



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

**SÍNTESIS DE ÁCIDOS HIDROXÁMICOS DERIVADOS DEL
ÁCIDO FERÚLICO Y *p*-CUMÁRICO COMO INHIBIDORES
VIRTUALES DE HISTONAS DESACETILASAS, CON EFECTO
CITOTÓXICO.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN FARMACIA**

PRESENTA:

JORGE LUIS ORTÍZ DÍAZ

Director de tesis: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Asesor Técnico: M. en F. Josué Martínez Miranda





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA
SECRETARIA DE DOCENCIA
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

Fecha: 11 de agosto de 2020
Asunto: VOTOS APROBATORIOS
Medio de Notificación: Electrónica
Folio: FF/D/SD/JLF/0121/2020

DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES
U.A.E.M.
PRESENTE

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis "**SÍNTESIS DE ÁCIDOS HIDROXÁMICOS DERIVADOS DEL ÁCIDO FERÚLICO Y p-CUMÁRICO COMO INHIBIDORES VIRTUALES DE HISTONAS DESACETILASAS, CON EFECTO CITOTÓXICO**" presentada por el pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. JORGE LUIS ORTIZ DÍAZ (20141008212)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Firma

Dr. Samuel Enoch Estrada Soto

Dra. Angélica Flores Flores

Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza

Dr. Sergio Alcalá Alcalá

Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

ATENTAMENTE
"POR UNA HUMANIDAD CULTA"
Una Universidad de Excelencia

M.P.D. Reyna América Serrano López
Secretaria de Docencia

Cp Archivo
Cp. Lba

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2020-08-11 14:48:46 | Firmante

PPj+TEFWtttdSxhTSS7LFD+3yj9/ZKjZT1MbuztaX3dhIP+lyhVYNntiPPQcjJCBu20Ayh9BIH9x071eQiOKS32PHug5BP1GUful4vw8S9FpgQ9dF6ZLkJDlGfpzNk3Ta+sub3+4a8pMo
vzcF/ast5ynDHG3HPkinLR1JJltXxywfh9gAeNZBKKFRYL6Lo4iboY2jVsNtmiJq3bucyxcKzYiAoVkBkesJDzt62Yp97OL6QWszKggigywK1m7XthS3MGekcGigCP0fKufYaoUSpRIm
2CYg81qEqrDCNLQ+TgUdDwa79T1d7c6lYrPHrS9gEGsAq8/bBISSFVcvb1qOoCA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



2yxC8d

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Ps1C2NkR9VyFmWnEsr6PSdKfrwngroMb>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JESSICA NAYELLI SANCHEZ CARRANZA | Fecha:2020-08-18 13:24:02 | Firmante

R1csHwSPd9HfQeUTMoxzxxhM6JKH9GkczNahF1rY7RnlQxtZQ1CkZRsAc45c4nsXUZosGY6hr/ISsw8R5kxRYHno0yUZeC0Suo1PyVrQWHd0hZS3HzBR9uWqZdV5KjlahgmPizbWlStody7WxEB3ADvQcSjG5bqW2nmqEh8UAOjt2EfhIntau8SGTsc4fq5VPSJmf2o2f7yXZVyA1RiEtUmX7EDJD8IBZNDbnvT31AEKM5ht/qjrl+5w8scoXcbGTG2VzqhqcEslF3vVhiqMjdc4KDS+W9caEnvDbPGxzhH+OBZbMH6u4drc3dDUKJE0t/aO7xaRHFmbh2ugFg==

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2020-08-18 14:38:53 | Firmante

lq1zw3WoP3X3ewdERmQXr7EQbHNbocl90aPAJG8Jp51BFmZaE98p0MjpuPZVmhUIC7f9i98YcL6bD3rZ0Fk3E9xJ8uWGY0QhyxLCKOP9sskC/RiUyxH0sYVYGMBHqAigVhTij21rBKdyJ3+pPDU1fZCCSoaEe880WRRdtquwaZVXw2MBpxzcOFreKsY/UXz1iolfQrD7on2V8Hhyw8hLs2mRb2zyiZE2WIG+OXMV9R2xD2tDL6pm3ykm9qea2WWmF3igklRzVEdBrMQ1E085qS45R/M2ysEalL+M3XU/J2BnPZC2LJd/KDJuV9M6nm+OIOTgp+P4G6E26tdcRzzFkw==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2020-08-18 16:51:44 | Firmante

jtqxOPfEgdfisHT4oF79ObyeF5HxYGAehYJk59WIYCP10izaLHmeOxUM2CPItc/E6EhoORI++XXVvho+ZgogQ1xxwxUodyD7m7nouK8HNV1upBymlr5FAGXOX6o1VZF38P/uG/F85CAsdUjTKJt8+UslulY/GKMDwicTseAVVKy8HT+OXUP9SX4XzMWn3BtVUqDF1ruwQcQB8ePjlo5qDsln8uGaNy6FSZvuhxZ9zHY3Y5jEJfC4BtMcK2gBEslcAHm9gRnovQv3OjkWovlQLxvCoRIEs8BF0mhrh+Oj/n49LM8v3blF8SeM7sPRDjDVKEZ7AoW9WoTzz2rzYMA==

ANGELICA FLORES FLORES | Fecha:2020-08-18 21:52:46 | Firmante

uwsVGzUhP9N+Ah1AAx2bTxWxWrJkScIvIIVFZ+QxT9rh2Ey7rGmmjJke6s5jCEYNEyl3Mf00UHwGBnnnZa3voHfXE3DpdN4bOWcL7dZ4R9AuNHLIVFBJB7XdmZ2uQ9Xkf0HV0Om+BFZFRRGlpshhFPLSQh5TxeehvTjtq/uyUGKfjn92wVdu/WbL/IESW3s608RkD8hZrQ9BWDDEScdYglM3AOp1Rtx0Tj8D0KumRPyMindo/m8y61bILIHsRGxa4lrQvMvGmtGAI1HZAKn24WfBMII8uuSXCWJhrZEKEa+xEOfv6jyHSSBSgVPLHdZcusFFrNybfm/Tkff1jG7ZKZw==

SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2020-08-18 22:41:10 | Firmante

m2+2ACYNwuuq142Jmib9wcaC2malVp1D3KuFl8pYVkrFhc7Yg1eK+aem9O91otZJsP4x7rUHIjX3rloXz4dzWLxNNLL/Gm9ySvEjG0vYEKUI4wWuWbwq+IHS8UBpboOoZvs6B11WLO0F7/yZE0h7Dppk74BtR9RgfMwnzNLlxcJpzuLcadEEheAU1Lk0PR995Me/J9INzXyvytTMzgh7emhAU/SUIa2lpP3Me9PABkgpPmtW/69eGxLjsib4Be7dCA7nTqDoSRz5Jrc747q85TTP1XkOnAbdcgJZMuaBGJKALOGTehfK0u+Mo8b2/dQzRTOz7oRzTCCi28r+IQcQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



sMd4zV

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Tyb8hcxPOMnNpIN4JLCD1LsKVB1eXCcq>



AGRADECIMIENTOS

A **CONACYT** por el apoyo brindado para el proyecto de investigación en ciencia básica 2015, número **253814** con el número de becario **28328**.

Al financiamiento otorgado por la **Facultad de Farmacia** de la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos** (UAEM) para la realización de este proyecto.

Al **Dr. Emanuel Hernández Núñez** del departamento de Recursos del Mar CINVESTAV Unidad Mérida, al **Dr. Jaime Escalante García** del Laboratorio L5A del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, a la **Dra. Gabriela Ávila Villareal** de la Universidad Autónoma de Nayarit, por su colaboración en los análisis espectroscópicos y espectrométricos.

A la **Dra. Rosa Moo Puc** del Instituto Mexicano del Seguro Social; Mérida, Yucatán por la colaboración en el ensayo *in vitro*.

Al **cDr. en Ciencias Químicas Fernando Daniel Prieto Martínez** de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México por su asesoría en la realización de los ensayos de acoplamiento molecular presentados en este trabajo.

Agradezco al comité revisor: **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto**, **Dra. Angelica Flores Flores**, **Dra. Jessica Nayelli Sánchez Carranza**, **Dr. Sergio Alcalá Alcalá** y **Dra. Laura Patricia Álvarez Berber** por sus observaciones, aportes, comentarios y sobre todo por el tiempo invertido en el proceso de revisión de este trabajo de investigación.

Al **L.F. Josué Martínez Miranda** por haber sido mi asesor técnico, amigo y compañero durante mi estancia en el laboratorio, gracias por todo; los regañones, comentarios, llamadas de atención y paciencia durante este tiempo y resolver mis dudas, el mejor asesor técnico y un gran amigo.

Finalmente quiero agradecer al **Dr. Gabriel Navarrete Vázquez**, gracias por haberme aceptado en su grupo de trabajo, ya que desde 4to semestre de la licenciatura supe que quería trabajar con usted debido a que sus clases son las mejores que he tenido, gracias por su paciencia, por su amistad, porque siempre se preocupó por cómo iba y ayudarme a buscar la forma de concluir este trabajo, de enseñarme y por compartir su conocimiento, lo admiro y respeto, es el mejor profesor y un gran ser humano.

DEDICATORIAS

Podría decirse que esta es la parte mas sencilla y por eso la dejamos al ultimo de este proceso, pero no, hay demasiados a quienes agradecer espero poder incluirlos a todos...

A mis papás **Odilia Diaz Reyes** y **Juan (Esteban) Ortiz Bahena**, por brindarme todo su apoyo no solo en la universidad si no en lo que van mis 26 años de vida, gracias por todos esos sacrificios que han hecho, espero poder recompensárselos algún día, este logro es de ustedes, los amo mucho!.

A mi hermano, **Beto** se que hemos tenido roces y demás, pero te quiero hermano, espero poder ayudarte si quieres salir adelante aquí estoy para ti.

A mi hermana, **Lupita**, eres la consentida de la casa y lo sabes, ¡te quiero mucho! gracias por hacerme reír los fines de semana y en vacaciones, espero serte de inspiración y te apoyare siempre mi bebé.

A mis tías, mi **madrina Ceno**, una segunda madre para mi quien siempre me estuvo jalando las riendas, mi **tía Mine** siempre me mostro su apoyo. Muchas gracias.

A mis abuelitos, **Mago y Beto** son mis viejitos hermosos, los amo y doy gracias a la vida por dejar que ustedes sigan conmigo y vean este logro que es muy importante para mí.

A mis amigos de la prepa y de la vida que estuvieron presentes durante la carrera, que, aunque casi no nos vemos ya, porque cada uno ha tomado rumbos diferentes, son mi familia, son importantes para mí y no los olvidare Alis, Nere, Morde (Alex), Zuriel, Yael, Rata (Daniel), espero reencontrarnos pronto.

A mi mejor amiga de la vida, **Itzelita Hernández**, eres la mejor amiga del mundo mundial, siempre estuviste ahí cuando necesitaba un hombro o para hablar o solo para salir a dar una vuelta, durante todo este tiempo, siempre me apoyaste y diste ánimos y me escuchabas ¡Te quiero mi mejor amiga!

A mis amigos de la universidad y de la vida igualmente, sin ustedes la universidad hubiera sido bastante diferente para bien o para mal fue un placer haber estado con ustedes, Cariño, Tona, Iran (la cuiji, tormenta), Rubi, Josias, Felipe, Kenny, Víctor.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, quienes hicieron de la estancia en el lab mas amena y divertida siempre aprendiendo de todo un poco: Bri, Josue, Cris, Checo, Abril, Norma, Yelz, Valeria, Conde, Melo, Edgar, Mike, Blanquis, Thali, Clave, Dr. Elix, Telo, Wendy, Aldair, Sam, Erik, Fer, Elena, Dianita.

Especialmente a Bri (luna, mi chaparrita) desde que te conocí hemos estado juntos prácticamente toda la carrera, solo tu y yo sabemos lo que hemos pasado todo este tiempo, gracias por todo ese apoyo tanto en la carrera como en la vida, eres la más importante para mí. ¡Te quiero mucho! Como no tienes idea...♥

Por ultimo y no menos importante, me doy gracias a **mí**, por no perder de vista mi objetivo, no rendirme, levantarme cada vez que me caí, por todo ese aguante, eres (soy) chingon puedes contra lo que sea y llegaras lejos muy lejos, lo sé, ¡¡confío en ti!!

“Los que sueñan de día son conscientes de muchas cosas que escapan a los que sueñan solo de noche”

Edgar Allan Poe.

Para Gael Arabitd, daré todo mi esfuerzo, nos vemos pronto, mi querido sobrino.

INDICE DE CONTENIDO

Contenido

ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE FIGURAS Y ESQUEMAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	xiii
ÍNDICE DE ESPECTROS	xiii
COMPUESTOS SINTETIZADOS	xiv
ABREVIATURAS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. BREVE HISTORIA DEL CÁNCER.....	2
2.2. DEFINICIÓN DE CÁNCER Y ESTADÍSTICAS.....	2
2.3. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER.....	5
2.4. FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER.....	6
2.5. CARCINOGENÉISIS QUÍMICA.....	7
2.6 LA EPIGENÉTICA EN EL CÁNCER.....	11
2.7 ORGANIZACIÓN DEL GENOMA.....	12
2.8 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE HISTONAS.....	13
2.9. BLANCOS TERAPÉUTICOS EPIGENÉTICOS NOVEDOSOS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER.....	15
2.9.1. HISTONAS DEACETILASAS.....	15
2.9.2 CLASIFICACIÓN DE LAS HDACS.....	17
2.9.2.1 ENZIMAS HDAC CLASE I.....	18
2.9.2.2 ENZIMAS HDAC CLASE IIA.....	18
2.9.2.3 ENZIMAS HDAC CLASE IIB.....	18
2.9.2.4 ENZIMAS HDAC CLASE IV.....	19
2.10 HISTONA DEACETILASA 6.....	19
2.11 HISTONA DEACETILASA 8.....	20
2.12 HDAC'S COMO DIANA TERAPEUTICAS.....	22
2.12.1 TRATAMIENTOS DISPONIBLES PARA EL CÁNCER.....	22
2.12.2 ÁCIDOS HIDROXÁMICOS.....	23
2.13 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL ÁCIDO FERÚLICO Y DEL ÁCIDO <i>P</i> -CUMÁRICO.....	27

3. JUSTIFICACIÓN	28
4. HIPOTESIS	28
5. OBJETIVOS	29
5.1 OBJETIVO GENERAL	29
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
6. CONSIDERACIONES QUÍMICO FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR	30
7. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	33
7.1 METODOLOGÍA <i>IN SILICO</i> : OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO.	35
7.1.1 MOLINSPIRATION.....	35
7.1.2 PASS ONLINE.	36
7.1.3 ADMETSAR	36
7.1.4 SWISSADME	37
7.1.5 ACD/TOX SUITE: PREDICCIÓN DE EFECTOS TÓXICOS.....	38
7.1.6 PyMOL	39
7.1.7 MERCURY	40
7.1.8 PREDICTOR DE CITOTÓXICIDAD SOBRE LINEAS CELULARES (CLC-PRED).....	41
7.1.9 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO (MOLECULAR DOCKING).....	42
7.1.9.1 MOLECULAR OPERATING ENVIROMENT (MOE).....	42
7.2 METODOLOGÍA PARTE QUÍMICA.	43
7.2.1 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES JOD 5-6	44
7.2.2 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES JOD 7-10	44
7.2.3 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS FINALES JOD 1-4	45
7.2.4 CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS PRECURSORES Y FINALES.	45
7.3 PARTE BIOLÓGICA (<i>IN VITRO</i>).....	46
7.3.1 CULTIVO CELULAR.	46
7.3.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD	46
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
8.1. PARTE QUÍMICA.	47

8.1.1 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILATO DE METILO (JOD-5)	47
8.1.2 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(4-HIDROXIFENIL) ACRILATO DE METILO (JOD-6)	48
8.1.3 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-7)	48
8.1.4 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-8)	49
8.1.5 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(4-(NAFTELEN-1-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-9)	50
8.1.6 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (<i>E</i>)-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-10)	50
8.1.7 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1ILMETOXI)FENIL) ACRILAMIDA (JOD-1)	51
8.1.8 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL) ACRILAMIDA (JOD-2)	52
8.1.9 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-3)	52
8.1.10 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-4)	53
8.2 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS	56
8.2.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H Y ¹³ C, DEL COMPUESTO PRECURSOR JOD-7	57
8.2.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H Y ¹³ C ESPECTROMETRIA DEL COMPUESTO FINAL JOD-1	59
8.2.3 ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO FINAL JOD-1	61
8.2.4 CRISTALOGRAFIA DEL COMPUESTO PRECURSOR JOD-7	63
8.2.5 TABLAS DE ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H Y ¹³ C	65
8.3. METODOLOGÍA <i>IN SILICO</i> : OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSÓ FARMACOLÓGICO	73
8.3.1 PREDICCIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS: MOLINSPIRATION	73
8.3.2. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 POR MEDIO DE LA HERRAMIENTA PASS ONLINE	74

8.3.3 PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS: ADMETSAR.	76
8.3.4 PREDICCIONES DE EFECTOS TÓXICOS ACD/TOX SUITE	77
8.3.5 PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FARMACOCINÉTICAS: SWISSADME.	83
8.3.6 PREDICCIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE LÍNEAS CELULARES HUMANAS TUMORALES Y NO TUMORALES: CLC: PRED.	85
8.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR REFINADO SOBRE LAS ENZIMAS HDAC6 Y HDAC8.....	87
8.4.1 VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR SOBRE HDAC6 Y HDAC8.....	87
8.4.2 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 SOBRE LA ENZIMA HDAC6.....	90
8.4.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 SOBRE LA ENZIMA HDAC8.....	95
8.5 ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO PARA LA SELECCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO	99
8.6 EVALUACIÓN BIOLÓGICA: ENSAYOS <i>IN VITRO</i>	102
8.6.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD	102
8.6.1.1 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LA LINEA CELULAR MDA-MB-231.....	103
8.6.1.2 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LINEA CELULAR MCF-7.....	106
8.6.1.3 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LA LINEA CELULAR HeLa.....	108
8.6.1.4 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE CELULAS VERO.	110
9. CONCLUSIONES	112
10. PERSPECTIVAS	113
11. PARTE EXPERIMENTAL	114
11.1 INSTRUMENTACIÓN.....	114
11.2 CROMATOGRAFÍA.....	115
11.3 SÍNTESIS DE COMPUESTOS FINALES.....	116
11.3.1 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1- ILMETOXI)FENIL) ACRILAMIDA (JOD-1)	116
11.3.2 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2- ILMETOXI)FENIL)ACRILAMIDA (JOD-2)	117
11.3.3 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-3)	118
11.3.4 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)- <i>N</i> -HIDROXI-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-4)	119

11.4 PARTE QUÍMICA: SÍNTESIS DE COMPUESTOS PRECURSORES.....	120
11.4.1 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-5).....	120
11.4.2 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)-3-(4-HIDROXIFENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-6).....	121
11.4.3 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI) FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-7).....	122
11.4.4 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI) FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-8).....	123
11.4.5 SÍNTESIS (<i>E</i>)-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI) FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-9).....	124
11.4.6 SÍNTESIS DE (<i>E</i>)-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI) FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-10).....	125
12. ESPECTROS	126
13. REFERENCIAS	142

ÍNDICE DE FIGURAS Y ESQUEMAS

Figura 1. Carcinógenos encontrados en el alquitrán de hulla.....	8
Figura 2. Etapas principales de la carcinogénesis química.	10
Figura 3. A) nucleosoma unidad básica de cromatina y B) octámero que conforma al nucleosoma.....	12
Figura 4. Eucromatina (conformación laxa o relajada), heterocromatina (conformación compactada).	13
Figura 5. Acción de Histonas Acetil Transferasas (HATs) e Histonas Acetil Deacetilasas (HDACs).	16
Figura 6. Proceso de desacetilación del residuo de lisina mediada por HDAC. ...	17
Figura 7. Mecanismos terapéuticos que relacionan la inhibición de la HDAC6 con el tratamiento del cáncer.	20
Figura 8. Implicaciones de HDAC8 sobre varios tipos de cáncer.	21
Figura 9. Estructura base de un ácido hidroxámico.....	23
Figura 10. Formación del quelato entre el ácido hidroxámico (Tricostatina) y el átomo de Zn ²⁺ de la HDAC8.	24
Figura 11. Inhibidores de histonas desacetilasas aprobados por la FDA.	25
Figura 12. A) ácido cinámico B) ácido ferúlico C) ácido p-cumárico.....	27
Figura 13. Diseño tri-partita de HDACI's	30
Figura 14. Farmacoforo y SAR de los ácidos hidroxámicos.	31
Figura 15. Compuestos finales JOD 1-4	32
Figura 16. Interfaz del servidor en línea Molinspiration.	35
Figura 17. Interfaz del servidor en línea PASS online.	36
Figura 18. Interfaz del servidor en línea admetSAR.	36
Figura 19. Interfaz del servidor en línea swissADME.	37
Figura 20. Interfaz del programa ACD/Tox suite.	38
Figura 21. Interfaz del programa PyMOL.	39
Figura 22. Interfaz del programa Mercury.	40
Figura 23. Interfaz del programa CLC-Pred.....	41
Figura 24. Interfaz del programa MOE.	42
Figura 25. Análisis retrosintético de los compuestos JOD 1-4	43
Figura 26. Reacción de esterificación de Fisher para la obtención de los precursores JOD-5 y JOD-6	44
Figura 27. Reacción SN ² para la obtención de los precursores JOD 7-10	44
Figura 28. Hidroxilamación para la obtención de los compuestos finales JOD 1-4	45
Figura 29. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-5	47
Figura 30. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-6	48
Figura 31. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-7	49
Figura 32. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-8	49
Figura 33. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-9	50
Figura 34. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-10	51
Figura 35. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-1	51
Figura 36. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-2	52
Figura 37. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-2	53

Figura 38. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-4	53
Figura 39. Prueba colorimétrica para la obtención de ácidos hidroxámicos.	56
Figura 40. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) (expansión región alifática) del compuesto JOD-7	57
Figura 41. Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz) (expansión región aromática) del compuesto JOD-7	58
Figura 42. Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 600 MHz) del compuesto final JOD-1	59
Figura 43. Espectro de RMN ¹³ C (DMSO-d ₆ , 150 MHz) del compuesto final JOD-1	60
Figura 44. Fragmentación observada en el espectro de masas por IE del compuesto JOD-1	61
Figura 45. Espectro de masas por IE del compuesto JOD-1	62
Figura 46. Estructura molecular del compuesto precursor JOD-7 obtenida por difracción de rayos X del monocristal.	63
Figura 47. Celda unitaria del cristal difractable del compuesto precursor JOD-7 .	64
Figura 48. Validación del acoplamiento molecular sobre HDAC6.	88
Figura 49. Interacciones ligando-proteína de la validación de HDAC6.....	88
Figura 50. Validación del acoplamiento molecular sobre HDAC8.	89
Figura 51. Interacciones ligando-proteína de la validación de HDAC8.....	89
Figura 52. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC6 de JOD-3	91
Figura 53. Diagrama 3D del compuesto JOD-3 sobre el sitio de reconocimiento de HDAC6.	92
Figura 54. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC6 de JOD-2	93
Figura 55. Diagrama 3D del compuesto JOD-2 sobre el sitio de catalítico de HDAC6.	94
Figura 56. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC8 de JOD-1	95
Figura 57. Diagrama 3D del compuesto JOD-1 sobre el sitio de reconocimiento de HDAC8.	96
Figura 58. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC8 de JOD-2	97
Figura 59. Diagrama 3D del compuesto JOD-2 sobre el sitio de catalítico de HDAC8.	98

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de factores de riesgo del cáncer.....	5
Tabla 2. Descubrimientos de agentes carcinogénicos.....	8
Tabla 3. Diferencias y características de los tumores.....	9
Tabla 4. Propiedades terapéuticas y farmacocinéticas de Vorinostat, Belinostat y Panobinostat.....	26
Tabla 5. Propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos precursores....	54
Tabla 6. Propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos finales.....	55
Tabla 7. Datos cristalográficos del compuesto JOD-7	63
Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto JOD-7	65
Tabla 9. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto JOD-8	66
Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto JOD-9	67
Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H del compuesto JOD-10	68
Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto JOD-1	69
Tabla 13. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto JOD-2	70
Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto JOD-3	71
Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ¹ H y ¹³ C del compuesto JOD-4	72
Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos JOD 1-4 calculadas con Molinspiration.....	73
Tabla 17. Predicción de la actividad biológica de los compuestos JOD 1-4 por el servidor PASS Online.....	74
Tabla 18. Predicción de propiedades farmacodinámicas de los compuestos JOD 1-4 por admetSAR.....	76
Tabla 19. Predicción de propiedades farmacodinámicas de los compuestos JOD 1-4 por admetSAR.....	78
Tabla 20. Probabilidad de la inhibición de las isoformas del CYP450.....	80
Tabla 21. Toxicidad aguda en ratón y rata calculado con ACD/Tox suite.....	81
Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de los compuestos JOD 1-4 por SwissADME.....	83
Tabla 23. Resultados de citotoxicidad sobre líneas celulares tumorales para los compuestos JOD 1-4	85
Tabla 24. Resultados de citotoxicidad sobre líneas celulares no-tumorales para los compuestos JOD 1-4	86
Tabla 25. Energías de unión y <i>K_i</i> del acoplamiento molecular con HDAC6.....	90
Tabla 26. Energías de unión y <i>K_i</i> del acoplamiento molecular con HDAC8.....	95
Tabla 27. Consenso farmacológico de los compuestos JOD 1-4	100
Tabla 28. Clasificación de compuestos citotóxicos.....	103
Tabla 29. Valores de CC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 (MDA-MB-231).....	104
Tabla 30. Valores de CC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 (MCF-7).....	106
Tabla 31. Valores de CC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 (HeLa).....	108
Tabla 32. Valores de CC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 (VERO).....	110
Tabla 33. Índice de Selectividad de los compuestos y CC ₅₀ en células VERO...	111
Tabla 34. Fases móviles empleadas en el monitoreo de los compuestos.....	115

ÍNDICE DE GRÁFICAS

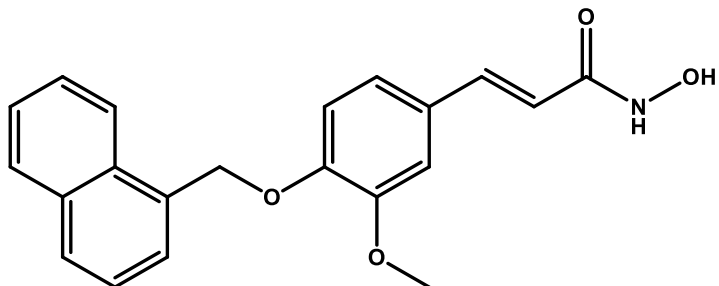
Gráfica 1. Incidencia de casos de cáncer en 2018, México.....	3
Gráfica 2. Porcentaje de tipos de cáncer en hombres 2018.....	3
Gráfica 3. Porcentaje de tipos de cáncer en mujeres 2018.....	4
Gráfica 4. Incidencia de casos de cáncer en 2018, México.....	4
Gráfica 5. Valores de pCC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 contra el Vorinostat (MDA-MB.231).....	105
Gráfica 6. Valores de pCC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 contra el Vorinostat (MCF-7).....	107
Gráfica 7. Valores de pCC ₅₀ de los compuestos JOD 1-4 contra el Vorinostat (HeLa).....	109

ÍNDICE DE ESPECTROS

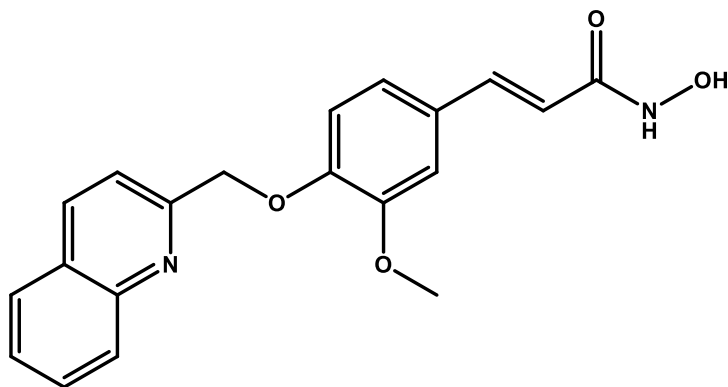
Espectro 1. RMN ¹ H del compuesto JOD-1	126
Espectro 2. RMN ¹³ C del compuesto JOD-1	127
Espectro 3. EM-IE del compuesto JOD-1	128
Espectro 4. RMN ¹ H del compuesto JOD-2	129
Espectro 5. RMN ¹³ C del compuesto JOD-2	130
Espectro 6. EM-IE del compuesto JOD-2	131
Espectro 7. RMN ¹ H del compuesto JOD-3	132
Espectro 8. RMN ¹³ C del compuesto JOD-3	133
Espectro 9. EM-IE del compuesto JOD-3	134
Espectro 10. RMN ¹ H del compuesto JOD-4	135
Espectro 11. RMN ¹³ C del compuesto JOD-4	136
Espectro 12. EM-IE del compuesto JOD-4	137
Espectro 13. RMN ¹ H del compuesto JOD-7	138
Espectro 14. RMN ¹ H del compuesto JOD-8	139
Espectro 15. RMN ¹ H del compuesto JOD-9	140
Espectro 16. RMN ¹ H del compuesto JOD-10	141

COMPUESTOS SINTETIZADOS

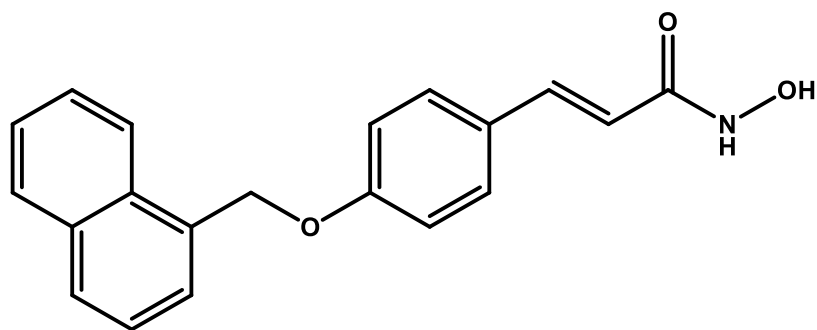
Compuestos finales



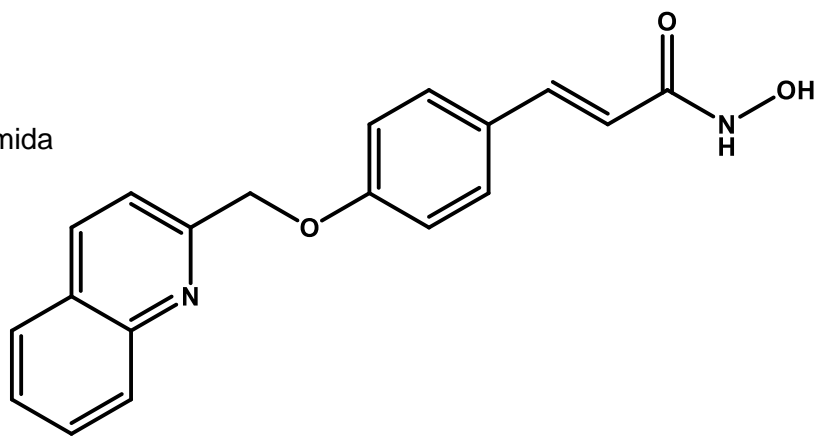
(*E*)-*N*-hidroxi-3-(3-metoxi-4-naftalen-1-ilmetoxi)fenil)acrilamida
(JOD-1)



(*E*)-*N*-hidroxi-3-(3-metoxi-4-quinolin-2-ilmetoxi)fenil)acrilamida
(JOD-2)



(*E*)-*N*-hidroxi-3-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)fenil)acrilamida
(JOD-3)



(*E*)-*N*-hidroxi-3-(4-(quinolin-2-ilmetoxi)fenil)acrilamida
(JOD-4)

ABREVIATURAS

5-FU	5-Fluorouracilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNi	Ácido ribonucleico de interferencia
ATTC	Colección de cultivos tipo americano
CdLS	Síndrome de Cornelia Lange
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
CC ₅₀	Concentración citotóxica media
CCF	Cromatografía en capa fina
CMPN	Neoplasias mieloproliferativas crónicas
CYP 450	Citocromo P 450
DL ₅₀	Dosis letal media
EM-IE	Espectro de masas por impacto electrónico
ER	Receptores de estrógenos
FDA	Administración de alimentos y fármacos
GDSC	Genómica funcional de la sensibilidad a los medicamentos en cáncer
GST	Genes supresores tumorales
HAT	Histona acetil transferasa
HDAC's	Histonas desacetilasas
HDAC6	Histona desacetilasa 6
HDAC8	Histona desacetilasa 8
HDACI's	Inhibidores de histonas desacetilasas
HER 2	Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
IARC	Agencia internacional para la investigación sobre el cáncer
IDE	Enzima degradadora de insulina
IMSS	Instituto mexicano del seguro social
IS	Índice de selectividad

KIT	Proteína tirosin cinasa
Log P	Coefficiente de partición
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NIH	Instituto nacional del cáncer
OECD	Organización para la cooperación y desarrollo económico
OMS	Organización mundial de la salud
PASS	Predicción de espectros de actividad para sustancias
PDB	Protein data bank
PDGFRA	Receptor A del factor de crecimiento derivado de plaquetas
PM	Peso molecular
PR	Receptor de progesterona
QSAR	Relación cuantitativa estructura actividad
RMN	Resonancia magnética nuclear
SAR	Relación estructura actividad
SNC	Sistema nervioso central
TA	Temperatura ambiente
VERO	Células epiteliales renales de mono africano
ZBG	Grupo quelante de zinc

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades de mayor tasa de mortalidad en el mundo y esta enfermedad aumenta año con año y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) es la segunda causa de muerte en el mundo.¹ Por ello el cáncer es un problema grave que afecta a la salud y debido a que es una enfermedad de variedad tisular, presenta un gran desafío para un diagnóstico específico y así encontrar los tratamientos más adecuados para mejorar la calidad de vida de los pacientes.²

Como se mencionó anteriormente el cáncer puede afectar una gran variedad de tejidos, por lo tanto, puede presentarse en cualquier parte del cuerpo, en hombres el cáncer con mayor prevalencia es el de próstata seguido por el cáncer de pulmón, bronquios, colon, recto y vejiga urinaria.² En mujeres el cáncer con mayor prevalencia es el de mama seguido por el cáncer de pulmón, bronquios, colon, recto, cuerpo uterino y tiroides. En la población infantil, los porcentajes más altos de cáncer corresponden a leucemias, aquellos relacionados con el cerebro y de nudos linfáticos.²

De acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) se reportaron 18 078 957 de casos de cáncer en el mundo en el 2018, donde 9 456 418 de casos corresponden a hombres y 8 622 539 de casos corresponden a mujeres.³

La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés), ha aprobado algunos fármacos de tipo ácido hidroxámico, los cuáles van dirigidos a blancos terapéuticos importantes que son las histonas desacetilasas (HDAC's), estas enzimas se encargan de diversos procesos fisiológicos, principalmente la desacetilación de los residuos de lisina de las histonas, regulando así la transcripción de diferentes factores. La sobreexpresión de estas enzimas está relacionada con diferentes tipos de cáncer, principalmente cáncer de colon, de pulmón y leucemias.

Debido a lo anterior, es sumamente importante diseñar y sintetizar moléculas innovadoras que puedan actuar sobre esta enfermedad, de manera específica sobre dos blancos terapéuticos: el de histona deacetilasas 6 (HDAC6) e histona desacetilasa 8 (HDAC8), como agentes citotóxicos específicos para el tratamiento del cáncer.

2. ANTECEDENTES

2.1. BREVE HISTORIA DEL CÁNCER.

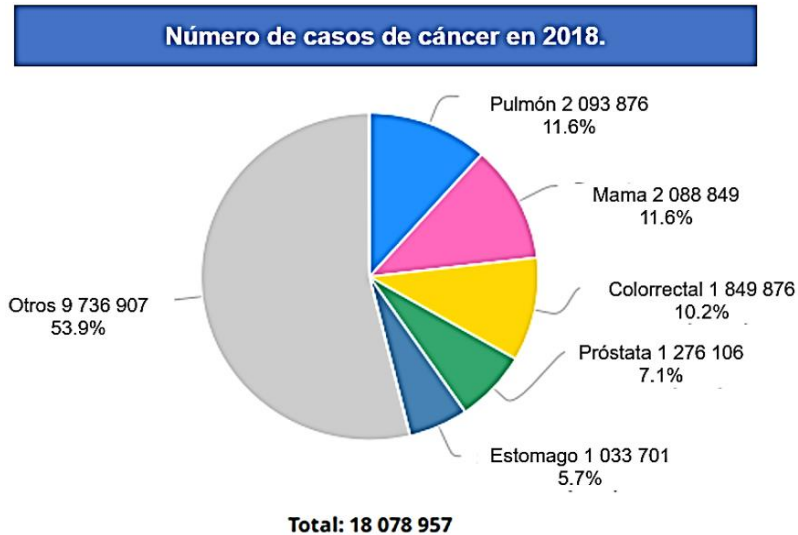
Las primeras descripciones del cáncer se encuentran en papiros egipcios que datan aproximadamente del año 1600 a.C. siendo el papiro de Ebers donde se encuentra la primera descripción del tratamiento quirúrgico del cáncer. El origen de la palabra “cáncer” (*karkinos*) se le adjudica a Hipócrates (460-370 a.C.) quien utilizó la palabra “carcinosis” del latín cangrejo y usó este término para hacer referencia a su comportamiento clínico; tumores que se ulceran y tienen proyecciones y/o extensiones hacia tejidos vecinos.⁴ No fue hasta el año 1761 cuando la primera autopsia realizada por el anatomista italiano Giovanni Morgagni que se sentaron las bases para el estudio científico del cáncer en la oncología. Finalmente fue hasta el siglo XIX, cuando el microscopio moderno fue inventado, que se comenzó a estudiar el cáncer y nació el estudio fisiopatológico e histológico del mismo.⁵

2.2. DEFINICIÓN DE CÁNCER Y ESTADÍSTICAS.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define al cáncer como un término genérico para un largo grupo de enfermedades que se caracterizan por un crecimiento anormal de células más allá de su capacidad habitual y que pueden invadir partes adyacentes al cuerpo y/o propagarse a órganos, proceso conocido como metástasis.¹

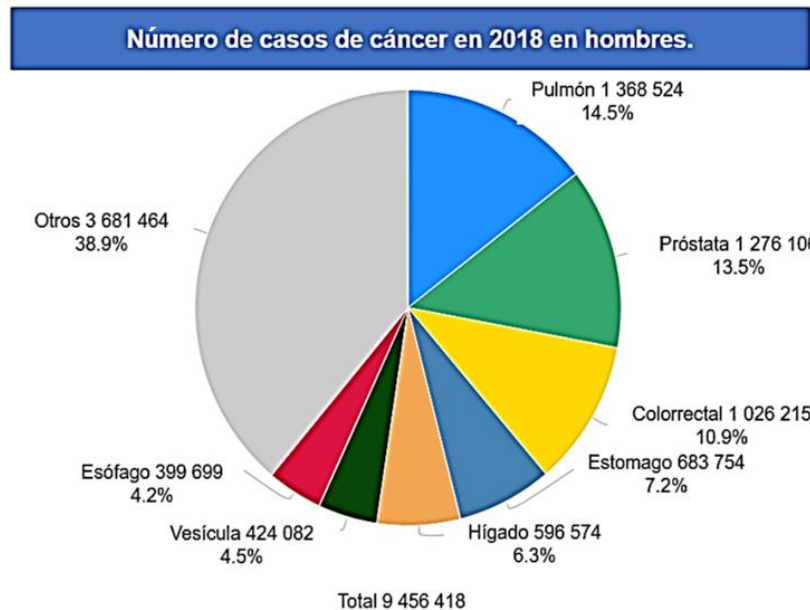
De acuerdo con los datos que presenta la OMS en el 2018 el cáncer ocasionó 9.6 millones de muertes alrededor del mundo.^{1,6} La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) reportó en el 2018, 18.078 957 de nuevos casos.³

Como se muestra en la **Gráfica 1**, los porcentajes más altos son para los tipos de cáncer de pulmón y de mama, seguido del colorrectal, próstata y de estómago.



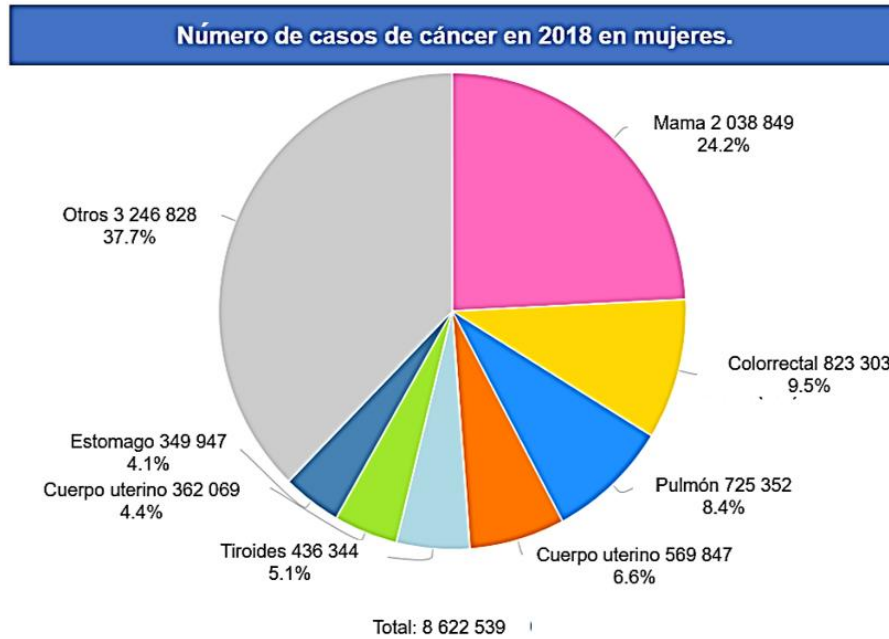
Gráfica 1. Incidencia de casos de cáncer en 2018, México.³

En la **Gráfica 2** se muestra el número total de casos de cáncer en el 2018 en hombres el cual es de 9 456 418, destacando el cáncer de pulmón en un 14.5%, el cáncer de próstata en un 13.5% y el cáncer colorrectal en un 10.9%.³



Gráfica 2. Porcentaje de tipos de cáncer en hombres 2018.³

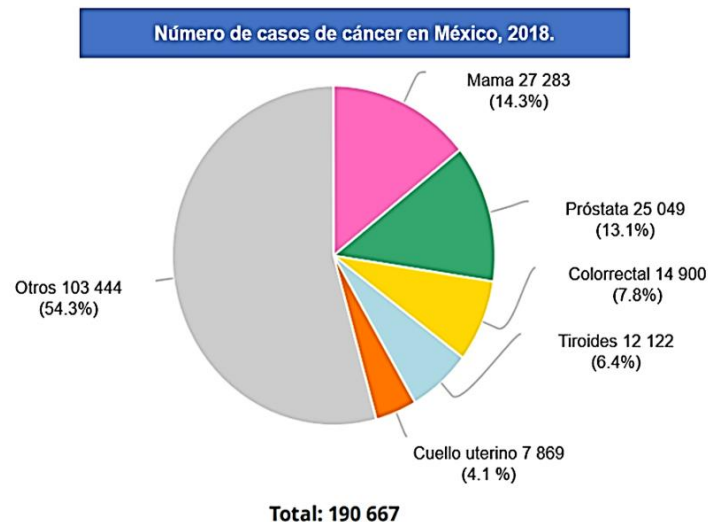
En la **Gráfica 3** se muestra el número total de casos de cáncer en el 2018 en mujeres el cual la cifra fue de 8 622 539, donde destacan el cáncer de mama en un 24.2%, cáncer colorrectal en 9.5% y el cáncer de pulmón en un 8.4%.³



Gráfica 3. Porcentaje de tipos de cáncer en mujeres 2018.³

El Instituto Nacional del Cáncer (NIH por sus siglas en inglés) estableció que para el año 2030 se proyecta que los casos mundiales de cáncer aumenten casi un 50%, de 14 millones a 21 millones de casos, mientras que las muertes mundiales aumenten en un 60%, de 8 millones a 13 millones.⁷

De acuerdo con las estadísticas de la IARC el número de incidencia de cáncer en México fue de 190 667 mil casos en el 2018,³ así como se observa en la **Gráfica 4.**



Gráfica 4. Incidencia de casos de cáncer en 2018 en México.³

Como se muestra en la **Gráfica 4**, del total de número de casos de cáncer reportados, 105 051 casos corresponden para el sector femenino, con mayor incidencia en el cáncer de mama, mientras que para el sector masculino corresponden 85 616 casos siendo el de mayor incidencia el cáncer de próstata.³ De acuerdo con la IARC se tiene estimado que el número de casos de cáncer aumentará en un 63% alcanzando un total de 29 532 994 casos y el número de muertes aumentará en un 75%, alcanzando un total de 16 388 459 muertes para el año 2045.³

Es importante mencionar que estas cifras de incidencia del cáncer en nuestro país se deben al incremento de un estilo de vida poco saludable tanto en niños, jóvenes y adultos, ya que como se menciona anteriormente, el 30% de los casos se debe a 5 factores conductuales, uno de ellos es la obesidad y sobrepeso que, de acuerdo con la Federación Mexicana de Diabetes, México se encuentra entre los primeros lugares a nivel mundial.⁸

2.3. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER.

Existen diferentes factores que interactúan con los genes de cada individuo y estos pueden llevar a cabo el desarrollo de cáncer en un organismo, los cuales son 3 factores externos: físicos, químicos y biológicos,^{1,2} estos se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Clasificación de factores de riesgo del cáncer.

Factor de riesgo	Descripción
Físicos	Radiaciones ionizantes y ultravioleta.
Químicos	Asbesto, amianto, los componentes del humo del cigarro, arsénico.
Biológicos	Virus bacterias y parásitos.

Como se observa en la **Tabla 1** existen diferentes factores, de los cuales solamente la radiación, los virus y bacterias son responsables del 7% de los casos de cáncer.

También existe otro factor de riesgo que no entra en esta clasificación, pero de igual manera tiene impacto para desarrollar cáncer, el cual es presentar un alto índice de masa corporal, falta de inactividad física, ingesta reducida de alimentos saludables y una alta ingesta de alimentos o sustancias dañinas al organismo, por ello una gran parte de poder prevenir esta enfermedad depende del estilo de vida de cada individuo y el ambiente donde este se desarrolle cotidianamente.

2.4. FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER.

El cáncer es causado por cambios en genes que controlan mecanismos de proliferación y muerte celular. Los genes codifican proteínas, con funciones específicas y regulatorias en estos procesos celulares. Entre los genes más importantes implicados en la regulación de mecanismos celulares de proliferación se encuentran los proto-oncogenes y en mecanismos de muerte celular se encuentran los genes supresores de tumores (GST).

Los proto-oncogenes (por ejemplo: KIT, MET, PDGFRA RET),⁸ que en condiciones normales son responsables de la división y crecimiento celular, pero que se convierten en oncogenes durante la mutación genética, los cuales son más peligrosos para la existencia celular, ya que estas mutaciones son sucesivas en los genes, de modo que cambian las funciones celulares, y también afecta el ciclo celular y conduce a una proliferación anormal.²

A estos genes se les clasifica como:

- Genes que estimulan las transcripciones en el ámbito nuclear.
- Genes de factores de crecimiento o sus receptores.
- Genes de proteínas intracitoplasmáticas.

Estos oncogenes se sobreexpresan en varios tipos de neoplasias llevando así el mal funcionamiento de la célula, pueden estar relacionados con mayor agresividad tumoral y menor supervivencia, así como también pueden participar en la carcinogénesis codificando proteínas, que pueden estimular de forma indirecta la proliferación celular, al interferir con los mecanismos regulatorios.⁵

Mientras que los GST codifican proteínas capaces de inhibir la proliferación celular al bloquear la actividad de oncogenes.

El equilibrio en la función de estos es muy importante para la homeostasis tisular, ya que en células normales debe existir un equilibrio entre las tasas de replicación y muerte celular, entre la función del proto-oncogén y del GST. Este desequilibrio se da cuando los genes sufren de alteraciones genéticas, entre las principales se encuentran: cambios en la secuencia de ADN, alteración en el número de cromosomas, translocación de cromosomas.

Normalmente estos mecanismos regulatorios, son genes de recuperación que se traducen en proteínas y enzimas que poseen propiedades reparadoras, una de estas proteínas extrae el uracilo del ADN y así evita el daño del ADN y elimina las principales lesiones del ADN inducidas por la luz ultravioleta.²

Dichas aberraciones o alteraciones genéticas por una parte alteran la función del proto-oncogén, dando lugar a proteínas oncogénicas que actúan de forma dominante promoviendo la proliferación celular, por otro lado, dan lugar a la inactivación de GST inhibiendo la proliferación. Todas estas alteraciones provocan crecimiento, desdiferenciación y capacidad de invasión de las células.

2.5. CARCINOGENESIS QUÍMICA

Como ya se había mencionado antes, hay diferentes factores por los cuales un individuo puede desarrollar cáncer, entre ellos se encuentran factores químicos o agentes carcinogénicos químicos, el que se definen como aquellas sustancias cuya administración induce un incremento en la incidencia de uno o más tipos de neoplasias.⁹

El hecho de que ciertas sustancias inmersas en el medio ambiente provoquen varios tipos de cáncer se conoce desde hace aproximadamente 200 años, una de las primeras observaciones registradas fue por Sir Percivall Pott en 1775, en Londres se percató que muchos de sus pacientes con cáncer de escroto eran limpiadores de chimeneas domésticas, entonces relacionó la presencia de la enfermedad con la exposición al hollín y al alquitrán de hulla presente en esos lugares. El alquitrán de hulla contiene componentes activos llamados hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), tales como: dibenzo[a,h]antraceno y el benzo[a]pireno⁹ (**Figura 1**).

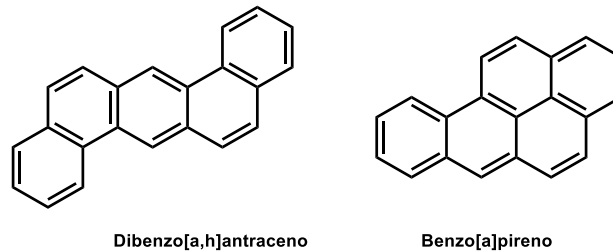


Figura 1. Carcinógenos encontrados en el alquitrán de hulla.

En la **Tabla 2**, se observan algunos agentes carcinogénicos, el órgano afectado, por quien fue descubierto y el año.⁹

Tabla 2. Descubrimientos de agentes carcinogénicos.

Carcinógeno	Órgano afectado	Registrado por	Año
Hollín	Escroto	Pott	1775
Humo de pipas	Labios	Sommering	1795
Alquitrán de hulla	Piel	Volkman	1875
Colorantes sintéticos	Vejiga	Rehn	1895
Rayos X	Piel	Van Trieben	1902
Extracto de tabaco	Cavidad oral	Abbe	1915
Luz Solar	Piel	Molesworth	1937
Humo de tabaco	Pulmón	Muller	1939
Asbestos	Pleura	Wagner Kipling	1960
Cadmio	Próstata	Waterhouse	1967

Algunos contaminantes ambientales presentan, aparte de los efectos carcinógenos, efectos mutagénicos y teratogénicos en roedores, derivando así en neoplasias o tumores, los cuales se clasifican como benignos o malignos dependiendo de las características que presenten, en la **Tabla 3** se observan las características y diferencias entre un tumor benigno y uno maligno.⁹

Tabla 3. Diferencias y características de los tumores.

Tumor Benigno	Tumor Maligno
Encapsulado	No encapsulado
No invasivos	Invasivo
Poca división celular	Divisiones celulares comunes
Altamente diferenciados	Poco diferenciados
Crecimiento lento	Crecimiento rápido
Escasa anaplasia*	Presentan anaplasia
No hay metástasis	Hay metástasis
Material genético estable	Inestabilidad del material genético
Poca secreción de proteasas	Alta secreción de proteasas
Requiere de factores de crecimiento	No requiere de factores de crecimiento

*Anaplasia: Cambio marcadamente regresivo de un tipo de célula específica (diferenciada) hacia células que presentan naturaleza indiferenciada (no especializada).

Las células que conforman un tumor maligno se definen como *cancerosas* y poseen características adquiridas que las distinguen de una célula sana, tales como: mantenimiento de señales de crecimiento, evasión de los supresores de crecimiento, invasión activa y metástasis, capacidad de replicación inmortal, inducción de angiogénesis y resistencia a la muerte celular sin embargo, en los últimos años se han propuesto nuevas características para la mayoría de los tumores: reprogramación del metabolismo energético, inestabilidad genómica, evasión del sistema inmunológico y la promoción de un ambiente inflamatorio que, en conjunto, permite a la célula cancerosa sobrevivir, proliferar y diseminarse.⁹

El ingerir un agente carcinogénico no necesariamente se deriva en el desarrollo de un tumor o neoplasia, para ello se lleva a cabo todo un proceso, de cómo dicha sustancia provoca cambios en una célula normal y la transforma en una célula neoplásica; el proceso no ha sido totalmente comprendido para todos los compuestos, sin embargo, en algunos de ellos se ha logrado comprender sus mecanismos carcinogénicos.⁹ Hasta el día de hoy se sabe que el cáncer es un fenómeno que se lleva a cabo en dos tiempos, conversión y el desarrollo neoplásico, mismos que a su vez abarcan tres etapas: iniciación, promoción y progresión (**Figura 2**).

Algunos de los factores a considerar de las etapas de iniciación y promoción se enlistan a continuación:⁹

- El iniciador (sustancia carcinogénica) debe ser administrado primero. Pocos o ningún tumor se presenta si el promotor se administra inicialmente.
- Si el iniciador es administrado en dosis única con un nivel por debajo al que pueda provocar cáncer, no produce la formación de tumores durante el periodo de vida. Sin embargo, si se aplican dosis repetidas del iniciador puede formar tumores aun en la ausencia del promotor.
- La acción de iniciador es irreversible, los tumores generados se presentan aproximadamente en las mismas proporciones, si el intervalo de administración entre el iniciador y el promotor es extendido de unas semanas o años.
- El iniciador es un electrófilo, el cual se une de forma covalente al ADN para provocar un cambio mutagénico que no se expresa, pero que es permanente y hereditario.
- La función esencial del agente promotor es completar el proceso carcinogénico suscitado por el iniciador.
- Los promotores generalmente no son electrófilos y no se tienen evidencias de que se unan de forma covalente a macromoléculas.
- La acción de los promotores es reversible en una etapa inicial y usualmente se requieren varias exposiciones a dichos compuestos.

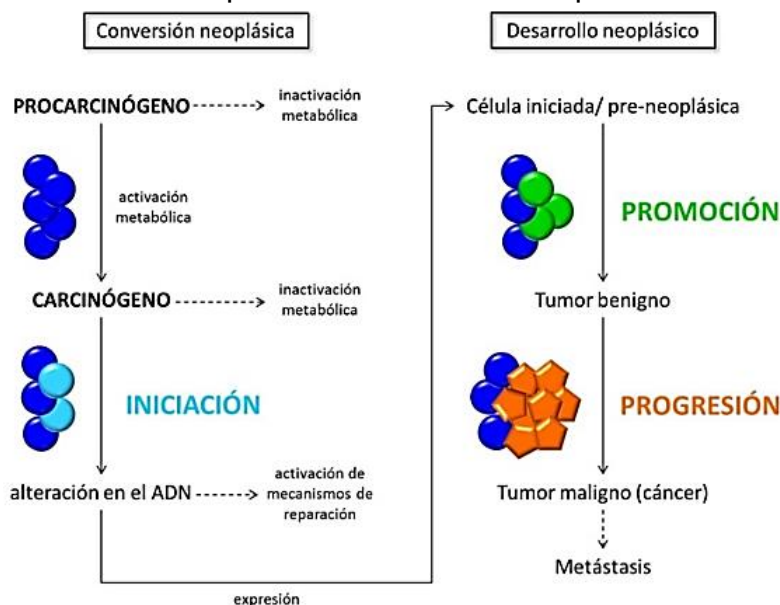


Figura 2. Etapas principales de la carcinogénesis química.⁹

De acuerdo con los factores enlistados y la **Figura 2**, se requiere de consumir el agente carcinogénico (iniciador) el cual puede ser un procarcinógeno, que se puede activar al metabolizarse o inactivar, posteriormente, se lleva a cabo el proceso de iniciación cuando el agente carcinogénico altera el ADN, el cual puede ser reparado por los mecanismos celulares, en caso de no repararse el daño se heredan estos cambios a las células hijas, catalogándose como células iniciadas o preneoplásicas, posteriormente el agente promotor induce la formación de tumores ya sea benignos o malignos; en caso de ser malignos ocurre la progresión debido a sus características que presenta que en la mayoría de los tumores malignos hay metástasis de esta manera diseminándose a diferentes órganos y partes del organismo.⁹

2.6 LA EPIGENÉTICA EN EL CÁNCER

Si bien tradicionalmente las alteraciones genéticas en proto-oncogenes y GST han sido consideradas las principales causas de neoplasia, este paradigma ha sido ampliado debido a que se sabe que estos mecanismos mutagénicos no explican la totalidad de los casos de cáncer. Se han visto implicados un segundo grupo de alteraciones, denominadas epigenéticas, que prevalecen en varios tipos tumorales, las cuales llevan a la alteración de la expresión génica y del fenotipo celular.¹⁰ El término “epigenético” se refiere a los fenotipos hereditarios de cambios en los cromosomas sin alteraciones en la secuencia primaria de ADN.^{10,11,12}

En investigaciones recientes se ha observado que estas alteraciones están asociados a cambios en los mecanismos que regulan la estructura de la cromatina que conducen a la activación de oncogenes e inactivación de genes supresores de tumores.¹¹

Hay diferentes tipos de modificaciones epigenéticas las cuales son las siguientes:

- Metilación de ADN.
- Modificaciones de histonas (metilación, acetilación, fosforilaciones, ubiquinaciones entre otras).
- Posicionamiento del nucleosoma.
- MicroARNs.¹³

Se ha observado que los cambios epigenéticos pueden regularse en respuesta a cualquier cambio en las condiciones fisiológicas, por lo tanto, si no se mantienen adecuadamente estas condiciones es posible que se produzcan estados de enfermedad entre ellos el cáncer.¹³

2.7 ORGANIZACIÓN DEL GENOMA.

Para entender los mecanismos de regulación epigenética es importante entender que es y como está organizado el genoma. El genoma humano corresponde a 3.000 millones de pares de bases de la doble hélice del ADN, dos copias de las cuales forman hasta 2 m de cadenas de ADN que tienen que ser almacenadas dentro del diminuto núcleo de tamaño micrónico de cada célula.¹¹ Los organismos eucariontes tienen un alto grado de compartimentalización, presentan un núcleo donde se alberga el ADN altamente condensado, que se conoce como cromatina, donde el nucleosoma (**Figura 3, A**) es la unidad básica de la cromatina, está formado por un octámero (**Figura 3, B**) que contiene dos copias de cada una de las proteínas H2A, H2B, H3 y H4.¹⁴ Este octámero forma a las histonas las cuales están enrolladas en conjunto con el ADN por alrededor de 200 pares de bases nitrogenadas.¹⁴

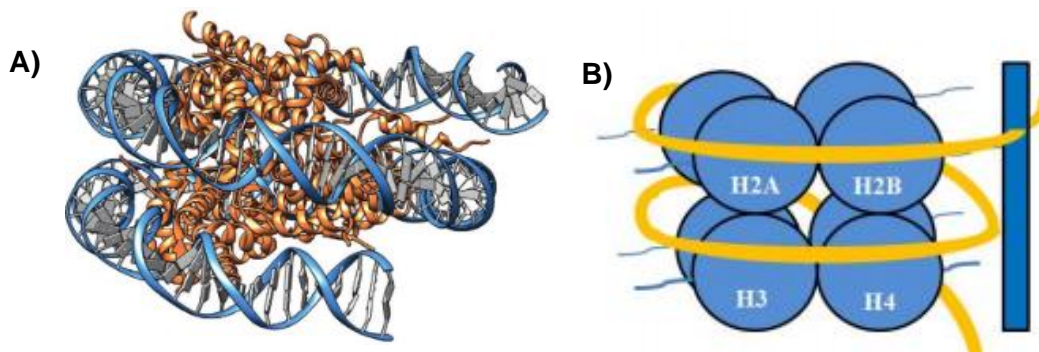


Figura 3. A) nucleosoma unidad básica de cromatina y B) octámero que conforma al nucleosoma

La importancia de la cromatina radica en que mantiene estrictamente regulado el acceso de proteínas reguladoras con sitios de unión al ADN. Las modificaciones de las histonas alteran la estructura de los nucleosomas y por tanto de la cromatina, activando así el proceso de transcripción, en los que la cromatina está en estado de eucromatina (conformación laxa, en que la información del ADN puede ser leída), o estado “apagado”, en que la cromatina adopta conformación de heterocromatina (conformación compacta, que impide la lectura),¹⁵ respectivamente (**Figura 4**).

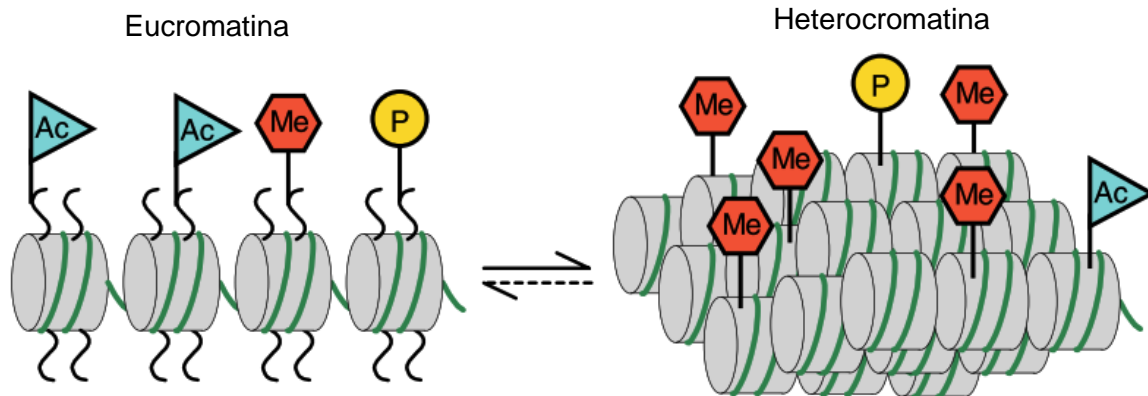


Figura 4. Eucromatina (conformación laxa o relajada), heterocromatina (conformación compactada).

Debido a que el ADN tiene carga negativa proporcionada por sus grupos fosfatos y la histona al tener carga positiva debido a sus residuos de lisina que están protonados, se encuentran enrollados por interacciones iónicas, por lo cual no es posible acceder al ADN para realizar algún proceso como replicación, traducción o transcripción.¹¹

Para regular estos procesos se lleva a cabo una modificación postraducciona en los *N*-terminales (residuos de lisina) de las histonas promoviendo de esta manera la maquinaria para la transcripción de genes, esta modificación postraducciona se lleva a cabo por la acetilación reversible de los residuos de lisina y está regulada por dos enzimas una de ellas es la Histona Acetil Transferasa (HAT) y la Histona Desacetilasa (HDAC).^{11,12}

2.8 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE HISTONAS

Las proteínas histónicas pueden estar muy marcadas con modificaciones postraduccionales (PTM por sus siglas en inglés) como grupos de acetilo, metilo fósforo en distintos residuos de aminoácidos.^{13,16} Estas modificaciones se localizan principalmente en las colas *N*-terminales de las histonas que sobresalen del nucleosoma, estas PTM contribuyen a la regulación de los genes de dos maneras distintas: por mecanismos vía *cis* o acciones por vía *trans*.¹⁶ Los mecanismos por vía *cis* alteran las interacciones intra e inter-nucleosómicas lo que produce cambios en la estructura y compactación de la cromatina.

Por el contrario, los mecanismos de regulación trans sirven como señales para el reclutamiento de factores específicos de lectura/escritura/borrado, que participan en la remodelación de la cromatina, la activación de los genes u otros procesos biológicos.¹⁶ De esta manera, los mecanismos de regulación vía cis y vía trans funcionan de manera concertada y contribuyen a la modulación y regulación de la transcripción, la replicación del ADN, la condensación de los cromosomas. Todos estos procesos tienen consecuencias para el destino celular y el equilibrio entre un organismo y el medio ambiente.¹⁶

Como se mencionó antes hay diferentes modificaciones de histonas las cuales se abordarán a continuación:

➤ **Metilación:**

Hay diversos residuos en las histonas que pueden sufrir metilación, por ejemplo; los residuos de lisina pueden ser mono-, di- o tri-metilados, mientras que las argininas pueden ser mono- o di-metiladas, el grado de metilación a menudo define diferentes funciones biológicas.¹⁶ Por ejemplo, la monometilación suele estar asociada a la activación de transcripción mientras que la trimetilación de los residuos de lisina está relacionada con la represión. Estas metilaciones de arginina y de lisina participan en la regulación de la transcripción, la remodelación de la cromatina, la reparación del ADN, el procesamiento de ARN y transducción de señales.¹⁶

➤ **Acetilación:**

La acetilación de las histonas está implicada principalmente en la activación de los genes, debido a la propiedad de neutralizar una carga positiva de residuos de lisina, debilitando así las interacciones de las histonas con el ADN. Además, la acetilación está implicada en la reparación, la replicación y la condensación del ADN. La acetilación de la lisina es catalizada por las histonas acetiltransferasas (HAT) y la eliminación está mediada por las histonas deacetilasas (HDAC).¹⁶ Varios inhibidores de las HDAC inducen la apoptosis y la autofagia, lo que podría ofrecer nuevos enfoques en el tratamiento del paludismo y el cáncer.¹⁶

➤ **Fosforilación:**

La fosforilación reversible de los distintos residuos de aminoácidos en las proteínas desempeña un papel importante en la señalización celular, incluidas las redes de señalización que alimentan la cromatina. Se informa de que la fosforilación de las proteínas histónicas participa en la regulación de la reparación del ADN y la estructura de la cromatina.¹⁶

➤ **Ubiquitinación:**

La ubiquitinación de los residuos de lisina se encuentra predominantemente en las histonas H2A y H2B, contribuyendo a la labilidad de los dímeros facilitando los pasos iniciales de desmontaje de los nucleosomas durante la activación de la transcripción.¹⁶ Mientras que la monoubiquitinación se encontró recientemente que está involucrada en la regulación transcripcional y en la respuesta del daño del ADN.¹⁶

2.9. BLANCOS TERAPÉUTICOS EPIGENÉTICOS NOVEDOSOS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER.

Con todas las funciones celulares en las cuales las HDAC intervienen, y dado su papel en los procesos cancerosos, uno de los campos de investigación más importantes para los tratamientos contra el cáncer se basa en el desarrollo de moléculas que puedan inhibir la actividad de las HDAC.

2.9.1. HISTONAS DEACETILASAS.

Las histonas desacetilasas (HDACs) son enzimas encargadas de la desacetilación de los residuos de lisina en las histonas, así como también de un gran conjunto de proteínas no-histónicas involucradas en diferentes funciones como: factores de transcripción (p53, RB y más de 60 proteínas), además de las histonas acetil transferasas (HATs), de las propias HDACs, de enzimas de procesamiento de ARN, EF1 α (involucrada en la traducción), enzimas metabólicas, proteínas del citoesqueleto (α -tubulina, actina, cortactina), proteínas implicadas en la señalización celular, la apoptosis, reparación del ADN, la recombinación y la replicación, las chaperonas entre otras.¹⁷

Las histonas en sus extremos son ricas en residuos de lisina que se extienden hacia adelante y hacia fuera de ellas, por lo tanto, el acceso al ADN está controlado por modificaciones en estos residuos.¹³

Como se observa en la **Figura 5**, los residuos de lisina de las histonas tienen una interacción con los grupos fosfatos del ADN, de esta manera se enrollan en conjunto formando al nucleosoma, cuando se lleva a cabo la acetilación mediada por la HATs, impide la interacción iónica debilitando la unión entre el DNA y la histona reduciendo la compactación de la cromatina, así favoreciendo la transcripción de genes, por otro lado, las HDACs promueven la desacetilación de los residuos de lisina regresando a su forma compactada y así silenciando la transcripción.^{11,13}

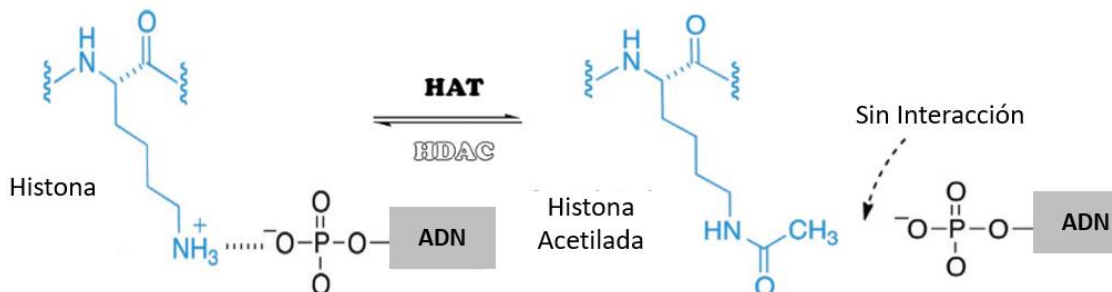


Figura 5. Acción de Histonas Acetil Transferasas (HATs) e Histonas Acetil Desacetilasas (HDACs). (La acetilación llevada a cabo las HATs en los residuos de lisina no permite la interacción con el grupo fosfato del ADN).¹¹

En la **Figura 6** se observa el proceso de desacetilación catalizado por Zn^{2+} en el residuo de lisina mediado por la enzima HDAC, previamente acetilado por la HAT. Se lleva a cabo una polarización del oxígeno del carbonilo del grupo *N*-acetilo y la activación de una molécula de agua por un sistema de carga formado por residuos de ácido aspártico e histidina (**Figura 6, A**), el ataque nucleofílico del agua al carbonilo da lugar a la formación de un intermediario tetraédrico, estabilizado por dos interacciones zinc-oxígeno y por un puente de hidrogeno con el hidroxilo de Tyr-303 (**Figura 6, B**), el paso final del proceso se lleva a cabo por la ruptura del intermediario tetraédrico del enlace C-N con la protonación concomitante de His-140-Asp-174, dejando al residuo de lisina libre y acetato como subproducto (**Figura 6, C**).¹¹

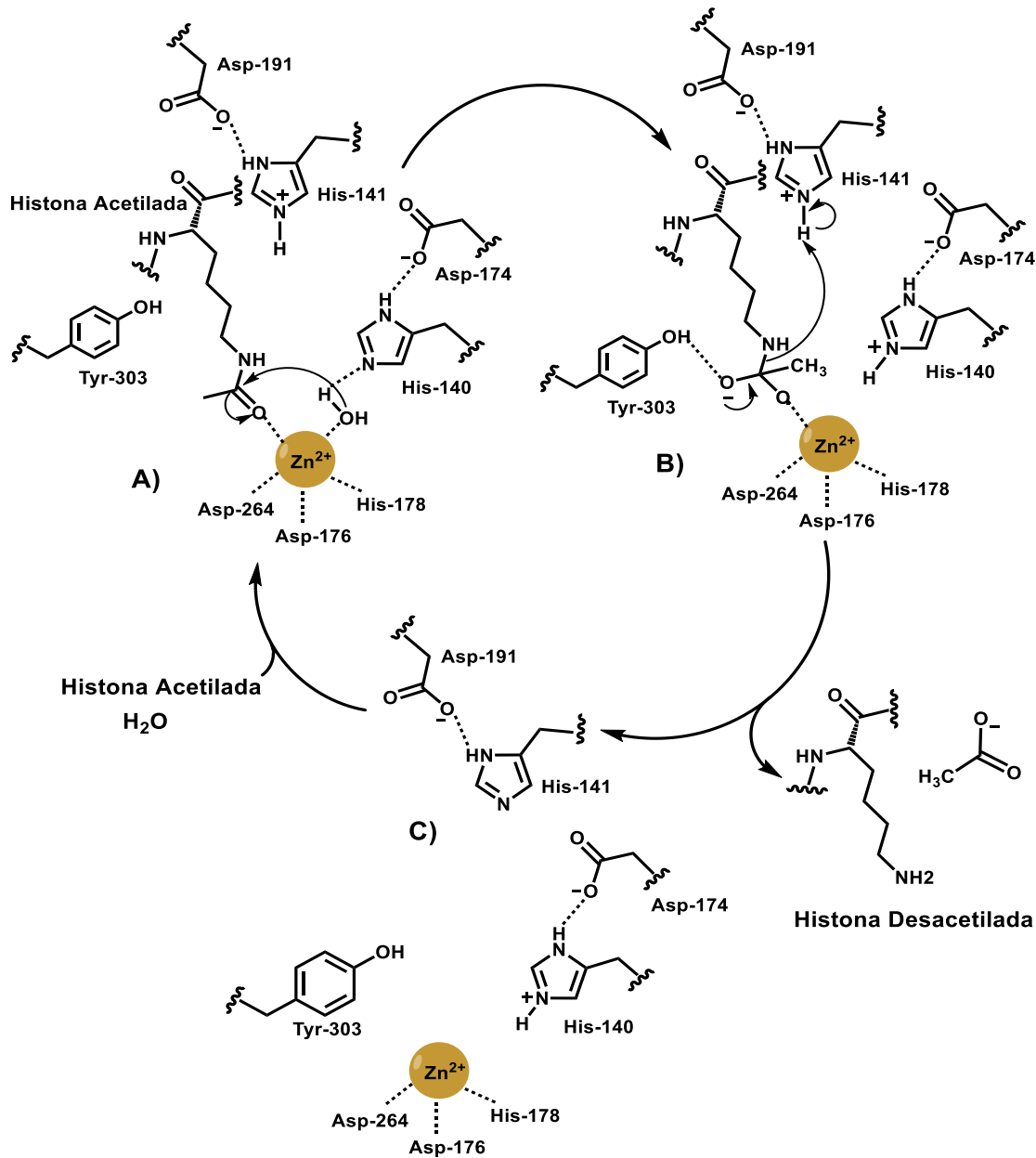


Figura 6. Proceso de desacetilación del residuo de lisina mediada por HDAC.¹¹

2.9.2 CLASIFICACIÓN DE LAS HDACS.

La familia de las HDACs comprende (hasta la fecha) 18 tipos de enzimas humanas que han sido identificadas¹² y se dividen en dos grupos: HDACs dependientes de zinc y HDACs dependientes de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) también conocidas como sirtuinas.¹⁸ Las HDACs dependientes de zinc se clasifican en 4 clases: Clase I, Clase IIA, Clase IIB y Clase IV.¹⁸

2.9.2.1 ENZIMAS HDAC CLASE I.

Las enzimas que pertenecen a esta familia son HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8, donde las primeras tres se localizan en el núcleo mientras que HDAC8 se encuentra en núcleo y citoplasma. Las enzimas HDAC1, HDAC2 y HDAC3 forman parte de complejos multiproteicos involucrados en la represión transcripcional.^{12,17}

2.9.2.2 ENZIMAS HDAC CLASE IIA.

Las enzimas que pertenecen a esta clase, son enzimas de tejidos específicos y participan en la diferenciación celular, así como en el desarrollo del esqueleto, del corazón, músculo liso, sistema inmunológico, huesos, sistema vascular, y cerebro, causando una represión transcripcional. La clase Iia está constituida por las HDAC 4, 5, 7 y 9. La clase Iia contiene un dominio desacetilasa perpetuado por un dominio *N*-terminal que regula la unión de DNA a través de un enlace nuclear-citoplasmático. La fosforilación dependiente de la señal del residuo de lisina del dominio *N*-terminal, determina si deben permanecer o abandonar el núcleo, de esta manera se regula la formación endocondral y la hipertrofia ósea, mediante la HDAC4 y la regulación de la apoptosis en timocitos por la HDAC7.^{12,17}

2.9.2.3 ENZIMAS HDAC CLASE IIB.

La clase Iib está compuesta solo por dos enzimas HDAC6 y HDAC10, ambas tienen una estructura similar, con dos dominios catalíticos (CD1, CD2) que interactúan y ambos sitios señalan hacia afuera de la proteína haciéndolos disponibles para el sustrato. El dominio catalítico CD2 es indispensable para funciones dependientes de las enzimas mientras que CD1 es enzimáticamente activo, CD1 desacetila los residuos de lisina de diferentes proteínas y CD2 desacetila principalmente a la α -tubulina.^{12,19}

2.9.2.4 ENZIMAS HDAC CLASE IV.

En esta familia solo se encuentra la HDAC11 de la cual no hay demasiada información, se ha descubierto que está implicada en el linfoma de Hodgkin (HL). Los altos niveles de HDAC11 se encuentran en las neoplasias mieloproliferativas crónicas (CMPN) negativas de Filadelfia.^{12,17}

2.10 HISTONA DEACETILASA 6.

La HDAC6 es un miembro de la clase IIb de las histonas desacetilasas, localizada principalmente en el citoplasma.^{17,20} Es una isoforma de las HDAC dependiente de Zn^{2+} ,^{17,21} la cual fue identificada y caracterizada por primera vez como una tubulina desacetilasa.²² Esta HDAC contiene dos dominios catalíticos, uno situado en el extremo *N*-terminal y en la parte central de la proteína, los cuales parece que trabajan independiente uno del otro.^{17,21}

La enzima HDAC6 realiza su actividad enzimática desacetilasa principalmente en sustratos no-histonas,^{21,23,24} por ejemplo en α -Tubulina desacetilando para la motilidad celular dependiente de microtúbulos,^{17,23} sobre la proteína HSP90,^{23,25} está involucrada en la regulación epigenética mediado por MTA-1 de la expresión de ESR1 en el cáncer de mama,¹⁷ regula la migración endotelial celular y la angiogénesis vía desacetilación de la cortactina.^{17,23}

También juega un papel importante en la regulación de expresión de genes y la modificación estructural del cromosoma,²⁶ ya que como se mencionó anteriormente las histonas se acetilan en residuos de lisina¹³ para relajar la estructura y permitir que varios factores de transcripción se unan a los diferentes sitios del ADN, resultando en la transcripción de genes en el núcleo,²⁶ proceso llevado a cabo por las Histonas Acetil Transferasas.¹³ Entonces, la HDAC6 hace que la histona se desacetile y se combine estrechamente con el ADN cargado negativamente para hacer que la cromatina sea densa y rígida, inhibiendo así la transcripción de genes.²⁶

Debido al gran número de sustratos no-histonicos de la enzima HDAC6, los inhibidores de esta enzima asumen funciones en múltiples vías dentro de la células lo que le infiere un amplio espectro de funciones terapéuticas, por ejemplo:

enfermedades neurodegenerativas, enfermedades autoinmunes,^{22,23} en la respuesta inflamatoria,²⁰ en la colitis, hipertensión, apoplejías, en el estrés oxidativo, en la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, y en la enfermedad del Alzheimer.²² Y principalmente en el grupo de enfermedades denominada cáncer.^{22,23}

La inhibición selectiva de HDAC6 es un objetivo viable para el tratamiento de una gran variedad de neoplasias sólidas y hematológicas tales como: linfomas, leucemias y mielomas, cáncer de mama, pulmón, hígado, próstata, vejiga, colon y melanomas.²² El efecto antitumoral a través de la inhibición de HDAC6, es a través de múltiples mecanismos (**Figura 7**), por ejemplo, la motilidad/migración celular, invasión, angiogénesis, inducción de apoptosis e inhibición de la reparación del ADN.²² Por esta razón se ha vuelto un blanco terapéutico novedoso debido a su amplio espectro terapéutico.

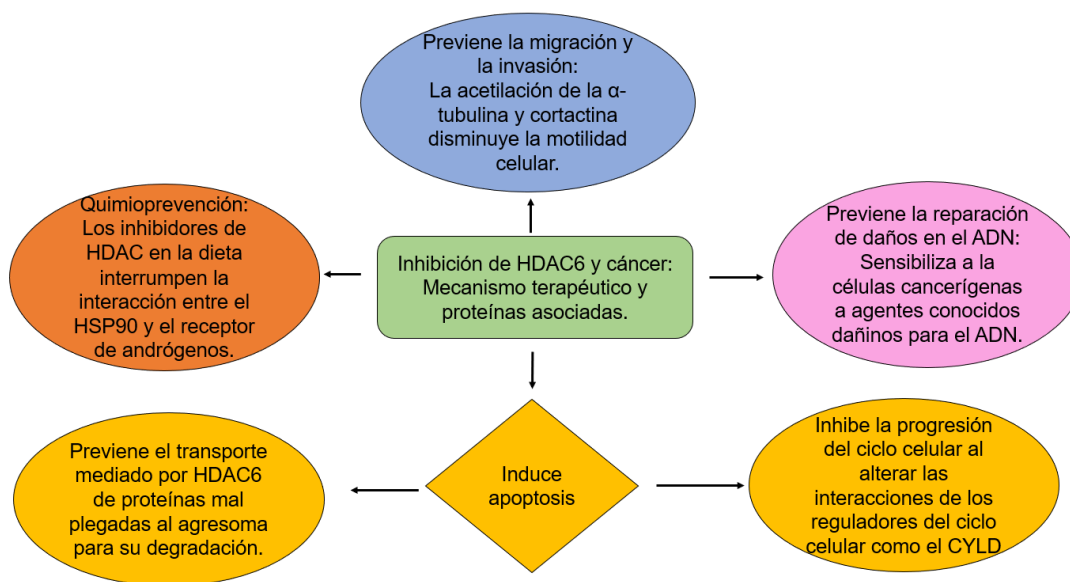


Figura 7. Mecanismos terapéuticos que relacionan la inhibición de la HDAC6 con el tratamiento del cáncer.²²

2.11 HISTONA DEACETILASA 8 (HDAC8).

La histona desacetilasa 8 es una enzima que pertenece a la clase I de HDACs,^{17,27} se diferencia de otros miembros de la clase I por ser la única enzima que carece de del dominio de unión a proteínas C-terminal.^{27,28} Además se expresa abundantemente en el cerebro, en la próstata y en los ojos en niños.^{28,29}

Al igual que la HDAC6, la HDAC8 puede actuar sobre proteínas no-histónicas, como cohesina, cortactina, el receptor relacionado con estrógenos (ERR α), SMC3, EPR α , y p53.^{30,31} Sin embargo, es un hecho que sus dianas principales son las histonas.²⁸ Al interactuar con estas proteínas no-histónicas, es como controla diversos procesos, como la separación de cromátidas hermanas, la homeostasis energética, la integridad de los microtúbulos y la contracción muscular.³² Por estas razones se encuentra involucrada en diversas patologías dentro del cuerpo humano.

La sobreexpresión de HDAC8 se relaciona con varios tipos de enfermedades, como en el Síndrome de Cornelia de Lange (CdLS),³³ en la schistosomiasis,³⁴ principalmente en diferentes tipos de cáncer como neuroblastoma en niños, linfoma de células T, cáncer de colon, leucemia mielógena aguda, cáncer de mama, de pulmón, de ovario, de páncreas, de próstata, cervical, gástrico, uterino.^{27, 29, 30, 32, 33, 34, 35} En la **Figura 8** se muestra una imagen de las implicaciones de la HDAC8 en diferentes tipos de cáncer.

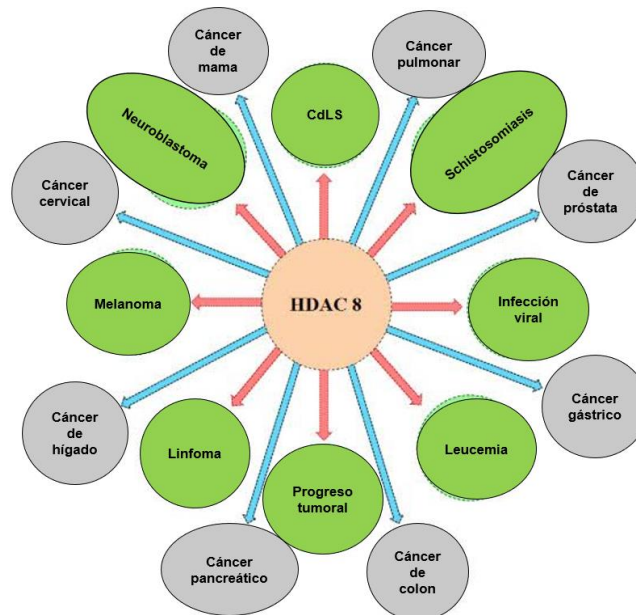


Figura 8. Implicaciones de HDAC8 sobre varios tipos de cáncer.³⁵

La proliferación celular se reduce en un 45%²⁹ al inhibir la enzima HDAC8 por medio del ARN de interferencia (RNAi) sobre líneas celulares de cuello uterino, colon, pulmón.^{29, 30, 34} Asimismo al inhibir la HDAC8 induce la apoptosis en linfomas derivados de células T y en líneas celulares de leucemias.²⁷

2.12 HDAC's COMO DIANA TERAPEUTICAS.

El cáncer al ser un conjunto de enfermedades, tiene diferentes mecanismos fisiopatológicos que lo desencadenan y debido a esto es difícil tratar cada uno de ellos, por lo cual se procede a identificar cuales enzimas, proteínas y/o receptores se encuentran sobreexpresadas causando alguna alteración en la función celular. En este proyecto se proponen como dianas terapéuticas dos enzimas: HDAC6 y HDAC8, cuales se encuentran sobreexpresadas en varios tipos de cáncer tales como cáncer de colon, de pulmón, leucemia entre otros.^{2, 22, 27, 29, 34}

2.12.1 TRATAMIENTOS DISPONIBLES PARA EL CÁNCER.

Para el tratamiento de este conjunto de enfermedades se consideran tres pilares fundamentales la cirugía, la quimioterapia y radioterapia.⁴ La decisión de qué tipo de tratamiento irá conforme a las necesidades del paciente.

La cirugía en caso de ser un tumor, se puede hacer un diagnóstico y dependiendo del lugar del cuerpo donde se encuentre y que tan diseminado se encuentre el cáncer, se realiza una valoración y optar por una extirpación parcial o completa.⁴

La radioterapia consiste en el uso de rayos X u otras partículas con alta potencia para destruir células cancerosas y demorar el crecimiento del tumor sin dañar el tejido sano cercano.^{4,36}

La quimioterapia es una técnica terapéutica ampliamente usada que consiste en la administración de fármacos, de los cuales hay tres tipos: naturales, sintéticos o semisintéticos, los cuales a su vez se dividen en citotóxicos y citostáticos,⁴ debido a que las células cancerosas se dividen y crecen de una manera más acelerada que las células normales la quimioterapia tiene mayor efecto sobre estas células, sin embargo, los fármacos que utilizan no son selectivos y dañan a células sanas.³⁷

Por lo que en este proyecto se abordan fármacos de tipo sintético tales como los ácidos hidroxámicos, que son capaces de interferir en la acción de las HDACs, inhibiéndolas, de tal manera que se recupere la expresión normal de genes implicados la regulación de proliferación y muerte celular de implicados en el desarrollo del cáncer.

2.12.2 ÁCIDOS HIDROXÁMICOS

Son moléculas que pueden ser representadas con la fórmula general $R_1\text{CONHOH}$ donde R_1 puede ser un anillo aromático mono, di o tri sustituido, con una cadena de carbono saturada o insaturada en R_1 conectado al anillo aromático (**Figura 9**).

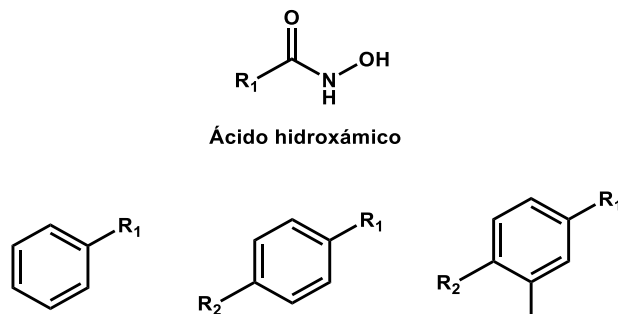


Figura 9. Estructura base de un ácido hidroxámico.

Estos tipos de compuestos son potentes inhibidores de las HDAC y entran en el contexto de inhibidores de la metaloproteasa de la matriz celular, por ello su relación con la inhibición de las HDAC es debido a que son potentes agentes quelatantes de Zn^{2+} ,¹¹ se puede observar en la **Figura 10** la HDAC8 formando un quelato con el átomo de Zn^{2+} y el ligando co-cristalizado Tricostatina, el cual es un antimicótico asilado de *Streptomyces* que es un potente inductor de la diferenciación y de la detención del ciclo celular así como un potente inhibidor de las HDAC 1-9.

La Tricostatina demostró una actividad antitumoral eficaz, pero con diversos efectos indeseables y no se pudo continuar con los estudios clínicos.¹¹

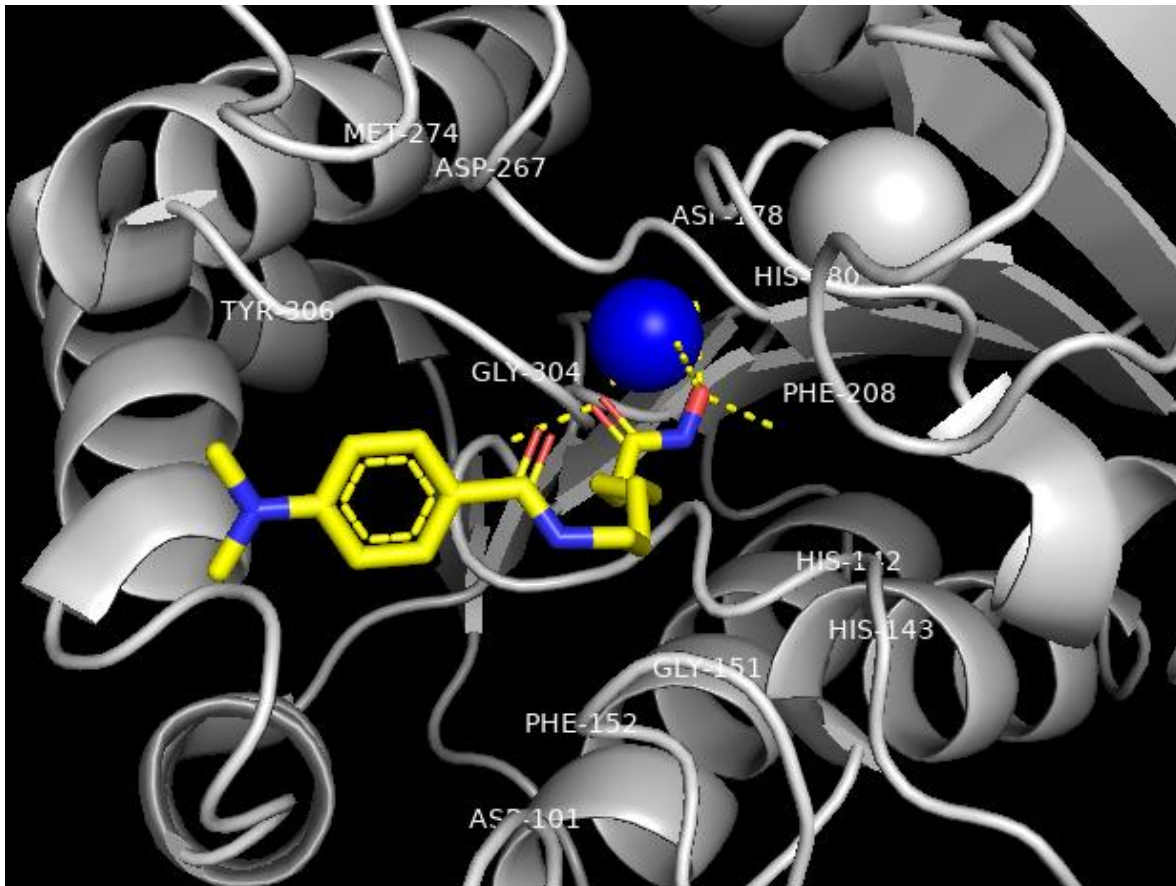


Figura 10. Formación del quelato entre el ácido hidroxámico (Tricostatina en amarillo) y el átomo de Zn^{2+} (azul) de la HDAC8.

Los ácidos hidroxámicos se han convertido en una clase privilegiada de compuestos debido a que presentan una potente y amplia gama de actividades farmacológicas;³⁸ actúan como potentes y selectivos inhibidores de varias enzimas como metaloproteínas de matriz celular, peroxidasa, hidrolasa, ureasa, lipoxigenasa, ciclooxigenasa, histonas desacetilasa, péptido deformilasa;³⁹ también tienen actividades reportadas como agentes hipotensivos, anticancerígenos, antimaláricos, antituberculosos, antifúngicos, poseen actividad contra el virus del VIH, contra Alzheimer y contra desórdenes cardiovasculares.³⁹

Otras actividades importantes que tienen los ácidos hidroxámicos es sobre el sistema nervioso central (SNC), ya que tienen selectividad sobre el receptor GABA_c el cual facilita el aprendizaje y el desarrollo de la memoria; también tienen

aplicaciones sobre las enfermedades metabólicas como diabetes y sobre Alzheimer ya que se han identificado compuestos ácidos hidroxámicos que muestran actividad sobre la enzima degradadora de insulina (IDE), que es una zinc-metalopeptidasa, encargada de degradar a la insulina y a la proteína β -amiloide.³⁸

La Administración de Fármacos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés), ha aprobado 4 moléculas cuyo mecanismo está basado en la inhibición de las HDAC's, la primera de ellas fue el Vorinostat (SAHA) (**Figura 11, 1**), la cual tiene actividad contra linfoma cutáneo de células T, el Belinostat (**Figura 11, 2**) fue la segunda, para el tratamiento del linfoma periférico de células T recidivante o refractario y por último el Panobinostat (**Figura 11, 3**) para el tratamiento del mieloma múltiple. Cabe mencionar que son inhibidores ampliamente usados en leucemias, pero tienen poco éxito sobre tumores sólidos.¹⁷

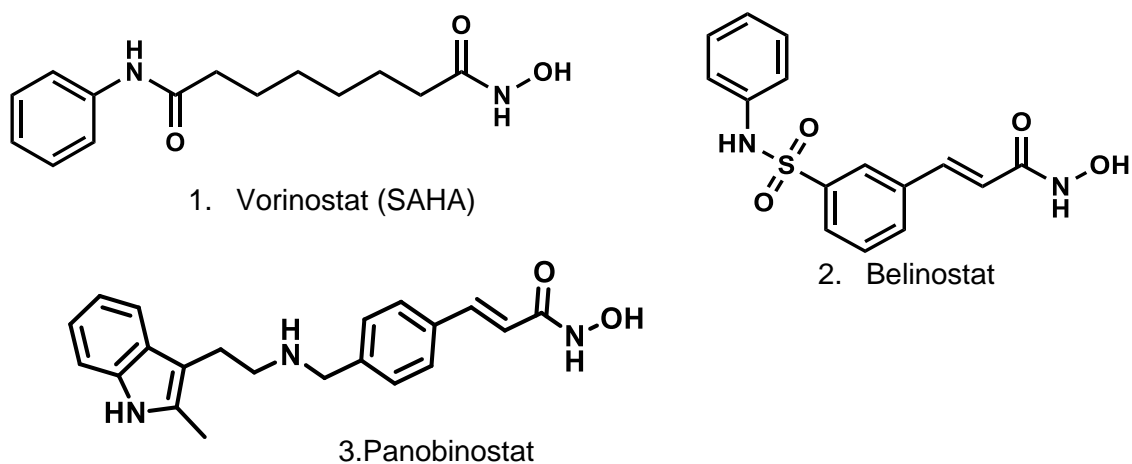


Figura 11. Inhibidores de histonas desacetilasas aprobados por la FDA.

En la **Tabla 4**, se presentan algunas propiedades terapéuticas y farmacocinéticas de los fármacos de tipo ácido hidroxámico aprobados por la FDA,⁴⁰ estos fármacos presentan grandes diferencias, a pesar de ser ácidos hidroxámicos, variando la dosis en cada uno, su formulación, su tiempo de vida media ($T_{1/2}$) y su unión a proteínas.

Tabla 4. Propiedades terapéuticas y farmacocinéticas de Vorinostat, Belinostat y Panobinostat.⁴⁰

	Vorinostat	Belinostat	Panobinostat
Indicación	Linfoma cutáneo de células T	Linfoma de células T recidivante o refractario	Mieloma múltiple
Formulación	Cápsulas (tomar con la comida)	Solución IV	Cápsulas
Dosis en adultos	400 mg una vez al día	1000 mg/m ² diarios en los días 1-5 de un régimen de 21 días	20 mg una vez cada 3 días (en los días 1, 3, 5, 8, 10 y 12) en ciclos de 21 días.
T_{1/2} (h)	2	1.1	30
Unión a proteínas (%)	71	93-96	90
Metabolismo	Hidrólisis, β -oxidación, glucoronidación.	Glucoronidación, oxidación catalizada por CYP 450 (menor proporción)	Glucoronidación, hidrólisis, reducción, hidroxilación, α y β -oxidación.
Excreción	Principalmente renal	Principalmente renal	Principalmente heces
Efectos adversos	Diarrea, fatiga, náusea, anorexia.	Anemia, trombocitopenia, prolongación QTc, náuseas	Trombocitopenia, linfopenia, neutropenia, diarrea.

2.13 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL ÁCIDO FERÚLICO Y DEL ÁCIDO *p*-CUMÁRICO

➤ Ácido Ferúlico

El ácido (*trans*)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enoico o también conocido como ácido ferúlico (**Figura 12, A**), está presente en varias especies vegetales, frutales y cereales (piña, plátanos, semillas de café, cacahuates, nueces, arroz y trigo), es derivado del ácido cinámico (**Figura 12, B**). El ácido ferúlico, presenta varias actividades biológicas como: antialérgico, antioxidante, hepatoprotector, antiinflamatorio, antiviral, vasodilatador, antitrombótico, como agente antidiabético, destacando su actividad como agente anticarcinogénico,⁴¹ por la cual se seleccionó para hacer la síntesis que será derivada de este compuesto natural. La actividad anticancerígena del ácido ferúlico está relacionada con su capacidad de eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) y estimular enzimas citoprotectoras.⁴²

➤ Ácido *p*-cumárico

El ácido 4-hidroxicinámico o ácido *p*-cumárico (**Figura 12, C**), está presente en hongos, en frutas, vegetales y cereales (manzanas, uvas, peras, naranjas, frijoles, papas, cebollas, maíz, avena y trigo). Posee diferentes tipos de actividades biológicas tales como: antioxidante, antiinflamatorio, antiulceroso, antiagregante-plaquetario, como agente antiinfectivo, destacando de igual manera su actividad como agente anticarcinogénico y antimutagénico.^{43,44} Debido a estas propiedades biológicas, se tomó al ácido *p*-cumárico como estructura base para compuestos sintéticos derivados de este, con posible actividad citotóxica. La actividad anticancerígena que ha sido reportada es como un agente que inhibe la proliferación celular probablemente afectando diferentes fases del ciclo celular e inducir la apoptosis a través de la vía ROS-mitocondrial.⁴³

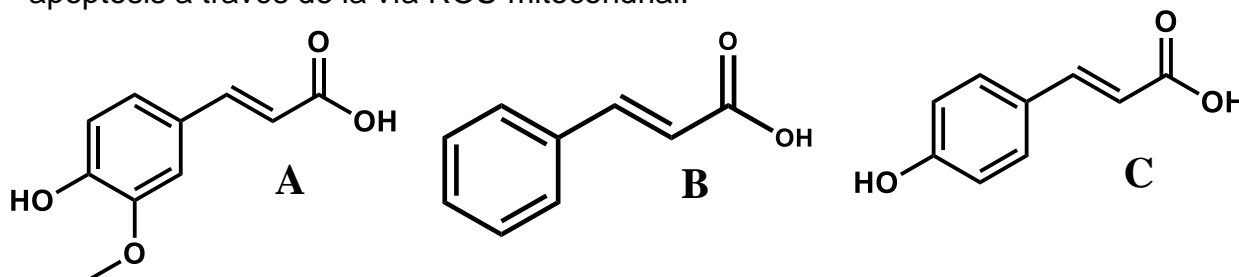


Figura 12. A) ácido cinámico B) ácido ferúlico C) ácido *p*-cumárico.

3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es una enfermedad degenerativa, siendo una de las principales causas de mortalidad en el mundo, con 9.6 millones de muertes reportadas durante el año 2018¹, presentando más de 18 millones de casos de cáncer en el mundo durante este mismo año.³ En México se reportaron más de 190 mil casos en el 2018.

Diversos estudios han identificado alteraciones epigenéticas en el desarrollo carcinogénico, como silenciamiento transcripcional de GST. Entre los principales mecanismos de alteraciones epigenéticas se encuentra los implicados con cambios en la estructura de la cromatina asociado a las modificaciones postraduccionales de histonas como la desacetilación la cual ha sido significativa en el desarrollo del cáncer y está asociada con la frecuente sobreexpresión de las HDAC, las cuales se sobreexpresan en varios tipos de cáncer.

Entre los agentes con la capacidad de inhibir la actividad de HDAC se encuentra el vorinostat, un fármaco de tipo ácido hidroxámico, aprobado para su uso en los síndromes mielodisplásicos y ha mejorado la supervivencia de pacientes, pero debido a su alta toxicidad limita su uso a una pequeña serie de indicaciones clínicas. En consecuencia, sigue habiendo una necesidad de inhibidores de las HDACs, particularmente aquellos con una mayor potencia o citotoxicidad inferior. Debido a lo anterior, es imprescindible diseñar y generar nuevas alternativas terapéuticas como moléculas que inhiban las enzimas HDACs. Con estas moléculas inhibidoras se lograría re-expresar en la medida correcta los genes silenciados y al mismo tiempo, frenar la proliferación celular e inducir muerte de las células cancerosas.

4. HIPOTESIS

Los compuestos ácidos hidroxámicos derivados de los productos naturales tales como ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico serán inhibidores virtuales de las enzimas HDAC6 y HDAC8, provocando un efecto citotóxico selectivo.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar, sintetizar y evaluar *in silico* 4 compuestos de tipo ácido hidroxámico derivados del ácido ferúlico y del ácido *p*-cumárico, como potenciales inhibidores de las enzimas HDAC6 y HDAC8, con efecto citotóxico.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar 4 compuestos de tipo ácido hidroxámico: 2 derivados del ácido ferúlico y 2 del ácido *p*-cumárico (**JOD 1-4**).
- Caracterizar los compuestos por medio de técnicas espectroscópicas RMN (^1H y ^{13}C) y espectrométricas (masas IE-EM).
- Evaluar *in silico* los 4 compuestos **JOD 1-4** para predecir las propiedades ADMET y citotóxicas.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular de los compuestos **JOD 1-4** sobre las enzimas HDAC6 y HDAC8.
- Evaluar *in vitro* la actividad citotóxica frente a un panel de 3 líneas celulares tumorales (MDA-MB-231, MCF-7 y HeLa).

6. CONSIDERACIONES QUÍMICO FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO MOLECULAR

Los inhibidores de las histonas desacetilasas (HDACI's) promueven la acetilación de histonas y de proteínas no histónicas, para ejercer una actividad antiproliferativa.²⁹ Los HDACI's posiblemente inhiben el mecanismo de regeneración del ADN, detienen el proceso del ciclo celular, inducen la apoptosis y alteran la expresión génica.^{29,30}

El farmacóforo típico de un HDACI sigue un diseño tri-partita (lineal o bifurcado), que está conformado estructuralmente está formado por un grupo de unión (quelante) de zinc (ZBG, por sus siglas en inglés), un espaciador que puede ser flexible o rígido, aromático o hidrocarburos cíclicos y también puede ser una cadena alifática saturada o insaturada, un grupo de reconocimiento de superficie o grupo de taponamiento (Cap group) (**Figura 13**).^{29,35,45}



Figura 13. Diseño tri-partita de HDACI's.⁴⁵

Los HDACI's en su mayoría son ácidos hidroxámicos,³⁸ los cuales cuentan con las características anteriormente mencionadas. A continuación, se hace una descripción de la molécula **LAQ824 (Figura 14)** de cada una de las partes que lo conforma, siendo este el fármaco típico de los ácidos hidroxámicos:

- El grupo hidroxamato o ácido hidroxámico (ZBG) es la parte esencial del fármaco debido a que forma un quelato bidentado con Zn^{2+} .
- El enlace α,β -insaturado es una característica estructural crítica, ya que confiere reactividad al compuesto mediante la formación de enlaces covalentes a través de una reacción de adición de Michael.
- El anillo central *p*-sustituido es necesario y puede tener pequeñas sustituciones en la posición 3.
- El espaciador flexible debe contener un nitrógeno básico para disminuir el metabolismo con una distancia óptima de 2-4 átomos hacia el anillo terminal.
- El grupo anillo terminal puede ser un anillo aromático o bicíclo de tipo carbocíclo o heterocíclo.⁴⁶

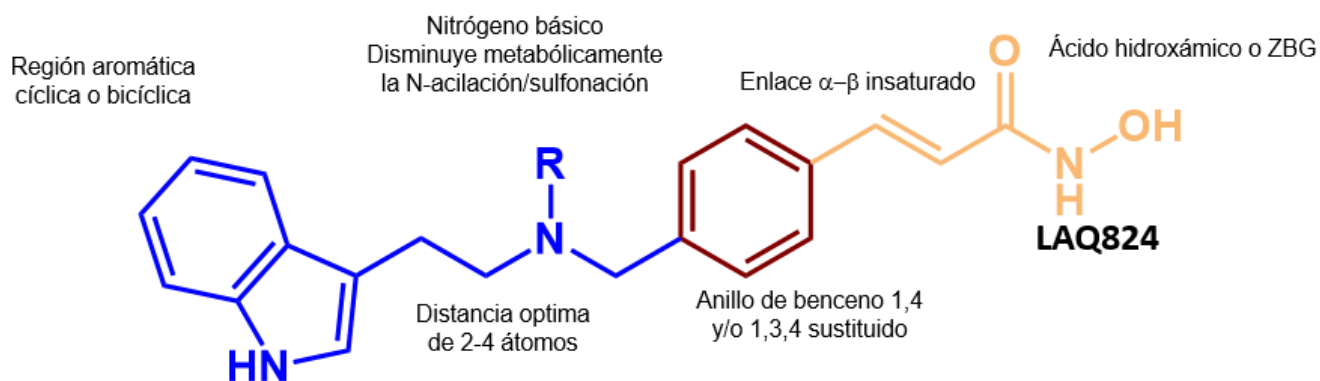


Figura 14. Fármaco y SAR de los ácidos hidroxámicos.⁴⁶

De acuerdo con las características descritas, se procedió a diseñar las moléculas a sintetizar en este proyecto, debido a que el grupo ácido hidroxámico es necesario para la quelatación con el Zn^{2+} , se deja intacto, de la misma manera el enlace α,β -insaturado en configuración *trans*, debido a que la configuración en *cis* y el enlace saturado carecen de actividad.⁴⁶ El anillo aromático de benceno puede estar disustituido en la posición 1-4 y también puede tener una pequeña sustitución en la posición 3 de tipo metoxilo.⁴⁶

Se realizó un cambio biosiestérico clásico divalente del nitrógeno que se encuentra en el espaciador flexible por el oxígeno, con una cadena de 2 átomos que lo conecta con un grupo arilo rico en electrones de tipo biciclo aromáticos como el anillo de naftaleno y el anillo de quinolina, dando lugar a los compuestos finales **JOD 1-4** (Figura 15).

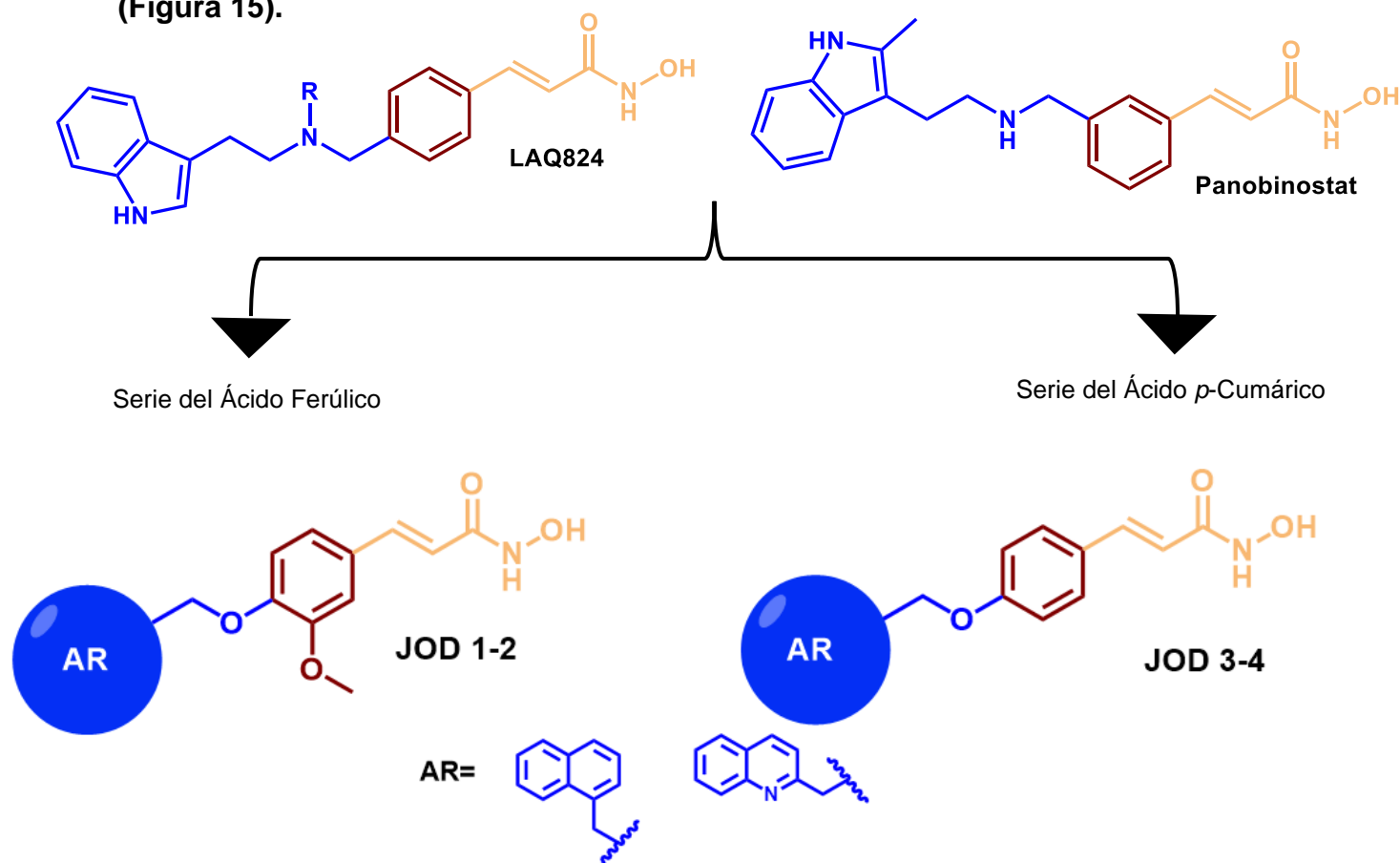


Figura 15. Compuestos finales JOD 1-4.

Como se puede observar en la **Figura 15** los compuestos conservan el patrón farmacofórico de tipo tripartita (lineal) de la molécula **LAQ824** y del fármaco panobinostat, cabe mencionar que guardan la estructura base de los compuestos ácido ferúlico para los compuestos **JOD 1-2** y la estructura base del ácido *p*-cumárico para los compuestos **JOD 3-4** esto se observa en la sustitución de tipo metoxi en la posición 3 del anillo aromático central que presentan los compuestos **JOD 1-2** a comparación de los compuestos **JOD 3-4** que no la presentan al igual que el ácido *p*-cumárico.

7. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

El proyecto consta de 3 partes:

- **Parte *in silico* (consenso farmacológico para la selección de un líder computacional seguro):**

Este proceso de análisis requiere del uso de diversas herramientas químico-informáticas para realizar los cálculos y predicciones de diversas propiedades de las moléculas, las cuales son:

- Propiedades farmacodinámicas: acoplamiento molecular (MOE) y Passonline.
- Propiedades farmacocinéticas: admetSAR y SwissADME.
- Propiedades fisicoquímicas: Molinspiration y SwissADME.
- Propiedades toxicológicas: ACD toxsuite, ADMETsar y CLC pred.

Estas propiedades calculadas son necesarias para discernir cuales compuestos cuentan con las mejores propiedades tanto farmacológicas, farmacocinéticas y toxicológicas, de esta manera podemos poner un orden de seguridad para cada compuesto, así como su prioridad para ser evaluados en ensayos tanto *in vitro* o *in vivo*. Por lo tanto, aquel o aquellas moléculas con las mejores propiedades farmacológicas, tendrán mayor probabilidad de ser agonistas, antagonistas, bloqueadores, activadores, inhibidores o sustratos de las diferentes dianas terapéuticas a las que van dirigidas, lo cual relaciona mejor en un ensayo biológico, al contrario de solo tener datos de un solo programa o de una sola propiedad.

- **Parte química:**

El diseño, síntesis y obtención de los compuestos finales **JOD 1-4** fue realizado en el Laboratorio 5 de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (FF-UAEM) bajo la dirección del Dr. Gabriel Navarrete Vázquez. La caracterización de los compuestos mediante técnicas espectroscópicas de RMN ^1H y ^{13}C se realizaron en colaboración con el Dr. Emmanuel Hernández Núñez del CINVESTAV, Mérida, Yucatán y con el Dr. Jaime Escalante García del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la UAEM.

Las técnicas espectrométricas en colaboración con el Dr. Emmanuel Hernández Núñez del CINVESTAV, Mérida, Yucatán, y con la Dra. Gabriela Ávila Villareal de la Universidad Autónoma de Nayarit.

➤ **Parte biológica (*in vitro*):**

La parte biológica (*in vitro*) se llevó a cabo en colaboración con el equipo de trabajo de la Dra. Rosa Moo Puc del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de Mérida, Yucatán. Se realizó un ensayo citotóxico midiendo la concentración citotóxica media (CC_{50}), sobre diferentes líneas celulares tumorales y sobre las células epiteliales renales de mono africano (VERO).

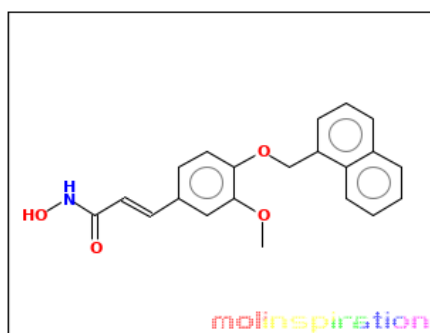
7.1 METODOLOGÍA *IN SILICO*: OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO.

7.1.1 MOLINSPIRATION.

Es un servidor en línea gratuito (**Figura 16**) (<https://www.molinspiration.com>), este programa brinda información importante sobre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas de interés como: Log P, área polar superficial, número de enlaces rotables y abarca el criterio de Lipinski conocido como la “regla de los 5” donde aborda el peso molecular, Log P, el número de donadores de hidrógeno, el número de aceptores de hidrógeno y el número de violaciones a esta regla la cual debe ser menor de 2.⁴⁷

molinspiration

miSMILES: COc1cc(C=CC(=O)NO)ccc1OCc2cccc3ccccc23



[Molinspiration_property_engine](#) v2018.10

miLogP	3.85
TPSA	67.79
natoms	26
MW	349.39
nON	5
nOHNH	2
nviolations	0
nrotb	6
volume	317.60

[Get data as text](#) (for copy / paste).

[Get_3D_geometry](#) BETA

This was request 1 out of 1000 available this month for your site 148.218.96.24
 With technology from Molinspiration you can easily setup similar service also directly on your intranet.
 Comments or questions ? See our [FAQ](#) and do not hesitate to provide feedback or contact us by email !

[New molecule](#) [Predict bioactivity](#) [About properties](#) [MyMolecules](#) [Molinspiration home](#)

©2019 Molinspiration Cheminformatics [Terms of service](#)

Figura 16. Interfaz del servidor en línea Molinspiration.

7.1.2 PASS ONLINE.

Es un servidor en línea gratuito (**Figura 17**) (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>) este servidor realiza una relación estructura-actividad con más de 250 000 moléculas activas biológicamente, prediciendo las posibles actividades biológicas como: efectos farmacológicos, mecanismos de acción, efectos tóxicos y adversos, interacciones con metabolitos, enzimas y transportadores, la influencia sobre la expresión de genes etc.⁴⁸ Cabe mencionar que arroja tanto valores de posible actividad (probabilidad) en el rango de 0-1 y posibles inactividades con rangos de 0-1.



Figura 17. Interfaz del servidor en línea PASS online.

7.1.3 ADMETSAR

Este es un servidor en línea gratuito **Figura 18** (<http://lmm.d.ecust.edu.cn/admetSar2>). Este programa brinda información sobre las propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad (ADMET) de las moléculas por medio de una relación estructura-actividad a través de más 96 mil compuestos con las que cuenta en su base de datos.⁴⁹

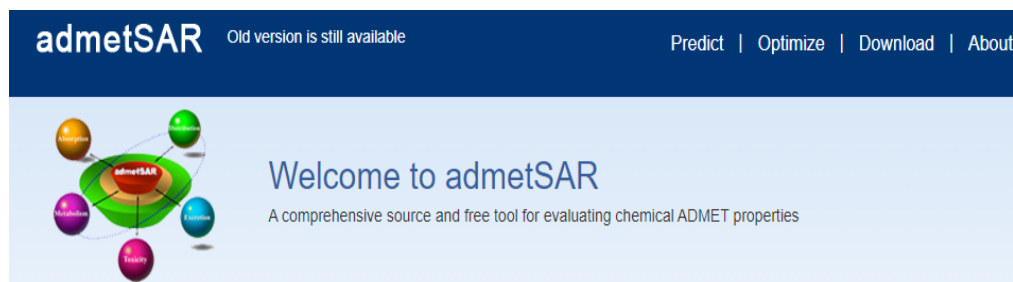
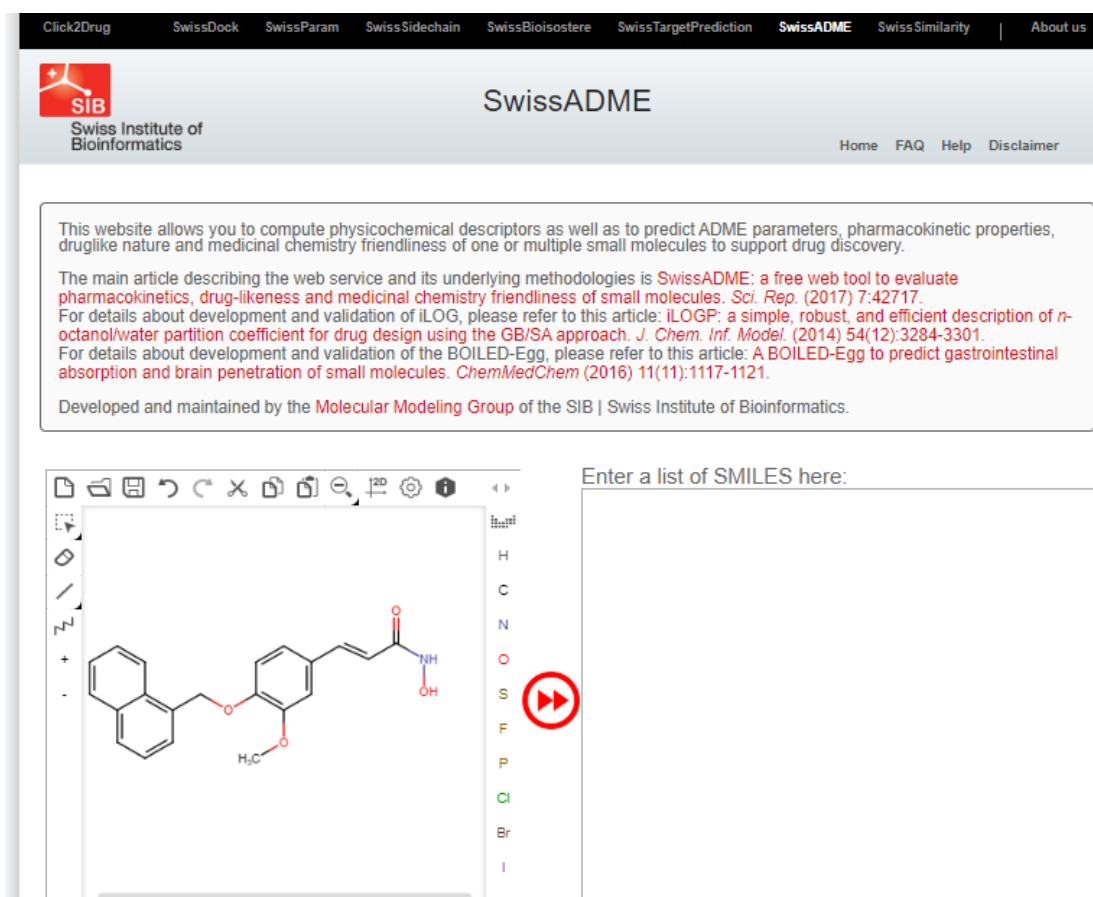


Figura 18. Interfaz del servidor en línea admetSAR.

7.1.4 SWISSADME

Este programa es un servidor en línea gratuito **Figura 19** (<http://www.swissadme.ch>) el cual proporciona la posibilidad de calcular parámetros ADME, propiedades farmacocinéticas de una o varias moléculas pequeñas.⁵⁰



Click2Drug SwissDock SwissParam SwissSidechain SwissBioisostere SwissTargetPrediction **SwissADME** SwissSimilarity About us

SIB
Swiss Institute of Bioinformatics

SwissADME

Home FAQ Help Disclaimer

This website allows you to compute physicochemical descriptors as well as to predict ADME parameters, pharmacokinetic properties, druglike nature and medicinal chemistry friendliness of one or multiple small molecules to support drug discovery.

The main article describing the web service and its underlying methodologies is [SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* \(2017\) 7:42717.](#)
For details about development and validation of iLOG, please refer to this article: [iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *J. Chem. Inf. Model.* \(2014\) 54\(12\):3284-3301.](#)
For details about development and validation of the BOILED-Egg, please refer to this article: [A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem* \(2016\) 11\(11\):1117-1121.](#)

Developed and maintained by the [Molecular Modeling Group](#) of the SIB | Swiss Institute of Bioinformatics.

Enter a list of SMILES here:

Figura 19. Interfaz del servidor en línea swissADME.

7.1.5 ACD/TOX SUITE: PREDICCIÓN DE EFECTOS TÓXICOS.

Este es un programa de paga el cual necesita una licencia para su uso (**Figura 20**), pertenece al paquete informático proporcionado por la compañía de ACD/Labs y Pharma Algoritmo.

Este servidor permite realizar la predicción de diferentes efectos tóxicos que pueden presentar las moléculas que se dibujan en el programa, las diferentes predicciones incluyen bloqueo de canales hERG, inhibición de diferentes isoformas del CYP450, toxicidad y DL₅₀. Las predicciones que realiza se basan en un modelo de relación estructura-actividad cuantitativa (Quantitative structure-activity relationships, QSAR por sus siglas en inglés) con la cual en su base de datos cuenta con más de 100,000 moléculas arrojando información muy valiosa sobre los posibles efectos tóxicos y adversos que tengan las moléculas de interés.

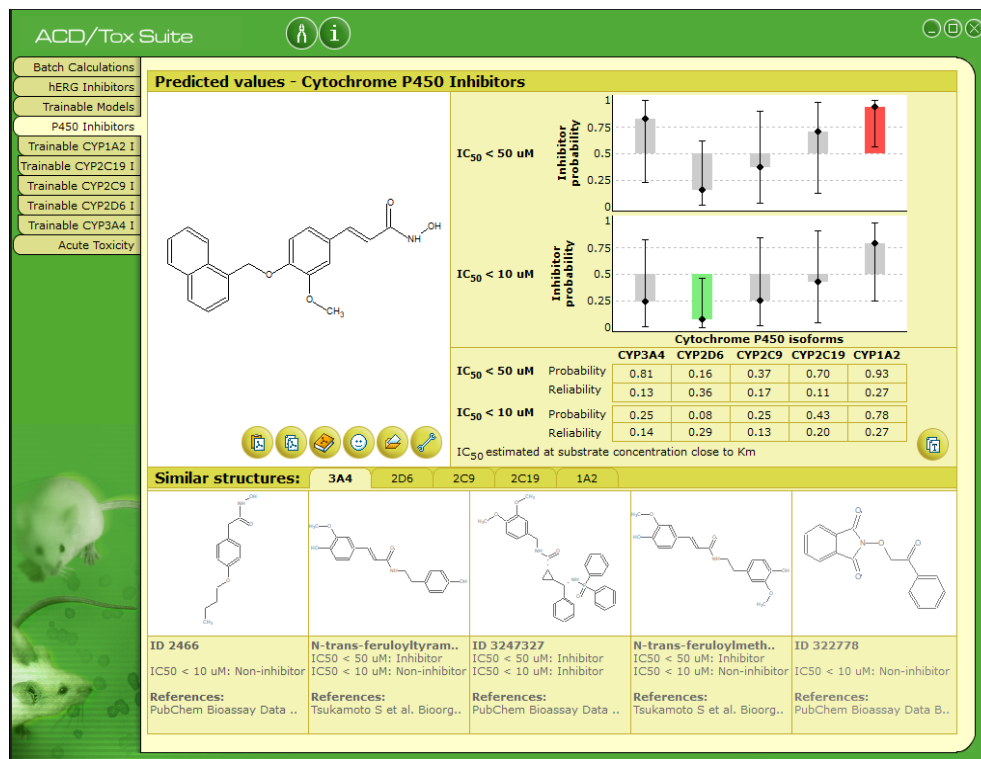


Figura 20. Interfaz del programa ACD/Tox suite.

7.1.6 PyMOL

Este es un sistema de visualización molecular de libre acceso (también en su formato comercial) por Schrödinger (**Figura 21**),⁵¹ el cual permite visualizar estructuras tridimensionales así como proteínas co-cristalizadas con su respectivo ligando y de moléculas hechas en constructores moleculares, siendo una herramienta computacional muy útil ya que permite observar las interacciones en 3D que tienen los ligandos tanto co-cristalizados o aquellos que fueron sometidos a acoplamiento molecular automatizado (Docking).

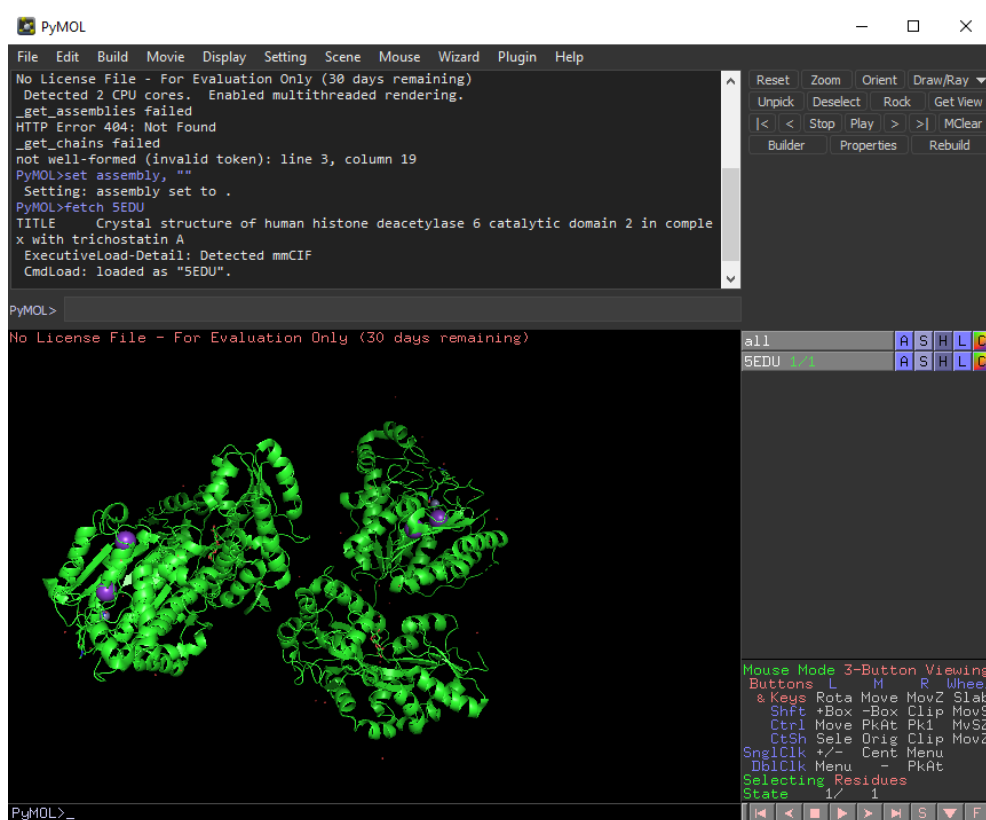


Figura 21. Interfaz del programa PyMOL.

7.1.7 MERCURY

Este es un sistema de visualización molecular de libre acceso (también en su formato comercial) por “The Cambridge Crystallographic Data Centre” (**Figura 22**), Mercury es capaz de cargar datos estructurales y proporcionar una amplia gama de opciones para la investigación y el análisis de estructuras cristalinas. Genera diagramas de empaquetamiento, define y visualiza la unidad molecular, su celda unitaria y las interacciones que contiene el cristal, entre otras funciones más.⁵²

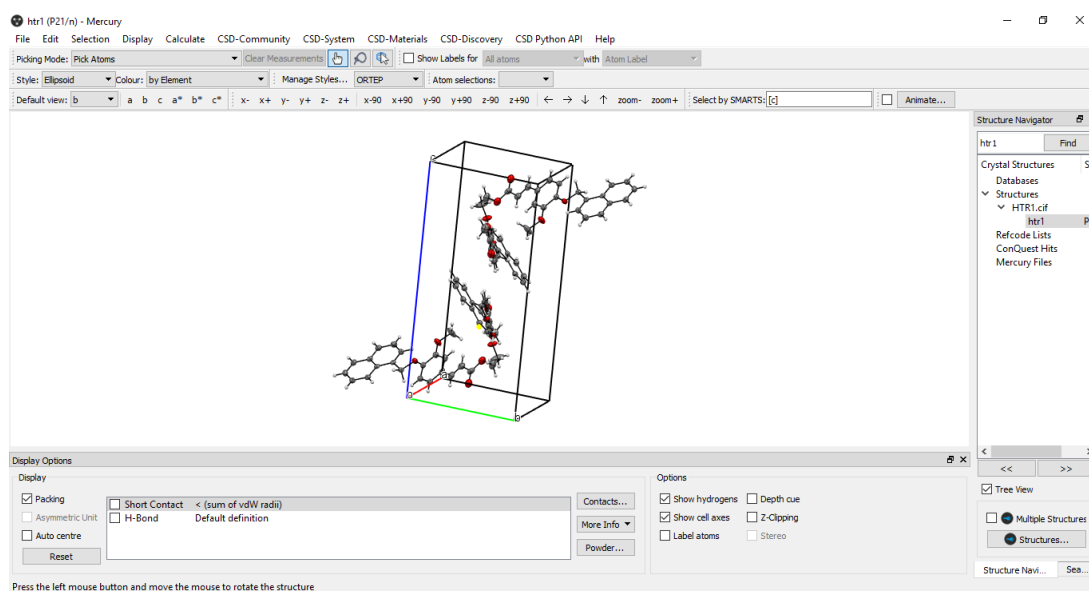


Figura 22. Interfaz del programa Mercury.

7.1.8 PREDICTOR DE CITOTÓXICIDAD SOBRE LINEAS CELULARES (CLC-PRED)

Es un servidor gratuito en línea (**Figura 23**), este programa permite la predicción *in silico* del efecto citotóxico de compuestos en líneas celulares cancerígenas y sanas. La predicción de este programa se basa en el mismo criterio de PASS Online (Predicción de Espectros de Actividad para Sustancias) en conjunto con la base de datos de ChEMBLdb.⁵³ Este servidor calcula información esencial para este proyecto ya que nos da como resultados los porcentajes de actividad que tendrán los compuestos sometidos al programa sobre diferentes líneas celulares citotóxicas, también calcula predicciones de actividad sobre líneas celulares normales y así poder observar si los compuestos serán selectivos contra células cancerígenas.

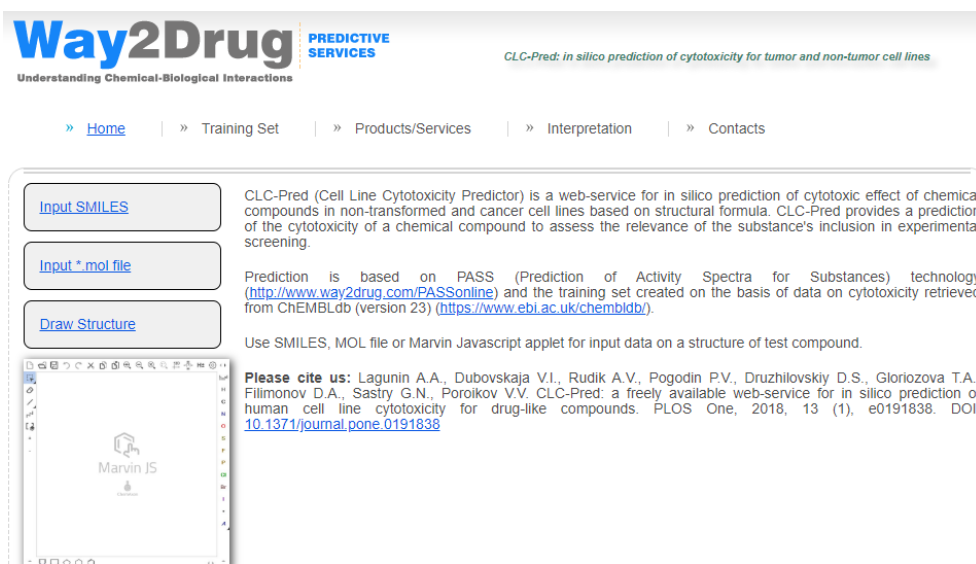


Figura 23. Interfaz del programa CLC-Pred.

7.1.9 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO (MOLECULAR DOCKING).

El acoplamiento molecular automatizado es un programa/herramienta computacional útil para el diseño de compuestos con actividad biológica, la cual tiene como objetivo proponer y evaluar la unión de moléculas pequeñas llamados ligandos, con el sitio de acción (ortostérico) o alostérico de una proteína la cual puede ser una enzima, un canal, un receptor etc. Para la realización de este proceso se necesita conocer la estructura tridimensional (3D) de la proteína de interés consultado en el Protein Data Bank (PDB), en cual podemos encontrar diversas proteínas co-cristalizadas con un ligando en su mayoría. El acoplamiento molecular automatizado a grandes rasgos busca un modo de interacción del o los ligandos de interés con el sitio de unión de la proteína, arrojando valores de unión llamados *scoring function* dados en kcal/mol. En este trabajo de investigación se ocupó el programa de paga Molecular Operating Environment.

7.1.9.1 MOLECULAR OPERATING ENVIROMENT (MOE).

Es un programa de paga que necesita de licencia para su uso (**Figura 24**), pertenece al Chemical Computing Group (CCG), donde MOE es una plataforma integrada de diseño molecular asistido por ordenador, en el cual se pueden realizar diferentes actividades, como: visualización molecular en 3D, diseño basado en estructura, diseño de anticuerpos, exploración de relación estructura-actividad, diseño basado en ligandos, modelado de proteínas, ADN y ARN, simulaciones moleculares etc. Este programa da información valiosa al realizar el acoplamiento molecular sobre la proteína diana de interés y nuestros ligandos, pudiendo así proponer un mecanismo de acción.

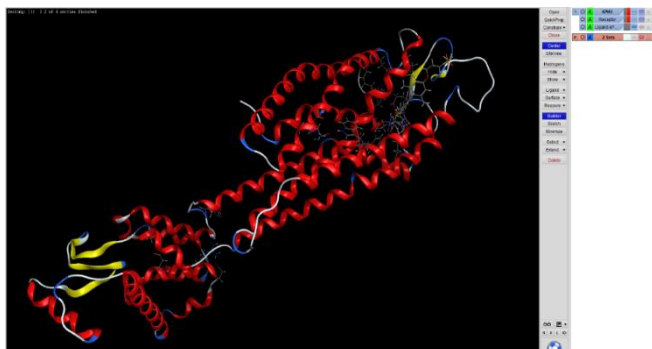


Figura 24. Interfaz del programa MOE.

7.2 METODOLOGÍA PARTE QUÍMICA.

Para proponer una síntesis de la serie **JOD 1-4**, es necesario realizar un análisis retrosintético para así obtener las materias primas correspondientes (**Figura 25**).

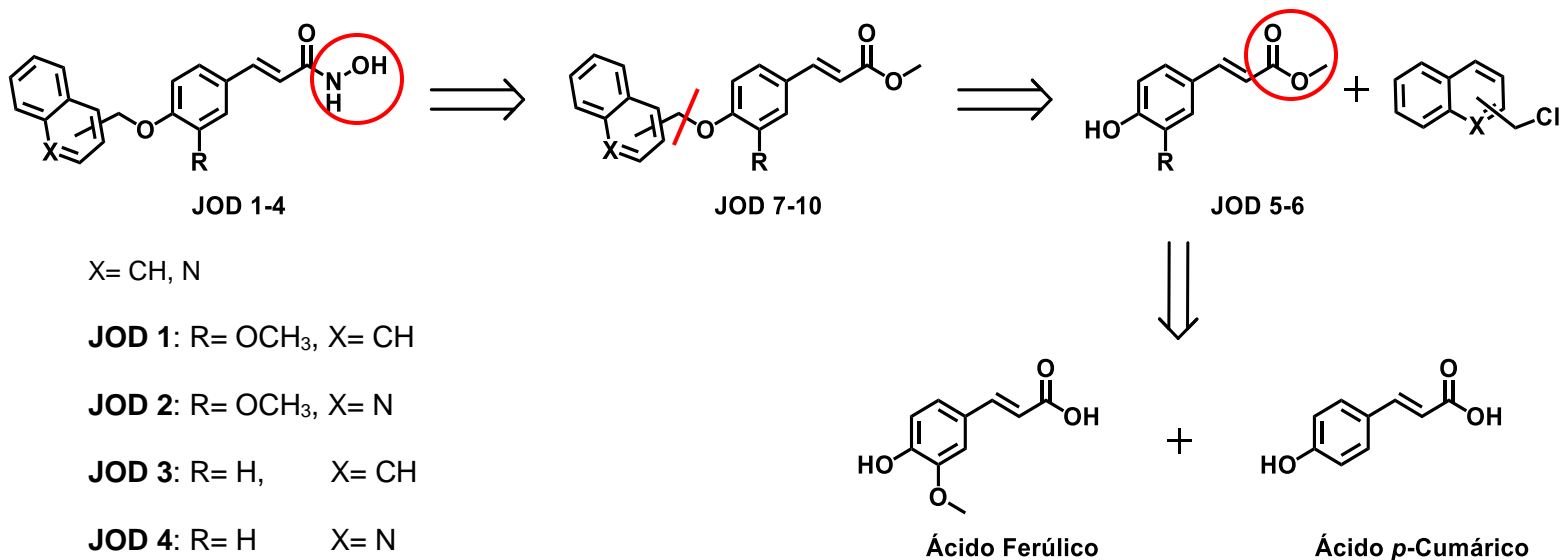


Figura 25. Análisis retrosintético de los compuestos **JOD 1-4**.

Para el primer paso del análisis retrosintético se realizó un intercambio de grupo funcional en la hidroxilamina por un grupo éster metílico, obteniendo los precursores **JOD 7-10**, posteriormente a los precursores esterés se les realizó una desconexión en el espaciador tipo éter, para obtener los precursores **JOD 5-6** y los halogenuros de metilarilo correspondientes. Por último, se realizó un intercambio de grupo funcional del éster metílico por un ácido carboxílico obteniendo las materias primas naturales ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico.

Una vez realizado el análisis retrosintético se procedió a proponer la ruta de síntesis a partir de las materias primas obtenidas.

7.2.1 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES JOD 5-6.

Para la obtención de los precursores **JOD-5** y **JOD-6** se realizó una esterificación de Fisher, la cual consiste en disolver las materias primas (ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico) en metanol, para posteriormente agregar H_2SO_4 como catalizador y se calentó a temperatura de reflujo ($65^\circ C$) durante 1 hora.

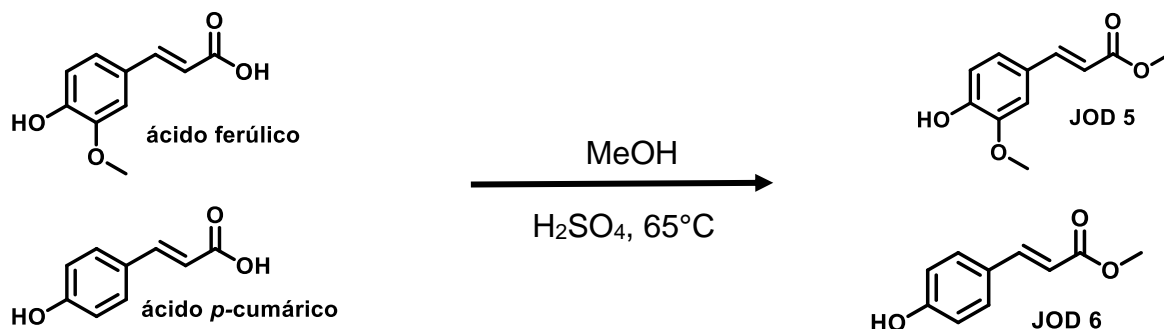


Figura 26. Reacción de esterificación de Fisher para la obtención de los precursores **JOD 5** y **JOD 6**.

7.2.2 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS PRECURSORES JOD 7-10.

Para la obtención de los precursores **JOD 7-10** se realizó una sustitución nucleofílica bimolecular (SN^2) entre los precursores **JOD-5** y **JOD-6**, la cual consiste en hacer reaccionar los precursores con K_2CO_3 durante media hora a temperatura ambiente disueltos en acetonitrilo (CH_3CN), para posteriormente agregar los halogenuros de metilarilo (cloruro de 1-metilnftaleno y cloruro de 2-metilquinolina) y se elevó la temperatura a reflujo ($75^\circ C$), para posteriormente agregar una cantidad catalítica de KI, dejando en agitación por 4 horas.

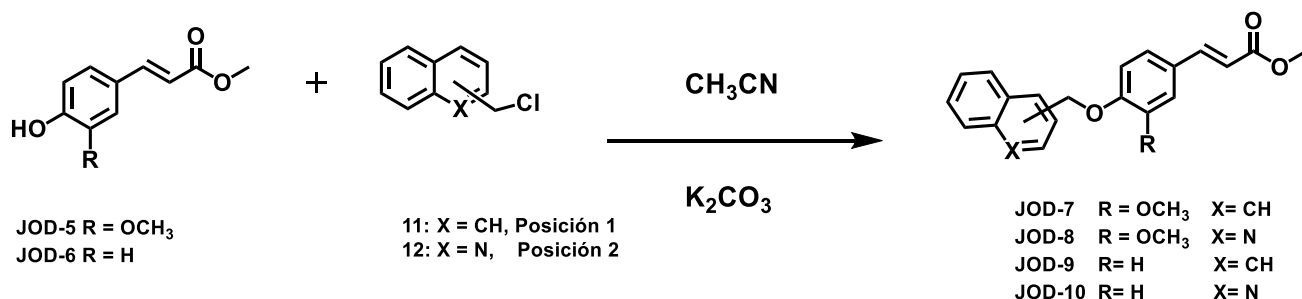


Figura 27. Reacción SN^2 para la obtención de los precursores **JOD 7-10**

7.2.3 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS FINALES JOD 1-4.

Para la obtención de los compuestos finales **JOD 1-4** se realizó una hidroxilaminación, la cual consiste en hacer reaccionar los precursores **JOD 7-10** con una mezcla previamente preparada de hidróxido de potasio (KOH) y clorhidrato de hidroxilamina (HCl·NH₂OH) en relación 2:1 en metanol frío, posteriormente esta mezcla se agrega gota a gota al matraz con los precursores previamente disueltos en metanol. Una vez añadida la mezcla se deja en agitación a temperatura ambiente con atmósfera de nitrógeno (N₂) durante 4 horas.

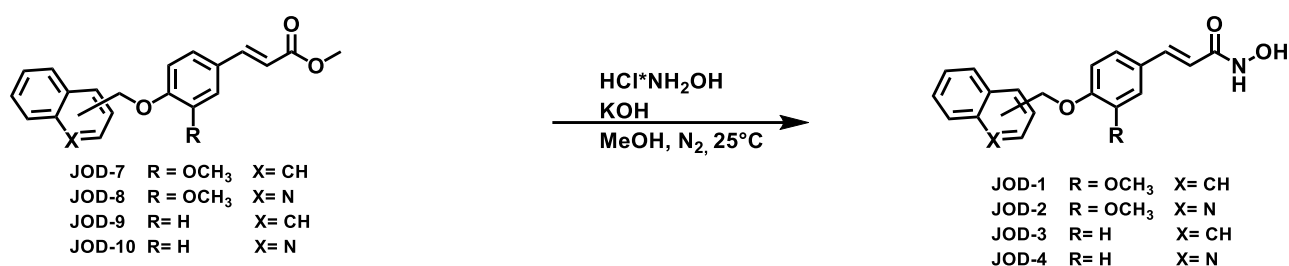


Figura 28. Hidroxilaminación para la obtención de los compuestos finales **JOD 1-4**.

7.2.4 CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS PRECURSORES Y FINALES.

Para corroborar la obtención de los compuestos sintetizados, se llevó a cabo la caracterización de los productos obtenidos, por medio de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Los compuestos finales **JOD 1-4** fueron caracterizados mediante RMN de ¹H y ¹³C y espectrometría de masas, mientras que los compuestos precursores **JOD 7-10** fueron caracterizados mediante RMN de ¹H y ¹³C.

7.3 PARTE BIOLÓGICA (*IN VITRO*):

Esta parte se basa en un ensayo de la actividad citotóxica y antiproliferativa de los compuestos **JOD 1-4** contra diferentes líneas celulares: adenocarcinoma de mama humano (MCF-7, ATCC-HTB-22), adenocarcinoma de cuello uterino humano (HeLa, ATCC-CCL-2), cáncer de mama humano independiente de hormonas (MDA, ATCC-MB-231) y sobre células epiteliales renales de mono africano (VERO) de la Colección de Cultivos de Tipo Americano (ATCC, por sus siglas en ingles).

7.3.1 CULTIVO CELULAR.

Todas las líneas celulares fueron cultivadas en el Medio Modificado de Eagle Dulbecco (DMEM; Gibco) y suplementados con 10% de suero fetal de bovino inactivado por calor (SFB; Gibco), 100 U/mL de penicilina (*in vitro*), 100 µg/mL de estreptomicina (*in vitro*), 2.5 µg/mL de anfotericina B (*in vitro*) en una atmósfera humidificada a 5% CO₂ a 37 °C. La dilución de las soluciones stock se realizó en un medio de cultivo que dio lugar a los compuestos finales que van de 0.04 a 5 µg/mL con una concentración final de DMSO de 0.01%. La concentración de DMSO no tiene ningún efecto sobre el crecimiento de las células.

7.3.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

Las células en crecimiento exponencial se sembraron en una placa de cultivo celular de 96 pozos; se añadieron 100 µL de suspensión celular a una concentración de 5 × 10⁴ células/mL a cada pozo y la placa se incubó a 37 °C en una incubadora de CO₂. Veinticuatro horas después, cuando las células alcanzaron una confluencia del 80-90%, el medio fue reemplazado y las células fueron tratadas con diferentes concentraciones de compuestos puros **JOD 1-4** (0.04 - 5µg/mL) en un medio sin SFB. Al finalizar el tiempo de exposición de 48 h, se retiró el medio y las células se fijaron añadiendo 50 µL de solución de ácido tricloroacético al 10% a cada pozo y se incubaron a 4 °C durante 30 min. Después de la incubación, se eliminó el ácido tricloroacético y se añadieron 50 µL de sulforodamina B (0.1% de sulforodamina B en ácido acético al 1%) a cada pozo y se dejaron en contacto con las células durante 30 min, después de lo cual se lavaron con 150 µL de ácido acético al 1% y se

enjuagaron tres veces hasta que sólo quedara colorante adherido a las células. Las placas se secaron y se agregaron 100 μ L de base 10 mM Tris a cada pozo para solubilizar el tinte. Las placas fueron agitadas suavemente durante 10 min y la proliferación celular se determinó midiendo la densidad óptica a 540 nm utilizando un lector de bioensayo (BioRad, USA). Como control positivo se utilizó Docetaxel (Taxotere®; Sigma-Aldrich Co.), mientras que como control negativo se utilizaron células no tratadas. Los experimentos se realizaron por triplicado y la concentración de los compuestos **JOD 1-4** que mató el 50% de las células (CC_{50}) fue calculada por el software GraphPad Prism 4.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. PARTE QUÍMICA.

Se realizó la síntesis de 4 compuestos finales en total, de los cuales 2 son derivados del ácido ferúlico y 2 son derivados del ácido *p*-cumárico y 6 compuestos precursores. A continuación, se describe el proceso de síntesis de cada uno de ellos.

8.1.1 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (E)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL) ACRILATO DE METILO (JOD-5).

Para la obtención del compuesto **JOD-5**, se colocó la materia prima ácido ferúlico en un matraz y se disolvió en metanol 1:10, posteriormente se agregó H_2SO_4 en cantidades catalíticas, se llevó a temperatura de reflujo $65^\circ C$ y se dejó en agitación durante 2 horas (**Figura 29**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía de Capa Fina (CCF) en una fase móvil de hexano:acetato de etilo (70:30) cada 30 minutos observándose la formación de un solo producto. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, quedando una resina amarilla.

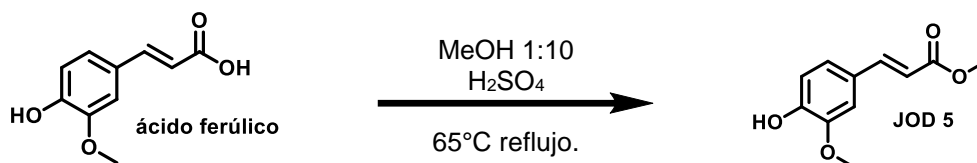


Figura 29. Ruta de síntesis para la obtención del precursor **JOD-5**.

Se realizó una extracción por triplicado con 10 mL de acetato de etilo (AcOEt) y 10 mL de agua, al finalizar se concentró a sequedad obteniendo una resina amarilla. Rendimiento de reacción de 82.64%.

8.1.2 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (E)-3-(4-HIDROXIFENIL) ACRILATO DE METILO (JOD-6)

Para la obtención del compuesto **JOD-6**, se colocó el ácido *p*-cumárico en un matraz y se disolvió en metanol 1:10, posteriormente se agregó H₂SO₄ en cantidades catalíticas, se llevó a temperatura de reflujo 65°C y se dejó en agitación durante 2 horas (**Figura 30**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía de Capa Fina (CCF) en una fase móvil compuesta por hexano:acetato de etilo (70:30) cada 30 minutos observándose la formación de un solo producto. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, quedando una resina amarilla. Se realizó una extracción por triplicado con 10 mL de acetato de etilo (AcOEt) y 10 mL de agua, al finalizar se concentró a sequedad obteniendo una resina amarilla. Rendimiento de reacción de 97.0%.

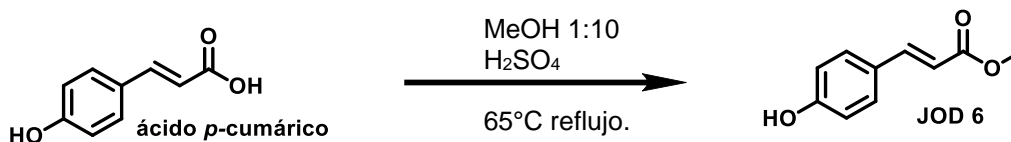


Figura 30. Ruta de síntesis para la obtención del precursor **JOD-6**.

8.1.3 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (E)-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-7)

Para la obtención del compuesto **JOD-7** se realizó una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N²), disolviendo el precursor **JOD-5** en acetonitrilo (CH₃CN), después se agregó 2.2 eq. de carbonato de potasio (K₂CO₃) dejándose en agitación durante 30 minutos, tornándose la disolución de color amarillento, posteriormente se añadió 1.1 eq. de 1-clorometilnaftaleno y 10% mol de yoduro de potasio (KI), se elevó la temperatura a reflujo de 75°C en agitación durante 5 horas (**Figura 31**). La reacción fue monitoreada por CCF en una fase móvil compuesta por Hex:AcOEt 70:30 observándose la formación de un solo producto.

La reacción se concentró a sequedad, quedando un sólido amarillento/blanquecino, se le adicionó 1 mL de agua fría y se dejó en agitación durante 15 minutos, se observó un precipitado de color blanco, el cual se recuperó por filtración obteniendo un polvo blanco. El sólido obtenido fue recristalizado en metanol, obteniendo un polvo cristalino blanco, también se purificó mediante una columna cromatográfica obteniendo cristales difractables. Rendimiento global de la reacción de 69.0%. Punto de fusión 114.5-117.8 °C.

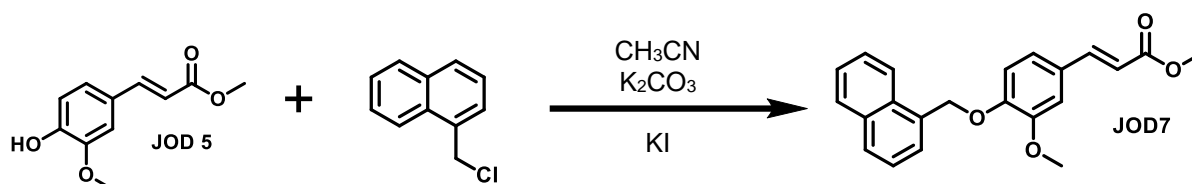


Figura 31. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-7.

8.1.4 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (E)-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-8)

Para la obtención del compuesto **JOD-8** se realizó una reacción S_N^2 , disolviendo el precursor **JOD-5** en CH_3CN , después se agregó 3.2 eq. de K_2CO_3 dejándose en agitación por 30 minutos, tornándose la disolución de color amarillento, posteriormente se agregó 1.1 eq. de clorhidrato de 2-clorometilquinolina y 10% mol de KI, se elevó la temperatura a reflujo de 75°C en agitación durante 4 horas (**Figura 32**). La reacción fue monitoreada con CCF, observándose la formación de un solo producto. La reacción se concentró a sequedad quedando un sólido amarillento/café, se le adiciono 1 mL de agua fría y se dispuso en agitación durante 15 minutos, se observó un precipitado de color café, el cual se recuperó por filtración obteniéndose un polvo color café. El sólido obtenido fue recristalizado en metanol obteniendo un polvo cristalino café. Rendimiento de reacción de 79.1%. Punto de fusión de 98.0-101.7 °C.

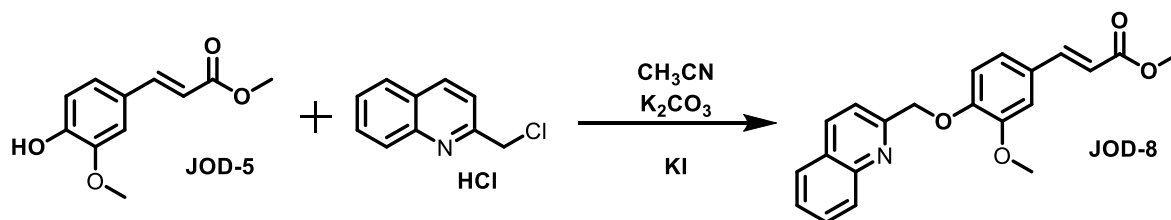


Figura 32. Ruta de síntesis para la obtención del precursor JOD-8.

8.1.5 Síntesis del compuesto precursor (*E*)-3-(4-(naftalen-1-ilmetoxi)fenil)acrilato de metilo (JOD-9)

Para la obtención del compuesto **JOD-9** se realizó una SN², donde el precursor **JOD-6** se disolvió en CH₃CN para después agregar 2.2 eq. de K₂CO₃, dejándose en agitación durante 30 minutos, tornándose la disolución de un color amarillo, posteriormente se agregó 1.1 eq. de 1-clorometilnaftaleno y 10% mol de KI, se elevó la temperatura a reflujo de 75°C en agitación durante 4 horas (**Figura 33**). La reacción se monitoreo con CCF observándose la formación de un solo producto. Para el término de la reacción se concentró a sequedad, se le adiciono 1 mL de agua fría, se observó la precipitación de un sólido blanco, el cual se recuperó por filtración obteniendo un polvo blanco. El solidó obtenido fue recristalizado en metanol obteniendo un polvo cristalino blanco. Rendimiento e reacción de 85.41%. Punto de fusión de 124.0-128.6 °C.

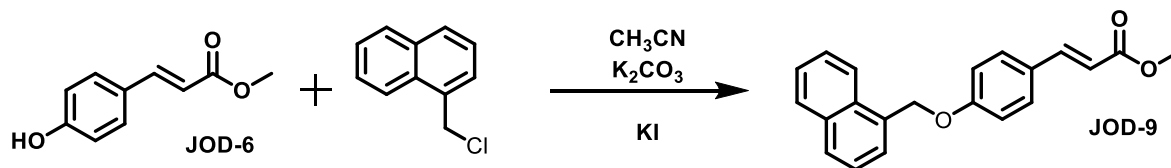


Figura 33. Ruta de síntesis para la obtención del precursor **JOD-9**.

8.1.6 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR (*E*)-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-10)

Para obtención del compuesto **JOD-10**, se realizó una reacción SN² donde el precursor **JOD-6** se disolvió en CH₃CN y se adiciono 3.2 eq. de K₂CO₃, dejándose en agitación durante 30 minutos, tornándose la reacción de color amarillo, posteriormente se agregó 1.1 eq de clorhidrato de 2-clorometilquinolina y 10% mol de KI, se elevó la temperatura a reflujo de 75°C en agitación durante 4 horas (**Figura 34**). La reacción se monitoreo con CCF, observándose la formación de un solo producto. Para el término de la reacción se concentró a sequedad, se le adiciono 1 mL de agua fría y se colocó en agitación durante 15 minutos, observándose un precipitado de color verde, el cual se recuperó por filtración obteniendo un polvo color verde opaco.

El sólido obtenido fue recristalizado en metanol, obteniendo un polvo cristalino verde. El rendimiento de reacción fue de 74.15%. Punto de fusión 119.8-124.8 °C.

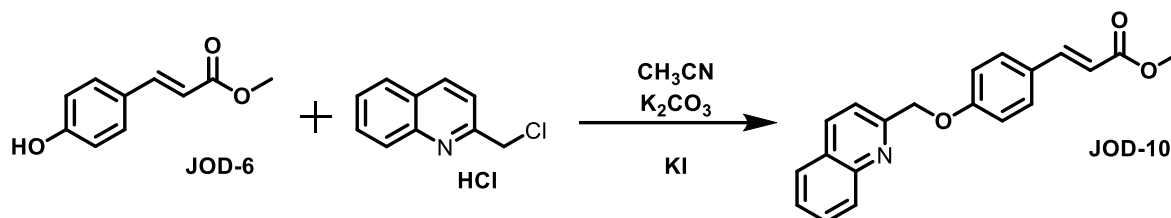


Figura 34. Ruta de síntesis para la obtención del precursor **JOD-10**.

8.1.7 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1ILMETOXI)FENIL) ACRILAMIDA (**JOD-1**)

Para la obtención del compuesto final **JOD-1**, se realizó una reacción de hidroxilamación, disolviendo el compuesto precursor **JOD-7** en metanol (MeOH), se le añadió una mezcla previamente preparada de MeOH frío con clorhidrato de hidroxilamina (HCl*NH₂OH) e hidróxido de potasio (KOH), la cual se añadió gota a gota a la reacción, se dejó en agitación a temperatura ambiente y se agregó atmosfera de nitrógeno (N₂) durante 4 horas (**Figura 35**). La reacción fue monitoreada con CCF y con una prueba colorimétrica de cloruro férrico (FeCl₃). Al finalizar la reacción se concentró a sequedad, se le agrego 2 mL de agua fría, se ajustó el pH con HCl al 10% v/v hasta un valor de 5-4, se dejó en agitación durante 15 minutos, se observó un precipitado de color blanco, el cual se recuperó por filtración obteniéndose un polvo blanco. El sólido obtenido fue recristalizado en acetato de etilo (AcOEt), obteniéndose un polvo brillante blanco. Rendimiento global de reacción de 31%. Punto de fusión de 153.8-155.8 °C.

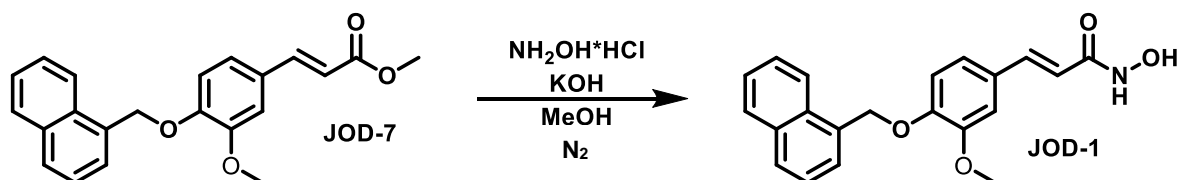


Figura 35. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final **JOD-1**.

8.1.8 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL) ACRILAMIDA (JOD-2)

Para la obtención de compuesto final **JOD-2**, se realizó una reacción de hidroxilaminación, disolviendo el compuesto precursor **JOD-8** en MeOH, se le añadió una mezcla previamente preparada de MeOH frío con HCl·NH₂OH y con KOH la cual se adiciono gota a gota a la reacción, se agregó atmosfera de nitrógeno, se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas (**Figura 36**). La reacción fue monitoreada con CCF y con una prueba colorimétrica de FeCl₃. Para finalizar la reacción se concentró a sequedad, se le agrego 2 mL de agua fría y ajustó pH con HCl al 10% v/v hasta un valor de 5-4, se dejó en agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado de color café. El sólido obtenido fue recristalizado en una mezcla de AcOEt/MeOH, obteniendo un solidó de color café. Rendimiento global de reacción de 59%. Punto de fusión de 180.8-185.9 °C.

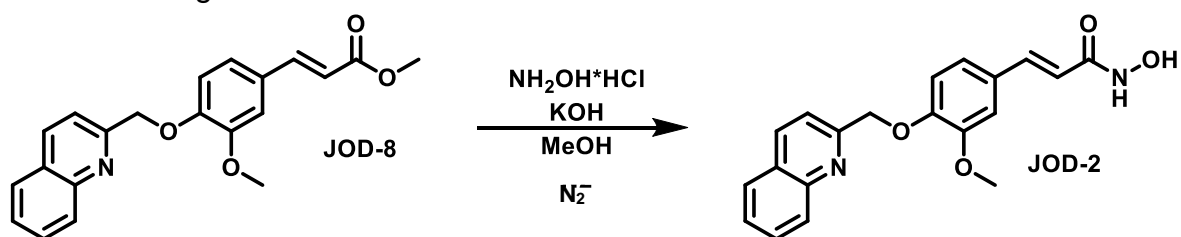


Figura 36. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final **JOD-2**.

8.1.9 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-3)

Para la obtención del compuesto final **JOD-3** se realizó una reacción de hidroxilaminación, disolviendo el compuesto precursor **JOD-9** en MeOH, se le añadió una mezcla previamente preparada de MeOH frío con HCl·NH₂OH y KOH, se añadió gota a gota a la reacción, se colocó atmosfera de nitrógeno y se dejó en agitación durante 5 horas a temperatura ambiente (**Figura 37**), la reacción fue monitoreada con CCF y con una prueba colorimétrica de FeCl₃.

Al finalizar la reacción se concentró a sequedad, se agregó 2 mL de agua fría, se ajustó pH con HCl al 10% v/v a un valor de 5-4, se dejó en agitación durante 15 minutos obteniendo un precipitado de color blanco-rosado. El sólido obtenido se recrystalizó con una mezcla de AcOEt/MeOH obteniendo un polvo cristalino rosa claro. Rendimiento global de reacción de 60.95%. Punto fusión de 153.0-153.9 °C.

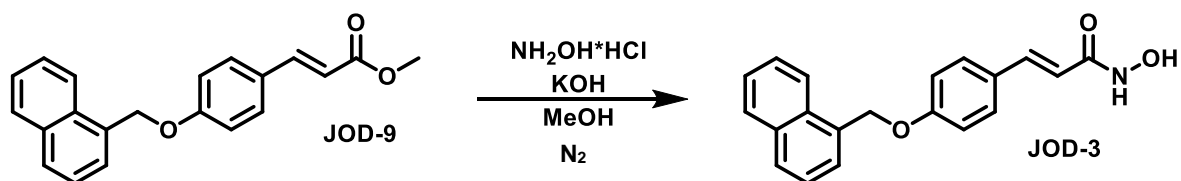


Figura 37. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-3.

8.1.10 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL (E)-N-HIDROXI-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI) FENIL)ACRILAMIDA (JOD-4)

Para la obtención del compuesto final JOD-4 se realizó una reacción de hidroxilaminación, disolviendo el compuesto precursor JOD-10 en MeOH, se le añadió una mezcla previamente preparada de MeOH frío con HCl·NH₂OH y KOH se agregó gota a gota a la reacción, se colocó atmosfera de nitrógeno y se dejó en agitación durante 4 horas a temperatura ambiente (Figura 38), la reacción fue monitoreada por CCF y con una prueba colorimétrica de FeCl₃. Al finalizar la reacción se concentró a sequedad, se agregó 2 mL de agua fría, se ajustó pH con HCl 10% v/v hasta un valor de 5-4, se dejó en agitación durante 15 minutos, obteniendo un precipitado color café. El sólido obtenido fue recrystalizado en una mezcla de AcOEt/MeOH obteniendo un polvo color café. Rendimiento global de reacción de 33%. Punto de fusión de 186.3-189.1 °C.

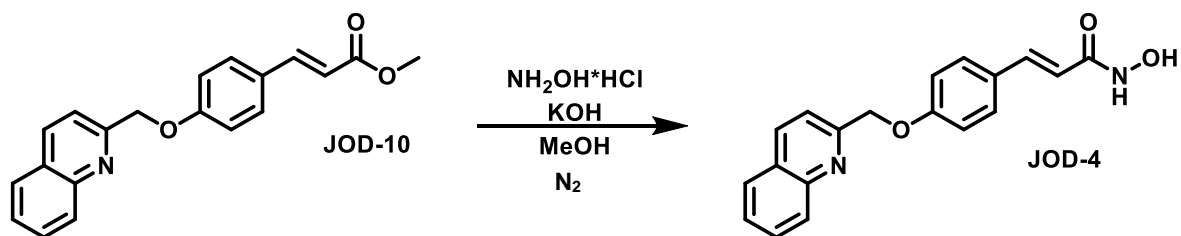


Figura 38. Ruta de síntesis para la obtención del compuesto final JOD-4.

Para la síntesis de los compuestos precursores los tiempos fueron variados de 2h- 5h a temperaturas de 65°C a 75°C con rendimientos de moderados a buenos, obtenidos en diferentes estados como resinas amarillas y polvos cristalinos de diferente color. Para su purificación fueron usadas diferentes técnicas como extracciones en acetato de etilo y agua, recristalización, y por columna cromatográfica, dependiendo el comportamiento de cada compuesto. Los compuestos en estado sólido cuentan con puntos de fusión característicos de pureza en intervalos ≤ 2 °C.

Estos resultados se presentan a más detalle en la **Tabla 5**.

Tabla 5. propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos precursores.

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Temperatura de reacción (°C)	Rendimiento de reacción (%)	Estado físico	Método de purificación	Punto de fusión (°C)
JOD-5	2.0	65.0	82.64	Resina amarilla	Extracción	-
JOD-6	2.0	65.0	97.0	Resina amarilla	Extracción	-
JOD-7	5.0	75.0	69.0	Polvo cristalino blanco	Cristalización/ columna cromatográfica	114.5-117.8
JOD-8	4.0	75.0	79.1	Polvo cristalino café	Cristalización	98.0-101.7
JOD-9	4.0	75.0	85.41	Polvo cristalino blanco	Cristalización	124.0-128.6
JOD-10	4.0	75.0	74.15	Polvo cristalino blanco	Cristalización	119.8-124.8

Los compuestos finales **JOD 1-4** se obtuvieron con tiempos de reacción de 4h-5h todos a temperatura ambiente (T.A), con rendimientos de discretos a moderados, todos los compuestos fueron purificados por medio de la recristalización, obteniendo polvos cristalinos y solidos coloridos, todos con puntos de fusión característicos de pureza con intervalos ≤ 2 °C. Estos resultados se resumen en la siguiente **Tabla 6**.

Tabla 6. propiedades físicas y fisicoquímicas de los compuestos finales.

Compuesto	Tiemp. de reacción (h)	Temperatura de reacción (°C)	Rendimiento de reacción (%)	Estado físico	Método de purificación	Punto de fusión (°C)
JOD-1	4.0	T. A	31.0	Polvo cristalino blanco	Cristalización	153.8-155.8
JOD-2	4.0	T. A	59.0	Solido café	Cristalización	180.8-185.9
JOD-3	5.0	T. A	60.95	Solido blanco	Cristalización	153.0-153.9
JOD-4	4.0	T. A	33.3	Solido café	Cristalización	186.3-189.1

Cabe mencionar que para la obtención de los compuestos finales ácidos hidroxámicos se monitoreo con una prueba colorimétrica con una mezcla de agua/metanol/cloruro férrico (FeCl_3) como se puede observar la **Figura 39**. En una placa de toque se dispone de una cantidad mínima de la reacción de hidroxilaminación en proceso en el carril 1 y en el carril 2 se dispone de una pequeña cantidad de los compuestos precursores de ésteres metílicos (**JOD 7-10**) y se le agrega una o dos gotas de la mezcla de agua/metanol/ FeCl_3 donde se observa que los compuestos precursores en el carril 2 mantienen el color amarillo de la mezcla, en cambio al agregar las gotas al carril 1 se observa un cambio de color a violeta intenso, esto significa que hay una reacción entre el ácido hidroxámico de los compuesto y el hierro (Fe) presente en la mezcla formándose un quelato entre ellos. Por lo cual podemos intuir que los compuestos **JOD 1-4** poseerán actividad sobre las HDAC debido a que contiene un átomo Zn^{2+} en su sitio catalítico de esta manera inhibiendo las enzimas.

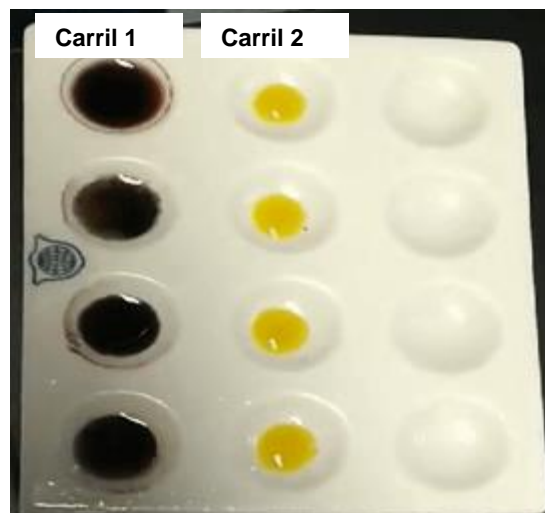


Figura 39. Prueba colorimétrica para la obtención de ácidos hidroxámicos.

8.2 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS

Una vez sintetizados los compuestos y purificados, es necesario realizar caracterización estructural, para ello se utilizaron diferentes técnicas espectroscópicas, como resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H) y carbono 13 (^{13}C) y técnicas espectrométricas por impacto electrónico (EM-IE). Todos los compuestos sólidos fueron analizados mediante estas técnicas.

8.2.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H Y ^{13}C , DEL COMPUESTO PRECURSOR JOD-7.

El espectro de RMN ^1H del compuesto precursor **JOD-7**. En la **Figura 40** se presenta la parte alifática del espectro de RMN ^1H que corresponde al compuesto **JOD-7**, en el cual se aprecian diferentes señales. Se observa un singulete (s) a 3.79 ppm correspondiente a los hidrógenos del metilo de la posición 11, se observa otro singulete (s) a 3.88 ppm para los hidrógenos que corresponden al metilo de la posición 10 y otro singulete (s) a 5.61 ppm correspondiente a los hidrógenos del metileno de la posición 12, la cual corresponde al espaciador flexible de tipo éter.

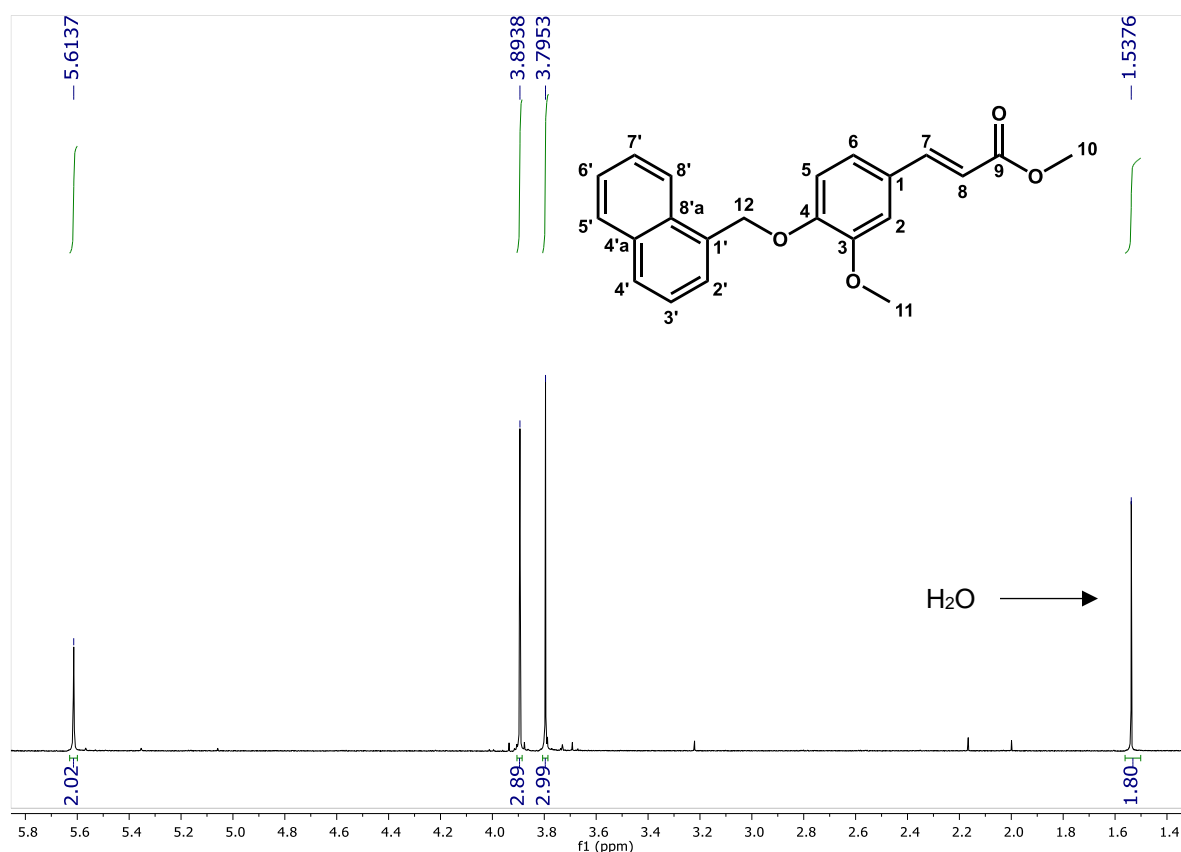


Figura 40. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) (expansión región alifática) del compuesto **JOD-7**.

En la **figura 41** se muestra la expansión del espectro de RMN ^1H del compuesto **JOD-7** que corresponde a la zona aromática y al doble enlace destacando señales características del espectro.

A un desplazamiento químico de 6.31 ppm se observa un doblete (*d*) y en 7.62 ppm se observa un doblete (*d*) con constantes de acoplamiento de 15.9 Hz correspondientes para los hidrógenos de la posición 8 y 7 respectivamente, se observa un doblete (*d*) a 7.08 ppm con una constante de acoplamiento *meta* (*m*) de 2.04 Hz correspondiente al hidrógeno de la posición 2 del anillo de benceno, se observa un doble de dobles (*dd*) con constantes de acoplamiento *meta* (*m*) y orto (*o*) de 1.98 Hz y 8.52 Hz, respectivamente correspondiente al hidrógeno de la posición 6 del anillo de benceno. También se observa a 7.58 ppm un doble de dobles (*dd*) con constantes de acoplamiento orto (*o*) y para (*p*) de 6.96 Hz y de 0.9 Hz respectivamente correspondientes al hidrógeno de la posición 5 del anillo de benceno, este sistema es conocido como ABX. Las señales restantes corresponden al anillo de naftaleno.

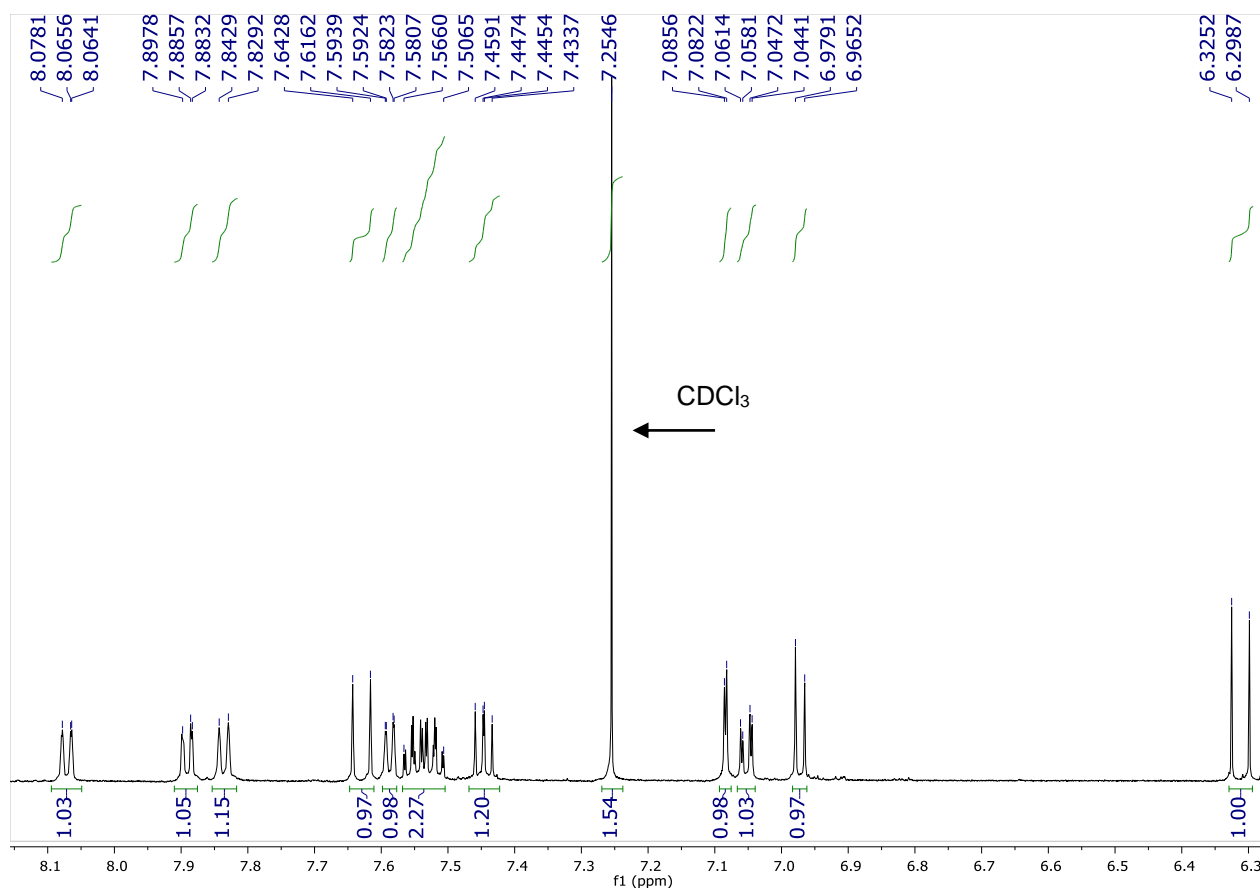


Figura 41. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz) (expansión región aromática) del compuesto **JOD-7**.

8.2.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H Y ^{13}C ESPECTROMETRIA DEL COMPUESTO FINAL JOD-1.

En la **Figura 42** se observa el espectro de RMN ^1H del compuesto final **JOD-1** en el cual se observa la desaparición de un singulete (s) correspondiente al metilo del éster del compuesto precursor y la aparición de dos señales a 9.47 ppm un singulete (s) correspondiente al hidrógeno del -OH y a 11.15 ppm un singulete (s) correspondiente al hidrógeno del -NH, conservándose las demás señales del compuesto precursor.

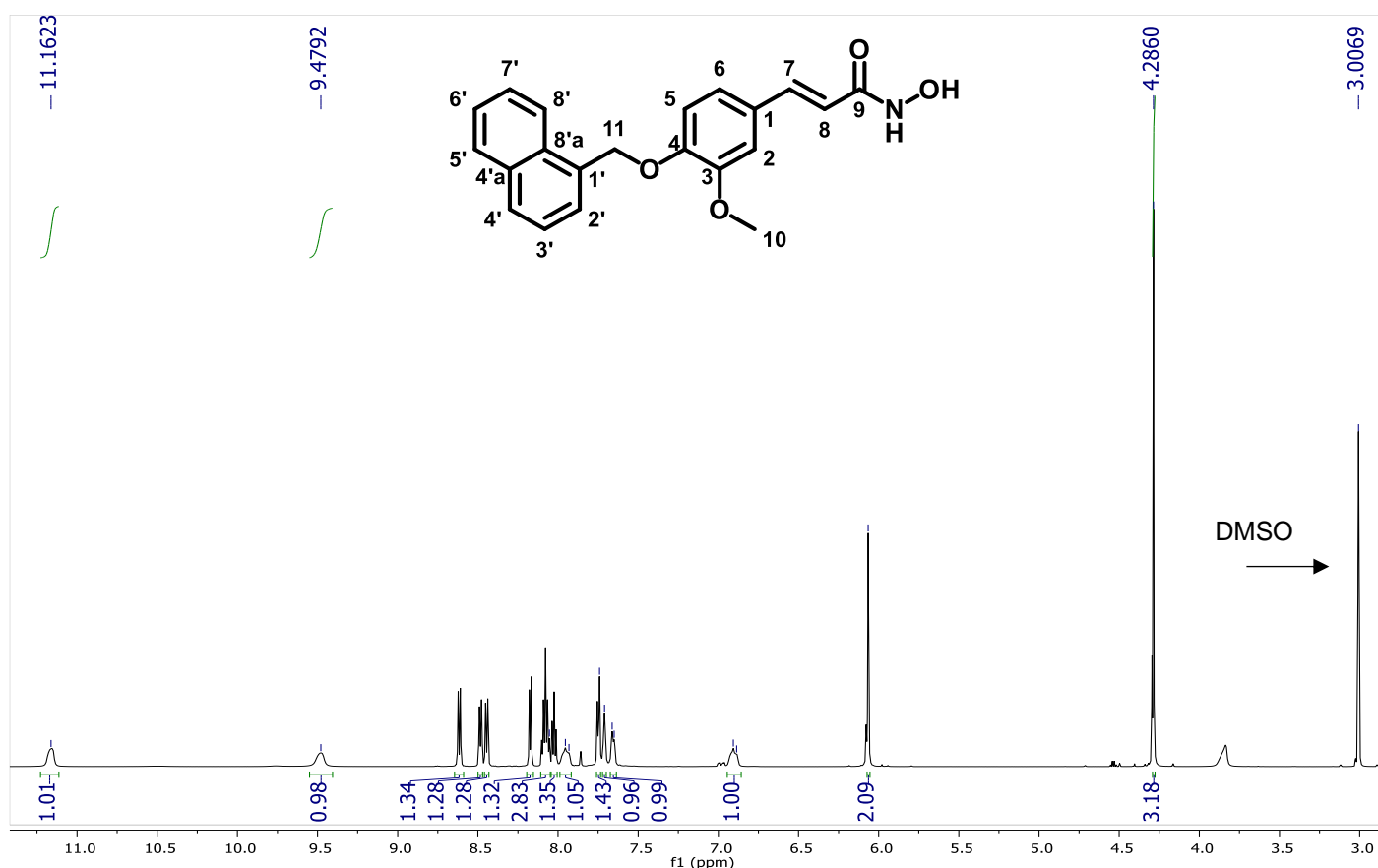


Figura 42. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) del compuesto final **JOD-1**.

En la **Figura 42** se observa el espectro de RMN de ^{13}C donde se observan 21 señales correspondientes al número de carbonos esperados para el compuesto **JOD-1**.

En este espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **JOD-1** se observa una señal a 56.0 ppm asignada al carbono de la posición 11 correspondiente al metileno del espaciador flexible. La señal observada a 69.0 ppm fue asignada al carbono del grupo metoxilo (posición 10). Por otro lado, las señales a 149.8 y 114.2 ppm corresponden a los carbonos de las posiciones 7 y 8 (α,β -insaturado). La señal a 163.7 ppm es característica del grupo carbonilo presente en el ácido hidroxámico y las señales correspondientes a la región aromática del anillo fueron comparadas con la tesis de licenciatura del Lic. en Farmacia Josué Martínez Miranda⁵⁴ y con la tesis de doctorado de la Dra. en Farmacia Blanca Iris Colin Lozano.⁵⁵

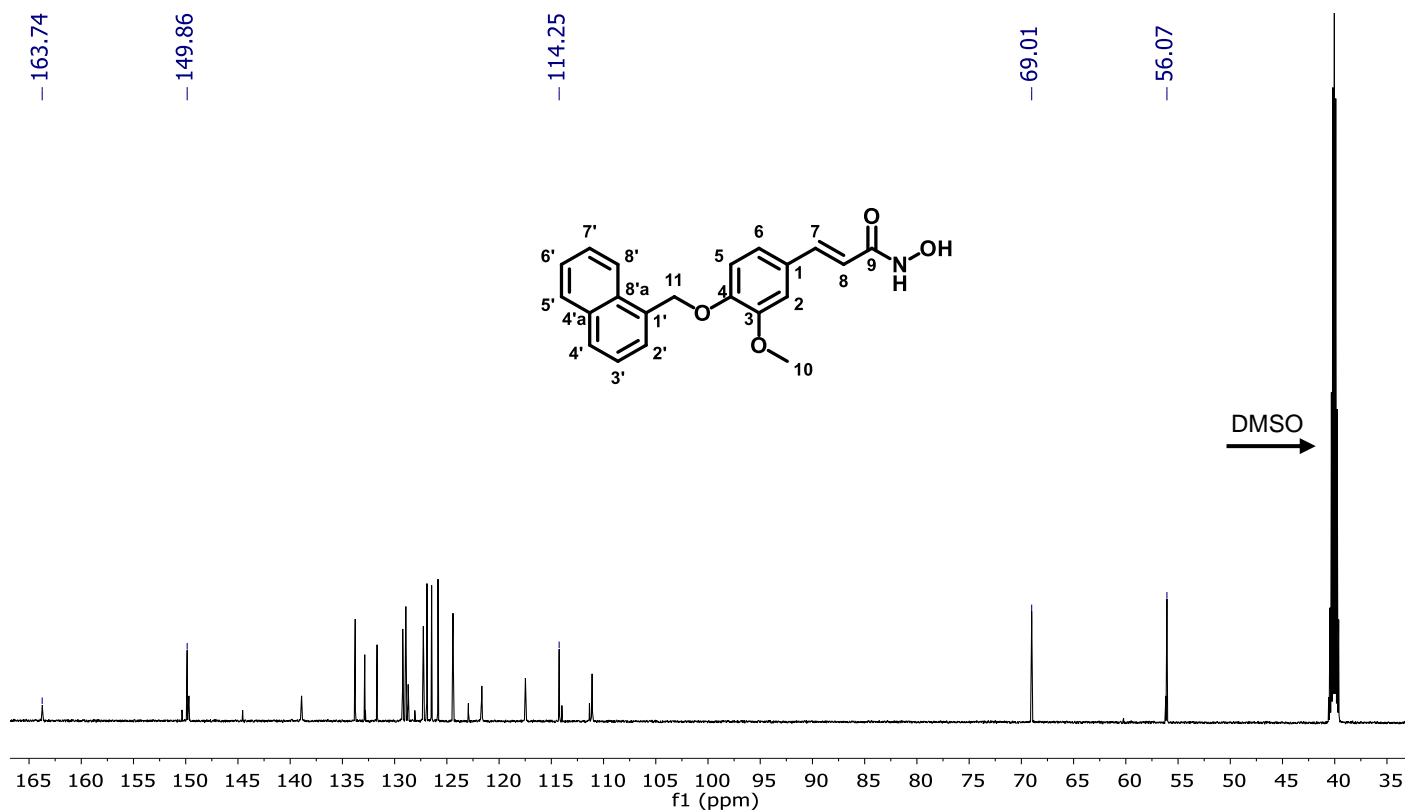


Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 150 MHz) del compuesto final **JOD-1**.

8.2.3 ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO FINAL JOD-1.

Una vez obtenidos los compuestos finales **JOD 1-4**, se sometieron al análisis de espectrometría de masas por impacto electrónico (EM-IE) sin embargo, no en todos los casos fue posible la identificación del ion molecular (M^+), pero si fue posible identificar diferentes fragmentos característicos de los compuestos finales.

La técnica de espectrometría de masas por impacto electrónico se basa en generar iones en una fase gaseosa mediante el impacto de un haz de electrones de alta energía (70 eV), cargando la molécula de manera positiva para que posteriormente se fragmente formando iones de diferente peso molecular.

En la **Figura 44** se muestra la fragmentación que se llevó a cabo del compuesto **JOD-1**, cabe mencionar que en el espectro de masas del compuesto se observa el ion molecular.

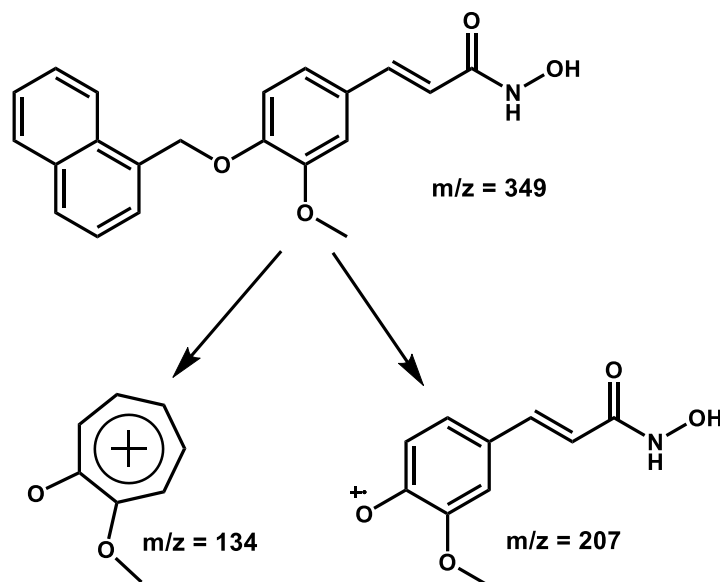


Figura 44. Fragmentación observada en el espectro de masas por IE del compuesto **JOD-1**.

En el espectro de masas del compuesto **JOD-1** (**Figura 45, A**) se observa el pico base correspondiente al ion cuasimolecular ($M-1$) con una relación masa-carga (m/z) de 348.14 y una abundancia relativa del 100%, se observa también el ion molecular con una relación m/z de 349.19.

En la **Figura 45, (B)** se observan dos fragmentos más, uno de ellos considerado como otro pico base con una relación m/z de 134.0 y una abundancia relativa del 100%, el segundo fragmento que se observa tiene una relación m/z de 207.08

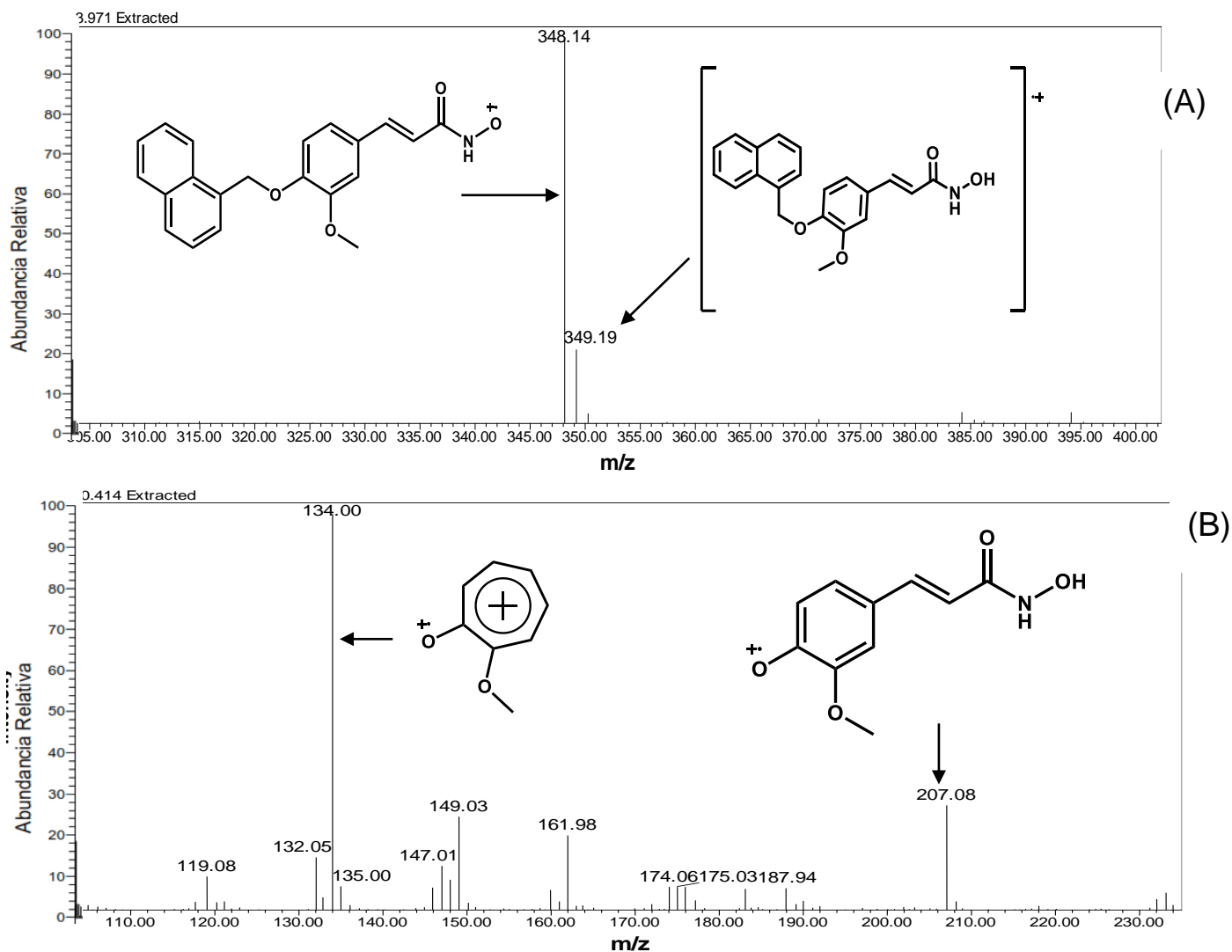


Figura 45. Espectro de masas por IE del compuesto JOD-1.

8.2.4 CRISTALOGRAFIA DEL COMPUESTO PRECURSOR JOD-7.

Dentro de los resultados de la parte experimental, el compuesto precursor **JOD-7** generó la obtención de cristales con características óptimas de ser difractables, fueron obtenidos mediante la técnica de purificación por columna cromatográfica. El compuesto **JOD-7** se sometió a difracción de rayos X para observar las características de la molécula y del cristal como se observa en la **Figura 46**.

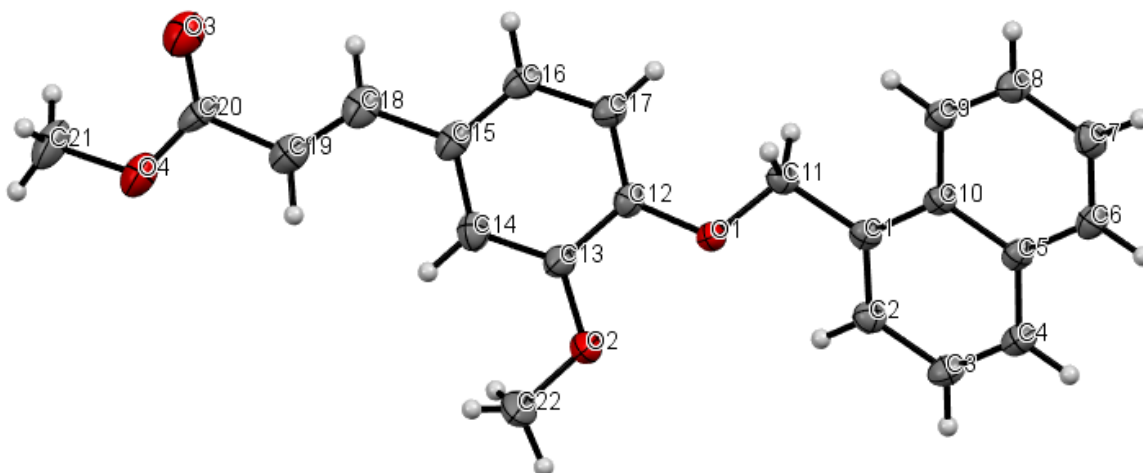


Figura 46. Estructura molecular del compuesto precursor **JOD-7** obtenida por difracción de rayos X del monocristal.

Los datos más relevantes del cristal obtenidos de la difracción de X se encuentran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Datos cristalográficos del compuesto **JOD-7**.

$C_{22} H_{20} O_4$	$V = 1764.31$
PM: 348.38	$Z = 4$
Monoclínico	$T = 100 (4)$
$a = 8.6611 (4)$	Mo $K\alpha$ radiation
$b = 9.7034 (4)$	$\mu = 0.09 \text{ mm}^{-1}$
$c = 21.0784 (11)$	
$\alpha = 90$	
$\beta = 95.155 (5)$	
$\gamma = 90$	

De acuerdo con los datos obtenidos del cristal difractable visualizado en el programa Mercury, el tipo de cristal que se obtuvo es monoclinico debido a dos características una de ellas es que sus ejes a , b y c son diferentes entre ellos, la otra característica es que sus ángulos α β son iguales y son diferentes de γ de esta manera el cristal se cataloga como monoclinico.⁵⁶

La celda unitaria está conformada por 4 moléculas como se puede observar en la **Figura 47**.

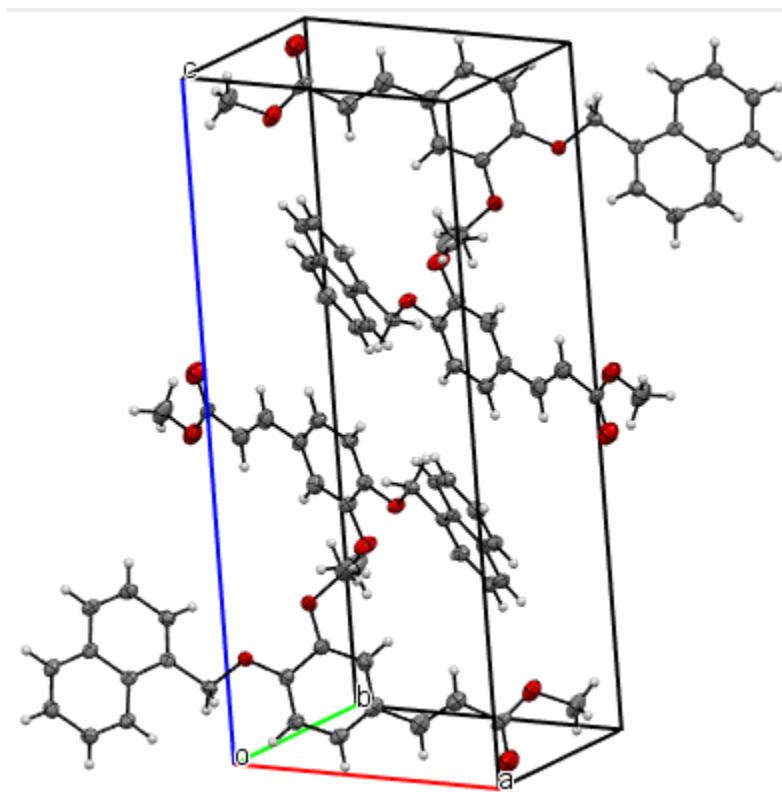
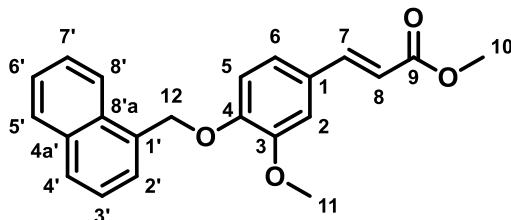


Figura 47. Celda unitaria del cristal difractable del compuesto precursor JOD-7.

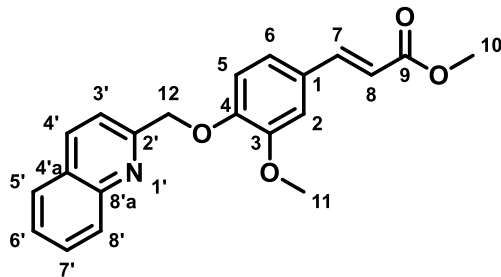
8.2.5 TABLAS DE ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹H Y ¹³C.

Tabla 8. Desplazamientos químicos de RMN ¹H del compuesto **JOD-7**.



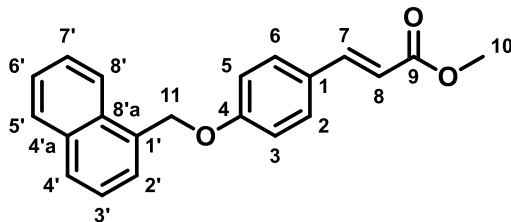
Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)
1	-	-	-
2	7.08	<i>d</i>	2.04
3	-	-	-
4	-	-	-
5	7.59	<i>dd</i>	6.96, 0.9
6	7.05	<i>dd</i>	1.98, 8.52
7	7.63	<i>d</i>	15.9
8	6.31	<i>d</i>	15.9
9	-	-	-
10	3.89	<i>s</i>	-
11	3.79	<i>s</i>	-
12	5.61	<i>s</i>	-
1'	-	-	-
2'	6.97	<i>d</i>	8.3
3'	7.44	<i>dd</i>	7.02, 8.22
4'	7.89	<i>d</i>	7.26
4'a	-	-	-
5'	7.83	<i>d</i>	8.22
6'	7.57-7.51	<i>m</i>	-
7'	7.57-7.51	<i>m</i>	-
8'	8.07	<i>d</i>	8.4
8'a	-	-	-

Tabla 9. Desplazamientos químicos de RMN ¹H del compuesto **JOD-8**



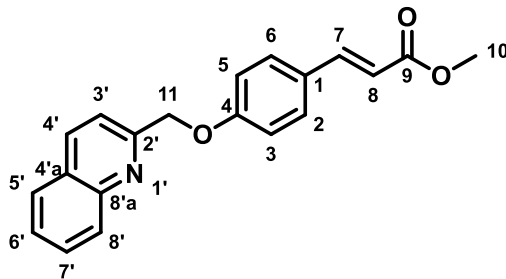
Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)
1	-	-	-
2	7.91	<i>d</i>	1.92
3	-	-	-
4	-	-	-
5	7.59	<i>d</i>	8.4
6	7.71	<i>dd</i>	8.34, 1.92
7	8.09	<i>d</i>	15.96
8	7.06	<i>d</i>	15.966
9	-	-	-
10	4.38	<i>s</i>	-
11	4.22	<i>s</i>	-
12	5.91	<i>s</i>	-
1'	-	-	-
2'	-	-	-
3'	8.17	<i>d</i>	8.46
4'	8.91	<i>d</i>	8.46
4'a	-	-	-
5'	8.48	<i>d</i>	8.1
6'	8.12	<i>ddd</i>	1.08, 8.04
7'	8.29	<i>ddd</i>	1.44, 8.34
8'	8.53	<i>d</i>	8.46
8'a	-	-	-

Tabla 10. Desplazamientos químicos de RMN ^1H del compuesto **JOD-9**.



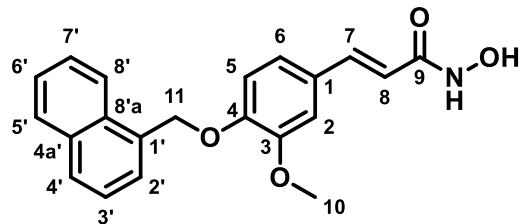
Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)
1	-	-	-
2	8.19	<i>d</i>	8.64
3	7.65	<i>d</i>	8.76
4	-	-	-
5	7.65	<i>d</i>	8.76
6	8.19	<i>d</i>	8.64
7	8.14	<i>d</i>	16.02
8	7.00	<i>d</i>	16.02
9	-	-	-
10	4.22	<i>s</i>	-
11	6.11	<i>s</i>	-
1'	-	-	-
2'	8.18	<i>s</i>	-
3'	8.02	<i>dd</i>	7.02, 7.02
4'	8.48	<i>d</i>	7.62
4'a	-	-	-
5'	8.44	<i>d</i>	8.28
6'	8.10-8.05	<i>m</i>	-
7'	8.10-8.05	<i>m</i>	-
8'	8.59	<i>d</i>	8.1
8'a	-	-	-

Tabla 11. Desplazamientos químicos de RMN ¹H del compuesto **JOD-10**



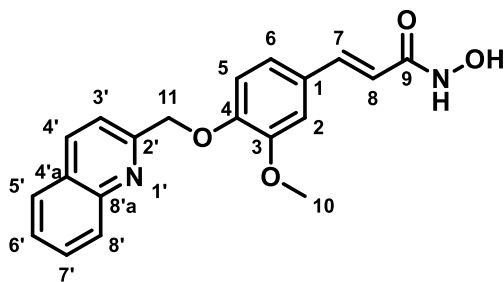
Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)
1	-	-	-
2	8.18	<i>d</i>	8.76
3	7.61	<i>d</i>	8.76
4	-	-	-
5	7.61	<i>d</i>	8.76
6	8.18	<i>d</i>	8.76
7	8.11	<i>d</i>	16.02
8	6.98	<i>d</i>	16.02
9	-	-	-
10	4.21	<i>s</i>	-
11	5.93	<i>s</i>	-
1'	-	-	-
2'	-	-	-
3'	8.16	<i>d</i>	8.46
4'	8.86	<i>d</i>	8.46
4'a	-	-	-
5'	8.48	<i>d</i>	8.04
6'	8.11	<i>m</i>	-
7'	8.28	<i>m</i>	-
8'	8.53	<i>d</i>	8.4
8'a	-	-	-

Tabla 12. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **JOD-1**.



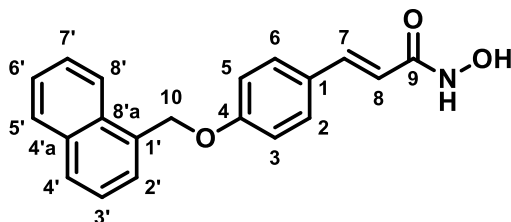
Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	111.9
2	8.10-8.05	<i>m</i>	-	132.8
3	-	-	-	138.9
4	-	-	-	128.7
5	8.17	<i>d</i>	6.9	124.4
6	7.74	<i>t</i>	-	131.6
7	7.94	<i>d</i>	12.36	149.9
8	6.89	<i>d</i>	13.38	114.3
9	-	-	-	163.7
10	4.29	<i>s</i>	-	56.1
11	6.07	<i>s</i>	-	69.0
-NH	11.16	<i>s</i>	-	-
-OH	9.48	<i>s</i>	-	-
1'	-	-	-	117.4
2'	7.66	<i>d</i>	7.5	129.2
3'	8.03	<i>t</i>	-	125.8
4'	8.48	<i>d</i>	7.68	133.7
4'a	-	-	-	122.9
5'	8.44	<i>d</i>	8.22	128.9
6'	8.10-8.05	<i>m</i>	-	126.5
7'	8.10-8.05	<i>m</i>	-	129.9
8'	8.61	<i>d</i>	6.9	127.7
8'a	-	-	-	121.7

Tabla 13. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **JOD-2**.



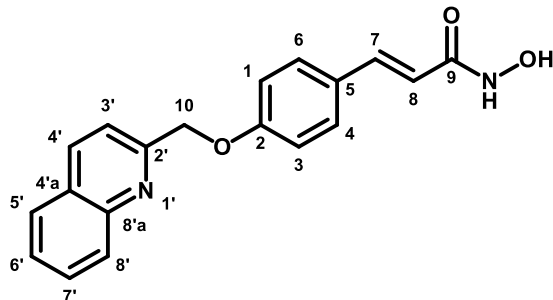
Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	111.9
2	7.73	s	-	120.0
3	-	-	-	138.8
4	-	-	-	128.9
5	7.59	s	-	127.9
6	7.59	s	-	128.4
7	7.92	<i>d</i>	15.48	157.9
8	6.88	<i>d</i>	15.48	114.2
9	-	-	-	163.7
10	4.36	s	-	56.2
11	5.89	s	-	72.0
-NH	11.15	s	-	-
-OH	9.47	s	-	-
1'	-	-	-	-
2'	-	-	-	149.4
3'	8.17	<i>d</i>	8.46	127.7
4'	8.53	<i>d</i>	8.46	149.8
4'a	-	-	-	117.6
5'	8.49	<i>d</i>	7.32	130.2
6'	8.12	<i>t</i>	7.02	129.0
7'	8.29	<i>t</i>	7.86	137.5
8'	8.91	<i>d</i>	8.34	147.4
8'a	-	-	-	121.5

Tabla 14. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **JOD-3**.



Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	117.2
2	8.08	<i>d</i>	9.18	126.9
3	7.64	<i>d</i>	8.64	115.8
4	-	-	-	159.9
5	7.64	<i>d</i>	8.64	115.8
6	8.08	<i>d</i>	9.18	126.9
7	7.94	<i>d</i>	15.24	133.8
8	6.86	<i>d</i>	15.3	124.3
9	-	-	-	163.7
10	6.09	<i>s</i>	-	68.5
-NH	11.19	<i>s</i>	-	-
-OH	9.48	<i>s</i>	-	-
1'	-	-	-	132.7
2'	8.18	<i>d</i>	5.1	127.2
3'	8.05	<i>m</i>	-	125.8
4'	8.48	<i>d</i>	7.74	129.5
4'a	-	-	-	138.5
5'	8.43	<i>d</i>	8.12	131.5
6'	8.05	<i>m</i>	7.02	129.3
7'	8.05	<i>m</i>	7.86	129.9
8'	8.59	<i>d</i>	8.1	126.4
8'a	-	-	-	128.3

Tabla 15. Desplazamientos químicos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **JOD-4**.



Posición	δ ^1H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ^{13}C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	117.4
2	8.02	<i>d</i>	8.22	129.0
3	7.60	<i>d</i>	8.58	115.8
4	-	-	-	59.7
5	7.60	<i>d</i>	8.58	115.8
6	8.02	<i>d</i>	8.22	129.0
7	7.92	<i>d</i>	14.94	147.5
8	6.84	<i>d</i>	14.52	127.1
9	-	-	-	163.6
10	5.91	<i>s</i>	-	71.4
-NH	11.17	<i>s</i>	-	-
-OH	9.47	<i>s</i>	-	-
1'	-	-	-	-
2'	-	-	-	157.8
3'	8.16	<i>d</i>	8.34	12.0
4'	8.90	<i>d</i>	7.26	137.5
4'a	-	-	-	119.7
5'	8.48	<i>d</i>	7.44	128.4
6'	8.11	<i>t</i>	7.14	127.7
7'	8.28	<i>t</i>	7.62	128.6
8'	8.53	<i>D</i>	8.42	130.4
8'a	-	-	-	138.4

8.3. METODOLOGÍA *IN SILICO*: OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO.

8.3.1 PREDICCIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS: MOLINSPIRATION.

El primer análisis *in silico* se realizó con este programa, el cual calcula ciertas propiedades fisicoquímicas de interés sobre los compuestos **JOD1-4**. Este servidor calcula las siguientes propiedades:

- ❖ Peso molecular (PM)
- ❖ Coeficiente de Partición (Log P)
- ❖ Número de donadores de puentes de hidrógeno
- ❖ Número de aceptores de puentes de hidrógeno
- ❖ Área polar superficial

Cada uno de estos valores tienen un rango máximo definidos, y también presenta el número de violaciones permitidos en total, como referencia a los valores de los compuestos de interés se tomó al panobinostat el cual es un fármaco del tipo ácido hidroxámico aprobado por la FDA.

Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos **JOD 1-4** calculadas con Molinspiration.

Propiedades	Valor de corte	JOD 1	JOD 2	JOD 3	JOD 4	Panobinostat
Log P	< 5	3.85	2.77	4.26	3.18	3.37
Peso Molecular	< 500 g/mol	349.39	350.37	319.36	320.35	349.43
Número de aceptores de puentes de hidrógeno	≤ 10	5	6	4	5	5
Número de donadores de puentes de hidrógeno	≤ 5	2	2	2	2	4
Área polar superficial	< 140	67.79	80.69	58.26	71.45	80.64
Número de violaciones	< 2	0	0	0	0	0

De acuerdo con los resultados obtenidos en la **Tabla 16**, ninguno de los compuestos **JOD1-4** viola los valores de corte del programa al igual que el fármaco de referencia panobinostat, por lo cual se espera que los compuestos no presenten problemas de permeabilidad para una administración por vía oral.

8.3.2. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 POR MEDIO DE LA HERRAMIENTA PASS ONLINE.

Por medio del servidor gratuito PASS Online, se calculó el espectro de actividad biológica de los compuestos **JOD 1-4**. El programa arroja diferentes efectos farmacológicos, por lo cual solo se tomaron aquellos de interés de este proyecto. El programa arroja valores de probabilidad de 0 a 1, donde 1 puede ser interpretado como el 100% de probabilidad de que el compuesto muestre esa actividad (**Pa**) y el porcentaje de inactividad (**Pi**). En la **Tabla 17** se resumen estos resultados en forma de porcentaje.

Tabla 17. Predicción de la actividad biológica de los compuestos **JOD 1-4** por el servidor PASS Online.

Actividad/ Compuesto	JOD-1		JOD-2		JOD-3		JOD-4		Panobinostat	
	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
Antineoplásico	65.0%	3.5%	62.6%	3.9%	58.0%	5.0%	50.7%	6.9%	--	--
Inhibidor de histona deacetilasa 6	46.0%	0.3%	18.8%	0.4%	67.1%	0.3%	43.1%	0.3%	5.9%	0.1%
Inhibidor de histona deacetilasa 8	18.4%	0.3%	11.0%	0.5%	26.4%	0.2%	16.2%	0.3%	12.0%	0.5%
Inhibidor pan de histonas deacetilasas	44.6%	0.3%	33.3%	0.3%	46.3%	0.3%	32.9%	0.3%	19.8%	0.4%

De los cálculos realizados en la **Tabla 17**, se seleccionaron los efectos farmacológicos y/o mecanismos de acción relacionados con la actividad citotóxica (antineoplásico) y la posible actividad de ser inhibidores de enzimas HDAC6 y HDAC8 y la posible inhibición no selectiva de las histonas desacetilasas.

Como se puede observar en la **Tabla 17** todos los compuestos tienen probabilidades medias de tener actividad como agentes antineoplásicos. Además, los compuestos presentan porcentajes medios de ser inhibidores de la enzima histona desacetilasa 6 a excepción del compuesto **JOD-2** que presenta un porcentaje discreto. Como inhibidores de la histona desacetilasa 8, todos presentaron valores discretos y como inhibidores no selectivos presentaron probabilidades de medias a discretas. El fármaco de referencia panobinostat, no presentó probabilidad de actuar como agente antineoplásico, su actividad como inhibidor de HDAC 6 y de HDAC 8 es menor a la de los compuestos **JOD 1-4**, de igual manera como inhibidor no selectivo de las HDAC muestra un resultado bajo, lo cual nos da como referencia que las moléculas propuestas en este proyecto tienen altas probabilidades de presentar actividades citotóxicas selectivas en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

8.3.3 PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS: ADMETSAR.

El servidor gratuito admetSAR proporciona la predicción de datos referentes a la absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad basados en un estudio de estructura-actividad (SAR) a través de su base de datos con más de 96 mil compuestos. Se realizaron los cálculos sobre los compuestos **JOD 1-4** que se presentan en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Predicción de propiedades farmacodinámicas de los compuestos **JOD 1-4** por admetSAR.

MODELO/COMPUESTO		JOD 1	JOD 2	JOD 3	JOD 4
Absorción	Criterio	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad
Absorción intestinal humana	HIA+	98.75%	97.96%	98.75%	97.96%
Barrera hematoencefálica	BB+	99.69%	95.74%	97.25%	96.99%
Substrato glicoproteína-P	No substrato/ substrato	65.19%	57.41%	71.51%	75.04%
Inhibidor glicoproteína-P	No inhibidor/ inhibidor	61.46%	72.41%	90.84%	92.84%
Metabolismo	Criterio				
Substrato CYP450 3A4	No substrato/ substrato	60.30%	58.32%	55.86%	53.57%
Toxicidad	Criterio				
AMES	No toxicidad AMES/ toxicidad AMES	62.00%	53.00%	61.00%	55.00%
Carcinogenicidad	No carcinogénico/ carcinogénico	68.91%	85.58%	68.91%	85.58%

Los resultados obtenidos por el servidor admetSAR en la parte de la absorción de los compuestos se observa que todos presentan altas probabilidades de tener una adecuada absorción intestinal en humanos y también presenta buenas probabilidades de poder atravesar la barrera hematoencefálica, esta propiedad es adecuada para los tipos de compuestos de este proyecto, debido a que no todos los compuestos tienen la capacidad de atravesar esta membrana y así poder actuar sobre tumores a este nivel del organismo. Uno de los parámetros importantes que arroja el programa es la probabilidad de ser sustrato o inhibidor de la glicoproteína P, la cual está relacionada con la resistencia a fármacos al ser una proteína de eflujo que al detectar sustancias ajenas al organismo las expulsa de la célula impidiendo que lleguen a su sitio de acción. De acuerdo con los resultados, ninguno de los compuestos presentará problemas de resistencia; los resultados obtenidos en el apartado de metabolismo muestran las probabilidades de que los compuestos sean sustratos de la isoforma más abundante e importante de la familia del CYP450, la isoforma CYP 3A4, lo que nos indica que todos los compuestos posiblemente sean metabolizados por esta isoforma. Los resultados calculados en el apartado de toxicidad mostraron que ninguno de los compuestos presenta probabilidades de ser carcinogénico, en cambio en la prueba de AMES los compuestos **JOD-1** y **JOD-3** presentan probabilidades de ser positivos para esta prueba y actuar como agentes genotóxicos.

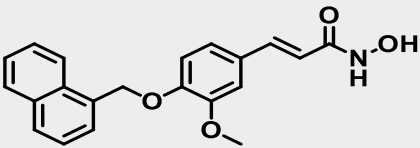
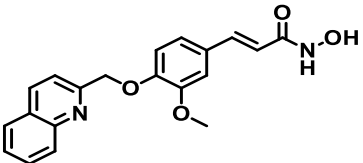
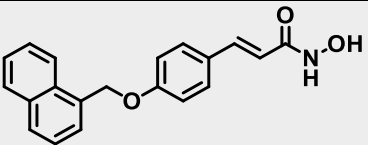
8.3.4 PREDICCIONES DE EFECTOS TÓXICOS ACD/TOX SUITE

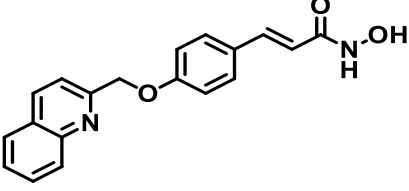
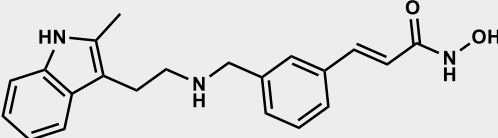
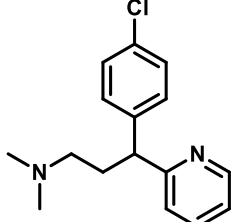
Este programa, el cual requiere de una licencia para su uso, nos amplía el panorama con respecto a la toxicidad de los compuestos de interés para este proyecto, al predecir diferentes efectos tóxicos tales como: el bloqueo de canales hERG, inhibición de las diferentes isoformas del CYP450, la posible DL₅₀, y su categoría dentro de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD por sus siglas en inglés).

❖ Bloqueo de canales hERG

Los canales hERG pertenecen a una superfamilia de canales de K^+ dependientes de voltaje, estos canales se caracterizan funcionalmente por permitir la permeación del ión K^+ tras la apertura del poro transmembranal en respuesta a la despolarización de la membrana. La función en concreto de los canales hERG es que transporta más K^+ durante la repolarización de la membrana, estos canales están altamente expresados en el tejido cardiaco por lo consiguiente su bloqueo está relacionado con cardiotoxicidad, causando taquicardias, arritmias e incluso hasta la muerte. Cabe mencionar que varios fármacos que han estado a la venta han sido retirados del mercado por presentar estos efectos tóxicos. Por ello es imprescindible realizar el cálculo predictivo sobre las moléculas **JOD 1-4**, tomando como referencias al panobinostat el cual es un ácido hidroxámico que fue aprobado por la FDA y la clorfenamina que es un fármaco antihistamínico el cual está demostrado su bloqueo de canales hERG.

Tabla 19. Predicción de posibilidades de bloqueo de canales hERG.

Compuesto	Probabilidad de bloqueo de los canales hERG ($k_i < 10 \mu M$)
 <p>JOD-1</p>	44%
 <p>JOD-2</p>	34%
 <p>JOD-3</p>	64%

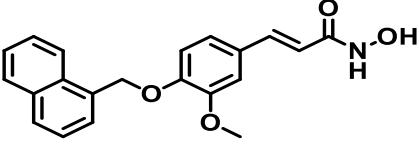
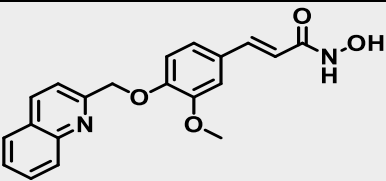
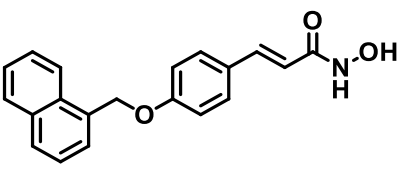
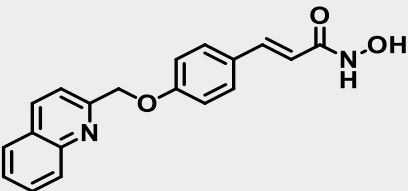
 <p style="text-align: center;">JOD-4</p>	<p>41%</p>
 <p style="text-align: center;">Panobinostat</p>	<p>81%</p>
 <p style="text-align: center;">Clorfenamina</p>	<p>93%</p>

De acuerdo con los resultados que se observan en la **Tabla 19**, los compuestos **JOD-1**, **JOD-2** y **JOD-4** presentaron probabilidades bajas de tener efectos cardiotoxicos, mientras que el compuesto **JOD-3** presentó probabilidad media de ser bloqueador de los canales hERG, estos resultados se comparan con los fármacos de referencia: panobinostat el cual tiene un resultado del 81% y la clorfenamina con 93%, por lo cual los compuestos **JOD 1-4** al tener menor porcentaje indican un buen comportamiento sobre este efecto cardiotoxico.

❖ Inhibición de las isoformas del CYP450

El cálculo sobre la inhibición de las diferentes isoformas del citocromo P450 es de suma importancia, ya que puede traer efectos tóxicos sobre el organismo y/o interacciones fármaco - fármaco o fármaco - alimento. Los cálculos que realiza el programa se hacen sobre las isoformas más representativas de esta superfamilia de enzimas metabólicas.

Tabla 20. Probabilidad de la inhibición de las isoformas del CYP450.

Compuesto	Inhibición de isoformas del CYP450				
	[10 μ M]				
	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C9	CYP2C19	CYP1A2
 JOD-1	25%	8%	25%	43%	78%
 JOD-2	52%	4%	17%	42%	72%
 JOD-3	28%	16%	32%	59%	86%
 JOD-4	37%	6%	17%	49%	84%
Panobinostat	11%	24%	15%	14%	19%
Clotrimazol	85%	7%	41%	80%	12%

Como fármacos de referencia para este cálculo se tomó nuevamente al panobinostat y al clotrimazol como control positivo ya que es un potente inhibidor de estas isoformas, de acuerdo a los resultados obtenidos en la **Tabla 20** los compuestos **JOD 1-4** presentaron probabilidades por encima del panobinostat sobre 4 de las 5 isoformas, pero en comparación de clotrimazol presentan porcentajes menores sobre 4 de las 5 isoformas.

Tomando en cuenta la isoforma más abundante en el organismo y la que se encarga de metabolizar a la mayoría de los fármacos es la isoforma CYP3A4 los valores obtenidos por los compuestos **JOD 1-4** van de discretos a medios por lo cual se puede decir que no presentaran interacciones fármaco – fármaco.

❖ Toxicidad aguda (DL₅₀) y categoría OECD

La dosis letal media (DL₅₀) es la dosis que causa la muerte del 50% de la población que la recibe. Este parámetro es de suma importancia ya que podemos calcular la dosis letal media de los compuestos **JOD 1-4** comparándolos con el fármaco de referencia panobinostat, el cálculo que realiza el programa lo hace sobre ratón y rata por diferentes vías de administración, dando mayor prioridad a la vía de administración oral dado que es la vía de administración del fármaco de referencia (panobinostat). En la **Tabla 21** se presenta la clasificación de acuerdo a los criterios de la OECD.

Tabla 21. Toxicidad aguda en ratón y rata calculado con ACD/Tox suite.

DL ₅₀ (mg/Kg) por especie y ruta de administración							Categoría OECD
Compuesto	Ratón (mg/kg)				Rata (mg/kg)		
	IP	Oral	IV	SC	IP	Oral	
JOD-1	880	1400	130	300	360	2600	4-5
JOD-2	820	1400	160	530	390	2000	4-5
JOD-3	860	1700	130	320	320	2500	4-5
JOD-4	790	1700	160	560	390	1900	4-5
Panobinostat	240	730	78	480	130	400	3-4
IP: intraperitoneal. IV: intravenosa. SC: subcutáneo.							
Categoría 1 OECD	DL ₅₀ ≤ 5 mg/Kg Altamente tóxico						
Categoría 2 OECD	5 ≤ DL ₅₀ ≤ 50mg/Kg Muy tóxico						
Categoría 3 OECD	50 ≤ DL ₅₀ ≤ 300 mg/Kg Tóxico						
Categoría 4 OECD	300 ≤ DL ₅₀ ≤ 2000 mg/Kg Toxicidad moderada						
Categoría 5 OECD	DL ₅₀ ≥ 2000 mg/Kg No tóxico						

De acuerdo con los resultados obtenidos, los compuestos **JOD 1-4** presentaron DL_{50} más altas que el fármaco de referencia en todas las vías de administración, por lo cual pueden considerarse más seguros y menos tóxicos que el panobinostat, destacando los valores de DL_{50} por la vía de administración oral en ambas especies. Los valores de dosis letal media por vía oral obtenidos son ideales por lo cual se clasifican entre la categoría 4 - 5 de la OECD indicándonos que son tóxicos moderados y no tóxicos, lo cual es aceptable debido a que la mayoría de los fármacos disponibles actualmente en el mercado pertenecen a esta categoría.

8.3.5 PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS Y FARMACOCINÉTICAS: SWISSADME.

Por medio del servidor gratuito SwissADME se calcularon diferentes propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de los compuestos **JOD 1-4**, en la **Tabla 22** se muestran los resultados obtenidos del cálculo realizado.

Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de los compuestos **JOD 1-4** por SwissADME.

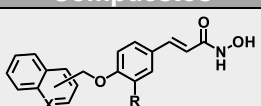
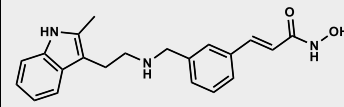
Modelo	Compuestos			
	JOD-1	JOD-2	JOD-3	JOD-4
Propiedades fisicoquímicas				
Área Polar Superficial Å²	67.79	80.68	58.56	71.15
Log P	3.41	2.62	3.31	2.68
Solubilidad en agua µg/mL	5.3	9.3	6.0	10.0
Propiedades farmacocinéticas				
Absorción GI	Alta	Alta	Alta	Alta
Sustrato P-GP	No	No	No	No
Inhibidor CYP3A4	No	No	No	No
Alertas estructurales				
PAINS	0	0	0	0
Brenk	Ácido hidroxámico, aceptor de Michael.	Ácido hidroxámico, aceptor de Michael.	Ácido hidroxámico, aceptor de Michael.	Ácido hidroxámico, aceptor de Michael.

Como se observa en la **Tabla 22**, todos los compuestos presentan un área polar superficial menor a 140 \AA^2 de acuerdo con la regla de Veber (buena permeabilidad), un log P adecuado es no mayor a 5 de acuerdo con la regla de Lipinski, su solubilidad en agua de todos los compuestos es pobre (menor de 30 \mu g/mL) por lo cual su administración por vía oral tendría problemas de absorción, sus propiedades farmacocinéticas son aceptables con una predicción de alta absorción intestinal para todos los compuestos. Ninguno de los compuestos son sustratos de la glicoproteína P la cual está asociada a resistencia a fármacos, ninguno de los compuestos presentó probabilidades de ser inhibidor de la isoforma CYP450, lo cual nos indica que no hay probabilidades de presentar interacciones fármaco – fármaco. Además, no presentan alertas estructurales de tipo PAINS las cuales pueden dar falsos positivos en ensayos *in vitro* sobre diferentes dianas terapéuticas, mientras que los compuestos muestran alertas estructurales de tipo Brenk, las cuales son de tipo citotóxico y son convenientes para este proyecto ya que se espera que los compuestos tengan este tipo de actividad.

8.3.6 PREDICCIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE LÍNEAS CELULARES HUMANAS TUMORALES Y NO TUMORALES: CLC: PRED.

Debido a que el proyecto va dirigido contra dianas terapéuticas que se encuentran sobreexpresadas en diferentes tipos de cáncer, este servidor gratuito nos proporcionó información valiosa sobre la posible actividad citotóxica que presenten los compuestos **JOD 1-4** en los diferentes tipos de líneas celulares cancerígenas que tiene el servidor en su base de datos.

Tabla 23. Resultados de citotoxicidad sobre líneas celulares tumorales para los compuestos **JOD 1-4**.

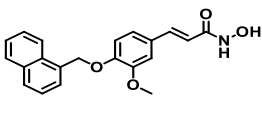
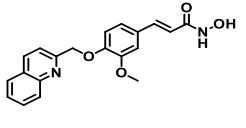
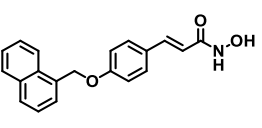
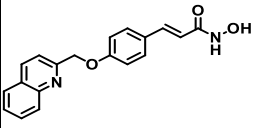
Línea celular	Nombre de línea celular	Compuestos									
		 JOD-1 R = OCH ₃ X = CH JOD-2 R = OCH ₃ X = N JOD-3 R = H X = CH JOD-4 R = H X = N									
		JOD-1		JOD-2		JOD-3		JOD-4		Panobinostat	
Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi		
HCT-116	Carcinoma de colon	54.8%	2.2%	47.6%	3.2%	60.3%	1.6%	51.3%	2.6%	74.8%	0.7%
PC-3	Carcinoma de próstata	51.5%	2.8%	48.9%	3.0%	50.0%	2.9%	47.3%	3.3%	37.6%	5.9%
IGROV-1	Adenocarcinoma ovárico	40.4%	3.3%	56.6%	1.3%	43.0%	2.6%	59.9%	1.1%	40.1%	3.4%
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama	52.1%	2.5%	55.8%	1.9%	53.5%	2.2%	57.6%	1.7%	51.8%	2.5%

De acuerdo con los datos obtenidos sobre el posible efecto citotóxico en diferentes líneas celulares cancerígenas, todos los compuestos presentan probabilidades medias de presentar este efecto, destacando un compuesto para cada línea celular: para el carcinoma de colon destaca el compuesto **JOD-3** con una probabilidad del 60.3%, para el carcinoma de próstata el compuesto **JOD-1** con un porcentaje del 51.5%, para el adenocarcinoma ovárico destaca el compuesto **JOD-4** con un porcentaje del 59.9% y para el adenocarcinoma de mama destaca nuevamente el compuesto **JOD-4** con un porcentaje del 57.6% de probabilidad.

De esta manera, podemos observar que los valores obtenidos no son tan variables, por lo que posiblemente todos los compuestos presenten actividad sobre este tipo de líneas celulares, que de acuerdo con la literatura presentan una sobreexpresión de las enzimas HDAC6 y HDAC8.

Así mismo, el servidor también calcula el efecto citotóxico sobre líneas celulares no cancerígenas o sanas, esta información es muy importante porque podemos observar si las moléculas son específicas para atacar solo a células cancerígenas.

Tabla 24. Resultados de citotoxicidad sobre líneas celulares no-tumorales para los compuestos **JOD 1-4**.

Línea celular	Nombre de línea celular	Compuestos							
		JOD-1		JOD-2		JOD-3		JOD-4	
						Pa	Pi	Pa	Pi
HMEC	Célula endotelial microvascular	12.1%	2.2%	11.2%	2.0%	14.1%	1.7%	12.6%	2.0%
NFF	Fibroblasto	6.7%	0.6%	6.0%	0.7%	8.0%	0.5%	7.0%	0.5%

De acuerdo con los resultados obtenidos, los compuestos presentaron probabilidades bajas de ser citotóxicos sobre células normales, demostrando ser selectivos *in silico*.

8.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR REFINADO SOBRE LAS ENZIMAS HDAC6 Y HDAC8

Las dianas terapéuticas de este proyecto son dos enzimas: la enzima histona desacetilasa 6 (HDAC6) y la enzima histona desacetilasa 8 (HDAC8), las cuales están sobreexpresadas en varios tipos de cáncer, como en cáncer de colon, de pulmón y leucemia. Para poder proponer un mecanismo de acción y el posible modo de unión de los compuestos **JOD 1-4** se realizó un acoplamiento molecular automatizado sobre estas dianas terapéuticas.

Para poder realizar este análisis computacional se requiere de coordenadas 3D de las proteínas a estudiar, las cuales podemos encontrar en el Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>), estos archivos deben tener ciertas características: una resolución mínima de 2.5 Å, con valores de R menores a 0.25, el organismo de donde fue cristalizada, de preferencia deben contar con su ligando co-cristalizado para comparar el modo de unión con los compuestos **JOD 1-4**.

Se utilizaron los siguientes PDB-ID:

- ❖ HDAC6: 5EDU con el ligando co-cristalizado **Tricostatina**.
- ❖ HDAC8: 1T67 con el ligando co-cristalizado **MS-344**.

8.4.1 VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR SOBRE HDAC6 Y HDAC8.

La validación del acoplamiento molecular es un proceso necesario de realizar para comprobar que el sistema donde vamos a simular la interacción proteína - ligando es representativa y viable para los compuestos **JOD 1-4**, para esto se toma un criterio muy importante en la validación que es el factor RMSD, el cual no debe ser mayor a 2Å. Esto nos indica que la conformación que toma el ligando durante el proceso de cálculo es muy similar a la del ligando co-cristalizado y que el acoplamiento molecular es reproducible y confiable.

En la **Figura 48**, se observa la validación de la enzima HDAC6 con su ligando co-cristalizado **Tricotastina** en color amarillo, y la validación se encuentra en azul, la cual adoptó una conformación muy similar al ligando co-cristalizado con un RMSD de 1.92 Å, el cual es un valor aceptable, esta fue la posición más similar y debido a esta razón el sistema para realizar acoplamiento posteriores es confiable.

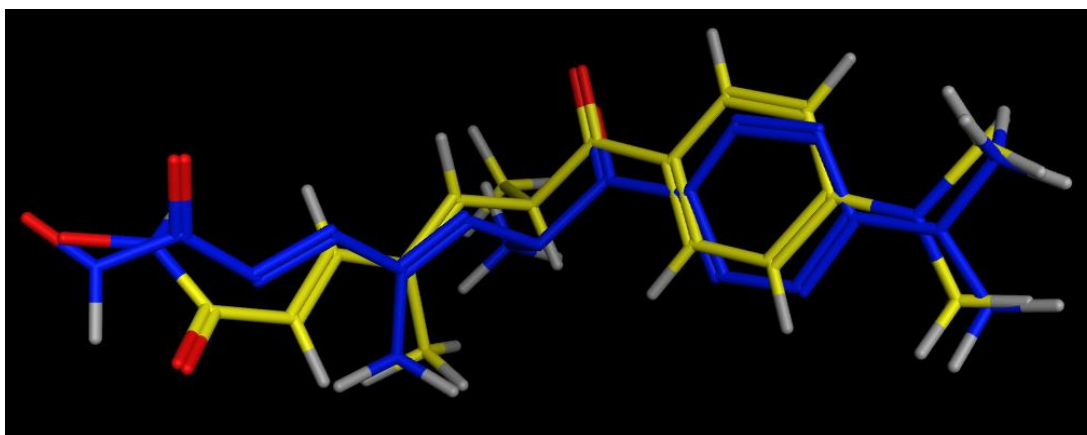


Figura 48. Validación del acoplamiento molecular sobre HDAC6, RMSD= 1.92 Å.

Después de realizar la validación se observaron las interacciones presentadas con la proteína en 2D, las más destacadas fueron con el Zn 901, Tyr 782, His 610, His 611 como se observa en la **Figura 49**.

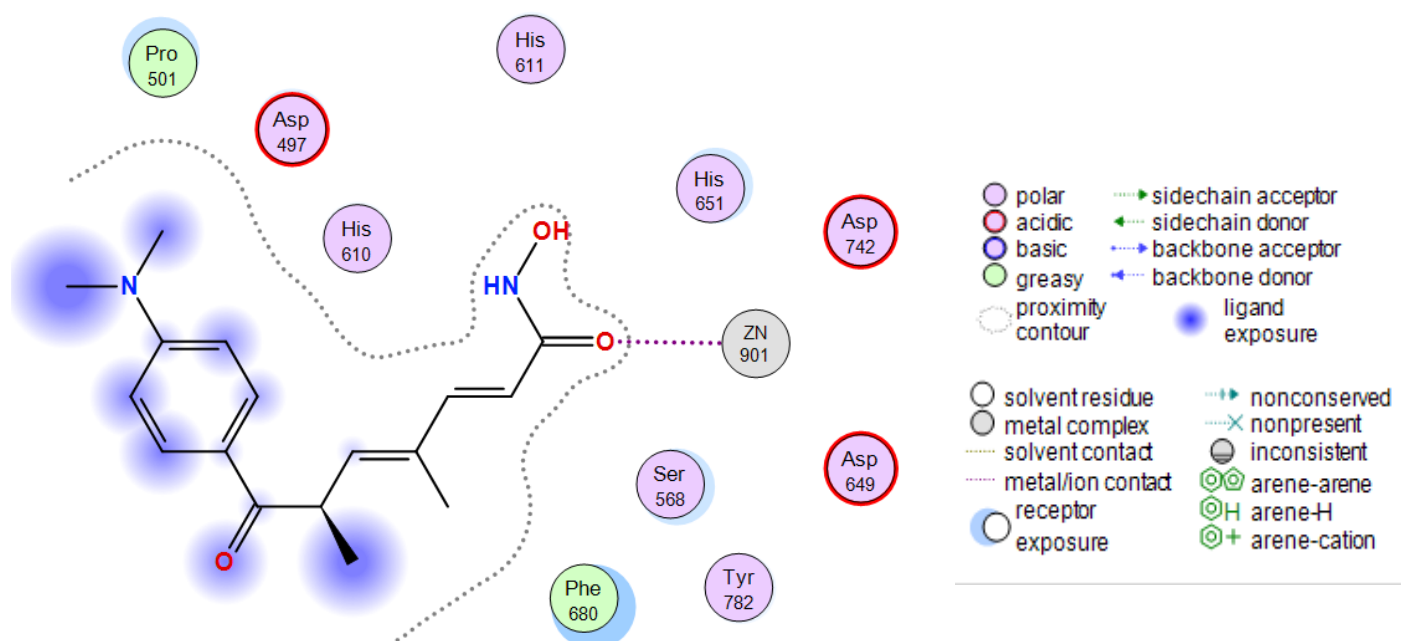


Figura 49. Interacciones ligando-proteína de la validación de HDAC6.

En la **Figura 50**, se presenta la validación del acoplamiento molecular sobre la enzima HDAC8, cuyo ligando co-cristalizado es el **MS-344** (en color amarillo) y la validación se encuentra en color azul, donde se observa que la conformación que toma es muy similar presentando un valor de RMSD de 0.95 Å, el cual es un valor aceptable y nos indica que el sistema para realizar acoplamiento moleculares es confiable.

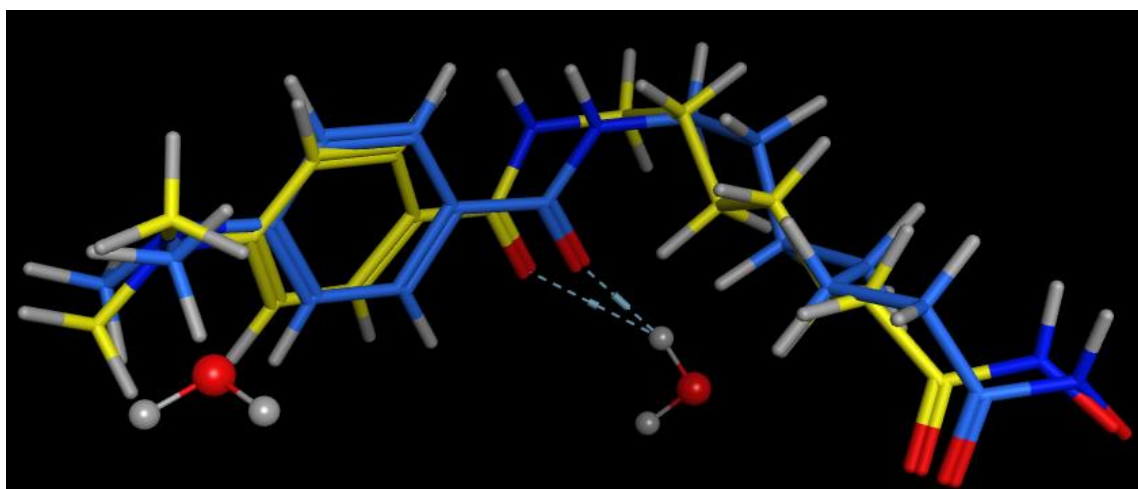


Figura 50. Validación del acoplamiento molecular sobre HDAC8, RMSD=0.95 Å

De igual manera se presentan las interacciones proteína - ligando en la **Figura 51** donde se encontraron las siguientes interacciones más destacadas: con Zn²⁺ 378, Tyr 306, His 142, His 143, Phe 208 y con una molécula de agua (H₂O).

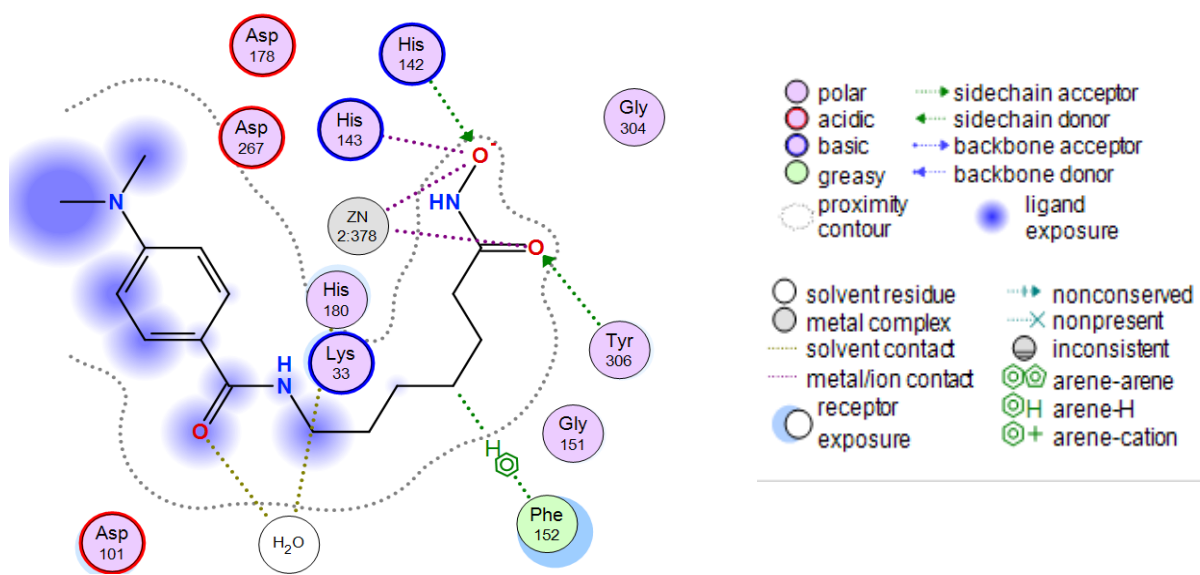


Figura 51. Interacciones ligando-proteína de la validación de HDAC8.

8.4.2 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 SOBRE LA ENZIMA HDAC6.

Después de haber realizado la validación y confirmar que el método de acoplamiento molecular es el adecuado, se procedió a realizar el acoplamiento molecular de los ligandos sintetizados **JOD 1-4**, sobre la enzima histona desacetilasa 6. En la **Tabla 25** se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión y sus constantes de afinidad (*K_i*).

Tabla 25. Energías de unión y *K_i* del acoplamiento molecular con HDAC6

Compuesto	Energía de unión (-kcal/mol)	<i>K_i</i> [nM]
JOD-1	-10.54	17.5
JOD-2	-10.66	14.33
JOD-3	-11.06	7.28
JOD-4	-10.33	25.13

De acuerdo con los resultados que se observan en la **Tabla 25**, los compuestos **JOD-3** y **JOD-2** son los que presentaron las *K_i* más altas con valores de 7.28 nM y 14.33 nM, respectivamente.

En la **Figura 52**, se muestra el diagrama en 2D del compuesto **JOD-3** con la enzima HDAC6, donde se observan interacciones conservadas de la validación con el ligando Tricotastina: Zn 901 una interacción doble de tipo complejo metálico en la región del hidroxamato, presenta interacciones con Tyr 782, con Gly 619 y con His 610 e His 611 interacciones iónicas con el hidroxamato.

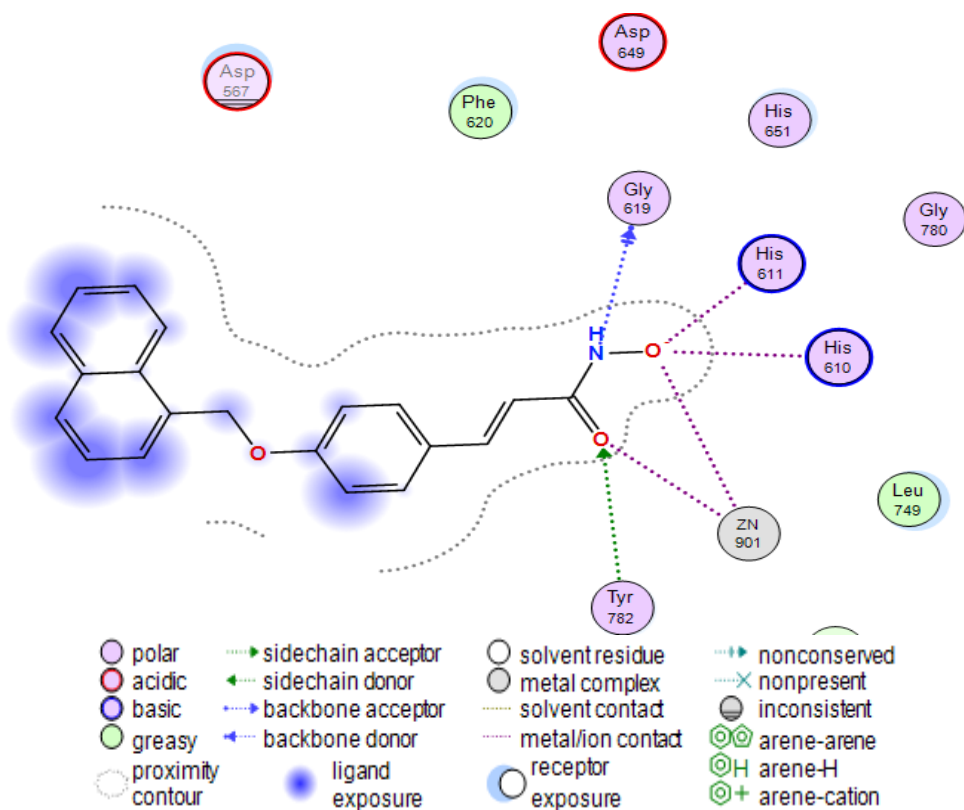


Figura 52. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC6 de **JOD-3**.

De igual manera se presenta el diagrama en 3D en la **Figura 53**, donde se observa la conformación espacial del compuesto **JOD-3** (amarillo) sobre el sitio catalítico de HDAC6, en donde se aprecia la interacción de complejo metálico con Zn 901 con la región del ácido hidroxámico.

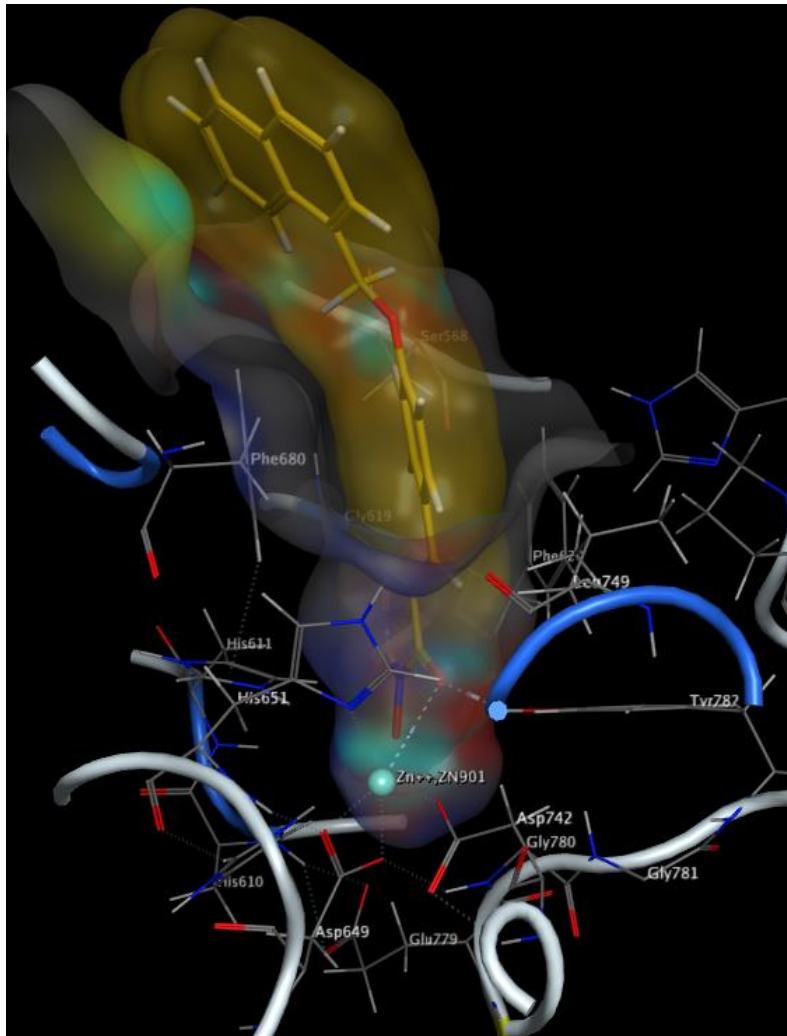


Figura 53. Diagrama 3D del compuesto **JOD-3** (amarillo) sobre el sitio de reconocimiento de HDAC6.

En la **Figura 54**, se observa el diagrama de interacciones en 2D del compuesto **JOD-2** con la enzima HDAC6.

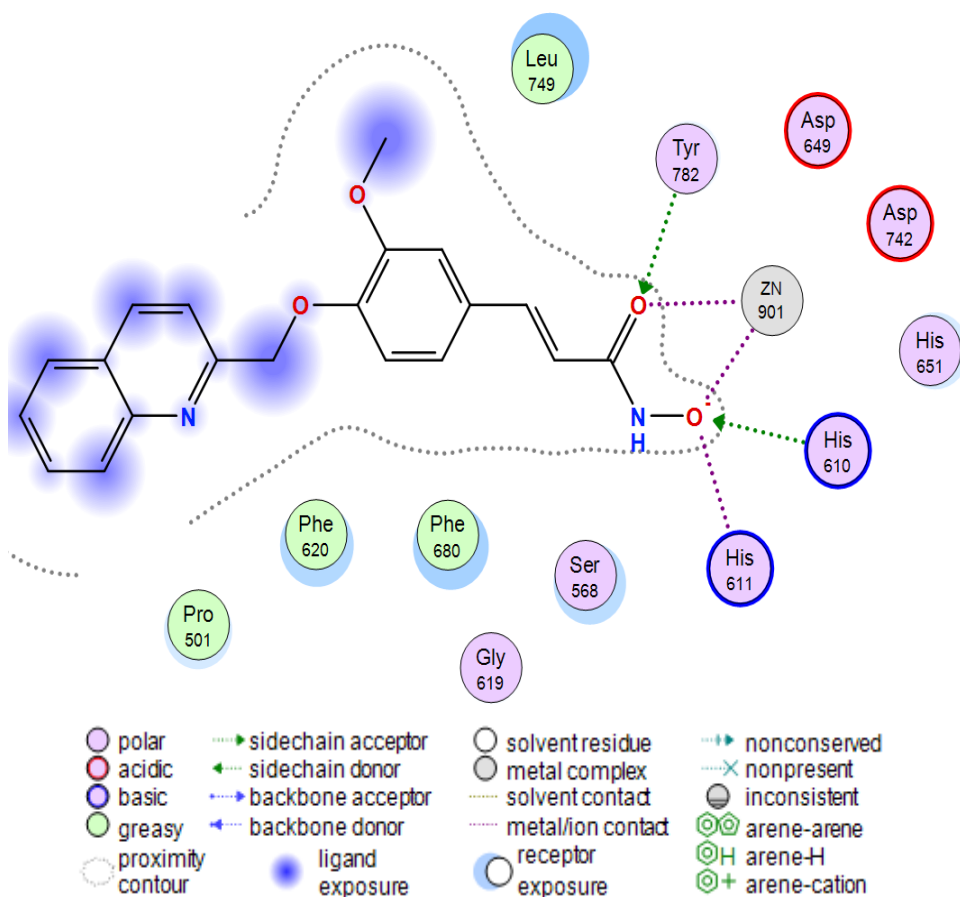


Figura 54. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC6 de **JOD-2**.

Como se puede observar en la **Figura 54**, se conservan las interacciones con respecto al ligando co-cristalizado: con Zn 901 formando una interacción doble de tipo complejo metálico con la región del hidroxamato, con Tyr 782 y con His 610 e His 611 interacciones iónicas con el hidroxamato.

En la **Figura 55**, se muestra el diagrama en 3D del compuesto **JOD-2**.

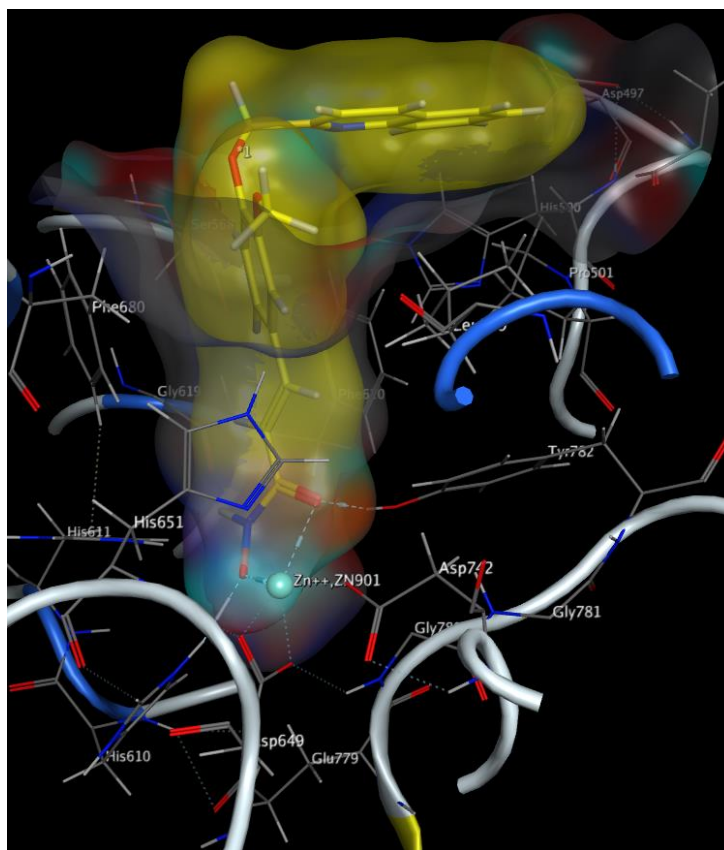


Figura 55. Diagrama 3D del compuesto **JOD-2** (amarillo) sobre el sitio catalítico de HDAC6.

Como se puede observar en la **Figura 55**, el compuesto **JOD-2** toma una conformación espacial la cual encaja de una manera que se ancla a la cavidad (sitio catalítico) de la HDAC6 y se observa el complejo metálico formado por el ácido hidroxámico y con el Zn 901.

8.4.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JOD 1-4 SOBRE LA ENZIMA HDAC8.

Después de haber realizado la validación y confirmar que el método de acoplamiento molecular es el adecuado, se procedió a realizar el acoplamiento molecular de los ligandos sintetizados **JOD 1-4** sobre la enzima HDAC8.

En la **Tabla 26** se muestran los resultados obtenidos de este análisis.

Tabla 26. Energías de unión y K_i del acoplamiento molecular con HDAC8

Compuesto	Energía de unión (-kcal/mol)	K_i [nM]
JOD-1	-11.13	6.42
JOD-2	-10.91	9.31
JOD-3	-8.18	958
JOD-4	-7.68	2200

Como se observa en la **Tabla 26** los compuestos con mayor energía de unión son el compuesto **JOD 1** y **JOD-2**, con energías de unión de -11.1357 kcal/mol y -10.9168 kcal/mol respectivamente, en cuanto a su constante de afinidad el compuesto **JOD-1** presentó una K_i de 6.42 nM y el compuesto **JOD-2** una K_i de 9.31 nM.

En la **Figura 56**, se muestra el diagrama en 2D las interacciones del compuesto **JOD-1** con la enzima HDAC8.

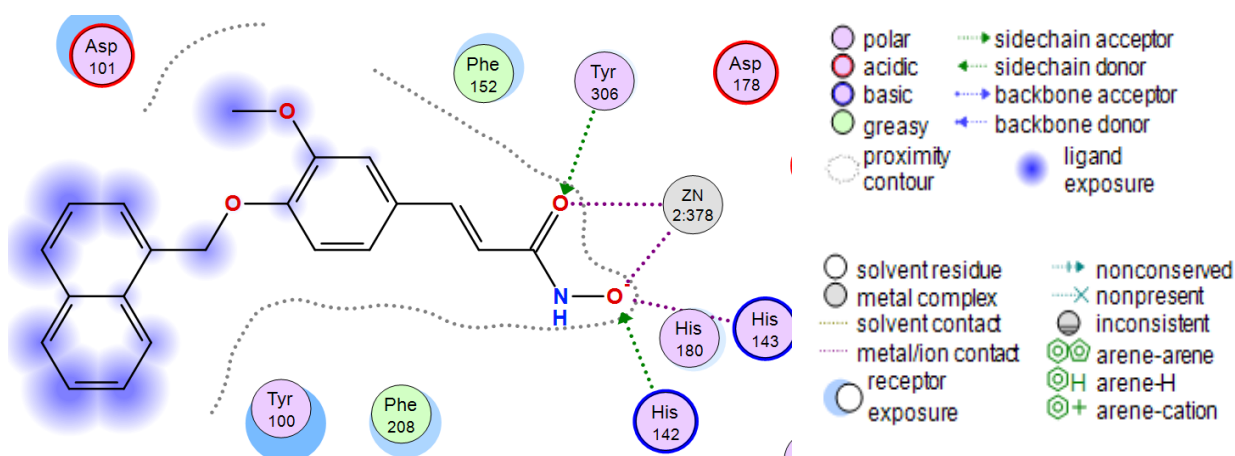


Figura 56. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC8 de **JOD-1**.

En la **Figura 56** se observan las siguientes interacciones: con Zn^{2+} 378 una interacción doble tipo complejo metálico con la región del hidroxamato, con Tyr 306 una interacción con el carbonilo y con His 142 e His 143 interacciones iónicas con el hidroxamato, estas interacciones se conservan con las del ligando co-cristalizado **MS-344**. En la **Figura 57** se observa el diagrama en 3D del compuesto **JOD-1** sobre el sitio catalítico de HDAC8.

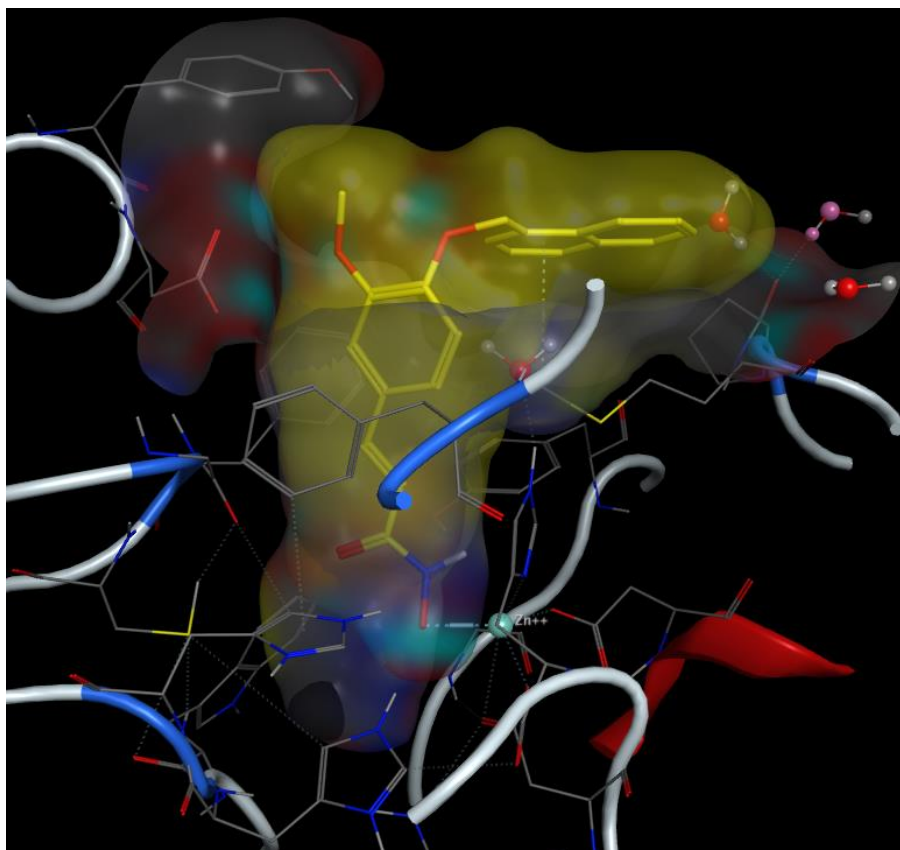


Figura 57. Diagrama 3D del compuesto **JOD-1** (amarillo), sobre el sitio de reconocimiento de HDAC8.

Como se observa en la **Figura 57**, el compuesto **JOD-1** toma una conformación espacial de maneta que se ancla a la cavidad de la HDAC8 y se forma el complejo metálico con Zn^{2+} 378 con el hidroxamato.

El compuesto **JOD-2** presentó buenos valores de energía de unión y de K_i sobre HDAC8. En la **Figura 58** se observa el diagrama en 2D de las interacciones del compuesto **JOD-2** sobre la enzima HDAC8.

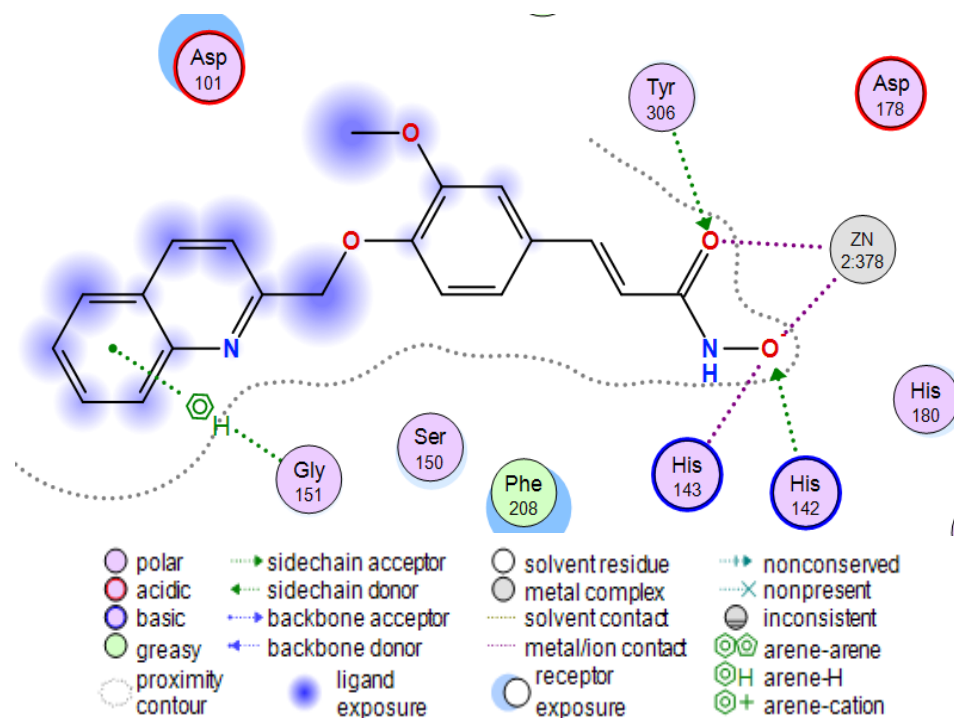


Figura 58. Diagrama 2D de las interacciones sobre HDAC8 de **JOD-2**.

De acuerdo con la **Figura 58**, se observan las siguientes interacciones: con Zn^{2+} 378 una interacción doble de tipo complejo metálico con la región del hidroxamato, una con el carbonilo con Tyr 306 y con His 142 e His 143 interacciones iónicas cuales están conservadas con las del ligando co-cristalizado **MS-344** y se presenta una nueva interacción de tipo π -protón con Gly 151.

En la **Figura 59**, se presenta el diagrama en 3D del compuesto **JOD-2** sobre el sitio de catalítico de HDAC8.

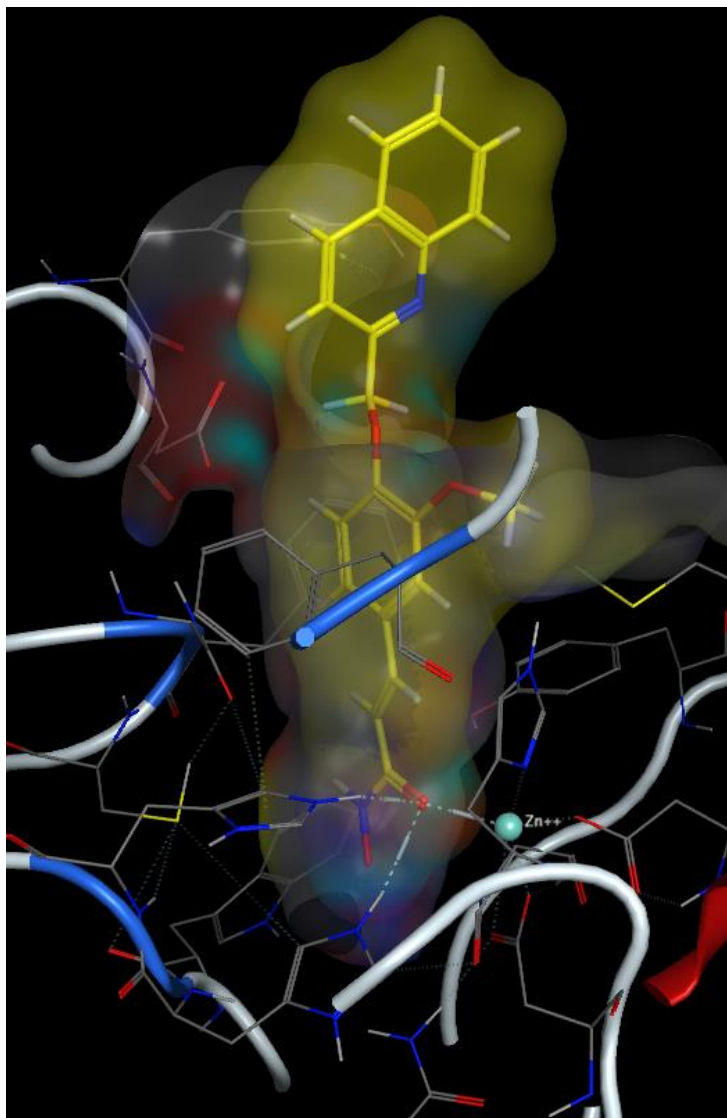


Figura 59. Diagrama 3D del compuesto **JOD-2** (amarillo) sobre el sitio de catalítico de HDAC8.

Como se observa en la **Figura 59**, el compuesto **JOD-2** adopta una conformación espacial lineal dentro de la cavidad de HDAC8 y de igual manera se observa la formación del complejo con el átomo de Zn^{2+} 378 con el hidroxamato.

8.5 ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO PARA LA SELECCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO

Este consenso farmacológico se realizó con la finalidad de encontrar al (los) compuesto(s) de la serie con las mejores propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, fisicoquímicas, toxicológicas y citotóxicas con base en los valores de los cálculos realizados mediante los programas químicoinformáticos y con los valores de energía de unión y de afinidad obtenidos a través del acoplamiento molecular con el programa MOE.

De esta manera, el (los) compuestos que presenten las mejores puntuaciones de esta colección de datos será más probable que sean mejores inhibidores de las enzimas propuestas en este proyecto y/o que presenten un efecto citotóxico en un ensayo *in vitro*, en comparación de compuestos que solo tienen puntuaciones altas de una sola predicción.

En la **Tabla 27** se presenta la compilación de las propiedades farmacológicas de los compuestos **JOD 1-4**, donde se utilizó un semáforo de colores para identificar alertas farmacológicas o estructurales en alguno de los compuestos, el código de colores es el siguiente: el color **verde** es para aquellos compuestos que tienen valores ideales, el **amarillo** para aquellos compuestos aceptables, mientras que el color **rojo** para aquellos compuestos que presentan una alerta estructural de importancia, de esta manera podemos discernir entre los compuestos y elegir al o los mejores candidatos.

Tabla 27. Consenso farmacológico de los compuestos JOD 1-4

Propiedades	JOD-1	JOD-2	JOD-3	JOD-4
Propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas				
PM	349.39	350.37	319.36	320.35
cLog P	3.41	2.62	3.31	2.68
Sol. Agua	5.3 µg/mL	9.3 µg/mL	6.0 µg/mL	10.0 µg/mL
Permeabilidad				
Lipinski				
Clasificación biofarmacéutica	Clase 2	Clase 2	Clase 2	Clase 2
Propiedades farmacodinámicas				
PASS HDAC6	46.0%	18.8%	67.1%	43.1%
PASS HDAC8	18.4%	11.0%	26.4%	16.2%
Ki MOE HAC6	17.5 nM	14.33 nM	7.28 nM	25.13 nM
Ki MOE HDAC8	6.42 nM	9.31 nM	958 nM	2200 nM
Propiedades farmacocinéticas				
Abs. Intes.				
BHE (+)				
Sus. Gp P				
Inh. Gp P				
Citotoxicidad				
Líneas cel. tum. (+)				
Líneas cel. No-tum. (-)				
Toxicidad				
AMES				
hERG				
CYP				



IDEAL



ACCEPTABLE



ALERTA ESTRUCTURAL

Con base en lo descrito en la **Tabla 27** de consenso farmacológico, el compuesto **JOD-2** mostró las mejores propiedades farmacocinéticas, citotóxicas, no presentó alertas de alto riesgo en la parte de toxicidad y obtuvo una buena K_i en el acoplamiento molecular sobre ambas enzimas, tiene un cLog P adecuado por lo cual este compuesto se priorizó para ensayos biológicos. El segundo compuesto con propiedades farmacológicas balanceadas es el **JOD-1**, el cual mostró un excelente comportamiento farmacodinámico siendo el que obtuvo una K_i mejor contra HDAC8 y un valor interesante de K_i contra HDAC6. La alerta toxicológica de la prueba de AMES resultó positiva debido al anillo de naftaleno, el cual es catalogado por el programa como genotóxico, sin embargo, existen diversos medicamentos en que contienen el anillo de naftaleno como son: naproxeno, propranolol, duloxetina, terbinafina, bedaquilina. Muchos fármacos han sido aprobados por la FDA y se están comercializando como agentes terapéuticos, debido a que el núcleo de naftaleno ha sido ampliamente relacionado con diferentes actividades biológicas tales como: anticancerígenas, antimicrobianas, antiinflamatorias, antituberculosas, antivirales, para trastornos neurológicos y cardiovasculares.⁵⁷

8.6 EVALUACIÓN BIOLÓGICA: ENSAYOS *IN VITRO*

Con el fin de corroborar y validar experimentalmente los cálculos de predicción de citotoxicidad *in silico*, se realizó un ensayo *in vitro* sobre las líneas celulares cancerígenas MDA-MB-231, MCF-7, HeLa y células VERO. Estas pruebas se realizaron en colaboración con la Dra. Rosa Moo Puc de Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en Mérida, Yucatán.

8.6.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

Una vez concluida la síntesis de los compuestos finales, su purificación y caracterización, se procedió a realizar la evaluación por medio de un ensayo *in vitro* de citotoxicidad en diferentes líneas celulares cancerígenas: adenocarcinoma de mama humano (MCF-7, ATCC-HTB-22), adenocarcinoma de cuello uterino humano (HeLa, ATCC-CCL-2), cáncer de mama humano independiente de hormonas (MDA, ATCC-MB-231) y sobre células epiteliales renales de mono africano (VERO), donde se tomaron como controles positivos para el ensayo citotóxico dos fármacos: el docetaxel que es utilizado en la quimioterapia antimitótica, que se utiliza principalmente para el tratamiento del cáncer de mama, ovario y cáncer de pulmón de células no pequeñas,⁵⁸ y el 5-fluorouracilo (5-FU) que es un análogo de la pirimidina utilizado como un antimetabolito antineoplásico.⁵⁹ Como datos extras se consultaron las concentraciones citotóxicas medias (CC₅₀) del fármaco Vorinostat (un ácido hidroxámico) que es un inhibidor de las enzimas HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC6, indicado para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T, estos datos fueron consultados de la página: “La Genómica de la Sensibilidad a los Medicamentos en el Cáncer” (GDSC, por sus siglas en inglés) del Hospital General de Massachusetts.⁶⁰

Los compuestos se clasifican de acuerdo con los resultados de Concentración Citotóxica media (CC₅₀) como se puede observar en la **Tabla 28**, una molécula bioactiva, en este caso un compuesto citotóxico, se considerará *ordinario* cuando su CC₅₀ este entre 10-50 μ M; un compuesto *hit* será aquel cuya CC₅₀ sea mayor que

1 μM y menor de 10 μM y por último, un compuesto *líder* es aquel que presente una CC_{50} menor de 1 μM (menor de 1000 nM).

Clasificación de compuestos de acuerdo a su CC_{50}	
Tabla 28. Clasificación de compuestos citotóxicos.	
Hit	1 μM < CC_{50} < 10 μM
Líder	CC_{50} < 1 μM (<1000 nM)

Como se puede observar en la **Tabla 28**, entre menor sea la CC_{50} más potente es el compuesto, siendo los compuestos *hit* y los compuestos *líderes* los más destacables en una exploración quimicofarmacéutica.

8.6.1.1 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LA LINEA CELULAR MDA-MB-231.

Las células MDA-MB-231 son una línea celular de cáncer de mama independiente de hormonas o también conocida como cáncer de mama triple negativo, llamado de esta manera debido a que no posee receptores de estrógeno (ER), de progesterona (PR) tampoco producen un exceso del Receptor 2 del Factor de Crecimiento Epidérmico Humano (HER2) el cual es un receptor de las células mamarias que ayudan a crecer y dividirse a las células de manera normal. En cambio, cuando hay un exceso de estos receptores las células mamarias empiezan a crecer sin control, entonces al no expresarse estos receptores el tratamiento hormonal no es eficaz.⁶¹ El cáncer de mama triple negativo es el que posee mayor incidencia en mujeres menores de 40 años el cual crece y se propaga más rápido que otros tipos de cáncer de mama.⁶²

En la **Tabla 29** se observa la CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4**, así como del Docetaxel, 5-FU y Vorinostat sobre la línea MDA-MB-231.

Tabla 29. Valores de CC₅₀ de los compuestos **JOD 1-4** (MDA-MB-231).

Compuesto	CC ₅₀ MDA-231 (μ M)
JOD-1	0.817
JOD-2	1.592
JOD-3	1.411
JOD-4	1.558
Docetaxel	0.01
5-FU	122
Vorinostat	2.43

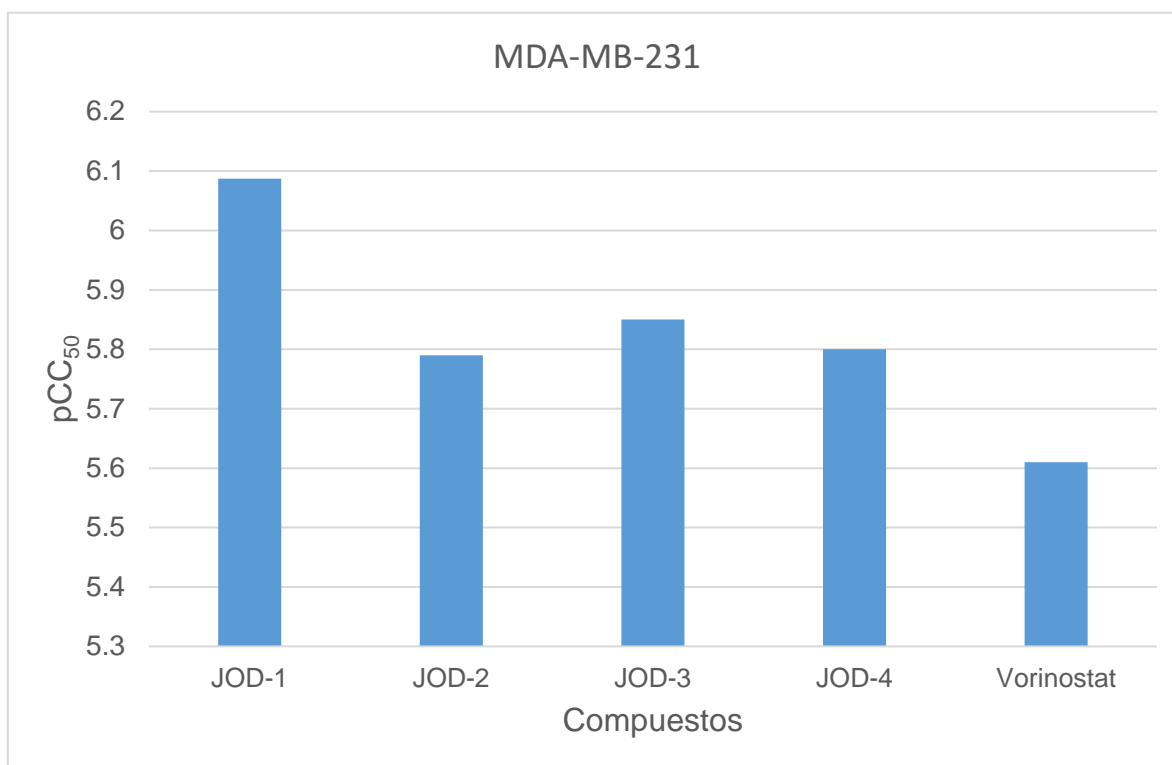
Con base en los resultados que se observan en la **Tabla 29**, los compuestos **JOD 1-4** presentaron actividad citotóxica sobre la línea celular MDA-MB-231, destacando al compuesto **JOD-1** con una CC₅₀ de 0.817 μ M clasificándose de esta manera como un compuesto *líder* experimental y en cuanto a los compuestos **JOD 2-4** presentan CC₅₀ menores a 10 μ M clasificándose como compuestos *hits* experimentales.

Se puede observar que el fármaco Docetaxel presenta una CC₅₀ en el rango nanomolar a comparación de los compuestos **JOD 1-4** los cuales son menos potentes que los fármacos de referencia, sin embargo, también se observa que los compuestos **JOD 1-4** son más potentes que el Vorinostat que tiene una CC₅₀ de 2.4 μ M. Para observar mejor esta relación se procedió a calcular la pCC₅₀ el cual es el -log del valor de CC₅₀ y se calcula de la siguiente manera:

$$pCC_{50} = -\log CC_{50}[M]$$

Una vez calculado los valores de pCC₅₀ de los compuestos **JOD 1-4** se graficaron comparando el valor de pCC₅₀ del Vorinostat, como se muestra en la **Gráfica 5**.

Gráfica 5. Valores de pCC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** contra el Vorinostat (MDA-MB.231).



Como se puede observar en la **Gráfica 5** los compuestos **JOD 1-4** tienen una pCC_{50} mayor que el Vorinostat, lo cual significa que son más potentes, destacando al compuesto **JOD-1** que tiene una pCC_{50} de 6.1, mientras que el Vorinostat tiene una pCC_{50} de 5.6 siendo de esta manera el compuesto más potente de la serie sobre la línea celular MDA-MB-231. Estos resultados experimentales correlacionan con los obtenidos en las predicciones realizadas con el programa CLC:pred (página 82).

8.6.1.2 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LINEA CELULAR MCF-7.

La línea celular cancerígena MCF-7 es una línea celular de adenocarcinoma de mama, que se origina en las células de los conductos o los lobulillos (glándulas productoras de leche).⁶³ Existen diferentes tipos de cáncer de mama: cáncer de mama invasivo, no invasivo, recurrente y metastático.⁶⁴

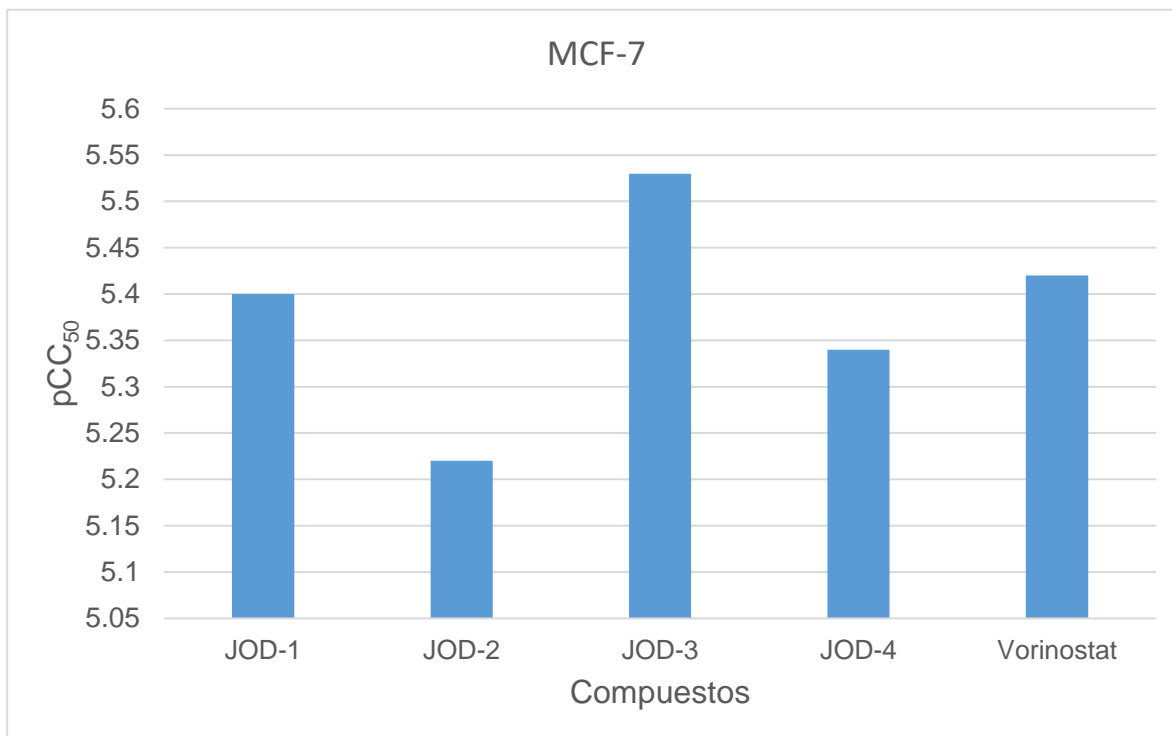
En la **Tabla 30** se observa la CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4**, así como del Docetaxel, del 5-FU y del Vorinostat sobre esta línea celular cancerígena.

Tabla 30. Valores de CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** (MCF-7).

Compuesto	CC_{50} MCF-7 (μ M)
JOD-1	3.949
JOD-2	5.889
JOD-3	2.919
JOD-4	4.478
Docetaxel	0.01
5-FU	419
Vorinostat	3.74

De acuerdo con los resultados mostrados en la **Tabla 29**, los compuestos **JOD 1-4** tienen CC_{50} menores a 10 μ M, clasificándose de esta manera como compuestos *hits* experimentales, destacando al compuesto **JOD-3** con una CC_{50} de 2.919 μ M comparado contra el Vorinostat que obtuvo una CC_{50} de 3.74 μ M. Se calculó el pCC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** para observar mejor la relación de los resultados, graficándose y comparándose los valores contra el Vorinostat.

Gráfica 6. Valores de pCC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** contra el Vorinostat (MCF-7).



De acuerdo con los resultados de la **Gráfica 6**, el compuesto **JOD-3** tiene un valor de pCC_{50} de 5.5, siendo más potente que el Vorinostat con un pCC_{50} de 5.4, mientras que el compuesto **JOD-1** tiene un pCC_{50} de 5.4 siendo equipotente con el Vorinostat, mientras que los compuestos **JOD-2** y **JOD-4** son menos potentes, sin embargo, no se menosprecia su actividad citotóxica que se encuentra en el bajo orden micromolar.

8.6.1.3 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE LA LINEA CELULAR HeLa.

La línea celular cancerígena HeLa de adenocarcinoma de cuello uterino, es un tipo de cáncer que tiene origen en las células glandulares que producen un recubrimiento de mucosa en el interior del cuello uterino y del útero.⁶⁵ El adenocarcinoma de cuello uterino ocupa el segundo lugar de incidencia con respecto a cáncer de cérvix con una incidencia del 10-15% frente al 85-90% del carcinoma escamoso o epidermoide.⁶⁶

En la **Tabla 31** se observa la CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4**, así como del Docetaxel, 5-FU y Vorinostat sobre esta línea celular cancerígena.

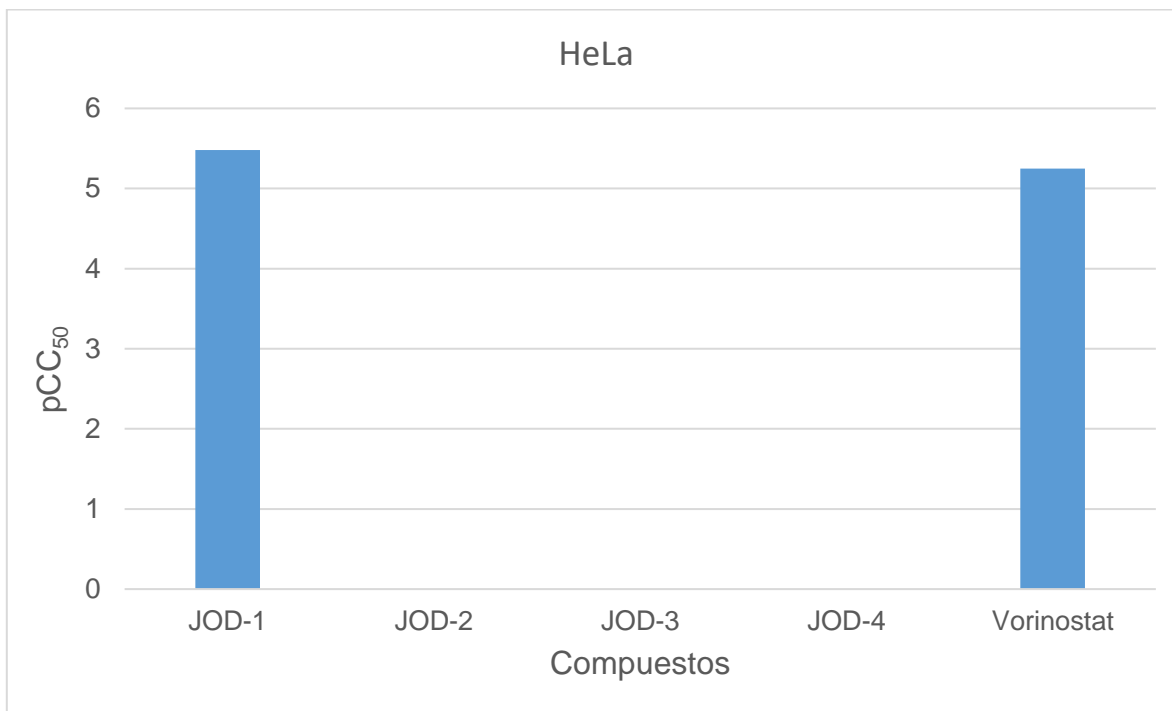
Tabla 31. Valores de CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** (HeLa).

Compuesto	CC_{50} HeLa (μ M)
JOD-1	3.309
JOD-2	NA
JOD-3	≥ 100
JOD-4	≥ 100
Docetaxel	0.25
5-FU	2.9
Vorinostat	5.51

Como se puede observar en la **Tabla 31**, solamente el compuesto **JOD-1** mostró actividad citotóxica con una CC_{50} de 3.309 μ M, clasificándose como compuesto *hit* experimental, siendo más potente que el Vorinostat que posee una CC_{50} de 5.51 μ M.

Se calculó el pCC₅₀ de los compuestos y se graficó comparando el pCC₅₀ del Vorinostat.

Gráfica 7. Valores de pCC₅₀ de los compuestos **JOD 1-4** contra el Vorinostat (HeLa).



Como se puede observar en la **Gráfica 7**, los compuestos **JOD 2- 4** no presentaron actividad citotóxica frente a esta línea celular, mientras que el compuesto **JOD-1** tiene un pCC₅₀ ligeramente mayor que el del Vorinostat siendo más potente sobre la línea celular cancerígena HeLa.

Cabe destacar el compuesto **JOD-1** presentó actividad citotóxica sobre las 3 líneas celulares cancerígenas y que se clasifica como *líder* experimental sobre la línea celular MDA-MB-231 y como *hit* experimental sobre las líneas celulares MCF-7 y HeLa, siendo el compuesto con mayor actividad citotóxica de la serie de compuestos. Sin embargo, los compuestos **JOD-2**, **JOD-3** y **JOD-4** se clasifican como *hits* experimentales sobre las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF-7, también cabe mencionar que los compuestos **JOD 1-4** mostraron mayor afinidad sobre líneas celulares cancerígenas de mama.

8.6.1.4 ENSAYO CITOTÓXICO SOBRE CELULAS VERO.

La línea celular VERO son células epiteliales renales de mono africano, el ensayo de citotoxicidad se realizó con la finalidad de observar la selectividad de los compuestos **JOD 1-4** sobre líneas celulares cancerígenas y una línea celular sana metabólicamente activa y determinar así la citotoxicidad sobre células normales.

En la **Tabla 32**, se observa la CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4**, Docetaxel y 5-FU.

Tabla 32. Valores de CC_{50} de los compuestos **JOD 1-4** (VERO).

Compuesto	CC_{50} HeLa (μ M)
JOD-1	8.009
JOD-2	10.513
JOD-3	11.04
JOD-4	15.565
Docetaxel	1.36
5-FU	≥ 100

Como se puede observar en la **Tabla 32**, los compuestos **JOD-2**, **JOD-3** y **JOD-4** presentaron CC_{50} mayores a 10μ M, mientras que el compuesto **JOD-1** presentó una CC_{50} de 8.0μ M, aunado a esto todos los compuestos presentaron una CC_{50} menor en comparación del Docetaxel que tiene una CC_{50} de 1.36μ M, por lo cual se puede determinar que son menos tóxicos. Para observar mejor la relación de selectividad se calculó el índice de selectividad (IS) de los compuestos.

El Índice de Selectividad (IS), nos indica que un compuesto activo se considera citotóxico cuando el índice de selectividad es menor de 10 ($IS \leq 10$),⁶⁷ también indica la selectividad que tienen los compuestos citotóxicos sobre células sanas (VERO).

En la **Tabla 33** se muestran los índices de selectividad de cada compuesto sobre cada línea celular con respecto a las células VERO, el índice de selectividad se calcula de la siguiente manera.

$$IS = \frac{CC_{50} \text{ Células VERO}}{CC_{50} \text{ Línea Celular Cancerígena}}$$

Tabla 33. Índice de Selectividad de los compuestos y CC_{50} en células VERO

Compuesto	Cáncer de mama independiente de hormonas (MDA)	Adenocarcinoma de cuello uterino (HELA)	Adenocarcinoma de mama (MCF7)
JOD-1	9.8	2.42	2.02
JOD-2	6.6	NA	1.78
JOD-3	7.82	NA	3.78
JOD-4	9.99	NA	3.47
Docetaxel	136	6.4	136

De acuerdo con los resultados de la **Tabla 33**, el IS sobre la línea celular MDA-MB-231 los compuestos **JOD-1** y **JOD-4** tienen un IS de 9.8 y 9.9 respectivamente, por lo cual se consideran selectivos sobre esta línea celular cancerígena y de la misma manera citotóxicos, mientras que los compuestos **JOD-2** y **JOD-3** presentan IS de 6.6 y 7.82 respectivamente, lo cual nos indica una menor selectividad sobre estas líneas celulares cancerígenas y sanas, aunado a esto presentan un buen efecto citotóxico por lo cual no se descartan sobre la línea celular MDA-MB-231. En la línea celular cancerígena HeLa como se observa en la **Tabla 33** el compuesto **JOD-1** presentó un IS de 2.42 por lo cual se considera altamente citotóxico y no selectivo, de igual manera entran en esta clasificación los compuestos **JOD 1-4** sobre la línea celular cancerígena MCF7 debido a que presentan un IS menor de 10.

9. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y caracterizaron los compuestos **JOD 1-2** derivados del ácido ferúlico y los compuestos **JOD 3-4** derivados del ácido *p*-cumárico.
- Se evaluaron computacionalmente las propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, toxicológicas y citotóxicas de los compuestos **JOD 1-4**, los cuales mostraron afinidad *in silico* sobre las enzimas HDAC8 y HDAC6 con valores de *K_i* en el orden nanomolar.
- Mediante el análisis de consenso farmacológico se seleccionaron los compuestos **JOD-1** y **JOD-2** al poseer las mejores predicciones farmacológicas por lo que se catalogaron como líderes computacionales seguros.
- En el ensayo de citotoxicidad *in vitro* el compuesto **JOD-1** fue el único que mostró actividad sobre las 3 líneas celulares, destacando la actividad sobre la línea celular MDA-MB-231 (cáncer de mama humano independiente de hormonas) con una CC_{50} en el bajo orden μM , correlacionando con los resultados obtenidos en el programa en línea CLC-pred y con el análisis de consenso farmacológico pasando de ser un líder computacional seguro a un compuesto líder experimental seguro con un IS de 9.8.

10. PERSPECTIVAS

- Realizar ensayos *in vivo* sobre modelos animales

- Incrementar la serie de compuestos ácidos hidroxámicos

- Aumentar el rendimiento de la reacción de hidroxilaminación.

- Realizar ensayos *In vitro* sobre las enzimas HDAC6 y HDAC8 y observar si inhiben su expresión.

- Evaluar si se reactivan GST reportados como silenciados por mecanismos epigenéticos.

11. PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de los compuestos finales **JOD 1-4** y los compuestos precursores se utilizaron los siguientes reactivos con sus respectivas marcas:

- Ácido *trans*-4-hidroxi-3-metoxicinámico (ácido ferúlico) (Sigma-Aldrich®, ahora Merck®) (\$ 5780.00 MXN, 100 g)
- Ácido *trans*-4-hidroxicinámico (ácido *p*-cumárico) (Sigma-Aldrich®, ahora Merck®) (\$ 2,367.00 MXN, 25 g)
- 1-(Clorometil)naftaleno (Sigma-Aldrich®, ahora Merck®) (\$ 957.00 MXN, 100 g)
- Clorhidrato de 2-(clorometil)quinolina (Sigma-Aldrich®, ahora Merck®) (2586.00 MXN, 25 g)
- Clorhidrato de hidroxilamina (J.T. Baker®) (\$4777.00 MXN, 500 g)

11.1 INSTRUMENTACIÓN

Se utilizó una parrilla de calentamiento con agitación magnética marca VELP SCIENTIFICA® y matraces bola de 5,10 y 25 mL adicionados con barras magnéticas de agitación y refrigerante en posición de reflujo.

Para evaporar los disolventes utilizados en la reacción se utilizó un rotavapor marca BÜCHI R-200® acoplado al vacío con una bomba marca Vacuubrand® ME 2C.

Los puntos de fusión de cada compuesto se obtuvieron con el aparato Stanford Research System, modelo EZ-Melt®.

11.2 CROMATOGRAFÍA

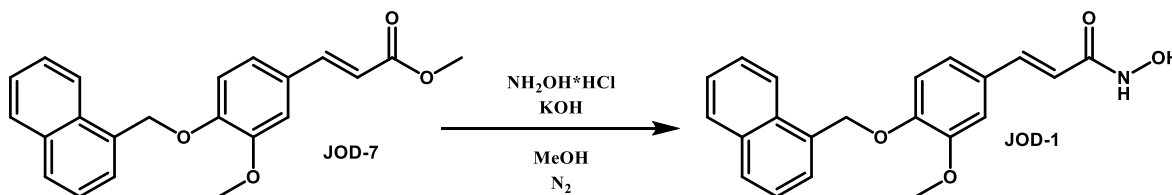
El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía en capa fina (CCF) utilizando placas de aluminio de 3.0 x 4.5 cm cubiertas con sílice Alugam y reveladas mediante una lámpara de luz ultravioleta UV-254/366 nm. Para la elución de las placas cromatográficas se emplearon los sistemas de elución descritos en la **Tabla 34**.

Tabla 34. Fases móviles empleadas en el monitoreo de los compuestos

Sistema	Proporción	Composición
I	95:5	Diclorometano/Metanol
II	90:10	Hexano/Acetato de etilo
III	70:30	Hexano/Acetato de etilo

11.3 SÍNTESIS DE COMPUESTOS FINALES

11.3.1 SÍNTESIS DE (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)-ACRILAMIDA (JOD-1)



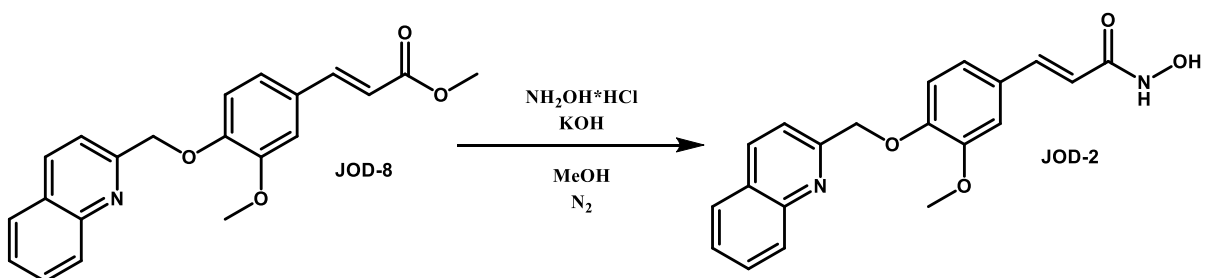
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.55 g (1.57×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-7** en 2 mL de MeOH, posteriormente se agregó gota a gota al matraz una mezcla previamente preparada en 3 mL de MeOH frío con 0.55 g (7.84×10^{-3} mol, 5 eq.) de clorhidrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) y 0.88 g (1.5×10^{-2} mol, 10 eq.) de hidróxido de potasio (KOH). La reacción se dejó a temperatura ambiente con atmosfera de nitrógeno N_2 y se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema I** y **sistema III** y con una prueba colorimétrica de cloruro férrico (FeCl_3), hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término de la reacción se concentró a 1/3 del disolvente con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se llevó a pH de 4-5 con agitación durante 15 minutos y se obtuvo un precipitado blanco, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en acetato de etilo y se obtuvo un polvo cristalino blanco, con un punto de fusión de 153.8-155.8 °C. Rendimiento de reacción de 31%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.28 (s, 3H, 10-H), 6.07 (s, 2H, 11-H), 6.88 (d, $J_t = 12.36$ Hz, 1H, 8-H), 7.66 (d, $J_o = 7.5$ Hz, 1H, 2'-H), 7.74 (t, 1H, 6-H), 7.94 (d, $J_t = 13.4$ Hz, 1H, 7-H), 8.03 (t, 1H, 3'-H), 8.05-8.1 (m, 2-H, 6'-H, 7'-H), 8.17 (d, $J_o = 6.9$ Hz, 1H, 5-H), 8.44 (d, $J_o = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 8.48 (d, $J_o = 7.68$ Hz, 1H, 4'-H), 8.61 (d, $J_o = 6.9$ Hz, 1H, 8'-H), 9.47 (s, 1H, -OH), 11.16 (s, 1H, -NH).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 56.07 (10-C), 69.01 (11-C), 111.09 (1-C), 114.25 (8-C), 117.48 (1'-C), 121.65 (8'a-C), 122.94 (4'a-C), 124.41 (5-C), 125.85 (3'-C), 126.46 (6'-C), 126.91 (7'-C), 127.25 (8'-C), 128.70 (4-C), 128.93 5'-C), 129.22 2'-C), 131.68 (6-C), 132.86 (2-C), 133.77 (4'-C), 138.91 (3-C), 149.86 (7-C), 163.73 (9-C).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 349 (M+) 20%, 348 (M-1) 100%, 207 (M-142) 30%, 134 (M-215) 100%.

11.3.2 SÍNTESIS DE (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)-ACRILAMIDA (JOD-2)



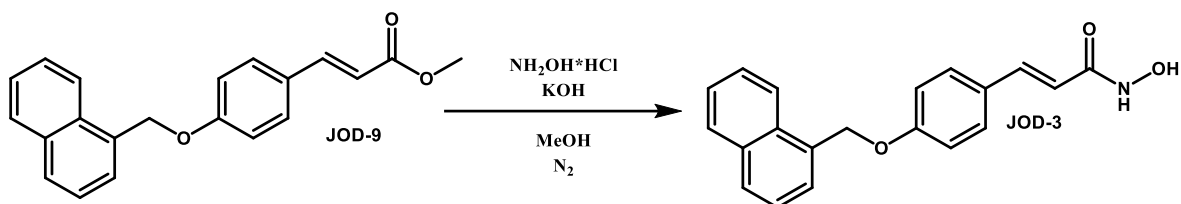
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.5 g (1.56×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-8** en 2 mL de MeOH, posteriormente se agregó gota a gota al matraz una mezcla previamente preparada en 3 mL de MeOH frío con 0.54 g (7.82×10^{-3} , 5 eq.) de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ y 0.87 g (1.56×10^{-2} mol, 10 eq.) de KOH, la reacción se dejó a temperatura ambiente con atmosfera de nitrógeno N_2 . La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema I** y **sistema III** y con una prueba colorimétrica de FeCl_3 , se realizó hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término la reacción se concentró a 1/3 del disolvente con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se llevó a pH de 4-5 con agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado café, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en una mezcla de AcOEt/MeOH y se obtuvo un polvo café. Con un punto de fusión de 180.8-185.9 °C. Rendimiento de reacción de 59%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.36 (s, 3H, 10-H), 5.89 (s, 2H, 11-H), 6.88 (d, $J_t = 15.48$ Hz, 1H, 8-H), 7.59 (s, 2H, 6-H, 5-H), 7.72 (s, 1H, 2-H), 7.91 (d, $J_t = 15.48$ Hz, 1H, 7-H), 8.11 (t, $J_o = 7.02$ Hz, 1H, 6'-H), 8.17 (d, $J_o = 8.46$ Hz, 1H, 3'-H), 8.28 (t, $J_o = 7.86$ Hz, 1H, 7'-H), 8.48 (d, $J_o = 7.3$ Hz, 1H, 5'-H), 8.52 (d, $J_o = 8.46$ Hz, 1H, 4'-H), 8.91 (d, $J_o = 1\text{H}$, 8'-H), 9.47 (s, 1H, -OH), 11.15 (s, 1H, .NH).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 56.16 (10-C), 72.01 (11-C), 111.19 (1-C), 114.19 (8-C), 117.63 (4'a-C), 120.05 (2-C), 121.55 (8'a-C), 127.09 (5-C), 127.70 (3'-C), 128.42 (6-C), 128.90 (4-C), 129.04 (6'-C), 130.36 (5'-C), 137.53 (7'-C), 138.80 (3-C), 147.44 (8'-C), 149.37 (2'-C), 149.80 (4'-C), 157.91 (7-C), 163.67 (9-C).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 350 (M + K) 1%, 164 (M-186) 100%, 149 (M-201) 68%, 91 (M-259) 42%, 77 (M-273) 48%.

11.3.3 SÍNTESIS DE (*E*)-*N*-HIDROXI-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)-ACRILAMIDA (JOD-3)



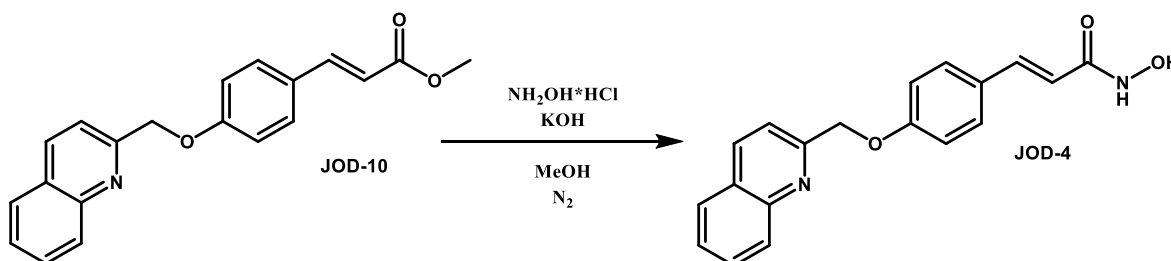
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.5 g (1.57×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-9** en 2 mL de MeOH, posteriormente se agregó gota a gota al matraz una mezcla previamente preparada en 3 mL de MeOH frío con 0.55 g (7.9×10^{-3} mol, 5 eq.) de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ y 0.44 g (1.58×10^{-2} mol, 10 eq.) de KOH. La reacción se dejó a temperatura ambiente con atmosfera de nitrógeno N_2 y se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema I** y **sistema III** y con una prueba colorimétrica de FeCl_3 , hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (5h). Al término de la reacción se concentró a 1/3 del disolvente con el rotavapor. Posteriormente se le agregó 2 mL de agua fría y se llevó a pH de 4-5 con agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado blanco, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en una mezcla de AcOEt/MeOH y se obtuvo un polvo blanco, con un punto de fusión de 153.0-153.9 °C. Rendimiento de reacción de 61%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.09 (s, 2H, 10-H), 6.87 (d, $J_t = 15.3$ Hz, 1H, 8-H), 7.64 (d, $J_o = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.94 (d, $J = 15.24$ Hz, 1H, 7-H), 8.10 – 8.05 (m, 2-H, 6-H, 3'-H, 6'-H, 7'-H), 8.18 (d, $J_o = 5.1$ Hz, 1H, 2'-H), 8.44 (d, $J_o = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 8.48 (d, $J_o = 7.74$ Hz, 1H, 4'-H), 8.60 (d, $J_o = 6.9$ Hz, 1H, 8'-H), 9.47 (s, 1H, -OH), 11.19 (s, 1H, -NH).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 68.45 (10-C), 115.80 (3,5-C), 117.24 (1-C), 124.31 (8-C), 125.83 (3'-C), 126.46 (8'-C), 126.95 (2,6-C), 127.19 (2'-C), 128.26 (8'a-C), 128.98 (7'-C), 129.23 (6'-C), 129.55 (7'-C), 131.59 (5'-C), 132.73 (1'-C), 133.79 (7-C), 138.51 (4'a-C), 159.98 (4-C), 163.69 (9-C).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 248 (M-72) 5%, 141 (M-179) 100%, 115 (M-205) 38%, 77 (M-396) 10%.

11.3.4 SÍNTESIS DE (E)-N-HIDROXI-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)-ACRILAMIDA (JOD-4)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.5 g (1.56×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-10** en 2 mL de MeOH, posteriormente se agregó gota a gota al matraz una mezcla previamente preparada en 3 mL de MeOH frío con 0.54 g (7.82×10^{-3} mol, 5 eq.) de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ y 0.88 g (1.56×10^{-2} mol, 10 eq.) de KOH. La reacción se dejó a temperatura ambiente con atmosfera de nitrógeno N_2 . La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema I** y **sistema III** y con una prueba colorimétrica de FeCl_3 , hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término de la reacción se concentró a 1/3 del disolvente con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se llevó a pH de 4-5 con agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado café, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en una mezcla de AcOEt/MeOH y se obtuvo un polvo café, con un punto de fusión de 186.3-189.1 °C. Rendimiento de reacción de 33%.

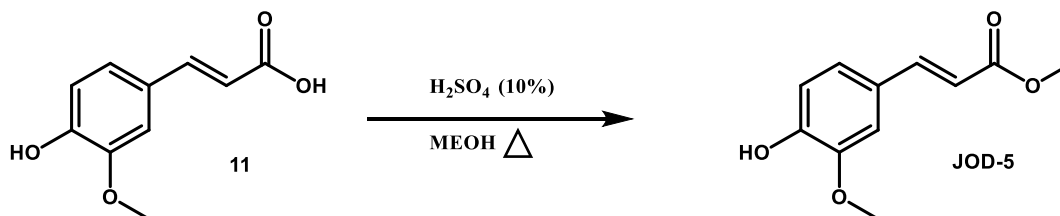
RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.91 (s, 2H, 10-H), 6.84 (d, $J_t = 14.5$ Hz, 1H, 8-H), 7.60 (d, $J_o = 8.58$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.92 (d, $J_t = 14.9$ Hz, 1H, 7-H), 8.02 (d, $J_o = 8.2$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 8.11 (t, $J_o = 7.44$ Hz, 1H, 6'-H), 8.16 (d, $J_o = 8.34$ Hz, 1H, 3'-H), 8.28 (t, $J_o = 7.4$ Hz, 1H, 7'-H), 8.49 (d, $J_o = 7.44$ Hz, 1H, 5'-H), 8.53 (d, $J_o = 8.42$ Hz, 1H, 8'-H), 8.90 (d, $J_o = 7.26$ Hz, 1H, 4'-H), 9.6 (s, 1H, -OH), 11.17 (s, 1H, -NH)..

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 71.43 (10-C), 115.78 (3,5-C), 117.3 (1-C), 119.71 (4'a-C), 120.03 (3'-C), 127.11 (8-C), 127.69 (6'-C), 128.43 (5'-C), 129.04 (2,6-C), 129.58 (7'-C), 130.37 (8'-C), 137.55 (4'-C), 138.41 (8'a-C), 147.47 (7-C), 157.78 (2'-C), 159.68 (4-C), 163.64 (9-C).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 249 (M-71) 27%, 158 (M-162) 3%, 142 (M-178) 100%, 115 (M-205) 55%.

11.4 PARTE QUÍMICA: SÍNTESIS DE COMPUESTOS PRECURSORES

11.4.1 SÍNTESIS DE (*E*)-3-(4-HIDROXI-3-METOXIFENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-5)



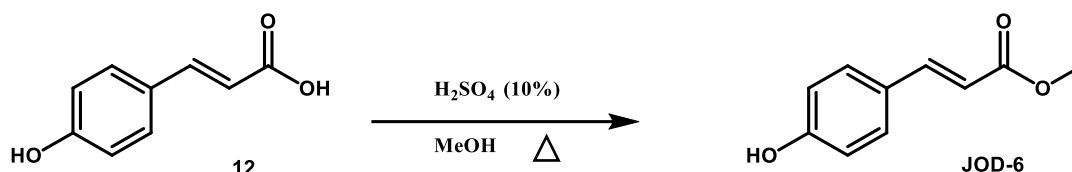
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.5 gramos (2.57×10^{-3} mol, 1 eq.) de ácido ferúlico (**11**) en 5 mL de Metanol (MeOH), posteriormente se agregó 3 gotas de H_2SO_4 con una pipeta Pasteur, la reacción se llevó a temperatura de reflujo ($65\text{ }^\circ\text{C}$). El monitoreo se realizó por CCF cada hora utilizando el **sistema III**, hasta el término de la reacción (2h). Al término, se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se realizó una extracción con 10 mL de acetato de etilo y 10 mL de agua por triplicado, se juntaron las fases orgánicas y se concentró a sequedad con el rotavapor y se obtuvo una resina amarilla, se utilizó el compuesto sin previa purificación para la siguiente reacción. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 82.64%. Los datos espectroscópicos y espectrométricos fueron obtenidos de la literatura.⁶⁸

$^1\text{H-NMR}$ (Acetona-*d*): 8.27 (1H, s, OH), 7.69 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-7), 7.42 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.24 (1H, dd, $J = 1.8$ and 8.2 Hz, H-6), 6.97 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.49 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8), 4.01 (3H, s, COOCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (Acetona-*d*): 167.13 (C-9), 149.25 (C-3), 147.92 (C-4), 144.94 (C-7), 126.60 (C-1), 123.07 (C-6), 115.26 (C-8), 114.71 (C-5), 110.51 (C2), 55.48 (OCH₃), 50.70 (COOCH₃);

EI-MS: m/z: 208[M] +

11.4.2 SÍNTESIS DE (E)-3-(4-HIDROXIFENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-6)



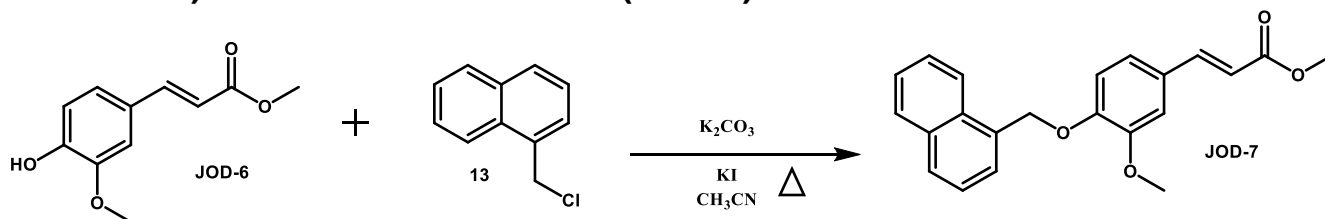
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.5 gramos (3.04×10^{-3} mol, 1 eq.) de ácido *p*-cumárico (**12**) en 5 mL de Metanol (MeOH), posteriormente se agregó 3 gotas de H_2SO_4 con pipeta Pasteur, la reacción se llevó a temperatura de reflujo (65°C). El monitoreo se realizó por CCF cada hora utilizando el **sistema II** y el **sistema III**, hasta el término de la reacción (2h). Al término de la reacción, se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se realizó una extracción con 10 mL de acetato de etilo y 10 mL de agua por triplicado, se juntaron las fases orgánicas y se concentró a sequedad con el rotavapor y se obtuvo una resina amarilla, se utilizó el compuesto sin previa purificación para la siguiente reacción. Se obtuvo un rendimiento de reacción del 97.0%. Los datos espectroscópicos y espectrométricos fueron obtenidos de la literatura.⁶⁸

$^1\text{H-RMN}$ (Acetona-*d*): 9.01 (1H, s, OH), 7.71 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-7), 7.65 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2 and H-6), 6.99 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3 and H-5), 6.45 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8), 3.81 (3H, s, COOCH_3);

$^{13}\text{C-RMN}$ (Acetona-*d*): 167.08 (C-9), 159.76 (C-4), 144.58 (C-7), 130.13 (C-2 and C-6), 126.16 (C-1), 115.85 (C-3 and C-5), 114.47 (C-8), 50.67 (COOCH_3);

EI-MS, m/z: 178[M]

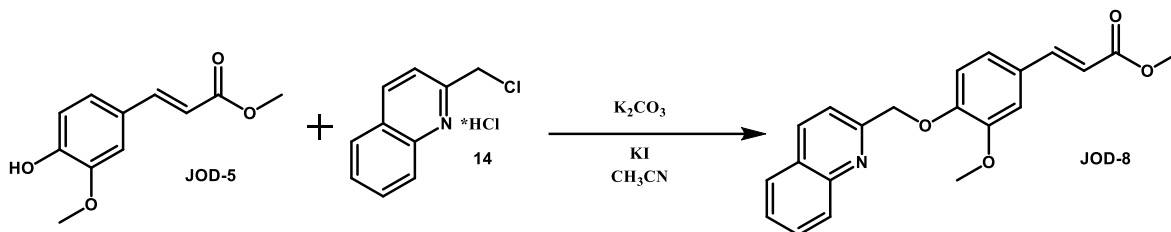
11.4.3 SÍNTESIS DE (*E*)-3-(3-METOXI-4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-7)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.52 g (2.5×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-5** y 0.727 g (5.25×10^{-3} mol, 2.1 eq.) carbonato de potasio (K_2CO_3) en 3 mL de CH_3CN , dejando en agitación durante media hora a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 0.48 g de 1-(clorometil)naftaleno (**13**) (2.75×10^{-3} mol, 1.1 eq.) disuelto en 2 mL de CH_3CN , se agregó gota a gota al matraz y la reacción se llevó a temperatura de reflujo ($75^\circ C$). La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema II** y **sistema III**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (5h). Al término de la reacción se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se le agrego 2 mL de agua fría y se dejó en agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado blanco, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en MeOH y se obtuvo un polvo cristalino blanco, con un punto de fusión de $114.5-117.8^\circ C$. Rendimiento de la reacción de 69%.

RMN 1H (600 MHz, Cloroformo-*d*) δ : 3.80 (s, 3H, 11- CH_3), 3.89 (s, 3H, 10- CH_3), 5.61 (s, 2H, 12- CH_2), 6.31 (d, $J_t = 15.9$ Hz, 1H, 8-H), 6.97 (d, $J_o = 8.3$ Hz, 1H, 2'-H), 7.05 (dd, $J_o = 8.5$, $J_m = 2.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.08 (d, $J_o = 2.0$ Hz, 1H, 2-H), 7.45 (dd, $J_o = 8.2$, $J_o = 7.0$ Hz, 1H, 3'-H), 7.54 (m, 6'-H, 7'-H), 7.58 (dd, $J_p = 0.9$ Hz, $J_o = 6.46$ Hz, 1H, 5-H), 7.63 (d, $J_t = 15.9$ Hz, 1H, 7-H), 7.84 (d, $J_o = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.89 (d, $J_o = 7.2$ Hz, 1H, 4'-H), 8.07 (d, $J_o = 8.4$ Hz, 1H, 8'-H).

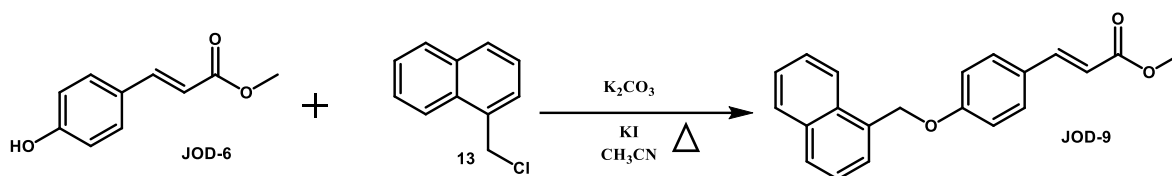
11.4.4 SÍNTESIS DE (E)-3-(3-METOXI-4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-8)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.52 g (2.5×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-5** y 1.07 g (7.77×10^{-3} mol, 3.1 eq.) carbonato de potasio (K_2CO_3) en 3 mL de CH_3CN , dejando en agitación durante media hora a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 0.6 g de clorhidrato de 2-(clorometil)quinolina (**14**) (2.75×10^{-3} mol, 1.1 eq.) disuelto en 2 mL de CH_3CN , se agregó gota a gota al matraz y la reacción se llevó a temperatura de reflujo ($75^\circ C$). La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema III**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término de la reacción se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se dejó en agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado café, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en MeOH y se obtuvo un polvo cristalino café, con un punto de fusión de $98.0-101.7^\circ C$. Rendimiento de la reacción de 79%.

RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.21 (s, 3H, 11-H), 4.37 (s, 3H, 10-H), 5.90 (s, 2H, 12-H), 7.06 (d, $J_t = 15.96$ Hz, 1H, 8-H), 7.59 (d, $J_o = 8.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.70 (dd, $J_o = 8.34$, $J_m = 1.92$ Hz, 1H, 6-H), 7.91 (d, $J_m = 1.92$ Hz, 1H, 2-H), 8.09 (d, $J_t = 15.96$, 1H, 7-H) 8.12 – 8.10 (ddd, $J_m = 1.08$, $J_o = 8.04$, 1H, 6'-H), 8.16 (d, $J_o = 8.46$ Hz, 1H, 3'-H), 8.29 – 8.27 (ddd, $J_m = 1.44$, $J_o = 8.34$, 1H, 7'-H), 8.48 (d, $J_o = 8.1$ Hz, 1H, 5'-H), 8.52 (d, $J_o = 8.42$ Hz, 1H, 8'-H), 8.91 (d, $J_o = 8.46$ Hz, 1H, 4'-H).

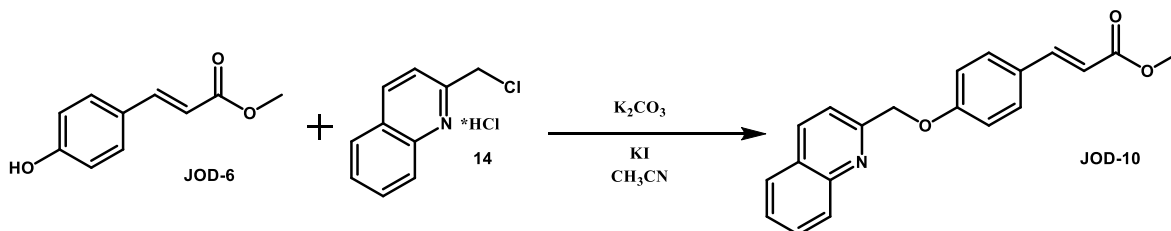
11.4.5 SÍNTESIS (E)-3-(4-(NAFTALEN-1-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-9)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.53 g (2.9×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-6** y 0.86 g (6.25×10^{-3} mol, 2.1 eq.) de K_2CO_3 en 3 mL de CH_3CN , dejando en agitación durante media hora a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 0.57 g de 1-(clorometil)naftaleno (**13**) (3.3×10^{-3} mol, 1.1 eq.) disuelto en 2 mL de CH_3CN , se agregó gota a gota al matraz y la reacción se llevó a temperatura de reflujo ($75^\circ C$). La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema II** y **sistema III**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término de la reacción se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se dejó en agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado blanco, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en MeOH y se obtuvo un polvo blanco, con un punto de fusión de $124.0-128.6^\circ C$. Rendimiento de reacción de 85%.

RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.22 (s, 3H, 10-H), 6.11 (s, 2H, 11-H), 7.00 (d, $J_t = 16.02$ Hz, 1H, 8-H), 7.65 (d, $J_o = 8.76$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.02 (dd, $J_o = 7.02$ Hz, 1H, 3'-H), 8.10 – 8.05 (m, 2H, 6'-H, 7'-H), 8.14 (d, $J_t = 16.02$ Hz, 1H, 7-H), 8.20 – 8.18 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2'-H), 8.44 (d, $J_o = 8.28$ Hz, 1H, 5'-H), 8.48 (d, $J = 7.62$, 1H, 4'-H), 8.58 (d, $J_o = 8.1$ Hz, 1H, 8'-H).

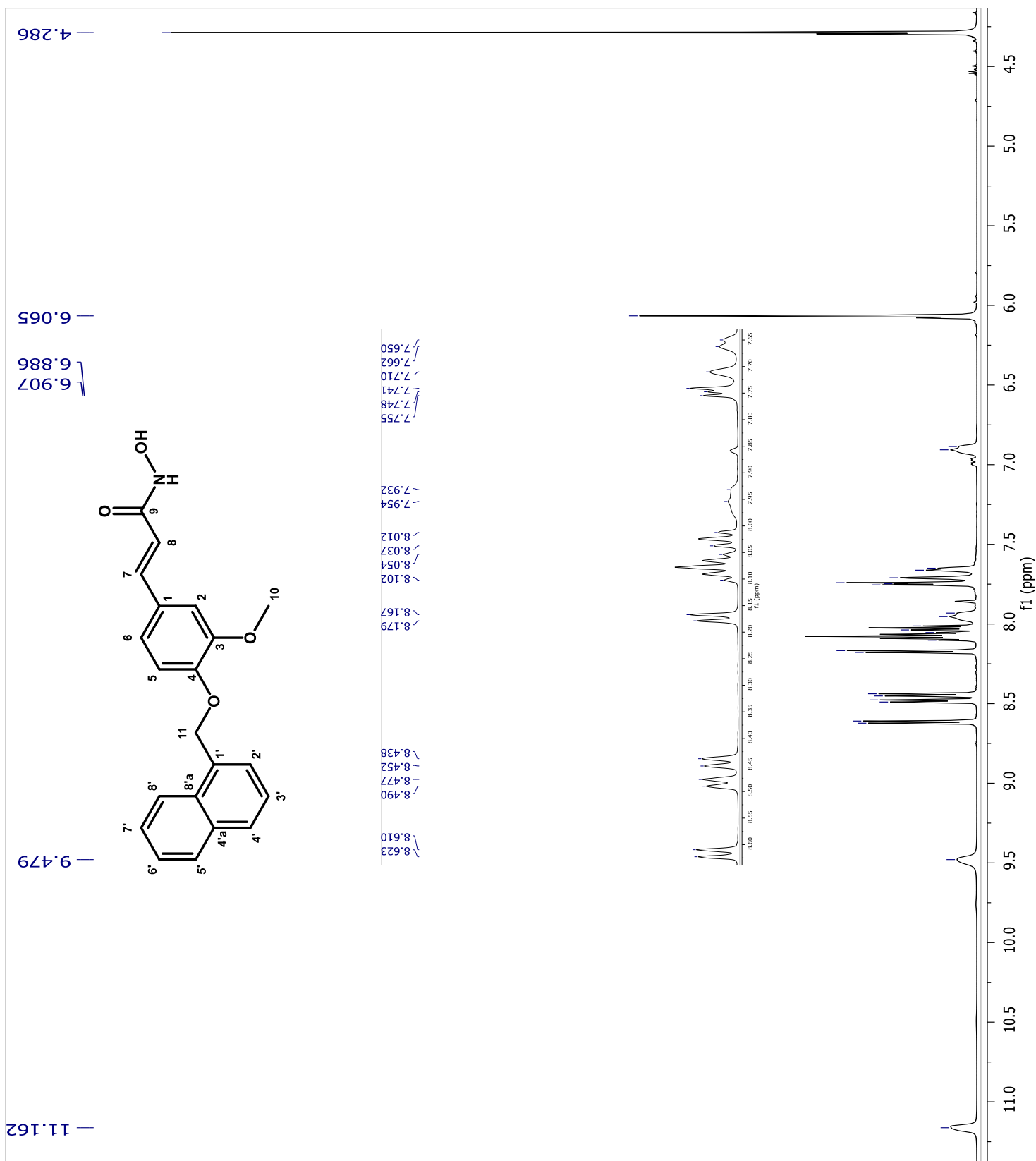
11.4.6 SÍNTESIS DE (E)-3-(4-(QUINOLIN-2-ILMETOXI)FENIL)ACRILATO DE METILO (JOD-10)



En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, refrigerante en posición de reflujo, se disolvieron 0.52 g (2.8×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JOD-6** y 1.24 g (8.9×10^{-3} mol, 3.1 eq.) de K_2CO_3 en 3 mL de CH_3CN , dejando en agitación durante media hora a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 0.68 g de clorhidrato de 2-(clorometil)quinolina (**14**) (3.2×10^{-3} mol, 1.1 eq.) disuelto en 2 mL de CH_3CN , se agregó gota a gota al matraz y la reacción se llevó a temperatura de reflujo ($75^\circ C$). La reacción se monitoreo por CCF cada hora utilizando el **sistema III**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4h). Al término de la reacción se concentró a sequedad con el rotavapor. Posteriormente se agregó 2 mL de agua fría y se dejó en agitación durante 15 minutos, se obtuvo un precipitado verde, se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en MeOH y se obtuvo un polvo verde brillante, con un punto de fusión de $119.8-124.8^\circ C$. Rendimiento de reacción de 74%.

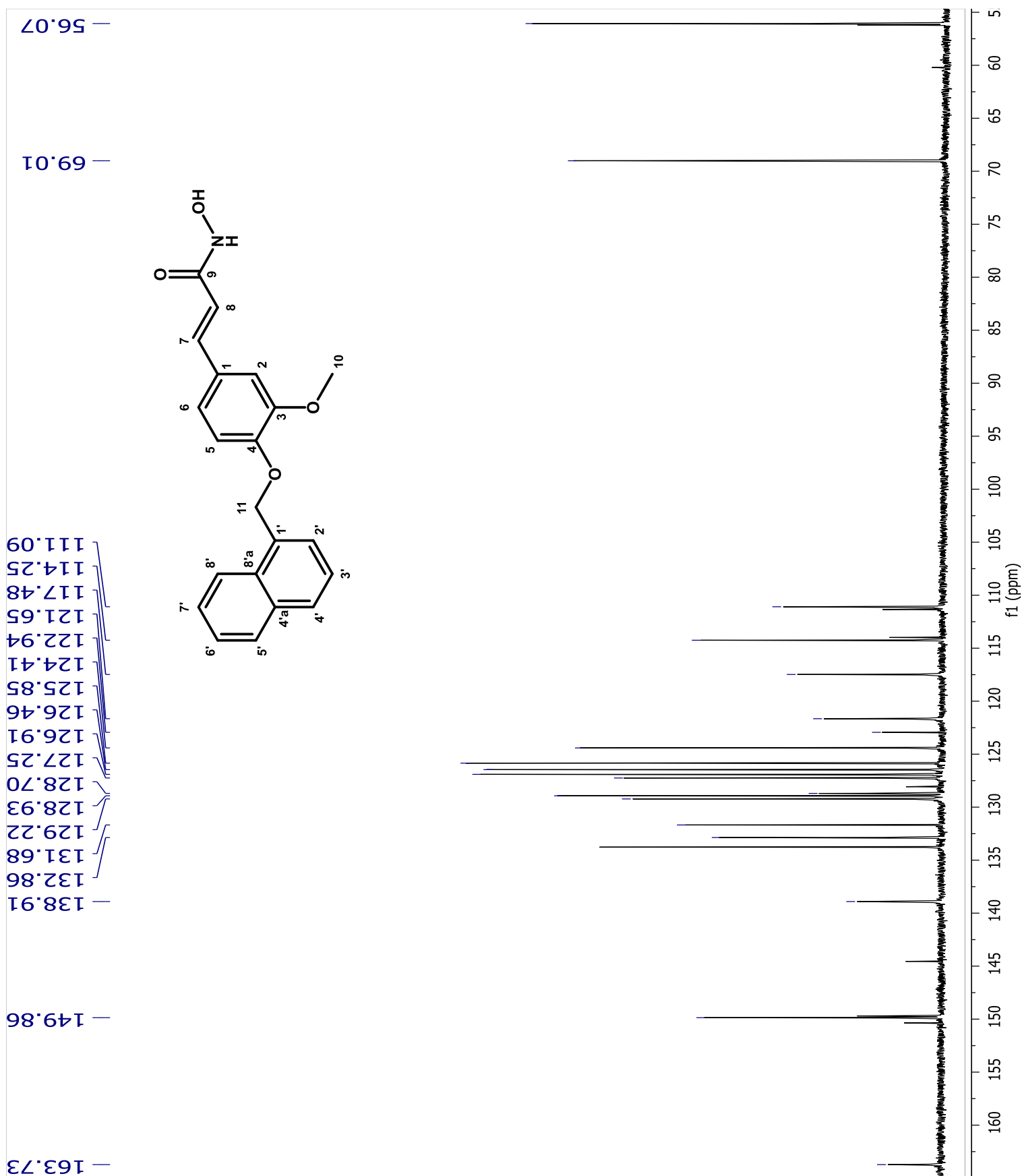
RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.20 (s, 3H, 10- CH_3), 5.93 (s, 2H, 11- CH_2), 6.98 (d, $J_t = 16.02$ Hz, 1H, 8-H), 7.61 (d, $J_o = 8.76$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.11 (d, $J_t = 16.02$ Hz, 1H, 7-H), 8.11 (m, 1H, 6'-H), 8.16 (d, $J_o = 8.46$, 1H, 3'-H), 8.18 (d, $J = 8.76$, 2H, 2-H, 6-H) 8.28 (m, 1H, 7'-H), 8.48 (d, $J_o = 8.04$ Hz, 1H, 5'-H), 8.53 (d, $J_o = 8.4$ Hz, 1H, 8'-H), 8.86 (d, $J_o = 8.46$ Hz, 1H, 4'-H).

12. ESPECTROS

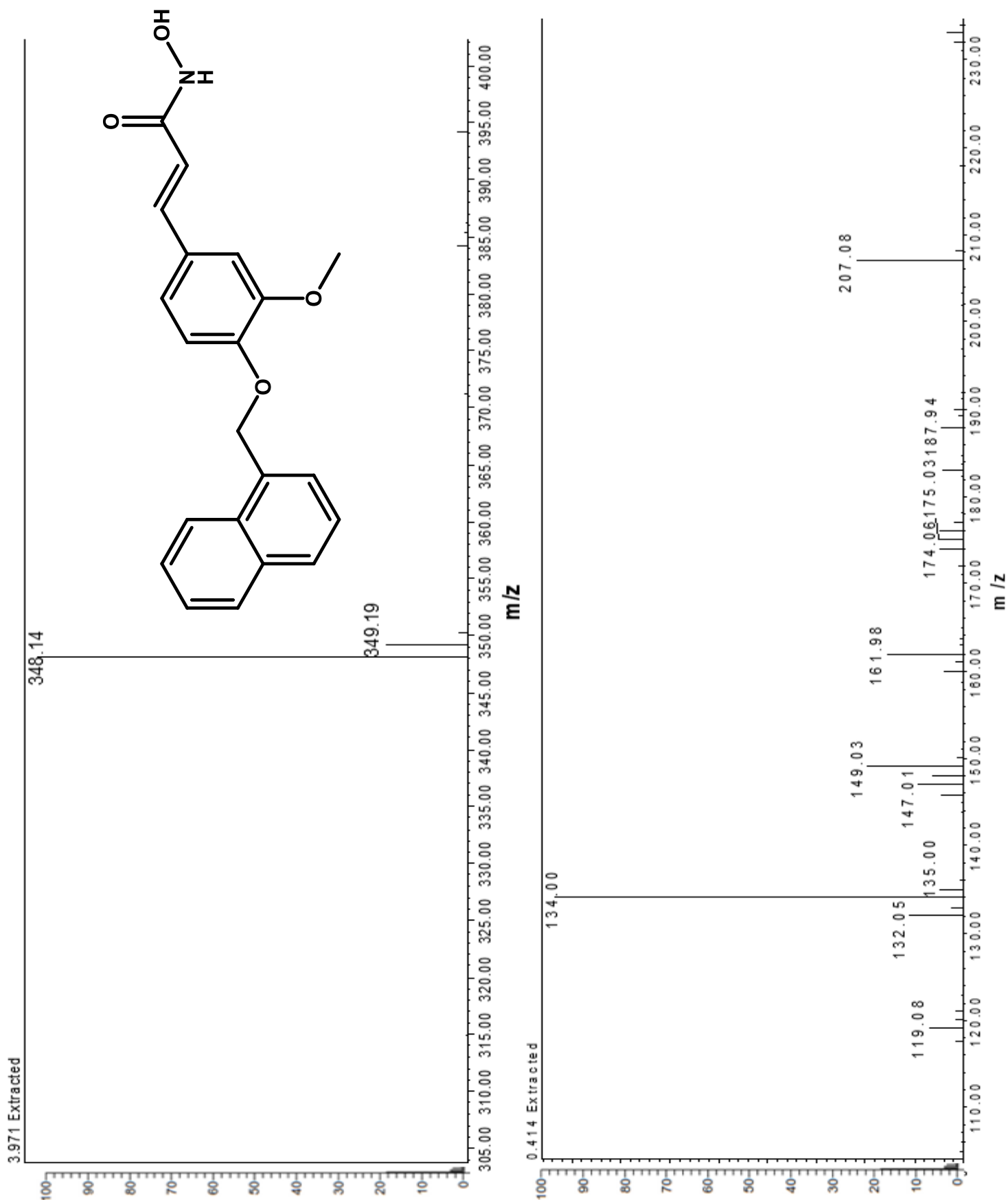


Espectro 1. RMN ¹H del compuesto JOD-1

ESPECTROS

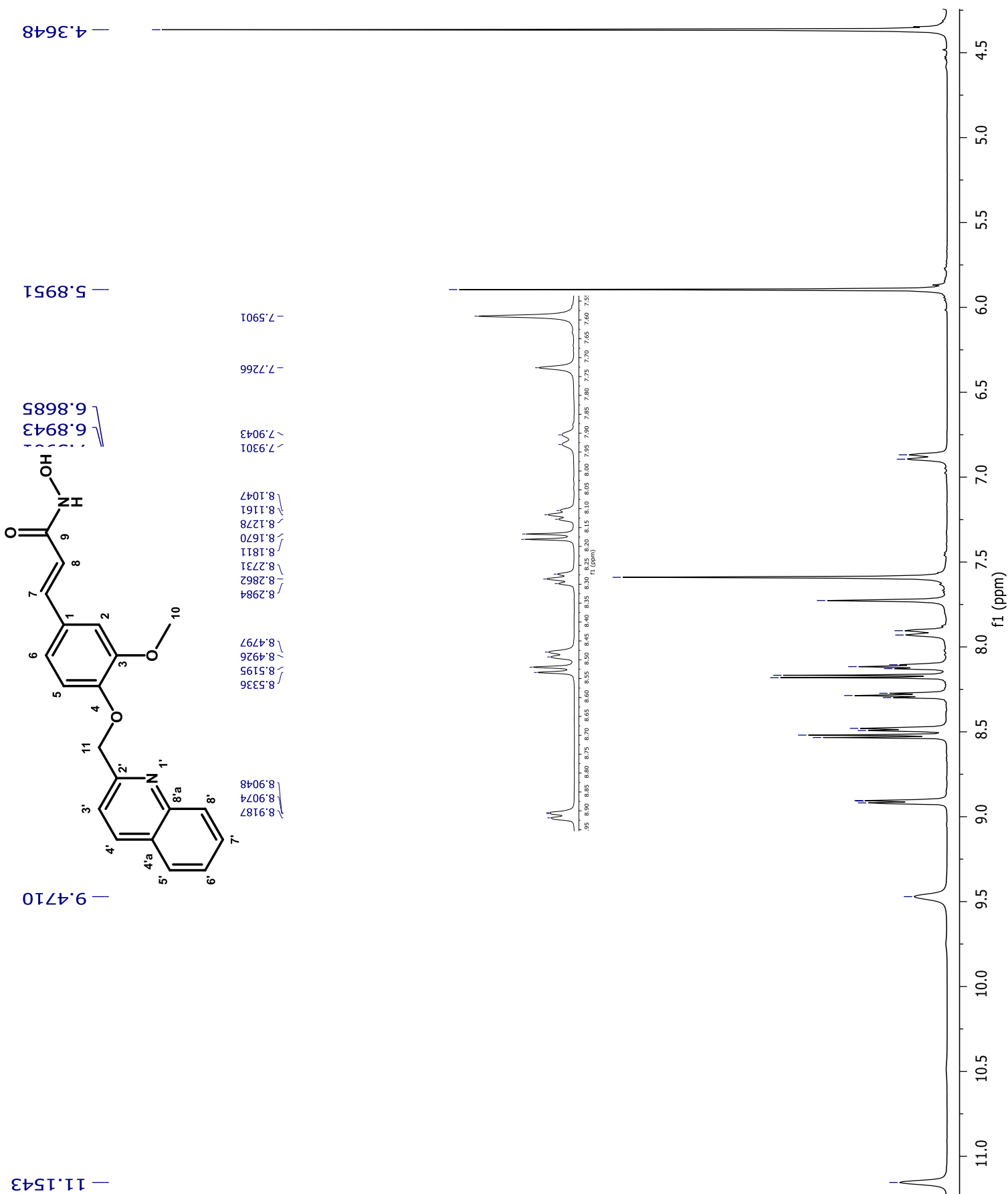


Espectro 2. RMN ¹³C del compuesto JOD-1



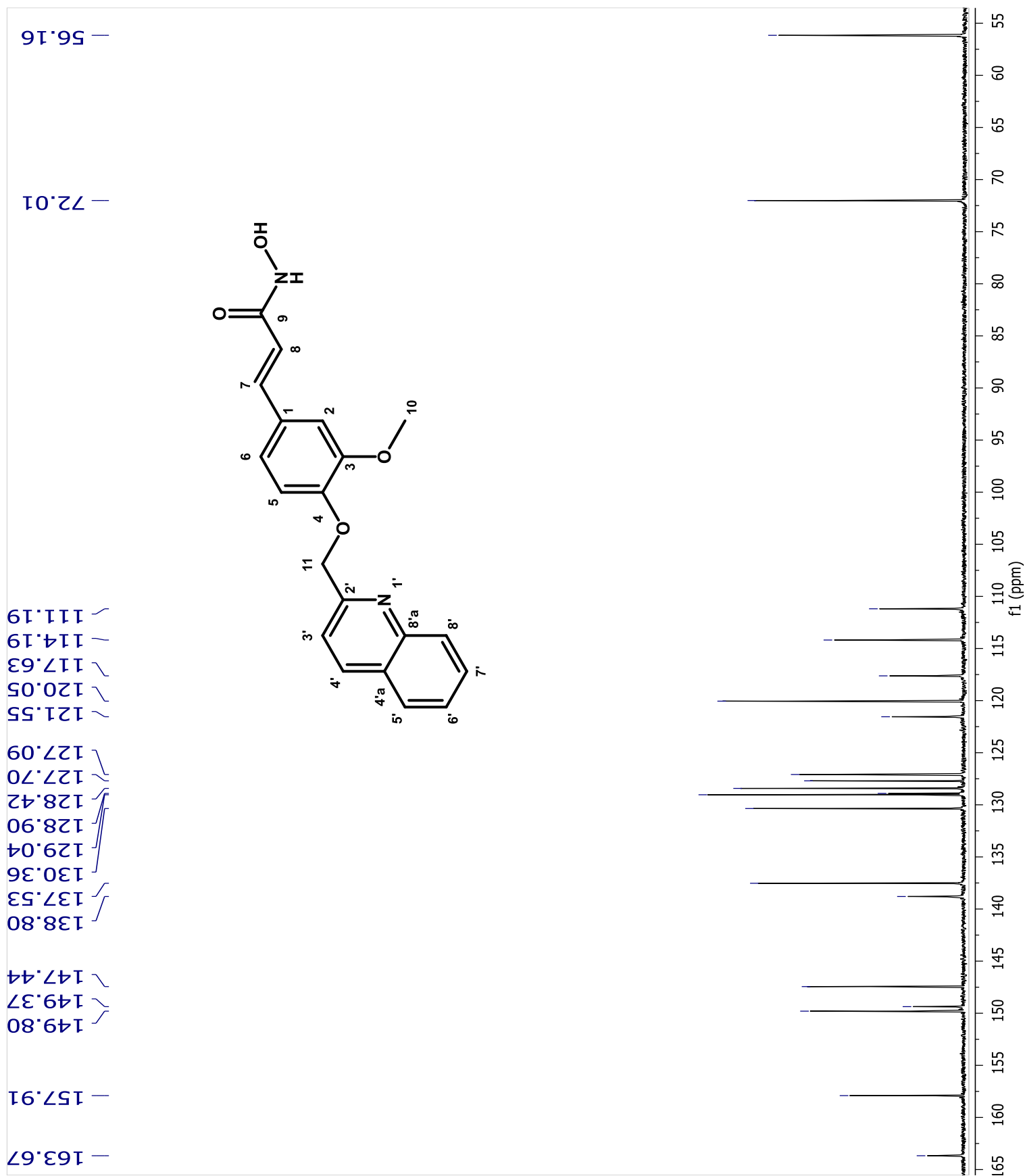
Espectro 3. EM-IE del compuesto JOD-1

ESPECTROS

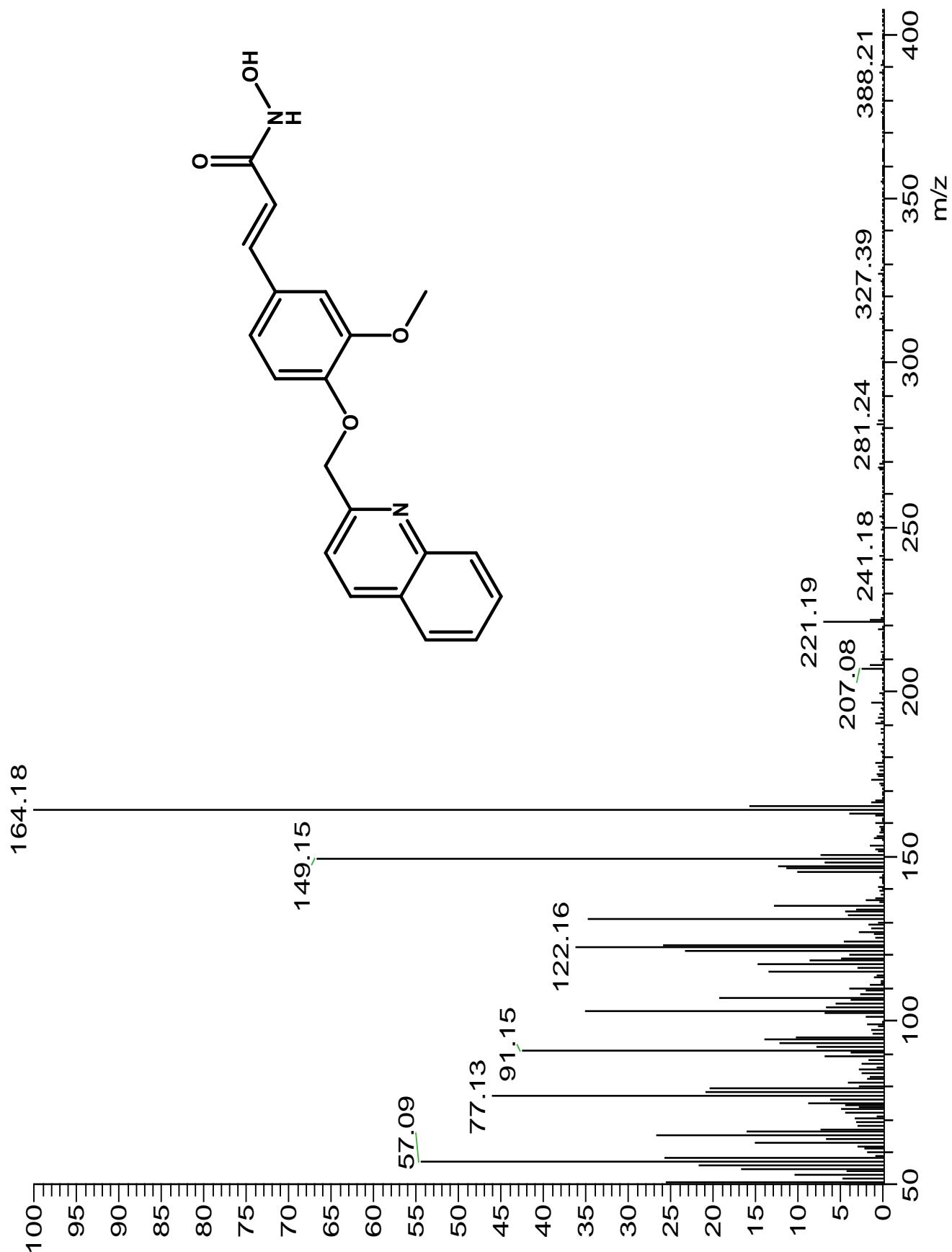


Espectro 4. RMN ¹H del compuesto JOD-2

ESPECTROS

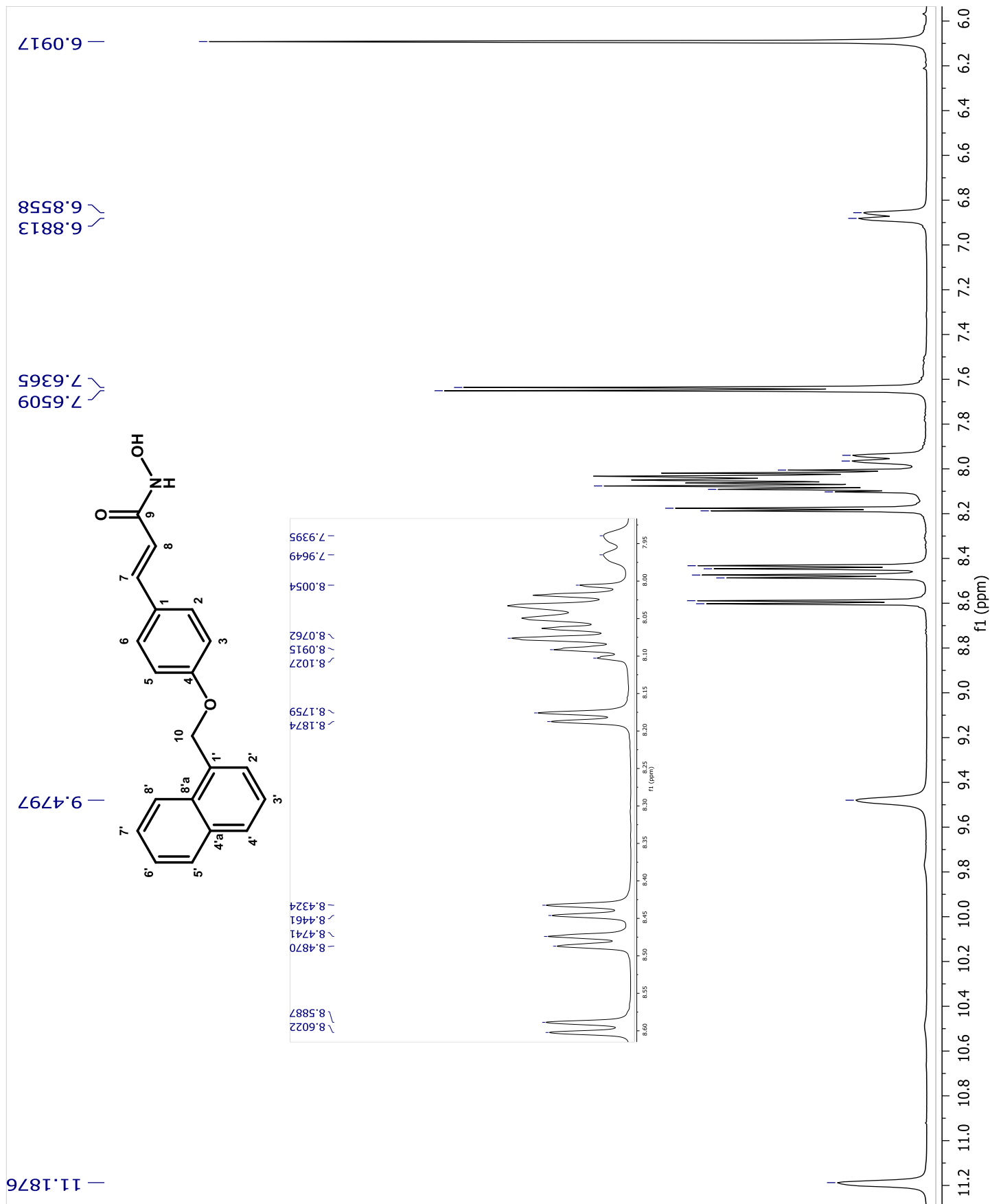


Espectro 5. RMN ¹³C del compuesto JOD-2

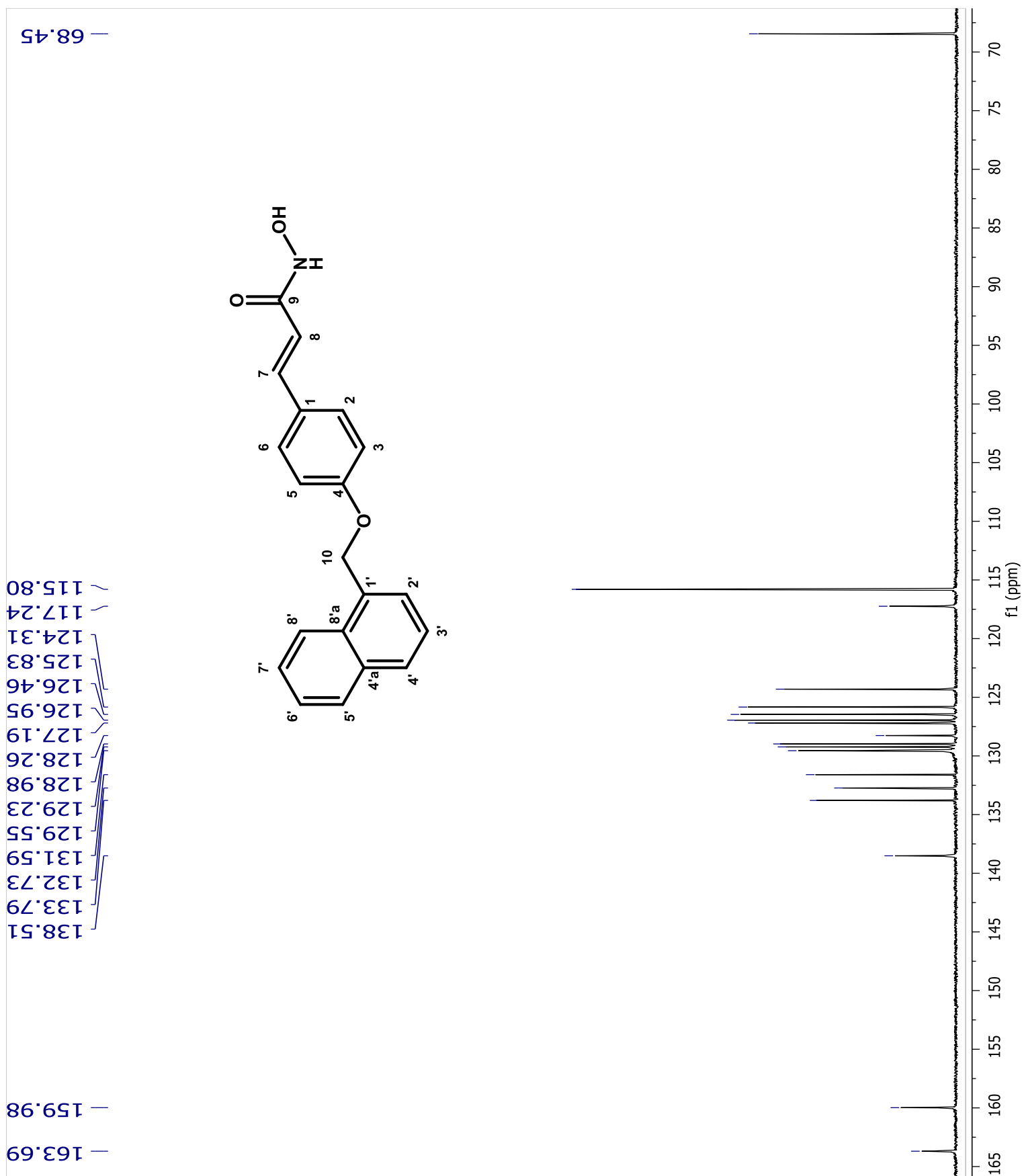


Espectro 6. EM-IE del compuesto JOD-2

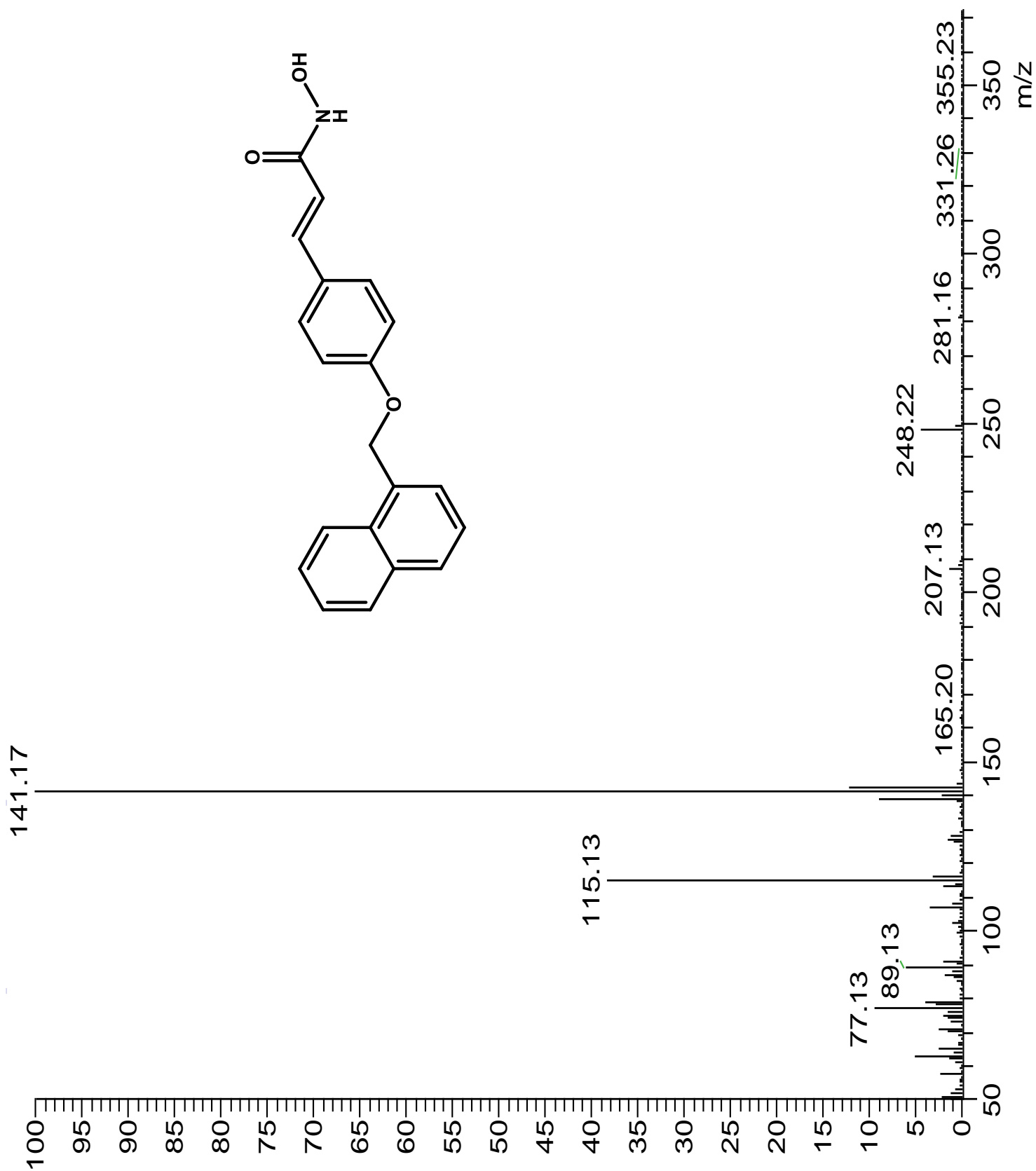
ESPECTROS



Espectro 7. RMN ¹H del compuesto JOD-3

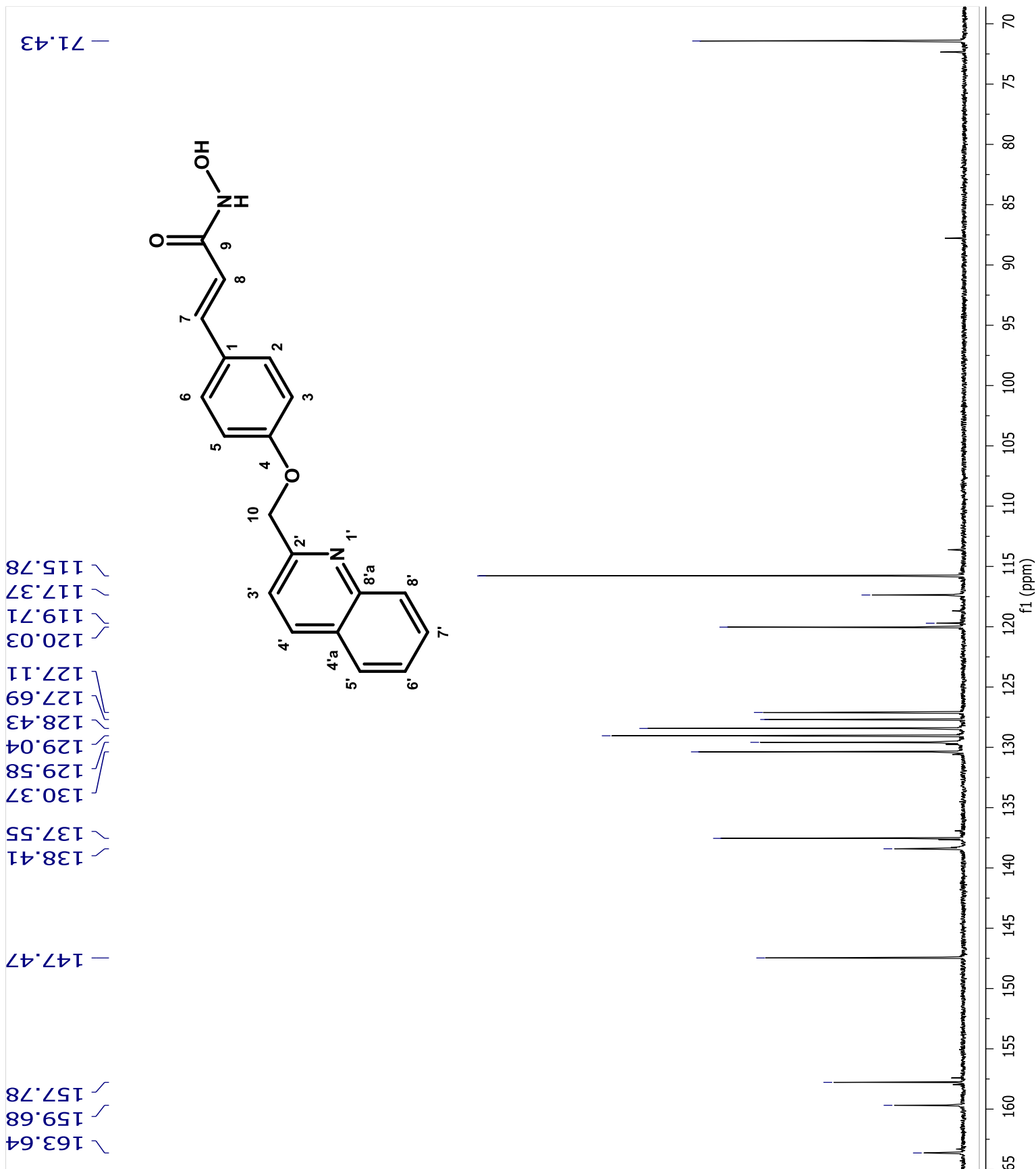


Espectro 8. RMN ¹³C del compuesto JOD-3

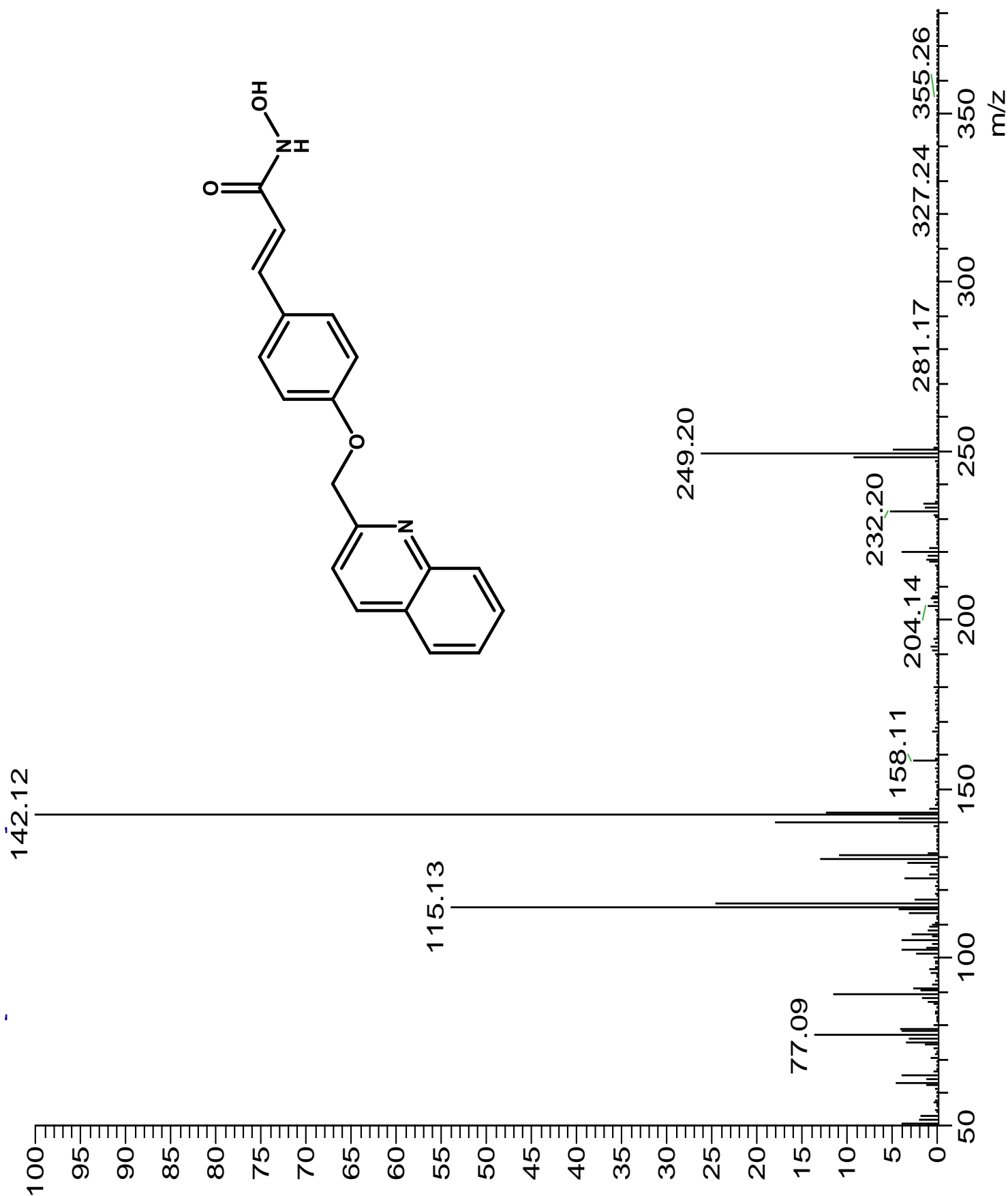


Espectro 9. EM-IE del compuesto JOD-3

ESPECTROS

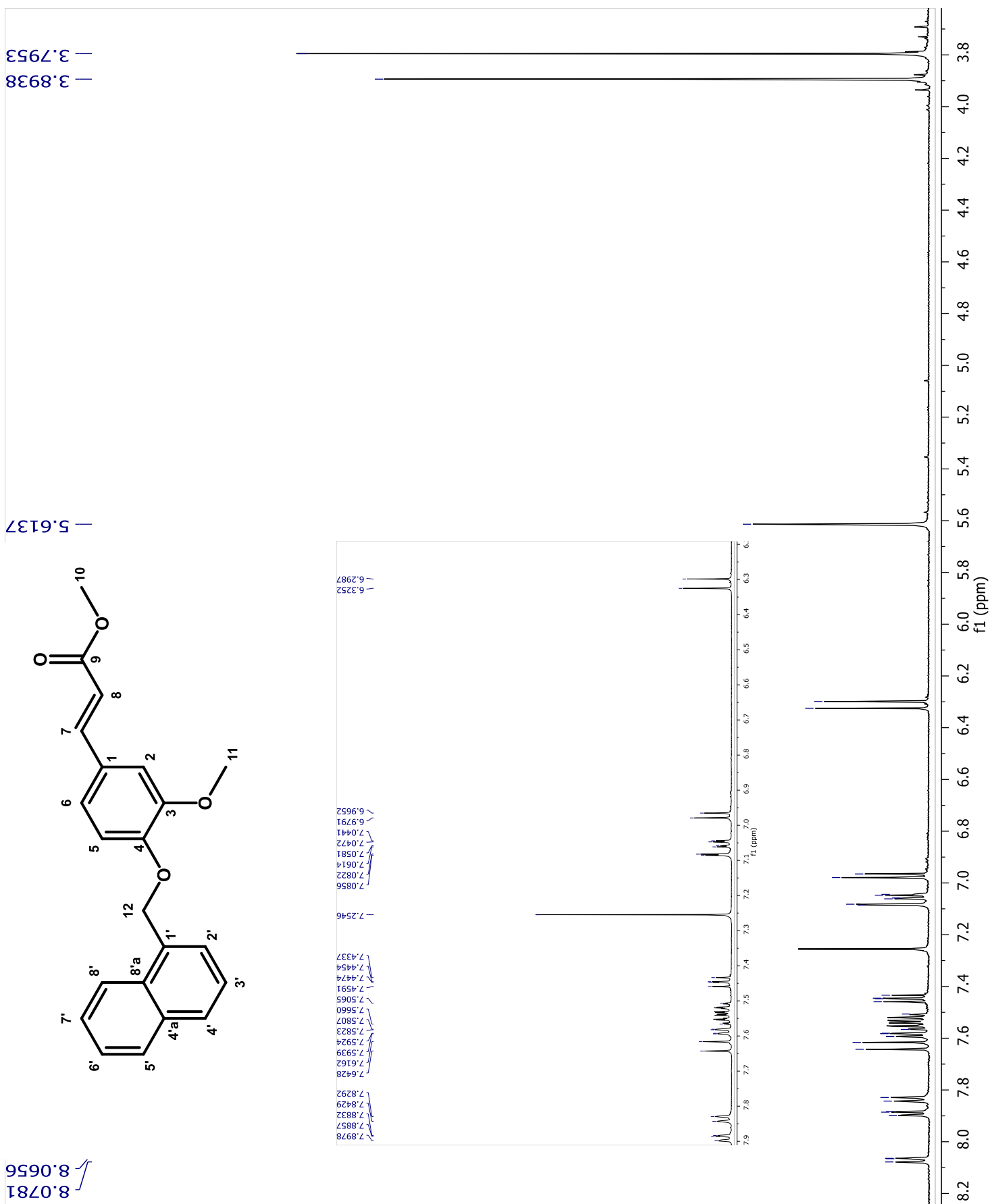


Espectro 11. RMN ^{13}C del compuesto JOD-4



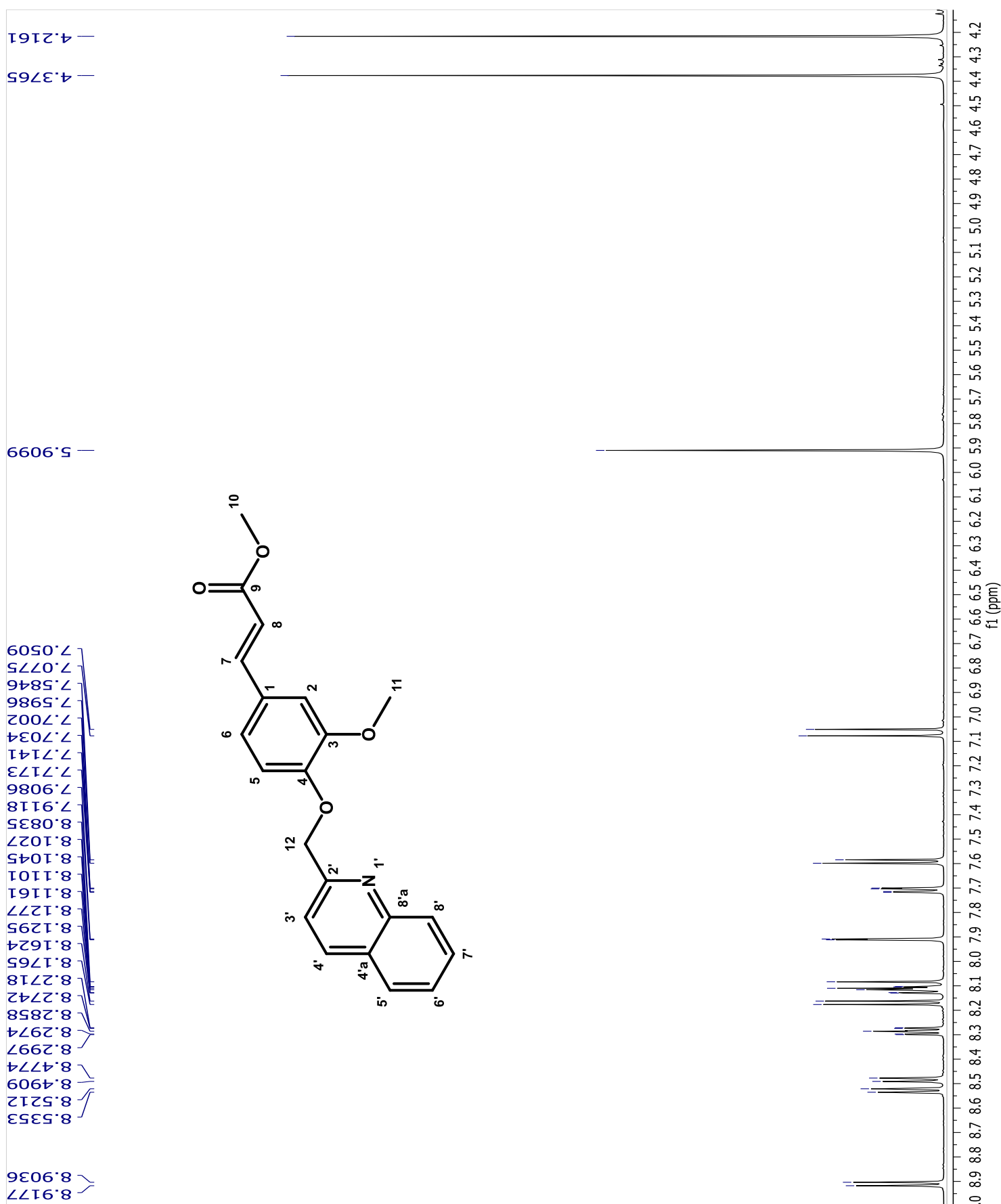
Espectro 12. EM-IE del compuesto JOD-4

ESPECTROS

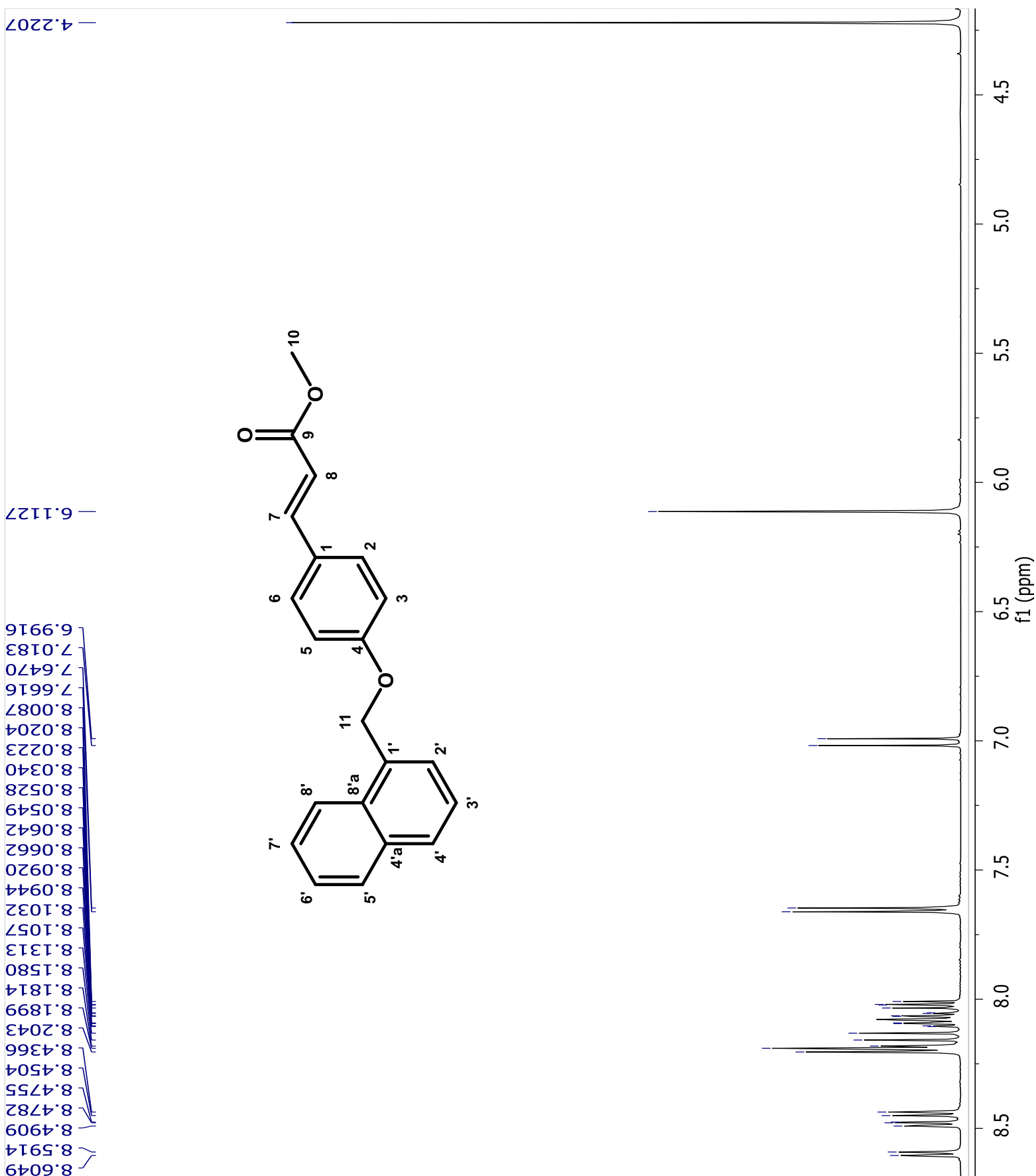


Espectro 13. RMN ¹H del compuesto JOD-7

ESPECTROS

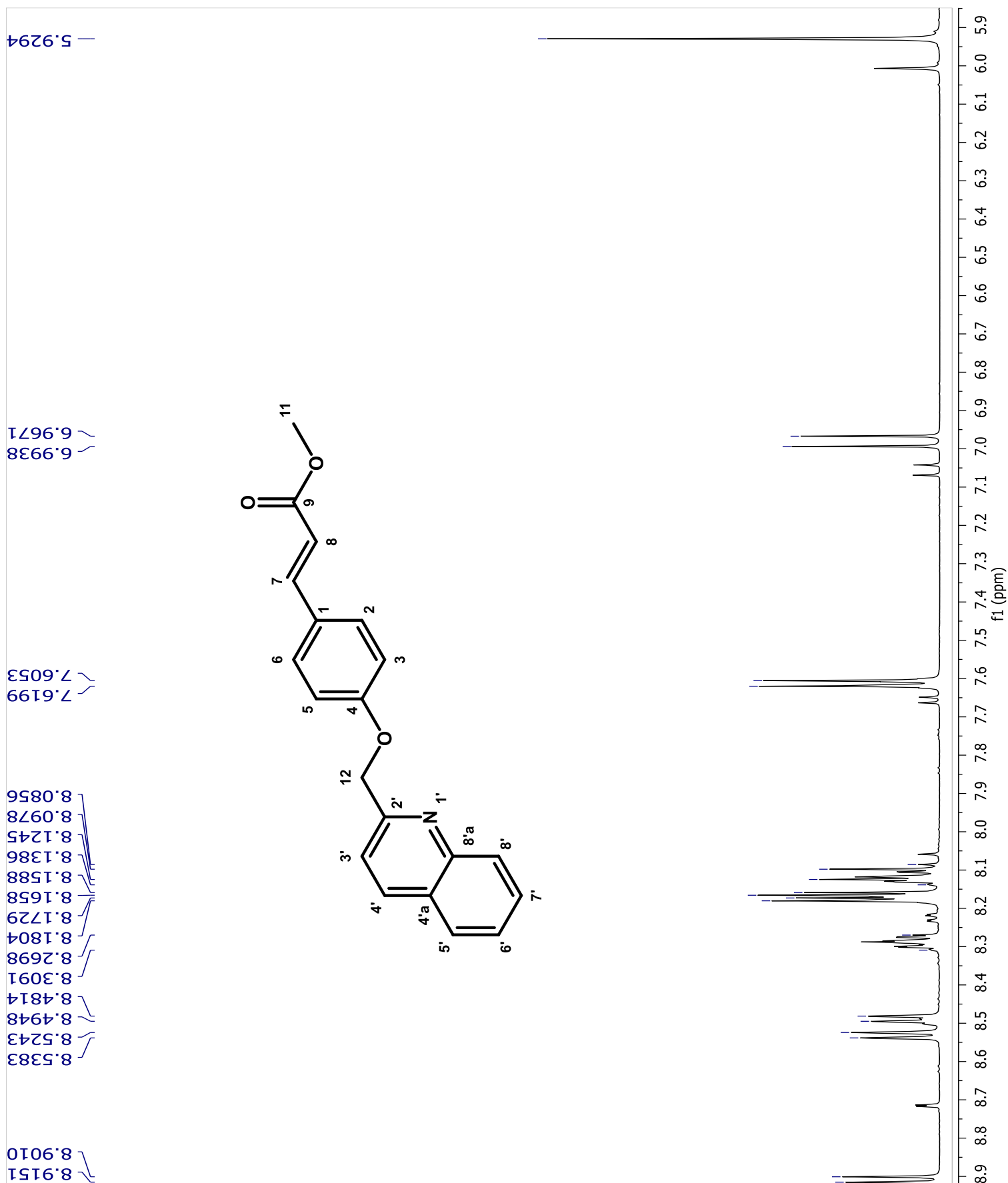


Espectro 14. RMN ¹H del compuesto JOD-8



Espectro 15. RMN ¹H del compuesto JOD-9

ESPECTROS



Espectro 16. RMN ¹H del compuesto JOD-10

13. REFERENCIAS

- (1) Cancer https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1 (accesado Nov, 2019).
- (2) Hassanpour, S. H.; Dehghani, M. Review of Cancer from Perspective of Molecular. *J. Cancer Res. Pract.* **2017**, *4* (4), 127–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>.
- (3) Cancer Today <https://gco.iarc.fr/today/home> (accessed Nov 5, 2019).
- (4) de la Garza Salazar, J. G.; Sánchez, J. P. ANTECEDENTES. In *El Cáncer*, Monterrey N.L. UANL, 2014; pp 23–28.
- (5) Gonzalez, C. Instituto Nacional Del Cáncer. *Man. Enferm. Oncol.* **2004**, 23–29. <https://doi.org/10.1109/TMECH.2009.2032179>.
- (6) Sanabria C. Elkin E. (2019). Diseño y síntesis y evaluación biológica de nuevas piridinas 2,4,6-trisustituidas como inhibidores de la AKT cinasa. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- (7) Instituto Nacional del Cáncer <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas>. (accessed Mar 5, 2020).
- (8) Antonio, J. (2011), Síntesis y evaluación *in silico* e *in vitro* de derivados del ácido valproico como antineoplásicos. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Farmacología. Instituto Politécnico Nacional.
- (9) Hernandez-Luis, F.; Mouret-Hernandez, C. M. A.; Bravo Gomez, M. E.; Centeno-Llanos, S. M.; Quijano-Mateos, A.; Castañeda-Lopez, P. C. Carcinogénesis Química. In *Fundamentos de Toxicología para Químicos Farmacéuticos Biólogos*; Ciudad de México, 2017; pp 123–135.
- (10) Avendaño, C.; Menéndez, J. C. *Epigenetic Therapy of Cancer*, 2015. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-62649-3.00008-9>.
- (11) Wang, R.; Liu, X. Epigenetic Regulation of Prostate Cancer. *Genes Dis.* **2019**. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.10.018>.
- (12) Sangwan, R.; Rajan, R.; Mandal, P. K. HDAC as Onco Target: Reviewing the Synthetic Approaches with SAR Study of Their Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *158*, 620–706. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.073>.
- (13) Chrun, E. S.; Modolo, F.; Daniel, F. I. Histone Modifications: A Review about the Presence of This Epigenetic Phenomenon in Carcinogenesis. *Pathol. Res. Pract.* **2017**, *213* (11), 1329–1339. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.06.013>.
- (14) Manal, M.; Chandrasekar, M. J. N.; Gomathi Priya, J.; Nanjan, M. J. Inhibitors of Histone Deacetylase as Antitumor Agents: A Critical Review. *Bioorg. Chem.* **2016**, *67*, 18–42. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.05.005>.
- (15) Jenuwein, T.; Allis, C. D. Translating the Histone Code. *Science* (80-.). **2001**, *293* (5532), 1074–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1063127>.
- (16) Sidoli, S.; Cheng, L.; Jensen, O. N. Proteomics in Chromatin Biology and Epigenetics: Elucidation of Post-Translational Modifications of Histone Proteins by Mass Spectrometry. *J. Proteomics* **2012**, *75* (12), 3419–3433. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.12.029>.

- (17) Roche, J.; Bertrand, P. Inside HDACs with More Selective HDAC Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *121*, 451–483. <https://doi.org/10.1021/jm400179b>.
- (18) Vergani, B.; Sandrone, G.; Marchini, M.; Ripamonti, C.; Cellupica, E.; Galbiati, E.; Caprini, G.; Pavich, G.; Porro, G.; Rocchio, I.; et al. Novel Benzohydroxamate-Based Potent and Selective Histone Deacetylase 6 (HDAC6) Inhibitors Bearing a Pentaheterocyclic Scaffold: Design, Synthesis, and Biological Evaluation. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (23), 10711–10739. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01194>.
- (19) Osko, J. D.; Christianson, D. W. Structural Basis of Catalysis and Inhibition of HDAC6 CD1, the Enigmatic Catalytic Domain of Histone Deacetylase 6. *Biochemistry* **2019**, *58* (49), 4912–4924. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.9b00934>.
- (20) Liu, L.; Zhou, X.; Shetty, S.; Hou, G.; Wang, Q.; Fu, J. HDAC6 Inhibition Blocks in FI Ammatory Signaling and Caspase-1 Activation in LPS-Induced Acute Lung Injury. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2019**, *370* (January), 178–183. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.03.017>.
- (21) Suzuki, T.; Kouketsu, A.; Itoh, Y.; Hisakawa, S.; Maeda, S.; Yoshida, M.; Nakagawa, H.; Miyata, N. Highly Potent and Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitors Designed Based on a Small-Molecular Substrate. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (16), 4809–4812. <https://doi.org/10.1021/jm060554y>.
- (22) Kalin, J. H.; Bergman, J. A. Development and Therapeutic Implications of Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (16), 6297–6313. <https://doi.org/10.1021/jm4001659>.
- (23) Wang, X. X.; Wan, R. Z.; Liu, Z. P. Recent Advances in the Discovery of Potent and Selective HDAC6 Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 1406–1418. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.040>.
- (24) Zhao, T.; Li, Y.; Bronson, R. T.; Liu, B.; Velmahos, G. C.; Alam, H. B. Selective Histone Deacetylase-6 Inhibition Attenuates Stress Responses and Prevents Immune Organ Atrophy in a Lethal Septic Model. *Surg. (United States)* **2014**, *156* (2), 235–242. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2014.03.033>
- (25) Hackanson, B.; Rimmel, L.; Benkißer, M.; Abdelkarim, M.; Fliegau, M.; Jung, M.; Lübbert, M. HDAC6 as a Target for Antileukemic Drugs in Acute Myeloid Leukemia. *Leuk. Res.* **2012**, *36* (8), 1055–1062. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2012.02.026>.
- (26) Xing, L. F.; Wang, D. T.; Yang, Y.; Pan, S. Y. Effect of HDAC-6 on PD Cell Induced by Lactacystin. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2015**, *8* (10), 855–859. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.09.013>.
- (27) Zhu, Y. J.; Xu, Q.; Shao, M. Y.; Cao, X. Y.; Wu, Z. R.; Chen, Y. W.; Bu, H.; Shi, Y. J. Decreased Expression of HDAC8 Indicates Poor Prognosis in Patients with Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* **2019**, *18* (5), 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.hbpd.2019.07.006>.
- (28) Katayama, S.; Morii, A.; Makanga, J. O.; Suzuki, T.; Miyata, N.; Inazu, T. HDAC8 Regulates Neural Differentiation through Embryoid Body Formation in P19 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2018**, *498* (1), 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.195>.
- (29) Amin, S. A.; Adhikari, N.; Jha, T. Is Dual Inhibition of Metalloenzymes HDAC-8 and MMP-2 a Potential Pharmacological Target to Combat Hematological Malignancies? *Pharmacol. Res.* **2017**, *122*, 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.002>.
- (30) Banerjee, S.; Adhikari, N.; Amin, S. A.; Jha, T. Histone Deacetylase 8 (HDAC8) and Its Inhibitors with Selectivity to Other Isoforms: An Overview. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *164*, 214–240. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.12.039>

- (31) Wang, Z. T.; Chen, Z. J.; Jiang, G. M.; Wu, Y. M.; Liu, T.; Yi, Y. M.; Zeng, J.; Du, J.; Wang, H. S. Histone Deacetylase Inhibitors Suppress Mutant P53 Transcription via HDAC8/YY1 Signals in Triple Negative Breast Cancer Cells. *Cell. Signal.* **2016**, *28* (5), 506–515. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2016.02.006>.
- (32) Chakrabarti, A.; Oehme, I.; Witt, O.; Oliveira, G.; Sippl, W.; Romier, C.; Pierce, R. J.; Jung, M. HDAC8: A Multifaceted Target for Therapeutic Interventions. *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36* (7), 481–492. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.013>.
- (33) Heimbürg, T.; Kolbinger, F. R.; Zeyen, P.; Ghazy, E.; Herp, D.; Schmidtkunz, K.; Melesina, J.; Shaik, T. B.; Erdmann, F.; Schmidt, M.; et al. Structure-Based Design and Biological Characterization of Selective Histone Deacetylase 8 (HDAC8) Inhibitors with Anti-Neuroblastoma Activity. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (24), 10188–10204. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01447>.
- (34) Taha, T. Y.; Aboukhatwa, S. M.; Knopp, R. C.; Ikegaki, N.; Abdelkarim, H.; Neerasa, J.; Lu, Y.; Neelapapu, R.; Hanigan, T. W.; Thatcher, G. R. J.; et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Tetrahydroisoquinoline-Based Histone Deacetylase 8 Selective Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, *8* (8), 824–829. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.7b00126>.
- (35) Amin, S. A.; Adhikari, N.; Jha, T. Structure-Activity Relationships of Hydroxamate-Based Histone Deacetylase-8 Inhibitors: Reality behind Anticancer Drug Discovery. *Future Med. Chem.* **2017**, *9* (18), 2211–2237. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0130>.
- (36) Qué es la radioterapia | Cancer.Net <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atención-del-cáncer/cómo-se-trata-el-cáncer/radioterapia/qué-es-la-radioterapia> (accesado Febrero, 2020).
- (37) Qué es la quimioterapia | Cancer.Net <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atención-del-cáncer/cómo-se-trata-el-cáncer/quimioterapia/qué-es-la-quimioterapia> (accesado Febrero, 2020).
- (38) Yet, L. Wiley, J. (2018), Privileged structures in drug discovery and medicinal chemistry and synthesis, Capítulo 12 Hydroxamates, Hoboken, Nj, USA. Editorial Office.
- (39) Gupta, P. Satya. (2013). Hydroxamic Acids, A unique family of chemicals with multiple biological activities, Meerut, India. Editorial Springer.
- (40) Roche, F. V.; Zito, S. W.; Lemke, T. L.; Williams, D. A. DRUGS USED TO TREAT NEOPLASTIC DISEASES. In Foyes's *PRINCIPLES OF MEDICINAL CHEMISTRY*; 2020; p 1373.
- (41) Kumar, N.; Kumar, S.; Abbat, S.; Nikhil, K.; Sondhi, S. M.; Bharatam, P. V.; Roy, P.; Pruthi, V. Ferulic Acid Amide Derivatives as Anticancer and Antioxidant Agents: Synthesis, Thermal, Biological and Computational Studies. *Med. Chem. Res.* **2016**, *25* (6), 1175–1192. <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1562-6>.
- (42) Kumar, N.; Pruthi, V. Potential Applications of Ferulic Acid from Natural Sources. *Biotechnol. Reports* **2014**, *4* (1), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>.
- (43) Sharma, S. H.; Chellappan, D. R.; Chinnaswamy, P.; Nagarajan, S. Protective Effect of P-Coumaric Acid against 1,2 Dimethylhydrazine Induced Colonic Preneoplastic Lesions in Experimental Rats. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *94*, 577–588. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.146>.
- (44) 4-Hydroxycinnamic acid | C9H8O3 - PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637542> (accessed Mar 5, 2020).

- (45) Osko, J. D.; Christianson, D. W. Structural Determinants of Affinity and Selectivity in the Binding of Inhibitors to Histone Deacetylase 6. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2020**, No. February, 127023. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127023>.
- (46) Atadja, P.; Perez, L. Discovery and Development of Farydak (NVP-LBH589, Panobinostat) as an Anticancer Drug. In *Successful Drug Discovery*; 2017; pp 59–88
- (47) Molinspiration disponible en la web: <https://www.molinspiration.com/>
- (48) Pass Online disponible en la web: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php>
- (49) admetSAR disponible en la web: <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/about/>
- (50) swissADME disponible en la web: <http://www.swissadme.ch/>
- (51) PyMOL disponible en la web: <https://pymol.org/2/>
- (52) Mercury disponible para descargar en la web: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/support-and-resources/Downloads/>
- (53) Lagunin A.A., Dubovskaja V.I., Rudik A.V., Pogodin P.V., Druzhilovskiy D.S., Glorizova T.A., Filimonov D.A., Sastry G.N., Poroikov V.V. CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS One*, 2018, 13 (1), e0191838. DOI: [10.1371/journal.pone.0191838](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191838). CLC-Pred disponible en la web: <http://www.way2drug.com/Cell-line/>
- (54) Martínez, J. Síntesis de derivados del ácido ferúlico afines *in silico* a múltiples dianas terapéuticas relacionadas en el abordaje experimental de la DM2. Tesis de Licenciado en Farmacia (2018), Facultad de Farmacia, UAEM.
- (55) Colin, Lozano, B.I. Diseño, síntesis y bioevaluación antidiabética *IN COMBO* de benciliden-1,3-tiazolidin-2,4-dionas y derivados del ácido fenilpropanoico. Tesis de Doctorado en Farmacia, (2018), Facultad de Farmacia, UAEM.
- (56) Arias. Brito, M. A. INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA DE LOS GLUCÓSIDOS. In *Química de los glucósidos*; (IPN), I. P. N., Ed.; 199AD; pp 128–131
- (57) Makar, S.; Saha, T.; Singh, S. K. Naphthalene, a Versatile Platform in Medicinal Chemistry: Sky-High Perspective. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 161, 252–276. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.018>.
- (58) Canadian Institutes of Health Research. (2020). Docetaxel. Drug Bank. Consultado del portal en línea: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01248>
- (59) Canadian Institutes of Health Research. (2020). 5-Fluorouracilo. Drug Bank. Consultado del portal en línea: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00544>

- (60) Massachusetts General Hospital Cancer Center. (2019) Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC): a resource for therapeutic biomarker discovery in cancer cells. (Nucl. Acids Res.2013 Database issue. PMID:23180760). Consultado del portal en línea: <https://www.cancerrxgene.org/>
- (61) Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). (2019). Cáncer de mama triple negativo. CDC. Consultado del portal en línea: <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/triple-negative.htm>
- (62) American Cancer Society. (2019). Estado del Receptor Hormonal del Cáncer de Seno. The American Cancer Society. Consultado del portal en línea: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/compreension-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno/estado-del-receptor-hormonal-del-cancer-de-seno.html>
- (63) American Cancer Society. (2019). Tipos de Cáncer de Seno. The American Cancer Society. Consultado del portal en línea: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-seno/compreension-de-un-diagnostico-de-cancer-de-seno/tipos-de-cancer-de-seno.html>
- (64) Breastcancer.org. (2020). Tipos de cáncer de mama. Consultado del portal en línea: <https://www.breastcancer.org/es/sintomas/tipos>
- (65) GRASES, Pedro. Adenocarcinoma del cuello uterino y sus lesiones preinvasivas. **Rev Obstet Ginecol Venez**, Caracas, v. 70, n. 2, p.112-115, jun. 2010 Disponible en <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S004877322010000200007&lng=es&nrm=is o>.
- (66) Vela Flórez, L.; Turrado Sánchez, E.; Piñeiro Vidal, M. J.; Correa Orbán, I. El Adenocarcinoma de Cérvix Como Causa Infrecuente de Sangrado Vaginal En La Mujer Joven. **Semergen** 2013, 39 (3), 168–170. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2012.01.004>.
- (67) Hernández, Norma, A. Tesis de licenciatura en Farmacia. (2019) Facultad de Farmacia. UAEM
- (68) Yong, S. K.; Chang, M. K. Antioxidant Constituents from the Stem of Sorghum Bicolor. *Arch. Pharm. Res.* 2003, 26 (7), 535–539.