

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**DISEÑO *in silico* DE ANÁLOGOS DE LT8A Y SEMI-SÍNTESIS DE LT8AA Y  
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD CONTRA CÉLULAS CANCEROSAS.**

**Por**

**Q.F.B. JUAN MANUEL RODRÍGUEZ VÉLIZ**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS con Orientación en Farmacia**

**Abril 2026**

DISEÑO *in silico* DE ANÁLOGOS DE LT8A Y SEMI-SÍNTESIS DE LT8AA,  
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD CONTRA CÉLULAS CANCEROSAS.

Aprobación de la Tesis:



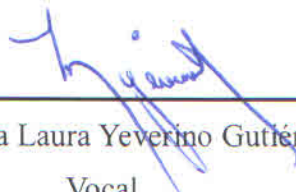
---

Dra. María del Rayo Camacho Corona  
Presidente



---

Dr. Edgar Abraham García Zepeda  
Secretario



---

Dra. Myrna Laura Yeverino Gutiérrez  
Vocal



---

Dr. Javier Rivera De la Rosa  
Subdirector de Estudios de Posgrado

DISEÑO *in silico* DE ANÁLOGOS DE LT8A Y SEMI-SÍNTESIS DE LT8AA,  
DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD CONTRA CÉLULAS CANCEROSAS.

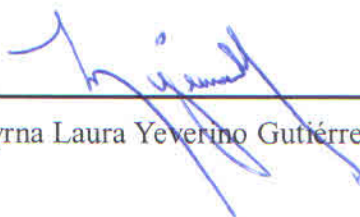
Revisión de la Tesis:

Comité Tutorial



---

Dr. Edgar Abraham García Zepeda



---

Dra. Myrna Laura Yeverino Gutiérrez



---

Dra. Flora Eduarda Cruz López

## RESUMEN

**Q.F.B. Juan Manuel Rodríguez Véliz**

**Fecha de graduación:**

**Abril de 2026**

**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**Facultad de Ciencias Químicas**

**Título del estudio: DISEÑO *in silico* DE ANÁLOGOS DE LT8A Y SEMI-SÍNTESIS DE LT8AA, DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD CONTRA CÉLULAS CANCEROSAS.**

**Número de páginas: 135**

**Candidato para el Grado de Maestro  
en Ciencias con Orientación en  
Farmacia**

**Área de estudio: Estudio de Compuestos con Actividad Farmacológica y Biotecnología Farmacéutica**

**Propósito y Método de Estudio:** El cáncer continúa siendo una de las principales causas de mortalidad mundial, destacando tumores como los de mama, próstata, pulmón, colon y glioblastoma por su alta incidencia y relevancia clínica. Las limitaciones terapéuticas actuales, como resistencia y toxicidad, motivan la búsqueda de nuevos agentes con mejores perfiles de eficacia y seguridad. En este contexto, los productos naturales representan una fuente importante de moléculas bioactivas. Entre ellos, el lignano Lt8, aislado de *Larrea tridentata*, constituye una estructura prometedora debido a su conversión química a Lt8A, análogo con parecido estructural a la podofilotoxina, precursora de fármacos consolidados como etopósido y tenipósido.

En este trabajo se evaluaron 25 derivados de Lt8A mediante acoplamiento molecular frente a dianas asociadas a proliferación tumoral. Posteriormente, se estimaron parámetros ADME y toxicidad *in silico*. La integración de estos resultados permitió seleccionar cuatro candidatos (Fosfato 4, Éster 3 conocido como Lt8AA, Éster 1 y Éster 5) con energías de acoplamiento favorables, buena biodisponibilidad oral teórica y baja probabilidad de toxicidad *in silico*. Además, mediante SwissADME Target Prediction y GEPIA se identificaron posibles dianas moleculares y su relevancia en distintos tipos de cáncer, priorizando al Lt8AA como candidato principal para su posterior síntesis y evaluación experimental.

**Contribuciones y Conclusiones:** Como parte de la validación experimental, se sintetizó el análogo Lt8AA, seleccionado por su perfil computacional, y se evaluó junto con el lignano de origen Lt8 mediante un ensayo de viabilidad celular por cristal violeta a 25  $\mu\text{M}$  en cinco líneas celulares cancerosas (PC-3, MCF-7, HCT-15, SKLU-1 y U251) y una línea normal

(HaCaT). Los resultados mostraron que Lt8AA presenta únicamente actividad parcial, contra la línea SKLU-1 de cáncer de pulmón, en ella se exhibió una disminución apreciable de viabilidad, lo que sugiere un posible mecanismo dependiente de captación diferencial, metabolismo redox o activación intracelular selectiva. Aunque el desempeño no coincidió con las predicciones *in silico*, esto refuerza la importancia de validar computacional y experimentalmente cada compuesto, ya que las plataformas predictivas describen escenarios teóricos que pueden no reproducirse completamente en sistemas biológicos reales.

En conjunto, este trabajo permitió identificar análogos con potencial farmacológico, establecer una estrategia de priorización basada en química computacional y generar evidencia experimental preliminar sobre la actividad de Lt8 y Lt8AA. Como perspectiva de este estudio consistirá en sintetizar los tres análogos promisorios faltantes ( Éster 1, Éster 5 y Fosfato 4), y determinar su  $IC_{50}$  mediante el ensayo de citotoxicidad del MTT. Estos avances contribuirán al desarrollo de nuevos candidatos antineoplásicos inspirados en productos naturales.



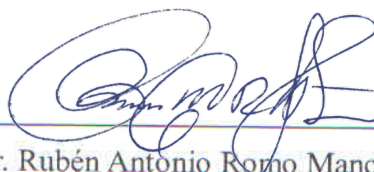
Dra. María del Rayo Camacho Corona

Director de tesis



Dr. Francisco Guadalupe Ávalos Alanís

Co-Director de Tesis



Dr. Rubén Antonio Romo Mancillas

Co-Director de Tesis

## AGRADECIMIENTOS

### **Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Laboratorio de Química Farmacéutica**

Por proveer la infraestructura, equipos e insumos utilizados en el proyecto de tesis.

### **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación.**

Por la beca de manutención otorgada (CVU 1342469) durante este proyecto de investigación.

### **Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Químicas, Grupo de diseño asistido por computadora y síntesis de fármacos**

Por proveer la infraestructura, equipos e insumos utilizados en la parte *in silico* del proyecto.



### **Dra. María del Rayo Camacho Corona**

Agradezco sinceramente su orientación y las revisiones minuciosas que brindó consistentemente durante el desarrollo de este trabajo. Su guía fue fundamental para mantener el enfoque metodológico y asegurar la estructura académica requerida en cada etapa. Le extiendo mi reconocimiento por la dirección profesional y el rigor con el que abordó esta etapa de mi formación, lo cual resultó indispensable para la conclusión exitosa del proyecto.



### **Dr. Edgar Abraham García Zepeda**

En el corto, pero muy significativo periodo que hemos compartido, he descubierto una profunda admiración por usted. Su inteligencia y elegancia profesional son cualidades a las que, sinceramente, aspiro a llegar algún día. Le extiendo mi más sincero agradecimiento por su apoyo incondicional y por fungir como un excelente mentor. Aprecio enormemente la franqueza con la que abordó los desafíos, pues fue precisamente esa honestidad la que me hizo darme cuenta de que debía continuar con el proyecto. Su disposición no solo se limitó a

brindar material y soluciones prácticas, sino que también incluyó un apoyo emocional invaluable en los momentos cruciales. Con mi mayor respeto y gratitud.



**Dra. Flora Eduarda Cruz Lopez**  
**Dra. Myrna Laura Yevevino Gutiérrez**  
**Dr. Francisco Guadalupe Ávalos Alanís**  
**Dr. Bryan Alejandro Espinosa Rodríguez**

Agradezco por el invaluable apoyo brindado a lo largo de este proyecto. Valoro profundamente el tiempo dedicado a la revisión de mis presentaciones y la atención detallada a cada uno de mis avances de tesis. Sus comentarios y observaciones han sido fundamentales, no solo para corregir el rumbo cuando fue necesario, sino para guiar el proyecto hacia un nivel de perfección y rigurosidad académica que no habría sido posible sin su experiencia. Su compromiso ha sido clave para el enriquecimiento y el éxito final de esta investigación.



**Dr. Rubén Antonio Romo Mancillas**

Gracias por todo el apoyo y la excelente disposición que mostró para realizar el docking en Querétaro. Fue una experiencia sumamente grata, ya que su amabilidad, espíritu servicial y excelente actitud hicieron la colaboración muy fluida. Adicionalmente, valoro de manera especial su apoyo con la generación de las imágenes 2D y la orientación en la interpretación de los datos *in silico*. Ha sido un gusto compartir este proyecto con una persona tan profesional y, sobre todo, tan buena onda.



### **Dra. Lucía Cantú Cárdenas**

Le extiendo mi más profundo y sincero agradecimiento. Usted ha sido, sin duda, mi ángel en Monterrey; una figura esencial que me ha permitido llegar a la culminación de esta maestría. Admiro enormemente su elegancia, diplomacia y excepcional capacidad de análisis, cualidades que la convierten en la mejor maestra y doctora que he tenido el privilegio de conocer.

Usted es mi ídolo y mi aspiración como profesionista el día de mañana. Le agradezco enormemente por la ayuda invaluable que me brindó en las materias más pesadas, como Bases Moleculares y Química Medicinal Avanzada, cuyas clases siempre fueron excelentes y nos hacían razonar profundamente. Gracias a usted, pude comprender y dominar los grupos funcionales y el razonamiento de las estructuras químicas de los medicamentos.

Jamás olvidaré su compromiso inquebrantable, ejemplificado en esas clases extracurriculares que me impartía y, sobre todo, aquella vez que me ayudó con mi tarea un domingo a las 11 de la noche. Su calidez y calidad humana son inigualables. Siempre agradezco a la vida haberme puesto en el camino a una persona tan comprometida y maravillosa como usted. La quiero mucho y le reitero: gracias a usted estoy aquí.



### **Dr. Julio Adrián Martínez Meléndez / Dr. Martín**

Quiero expresarle mi más sincero agradecimiento por su inigualable apoyo y amistad. Me da mucho gusto recordar cómo nuestra relación evolucionó del desagrado a una conexión genuina; gracias por ser un excelente maestro que se convirtió en un gran amigo.

Aprecio enormemente su nobleza y la inmensa paciencia que siempre demostró, especialmente en los momentos de mayor estrés. No hay beca que pague los valiosos momentos donde me brindó una escucha atenta y, literalmente, me alimentó para que no decayera.

Jamás olvidaré esos buenos momentos de teorías conspirativas sobre quién reencarnó en Tchaikovsky o Selena Quintanilla, ni las risas compartidas descubriendo datos curiosos de “los cínicos”. Su capacidad de combinar el rigor académico con una amistad tan sincera fue

clave. Gracias por ser un pilar fundamental que me permitió continuar y terminar con éxito este posgrado.



## **A mis padres**

A mis padres, las personas más importantes en mi vida, quiero dedicarles este logro con todo mi corazón.

Agradezco a la vida el inmenso regalo de tenerlos como guías. Este reconocimiento y el éxito de este proyecto no son míos; son la culminación de su apoyo incondicional, su amor infinito y su sacrificio constante. Es usual que solo el hijo se lleve el aplauso, pero la verdad innegable es que ustedes están detrás de cada paso, de cada triunfo y de cada gota de esfuerzo. Por ello, mis éxitos y mis triunfos son, y siempre serán, de ustedes.

Soy quien soy gracias a la combinación de sus genes y sus enseñanzas. Ser Rodríguez me ha brindado esa facilidad para ser amigable, social y conectar con las personas; mientras que ser Véliz me ha dado la fortaleza para afrontar las situaciones, la valentía ante los retos, el coraje para no tener miedo y la perseverancia para perseguir mis sueños.

A mi querida madre: Gracias por ser mi orientadora, mi brújula emocional y mi cable a tierra. Sus pláticas me ubican, me centran y me motivan. Aprendí muy bien sus enseñanzas de la vida: el valor de "ponerse vivo" y la fortaleza para enfrentar con valor cualquier situación que se presente. Su apoyo emocional ha sido el motor que me ha permitido levantarme en cada tropiezo. La admiro profundamente y le agradezco por haberme enseñado a ser la persona que soy hoy.

A mi querido padre: Gracias por su cariño y apoyo económico firme y constante que me permitió enfocarme por completo en mis estudios sin preocupaciones. Su esfuerzo y dedicación son mi mayor ejemplo de responsabilidad y compromiso.

Espero, con todo mi corazón, hacerlos sentir orgullosos de ver cómo pongo en práctica cada valiosa lección y cada valor que me transmitieron. Los quiero inmensamente. Que este sea solo un logro de muchos más que celebremos juntos.



### **Héctor Guevara**

A Héctor, un gran amigo y brillante compañero de generación: Agradezco profundamente tu mente tan ocurrente e inteligente. Siempre fuiste un amigo dispuesto a ayudar, y valoro enormemente que nunca existió entre nosotros la rivalidad o las envidias, sino una genuina amistad. Tu apoyo fue crucial, gracias a ti conseguí una fracción de Lt8. Aprecio enormemente tu amistad. Te deseo el mayor de los éxitos en el doctorado y en todos tus proyectos.



### **Jacob Romero**

El amigo más introvertido que he tenido, con el que tuve el gusto de compartir la mayor parte de la maestría. Me costó mucho trabajo hacerte hablar, pero eres una persona de mucho valor y sé que, aunque no seas de demostrar emociones, cuando lo haces, es genuino y hay que atesorarlo. Pasamos de ser compañeros indiferentes a tener "dates" como en los TikToks de "otra vez haciendo dates con este wey". Gracias por tu presencia y por estar siempre ahí para mí, incluso con todo y nuestros pleitos y diferencias de personalidad. Te deseo lo mejor en el doctorado.



### **Iván Díaz Payán**

Gracias por ser un amigo incondicional y un pilar durante toda esta trayectoria.

Tu colaboración fue vital: eres el autor de la elucidación de todos los espectros que se encuentran en esta tesis, y un PIA jaja. Pero, más allá de lo técnico, valoro enormemente que siempre pasé buenos y divertidos momentos a tu lado. No tengo cómo agradecerte por todo lo que has hecho por mí. Nunca olvidaré que estar contigo era sinónimo de diversión y risas garantizadas. Te deseo el mayor de los éxitos en el doctorado y en todo lo que emprendas.



### **A mis amigos**

Quiero agradecer de manera muy especial a mis amigos que hicieron de esta etapa una experiencia inolvidable.

A mis compañeros y amigos de la maestría: Claudia Gracia, Evelin Butanda, Karen Reyes, Christian Pérez, Regina Mireles, Gustavo Saucedo, Cecilia Banda, Enrique Contreras, Jaqueline Rodríguez y Yatzael González. Gracias por todo. Atesoro en mi corazón cada momento: desde las enseñanzas académicas que compartimos, hasta las salidas a conocer Monterrey, las inolvidables pijamadas con jokeis, comidas y noches de antro. Su amistad y su compañía hicieron que este proceso fuera mucho más llevadero y me ayudaron a encariñarme profundamente con la ciudad.

Y a mis amigas a la distancia: Rebeca González, Alondra Perales y Melissa Álvarez. Gracias por su amistad de años que se mantuvo firme. A pesar de la distancia, siempre estuvieron ahí escuchándome por teléfono, brindándome apoyo y haciéndome reír cuando más lo necesitaba. Su presencia, aunque virtual, fue mi refugio. Las quiero mucho y les agradezco su lealtad.

## DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a todas las veces en que pensé en abandonar la maestría,  
a los días en que las dificultades económicas y académicas me hicieron dudar  
de mis capacidades y de mi lugar en este camino.

A los momentos en que creí que no iba a poder,  
y también a aquellos en los que pensé, con miedo y cansancio,  
que quizá la ciencia no era mi vocación.

Está dedicado a las jornadas en que nada salió bien,  
a las noches de ansiedad y desvelo preguntándome si mi trabajo era suficiente,  
si el esfuerzo valía la pena, si realmente pertenecía aquí.

A cada duda, cada caída y cada pensamiento que casi me hizo soltarlo todo.

A todo eso —y a la fuerza que logré encontrar en medio del agotamiento—  
le dedico este logro.



## INDICE

|  |    |
|--|----|
| CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN .....  | 24 |
| 1.1 ¿Qué es el cáncer y metástasis?.....   | 24 |
| 1.2 Clasificación de los tipos de cáncer.....  | 24 |
| 1.3 Diagnóstico de cáncer.....   | 26 |
| 1.4 Factores e incidencia que aumentan la probabilidad de contraer el cáncer .....                       | 27 |
| 1.5 Incidencia de cáncer en México .....   | 28 |
| 1.6 Mortalidad por cáncer en México .....  | 28 |
| 1.7 Tratamientos más usados contra el cáncer y la desventaja de su uso.....                              | 28 |
| 1.8 Ciclo celular .....  | 29 |
| 1.9 Agentes Citotóxicos.....   | 30 |
| 1.10 Efectos Adversos de la Quimioterapia.....   | 30 |
| CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES.....   | 32 |
| 2.1 Compuestos naturales con aplicación en la medicina .....   | 32 |
| 2.2 <i>Larrea tridentata</i> como fuente de metabolitos secundarios con potencial uso farmacéutico ..... | 33 |
| 2.3 Metabolitos secundarios de <i>L. tridentata</i> con actividad antibacteriana y citotóxica .          | 33 |
| 2.4 Efecto anticancerígeno del 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina.....                               | 34 |
| 2.5 Efecto anticancerígeno de la podofilotoxina .....  | 34 |

|  |    |
|--|----|
| 2.6 Efecto de la podofilotoxina en los microtúbulos en tratamientos oncológicos .....  | 36 |
| 2.7 Regulación del ADN de células cancerígenas por las Topoisomerasas .....            | 37 |
| 2.8 Sitio de unión de la colchicina y su enlace con la tubulina .....                  | 38 |
| 2.9 Relación estructural de la podofilotoxina y el Lt8 .....                           | 39 |
| 2.10 Diseño de fármacos asistido por computadora .....                                 | 40 |
| 2.11 Perfiles predictivos farmacocinéticos y toxicológicos .....                       | 41 |
| 2.12 Herramientas para determinar moléculas con efecto farmacológico promisorio ....   | 41 |
| CAPÍTULO 3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....   | 43 |
| 3.1 Hipótesis .....  | 43 |
| 3.2 Objetivo general .....   | 43 |
| 3.3 Objetivos particulares .....   | 43 |
| CAPÍTULO 4 PARTE EXPERIMENTAL .....  | 45 |
| 4.1 Ubicación de Infraestructura y Equipos .....                                       | 45 |
| 4.1.2 Estudios <i>in silico</i> .....  | 45 |
| 4.1.3 Purificación de Lt8, semi-síntesis de Lt8A y Lt8AA y caracterización estructural | 45 |
| 4.1.4 Actividad citotóxica .....   | 46 |
| 4.2 Metodología para el estudio <i>in silico</i> .....                                 | 46 |
| 4.3 Metodología para la purificación de compuestos .....                               | 47 |

|   |  |     |
|---|--|-----|
| 4.4                                     | Elucidación estructural de los compuestos obtenidos .....  | 48  |
| 4.5                                     | Obtención de 3'-desmetoxi-6- <i>O</i> -demetilisoguaiacina (Lt8).....  | 49  |
| 4.6                                     | Purificación de Lt8 por columna cromatográfica (CC).....   | 49  |
| 4.7                                     | Purificación de LT8 por cristalización forzada .....   | 50  |
| 4.8                                     | Metodología para la semi-síntesis de Lt8A y Lt8AA.....   | 51  |
| 4.9                                     | Metodología para el ensayo de citotoxicidad (cristal violeta) .....  | 54  |
| 4.10                                    | Disposición de Residuos.....   | 55  |
| CAPÍTULO 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... |  | 57  |
| 5.1                                     | Acoplamiento molecular.....  | 57  |
| 5.2                                     | Análisis de Farmacología de Redes: Identificación de Dianas Multi-Objetivo por Intersección Swiss Target Prediction – GEPIA 2..... | 84  |
| 5.3                                     | Rendimientos de la purificación de Lt8 por columna cromatográfica (CC).....  | 89  |
| 5.4                                     | Rendimiento de la purificación de Lt8 por cristalización forzada. ....   | 90  |
| 5.5                                     | Elucidación estructural por infrarrojo.....  | 92  |
| 5.6                                     | Elucidación estructural de Lt8 por RMN <sup>1</sup> H.....   | 94  |
| 5.7                                     | Elucidación estructural de Lt8 por RMN <sup>13</sup> C.....  | 96  |
| 5.8                                     | Síntesis para la obtención del metilendioxi Lt8A .....   | 98  |
| 5.9                                     | Elucidación estructural de Lt8A por RMN <sup>1</sup> H.....  | 100 |
| 5.10                                    | Elucidación estructural de Lt8A por RMN <sup>13</sup> C.....   | 102 |

|                              |  |     |
|------------------------------|--|-----|
| 5.11                         | Síntesis para la obtención del análogo Lt8AA.....            | 104 |
| 5.12                         | Elucidación estructural de Lt8AA por RMN <sup>1</sup> H..... | 106 |
| 5.13                         | Porcentaje de viabilidad celular de Lt8 y Lt8AA a 25 μM..... | 111 |
| CAPÍTULO 6 CONCLUSIONES..... |  | 117 |
| CAPÍTULO 7 REFERENCIAS.....  |  | 121 |
| APENDICE.....                |  | 129 |

## INDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Estructura química de $\alpha$ -peltatina (a), estructura química de $\beta$ -peltatina (b) y estructura química de la podofilotoxina (c).....  | 35 |
| Figura 2. Estructuras de ligandos de tubulina que se unen al sitio de la colchicina. Adaptada de Cragg, G. M., Kingston, D. G. I., & Newman, D. J. (2011). Anticancer agents from natural products. CRC Press. .... | 39 |
| Figura 3. Estructura química del Lt8. ....  | 39 |
| Figura 4. Estructura química del Lt8A.....  | 41 |
| Figura 5. Esquema de reacción de obtención del Lt8A .....   | 52 |
| Figura 6. Esquema de reacción de obtención del Lt8AA.....   | 53 |
| Figura 7. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Fosfato 4 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II.....  | 67 |
| Figura 8. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 3 (Lt8AA) con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II.....  | 68 |
| Figura 9. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 1 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II.....  | 70 |
| Figura 10. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 5 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II.....   | 71 |
| Figura 11. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Fosfato 4 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.....   | 73 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 12. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 3 (Lt8AA) con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina. .... | 74  |
| Figura 13. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 1 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.....          | 75  |
| Figura 14. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 5 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.....          | 77  |
| Figura 15. Diagrama de huevo cocido de los análogos de Lt8A.....   | 81  |
| Figura 16. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8.....   | 91  |
| Figura 17. Espectro infrarrojo del compuesto Lt8.....  | 92  |
| Figura 18. Espectro de $^1\text{H}$ NMR (400 MHz, MeOD) de Lt8.....  | 94  |
| Figura 19. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ del compuesto Lt8 en MeOD.....  | 96  |
| Figura 20. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8A.....  | 98  |
| Figura 21. Espectro de RMN $^1\text{H}$ del compuesto Lt8A en $\text{CDCl}_3$ .....  | 100 |
| Figura 22. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ del compuesto Lt8A en $\text{CDCl}_3$ .....   | 102 |
| Figura 23. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8AA.....   | 104 |
| Figura 24. Espectro de RMN $^1\text{H}$ del compuesto Lt8AA en $\text{CDCl}_3$ .....   | 106 |
| Figura 25. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ del compuesto Lt8AA en $\text{CDCl}_3$ .....  | 109 |

## INDICE DE TABLAS

|   |     |
|---|-----|
| Tabla 1. Disposición y Cuantificación de Residuos.....  | 56  |
| Tabla 2. Códigos PDB de las proteínas.....  | 57  |
| Tabla 3. Scores obtenidos usando Vina y Autodock (kcal/mol) .....                                       | 61  |
| Tabla 4. Código SMILES y nombre IUPAC de los 4 análogos más promisorios .....                           | 65  |
| Tabla 5. Resultados de Docking Molecular, Medianas y Percentiles para los análogos de Lt8A. ....        | 66  |
| Tabla 6. Posibles perfiles farmacocinéticos de los análogos más promisorios en SwissADME. ....          | 80  |
| Tabla 7. Perfiles toxicológicos de los análogos más promisorios realizados en Protox-II ..              | 83  |
| Tabla 8. Diez primeras dianas para el Lt8AA obtenidas de SwissADME Target Prediction                    | 85  |
| Tabla 9. Proteínas de líneas celulares sobreexpresadas para los análogos de Lt8A .....                  | 87  |
| Tabla 10. Rendimientos de purificación de Lt8 por CC.....   | 89  |
| Tabla 11. Rendimiento de la purificación de Lt8 por cristalización forzada.....                         | 90  |
| Tabla 12. Porcentajes de viabilidad de Lt8 y Lt8AA en 5 líneas celulares cancerígenas a 25 $\mu$ M..... | 112 |
| Tabla 13. Determinación de la $CI_{50}$ de etopósido en células humanas en $\mu$ M. ....                | 113 |

## NOMENCLATURA

OMS Organización Mundial de la Salud

TAC tomografía computarizada

RM Resonancia magnética

PET tomografía por emisión de positrones

°C Grado centígrado

% IC Porcentaje de inhibición de crecimiento

AcOEt Acetato de etilo

ADN Ácido desoxirribonucleico

BrCH<sub>2</sub>Cl Bromoclorometano

brs Señal ancha

CC Cromatografía en Columna

CCF Cromatografía en Capa Fina

CaCl<sub>2</sub> Cloruro de calcio

CCl<sub>4</sub> Tetracloruro de carbono

CDCl<sub>3</sub> Cloroformo deuterado

CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> Dibromometano

CHCl<sub>3</sub> Cloroformo

cm Centímetro

CO<sub>2</sub> Dióxido de carbono

Cols Colaboradores

Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Carbonato de cesio

d Doblete

DCM Diclorometano

dd Doblete de dobletes

dm Decímetro

DMAP 4-Dimetilaminopiridina

DMF *N,N*-dimetilformamida

DO Densidad óptica

dqd Doblete de cuarteto de doblete

DTBP Peróxido de di *tert*-butilo

EDTA Ácido etilendiaminotetraacético

EM-AR Espectrometría de Masas de Alta Resolución

g Gramo

h Hora

HCl Ácido clorhídrico

Hex Hexano

HMBC Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy

H<sub>2</sub>O Agua

Hz Hertz

IC<sub>50</sub> Concentración de inhibición media

J Constante de acoplamiento

KBr Bromuro de potasio

kg Kilogramo

KI Yoduro de potasio

L Litro

m Multiplete

MeCN Acetonitrilo

MeOH Metanol

MHz Megahertz

min Minuto

ml Mililitro

MW Microondas

m/z Relación masa-carga

NaOH Hidróxido de sodio

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Sulfato de sodio

nm Nanómetro

pf Punto de fusión

ppm Partes por millón

qd Cuarteto de dobles

R<sub>f</sub> Factor de retención

RMN <sup>1</sup>H Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno

RMN <sup>13</sup>C Resonancia Magnética Nuclear de Carbono

RPMI Medio Roswell Park Memorial Institute

s Singulete

t Triplete

TBHP Hidroperóxido de *tert*-butilo

TCA Ácido tricloroacético

THF Tetrahidrofurano

TMS Tetrametilsilano

UANL Universidad Autónoma de Nuevo León

UAQ Universidad Autónoma de Querétaro

W Watt

$\delta$  Desplazamiento químico

$\theta$  Ángulo diedro

$\lambda$  Longitud de onda

(s) stretch

(f) flexión

$\mu\text{l}$  Microlitro

$\mu\text{m}$  Micrómetro

$\mu\text{M}$  Micromolar

$\bar{\nu}$  Número de onda

Å Ångstrom

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 ¿Qué es el cáncer y metástasis?

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es un grupo de enfermedades que pueden comenzar en cualquier órgano o tejido del cuerpo (OMS, 2022). Esta enfermedad se caracteriza porque las células malignas o células anormales empiezan a reproducirse de manera acelerada y descontrolada.

Las células malignas del cáncer pueden llegar a presentar crecimientos acelerados de células que posteriormente tendrán la capacidad de propagarse a otros órganos y/o tejidos del cuerpo ocasionando lo que se conoce como metástasis, que de acuerdo con la OMS es una de las principales causas de muerte entre las personas que padecen cáncer (OMS, 2022).

Para referirse a la enfermedad del cáncer, se pueden acuñar los términos neoplasia, que es el crecimiento anormal de células en un tejido del organismo o también se puede utilizar el término tumor maligno que es cuando las células anormales pueden diseminarse a otros órganos (OMS, 2022).

### 1.2 Clasificación de los tipos de cáncer

Para entender el panorama general del cáncer, es crucial abordar su clasificación y diagnóstico. De acuerdo con la OMS, la clasificación de los tumores es un proceso que va

más allá de un simple nombre. Se trata de un procedimiento complejo que integra varias características para definir el tipo de tumor, su agresividad y el riesgo de progresión. Los criterios que se toman en cuenta incluyen: el origen del tumor (dónde se formó), la morfología (cómo se ve al microscopio), los marcadores moleculares y genéticos (las alteraciones específicas en el ácido desoxirribonucleico (ADN) que lo caracterizan), el grado de diferenciación (qué tan anormales se ven las células comparadas con las sanas) (OMS, 2022).

De forma más general, se suele categorizar el cáncer según el tipo de tejido que invaden las células cancerosas. Los cuatro tipos principales son:

1. Carcinomas: Son los más comunes y se originan en las células epiteliales que recubren la piel y los órganos. Ejemplos claros son el cáncer de mama, colorrectal y de próstata.
2. Sarcomas: Estos tumores se desarrollan en el tejido conectivo, como los huesos, el cartílago, o los vasos sanguíneos y linfáticos.
3. Leucemias: Este tipo de cáncer surge en la médula ósea, provocando una proliferación descontrolada de las células sanguíneas. Las leucemias linfocíticas y mieloides son las más conocidas.
4. Linfomas: Impactan el sistema linfático, una parte crucial del sistema inmunitario. La OMS distingue dos categorías principales: el linfoma de Hodgkin y el linfoma No Hodgkin (OMS, 2022).

### 1.3 Diagnóstico de cáncer

La importancia de un diagnóstico temprano no puede subestimarse. Cuando el cáncer se detecta a tiempo, las posibilidades de éxito del tratamiento aumentan, lo que no sólo mejora la supervivencia, sino que también reduce la morbilidad y los costos asociados (OMS, 2022).

El proceso de diagnóstico es una serie de pasos que, en conjunto, buscan obtener un resultado concluyente. Estos son los procedimientos clave que se siguen:

1. Examen físico: Es el punto de partida. Durante esta evaluación, el médico palpa el cuerpo en busca de bultos o hinchazón y observa cualquier cambio en la piel.
2. Pruebas de laboratorio: Un simple análisis de sangre u orina puede ofrecer pistas importantes. Por ejemplo, un hemograma completo puede revelar anomalías en las células sanguíneas que sugieran una leucemia.
3. Imágenes médicas: Estas pruebas no invasivas permiten visualizar órganos y tejidos internos. A menudo se comienza con una radiografía o ecografía, para luego recurrir a técnicas más avanzadas como la Tomografía Computarizada (TAC), la Resonancia Magnética (RM) o la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) si es necesario.
4. Marcadores tumorales: Aunque no son definitivos para un diagnóstico inicial, estas sustancias presentes en la sangre pueden ser útiles para monitorear la respuesta al tratamiento o detectar una recurrencia. Ejemplos incluyen el cáncer de próstata (PSA) o el cáncer de colon (CEA) (Joan R. Lladós, 2020).
5. Biopsia: Este es el procedimiento que ofrece la confirmación definitiva del cáncer. Consiste en extraer una muestra de tejido o células para su análisis en un laboratorio.

La técnica utilizada para la biopsia depende de la ubicación del tumor (Joan R. Lladós, 2020).

#### **1.4 Factores e incidencia que aumentan la probabilidad de contraer el cáncer**

De acuerdo con la OMS, la población que tiene una mayor probabilidad de contraer cáncer es aquella que tiene un consumo de tabaco y alcohol frecuente, así como también las personas que llevan una dieta no saludable, el sedentarismo, y la respiración de aire contaminado (OMS, 2022). Los tipos de cáncer que presentan mayores números de incidencia son: el cáncer de mama, pulmón, colorrectal y próstata. Además, las infecciones como el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) aumenta hasta 6 veces el riesgo de contraer un cáncer de cuello uterino (OMS, 2022).

La Organización Panamericana de Salud (OPS) en el año 2022 indicó que la incidencia de casos de cáncer fue de 4.2 millones en la región de las Américas y el número de personas que fallecieron a causa de cáncer fue de 1.4 millones aproximadamente (OPS, 2022). La OPS pronostica que, de no tomar medidas adecuadas, el cáncer aumentará a nivel mundial hasta un 60% durante las próximas décadas, especialmente en países de bajos y medianos ingresos per cápita (OPS, 2021).

### **1.5 Incidencia de cáncer en México**

En el año 2022, Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) realizó un estudio de cáncer en la población mexicana, encontrándose que México tiene una población aproximada de 131,562,775 personas, de las cuales 64,362,887 (48.9%) son hombres y 67,199,888 (51.1%) son mujeres. La incidencia de cáncer para el año 2022 en México fue de 95,954 casos (15%) para la población masculina y 111,200 casos (17%) para la población femenina. Los tipos de cáncer más comunes que se encontraron en la población masculina fueron: cáncer de próstata, de pulmón y colorrectal; mientras que para la población femenina fueron: cáncer de mama, cérvico uterino y colorrectal (Global Cancer Observatory, 2022).

### **1.6 Mortalidad por cáncer en México**

Para el mismo año, el Instituto Nacional de Estadística Geografía e informática (INEGI) reportó que la mortalidad en México por cáncer fue de 10.6% (89,574), identificando un crecimiento del porcentaje de mortalidad con respecto a años anteriores (INEGI, 2024).

### **1.7 Tratamientos más usados contra el cáncer y la desventaja de su uso.**

El cáncer representa un problema de salud de relevancia a nivel mundial debido a su creciente incidencia. Los tratamientos más utilizados contra el cáncer son agresivos y no son bien tolerados por pacientes, por ejemplo, intervenciones quirúrgicas, la radioterapia y la terapia

sistémica (quimioterapia, tratamientos hormonales, tratamientos biológicos dirigidos) (OMS, 2022). El uso de los tratamientos arriba mencionadas no asegura una terapia eficaz contra el cáncer, ya que las células pueden producir resistencia al tratamiento por razones intrínsecas (resistencia innata por expresión genética) y extrínsecas (activación de un segundo proto-oncogén que se convierte en el gen conductor y por mutaciones genéticas) (Wang, Zhang, and Chen 2019).

### **1.8 Ciclo celular**

Dentro del campo de la oncología, el ciclo celular ha emergido como un punto crítico para la efectividad de la quimioterapia. La relación entre ambos es un pilar fundamental en la lucha contra el cáncer, ya que la mayoría de los fármacos citotóxicos han sido diseñados para interferir con procesos clave de la división celular. Un claro ejemplo de esto se observa en las terapias que actúan específicamente durante la fase de mitosis. La eficacia de estos medicamentos radica en que sus efectos citotóxicos no se manifiestan de manera significativa hasta que la célula entra en esta fase, cuando su vulnerabilidad a las alteraciones es máxima. Esto subraya cómo la comprensión profunda de la biología celular se traduce en el desarrollo de estrategias terapéuticas más precisas y, potencialmente, más eficaces. A nivel molecular, esta interacción demuestra que la capacidad de una célula para proliferar la convierte en su propia debilidad, un concepto que guía gran parte de la investigación y el diseño de tratamientos oncológicos modernos (Gascoigne & Taylor, 2008).

## **1.9 Agentes Citotóxicos**

La quimioterapia citotóxica sigue siendo un pilar fundamental en el tratamiento del cáncer, dado que actúa sobre procesos biológicos esenciales para la proliferación celular. Estos fármacos, conocidos por atacar "dianas" críticas, se dirigen a rutas como la síntesis de nucleótidos, la replicación del ADN y la dinámica del citoesqueleto. Los agentes alquilantes, los antimetabolitos, los inhibidores de topoisomerasas y los venenos de microtúbulos son ejemplos clásicos de esta aproximación (Rudd, 2023) Así mismo los antimicrotúbulos y antibióticos tumorales forman parte del tratamiento anticancerígeno (Castillo-González Erika Leticia et al., 2020). Es importante destacar que, si bien estos medicamentos son efectivos, su naturaleza inespecífica representa un gran desafío, ya que también afectan a células sanas que tienen una alta tasa de proliferación. Sin embargo, los avances recientes en la ciencia han abierto nuevas oportunidades para el diseño de tratamientos más selectivos y menos tóxicos, buscando un equilibrio entre la eficacia y la toxicidad (Rudd, 2023).

## **1.10 Efectos Adversos de la Quimioterapia**

Los efectos adversos de la quimioterapia constituyen un desafío central en el tratamiento del cáncer. Aunque estos fármacos son esenciales para eliminar células malignas y mejorar las tasas de recuperación, su acción sobre células sanas provoca reacciones que varían de leves a graves, afectando significativamente la calidad de vida del paciente. Se estima que

aproximadamente el 45% de los pacientes experimentan efectos adversos graves durante la terapia (Ingrand et al., 2020).

Entre las manifestaciones más frecuentes se incluyen alteraciones hematológicas, como anemia, leucopenia y trombocitopenia, que aumentan el riesgo de infecciones y hemorragias; neuropatías y trastornos neurológicos; así como efectos gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarrea o estreñimiento. Además, ciertos fármacos pueden inducir toxicidad específica en órganos vitales (corazón, pulmones, riñones o hígado) en algunos casos resulta irreversible y limita la continuidad del tratamiento. Medicamentos como los inhibidores de topoisomerasa o los compuestos de platino se asocian con un mayor riesgo de complicaciones graves (Ingrand et al., 2020). Un problema adicional es la omisión de registro de efectos adversos en la práctica clínica, lo que dificulta la evaluación real de su frecuencia y severidad. Esta situación destaca la importancia de fortalecer la vigilancia farmacológica y mejorar la comunicación entre profesionales y pacientes, con el fin de proteger la salud, minimizando daños y adoptando un enfoque terapéutico más integral (Ingrand et al., 2020).

## CAPÍTULO 2

### ANTECEDENTES

#### 2.1 Compuestos naturales con aplicación en la medicina

Se han encontrado compuestos en las plantas que presentan efectos terapéuticos, (Guo et al., 2022) “algunos exhiben una actividad anticancerígena favorable y proporcionarían nuevas estructuras centrales y nuevos conocimientos para el desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos” (Guo et al., 2022).

Un ejemplo de compuestos naturales con aplicación en la medicina es la podofilotoxina (figura 1), la cual es un metabolito secundario, perteneciente al grupo de los lignanos que se obtiene principalmente de la raíz y los rizomas de las especies *Podophyllum peltatum* y *Podophyllum emodi* las cuales cuentan con evidencia científica de que presenta efectos anticancerígenos. El compuesto más abundante es el aril-tetralin-lignano (Motyka et al., 2023). Debido a que la podofilotoxina presenta efecto citotóxico y efectos secundarios, se optó por modificar la estructura y formar análogos, entre ellos destacan el etopósido y tenipósido, los cuales mostraron una mejor respuesta al administrarse como fármacos. Los análogos mencionados anteriormente destacan en el mercado por su actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral y por sus propiedades inmunosupresoras (Motyka et al., 2023).

## **2.2 *Larrea tridentata* como fuente de metabolitos secundarios con potencial uso farmacéutico**

La planta que se ha estudiado en años recientes por sus propiedades antibacterianas y anticancerígenas es *Larrea tridentata* (*L. tridentata*) la cual se puede encontrar en el norte de México y sur de los Estados Unidos. Conocida comúnmente como “gobernadora”, es un arbusto que puede llegar a medir de 0.5 a 3.5 m. El tallo tiene numerosas ramas con hojas de color verde amarillento. Sus flores son amarillas, el fruto es ovoide con finos pelos blancos, y contiene una semilla de color negro (Morales-Ubaldo et al., 2022). Esta planta es muy conocida por su efectividad en el tratamiento de una variedad de enfermedades, infertilidad, reumatismo, artritis, diabetes, cálculos biliares y renales, resfriados, diarrea, problemas de la piel, sobrepeso, infecciones, cáncer, dolor e inflamación. También tiene usos en la industria y como forraje (Morales-Ubaldo et al., 2022).

## **2.3 Metabolitos secundarios de *L. tridentata* con actividad antibacteriana y citotóxica**

De acuerdo con un estudio realizado por la UANL, a partir de los extractos clorofórmicos de las hojas de *L. tridentata* se aislaron y caracterizaron estructuralmente 7 compuestos, cuatro lignanos y tres flavonoides; dentro los lignanos descritos destacan el ácido meso-dihidroguaiaretico y el 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina (Lt8), siendo este último el más activo contra el SARM (Favela-Hernández et al. 2012), su mecanismo de acción está

relacionado con la membrana, afectando a las proteínas transportadoras de tipo ABC (Favela-Hernández et al. 2015) por lo que el ciclolignano no se expulsa al exterior de la bacteria y ocasionando la muerte del patógeno.

#### **2.4 Efecto anticancerígeno del 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina**

En resultados obtenidos por un grupo de investigación de la Universidad Autónoma de Nuevo León, el lignano natural 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina (Lt8) presentó un porcentaje de inhibición de 49% a 25  $\mu$ M contra células cancerígenas de próstata humano (PC3) mientras que el etopósido presento un 29% de inhibición a la misma concentración. El derivado de Lt8 dimetilado en la posición catecol mostró un 73.18% de inhibición de leucemia mieloide crónica humana (K562) a 25  $\mu$ M, mientras que el etopósido mostró un 93.71% a la misma concentración. Lo anterior sugiere un potencial uso como compuesto líder a Lt8 en el desarrollo de nuevos agentes antineoplásicos ya que algunos de sus derivados semisintéticos exhibieron mayor eficacia, estos hallazgos respaldan el interés por continuar explorando el perfil biológico de Lt8 como base estructural para futuras optimizaciones farmacológicas (Castillo-González 2020)

#### **2.5 Efecto anticancerígeno de la podofilotoxina**

Dentro del mercado farmacéutico se han utilizado plantas para la obtención de principios activos, tal es el caso de la *Podophyllum*, de la cual se toman sus lignanos, específicamente

la podofilotoxina, cuyo efecto terapéutico se ha demostrado en enfermedades como cáncer, artritis reumatoide, y estimula el sistema inmune (Motyka et al., 2023). Los efectos citotóxicos de la podofilotoxina y sus derivados en diferentes tipos de tumores se han atribuido a su capacidad para unirse a la tubulina durante la mitosis, y por lo tanto inhibir la formación de los microtúbulos (Ma et al. 2013). La capacidad de la podofilotoxina de unirse a la tubulina se debe a sus grupos metoxifenil (Cortese et al., 1977), así como al anillo lactónico (Elgemeie & Mohamed-Ezzat, 2022). Desafortunadamente, su alta toxicidad ha limitado su aplicación como agente quimioterapéutico (Ma et al., 2013). Debido a estos efectos se decidió obtener los análogos de la podofilotoxina para seguir encontrando nuevos blancos terapéuticos (Motyka et al. 2023). Se ha encontrado que las modificaciones en C-5' y C-8' del anillo B dan lugar  $\alpha$ -peltatina y  $\beta$ -peltatina (figura 1) , los cuales poseen un potencial efecto anticancerígeno (Y. Q. Liu et al. 2015). Las modificaciones al anillo C, especialmente en las posiciones C-1 y C-4 da como resultado una actividad reducida en la polimerización de tubulina y, por lo tanto, es la causa de la actividad inhibidora de la topoisomerasa I (Liu et al., 2015).

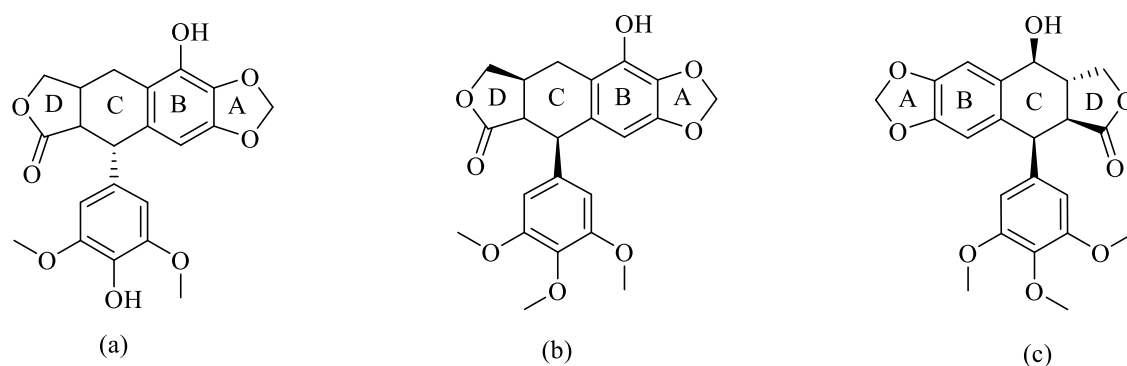


Figura 1. Estructura química de  $\alpha$ -peltatina (a), estructura química de  $\beta$ -peltatina (b) y estructura química de la podofilotoxina (c).

## 2.6 Efecto de la podofilotoxina en los microtúbulos en tratamientos oncológicos

Los microtúbulos son elementos cruciales y versátiles del citoesqueleto en células eucariotas, y sus funciones abarcan procesos celulares de gran relevancia. Estas estructuras proteicas no sólo son clave para sostener la forma y la estructura de la célula, sino que también sirven como vías para el transporte dentro de la célula y, de manera esencial, coordinan la separación de cromosomas durante la división celular. Al estar formados por dímeros de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulina, poseen una cualidad particular: la inestabilidad dinámica, un proceso de constante unión y separación de subunidades que les permite adaptarse con rapidez e intervenir eficazmente en el mecanismo de la mitosis. Es precisamente esta dinámica inherente lo que convierte a los microtúbulos en un objetivo terapéutico interesante en el tratamiento del cáncer. La podofilotoxina, una sustancia que detiene la mitosis actúa inhibiendo la creación de microtúbulos. Su forma de actuar se basa en unirse de forma específica a la tubulina, lo que evita que los dímeros se unan correctamente y, por lo tanto, la adecuada unión de subunidades de los microtúbulos. Esta alteración en la estabilidad de los microtúbulos provoca una detención del ciclo celular en la fase M (mitosis), ya que la célula no puede generar un huso mitótico funcional. Esta detención prolongada en la mitosis activa rutas de señalización que terminan en la apoptosis o muerte celular programada. Así, la capacidad de la podofilotoxina para frenar la expansión celular al dificultar la división mitótica la ha situado como un elemento importante en diferentes tácticas de quimioterapia (Assunção et al., 2025).

## **2.7 Regulación del ADN de células cancerígenas por las Topoisomerasas**

Las topoisomerasas, enzimas esenciales presentes en todos los organismos vivos, juegan un papel crucial en el control de la forma del ADN, algo vital para la replicación y transcripción del material genético (Bondarev et al., 2024a). Existen dos tipos principales: la topoisomerasa I, que realiza cortes temporales en una sola hebra del ADN para disminuir la tensión; y la topoisomerasa II, que corta ambas hebras, facilitando la separación del ADN entrelazado durante la replicación y la división celular en la mitosis (Bondarev et al., 2024a). En el ámbito del cáncer, estas enzimas adquieren una importancia aún mayor. Las células cancerosas, que se multiplican sin control y se dividen rápidamente, dependen en gran medida de las topoisomerasas y muestran una alta actividad para mantener su genoma intacto (Bondarev et al., 2024a). Esto hace que las topoisomerasas sean objetivos terapéuticos interesantes. Los inhibidores de topoisomerasas actúan contra el cáncer al bloquear la función de estas enzimas, estabilizando las uniones ADN-topoisomerasa y causando rupturas en las cadenas de ADN que, al acumularse, provocan la muerte de las células cancerosas (Bondarev et al., 2024a). Este proceso no sólo detiene el crecimiento descontrolado de las células tumorales, sino que también abre la puerta al desarrollo de tratamientos más precisos y, posiblemente, con menos efectos secundarios para los pacientes (Bondarev et al., 2024).

## 2.8 Sitio de unión de la colchicina y su enlace con la tubulina

En la búsqueda de tratamientos innovadores, sobre todo contra el cáncer, la zona donde la colchicina se adhiere a la tubulina es un punto clave; investigarla facilita encontrar y crear moléculas que ajusten el comportamiento de los microtúbulos, mismos que son esenciales para la célula (Montecinos & Sackett, 2023). La forma de este sitio cambia mucho según la especie y el tipo de tubulina. Esta variación afecta cómo se unen los fármacos. Igual que con otras proteínas, las formas distintas de tubulina hacen que algunos compuestos sean selectivos, actuando sólo en ciertos seres o células (Montecinos & Sackett, 2023). Estas distinciones representan un factor clave para la síntesis de fármacos con perfiles de seguridad y precisión mejorados, aprovechando dichas variaciones para potenciar el efecto terapéutico. (Montecinos & Sackett, 2023).

Entre los productos naturales que se ligan a este punto exacto de la tubulina, destaca la colchicina (Castillo-González Erika Leticia et al., 2020), uniéndose de forma competitiva al hueco entre las partes  $\alpha$  y  $\beta$  tubulina, creando enlaces de hidrógeno con el residuo Cys241 de la  $\beta$ -tubulina. La colchicina detiene el crecimiento de las células porque el complejo que forma con la tubulina se une a los extremos de los microtúbulos, impidiendo que crezcan y bloqueando la división (Wei et al., 2004).

Aparte de la colchicina, hay otras moléculas naturales que se unen al mismo lugar de la tubulina y destacan la esteganacina, la podofilotoxina y la combretastatina A-4 (figura 2). Su parecido estructural las convierte en compuestos líderes prometedores para optimización

mediante la formación de derivados semisintéticos, buscando mejorar su efecto contra las células cancerígenas y posiblemente, su selectividad (Cragg et al., 2011).

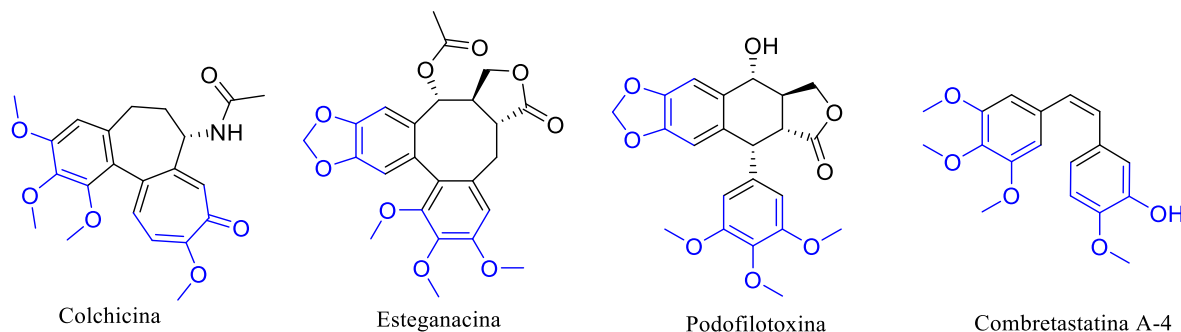


Figura 2. Estructuras de ligandos de tubulina que se unen al sitio de la colchicina. Adaptada de Cragg, G. M., Kingston, D. G. I., & Newman, D. J. (2011). *Anticancer agents from natural products*. CRC Press.

## 2.9 Relación estructural de la podofilotoxina y el Lt8

Se puede observar que la estructura de la podofilotoxina (Figura 1) es similar a la del 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina LT8 (Figura 3) dando hincapié a la obtención de análogos del lignano Lt8 obtenido de *L. tridentata*.

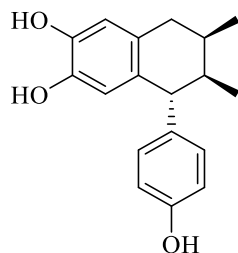


Figura 3. Estructura química del Lt8.

## 2.10 Diseño de fármacos asistido por computadora

Al sintetizar análogos de 4-((5*R*,6*R*,7*R*)-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenol conocido como Lt8A (un derivado de Lt8) (figura 4) se pueden obtener nuevas moléculas, cuyas propiedades terapéuticas pueden servir como base de nuevo fármacos. Para saber el comportamiento de las nuevas moléculas en el organismo se puede recurrir al “Descubrimiento de fármacos asistido por computadora” o al CADD por sus siglas en inglés (*Computer-Aided Drug Discovery*) la cual investiga las propiedades moleculares para ofrecer nuevos fármacos mediante herramientas computacionales y recursos de datos (Giordano et al., 2022). Abarca enfoques computacionales para diseñar o seleccionar compuestos como candidatos potenciales antes de que sean sintetizados y probados para determinar su actividad biológica (Giordano et al., 2022). Un ejemplo de modelo computacional que está siendo implementado en la industria farmacéutica es el acoplamiento molecular (*docking*), cuya importancia recae en que un modelo 3D que puede predecir la interacción que tendrá una molécula con su receptor a nivel molecular, reforzando su fundamento bioquímico (Agu et al. 2023). Al obtener información de la estructura 3D de la molécula de interés, se pueden crear bases de datos que proporcionen conocimientos acerca de la complementariedad estructural y electrónica de la molécula de interés con su receptor específico. Este proceso se logra prediciendo la orientación molecular de un ligando dentro de un receptor, y posteriormente se estima su complementariedad mediante el uso de una función de puntuación, lo que ayuda en el descubrimiento y el desarrollo de nuevos fármacos (Pinzi & Rastelli, 2019).

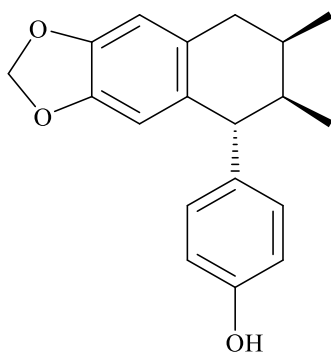


Figura 4. Estructura química del Lt8A.

### 2.11 Perfiles predictivos farmacocinéticos y toxicológicos

Otro modelo computacional *in silico* que predice la farmacocinética y la toxicidad de los análogos que se van a diseñar son las herramientas computacionales LADME (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) y Protox II, respectivamente. Estas herramientas aportan información sobre las características farmacocinéticas de los compuestos (Pires et al., 2015).

### 2.12 Herramientas para determinar moléculas con efecto farmacológico promisorio

Plataformas como GEPIA3 y SwissADME son recursos utilizados para determinar el potencial de las moléculas como posibles agentes anticancerígenos. GEPIA3 es una plataforma bioinformática innovadora diseñada para analizar a fondo la expresión de genes y proteínas en varios tipos de cáncer. Su utilidad radica en que puede descifrar los mecanismos moleculares que hacen que un tumor se desarrolle. Desde el punto de vista de

los fármacos, esta herramienta es útil, ya que permite estudiar redes de interacción complejas y ver cómo responden a diferentes medicamentos (Kang et al., 2025). Esto ayuda a encontrar marcadores predictivos y posibles objetivos terapéuticos. El enfoque de GEPIA3 en las redes biológicas y farmacológicas fomenta una comprensión más completa de las conexiones entre genes, proteínas y tratamientos. (Kang et al., 2025). Por otro lado, SwissADME, junto con SwissTargetPrediction, son utilizados para la caracterización farmacológica de compuestos con potencial terapéutico. Estas herramientas son fundamentales al estudiar cómo un compuesto, como el ácido oleanólico, actúa en el cuerpo (cómo se absorbe, se distribuye, se metaboliza y se excreta) y para predecir a qué moléculas biológicas podría unirse. Permiten un análisis *in silico* completo de las características farmacológicas de las moléculas, para identificar objetivos terapéuticos relevantes y entender su rol en procesos biológicos específicos, como los relacionados con el cáncer bucal (Yin et al., 2025). La unión de estas herramientas y el enfoque de la farmacología en redes permite una comprensión organizada de las relaciones entre diversas proteínas y vías relevantes, mostrando cómo la modulación de múltiples objetivos puede contribuir a los efectos terapéuticos de un compuesto antitumoral. Esto fortalece significativamente el proceso de descubrimiento de fármacos, al integrar una visión holística de las redes biomoleculares (Yin et al., 2025).

El uso de herramientas como GEPIA3 para la caracterización molecular del cáncer y la identificación de dianas, junto con SwissADME *target prediction* para evaluar la farmacocinética y predecir los blancos de unión.

# CAPÍTULO 3

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 3.1 Hipótesis

Al menos un análogo sintetizado tendrá actividad contra al menos una línea celular cancerígena comparable con el estándar positivo empleado etopósido.

### 3.2 Objetivo general

Diseñar *in silico* análogos del lignano Lt8A para luego realizar la semi-síntesis del derivado más promisorio y evaluarlo contra varias líneas celulares cancerígenas.

### 3.3 Objetivos particulares

- Diseñar *in silico* análogos del lignano Lt8A (Acoplamiento molecular, LADME y ADME-Tox).
- Purificar y caracterizar estructuralmente el ciclolignano Lt8.
- Identificar el análogo del lignano Lt8A más prometedor empleando un enfoque de farmacología de redes.
- Realizar semi-síntesis y purificar el derivado del lignano Lt8A más prometedor.

- Caracterizar estructuralmente el derivado mediante técnicas RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , IR, así como sus propiedades físicas.
- Evaluar biológicamente el derivado sintetizado contra 5 líneas cancerígenas y una línea celular normal.

## **CAPÍTULO 4**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

#### **4.1 Ubicación de Infraestructura y Equipos**

##### **4.1.2 Estudios *in silico***

Los estudios *in silico* fueron llevados a cabo en el laboratorio de diseño asistido por computadora y síntesis de fármacos de la Facultad de Química perteneciente a la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) y en el laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

##### **4.1.3 Purificación de Lt8, semi-síntesis de Lt8A y Lt8AA y caracterización estructural**

La purificación de Lt8 y la semi-síntesis de los derivados se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Farmacéutica, ubicado en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. La espectroscopía de RMN se realizó en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la UANL y la espectrometría de masas en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### 4.1.4 Actividad citotóxica

La determinación de la actividad citotóxica de los compuestos se realizó en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## Materiales y Métodos

### 4.2 Metodología para el estudio *in silico*

Se realizaron cálculos de acoplamiento molecular utilizando Vina y Autodock-GPU 1.5.3 bajo las condiciones utilizadas por Aguilera-Durán y Romo-Mancillas (2021), utilizando las estructuras cristalográficas de las enzimas de interés: tubulina (1JFF) y topoisomerasa II (6ZY5), depositadas en el Protein Data Bank (PDB), para mayor detalle revisar la tabla 2. Se calcularon las mallas electrostáticas con AutoGrid 4.2.6 y se usó el acoplamiento molecular del Lt8A y sus derivados para determinar su probable sitio de unión a las enzimas blanco seleccionadas, las condiciones de los *Grids* se encuentran en la tabla 2.

Finalmente, se ejecutaron 100 corridas utilizando un algoritmo genético Larmarckiano con búsqueda local Solis-Wets, 100 millones de evaluaciones de energía y 150 conformaciones iniciales para determinar la conformación más favorecida y la más probable de los derivados sintetizados. Se identificaron los aminoácidos relevantes en estas uniones con el módulo

*Ligand Interaction Diagram* disponible dentro de Maestro 2021.4 (Aguilera-Durán & Romo-Mancillas, 2021).

Para la optimización de las propiedades ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) se utilizó SwissADME, Protox II, de acuerdo con lo reportado en la literatura (Ashraf et al., 2023).

Para la identificación del análogo del lignano Lt8A más prometedor empleando un enfoque de farmacología de redes, se utilizó SwissADME *Target Prediction*, en donde los objetivos moleculares predichos se contrastaron con los genes expresados diferencialmente (DEG) en los cánceres de mama, próstata, glioblastoma colorrectal y pulmón, obtenidos de la base de datos GEPIA, para identificar proteínas centrales según lo reportado por (Gonzalez-Llerena et al., 2025).

### **4.3 Metodología para la purificación de compuestos**

La purificación se realizó por Cromatografía en Columna (CC) a gravedad con tamaño de partícula de 63-200  $\mu\text{m}$  (70-230 mesh), disolventes como hexano (Hex), acetato de etilo (AcOEt), diclorometano (DCM), metanol (MeOH) como fase móvil.

Para el seguimiento de las columnas durante la purificación, y de las reacciones químicas durante la síntesis de los compuestos, se utilizó la técnica de Cromatografía en Capa Fina (CCF) con cromatofolios Merck Sílica gel 60 F254. Los reveladores que se utilizaron fueron lámpara de UV marca Spectroline ENF-260C ( $\lambda$  254 y 365 nm), solución de sulfato de cerio

(IV), y vapores de yodo. Para eliminar el disolvente a presión reducida se utilizaron evaporadores rotativos marca IKA RV-10 y Büchi R-300.

#### **4.4 Elucidación estructural de los compuestos obtenidos**

Los puntos de fusión de los compuestos se determinaron en un aparato Fisher-Johns del Laboratorio de Química Farmacéutica, ubicado en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno y de carbono trece (RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ ) de las moléculas se obtuvieron en espectrómetro Bruker Avance III HD de 400 MHz, equipado con gradiente de campo. Usando cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como estándar interno, reportando los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm). Las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se mostraron en Hertz (Hz); se describieron las multiplicidades con las siguientes abreviaturas: singulete (s), doblete (d), triplete (t), doblete de dobletes (dd), cuarteto de dobletes (qd), doblete de cuarteto de doblete (dq), multiplete (m) y señal ancha (brs).

#### **4.5 Obtención de 3'-desmetoxi-6-O-demetilisoguaiacina (Lt8)**

Principalmente, el ciclolignano 3'-desmetoxi-6-O-demetilisoguaiacina se extrajo y se purificó del extracto clorofórmico-metanol (1:1) de *L. tridentata* mediante cromatografía en columna previamente empacada con sílica gel y eluida con gradiente de Hex: AcOEt, de acuerdo con el procedimiento reportado por (Favela-Hernández et al., 2015). El lignano se encontró principalmente en las polaridades comprendidas de 80:20 – 75:25 (Hex: AcOet) comprendiendo las fracciones 76-110 y donadas por el Q.F.B. Héctor Guevara, así mismo, 1g del lignano fue donado por la Dra. Camacho-Corona. El Lt8 fue obtenido como un sólido de color blanco, del cual, la estructura química se confirmó mediante el análisis de los espectros de IR, RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C.

#### **4.6 Purificación de Lt8 por columna cromatográfica (CC)**

De una fracción rica en Lt8 (1.4954 g) se sometió a una columna de relación 1:20, se utilizó 29.908 g de gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil se usó gradiente de diclorometano: metanol. El volumen muerto fue de 45 mL, y se juntaron en fracciones de 22.5 mL. Se destilaron al vacío las fracciones para concentrarlas y se aplicaron en cromatografía en capa fina (TLC) para su monitoreo utilizando diclorometano: metanol 97:3 como fase móvil, se unieron fracciones con similitud cromatográfica. El Lt8 empezó a aparecer en las fracciones de 201 al 243 con una polaridad de columna de 99.6: 0.4. Las fracciones con Lt8 se purificaron con lavados de diclorometano: metanol (4.5 mL: 0.5 mL)

dejándolos por 5 minutos en bomba de vacío y 5 minutos en baño maría hasta observar la separación de la impureza del Lt8 en el vial. Se realizó un raspado para obtener el Lt8 puro juntando una cantidad de 272 mg y en base a esta cantidad se reporta un porcentaje de 18.18% de la columna.

**Segunda columna cromatográfica:** De otra fracción rica en Lt8 (376.26 mg) se sometieron a una columna isocrática de relación 1:20, se utilizó 8.0 g de gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil se usó mezcla de diclorometano: metanol 97:3. El volumen muerto fue de 18 mL, y se colectaron en fracciones de 3 mL y se analizaron TLC para su monitoreo utilizando diclorometano: metanol 97:3 como fase móvil, se unieron fracciones por similitud cromatográfica y se dejaron secar a temperatura ambiente. El Lt8 semipuro empezó a aparecer en la fracción 12-25, luego y se llevó a su posterior purificación con lavados de diclorometano: metanol (4.5 mL: 0.5 mL) dejándolos por 5 minutos en bomba de vacío y 5 minutos en baño maría hasta observar la separación de la impureza del Lt8 en el vial. Se realizó un raspado para obtener el Lt8 puro juntando una cantidad de 145.2 mg y en base a esta cantidad se reporta un porcentaje de 38.59% de la columna.

#### **4.7 Purificación de LT8 por cristalización forzada**

Una vez obtenidas las fracciones de Lt8 impuras se procedió a purificarlas mediante una cristalografía forzada, la cual consiste en disolver las fracciones solidas en diclorometano y en la menor cantidad de metanol, las condiciones usadas en el trabajo fueron diclorometano: metanol (4.7 mL: 0.3mL). Una vez disueltas las fracciones se sometieron a baño maría a

40°C por 5 minutos para proceder en seguida a someter la fracción caliente en una bomba de vacío por 5 minutos, se repitió el procedimiento de baño María y bomba de vacío hasta observar la aparición de polvo en el vial. Las impurezas quedaron en la parte superior del vial y el Lt8 puro apareció en la parte inferior del vial con características que se describen a continuación: El producto natural Lt8 es un sólido amorfo, de color blanco con un punto de fusión de: 195-198°C, soluble en metanol e insoluble en hexano. Al separarse por polaridad en el vial, se procedió a tomar con una espátula el Lt8 puro para transferirlo a un vial nuevo.

#### **4.8 Metodología para la semi-síntesis de Lt8A y Lt8AA**

Todos los reactivos descritos a continuación fueron adquiridos de Sigma-Aldrich y utilizados sin posterior purificación, a menos de ser especificado.

Para la obtención del metilendioxi de Lt8 (Lt8A) se realizó por metilénación de catecol según lo reportado previamente (Castillo-González et al., 2020). En un matraz bola de 25 mL de dos cuellos se pesó 732.5 mg (2575.9 mmol) de Lt8, se colocó un agitador magnético y se disolvió en 2 mL de acetonitrilo, (MeCN) secado con malla molecular de 4 Å. Luego, se adicionó 1068 mg (5151.8 mmol) de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 271.5 µL (3863.9 mmol) de Br<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> para finalmente dejar la reacción agitando a reflujo y con globo de nitrógeno (Figura 5). La reacción se monitoreo por CCF para posteriormente proceder a la purificación.

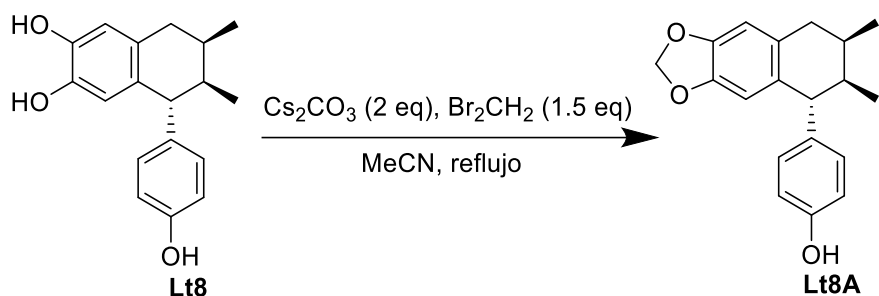


Figura 5. Esquema de reacción de obtención del Lt8A

La mezcla de reacción se vertió sobre 1.5 cm de Celita en un embudo de filtración a vacío. El filtrado de la mezcla de reacción se recogió en un matraz Kitasato. El sólido remanente se lavó por duplicado con AcOEt (10 mL). El filtrado combinado se transfirió a un matraz de fondo redondo y se concentró mediante evaporación rotatoria hasta un volumen final de 2 mL. Este concentrado se transfirió a un vial previamente limpio, seco y previamente pesado y se dejó secar a temperatura ambiente. Una vez obtenido el peso de la muestra de reacción (417.7mg) se procedió a purificar la mezcla de reacción cruda. La purificación se realizó por cromatografía en columna, se utilizó como fase estacionaria sílica gel en una relación 1:20, la fase móvil fue un gradiente de hexano:AcOEt, realizando cambios de proporción de 5%, el volumen muerto fue de 13 mL y el volumen de las fracciones fue de 3 mL las cuales se analizaron en cromatografía en capa fina (TLC) utilizando Hexano: AcOEt 70:30 como fase móvil, y se unieron fracciones con similitud cromatográfica. El derivado con el metilendioxi (Lt8A) se obtuvo en las fracciones 16-30 con una polaridad 95:5. Se obtuvo 61.8 mg de Lt8A que corresponde a un rendimiento de 8.4%.

Para la obtención del análogo éster de Lt8A (Lt8AA) se procedió según lo reportado previamente (Reyes-Melo et al., 2017). En un matraz bola de 25 mL de dos bocas se pesaron 20 mg (0.06753 mmol) de Lt8A, se colocó un agitador magnético y se disolvió en 1 mL de diclorometano, ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) secado previamente con cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) y destilado con sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Luego, se adicionó 11.2 mg (0.08104 mmol) de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y 0.01071 mL (0.08104 mmol) de cloruro de 2 nitrobenzoilo para finalmente dejar la reacción agitando a temperatura ambiente y con globo de nitrógeno (Figura 6). La reacción se monitoreo por TLC para posteriormente proceder a la purificación.

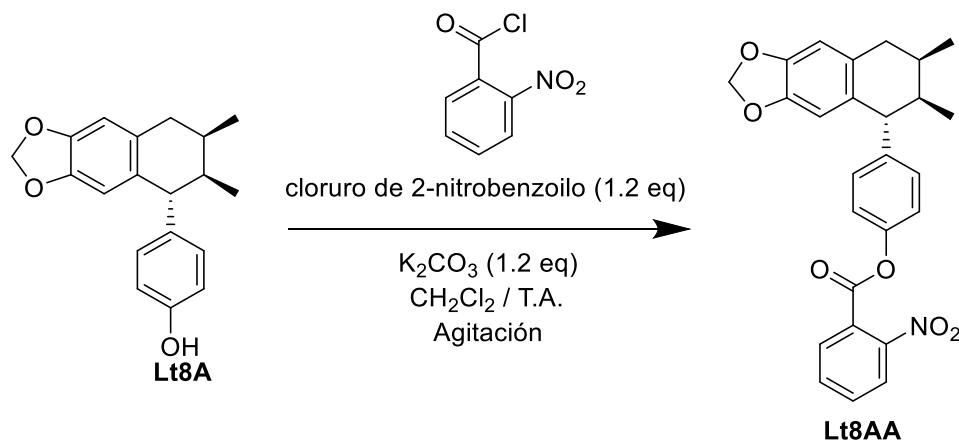


Figura 6. Esquema de reacción de obtención del Lt8AA

La purificación se realizó por cromatografía en columna, se utilizó como fase estacionaria sílica gel en una relación 1:20, la fase móvil fue un gradiente de hexano:AcOEt, realizando cambios de proporción de 5% y 3%, el volumen muerto fue de 6mL y el volumen de las fracciones fue de 1 mL las cuales se aplicaron en cromatografía en capa fina (TLC) para su monitoreo utilizando Hexano: AcOEt 70:30 como fase móvil, se unieron fracciones con

similitud cromatográfica. El derivado Lt8AA se obtuvo en las fracciones 33-58 con una polaridad 92:8, Se obtuvo 9 mg de Lt8AA puro con un porcentaje de rendimiento de 45%.

#### **4.9 Metodología para el ensayo de citotoxicidad (cristal violeta)**

Para la determinación de la viabilidad celular y el efecto citotóxico de los compuestos, se empleó el ensayo de Cristal Violeta bajo las siguientes condiciones:

- **Preparación y Siembra Celular:** Se utilizaron líneas celulares con un número de pases no mayor a once o doce, provenientes de la descongelación anual. Las células se sembraron a una densidad de  $5 \times 10^3$  células por pocillo en placas de 96 pocillos. Cada pocillo contenía 200  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo RPMI (Roswell Park Memorial Institute) completo. El medio RPMI completo se preparó con la adición de Suero Fetal Bovino (SFB) al 10% y una solución Gibco™ Antibiótico-Antimicótico (100X) al 1% (Fisher Scientific USA) para mantener la esterilidad y el crecimiento celular.
- **Tratamiento y Exposición:** Las células se sometieron a un período de pre-incubación de 24 horas a  $37^\circ\text{C}$  en atmósfera de  $\text{CO}_2$ , permitiendo su adhesión y recuperación. Posteriormente, las células fueron tratadas durante 48 horas con el compuesto a evaluar a  $25 \mu\text{M}$ . El vehículo utilizado para la disolución del compuesto fue Dimetilsulfóxido (DMSO), manteniendo una concentración final ( $25 \mu\text{M}$ ) constante en todas las condiciones experimentales, incluyendo las células control, para normalizar el efecto del vehículo.

- Tinción y Análisis: Tras el periodo de tratamiento, se procedió a la tinción para cuantificar la biomasa celular adherente y viable. Las células se lavaron suavemente con PBS (Solución Salina Tamponada con Fosfato). Se añadió una solución de Cristal Violeta (25 µL) para teñir las células durante 30 minutos. Las placas se lavaron exhaustivamente con agua del grifo y se secaron al aire para eliminar el exceso de colorante no unido. El colorante unido a las células se solubilizó mediante la adición de una solución de Dodecilsulfato de Sodio (SDS) al 1% (200 µL). Las placas se colocaron en un agitador durante 5 minutos para asegurar la completa solubilización del colorante. Las densidades ópticas (DO) se determinaron con un lector de imágenes Cytation 5 (BIOTek Instruments, Inc.) a una longitud de onda de  $\lambda=570$  nm.
- Cálculo de Viabilidad: El efecto citotóxico de cada tratamiento se expresó como un porcentaje de viabilidad celular relativa a las células control no tratadas y se definió mediante la siguiente fórmula:

$$Viabilidad (\%) = \left( \frac{DO \text{ de células tratadas}}{DO \text{ de las células no tratadas}} \right) \times 100$$

#### 4.10 Disposición de Residuos

La disposición de los residuos generados en la purificación de Lt8 y sus derivados semisintéticos se llevó a cabo bajo los lineamientos establecidos por el Departamento de Medio Ambiente y Seguridad de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL (Tabla 1), y por la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

*Tabla 1. Disposición y Cuantificación de Residuos*

| <b>Residuos</b>  | <b>Colector o recipiente</b> | <b>Cantidad</b> |
|--|------------------------------|-----------------|
| Soluciones de ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos, bases inorgánicas  | Colector A                   | 10 ml           |
| Sólidos inorgánicos  | Colector B                   | 0.5 kg          |
| Combinaciones orgánicas no halogenadas líquidas, bases orgánicas y aminas  | Colector C                   | 7 L             |
| Combinaciones orgánicas halogenadas líquidas   | Colector D                   | 6 L             |
| Cancerígeno, orgánico  | Colector E                   | 1 L             |
| Combinaciones orgánicas sólidas  | Colector G                   | 1 kg            |
| Guantes de látex o nitrilo, placas cromatográficas, papel aluminio o papel común impregnados con residuos peligrosos | Basura industrial            | 2 kg            |
| Residuos sólidos de cultivos y cepas de agentes infecciosos  | Bolsa roja de polietileno    | 0 kg            |
| Residuos no anatómicos sólidos   | Bolsa roja de polietileno    | 0 kg            |

# CAPÍTULO 5

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Acoplamiento molecular

El acoplamiento se llevó a cabo utilizando AutoDock, se calcularon las mallas electrostáticas con AutoGrid 4.2.6, se realizaron 100 corridas con algoritmo genético Larmarckiano con búsqueda local Solis-Wets, 100 millones de evaluaciones de energía, 150 conformaciones iniciales para determinar la conformación más favorecida. Las condiciones del centro de la zona de búsqueda (Gridcenter) se establecieron en zonas de las proteínas donde se ha reportado que los fármacos anticancerígenos han reportado unión a fármacos. Los resultados se presentan en la Tabla 2 organizados por proteína, código de los datos del banco de proteínas (PDB) y condiciones de la malla molecular utilizadas.

*Tabla 2. Códigos PDB de las proteínas*

| <b>Proteína</b> | <b>Código PDB</b> | <b>Condiciones de <i>Grid</i></b>  |
|-----------------|-------------------|--|
| Tubulina        | 1JFF              | Dimensiones: 47.25 Å, 47.25 Å, 47.25 Å<br>Centro: (X) 18.47 (Y) -1.77 (Z) 3.45<br>(Sitio de unión a colchicina)<br>Espaciado entre puntos: 0.375 |
| Topoisomerasa   | 6ZY5              | Angstrom: 20.25 Å, 12 Å, 12 Å<br>Gridcenter: (X)162.751 (Y) 162.765 (Z) 144.799<br>(Sitio de unión del ATP)<br>Spacing: 0.375                    |

La Tubulina (PDB: 1JFF): Se utilizó la estructura co-cristalizada con taxol como referencia estructural. El grid de acoplamiento molecular se centró en el sitio de colchicina, el cual corresponde al sitio de unión reportado para podofilotoxina y sus derivados, permitiendo evaluar de manera comparativa la afinidad de los compuestos diseñados en esta región funcional de la proteína.

La Topoisomerasa II (PDB: 6ZY5): Se empleó la estructura dimérica de la enzima co-cristalizada con ADN y un análogo de ATP. Para el acoplamiento molecular se consideró el complejo proteico completo, ya que la presencia del ADN permite conservar la conformación funcional del sitio catalítico y del dominio ATPasa. Aunque la unión del ATP ocurre en un dominio estructuralmente independiente del ADN, la inclusión de este último contribuye a mantener un entorno más cercano al estado biológico activo de la enzima, mejorando la interpretación estructural de los resultados de acoplamiento.

Se seleccionó el sitio de unión de la colchicina en la tubulina, uno de los varios sitios alostéricos descritos para esta proteína, debido a que compuestos con núcleo ariltetralínico, como la podofilotoxina, han mostrado interacción preferencial en esta región. Dado que Lt8A comparte similitud estructural con dicho núcleo químico, se consideró razonable evaluar su posible afinidad en este sitio. Investigaciones previas (Bondarev et al., 2024) aseguran que la podofilotoxina trabaja uniéndose justo en el sitio de unión de la colchicina. Al hacer el cálculo en el sitio de colchicina, se buscó probar la idea principal del trabajo que era modificar el Lt8A mantendría y mejoraría el poder antimitótico de la molécula original. Por otro lado, se seleccionó el sitio de unión del ATP en la Topoisomerasa II con el objetivo de explorar el diseño de un inhibidor catalítico. A diferencia de los inhibidores clásicos de la

Topoisomerasa II, como etopósido, que actúan estabilizando el complejo ADN–enzima e impidiendo la religación del ADN (mecanismo conocido como “veneno de topoisomerasa” y distinto al de intercaladores o agentes alquilantes), la inhibición dirigida al dominio ATPasa busca bloquear la actividad catalítica al impedir la hidrólisis de ATP necesaria para el funcionamiento enzimático. No obstante, debe considerarse que los sitios de unión de ATP presentan cierto grado de conservación estructural entre diversas proteínas dependientes de nucleótidos, como quinasas y otras ATPasas, lo que podría implicar un riesgo potencial de promiscuidad de unión. Por ello, la selectividad hacia Topoisomerasa II dependería no solo del reconocimiento del bolsillo de ATP, sino de interacciones adicionales específicas con residuos característicos del entorno catalítico de esta enzima. Esta estrategia es clave porque resulta en una baja genotoxicidad para las células sanas y según reportes recientes, reduce significativamente el riesgo de efectos secundarios graves como la cardiotoxicidad y los segundos cánceres, lo cual es una prioridad en el desarrollo de nuevos agentes oncológicos (Matias-Barrios et al., 2021) aunado a esto; previamente a la generación de resultados se ejecutaron cálculos de acoplamiento molecular “ciegos”: se estableció que el programa buscara en toda la proteína un sitio de unión propicio.

Para proporcionar información sobre las posibles similitudes o diferencias en las predicciones de interacción entre las proteínas con los ligandos se utilizaron los softwares Vina y AutoDock, obteniendo los siguientes resultados presentados en la Tabla 3 en donde se acomodan de manera general los docking scores obtenidos y expresados en kcal/mol.

Para el acoplamiento se tomaron como controles el Lt8A, podofilotoxina, etopósido y tenipósido para tomar como referencia los valores de acoplamiento de los fármacos que se

encuentran en el mercado a excepción del Lt8A. Se presentan de lado izquierdo las 25 moléculas (ligando) propuestas para realizar el tamizaje in silico, en seguida se presentan los resultados obtenidos de Vina para las 2 proteínas propuestas (Topoisomerasa II y Tubulina) y en seguida los resultados para las mismas proteínas utilizando AutoDock (Revisar el anexo al final del documento para ver el nombre IUPAC y la estructura química de los 25 ligandos).

Tabla 3. Scores obtenidos usando Vina y Autodock (kcal/mol)

| Ligando         | Topoisomerasa II Vina | Tubulina Vina        | Topoisomerasa II Autodock | Tubulina Autodock   |
|-----------------|-----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------|
| Aminoéter1      | -8.391                | -7.489               | -7.61                     | -8.13               |
| Aminoéter2      | -8.179                | -6.983               | -7.82                     | -7.81               |
| Aminoéter3      | -8.816                | -8.025               | -8.56                     | -7.91               |
| Aminoéter4      | -9.621                | -8.358               | -8.77                     | -8.69               |
| Aminoéter5      | -8.898                | -8.033               | -9.13                     | -8.03               |
| Carbamato1      | -9.045                | -7.721               | -8.01                     | -8.29               |
| Carbamato2      | -10.602               | -8.485               | -8.78                     | -8.17               |
| Carbamato3      | -11.013               | -8.887               | -9.09                     | -7.98               |
| Carbamato4      | -10.639               | -8.992               | -9.13                     | -7.96               |
| Carbamato5      | -11.177               | -9.082               | -8.05                     | -7.64               |
| Éster1          | <b><u>-10.734</u></b> | <b><u>-8.785</u></b> | <b><u>-9.13</u></b>       | <b><u>-8.37</u></b> |
| Éster2          | -10.974               | -9.122               | <b><u>-9.52</u></b>       | -8.21               |
| Éster3          | <b><u>-11.115</u></b> | <b><u>-9.426</u></b> | <b><u>-11.74</u></b>      | <b><u>-9.36</u></b> |
| Éster4          | -10.452               | -8.883               | -8.78                     | -7.7                |
| Éster5          | <b><u>-10.616</u></b> | -8.898               | -8.64                     | <b><u>-8.44</u></b> |
| Éster6          | -10.432               | -8.632               | -8.37                     | -8.34               |
| Éster7          | -9.147                | -7.697               | -8.02                     | -8.06               |
| Éster8          | <b><u>-11.011</u></b> | <b><u>-9.631</u></b> | -8.93                     | -8.26               |
| Éster9          | -10.69                | <b><u>-9.216</u></b> | -9.03                     | -8.36               |
| Éter1           | -10.565               | -8.964               | -8.78                     | -7.78               |
| Éter2           | <b><u>-11.012</u></b> | <b><u>-9.548</u></b> | -8.83                     | -8.1                |
| *Etopósido      | -12.341               | -9.374               | -7.52                     | -7.84               |
| Fosfato1        | -9.634                | -7.807               | -8.06                     | -7.46               |
| Fosfato2        | <b><u>-10.33</u></b>  | <b><u>-9.1</u></b>   | <b><u>-9.62</u></b>       | <b><u>-9</u></b>    |
| Fosfato3        | -9.48                 | -7.789               | -8.31                     | -7.92               |
| Fosfato4        | <b><u>-9.946</u></b>  | <b><u>-9.695</u></b> | <b><u>-9.69</u></b>       | <b><u>-9.66</u></b> |
| *Lt8A           | -9.534                | -8.774               | -7.03                     | -8.15               |
| *Podofilotoxina | -10.235               | -7.51                | -7.95                     | -7.69               |
| *Tenipósido     | -12.644               | -9.162               | -5.13                     | -8.44               |

Las interacciones que tienen mayor probabilidad de ocurrir se marcan con negritas en la Tabla 3, donde destacan en ambos softwares los ésteres como posibles moléculas con mayor interacción entre ligando y proteína, seguido de los fosfatos.

La decisión de descartar los resultados arrojados por Vina y priorizar exclusivamente los de AutoDock se sustenta en un sesgo metodológico y conformacional detectado en las corridas de Vina. Se observó consistentemente que, en los análogos del Lt8A, Vina generó conformaciones de "herradura" (o plegamiento excesivo). Estas estructuras atípicas, que se forman debido a la flexibilidad de los compuestos y la presencia de anillos aromáticos, representan un defecto computacional que no podría generarse en condiciones biológicas o favorecer interacciones molecularmente relevantes. Este fenómeno en Vina produce scores de afinidad sesgados (*binding scores*) que no corresponden a un estado real o bioactivo de la molécula. En contraste, AutoDock, al utilizar una búsqueda restringida y un algoritmo genético Larmarckiano (*Larmarckian Genetic Algorithm*) en el *Grid* fijo, demostró una mayor robustez en el muestreo de conformaciones, generando poses más estables, realistas y coherentes con las estructuras de los análogos de Lt8A. Por lo tanto, para garantizar la validez estructural de los resultados de acoplamiento y seleccionar candidatos aptos para la síntesis, se descartaron los datos de Vina en favor de los valores reportados por AutoDock.

Para determinar la posición de cada análogo frente a los controles y dada la necesidad de utilizar solo los datos con validez conformacional (descartando los resultados de Vina), el Rango Percentil se calculó exclusivamente sobre los scores de energía libre de unión (kcal/mol) arrojados por AutoDock y presentados en la tabla 3. El valor utilizado para cada molécula fue el mejor score de afinidad (la energía más negativa) de las 100 conformaciones generadas por AutoDock en cada proteína, que representa la conformación de unión más estable y energéticamente favorable predicha. Para la construcción de la Tabla 5, los datos se procesaron mediante las siguientes operaciones en Microsoft Excel:

- Cálculo del Rango Percentil por Proteína: Los scores de afinidad se convirtieron en un ranking percentil utilizando la fórmula:

=RANGO.PERCENTIL(\$B\$2:\$B\$30,B2)

Donde \$B\$2:\$B\$30 representa el rango total de los scores de afinidad para una proteína, y B2 es el score específico de la molécula que se está evaluando. Este proceso de ranking permitió una comparación directa y jerárquica del potencial máximo de unión de todos los análogos frente a los controles.

- Cálculo de la Mediana de Rango Percentil: Finalmente, se calculó la mediana de los dos rangos percentiles obtenidos (topoisomerasa II y tubulina) para establecer un criterio de selección único, utilizando la fórmula:

=MEDIANA(B2:C2)

En esta fórmula, B2 y C2 corresponden a las celdas que contienen los valores de Rango Percentil para topoisomerasa II y tubulina, respectivamente, para una molécula específica. De este modo, la Tabla 4 se construyó utilizando el rendimiento de AutoDock como el criterio único y final para la selección de los cuatro candidatos más promisorios.

Esto ayudo a visualizar posibles moléculas que sean efectivas como anticancerígenas quedando reportados los resultados en la Tabla 5, donde si el valor de la mediana es más cercano a 0 es más probable que ocurra una interacción y por ende un efecto farmacológico y entre más cercano al 1, es menos probable que ocurra.

Tomando como controles la podofilotoxina, el etopósido y el tenipósido se observó que 4 moléculas cercanas al 0 muestran mayor potencialidad de unión que los controles,

especialmente mostraron mayor calificación que el tenipósido, que es el que mostró un valor cercano al 0 en comparación con los otros controles, dichas moléculas son las que se considerarían para sintetizar en el laboratorio y se presentan en la tabla 5.

Las estructuras moleculares de los análogos fueron procesadas utilizando el sistema Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILES) Tabla 4. Este es un lenguaje de notación química que permite representar la estructura de una molécula mediante una cadena de caracteres alfanuméricos basada en reglas de la teoría de grafos. En esta nomenclatura, los átomos se representan por sus símbolos químicos, los enlaces simples se omiten o se indican mediante guiones, y los ciclos se identifican mediante números correlativos, lo que facilita el intercambio de datos entre herramientas bioinformáticas como AutoDock Vina, SwissADME y SwissTargetPrediction (Weininger, 1988).

Tabla 4. Código SMILES y nombre IUPAC de los 4 análogos más promisorios

| Nombre interno  | Código SMILES  | Nombre IUPAC   |
|-----------------|--|--|
| Fosfato 4       | <chem>C[C@@H]1CC2=CC3=C(OCO3)C=C2[C@H]([C@@H]1C)C1=CC=C(OP(=O)(OC2=CC=CC=C2)OC2=CC=CC=C2)C=C1</chem> | [4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidro-2,3-dihidro-nafto[2,3- <i>d</i> ][1,3]dioxol-5-il)fenilo] fosfato de difenilo   |
| Éster 3 (Lt8AA) | <chem>C[C@@H]1CC2=CC3=C(OCO3)C=C2[C@H]([C@@H]1C)C1=CC=C(OC(=O)C2=CC=CC=C2[N+]([O-])=O)C=C1</chem>    | benzoato de 2-nitro y [4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidro-2,3-dihidro-nafto[2,3- <i>d</i> ][1,3]dioxol-5-il)fenilo] |
| Éster 1         | <chem>C[C@@H]1CC2=CC3=C(OCO3)C=C2[C@H]([C@@H]1C)C1=CC=C(OC(=O)C2=CC=CC=C2)C=C1</chem>                | Benzoato de [4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidro-2,3-dihidro-nafto[2,3- <i>d</i> ][1,3]dioxol-5-il)fenilo]           |
| Éster 5         | <chem>C[C@@H]1CC2=CC3=C(OCO3)C=C2[C@H]([C@@H]1C)C1=CC=C(OC(=O)C2=CN=CC=C2)C=C1</chem>                | Nicotinato de [4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidro-2,3-dihidro-nafto[2,3- <i>d</i> ][1,3]dioxol-5-il)fenilo]         |

Tabla 5. Resultados de Docking Molecular; Medianas y Percentiles para los análogos de Lt8A.

| Ligando                | Rango Topoisomerasa | Rango Tubulina | Mediana |
|------------------------|---------------------|----------------|---------|
| <b>Fosfato 4</b>       | 0.035               | 0.000          | 0.000   |
| <b>Éster 3 (Lt8AA)</b> | 0.000               | 0.035          | 0.035   |
| <b>Éster 1</b>         | 0.138               | 0.207          | 0.138   |
| <b>Éster 5</b>         | 0.517               | 0.138          | 0.138   |
| <b>Tenipósido</b>      | 1.000               | 0.138          | 0.138   |
| Éster 9                | 0.276               | 0.241          | 0.276   |
| Éster 8                | 0.310               | 0.345          | 0.310   |
| Carbamato 2            | 0.379               | 0.310          | 0.310   |
| Éter 2                 | 0.345               | 0.517          | 0.345   |
| Éster 2                | 0.103               | 0.379          | 0.379   |
| Éster 4                | 0.379               | 0.862          | 0.379   |
| Éter 1                 | 0.379               | 0.828          | 0.414   |
| Carbamato 3            | 0.241               | 0.414          | 0.414   |
| Amino éter 4           | 0.483               | 0.103          | 0.483   |
| Éster 6                | 0.586               | 0.276          | 0.552   |
| Amino éter 5           | 0.138               | 0.586          | 0.586   |
| Carbamato 4            | 0.138               | 0.621          | 0.586   |
| Fosfatos 3             | 0.621               | 0.690          | 0.621   |
| Carbamato 5            | 0.690               | 0.655          | 0.655   |
| Éster 7                | 0.724               | 0.552          | 0.724   |
| Amino éter 3           | 0.552               | 0.724          | 0.724   |
| <b>Etopósido</b>       | 0.931               | 0.759          | 0.759   |
| Carbamato 1            | 0.759               | 0.931          | 0.759   |
| Amino éter 2           | 0.828               | 0.793          | 0.793   |
| Fosfatos 1             | 0.655               | 1.000          | 0.862   |
| Amino éter 1           | 0.897               | 0.483          | 0.897   |
| <b>Podofilotoxina</b>  | 0.793               | 0.897          | 0.897   |
| Amino éter 1           | 0.862               | 0.966          | 0.931   |
| <b>Lt8A</b>            | 0.966               | 0.448          | 0.966   |

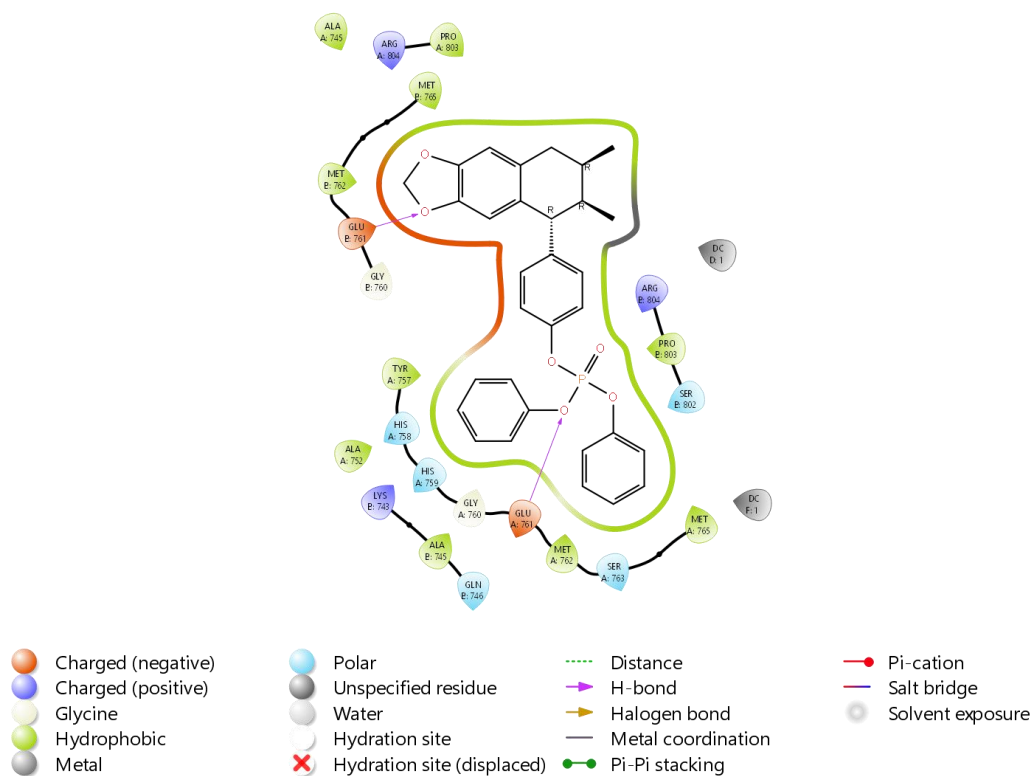


Figura 7. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Fosfato 4 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II

La figura 7 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el Fosfato 4 y la topoisomerasa II. En el mapa de interacciones se identifica un puente de hidrógeno directo entre uno de los oxígenos del grupo fosfato y el residuo GLU761, representado mediante una flecha púrpura, lo que evidencia una interacción electrostática fuerte que contribuye de manera importante a la fijación del ligando. Asimismo, se observa un segundo contacto polar directo entre otro oxígeno del grupo metilendioxi y el mismo residuo GLU761, reforzando la estabilidad local del complejo. El ligando se encuentra rodeado por un conjunto de interacciones hidrofóbicas y de van der Waals con residuos que conforman el entorno apolar del bolsillo, incluyendo ALA745, MET765, MET762, PRO803, ALA752, TYR757, GLY760 e HIS758, los cuales permiten el acomodo del fosfato dentro de la cavidad a pesar de su naturaleza polar. Adicionalmente, se reconocen interacciones polares no clásicas con

SER802, SER763, GLN746 y ARG804, que contribuyen a orientar el grupo fosfato mediante contactos electrostáticos débiles. Los residuos cargados LYS743 y ARG804 se sitúan en la periferia del pocket y pueden favorecer la estabilización del ligando a través de interacciones de largo alcance. En conjunto, el Fosfato 4 se estabiliza mediante una combinación de puentes de hidrógeno específicos con GLU761 y un entramado de contactos hidrofóbicos y polares que consolidan su unión en el sitio catalítico de la topoisomerasa II.

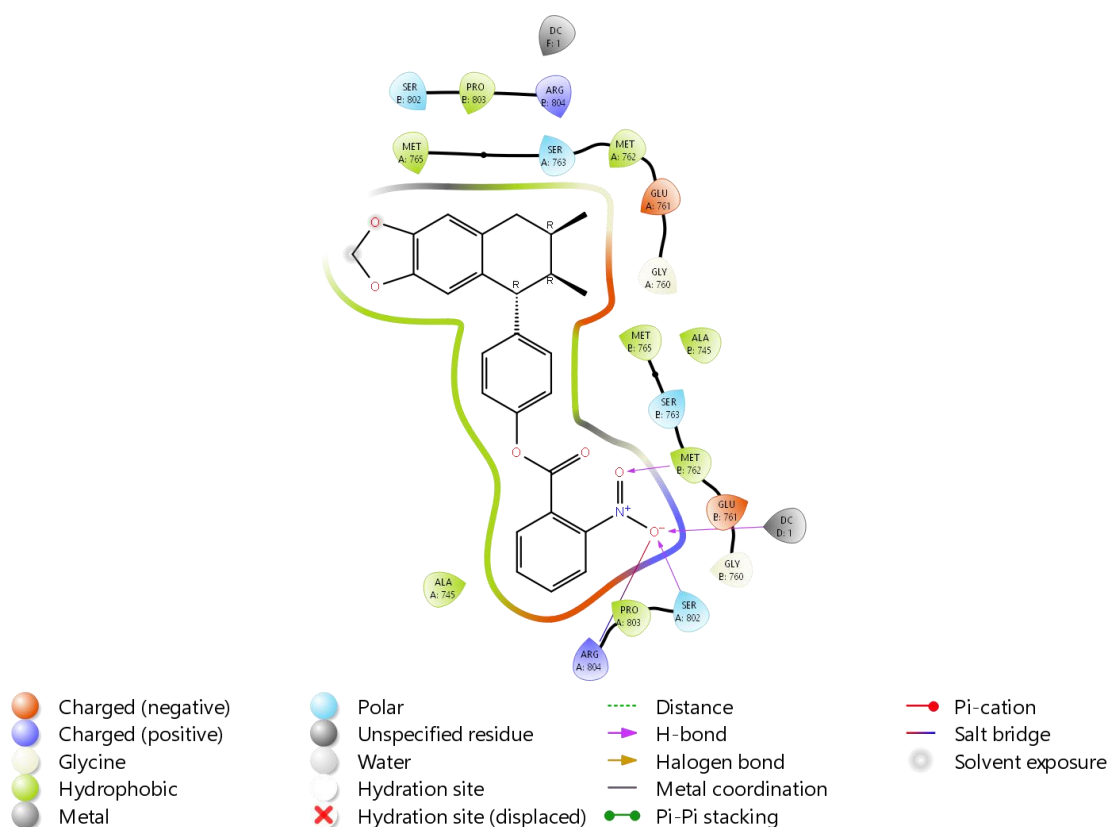


Figura 8. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 3 (Lt8AA) con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II

La figura 8 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el Éster 3 (LT8AA) y la topoisomerasa II. En esta representación se identifican dos puentes de hidrógeno directos: el primero se establece entre un grupo oxigenado del ligando y el nucleótido DC (deoxicitidina)

perteneciente al ADN unido por la enzima, mientras que el segundo ocurre con el residuo SER802, ambos señalados mediante flechas púrpuras. Estas interacciones contribuyen de manera determinante a la fijación del compuesto en el pocket catalítico. Adicionalmente, el grupo amino protonado del ligando forma un contacto electrostático orientado hacia el entorno cargado negativamente de la cavidad, reforzando la estabilización local. El sitio de unión está dominado por interacciones hidrofóbicas y de van der Waals con los residuos ALA745, MET762, MET765, PRO803, GLY760, SER763, ALA752 y MET766, que rodean al ligando y facilitan su acomodo estable dentro de la cavidad. También se observan interacciones polares no clásicas con ARG804, GLY760 y SER802, las cuales contribuyen a la orientación precisa del éster durante el reconocimiento molecular. En conjunto, el Lt8AA se estabiliza por una combinación de interacciones hidrofóbicas y polares, complementadas por puentes de hidrógeno clave con DC y SER802, que consolidan su unión en el sitio activo de la topoisomerasa II.

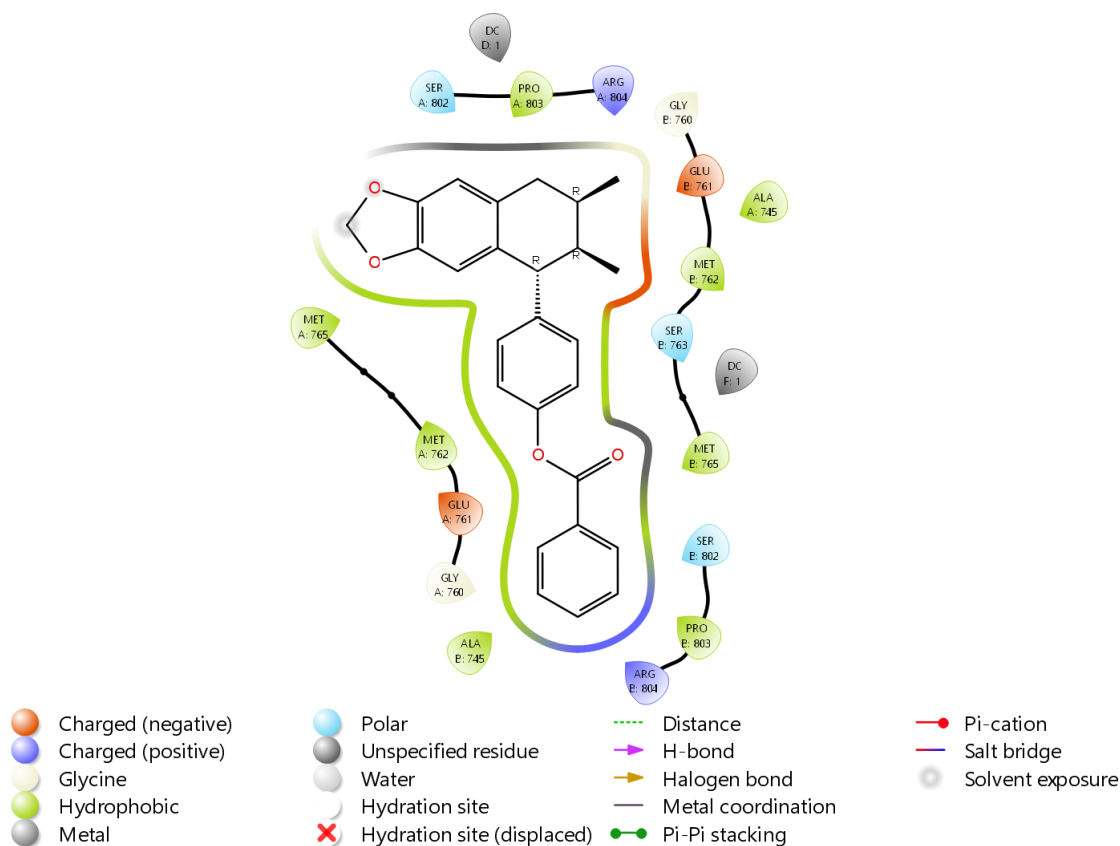


Figura 9. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 1 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II

La figura 9 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el compuesto Éster 1 y la topoisomerasa II, evidenciando un acomodo del ligando dentro de un bolsillo predominantemente hidrofóbico. A lo largo de la cavidad, se observan múltiples contactos hidrofóbicos y de van der Waals con residuos como MET765, MET762, ALA745, MET765, PRO803 y MET762, los cuales contribuyen de manera significativa a la estabilización del esqueleto aromático del ligando dentro del sitio de unión. Asimismo, se identifican residuos polares tales como SER802, SER763 y GLY760, que flanquean la región central del ligando y pueden participar en interacciones electrostáticas débiles que favorecen su orientación dentro del bolsillo. Los residuos cargados GLU761 y ARG804 se localizan en zonas críticas

cercanas al grupo aromático terminal; en particular, la disposición del anillo fenólico inferior sugiere la presencia de una interacción tipo  $\pi$ - $\pi$  o  $\pi$ -alquilo, compatible con la cercanía de ARG804, lo que refuerza el anclaje del ligando en esa región. En conjunto, este patrón de interacciones hidrofóbicas, polares y aromáticas promueve una conformación estable del Éster 1 dentro de la topoisomerasa II, sugiriendo una afinidad favorable mediada principalmente por el entorno hidrofóbico del bolsillo.

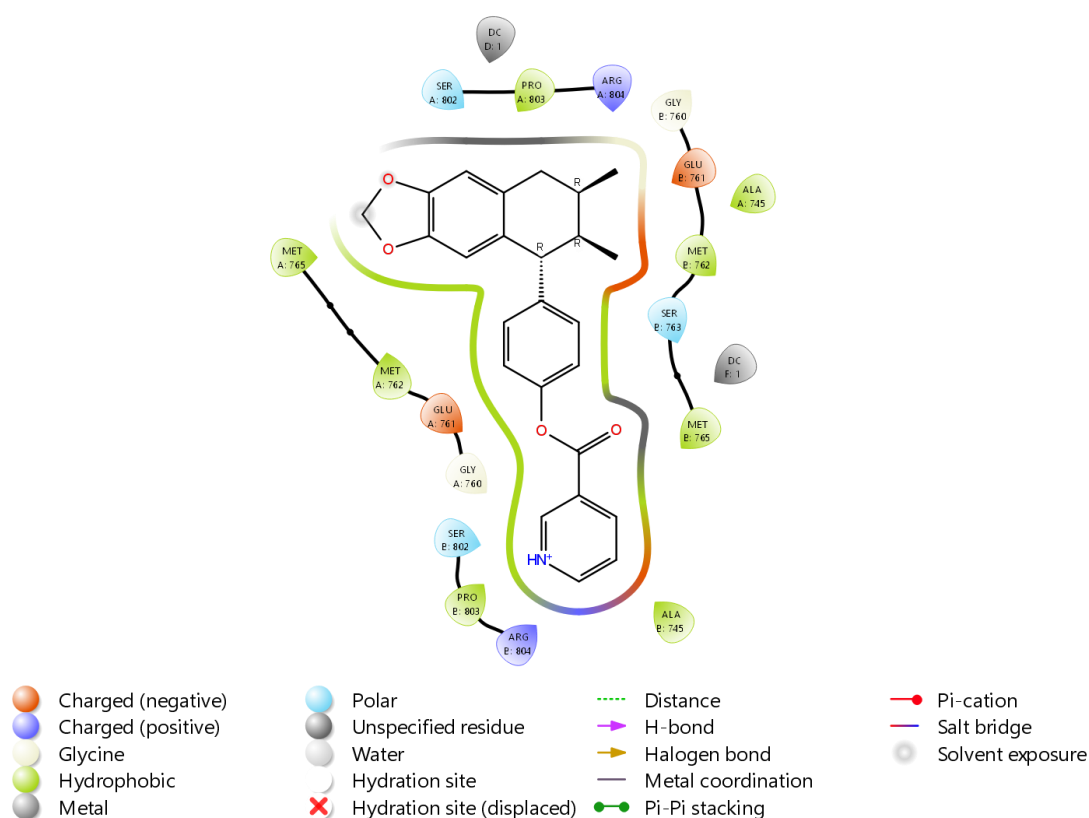
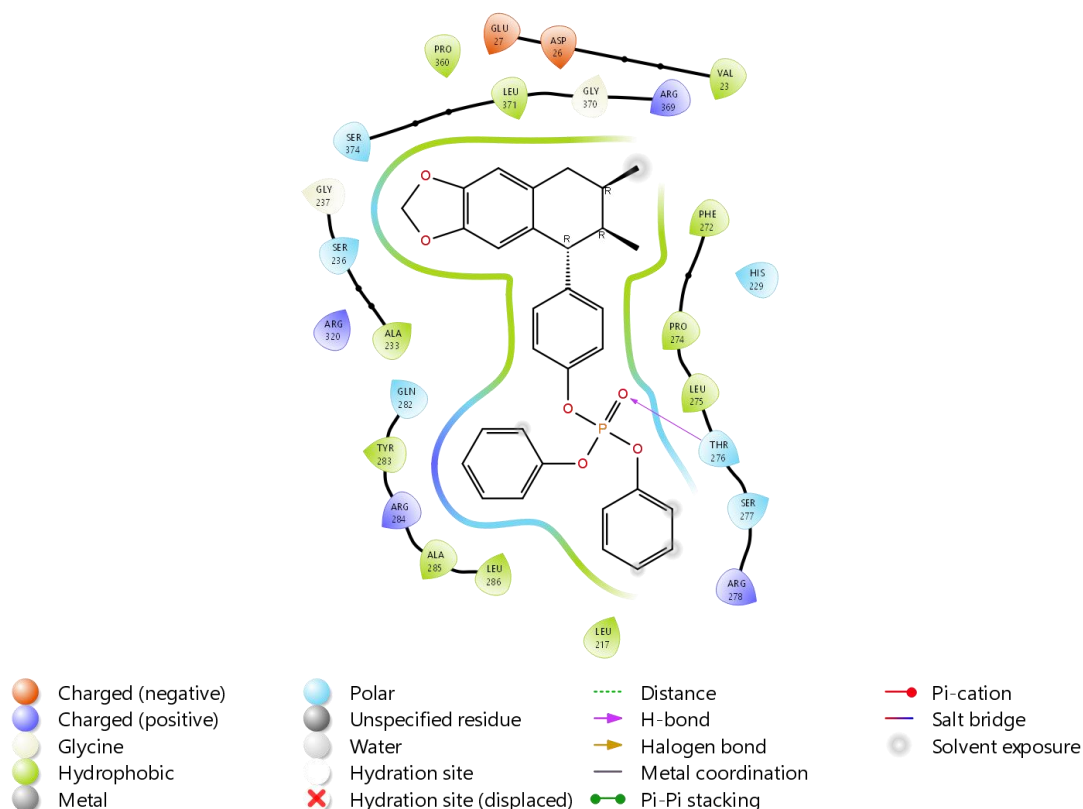


Figura 10. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 5 con el sitio de ATP de la Topoisomerasa II

La figura 10 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el compuesto Éster 5 y la topoisomerasa II, revelando que el ligando se acomoda dentro de un bolsillo con carácter mayormente hidrofóbico. A lo largo de la cavidad se observan interacciones de van der Waals

e hidrofóbicas con residuos como MET765, MET762, MET765, ALA745, PRO803 y PRO803, que envuelven al ligando y contribuyen a la estabilidad del esqueleto aromático dentro del sitio de unión. En la región superior del bolsillo, los residuos SER802, GLY760 y GLU761 se disponen cercanos a los grupos polares del ligando, favoreciendo contactos electrostáticos débiles que guían su orientación. Además, la proximidad del grupo amina del ligando con ARG804 sugiere la presencia de una interacción electrostática o tipo puente salino, reforzando el anclaje del extremo cargado positivo dentro del bolsillo. En la zona inferior, los contactos entre el anillo aromático del Éster 5 y residuos como ALA745 y PRO803 indican la posible existencia de interacciones tipo  $\pi$ -alquilo, que aportan estabilidad adicional al complejo. En conjunto, este patrón de interacciones hidrofóbicas, polares y electrostáticas sugiere que el Éster 5 se acomoda de manera estable en la topoisomerasa II, sustentado principalmente por el entorno apolar y la complementariedad electrostática del bolsillo.



*Figura 11. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Fosfato 4 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.*

La figura 11 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el compuesto Fosfato 4 y la tubulina. Se identifica un puente de hidrógeno directo entre el grupo fosfato del ligando y el residuo THR276, representado mediante una flecha púrpura. Asimismo, se observan interacciones hidrofóbicas y de tipo van der Waals con residuos que conforman el núcleo hidrofóbico del bolsillo, incluyendo LEU217, ALA233, PHE272, PRO274, LEU275, LEU286 y VAL23, los cuales rodean al ligando y refuerzan su estabilidad dentro de la cavidad. También se identifican interacciones polares no clásicas con los residuos GLN282, SER277, SER236 y THR276, que contribuyen a la orientación del ligando mediante contactos electrostáticos débiles. Los residuos cargados ARG278, ARG284 y ARG320 se sitúan en la periferia del bolsillo, favoreciendo la estabilización del grupo fosfato a través de

interacciones electrostáticas de largo alcance. Adicionalmente, se aprecian interacciones aromáticas apolares con TYR283 y PHE272, que pueden participar mediante contactos  $\pi$ -alquilo.

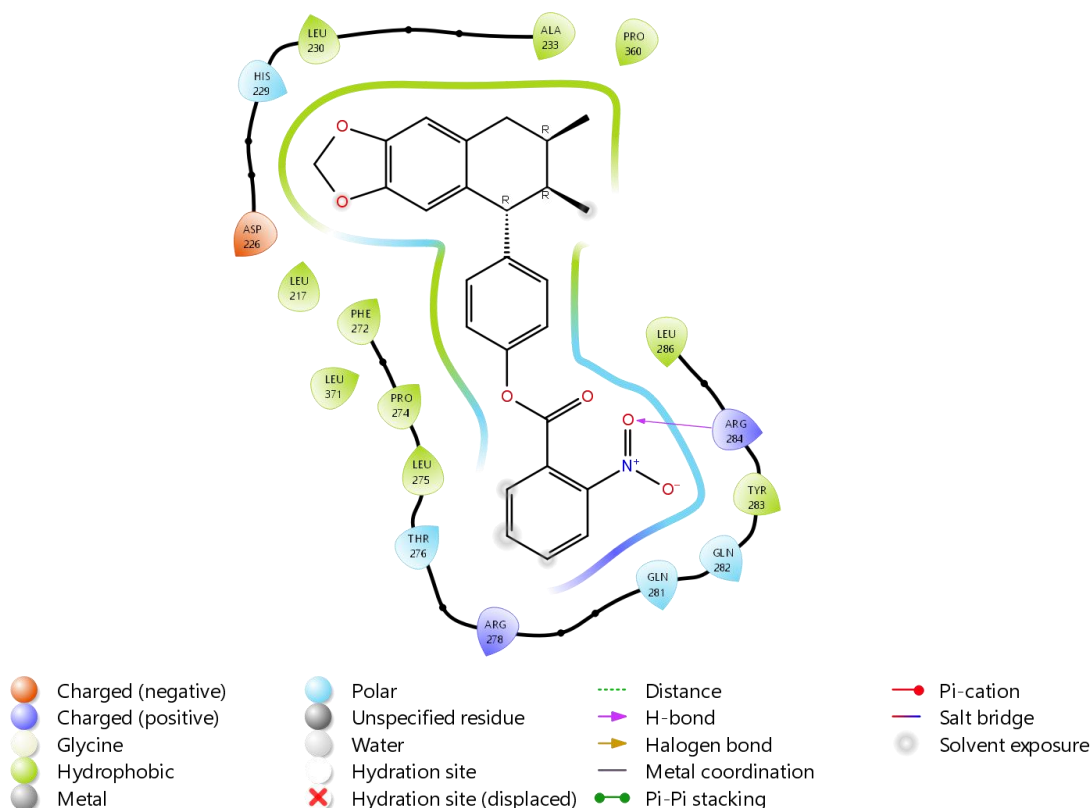


Figura 12. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 3 (Lt8AA) con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.

La figura 12 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el compuesto Lt8AA y la tubulina. El análisis revela un puente de hidrógeno directo entre el grupo nitro del ligando y el residuo ARG284, representado mediante una flecha púrpura, lo que contribuye de manera importante a la fijación del ligando en la cavidad. Además, se observa un conjunto de interacciones hidrofóbicas y de tipo van der Waals con residuos que conforman el núcleo apolar del bolsillo, incluyendo LEU217, LEU230, ALA233, PHE272, PRO274, LEU275,

LEU286, LEU371 y PRO360, los cuales rodean al ligando y refuerzan su estabilidad dentro del sitio de unión. También se identifican contactos polares no clásicos con los residuos GLN281, GLN282, THR276 e HIS229, que ayudan a orientar la molécula a través de interacciones electrostáticas débiles. Por otro lado, los residuos cargados ARG278 y ARG284 se sitúan próximos al grupo nitro y pueden contribuir a su estabilización mediante contactos electrostáticos adicionales. De igual forma, se distinguen interacciones aromáticas apolares con TYR283 y PHE272, sugerentes de posibles contactos  $\pi$ -alquilo que fortalecen aún más el anclaje del ligando en la cavidad de la tubulina.

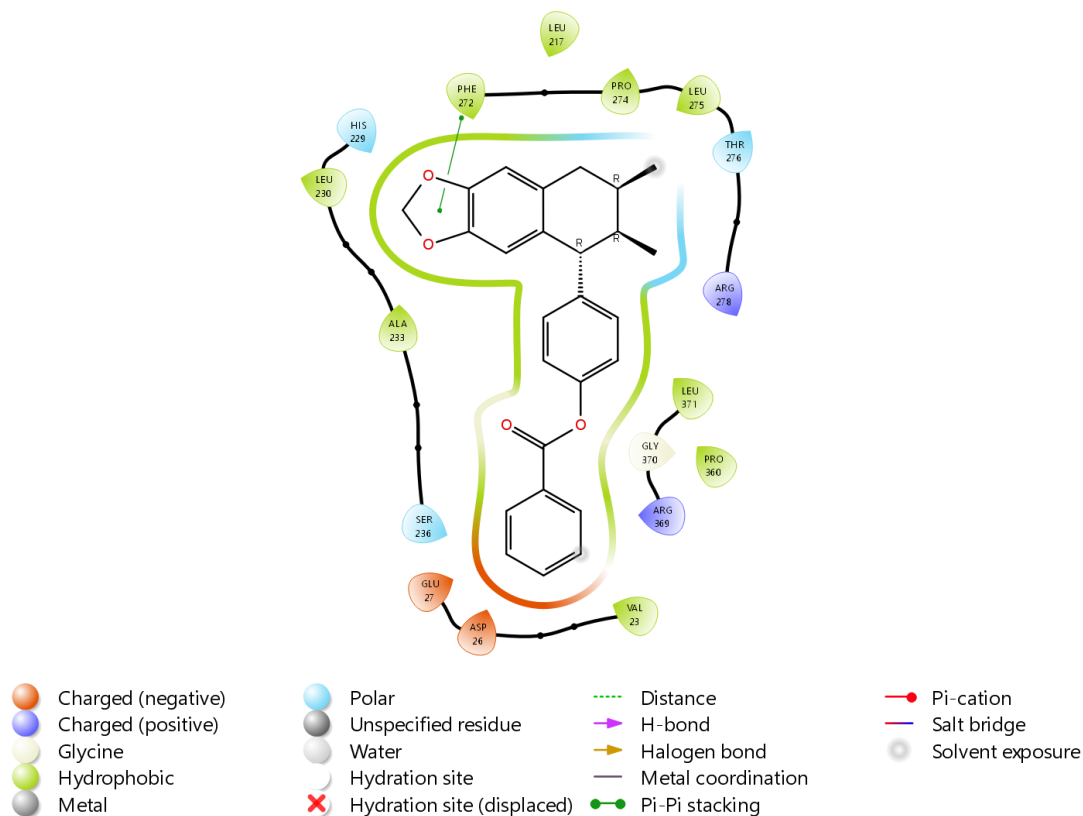


Figura 13. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 1 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.

La figura 13 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el Éster 1 y la tubulina. En el mapa 2D no se observan puentes de hidrógeno directos entre el ligando y los residuos del bolsillo, lo que indica que su reconocimiento está dominado principalmente por interacciones hidrofóbicas y de van der Waals. Entre los residuos que conforman el núcleo apolar y rodean al ligando destacan LEU230, ALA233, PHE272, PRO274, LEU275, LEU371, PRO360, VAL23 y GLY370, los cuales generan un entorno altamente hidrofóbico que favorece el anclaje del compuesto dentro de la cavidad. Asimismo, se aprecia un contacto aromático apolar entre el fragmento aromático del ligando y PHE272, representado como una interacción  $\pi$ -alquilo que contribuye a orientar el anillo dentro del bolsillo. En la región inferior del sitio de unión se identifican residuos polares y cargados, incluyendo SER236, GLU27, ASP26 y ARG369, que establecen interacciones electrostáticas de largo alcance con los grupos oxigenados del ligando, favoreciendo su posicionamiento sin llegar a formar puentes de hidrógeno definidos. En conjunto, el perfil de interacciones sugiere que el Éster 1 se estabiliza mayormente mediante contactos hidrofóbicos, complementados por la proximidad de residuos polares y cargados que modulan su orientación dentro del sitio de unión.

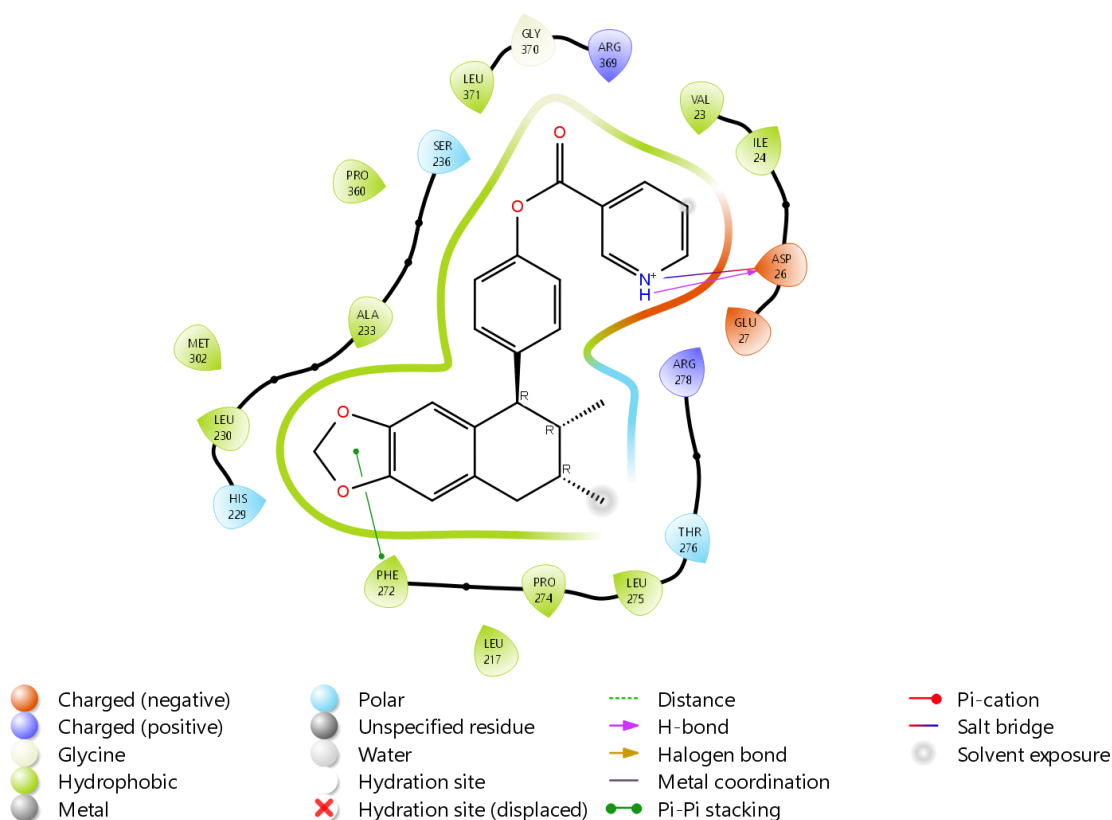


Figura 14. Diagrama de Interacción Molecular 2D del Éster 5 con el Sitio de Unión a la Colchicina de la Tubulina.

La figura 14 muestra el perfil de interacciones no covalentes entre el Éster 5 y la tubulina. En esta representación se identifica un puente de hidrógeno directo entre el grupo amino protonado del ligando y el residuo ASP26, señalado mediante flechas púrpuras, interacción que contribuye significativamente a la fijación del compuesto en la cavidad. El ligando se encuentra rodeado por un conjunto de interacciones hidrofóbicas y de van der Waals con residuos que conforman el entorno apolar del bolsillo, entre los que destacan LEU217, LEU230, ALA233, PHE272, PRO274, LEU275, PRO360, LEU371, VAL23 e ILE24, los cuales favorecen el posicionamiento estable del ligando. De forma adicional, se observa un contacto aromático apolar con PHE272, representado mediante interacción  $\pi$ -alquilo, que

ayuda a orientar el fragmento aromático del compuesto dentro del sitio de unión. En la región superior del bolsillo se localizan residuos polares como SER236 y GLY370, mientras que en la zona adyacente al grupo amino se encuentran residuos cargados como ARG278 y ARG369, que pueden generar interacciones electrostáticas de largo alcance con el ligando, reforzando su orientación sin establecer puentes de hidrógeno adicionales. En conjunto, el perfil de interacciones sugiere que el Éster 5 se estabiliza mediante una combinación de contactos hidrofóbicos extensos y un puente de hidrógeno clave con ASP26, lo que favorece su acomodo dentro de la cavidad de la tubulina.

La primera fase del proyecto fue el acoplamiento molecular se centró en 2 blancos terapéuticos, en la tubulina que de acuerdo con (Montecinos & Sackett, 2023) tiene efecto terapéutico debido a su sitio de unión de colchicina y la topoisomerasa II que tiene unión en el sitio de unión del ATP (Montecinos & Sackett, 2023), dos blancos terapéuticos esenciales en el tratamiento del cáncer. De las 25 moléculas propuestas al inicio del proyecto, se sometieron a *docking* molecular, los resultados obtenidos con AutoDock (Tabla 3 y 4) destacan a fosfato 4, éster 3 (Lt8AA), éster 1 y éster 5 como los análogos con la mejor afinidad de unión, al obtener valores de mediana más cercanos a cero, lo que sugiere mayor probabilidad de efecto farmacológico. Específicamente, el Lt8AA y el fosfato 4 presentaron afinidades superiores, incluso comparadas con el tenipósido, lo que es un indicativo de que el diseño estructural basado en el lignano Lt8A mantiene el potencial de interacción sobre estos blancos, esto confirma que las interacciones descritas por (Castillo-González et al., 2020) donde destaca las interacciones a través de puentes de hidrogeno con el residuo de Cys241 en el caso del Lt8 se mantienen también en el análogo Lt8A. Este hallazgo es crucial, ya que una mayor afinidad aparente, expresada en valores de score más negativos, se relaciona con una mayor estabilidad del complejo ligando-proteína y un posible mecanismo de acción similar al de la podofilotoxina, conocido por detener el ciclo celular en la fase M (Bondarev et al., 2024a).

Una vez obtenidas las 4 moléculas más promisorias a sintetizar se les realizó una predicción de lo que pudiera ser la farmacocinética de dichas moléculas utilizando SwissADME. De la información obtenida destaca la posible penetración de la barrera hematoencefálica por parte del éster 1 y éster 5. El Lt8AA y éster 5 cumplen con todas las reglas de Lipinski pudiéndose

absorber de manera oral y 4 de las 5 moléculas presentan un porcentaje aproximado de biodisponibilidad del 55%. El resto de los datos obtenidos de Swissadme se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Posibles perfiles farmacocinéticos de los análogos más promisorios en SwissADME.

| Molécula        | Fórmula   | Peso Molecular (Da) | Donador de H | Receptor de H | Log P | Solubilidad (mol/L) | Absorción GI | Atraviesa BHE | Pgp sustrato | #violaciones Lipinski | Biodisponibilidad |
|-----------------|---|---------------------|--------------|---------------|-------|---------------------|--------------|---------------|--------------|-----------------------|-------------------|
| Fosfato 4       | C <sub>31</sub> H <sub>29</sub> O <sub>6</sub> P  | 528.53              | 6            | 0             | 6.44  | 5.87E-09            | Bajo         | No            | No           | 2                     | 0.17              |
| Éster 3 (Lt8AA) | C <sub>26</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>   | 445.46              | 6            | 0             | 4.58  | 1.14E-07            | Alto         | No            | No           | <u>0</u>              | <u>0.55</u>       |
| Éster 1         | C <sub>26</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>    | 400.47              | 4            | 0             | 5.38  | 1.51E-07            | Alto         | <u>Si</u>     | No           | 1                     | <u>0.55</u>       |
| Éster 5         | C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>   | 401.45              | 5            | 0             | 4.64  | 3.55E-08            | Alto         | <u>Si</u>     | No           | <u>0</u>              | <u>0.55</u>       |
| *Etopósido      | C <sub>29</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub>   | 588.56              | 13           | 3             | 1.17  | 1.78E-04            | Bajo         | No            | Si           | 2                     | 0.17              |
| *Podofilotoxina | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>    | 414.41              | 8            | 1             | 2.27  | 1.96E-04            | Alto         | No            | No           | 0                     | 0.55              |
| *Tenipósido     | C <sub>32</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub> S | 656.65              | 13           | 3             | 1.9   | 2.69E-05            | Bajo         | No            | Si           | 2                     | 0.17              |
| *Lt8A           | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>    | 296.36              | 3            | 1             | 3.9   | 1.03E-05            | Alto         | <u>Si</u>     | Si           | 0                     | 0.55              |

BHE: barrera hematoencefálica; GI: gastrointestinal

Para predecir la absorción intestinal (HIA) y la capacidad de los análogos para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE), se empleó un gráfico de WLOGP (logaritmo del coeficiente de partición) frente a TPSA (área de superficie polar total) conocido comúnmente como diagrama de “huevo cocido” (Figura 15). En el gráfico, el Lt8AA se encuentra en la zona blanca (clara del huevo, área HIA), lo cual confirma una alta probabilidad de absorción oral y sugiere que no puede cruzar la barrera hematoencefálica. Este es el perfil ideal para un compuesto dirigido a tumores periféricos (mama, próstata, colorrectal, pulmón), lo cual se alinea con el objetivo de obtener un fármaco seguro y con alta biodisponibilidad. Adicionalmente, el punto es rojo (P-Gp), lo que indica que el Lt8AA no es sustrato de la glicoproteína P, un mecanismo de expulsión que causa resistencia a otros agentes quimioterapéuticos. El Fosfato 4 se sitúa fuera del rango establecido (en la zona superior derecha), lo que indica un alto WLOGP y/o TPSA elevado. Este perfil se vincula con una

baja biodisponibilidad y el riesgo de ser sustrato de la P-Gp. Los análogos éster 1 y éster 5 se encuentran en la zona amarilla (yema del huevo, BBB), lo que sugiere una alta probabilidad de penetrar la barrera hematoencefálica. Aunque esto podría aumentar la neurotoxicidad, posiciona a estos compuestos como posibles candidatos para la línea celular de glioblastoma (GBM), donde la penetración de la barrera hematoencefálica (BHE) es un requisito fundamental para la eficacia

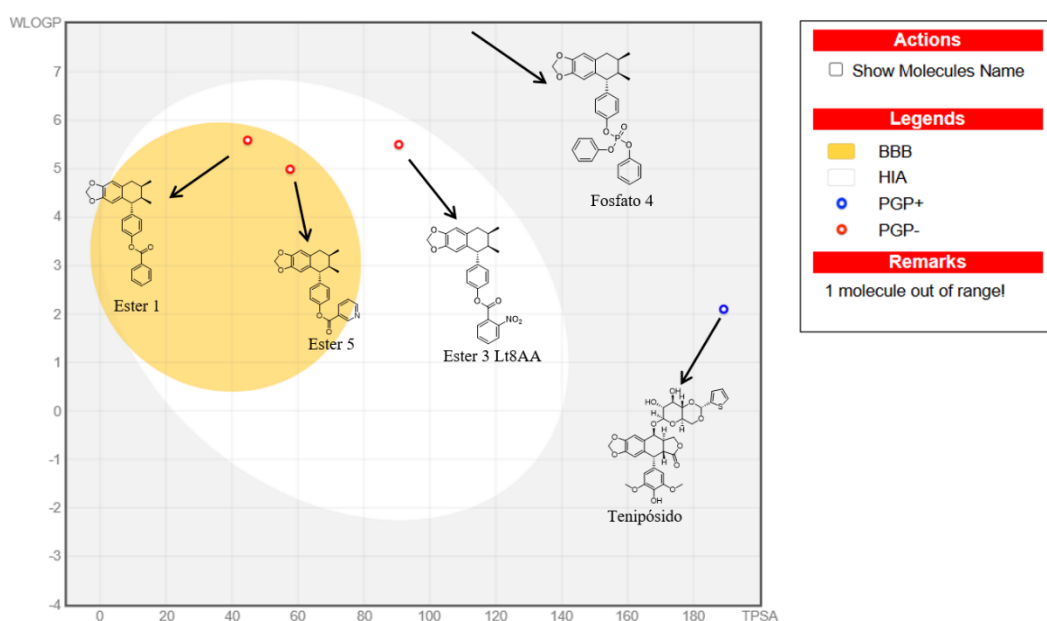


Figura 15. Diagrama de huevo cocido de los análogos de Lt8A.

La selección final de los análogos más promisorios para la síntesis requirió una evaluación rigurosa que fue más allá de los *scores* de acoplamiento. Aunque el Fosfato 4 era la molécula líder en términos de afinidad predicha para los blancos terapéuticos, su complejidad estructural y la dificultad anticipada de su síntesis, sumado a la cantidad limitada de precursor Lt8A, llevó a priorizar la síntesis del éster 3 (Lt8AA). Esta decisión se basó en el buen perfil ADMET, la baja toxicidad y el prometedor perfil multi-objetivo del Lt8AA, lo que garantizaba la viabilidad experimental *in silico* y maximizaba el potencial terapéutico.

El Lt8AA cumplió con los criterios de Lipinski, mostrando un perfil favorable de absorción por vía gastrointestinal (GI) y una biodisponibilidad *in silico* del 55%. Este perfil contrasta notablemente con el de los fármacos de referencia, etopósido y tenipósido, los cuales exhibieron una absorción GI baja y una menor biodisponibilidad *in silico* (17%). Este hallazgo plantea al Lt8AA como un potencial agente con una mejor vía de administración oral y un mayor cumplimiento terapéutico en comparación con los fármacos de referencia.

Los perfiles toxicológicos de las moléculas se obtuvieron utilizando Protox-II. En la tabla 7 se presentan los posibles daños que pudieran causar las moléculas en el organismo, así como el porcentaje de probabilidad de que ocurra. La toxicidad, de acuerdo con Protox-II, se clasifica del 1 al 6, siendo las moléculas de clase 1 las más tóxicas y las de clase 6 las menos tóxicas, dicha clasificación depende de la dosis letal 50 (LD<sub>50</sub>). Las moléculas propuestas para el proyecto presentan una toxicidad que va de 4 a 6, por lo que se consideran seguras para consumo, necesitando dosis de casi 1, 5 y 16 g/kg para ejercer toxicidad en el organismo que en comparación con los fármacos anticancerígenos de referencia necesitan dosis muy pequeñas para ejercer una toxicidad de clase 3 afectando sistema inmune, proteína p53 y citocromos, por mencionar solo algunos de los ejemplos de toxicidad probables a ocurrir.

Tabla 7. Perfiles toxicológicos de los análogos más promisorios realizados en Protox-II

| Molécula           | Toxicidad   | Probabilidad                              | Clase | LD 50       |
|--------------------|---|---|-------|-------------|
| Fosfato 4          | Inmunotoxicidad<br>Citocromo CYP3A4   | 0.91<br>0.7                               | 6     | 15800 mg/kg |
| Éster 3<br>(Lt8AA) | Carcinogenico<br>Inmunotoxicidad<br>Mutagenicidad<br>Potencial de Membrana Mitocondrial<br>Citocromo CYP3A4   | 0.72<br>0.99<br>0.88<br>0.73<br>0.72      | 4     | 899 mg/kg   |
| Éster 1            | Inmunotoxicidad<br>Atraviesa BHE<br>Citocromo CYP2C9<br>Citocromo CYP3A4  | 0.94<br>0.75<br>0.85<br>0.86              | 4     | 899 mg/kg   |
| Éster 5            | Inmunotoxicidad<br>Atraviesa BHE<br>Citocromo CYP3A4  | 0.99<br>0.79<br>0.78                      | 5     | 5000 mg/kg  |
| Etopósido          | Toxicidad respiratoria<br>Cardiotoxico<br>Inmunotoxicidad<br>p53 (Fosfoproteína Tumor Supresora)<br>Citocromo CYP2C19<br>Citocromo CYP2C9                           | 0.82<br>0.7<br>0.99<br>1<br>0.86<br>0.81  | 3     | 215 mg/kg   |
| Podofilotoxina     | Inmunotoxicidad<br>Receptor de hidrocarburos aromáticos<br>(AhR)<br>Potencial de Membrana Mitocondrial<br>Citocromo CYP2C19<br>Citocromo CYP2C9<br>Citocromo CYP3A4 | 0.99<br>1<br>0.99<br>0.99<br>0.93<br>1    | 3     | 100 mg/kg   |
| Tenipósido         | Toxicidad respiratoria<br>Inmunotoxicidad<br>p53 (Fosfoproteína Tumor Supresora)<br>Citocromo CYP2C19<br>Citocromo CYP2C9<br>Citocromo CYP3A4                       | 0.79<br>0.99<br>1<br>0.72<br>0.74<br>0.78 | 3     | 70 mg/kg    |
| Lt8A               | Inmunotoxicidad<br>Atraviesa BHE<br>Citocromo CYP2C9  | 0.85<br>0.73<br>0.83                      | 5     | 2260 mg/kg  |

LD<sub>50</sub>=Dosis Letal 50

En cuanto a la seguridad toxicológica, los análisis en Protox-II revelaron una clara ventaja en los análogos diseñados. Mientras que la podofilotoxina y el tenipósido se clasificaron como Clase 3 de toxicidad y un LD<sub>50</sub> de 70-100 mg/kg, los análogos, incluyendo el Lt8AA, mostraron un riesgo significativamente menor. Específicamente, el Lt8AA se clasificó como Clase 4 de toxicidad, con una LD<sub>50</sub> de 899 mg/kg. Un factor fundamental es que este límite de toxicidad, notablemente superior al de los grupos de control, ya que la frecuencia elevada de efectos secundarios graves restringe el uso de las quimioterapias convencionales.

## **5.2 Análisis de Farmacología de Redes: Identificación de Dianas Multi-Objetivo por Intersección Swiss Target Prediction – GEPIA 2**

El desarrollo lógico de medicamentos ha cambiado, dejando atrás la idea de "un fármaco, una diana" para abrazar la polifarmacología. Esta busca influir en varias proteínas para generar un efecto terapéutico más potente y evitar la resistencia (González-Llerena et al., 2025).

Para iniciar el análisis multi-inhibidor, se utilizó la herramienta bioinformática Swiss Target Prediction. Este software analiza la estructura química de un ligando y mediante un modelo de homología y machine learning con fármacos conocidos, predice las familias de proteínas con las que el compuesto tiene mayor probabilidad de interacción. La Tabla 8 muestra las 10 dianas moleculares principales anticipadas para el éster 3 (Lt8AA), basadas únicamente en su estructura.

Tabla 8. Diez primeras dianas para el Lt8AA obtenidas de SwissADME Target Prediction

| <b>Diana</b>  | <b>Nombre Común</b> | <b>Uniprot ID</b> | <b>ChEMBL ID</b> | <b>Tipo de Proteína</b> |
|---|---------------------|-------------------|------------------|-------------------------|
| Serina/treonina-proteína cinasa Aurora-B                              | AURKB               | Q96GD4            | CHEMBL2185       | Cinasa                  |
| Serina/treonina-proteína cinasa Aurora-A                              | AURKA               | O14965            | CHEMBL4722       | Cinasa                  |
| Receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular              | FLT4                | P35916            | CHEMBL1955       | Cinasa                  |
| Cadena pesada de Cinesina-1/ Receptor de tirosina-proteína cinasa RET | RET                 | P07949            | CHEMBL2041       | Cinasa                  |
| Serina/treonina-proteína cinasa Chk2                                  | CHEK2               | Q96017            | CHEMBL2527       | Cinasa                  |
| Receptor de factor de crecimiento nervioso Trk-A                      | NTRK1               | P04629            | CHEMBL2815       | Cinasa                  |
| MAP cinasa p38 delta  | MAPK13              | O15264            | CHEMBL2939       | Cinasa                  |
| Tirosina-proteína cinasa HCK  | HCK                 | P08631            | CHEMBL3234       | Cinasa                  |
| Receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos                  | FGFR1               | P11362            | CHEMBL3650       | Cinasa                  |
| Cinasa del dominio LIM 1  | LIMK1               | P53667            | CHEMBL3836       | Cinasa                  |

Con el fin de comprobar la capacidad multi-inhibidora del análogo y justificar la elección del mejor candidato, se llevó a cabo un análisis de Farmacología de Redes. Este proceso tuvo dos pasos clave:

Contextualización Oncológica: Se utilizó la herramienta GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis) para obtener los genes que se expresan en exceso (sobreexpresados) en las seis líneas cancerosas estudiadas (PRAD (Adenocarcinoma de próstata) BRCA (Carcinoma Invasivo de Mama) GBM (Glioblastoma Multiforme) COAD (Adenocarcinoma de colon) LUAD (Adenocarcinoma de pulmón) LUSC (Carcinoma escamoso de pulmón).

Esto aseguró que solo se consideraran los objetivos que son activamente relevantes en el fenotipo tumoral.

Identificación de la Intersección (Diagrama de Venn): Se utilizó un diagrama de Venn en línea para encontrar los genes en común (la intersección) entre los blancos predichos por Swiss Target Prediction (Tabla 8) y los genes sobreexpresados obtenidos de GEPIA. El resultado de este filtrado son las Proteínas Centrales que tienen la mayor relevancia oncológica para el Lt8AA. La Tabla 9 muestra las proteínas clave que surgieron como punto de encuentro entre las dianas predichas y los genes sobreexpresados, señalando los objetivos más importantes para la acción anticancerígena de nuestros compuestos.

La selección del éster 3 como el análogo final (Lt8AA) a sintetizar se basó en una evaluación de diferentes criterios que integró la afinidad predicha, la relevancia biológica y la factibilidad química. El fosfato 4, a pesar de sus prometedores scores de docking, se descartó debido a que no demostró resultados favorables en la farmacología de redes, lo que minimizó su relevancia biológica en el contexto oncológico. Al comparar los dos ésteres siguientes, se observó que el éster 3 y el éster 1 presentaban una cantidad similar de dianas en el análisis de redes, pero el éster 3 mostró una mayor afinidad (mejor docking score) por los blancos primarios de tubulina y topoisomerasa II, posicionándolo como el candidato computacionalmente superior. Finalmente, el factor decisivo fue la viabilidad química y sencillez sintética de un éster frente a un fosfato, asegurando que el éster 3 (Lt8AA) fuese el candidato más factible para la semi-síntesis en el marco del proyecto.

Tabla 9. Proteínas de líneas celulares sobreexpresadas para los análogos de Lt8A

| <b>DIANAS</b> | <b>Éster 1</b>                        | <b>Éster 3<br/>(Lt8AA)</b>            | <b>Éster 5</b>                | <b>Fosfato 4</b> |
|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|------------------|
| <b>*PRAD</b>  | X                                     | X                                     | X                             | X                |
| <b>*BRCA</b>  | PLK1<br>CDK1<br>RET<br>AURKA<br>AURKB | PLK1<br>CDK1<br>RET<br>AURKA<br>AURKB | PLK1<br>AURKA<br>AURKB<br>RET | PLK1             |
| <b>*GBM</b>   | CDK1<br>CHEK1<br>AURKA<br>AURKB       | CDK1<br>AURKA<br>AURKB                | AURKA<br>AURKB                | X                |
| <b>*COAD</b>  | CDK1<br>CHEK1<br>AURKA<br>AURKB       | AURKA<br>AURKB<br>CDK1                | AURKB<br>AURKA<br>CTSS        | X                |
| <b>*LUAD</b>  | CDK1<br>AURKA<br>AURKB                | CDK1<br>AURKA<br>AURKB                | AURKA<br>AURKB                | X                |
| <b>*LUSC</b>  | X                                     | X                                     | X                             | X                |

\*PRAD (Adenocarcinoma de próstata) BRCA (Carcinoma Invasivo de Mama) GBM (Glioblastoma Multiforme) COAD (Adenocarcinoma de colon) LUAD (Adenocarcinoma de pulmón) LUSC (Carcinoma escamoso de pulmón).

La acción del análogo Lt8AA sobre la topoisomerasa II, tubulina y las dianas centrales (PLK1, CDK1, AURKA, AURKB) no son mecanismos aislados, sino componentes de una estrategia de bloqueo dual enfocada en la mitosis y el ciclo celular. El ciclo celular, particularmente la fase M (Mitosis), es el principal punto de ataque de los fármacos en este proyecto:

El mecanismo de acción de la topoisomerasa II es que es una enzima esencial para gestionar el superenrollamiento y el desenredo del ADN durante la replicación y la segregación cromosómica en la fase M. Al inhibir esta enzima el fármaco interfiere directamente con la división celular, mientras tanto las dianas centrales son proteínas de tipo cinasas y son reguladoras maestras que controlan el inicio y la progresión correcta a través de los puntos de control del ciclo celular según (Gonzalez-Llerena et al., 2025). Al inhibir estas dianas, el Lt8AA actúa antes, desregulando la maquinaria que permite a la célula entrar y avanzar en la mitosis.

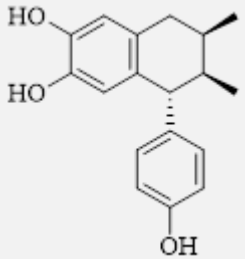
La combinación de ambos blancos se justifica por el principio de la polifarmacología, que busca influir en varias proteínas para generar un efecto terapéutico más potente y evitar la resistencia, ya que un fármaco que solo se enfoca en topoisomerasa II o tubulina (como etopósido que se une a la topo II) puede ser eludido por la célula. Al añadir la inhibición de las dianas centrales, se crea un bloqueo sinérgico que ataca tanto la regulación como la ejecución de la mitosis.

Un análisis farmacológico de redes confirmó la lógica detrás de la selección del Lt8AA. El hallazgo más relevante fue la identificación de proteínas cruciales del ciclo celular como dianas directas de este compuesto, a través de la integración de la predicción molecular y los

datos transcriptómicos de las líneas celulares. Los datos en la tabla 9 demuestran que el Lt8AA presenta un destacado perfil multi-inhibidor, actuando sobre dianas centrales como: CDK1 y PLK1, cinasas reguladoras clave de la transición de las fases G2/M del ciclo celular. AURKA y AURKB son cinasas fundamentales para la segregación cromosómica y la citocinesis. La identificación de estas proteínas, cuya expresión es elevada en cuatro de las cinco líneas celulares propuestas, sugiere que el Lt8AA no sólo actúa sobre la topoisomerasa II (como el etopósido), sino que tiene la capacidad de alterar múltiples puntos de control de la división celular. Este enfoque de ataque múltiple es vital, ya que, como señalan González-Llerena et al. (2025), el enfoque multi-objetivo tiene un mayor potencial para superar los mecanismos de resistencia inherentes de las células cancerosas, que a menudo se vuelven resistentes a fármacos de objetivo único.

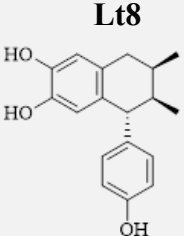
### 5.3 Rendimientos de la purificación de Lt8 por columna cromatográfica (CC)

Tabla 10. Rendimientos de purificación de Lt8 por CC

| Compuesto   | No. de columna | Gramos de la fracción | Gramos puros obtenidos | Rendimiento expresado en % |
|---|----------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| <p><b>Lt8</b></p>  | 1              | 1.4954                | 0.272                  | 18.18                      |
|   | 2              | 0.37626               | 0.1452                 | 38.59                      |

#### 5.4 Rendimiento de la purificación de Lt8 por cristalización forzada.

Tabla 11. Rendimiento de la purificación de Lt8 por cristalización forzada.

| Compuesto   | Gramos de la fracción | Gramos puros obtenidos | Rendimiento expresado en % |
|---|-----------------------|------------------------|----------------------------|
| <p><b>Lt8</b></p>  | 2.0                   | 0.318                  | 15.9                       |

## 5.6 Propiedades físicas de Lt8



### FICHA DE DATOS

Versión 1.0

Fecha de revisión 06/11/2025

Fecha de impresión 07/11/2025

#### SECCIÓN 1. IDENTIFICACIÓN

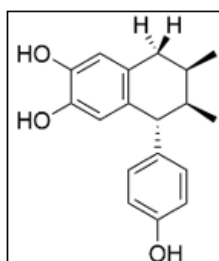


Figura 1. Lt8

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <b>Nombre del producto</b>      | Lt8 (Figura 1)   |
| <b>Descripción del producto</b> | ≥99% (RMN <sup>1</sup> H / RMN <sup>13</sup> C)                                |
| <b>Marca del producto</b>       | FCQ-UANL   |
| <b>Formula molecular</b>        | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>                                 |
| <b>Nombre IUPAC</b>             | (5R,6R,7R)-5-(4-hidroxifenil)-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-2,3-diol |

#### 1.1 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

|                 |  |
|-----------------|--|
| <b>Compañía</b> | Universidad Autónoma de Nuevo León,<br>Facultad de Ciencias Químicas. División de<br>Estudios de Posgrado. Vicente Guerrero s/n,<br>Treviño, 64570 Monterrey, N.L. |
| <b>Teléfono</b> | +52 81 13 40 44 15   |

#### SECCIÓN 2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>Aspecto</b>                     | Sólido   |
| <b>Color</b>                       | Blanco   |
| <b>Olor</b>                        | Sin datos disponibles  |
| <b>Solubilidad</b>                 | Metanol  |
| <b>pH</b>                          | Sin datos disponibles  |
| <b>Punto / intervalo de fusión</b> | 383 - 388.4°F / 195 – 198 °C   |
| <b>Peso molecular</b>              | 284.35 g/mol   |
| <b>Log P</b>                       | 3.29   |
| <b>Estabilidad química</b>         | El producto es químicamente estable bajo<br>condiciones normales (a temperatura<br>ambiental). |
| <b>Materiales incompatibles</b>    | Hexano, acetona, cloroformo  |

#### SECCIÓN 3. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

##### Toxicidad aguda

Oral: Sin datos disponibles

Inhalación: Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles



Por: Q.F.B. Juan Manuel Rodríguez Véliz

Revisó: Dra. María del Rayo Camacho

Figura 16. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8.

## 5.5 Elucidación estructural por infrarrojo.

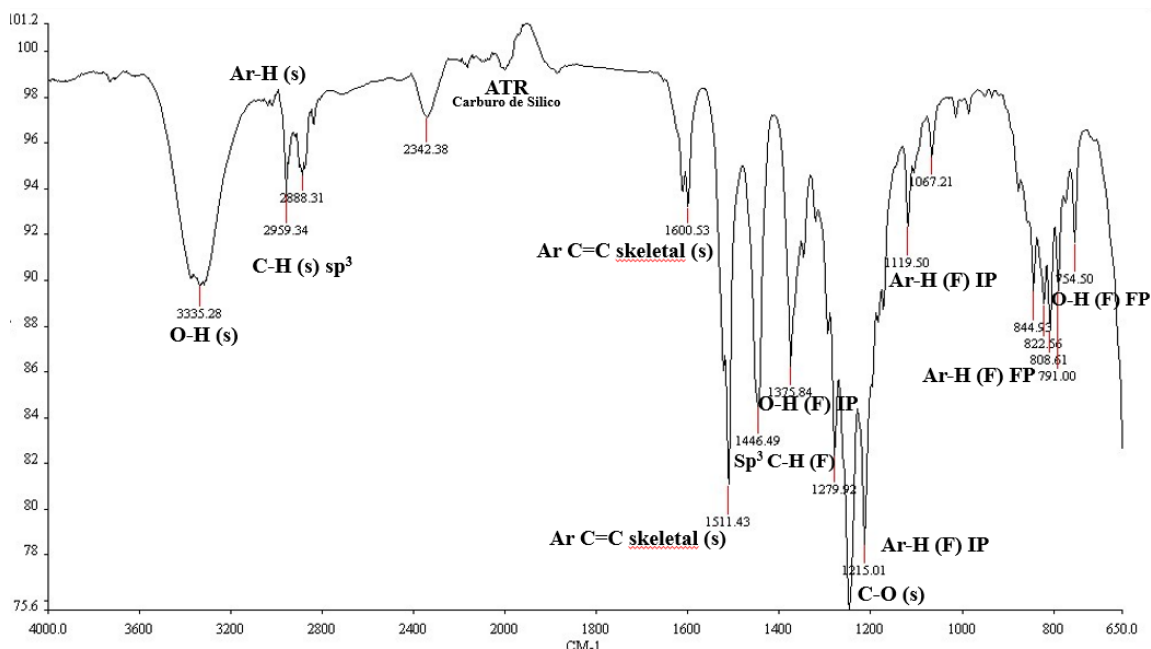


Figura 17. Espectro infrarrojo del compuesto Lt8.

Las bandas características que aparecen en el espectro infrarrojo para Lt8 son: Bandas correspondientes al grupo hidroxilo: con la banda de O-H de estiramiento en 3335 cm<sup>-1</sup> y C-O de estiramiento en 1215 cm<sup>-1</sup>. Bandas correspondientes a los grupos aromáticos: una banda débil arriba de 3000 cm<sup>-1</sup> del enlace Ar-H de estiramiento, dos bandas en 1600 y 1511 cm<sup>-1</sup> perteneciente a un tipo de enlace Ar C=C esquelético de estiramiento, bandas en rango de 1215 cm<sup>-1</sup> y 1067 cm<sup>-1</sup> que pertenecen al enlace Ar-H de flexión en el plano, y unas bandas que aparecen en rangos de números de onda de 844 y 754 cm<sup>-1</sup> correspondientes al enlace Ar-H de flexión fuera del plano. Finalmente, bandas correspondientes a los grupos alifáticos: C-H de estiramiento en 2959 y 2888 a cm<sup>-1</sup> así como a 1375 y 1446 cm<sup>-1</sup> bandas perteneciente al

enlace C-H de flexión. Las bandas que aparecen en números de onda que van desde 1800 a 2400  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye a señales pertenecientes al carburo de silicio del ATR.

## 5.6 Elucidación estructural de Lt8 por RMN $^1\text{H}$

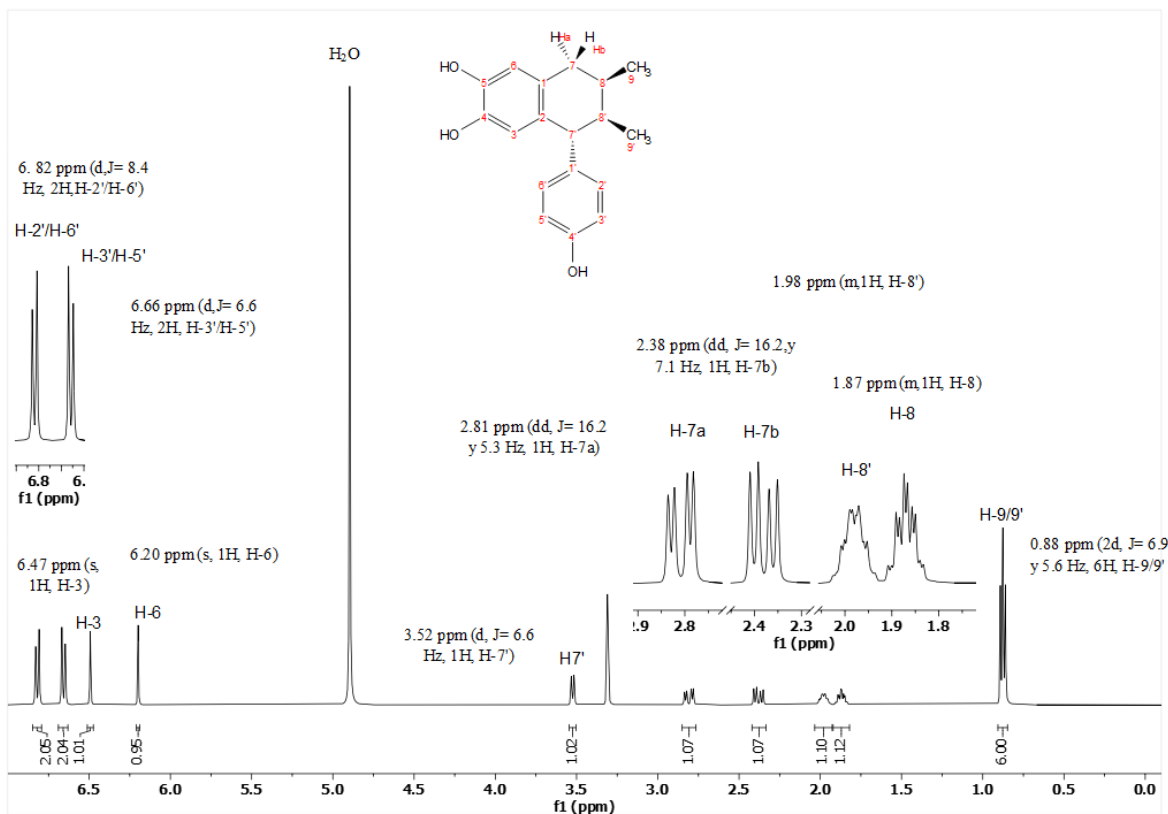


Figura 18. Espectro de  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, MeOD) de Lt8.

La Figura 18 muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto Lt8 registrado en MeOD, donde se observan en la región alifática dos señales de dos dobletes centrados en  $\delta$  0.87 ppm (d,  $J=6.9$  Hz, 3H, H-9) y el 0.89 ppm (d,  $J=6.9$  Hz, 3H, H-9'). correspondientes a dos grupos metilo que se acoplan con sus respectivos protones metínicos vecinos. También, se identifican dos señales multipletes de metinos en  $\delta$  1.87 (1H, H-8) y  $\delta$  1.98 (1H, H-8'). Asimismo, se observan dos dobles de dobles de protones metileno no equivalentes en  $\delta$  2.38 (1H, dd,  $J=16.2, 7.1$  Hz, H-7b) y  $\delta$  2.81 (1H, dd,  $J=16.2, 5.3$  Hz, H-7a), que presentan

acoplamientos geminales y vicinales. También se distingue un doblete en  $\delta$  3.52 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-7'), correspondiente a un protón metino dibencílico acoplado a un protón adyacente. En la región aromática, se aprecian dos singuletes en  $\delta$  6.20 (1H, s, H-6) y  $\delta$  6.49 (1H, s, H-3), característicos de un anillo tetrasustituído. Finalmente, se identifican dos dobles en  $\delta$  6.66 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', H-5') y  $\delta$  6.82 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2', H-6'), correspondientes a un sistema  $A_2B_2$  propio de un anillo aromático *para*-disustituído.

## 5.7 Elucidación estructural de Lt8 por RMN $^{13}\text{C}$

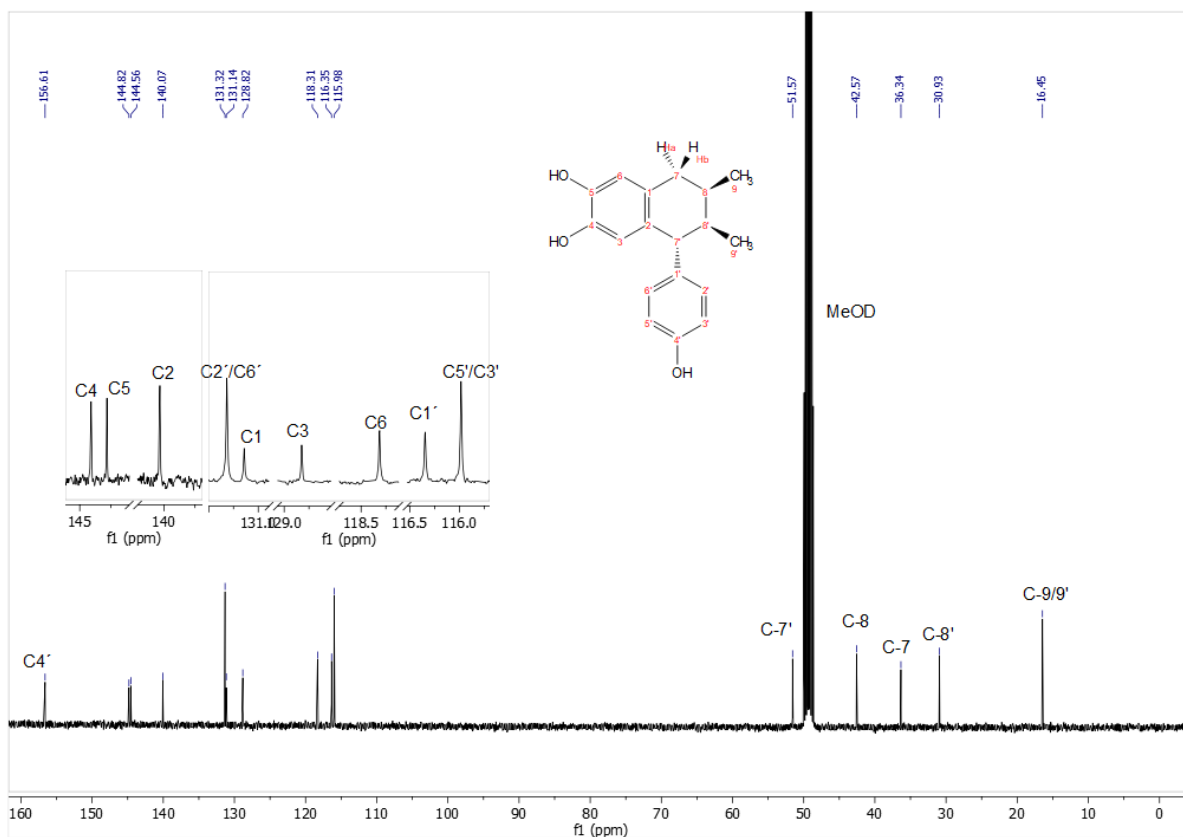


Figura 19. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto Lt8 (100 MHz, MeOD).

La Figura 19 muestra el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto Lt8 registrado en MeOD, donde se identifican señales correspondientes a 18 carbonos. En la región de los carbonos aromáticos (115 a 160 ppm), se observan 12 señales y aparecen en  $\delta$  156.61 (C-4'), 144.82 (C-4), 144.56 (C-5) y 140.07 (C-2). Asimismo, se identifican los desplazamientos en  $\delta$  131.32 (C-2'/C-6'), 131.14 (C-1), 128.82 (C-3), 118.31 (C-6), 116.35 (C-1') y 115.98 (C-5'/C-3'). Por otro lado, en la zona de los carbonos alifáticos, el espectro presenta señales en  $\delta$  51.57 (C-

7'), 42.57 (C-8), 36.34 (C-7) y 30.93 (C-8'). Finalmente, en la región de campo alto, se observa una señal intensa en  $\delta$  16.45 correspondiente a los metilos terminales (C-9/9'). Cabe destacar la presencia del multiplete característico del disolvente (MeOD) centrado cerca de los 49 ppm.

Los desplazamientos observados son consistentes con la estructura propuesta, evidenciando un núcleo aromático tetrasustituído y un anillo *para*-disustituído, además de las cadenas laterales alifáticas esperadas en el producto natural Lt8. Los espectros de RMN fueron consistentes con lo reportado por Favela-Hernández et al., 2015. La pureza y correcta caracterización del producto natural Lt8 fue fundamental para la semisíntesis de Lt8A que se relaciona con la podofilotoxina y respalda el potencial anticancerígeno intrínseco para el diseño de los análogos.

## 5.8 Síntesis para la obtención del metilendioxi Lt8A



### FICHA DE DATOS

Versión 1.0

Fecha de revisión 27/10/2025

Fecha de impresión 28/10/2025

#### SECCIÓN 1. IDENTIFICACIÓN

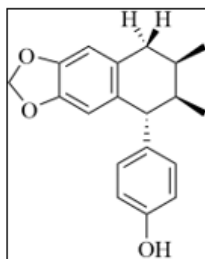


Figura 1. Lt8A

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <b>Nombre del producto</b>      | Lt8A (Figura 1)  |
| <b>Descripción del producto</b> | ≥95% (RMN <sup>1</sup> H / RMN <sup>13</sup> C)                                |
| <b>Marca del producto</b>       | FCQ-UANL   |
| <b>Formula molecular</b>        | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>                                 |
| <b>Nombre IUPAC</b>             | 4-((5R,6R,7R)-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenol |

#### 1.1 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

|                 |  |
|-----------------|--|
| <b>Compañía</b> | Universidad Autónoma de Nuevo León,<br>Facultad de Ciencias Químicas. División de<br>Estudios de Posgrado. Vicente Guerrero s/n,<br>Treviño, 64570 Monterrey, N.L. |
| <b>Teléfono</b> | +52 81 13 40 44 15   |

#### SECCIÓN 2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <b>Aspecto</b>                  | Resina   |
| <b>Color</b>                    | Transparente   |
| <b>Olor</b>                     | Sin datos disponibles  |
| <b>Solubilidad</b>              | Acetato de etilo / cloroformo  |
| <b>pH</b>                       | Sin datos disponibles  |
| <b>Peso molecular</b>           | 296.14 g/mol   |
| <b>Log P</b>                    | 3.9  |
| <b>Estabilidad química</b>      | El producto es químicamente estable bajo<br>condiciones normales (a temperatura<br>ambiental). |
| <b>Materiales incompatibles</b> | Metanol  |

#### SECCIÓN 3. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

##### Toxicidad aguda

Oral: Sin datos disponibles

Inhalación: Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles



Por: Q.F.B. Juan Manuel Rodríguez Véliz

Revisó: Dra. María del Rayo Camacho

Figura 20. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8A

La síntesis del intermediario Lt8A se llevó a cabo mediante la metilación del catecol de acuerdo con lo reportado previamente (Castillo-González et al., 2020). El producto se obtuvo con un rendimiento del 8.4%, la identidad del producto se confirmó mediante técnica espectroscópica. La evidencia clave provino del análisis de RMN-<sup>1</sup>H: se detectó una señal de tipo singlete en  $\delta$  5.85 ppm en el espectro, característica del grupo metilendioxi. La introducción exitosa de este anillo en las posiciones C-4 y C-5 de Lt8A es un rasgo estructural que establece una analogía directa con el núcleo químico de la podofilotoxina.

El porcentaje de rendimiento contrasta marcadamente con reportes de literatura para reacciones de metilación de catecoles similares. Previamente se ha reportado (Zelle & McClellan, 1991) rendimientos de 86–97% al emplear carbonato de cesio y bromoclorometano en DMF o acetonitrilo para la metilación de 5,6-dihidroxi-1-tetralonas.

Pueden atribuirse a varios factores, incluyendo: Condiciones de reacción y oxidación ya que los experimentos tomados como base (Castillo-González et al., 2020) sugieren que condiciones que favorecen la metilación con Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y DMF (a mayor temperatura de reflujo) también promueven la oxidación del núcleo de tetralina a naftaleno (subproducto EC-16 reportado por la misma fuente), lo que desvía la materia prima del producto deseado. Posibles pérdidas en la purificación cromatográfica necesaria para separar el Lt8A de otros subproductos.

Se obtuvo la cantidad suficiente de Lt8A para continuar con la síntesis del análogo final.

## 5.9 Elucidación estructural de Lt8A por RMN $^1\text{H}$

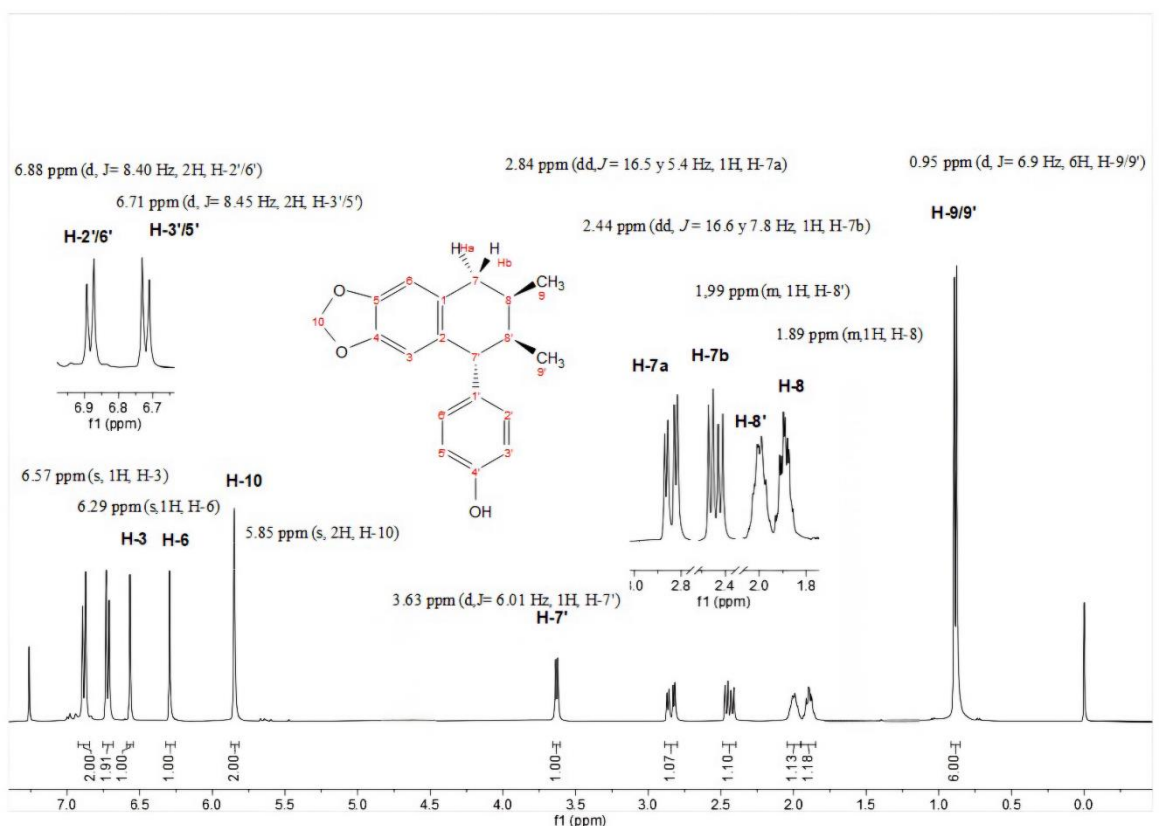


Figura 21. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto Lt8A (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

La Figura 21 muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto Lt8A en  $\text{CDCl}_3$  donde se observan en la zona alifática, en la parte de campo más alta, dos dobletes cerca de  $\delta$  0.95 ppm (d,  $J=6.9$  Hz, 3H, H-9) y el otro en 0.93 ppm (d,  $J=6$  Hz, 3H, H-9'). Esta señal se debe a los hidrógenos de los dos grupos metilo H-9 y H-9', que se comportan de forma idéntica debido a la simetría o la rotación libre en la escala de tiempo de RMN, y se acoplan con los hidrógenos metínicos que tienen cerca. En la misma región alifática, se observan las señales

de los hidrógenos metínicos H-8 y H-8', ubicadas en  $\delta$  1.89 ppm (1H, m) y  $\delta$  1.99 ppm (1H, m), respectivamente.

Además, resaltan los hidrógenos metileno distintos del grupo CH<sub>2</sub> en la posición 7: Un doble doblete en  $\delta$  2.44 ppm (1H, dd,  $J=16.6,7.8$  Hz), que corresponde al hidrógeno H-7b; otro doble doblete en  $\delta$  2.84 ppm (1H, dd,  $J=16.5,5.4$  Hz), que corresponde al hidrógeno H-7a. Estos hidrógenos muestran un fuerte acoplamiento geminal (de  $\sim 16.5$  Hz). También se distingue un doblete claro en  $\delta$  3.63 ppm (1H, d,  $J=6.01$  Hz), que pertenece al hidrógeno metínico H-7'. La señal de tipo singulete en  $\delta$  5.85 ppm se adjudica al metileno H-10 del grupo metilendioxi. Este valor de  $\delta$  en CDCl<sub>3</sub> es típico del puente dioxolano. Esta señal es característica de la molécula Lt8A. En la zona aromática, sobresalen dos singuletes que provienen de los hidrógenos de anillos bencénicos tetrasustituídos: Un singulete en  $\delta$  6.29 ppm (1H, s), que se asigna al hidrógeno H-6; otro singulete en  $\delta$  6.57 ppm (1H, s), que se asigna al hidrógeno H-3. Finalmente, se reconocen las señales de los hidrógenos del anillo aromático *para*-sustituído (H-2', H-6' y H-3', H-5'):

Un doblete en  $\delta$  6.88 ppm (2H, d,  $J=8.40$  Hz), que se atribuye a los hidrógenos H-2' y H-6'. Otro doblete en  $\delta$  6.71 ppm (2H, d,  $J=8.45$  Hz), que se atribuye a los hidrógenos H-3' y H-5'. Estos dobletes son indicativos de un sistema A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> en un anillo bencénico *para*-disustituído, donde la diferencia en el desplazamiento químico ( $\Delta\delta$ ) es pequeña.

## 5.10 Elucidación estructural de Lt8A por RMN $^{13}\text{C}$

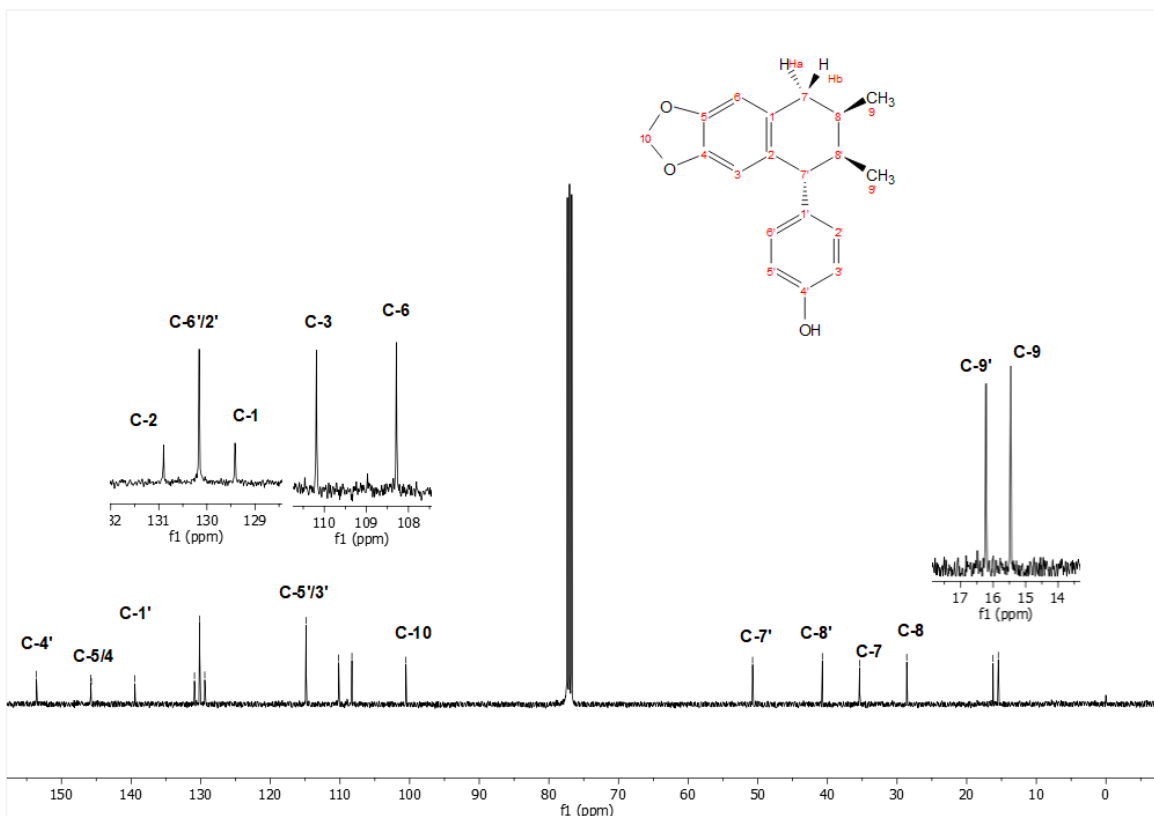


Figura 22. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto Lt8A (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

La Figura 22 muestra el espectro de del compuesto Lt8A, registrado en  $\text{CDCl}_3$ . El espectro exhibe 19 señales de carbono, las cuales coinciden con el número de carbonos de la fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_3$  del Lt8A. Estas señales se distribuyen en dos regiones principales:

La región alifática cuenta con 7 señales: en  $\delta$  15.6 ppm (C-9'),  $\delta$  16.4 ppm (C-9),  $\delta$  29.7 ppm (C-8'),  $\delta$  35.7 ppm (C-8),  $\delta$  50.6 ppm (C-7'),  $\delta$  100.8 ppm (C-10) y  $\delta$  37.0 ppm (C-7). Mientras tanto, la región aromática consta de 12 señales:  $\delta$  114.7 ppm (C-5', C-3'),  $\delta$  116.7 ppm (C-6),

$\delta$  117.8 ppm (C-3) y  $\delta$  130.4 ppm (C-2', C-6'),  $\delta$  128.5 ppm (C-1),  $\delta$  131.7 ppm (C-1')  $\delta$  133.7 ppm (C-2),  $\delta$  143.1 ppm (C-4'),  $\delta$  145.7 ppm (C-5), y  $\delta$  147.6 ppm (C-4).

## 5.11 Síntesis para la obtención del análogo Lt8AA



### FICHA DE DATOS

Versión 1.0

Fecha de revisión 27/10/2025

Fecha de impresión 28/10/2025

#### SECCIÓN 1. IDENTIFICACIÓN

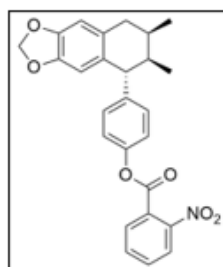


Figura 1. Lt8AA

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| <b>Nombre del producto</b>      | Lt8AA (Figura 1)  |
| <b>Descripción del producto</b> | ≥95% (RMN <sup>1</sup> H / RMN <sup>13</sup> C)   |
| <b>Marca del producto</b>       | FCQ-UANL  |
| <b>Formula molecular</b>        | C <sub>26</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>6</sub>   |
| <b>Nombre IUPAC</b>             | 4-((5R,6R,7R)-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il) fenil 2-nitrobenzoato |

#### 1.1 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

|                 |  |
|-----------------|--|
| <b>Compañía</b> | Universidad Autónoma de Nuevo León,<br>Facultad de Ciencias Químicas. División de<br>Estudios de Posgrado. Vicente Guerrero s/n,<br>Treviño, 64570 Monterrey, N.L. |
| <b>Teléfono</b> | +52 81 13 40 44 15   |

#### SECCIÓN 2. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>Aspecto</b>                     | Sólido / resina  |
| <b>Color</b>                       | Amarillo-transparente  |
| <b>Olor</b>                        | Sin datos disponibles  |
| <b>Solubilidad</b>                 | Acetato de etilo / cloroformo  |
| <b>pH</b>                          | Sin datos disponibles  |
| <b>Punto / intervalo de fusión</b> | 309.2 - 312.8 °F / 154 – 156 °C  |
| <b>Peso molecular</b>              | 445.15 g/mol   |
| <b>Log P</b>                       | 4.58   |
| <b>Estabilidad química</b>         | El producto es químicamente estable bajo<br>condiciones normales (a temperatura<br>ambiental). |
| <b>Materiales incompatibles</b>    | Metanol  |

#### SECCIÓN 3. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

##### Toxicidad aguda

Oral: Sin datos disponibles  
Inhalación: Sin datos disponibles  
Cutáneo: Sin datos disponibles

Por: Q.F.B. Juan Manuel Rodríguez Véliz

Revisó: Dra. María del Rayo Camacho

Figura 23. Ficha técnica de datos fisicoquímicos de Lt8AA

Se procedió a la semi-síntesis del análogo priorizado, el éster 3 (Lt8AA) seleccionado por los resultados de los estudios *in silico*. El Lt8AA se obtuvo mediante una reacción de esterificación en el grupo fenol con cloruro de 2-nitro-benzoilo. La metodología empleada sigue el esquema general reportado previamente por (Reyes-Melo et al., 2017) para la funcionalización de compuestos relacionados (derivados del ácido *meso*-dihidroguaiarético), lo que valida la estrategia sintética y la elección del agente acilante.

A pesar de la validación metodológica, en la reacción de esterificación se obtuvo un bajo rendimiento del 45% (9 mg obtenidos de 20 mg de Lt8A). Dado que la molécula Lt8A posee un único grupo OH fenólico, la baja eficiencia no se atribuye a problemas de selectividad, sino a dos factores principales relacionados con la naturaleza del esqueleto del lignano:

Impedimento Estérico: El grupo OH fenólico, aunque es el único sitio reactivo, se encuentra en un ambiente estéricamente impedido por las voluminosas porciones adyacentes de la estructura ariltetralínica. Esto dificulta el acceso del cloruro de 2-nitro-benzoilo al sitio de reacción, disminuyendo la velocidad y la eficiencia de la esterificación. Al igual que en el caso del Lt8A no se descarta la probabilidad de pérdidas en la purificación, resultado de las pérdidas inevitables durante la purificación por columna cromatográfica,

A pesar del bajo rendimiento, la obtención de 9 mg puros fue suficiente para iniciar la etapa de caracterización (RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , HRMS) Una vez confirmada su identidad, se procedió a la evaluación citotóxica *in vitro*.

## 5.12 Elucidación estructural de Lt8AA por RMN $^1\text{H}$

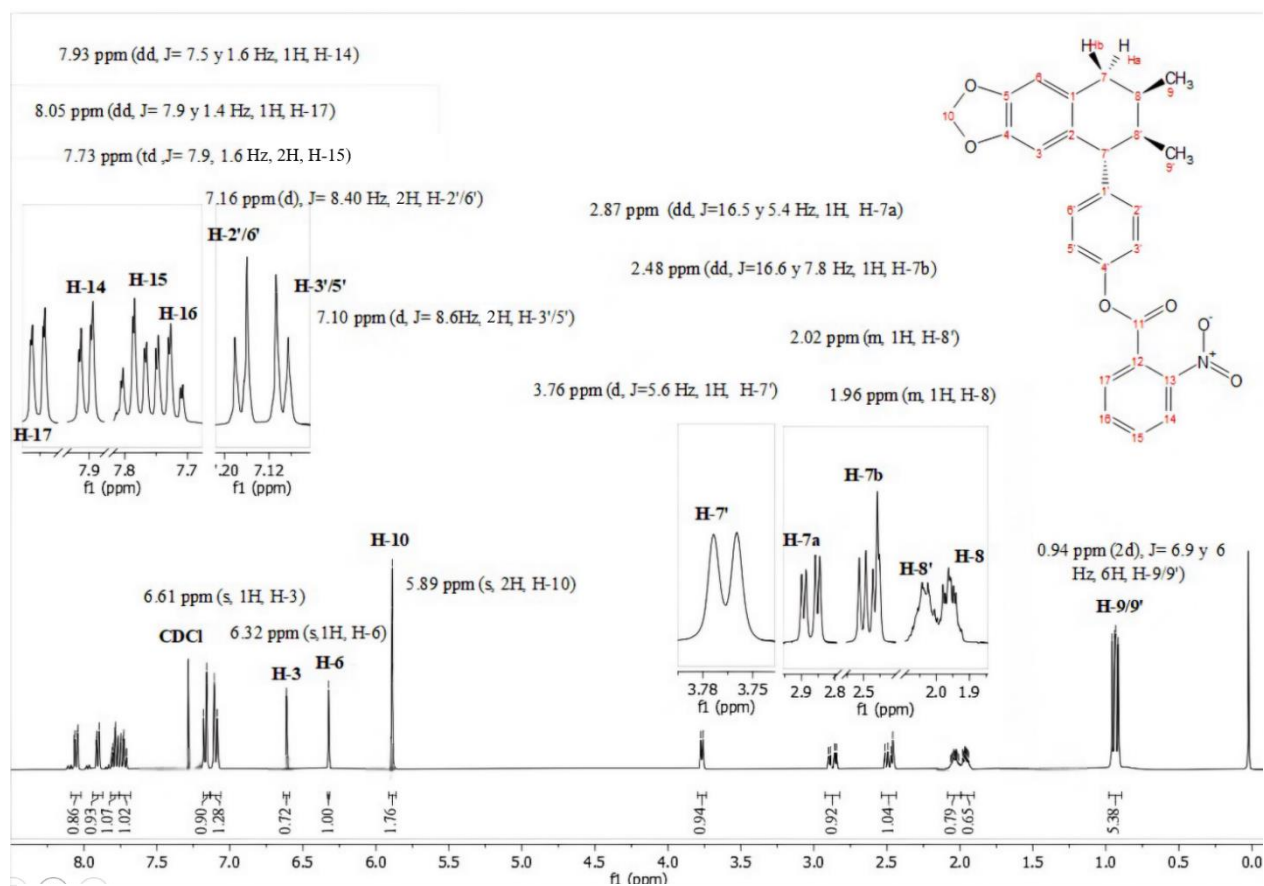


Figura 24. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto Lt8AA (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

La Figura 24 muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto Lt8AA en  $\text{CDCl}_3$ , donde se observan claramente las señales características tanto de la región alifática como de la aromática.

En la zona de campo más alto, alrededor de  $\delta$  0.94 ppm, aparece dos señales de doblete (6H, 2d,  $J=6$  y  $6.9$  Hz) correspondiente a los hidrógenos metilo H-9 y H-9'. Señales alusivas a

dos grupos metilo que se acoplan con sus respectivos protones metínicos vecinos., lo cual origina el patrón observado.

En la misma región alifática se distinguen las señales multipletes de los hidrógenos metínicos H-8 y H-8', localizados en  $\delta$  1.96 ppm y  $\delta$  2.02 ppm, respectivamente. La multiplicidad amplia de estas señales refleja el acoplamiento con los hidrógenos del metileno en C-7 y con los metilos geminales. El hidrógeno H-7b se observa como un doble doblete en  $\delta$  2.48 ppm (1H, dd, J = 16.6, 7.8 Hz), mientras que el hidrógeno H-7a aparece como doble doblete en  $\delta$  2.87 ppm (1H, dd, J = 16.5, 5.4 Hz). Por otra parte, el hidrógeno metínico H-7' aparece como un doblete en  $\delta$  3.76 ppm (1H, d, J = 5.6 Hz), cuyo acoplamiento con el resto del sistema alifático confirma la conectividad estructural asignada.

Una señal relevante aparece en la zona de campo medio que es el singulete correspondiente a los hidrógenos H-10, apreciable en  $\delta$  5.89 ppm, lo cual es típico de hidrógenos del grupo metilendioxi.

En la región aromática se observan dos singletes bien definidos: uno en  $\delta$  6.32 ppm, asignado al hidrógeno H-6, y otro en  $\delta$  6.61 ppm, correspondiente al hidrógeno H-3. Estos desplazamientos son característicos de anillos aromáticos tetrasustituídos, donde la ausencia de protones vecinos evita el acoplamiento y produce señales sin desdoblar.

Asimismo, se identifican los patrones típicos del sistema para-disustituido de un anillo aromático unido al carbono C-7'. Se observan dos dobletes: un doblete en  $\delta$  7.10 ppm (2H, d, J = 8.6 Hz) correspondiente a los hidrógenos H-3'/H-5', y otro doblete en  $\delta$  7.16 ppm (2H, d, J = 8.4 Hz) asignado a los hidrógenos H-2'/H-6'. La presencia de estos dos dobletes, con

constantes de acoplamiento casi idénticas, es indicativa de un sistema  $A_2B_2$ , característico de anillos bencénicos para-sustituídos.

Finalmente, en la región más desfasada hacia campo bajo, se observa el conjunto de señales aromáticas correspondientes al nitrobenzoato del sistema, entre  $\delta$  7.70–8.05 ppm, donde se identifican claramente cuatro hidrógenos a  $\delta$  8.05 ppm (dd,  $J = 7.9, 1.4$  Hz, H-17),  $\delta$  7.93 ppm (dd,  $J = 7.5, 1.6$  Hz, H-14),  $\delta$  7.73 ppm (td,  $J = 7.9, 1.6$  Hz, H-15), y  $\delta$  7.8 ppm (td,  $J = 7.9, 1.6$  Hz, H-16) de un anillo aromático orto-sustituído con grupos electroatrayentes.

### 5.13 Elucidación estructural de Lt8AA por RMN 13C

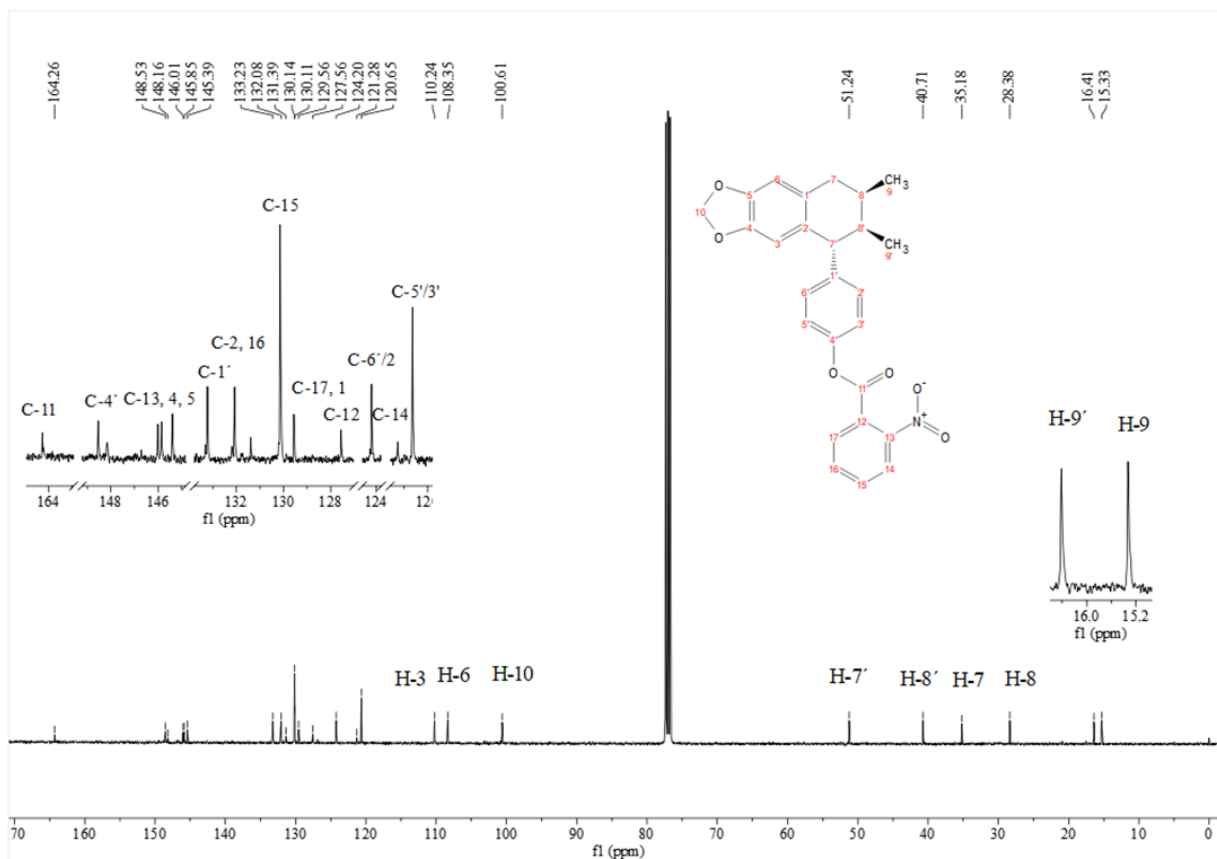


Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto Lt8AA (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

La Figura 25 muestra el espectro de del compuesto Lt8AA, obtenido en  $\text{CDCl}_3$ . El espectro exhibe 26 señales de carbono, las cuales coinciden con el número de carbonos de la fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{NO}_6$  del Lt8AA. Estas señales se distribuyen en dos regiones principales: En la región alifática, se observan las resonancias de los grupos metilo aparecen en  $\delta$  15.2 ppm (C-9') y  $\delta$  16.0 ppm (C-9), seguidas por las señales de los carbonos metínicos y metilénicos C-8', C-8, C-7 y C-7', visibles entre  $\delta$  28.3 y 51.2 ppm, valores típicos para carbonos en un entorno parcialmente desprotegido o adyacentes a heteroátomos. Asimismo,

el carbono del puente metilendioxi C-10 aparece claramente en  $\delta$  100.8 ppm, desplazamiento característico de este tipo de unidades estructurales en compuestos aromáticos sustituidos.

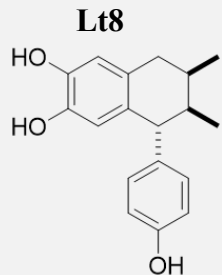
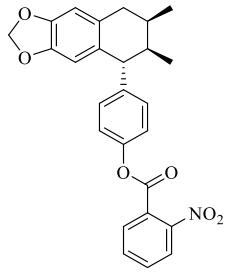
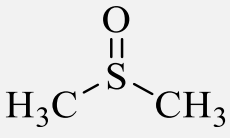
La región aromática y carbonílica concentra la mayor parte de las señales del espectro. Se distinguen resonancias entre  $\delta$  110 y 164 ppm, correspondientes a los carbonos protonados y no protonados de los dos anillos aromáticos presentes. Dentro de esta zona destacan: la señal en  $\delta$  164.3 ppm, asignada al carbono carbonílico C-11, las resonancias intensas entre  $\delta$  145–148 ppm, que corresponden a carbonos oxigenados del sistema aromático (C-4', C-13, C-4, C-5), las señales presentes entre  $\delta$  130 y 133 ppm, asignadas a los carbonos centrales del núcleo aromático (C-1, C-2, C-16, C-17, C-12), y las señales observadas alrededor de  $\delta$  124–128 ppm, que pertenecen a los carbonos del anillo aromático para-sustituido (C-5'/3', C-6'/2' y C-14).

En conjunto, la distribución de las resonancias en ambas regiones confirma la presencia de los tres sistemas aromáticos, el puente metilendioxi y la región alifática, por lo cual se pudiera considerar como evidencia espectroscópica consistente para la estructura propuesta del compuesto.

#### **5.14 Viabilidad celular de Lt8 y Lt8AA a 25 $\mu$ M**

Se determinó el porcentaje de viabilidad celular de los compuestos Lt8 y Lt8AA en 5 líneas celulares de cánceres humanos (cáncer de próstata (PC-3), cáncer de mama (MCF-7), cáncer colorrectal (HCT-15), cáncer de pulmón (SKLU-1) y glioblastoma (U251)) y una línea celular humana normal (HaCat) por técnica de cristal violeta a una concentración de 25  $\mu$ M después de un tratamiento por 48 horas. Los resultados se muestran como el promedio de muestras por triplicado y son representativos de tres experimentos independientes. El DMSO fue usado como control negativo y el etopósido como control positivo.

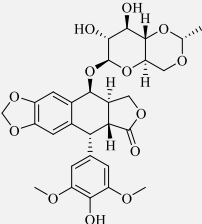
Tabla 12. Porcentajes de viabilidad de Lt8 y Lt8AA en 5 líneas celulares cancerígenas a 25  $\mu$ M

| Compuesto  | PC-3       | MCF-7      | HCT-15     | U251       | SKLU1        | HaCaT      |
|--|------------|------------|------------|------------|--------------|------------|
| <p><b>Lt8</b></p>     | 95.41      | 102.42     | 94.95      | 98.44      | 101.88       | 89.24      |
|  | $\pm 1.96$ | $\pm 6.24$ | $\pm 5.95$ | $\pm 4.16$ | $\pm 4.16$   | $\pm 2.53$ |
| <p><b>Lt8AA</b></p>  | 102.7      | 93.58      | 102.96     | 90.24      | <b>67.02</b> | 93.10      |
|  | $\pm 4.51$ | $\pm 2.66$ | $\pm 5.65$ | $\pm 4.68$ | $\pm 2.21$   | $\pm 5.88$ |
| <p><b>DMSO</b></p>  | 108.6      | 99.48      | 102.01     | 100.89     | 96.96        | 96.69      |
|  | $\pm 1.67$ | $\pm 4.07$ | $\pm 1.47$ | $\pm 2.23$ | $\pm 0.72$   | $\pm 1.94$ |

\*PC-3: Cáncer de próstata, MCF-7: Cáncer de mama, HCT-15: Cáncer colorrectal, U251: Glioblastoma, SKLU-1: Cáncer de pulmón y HaCaT: Línea celular normal.

Se determinó la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) de etopósido en las líneas celulares (PC-3, MCF-7, HCT-15, SKLU-1 y U251) y una línea celular humana normal (HaCat), después de 48 horas de tratamiento por la técnica de cristal violeta. Los resultados se muestran como el promedio de muestras por triplicado y son representativos de tres experimentos independientes.

Tabla 13. Determinación de la CI<sub>50</sub> de etopósido en células humanas en  $\mu\text{M}$ .

| Compuesto  | PC-3        | MCF-7         | HCT-15       | U251        | SKLU1         | HaCaT           |
|--|-------------|---------------|--------------|-------------|---------------|-----------------|
| <b>Etopósido</b><br> | 8.3<br>±1.5 | 52.68<br>±2.3 | 4.75<br>±0.5 | 1.7<br>±0.3 | 50.27<br>±6.0 | 57.68<br>± 2.01 |

\***PC-3**: Cáncer de próstata, **MCF-7**: Cáncer de mama, **HCT-15**: Cáncer colorrectal, **U251**: Glioblastoma, **SKLU-1**: Cáncer de pulmón y **HaCaT**: Línea celular normal.

Los resultados obtenidos en el ensayo de viabilidad celular muestran que el análogo Lt8AA evaluado presentó actividad citotóxica (67.02 %) a 25  $\mu\text{M}$  selectiva únicamente contra la línea celular de pulmón SKLU-1, mientras que en las otras cuatro líneas evaluadas no se observó inhibición significativa del crecimiento. Este comportamiento puede explicarse por las propiedades estructurales del compuesto y por factores dependientes del tipo celular.

La introducción del grupo nitroaromático tiene implicaciones importantes en la bioactividad ya que diversos autores han señalado que los grupos nitro funcionan como bioisómeros no

clásicos de grupos carboxilo, ciano o halógenos utilizados para optimizar la densidad electrónica del anillo y mejorar la lipofilidad del análogo, propiedades fisicoquímicas relevantes, también mejora la permeabilidad a membranas biológicas (Patani & Lavoie, 1996). Los compuestos nitroaromáticos pueden comportarse como profármacos redox, siendo reducidos por enzimas intracelulares como citocromo P450 reductasa, NQO1 o nitro-reductasas, generando especies más reactivas capaces de interactuar con blancos celulares o inducir estrés oxidativo (Abreu et al., 2024). Esta capacidad de ser bioactivados y su mayor tendencia a penetrar la membrana celular podrían explicar por qué el compuesto mostró actividad en una línea específica.

La actividad selectiva del Lt8AA en la línea SKLU-1 frente a la casi nula respuesta en el resto de las líneas celulares sugiere que la citotoxicidad no depende meramente de la presencia basal de nitro-reductasas, sino de la actividad enzimática relativa y del umbral de tolerancia redox de cada línea celular. Diversos estudios han documentado que las líneas de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), como la SKLU-1, presentan una sobreexpresión de la enzima NQO1 (NAD(P)H: quinona oxidoreductasa, significativamente mayor (hasta 100 veces superior) a la observada en otras líneas tumorales como la de próstata, lo que favorece una bioactivación más eficiente de compuestos nitroaromáticos y una mayor generación de especies reactivas intracelulares (Bey et al., 2007)

Asimismo, esta susceptibilidad diferencial puede atribuirse a la disparidad en los sistemas de detoxificación; mientras que líneas como PC-3 poseen niveles elevados de glutatión (GSH) y enzimas antioxidantes que neutralizan el estrés oxidativo derivado de la reducción del grupo nitro, las líneas celulares de pulmón suelen presentar una mayor susceptibilidad ante

el daño oxidativo provocado por agentes exógenos (Traverso et al., 2013). Finalmente, la convergencia entre la bioactivación del grupo nitro y la inhibición de dianas mitóticas como AURKA y PLK1 resulta crítica en SKLU-1, dada la marcada dependencia oncogénica de las células de pulmón hacia estos reguladores del ciclo celular para mantener la estabilidad genómica (Smith et al., 2005).

Adicionalmente, deben considerarse las limitaciones inherentes del método de cristal violeta. A comparación del ensayo de Metil Tiazolil Tetrazolio o bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). El cual depende de la actividad metabólica mitocondrial, por lo que moléculas que actúan mediante mecanismos tempranos, o que afectan rutas distintas a la mitocondrial, pueden mostrar actividad “aparente” reducida. Factores como la densidad celular, la estabilidad del compuesto, su solubilidad o la tasa metabólica de cada línea pueden contribuir a resultados poco representativos en determinadas condiciones (Riss et al., 2016). Esto implica que la ausencia de actividad en las otras líneas no necesariamente indica inactividad real, sino posiblemente un área de oportunidad debida al método.

Finalmente, es importante mencionar que los resultados *in vitro* deben interpretarse en conjunto con los estudios *in silico*, recordando que estos últimos son modelos predictivos. Las diferencias entre los valores teóricos y los obtenidos experimentalmente son comunes y se deben a que las simulaciones computacionales simplifican la complejidad del entorno celular real. Factores como dinámica proteica, microambiente, metabolismo diferencial, disponibilidad del ligando, presencia de isoformas enzimáticas y geometría real del sitio activo pueden generar discrepancias entre la afinidad estimada y la respuesta biológica real (Scior et al., 2009; Cavasotto, 2015). Por ello, la concordancia parcial entre los resultados

computacionales y experimentales es esperada, y subraya la necesidad de integrar ambos enfoques para obtener conclusiones más sólidas.

## CAPÍTULO 6

### CONCLUSIONES

1. El diseño *in silico* permitió identificar modificaciones estructurales viables en el lignano Lt8A y demostró que los análogos pueden optimizar propiedades farmacológicas relevantes. Esto confirma la utilidad de las herramientas computacionales como apoyo, pero no como sustituto de la validación experimental.
  
2. La síntesis y caracterización de Lt8AA evidenciaron que es posible modificar el núcleo ariltetralínico sin comprometer su estabilidad química, lo que abre la puerta al desarrollo de nuevos derivados semisintéticos.
  
3. La diferencia de actividad citotóxica observada exclusivamente en la línea SKLU-1 sugiere un posible mecanismo dependiente de metabolismo redox y la participación del grupo nitro como posible pro-fármaco. Este hallazgo proporciona una base para futuros estudios relacionados con el mecanismo de acción.
  
4. Las discrepancias entre las predicciones computacionales y la actividad *in vitro* enfatizan que los modelos *in silico* son aproximaciones predictivas que pueden variar en condiciones biológicas reales, por lo que deben integrarse con evidencia experimental.

5. En conjunto, los resultados obtenidos posicionan a Lt8AA como un candidato inicial con potencial para continuar su evaluación, especialmente mediante ensayos que permitan aclarar su mecanismo de acción y su selectividad hacia células pulmonares.
  
6. A pesar de la selectividad de Lt8AA hacia la línea SKLU-1, su potencia citotóxica es inferior a la del estándar etopósido, por lo que la hipótesis del proyecto se rechaza. El análogo no alcanzó la actividad biológica comparable requerida.

## PERSPECTIVAS

1. Completar la síntesis de los 3 análogos restantes propuestos *in silico* (Fosfato 4, Éster 1 y Éster 5).
2. Evaluar Lt8A, Lt8AA y los análogos mediante curvas dosis–respuesta y técnicas como MTT para obtener IC<sub>50</sub> y comparar potencia.
3. Confirmar la expresión de proteínas predichas por farmacología de redes mediante Western blot.
4. Verificar el mecanismo propuesto evaluando Lt8A y sus análogos para determinar:
  - si el grupo nitro se reduce y genera ROS.
  - si el anillo aromático inferior aumenta la lipofilicidad y captación celular.
  - si el grupo éster es hidrolizado por esterasas liberando Lt8A.

5. Si algún compuesto muestra actividad firme *in vitro*, avanzar hacia estudios *in vivo* preliminares.

## CAPÍTULO 7

### REFERENCIAS

- Abreu, S. T., Gelves, L. G. V., Barreiro, E. J., & Lima, L. M. (2024). Revisiting Nitroaromatic Drugs: Mechanisms of Bioactivation, Metabolism and Toxicity and Methods to Synthesize Nitroaromatic Fragments. In *Journal of the Brazilian Chemical Society* (Vol. 35, Number 10). Sociedade Brasileira de Quimica. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20240071>
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezeh, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I., & Aja, P. M. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, *13*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
- Aguilera-Durán, G., & Romo-Mancillas, A. (2021). Behavior of chemokine receptor 6 (Cxcr6) in complex with cxcl16 soluble form chemokine by molecular dynamic simulations: General protein-ligand interaction model and 3d-qsar studies of synthetic antagonists. *Life*, *11*(4). <https://doi.org/10.3390/life11040346>
- Ashraf, H., Dilshad, E., Afsar, T., Almajwal, A., Shafique, H., & Razak, S. (2023). Molecular Screening of Bioactive Compounds of Garlic for Therapeutic Effects against COVID-19. *Biomedicines*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020643>
- Assunção, H. C., Silva, P. M. A., Bousbaa, H., & Cidade, H. (2025). Recent Advances in Microtubule Targeting Agents for Cancer Therapy. In *Molecules* (Vol. 30, Number 16).

- Bey, E. A., Bentle, M. S., Reinicke, K. E., Dong, Y., Yang, C.-R., Girard, L., Minna, J. D., Bornmann, W. G., Gao, J., & Boothman, D. A. (2007). *An NQO1-and PARP-1-mediated cell death pathway induced in non-small-cell lung cancer cells by-lapachone*. [www.pnas.org/cgi/content/full/](http://www.pnas.org/cgi/content/full/)
- Bondarev, A. D., Jonsson, J., Chubarev, V. N., Tarasov, V. V., Lagunas-Rangel, F. A., & Schiöth, H. B. (2024a). Recent developments of topoisomerase inhibitors: Clinical trials, emerging indications, novel molecules and global sales. In *Pharmacological Research* (Vol. 209). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107431>
- Bondarev, A. D., Jonsson, J., Chubarev, V. N., Tarasov, V. V., Lagunas-Rangel, F. A., & Schiöth, H. B. (2024b). Recent developments of topoisomerase inhibitors: Clinical trials, emerging indications, novel molecules and global sales. In *Pharmacological Research* (Vol. 209). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107431>
- Castillo-González Erika Leticia, Camacho-Corona María del Rayo, & García-Zepeda Edgar Abraham. (2020). *Semisíntesis y evaluación citotóxica de ariltetralinas C (4)-funcionalizadas a partir de 3'-desmetoxi-6-O-desmetil isoguaiacina*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Cavasotto, C. N. (2015). *In silico drug discovery and design: theory, methods, challenges, and applications*.

- Cortese, F., Bhattacharyya, B., & Wolff, J. (1977). Podophyllotoxin as a Probe for the Colchicine Binding Site of Tubulin. In *Biomimetic Chemistry* (Vol. 252, Number 4).
- Cragg, G. M., Kingston, D. G. I., & Newman, D. J. (2011). *Anticancer agents from natural products anticancer agents from natural products Second Edition*. <https://doi.org/10.1201/b11185>
- Elgemeie, G. H., & Mohamed-Ezzat, R. A. (2022). Natural products in chemotherapy of cancers. *New Strategies Targeting Cancer Metabolism*, 507–546. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821783-2.00009-1>
- Favela-Hernández, J. M. J., Clemente-Soto, A. F., Balderas-Rentería, I., Garza-González, E., & Camacho-Corona, M. D. R. (2015). Potential mechanism of action of 3'-demethoxy-6-O-demethylisoguaiacin on methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 20(7), 12450–12458. <https://doi.org/10.3390/molecules200712450>
- Favela-Hernández, J. M. J., García, A., Garza-González, E., Rivas-Galindo, V. M., & Camacho-Corona, M. R. (2012). Antibacterial and antimycobacterial lignans and flavonoids from *Larrea tridentata*. *Phytotherapy Research*, 26(12), 1957–1960. <https://doi.org/10.1002/ptr.4660>
- Gascoigne, K. E., & Taylor, S. S. (2008). Cancer Cells Display Profound Intra- and Interline Variation following Prolonged Exposure to Antimitotic Drugs. *Cancer Cell*, 14(2), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.07.002>

- Giordano, D., Biancaniello, C., Argenio, M. A., & Facchiano, A. (2022). Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach. In *Pharmaceuticals* (Vol. 15, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ph15050646>
- Global Cancer Observatory. (2022). *Globocan*. MEXICO. <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/484-mexico-factsheet.pdf>
- Gonzalez-Llerena, J. L., Treviño-Almaguer, D., Leal-Mendez, J. A., Garcia-Valdez, G., Balderas-Moreno, A. G., Heya, M. S., Balderas-Renteria, I., Camacho-Corona, M. del R., & Espinosa-Rodriguez, B. A. (2025). The Cordyceps Genus as a Potential Source of Bioactive Compounds for Adjuvant Cancer Therapy: A Network Pharmacology Approach. *Pharmaceuticals*, 18(5). <https://doi.org/10.3390/ph18050667>
- Guo, M., Jin, J., Zhao, D., Rong, Z., Cao, L. Q., Li, A. H., Sun, X. Y., Jia, L. Y., Wang, Y. Di, Huang, L., Li, Y. H., He, Z. J., Li, L., Ma, R. K., Lv, Y. F., Shao, K. K., & Cao, H. L. (2022). Research Advances on Anti-Cancer Natural Products. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.866154>
- INEGI. (2024, February 2). *INEGI*. Estadísticas a Propósito Del Día Mundial Contra El Cáncer. [https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP\\_CANCER24.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2024/EAP_CANCER24.pdf)
- Ingrand, I., Defossez, G., Lafay-Chebassier, C., Chavant, F., Ferru, A., Ingrand, P., & Pérault-Pochat, M. C. (2020). Serious adverse effects occurring after chemotherapy: A general

- cancer registry-based incidence survey. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 86(4), 711–722. <https://doi.org/10.1111/bcp.14159>
- Joan R. Lladós. (2020). *Diagnóstico del cáncer*.
- Kang, Y. J., Pan, L., Liu, Y., Rong, Z., Liu, J., & Liu, F. (2025). GEPIA3: Enhanced drug sensitivity and interaction network analysis for cancer research. *Nucleic Acids Research*, 53(W1), W283–W290. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf423>
- Liu, Y. Q., Tian, J., Qian, K., Zhao, X. B., Morris-Natschke, S. L., Yang, L., Nan, X., Tian, X., & Lee, K. H. (2015). Recent Progress on C-4-Modified Podophyllotoxin Analogs as Potent Antitumor Agents. *Medicinal Research Reviews*, 35(1), 1–62. <https://doi.org/10.1002/med.21319>
- Ma, Y., Fang, S., Li, H., Han, C., Lu, Y., Zhao, Y., Liu, Y., & Zhao, C. (2013). Biological evaluation and molecular modelling study of podophyllotoxin derivatives as potent inhibitors of tubulin polymerization. *Chemical Biology and Drug Design*, 82(1), 12–21. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12130>
- Matias-Barrios, V. M., Radaeva, M., Song, Y., Alperstein, Z., Lee, A. R., Schmitt, V., Lee, J., Ban, F., Xie, N., Qi, J., Lallous, N., Gleave, M. E., Cherkasov, A., & Dong, X. (2021). Discovery of New Catalytic Topoisomerase II Inhibitors for Anticancer Therapeutics. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.633142>
- Montecinos, F., & Sackett, D. L. (2023). Structural Changes, Biological Consequences, and Repurposing of Colchicine Site Ligands. In *Biomolecules* (Vol. 13, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom13050834>

- Morales-Ubaldo, A. L., Rivero-Perez, N., Valladares-Carranza, B., Madariaga-Navarrete, A., Higuera-Piedrahita, R. I., Delgadillo-Ruiz, L., Bañuelos-Valenzuela, R., & Zaragoza-Bastida, A. (2022). Phytochemical Compounds and Pharmacological Properties of *Larrea tridentata*. In *Molecules* (Vol. 27, Number 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27175393>
- Motyka, S., Jaferník, K., Ekiert, H., Sharifi-Rad, J., Calina, D., Al-Omari, B., Szopa, A., & Cho, W. C. (2023). Podophyllotoxin and its derivatives: Potential anticancer agents of natural origin in cancer chemotherapy. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 158). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.114145>
- OMS. (2022, February 22). *Organización Mundial de la Salud*. Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- OPS. (2021, February 4). *Día Mundial contra el Cáncer 2021: Yo Soy y voy a*. OPS. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contra-cancer-2021-yo-soy-voyn#:~:text=A%20nivel%20mundial%2C%20se%20estima,las%20personas%20y%20a%20las%20comunidades>.
- OPS. (2022). *Cáncer*. OPS. <https://www.paho.org/es/temas/cancer>
- Patani, G. A., & Lavoie, E. J. (1996). *Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design*. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Number 18). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>

- Pires, D. E. V., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
- Reyes-Melo, K., García, A., Romo-Mancillas, A., Garza-González, E., Rivas-Galindo, V. M., Miranda, L. D., Vargas-Villarreal, J., Favela-Hernández, J. M. J., & Camacho-Corona, M. del R. (2017). meso-Dihydroguaiaretic acid derivatives with antibacterial and antimycobacterial activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(20), 5247–5259.  
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.07.047>
- Riss, T. L., Moravec, R. A., & Niles, A. L. (2016). Cell Viability Assays. In *Cell Viability Assays*.
- Rudd, S. G. (2023). Targeting pan-essential pathways in cancer with cytotoxic chemotherapy: challenges and opportunities. In *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* (Vol. 92, Number 4, pp. 241–251). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.  
<https://doi.org/10.1007/s00280-023-04562-3>
- Scior, T., Medina-Franco, J. L., Do, Q.-T., Martínez-Mayorga, K., Rojas, J. A. Y., & Bernard, P. (2009). How to Recognize and Workaround Pitfalls in QSAR Studies: A Critical Review. In *Current Medicinal Chemistry* (Vol. 16).
- Smith, S. L., Bowers, N. L., Betticher, D. C., Gautschi, O., Ratschiller, D., Hoban, P. R., Booton, R., Santibáñez-Koref, M. F., & Heighway, J. (2005). Overexpression of aurora B kinase (AURKB) in primary non-small cell lung carcinoma is frequent, generally

driven from one allele, and correlates with the level of genetic instability. *British Journal of Cancer*, 93(6), 719–729. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602779>

Traverso, N., Ricciarelli, R., Nitti, M., Marengo, B., Furfaro, A. L., Pronzato, M. A., Marinari, U. M., & Domenicotti, C. (2013). Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2013/972913>

Wang, X., Zhang, H., & Chen, X. (2019). Drug resistance and combating drug resistance in cancer. In *Cancer Drug Resistance* (Vol. 2, Number 2, pp. 141–160). OAE Publishing Inc. <https://doi.org/10.20517/cdr.2019.10>

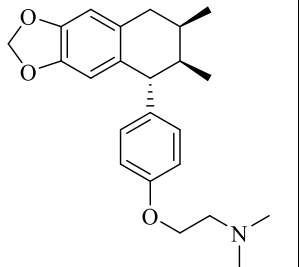
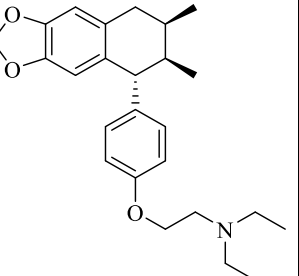
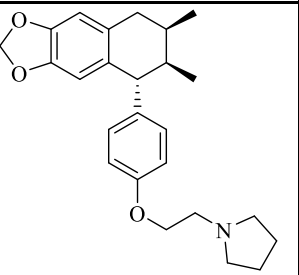
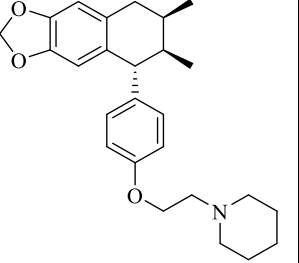
Weininger, D. (1988). SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences.*, 28(1), 31–36.

Yin, T., Wang, H., & Zou, Y. (2025). Application of network pharmacology, bioinformatics, computational molecular docking, and experimental validation to study the anticancer effects of oleanolic acid in oral squamous carcinoma cells. *Acta Pharmaceutica*, 75(1), 41–68. <https://doi.org/10.2478/acph-2025-0005>

Zelle, R. E., & McClellan, W. J. (1991). A Simple, High-Yielding Method for the Methylenation of Catechols. In *Tcmhedmn Lemrs* (Vol. 32, Number 22).

## APENDICE

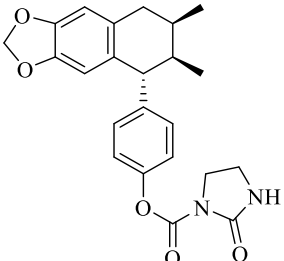
Análogos de Lt8A de grupo funcional aminoéter.

| Nombre interno | Estructura química  | Nombre IUPAC  |
|----------------|---|---|
| Aminoéter 1    |    | 2-(4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenoxi)- <i>N,N</i> -dimetiletan-1-amina |
| Aminoéter 2    |   | 2-(4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenoxi)- <i>N,N</i> -dietiletan-1-amina  |
| Aminoéter 3    |  | 1-(2-(4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenoxi)etil)pirrolidina               |
| Aminoéter 4    |  | 1-(2-(4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenoxi)etil)piperidina                |

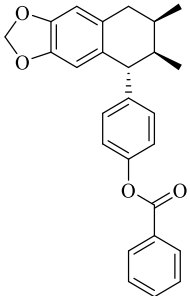
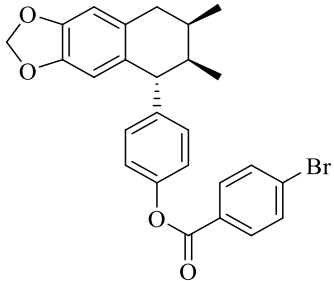
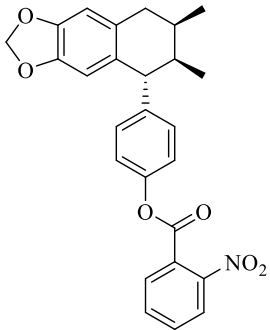
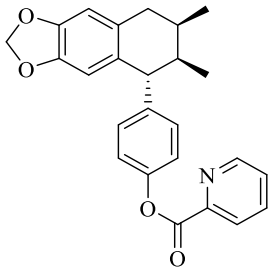
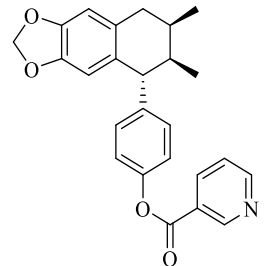
| Nombre interno | Estructura química | Nombre IUPAC  |
|----------------|--------------------|---|
| Aminoéter 5    |                    | 4-(2-(4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenoxi)etil)morfolina |

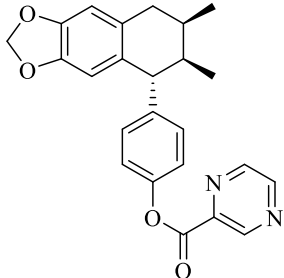
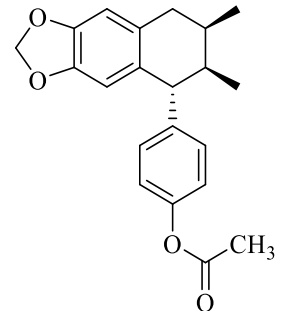
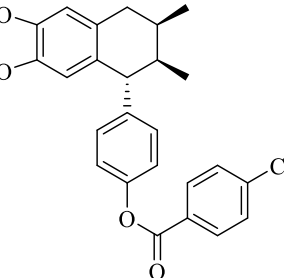
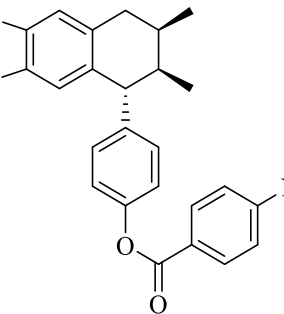
Análogos de Lt8A de grupo funcional carbamato.

| Nombre interno | Estructura química | Nombre IUPAC   |
|----------------|--------------------|--|
| Carbamato 1    |                    | dietilcarbamato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo          |
| Carbamato 2    |                    | pirrolidin-1-carboxilato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Carbamato 3    |                    | piperidina-1-carboxilato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Carbamato 4    |                    | morfolina-4-carboxilato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo  |

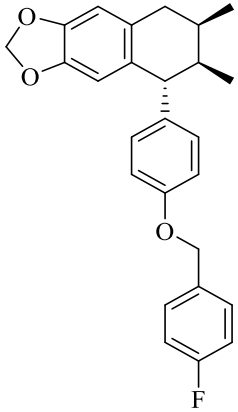
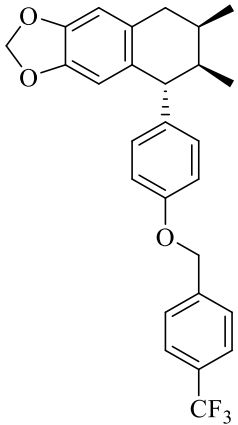
| Nombre interno | Estructura química  | Nombre IUPAC   |
|----------------|---|--|
| Carbamato 5    |  | 2-oxoimidazolidina-1-carboxilato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |

Análogos de Lt8A de grupo funcional éster.

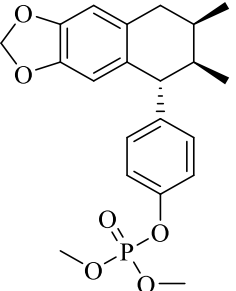
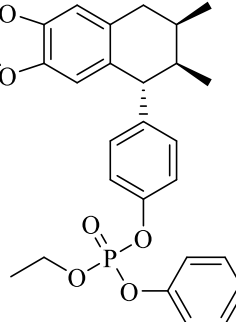
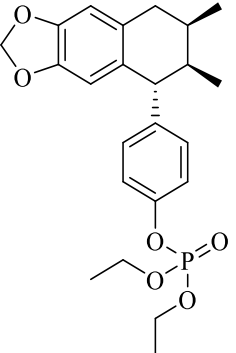
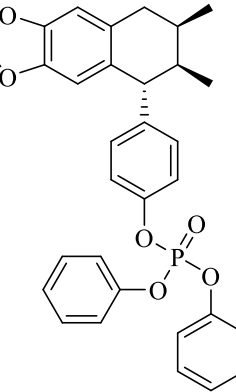
| Nombre interno | Estructura química  | Nombre IUPAC  |
|----------------|---|---|
| Éster 1        |    | benzoato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo        |
| Éster 2        |    | 4-bromobenzoato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Éster 3        |   | 2-nitrobenzoato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Éster 4        |  | picolinato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo      |
| Éster 5        |  | nicotinato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo      |

| Nombre interno | Estructura química  | Nombre IUPAC   |
|----------------|---|--|
| Éster 6        |    | pirazina-2-carboxilato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo     |
| Éster 7        |    | acetato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo                    |
| Éster 8        |   | 4-(trifluorometil)benzoato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Éster 9        |  | 4-(dimetilamino)benzoato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo   |

Análogos de Lt8A de grupo funcional éter.

| Nombre interno | Estructura química   | Nombre IUPAC   |
|----------------|--|--|
| Éter 1         |   | (5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-5-(4-((4-fluorobencil)oxi)fenil)-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol           |
| Éter 2         |  | (5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5-(4-((4-(trifluorometil)bencil)oxi)fenil)-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol |

Análogos de Lt8A de grupo funcional fosfato.

| Nombre interno | Estructura química  | Nombre IUPAC   |
|----------------|---|--|
| Fosfato 1      |    | dimetilfosfato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo). |
| Fosfato 2      |   | etilfenilfosfato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo |
| Fosfato 3      |  | dietilfosfato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo    |
| Fosfato 4      |  | difenilfosfato de 4-((5 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> )-6,7-dimetil-5,6,7,8-tetrahidronafto[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)fenilo   |

## APENDICE 2



El Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.,  
la Universidad Autónoma de Yucatán y el Instituto Mexicano del Seguro Social  
otorga la presente

# CONSTANCIA

a

**Juan Manuel Rodríguez Véliz, Rubén Antonio Romo  
Mancillas, Katia Lisset Castro Benitez,  
María del Rayo Camacho Corona**

por su valiosa participación en la modalidad CARTEL con el trabajo Q5E-020:  
«Diseño in silico de análogos de Lt&A como agentes promisorios  
contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y células cancerosas»,  
durante la 20.<sup>a</sup> Reunión Internacional de Investigación  
en Productos Naturales, Dr. Luis M. Peña Rodríguez,  
realizada del 21 al 24 de mayo de 2025.

Mérida, Yucatán, México.

Dr. Sergio R. Peraza Sánchez  
Presidente del Comité Organizador Local

Dra. Verónica Mayela Rivas Galindo  
Presidente de la Amipronat

