



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA
**Diseño, síntesis y efecto
citotóxico de análogos de
Sorafenib**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN FARMACIA

PRESENTA:

L. en F. JORGE LUIS ORTIZ DIAZ

Director de tesis: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez



Cuernavaca, Morelos

2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

Cuernavaca, Morelos a 9 de marzo de 2023
Folio: FF/M/SI/CIP/MF/038/2023

L. F. JORGE LUIS ORTIZ DÍAZ
ALUMNO DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que el Consejo Interno de Posgrado (CIP), en su Sesión Ordinaria del 8 de marzo de 2023, designó a los siguientes sinodales como integrantes de la Comisión Revisora de tesis y jurado para la tesis titulada “**Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib**”.

Sinodal

Presidente Dra. Laura Patricia Alvarez Berber
Secretario Dra. Magdala Zulema Figueroa Suarez
Vocal 1 Dr. Emanuel Hernández Núñez
Suplente 1 cDr. Carlos Martínez Conde
Suplente 2 Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez^{NA}

NA = Núcleo Académico de Posgrado en Farmacia

Adscripción

CIQ-UAEM
Facultad de Farmacia-UAEM
CINVESTAV
Sin adscripción
Facultad de Farmacia-UAEM

Se le solicita entregar el manuscrito de tesis para revisión a esta comisión y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Nota (Art. 74 RGEP-UAEM): Los sinodales tendrán un plazo máximo de 20 días hábiles contados a partir de la recepción del documento de tesis para entregar los comentarios de la revisión y para emitir un voto aprobatorio o negatorio. En caso de condicionar el voto a la entrega de un documento en el que el tesista deberá solventar lo revisado, este contará con un plazo no mayor a 20 días hábiles, contados a partir de la notificación del primer dictamen emitido, para integrar las correcciones señaladas, una vez fenecido dicho plazo el sinodal emitirá el voto aprobatorio o negatorio que corresponda.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
“Por una humanidad culta
una Universidad de Excelencia”

e-firma UAEM

Dr. Sergio Alcalá Alcalá
Jefe de Posgrado
Facultad de Farmacia

ccp: archivo.

Dra. Laura Patricia Alvarez Berber; Dra. Magdala Zulema Figueroa Suarez; Dr. Emanuel Hernández Núñez; cDr. Carlos Martínez Conde; Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez



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

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2023-03-11 11:29:59 | Firmante

LH8lI2GcpT/kdH0woOAfrax2U80DP51wvd3Xnci2vtJKC8EdDI/6w/sVxkac+6ARKXGBoEPEj4RCfAKp7hN9j6zokto7l6swcA8KYbXNE1qwNPlwpRct/eh4FN82dfGxFo/HKqnNgemVZz65Kjj0/SHv5JTVvPkaGcKi556grOWrDx7rlNG0dxczmZrg6hryFjW1VrnlAr/nbQzsH55kSfcrxQPJoHlBwZPel2E5K3puZxqNPDh6ThF0tp5c20GKrTl93ukYGEd/QlJTMxhU2JEfo7Ezfw1olazUOsBtUzqkhqQ9bS256uiTXVKtGOQl4RZo2d4l0Wsa51ljjii45g==

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



MaB1bGhKT

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/UlIJMdxnmcxS7RnBTvTz7NExHyVbHcyC>



AGRADECIMIENTOS

A **CONACyT** por el apoyo otorgado para el proyecto de investigación en ciencia básica 2015, número **253814** y por la beca de maestría con el numero de CVU **1085528**.

Al **Dr. Emanuel Hernández Núñez** del Departamento de Recursos del Mar en CINVESTAV, unidad Mérida por la colaboración en los análisis espectroscópicos y espectrométricas.

A la **Dra. Jessica Nayeli Sánchez Carranza** por su colaboración en los ensayos *in vitro* para este trabajo y su orientación en el proceso de la maestría.

A la **Dra. Blanca Colin Lozano** por sus observaciones y orientación durante el proceso de maestría.

Al comité revisor: **Dra. Laura Álvarez Berber**, **Dra. Magdala Zulema Figueroa Suarez**, **Dr. Emanuel Hernández Núñez**, **M. en F. Carlos Martínez Conde** y al **Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez** por el apoyo brindado y el tiempo dedicado a realizar las observaciones necesarias.

Finalmente, un agradecimiento especial al **Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez**, quien me brindo su confianza al aceptarme de nuevo en su equipo de trabajo del Laboratorio 5 para continuar con el posgrado, por brindarme su amistad y, que día con día me ha impulsado a mejorar y a dar siempre lo mejor de mí. Gracias por sus enseñanzas y por todo su apoyo, espero regresar pronto al L-5 donde pase los mejores años de la universidad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS	xi
ÍNDICE DE ESPECTROS	xiv
COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	xv
ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 DEFINICIÓN DEL CÁNCER Y ESTADÍSTICAS.....	2
2.2 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.....	5
2.3 FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER.....	5
2.4 CARCINOGENÉISIS QUÍMICA	7
2.5 CARCINOMA HEPATOCELULAR	9
2.6 CÁNCER DE PRÓSTATA	10
2.7 BLANCOS TERAPÉUTICOS: PROTEINAS QUINASAS	12
2.7.1 p38 α	13
2.7.2 p38 α MAPK	14
2.7.3 BRAFK.....	14
2.7.4 VEGFR2	15
2.8 TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER.....	15
2.8.1 DIARILUREAS.....	16
2.8.2 PROPIEDADES DEL SORAFENIB	18
2.8.2.1 PROBLEMÁTICA DEL SORAFENIB.....	19
3. JUSTIFICACIÓN	22

4. HIPOTESIS.....	23
5. OBJETIVOS	23
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	23
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
6. CONSIDERACIONES QUÍMICO- FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO DE LAS MOLECULAS.....	24
7. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	27
7.1 METODOLOGÍA <i>IN SILICO</i> : OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO.....	29
7.1.1 PASS ONLINE.....	29
7.1.2 ADMETSAR	29
7.1.3 SWISSADME	30
7.1.4 BIOTRANSFORMER 3.0: PREDICCIÓN DEL METABOLISMO.	31
7.1.4 ACD/TOX SUITE: PREDICCIÓN DE EFECTOS TÓXICOS.....	32
7.1.5 PyMOL.....	33
7.1.6 PREDICCIÓN DE CITOTÓXICIDAD SOBRE LINEAS CELULARES (CLC-PRED).....	34
7.1.7 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO (MOLECULAR DOCKING)	34
7.1.7.1 MOLECULAR OPERATING ENVIROMENT (MOE)	35
7.1.7.2 AUTODOCK 4 (AD4)	36
7.2 METODOLOGÍA PARTE QUÍMICA	37
7.3 PARTE BIOLÓGICA (<i>IN VITRO</i>)	39
7.3.1 CULTIVO CELULAR	39
7.3.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD.....	39
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
8.1. METODOLOGÍA <i>IN SILICO</i> : OBTENCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO (SAFE LEAD) POR MEDIO DE UN ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO.....	41

8.1.1. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 POR MEDIO DE LA HERRAMIENTA PASS ONLINE...	41
8.1.2. PREDICCIÓN DE INTERACCIÓN CON DIANAS TERAPÉUTICAS POR MEDIO DEL SERVIDOR SWISSTARGET PREDICTION.	43
8.1.3. PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS: ADMETSAR.....	44
8.1.4. PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FISOCOQUÍMICAS Y FARMACOCINÉTICAS: SWISSADME	46
8.1.5. PREDICCIÓN DE METABOLISMO E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS BIOTRANSFORMER 3.0.	46
8.1.6. PREDICCIÓNES DE EFECTOS CITOTÓXICOS TÓXICOS ACD/TOX SUITE.	51
8.1.7. PREDICCIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE LÍNEAS CELULARES HUMANAS TUMORALES Y NO TUMORALES: CLC: PRED.....	56
8.2. ACOPLAMIENTO MOLECULAR REFINADO SOBRE LAS PROTEÍNAS P38α, P38αMAPK, BRAFK Y VEGFR2.....	58
8.2.1 VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR SOBRE LAS PROTEÍNAS P38α, P38αMAPK, BRAFK Y VEGFR2.....	58
8.2.2 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA P38α.....	62
8.2.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA P38αMAPK.....	66
8.2.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA BRAFK.....	70
8.3 ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO PARA SELECCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO.....	78
8.4.1 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 4-((7-CLOUROQUINOLIN-4-IL)OXI)ANILINA (JLO-8).....	81
8.4.2 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 4-(4-NITROFENOXI)ANILINA (JLO-12)	82
8.4.3 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOUROQUINOLIN-4-IL)OXI)FENIL)UREA (JLO-1)	82

8.4.4 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL	
1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-(4-NITROFENOXI)FENIL)UREA (JLO-5)	83
8.4.5 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR	
2-CLORO- <i>N</i> -(PIRIDIN-2-IL)ACETAMIDA (JLO-18)	87
8.4.6 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR	
2-CLORO- <i>N</i> -(PIRIDIN-4-IL)ACETAMIDA (JLO-19)	87
8.4.7 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR	
2-(4-AMINOFENOXI)- <i>N</i> -(PIRIDIN-2-IL)ACETAMIDA (JLO-9)	88
8.4.8 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR	
2-(4-AMINOFENOXI)- <i>N</i> -(PIRIDIN-4-IL)ACETAMIDA (JLO-10)	89
8.4.9 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL 1-(4-CLORO-3- (TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOROQUINOLIN-4- IL)OXI)FENIL)TIOUREA (JLO-1a)	89
8.5. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS	94
8.5.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹H E INFRARROJO DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-8.	94
8.5.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹H y ¹³C DEL COMPUESTO FINAL JLO-1.	96
8.5.3 ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	98
8.6 EVALUACIÓN BIOLÓGICA: ENSAYOS <i>IN VITRO</i>	105
8.6.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD	105
8.6.1.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD DEL COMPUESTO JLO-1 (QUINOTINIB)	106
8.6.1.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD DEL COMPUESTO JLO-5 (NITROTINIB)	110
9. CONCLUSIONES	116
10. PERSPECTIVAS	118
11. PARTE EXPERIMENTAL	119
11.1 INSTRUMENTACIÓN	119
11.2 CROMATOGRAFÍA	120

11.3 SÍNTESIS DE COMPUESTOS FINALES	121
11.3.1 SÍNTESIS DE 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)FENIL)UREA (JLO-1)	121
11.3.2 SÍNTESIS DE 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-(4-NITROFENOXI)FENIL)UREA (JLO-5)	122
11.3.3 SÍNTESIS DE 4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)ANILINA (JLO-8)	123
11.3.4 SÍNTESIS DE 4-(4-NITROFENOXI)ANILINA (JLO-12)	124
12. ESPECTROS	125
13. REFERENCIAS	133

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ETAPAS PRINCIPALES DE LA CARCINOGENESIS DEL QUÍMICA ...8	8
FIGURA 2. UBICACIÓN DE LA GLÁNDULA DE PRÓSTATA	11
FIGURA 3. FOSFORILACIÓN DE LAS PROTEÍNAS MEDIADA PROTEÍNAS QUINASA	12
FIGURA 4. UREA Y DERIVADOS DE LA UREA	16
FIGURA 5. INTERACCIONES DE LA UREA DEL SORAFENIB CON LA PROTEÍNA P38ALFAMAPK	17
FIGURA 6. FÁRMACOS APROBADOS POR LA FDA CON EL GRUPO FUNCIONAL UREA	17
FIGURA 7. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL SORAFENIB	18
FIGURA 8. MECANISMO DE ACCIÓN DEL SORAFENIB SOBRE CÉLULAS CANCERÍGENAS Y ENDOTELIALES	19
FIGURA 9. MECANISMOS DE RESISTENCIA SOBRE EL SORAFENIB	20
FIGURA 10. CONFORMACIÓN ESTRUCTURAL DEL SORAFENIB	24
FIGURA 11. ESTUDIO RELACIÓN ESTRUCTURA ACTIVIDAD (SAR) DEL SORAFENIB	25

FIGURA 12. COMPUESTOS UREICOS DISEÑADOS ANÁLOGOS DEL SORAFENIB	26
FIGURA 13. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA PASS ONLINE.....	29
FIGURA 14. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA ADMETSAR	29
FIGURA 15. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA SWISSADME.....	30
FIGURA 16. INTERFAZ DE BIOTRANSFORMER 3.0	31
FIGURA 17. INTERFAZ DEL SERVIDOR DE ACD/TOX SUITE	32
FIGURA 18. INTERFAZ DEL SERVIDOR PYMOL.....	33
FIGURA 19. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA CLC-PRED.....	34
FIGURA 20. INTERFAZ DEL SERVIDOR MOE.....	35
FIGURA 21. INTERFAZ DEL SERVIDOR AUTODOCK 4 (AD4)	36
FIGURA 22. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7	37
FIGURA 23. DIFERENCIAS DE LA CALEFACCIÓN CONDUCTIVA Y POR MICROONDAS.....	38
FIGURA 24. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE VEGFR2.....	60
FIGURA 25. INTERACCIONES LIGANDO PROTEÍNA DE LA VALIDACIÓN DE VEGFR2.....	61
FIGURA 26. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE P38MAPK.....	61
FIGURA 27. INTERACCIONES LIGANDO PROTEÍNA DE LA VALIDACIÓN DE P38MAPK.....	62
FIGURA 28. DIAGRAMA EN 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38ALFA.....	63
FIGURA 29. DIAGRAMA EN 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38ALFA DE JLO-1	64

FIGURA 30. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38ALFA.....	65
FIGURA 31. DIAGRAMA EN 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38ALFA DE JLO-5	66
FIGURA 32. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38MAPK.....	67
FIGURA 33. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38MAPK DE JLO-1	68
FIGURA 34. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38MAPK.....	69
FIGURA 35. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38MAPK DE JLO-1	69
FIGURA 36. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-5 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE BRAFK.....	71
FIGURA 37. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE BRAFK DE JLO-5	71
FIGURA 38. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE UNION DE BRAFK.....	72
FIGURA 39. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE BRAFK DE JLO-1	73
FIGURA 40. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE VEGFR2	75
FIGURA 41. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE VEGFR2 DE JLO-1	75
FIGURA 42. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE UNION DE VEGFR2	76
FIGURA 43. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE VEGFR2 DE JLO-1	77
FIGURA 44. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL PRECURSOR JLO-8	81

FIGURA 45. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL PRECURSOR JLO-12	82
FIGURA 46. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	83
FIGURA 47. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL JLO-5.....	84
FIGURA 48. PRUEBA COLORIMÉTRICA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES JLO-8 Y JLO-12	85
FIGURA 49. A) REACTOR ANTON PAAR, B) REACTOR DE MICROONDAS CEM.....	86
FIGURA 50. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-18	87
FIGURA 51. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-19	88
FIGURA 52. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-9	88
FIGURA 53. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-18.....	89
FIGURA 54. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL JLO-1A.....	90
FIGURA 55. ESPECTRO DE RMN ¹H (DMSO-D₆, 600 MHZ) DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-8	95
FIGURA 56. ESPECTRO DE INFRARROJO (IR) DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-8	95
FIGURA 57. ESPECTRO DE RMN ¹H (DMSO-D₆, 600 MHZ) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	96
FIGURA 58. EXPANSIÓN DE LA ZONA AROMÁTICA DEL ESPECTRO DE RMN ¹H (DMSO-D₆, 600 MHZ) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	97
FIGURA 59. ESPECTRO DE RMN ¹³C (DMSO-D₆, 150 MHZ) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	97

FIGURA 60. EXPANSIÓN DE LA REGIÓN AROMÁTICA PARA OBSERVAR EL ACOPPLAMIENTO C-F DEL ESPECTRO DE RMN ¹³ C (DMSO-D ₆ , 150 MHz) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	98
FIGURA 61. FRAGMENTACIÓN OBSERVADA EN EL ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO JLO-1	99
FIGURA 62. ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO FINAL JLO-1	100

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER.....	5
TABLA 2. DIFERENCIAS Y CARACTERÍSTICAS DE LOS TUMORES.....	6
TABLA 3. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 POR EL SERVIDOR PASS ONLINE.....	42
TABLA 4. PREDICCIÓN DE LA POSIBLE INTERACCIÓN DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LAS DIANAS TERAPÉUTICAS POR MEDIO DEL SERVIDOR SWISSTARGET PREDICTION	44
TABLA 5. PREDICCIÓN DE PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 POR ADMETSAR	45
TABLA 6. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 POR SWISSADME	46
TABLA 7. PRINCIPALES METABOLITOS DEL SORAFENIB.....	47
TABLA 8. METABOLITOS DE FASE I DE COMPUESTOS JLO 1-7	47
TABLA 9. METABOLITOS DE FASE II DE COMPUESTOS JLO 1-7	49
TABLA 10. PREDICCIÓN DE LAS POSIBILIDADES DE BLOQUEO DE CANALES HERG.....	52
TABLA 11. PROBABILIDAD DE LA INHIBICIÓN DE LAS ISOFORMAS DEL CYP450.....	54

TABLA 12. TOXICIDAD AGUDA EN RATÓN Y RATA CALCULADO CON ACD/TOX SUITE	55
TABLA 13. RESULTADO DE CITOTOXICIDAD SOBRE LÍNEAS CELULARES TUMORALES PARA LOS COMPUESTOS JLO 1-7	56
TABLA 14. RESULTADOS DE CITOTOXICIDAD SOBRE LÍNEAS CELULARES NO-TUMORALES PARA LOS COMPUESTOS JLO 1-7	57
TABLA 15. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR CON MOE SOBRE LAS PROTEÍNAS QUINASAS.....	59
TABLA 16. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR CON AD4 SOBRE LAS PROTEÍNAS QUINASAS.....	59
TABLA 17. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE P38ALFA.....	63
TABLA 18. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE P38ALFA.....	64
TABLA 19. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE P38MAPK.....	66
TABLA 20. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE P38MAPK.....	68
TABLA 21. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE BRAFK.....	70
TABLA 22. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE BRAFK	72
TABLA 23. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE VEGFR2	74
TABLA 24. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE VEGFR2.....	76
TABLA 25. ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO DE LOS COMPUESTO JLO 1-7	79
TABLA 26. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y DE SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES.....	84

TABLA 27. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS SELECCIONADOS CONMO HITS COMPUTACIONALES SEGUROS.....	86
TABLA 28. CONDICIONES DE REACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES JLO-18 Y JLO-19.....	91
TABLA 29. CONDICIONES DE REACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES JLO-10, JLO-9 Y JLO-1A	92
TABLA 30. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-8	101
TABLA 31. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-12	102
TABLA 32. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H Y ¹³C DEL COMPUESTO JLO-1	103
TABLA 33. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H Y ¹³C DEL COMPUESTO JLO-5	104
TABLA 34. CLASIFICACIÓN DE COMPUESTOS DE ACUERDO CON SU CC₅₀.....	106
TABLA 35. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-1 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	107
TABLA 36. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-1 CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	108
TABLA 37. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-5 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	110
TABLA 38. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-5 CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	112
TABLA 39. VALORES DE CC₅₀ SOBRE LÍNEA CELULAR HACAT.....	114
TABLA 40. ÍNDICE DE SELECTIVIDAD DE NITROTINIB (JLO-5) Y QUINOTINIB (JLO-1).....	115
TABLA 41. FASES MOVILES EMPLEADAS EN EL MONITOREO DE LOS COMPUESTOS.....	120

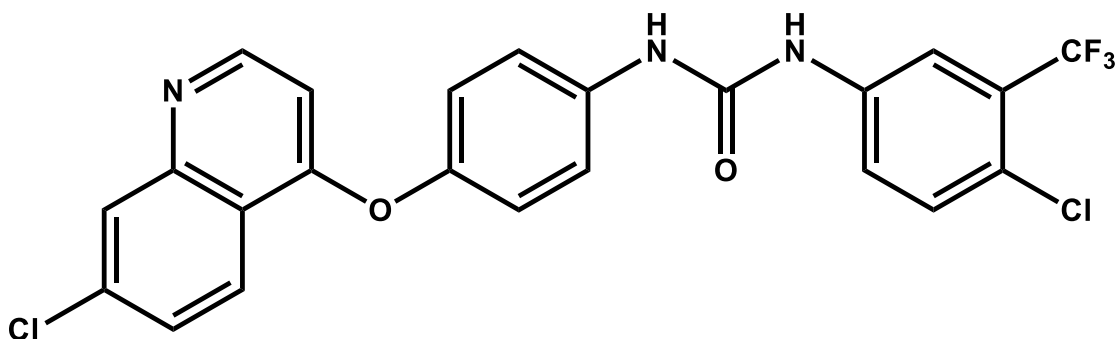
GRÁFICA 1. INCIDENCIA DE CASOS DE CÁNCER A NIVEL MUNDIAL, 2020.	2
GRÁFICA 2. INCIDENCIA Y MORTALIDAD DEL CÁNCER DE PRÓSTATA EN AMÉRICA LATINA.....	3
GRÁFICA 3. INCIDENCIA Y MORTALIDAD DE CÁNCER DE HÍGADO EN AMÉRICA LATINA.....	4
GRÁFICA 4. VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-1 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	108
GRÁFICA 5. VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-1 CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	109
GRÁFICA 6. VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-5 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	111
GRÁFICA 7. VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-5 CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS	112
GRÁFICA 8. COMPARACION DE VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-1 CONTRA JLO-5.....	113
GRÁFICA 9. ÍNDICE DE SELECTIVIDAD DE JLO-5 Y JLO-1.....	115

ÍNDICE DE ESPECTROS

ESPECTRO 1. RMN ¹H del compuesto JLO-1.....	125
ESPECTRO 2. RMN ¹³C DEL COMPUESTO JLO-1	126
ESPECTRO 3. IE-EM del compuesto JLO-1	127
ESPECTRO 4. Espectro de infrarrojo del compuesto JLO-8.....	128
ESPECTRO 5. RMN ¹H del compuesto JLO-8.....	129
ESPECTRO 6. RMN ¹H del compuesto JLO-5.....	130
ESPECTRO 7. RMN ¹³C del compuesto JLO-5.....	131
ESPECTRO 8. RMN ¹H del compuesto JLO-12	132

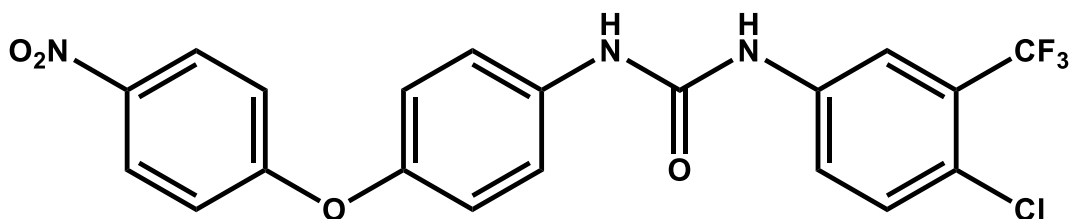
COMPUESTOS SINTETIZADOS

Compuestos Finales



1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(4-((7-cloroquinolin-4-il)oxi)fenil)urea

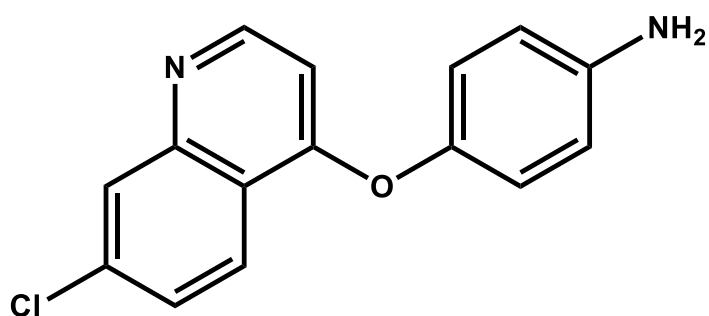
JLO-1 Quinotinib



1-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-3-(4-(4-nitrofenoxi)fenil)urea

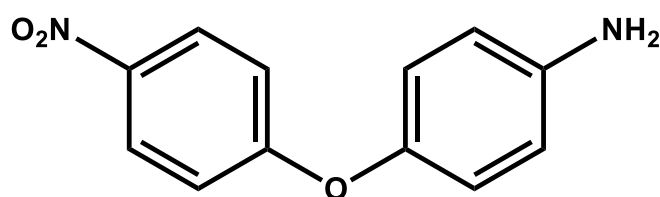
JLO-5 Nitrotinib

Compuestos Precursores



4-((7-cloroquinolin-4-il)oxi)anilina

JLO-8



4-(4-nitrofenoxi)anilina

JLO-12

ABREVIATURAS

ARN	Ácido ribonucleico
ADME	Absorción, distribución, metabolismo, excreción
AD4	Autodock 4
CCF	Cromatografía en capa fina
CHC	Carcinoma hepatocelular
CC ₅₀	Concentración citotóxica media
DL ₅₀	Dosis letal media
FDA	<i>Food and drug administration</i>
GSDC	<i>General hospital cancer center</i>
HFF	Línea celular de fibroblastos
HacaT	Línea celular inmortalizada de queratinocitos
IGFII	Receptor similar a insulina II
IS	índice de selectividad
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública
MDR	Múltiple resistencia a fármacos
MOC	Mecanismo de quimiorresistencia
OMS	Organización Mundial de la Salud
PC	Proteínas quinasas
QSAR	Relación estructura actividad cuantitativa
RTK	Receptor de tirosín quinasas
RMSD	Desviación cuadrática media
SAR	Relación estructura actividad
SF	Sorafenib
VIH	Virus de inmunodeficiencia adquirida
VEGRF	Receptor del factor de crecimiento vascular endotelial

RESUMEN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es la segunda causa de muerte nivel mundial; tan solo en el año del 2020 se reportaron más de 19 millones de casos nuevos, alcanzando más de 10 millones de muertes. Entre los tipos de cáncer más comunes se encuentran el carcinoma hepatocelular, siendo la sexta neoplasia más frecuente a nivel mundial y en nuestro país se encuentra en segundo lugar, tanto de incidencia como de mortalidad, al igual que el cáncer de próstata. El desarrollo de estas enfermedades es causado en mayor proporción por la inflamación crónica en el hígado y próstata respectivamente. Esta inflamación está dada por varios factores que pueden estar asociados a infecciones virales, por el alto consumo de alcohol y de tabaco, así como un alto índice de obesidad y de diabetes en la población de obesidad y de diabetes, donde la mayoría de estos factores, hacen de nuestro país un importante target para estas patologías. En la terapéutica existen numerosas estrategias para el tratamiento del cáncer como lo es la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia. Sin embargo, la cirugía y la radioterapia son invasivas, mientras que la farmacología para la quimioterapia no es selectiva y daña tanto células cancerígenas como células sanas, trayendo consigo varios efectos adversos. En la quimioterapia actual del cáncer se destaca al sorafenib, un fármaco oral multitarget capaz de inhibir a varias proteínas quinasas implicadas en estos tipos de patologías, sin embargo, presenta problemas de resistencia después de administrarse por cierto periodo, así como un alto costo.

Debido a lo anterior, el objetivo de este proyecto fue diseñar y generar una serie de compuestos análogos al sorafenib (**JLO 1-7**) donde a través de un Análisis *in silico* de Consenso Farmacológico se seleccionaron para su síntesis y bioevaluación 2 Hits computacionales seguros, siendo los compuestos **JLO-1** y **JLO-5** los que presentaron los mejores perfiles nombrados **Quinotinib** y **Nitrotrinib**, respectivamente. Una vez sintetizados, se evaluó su citotoxicidad *in vitro* en líneas celulares cancerígenas de origen hepático y prostático, en donde el compuesto **JLO-5** mostró la mejor actividad citotóxica selectiva en comparación del sorafenib sobre la línea celular cancerígena de próstata, en el bajo orden micromolar. Aunado a esto, la obtención del compuesto **JLO-5** es mucho más sencilla y barata que la del sorafenib, convirtiéndolo en un hit experimental seguro.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), cancer is the second leading cause of death worldwide; only in 2020 more than 19 million new cases were reported with more than 10 million deaths in the same year. Among the most common types of cancer are hepatocellular carcinoma, being the sixth most frequent neoplasm worldwide and in our country, it is in second place both in incidence and mortality, like prostate cancer. The development of these diseases is caused in greater proportion by chronic inflammation in the liver and prostate respectively, this inflammation is given by several factors that may be associated with viral infections, by the high consumption of alcohol and high consumption of snuff, as well as a high rate in the population of obesity and diabetes, where most of these factors, make our country an important target for these pathologies.

In therapeutics there are numerous drugs for the treatment of cancer such as surgery, chemotherapy and radiotherapy. However, surgery and radiotherapy are invasive, while chemotherapy is not selective and damages both cancer cells and healthy cells, bringing with it various adverse effects. In current cancer chemotherapy, sorafenib stands out, which is a multitarget oral drug, capable of inhibiting several protein kinases involved in these types of pathologies, however, it presents resistance problems after being administered for a certain period, as well as a high cost.

Due to the above, the objective of this project was to design and generate a series of compounds analogues to sorafenib (**JLO 1-7**) where, through an *in silico* Pharmacological Consensus Analysis, 2 safe computational Hits were selected for their synthesis and bioevaluation, having the best profiles the compounds **JLO-1** and **JLO-5**, named **Quinotinib** and **Nitrotrinib**, respectively. Once synthesized, their *in vitro* cytotoxicity was evaluated in cancer cell lines of liver and prostate origin, where the compound **JLO-5** showed the best selective cytotoxic activity compared to sorafenib on the prostate cancer cell line. In addition to this, synthesis of compound **JLO-5** is much simpler and cheaper than that of sorafenib, making it as a safe experimental hit.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncerse define como un grupo de enfermedades que puede presentarse en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo, se caracteriza por el crecimiento anormal acelerado de células que pueden propagarse a sitios adyacentes de su lugar de origen.¹ Es la segunda causa de muerte a nivel mundial,^{1,2} y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2020 se presentaron más de 10 millones de muertes.¹

Entre los tipos más comunes de cáncer y de los cuales México se encuentra en 2° lugar de incidencia en países de América Latina, de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) se encuentran el cáncer de hígado y próstata,³ siendo el subtipo más común el carcinoma hepatocelular.⁴

Uno de los fármacos disponible en la terapéutica dirigido contra estos tipos de cáncer es el sorafenib⁵, un inhibidor multi-quinasas⁵, su mecanismo de acción va principalmente dirigido a las enzimas serina/treonina RAF, el receptor del factor del crecimiento vascular endotelial (VEGFR), al receptor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), provocando efectos citotóxicos y angiogénicosprincipalmente.⁵ Sin embargo, debido al tardío diagnóstico tanto del hepatocarcinoma y del cáncer renal primario, el sorafenib prolonga la vida media de supervivencia entre 2-3 meses, además de tener un alto costo.⁶

Debido a lo anterior, al ser el sorafenib uno de los pocos fármacos en la terapéutica disponible contra estos tipos de cáncer, este trabajo propone el diseño, síntesis y evaluación *in silico* e *in vitro* de compuestos análogos de sorafenib más asequibles y menos tóxicos, que actúen como agentes citotóxicos selectivos frente a los blancos terapéuticos de interés como: P38 α , P38 α MAPK, BRAFK y VEGFR2, los cuales se encuentran sobreexpresados en estas enfermedades.

2. ANTECEDENTES

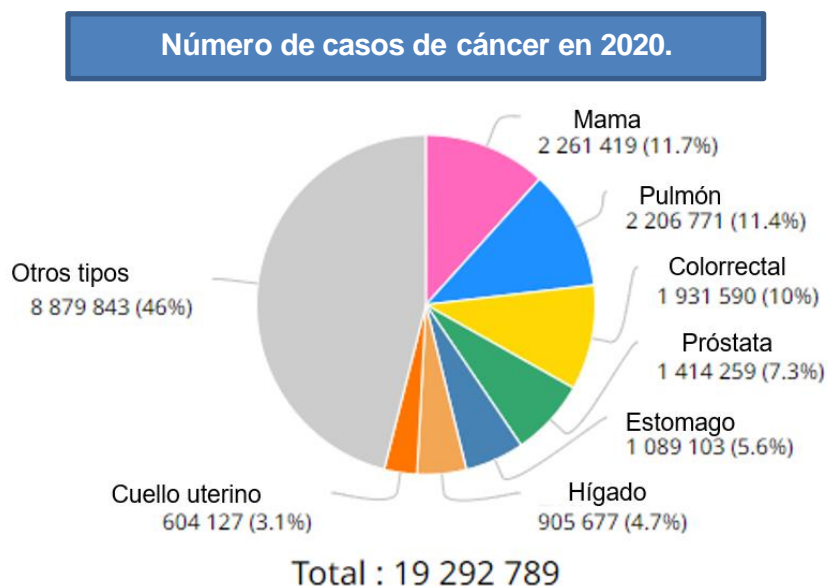
2.1 DEFINICIÓN DEL CÁNCER Y ESTADÍSTICAS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el cáncer como un grupo de enfermedades que puede presentarse en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo, se caracteriza por el crecimiento anormal acelerado de células que pueden propagarse a sitios adyacentes de su origen, proceso conocido como metástasis.¹

En el año 2020, la OMS presentó las estadísticas donde se indica que el cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial,^{1,2} con más de 10 millones de muertes.¹

En el año 2020, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) reportó 19.292 789 de nuevos casos en ambos sexos.³

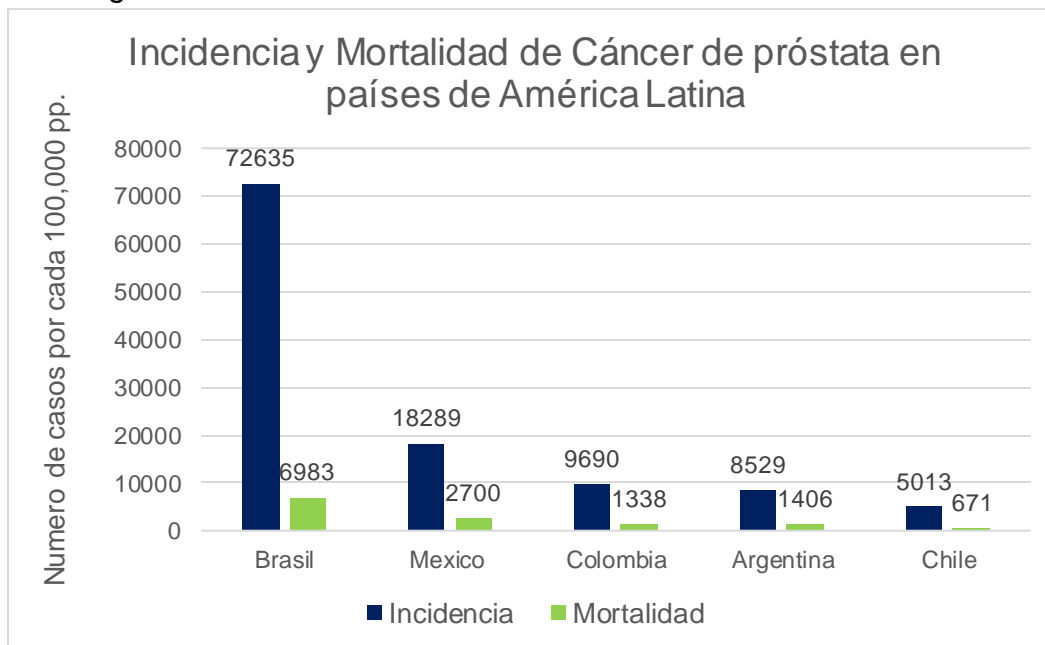
En la **Gráfica 1**, se muestran los porcentajes más altos de los tipos de cáncer, cuales corresponden para el cáncer de mama, de pulmón y colorrectal.³



GRÁFICA 1. INCIDENCIA DE CASOS DE CÁNCER A NIVEL MUNDIAL, 2020.³

Este proyecto se enfoca en las patologías de cáncer de próstata y de hígado de acuerdo con la **Gráfica 1**, donde el cáncer de próstata se encuentra en 4to lugar a nivel mundial con 1,414 259 casos en 2020 y el cáncer de hígado se encuentra en 6to lugar con 905 677 casos en 2020.³ Sin embargo, estos tipos de cáncer en países de América Latina son muy frecuentes, de acuerdo con las estadísticas de la IARC

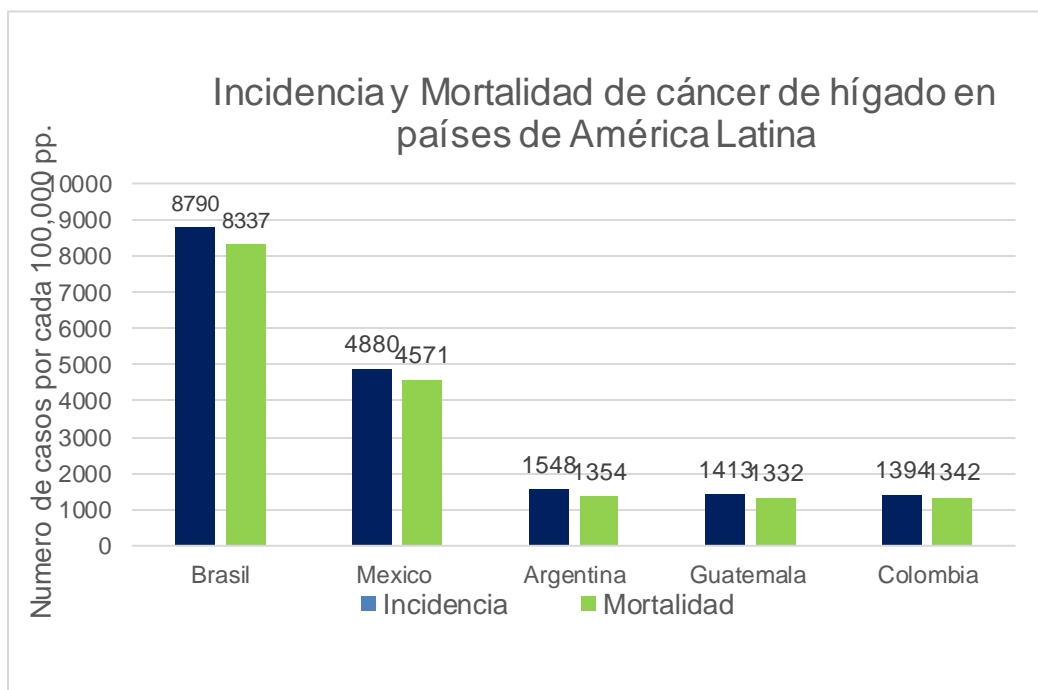
el número de incidencia y mortalidad del cáncer de próstata sitúa a México en segundo lugar así como se observa en la **Gráfica 2**.



GRÁFICA 2. INCIDENCIA Y MORTALIDAD DEL CÁNCER DE PRÓSTATA EN AMÉRICA LATINA³

De acuerdo con la **Gráfica 2**, la incidencia es 6.7 veces mayor a la mortalidad del cáncer de próstata en México, de acuerdo con el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) es el tipo de cáncer más mortífero entre los hombres (13 muertes por cada 100 mil hombres).⁷

En la **Gráfica 3** se observa la incidencia y mortalidad del cáncer de hígado, que de acuerdo con la IARC sitúa a México en segundo lugar de incidencia y mortalidad en países de América Latina.³ En México ocupa el noveno lugar de incidencia de neoplasias malignas.⁷



GRÁFICA 3. INCIDENCIA Y MORTALIDAD DE CÁNCER DE HÍGADO EN AMÉRICA LATINA³

De acuerdo con la **Gráfica 3** la incidencia es prácticamente la misma que la mortalidad del cáncer de hígado en México. La mortalidad del cáncer de hígado en México ocupa el 3er lugar, siendo el 3ro en la mujer y el 4to en los hombres.⁸

Es importante mencionar que la incidencia del cáncer de próstata en México aumentará en un 53% y su mortalidad en un 48%, mientras que la incidencia del cáncer de hígado aumentará en un 53% y la mortalidad en un 52%. Según la IARC³, el incremento de incidencia en nuestro país de estos tipos de cáncer se debe al incremento en un estilo de vida poco saludable tanto en jóvenes y adultos, así como el aumento de consumo de tabaco, consumo de grasas de origen animal y saturadas que provocan obesidad visceral y diabetes mellitus 2 que, de acuerdo con la Federación Mexicana de Diabetes, México se encuentra entre los primeros lugares a nivel mundial.^{8,9}

2.2 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER.

Los estudios epidemiológicos indican que el cáncer humano surge en múltiples etapas. La incidencia de los cánceres epiteliales, que constituyen la mayoría de todos los cánceres humanos, aumenta gradualmente con la edad. La mayoría de las leucemias, linfomas y sarcomas óseos y musculares tienden a desarrollarse en etapas tempranas de la vida, con un pico en la infancia o en la edad adulta temprana.¹⁰

La mayoría de los cánceres se desarrollan debido a la acumulación de múltiples defectos.¹¹ Existen diferentes factores que interactúan con los genes de cada individuo los cuales pueden llevar a cabo el desarrollo de cáncer en un organismo, estos factores pueden ser externos: físicos, químicos y biológicos,^{1,11} 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, componentes del humo del cigarro, arsénico
Biológicos	Virus, bacterias y parásitos.

Otro de los factores de riesgo que no se encuentran en la tabla anterior, pero presenta un alto impacto en el proceso de desarrollar cáncer, es presentar un alto índice de masa corporal, falta de actividad física, ingesta reducida de alimentos saludables e ingerir un alta cantidad de alimentos o sustancias dañinas al organismo, por ello cada individuo puede presentar o no este tipo de enfermedades de acuerdo con su estilo de vida y el ambiente donde se desarrolle cotidianamente.¹²

2.3 FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER

El cáncer como ya se ha mencionado anteriormente es una enfermedad en cual se pierde el control de crecimiento de una o más células llevando a la formación de una masa sólida de células, conocida como tumor. El tumor inicial, es conocido como tumor primario el cual a menudo se convierte en una amenaza para la vida

debido a que puede obstruir vasos sanguíneos o mal funcionamiento de los órganos.¹³ La principal causa de muerte es causada por la diseminación del tumor primario hacia una o más partes del cuerpo a este proceso se conoce como *metástasis* por cual hace que la intervención quirúrgica sea prácticamente imposible.¹³

Los tumores se componen de poblaciones celulares heterogéneas, esta observación biológica se puede explicar mediante dos teorías:

- Modelo estocástico: las células que conforman al tumor son equivalentes, por lo que cualquiera de ellas sería capaz de iniciar un nuevo tumor, el comportamiento diferencial implica la participación de señales intrínsecas y extrínsecas.
- Modelo jerárquico: existen poblaciones celulares biológicamente diferentes y sólo aquellas con características de células troncales (son aquellas que funcionalmente se caracterizan por su capacidad de autorenovación y multipotencialidad), son capaces de generar un nuevo tumor.¹⁴ Los tumores se clasifican como benignos o malignos, dependiendo de las características que presentan, como se observa la **Tabla 2**.

TABLA 2. DIFERENCIAS Y CARACTERÍSTICAS DE LOS TUMORES¹⁴

Tumor benigno	Tumor Maligno
Encapsulado	No encapsulado
No invasivo	Invasivo
Poca división celular	Divisiones celulares comunes
Altamente diferenciados	Poco diferenciados
Crecimiento lento	Crecimiento rápido
Escasa anaplasia*	Presenta 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 factores de crecimiento

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

El cáncer visto a nivel genético implica modificaciones constantes en el genoma de las células, que puede ser provocado por factores tanto internos como externos (por ejemplo, factores externos, el medio ambiente y factores internos, mutaciones puntuales). A nivel celular y de comportamiento se han postulado un número definido de características celulares o bioquímicas, también llamados rasgos adquiridos o distintivos, que son comunes en la mayoría de los tipos de cáncer humano.¹³ Estas características que distinguen a una célula cancerosa de una célula sana es un proceso en que una secuencia de modificaciones genéticas, proporciona una ventaja genética que conduce al cambio progresivo de las células sanas a células tumorales, esto es resultado de seis modificaciones esenciales, 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.^{13,14} 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.¹⁴

2.4 CARCINOGENESIS QUÍMICA

Como ya se ha mencionado anteriormente el cáncer puede derivarse por diferentes factores, por lo tanto, tener contacto con un agente carcinogénico o presentar una mutación puntual en el organismo, no necesariamente va a derivar en la formación de un tumor, para ello se lleva a cabo un extenso proceso el cual no ha sido comprendido totalmente, sin embargo, se ha logrado comprender algunos de estos mecanismos carcinogénicos. 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 1**).¹⁴

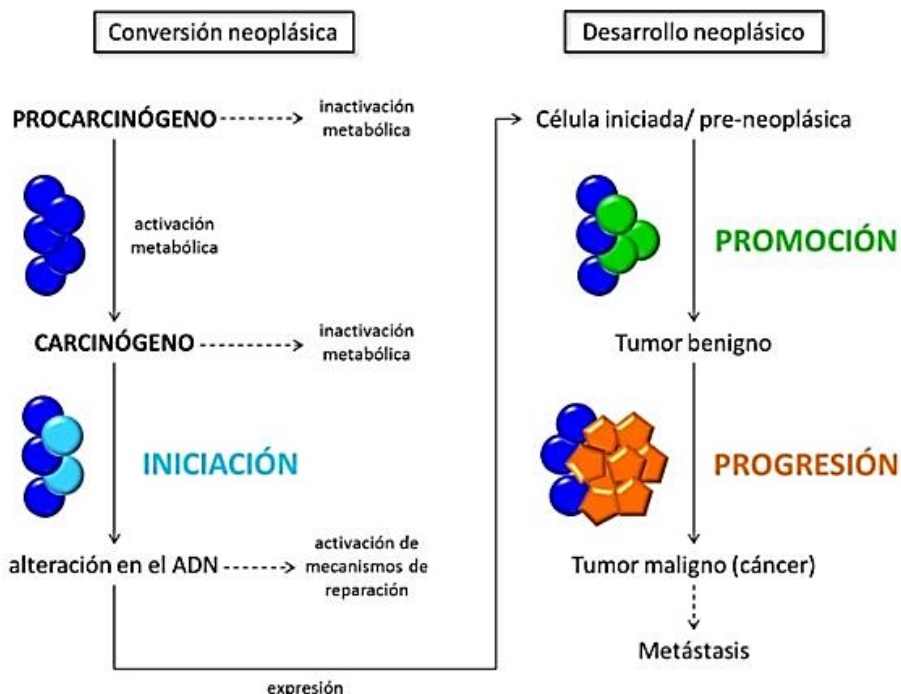


FIGURA 1. ETAPAS PRINCIPALES DE LA CARCINOGENESIS DEL QUÍMICA

El proceso de manera general nos indica que se requiere de entrar en contacto con el agente carcinogénico o alguna modificación a nivel genético (llamado iniciador), este iniciador se puede activar al metabolizarse o inactivar, posteriormente, se lleva a cabo el proceso de iniciación cuando el iniciador 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 benignos o malignos¹⁴, este proceso es conocido como tumorigénesis, que se lleva a cabo en varios pasos, cada uno de los cuales refleja cambios genéticos que promueven la transformación progresiva de las células sanas en células tumorales, estas modificaciones se llevan a cabo en diferentes sitios, desde alteraciones tan sutiles como las mutaciones puntuales, hasta problemas más evidentes como las translocaciones cromosómica¹³, en caso de haber formación de tumores 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.¹⁴

2.5 CARCINOMA HEPATOCELULAR

El carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés), es la sexta neoplasia más frecuente en todo el mundo y la tercera causa de muerte a nivel mundial^{15,16}, el HCC constituye un 85-90% de los cánceres en hígado.¹⁵ Se caracterizará por ser un tumor hipervascularizado de crecimiento rápido y un pobre diagnóstico.¹⁷ Debido a este diagnóstico pobre o tardío, las terapias potencialmente efectivas, como la quimioterapia, quimioembolización, la ablación y la terapia de protones, no tienen los efectos deseados o en menor proporción.¹⁸

Hay muchos factores de riesgo que pueden derivar en el HCC y suelen presentarse en pacientes con inflamación crónica hepática asociada principalmente a infecciones víricas como hepatitis B o C, la diabetes, la esteatohepatitis alcohólica o no alcohólica y las enfermedades metabólicas genéticas.¹⁶

De acuerdo con el INSP la cirrosis es el principal factor de riesgo para desarrollar el CHC ya que cerca 1/3 de los pacientes con cirrosis tiende a desarrollar CHC, se pensaría que esta cirrosis es producida en su mayor parte por consumo de alcohol, sin embargo, no es así como ya se mencionó esto se debe más por la etiología viral, posteriormente por consumo de alcohol, en el caso de la diabetes, debido a que la resistencia a la insulina y la consecuente producción de especies reactivas de oxígeno puede producir inflamación hepática lo cual puede tener un papel importante en la hepatocarcinogénesis.⁸

La mayoría de los pacientes son diagnosticados en una etapa avanzada de la hepatocarcinogénesis debido a la falta de detección en etapas tempranas, tiene una progresión silenciosa y a menudo produce metastasis.¹⁶ La esperanza de vida para los pacientes con CHC avanzado es menor a un año.¹⁶

Una de las terapias de elección es la cirugía del tumor, sin embargo, no siempre es posible debido a que la mayoría de las veces presenta metástasis. También la eficacia de la quimioterapia adyuvante es muy baja debido a la marcada refractariedad de este tumor a los fármacos. La principal causa de esta refractariedad se debe al desarrollo del fenotipo de resistencia a múltiples fármacos

(MDR) en el tumor lo que les confiere resistencia a muchos fármacos citostáticos.^{19,20} Esta característica depende en parte de la expresión aberrante de genes implicados en la defensa contra el estrés químico expresados en tejidos sanos.¹⁹

Estos genes se han clasificado en una variedad de mecanismos quimiorresistencia (MOC):

- ❖ MOC-1a: si implican una reducción de la absorción del fármaco
- ❖ MOC-1b: una mayor excreción del fármaco
- ❖ MOC-2: una reducción de la activación metabólica del profármaco o un aumento de la inactivación del fármaco
- ❖ MOC-3: se dirigen a otras dianas moleculares
- ❖ MOC-4: mayor reparación del ADN
- ❖ MOC-5: una modificación del equilibrio proapoptótico frente a la prosupervivencia.¹⁹

Uno de los mecanismos que pueden contribuir a este proceso es la acumulación de mutaciones y deleciones en las mitocondrias, dando lugar a alteraciones de la cadena respiratoria mitocondrial.¹⁹

2.6 CÁNCER DE PRÓSTATA

La glándula prostática es la glándula sexual masculina que está presente delante del recto y entre la vejiga y el pene **Figura 2**. El cáncer de próstata es la segunda neoplasia maligna más frecuente en hombres después del cáncer de piel.²¹

La incidencia es de 2 a 3 veces mayor en las personas cuyo hermano o padre padece cáncer de próstata que en las que no tienen antecedentes familiares de esta enfermedad.²¹

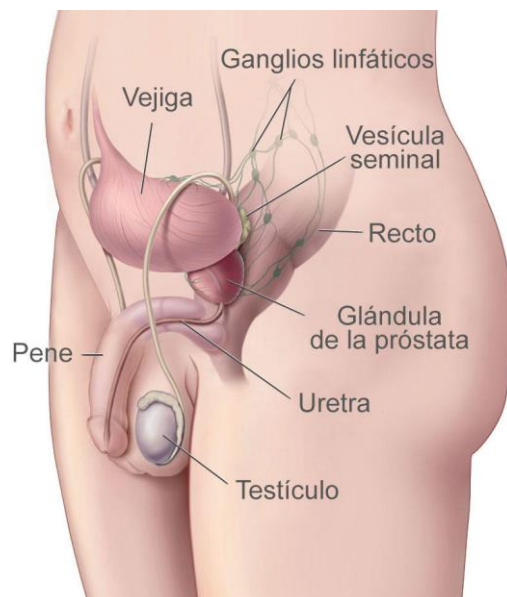


FIGURA 2. UBICACIÓN DE LA GLÁNDULA DE PRÓSTATA

De acuerdo con el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) la probabilidad de desarrollar cáncer de la próstata se debe a factores modificables y no modificables:

No modificables:

- ❖ La edad: después de los 50 años aumenta la posibilidad de presentar cáncer de próstata.
- ❖ La raza: los hombres afroamericanos tienen el máximo riesgo de presentar este cáncer, seguidos de los hombres caucásicos, de hispanos y asiáticos.
- ❖ Historial familiar: si hay antecedentes familiares el riesgo aumenta un 30%.

Modificables:

- ❖ Alimentación: consumir alimentos altos en grasas, la poca ingesta frutas y verduras, la ingesta de alcohol y cigarro aumentan el riesgo.
- ❖ Estilo de vida: sedentarismo y la obesidad.^{7,22}

Los pacientes pueden ser asintomáticos, pero se pueden presentar algunos síntomas como: dificultad para miccionar, el esfuerzo para empezar, la frecuencia y la nicturia. Todo ello puede deberse tanto a una hipertrofia prostática benigna como a una neoplasia, pero si las influencias genéticas y ambientes son favorecedores para una neoplasia, se provoca el inicio.²²

2.7 BLANCOS TERAPÉUTICOS: PROTEÍNAS QUINASAS

Una de las características del cáncer se da por un aumento de múltiples y complejas vías de señalización para acelerar el crecimiento, proliferación y la movilidad celular.²³ Una de estas vías de señalización es llevada a cabo por las proteínas quinasas (PC) al tener una estimulación incontrolada en respuesta a las mutaciones o a la sobreexpresión es uno de los principales mecanismos de crecimiento y propagación del cáncer.²³

Las proteínas quinasas son enzimas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato del ATP a proteínas específicas, pequeñas biomoléculas como lípidos o carbohidratos, a este proceso se le conoce como fosforilación (**Figura 3**), el cual se encarga de controlar diversos procesos celulares como: la proliferación, diferenciación, la motilidad y la apoptosis.²³

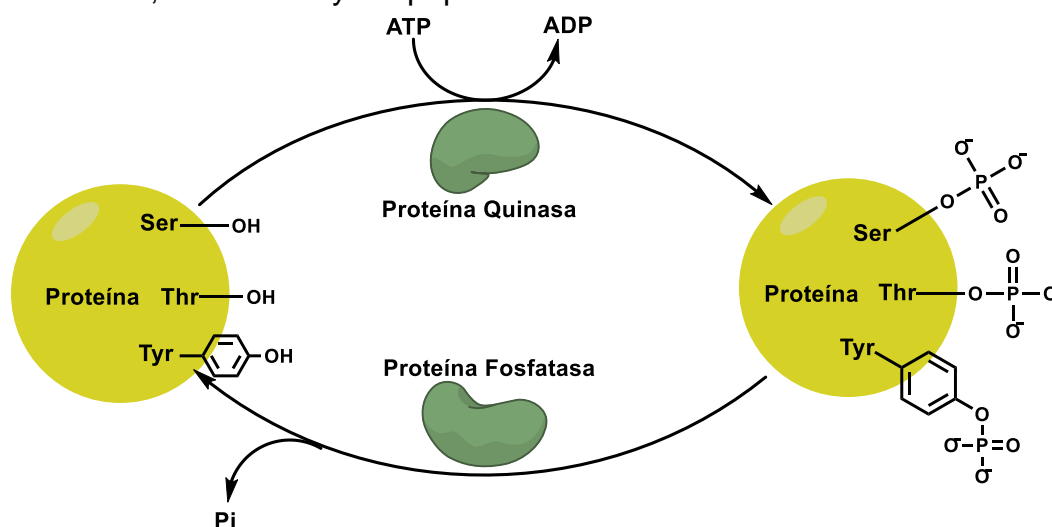
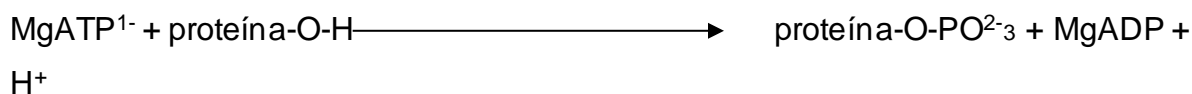


FIGURA 3. FOSFORILACIÓN DE LAS PROTEÍNAS MEDIADA POR PROTEÍNAS QUINASA

Debido a esto su papel se integra en la regulación de la homeostasis intracelular y la transducción de señales extracelulares, la desregulación de la actividad de las PC está directamente implicada en numerosos trastornos progresivos como: enfermedades autoinmunes, cardiovasculares, nerviosas, inflamatorias e incluido el cáncer.^{23,24}

Para el tratamiento de estas enfermedades la FDA ha aprobado 62 agentes terapéuticos que se dirigen a más de 20 proteínas quinasas diferentes. Sin embargo, cabe mencionar que estas proteínas representan solo una pequeña

porción de los 518 miembros de la familia de enzimas PC, estas enzimas catalizan la siguiente reacción de forma genérica.²³



Basándose en la naturaleza de los grupos R-OH fosforilados, estos catalizadores dividen a las enzimas en diferentes grupos:

- ❖ Proteínas tirosín quinasa.
- ❖ Enzimas similares a proteína tirosín quinasa.
- ❖ Proteínas serina/treonina quinasa.

De igual manera los inhibidores de las proteínas quinasa se clasifican en 2 tipos: reversibles e irreversibles, que a la vez se dividen en 7 grupos, los reversibles que incluyen: Grupos, I, I^{1/2}, II, III, IV y V, mientras que los irreversibles son del grupo VI.²⁴

Las proteínas que se abordan en este proyecto son de tipo tirosín quinasa y del tipo serina/treonina quinasa.

2.7.1 p38 α

La proteína p38 α es uno de los 4 isotipos de p38 que pertenecen a la familia de proteínas quinasa activadas por mitógenos (MAPK), que junto con otras quinasa como, la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK) y la c-Jun terminal quinasa (JNK) integran y procesan diferentes señales extracelulares.²⁵ Es el isotipo más estudiado de esta familia de quinasa, se conoce que en su activación, se fosforila doblemente en los residuos Thr180 y Tyr182 en el loop de activación,²⁵ tras su activación puede regular varias funciones celulares tales como: fosforilar múltiples proteínas, también puede controlar la producción de diferentes moléculas de señalización extracelular, como factores de crecimiento, citoquinas y quimiocinas, puede regular diferentes funciones celulares durante la formación de tumores en diferentes etapas de desarrollo y para diferentes tipos de cáncer.²⁶ Se ha encontrado que P38 α actúa como supresor de tumores en las etapas iniciales

de la tumorigénesis, pero promueve la actividad tumoral en las etapas posteriores.²⁵ En las etapas iniciales, p38 α puede regular la homeostasis celular equilibrando la apoptosis, la proliferación y la diferenciación de las células, y en las etapas posteriores, puede facilitar la supervivencia y la diseminación de las células tumorales.^{25,26}

2.7.2 p38 α MAPK

La vía de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) p38 es una vía de transducción de señales que desempeña un papel clave en la adaptación celular a los estímulos externos. Existen cuatro tipos de isoformas de P38 MAPK en las células de mamíferos: p38 α , p38 β , p38 γ y p38 δ ,²⁷ esta familia de proteínas quinasas pueden regular diferentes funciones celulares, como la proliferación, la diferenciación, la apoptosis, la adhesión célula-célula, la inflamación, la migración y la invasión, en respuesta a diversas señales ambientales,^{26,27} dentro de estas señales ambientales se ha demostrado que la activación de la vía p38MAPK media en las respuestas celulares a la irradiación UV, el choque osmótico, la isquemia, el daño del ADN y los factores de crecimiento.²⁶ Cuando se activa la vía p38 MAPK ejerce sus funciones a través de un considerable número de sustratos, como: factores de transcripción, incluyendo ATF-1, -2 y -6, p53 y C/EBPa, proteínas quinasas (MK2/3, MSK1/2, PRAK) y fosfatasas (PP2A), así como, reguladores del ciclo celular (ciclina D1, inhibidores de CDK) y de la apoptosis (proteínas de la familia Bcl-2), receptores de factores de crecimiento (FGFR1) y proteínas del citoesqueleto (queratina 8). Estos sustratos y sus objetivos posteriores median las funciones de la señalización p38 en diversos procesos celulares, como la inflamación, la regulación del ciclo celular, la proliferación, la supervivencia y la muerte.²⁷

2.7.3 BRAFK

BRAF es un oncogén localizado en el cromosoma 7 y se ha identificado en múltiples tumores sólidos, como el cáncer de colon, de pulmón, melanomas y en el HCC.²⁸ Pertenece a la familia de quinasas RAF (fibrosarcoma de aceleración rápida) una serina/treonina quinasa, se conocen tres isoformas de RAF (ARAF, BRAF y CRAF),

donde BRAF es la más susceptible de activación, y por lo que es la más susceptible de activación mutacional en las células tumorales.²⁸ La mutación más común que presenta es la sustitución de aminoácidos en la posición 600 de BRAF, de una valina (V) a un ácido glutámico (E) (V600E), la cual provoca un aumento de la actividad de las quinasas.²⁸ Además, desempeña un papel importante en la vía de las MAPK, controlando la amplitud y duración de la señalización, de esta manera pudiendo alterar la regulación de la proliferación y supervivencia celular.^{29,30}

2.7.4 VEGFR2

El receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR-2) es un Receptor de Tirosin Quinasas (RTK) que se encuentra en la superficie de los vasos sanguíneos y es el principal receptor que regula la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis). Promueve la vía de transducción de señales regulada por las células endoteliales vasculares, y luego estimula la proliferación de las células endoteliales vasculares, lo que conduce al crecimiento vascular.²⁹ Está estimulación desempeña un papel fundamental en la fisiopatología de los tumores, ya que activa una vía de señalización descendente que da lugar a la angiogénesis tumoral y, por lo tanto, mejora la nutrición y el suministro de oxígeno del tumor y favorece la proliferación y la metástasis del mismo.^{29,31}

2.8 TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER

El tratamiento para el conjunto de estas enfermedades dependerá tanto de las necesidades del paciente y del tipo de cáncer que esté presente, se consideran 3 alternativas fundamentales para el tratamiento; la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia.³²

La cirugía en caso de ser un tumor, se realiza 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.³²

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.^{32,33}

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,³² 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 con una tasa similar de división y crecimiento que las cancerígenas, de esta manera causando efectos adversos/secundarios como la pérdida del cabello, problemas gastrointestinales, náuseas, vómitos, cansancio, cambios en el peso, etc.³⁴

En este proyecto se abordan fármacos de tipo sintético, tales como las diarilureas, que son capaces de inhibir a las proteínas quinasas, de esta manera regulando diversos procesos celulares, como la inflamación, el ciclo celular, la proliferación, la supervivencia y la muerte celular.¹⁵

2.8.1 DIARILUREAS

Las ureas, diarilureas y sus derivados (**Figura 4**) se utilizan con frecuencia en el desarrollo de fármacos debido a su capacidad de formar múltiples enlaces de hidrógeno estables con proteínas y receptores, ya que pueden actuar como donantes de enlaces a través de unidades dobles de -NH y como aceptores mediante el grupo carbonilo (C=O) de la urea **Figura 5**.³⁵

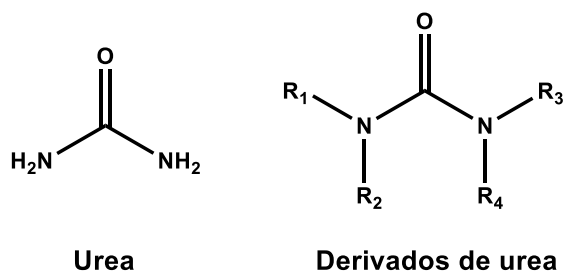


FIGURA 4. UREA Y DERIVADOS DE LA UREA

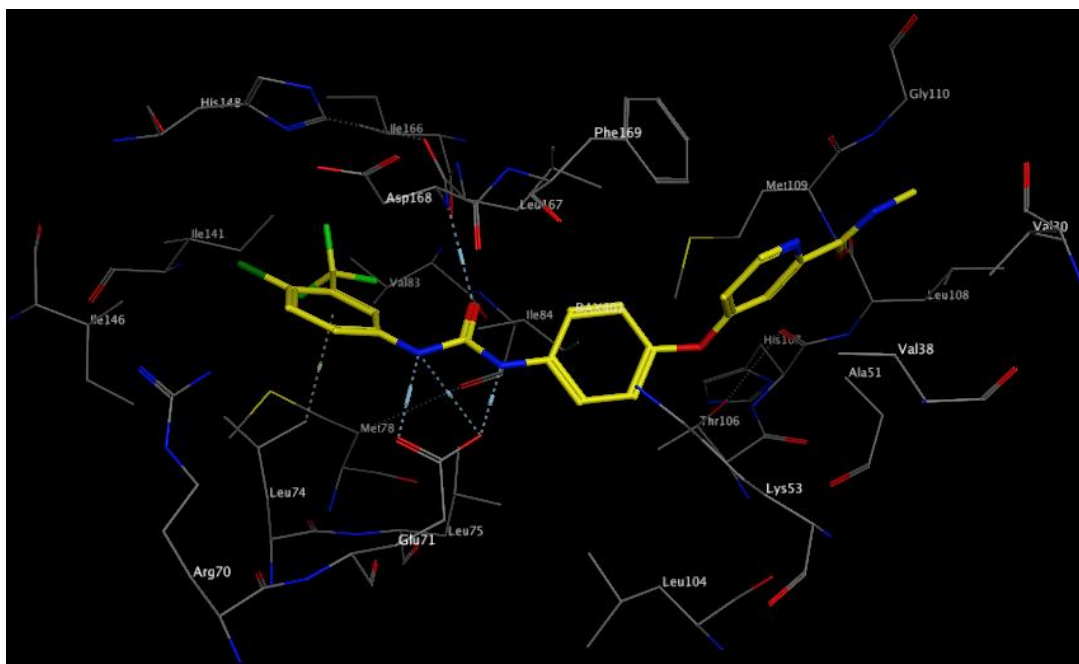


FIGURA 5. INTERACCIONES DE LA UREA DEL SORAFENIB CON LA PROTEÍNA P38ALFAMAPK

Entre los fármacos aprobados por la FDA que contienen este grupo de tipo urea o diarilurea se encuentran el sorafenib, regorafenib, ritonavir, glibenclamida, etc

Figura 6.³⁵

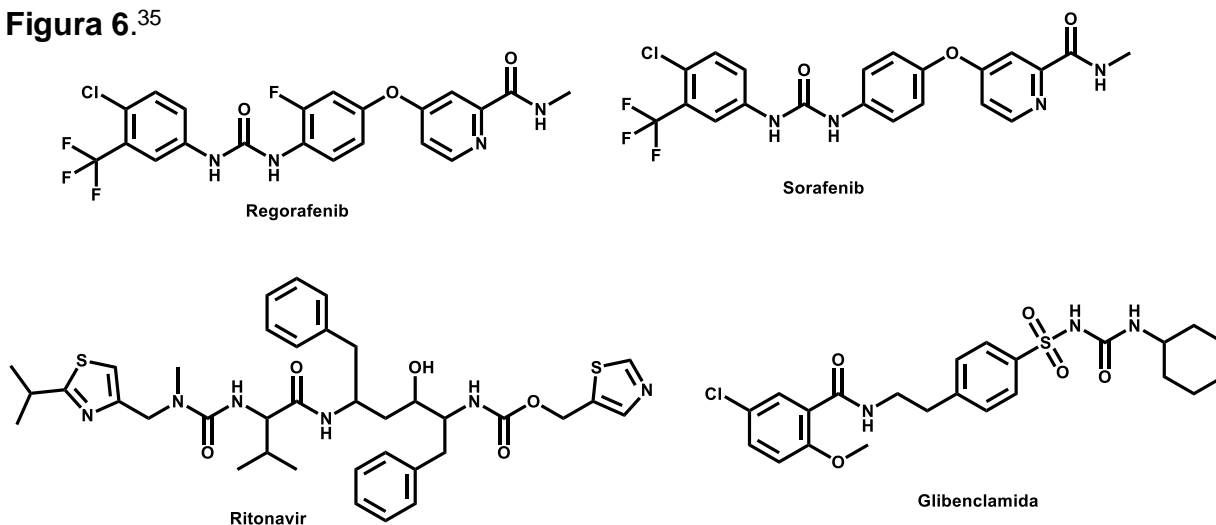


FIGURA 6. FÁRMACOS APROBADOS POR LA FDA CON EL GRUPO FUNCIONAL UREA

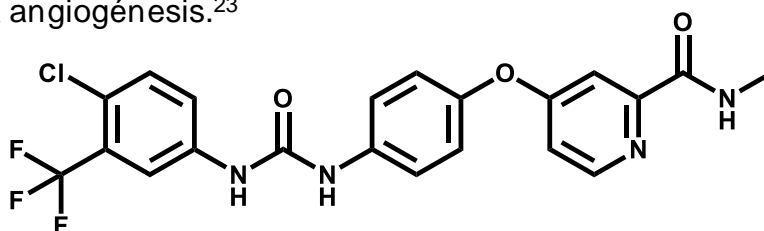
Cada uno de estos fármacos tiene una diferente indicación terapéutica, por ejemplo el regorafenib es un inhibidor multiquinasas con actividad contra el FGFR1/2 que está aprobado para el tratamiento del cáncer colorrectal y el gastrointestinal, el ritonavir fue aprobado como inhibidor de la proteasa del VIH, la glibenclamida es un potente fármaco antidiabético que prolonga el efecto hipoglucemiante y el sorafenib es un

inhibidor multiquinasas indicado para el tratamiento de carcinoma hepatocelular y cáncer renal primario.³⁵

Por esta razón es que el grupo funcional urea es considerada como un farmacóforo privilegiado, ya que puede formar parte de compuestos con diferentes actividades biológicas dependiendo de sus sustituyentes y demás patrones auxofóros.

2.8.2 PROPIEDADES DEL SORAFENIB

El Sorafenib (**Figura 7**) es un fármaco oral inhibidor multi-quinasa (multi-target) que inhibe los receptores de tirosina quinasa de la superficie celular (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3; PDGFR-b, c-KIT, FLT-3 y RET) y las serina/treonina quinasa intracelulares descendentes de la vía RAF/MEK/ERK (Raf-1, B-Raf) lo que da lugar a un mecanismo de acción doble al atacar la proliferación de las células tumorales y la angiogénesis tumoral.³⁶ Además, también es un activador de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), que puede suprimir la proliferación de células tumorales y la angiogénesis.²³



Sorafenib

FIGURA 7. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL SORAFENIB

El sorafenib se clasifica como un inhibidor de la tirosina quinasa de tipo II de la proteína BRAF y de igual manera es un antagonista tipo II del VEGFR.²⁴

Aunado a que fue aprobado para el tratamiento de carcinoma hepatocelular y cáncer renal primario, varios estudios preclínicos y clínicos han observado la eficacia del sorafenib contra otros tumores, como el melanoma maligno, tumores de tiroides RET-positivos, cáncer de próstata refractario a esteroides, entre otros.³⁶

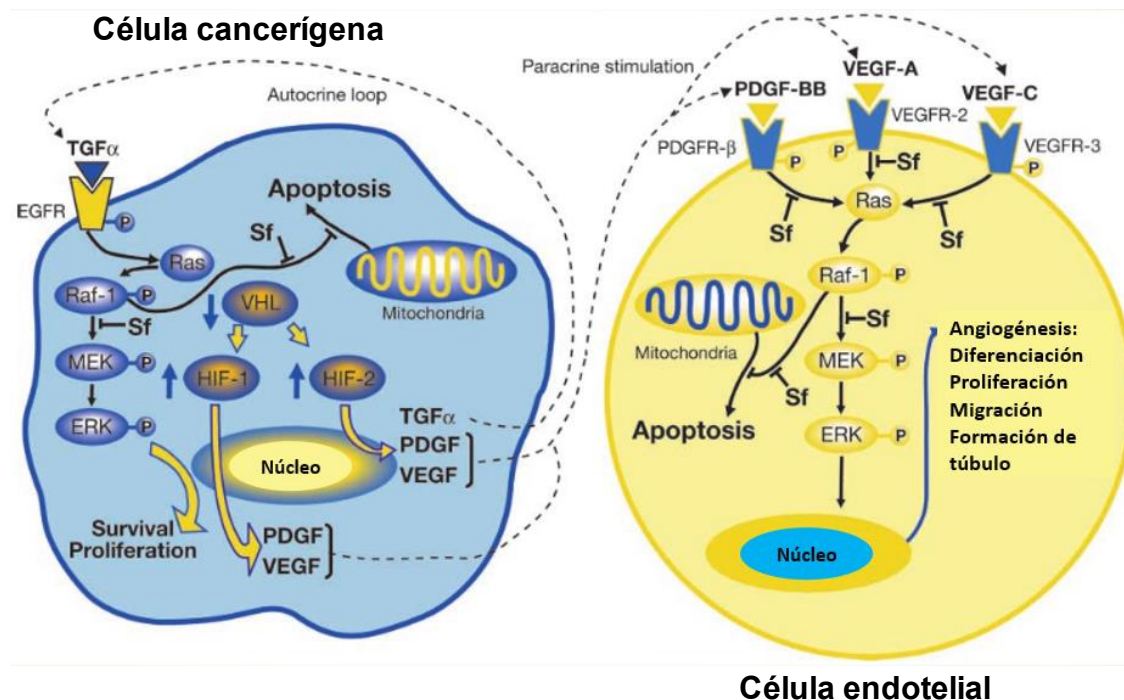


FIGURA 8. MECANISMO DE ACCIÓN DEL SORAFENIB SOBRE CÉLULAS CANCERÍGENAS Y ENDOTELIALES.

En la **Figura 8** se puede observar cómo actúa el sorafenib (Sf) sobre una célula cancerígena (lado derecho), bloqueando la vía de señalización Raf-1-MEK-ERK la cual deriva en la supervivencia y proliferación de la célula cancerígena, e induce la apoptosis celular, sobre la célula endotelial (lado izquierdo) se observa que el Sf bloquea a los receptores de crecimiento plaquetario así como vasculares endoteliales y a su vez bloque de igual manera la vía de señalización Raf-1-MEK-ERK la cual deriva en la angiogénesis, la diferenciación, proliferación y migración celular.

2.8.2.1 PROBLEMÁTICA DEL SORAFENIB

A pesar de las ventajas del sorafenib como tratamiento eficaz para el CHC, su uso se asocia a varios efectos adversos, como síntomas constitucionales, gastrointestinales y dermatológicos, como pérdida de peso y reacción cutánea mano-pie. También, puede producirse hipertensión como resultado del tratamiento con sorafenib, haciendo requerimiento de un tratamiento con antihipertensivos. En algunos casos, debe considerarse incluso la interrupción temporal o permanente del sorafenib.³⁷

De manera clínica, el sorafenib se utiliza como monoterapia; es administrado por vía oral 2 veces al día a una dosis de 400 mg, con una biodisponibilidad media de 38-49%, la vida media del sorafenib es de 25-48 h, se metaboliza principalmente en el hígado vía CYP450 3A4, así como, por medio de la glucoronización vía UGT1A9, el 77% se elimina vía heces y 19% por medio de la orina.^{37,16} Sin embargo, los efectos adversos pueden limitar el uso de dosis más altas. Se han descrito varios intentos de reducir las dosis de sorafenib utilizándolo en combinación con otros fármacos (como capecitabina, doxorubicina, fluorouracilo) que permiten disminuir su concentración inicial. A pesar del buen perfil del sorafenib en el tratamiento de pacientes con estas patologías, muchos pacientes pueden desarrollar resistencia al sorafenib.³⁷

Esta refractariedad del sorafenib como ya se había mencionado anteriormente, se deben principalmente al desarrollo del fenotipo de resistencia a múltiples fármacos (MDR) en el tumor.¹⁶

En la **Figura 9** observan algunos de los mecanismos de resistencia del sorafenib sobre las células cancerígenas.

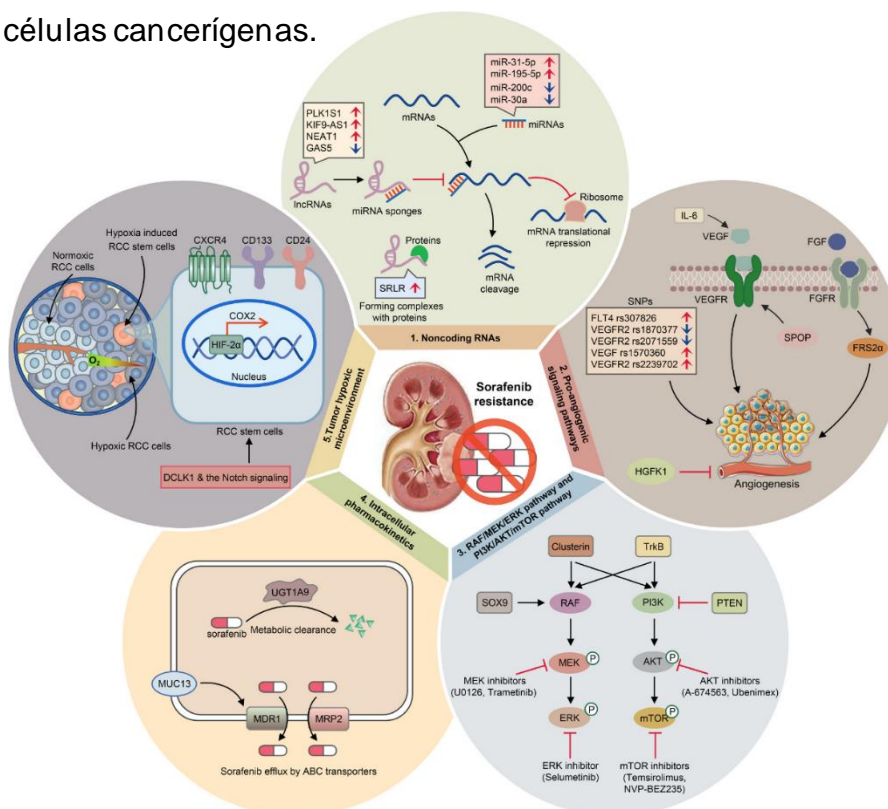


FIGURA 9. MECANISMOS DE RESISTENCIA SOBRE EL SORAFENIB

Se observan 5 diferentes mecanismos de resistencia al sorafenib:

- ❖ ARN no codificantes: modulan una regulación al alza de genes involucrados en la resistencia al sorafenib.
- ❖ Vías de señalización proangiogénicas: la expresión anormal de proteínas implicadas en las vías VEGF/VEGFR y FGF/FGFR está asociada con la resistencia al sorafenib.
- ❖ Vías RAF/MEK/ERK y PI3K/AKT/mTOR. Algunos inhibidores dirigidos a las vías RAF/MEK/ERK o PI3K/AKT/mTOR aumentan sinérgicamente el efecto citotóxico de sorafenib.
- ❖ Farmacocinética intracelular: incluyendo la depuración metabólica del sorafenib, bombas de eflujo como la glicoproteína P conducen a la resistencia del sorafenib.
- ❖ Microambiente hipóxico en el tumor: contribuye a la generación de generación madre células madre, que son altamente resistentes a sorafenib. Además, de una regulación al alza de DCLK1 isoforma 2 impulsa la expresión de estas células madre.³⁷

3. JUSTIFICACIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte mundial, y en México y en países de América latina, el carcinoma hepatocelular y el cáncer de próstata se encuentran dentro de los tipos más frecuentes tanto de incidencia como de mortalidad.

Estos tipos de cáncer se caracterizan por un aumento de muchas y complejas vías de señalización para acelerar el crecimiento, la proliferación y la movilidad.

La estimulación incontrolada de las proteínas quinasas (PQ) en respuesta a las mutaciones o a la sobreexpresión es uno de los principales mecanismos de crecimiento y propagación del cáncer, por ello, las PC se consideran blancos terapéuticos cruciales para el desarrollo de quimioterapia dirigida contra el cáncer, con mínima toxicidad para las células normales.

Entre los agentes con la capacidad de inhibir la actividad de PQ se encuentra el sorafenib, un fármaco de tipo diarilurea que se administra por vía oral, es un inhibidor multiquinasas, aprobado para su uso en el tratamiento de cáncer hepatocelular y cáncer de próstata, y ha mejorado la supervivencia de los pacientes, pero debido a al tardío diagnóstico de estas patologías la supervivencia de los pacientes se ve reducida en un estado avanzado. Por otro lado, el sorafenib también llega a presentar mecanismos de resistencia después de cierto periodo de tratamiento, aunado a su alto costo.

En consecuencia, hay una necesidad de inhibidores de PQ, particularmente aquellos con una mayor potencia o citotoxicidad selectiva y una mejor solubilidad. Debido a lo anterior, es imprescindible diseñar y generar nuevas alternativas terapéuticas que inhiban a las PQ.

En este trabajo se propone el diseño, síntesis y evaluación *in silico* e *in vitro* de compuestos análogos de sorafenib más baratos y menos tóxicos, que actúen como agentes citotóxicos selectivos frente a los blancos terapéuticos de interés como: P38 α , P38 α MAPK, BRAFK y VEGFR2, los cuales se encuentran sobreexpresados en varios tipos de cáncer.

4. HIPÓTESIS

Los compuestos ureicos análogos de sorafenib (**JLO 1-7**) presentarán afinidad *in silico* sobre las proteínas quinasas p38 α , p38 α MAPK, MAPK, BRAFK y VEGFR2, por lo cual mostrarán efecto citotóxico selectivo *in vitro* en líneas celulares cancerígenas.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar una serie de siete compuestos ureicos análogos de sorafenib (**JLO 1-7**), evaluar *in silico* sus propiedades toxicológicas, farmacocinéticas, citotóxicas, así como farmacodinámicas, jerarquizando para su síntesis y caracterización a los hits computacionales seguros, además de realizar la evaluación de la actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos con mejor perfil de la serie.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar una serie de compuestos análogos del sorafenib (**JLO 1-7**)
- Evaluar *in silico* las propiedades farmacodinámicas, toxicológicas, y citotóxicas de los compuestos.
- Realizar el estudio de acoplamiento molecular refinado sobre p38 α , p38 α MAPK, MAPK, BRAFK y VEGFR2.
- Mediante un análisis de consenso farmacológico determinar que compuestos de la serie presentan mejores propiedades biofarmacéuticas y farmacológicas y jerarquizarlos para su síntesis y evaluación *in vitro*.
- Sintetizar y caracterizar los hits computacionales seguros mediante técnicas espectroscópicas (RMN ^1H y ^{13}C) y espectrométricas (EM).
- Realizar estudios *in vitro* de los compuestos hits de la serie para determinar su actividad citotóxica selectiva en células de origen tumoral hepático y prostático.

6. CONSIDERACIONES QUÍMICO-FARMACÉUTICAS PARA EL DISEÑO DE LAS MOLÉCULAS

El sorafenib es eficaz para el tratamiento de carcinoma hepatocelular (HCC) y el cáncer de próstata, pero aun presenta algunas desventajas en su aplicación clínica.³⁸ En primer lugar, los tejidos normales tienen una absorción inespecífica de sorafenib, lo que da lugar a una serie de efectos adversos, como erupciones cutáneas, diarrea, elevación de la presión arterial y enrojecimiento de la palma de la mano o del pie.³⁸ En segundo lugar, la escasa solubilidad en agua, la rápida eliminación y el metabolismo del sorafenib pueden reducir la eficiencia de su absorción por los tejidos tumorales, lo que da lugar a una baja biodisponibilidad oral, y a una estrecha ventana terapéutica. En tercer lugar, debido a la heterogeneidad genética, bastantes pacientes son inicialmente resistentes al sorafenib.³⁸ Por último, su elevado costo que ronda los \$75,000 M.N. Como se ha mencionado anteriormente el sorafenib es un fármaco de tipo diarilurea y estos derivados son de gran interés debido a su amplio espectro de efectos bioquímicos y funciones farmacéuticas. En los últimos años se han realizado intensos esfuerzos de investigación en el diseño y desarrollo de derivados de diarilurea como clase de agentes antitumorales.³⁹

El sorafenib está conformado por las regiones que se observan en la **Figura 10**, de acuerdo con la literatura tienen diferentes características, la picolinamida es denominada como la región bisagra, a la diarilurea es denominada como *gate area* (zona de compuerta) y se conserva la región hidrofóbica posterior.⁴⁰

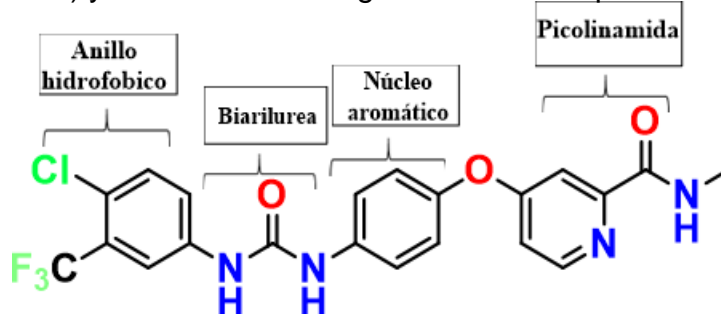


FIGURA 10. CONFORMACIÓN ESTRUCTURAL DEL SORAFENIB

Se ha encontrado que diversas modificaciones en las diferentes regiones del sorafenib modifican sus propiedades⁴¹ como se puede observar en **Figura 11**.

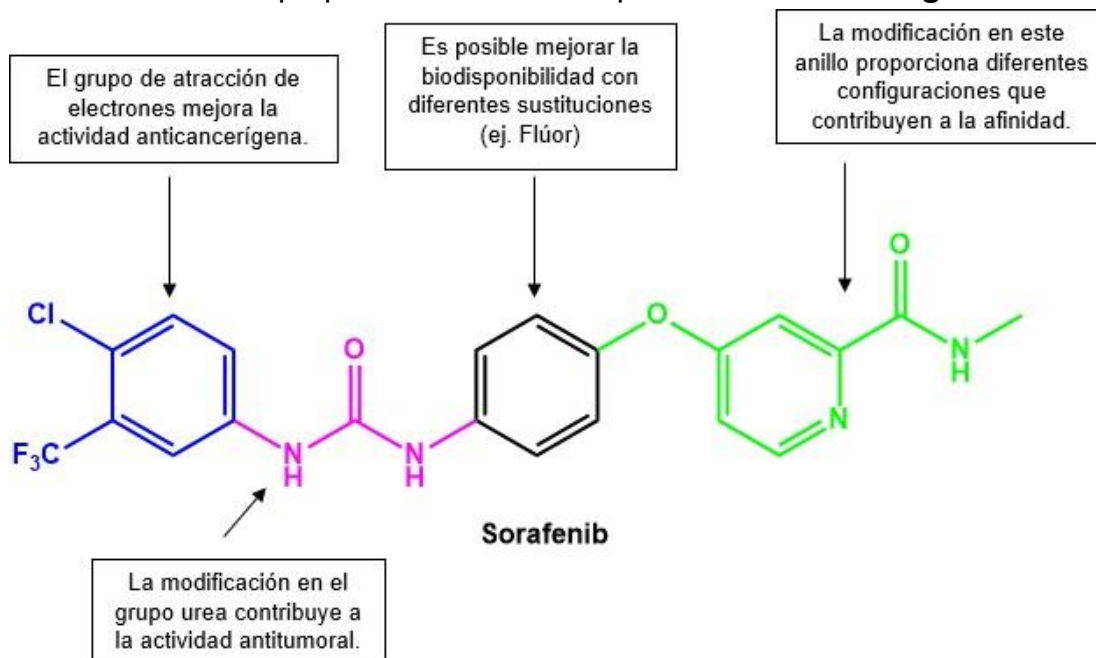


FIGURA 11. ESTUDIO RELACIÓN ESTRUCTURA ACTIVIDAD (SAR) DEL SORAFENIB

Basándose en las características anteriormente mencionadas, se decidió conservar la región hidrofóbica posterior, la urea ya que presenta interacciones con los blancos terapéuticos de interés al formar puentes de hidrogeno dentro del *pocket* y el núcleo aromático central disustituido. La modificación se llevó a cabo en la región de bisagra ya que, de acuerdo a lo mencionado, modificaciones en esta zona contribuyen a la afinidad de las proteínas quinasas de interés e intentando mejorar la solubilidad con la adición de heterociclos como quinolina, piridina, su bioisómero no clásico que es el nitrobenzeno, y las anilinas o acetanilidas, capaces de formar interacciones como aceptores/donadores de puentes de hidrógeno (**Figura 12**).

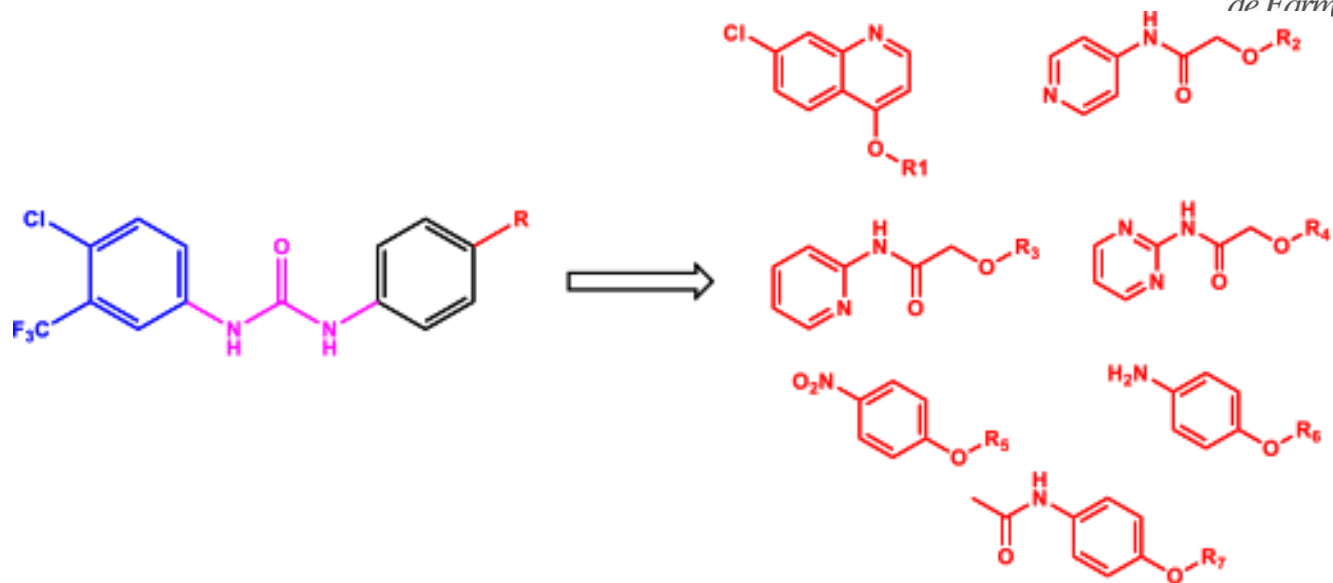


FIGURA 12. COMPUESTOS UREICOS DISEÑADOS ANÁLOGOS DEL SORAFENIB

7. METODOLOGÍA 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 Autodock 4), PASSonline, Swisstarget prediction, CLC-pred.
- ❖ Propiedades farmacocinéticas: admetSAR, SwissADME y Biotransformer.
- ❖ Propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas: SwissADME, admetSAR.
- ❖ Propiedades toxicológicas: ACD toxsuite, admetSAR.

Estas propiedades calculadas son necesarias para discernir cuales compuestos cuentan con las mejores propiedades tanto farmacodinámicas, como farmacocinéticas y de toxicidad, de esta manera se puede poner un orden de seguridad o jerarquía para cada compuesto, así como su prioridad para ser sintetizados y evaluados en ensayos *in vitro*. 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 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 **JLO 1-7** 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 y espectrométricas de RMN ¹H, ¹³C y masas por impacto

electrónico (IE-EM) se realizaron en colaboración con el Dr. Emanuel Hernández Núñez del CINVESTAV, Mérida, Yucatán.

La técnica de espectroscopia infrarroja (IR) se realizó en colaboración del cDr. Josué Martínez Miranda del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química de la UNAM.

➤ **Parte biológica (*in vitro*):**

La parte biológica (citotoxicidad *in vitro*) se llevó a cabo en colaboración con el equipo de trabajo de la Dra. Jessica Nayeli Sánchez Carranza del Laboratorio 7 de Diagnóstico Molecular (FF-UAEM). Se realizó un ensayo citotóxico midiendo la concentración citotóxica media (CC₅₀), sobre líneas celulares tumorales y sobre células de queratinocitos inmortales aneuploides transformados espontáneamente de la piel humana adulta (HaCaT) y sobre la línea celular de fibroblastos (HFF-1).

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

7.1.1 PASS ONLINE

Es un servidor en línea gratuito (**Figura 13**) (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>). Este servidor realiza una relación estructura-actividad con más de 250000 moléculas activas biológicamente, prediciendo las posibles bioactividades como: efectos farmacológicos, mecanismos de acción, efectos tóxicos y adversos, interacciones con metabolitos, enzimas y transportadores, la influencia sobre la expresión de genes etc.⁴² Cabe mencionar que arroja tanto valores de posible actividad (probabilidad) en el rango de 0-1 y posibles inactividades con rangos de 0-1.

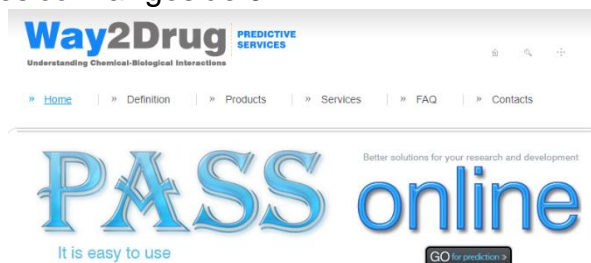


FIGURA 13. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA PASS ONLINE

7.1.2 ADMETSAR

Este es un servidor en línea gratuito **Figura 14** (<http://lmmdd.ecust.edu.cn/admetSar2>). Calcula la probabilidad 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.⁴³

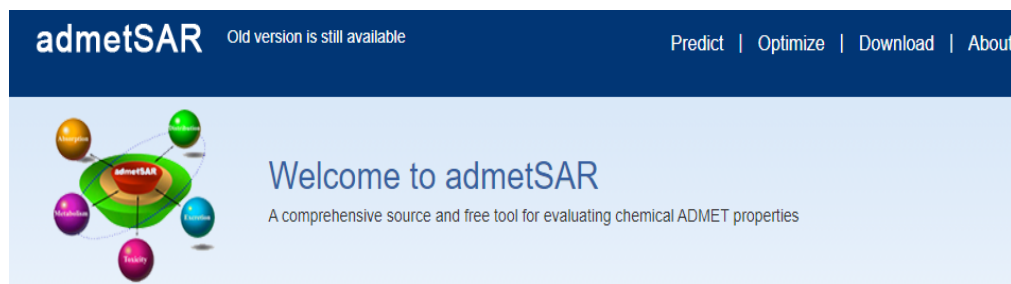
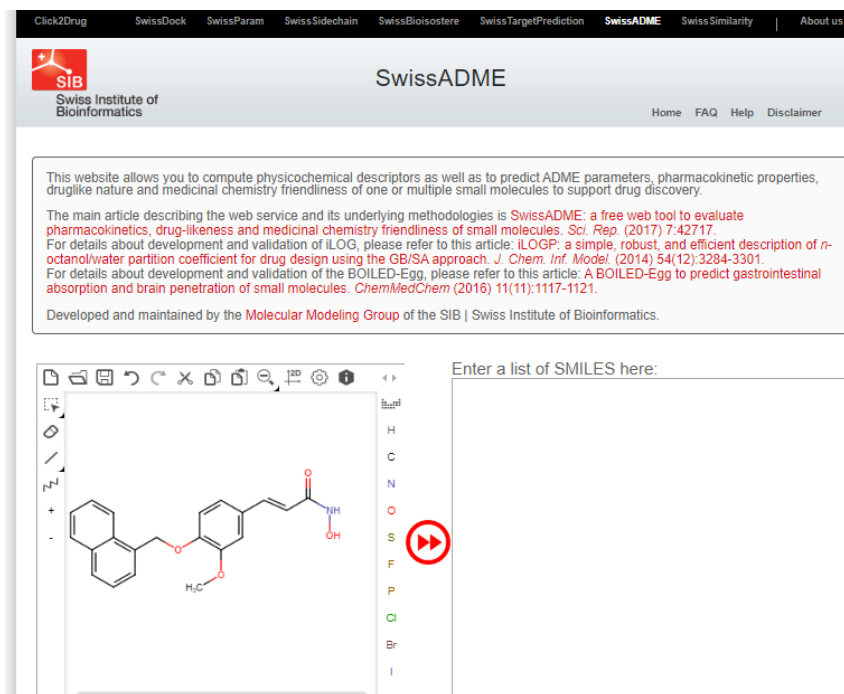


FIGURA 14. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA ADMETSAR

7.1.3 SWISSADME

Este programa es un servidor en línea gratuito **Figura 15** (<http://www.swissadme.ch>) el cual proporciona la posibilidad de calcular parámetros ADME y propiedades farmacocinéticas de una o varias moléculas pequeñas.⁴⁴



The screenshot displays the SwissADME web interface. At the top, there is a navigation bar with links to various tools: Click2Drug, SwissDock, SwissParam, SwissSidechain, SwissBioisostere, SwissTargetPrediction, **SwissADME**, SwissSimilarity, and About us. Below this is the SIB (Swiss Institute of Bioinformatics) logo and the site name "SwissADME". A central text box provides an overview of the service and lists several scientific articles related to its development and validation. Below the text is a chemical structure editor. On the left, a 2D chemical structure of a complex molecule is shown, featuring a naphthalene ring system connected via an ether bridge to a benzene ring, which is further substituted with a hydroxamic acid group and a methyl group. On the right, there is a vertical menu of elements (H, C, N, O, S, F, P, Cl, Br, I) and a text input field labeled "Enter a list of SMILES here:". A red play button icon is overlaid on the 'S' element in the menu.

FIGURA 15. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA SWISSADME

7.1.4 BIOTRANSFORMER 3.0: PREDICCIÓN DEL METABOLISMO.

Es una herramienta químico-informática **Figura 16** que predice el metabolismo de moléculas pequeñas, también llamadas xenobióticos en mamíferos, permitiendo la identificación de los metabolitos, ya que es importante conocerlos debido a que el metabolismo puede modificar las moléculas para eliminación y/o activarlas para originar una respuesta biológica, inactivarlas o incluso transformarlas en metabolitos tóxicos, el programa utiliza un enfoque basado en el conocimiento adquirido por aprendizaje automático, consta de 5 módulos para realizar cálculos de metabolismo: EC-based, CYP450, FASE II, Human Gut Microbial y Environmental Microbial.*

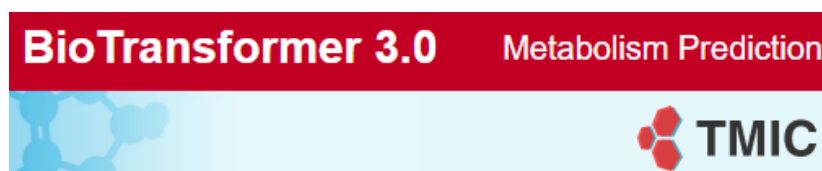


FIGURA 16. INTERFAZ DE BIOTRANSFORMER 3.0

7.1.4 ACD/TOX SUITE: PREDICCIÓN DE EFECTOS TÓXICOS

Este es un programa de paga el cual necesita una licencia para su uso (**Figura 17**), 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 construyan 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.⁴⁵

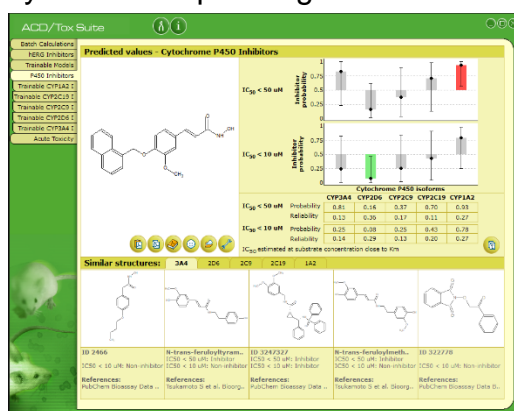


FIGURA 17. INTERFAZ DEL SERVIDOR DE ACD/TOX SUITE

7.1.5 PyMOL

Este es un sistema de visualización molecular de libre acceso (también en su formato comercial) por Schrödinger (**Figura 18**),⁴⁶ 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).

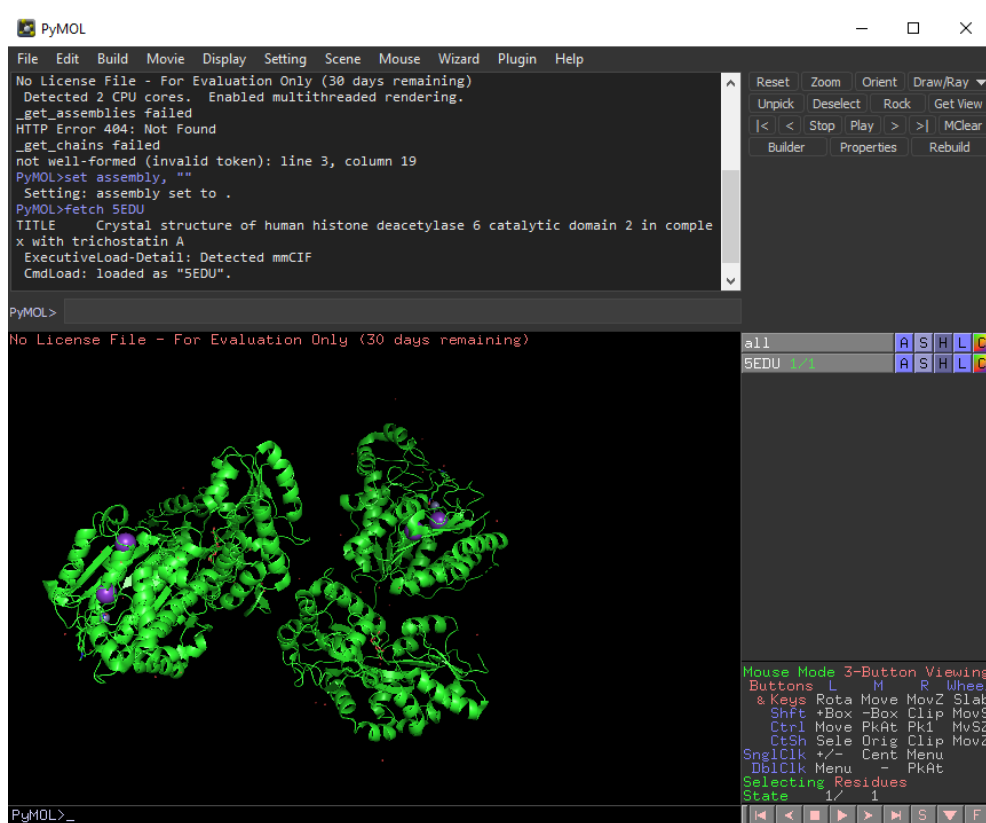


FIGURA 18. INTERFAZ DEL SERVIDOR PYMOL

7.1.6 PREDICCIÓN DE CITOTÓXICIDAD SOBRE LÍNEAS CELULARES (CLC-PRED)

Es un servidor gratuito en línea (**Figura 19**), 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.⁴⁸ Este servidor calcula información esencial para este proyecto ya que nos da como resultados las probabilidades 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.

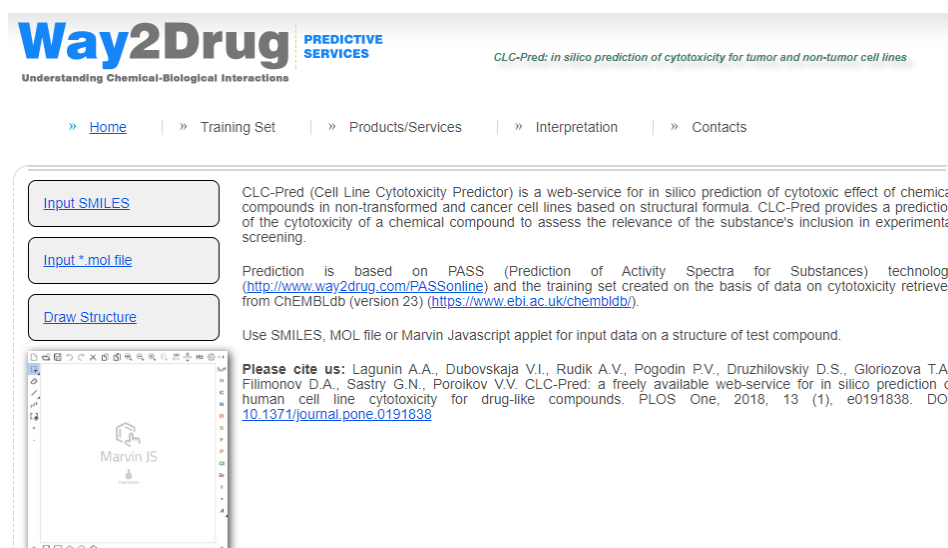


FIGURA 19. INTERFAZ DEL SERVIDOR EN LÍNEA CLC-PRED

7.1.7 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO (MOLECULAR DOCKING)

El acoplamiento molecular automatizado es una 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 licencia *Molecular Operating Environment*.

7.1.7.1 MOLECULAR OPERATING ENVIROMENT (MOE)

Es un programa de paga que necesita de licencia para su uso (**Figura 20**), 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.

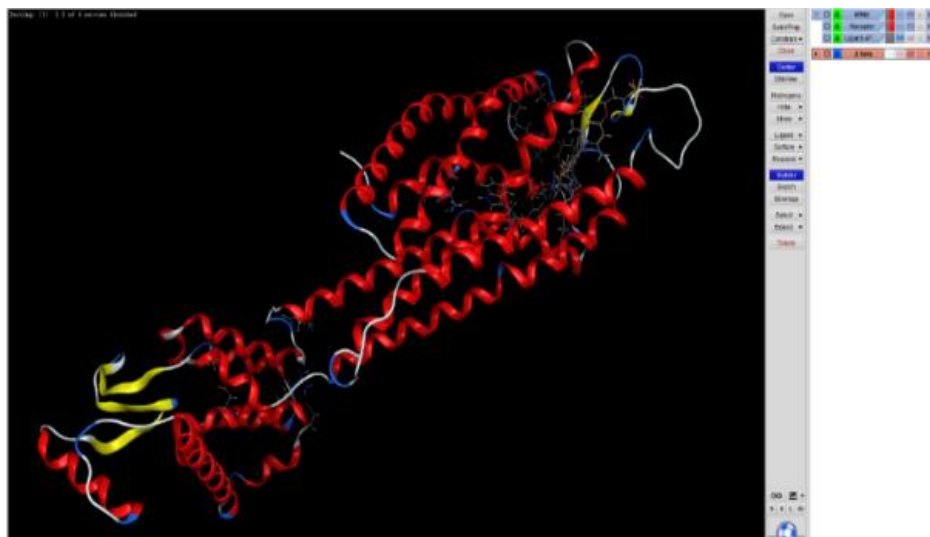


FIGURA 20. INTERFAZ DEL SERVIDOR MOE

7.1.7.2 AUTODOCK 4 (AD4)

AutoDock es un conjunto de herramientas automatizadas de acoplamiento molecular automatizado (**Figura 21**). Está diseñado para predecir cómo pequeñas moléculas, como sustratos o fármacos candidatos, se unen a una proteína o ácido nucleico de estructura tridimensional conocida. Consta de dos programas principales: autodock realiza el acoplamiento del ligando a un conjunto de rejillas que describen la proteína diana; autogrid calcula previamente estas rejillas. Esto puede ayudar, por ejemplo, a guiar a los químicos de síntesis orgánica en el diseño de mejores ligantes.

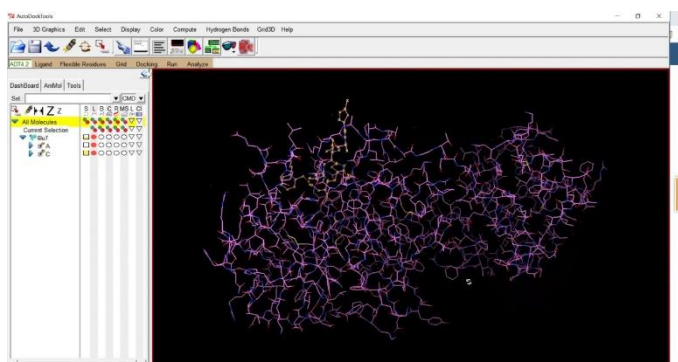


FIGURA 21. INTERFAZ DEL SERVIDOR AUTODOCK 4 (AD4)

7.2 METODOLOGÍA PARTE QUÍMICA

Para proponer una síntesis de la serie **JLO 1-7**, es necesario realizar un análisis retrosintético para así obtener las materias primas con las que se comenzará el proceso de obtención (**Figura 22**).

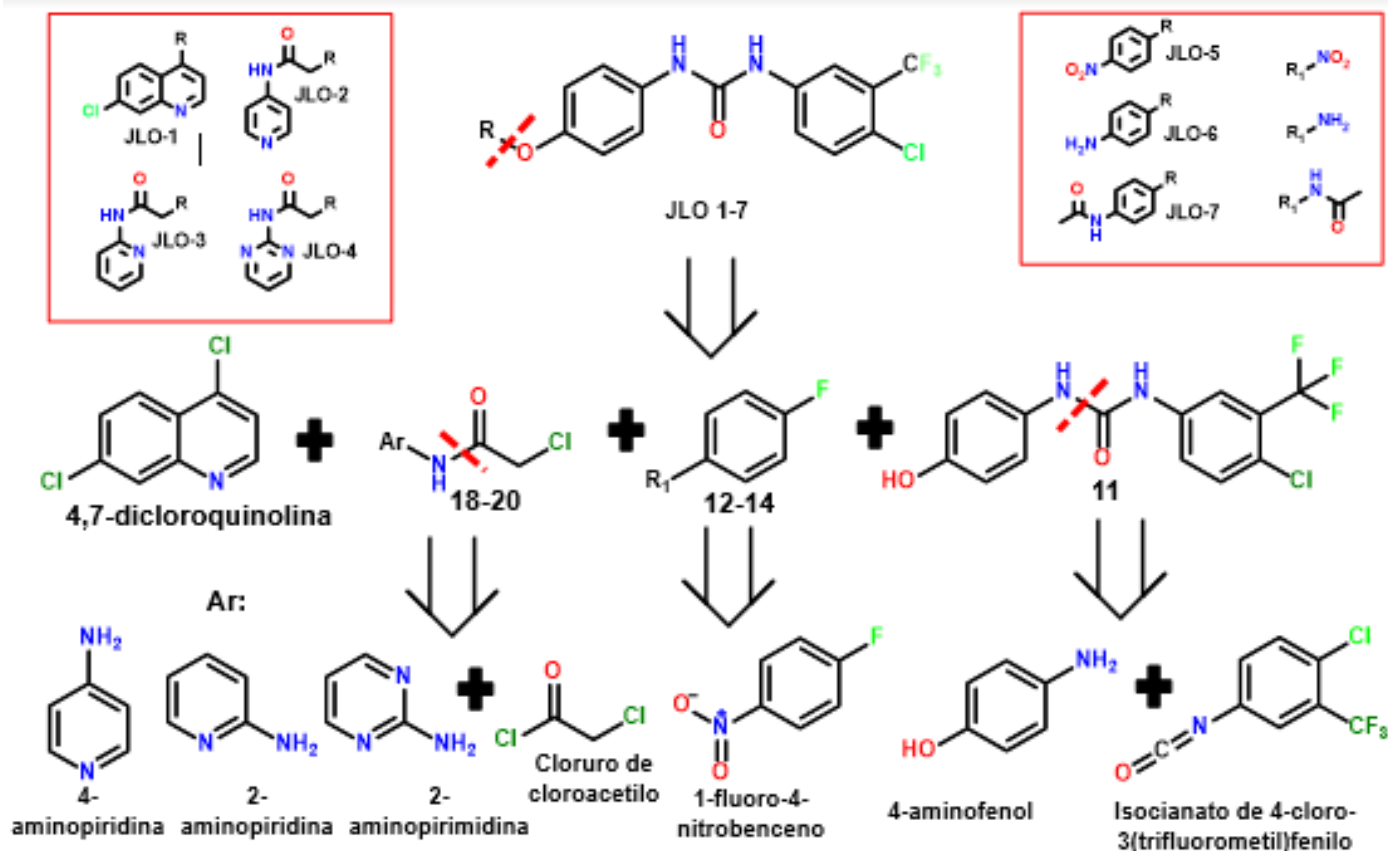


FIGURA 22. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO DE LOS COMPUESTOS **JLO 1-7**

De acuerdo con el diagrama de la **Figura 22**, partiendo de la estructura base de los compuestos **JLO 1-7** debidamente sustituido en la cadena R para cada compuesto, se realiza una desconexión en el espaciador flexible de tipo éter, obteniendo como primera materia prima a la 4,7-dicloroquinolina y varios fragmentos como los fragmentos **18-20** de tipo cloroacetamida debidamente sustituido, al cual se le realiza una desconexión en el enlace de tipo amida, obteniendo las siguientes materias primas: 4-aminopiridina, 2-aminopiridina, 2-aminopirimidina y el cloruro de cloroacetilo, los fragmentos **12-14** debidamente sustituidos con un grupo nitro, un grupo amina y un grupo acetamida, provienen de la materia prima 1-fluoro-4-

nitrobenzeno y por último el fragmento **11** se le realiza una desconexión en el enlace de tipo urea, obteniendo las materias primas 4-aminofenol y el isocianato de 4-cloro-3(trifluorometil)fenilo. Una vez obtenidas las materias primas se procede a proponer la síntesis química de cada compuesto.

Para la síntesis de los compuestos se utilizaron diferentes metodologías: por calentamiento convencional; por medio del monowave 50 de Anton Paar que es un reactor de síntesis de calentamiento convencional a temperatura y presión controlada; y mediante síntesis por microondas en el reactor CEM.

En la síntesis llevada a cabo por microondas, las reacciones se calientan volumétrica, directa e instantáneamente, de manera más rápida y eficiente que cualquier otra forma de calentamiento, obteniendo un mejor rendimiento y pureza del producto y un mayor control sobre las condiciones de reacción.⁴⁹

En la **Figura 23** se observa la diferencia entre una reacción en calentamiento convencional y una reacción mediada por microondas.

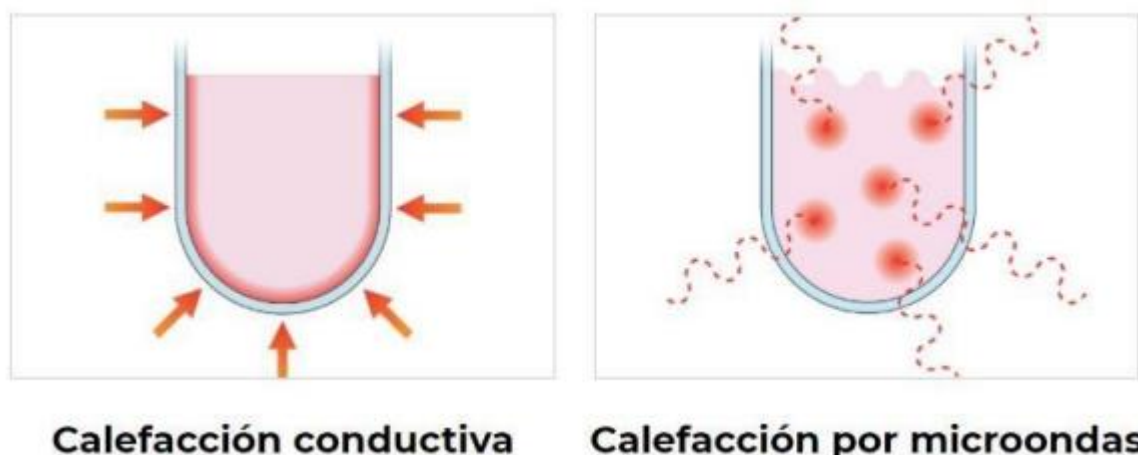


FIGURA 23. DIFERENCIAS DE LA CALEFACCIÓN CONDUCTIVA Y POR MICROONDAS

La síntesis por calentamiento convencional se puede llevar a cabo con placas de agitación calientes, baños de aceite y mantas calefactoras, la energía se transfiere indirectamente a los reactivos aplicando calor a la superficie exterior del recipiente y al disolvente siendo esta forma de calentamiento más lenta, mientras que la reacción mediada por microondas en donde la pared del recipiente transparente a las microondas, lo que permite que la energía sea absorbida directamente por los

reactivos. Esta activación molecular directa limita las reacciones secundarias y proporciona una forma de calentamiento rápida y eficaz, de esta manera las reacciones que antes tardaban horas, o incluso días, en completarse se pueden realizar en minutos.⁴⁹

7.3 PARTE BIOLÓGICA (*IN VITRO*)

Esta parte se basa en un ensayo de la actividad citotóxica y antiproliferativa de los compuestos *hits* computacionales seguros (obtenidos mediante el análisis de consenso farmacológico), contra diferentes líneas celulares cancerígenas: Huh-7, HepG2 (hepatocelular), HeLa (cérvico uterino) y PC-3 (próstata). Las líneas celulares, fueron obtenidas de ATCC (*American Type Culture Collection USA*). También sobre líneas celulares inmortalizadas: células de queratinocitos inmortales aneuploides transformados espontáneamente de la piel humana adulta (HaCaT) y una línea celular no cancerígena de fibroblastos (HFF-1). Esto se realizó en colaboración con la Dra. Jessica Nayeli Sánchez Carranza de laboratorio 7 de diagnóstico molecular de la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

7.3.1 CULTIVO CELULAR

Se cultivaron las células PC3 en medio RPMI-1640 (Sigma Aldrich), mientras que Huh7, HepG2, HeLa y Hacat en medio DMEM (Invitrogen) suplementado con suero fetal bovino al 10% (SFB, Invitrogen) y glutamina 2 mM. Los cultivos se incubaron a 37°C en atmósfera de CO₂ al 5%. Se cultivaron 5000 células por pozo en placas de 96 pozos para iniciar la evaluación citotóxica.

7.3.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

El compuesto fue solubilizado en DMSO, las concentraciones utilizadas para la evaluación del compuesto en las líneas celulares Huh7, HepG2, HeLa fueron 100, 10, 1, 0.1 0.01 µg/mL, posterior al tratamiento las células se incubaron a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5% durante 48 h. El número de células viables en la proliferación se determinó utilizando el kit CellTiter 96® *Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay* (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante. La

viabilidad celular se determinó por absorbancia a 450 nm utilizando un lector de ELISA automatizado. Los experimentos se realizaron por triplicado en experimentos independientes. Los datos se analizaron en el programa estadístico Prisma 8.0 y se determinó la concentración inhibitoria media (CI₅₀) por análisis de regresión

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

8.1.1. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 POR MEDIO DE LA HERRAMIENTA PASS ONLINE.

Por medio del servidor PASS Online, se calculó el espectro de actividad biológica de los compuestos **JLO 1-7**. El programa muestra 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/o el porcentaje de inactividad (***Pi***). En la **Tabla 3** se resumen estos resultados en forma de porcentaje.

TABLA 3. PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS **JLO 1-7** POR EL SERVIDOR PASS ONLINE

Actividad/ Compuesto		Antineoplásico	Antagonista VEGFR	Inhibidor expresión VEGFR2	Inhibidor RAFK	Inhibidor MAPK	Inhibidor p38MAPK
JLO-1	Pa	34.4%	66.7%	2.7%	58.5%	14.4%	11.6%
	Pi	6.1%	0.5%	0.2%	0.4%	0.3%	3.2%
JLO-2	Pa	N/A	28.1%	N/A	N/A	10.7%	8.5%
	Pi	N/A	1.6%	N/A	N/A	4.4%	5.3%
JLO-3	Pa	N/A	N/A	2.5%	N/A	10.7%	8.5%
	Pi	N/A	N/A	0.2%	N/A	4.4%	5.3%
JLO-4	Pa	24.1%	N/A	2.0%	N/A	15.0%	10.3%
	Pi	15.0%	N/A	0.2%	N/A	2.8%	4.0%
JLO-5	Pa	N/A	N/A	3.2%	N/A	7.3%	N/A
	Pi	N/A	N/A	0.1%	N/A	7.0%	N/A
JLO-6	Pa	24.2%	45.2%	3.7%	N/A	N/A	9.2%
	Pi	14.8%	0.8%	0.1%	N/A	N/A	4.8%
JLO-7	Pa	22.0%	N/A	3.2%	N/A	11.0%	8.0%
	Pi	18.3%	N/A	0.1%	N/A	4.3%	5.7%
Sorafenib	Pa	23.1%	53.2%	2.7%	87.1%	18.8%	25.3%
	Pi	16.4%	0.5%	0.2%	0.2%	0.2%	1.1%

De acuerdo con la **Tabla 3** los resultados obtenidos por el servidor en línea PASS online se usó como referencia al sorafenib y los criterios que se tomaron en cuenta fueron los siguientes: antineoplásicos donde los compuestos **JLO-1**, **JLO-4**, **JLO-6** y **JLO-7** son los que presentaron probabilidades similares a las que presentó el sorafenib. En la predicción como antagonistas del Receptor del Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGFR), los compuestos **JLO-1**, **JLO-2** y **JLO-6** presentaron probabilidades intermedias similares al del sorafenib de ser antagonistas de este receptor. Para el caso de las predicciones como inhibidores de la expresión del VEGFR2, solamente el compuesto **JLO-2** no mostró probabilidades de actividad, mientras que los demás compuestos presentaron probabilidades discretas de igual manera similares al del sorafenib. Como

inhibidores de la proteína RAFK, únicamente el compuesto **JLO-1** presentó probabilidades intermedias de actividad. En el caso de las predicciones como inhibidores de la proteína MAPK, el compuesto **JLO-6** no presentó probabilidades de actividad mientras que los demás compuestos presentan probabilidades de actividad similares al del sorafenib y el último de los criterios fue inhibidor de la proteína p38 α MAPK, donde solo el compuesto **JLO-5** no presentó probabilidades de actividad mientras que los demás compuestos presentaron probabilidades discretas. Cabe destacar que de los 7 compuestos que fueron evaluados el compuesto **JLO-1** presentó el mejor perfil de probabilidad de actividad ya que mostró porcentajes discretos a buenos en cada uno de los criterios evaluados. Es importante mencionar que los compuestos que presentaron probabilidades nulas de actividad en algunos criterios no indican que serán inactivos, la cuestión es que la base de datos del programa no cuenta con los datos suficientes de estructuras reportadas para asignarles un valor de probabilidad.

8.1.2. PREDICCIÓN DE INTERACCIÓN CON DIANAS TERAPÉUTICAS POR MEDIO DEL SERVIDOR SWISSTARGET PREDICTION.

Por medio del servidor gratuito SWISSTARGET PREDICTION, se calculó el porcentaje de interacción de los compuestos **JLO 1-7** a las dianas de interés. El programa arroja los porcentajes de probabilidad de interacción de los compuestos de interés con diferentes dianas que se encuentran en su base de datos, por lo cual se buscan las dianas de interés para el proyecto. En la **Tabla 4** se resumen estos resultados.

TABLA 4. PREDICCIÓN DE LA POSIBLE INTERACCIÓN DE LOS COMPUESTOS **JLO 1-7** SOBRE LAS DIANAS TERAPÉUTICAS POR MEDIO DEL SERVIDOR SWISSTARGET PREDICTION

Compuesto/ Target	JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7	Sorafenib
p38αMAPK	10.0%	10.6%	10.6%	10.6%	11.9%	10.4%	11.5%	100%
BRAFK	10.0%	11.5%	10.6%	10.6%	11.9%	9.5%	11.5%	100%
VEGFR2	80.4%	10.6%	10.6%	10.6%	11.9%	16.6%	11.5%	100%

Como se puede observar en la **Tabla 4** los compuestos **JLO 1-7** presentaron probabilidades discretas de interacción con las proteínas p38αMAPK, BRAFK y VEGFR2, cabe destacar que el compuesto **JLO-1** presentó una probabilidad alta de interacción sobre el VEGFR2 siendo el compuesto con un mejor perfil en este cálculo, muy cercano al control positivo sorafenib.

8.1.3. 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 **JLO 1-7** que se presentan en la **Tabla 5**.

TABLA 5. PREDICCIÓN DE PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS DE LOS COMPUESTOS **JLO 1-7** POR ADMETSAR

MODELO/COMPUESTO	JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7	Sorafenib
Absorción	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad	Probabilidad
Absorción intestinal humana	(+) 98.2%	(+) 96.1%	(+) 95.6%	(+) 95.6%	(+) 94.8%	(+) 96.2%	(+) 94.6%	(+) 98.16
Barrera hematoencefálica	(+) 97.7%	(+) 97.5%	(+) 97.4%	(+) 97.4%	(+) 97.2%	(+) 97.9%	(+) 97.8%	(+) 75.00
Substrato glicoproteína P	(-) 68.9%	(-) 86.5%	(-) 80.4	(-) 84.6%	(-) 93.6%	(-) 97.8%	(-) 90.9%	(-) 76.47
Metabolismo								
Substrato CYP450 3A4	(+) 68.1%	(+) 69.5%	(+) 63.7%	(+) 62.5%	(+) 68.3%	(+) 52.7%	(+) 61.7%	(+) 65.76
Toxicidad								
AMES	(-) 59.0%	(-) 84.0%	(-) 76.0%	(-) 81.0%	(+) 59.0%	(-) 50.0%	(+) 63.0%	(-) 56.00
Carcinogenicidad	(+) 53.6%	(-) 59.5%	(-) 60.3%	(-) 56.9%	(-) 54.0%	(-) 45.4%	(-) 47.6%	(-) 73.67

En la **Tabla 5** se reportan los cálculos de absorción, metabolismo y toxicidad sobre los compuestos **JLO 1-7**. En el apartado de absorción intestinal humana todos presentaron probabilidades altas, de igual manera de atravesar la barrera hematoencefálica; los compuestos **JLO 1-7** presentaron altas probabilidades de no ser sustratos de la glicoproteína P, ya que esta proteína está relacionada con la resistencia a fármacos debido a que es una bomba de eflujo la cual reconoce sustancias extrañas que ingresan a la célula y las expulsa. Por lo cual, se espera no presenten problemas de resistencia. Por otra parte, se observa que los compuestos serán metabolizados por el CYP450 por la isoforma 3A4 que es la más abundante en el organismo, y en el último apartado de toxicidad, se observa que los compuestos **JLO-5** y **JLO-7** presentaron alertas como posibles mutágenos al dar positiva la prueba de AMES, esto se debe a grupos funcionales presentes en su estructura como podría ser un grupo nitro o un grupo acetanilida, y ninguno de los compuestos presentó probabilidad de ser carcinogénico.

8.1.4. PREDICCIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FARMACOCINÉTICAS: SWISSADME

Por medio del servidor SwissADME se calcularon diferentes propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas con el fin de completar el perfil de los compuestos **JLO 1-7**, en la **Tabla 6** se muestran los resultados obtenidos del cálculo realizado, como referencia se tomó al sorafenib.

TABLA 6. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS **JLO 1-7** POR SWISSADME

Compuesto/ Propiedad	JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7	Sorafenib
Log P _{consenso}	5.94	3.82	3.82	3.39	4.7	4.9	4.85	3.78
PM (g/mol)	492.28	464.83	464.83	465.82	451.79	421.81	463.84	464.83
Solubilidad en agua	Baja	Moderada	Moderada	Moderada	Baja	Baja	Baja	Moderada
Violaciones Lipinski	1	0	0	0	0	0	0	0
Veber	0	0	0	0	0	0	0	0

Como se puede observar el **Tabla 6** se evaluaron los compuestos **JLO 1-7** donde el compuesto **JLO-1** presentó un alto valor de Log P, violando de esta manera uno de los postulados de Lipinski, sin embargo, el compuesto tiene otras propiedades aceptables para no presentar problemas de permeabilidad.

8.1.5. PREDICCIÓN DE METABOLISMO E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS BIOTRANSFORMER 3.0.

Por medio del servidor en línea BioTransformer 3.0 se analizaron los compuestos **JLO 1-7** con la finalidad de predecir los procesos de biotransformación (metabolismo) con sus posibles metabolitos obtenidos a través de los procesos metabólicos de fase I y fase II.

De acuerdo con la literatura los metabolitos más abundantes del sorafenib, es sometido a metabolismo oxidativo por CYP3A4 en el hígado dando lugar a la forma N-óxido de la piridina y en menor cantidad la glucoronidación por UGT1A9 en el

hígado y riñones*, con el programa Biotransformer 3.0 se obtuvieron los mismos metabolitos **Tabla 7**, mencionados en la literatura, de esta manera el programa es validado para calcular los metabolitos de los compuestos **JLO 1-7**.

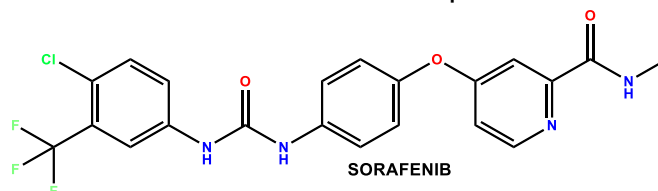
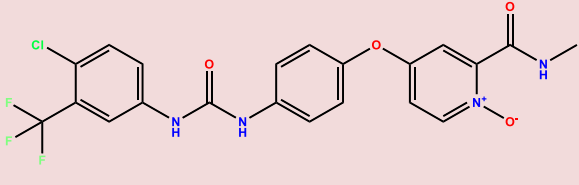
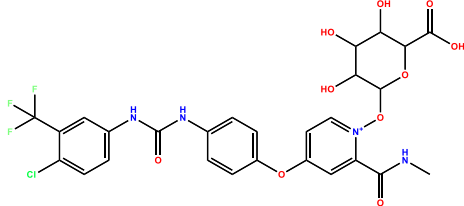
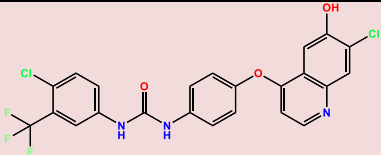
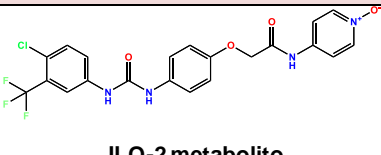


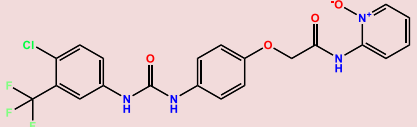
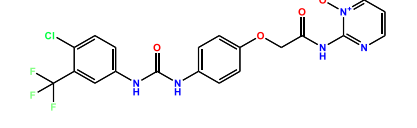
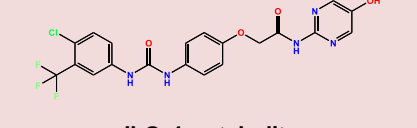
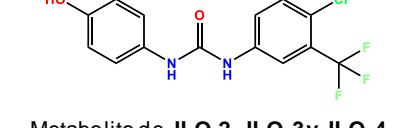
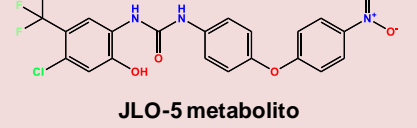
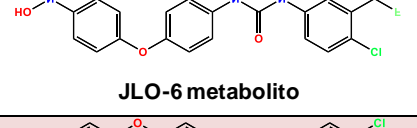
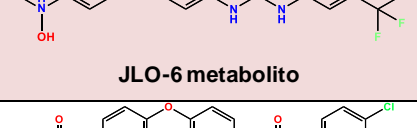
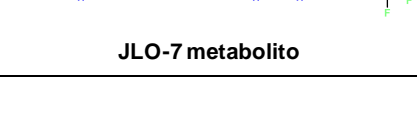
TABLA 7. PRINCIPALES METABOLITOS DEL SORAFENIB.

Metabolito	Tipo de reacción	Reacción mediada por:
	N-Oxidación de piridina	CYP1A2
	O-Glucoronidación de N-oxido	UDP-glucuronosiltransferasa

En la **Tabla 8** se observan los metabolitos de los compuestos **JLO 1-7** de la fase I mediado por el citocromo P450 y sus diferentes isoformas, es con la finalidad de hacer más solubles a las moléculas y poder ser excretadas.

TABLA 8. METABOLITOS DE FASE I DE COMPUESTOS JLO 1-7

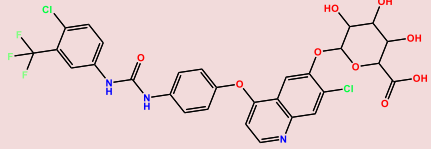
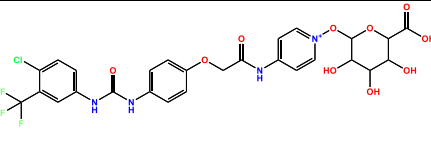
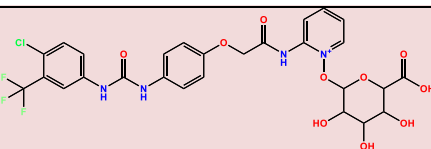
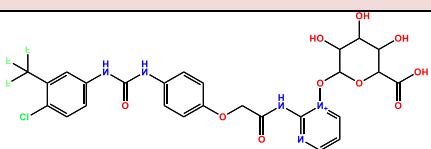
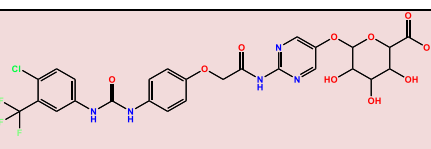
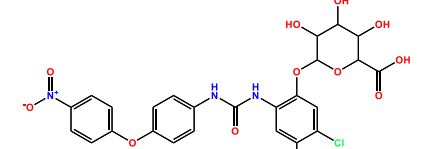
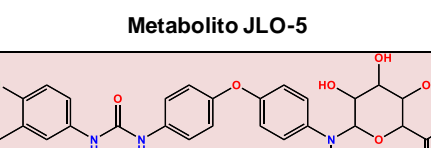
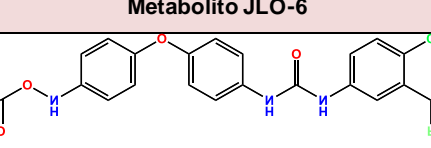
Metabolito	Tipo de reacción	Reacción mediada por:
 JLO-1 metabolito	Hidroxilación del anillo de quinolina orto al halógeno	CYP1A2
 JLO-2 metabolito	N-oxidación de piridina	CYP1A2

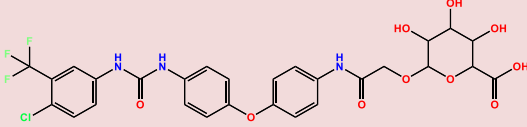
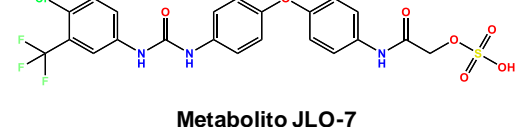
 <p>JLO-3 metabolito</p>	N-oxidación de piridina	CYP1A2
 <p>JLO-4 metabolito</p>	N-oxidación de pirimidina	CYP2C9
 <p>JLO-4 metabolito</p>	Hidroxilación <i>p</i> -pirimidina	CYP2C9
 <p>Metabolito de JLO-2, JLO-3 y JLO-4</p>	O-desalquilación	CYP1A2
 <p>JLO-5 metabolito</p>	Hidroxilación de anillo aromático en <i>p</i> -CF ₃	CYP2A6
 <p>JLO-6 metabolito</p>	N-hidroxilación de la amina aromática	CYP1A2
 <p>JLO-6 metabolito</p>	N-oxidación de la hidroxiamina aromática	CYP1A2
 <p>JLO-7 metabolito</p>	Alfa-hidroxilación al grupo carbonilo	CYP1A2

De acuerdo con los metabolitos que se observan en la **Tabla 8** la mayoría de las biotransformaciones se llevan a cabo por la isoforma CYP1A2 y son reacción de oxidación e hidroxilación con el fin de hacerlos más solubles para su excreción.

En la **Tabla 9** se muestran los metabolitos de la fase II, a partir de los metabolitos de la fase I de los compuestos **JLO 1-7**.

TABLA 9. METABOLITOS DE FASE II DE COMPUESTOS JLO 1-7

Metabolito	Tipo de reacción	Reacción mediada por:
 <p>Metabolito JLO-1</p>	OH-glucoronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-2</p>	O-Glucoronidación de N-oxido	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-3</p>	O-Glucoronidación de N-oxido	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-4</p>	O-Glucoronidación de N-oxido	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-4</p>	OH-glucoronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-5</p>	OH-glucoronidación aromática	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-6</p>	N-glucoronidación de hidroxilamina	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p>Metabolito JLO-6</p>	O-acetilación de N-hidroxilarilamina	Arilamina N-acetiltransferasa

 <p style="text-align: center;">Metabolito JLO-7</p>	Alquil-OH-glucoronidación	UDP-glucuronosiltransferasa
 <p style="text-align: center;">Metabolito JLO-7</p>	Sulfonación de alcohol primario	Alcohol sulfotransferasa

En la **Tabla 9** se observan los metabolitos de fase II de los compuestos **JLO 1-7**, donde se observa que la mayoría de los metabolitos son mediados por la UDP-glucuronosiltransferasa realizando la conjugación con el ácido glucurónico, teniendo como fin aumentar la polaridad de los compuestos para favorecer su excreción del organismo mediante la orina.

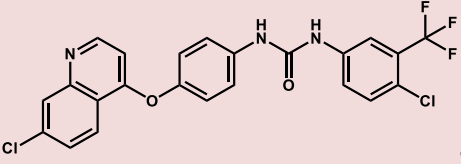
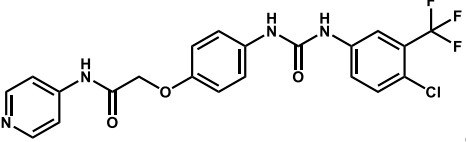
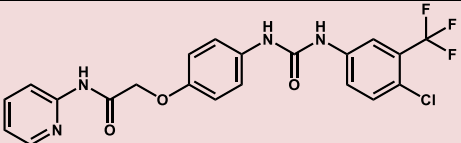
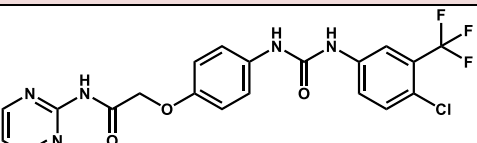
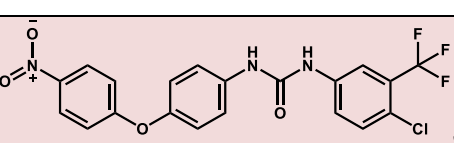
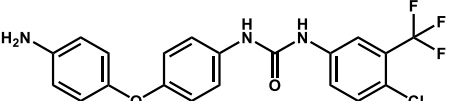
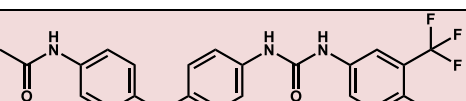
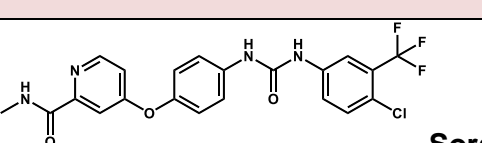
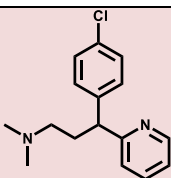
8.1.6. PREDICCIONES DE EFECTOS CITOTÓXICOS TÓXICOS ACD/TOX SUITE.

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 de voltaje se caracterizan funcionalmente por permitir la permeación del ion K⁺ durante la repolarización de la membrana, estos canales están altamente expresados en el tejido cardíaco 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 **JLO 1-7**, tomando como referencias al Sorafenib, una diarilurea que fue aprobado por la FDA y la clorfenamina que es un fármaco antihistamínico el cual está demostrado su bloqueo de canales hERG y aún sigue en la terapéutica.

TABLA 10. PREDICCIÓN DE LAS POSIBILIDADES DE BLOQUEO DE CANALES HERG

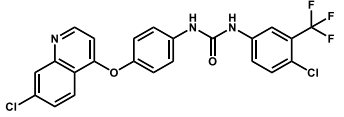
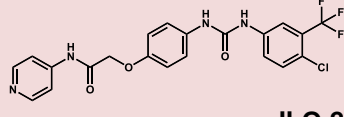
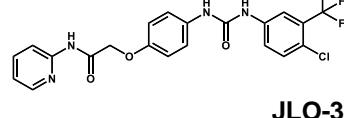
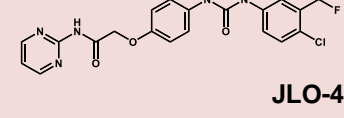
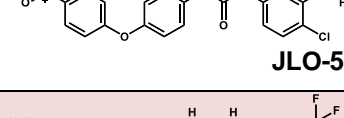
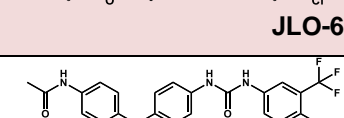
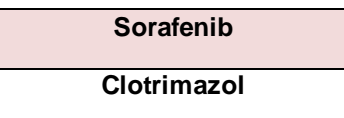
Compuesto	Probabilidad de bloqueo de los canales hERG ($k_i < 10 \mu M$)
 <p style="text-align: right;">JLO-1</p>	99%
 <p style="text-align: right;">JLO-2</p>	95%
 <p style="text-align: right;">JLO-3</p>	95%
 <p style="text-align: right;">JLO-4</p>	93%
 <p style="text-align: right;">JLO-5</p>	98%
 <p style="text-align: right;">JLO-6</p>	98%
 <p style="text-align: right;">JLO-7</p>	98%
 <p style="text-align: right;">Sorafenib</p>	92%
 <p style="text-align: right;">Clorfenamina</p>	93%

De acuerdo con los resultados que se observan en la **Tabla 10** los compuestos **JLO 1-7** presentaron probabilidades altas de bloquear los canales, al igual que los fármacos de referencia sorafenib y clorfenamina, que a pesar de ser bloqueadores potentes de los canales hERG están a la venta en el mercado, debido a un balance riesgo/beneficio.

❖ **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 enzima metabólicas.

TABLA 11. PROBABILIDAD DE LA INHIBICIÓN DE LAS ISOFORMAS DEL CYP450

Compuestos	Inhibición de isoformas del CYP450 [10 μ M]				
	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C9	CYP2C19	CYP1A2
 JLO-1	14%	4%	27%	27%	33%
 JLO-2	25%	3%	4%	16%	35%
 JLO-3	14%	4%	3%	11%	28%
 JLO-4	22%	4%	1%	12%	20%
 JLO-5	6%	3%	11%	19%	35%
 JLO-6	3%	3%	3%	14%	19%
 JLO-7	2%	1%	2%	4%	10%
Sorafenib	9%	1%	8%	3%	5%
Clotrimazol	85%	7%	41%	80%	12%

Como fármacos de referencia para este cálculo se tomó nuevamente al sorafenib y al clotrimazol como controles positivos ya que es un potente inhibidor de estas isoformas, de acuerdo con los resultados obtenidos de la **Tabla 11**, los compuestos **JLO 1-7** presentaron probabilidades bajas de ser inhibidores de las isoformas de CYP450 destacando sobre la isoforma 3A4 que es la más abundante en el

organismo, de esta manera puede decir que no presentaran problemas de interacción 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 **JLO 1-7** comparándolos con el fármaco de referencia Sorafenib, 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. En la **Tabla 12** se presenta la clasificación de acuerdo con los criterios de la OECD.

TABLA 12. TOXICIDAD AGUDA EN RATÓN Y RATA CALCULADO CON ACD/TOX SUITE

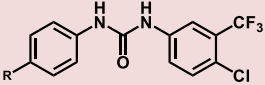
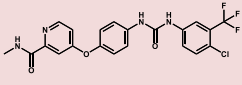
DL ₅₀ (mg/kg) por especie y ruta de administración.					
Compuesto	Ratón (mg/kg)		Rata (mg/kg)		Categoría OECD
	IP	VO	IP	VO	
JLO-1	690	790	370	1500	3-4
JLO-2	1000	1300	690	3800	4-5
JLO-3	890	1300	710	3900	4-5
JLO-4	640	1500	720	4000	4-5
JLO-5	470	1000	360	1200	4-5
JLO-6	540	800	210	1400	4-5
JLO-7	900	1400	400	2300	4-5
Sorafenib	820	1000	440	1400	3-4
IP: intraperitoneal. VO: vía oral					
Categoría 1 OECD		DL ₅₀ ≤ 5 mg/kg Altamente tóxico			
Categoría 2 OECD		5 ≤ DL ₅₀ ≤ 50 mg/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			

Los resultados que muestran en la **Tabla 12** nos indica que los compuestos **JLO 1-7** DL₅₀ más altas en comparación del sorafenib, destacando la vía oral en ambas especies (que es la vía de administración del sorafenib), por lo cual pueden considerarse más seguros y menos tóxicos que este. De acuerdo con los valores de dosis letal media por vía oral, estos son ideales por lo cual se clasifican entre la categoría 3-5 de la OECD indicándonos que son tóxicos, tóxicos moderados y no tóxicos, lo cual es aceptable debido a que la mayoría de los fármacos disponibles actualmente en el mercado se encuentran en estas tres categorías.

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

Debido a que el proyecto va dirigido contra las dianas terapéuticas que se encuentran sobreexpresadas en tipos de cáncer como carcinoma hepatocelular y carcinoma de próstata, este servidor gratuito nos proporcionó información valiosa sobre la posible actividad citotóxica que presenten los compuestos **JLO 1-7** en las líneas celulares cancerígenas mencionadas anteriormente.


TABLA 13. RESULTADO DE CITOTOXICIDAD SOBRE LÍNEAS CELULARES TUMORALES PARA LOS COMPUESTOS JLO 1-7

Línea celular	Nombre de línea celular	Compuestos							
		 JLO-1 R= 7-cloro-4-metoxiquinolina JLO-2 R= 2-metoxi-N(piridin-4-il)acetamida JLO-3 R= 2-metoxi-N(piridin-2-il)acetamida JLO-4 R= 2-metoxi-N(pirimidin-2-il)acetamida JLO-5 R= 1-metoxi-4-nitrobenzeno JLO-6 R= 4-metoxianilina							
		JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7	Sorafenib
		<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	
HUH-7	Carcinoma hepatocelular	33.7%	54.6%	32.6%	37.3%	27.2%	29.4%	31.3%	54.9%
PC-3	Carcinoma de próstata	21.8%	31.9%	31.9%	N/A	19.6%	23.0%	28.6%	16.8%

De acuerdo con los datos obtenidos sobre el posible efecto citotóxico en diferentes líneas celulares cancerígenas, sobre la línea celular HUH-7 de carcinoma hepatocelular los compuestos presentaron porcentajes de probabilidad discreta en comparación de sorafenib y sobre la línea celular cancerígena PC-3 de cáncer de

próstata únicamente el compuesto **JLO-4** no presentó probabilidades de citotoxicidad, mientras que los demás compuestos presentan probabilidades mayores que la del sorafenib.

TABLA 14. RESULTADOS DE CITOTOXICIDAD SOBRE LÍNEAS CELULARES NO-TUMORALES PARA LOS COMPUESTOS JLO 1-7

Línea celular	Nombre de línea celular	Compuestos							Sorafenib
		 <p> JLO-1 R= 7-cloro-4-metoxiquinolona JLO-2 R= 2-metoxi-N-(piridin-4-il)acetamida JLO-3 R= 2-metoxi-N-(piridin-2-il)acetamida JLO-4 R= 2-metoxi-N-(pirimidin-2-il)acetamida JLO-5 R= 1-metoxi-4-nitrobenceno JLO-6 R= 4-metoxianilina JLO-7 R= N-(4-metoxifenil)acetamida </p>							
		JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7	
		<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>	<i>Pa</i>
HS27	Fibroblasto	33.9%	25.2%	20.5%	19.1%	25.1%	4.1%	4.2%	47.4%

En la **Tabla 14** se observan los resultados de los compuestos **JLO 1-7** y su porcentaje de probabilidad de no poseer efectos citotóxicos sobre células sanas de fibroblastos, como referencia se tomó al sorafenib, donde se observa que el porcentaje de probabilidad de citotoxicidad es menor a comparación de sorafenib, lo cual nos indica que hay más probabilidades de que los compuestos sean selectivos sobre células cancerígenas y menos tóxicos que el propio sorafenib.

8.2. ACOPLAMIENTO MOLECULAR REFINADO SOBRE LAS PROTEÍNAS P38 α , P38 α MAPK, BRAFK Y VEGFR2.

Las dianas terapéuticas de este proyecto son proteínas quinasas: P38 α , P38 α MAPK, BRAFK y VEGFR2, estas proteínas se encuentran sobreexpresadas en carcinoma hepatocelular, carcinoma renal primario y carcinoma de próstata. Para poder proponer un mecanismo de acción y el posible modo de unión de los compuestos **JLO 1-7** se realizó un acoplamiento molecular automatizado sobre estas dianas terapéuticas.

Para realizar este análisis computacional se requiere de coordenadas 3D de las proteínas a estudiar, las cuales se encuentran en el Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), estos archivos deben contar con características adecuadas como: una resolución mínima de 2.5 Å, con valores de R menores a 0.25, el organismo donde fue cristalizada, de preferencia contar con un ligando co-cristalizado para comparar el modo de unión con los compuestos **JLO 1-7**.

Se utilizaron los siguientes PDB-ID:

- ❖ P38 α : 3HEG con el ligando co-cristalizado **Sorafenib**.
- ❖ P38 α MAPK: 3GCS con el ligando co-cristalizado **Sorafenib**.
- ❖ BRAFK: 5HI2 con el ligando co-cristalizado **Sorafenib**.
- ❖ VEGFR2: 4ASD con el ligando co-cristalizado **Sorafenib**.

8.2.1 VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR SOBRE LAS PROTEÍNAS P38 α , P38 α MAPK, BRAFK Y VEGFR2.

La validación del acoplamiento molecular es un proceso requerido para comprobar que el sistema donde se va a simular la interacción proteína-ligando co-cristalizado es representativa y viable para los cálculos con los compuestos **JLO 1-7**, para ello se toma un criterio en la validación que es el factor RMSD (desviación cuadrática media), el cual no debe ser mayor a 2 Å. De esta manera nos indica que la conformación que toma el ligando durante el proceso de cálculo es similar a la del ligando co-cristalizado y que el acoplamiento molecular es reproducible y confiable.

En la **Tabla 15** se muestran los resultados de la validación sobre las proteínas con ligando co-cristalizado sorafenib en el programa MOE.

TABLA 15. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR CON MOE SOBRE LAS PROTEÍNAS QUINASAS

Compuesto	3HEG (p38 α) ΔG° (kcal/mol)	3GCS (p38 α MAPK) ΔG° (kcal/mol)	5HI2 (BRAFK) ΔG° (kcal/mol)	4ASD (VEGFR2) ΔG° (kcal/mol)
Sorafenib	-10.07	-10.47	-9.56	-10.24
RMSD Å	0.1269	0.1260	0.1276	0.1528

De acuerdo con la validación realizada en el programa MOE sobre cada una de las proteínas, se observa que tuvieron valores de RMSD por debajo de los 2 Å, lo cual valida el sistema de cada una de las proteínas para llevar a cabo acoplamiento confiables con los compuestos **JLO 1-7**.

TABLA 16. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR CON AD4 SOBRE LAS PROTEÍNAS QUINASAS.

Compuesto	3HEG (p38 α) ΔG° (kcal/mol)	3GCS (p38 α MAPK) ΔG° (kcal/mol)	5HI2 (BRAFK) ΔG° (kcal/mol)	4ASD (VEGFR2) ΔG° (kcal/mol)
Sorafenib	-8.9	-12.58	-8.94	-8.17
RMSD Å	0.42	0.54	0.031	0.031

La validación realizada con el programa autodock 4, arrojó en cada una de las proteínas valores de RMSD menores a 2 Å, indicando que el sistema queda validado para proseguir con los acoplamiento moleculares de los compuestos **JLO 1-7**.

En los acoplamiento de validación se observaron las interacciones reportadas en la literatura para cada una de las proteínas. A continuación, se enlistan las interacciones del ligando co-cristalizado (sorafenib) con los residuos de aminoácidos:

- p38 α interacciones reportadas con aminoácidos: Met109, Phe169, Asp168 y Glu71.⁵⁰
- p38 α MAPK interacciones reportadas con aminoácidos: Met109, Phe169, Asp168 y Glu71.²⁷
- BRAFK interacciones reportadas con aminoácidos: Cys532, Asp594, Glu501 y Phe595.²⁹
- VEGRF2 interacciones reportadas con aminoácidos: Cys919, Glu885, Asp1046.³⁰

En la **Figura 24** se presenta el mapa en 3D de la validación realizada en MOE sobre la proteína VEGFR2 con el ligando co-cristalizado Sorafenib (en color cian) y la validación se encuentra en color amarillo, la cual adopta la misma conformación espacial al ligando co-cristalizado con un RMSD de 0.1528 Å, el cual es un valor dentro del rango mencionado anteriormente, de esta manera queda validado el sistema para realizar los acoplamientos posteriores.

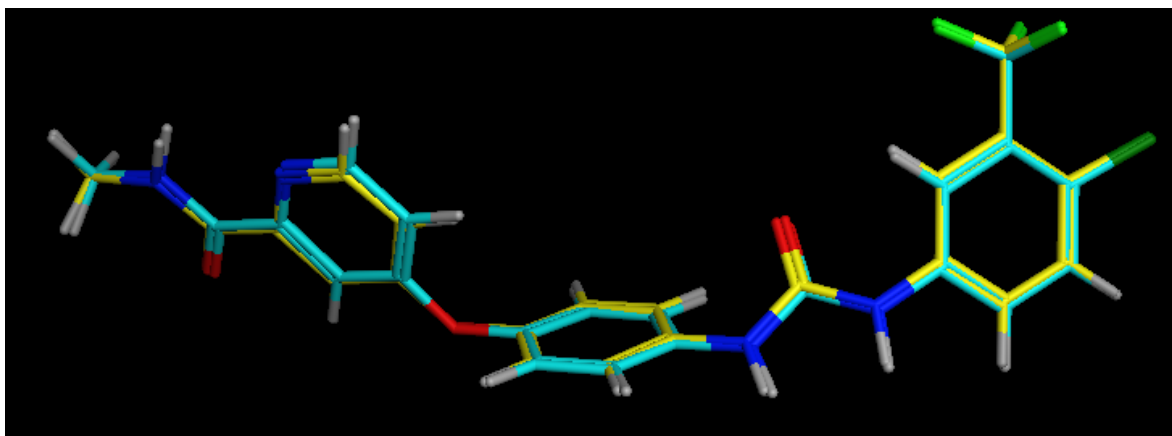


FIGURA 24. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE VEGFR2, RMSD = 0.1528 Å Posterior a observar la conformación espacial en el mapa 3D, se procedió a verificar que se conserven las interacciones reportadas en el mapa 2D (**Figura 25**), donde se observan interacciones de tipo donador de puente de hidrógeno reforzado con la urea y el aminoácido Glu885, de igual manera con el carbonilo de la urea una interacción de tipo aceptor con el Asp1046, otra interacción polar entre la piridina y la Cys919 y una interacción más con la Phe1047 con el anillo aromático central de

tipo sp³-areno. Con estas interacciones anteriormente mencionadas se comprueba que el redocking conserva el modo de unión con el reportado en la literatura.

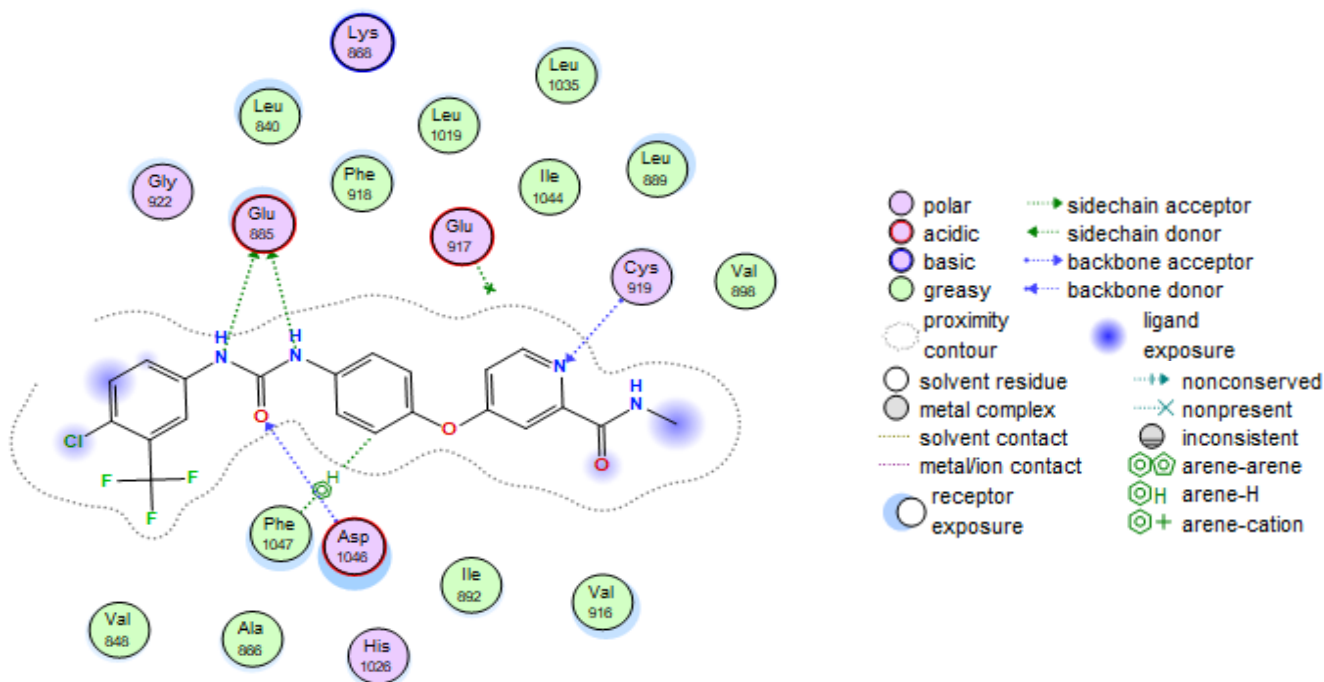


FIGURA 25. INTERACCIONES LIGANDO PROTEÍNA DE LA VALIDACIÓN DE VEGFR2

En la **Figura 26** se presenta el mapa en 3D de la validación realizada en autodock 4 sobre la proteína p38 α MAPK con el ligando co-cristalizado Sorafenib (color cian) y el redocking (color amarillo), la cual adopta una conformación espacial similar al ligando co-cristalizado con un RMSD de 0.54 Å, el cual es un valor dentro del rango de validación aceptable (<2 Å). De esta manera queda validado el sistema para realizar los acoplamiento posteriores con los compuestos diseñados.

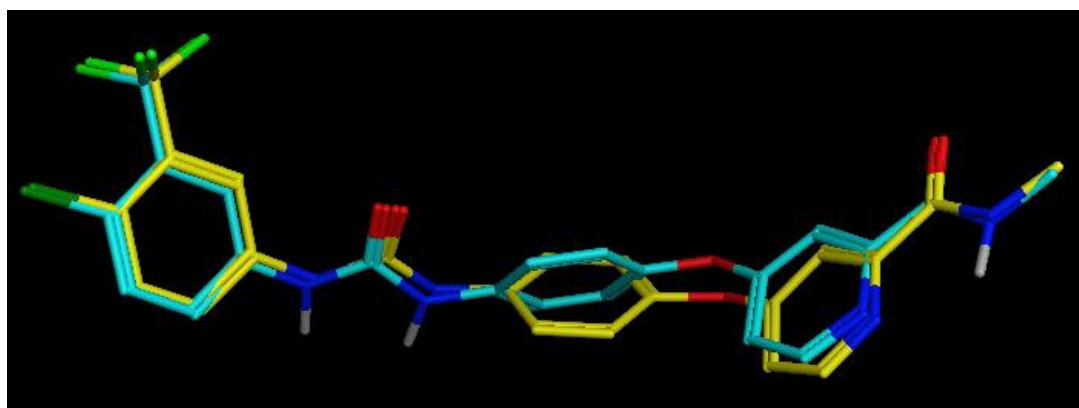


FIGURA 26. VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE p38MAPK, RMSD = 0.54 Å.

Posterior de observar la conformación espacial en el mapa en 3D, se procedió a verificar que se conservaran los contactos reportados en el mapa en 2D (**Figura 27**), donde se muestran interacciones de tipo donador de enlace de hidrógeno con la urea y el aminoácido Glu71, de igual manera con el carbonilo de la urea una interacción de tipo aceptor con el Asp168, otra interacción entre el carbonilo de la picolinamida y la Met109 de tipo aceptor de puente de hidrógeno. Con estas interacciones se comprueba que conserva el modo de unión predicho con el reportado en la literatura.

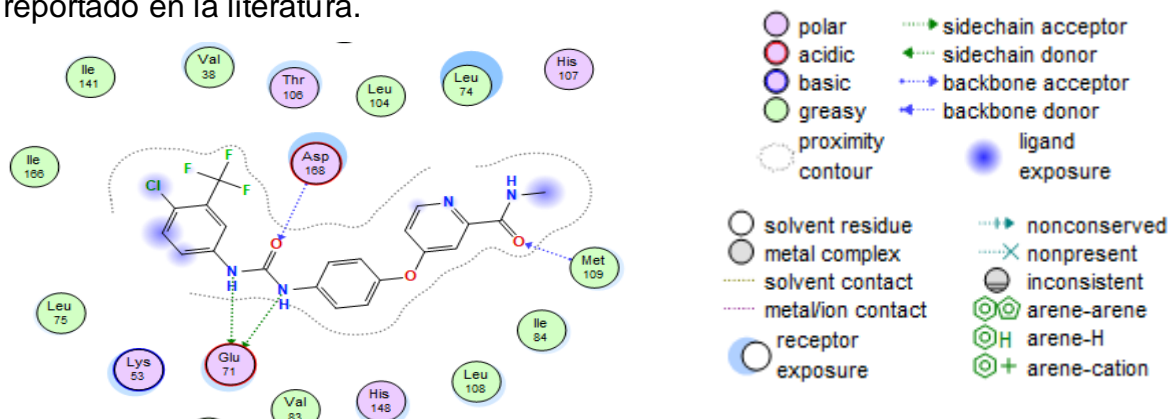


FIGURA 27. INTERACCIONES LIGANDO PROTEÍNA DE LA VALIDACIÓN DE P38MAPK

8.2.2 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA P38 α .

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 **JLO 1-7** por triplicado, sobre la proteína P38 α . En la **Tabla 14** se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) y el ranking de jerarquía.

TABLA 17. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE P38ALFA

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-8.9	-9.76	-9.35	-9.33 ± 0.43	1
JLO-2	-8.9	-9.45	-9.34	-9.23 ± 0.29	2
JLO-3	-8.8	-8.34	-9.02	-8.72 ± 0.34	7
JLO-4	-9.4	-8.29	-9.02	-8.9 ± 0.56	5
JLO-5	-8.9	-9.48	-9.16	-9.18 ± 0.29	4
JLO-6	-8.4	-9.10	-9.08	-8.86 ± 0.39	6
JLO-7	-9.2	-9.49	-9.16	-9.28 ± 0.18	3

En la **Tabla 17** se observan los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa MOE donde se jerarquizan en un ranking de acuerdo con su valor de puntuación (scoring). Se puede observar que el compuesto **JLO-1** tiene las mejores perspectivas farmacodinámicas con un scoring de -9.33 ± 0.43 , seguido del compuesto **JLO-2** y del **JLO-7**.

En la **Figura 28**, se observa el mapa en 3D del acoplamiento de P38 α con **JLO-1** (color amarillo) donde se observa la conformación espacial que tomó el ligando co-cristalizado sorafenib (color verde), y se observa cómo se mantiene la interacción de Glu71 con la urea de ambos ligandos, la cual esta reportada en la literatura para el sorafenib.

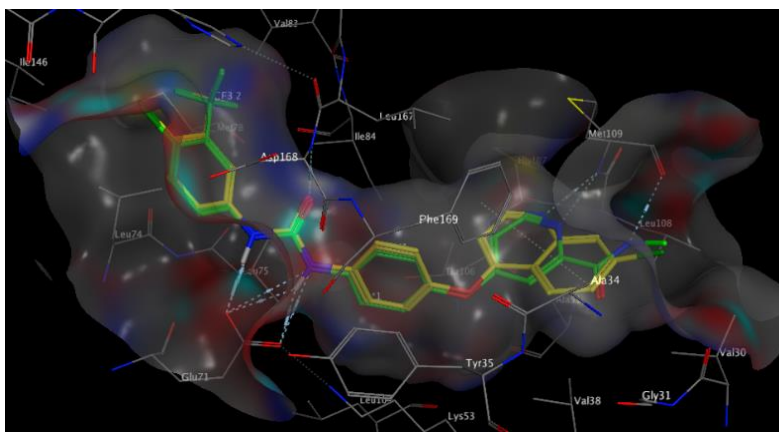


FIGURA 28. DIAGRAMA EN 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38ALFA

En la **Figura 29** se muestra el mapa en 2D del acoplamiento molecular de P38 α con **JLO-1**, donde se pueden observar las interacciones de la urea con los residuos de aminoácidos Glu71 y Asp168, y la del residuo de aminoácido Met109 con el nitrógeno de la quinolina.

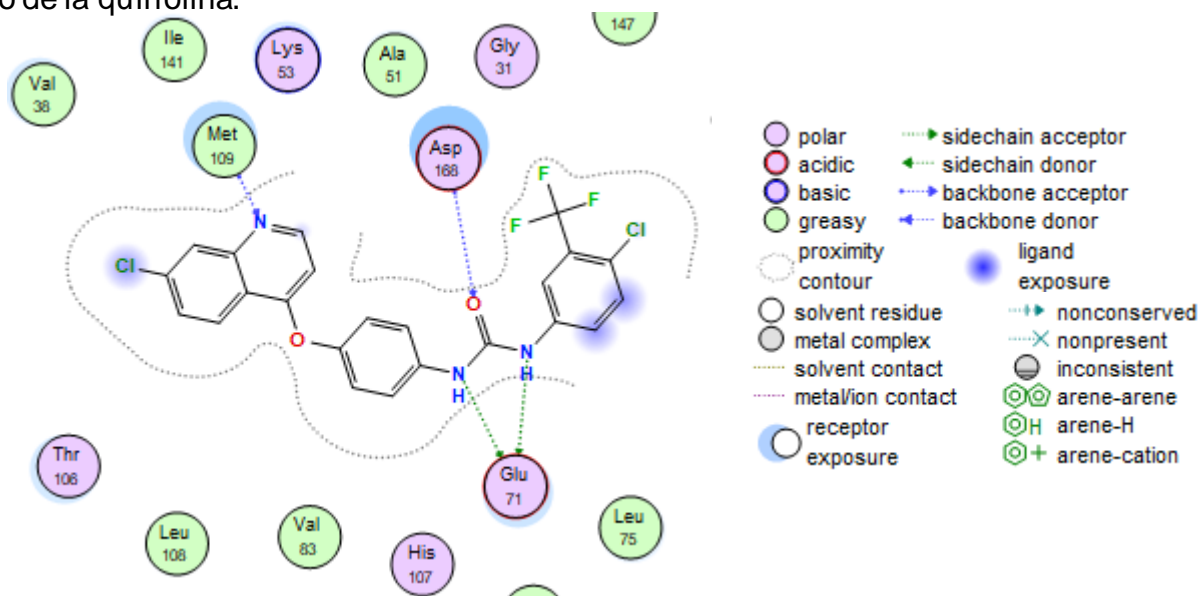


FIGURA 29. DIAGRAMA EN 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38ALFA DE **JLO-1**

En la **Tabla 18** se muestran los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa autodock 4, el cual se realizó por triplicado (al igual que en el programa MOE) y se reporta el puntaje (scoring) y fueron jerarquizados en un ranking de acuerdo con los resultados obtenidos.

TABLA 18. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE P38ALFA

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-8.3	-8.9	-7.9	-8.36 \pm 0.50	2
JLO-2	-5.8	-6.5	-7.3	-6.5 \pm 0.75	4
JLO-3	-6.2	-5.5	-6.8	-6.16 \pm 0.65	5
JLO-4	-2.7	-3.5	-4.4	-3.5 \pm 0.85	7
JLO-5	-9.4	-8.8	-8.5	-8.9 \pm 0.45	1
JLO-6	-7.4	-6.9	-8.6	-7.6 \pm 0.87	3
JLO-7	-5.3	-4.7	-6.1	-5.3 \pm 0.70	6

De acuerdo con los resultados observados en la **Tabla 18** el compuesto más destacado es el compuesto **JLO-5**, con un score de 8.9 ± 0.45 , seguido del compuesto **JLO-1** y el compuesto **JLO-6**.

En la **Figura 30** se observa el mapa en 3D del acoplamiento molecular del compuesto más destacado **JLO-5**, donde se observa que la conformación espacial es muy similar con respecto al ligando co-cristalizado sorafenib, y se muestra la interacción de interés entre la urea y el aminoácido Glu71.

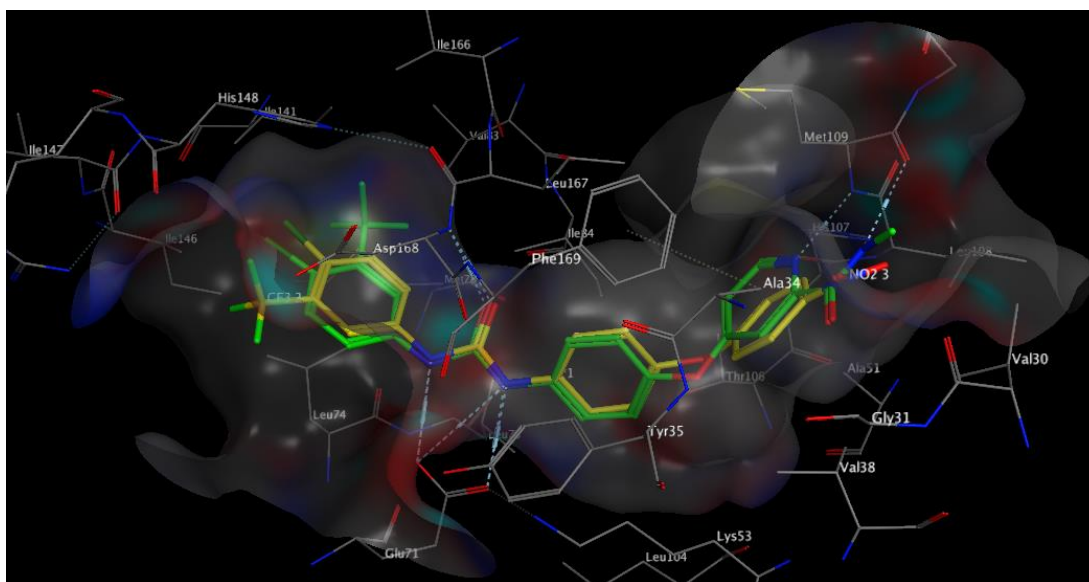


FIGURA 30. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO **JLO-1** (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38ALFA

Las interacciones en el mapa en 2D con los residuos de aminoácidos se muestran en la **Figura 31**. Se observa la interacción de la urea con los residuos Glu71 y la Asp168; Sin embargo, la interacción con la Met109 se interrumpe, esto se puede deber a que la región del nitrobenzenceno se aleja y no es posible formar un contacto cercano.

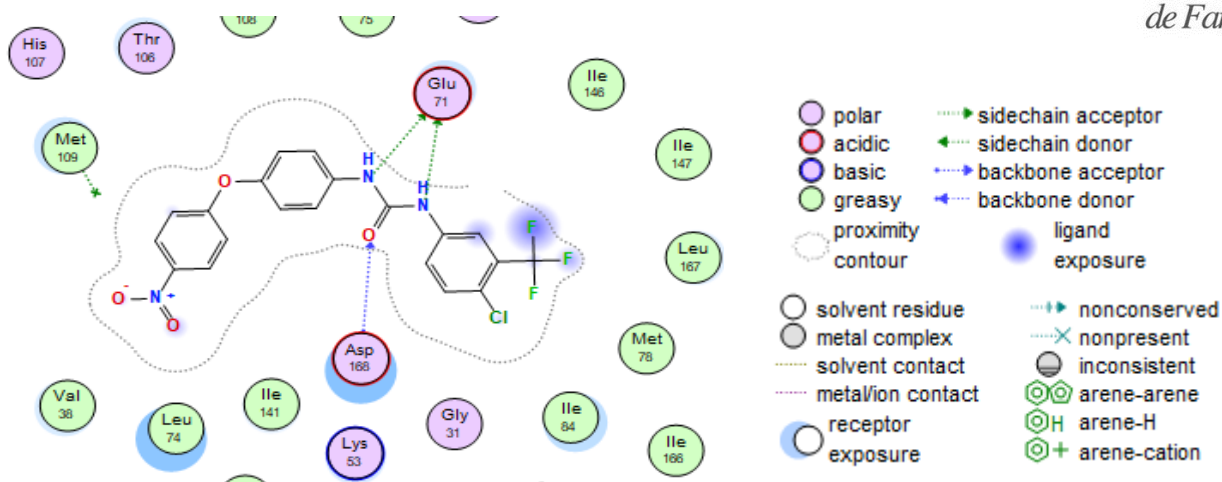


FIGURA 31. DIAGRAMA EN 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38ALFA DE JLO-5

8.2.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA P38 α MAPK.

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 **JLO 1-7** por triplicado, sobre la proteína P38 α MAPK. En la **Tabla 19** se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) el ranking de jerarquía.

TABLA 19. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE P38MAPK

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-9.2	-9.50	-9.38	-9.36 \pm 0.15	1
JLO-2	-8.9	-9.32	-9.42	-9.21 \pm 0.27	4
JLO-3	-9.7	-9.1	-8.86	-9.25 \pm 0.39	3
JLO-4	-9.0	-9.14	-8.81	-8.98 \pm 0.16	6
JLO-5	-8.6	-8.93	-9.19	-8.9 \pm 0.29	5
JLO-6	-8.9	-8.55	-8.87	-8.77 \pm 0.19	7
JLO-7	-9.6	-9.09	-9.32	-9.33 \pm 0.25	2

En la **Tabla 19** se observan los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa MOE donde se jerarquizan en un ranking de acuerdo con su valor de

puntuación (scoring). Se puede observar que el compuesto **JLO-1** tiene las mejores perspectivas farmacodinámicas con un scoring de -9.36 ± 0.15 , seguido del compuesto **JLO-7** y del **JLO-3**.

En la **Figura 32**, se observa el mapa en 3D del acoplamiento de P38 α MAPK con **JLO-1** (color amarillo) donde se observa la conformación espacial que tomó el ligando co-cristalizado sorafenib (color verde), y se observa cómo se mantiene la interacción de Glu71 con la urea de ambos ligandos, la cual esta reportada en la literatura para el sorafenib.

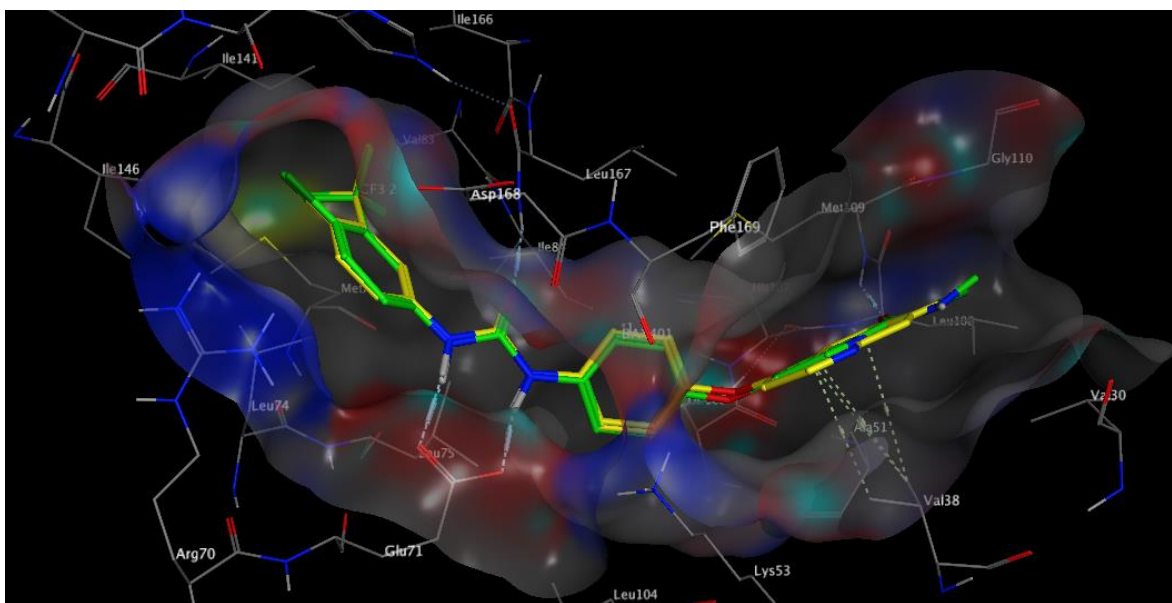


FIGURA 32. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO **JLO-1** (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38MAPK

En la **Figura 33** se muestra el mapa 2D con las interacciones de los residuos de Glu71 y Asp168 con la Urea y una interacción con la Val38 de tipo areno-hidrógeno con el anillo de quinolina.

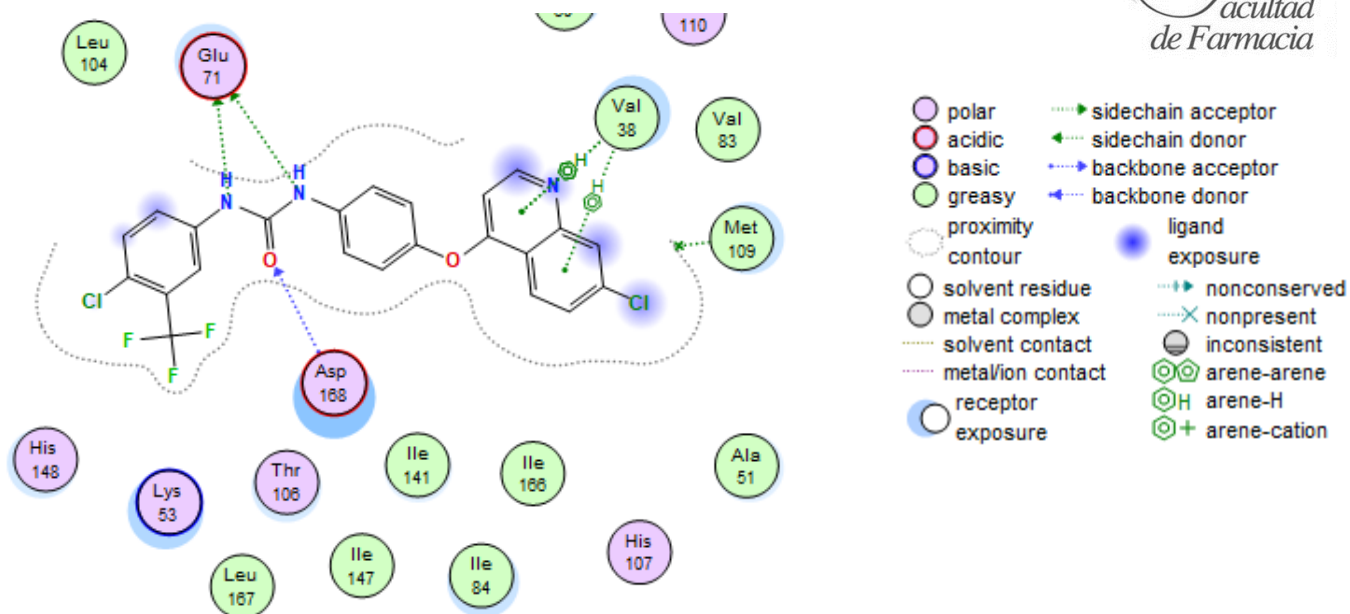


FIGURA 33.DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38MAPK DE JLO-1

En la **Tabla 20** se muestran los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa Autodock4, el cual se realizó por triplicado (al igual que en el programa MOE) y se reporta el puntaje (scoring) y fueron jerarquizados en un ranking de acuerdo con los resultados obtenidos.

TABLA 20. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE P38MAPK

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-10.2	-9.8	-9.6	-9.86 ± 0.30	1
JLO-2	-7.6	-8.8	-7.5	-7.96 ± 0.72	4
JLO-3	-7.8	-7.3	-6.9	-7.33 ± 0.45	5
JLO-4	-3.7	-2.5	-3.5	-3.23 ± 0.64	7
JLO-5	-8.8	-8.4	-7.8	-8.33 ± 0.50	3
JLO-6	-8.0	-8.6	-8.8	-8.46 ± 0.41	2
JLO-7	-6.2	-6.0	-7.3	-6.5 ± 0.7	6

De acuerdo con los resultados observados en la **Tabla 20**, el compuesto más destacado es el compuesto **JLO-1** con un score de -9.86 ± 0.30 , seguido del compuesto **JLO-6** y el compuesto **JLO-5**.

En la **Figura 34** se observa el mapa en 3D del acoplamiento molecular del compuesto más destacado **JLO-1 con P38 α MAPK**, donde se observa una conformación espacial muy similar con respecto al ligando co-cristalizado sorafenib, y se mantiene la interacción de interés entre la urea y el aminoácido Glu71.

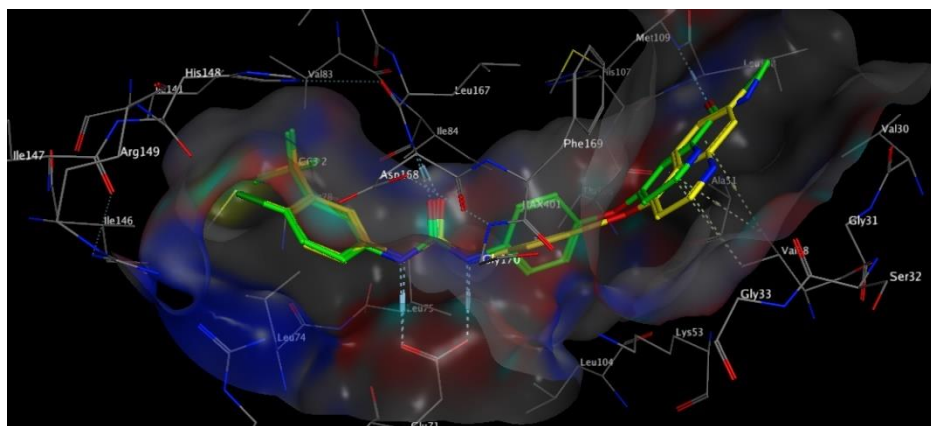


FIGURA 34. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO **JLO-1** (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE P38MAPK

Las interacciones en el mapa en 2D con los residuos de aminoácidos se muestran en la **Figura 35**. Se observa la interacción de la urea con los residuos Glu71 y la Asp168; Sin embargo, la interacción con la Met109 se interrumpe, esto se puede deber a que la región de la quinolina se aleja y no es posible formar un contacto cercano. Por otra parte, se observa una nueva interacción de tipo π -sp³ con Val38.

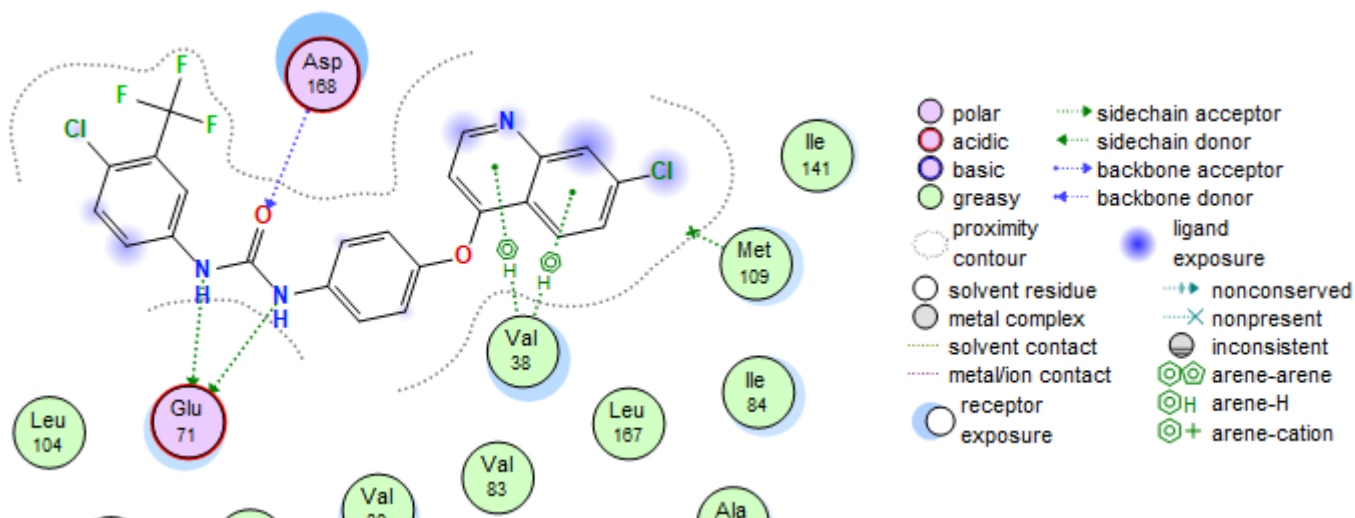


FIGURA 35. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE P38MAPK DE **JLO-1**

8.2.4 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA BRAFK.

Después de haber realizado la validación y confirmar que el método de acoplamiento molecular es el adecuado, se procedió a realizar el cálculo por triplicado con los ligandos **JLO 1-7** sobre la proteína BRAFK. En la **Tabla 21** se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) el ranking de jerarquía.

TABLA 21. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE BRAFK

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-8.7	-9.26	-9.46	-9.14 ± 0.39	1
JLO-2	-8.1	-9.34	-8.77	-8.73 ± 0.62	3
JLO-3	-8.2	-8.61	-8.17	-8.32 ± 0.24	6
JLO-4	-8.6	-8.28	-8.32	-8.4 ± 0.17	5
JLO-5	-8.6	-8.73	-9.10	-8.81 ± 0.25	2
JLO-6	-7.3	-8.21	-8.56	-8.02 ± 0.65	7
JLO-7	-8.4	-8.76	-8.80	-8.65 ± 0.22	4

En la **Tabla 21** se observan los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa MOE donde se jerarquizan en un ranking de acuerdo con su valor de puntuación (scoring). Se puede observar que nuevamente el compuesto **JLO-1** tiene las mejores perspectivas farmacodinámicas con un scoring de -9.14 ± 0.39 , seguido del compuesto **JLO-5** y del **JLO-2**.

En la **Figura 36**, se observa el mapa en 3D del acoplamiento de segundo compuesto más destacado: **JLO-5** (amarillo) donde se observa la conformación espacial que tomó el ligando co-cristalizado sorafenib (verde), y se observa cómo se mantiene la interacción de Glu71 con la urea de ambos ligandos, la cual esta reportada en la literatura para el sorafenib.

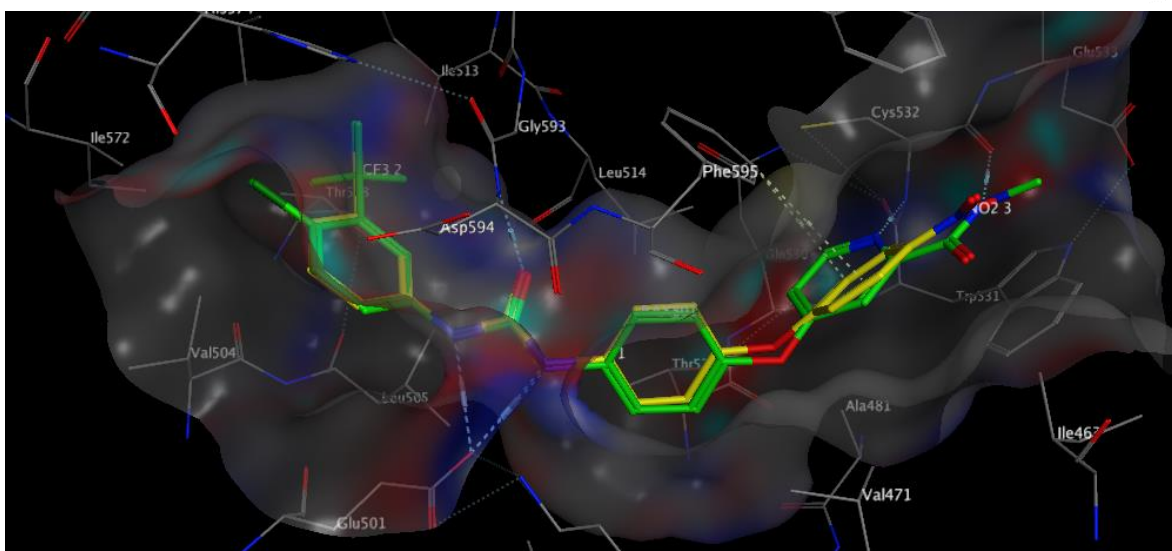


FIGURA 36. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-5 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE BRAFK

Las interacciones en el mapa en 2D con los residuos de aminoácidos se muestran en la **Figura 37**. Se observa la interacción de la urea con los residuos Glu501 y el Asp594; una interacción del grupo nitro con la Cys532 y por último una nueva interacción de tipo π - sp^3 con Phe595.

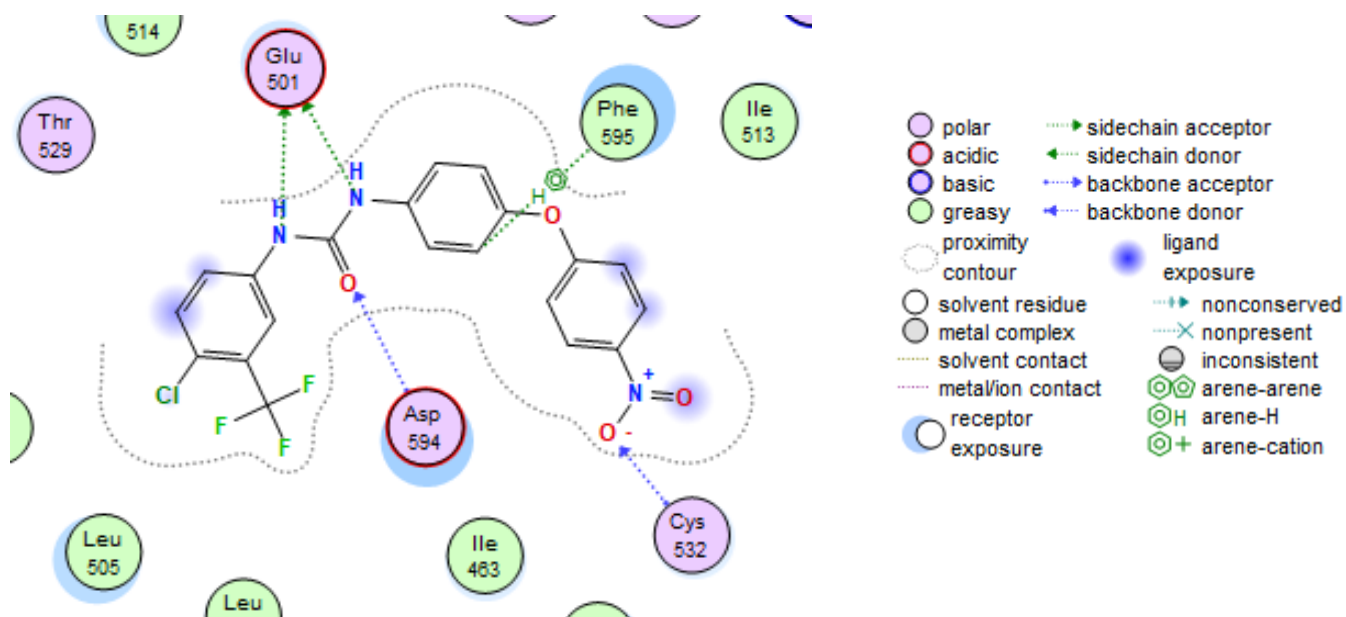


FIGURA 37. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE BRAFK DE JLO-5

En la **Tabla 22** se muestran los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa autodock 4, cuyo cálculo se realizó por triplicado y se presentan los

resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) el ranking de jerarquía.

TABLA 22. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE BRAFK

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-10.4	-10.6	-9.8	-10.2 ± 0.41	1
JLO-2	-7.1	-7.6	-8.1	-7.6 ± 0.5	4
JLO-3	-7.6	-7.2	-7.7	-7.5 ± 0.26	5
JLO-4	-3.2	-2.5	-5.4	-3.7 ± 1.5	7
JLO-5	-8.7	-8.1	-8.3	-8.3 ± 0.30	3
JLO-6	-9.4	-9.55	-9.1	-9.35 ± 0.22	2
JLO-7	-5.1	-6.3	-5.7	-5.7 ± 0.6	6

De acuerdo con los resultados observados en la **Tabla 22**, el compuesto más destacado es el compuesto **JLO-1** con un score de -10.2 ± 0.30 , seguido del compuesto **JLO-6** y del compuesto **JLO-5**.

En la **Figura 38** se observa el mapa en 3D del acoplamiento molecular del compuesto más destacado **JLO-1** donde se observa la conformación espacial toma con respecto al ligando co-cristalizado sorafenib, la cual toma una conformación similar, y se observa la interacción de interés entre la urea y el aminoácido Glu501.

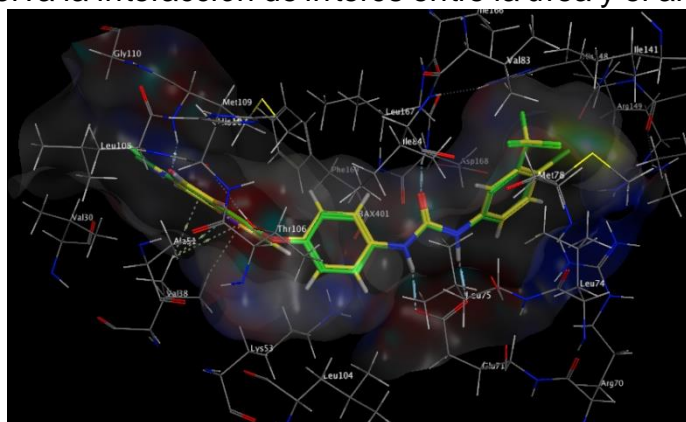


FIGURA 38. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO JLO-1 (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE UNION DE BRAFK

Se observan las interacciones con los residuos de aminoácidos en la **Figura 39** en el mapa en 2D, los residuos de Glu501 y la urea de tipo aceptor y con Asp594 y el carbonilo de la urea de tipo donador, se observa la interacción con Cys 532 de tipo donador con el grupo nitro y la interacción con la Phe595 de tipo H-areno.

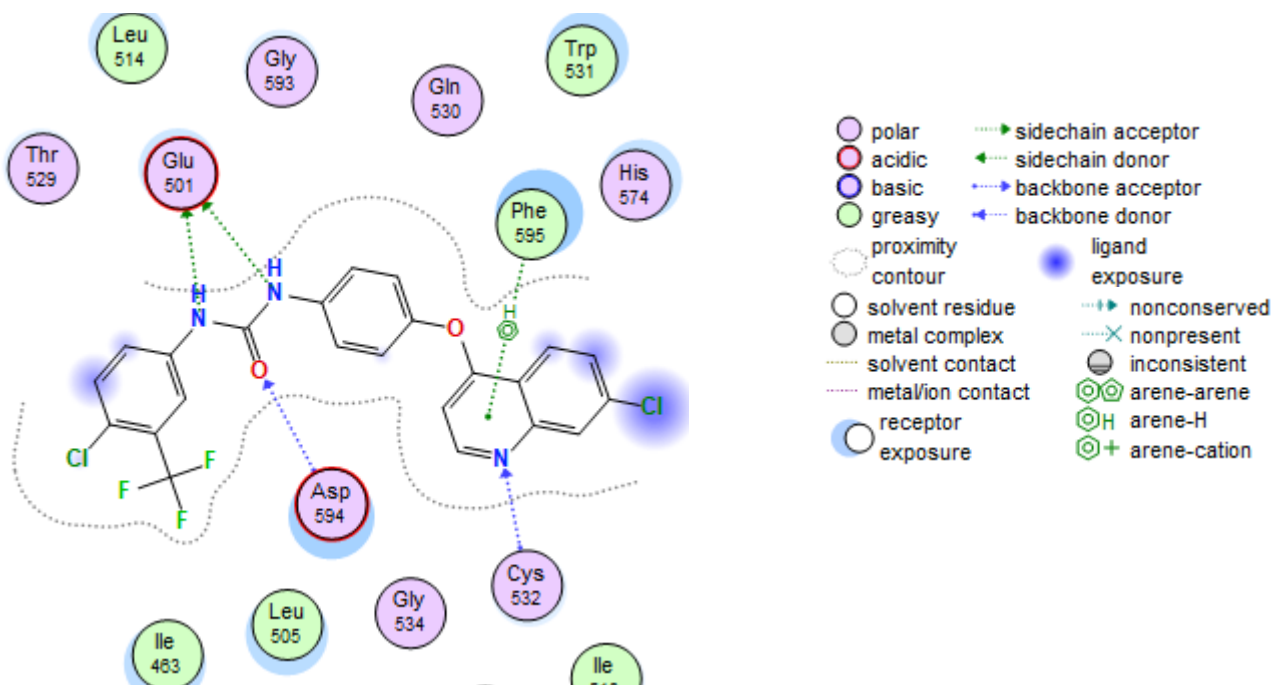


FIGURA 39. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE BRAFK DE JLO-1.

8.2.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS JLO 1-7 SOBRE LA PROTEÍNA VEGRF2.

Después de haber realizado la validación y confirmar que el método de acoplamiento molecular es el adecuado, se procedió a realizar el cálculo por triplicado con los ligandos **JLO 1-7** sobre la proteína VEGRF2. En la **Tabla 23** se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) el ranking de jerarquía.

TABLA 23. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN MOE SOBRE VEGFR2

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-9.6	-10.26	-9.78	-9.88 ± 0.34	1
JLO-2	-9.3	-9.09	-9.15	-9.11 ± 0.03	4
JLO-3	-9.3	-9.17	-9.22	-9.23 ± 0.06	2
JLO-4	-9.3	-9.17	-9.15	-9.10 ± 0.08	5
JLO-5	-8.9	-9.27	-9.19	-9.12 ± 0.19	3
JLO-6	-8.8	-8.75	-8.98	-8.84 ± 0.12	7
JLO-7	-9.3	-8.85	-9.04	-9.06 ± 0.22	6

En la **Tabla 23** se observan los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa MOE donde se ponen en un ranking de acuerdo con su scoring se puede observar que el compuesto **JLO-1** seguido del compuesto **JLO-3** y del **JLO-5**, el compuesto **JLO-1** presentó un scoring de -9.88 ± 0.34 . En la **Figura 40**, se observa el mapa en 3D del acoplamiento de **JLO-1** color amarillo donde se observa la conformación espacial que tomó el ligando co-cristalizado sorafenib en color verde, se observa la interacción con Glu885 cual esta reportada en la literatura con la urea de ambos ligandos.

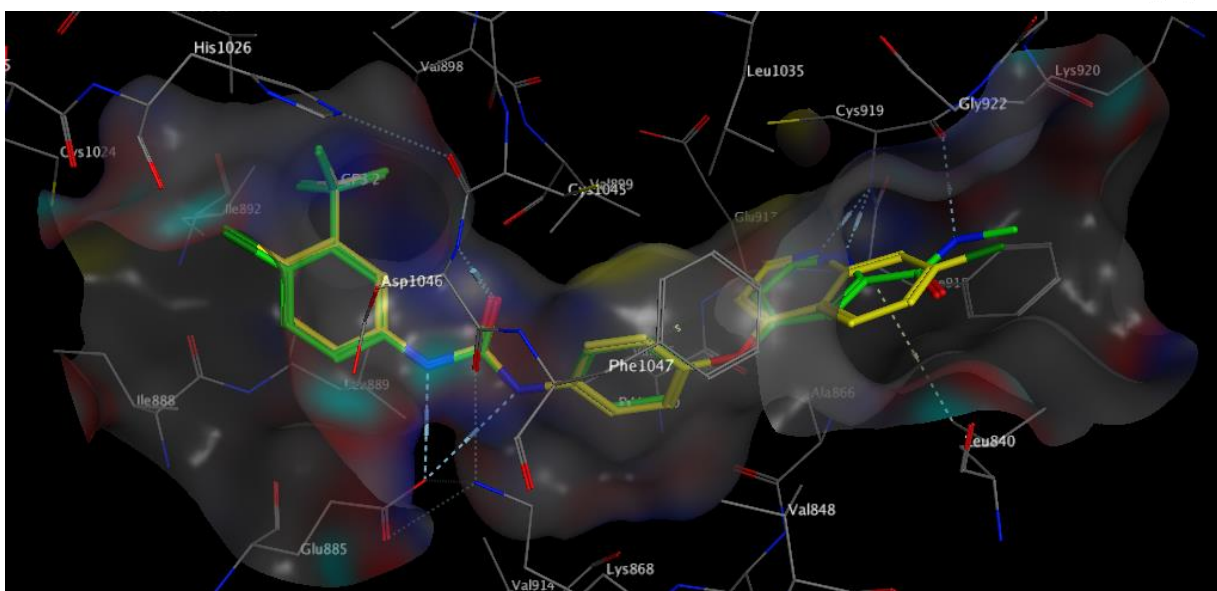


FIGURA 40. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO **JLO-1** (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE VEGFR2

Se observan las interacciones con los residuos de aminoácidos en la **Figura 41** en el mapa en 2D, los residuos de Glu885 y la urea de tipo aceptor y con Asp1046 con el carbonilo de la urea de tipo donador, se observa la interacción con Cys919 con el nitrógeno de la quinolina de tipo donador, una interacción de tipo areno-H con la Phe1047 y el anillo aromático central, se observa otra interacción con la Leu840 de tipo areno-H con el anillo de quinolina y observa que una interacción se ve interrumpida con Glu917.

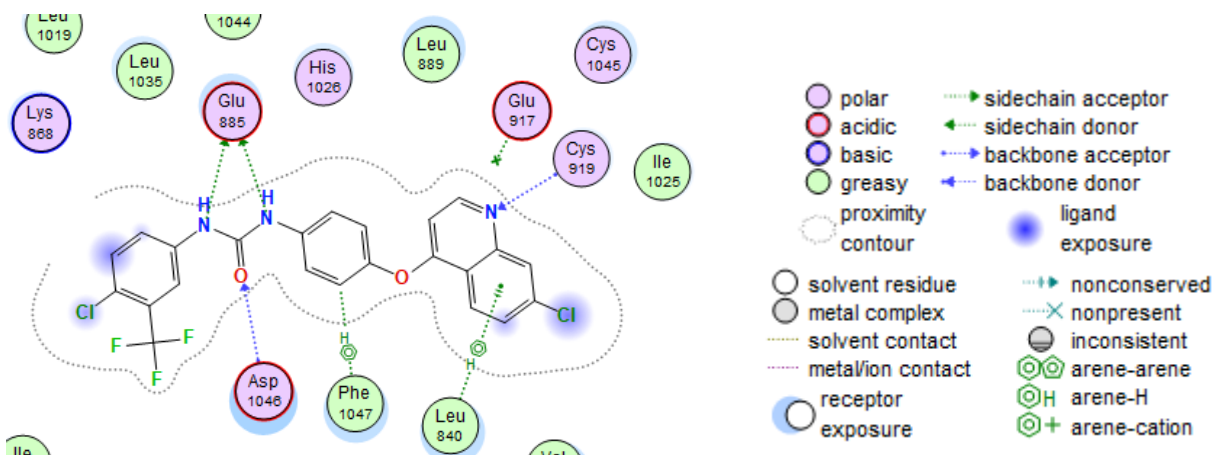


FIGURA 41. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE VEGFR2 DE **JLO-1**

En la **Tabla 24** se muestran los resultados del acoplamiento molecular realizado en el programa autodock 4, cuyo cálculo se realizó por triplicado y se presentan los resultados obtenidos de las energías de unión, su puntuación (scoring) y el ranking de jerarquía.

TABLA 24. SCORING Y RANKING DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN AD4 SOBRE VEGFR2

Compuesto	Docking 1 (kcal/mol)	Docking 2 (kcal/mol)	Docking 3 (kcal/mol)	Scoring	Ranking
JLO-1	-10.2	-9.50	-9.38	-9.69 ± 0.44	1
JLO-2	-6.7	-6.2	-7.2	-6.7 ± 0.5	4
JLO-3	-6.6	-6.1	-5.8	-6.16 ± 0.40	6
JLO-4	-4.6	-5.3	-4.2	-4.7 ± 0.55	7
JLO-5	-8.2	-8.9	-8.4	-8.5 ± 0.36	2
JLO-6	-8.4	-8.1	-7.8	-8.1 ± 0.3	3
JLO-7	-6.2	-6.6	-6.3	-6.33 ± 0.20	5

De acuerdo con los resultados observados en la **Tabla 24** el compuesto más destacado es el compuesto **JLO-1** con un score de -10.2 ± 0.30 , seguido del compuesto **JLO-5** y del compuesto **JLO-6**.

En la **Figura 42** se observa el mapa en 3D del acoplamiento molecular del compuesto más destacado **JLO-1** donde se observa la conformación espacial que toma con respecto al ligando co-cristalizado sorafenib, la cual toma una conformación similar, y se observa la interacción de interés entre la urea y el aminoácido Glu885.

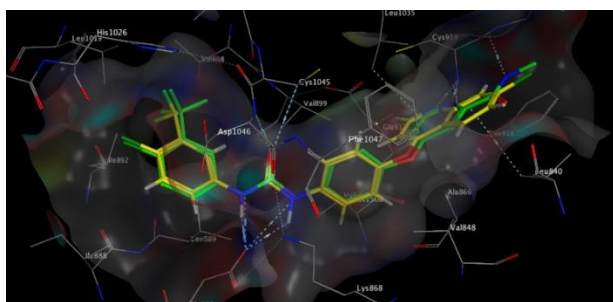


FIGURA 42. DIAGRAMA 3D DEL COMPUESTO **JLO-1** (AMARILLO) SOBRE EL SITIO DE UNION DE VEGFR2

Se observan las interacciones con los residuos de aminoácidos en la **Figura 43** en el mapa en 2D, los residuos de Glu885 y la urea de tipo aceptor y con Asp1046 con el carbonilo de la urea de tipo donador, se observa la interacción con Cys919 con el grupo nitro de tipo donador, una interacción de tipo donador con el grupo nitro con la Gly922, se observa que las interacciones con la Phe1047 y con Glu917 se observan interrumpidas esto se puede deber a la conformación que toma el compuesto **JLO-1** que no permite la interacción.

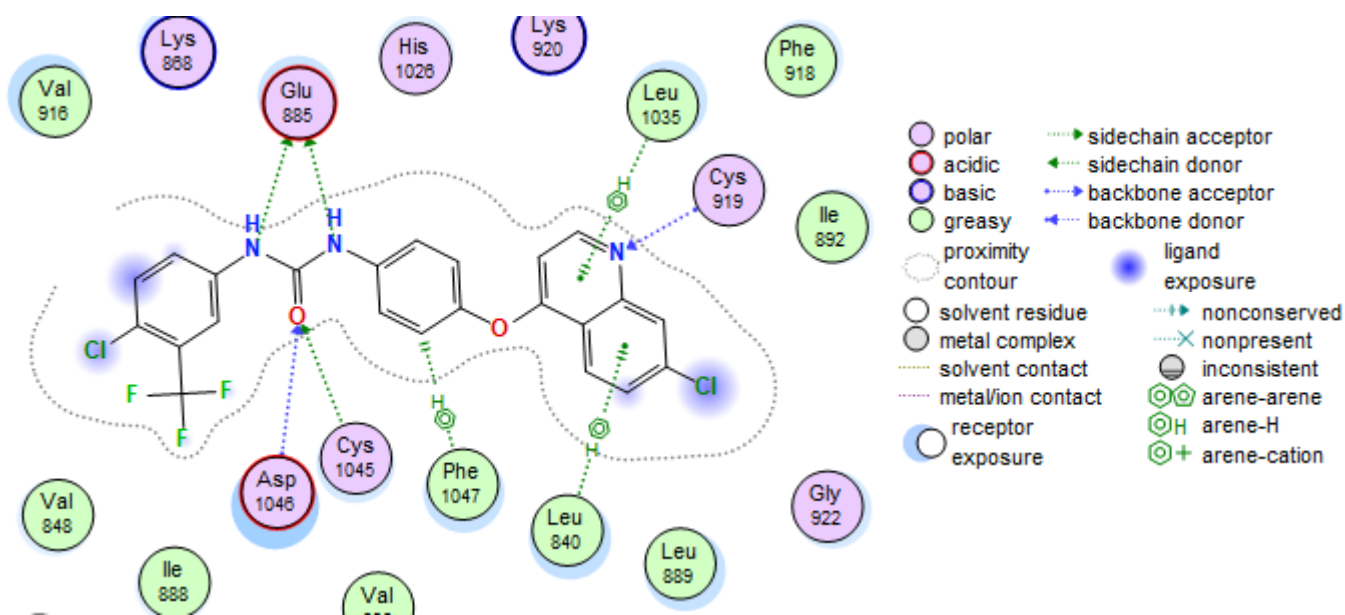


FIGURA 43. DIAGRAMA 2D DE LAS INTERACCIONES SOBRE VEGFR2 DE **JLO-1**

8.3 ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO PARA SELECCIÓN DE UN LÍDER COMPUTACIONAL SEGURO

El análisis de consenso farmacológico consiste en analizar todas las propiedades predictivas: ⁵¹ farmacocinéticas, farmacodinámicas, fisicoquímicas, citotóxicas y toxicológicas. Se realiza con la finalidad de encontrar al (los) compuesto(s) con mejores puntuaciones en esta colección de propiedades con la ayuda de programas químicoinformáticos y apoyado vagamente con los valores de energía de unión a través del acoplamiento molecular con los programas MOE y AUTODOCK 4.

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

En la **Tabla 22** se presenta la compilación de datos de las propiedades farmacológicas de los compuestos **JLO 1-7** y el costo de producción de 200 mg, 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 al cual se le asignó un valor de 3, indica que tiene propiedades muy satisfactorias, el color amarillo al cual se le asignó un valor de 1, indica que tiene propiedades satisfactorias/aceptables, mientras que el color rojo se le asignó un valor de 0, para aquellos compuestos que presentan una alerta estructural de importancia, de esta manera aquel que presente un mejor puntaje sumando cada una de estas propiedades será más sencillo discernir entre los compuestos y elegir a los mejores candidatos hits computacionales seguros.

TABLA 25. ANÁLISIS DE CONSENSO FARMACOLÓGICO DE LOS COMPUESTO JLO 1-7

Propiedades	Sorafenib	JLO-1	JLO-2	JLO-3	JLO-4	JLO-5	JLO-6	JLO-7
Propiedades biofarmacéuticas y fisicoquímicas								
PM (g/mol)	464.83	492.83	464.83	464.83	465.82	451.79	421.81	464.83
Log P	3.78	5.94	3.82	3.82	3.39	4.7	4.9	4.85
Lipinski								
Veber								
Propiedades farmacodinámicas								
Cit. Cel. Tumoral								
Cit. Cel N/T								
SwissTarget								
Dock MOE (score)	-10.37 p38αMAPK	-9.88 VEGFR2	-9.23 p38α	-9.28 p38α	-9.1 VEGFR2	-9.12 VEGFR2	-8.77 p38αMAPK	-9.33 p38αMAPK
Dock AD4 (score)	-12.58 p38αMAPK	-10.02 BRAFK	-7.96 p38αMAPK	-7.5 BRAFK	-4.7 VEGFR2	-8.9 p38α	-9.35 BRAFK	-6.5 p38αMAPK
Propiedades farmacocinéticas								
Abs. Intestinal								
Sus. Pgp								
Toxicidad								
AMES								
hERG								
CYP								
Costos								
200 mg - \$MXN	654.34	60.3	88.68	90.00	84.68	87.61	95.5	87.24
Puntaje	39	39	38	35	38	39	39	37
Ranking	Referencia	1°	4°	5°	7°	2°	3°	6°

NOTA: PM= Peso Molecular, Cit. Cel.= Citotoxicidad Células, Abs. = Absorción, Sus. Pgp = Sustrato glicoproteína P, hERG = human ether-a-go-go related gene, CYP= citocromo P450.

Como se puede ver en la **Tabla 25**, se observan los puntajes obtenidos de los compuestos **JLO 1-7** así como el fármaco de referencia sorafenib, donde el puntaje que obtiene este último es de 39, debido a que presenta alertas como bloqueador de los canales hERG y de un alto costo de producción de 200 mg de compuesto. Para los compuestos **JLO 1-7** los que presentan mayor puntaje de 39 igualando al sorafenib, son el **JLO-1**, **JLO-2**, **JLO-5** y **JLO-6**. Con el fin de discernir y otorgar

una prioridad para la síntesis y evaluación *in vitro* de compuestos seleccionados como hits computacionales seguros, se tomaron en cuenta las diferentes alertas que presenta cada uno y de esta manera se observa que los 4 compuestos con mejores puntajes presentan alertas como posibles bloqueadores de los canales hERG.

Por otra parte, el compuesto **JLO-1** presentó los mejores scores en el acoplamiento molecular con ambos programas, tiene una buena permeabilidad calculada, buenas predicciones tanto farmacocinéticas, farmacodinámicas y de toxicidad, además muestra un bajo costo de producción de 200 mg de compuesto, por lo cual se le otorgó la prioridad número 1 y fue seleccionado como el primer hit computacional seguro. El segundo hit seleccionado fue el compuesto **JLO-5**, que de igual manera presentó buenos scores en los acoplamientos moleculares en relación con los compuestos **JLO-2** y **JLO-6**, buenos perfiles farmacocinéticos y un costo de producción bajo en comparación con los demás compuestos, por lo cual se le otorgó el puesto número 2 de prioridad. Los compuestos **JLO-2** y **JLO-6**, fueron descartados por mostrar bajas predicciones farmacodinámicas y/o un elevado costo de producción y difícil acceso a materias primas.

8.4. PARTE QUÍMICA.

Se realizó la síntesis de los 2 compuestos seleccionados mediante el análisis de consenso farmacológicos, identificados como hits computacionales seguros: **JLO-1** y **JLO-5**, los cuales son análogos del Sorafenib de tipo diarilurea, y a su vez 2 compuestos precursores: **JLO-8** y **JLO-12**. A continuación, se describe el proceso de síntesis de cada uno de ellos.

8.4.1 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)ANILINA (JLO-8)

Para la obtención del compuesto precursor **JLO-8** se realizó una sustitución nucleofílica aromática, colocando la materia prima 4-aminofenol en un matraz y se disolvió en dimetilformamida (DMF) 1:10, agregando carbonato de potasio K_2CO_3 acondicionándolo con atmosfera de nitrógeno (N_2), dejándolo en agitación a temperatura ambiente por 50 min. Posteriormente se agregó la 4,7-dicloroquinolina y se llevó la temperatura a $75^\circ C$ y se dejó en agitación por 12 h (**Figura 44**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (95:5) por cada hora observándose la formación del producto de interés (ataque del oxígeno) y con una prueba colorimétrica de cloruro férrico ($FeCl_3$) para ver la posibilidad de un posible ataque nucleofílico del nitrógeno (prueba de fenoles negativa). Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido café oscuro, el cual fue purificado por medio una columna cromatográfica, obteniendo un sólido color beige. Rendimiento de reacción de 72.48%.

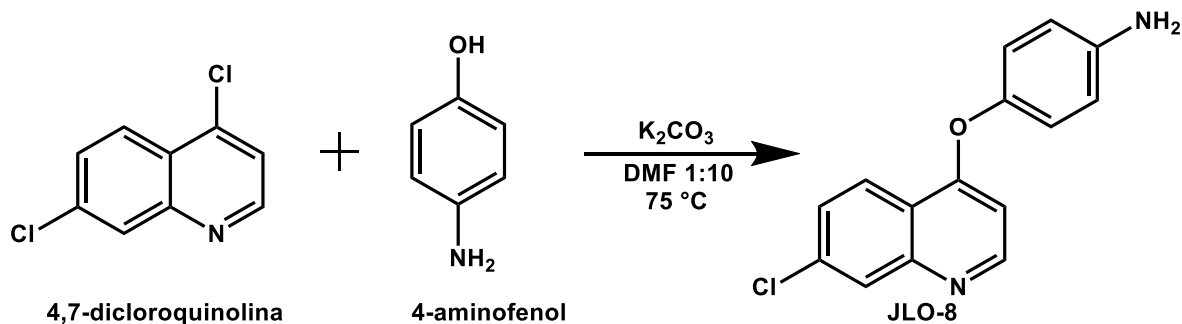


FIGURA 44. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL PRECURSOR **JLO-8**

8.4.2 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 4-(4-NITROFENOXI)ANILINA (JLO-12)

Para la obtención del compuesto precursor **JLO-12** se realizó una sustitución nucleofílica aromática, colocando la materia prima 4-aminofenol en un matraz de y se disolvió en dimetilformamida (DMF) 1:10, agregando carbonato de potasio K_2CO_3 acondicionando con atmosfera de nitrógeno (N_2), se dejó en agitación a temperatura ambiente por 50 min. Posteriormente se agregó el 1-fluoro-4-nitrobenceno y se llevó la temperatura a $75^\circ C$ y se dejó en agitación por 4 h (**Figura 45**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (95:5) cada hora, observándose la formación del producto de interés y con una prueba colorimétrica de cloruro férrico ($FeCl_3$). Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido café oscuro, el cual fue purificado por medio una columna cromatográfica, obteniendo un sólido color amarillo. El rendimiento de reacción fue de 81.15%.

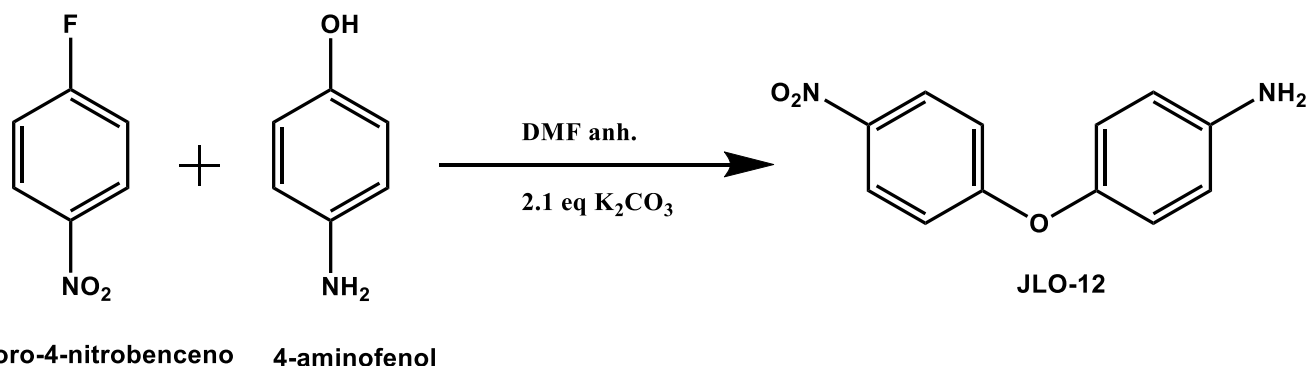


FIGURA 45. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL PRECURSOR **JLO-12**

8.4.3 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)FENIL)UREA (JLO-1)

Para la obtención del compuesto final **JLO-1** se realizó la formación de la urea, disolviendo el compuesto precursor **JLO-8** en 1:20 en acetonitrilo, se dejó en agitación a temperatura ambiente por 15 min. Posteriormente, se agregó el isocianato de 4-cloro-3-(trifluorometil)fenilo y se dejó en agitación por 24 h a temperatura ambiente (**Figura 46**). La reacción fue monitoreada mediante

Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (98:2) por cada hora, observándose la formación del producto de interés. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido café claro, el cual fue purificado por medio una recristalización en metanol:agua MeOH:H₂O, obteniendo un sólido cristalino color blanquecino. El rendimiento de reacción fue de 67.94%.

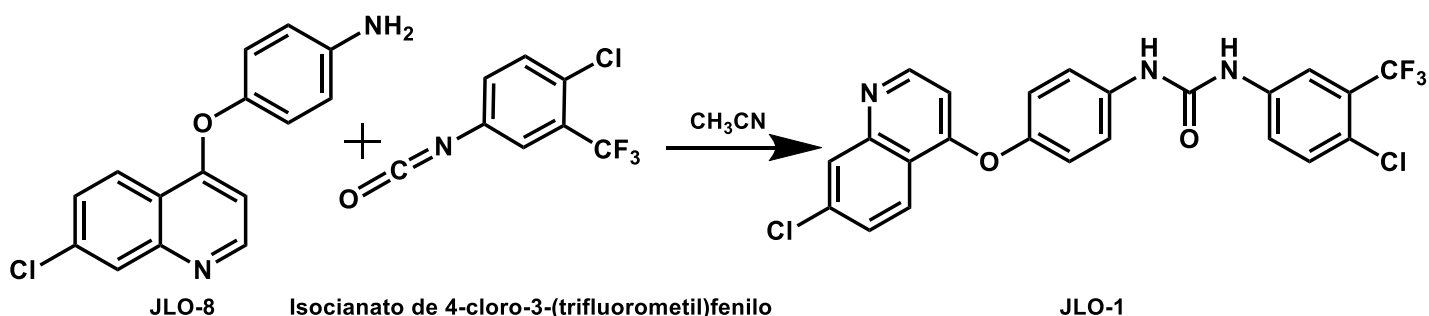


FIGURA 46. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

8.4.4 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-(4-NITROFENOXI)FENIL)UREA (JLO-5)

Para la obtención del compuesto final JLO-5 se realizó la formación de la urea, disolviendo el compuesto precursor JLO-12 en 1:10 de acetonitrilo, se dejó en agitación a temperatura ambiente por 15 min. Posteriormente se agregó el isocianato de 4-cloro-3-(trifluorometil)fenilo y se dejó en agitación por 20 h a temperatura ambiente (Figura 47). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (98:2) cada hora, observándose la formación del producto de interés. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido amarillo claro, el cual fue purificado por medio una recristalización en metanol:agua MeOH:H₂O, obteniendo un sólido cristalino color amarillo. Rendimiento de reacción fue de 81.46%.

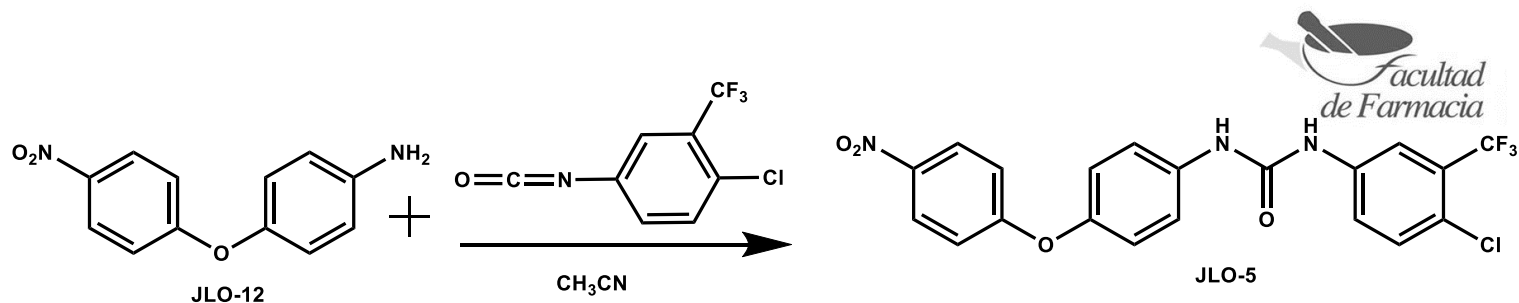


FIGURA 47. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL **JLO-5**

Para la síntesis de los compuestos precursores los tiempos fueron variados de 24 min a 24 h, y cabe mencionar que la síntesis del compuesto precursor **JLO-8** se realizó por diferentes tipos de metodologías, por medio del reactor de temperatura y presiones controladas Anton-Paar, por medio del reactor de microondas CEM y por medio de metodología convencional calentamiento en parrilla, a diferentes temperaturas y obteniendo diferentes rendimientos de reacción, consiguiendo los compuestos en estados físicos de diferente color. Para la purificación de los compuestos fueron usadas diferentes técnicas como cromatografía en columna y recristalizaciones dependiendo del estado de impureza de cada compuesto.

Los compuestos en estado sólido cuentan con puntos de fusión característicos de pureza en intervalos $\leq 2^{\circ}\text{C}$.

Estos resultados se observan en la **Tabla 26**.

TABLA 26. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y DE SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES

Compuestos	Tiempo de reacción	Temperatura de reacción	Rendimiento de reacción	Estado físico	Método de purificación	Punto de fusión	Metodología de síntesis
JLO-8	12 h	75 °C	72.48 %	Sólido Blanco	Columna cromatográfica	98.5 – 99.8 °C	Convencional
JLO-8	40 min	195 °C	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	Anton Paar
JLO-8	24 min	135 °C	79.16 %	Sólido cristalino café claro	Recristalización	99.5- 102.0°C	CEM
JLO-12	4 h	75 °C	80.15 %	Sólido amarillo	Columna cromatográfica	132.5 - 134.5°C	Convencional

Cabe mencionar que para la obtención de los compuestos precursores de tipo anilina se monitoreó con una prueba colorimétrica con una mezcla de agua/metanol/cloruro férrico (FeCl_3) para observar que se haya llevado a cabo la formación correcta del enlace tipo éter, debido a que los fenoles reaccionan con esta mezcla tornándose de un color verde o violeta, como se puede observar en la **Figura 48**. En una placa de toque se dispone de una cantidad mínima de 4-aminofenol en el pocillo A y en el pocillo B se dispone una pequeña cantidad del compuesto ya purificado disuelto en acetona, a cada carril se le agrega una o dos gotas de la mezcla agua/metanol/ FeCl_3 donde se observa que los compuestos precursores pocillo B no se tornan de ningún color conservando el color de la mezcla de un color amarillo, en cambio en el pocillo A al agregar las gotas de la mezcla se tornan de un color violeta intenso/café debido a la presencia del fenol libre. Con esta prueba se pudo hipotetizar que se llevó a cabo la formación del enlace tipo éter.



FIGURA 48. PRUEBA COLORIMÉTRICA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES **JLO-8 Y JLO-12**

Los compuestos finales **JLO-1** y **JLO-5** se obtuvieron con tiempos de reacción de 20 – 24 horas por el método convencional, ambos a temperatura ambiente, con rendimientos de moderados a buenos, obtenidos en estados sólidos de polvos blanco cristalino y amarillo. Para la purificación se realizó una recristalización en metanol:agua. Los compuestos cuentan con un punto de fusión característico de pureza en intervalos $\leq 2^\circ\text{C}$. El compuesto **JLO-8** se sintetizó por diferentes metodologías y se puede observar que la síntesis realizada por medio del reactor de temperatura y presiones controladas monowave 50 de Anton Paar (**Figura 49 A**) fue 18 veces más rápido que el método por calentamiento convencional, en el reactor de microondas CEM (**Figura 49 B**) la síntesis fue 1.6 veces más rápido que en el reactor de Anton Para y 30 veces más rápida que el método de calentamiento

convencional, cuanto al rendimiento se aumenta un poco por el método de microondas debido al tipo de calentamiento que se lleva a cabo.

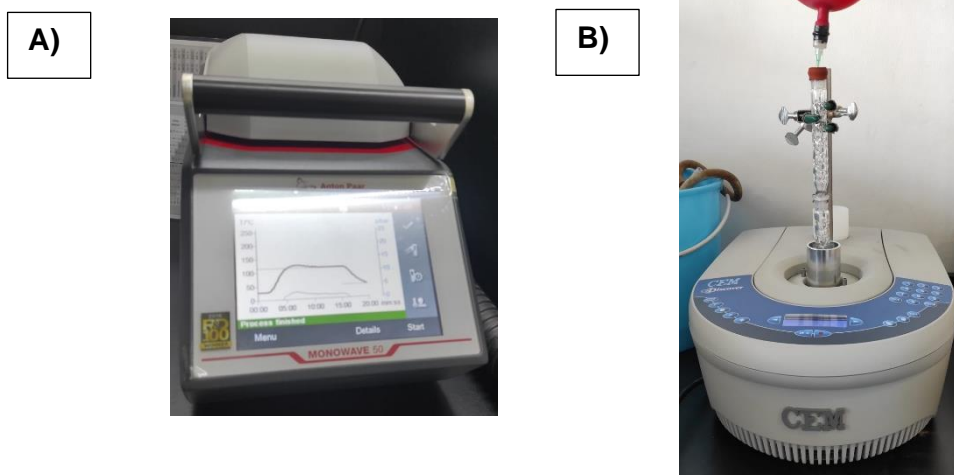


FIGURA 49. A) REACTOR ANTON PAAR, B) REACTOR DE MICROONDAS CEM

TABLA 27. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS SELECCIONADOS COMO HITS COMPUTACIONALES SEGUROS

Compuestos	Tiempo de reacción	Temp. de reacción	Rendimiento de reacción	Estado físico	Método de purificación	Punto de fusión
JLO-1	24 h	Temp. ambiente	67.94 %	Sólido cristalino blanco	Recristalización	146.3-148.5 °C
JLO-5	20h	Temp. ambiente	81.46 %	Sólido amarillo	Recristalización	178.5-180.5 °C

Como se observa en las **Tablas 26** y **27** los compuestos Hits computacionales seguros que fueron seleccionados se lograron sintetizar. Sin embargo, se trató de obtener otros compuestos precursores de tipo acetamida y un análogo del compuesto **JLO-1** de tipo urea. A continuación, se describe la metodología general para cada reacción y una tabla con las diferentes condiciones de reacción.

8.4.5 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 2-CLORO-N-(PIRIDIN-2-IL)ACETAMIDA (JLO-18)

Para la obtención del compuesto precursor **JLO-18** se realizó una reacción de Schotten-Baumann o síntesis de amidas, colocando la materia prima 2-aminopiridina en un matraz de 10 mL y se disolvió en diclorometano (CH_2Cl_2) 1:10, agregando trietilamina (TEA) y se dejó en agitación en baño de hielo por 20 min. Posteriormente, se agregó el cloruro de cloroacetilo gota a gota por medio del embudo de adición de presiones igualadas, una vez terminada la adición se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 4 h (**Figura 50**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (95:5) cada hora, observándose la formación del producto de interés. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido café oscuro, el cual no fue purificado debido a su inestabilidad y fue utilizado en crudo para la siguiente reacción, se obtuvo un sólido color café-grisáceo. Rendimiento de reacción de 58%.

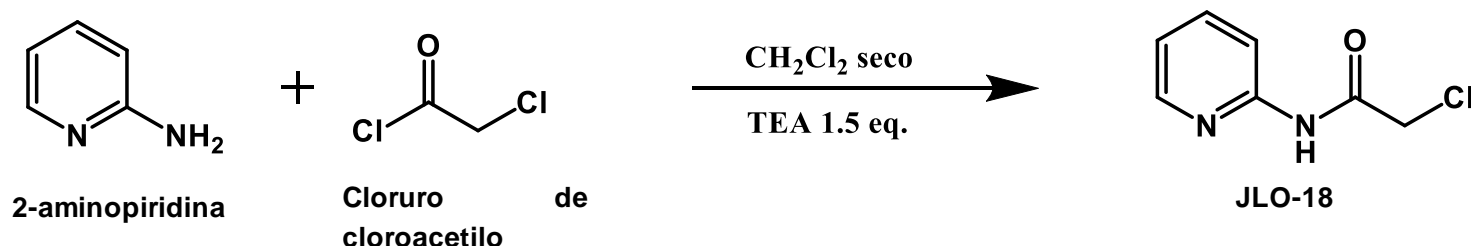


FIGURA 50. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR **JLO-18**

8.4.6 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 2-CLORO-N-(PIRIDIN-4-IL)ACETAMIDA (JLO-19)

Para la obtención del compuesto precursor **JLO-19** se realizó una reacción de Schotten-Baumann o síntesis de amidas, colocando la materia prima 4-aminopiridina en un matraz de 10 mL y se disolvió en diclorometano (CH_2Cl_2) 1:10, agregando trietilamina (TEA) y se dejó en agitación en baño de hielo por 20 min. Posteriormente, se agregó el cloruro de cloroacetilo gota a gota por medio del embudo de adición de presiones iguales, una vez terminada la adición se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 4 h (**Figura 51**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase

móvil de diclorometano:metanol (95:5) cada hora, observándose la formación del producto de interés. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar a sequedad, obteniendo un sólido café oscuro, el cual no fue purificado debido a su inestabilidad y fue utilizado en crudo para la siguiente reacción, se obtuvo un sólido color blanquecino. Rendimiento de reacción de 30%.

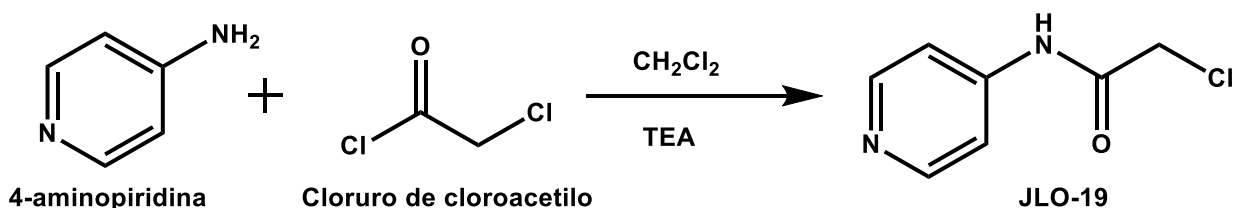


FIGURA 51. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-19

8.4.7 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 2-(4-AMINOFENOXI)-N-(PIRIDIN-2-IL)ACETAMIDA (JLO-9)

Para la síntesis del compuesto precursor JLO-9 se realizó una sustitución nucleofílica bimolecular, colocando la materia 4-aminofenol en un matraz de 10 mL y se disolvió en acetonitrilo CH₃CN 1:10, agregando carbonato de potasio (K₂CO₃), acondicionado con atmosfera de nitrógeno (N₂) y dejándose en agitación a temperatura ambiente por 50 min. Posteriormente, se agregó el compuesto precursor JLO-18 por 4 h (Figura 52). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (90:10) cada hora, observándose la formación del producto de interés y formación de subproductos. Al finalizar la reacción se concentró a sequedad y se le agregó agua fría, al no observar precipitado se procedió a realizar extracción por triplicado con acetato de etilo y agua, se concentró a sequedad obteniendo una resina. Se realizó la purificación por medio de una columna cromatográfica, no se llevó a cabo de manera satisfactoria debido a que el RF del compuesto de interés y los subproductos era reducido.

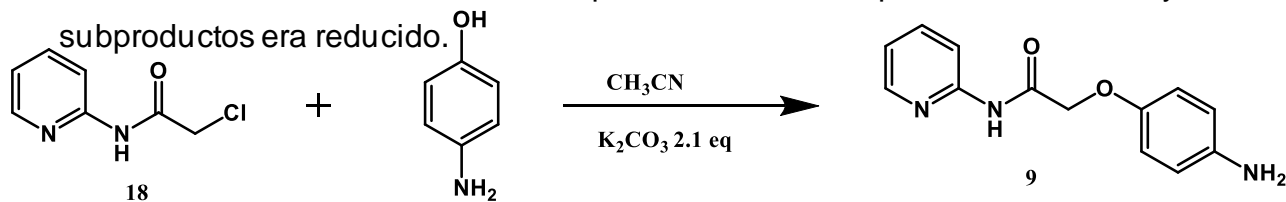


FIGURA 52. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-9

8.4.8 SÍNTESIS DEL COMPUESTO PRECURSOR 2-(4-AMINOFENOXI)-N-(PIRIDIN-4-IL)ACETAMIDA (JLO-10)

Para la síntesis del compuesto precursor **JLO-10** se realizó una sustitución nucleofílica bimolecular, colocando la materia 4-aminofenol en un matraz de 10 mL y se disolvió en acetonitrilo CH₃CN 1:10, agregando carbonato de potasio (K₂CO₃), acondicionado con atmosfera de nitrógeno (N₂) y dejándose en agitación a temperatura ambiente por 50 min. Posteriormente se agregó el compuesto precursor **JLO-19** por 4 h (**Figura 53**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil de diclorometano:metanol (90:10) cada hora, observándose la formación del producto de interés y formación de subproductos. Al finalizar la reacción se concentró a sequedad y se le agregó agua fría, al no observar precipitado se procedió a realizar extracción por triplicado con acetato de etilo y agua, se concentró a sequedad obteniendo una resina. Se realizó la purificación por medio de una columna cromatográfica, no se llevó a cabo de manera satisfactoria debido a que el RF del compuesto de interés y los subproductos era reducido.

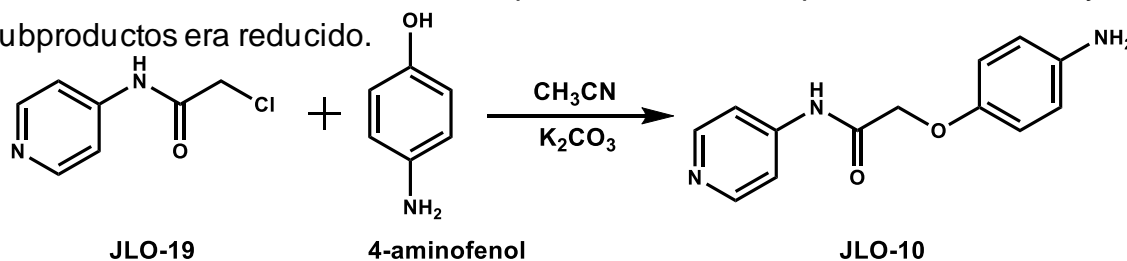


FIGURA 53. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO PRECURSOR **JLO-18**.

8.4.9 SÍNTESIS DEL COMPUESTO FINAL 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)FENIL)TIOUREA (JLO-1a)

Para la obtención del compuesto final análogo **JLO-1a** se realizó la formación de la tiourea, disolviendo el compuesto final **JLO-1** en 1:10 de tetrahidrofurano THF se dejó en agitación a temperatura ambiente por 15 min. Posteriormente, se agregó el Reactivo de Lawesson y se dejó en agitación por más de 72 h a temperatura ambiente (**Figura 54**). La reacción fue monitoreada mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF) en una fase móvil hexano:acetato de etilo 60:40 hasta observar la formación del producto de interés. Al finalizar la reacción se procedió a concentrar

a sequedad, se le agregó agua fría y se dejó en agitación, obteniendo una resina la cual no fue posible purificar por medio de columna cromatográfica ya que el R.F de los subproductos no estaban separados.

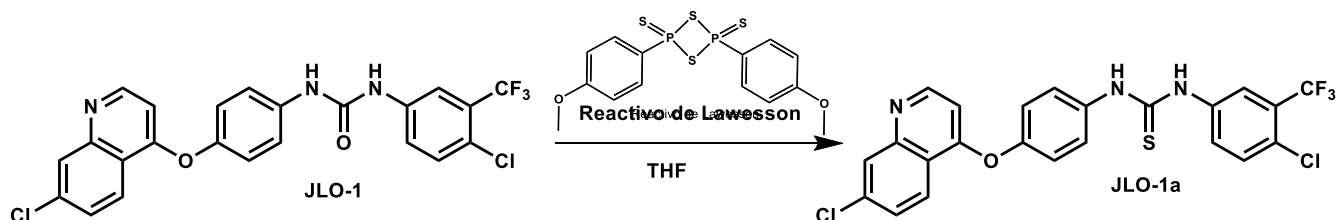


FIGURA 54. RUTA DE SÍNTESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL COMPUESTO FINAL **JLO-1A**

Debido a que la obtención de los compuestos precursores **JLO-19**, **JLO-18**, **JLO-10**, **JLO-9** y el análogo del compuesto **JLO-1** no se obtuvieron de manera satisfactoria, se realizó la síntesis por medio de diferentes condiciones como se puede observar en la siguiente **Tabla 28**.

TABLA 28. CONDICIONES DE REACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES **JLO-18** Y **JLO-19**

Reacción	Reactivos	Base	Disolvente	Temp. °C	observaciones
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	Se obtuvo el compuesto 18 con bajo rendimiento.
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	CH ₂ Cl ₂	45°C	Se observa la formación de subproductos 18 .
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	Rendimiento bajo de 18 , soluble en agua.
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	CH ₂ Cl ₂	45°C	Formación de subproductos de 18 .
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	THF	Ambiente	No se observa formación de 18
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	THF	45 °C	No se observa formación de 18
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	THF	Ambiente	No se observa formación de 18
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	THF	45 °C	No se observa formación de 18
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + bromuro de bromoacetilo	TEA	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	Obtención de 18a , en 2h, bajo rendimiento y subproductos.
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + bromuro de bromoacetilo	TEA	CH ₂ Cl ₂	45°C	No se puede separar 18a de los subproductos
Schotten-Baumann	2-aminopiridina + bromuro de bromoacetilo	Sin base	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	No se puede separar 18a de los subproductos
Schotten-Baumann	4-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	Obtención del compuesto 19 con bajo rendimiento
Schotten-Baumann	4-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	CH ₂ Cl ₂	Ambiente	Soluble en agua y bajo rendimiento de 19
Schotten-Baumann	4-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	TEA	THF	Ambiente	No se observa formación de 19
Schotten-Baumann	4-aminopiridina + cloruro de cloroacetilo	Sin base	THF	Ambiente	No se observa formación de 19

Como se observa en la **Tabla 28** para la síntesis de compuestos precursores **JLO-18** y **JLO-19** realizó en diferentes condiciones como la temperatura, el disolvente con o sin base, aunado a esto no se pudo obtener de manera satisfactoria los compuestos de interés, en la **Tabla 29** se observa las diferentes condiciones para obtener los compuestos precursores **JLO-8** y **JLO-9** y el compuesto final **JLO-1a**.

TABLA 29. CONDICIONES DE REACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS PRECURSORES **JLO-10**, **JLO-9** Y **JLO-1A**

Reacción	Reactivos	Base	Disolvente	Temp. °C	observaciones
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	75 °C	Se observó la formación del producto de interés 9 , presencia de productos y materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	150 watts 90 °C	Duración de reacción de 10 min. Presencia de subproductos y materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	150 °C	Formación de subproductos.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	Glima	75°C	Formación del precursor 9 , formación de subproductos con RF reducido.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	THF	75°C	Formación de precursor 9 , subproductos y presencia de materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	75°C	Reacción más rápida, formación de precursor 9 , subproductos y materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	Glima	75°C	Formación de subproductos, dificultad de purificar el precursor 9 .
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	Dioxano	75°C	Menor formación de subproductos, presencia de materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	Dioxano	Ambiente- 40°C	Mantener temperatura debajo de 40°C, no hay presencia de subproductos y si de materia prima.
SN ₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	75°C	Presencia de subproductos y materia prima, no se observa formación de precursor 10 .

SN₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	CH ₃ CN	150 watts 90 °C	Duración de reacción de 10 min, presencia de materia prima y subproductos
SN₂	JLO-18 + 4-aminofenol	K ₂ CO ₃	Glima	75°C	Formación de precursor 10 , formación de subproductos y presencia de materia prima.
SN₂	JLO-1 + Reactivo de Lawesson	K ₂ CO ₃	THF	50°C	Formación de un subproducto con un RF muy reducido del compuesto de interés, no permite purificar por columna cromatográfica.
SN₂	JLO-18 + Reactivo de Lawesson	K ₂ CO ₃	Tolueno	50°C	No hubo formación de producto.

Como se puede observar en la **Tabla 29**, las reacciones para la obtención de los compuestos se realizaron en diferentes condiciones, las reacciones presentaron formación de subproductos con un RF muy reducido, lo cual imposibilita la purificación por medio de columna cromatográfica. Estas reacciones se consideraron fallidas.

8.5. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS.

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

8.5.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H E INFRARROJO, DEL COMPUESTO PRECURSOR JLO-8.

En la **Figura 55** se presenta el espectro de RMN ^1H del compuesto precursor **JLO-8**. Se observa un singulete (s) a 5.19 ppm que integra para dos protones correspondiendo a los hidrógenos de la amina aromática, a 6.54 ppm se observa una señal doble (d) que integra para un protón con una constante de acoplamiento *orto* típica del núcleo de quinolina (J_{oQ}) de 4.98 Hz, correspondiente al protón 3' del heterociclo, a 6.90 y 6.95 ppm se observa un sistema AA'BB' de dos señales dobles (d) que integran para dos protones cada una, con constantes de acoplamiento *orto* (*o*) J_{o} : 8.46 Hz y J_{o} : 8.62 Hz correspondiente para los protones 2, 6 y 3, 5 del anillo aromático *p*-sustituido (debido a que son químicamente y magnéticamente equivalentes). A 7.63 ppm se observa una señal doble (d) que integra para un protón con una constante de acoplamiento *meta* de quinolina J_{mQ} : 8.82 Hz que corresponde al protón 8', a 8.03 ppm se observa una señal simple (s) que integra para un protón correspondiente al protón 5', otra señal que se observa a 8.3 ppm un doble de dobles (dd) con una constante de acoplamiento *meta* J_{mQ} : 4.32 Hz y una constante de acoplamiento *orto* J_{oQ} : 8.82 Hz correspondiente para el protón 6'. La última señal que se observa es un doblete (d) a 8.6 ppm con una constante de acoplamiento *orto* de quinolina J_{oQ} : 4.8 Hz, correspondiente al protón 2' de la quinolina.

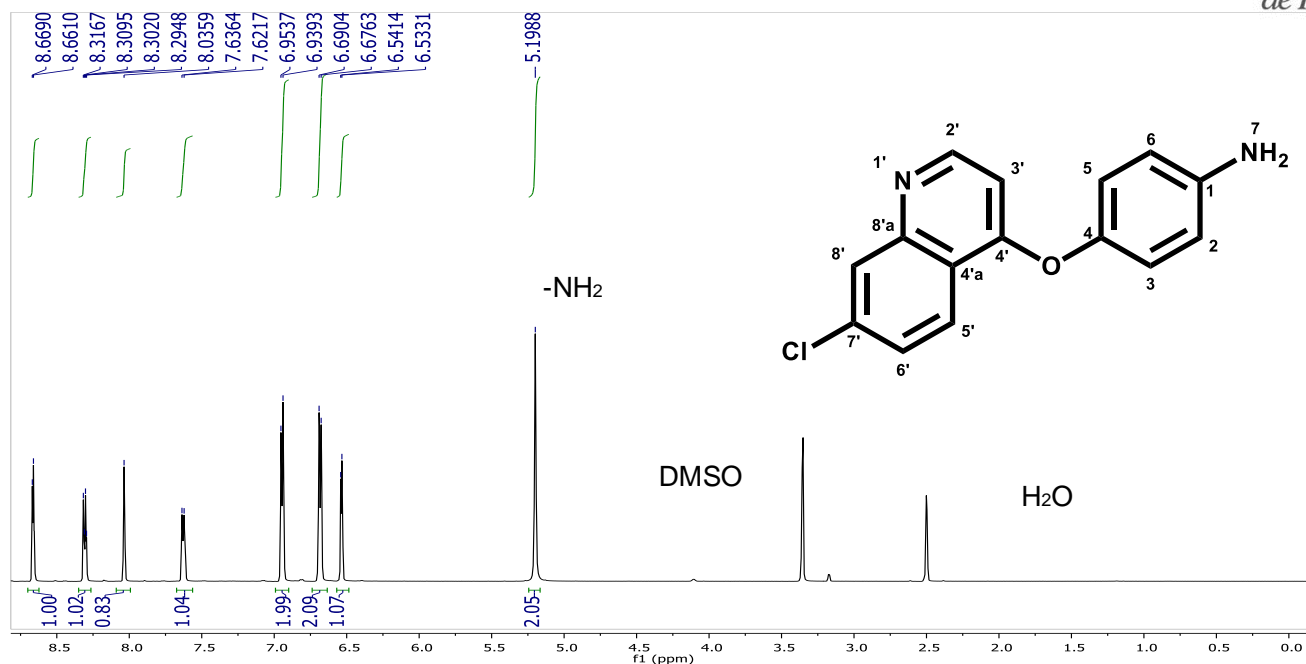


FIGURA 55. ESPECTRO DE RMN 1H (DMSO-D₆, 600 MHZ) DEL COMPUESTO PRECURSOR **JLO-8**

En el espectro de infrarrojo (**Figura 56**) se observan las ondas de banda de los grupos funcionales que contiene los compuestos; para el caso de **JLO-8** se realizó con la finalidad de confirmar que se llevó a cabo de manera correcta la formación del enlace éter después de la reacción de sustitución nucleofílica aromática. En el espectro se muestran varias bandas, destacando las bandas a 3365 y 3443 cm^{-1} que corresponden a los estiramientos N-H₂ de la amina primaria aromática, en dado caso que no se hubiese llevado a cabo la formación del éter, la banda del fenol se observaría en 3500 cm^{-1} y sería una banda ancha prominente.

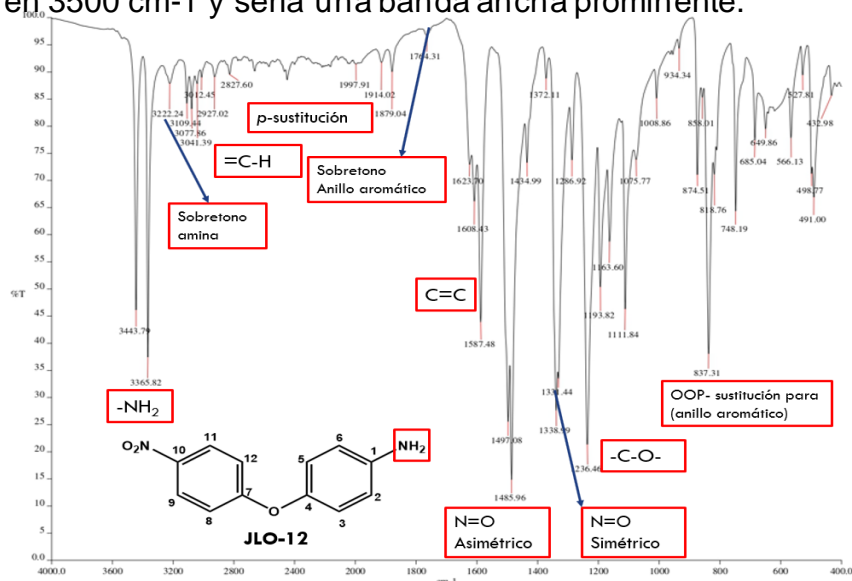


FIGURA 56. ESPECTRO DE INFRARROJO (IR) DEL COMPUESTO PRECURSOR **JLO-8**

8.5.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H y ^{13}C DEL COMPUESTO FINAL JLO-1.

En la **Figura 57** se observa el espectro de RMN de ^1H del compuesto final **JLO-1** en el cual se observa que se conservan las señales del anillo aromático central *p*-sustituido y de la quinolina, cabe destacar que se observa la desaparición de la señal simple (s) a 5.19 ppm correspondientes para la amina aromática, y se observa la aparición de dos nuevas señales simples (s) a más de 9 ppm correspondientes para los protones de la urea.

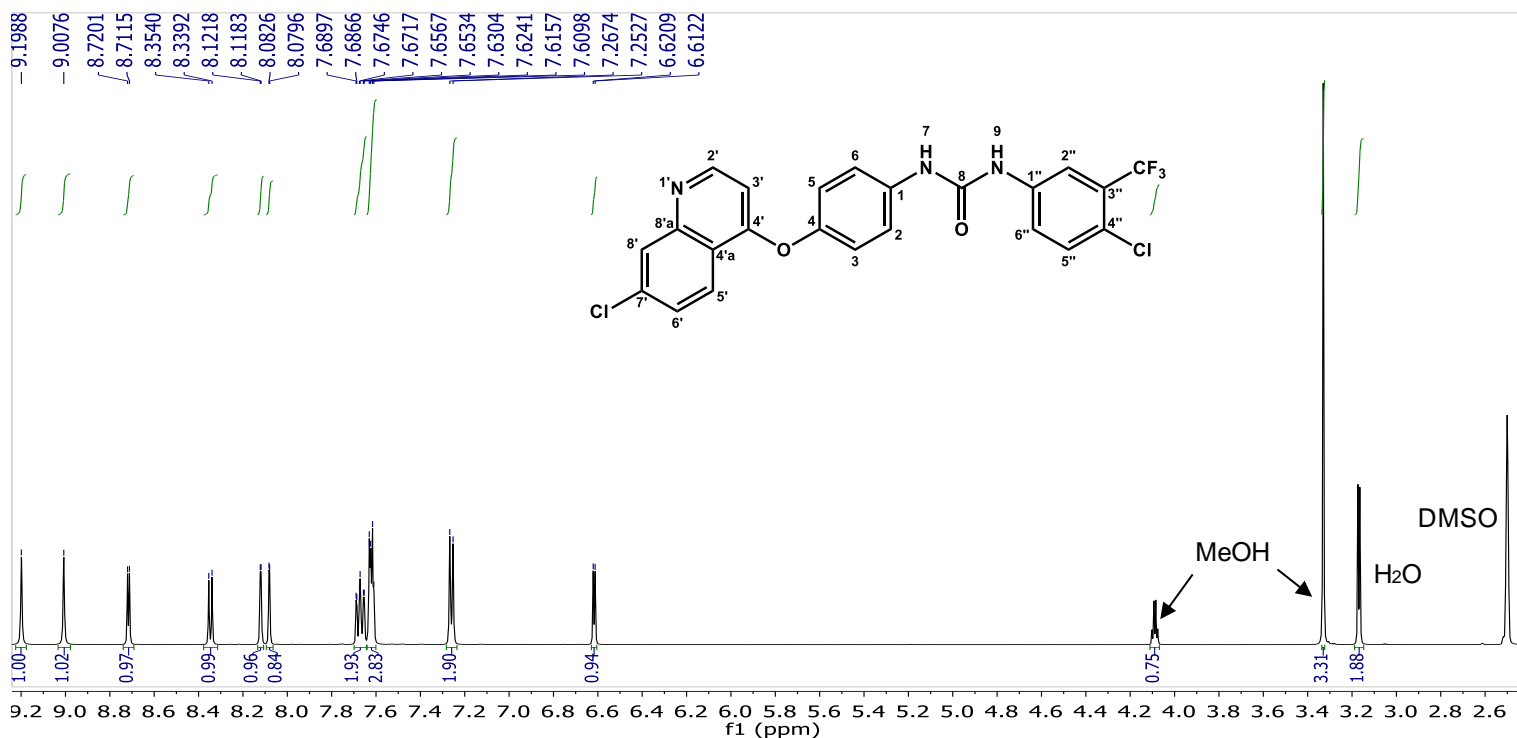


FIGURA 57. ESPECTRO DE RMN ^1H (DMSO-d_6 , 600 MHz) DEL COMPUESTO FINAL **JLO-1**

En la región aromática se observan nuevas señales correspondientes al anillo que tiene el trifluorometilo: se observa un sistema ABX como se muestra en la **Figura 58**, donde a 7.67 ppm se muestra un multiplete (*m*) que corresponde para el protón 6'' del anillo trisustituido, a 8.12 ppm se observa una señal doble (*d*) que integra para un protón con una constante meta J_m : 2.1 Hz correspondiente para el protón 2'' y una señal doble (*d*) que integra para un protón con una constante de acoplamiento *orto* J_o : 8.88 Hz correspondiente para el protón 5''.

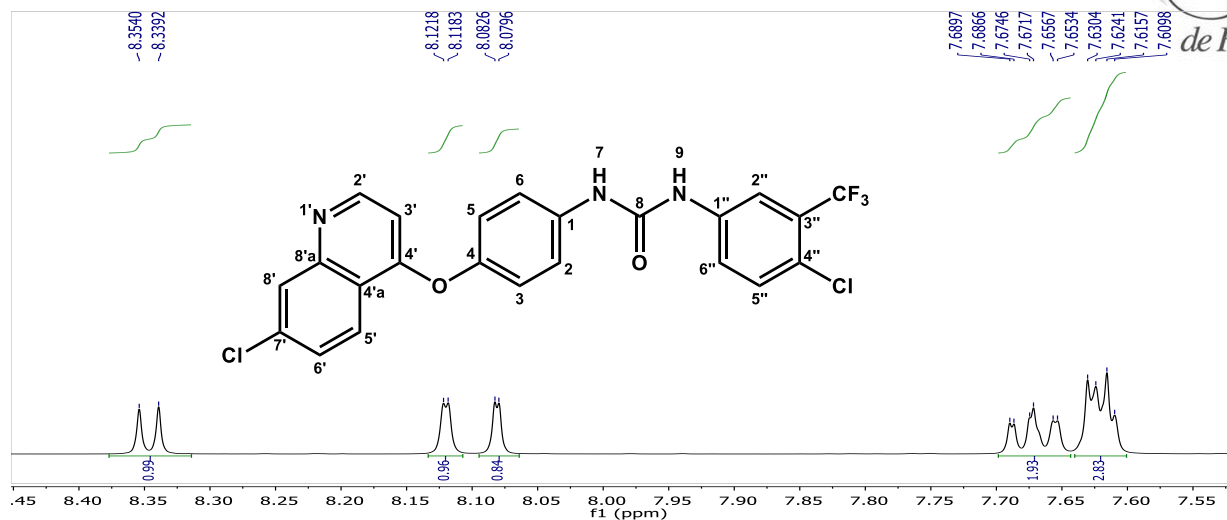


FIGURA 58. EXPANSIÓN DE LA ZONA AROMÁTICA DEL ESPECTRO DE RMN 1H (DMSO-D6, 600 MHZ) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

En la **Figura 59** se observa el espectro de RMN de ^{13}C donde se observan 24 señales de las 21 señales que se esperaban para el compuesto **JLO-1**, cabe mencionar que se observan señales de más debido a las señales que se presentan por los acoplamientos C-F. Se observa a 120.4 y 121.5 ppm dos señales grandes correspondientes para los carbonos 2,6 y 3,5 del anillo aromático central debido a que son química y magnéticamente equivalentes y a 161.4 ppm se observa la señal del carbonilo de la urea, además de las señales características del anillo de quinolina.

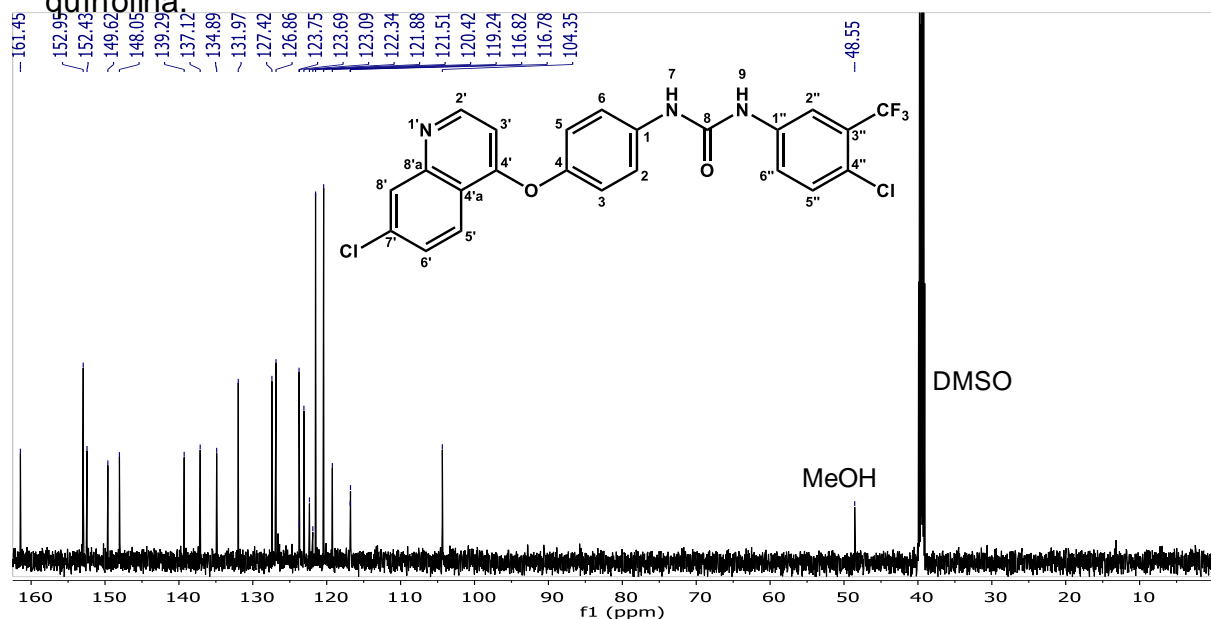


FIGURA 59. ESPECTRO DE RMN ^{13}C (DMSO-D6, 150 MHZ) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

En la **Figura 60** se presenta la expansión del espectro de ^{13}C donde se pueden observar las señales del acoplamiento C-F del $-\text{CF}_3$, a 122.8 ppm se observa un

cuarteto (q) correspondiente al acoplamiento C-F a un enlace de distancia con una constante de acoplamiento de 273 Hz, a 126.5 ppm se observa otro cuarteto (q) con una constante de acoplamiento de 30 Hz correspondiente a un acoplamiento C-F a dos enlaces de distancia y por último otro cuarteto (q) a 116.75 ppm con una constante de acoplamiento C-F de 4.9 Hz la cual corresponde a tres enlaces de distancia.

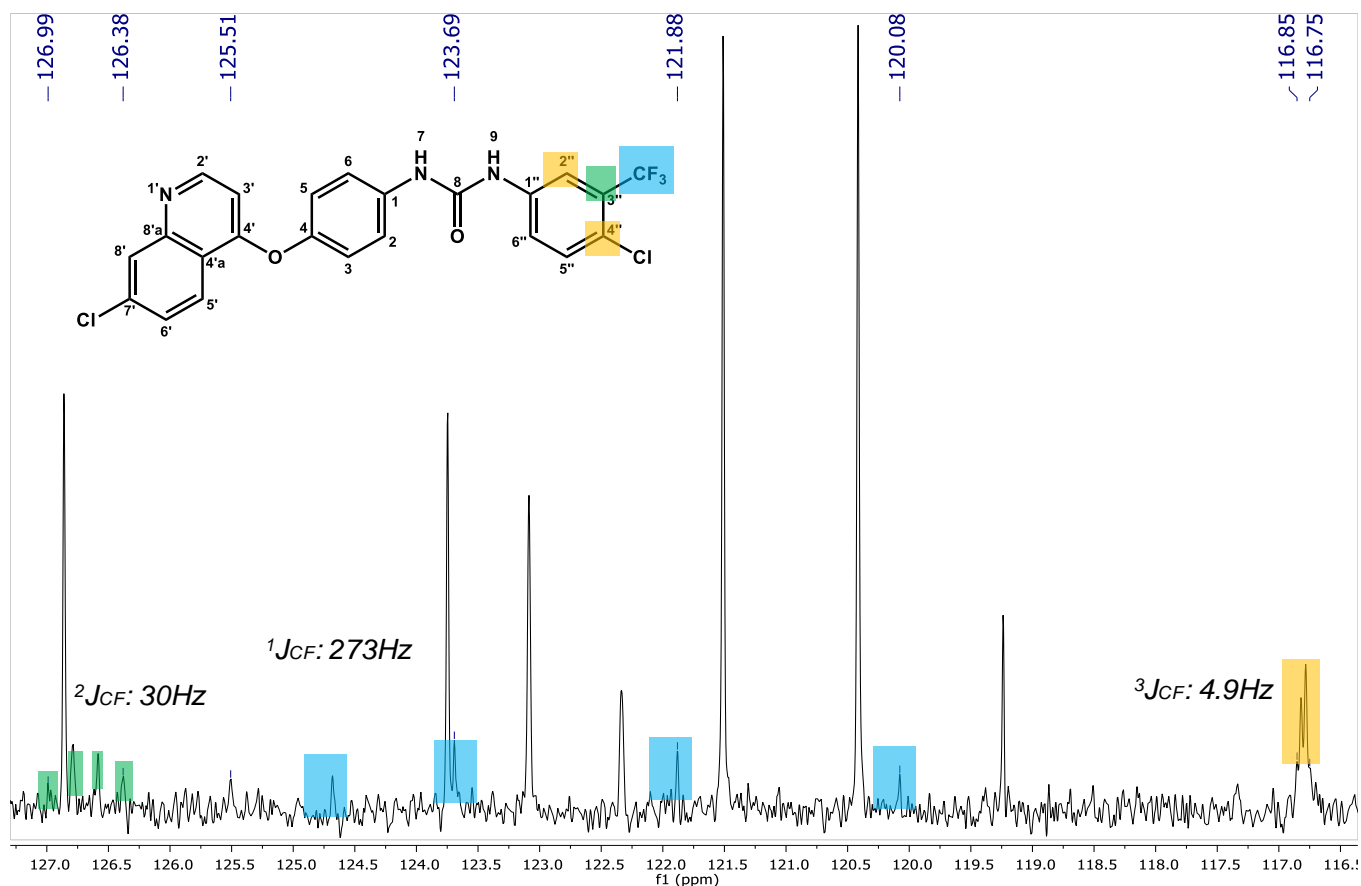


FIGURA 60. EXPANSIÓN DE LA REGIÓN AROMÁTICA PARA OBSERVAR LOS ACOPLAMIENTOS C-F DEL ESPECTRO DE RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

En las **Tablas 30 a 34** se concentran los datos obtenidos de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C para los compuestos sintetizados.

8.5.3 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

Otra de las técnicas para caracterizar los compuestos sintetizados es la espectrometría de masas por impacto electrónico (EM-IE), esta técnica 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 61** se observa la fragmentación que se llevó a cabo del compuesto final **JLO-1**, cabe mencionar que en el espectro de masas del compuesto no se observa el ion molecular.

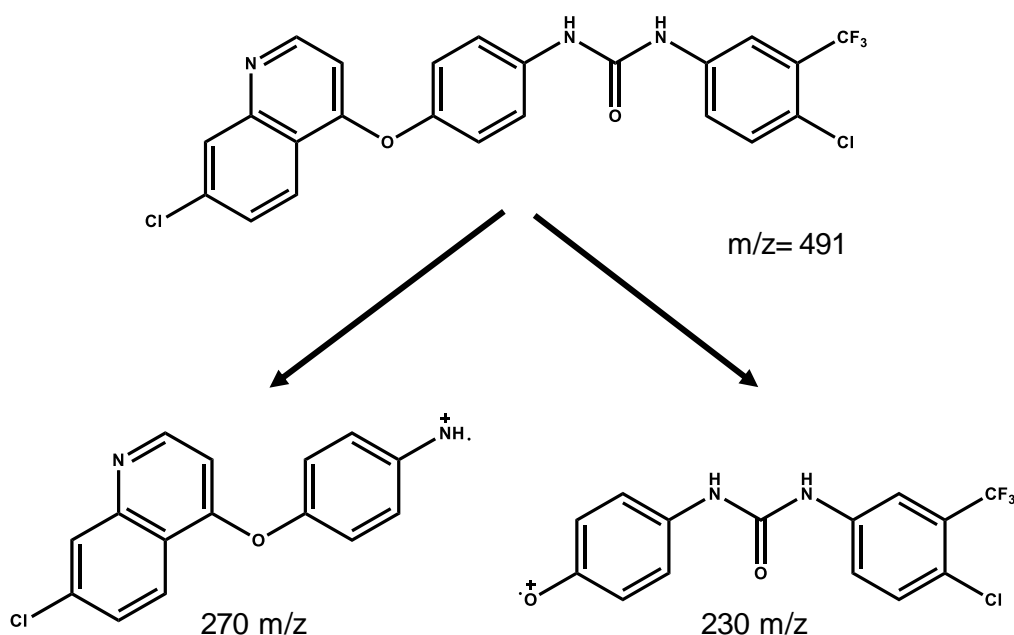


FIGURA 61. FRAGMENTACIÓN OBSERVADA EN EL ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO **JLO-1**

En la **Figura 62** se observa el espectro de masas del compuesto final **JLO-1** se observa el pico base el cual corresponde al (M-221) con una relación masa/carga (m/z) de 270 y una abundancia relativa del 100%; lamentablemente no se logra observar el ion molecular, otro de los picos abundantes se observa como un fragmento con una abundancia relativa del 70% con una relación m/z de 108. Se observan dos fragmentos más con una abundancia relativa mínima que apenas detectó el espectro con una relación m/z de 313 y 330.

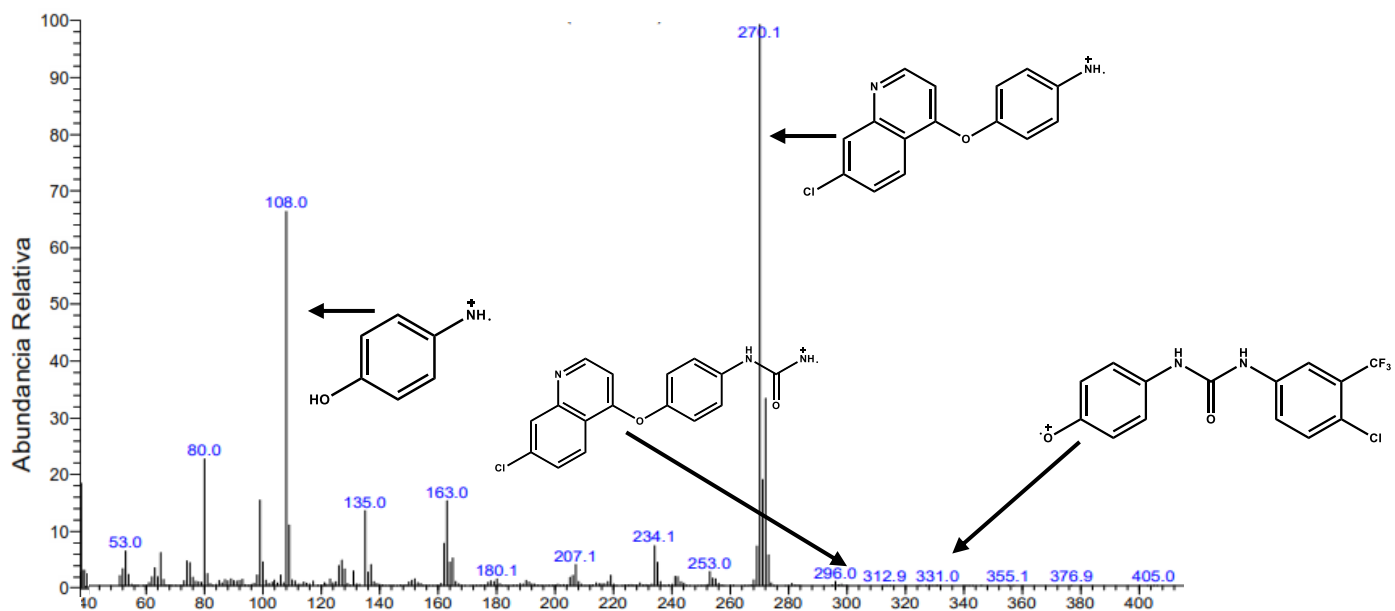
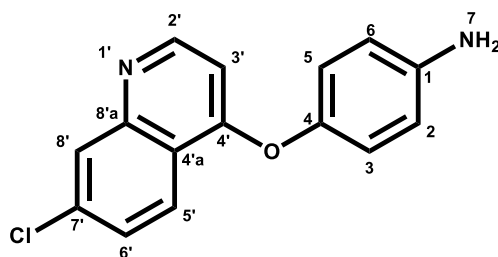


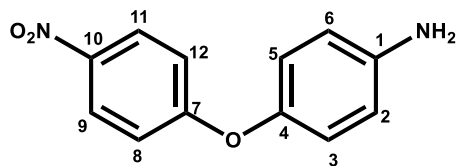
FIGURA 62. ESPECTRO DE MASAS POR IE DEL COMPUESTO FINAL JLO-1

TABLA 30. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H DEL COMPUESTO **JLO-8**

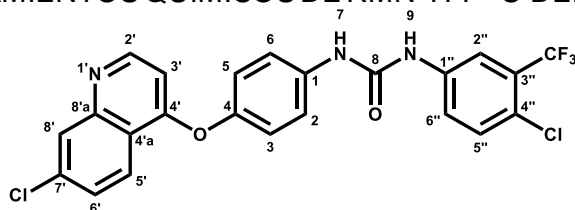


Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)
1	-	-	-
2	6.69	<i>d</i>	8.46
3	6.95	<i>d</i>	8.62
4	-	-	-
5	6.95	<i>d</i>	8.62
6	6.69	<i>d</i>	8.46
NH ₂	5.19	<i>s</i>	-
1'	-	-	-
2'	8.66	<i>d</i>	4.8
3'	6.54	<i>d</i>	4.98
4'	-	-	-
4'a	-	-	-
5'	8.03	<i>s</i>	-
6'	8.30	<i>dd</i>	8.82, 4.32
7'	-	-	-
8'	7.63	<i>d</i>	8.82
8'a	-	-	-

TABLA 31. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H DEL COMPUESTO **JLO-12**

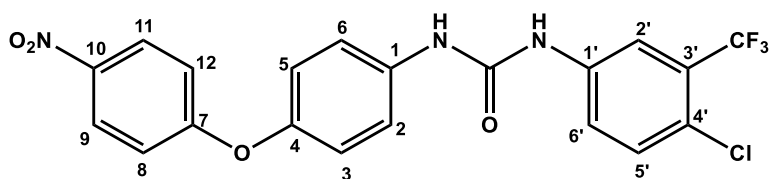


Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (Hz)
1	-	-	-
2	6.65	<i>d</i>	8.14
3	6.85	<i>d</i>	8.46
4	-	-	-
5	6.85	<i>d</i>	8.46
6	6.65	<i>d</i>	8.14
NH ₂	5.14	<i>s</i>	-
7	-	-	-
8	7.00	<i>d</i>	8.14
9	8.18	<i>d</i>	9.24
10	-	-	-
11	8.18	<i>d</i>	9.24
12	7.00	<i>d</i>	8.14

TABLA 32. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H Y ¹³C DEL COMPUESTO JLO-1


Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ¹³ C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	116.7
2	7.60	<i>d</i>	8.82	119.2
3	7.26	<i>d</i>	8.82	120.4
4	-	-	-	121.5
5	7.26	<i>d</i>	8.82	120.4
6	7.60	<i>d</i>	8.82	119.2
7-NH	9.19	<i>s</i>	-	-
8- C=O	-	-	-	161.4
9-NH	9.0	<i>s</i>	-	-
1'	-	-	-	-
2'	6.62	<i>d</i>	5.22	152.9
3'	8.72	<i>d</i>	5.4	131.9
4'	-	-	-	149.6
4'a	-	-	-	152.4
5'	7.60	<i>d</i>	5.4	123.7
6'	7.67	<i>m</i>	-	126.8
7'	-	-	-	148.0
8'	8.08	<i>d</i>	1.8	127.4
8'a	-	-	-	139.2
1''	-	-	-	116.8
2''	8.11	<i>d</i>	2.1	134.8
3''	-	-	-	104.3
4''	-	-	-	137.1
5''	8.35	<i>d</i>	8.88	121.8
6''	7.67	<i>m</i>	-	123.6
¹ C-F	-	<i>q</i>	273	121.88
² C-F	-	<i>q</i>	30	126.68
³ C-F	-	<i>q</i>	4.9	116.85

TABLA 33. DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS DE RMN ¹H Y ¹³C DEL COMPUESTO **JLO-5**



Posición	δ ¹ H ppm (600 MHz)	Multiplicidad	J (HZ)	δ ¹³ C ppm (150 MHz)
1	-	-	-	137.2
2	7.09	<i>d</i>	9.12	120.9
3	7.57	<i>d</i>	8.88	121.5
4	-	-	-	139.7
5	7.09	<i>d</i>	9.12	121.5
6	7.57	<i>d</i>	8.88	120.9
NH	8.95	<i>s</i>	-	-
C=O	-	-	-	152.9
NH	9.17	<i>s</i>	-	-
7	-	-	-	142.4
8	7.13	<i>d</i>	8.87	117.2
9	8.23	<i>d</i>	8.87	126.6
10	-	-	-	149.20
11	8.23	<i>d</i>	8.87	126.6
12	7.13	<i>d</i>	8.87	117.2
1'	-	-	-	123.5
2'	8.10	<i>d,q</i>	2.04, 7.4	125.3
3'	-	<i>q</i>	30	127.1
4'	-	<i>q</i>	7.4	125.3
5'	7.60	<i>d</i>	8.82	132.4
6'	7.65	<i>dd</i>	8.76, 1.98	122.8
C-F	-	<i>q</i>	271.5	123.2

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 el ensayo *in vitro* sobre las líneas celulares cancerígenas HUH-7, PC-3 y células inmortalizadas HacaT y células sanas HFF-1 con los hits computacionales seguros: **JLO-1** y **JLO-5**. Este ensayo se realizó en colaboración con la Dra. Jessica Nayeli Sánchez Carranza del laboratorio 7 de diagnóstico molecular de la Facultad de Farmacia de la UAEM

8.6.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

Una vez concluida la síntesis de los compuestos hits computacionales seguros **JLO-1** y **JLO-5** priorizados en el análisis de consenso farmacológico y de haber realizado su caracterización espectroscópica y espectrométrica, se procedió a realizar la evaluación por medio de un ensayo *in vitro* de citotoxicidad en diferentes líneas celulares cancerígenas: HUH-7 carcinoma hepatocelular, HepG2 carcinoma hepatocelular, PC-3 carcinoma de próstata, HeLa adenocarcinoma de cuello uterino, en línea celulares inmortalizadas de queratinocitos HacaT y línea celular sana de fibroblastos HFF-1. Como datos extras se consultaron las concentraciones citotóxicas medias (CC₅₀) del fármaco sorafenib que es un fármaco multi-target de proteínas quinasas y está indicado para el tratamiento de carcinoma hepatocelular y cáncer renal primario, estos datos se consultaron en la página: “La genómica de la Sensibilidad a los Medicamentos en el Cáncer” (GDSC, por sus siglas en inglés) del Hospital General de Massachusetts.⁵²

Los compuestos se clasifican de acuerdo con los resultados de Concentración Citotóxica media (CC₅₀) como se puede observar en la **Tabla 34**, una molécula bioactiva, en este caso un compuesto citotóxico, se considerará *ordinario* cuando su CC₅₀ este entre 10-50 μM ; 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 CC₅₀ menor de un 1 μM (menor de 1000 nM).

TABLA 34. CLASIFICACIÓN DE COMPUESTOS DE ACUERDO CON SU CC_{50}

Clasificación de compuestos de acuerdo con su CC_{50}	
Ordinario	CC_{50} 10-100 μ M
Hit	1 μ M < CC_{50} < 10 μ M
Líder	CC_{50} < 1 μ M (<1000 nM)

Como se puede observar en la **Tabla 34**, entre menor sea la CC_{50} más potente es el compuesto, siendo los compuestos *hit* y los compuestos *lideres* los más destacables de una exploración químico-farmacéutica.

8.6.1.1 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD DEL COMPUESTO JLO-1 (QUINOTINIB)

El ensayo de citotoxicidad que se realizó del compuesto **JLO-1** el cual se denominó **Quinotinib** debido a que contiene una quinolina en su estructura, para realizar este ensayo se utilizaron diferentes líneas celulares cancerígenas y no cancerígenas como:

Las células HepG2 es una línea celular de cáncer hepatocelular, son no tumorigénicas y presentan altas tasas de proliferación. También son capaces de secretar muchas proteínas plasmáticas, como transferrina, fibrinógeno, plasminógeno y albúmina. Siendo el marcador de expresión el factor de crecimiento similar a la insulina II (IGF II).⁵³

Las células HUH7 es una línea celular hepática humana inmortal altamente heterogénea. Son células tumorigénicas, adherentes, que normalmente generan monocapas celulares bidimensionales.⁵⁴

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. El adenocarcinoma de cuello uterino ocupa el segundo lugar de incidencia con

respecto al cáncer de cérvix con una incidencia del 10-15% frente al 85-90% del carcinoma escamoso o epidermoide.⁵⁵

La línea celular PC-3 es una línea celular de cáncer de próstata, es el tipo de cáncer más frecuente en varones y constituye la segunda causa de mortalidad en varones por debajo del cáncer de pulmón y del cáncer colorrectal.^{27,56}

En la **Tabla 35** se observa la CC₅₀ del compuesto **JLO-1** sobre las diferentes líneas celulares cancerígenas.

TABLA 35. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-1 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

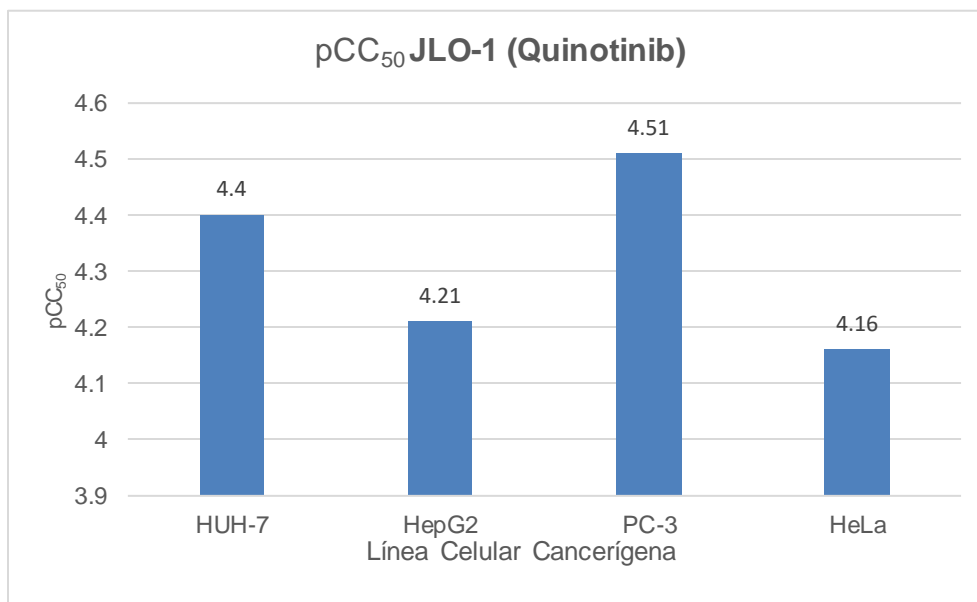
Línea celular	JLO-1 (Quinotinin) CC ₅₀ μM
HUH-7	39.57 ± 8.13
HepG2	60.94 ± 6.9
HeLa	69.06 ± 10.16
PC-3	30.67 ± 6.5

Con base en los resultados que se observan en la **Tabla 35**, el compuesto **JLO-1** presentó actividad citotóxica sobre todas las líneas celulares clasificándose como compuesto ordinario experimental, destacando la CC₅₀ sobre la línea celular HUH-7 de carcinoma hepatocelular y sobre la línea celular PC-3 que es de carcinoma de próstata con 39.57 ± 8.13 y 30.67 ± 6.5 μM respectivamente.

Para poder observar mejor la relación de potencia sobre cada una de las líneas celulares cancerígenas, se calculó la pCC₅₀ el cual es el -log del valor de la CC₅₀ y se calcula de la siguiente manera.

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

Una vez calculado los valores de pCC₅₀ del compuesto **JLO-1** se graficaron como se muestra en la **Gráfica 4**.



Gráfica 4. VALORES DE PCC₅₀ DE JLO-1 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

Como se puede observar en la **Gráfica 4** el compuesto **JLO-1** denominado **Quinotinib** presentó una pCC₅₀ mayor de 4.4 y 4.51 sobre las líneas celulares HUH-7 y PC-3 respectivamente, lo cual nos indica una mayor potencia de citotoxicidad.

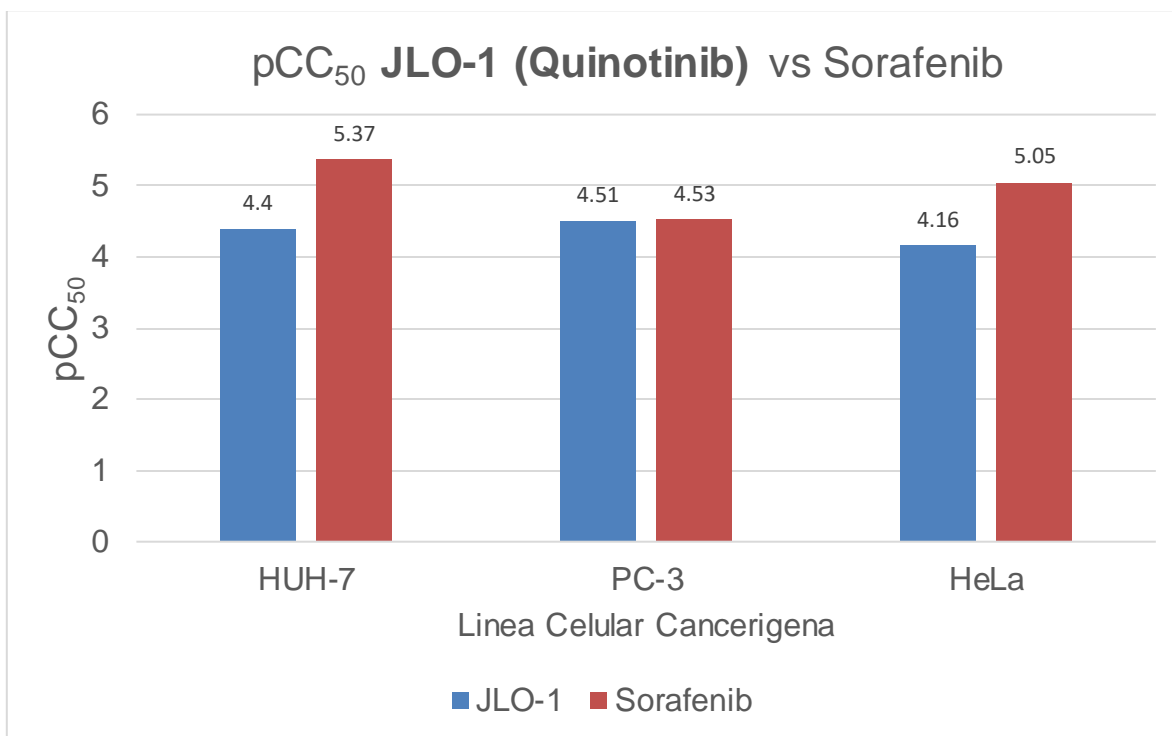
Estos resultados se compararon con la CC₅₀ del Sorafenib de las líneas celulares HUH-7 línea de cancerígena hepatocelular, la línea celular PC-3 de cáncer de próstata y sobre la línea celular HeLa obtenidos de la página: “La genómica de la Sensibilidad a los Medicamentos en el Cáncer” (GDSC, por sus siglas en inglés) del Hospital General de Massachusetts.

En la **Tabla 36** se observa la comparación de CC₅₀ del Sorafenib y del **Quinotinib**.

TABLA 36. VALORES DE CC₅₀ DE JLO-1 CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

Línea Celular	CC ₅₀ μM	
	JLO-1 (Quinotinib)	Sorafenib
HUH-7	39.57 ± 8.13	2.25
PC-3	30.67 ± 6.5	29.36
HeLa	69.06 ± 10.16	8.83

De acuerdo con la **Tabla 36**, se observa que el sorafenib presenta CC_{50} más potentes que el **Quinotinib** sobre la línea celular HUH-7 y HeLa, sin embargo, sobre la línea celular PC-3 se observa que la CC_{50} es equipotente, para poder observar esta relación se graficó la pCC_{50} del **Quinotinib** vs el **Sorafenib**.



GRÁFICA 5. VALORES DE pCC_{50} DE **JLO-1** CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

De acuerdo con la **Grafica 5**, el sorafenib es más potente que el **Quinotinib** sobre las líneas celulares HUH-7 y HeLa, mientras que sobre la línea celular PC-3 el **Quinotinib** es equipotente al Sorafenib con pCC_{50} de 4.5, de esta manera el compuesto **JLO-1 (Quinotinib)** se cataloga como compuesto ordinario experimental sobre las líneas celulares cancerígenas HUH-7 y PC-3.

8.6.1.2 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD DEL COMPUESTO JLO-5 (NITROTINIB)

El ensayo de citotoxicidad que se realizó del compuesto **JLO-5** el cual se denominó **Nitroatinib** debido a que contiene un nitrobenzeno en su estructura, para realizar este ensayo se utilizaron las líneas celulares cancerígenas y no cancerígenas antes descritas.

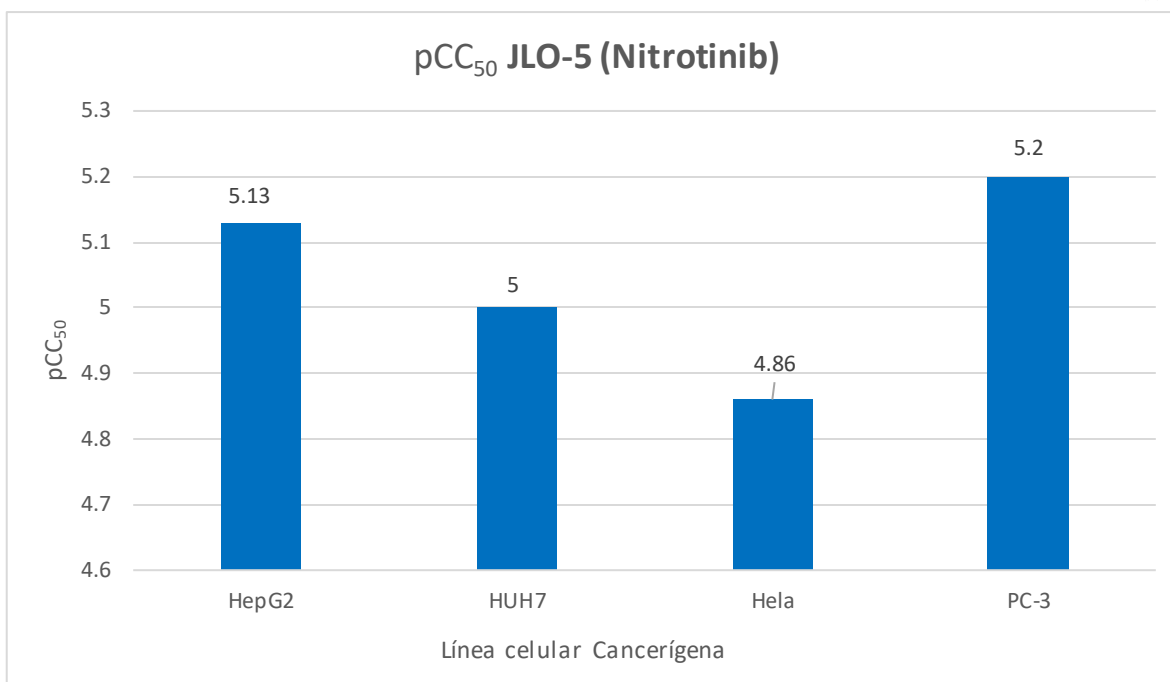
En la **Tabla 37** se observa la CC_{50} del compuesto **JLO-5** sobre las diferentes líneas celulares cancerígenas.

TABLA 37. VALORES DE CC_{50} DE JLO-5 SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

Línea celular	JLO-5 (Nitroatinib) CC_{50} μ M
HUH-7	9.84 ± 3.44
HepG2	7.3 ± 0.22
HeLa	13.72 ± 2.66
PC-3	6.2 ± 1.55

Como se puede observar en la **Tabla 37**, la CC_{50} que presenta el compuesto **Nitroatinib** sobre las líneas celulares HUH-7, HepG2 y PC-3 lo catalogan como compuesto *hit experimental* sobre estas líneas celulares y como compuesto *ordinario experimental* sobre la línea celular HeLa, cabe mencionar que se destacan las CC_{50} sobre las líneas celulares cancerígenas HepG2 y PC-3 con CC_{50} de 7.3 ± 0.2 y 6.2 ± 1.5 μ M respectivamente.

Para observar mejor la relación de los resultados se graficó la pCC_{50} del **Nitroatinib (JLO-5)**.



GRÁFICA 6. VALORES DE PCC₅₀ DE **JLO-5** SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

De acuerdo con los resultados de la **Gráfica 6** el **Nitrotinib** es más potente sobre la línea celular cancerígena de próstata PC-3 y sobre la línea celular de carcinoma hepatocelular HepG2 con una pCC₅₀ de 5.2 y 5.13 respectivamente.

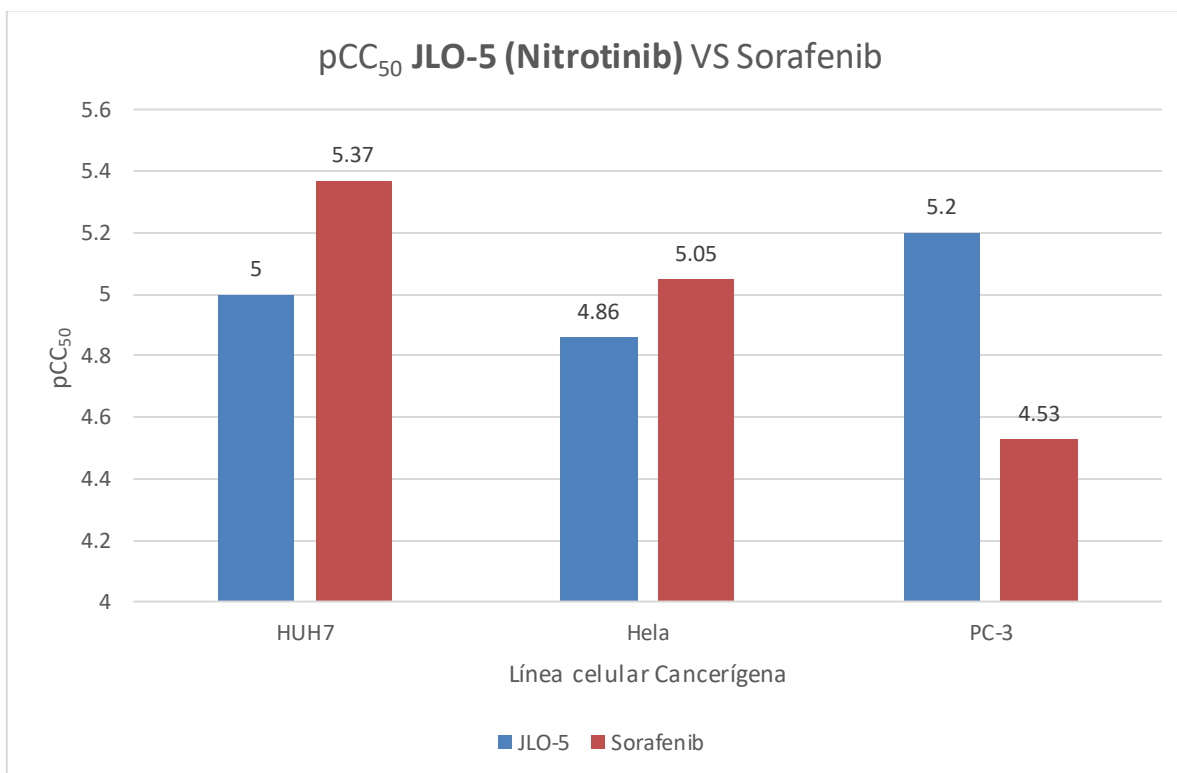
Estos resultados se compararon con la CC₅₀ del Sorafenib de las líneas celulares HUH-7 línea de cancerígena hepatocelular, la línea celular PC-3 de cáncer de próstata y sobre la línea celular HeLa obtenidos de la página: “La genómica de la Sensibilidad a los Medicamentos en el Cáncer” (GDSC, por sus siglas en inglés) del Hospital General de Massachusetts.

En la **Tabla 38** se observa la comparación de CC₅₀ del Sorafenib y del **Nitrotinib (JLO-5)**.

TABLA 38. VALORES DE CC_{50} DE **JLO-5** CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

Línea Celular	CC_{50} μM	
	JLO-5 (Nitrofinib)	Sorafenib
HUH-7	9.84 \pm 3.44	2.25
PC-3	6.2 \pm 1.55	29.36
HeLa	13.72 \pm 2.66	8.83

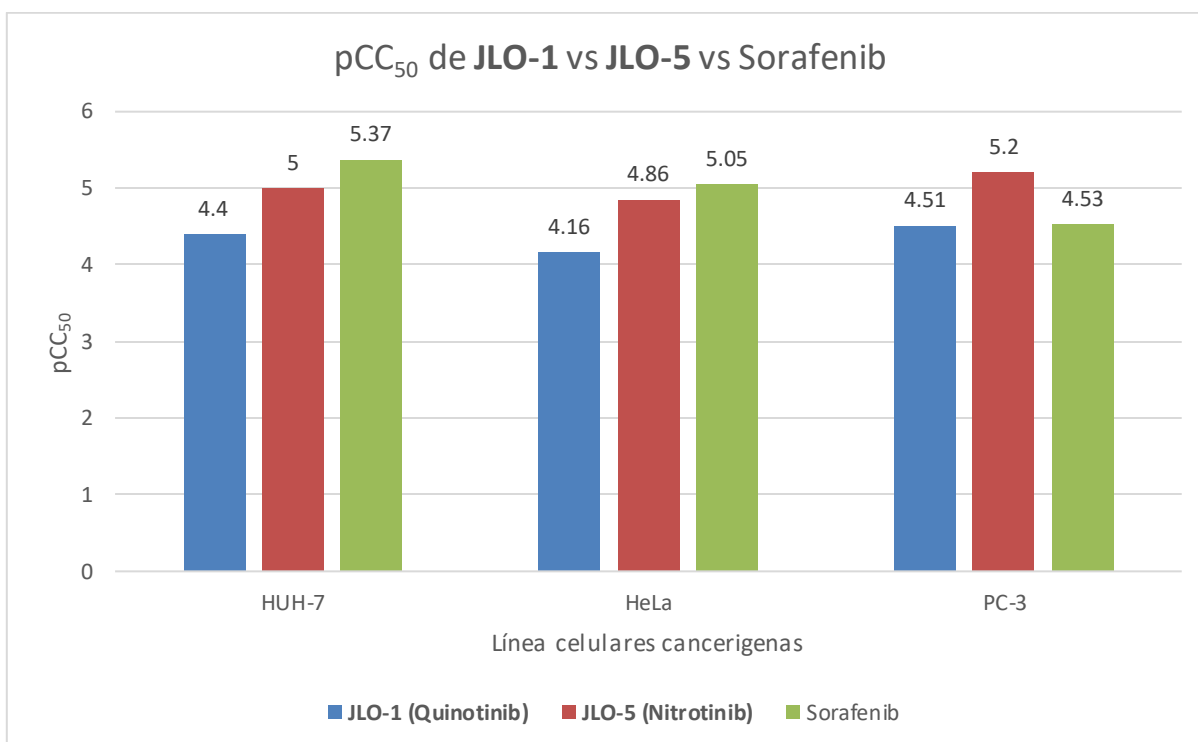
Como se puede observar en la **Tabla 38** la comparativa de la CC_{50} del **Nitrofinib (JLO-5)** y del Sorafenib, el Sorafenib presenta una CC_{50} más potente sobre las líneas celulares HUH-7 y HeLa, mientras que sobre la línea celular PC-3 el **Nitrofinib** presenta una CC_{50} más potente que el Sorafenib, para observar mejor esta relación se graficó la pCC_{50} del **Nitrofinib (JLO-5)** vs Sorafenib.



GRÁFICA 7. VALORES DE pCC_{50} DE **JLO-5** CONTRA SORAFENIB SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES CANCERÍGENAS

Como se puede observar en la **Gráfica 7** el sorafenib presenta una pCC₅₀ más alta sobre las líneas celulares HUH-7 y HeLa, mientras que sobre la línea celular cancerígena de próstata PC-3 el compuesto **Nitrocinib (JLO-5)**, presentó una pCC₅₀ de 5.2 mientras que la del Sorafenib es de 4.53, lo que nos indica que el **Nitrocinib (JLO-5)** es más potente que el Sorafenib, de esta manera se clasifica como compuesto *hit experimental* sobre la línea celular PC-3.

Para poder comparar las CC₅₀ del compuesto **JLO-1**, **JLO-5** y del Sorafenib se graficaron las pCC₅₀ de los compuestos como se puede observar en la **Gráfica 8**.



GRÁFICA 8. COMPARACION DE VALORES DE PCC₅₀ DE **JLO-1** CONTRA **JLO-5**

De acuerdo con los valores de pCC₅₀ de los compuestos, se puede observar que sobre la línea celular cancerígena hepatocelular HUH-7, el sorafenib es más potente que el **Quinotinib (JLO-1)** y que el **Nitrocinib (JLO-5)** y este a su vez es más potente que el **Quinotinib**.

Sobre la línea celular HeLa, se presenta el mismo patrón: el sorafenib muestra una mejor pCC₅₀ que ambos compuestos, mientras que el **Nitrocinib** es más potente que el **Quinocinib** sobre esta línea celular.

Por otra parte, sobre la línea celular PC-3 se puede observar que el **Quinocinib (JLO-1)** es equipotente al Sorafenib y el **Nitrocinib (JLO-5)** es el más potente de los tres sobre esta línea celular. Hay que destacar que el **Nitrocinib (JLO-5)** fue más potente que el **Quinocinib (JLO-1)** sobre las tres líneas celulares, esto se puede deber al efecto del grupo nitro presente en su estructura, el cual actúa como bioisostero de la piridina (en el sorafenib) y además genera la liberación de especies reactivas de oxígeno, lo cual daña a las células cancerígenas que son poco aerotolerantes, produciendo su muerte celular. De esto se desprende que el **Nitrocinib (JLO-5)** sea considerado como un hit experimental seguro con efecto citotóxico selectivo.

El ensayo citotóxico que se realizó sobre la línea celular HacaT, se realizó con la finalidad de observar la selectividad del **Quinocinib (JLO-1)** y del **Nitrocinib (JLO-5)** sobre líneas celulares cancerígenas y no cancerígenas para así poder determinar el Índice de Selectividad (IS), el cual nos indica que un compuesto activo se considera citotóxico cuando el IS es menor de 10 ($IS \leq 10$), también indica la selectividad que tienen los compuestos sobre líneas celulares sanas. El IS se calcula de la siguiente manera:

$$IS = \frac{CC_{50} \text{ células sanas}}{CC_{50} \text{ Línea celular cancerígena}}$$

En la **Tabla 39** se observa la CC₅₀ de los compuestos sobre la línea celular HacaT.

TABLA 39. VALORES DE CC₅₀ SOBRE LÍNEA CELULAR HACAT

Línea Celular	CC ₅₀ μM	
	JLO-1 (Quinocinib)	JLO-5 (nitrocinib)
Hacat	101.56 ± 11.78	38.29 ± 2.88

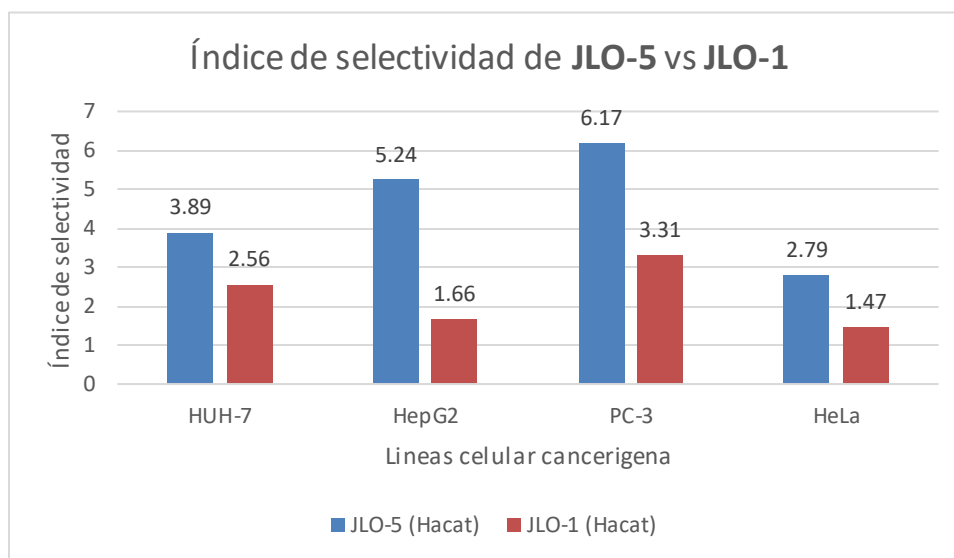
Se observa que los valores de CC₅₀ son más elevados que los obtenidos sobre las líneas celulares cancerígenas, pero no se logra determinar la selectividad de esta

manera, entonces se calculó es IS como se observa en la **Tabla 40** y se graficaron los valores como se observa en la **Gráfica 9**.

TABLA 40. ÍNDICE DE SELECTIVIDAD DE NITRO TINIB (JLO-5) Y QUINOTINIB (JLO-1).

Índice de Selectividad sobre células HacaT		
Línea Celular	JLO-5 (Nitro tinib)	JLO-1 (Quinotinib)
HUH-7	3.89	2.56
HepG2	5.24	1.66
PC-3	6.17	3.31
HeLa	2.79	1.47

En la **Tabla 40** se observan los valores de IS de los compuestos y se observa que los valores del compuesto **Nitro tinib (JLO-5)** son más altos que el del **Quinotinib (JLO-1)**. Pero para observar mejor la relación se graficaron estos valores.



GRÁFICA 9. ÍNDICE DE SELECTIVIDAD DE JLO-5 Y JLO-1.

De acuerdo con los valores de la **Gráfica 9** se observa que el **Nitro tinib (JLO-5)** es más selectivo sobre las líneas celulares HUH-7, HepG2, PC-3 y sobre HeLa a comparación del **Quinotinib (JLO-1)**, cabe destacar que se observa una mayor selectividad sobre la línea celular cancerígena de próstata PC-3 de 6.17 y de 3.31 para el **Nitro tinib (JLO-5)** y **Quinotinib (JLO-1)** respectivamente.

9. CONCLUSIONES

- ❖ Se diseñaron y evaluaron computacionalmente las propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, toxicológicas, biofarmacéuticas y citotóxicas de la serie de compuestos **JLO 1-7**. Al realizar un análisis de consenso farmacológico *in silico*, se seleccionó como hits computacionales seguros a los compuestos **JLO-1** y **JLO-5**.
- ❖ Se sintetizaron y caracterizaron espectroscópica y espectrométricamente ambos compuestos: **JLO-1** el cual fue denominado **Quinotinib**, y el compuesto **JLO-5**, el cual fue denominado como **Nitrotinib**.
- ❖ Se evaluó la actividad citotóxica en un ensayo *in vitro* donde el compuesto **JLO-1 (Quinotinib)** se clasificó como compuesto *ordinario* experimental seguro con una CC_{50} de $39.57 \pm 8.13 \mu\text{M}$ y $30.67 \pm 6.5 \mu\text{M}$ sobre la línea celular HUH7 (carcinoma hepatocelular) y la línea celular cancerígena PC-3 (cáncer de próstata) respectivamente. **JLO-1** es equipotente al Sorafenib sobre la línea celular PC-3 y de igual manera mostró una mayor selectividad sobre esta misma línea celular cancerígena que sobre las otras líneas celulares.
- ❖ El compuesto **JLO-5 (Nitrotinib)** se clasificó como compuesto *Hit* experimental seguro con CC_{50} de $9.84 \pm 3.44 \mu\text{M}$, $7.3 \pm 0.22 \mu\text{M}$ y $6.2 \pm 0.22 \mu\text{M}$ para HUH7, HepG2 y PC-3 respectivamente. **JLO-5** fue 5 veces más potente que el Sorafenib sobre la línea celular PC-3 y de igual manera presentó una mayor selectividad sobre esta misma línea celular cancerígena con un IS de 6.17.
- ❖ Ambos compuestos presentan una ventaja sobre el sorafenib: la facilidad de su síntesis. El sorafenib se obtiene en 5 pasos con bajos rendimientos y un alto costo, mientras que los compuestos seleccionados solo en 2 pasos. Esto tendría repercusiones en la producción, disminuyendo el costo del nuevo agente citotóxico experimental, ya que el precio del fármaco Sorafenib es de \$73,287 MXN por una caja de 112 comprimidos de 200 mg, mientras que el costo de producción de 112 comprimidos de 200 mg del **Quinotinib (JLO-1)** sería de \$6,753 MXN y del **Nitrotinib (JLO-5)** de \$9,812 MXN, reduciendo así el costo original alrededor de 7 a 10 veces.

- ❖ La tasa de éxito de este proyecto fue de 28.5%, ya que, de 7 compuestos diseñados, se obtuvieron dos compuestos bioactivos experimentales con probada actividad citotóxica.

10. PERSPECTIVAS

- Realizar ensayos *in vitro* sobre otras líneas celulares cancerígenas
- Realizar ensayos de inhibición *in vitro* sobre las proteínas quinasas usadas en esta tesis
- Realizar ensayos *in vivo* del compuesto **JLO-5**

11. PARTE EXPERIMENTAL

Para la síntesis de los compuestos finales **JLO-1**, **JLO-5** y los compuestos precursores se utilizaron los siguientes reactivos con sus respectivas marcas:

- 4,7-dicloquinolina (Sigma-Aldrich® ahora Merck®) (\$ 1694.00 MXN, 25 G)
- 4-aminofenol (Sigma-Aldrich® ahora Merck®) (\$ 976.00 MXN, 100 G)
- 1-fluoro-4-nitrobenceno (Sigma-Aldrich® ahora Merck®) (\$ 935.00 MXN, 5G)
- Isocianato de 4-cloro-3-trifluorometilfenil (Sigma-Aldrich® ahora Merck®) (\$ 2526.00 MXN, 5 G)

11.1 INSTRUMENTACIÓN

Se utilizó una parrilla de calentamiento con agitación magnética marca VELP SCIENTIFICA® y matraces bola de 10 y 25 mL acondicionadas con barras magnéticas de agitación y refrigerante en posición de reflujo. Se utilizó el reactor de temperatura y presiones controladas monowave 50 de Anton Paar®. Se utilizó también el reactor de microondas CEM®.

Para evaporar los disolventes utilizados en la reacción se utilizó un rotavapor marca BÜCHER-300® acoplado al vacío con una bomba marca Vacuum Pump V-300®.

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

11.2 CROMATOGRAFÍA

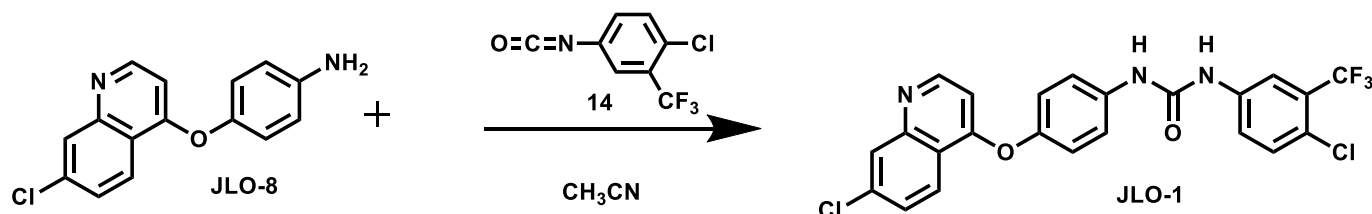
El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía en capa fina (CCF) utilizando placas de aluminio de 3.0 x 4.5 cm cubiertas de sílice Alugam y reveladas mediante una lámpara de luz ultravioleta UV-254/366 nm. Para la elución de las placas cromatográficas se emplearon los sistemas de elución descritos en la **Tabla 41**.

TABLA 41. FASES MOVILES EMPLEADAS EN EL MONITOREO DE LOS COMPUESTOS

Sistema	Proporción	Composición
I	95:5	Diclorometano:Metanol
II	90:10	Diclorometano:Metanol
III	60:40	Hexano/Acetato de etilo

11.3 SÍNTESIS DE COMPUESTOS FINALES

11.3.1 SÍNTESIS DE 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)FENIL)UREA (JLO-1).



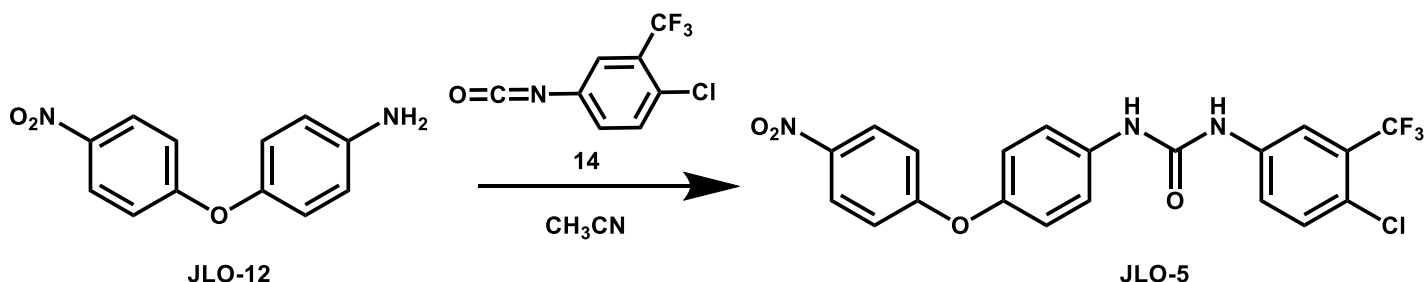
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, y una columna vigreux, se disolvieron 0.200 g (7.414×10^{-4} mol, 1eq.) de **JLO-8** en 2mL de CH₃CN y se dejó en agitación por 20 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregó 0.180 g (8.156×10^{-4} mol, 1.1 eq) del isocianato de 4-cloro-3-(trifluorometil)fenilo (**14**) previamente disuelto en 2 mL de CH₃CN y se observó un cambio físico en la reacción después de agregar **14**, ya que se tornó espesa la mezcla por lo cual se agregaron 2 mL más de CH₃CN. La reacción se dejó a temperatura ambiente y se monitoreó por CCF cada hora utilizando el **sistema I**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (24 h). 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 dejó en agitación por 15 minutos, observando la formación de un precipitado café, el cual se recuperó por filtración. El solidó obtenido fue recristalizado en una mezcla de MeOH:H₂O y se obtuvo un polvo cristalino color beige, con un punto de fusión 146.3-148.5 °C. Rendimiento de reacción de 67.94 %.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO-*d*₆) d: 6.62 (*d*, *Jo*Q: 5.22 Hz, 1H, 2'-H), 7.26 (*d*, *Jo*: 8.82 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.60 (*d*, *Jo*: 8.82 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.60 (*d*, *Jo*Q: 5.4, 1H, 5'-H) 7.67 (*m*, 2H, 6'-H, 6''-H) 8.08 (*d*, *Jm*Q: 1.8 Hz, 1H, 8'-H) 8.11 (*d*, *Jm*: 2.1, 1H, 2''-H) 8.35 (*d*, *Jo*Q: 8.88 Hz, 1H, 5''-H) 8.72 (*d*, *Jo*Q: 5.4, 1H, 3'-H) 9.0 (*s*, 1-H, -NH) 9.19 (*s*, 1H, -NH)

RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-*d*₆) d: 104.3 (3''-C), 116.7 (1-C), 116.8 (1''-C), 116.85 (*q*, *J*³_{C-F}: 4.9 Hz, 2C, 2''-C, 4''-C), 119.2 (2C, 2-C, 6-C), 120.4 (2-C, 3-C, 5-C), 121.5 (4-C), 121.8 (5''-C), 121.88 (*q*, *J*¹_{C-F}: 273 Hz, C-F), 123.6 (6''-C), 123.7 (5'-C), 126.68 (*q*, *J*²_{C-F}: 30 Hz, 3''-C), 127.4 (8'-C), 131.9 (3'-C), 134.8 (2''-C), 137.1 (4''-C), 139.2 (8'-a-C), 148.0 (7'-C), 149.6 (4'-C), 152.4 (4'-a-C), 152.9 (2'-C), 161.4 (C=O).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 270.1 (M-222.18) 100%, 313 (M-179.28) 1%, 330 (M-162.28) 1%.

11.3.2 SÍNTESIS DE 1-(4-CLORO-3-(TRIFLUOROMETIL)FENIL)-3-(4-(4-NITROFENOXI)FENIL)UREA (JLO-5).



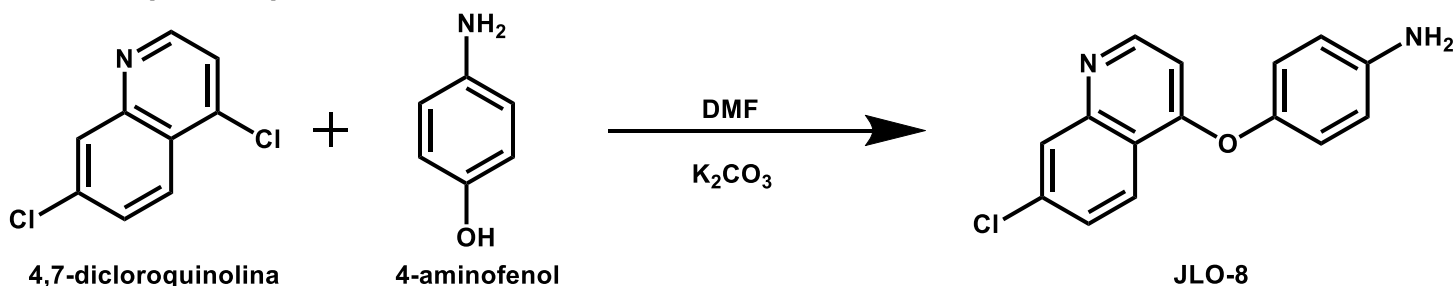
En un matraz bola de 25 mL acondicionado con agitación magnética, y una columna vigreux, se disolvieron 0.300 g (1.30×10^{-3} mol, 1 eq.) de **JLO-12** en 2 mL de CH_3CN y se dejó en agitación por 20 min a temperatura ambiente, posteriormente se agregó 0.317g (1.43×10^{-3} mol, 1.1 eq) del isocianato de 4-cloro-3-(trifluorometil)fenilo (**14**) previamente disuelto en 2 mL de CH_3CN . La reacción se dejó a temperatura ambiente y se monitoreó por CCF cada hora utilizando el **sistema III**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (20 h). 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 dejó en agitación por 15 minutos, observando la formación de un precipitado amarillo, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue recristalizado en una mezcla de $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ y se obtuvo un polvo cristalino color amarillo, con un punto de fusión $178.5\text{-}180.5$ °C. Rendimiento de reacción de 81.46%.

RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.09 (*d*, J_o : 9.12 Hz, 2H, 2-H, 5-H), 7.13 (*d*, J_o : 8.87 Hz, 2H, 8-H, 12-H), 7.57 (*d*, J_o : 8.88 Hz, 2H, 3-H, 6-H), 7.60 (*d*, J_o : 8.82, 1H, 5'-H) 7.65 (*dd*, J_o : 8.76, J_m : 1.98, 1H, 6'-H) 8.10 (*d*, J_m : 2.04 Hz, 1H, 2'-H) 8.23 (*d*, J_o : 8.87 Hz, 2H, 9-H, 11-H) 8.95 (*s*, 1H, -NH) 9.17 (*s*, 1H, -NH).

RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 117.2 (8-C, 12-C), 120.9 (2-C, 6-C), 121.5 (3-C, 5-C), 122.8 (6'-C), 123.2 (*q*, $J^1_{\text{C-F}}$: 271.5, C-F), 123.5 (1'-C), 125.3 (*q*, $J^{\beta}_{\text{C-F}}$: 7.4 Hz, 2'-C) 125.3 (*q*, $J^{\beta}_{\text{C-F}}$: 7.4 Hz, 4'-C) 126.6 (9-C, 11-C), 127.1 (*q*, $J^{\alpha}_{\text{C-F}}$: 30 Hz, 3'-C), 132.4 (5'-C), 137.2 (1-C), 139.7 (4-C), 142.4 (7-C), 149.2 (10-C), 152.9 (C=O).

MS/EI: m/z (%int.rel.) 270.1

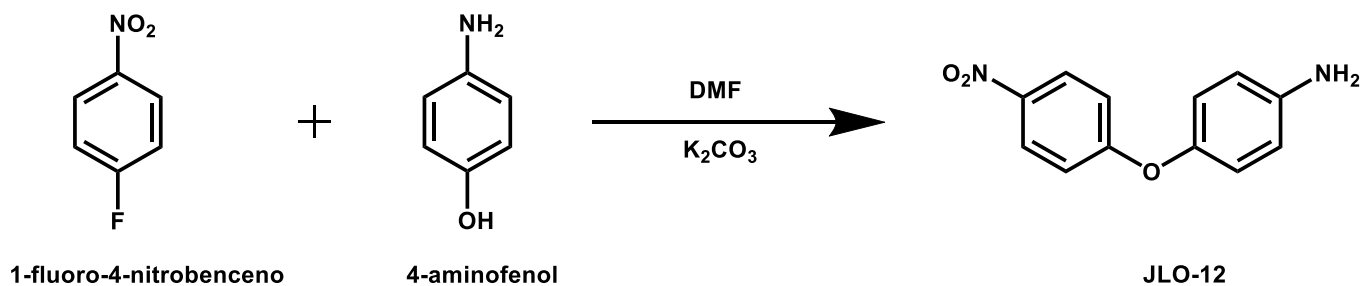
11.3.3 SÍNTESIS DE 4-((7-CLOROQUINOLIN-4-IL)OXI)ANILINA (JLO-8).



En un matraz de 25 mL acondicionado con agitación magnética, y una columna vigreux, se disolvieron 0.296 g (2.777×10^{-3} mol, 1.1 eq.) de **4-aminofenol** en 2 mL de DMF con 0.818 g (5.30×10^{-3} mol, 2.1 eq) de carbonato de potasio (K_2CO_3) para favorecer la formación del fenóxido. Se dejó en agitación por 50 min a temperatura ambiente, posteriormente se agregó gota a gota 0.500 g (2.534×10^{-3} mol, 1 eq) de **4,7-dicloroquinolina** disuelto en 2 mL de DMF. La temperatura de la reacción se elevó a 75 °C y se monitoreó por CCF cada hora utilizando el **sistema I**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (12 h). Al término de la reacción, se concentró el disolvente a sequedad con el rotavapor. Posteriormente, se le agregó 2 mL de agua fría y se dejó en agitación por 15 minutos, observando la formación de un precipitado café oscuro, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue purificado por medio de una columna cromatográfica con disolventes ascendiendo la polaridad de 99:1, 98:2 y 95:5 de diclorometano:metanol y se obtuvo un polvo cristalino color café claro, con un punto de fusión 98.5-99.8 °C. Rendimiento de reacción de 72.48%.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.18 (s, 2H, -NH₂), 6.53 (d, *Jo*Q: 4.98 Hz, 1H, 3'-H), 6.68 (d, *Jo*: 8.46 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 6.94 (d, *Jo*: 8.62 Hz, 2H, 3-H, 5-H) 7.62 (d, *Jm*Q: 8.82 Hz, 1H, 8'-H) 8.03 (s, 1H, 5'-H) 8.30 (dd, *Jo*Q: 4.32 Hz, *Jm*Q: 8.82 Hz, 1H, 6'-H) 8.66 (d, *Jo*Q: 4.8, 1H, 8'-H).

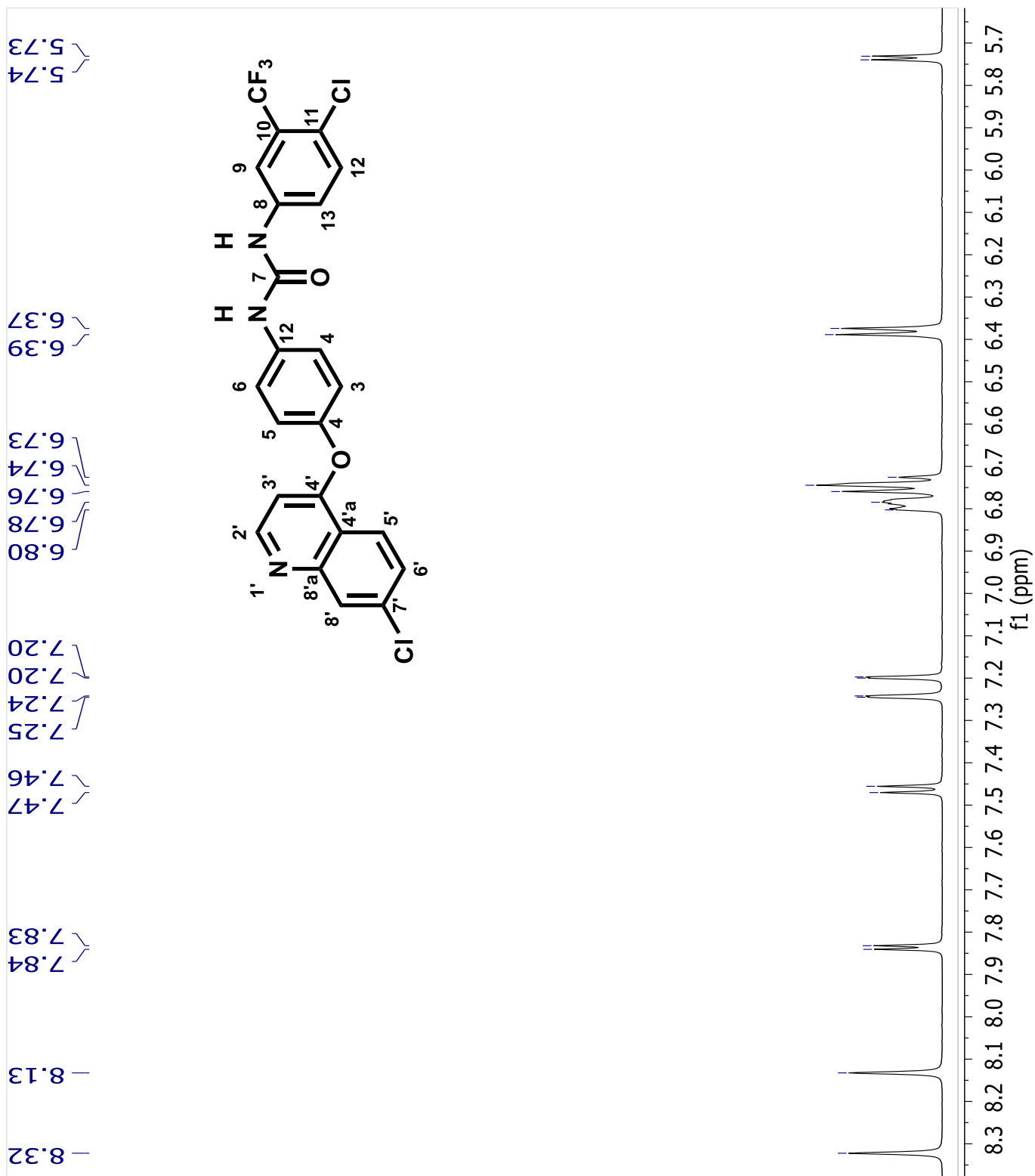
11.3.4 SÍNTESIS DE 4-(4-NITROFENOXI)ANILINA (JLO-12).



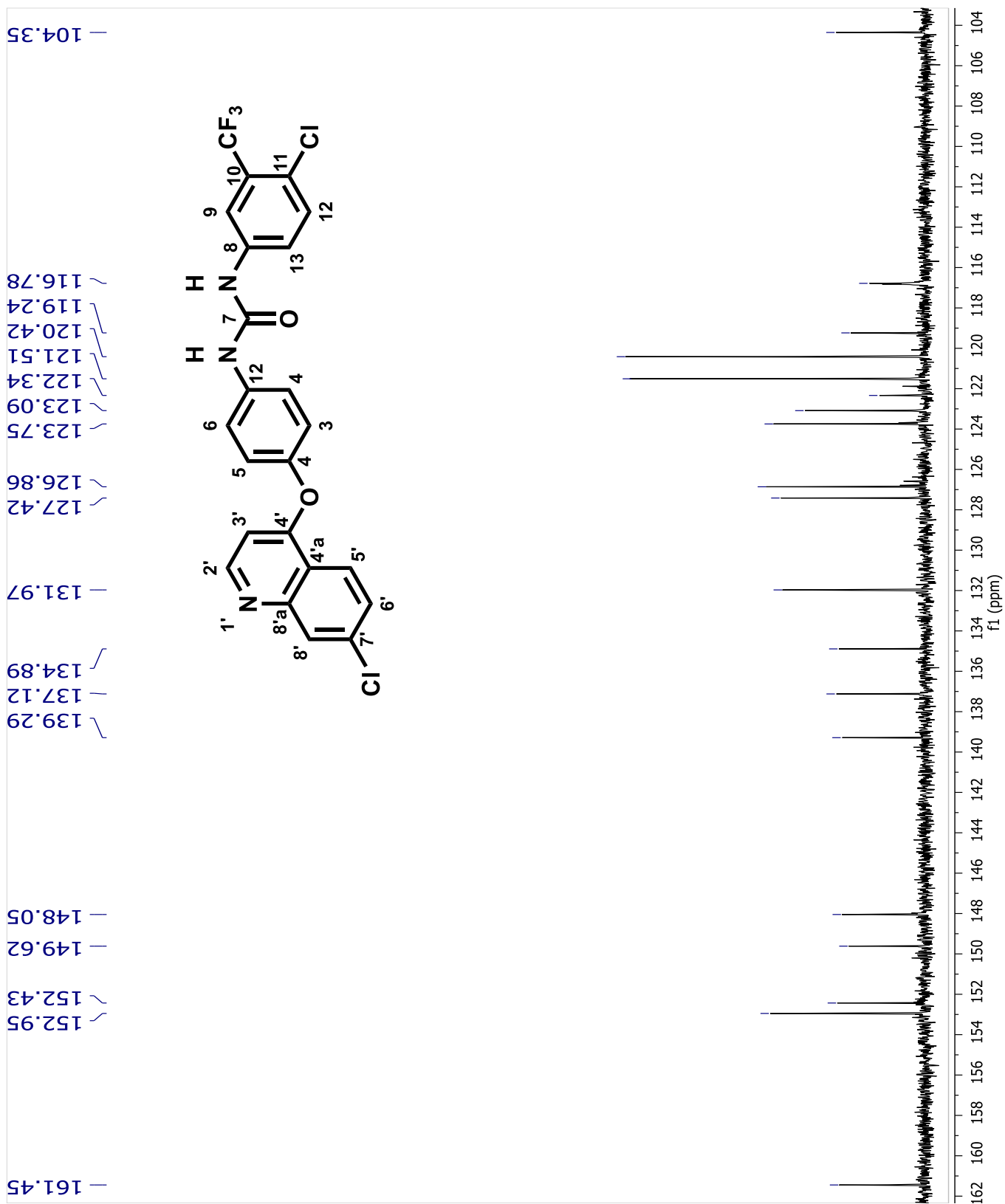
En un matraz de 25 mL acondicionado con agitación magnética, y una columna vigreux, se disolvieron 0.425 g (3.89×10^{-3} mol, 1.1 eq.) de **4-aminofenol** en 2 mL de DMF con 1.02 g (7.44×10^{-3} mol, 2.1 eq) de carbonato de potasio (K_2CO_3) para favorecer la formación del fenoxido. Se dejó en agitación por 50 min a temperatura ambiente, posteriormente se agregó gota a gota 0.500 g (3.54×10^{-3} mol, 1 eq) de **1-fluoro-4-nitrobenzene** disuelto previamente en 2 mL de DMF. La temperatura de la reacción se elevó a 75°C y se monitoreó por CCF cada hora utilizando el **sistema II**, hasta observar la completa conversión de las materias primas al producto principal (4 h). Al término de la reacción se concentró a sequedad el disolvente con el rotavapor. Posteriormente, se le agregó 2 mL de agua fría y se dejó en agitación por 15 minutos, observando la formación de un precipitado amarillo, el cual se recuperó por filtración. El sólido obtenido fue purificado por medio de una columna cromatográfica con disolventes ascendiendo la polaridad de 99:1, 98:2 y 95:5 de diclorometano:metanol y se obtuvo un polvo cristalino color amarillo, con un punto de fusión $132.5\text{-}134.5^\circ\text{C}$. Rendimiento de reacción de 80.15 %.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.14 (s, 2H, -NH₂), 6.65 (d, *Jo*: 8.14 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 6.85 (d, *Jo*: 8.46 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.00 (d, *Jo*: 8.14 Hz, 2H, 8-H, 12-H) 8.18 (d, *Jo*: 9.24 Hz, 2H, 9-H, 11-H).

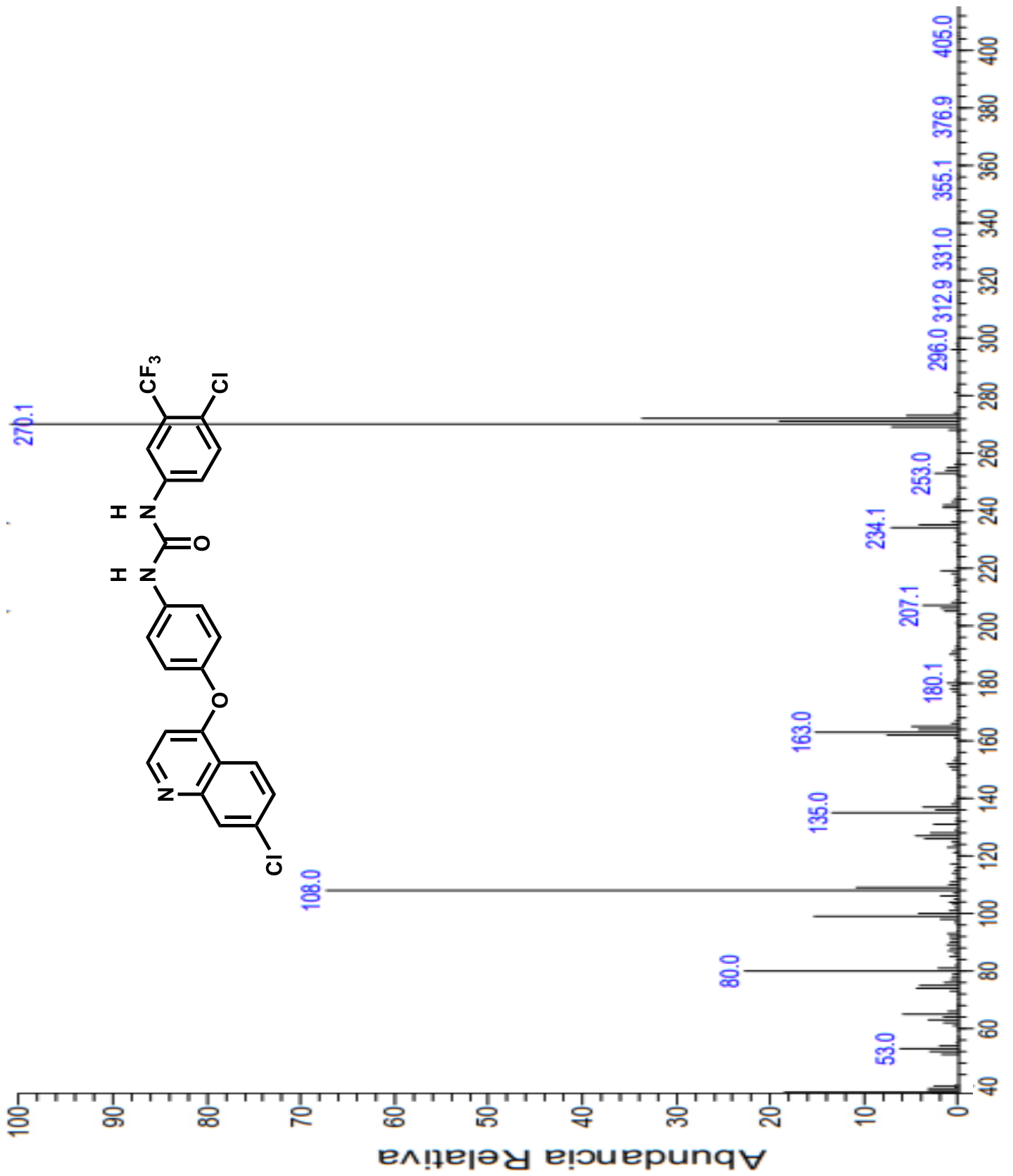
12. ESPECTROS



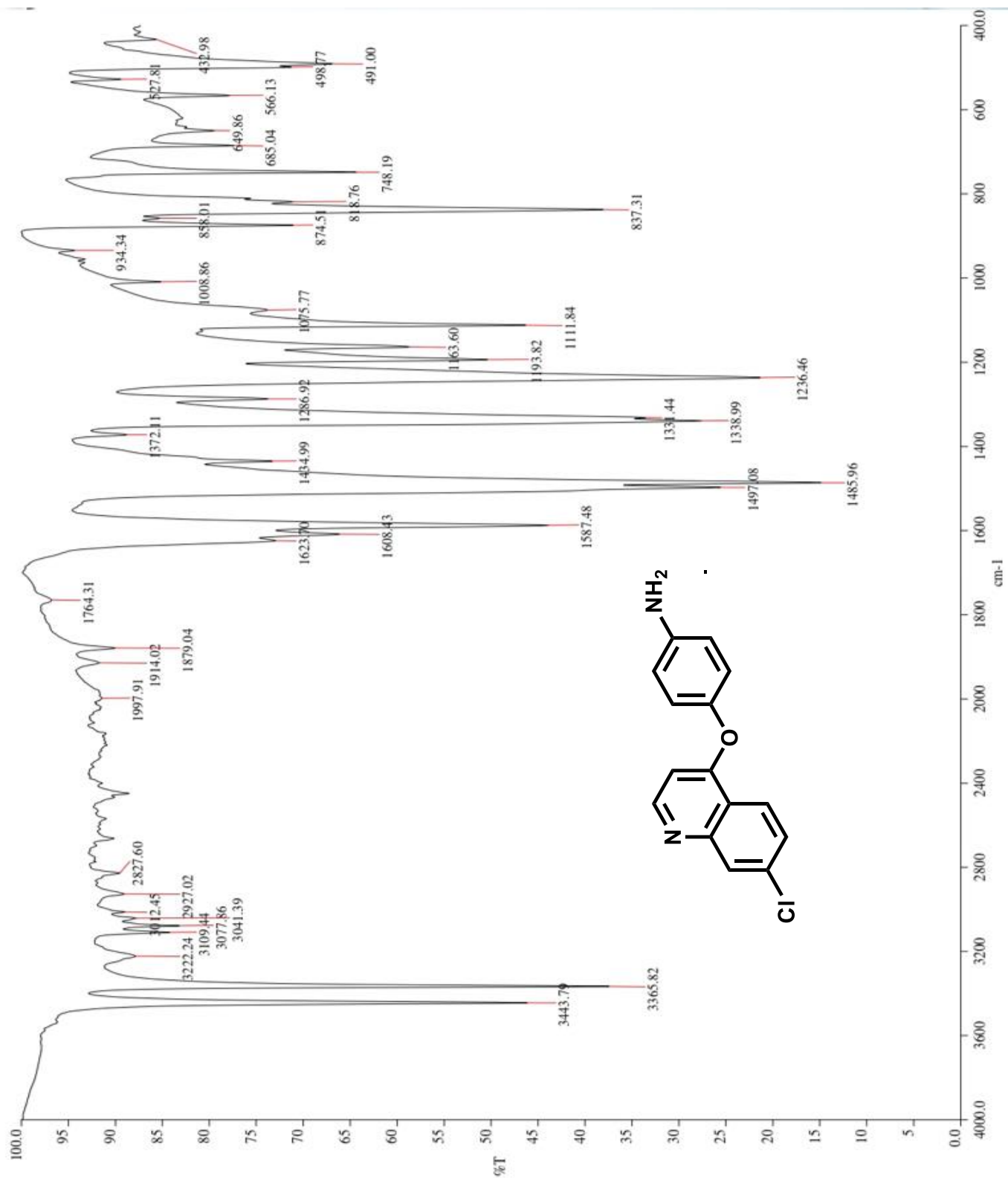
ESPECTRO 1. RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-1



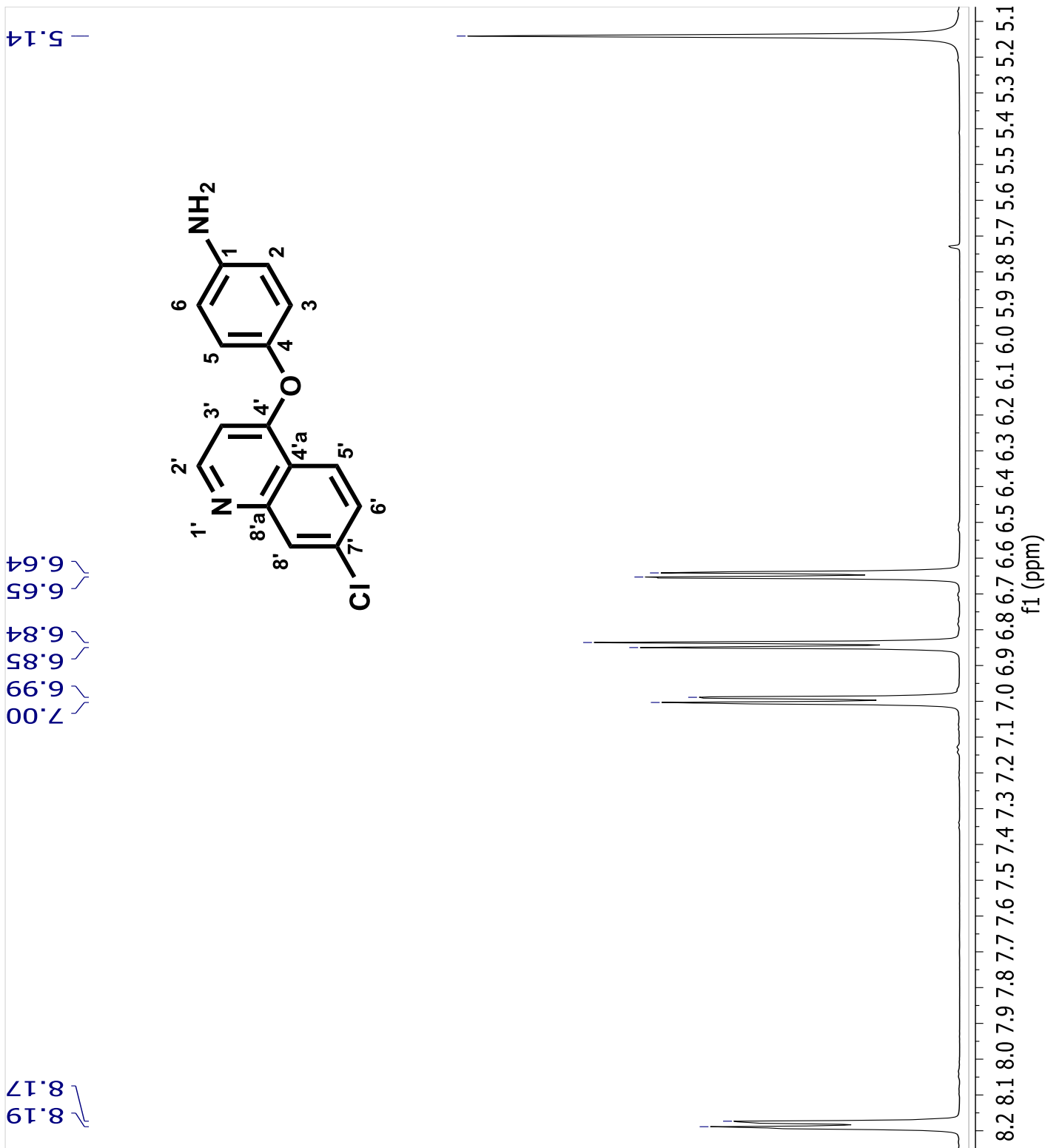
ESPECTRO 2. RMN ¹³C DEL COMPUESTO JLO-1



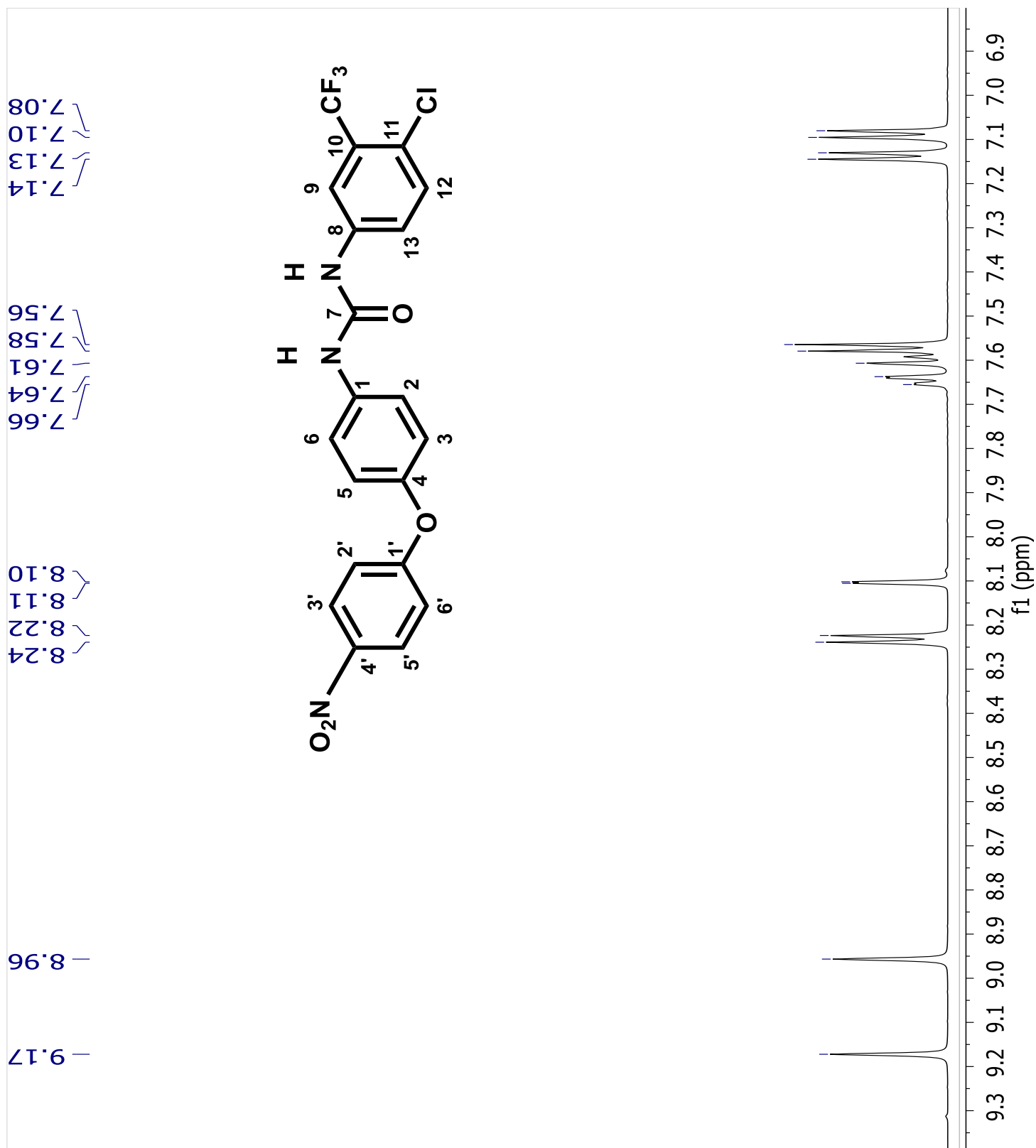
ESPECTRO 3. IE-EM DEL COMPUESTO JLO-1



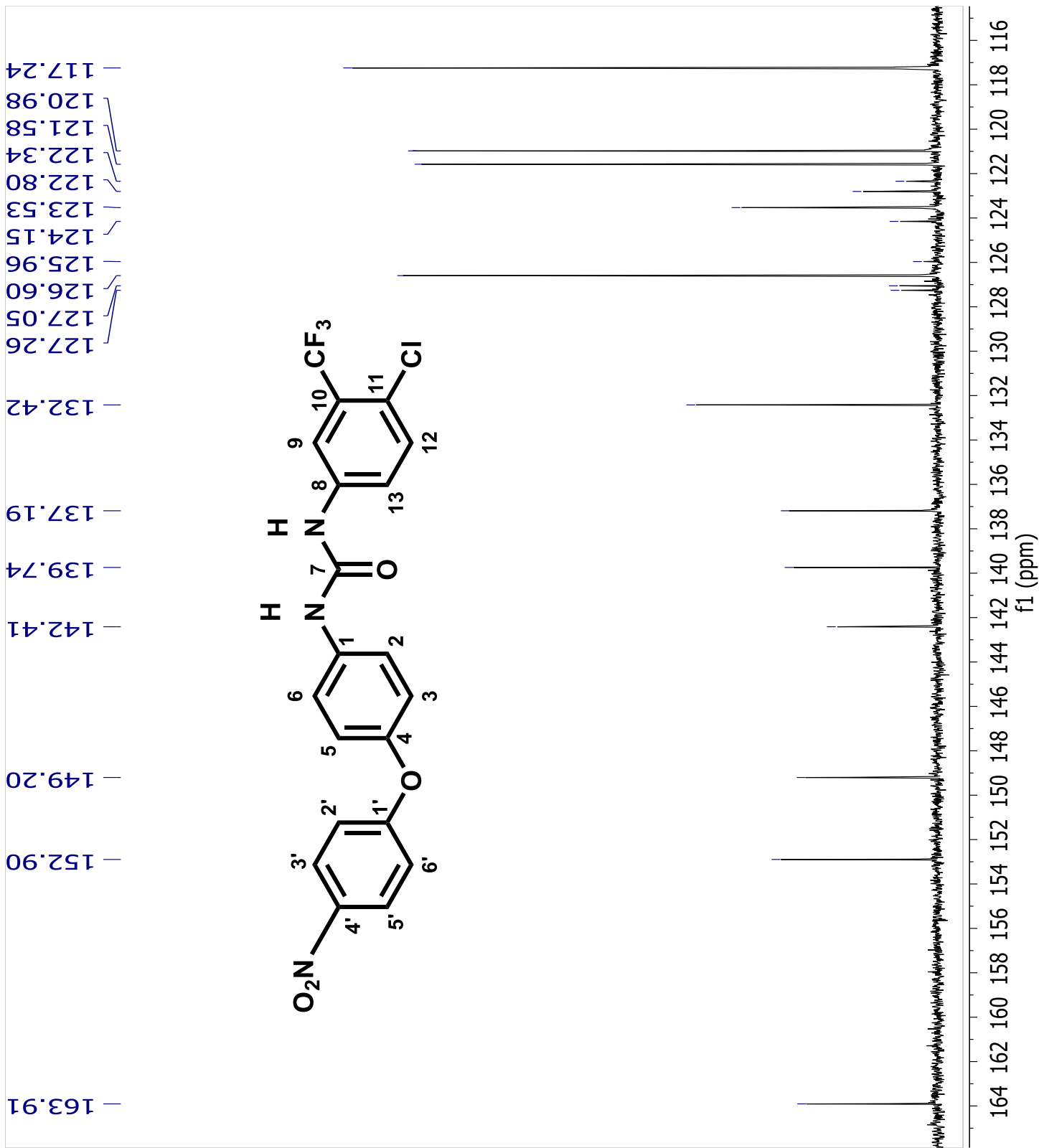
ESPECTRO 4. ESPECTRO DE INFRARROJO DEL COMPUESTO JLO-8.



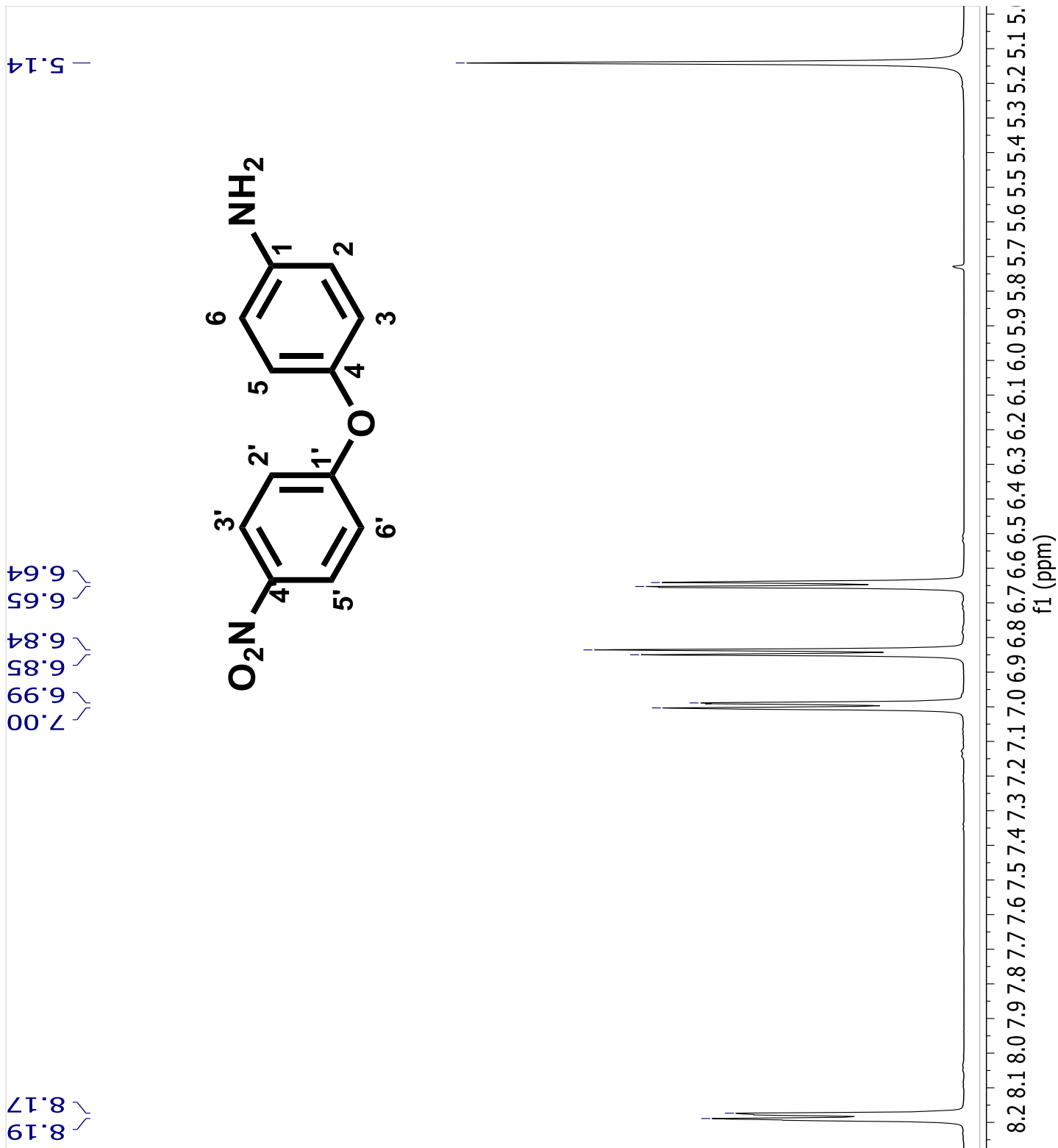
ESPECTRO 5. RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-8



ESPECTRO 6. RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-5



ESPECTRO 7. RMN ¹³C DEL COMPUESTO JLO-5



ESPECTRO 8. RMN ¹H DEL COMPUESTO JLO-12

13. REFERENCIAS

- 1.- WHO (2021). *Cancer*. Ginebra, World Health Organization.
- 2.- Hassanpour, Hossein, S., Dehghani, M. Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, **2017**, 4, 127-129. DOI 10.1016.
- 3.- GLOBOCAN 2020 Graph production: IARC (<https://gco.iarc.fr/today>) World Health Organization
- 4.- Wang, Jianchu, Lu, Libai; Luo, Zongjiang; Li, Wenchuan; Lu, Yuan; Tang, Qianli; Pu, Jian, miR-383 inhibits cell growth and promotes cell apoptosis in hepatocellularcarcinoma by targeting IL-17 via STAT3 signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2019**, 120, 109-118. DOI: [10.1016/j.biopha.2019.109551](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109551)
- 5.- Gadaleta-Caldarola, G.; Infusino, S.; Divella, R.; Ferraro, E.; Mazzocca, A.; De Rose, F.; Filippelli, G.; Abbate, I.; Brandi, M. Sorafenib: 10 Years after the First Pivotal Trial. *Futur. Oncol.* **2015**, 11 (13), 1863–1880. <https://doi.org/10.2217/fon.15.85>
- 6.- Li, Y.; Xia, J.; Shao, F.; Zhou, Y.; Yu, J.; Wu, H.; Du, J.; Ren, X. Sorafenib Induces Mitochondrial Dysfunction and Exhibits Synergistic Effect with Cysteine Depletion by Promoting HCC Cells Ferroptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2021**, 534. DOI: [10.1016/j.bbrc.2020.10.083](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.083)
- 7.- Gobierno de México, Cuida tu próstata, consultado 15 enero 2023 en: <https://www.gob.mx/profeco/documentos/cuida-tu-prostata-y-regalate-vida?state=published>
- 8.- Epidemiología, P. I.; Cisneros-garza, L. E.; González-huezo, M. S.; Moctezuma-velázquez, C. II Consenso Mexicano de Carcinoma Hepatocelular. *Revista de*

gastroenterologia de México. **2022**, *87*, 216–234.
<https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2021.10.002>

9.- Instituto Nacional del Cáncer
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas>. (accesado Febreo, 2022).

10.- Kulesz-Martin, M.; Gallegos, J. R.; Liu, Y. Multistage Carcinogenesis: Cell and Animal Models. *Compr. Toxicol. Second Ed.* **2010**, *14* (Cml), 11–33.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.01402-0>.

11.- 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>.

12.- Antonio, J. 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. **2011**. Instituto Politécnico Nacional.

13.- E. Thurston, David, Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs, Taylor & Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW. U.S. **2007**; pp 3-5

14.- 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.

15.- Modi, S. J.; Tiwari, A.; Kulkarni, V. M. Reversal of TGF- β -Induced Epithelial–Mesenchymal Transition in Hepatocellular Carcinoma by Sorafenib, a VEGFR-2 and Raf Kinase Inhibitor. *Curr. Res. Pharmacol. Drug Discov.* **2021**, *2*, 100-107
<https://doi.org/10.1016/j.crphar.2021.100014>.

16.- Wang, J.; Lu, L.; Luo, Z.; Li, W.; Lu, Y.; Tang, Q.; Pu, J. MiR-383 Inhibits Cell Growth and Promotes Cell Apoptosis in Hepatocellular Carcinoma by Targeting IL-17 via STAT3 Signaling Pathway. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *109*. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109551>.

17.- Chopra, M.; Sgro, A.; Norret, M.; Blancafort, P.; Iyer, K. S.; Evans, C. W. SP94-Targeted Nanoparticles Enhance the Efficacy of Sorafenib and Improve Liver Cancer Cell Discrimination. *ACS Appl. Bio Mater.* **2021**, *4* (1), 1023–1029. <https://doi.org/10.1021/acscabm.0c01468>.

18.- Shen, J.; Sun, H.; Meng, Q.; Yin, Q.; Zhang, Z.; Yu, H.; Li, Y. Simultaneous Inhibition of Tumor Growth and Angiogenesis for Resistant Hepatocellular Carcinoma by Co-Delivery of Sorafenib and Survivin Small Hairpin RNA. *Mol. Pharm.* **2014**, *11* (10), 3342–3351. <https://doi.org/10.1021/mp400640>

19.- Gonzalez-Sanchez, E.; Marin, J. J. G.; Perez, M. J. The Expression of Genes Involved in Hepatocellular Carcinoma Chemoresistance Is Affected by Mitochondrial Genome Depletion. *Mol. Pharm.* **2014**, *11* (6), 1856–1868. <https://doi.org/10.1021/mp400732p>.

20.- Al-Abdulla, R.; Lozano, E.; Macias, R. I. R.; Monte, M. J.; Briz, O.; O'Rourke, C. J.; Serrano, M. A.; Banales, J. M.; Avila, M. A.; Martinez-Chantar, M. L.; Geier, A.; Andersen, J. B.; Marin, J. J. G. Epigenetic Events Involved in Organic Cation Transporter 1-Dependent Impaired Response of Hepatocellular Carcinoma to Sorafenib. *Br. J. Pharmacol.* **2019**, 787–800. <https://doi.org/10.1111/bph.14563>.

21.- Daniyal, M.; Siddiqui, Z. A.; Akram, M.; Asif, H. M. MINI-REVIEW Epidemiology , Etiology , Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer. **2014**, *15*, 9575–9578.

22.- Instituto Nacional del Cáncer <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata/significado-cambios-en-la-prostata> (accesado 15 diciembre 2022)

- 23.- Roskoski, R. Properties of FDA-Approved Small Molecule Protein Kinase Inhibitors: A 2021 Update. *Pharmacol. Res.* **2021**, 165, 105463. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105463>.
- 24.- Ayala-Aguilera, C. C.; Valero, T.; Lorente-Macías, Á.; Baillache, D. J.; Croke, S.; Unciti-Broceta, A. Small Molecule Kinase Inhibitor Drugs (1995–2021): Medical Indication, Pharmacology, and Synthesis. *J. Med. Chem.* **2022**, 65 (2), 1047–1131. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00963>.
- 25.- Namboodiri, H. V.; Bukhtiyarova, M.; Ramcharan, J.; Karpusas, M.; Lee, Y.; Springman, E. B. Analysis of Imatinib and Sorafenib Binding to P38 α Compared with C-Abl and b-Raf Provides Structural Insights for Understanding the Selectivity of Inhibitors Targeting the DFG-out Form of Protein Kinases. *Biochemistry* **2010**, 49 (17), 3611–3618. <https://doi.org/10.1021/bi100070r>.
- 26.- Wen, S., Cheng, S., Ng, S., Aneja, R., Chen, C., Huang, C., Kuo, W. "Roles of p38 α and p38 β mitogen-activated protein kinase isoforms in human malignant melanoma A375 cells". *International Journal of Molecular Medicine* 44, no. 6 (**2019**): 2123-2132. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4383>
- 27.- Zou, X.; Blank, M. Targeting P38 MAP Kinase Signaling in Cancer through PostTranslational Modifications. *Cancer Lett.* **2017**, 384, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.10.008>.
- 28.- Frisone, D.; Friedlaender, A.; Malapelle, U.; Banna, G.; Addeo, A. A BRAF New World. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2020**, 152, 103. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103008>.
- 29.- Abdel-Mohsen, H. T.; Omar, M. A.; El Kerdawy, A. M.; Mahmoud, A. E. E.; Ali, M. M.; El Diwani, H. I. Novel Potent Substituted 4-Amino-2-Thiopyrimidines as Dual VEGFR2 and BRAF Kinase Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 179, 707–722. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.063>.

- 30.- Cope, N. J.; Novak, B.; Liu, Z.; Cavallo, M.; Gunderwala, A. Y.; Connolly, M.; Wang, Z. Analyses of the Oncogenic BRAFD594G Variant Reveal a Kinase-Independent Function of BRAF in Activating MAPK Signaling. *J. Biol. Chem.* **2020**, 295 (8), 2407– 2420. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011536>.
- 31.- Lv, Y.; Wang, Y.; Zheng, X.; Liang, G. Reveal the Interaction Mechanism of Five Old Drugs Targeting VEGFR2 through Computational Simulations. *J. Mol. Graph. Model.*
- 32.- de la Garza Salazar, J. G.; Sánchez, J. P. ANTECEDENTES. In *El Cáncer*, Monterrey N.L. UANL, 2014; pp 23–28.
33. 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, 2022).-
- 34.- 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, 2022).
- 35.- Ghosh, A. K.; Brindisi, M. Urea Derivatives in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* **2020**, 63 (6), 2751–2788. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01541>.
- 36.- Gadaleta-Caldarola, G.; Infusino, S.; Divella, R.; Ferraro, E.; Mazzocca, A.; De Rose, F.; Filippelli, G.; Abbate, I.; Brandi, M. Sorafenib: 10 Years after the First Pivotal Trial. *Futur. Oncol.* **2015**, 11 (13), 1863–1880. <https://doi.org/10.2217/fon.15.85>
- 37.- He, Y.; Luo, Y.; Huang, L.; Zhang, D.; Wang, X.; Ji, J.; Liang, S. New Frontiers against Sorafenib Resistance in Renal Cell Carcinoma: From Molecular Mechanisms to Predictive Biomarkers. *Pharmacol. Res.* **2021**, 170. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105732>.

38.- Chen, F.; Fang, Y.; Zhao, R.; Le, J.; Zhang, B.; Huang, R.; Chen, Z.; Shao, J. Evolution in Medicinal Chemistry of Sorafenib Derivatives for Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 179, 916–935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.070>.

39.- Wang, K.; Li, Y.; Zhang, L. J.; Chen, X. G.; Feng, Z. Q. Synthesis and in Vitro Cytotoxic Activities of Sorafenib Derivatives. *Chinese Chem. Lett.* **2014**, 25 (5), 702–704. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2014.03.020>.

40.- Abdel-Mohsen, H. T.; Omar, M. A.; El Kerdawy, A. M.; Mahmoud, A. E. E.; Ali, M. M.; El Diwani, H. I. Novel Potent Substituted 4-Amino-2-Thiopyrimidines as Dual VEGFR2 and BRAF Kinase Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 179, 707–722. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.063>.

41.- Chen, F.; Fang, Y.; Zhao, R.; Le, J.; Zhang, B.; Huang, R.; Chen, Z.; Shao, J. Evolution in Medicinal Chemistry of Sorafenib Derivatives for Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 179, 916–935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.070>.

42.- Chen, F.; Fang, Y.; Zhao, R.; Le, J.; Zhang, B.; Huang, R.; Chen, Z.; Shao, J. Evolution in Medicinal Chemistry of Sorafenib Derivatives for Hepatocellular Carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, 179, 916–935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.070>.

43.- Hongbin Yang, Chaofeng Lou, Lixia Sun, Jie Li, Yingchun Cai, Zhuang Wang, Weihua Li, Guixia Liu, Yun Tang, admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties, *Bioinformatics*, Volume 35, **2019**, Pages 1067–1069, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>

44.- Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep* **7**, (2017). <https://doi.org/10.1038/srep42717>

45.- ACD/ChemSketch, version 2020.1.2, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2020

- 46.- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC
- 47.- 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. DOI: [10.1371/journal.pone.0191838](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191838).
- 49.- La síntesis por microondas simplificada con discover sp y mars6 para síntesis VERTEX Technics - www.vertex.es - Dpto. de Laboratorio Consultado enero 2022
- 50.- Young, J. K.; Seit-Nebi, A.; Davis, R. J.; Han, J. Multiple Activation Mechanisms of P38 α Mitogen-Activated Protein Kinase. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281 (36), 26225–26234. <https://doi.org/10.1074/jbc.M606800200>
- 51.- A.; Alberto, E.; Galv, Y.; Miranda-gonz, C.; Col, B.; Hern, E.; Hern, G. I.; Palomino-hern, O.; Navarrete-vazquez, G. Design, synthesis, and *in silico* multitarget pharmacological simulations of acid bioisosteres with a validated *in vivo*. **2021**. *Molecules*. 799 <https://doi.org/10.3390/molecules26040799>
- 52.- Massachusetts General Hospital Cancer Center. The Genomics of Drug Sensitivity in Cancer. Consultado en: <https://www.cancerrxgene.org/>
- 53.-ATCC Hep G2 <https://www.atcc.org/products/hb-8065> consultado octubre 2022
- 54.-ACCEGEN Biotechnologu <https://www.accegen.com/recent-posts/huh-7-origins-and-research-value/> accesado octubre 2022
- 55.-ATCC- HeLa <https://www.atcc.org/products/crm-ccl-2> accesado octubre 2022
- 56.-ATCC PC-3 accesado 25 octubre 2022 <https://www.atcc.org/products/crl-1435>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Jorge Luis Ortiz Diaz

Título de la tesis: Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

Firma Jurado

17 de mayo 2023



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

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2023-05-18 12:45:54 | Firmante

UfoJr7jU+CaLLmWtsCLRhG22LbcTQ0kXIBxmEGNAXkGSEZ/aC8JU6ixrdoSRnqWitQqPDFzm5GMCIIaoDyKXg4i37F5LCb9mJgrYY80yDtTYMfkAids11bK6CLAQwUAT67kaimtghcV+vKzm/qcprWeV3p9W8sBcWM8OvSn3FnbWpEoAws9gdAb+BvilGHTDmvFIISCXs98M5H1virZFn9xKRkzHKB/NbXzVbKZU3O6gtcnGUuUMbOGETIImbOLMgyLm0oW1W+32vwRs.JsRZ7hWhd6WUY2MaF7QLcC+Uhf+bh75NQRLnQtYsX3cbgrMekMp6xHHqK+8AAZ8DEBEh+A==

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



[mC3Bc9p2q](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/thwXQNsVdWWpqC7pKsPISastYyXRNwn>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Jorge Luis Ortiz Diaz

Título de la tesis: Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Magdala Zulema Figueroa Suarez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Dr. Magdala Zulema Figueroa Suarez

Firma Jurado

20 de mayo 2023



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

MAGDALA ZULEMA FIGUEROA SUAREZ | Fecha:2023-05-20 11:42:51 | Firmante

bn3TmQH6nvAJb+N6Ys7EH1sEPD8zQDVhDsGKppHiggTbsfcSdPA0s6tmkiPqhE2qoSINXXlgOkcmI7EbRp+VN2q1V3CldW+w5Y8NzTijQncBLuY/UTULqA3Ntu/WxPtKdgDMv
UXbaZINOOIHnuNSgvEGEtoP7+kW/8qQlzVi7Yv+zuCFNi9hzVW1rjx22GJG16GzMGxKzk4DDxJAT1hpeBn1EzV9ixLnUBy5JoJ43p+nzoBuZx4nn7sZikqJgYTsjnVq3xQro1/XaqRI
KMmcpXBz1koW7fXNEEtA2i3YV9097XNeZqyluceYpYUHMh3wcRaeEdp1IjC3CJY+1g==

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



eBg8kCHfW

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/1tVT65zSWKM6tNtChSFudboadiWfZsRt>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Jorge Luis Ortiz Diaz

Título de la tesis: Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Emanuel Hernández Núñez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Dr. Emanuel Hernández Núñez

Firma Jurado

17 de mayo 2023



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

EMANUEL HERNANDEZ NUÑEZ | Fecha:2023-05-19 13:01:25 | Firmante

rJrT16wXDjXqbizijw/wsYpXShJmhYzGOSuQwW8G5t5lOdXSXXkSfHsSpbTgJVPTX8Udy+DIONrRbLLr6u52dU8Rfcs0XYQLiNqq4LNUeqRMTp6lsZtWlatiuB61eHliV+NkALi7+7cc7hRCnpDwGoei2VEh/J3jGXdP+Ryd2EqFbbrPZmuxLtDOh3r4nqXXdZEHjFj8G0ZijZrL15Ha4x2Nf5pOMKzpnJxoSPPdYykh3b0i0E0/FUzJa+78BjpnGZG1VP5rEKu1x+TykG+De1fL+T8le9dX5JZL7Wg6jb8+b6a8yOAsl7H0l4ppXHif0ovSxali+/fYJXDkv8cQ==

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



[aWXUiYmke](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/MDRvGLi4WbhBvw72waDjNGuioiixSKPH>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Jorge Luis Ortiz Diaz

Título de la tesis: Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: cDr. Carlos Martínez Conde

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

cDr. Carlos Martínez Conde

Firma Jurado

17 de mayo 2023



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

CARLOS MARTÍNEZ CONDE | Fecha:2023-05-17 11:38:27 | Firmante

cogrmGIVnTwl/QDkwTOPJJ5IRP1jgFmLNjZnckE8FKsb4psV2lgLZo4+FHwvcgdN7NVRM+PYP4I0D65KRlry1ScfMIOSVn7uPOBWPVNYn7JhPbTGgRwAEP9ZpvlA3HyeT89Zlk
byMitYAUUV49G30SA9eCEVUAx0VKZENmOubqMjNLCL6JFTEDZfWg/s0MiJ3izT3fLBAFyJjrs+e8bcaH6KfFibmecvbyd5Wyte6pLuzXzHXNBqpT5ditp4ut2XPCyHqHW/AHjAsUi
mD/ISqJyX8/BV9B7z1N894Nzwx78p765cV0yxv2c7LR65BVyHlauDDqouYYfzipzi7NOeaDA==

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



[OezMUEpkP](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/bvyYb7VViuP1tsQfDMkRrBc1SC4vgjKM>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Jorge Luis Ortiz Diaz

Título de la tesis: Diseño, síntesis y efecto citotóxico de análogos de Sorafenib

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Si se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Firma Jurado

17 de mayo 2023



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

JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2023-05-17 11:26:20 | Firmante

bfk6JwCo0hE94Bfh68hbMv2uu9NN5DTXo8CDCWp6glbX+4lvyUhhjPR33cOy6zyQ4dKFy27GY4Jx4cSF+nw5YNwFIKpu10fBfNyYKghCsu1PYz7x/+H1x31W XFNMXMBFVYOP5
HskgN3bU86T86X+K/p3uColV1jm318syt63aCKJB1oWie681VtVGEEdN+lp4ztlik2e4pvHVZEdqdbRPbFTqQYAc6UAHlzdHq6ljpPZd89jrrgKda9xRSAumXnBt8F0AXPg7BFo8NC
kq4cAkZw7XR59fdOOC8k1VGyUOvl/TFZa/wtGsFrA9KTWOxQTJuOGCQKiTN8XgDN6Na/A==

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



[ByUWkObtu](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/RNcYiR9ihwN92plkFPmVcGw1bNYekjS>

