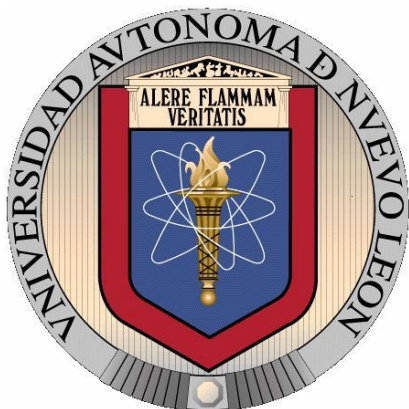


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS DEL BELINOSTAT,
ANÁLISIS *IN SILICO* Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA Y
CITOTÓXICA *IN VITRO*

POR

B.E LEONARDO ADOLFO HEREDIA NÚÑEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN FARMACIA

2026

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS DEL BELINOSTAT,
ANÁLISIS *IN SILICO* Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA Y
CITOTÓXICA *IN VITRO*

Aprobación de la Tesis:

Dr. Francisco Guadalupe Ávalos Alanís
Director de Tesis

Dr. Eder Ubaldo Arredondo Espinoza
Co-Director de Tesis

Dra. María del Rayo Camacho Corona
Comité Tutorial

Dr. Eugenio Hernández Fernández
Comité Tutorial

Dra. María del Rosario Gonzalez Gonzalez
Comité Tutorial

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

RESUMEN

B.E Leonardo Adolfo Heredia Núñez.

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

**Fecha de
graduación:**

2026

Título del estudio: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS DEL BELINOSTAT, ANÁLISIS *IN SILICO* Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA Y CITOTÓXICA *IN VITRO*

Número de páginas: 81

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

Área de estudio: Farmacia

Propósito y Método de Estudio: Se centró en el diseño, síntesis y evaluación biológica de derivados relacionados con Belinostat como posibles inhibidores de HDAC con actividad antitumoral. Para ello, se modificaron regiones farmacofóricas clave como el CAP, el linker y el ZBG mediante un enfoque de multi-parameter hit expansion, con el fin de explorar tendencias preliminares SAR. Algunos compuestos fueron diseñados como ésteres con posible función de profármacos. La actividad se evaluó en líneas celulares cancerosas y se complementó con estudios de docking molecular para analizar la coordinación con Zn^{2+} , la orientación en el canal catalítico y las interacciones del CAP. En conjunto, el estudio permitió establecer bases racionales para la futura optimización de nuevos inhibidores de HDAC derivados de Belinostat.

Contribuciones y Conclusiones: Permitió establecer una base inicial para el diseño, síntesis y evaluación de derivados estructuralmente relacionados con Belinostat como posibles inhibidores de HDAC con actividad antitumoral. Aunque los derivados no superaron la potencia citotóxica del Belinostat, algunos mostraron selectividad hacia líneas cancerosas como A549 y PC-3 frente a células Vero, lo que sugiere un perfil biológico de interés. Además, los estudios de docking molecular permitieron relacionar la actividad observada con posibles interacciones en el sitio activo de HDAC, incluyendo la orientación del linker, la interacción del CAP y la posible coordinación con Zn^{2+} .

Firma del asesor:_____

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 No. de Folio: FARMC-105526-FGAA-23/07.

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación.

Por la beca de manutención otorgada (CVU1266923) durante este proyecto de investigación.



Dr. Francisco Guadalupe Ávalos Alanís

Agradezco sinceramente su orientación, paciencia y las revisiones minuciosas que realizó durante el desarrollo de este trabajo. Su guía fue esencial para mantener el enfoque metodológico, fortalecer la estructura académica y avanzar con rigor en cada etapa del proyecto. Más allá de su dirección profesional, valoro profundamente el vínculo de amistad que construimos a lo largo de este camino difícil, en el que hubo retos y momentos de incertidumbre, pero también aprendizaje, apoyo y perseverancia. Gracias a su acompañamiento logramos alcanzar el objetivo y concluir exitosamente este proyecto.



Dr. Eder Ubaldo Arredondo Espinoza

Agradezco profundamente el invaluable apoyo provisto durante todo este proyecto, así como el tiempo, la paciencia y la dedicación con que revisó mis presentaciones y avances de tesis. Sus observaciones y guía no solo fortalecieron la calidad académica de esta investigación, sino que también fueron un impulso fundamental en los momentos más difíciles. Gracias a

su dirección, confianza y acompañamiento, encontré la motivación para no rendirme y continuar hasta lograr la culminación exitosa de este trabajo.



Dr. José Luis Viveros Ceballos

Le extiendo una gran admiración y agradecimiento ya que dejó una enseñanza significativa en mi formación. Gracias a su ejemplo comprendí que la ciencia puede ser compleja, exigente y desafiante, pero también profundamente bella e inspiradora. Su manera de compartir el conocimiento me permitió ver que dentro del ámbito académico no solo existen grandes profesionales, sino también buenos seres humanos, capaces de enseñar con vocación, humildad y sensibilidad.



A los miembros de mi jurado: Dra. María del Rayo Camacho Corona, Dr. Eugenio Hernández Fernández, Dra. María del Rosario Gonzalez Gonzalez, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus valiosas observaciones para su mejora, además del acompañamiento continuo y motivación durante todo el proceso.

En este momento quiero agradecer a Dios por no soltarme en los momentos en los que me sentí perdido, en el que sentí que la ciencia no era para mí o que yo no era para la ciencia, donde pensaba que no era suficiente porque nada salía bien, donde no comprendía que sucedía o los experimentos simplemente no daban los resultados que buscaba, a esas noches de ansiedad y desesperación que parecían no tener fin, en esos momentos Dios siempre puso las personas adecuadas en cada momento de mi vida que con una frase o una palabra como si me contestara a todo lo que dudé una noche antes; agradezco al universo por enseñarme

tanto profesionalmente y personalmente, en definitiva puedo decir que he aprendido durante todo este proceso y que soy una persona muy diferente a la que inició.

Quiero agradecer profundamente a mi madre por apoyarme incondicionalmente, por impulsarme, escucharme y hacerme fuerte en cada instante para volver a creer en mí. Le agradezco a mi padre por no permitirme rendirme y mostrarme con su ejemplo que con trabajo y constancia todo es posible. Le agradezco a mi hermana por sus palabras de aliento y por siempre estar para mí.

El mencionar a todas las personas que lograron que esto fuera posible es casi imposible ya que contribuyeron de forma profesional como personal en muchos aspectos así que si llego a omitir a alguno no lo tomen a mal su presencia está en mi corazón; como primer punto me gustaría agradecer a el Dr. Gustavo Ruiz con el que logré forjar una gran amistad y adquirí gran conocimiento, también agradezco a mis profesores de “diario” el Dr. Israel Benítez, a la Maestra Sindy que tuvieron la paciencia de mostrarme la belleza de la síntesis y la forma correcta de estudiarla.

A la Dra. Yolanda Ríos por enseñar las técnicas analíticas a un biólogo que no comprendía nada pero que poco a poco mi entendimiento cambió y me hice gran amante de esta área.

A mis compañeros de los laboratorios 203, 205 CIQ- UAEM quienes me acompañaron durante mi estancia de investigación y siempre hicieron más ameno el tiempo en el laboratorio.

A mis amigos que como yo festejamos, lloramos, nos estresamos y aprendimos durante este proceso Hector Guevara, Gustavo Saucedo, Evelin Butanda; hoy los veo con orgullo y admiración por haber culminado este mismo camino. Le agradezco a la Maestra Mitzi Bernal por su apoyo, su ejemplo y por haber marcado mi vida de una manera tan positiva e invaluable.

A la Q.B.P Jocelyn Mayret que desde el día uno en el posgrado hicimos una gran amistad para poder llegar a finalizar esto, haciendo tareas, proyectos, estudiando para exámenes, haciendo revisiones de nuestros proyectos y minipresentaciones.

Agradezco a mis compañeros del laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica: Michelle, Carlitos, Marbella, Paola, Andrea y Aldo donde se logró una profunda amistad y que cada día que iba en camino al laboratorio al pensar en ellos sabía con la sinceridad de mi corazón que sería un buen día, que iba a aprender pero que también iba a ser muy feliz.

Agradezco a los chicos de servicio social que me apoyaron y aprendimos juntos Tania, Mariana, Gael, Olivetto, Keyel.

Al personal administrativo, de limpieza y de seguridad donde siempre estuvieron a la disposición de trabajar en equipo, eficientar los procesos o simplemente platicar de nuestras vidas.

Agradezco a mis grupos de amigos de buceo, baile, alpinismo, ciclismo, boxeo y natación que aunque ellos no lo supieran sus palabras de aliento y sus propuestas a nuevos planes me mantuvieron cuerdo, feliz y amado durante todo esto.

Tabla de contenido

AGRADECIMIENTOS	IV
LISTA DE ECUACIONES	X
LISTA DE FIGURA	X
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE ESQUEMAS.....	XI
CAPÍTULO I	1
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 CÁNCER.....	1
1.2 DATOS DE CÁNCER	3
CAPÍTULO II.....	4
ANTECEDENTES	4
2 QUIMIOTERAPIA	4
2.1 Clasificación de fármacos quimioterapéuticos	4
2.2 Terapia epigenética.....	5
2.1.1 Acetilación/desacetilación	6
2.1.2 Isoformas de HDAC implicadas en el cáncer.	8
2.2 Inhibidores de HDAC.....	10
2.2.1 Fármacos disponibles en el mercado	10
2.2.2 Diseño molecular y selectividad.....	13
CAPÍTULO III	19
3.1 HIPÓTESIS.....	19
3.2 OBJETIVOS	19
3.2.1 Objetivo general.....	19
3.2.2Objetivos específicos.....	20
CAPÍTULO IV	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
4.1 UBICACIÓN	21
4.2 SÍNTESIS ORGÁNICA.....	21
4.2.1 Información en general.....	21
4.2.2 Descripción de ruta.....	22
4.2.3 Preparación experimental	23
4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida.....	23
Metil (2-bromoacetil)-L-serinato	24
Fenilglicinato de etilo.....	25
N-((4-metoxifenil)sulfonyl)-N-fenilglicinato de etilo.....	25
4.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS	27
4.3.1 Preparación de las líneas celulares	27
4.3.2 Conteo celular	27
4.3.3 Técnica MTT	27
4.4 DISEÑO <i>IN SILICO</i>	29
4.5 DISPOSICIÓN DE RESIDUOS.....	30
CAPÍTULO V	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida	33

<i>Metil (2-bromoacetil)-L-serinato</i>	<i>37</i>
<i>Fenilglicinato de etilo</i>	<i>40</i>
<i>N-((4-metoxifenil)sulfonil)-N-fenilglicinato de etilo</i>	<i>43</i>
<i>N-(4-metoxifenil)-N-((4-metoxifenil)sulfonil)glicilserinato de metilo.</i>	<i>46</i>
CAPÍTULO VI	62
CONCLUSIONES	62
CAPÍTULO VII	63
PERSPECTIVAS	63
BIBLIOGRAFÍA	64
DIVULGACIÓN.....	68
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....	69

Lista de ecuaciones

<i>Ecuación 1. Cálculo de viabilidad.....</i>	<i>28</i>
<i>Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de citotoxicidad celular.</i>	<i>28</i>
<i>Ecuación 3. Cálculo del IC₅₀.....</i>	<i>29</i>
<i>Ecuación 4. Índice de Selectividad</i>	<i>29</i>

Lista de figura

<i>Figura 1. Mecanismo de regulación de la transcripción llevada a cabo por la HAT (Histona Acetil-Transferasa) y HDAC (Histona Desacetilasa) con la ARN P II (ARN polimerasa II) [22].</i>	<i>7</i>
<i>Figura 2. Implicaciones de HDAC en cáncer; adaptada de [25].</i>	<i>8</i>
<i>Figura 3. Partes estructurales del bolsillo de HDAC y del farmacóforo. Adaptado de [47].</i>	<i>15</i>
<i>Figura 4. Compuesto 7e [46].</i>	<i>17</i>
<i>Figura 5. Compuesto final desarrollado por Kim et al. [47].</i>	<i>18</i>
<i>Figura 6. Compuesto 6b ASF.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 7. Compuesto 3.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 8. Compuesto 10a AE1.</i>	<i>25</i>
<i>Figura 9. Compuesto 8a ASN.</i>	<i>26</i>
<i>Figura 10. Compuesto 7b ASHY.</i>	<i>26</i>
<i>Figura 11. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), 4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida.</i>	<i>35</i>
<i>Figura 12. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) 4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida.</i>	<i>36</i>
<i>Figura 13. RMN ¹H (500 MHz, MeOD) metil (2-bromoacetil)-L-serinato.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 14. RMN ¹³C (126 MHz, MeOD) metil (2-bromoacetil)-L-serinato.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 15. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) fenilglicinato de etilo.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 16. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) fenilglicinato de etilo.</i>	<i>42</i>
<i>Figura 17. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) N-((4-metoxifenil)sulfonyl)-N-fenilglicinato de etilo.</i>	<i>44</i>
<i>Figura 18. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) N-((4-metoxifenil)sulfonyl)-N-fenilglicinato de etilo.</i>	<i>45</i>
<i>Figura 19. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) N-(4-metoxifenil)-N-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo.</i>	<i>47</i>
<i>Figura 20. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) N-(4-metoxifenil)-N-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo.</i>	<i>48</i>
<i>Figura 21. Moléculas objetivo finales.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 22. Diagrama de Interacción Molecular 2D de N-(4-metoxifenil)-N-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo (ASHY) con el sitio de la HDAC6.</i>	<i>59</i>

Lista de tablas

<i>Tabla 1. Interacciones de HDACs con proteínas no histónicas y su papel en la progresión tumoral.</i>	<i>9</i>
<i>Tabla 2 Farmacos epigenéticos disponibles en el mercado.</i>	<i>11</i>
<i>Tabla 3. Comparación estructural entre fármacos de HDAC.</i>	<i>16</i>
<i>Tabla 4. Propiedades físicas, espectroscópicas y rendimiento de los compuestos obtenidos.</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 5. Resultados evaluación de citotoxicidad por MTT.</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 6. Cálculos de IC₅₀ de compuestos obtenidos.</i>	<i>54</i>
<i>Tabla 7. Índice de selectividad de los compuestos sintetizados.</i>	<i>54</i>
<i>Tabla 8. Análisis del docking molecular realizado en AutoDock 4.2</i>	<i>57</i>

Lista de esquemas

<i>Esquema 1. Síntesis de Vorinostat [39].</i>	14
<i>Esquema 2. Síntesis del Belinostat [41].</i>	16
<i>Esquema 3. Ruta sintética para la preparación de derivados sulfonamídicos y anilínicos.</i>	23

Tabla de abreviaturas

Siglas	Desarrollo
°C	Grados Celsius
AcCoA	Acetil-Coenzima A
ACN	Acetonitrilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
Deoxo-Fluor®	Bis(2-metoxietil)aminosulfurtrifluoruro
DMAP	4-dimetilaminopiridina
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
eq	Equivalentes
Et ₃ N	Trietilamina
FT-IR	Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier
g	Gramos
h	Horas
HATs	Histona Acetil-Transferasas
HDAC	Histona desacetilasa
HT-29	Células de melanoma
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50
IS	Índice de Selectividad
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
K562	Células de leucemia mieloide crónica
Min	Minutos
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama humano
Me	Metilo
MIC	Concentración mínima inhibitoria
mL	Mililitro
OMe	Metoxilo
PBS	Solución de buffer de fosfatos
PC-3	Células de cáncer de próstata humano
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono trece
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
SAHA	Vorinostat o ácido suberoilánidido hidroxámico.
t.a.	Temperatura ambiente
TMS	Tetrametilsilano
TSA	Tricostatina A
Vero	Células de riñón de mono verde
Xtal-Fluor E	(Dietilamino)difluorosulfonio tetrafluoroborato
µg	Microgramo
µL	Microlitro
µM	Micromolar
DS	Desviación estándar

Capítulo I

1 Introducción

1.1 Cáncer

El término cáncer es usado para referirse a un amplio grupo de enfermedades donde la característica en común es la generación de células anormales que se dividen de manera descontrolada y que además tienen la capacidad de propagarse hacia cualquier parte del organismo, afectando o destruyendo el tejido corporal normal.

La primera aparición de esta patología en el planeta se encuentra en un fósil de dinosaurio (*Centrosaurus apertus*) que tienen más de 76 millones de años [1]. En *Homo sapiens*, se encontró la costilla fosilizada de un Neandertal de aproximadamente 120.000 años de antigüedad que mostraba señales de un tumor óseo [2], mientras que la evidencia más antigua de *Homo sapiens sapiens* es en Egipto reportado en el trabajo de M. Binder y colaboradores [3] donde describen los restos de una mujer de 4.200 años de antigüedad, el estudio de sus restos muestra el típico daño destructivo que provoca la extensión de un cáncer de mama en forma de metástasis; además se han encontrados papiros que describen tratamientos mágicos, naturistas y quirúrgicos practicados en la época buscando la erradicación de este padecimiento.

Entre el año 500 y el 1500 d.C. surgieron en Europa diversos tratamientos, como la extirpación y cauterización de tumores, el uso de amuletos, la aplicación de cremas cáusticas de arsénico, o el seguimiento de dietas extravagantes; el conocimiento del cáncer era empírico y sólo para tumores externos. En el siglo XVII donde inician las primeras investigaciones con la ayuda de lentes y microscopios arcaicos, con los cuales podían observar las células sanguíneas; además, aunado a la apertura de algunas religiones para la realización de autopsias, permitió hacer la identificación de cánceres internos [4].

El cáncer ha sido una problemática para la humanidad desde nuestros primeros días en la tierra; sin embargo, la frecuencia con la que se han desarrollado los casos ha aumentado exponencialmente debido al incremento en la esperanza de vida y el crecimiento de factores carcinogénicos. Es importante mencionar que la esperanza de vida promedio de una persona antes del siglo XX era sólo de 34 años [5] [6], siendo así que el cáncer era poco frecuente o muy pobremente reportado como causa de muerte.

Una célula sana tiene la capacidad de crecer a un ritmo determinado genéticamente y permanece dentro de su zona correspondiente de acuerdo con el tipo celular que tenga. De forma natural cuando una célula muestra una anomalía o ha envejecido, la célula perece (apoptosis), sin embargo, el cáncer se desarrolla cuando este proceso no se lleva a cabo, ocasionando que las células anormales se sigan reproduciendo sin entrar en el estado de senescencia y no sucumben como se esperaría que ocurriera, ocasionando un crecimiento descontrolado, generando los tumores o también llamados neoplasias [7].

Los tumores se pueden dividir en dos grupos: benignos o malignos, donde las principales diferencias entre ellos es que los primeros sólo crecen en una parte del cuerpo, tienen un crecimiento lento, se mantienen encapsulados en la mayoría de las ocasiones y no pueden aparecer y/o invadir otras partes del cuerpo; no obstante, pueden comprometer la salud del individuo si se genera presión sobre uno o más órganos; por otro lado, los tumores malignos tienen un crecimiento acelerado y se pueden extender a otras regiones del cuerpo a través de la sangre o a través del sistema linfático; formando una nueva neoplasia, este fenómeno se conoce como metástasis y alrededor del 90% de las muertes por cánceres no detectados se deben a la metastatización de estos [8].

Siendo el cáncer una enfermedad tan compleja en el sentido de que puede manifestarse en casi cualquier parte del cuerpo, los cánceres se clasifican de acuerdo al tipo de tejido de origen siendo así que existen más de cien tipos diferentes de cáncer que varían en su comportamiento y tratamiento; de forma general éstos se clasifican en cinco clases [9]:

1. Carcinomas→ Son los cánceres más comunes, originándose en las células epiteliales que recubren la piel y los órganos internos.

2. Sarcomas→ Se desarrollan en los tejidos conectivos como huesos, cartílagos, grasa, músculos y vasos sanguíneos.
3. Leucemias→ Afectan los tejidos productores de sangre, como la médula ósea, provocando un aumento de células sanguíneas anormales.
4. Linfomas→ Atacan el sistema linfático que es parte del sistema inmunológico, ejemplo está el linfoma de Hodgkin.
5. Cánceres de sistema nervioso central→ Incluyen cánceres que se localizan en el cerebro y la médula espinal.

Cada tipo de cáncer varía en comportamiento, pronóstico y tratamiento, dependiendo de su localización, tipo de célula afectada y estadio de diagnóstico.

1.2 Datos de cáncer

Al día de hoy, el cáncer es un problema de salud siendo una de las principales causas de muerte en todo el mundo, de acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) [10], representó casi 10.5 millones de muertes en 2024 donde se detectaron alrededor de 11.8 millones de casos nuevos, dentro de los más recurrentes fue el cáncer de mama con 2.26 millones, cáncer de pulmón 2.21 millones de casos y cáncer colorrectal con 1.93 millones; en México de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) [11] en 2024 se registraron 195,000 casos nuevos y 1.122 millones de defunciones en el país. Actualmente existen diversos tratamientos como lo son: cirugía, radioterapia, fototerapia, terapia hormonal, inmunoterapia y quimioterapia por mencionar algunas [12] [13]; de acuerdo con el tipo de cáncer y de lo avanzado que esté, algunos pacientes reciben un solo tipo de terapia aunque la mayoría reciben una combinación de tratamientos donde la quimioterapia es uno de los más utilizados.

Capítulo II

Antecedentes

2 Quimioterapia

La quimioterapia consiste en el uso de fármacos con la finalidad de eliminar células cancerosas del organismo. En el primer cuarto del siglo XXI, existen más de un centenar de fármacos diferentes para detener el crecimiento y propagación de las células malignas, comúnmente estos medicamentos inhiben zonas específicas del ciclo celular; ya que, en síntesis, **el cáncer es sólo la producción desenfrenada de células aberrantes.**

2.1 Clasificación de fármacos quimioterapéuticos

Los fármacos utilizados en quimioterapia se catalogan según su mecanismo de acción [14]:

1. Agentes alquilantes→ A menudo son la primera línea de agentes quimioterapéuticos, estos alteran las bases del ADN, lo que interfiere con su replicación y transcripción generando así la posterior fragmentación del ADN, produciendo apoptosis o necrosis según sea el caso, algunos ejemplos son: ciclofosfamida y cisplatino.
2. Alcaloides vegetales→ En fármacos en los que su principio activo es generado a partir del metabolismo vegetal, actúan al interrumpir la estructura del huso mitótico durante la división celular, inhibiendo el crecimiento de las células cancerosas algunos ejemplos son vincristina y paclitaxel.
3. Antimetabolitos→ Estos son análogos de los metabolitos naturales necesarios para la producción, replicación de ADN y transcripción de ARN lo que bloquea la división celular. Algunos ejemplos son metotrexato y el 5-fluorouracilo.
4. Antraciclinas→ Esta clase de fármacos se intercalan en el ADN y bloquean la acción de la topoisomerasa II, lo que lleva a la ruptura del ADN y la inhibición de la replicación, algunos ejemplos son la doxorrubicina y la epirubicina.
5. Inhibidores de la topoisomerasa→ Estos medicamentos bloquean la acción de las enzimas topoisomerasa I o II, esenciales para la replicación y reparación del ADN durante la división celular, algunos ejemplos son: la irinotecán y el etopósido.

6. Corticosteroides → Comúnmente se utilizan en el tratamiento del cáncer para reducir la inflamación y suprimir el sistema inmunológico, buscando mejorar la calidad de vida del paciente y la adherencia al tratamiento quimioterapéutico. Algunos ejemplos son la prednisona y la dexametasona.

Estos son solo algunos ejemplos de los diferentes tipos de quimioterapia utilizados en el tratamiento del cáncer. La elección del tratamiento depende del tipo de cáncer, su extensión y otros factores del paciente.

2.2 Terapia epigenética

El cáncer se caracteriza por ser una enfermedad de naturaleza multifactorial, en la cual, diversos elementos interactúan dentro de redes complejas y no lineales. La aparición de distintos tipos de cáncer resulta de la acumulación de cambios tanto en el genoma como en el epigenoma [15].

Donde una interrogante persiste a través de los años, la cual gira en torno a la diferenciación celular, es decir, cómo células con el mismo ADN logran transformarse en una variedad tan amplia de tipos celulares distintos [16]. En el contexto de la diferenciación celular, la epigenética desempeña un papel fundamental en la regulación de los programas genéticos que dirigen la especialización celular.

La epigenética abarca el análisis de las modificaciones que tienen la capacidad de activar o desactivar genes sin modificar la secuencia del ADN, fenómeno que surge debido a la exposición de influencias ambientales y al transcurso del envejecimiento [17]. Los cambios epigenéticos, como la metilación del ADN y ARN, **modificaciones de histonas**, regulación por ARN no codificantes y posicionamiento de nucleosomas, están estrechamente ligados a diversas enfermedades. Por ejemplo, la metilación del ADN, que implica la adición de grupos metilo (-CH₃) a nucleótidos de citosina (5-mC) en islas de CpG, facilitada por las ADN metiltransferasas, a menudo resulta en una disminución de la densidad de estas islas, asociada con la activación de la transcripción del ADN [18]. La metilación de la citosina para formar 5-metilcitosina ocurre en la quinta posición en el anillo de la pirimidina, misma posición en

la que se encuentra el grupo metilo de la base de ADN timina; éste la distingue de la base análoga del ARN uracilo, que no tiene un grupo metilo.

Las modificaciones de la cola de histonas, como la acetilación y metilación de las histonas H3 y H4 en los residuos de lisina, desempeñan un papel fundamental en la regulación de la expresión génica al modular la estructura de la cromatina, ya sea promoviendo un estado “activo” al estar abierta o un estado “inactivo” al encontrarse condensada [19].

Los ARN no codificantes, incluidos los microARN (miARN) y los ARN largos no codificantes (lncARN), ejercen control sobre la expresión génica a través de mecanismos como la degradación del ARNm o la inhibición de la traducción, además de influir en la arquitectura nuclear y la remodelación de la cromatina [20].

Estas modificaciones epigenéticas son esenciales para ajustar la expresión genética en respuesta a estímulos internos y externos. Además, forman intrincadas redes gestoras que, junto con la información genética codificada en el ADN, orquestan un control temporal preciso y específico de tejido sobre la expresión genética. Esta interacción entre la epigenética y la genética impacta profundamente las decisiones sobre el destino celular tanto en el desarrollo normal como patológico. Siendo evidencia que la alteración del epigenoma como resultado de alteraciones en los reguladores epigenéticos es un mecanismo fundamental en el cáncer, generando implicaciones importantes para el futuro tanto del diagnóstico molecular como de la quimioterapia contra el cáncer.

2.1.1 Acetilación/desacetilación

La acetilación y desacetilación de las histonas es un proceso normal con el cual la célula puede regular distintas funciones relacionadas con la expresión o supresión de genes, este mecanismo se lleva a cabo principalmente con dos grupos de proteínas las Histonas Desacetilasas (HDAC) y las Histona Acetil-Transferasas (HATs).

La acetilación de histonas implica la unión de un grupo acetilo ($-\text{COCH}_3$), proveniente de Acetil-Coenzima A (AcCoA), al extremo ϵ -amino de los residuos cargados positivamente principalmente lisina dentro del dominio de la cola de la histona central (**Figura 1**). Este

proceso contrarresta la carga negativa brindada por los grupos fosfato del esqueleto de los ácidos nucleicos, reduciendo la interacción electrostática entre el ADN y las histonas, lo que resulta en la formación de cromatina más relajada, proporcionando acceso a proteínas, como factores de transcripción permitiendo que se lleve a cabo posteriormente la traducción y por consiguiente la célula cubra sus necesidades enzimáticas para mantener la homeostasis [21].

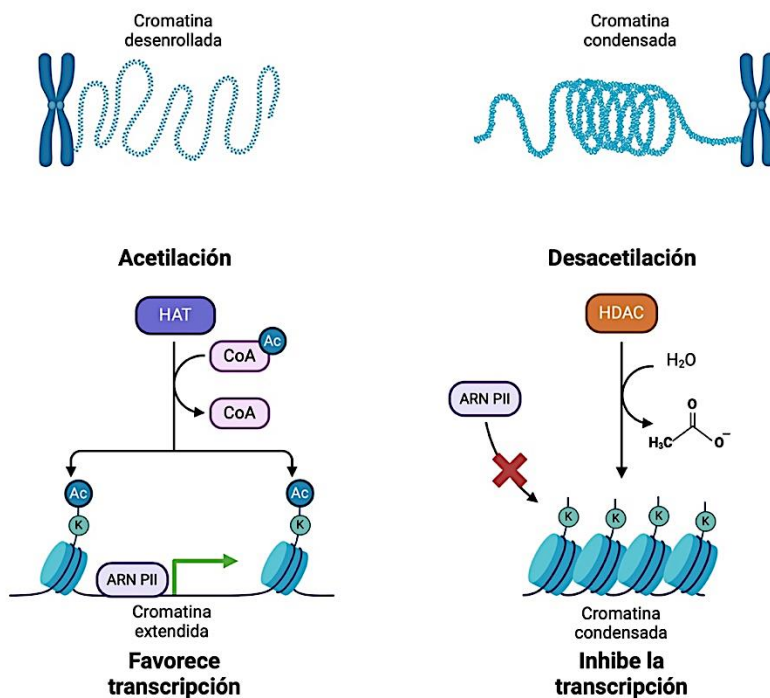


Figura 1. Mecanismo de regulación de la transcripción llevada a cabo por la HAT (Histona Acetil-Transferasa) y HDAC (Histona Desacetilasa) con la ARN P II (ARN polimerasa II) [22].

La reducción de los niveles normales de acetilación/desacetilación de histonas puede originarse por una disminución en la actividad de las HATs o un aumento en la actividad de las HDAC debido a mutaciones o traslocaciones cromosómicas, siendo ésta última la más investigada [22].

Es importante mencionar que la actividad de las enzimas HATs y HDAC no se restringen únicamente a las proteínas histonas; **también pueden modular una amplia variedad de proteínas no histonas** involucradas en diversos procesos biológicos, tales como la progresión celular, diferenciación y apoptosis. Por ende, estudios recientes están progresivamente revelando la correlación entre la disfunción de las HATs y/o HDACs con la incidencia de diversos tipos de cánceres en seres humanos [23].

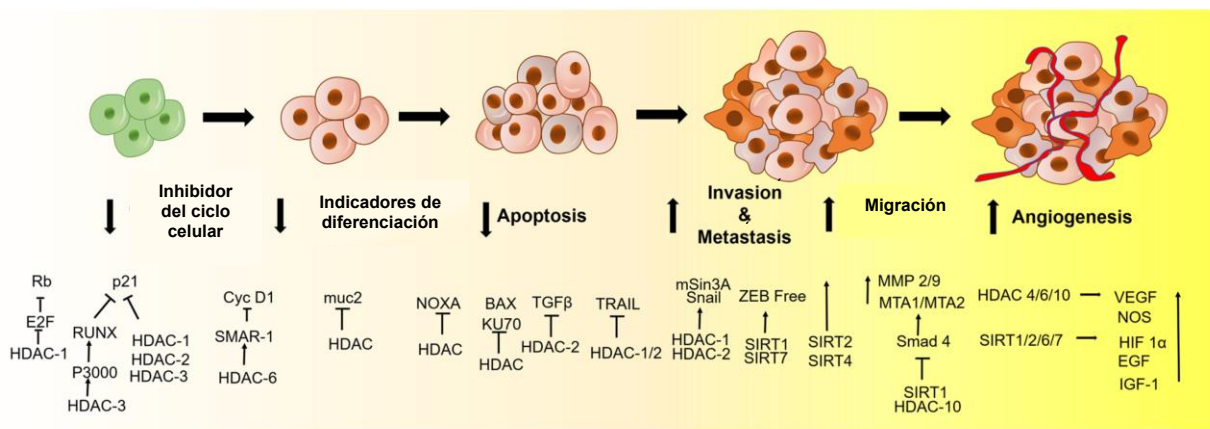


Figura 2. Implicaciones de HDAC en cáncer; adaptada de [25].

2.1.2 Isoformas de HDAC implicadas en el cáncer.

Las HDAC se dividen en cuatro clases (I, IIa, IIb, III, y IV) y cada clase tiene varias isoformas; varias de estas isoformas han sido relacionadas con el cáncer:

1. **HDAC1, HDAC2 y HDAC3 (Clase I):** La sobreexpresión de HDAC1, HDAC2 y HDAC3 se ha relacionado con múltiples tipos de cáncer, como cáncer de mama, próstata, pulmón y colon. Estas isoformas están involucradas en la proliferación de células tumorales y la represión de genes supresores de tumores como p21.
2. **HDAC6 (Clase IIb):** Se ha encontrado sobreexpresado en cáncer de mama, cáncer de ovario y cáncer de próstata. HDAC6 está implicado en la regulación de la estabilidad de las otras proteínas y en la migración e invasión celular [24].
3. **HDAC4, HDAC5 y HDAC7 (Clase IIa):** La expresión de HDAC4 se ha relacionado con cánceres como el osteosarcoma y el cáncer de colon. HDAC5 y HDAC7 también están involucradas en la regulación de la diferenciación celular y en la invasión en algunos tipos de cáncer [21].
4. **HDAC8 (Clase I):** Está asociada con el neuroblastoma y se ha relacionado con la resistencia a la apoptosis en las células tumorales.

La desregulación de estas HDAC contribuye al desarrollo del cáncer al alterar el equilibrio entre la acetilación y desacetilación de las histonas, lo cual afecta la expresión de genes clave para el control del ciclo celular y la apoptosis. Por esta razón, los **inhibidores de HDAC selectivos hacia una isoforma son una estrategia terapéutica prometedora** para reactivar

genes supresores de tumores y restaurar los mecanismos normales de regulación génica en las células cancerosas.

La **tabla 1** evidencia que las histonas desacetilasas (HDACs) y sirtuinas no se limitan a la regulación epigenética de histonas, sino que ejercen un control extensivo sobre proteínas no histónicas clave mediante desacetilación, afectando su estabilidad, localización subcelular y actividad transcripcional. Este control impacta directamente en procesos fundamentales de la tumorigénesis, como la proliferación celular (c-Myc, β -catenina), la evasión de apoptosis (p53, FoxO, Ku70), la inflamación (NF- κ B, STAT3) y la adaptación al microambiente tumoral (HIF-1 α).

Tabla 1. Interacciones de HDACs con proteínas no histónicas y su papel en la progresión tumoral.

Sustrato	HDAC / Sirtuina	Modificación	Efecto molecular directo	Ruta afectada	Impacto en cáncer	Ref.
p53	HDAC1,2,3 / SIRT1,2,7	Desacetilación	↓ actividad transcripcional	Apoptosis, ciclo celular	Inhibe apoptosis, favorece supervivencia	[25]
NF-κB (p65)	HDAC3	Desacetilación	↑ translocación nuclear / actividad	Inflamación	↑ inflamación tumoral	[26]
Hsp90	HDAC6	Desacetilación	↑ estabilidad de clientes (oncoproteínas)	Proteostasis	Mantiene proteínas oncogénicas	[27] [28]
STAT3/5	HDAC3,6	Desacetilación	↑ activación y dimerización	JAK/STAT	↑ proliferación e inflamación	[29]
Akt	HDAC3	Desacetilación	↑ fosforilación/actividad	PI3K/Akt	↑ supervivencia celular	[30]
Ku70	HDAC3,6 / SIRT1,2	Desacetilación	Secuestro de Bax, ↑ reparación ADN	NHEJ, apoptosis	↓ apoptosis, ↑ resistencia	[25]
α-tubulina	HDAC6 / SIRT2	Desacetilación	↓ estabilidad de microtúbulos	Citoesqueleto	↑ migración y metástasis	[24]
c-Myc	HDAC3,6	Desacetilación indirecta	↑ estabilidad proteica	Proliferación, metabolismo	↑ crecimiento tumoral	[27]
E2F1	HDAC1	Desacetilación	↓ actividad transcripcional	Ciclo celular	Alteración proliferativa	[25]

Continuación tabla 1.

HIF-1α	HDAC1,4,5,7	Desacetilación	↑ estabilidad en hipoxia	Hipoxia	Adaptación tumoral	[31]
Receptor de estrógeno (ER)	HDAC1	Desacetilación	↑ actividad transcripcional	Señalización hormonal	↑ proliferación (cáncer mama)	[25]
β-catenina	HDAC6	Desacetilación	↑ acumulación nuclear	Wnt	↑ proliferación	[32]
GATA1/2	HDAC3,4,5	Desacetilación	↓ diferenciación	Hematopoyesis	Bloqueo de diferenciación	[27]
FoxO	SIRT1	Desacetilación	↓ actividad transcripcional	Estrés oxidativo, apoptosis	↑ supervivencia	[33]

En conjunto, las HDACs funcionan como nodos integradores que coordinan múltiples rutas oncogénicas de manera simultánea, generando un doble efecto: la inhibición de supresores tumorales y la activación o estabilización de oncoproteínas. Este comportamiento explica su papel central en la progresión del cáncer y su relevancia como blancos terapéuticos de amplio espectro.

2.2 Inhibidores de HDAC

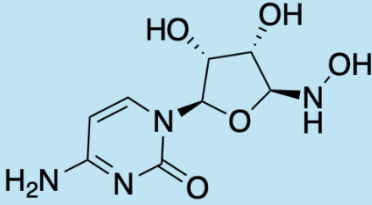
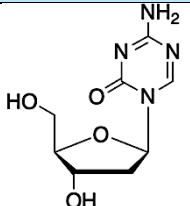
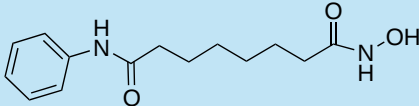
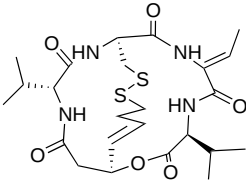
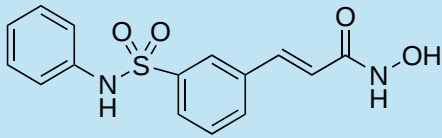
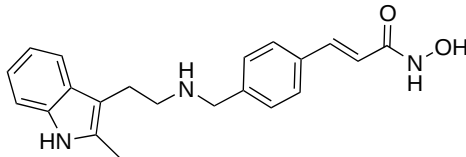
2.2.1 Fármacos disponibles en el mercado

El mercado de la terapia epigenética ha mostrado un incremento considerable y se prevé que mantenga esta tendencia en los años venideros. En el 2024, se estimó que el valor del mercado aumentará desde los 1.84 mil millones de USD registrados en 2023 hasta alcanzar los 7.02 mil millones de USD en 2033, con una tasa de crecimiento anual compuesta destacada [34], dejando claro que es un mercado en crecimiento acelerado, donde los fármacos epigenéticos están evolucionando de agentes inespecíficos moduladores de cromatina a terapias dirigidas de alta precisión, capaces de reprogramar redes celulares completas, lo que redefine su papel en la oncología moderna y otras enfermedades complejas.

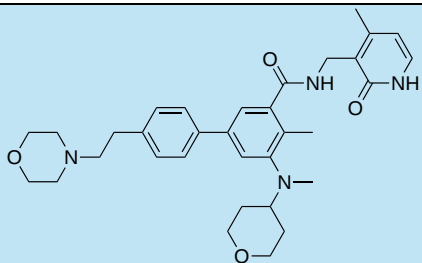
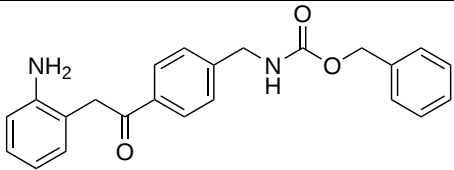
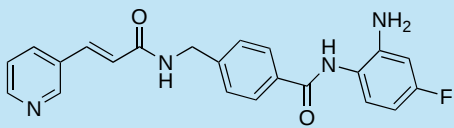
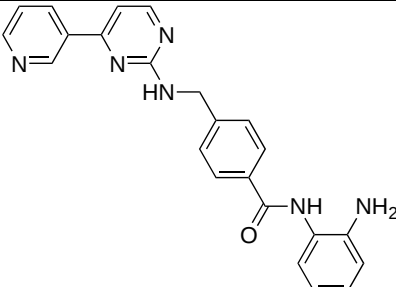
La **tabla 2** muestra que los fármacos epigenéticos aprobados en el mercado se concentran principalmente en tres grandes mecanismos: la inhibición de ADN metiltransferasa (DNMT), la inhibición de histona desacetilasas (HDAC) y, más recientemente, la inhibición de metiltransferasas de histonas como EZH2. Esta distribución refleja una evolución progresiva

en la comprensión de la regulación epigenética, pasando de estrategias globales de desmetilación del ADN hacia intervenciones más específicas sobre la cromatina y sus modificadores.

Tabla 2 *Fármacos epigenéticos disponibles en el mercado.*

Fármacos	Aprobación FDA	Molécula	Mecanismo de acción	Referencias
Azacitidina (Vidaza)	2020		Inhibidor de la ADN metiltransferasa (DNMT), responsables de añadir grupos metilo al ADN, lo que puede reactivar genes supresores de tumores silenciados.	[35] [36]
Decitabina (Dacogen)	2006		Inhibidor de la DNMT.	[37]
Vorinostat (Zolinza)	2006		Inhibidor de la histona deacetilasa (HDAC), lo que conduce a una mayor acetilación de las histonas y, por tanto, a una estructura de cromatina más abierta y activa transcripcionalmente.	[38]
Romidepsina (Istodax)	2009		Inhibidor de HDAC.	[39]
Belinostat (Beleodaq)	2014		Inhibidor de HDAC.	[40]
Panobinostat (Farydak)	2015		Inhibidor de HDAC.	[41]

Continuación tabla 2.

Tazemetostat (Tazverik)	2020		Inhibidor de la metiltransferasa de histonas (EZH2).	[42]
Entinostat	En ensayos clínicos.		Inhibidor de HDAC .	[43]
Chidamida	Aprobado en China para el tratamiento de linfomas.		Se sigue estudiando	[44]
Mocetinostat (MGCD0103)	En ensayos clínicos		Inhibidor de HDAC .	[45]

Se observa que los primeros fármacos aprobados, como azacitidina y decitabina, actúan sobre la metilación del ADN, permitiendo la reactivación de genes supresores tumorales. Posteriormente, los inhibidores de HDAC, como Vorinostat, romidepsina, belinostat y panobinostat, introducen un nivel adicional de regulación al modificar la acetilación de histonas y proteínas no histónicas, impactando múltiples vías celulares simultáneamente. Finalmente, la inclusión de tazemetostat evidencia una tendencia hacia terapias más dirigidas, enfocadas en enzimas específicas como EZH2, lo que sugiere un cambio hacia mayor selectividad molecular.

Aunque los fármacos epigenéticos han demostrado eficacia clínica, la mayoría presentan mecanismos de acción relativamente amplios, lo que puede traducirse en efectos pleiotrópicos y toxicidad. Esto ha impulsado el desarrollo de nuevas generaciones de compuestos más selectivos, como entinostat, aún en evaluación clínica.

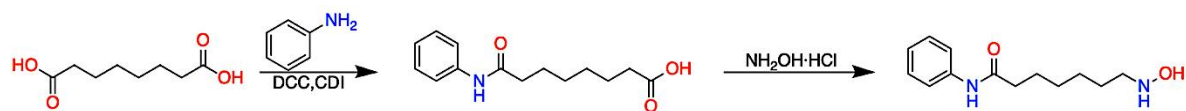
2.2.2 Diseño molecular y selectividad

El primer modelo farmacofórico de inhibidores de HDAC se derivó de una estrategia racional basada en modificar compuestos previos como la hexameten-bisacetamida (HMBA), un agente diferenciador que mostraba actividad biológica pero requería concentraciones muy altas y presentaba limitaciones farmacológicas. Los investigadores buscaron entonces moléculas más potentes manteniendo ciertas características estructurales: una cadena alifática flexible y grupos terminales capaces de interactuar con proteínas celulares asentando las bases para el diseño molecular basado en el SAHA el cual tiene 3 secciones principales:

1. Un grupo capaz de unirse al zinc (ZBG).
2. Un grupo tapa que interactúe con la parte más externa de la enzima.
3. Ambos grupos están conectados por un linker que asegura la distancia óptima entre el ZBG y el grupo tapa (11 Å o 7 enlaces C-C aproximadamente).

La síntesis industrial estándar más usada por el Vorinostat actualmente está descrita en la patente US9162974B2 (concedida 2015, vigente, **esquema 1**) [38]. La síntesis inicia con la activación selectiva de uno de los grupos carboxilo del ácido subérico mediante los agentes de acoplamiento DCC y CDI. En esta etapa, el grupo carboxilo reacciona con CDI para formar un intermediario acil-imidazolida, o bien con DCC para generar una especie activada tipo O-acilisourea. Ambos intermediarios aumentan la electrofilicidad del carbono carbonílico, facilitando el ataque nucleofílico de la anilina. Posteriormente, el par de electrones libres del nitrógeno de la anilina ataca al carbono carbonílico activado del ácido subérico, formando un intermediario tetraédrico. Este intermediario colapsa con salida del grupo activante, como imidazol o díciclohexilurea, dando lugar a la formación del enlace amida. Como resultado se obtiene el ácido suberanílico, en el cual un extremo del ácido subérico queda convertido en una anilida, mientras que el otro grupo carboxilo permanece libre para la siguiente transformación. En la segunda etapa, el grupo carboxilo remanente del ácido suberanílico se activa nuevamente, generalmente mediante CDI, para formar un intermediario acil-imidazolida. La hidroxilamina, actúa como nucleófilo y ataca el carbono carbonílico activado. Después de la formación del intermediario tetraédrico y la posterior eliminación del grupo saliente, se forma el enlace C(=O)-NHOH característico del ácido

hidroxámico; en un proceso simple, económico y comercialmente viable para la síntesis de Vorinostat de alta pureza con rendimiento comercialmente aceptable.



Esquema 1. Síntesis de Vorinostat [39].

Siendo que el Vorinostat es un inhibidor de histona desacetilasas de primera generación su actividad antitumoral se basa en la inhibición epigenética no selectiva de múltiples isoformas de HDAC [38], lo que conduce a la acumulación de histonas acetiladas, reactivación de genes supresores tumorales y alteraciones en la proliferación y apoptosis celular. Entre los efectos perjudiciales más comunes se encuentran fatiga, náuseas, diarrea y trombocitopenia, mientras que eventos más graves incluyen alteraciones hematológicas y tromboembolismo.

El Vorinostat representa un paradigma temprano de terapias epigenéticas: eficaz en ciertos contextos hematológicos pero limitado por su falta de selectividad, lo que ha impulsado el desarrollo de inhibidores de HDAC más específicos y con mejores perfiles terapéuticos. Siendo así que a partir de ese modelo farmacofórico se han añadido algunos cambios en las estructuras con el fin de poder inhibir selectivamente alguna isoforma deseada donde la citotoxicidad selectiva hacia células cancerosas podría generar una mayor sensibilidad hacia otros tratamientos al modificar la expresión génica.

Tomando en cuenta la **figura 3** donde el primer modelo farmacofórico aprobado por la FDA fue el Vorinostat, se desarrollaron diversas moléculas como las mostradas anteriormente en la **tabla 2** donde se realizaron varias modificaciones; por ejemplo en el ZBG, donde en lugar de usar un hidroxamato la Romidepsina utiliza un Tiol activo (–SH) buscando que tuviera más afinidad con el sitio activo y por lo tanto tuviera una mayor potencia o por el contrario, el Mocetinostat que en lugar de buscar aumentar la potencia busca reducirla para aminorar los efectos tóxicos generados por el hidroxamato utilizando, una o-aminoanilida (benzamida).

Cabe destacar que no sólo se realizaron modificaciones en el ZBG sino también dentro del grupo CAP y linker; por ejemplo, el Panobinostat creó un sistema aromático voluminoso tipo indol sustituido con un grupo metilo y conectado a un anillo fenólico a través del sistema conjugado, permitiendo interactuar con la entrada del bolsillo de HDAC y formar interacciones hidrofóbicas de tipo π - π stacking con residuos aromáticos de los aminoácidos presentes en la entrada al sitio activo, buscando mejorar la selectividad parcial entre isoformas.

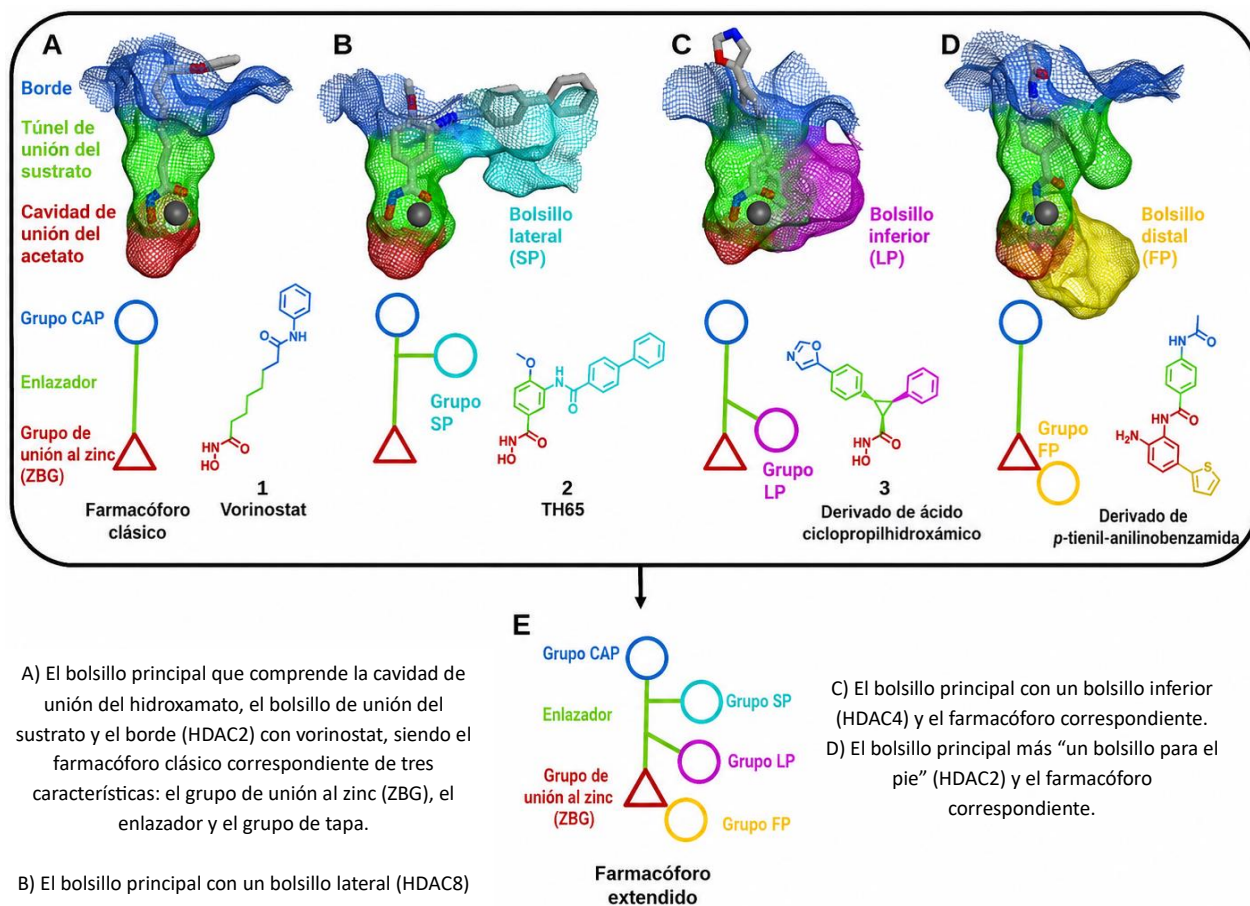


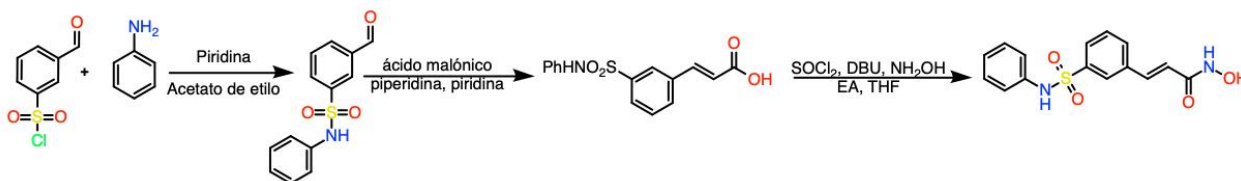
Figura 3. Partes estructurales del bolsillo de HDAC y del farmacóforo. Adaptado de [47].

Para objeto de este proyecto se utilizó Belinostat como compuesto de referencia debido a que es un farmacóforo clásico, su actividad pan-HDAC (de amplio espectro) reproducible, su validación clínica y su amplia utilización como estándar en estudios de relación estructura-actividad de inhibidores de HDAC como se muestra en la **tabla 3**. Permitiendo comparaciones consistentes entre modificaciones químicas en el diseño de nuevos compuestos epigenéticos.

Tabla 3. Comparación estructural entre fármacos de HDAC.

Fármaco	ZBG	Linker	CAP	Perfil
Belinostat	Hidroxamato	Flexible conjugado	Aromático + sulfonamida	Amplio espectro
Panobinostat	Hidroxamato	Rígido conjugado	Indol (voluminoso)	Muy potente
Mocetinostat	Benzamida	Corto	Aromático	Selectivo
Romidepsina	Tiol (prodrug)	Macro	Macroanillo	Selectivo
Entinostat	Benzamida	Corto	Aromático	Selectivo

La síntesis de Belinostat ha sido descrita mediante al menos cinco rutas principales, aunque actualmente pueden reconocerse entre seis y ocho variantes relevantes si se consideran procesos industriales, rutas verdes y metodologías recientes. Todas convergen en la formación del fragmento *N*-hidroxicinamamida sulfonamídica, variando principalmente en el precursor aromático, el método de introducción del grupo sulfonilo y la etapa final de formación del hidroxamato, para objeto de este proyecto revisamos la síntesis del **esquema 2** que es la más utilizada actualmente a nivel industrial.



Esquema 2. Síntesis del Belinostat [41].

La síntesis inicia con el cloruro de 3-formilbencensulfonilo reacciona con anilina en presencia de piridina y acetato de etilo. En esta etapa ocurre una sustitución nucleofílica sobre el clorosulfonilo, donde la anilina ataca al azufre del grupo SO_2Cl y se elimina cloruro, formando la sulfonamida aromática correspondiente. La piridina actúa como base, neutralizando el HCl generado durante la reacción. Posteriormente el aldehído se somete a una condensación tipo Knoevenagel con ácido malónico, usando piperidina y piridina como bases. Esta reacción introduce la cadena α,β -insaturada mediante formación del doble enlace conjugado y posterior descarboxilación, dando como producto un derivado de ácido cinámico sulfonamídico, es decir, el ácido (E)-3-[3-(*N*-fenilsulfamoil)fenil]acrílico. Finalmente, el ácido carboxílico se transforma en el grupo hidroxamato. Para ello, primero se activa el ácido con cloruro de tionilo, formando el correspondiente cloruro de acilo.

Posteriormente, este intermediario reacciona con hidroxilamina, NH_2OH , en presencia de DBU el cual sólo actúa como base que capta el HCl generado y evita la hidrólisis prematura del cloruro de acilo. La hidroxilamina ataca al carbonilo activado y sustituye al cloruro, generando la hidroxamida final.

Es necesario mencionar que la búsqueda de nuevas estructuras con actividad anticancerígena a partir de este modelo farmacofórico continúa buscando desarrollar sistemas más selectivos y con mayor potencia. Por eso, modificar regiones como el CAP, el linker, la sulfonamida o el grupo hidroxamato podría ayudar a buscar análogos más selectivos hacia determinadas HDAC, por ejemplo: HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC6 u otras isoformas relacionadas con cáncer. También hay una justificación farmacocinética: el Belinostat se administra por vía intravenosa, tiene una vida media de eliminación corta reportada de aproximadamente 1.1 h, y se metaboliza principalmente por UGT1A1, por lo que variantes genéticas o inhibidores de esta enzima pueden aumentar su exposición y el riesgo de toxicidad [40]. Esto justifica diseñar análogos con mejor estabilidad metabólica, menor dependencia de UGT1A1, mejor exposición sistémica o incluso posibilidad de administración más conveniente.

Zhang *et al.* [46]; diseñaron análogos del Belinostat conservando el fragmento N-hidroxicinamida como región esencial para la inhibición de HDAC, así como el motivo sulfonamida característico de este tipo de inhibidores. Entre los compuestos sintetizados, el análogo **7e** (figura 4) presentó una estructura sulfonamídica diaromática con un sustituyente p-metoxi en el grupo CAP aromático, mostrando una actividad destacada con un IC_{50} de 11.5 nM en un ensayo pan-HDAC.

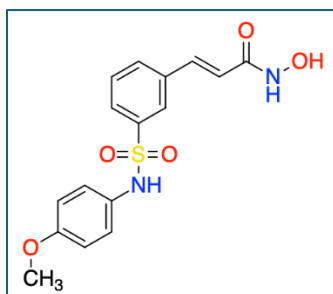


Figura 4. Compuesto 7e [46].

Este resultado sugiere que la conservación del grupo hidroxámico, junto con la presencia de la sulfonamida y una adecuada orientación del CAP aromático metoxisustituido, favorece la

interacción con el sitio activo de las HDAC y contribuye de manera importante a la potencia inhibitoria. Las modificaciones del farmacóforo de inhibidores de HDAC pueden dirigirse tanto al grupo quelante de zinc como al cap o unidad conectora. Por ejemplo, Kim *et al.* [47] reemplazaron el grupo hidroxamato por salicilamida como nuevo ZBG a partir del ácido 6-aminohexanoico, que contiene un ácido carboxílico y una amina terminal (**figura 5**).

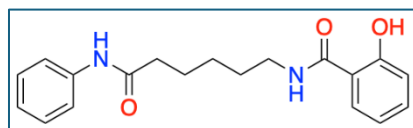


Figura 5. Compuesto final desarrollado por Kim *et al.* [47].

Biológicamente, el compuesto final inhibió preferentemente HDAC de clase I, principalmente HDAC1, HDAC2 y HDAC3, con valores de IC₅₀ de 22.2 μ M, 27.3 μ M y 7.9 μ M, respectivamente, mientras que no mostró inhibición relevante frente a HDAC4, HDAC6 y HDAC11. Esto sugiere una selectividad moderada hacia HDAC de clase I. Además, en células MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamario metastásico humano), el compuesto indujo más acetilación de histona H3 que de α -tubulina, lo cual apoya su comportamiento como inhibidor preferente de HDAC clase I, ya que la acetilación de histonas se relaciona más con HDAC nucleares de clase I, mientras que la α -tubulina se asocia más con HDAC6 [47, 49].

En conjunto, los antecedentes revisados muestran que la inhibición de HDAC representa una estrategia terapéutica relevante en cáncer, debido al papel de estas enzimas en la regulación epigenética de procesos como proliferación, diferenciación, apoptosis y progresión tumoral. Dentro de este grupo, el Belinostat constituye un modelo estructural importante por su actividad como inhibidor de HDAC y por su farmacóforo bien definido, compuesto por un grupo quelante de zinc, un linker y una región CAP. Sin embargo, sus limitaciones asociadas con toxicidad, baja selectividad isoenzimática, metabolismo y dependencia del grupo hidroxamato han impulsado el diseño de nuevos análogos estructurales. Por ello, la modificación racional de regiones como el ZBG, el linker, la sulfonamida o el grupo CAP permite explorar nuevas relaciones estructura-actividad y buscar compuestos con mejor perfil biológico.

Capítulo III

El cáncer representa una de las principales problemáticas de salud pública a nivel mundial, cuya incidencia continúa en aumento. Aunado a esto, la aparición de resistencia a los tratamientos antineoplásicos actualmente utilizados limita su eficacia terapéutica y contribuye a la progresión de la enfermedad. Además, muchos de estos tratamientos presentan baja selectividad hacia células tumorales, lo que ocasiona citotoxicidad en células normales y diversos efectos secundarios en los pacientes.

Por lo anterior, el presente proyecto propone el diseño, síntesis, caracterización estructural y evaluación biológica de nuevos compuestos análogos al Belinostat, con el objetivo de explorar la relación estructura-actividad y obtener derivados con potencial actividad anticancerígena, menor citotoxicidad frente a células normales y un perfil de selectividad más favorable.

3.1 Hipótesis

La modificación estructural del Belinostat permite obtener al menos un derivado con mayor selectividad anticancerígena *in vitro*, caracterizado por una actividad citotóxica efectiva contra líneas celulares tumorales y una menor toxicidad frente a células Vero, en comparación con el fármaco de referencia.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo general

Diseñar, sintetizar y evaluar derivados estructuralmente relacionados con Belinostat mediante modificaciones progresivas del zinc-binding group y del linker molecular, incluyendo la incorporación de grupos éster con potencial comportamiento profármaco, con el propósito de determinar la contribución del núcleo diarilsulfonamida, la longitud/conjugación del conector y los grupos carbonílicos terminales sobre la actividad citotóxica y anticancerígena.

3.2.2Objetivos específicos

- Síntesis de moléculas análogas al Belinostat.
- Caracterización estructural de los diferentes compuestos mediante resonancia magnética nuclear (RMN) ^1H y ^{13}C .
- Determinar la actividad citotóxica y anticancerígena *in vitro* de cada uno de los compuestos obtenidos a través de la técnica MTT en líneas celulares Vero, MCF7, A549 y PC-3.
- Evaluar la actividad inhibitoria contra HDACs a través de un docking molecular a través de Autodock 4.2 (4A69,E5FN, 5D1D).

Capítulo IV

Materiales y métodos

4.1 Ubicación

Las actividades del proyecto se realizaron en los Laboratorios de Química Farmacéutica y el Laboratorio de Farmacología Molecular y Modelos Biológicos ubicados en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, y el Laboratorio 203 del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ- UAEM).

4.2 Síntesis orgánica

4.2.1 Información en general

Los reactivos y solventes utilizados fueron adquiridos de las empresas Sigma-Aldrich[®], Reactivos y Equipos S. A. de C. V. Las reacciones fueron monitoreadas a través de cromatografía en capa delgada en placas Merck[®] (TLC Sílica gel 60 F₂₅₄), utilizando como reveladores exposición a luz UV (254 nm), vapores de yodo, por inmersión en ácido fosfomolibdico 10% en una disolución 50/50 EtOH/H₂O respectivamente, por inmersión en una disolución de permanganato de potasio (permanganato de potasio/carbonato de potasio/hidróxido de sodio/agua) o disolución de ninhidrina (ninhidrina/etanol/ácido acético).

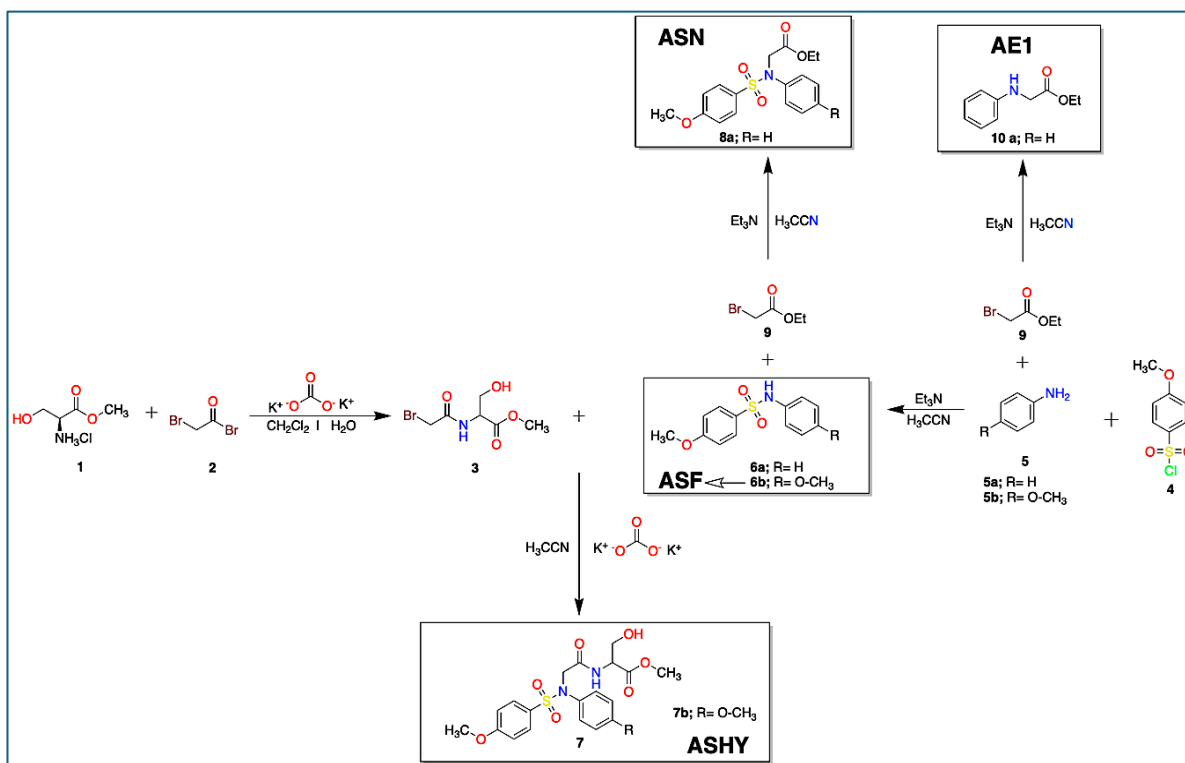
Los compuestos se purificaron mediante columna cromatográfica con SiO₂ de tamaño de poro de 60 Å (Sigma-Aldrich) y caracterizados por Resonancia Magnética Nuclear en un espectrómetro Bruker Avance II Ultrashield Plus 500 MHz para ¹H, Bruker Avance III HD 125 MHz para ¹³C. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de tetrametilsilano (TMS) para ¹H; las constantes de acoplamiento (*J*) están dadas en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se denotaron con las siguientes abreviaturas: **s** singulete, **d** doblete, **dd** doble de dobles, **ddd** doble de doble de

dobles, **t** señal triplete, **tt** para indicar un triple de triples, **q** cuádruplete, **m** multiplete. Los disolventes deuterados empleados en las determinaciones fueron CDCl₃ y CD₃OD.

4.2.2 Descripción de ruta

Para lograr la obtención de las moléculas objetivo se optó por una ruta de síntesis convergente como se muestra en el **esquema 3**, para obtener derivados sulfonamídicos *N*-alquilados, la cual por una parte inicia con la reacción entre el clorhidrato de serina metil éster **1** y el bromuro de bromoacetilo **2**, en presencia de carbonato de potasio como base, en una mezcla bifásica de diclorometano y agua. Este paso genera un intermedio α -bromoamida funcionalizada con un grupo éster **3**. De manera paralela, se llevó a cabo la preparación de las sulfonamidas **6a** y **6b**. Para ello, el cloruro de 4-metoxibencenosulfonilo **4** reacciona con anilinas sustituidas **5a–b** en presencia de trietilamina y acetonitrilo. La trietilamina actúa como base, atrapando el HCl generado durante la reacción, mientras que el grupo amino de la anilina ataca al azufre del cloruro de sulfonilo para formar las diaril sulfonamidas. Así se obtienen los intermediarios **6a**, y **6b** (**ASF**). Adicionalmente, la anilina **5a** fue alquilada directamente con bromoacetato de etilo **9** en presencia de Et₃N y CH₃CN, obteniéndose el compuesto **10a** (**AE1**). Esta transformación ocurre mediante una sustitución nucleofílica del bromuro por el nitrógeno anilínico, dando lugar a un derivado *N*-alquilado tipo glicinato de etilo. Este paso permite obtener un análogo estructural simplificado, útil para comparar el efecto de la ausencia del grupo sulfonamida sobre las propiedades biológicas de la serie.

Finalmente, los intermediarios sulfonamídicos **6** se someten a reacciones de *N*-alquilación. En una de las rutas, la sulfonamida reacciona con bromoacetato de etilo **9** en presencia de Et₃N/CH₃CN, generando el producto **8a** (**ASN**), en el cual se introduce un fragmento acetato de etilo unido al nitrógeno de la sulfonamida. En la otra ruta, el intermediario **6b** reacciona con la bromoacetamida **3** usando K₂CO₃ en acetonitrilo, dando lugar al compuesto **7b** (**ASHY**), que incorpora simultáneamente el núcleo diaril sulfonamida y el fragmento derivado de serina metil éster. Esta última etapa ocurre mediante una sustitución nucleofílica tipo S_N2, donde el nitrógeno de la sulfonamida desplaza al bromuro del grupo bromoacetilado.



Esquema 3. Ruta sintética para la preparación de derivados sulfonamídicos y anilínicos.

En conjunto, la ruta nos permite construir derivados sulfonamídicos funcionalizados mediante tres transformaciones clave: acilación del aminoéster de serina, formación de la sulfonamida aromática y *N*-alquilación de la sulfonamida con electrófilos bromoacetilados. Esta estrategia es útil porque permite modificar tanto el sustituyente aromático R como la región enlazadora que contiene grupos éster, amida y alcohol, generando compuestos con mayor diversidad estructural.

4.2.3 Preparación experimental

4-metoxi-*N*-fenilbencenosulfonamida

En un matraz redondo de 50 mL provisto de barra de agitación magnética, se añadieron 0.2 mL (2.42 mmol) de anilina y 0.5 mL (3.63 mmol) de Et₃N en 10 mL de CH₃CN y la mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 2 h. A continuación, se añadieron 0.25 g de 4-metilbencenosulfonilo y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 36 h. La reacción fue detenida añadiendo 5 mL de una disolución 1 M de HCl, manteniendo la

agitación 5 minutos. Posteriormente se extrajo con AcOEt (3x10 mL). Los extractos orgánicos combinados, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se evaporaron a presión reducida, el remanente se purificó por cromatografía en columna utilizando una mezcla AcOEt:Hex (20:80) como fase móvil, obteniendo el compuesto **6a** figura 6.

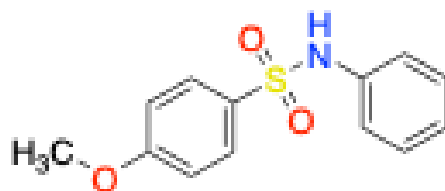


Figura 6. Compuesto 6b ASF.

Metil (2-bromoacetil)-L-serinato

En un matraz redondo de 50 mL provisto de barra de agitación magnética, se añadieron 200 mg (1.29 mmol) del éster metílico del clorhidrato de la L-serina y 355.33 mg (2.57 mmol) de K₂CO₃ como base en una mezcla bifásica de CH₂Cl₂ y agua (relación 8:2) en 10 mL; para estar en agitación por 1 h mientras se sumerge en baño de hielo, posteriormente se agregaron 16.94 mL (1.93 mmol) por goteo del bromuro de bromoacetilo, para mantenerse en agitación por 6 h de 0 °C hasta llevarlo a temperatura ambiente. A continuación se agregaron 5 mL de una disolución saturada de NaHCO₃ y la mezcla permaneció en agitación por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL), los extractos orgánicos combinados, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando una combinación AcOEt:Hex (90:10) como fase móvil, obteniendo el compuesto **3**, figura 7.

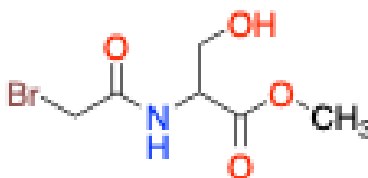


Figura 7. Compuesto 3.

Fenilglicinato de etilo

En un matraz redondo de 50 mL provisto de una barra de magnética se añadieron 10 mL de CH₃CN y 0.98 mL (1.30 mmol) de anilina, 2.7 mL de (1.95 mmol) de Et₃N y la mezcla se mantuvo agitación a temperatura ambiente por 15 minutos. A continuación, se añadieron 1.6 mL de bromoacetato de etilo en agitación en temperatura ambiente por 4 h. La reacción fue detenida añadiendo 15 mL de una solución saturada de NH₄Cl en agitación por 5 minutos. Posteriormente se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL), los extractos orgánicos combinados, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando una mezcla AcOEt:Hex (20:80) como fase móvil, obteniendo el compuesto **10 a figura 8**.

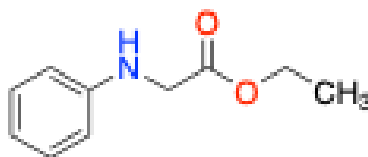


Figura 8. Compuesto 10a AE1.

N-((4-metoxifenil)sulfonil)-*N*-fenilglicinato de etilo

En un matraz redondo de 50 mL provisto de barra de agitación magnética, sumergido en un baño de hielo, se añadieron 100 mg (379.78 mol) de *N*-fenilbencenosulfonamida **6a** y 10 mL de CH₃CN seco para estar en agitación durante 15 minutos; posteriormente se añadieron 9.11 mg (379.78 mol) de NaH y 0.6 mL (543.08 mol) de bromoacetato de etilo, el sistema se purgó con N₂ y se quedó en agitación por 48 hrs para detener la reacción se añadieron 10 mL de una solución saturada de NH₄Cl se dejó en agitación media hora y se extrajo con AcOEt (10 mL x 3), los extractos orgánicos combinados, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida, el remanente se purificó por cromatografía en columna utilizando una combinación AcOEt:Hex (30:70) como fase móvil, obteniendo el compuesto **8a figura 9**.

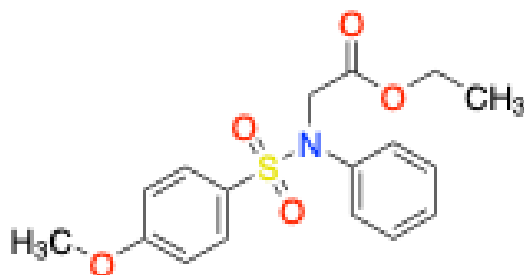


Figura 9. Compuesto 8a ASN.

N-(4-metoxifenil)-N-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo

En un matraz redondo de 100 mL provisto con un agitador magnético se añadieron 340 mg (1.16 mmol) de 4-metoxi-*N*-(4-metoxifenil) bencenosulfonamida **6b** y 800 mg (5.80 mmol) de K₂CO₃ en 10 mL de CH₃CN seco para ponerlo en reflujo por 30 minutos, pasado el tiempo se añadieron 417.36 mg (1.74 mmol) de metil (2-bromoacetil)-L-serinato, el sistema se purgó con N₂ para volver a estar en reflujo por 4 h. Transcurrido el tiempo de reacción, el disolvente se evaporó a presión reducida y el remanente se purificó por cromatografía en columna, utilizando una combinación de CH₂Cl₂:isopropanol (95:5) como fase móvil, obteniendo el compuesto **7b** figura 10.

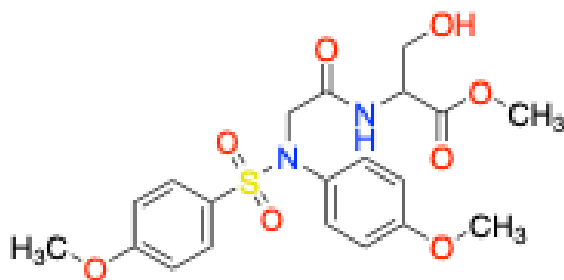


Figura 10. Compuesto 7b ASHY.

4.3 Pruebas biológicas

4.3.1 Preparación de las líneas celulares

Se determinó la actividad citotóxica de los compuestos en la línea celular de crecimiento normal “Vero” (ATCC: CCL-81, Células de riñón de mono verde).

Se evaluó la actividad antineoplásica en tres líneas celulares cancerígenas:

- MCF-7 (ATCC: HTB-22, células epiteliales de adenocarcinoma de mama humano).
- PC-3 (ATCC: CRL-1435, adenocarcinoma de próstata).
- A549 (ATCC: CCL-185, línea celular epitelial adenocarcinomatosa humana).

Las condiciones de cultivo para las líneas celulares fueron las siguientes: 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5% en medio de cultivo DMEM (para las células Vero, MCF-7 y A549) y medio de cultivo RPMI (para las células PC-3), ambos suplementados con 10% de suero fetal bovino (Gibco®) y 1% de antibiótico (estreptomicina/penicilina, Sigma-Aldrich®).

4.3.2 Conteo celular

Se realizó a través de la cámara de Neubauer, donde, alcanzado aproximadamente el 80% de confluencia en la monocapa, se retiró el medio y se lavó dos veces con 3 mL de solución de buffer de fosfatos (PBS). Luego, se añadieron 500 µL de tripsina-EDTA al 0.25% y se dejó actuar durante 5 minutos en incubación bajo las condiciones previamente mencionadas. Posteriormente, se agregó 1 mL de medio para inactivar la tripsina y, con este mismo medio, se resuspendieron las células para centrifugar a 1300 rpm por 10 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se añadieron 5 mL de medio al precipitado celular que quedaron en el fondo. De esta suspensión, se tomaron 10 µL para realizar un conteo en la cámara de Neubauer y calcular la densidad necesaria para generar una suspensión celular de 5000 células por mL.

4.3.3 Técnica MTT

Para las pruebas de citotoxicidad por el método de MTT, se realizó la tripsinización y conteo celular a partir de cultivos con un 80% de confluencia. Se sembraron 5000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos, la cual se incubó a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5% por 24 h. Posteriormente, se realizó su tratamiento en concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50 y 100

μg/mL para los compuestos ASF, AE1 y ASN; 1.5, 3.125, 6.25, 12.5, 25 y 50 μg/mL para el compuesto ASHY y 0.001, 0.01, 0.1, 1 y 10 μg/mL para Belinostat de acuerdo con un primer screening de los compuestos. Como control negativo se utilizaron células sin tratamiento y células con 0.5 % de DMSO. Al término de una incubación de 24 h a 37 °C y 5% de CO₂, se procedió a retirar el medio de cultivo y se colocaron 100 μl/pocillo de medio nuevo al 10% de MTT, se incubó por 1 h a 37 °C, 5% de CO₂. Después, se retiró el medio y se agregaron 100 μl/pocillo de isopropanol para disolver los cristales de formazán, se homogenizó y se realizó la lectura a 550 nm en un lector de microplacas de ELISA [48].

Primero se hizo el cálculo de la viabilidad celular **ecuación 1** que es la proporción de células vivas y presentes en una muestra.

$$\% \text{ Viabilidad celular} = \frac{\# \text{ de células con tratamiento}}{\# \text{ de células sin tratamiento}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1. Cálculo de viabilidad.}$$

La citotoxicidad se determinó de acuerdo a la **ecuación 2** como: la resta del 100% de viabilidad menos el porcentaje de viabilidad generado por los compuestos evaluados, ya que el porcentaje de viabilidad es inversamente proporcional a la citotoxicidad.

$$\% \text{ Citotoxicidad} = 100 - \% \text{ Viabilidad celular} \quad \text{Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de citotoxicidad celular.}$$

Para el cálculo del IC₅₀ (Concentración Inhibitoria Media) utilizamos la **ecuación 3** debido a que las concentraciones evaluadas corresponden a una serie de diluciones, estas no aumentan de forma lineal, sino por un factor constante, como al doble o diez veces entre cada punto experimental. Por esta razón, el IC₅₀ se estimó mediante interpolación semilogarítmica entre los dos puntos que rodearon el 50% de viabilidad celular, considerando el logaritmo decimal de la concentración como variable independiente. Este enfoque es más adecuado desde el punto de vista farmacológico, ya que la respuesta biológica frente a compuestos citotóxicos suele relacionarse de manera más proporcional con cambios logarítmicos de concentración que con incrementos lineales absolutos. Además, la relación concentración–respuesta generalmente presenta un comportamiento sigmoidal cuando se grafica contra la concentración normal, pero en la zona media de la curva, donde se localiza el IC₅₀, tiende a comportarse de forma casi lineal cuando se representa frente a log C. Por lo tanto, el valor de

IC₅₀ se calculó interpolando el 50% de viabilidad sobre la recta definida por los dos puntos experimentales adyacentes en escala logarítmica [49].

$$\log_{10}(IC_{50}) = \log_{10}(C_1) + \frac{50 - Y_1}{Y_2 - Y_1} [\log_{10}(C_2) - \log_{10}(C_1)]$$

*Ecuación 3. Cálculo del IC₅₀
(Concentración Inhibitoria Media).*

Para determinar la seguridad *in vitro* de un compuesto, una herramienta útil es el Índice de Selectividad (IS, **ecuación 4**) el cual indica la capacidad de una molécula o extracto para eliminar células patógenas (células cancerosas o virus) sin causar daño a las células sanas [50].

$$\text{Índice de selectividad} = \frac{IC_{50} \text{ célula normal}}{IC_{50} \text{ en célula tumoral}}$$

Ecuación 4. Índice de Selectividad

Análisis estadístico: Cada tratamiento se realizó por triplicado técnico y el experimento se repitió en tres ensayos independientes. Los resultados se expresaron como media $\pm$ desviación estándar (DS) y se analizaron mediante la prueba estadística correspondiente, considerando diferencias significativas con un valor de $p < 0.05$.

4.4 Diseño *in silico*.

La metodología para el estudio de docking molecular inició con el diseño de las moléculas en ChemDraw, posteriormente fueron exportadas en formato compatible y convertidas a estructuras tridimensionales, para después ser sometidas a minimización energética en UCSF Chimera, con el objetivo de obtener conformaciones geométricamente estables antes del acoplamiento. Las proteínas blanco-correspondientes a distintas isoformas de HDAC fueron obtenidas desde el Protein Data Bank en formato PDB (HDAC3:4A69, HDAC6:E5FN, HDAC8:5D1D) y preparadas en Chimera mediante la eliminación de moléculas de agua, ligandos co-cristalizados y cadenas no necesarias, conservando el ion Zn²⁺ catalítico debido a su importancia en el mecanismo de inhibición de histona desacetilasas. Posteriormente, se agregaron hidrógenos polares, se asignaron cargas parciales y se corrigieron posibles inconsistencias estructurales. Tanto los ligandos como las proteínas fueron convertidos al formato PDBQT para su uso en AutoDock 4.2. El sitio de acoplamiento fue definido mediante una caja de búsqueda centrada en la cavidad catalítica de HDAC, incluyendo el

canal hidrofóbico y la región próxima al Zn^{2+} (50x50x50 ejes x,y,z). El docking se realizó generando múltiples corridas (50) para cada ligando, las cuales fueron evaluadas de acuerdo con su energía de unión, orientación dentro del sitio activo, proximidad al zinc y presencia de interacciones relevantes con residuos catalíticos. Los archivos de salida, incluyendo los. dlgs, fueron analizados para seleccionar las conformaciones más favorables. Finalmente, las mejores poses fueron visualizadas y comparadas con inhibidores de referencia como Belinostat, tomando en cuenta la conservación de elementos farmacofóricos como el grupo aromático superficial, el linker y el grupo terminal capaz de interactuar con el sitio catalítico. Esta metodología permitió interpretar de manera racional la posible afinidad de las moléculas hacia HDAC y relacionar los resultados computacionales con su potencial actividad biológica.

4.5 Disposición de residuos

La disposición de los residuos generados en este proyecto de investigación se llevó a cabo conforme al Reglamento Interno de Seguridad e Higiene de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Los cultivos utilizados fueron esterilizados a 121 °C por 15 minutos y procesados como residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI).

Colector A: Soluciones salinas pH= 6-8.
Soluciones de sales inorgánicas, ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos y sales inorgánicas.

Colector B: Sólidos inorgánicos, sales inorgánicas.

Colector C: Tóxicos e inflamables, combinaciones orgánicas no halogenadas líquidas, bases orgánicas y aminas, disolventes orgánicos no halogenados.

Colector D: Tóxicos e inflamables, combinaciones orgánicas halogenadas

líquidas, bases orgánicas y aminas, disolventes orgánicos halogenados.

Colector E orgánico: Muy tóxico, cancerígeno orgánico.

Colector F: Sales de metales preciosos.

Colector H: Oxidantes.

Recipiente de vidrio impregnado de sustancias peligrosas.

Recipiente de plásticos impregnados con sustancias peligrosas.

Recipiente de basura industrial.

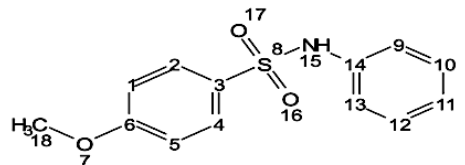
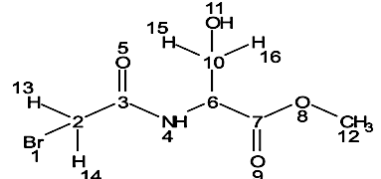
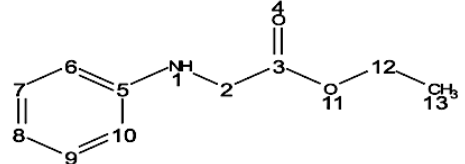
Capítulo V

Resultados y discusión

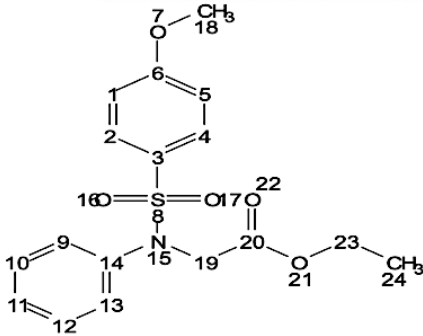
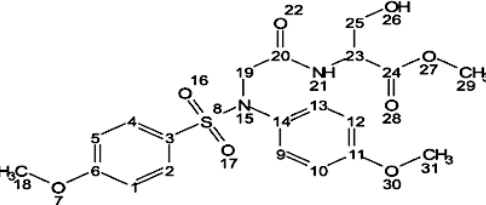
El enfoque empleado por este proyecto corresponde a un multi-parameter hit expansion, en el cual, durante etapas tempranas del diseño, se priorizó la generación de diversidad estructural sobre la modificación sistemática univariable. En este contexto, se diseñó una serie de análogos mediante la introducción de modificaciones simultáneas en múltiples regiones estructurales, con el objetivo de explorar de manera amplia el espacio químico y evaluar tendencias iniciales de actividad biológica, permitiendo así identificar regiones químicas de interés para el desarrollo de estudios de relación estructura-actividad (SAR) más refinados en etapas posteriores.

La síntesis de las moléculas se llevó a cabo mediante una estrategia secuencial como se mencionó previamente basada en la activación de intermediarios carboxílicos y su posterior reacción con aminas o aminoalcoholes para obtener los derivados correspondientes, los cuales se caracterizaron mediante resonancia magnética nuclear (RMN) ^1H y ^{13}C . Esta ruta permitió incorporar distintos grupos funcionales de interés y generar una serie de compuestos estructuralmente relacionados, con variaciones químicas dirigidas a evaluar su posible actividad biológica, en la **tabla 4** se muestran las propiedades físicas, espectroscópicas y rendimiento de los compuestos obtenidos.

Tabla 4. Propiedades físicas, espectroscópicas y rendimiento de los compuestos obtenidos.

Nombre	Masa y aspecto	% de rendimiento	Señales de RMN ¹ H	Señales de RMN ¹³ C
4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida 	284 mg, aceite translucido con un ligero color amarillo claro.	89	500 MHz, CDCl₃: δ 7.73 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}, 2-4), 7.29 – 7.24 (dd, J=8.9, 1.2, 2H, H_{arom}, 9-13), 7.15 – 7.11 (m, 1H, H_{arom}, 11), 7.09 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, 2H, H_{arom}, 10-12), 6.91 (d, J = 9.0 Hz, 2H, H_{arom}, 1-5), 3.84 (s, 3H, OCH₃, 18).	126 MHz, CDCl₃: δ 163.34 (C6), 136.80 (C14), 130.83 (C3), 129.64 (C10 y C12), 129.53 (C2 y C4), 125.55 (C11), 121.86 (C9 y C13), 114.38 (C1 y C5), 55.78 (C18).
Metil (2-bromoacetil)-L-serinato 	242 mg, aceite translucido.	78.42	500 MHz, MeOD: δ 4.52 (t, J = 4.35Hz, 1H, CHNH 6), 3.94 (s, 2H, CH₂Br, 13-14), 3.86 (dd, J=12, 5.95, 2H, CH₂OH, 15-16), 3.76 (s, 3H, OCH₃, 12).	126 MHz, MeOD: δ 170.70 (C7), 168.22 (C3), 61.40 (C10), 55.48 (C6), 51.74 (C12), 27.32 (C2).
Fenilglicinato de etilo 	180 mg aceite color amarillo-ámbar claro.	84.5	500 MHz, CDCl₃: δ 7.19 (dd, J = 8.45, 8.45 Hz, 2H, H_{arom}, 7-9), 6.75 (tt, J = 7.35, 1.05 Hz, 1H, H_{arom}, 8), 6.61 (dd, J = 8.7, 1Hz, 2H, H_{arom}, 6-10), 4.27 (s, 1H, NH, 1), 4.24 (q, J = 7.2 Hz, 2H, OCH₂, 12), 3.89 (d, J = 5.1 Hz, 2H, OCCH₂, 2), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H, CH₃CH₂, 13).	126 MHz, CDCl₃ δ 171.37 (C3), 147.27 (C5), 129.54 (C7 y C9), 118.42 (C8), 113.24 (C6 y C10), 61.55 (C12), 46.10 (C2), 14.42 (C13).

Continuación tabla 4.

<i>N</i>-((4-metoxifenil)sulfonyl)-<i>N</i>-fenilglicinato de etilo 	111.23 mg, aceite amarillo.	83.82	600 MHz, CDCl₃: δ 7.59 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}, 2-4), 7.28 – 7.24 (m, 3H, H_{arom}, 10-11-12), 7.18 (dd, J = 7.9, 1.9 Hz, 2H, H_{arom}, 9-13), 6.89 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}, 1-5), 4.38 (s, 2H NCH₂, 19), 4.13 (q, J = 7.1 Hz, 2H, OCCH₂, 23), 3.84 (s, 3H, OCH₃, 18), 1.20 (t, J = 7.1 Hz, 3H CH₃CH₂, 24).	151 MHz, CDCl₃: δ 169.01 (C20), 163.17 (C6), 140.07 (C14), 130.66 (C3), 130.14 (C10 y C12), 129.30 (C2 y C4), 128.88 (C9 y C13), 128.25 (C11), 114.00 (C1 y C5), 61.59 (C23), 55.71 (C18), 52.87 (C19), 14.20 (C24).
<i>N</i>-(4-metoxifenil)-<i>N</i>-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo 	498.2 mg aceite color café claro.	95	500 MHz, CDCl₃: δ 7.60 (m, 1H, NH, 21), 7.54 (d, J = 8.86 Hz, 2H, H_{arom}, 2-4), 7.06 (d, J = 9.0 Hz, 2H, H_{arom}, 9-13), 6.96 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}, 1-5), 6.85 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H_{arom}, 10-12), 4.65 (dt, J = 7.2, 3.4 Hz, 1H, CHNH, 23), 4.24, 4.11 (dd, J = 12, 5.95 Hz, 2H, CH₂OH, 25), 3.98 (d = 3.4 Hz, 2H, CH₂N, 19), 3.90 (s, 3H, OCH₃, 18), 3.82 (s, 3H, OCH₃, 29), 3.81 (s, 3H, OCH₃, 31),	126 MHz, CDCl₃: δ 170.59 (C24), 168.32 (C20), 163.79 (C6), 159.67 (C11), 132.69 (C14), 130.55 (C2 y C4), 129.55 (C9 y C13), 127.88 (C3), 114.73 (C10 y C12), 114.41 (C1 y C5), 63.19 (C25), 55.89 (C19), 55.69 (C18), 55.24 (C31), 55.14, (C23), 53.07 (C29).

4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida

En el espectro de RMN de ^1H de la 4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida **figura 11**, muestra seis señales en la región aromática y alifática que permiten proponer una estructura con dos anillos aromáticos diferentemente sustituidos. La presencia de un doblete a δ 7.73 ppm ($J = 8.9$ Hz, 2H) y otro a δ 6.91 ppm ($J = 9.0$ Hz, 2H), ambos con integración para dos protones y constantes de acoplamiento orto idénticas, es característica de un sistema aromático para-disustituido con patrón AA'BB', donde los dos grupos sustituyentes generan entornos electrónicos claramente distintos: uno fuertemente electroatractor, responsable del desapantallamiento a δ 7.73 ppm, y otro donador de electrones, que desplaza la señal a δ 6.91 ppm a campo más alto. Este patrón es consistente con un anillo 1,4-disustituido portador de un grupo sulfonilo y un grupo metoxilo. Por otro lado, las señales a δ 7.29–7.24 ppm (2H), δ 7.15–7.11 ppm (1H) y δ 7.09 ppm (2H) conforman un patrón de cinco protones aromáticos distribuidos en una proporción 2:1:2, característico de un anillo fenilo monosustituido. La integración total de diez protones aromáticos indica la presencia de dos anillos bencénicos en la molécula. La señal a δ 3.84 ppm (s, 3H) se asigna inequívocamente a un grupo metoxilo aromático ($-\text{OCH}_3$), cuyo singulete estrecho confirma la ausencia de protones vecinos acoplables. En el espectro de RMN de ^{13}C **figura 12**, confirma la propuesta estructural. Se observan nueve señales de carbono, consistentes con una molécula que posee un plano de simetría que hace equivalentes por pares a varios carbonos aromáticos. La señal a δ 163.34 ppm corresponde a un carbono aromático sustituido con oxígeno ($\text{C}-\text{OCH}_3$), valor diagnóstico para carbonos ipso de anillos metoxifenilo. A δ 136.80 ppm aparece otro carbono aromático cuaternario, asignable al carbono ipso del anillo fenilo unido al nitrógeno, desapantallado por el efecto del átomo de nitrógeno. Las señales entre δ 125–131 ppm agrupan los carbonos aromáticos CH de ambos anillos, mientras que la señal a δ 114.38 ppm (C1 y C5) evidencia la alta densidad electrónica en las posiciones orto al metoxilo. La señal a δ 55.78 ppm confirma la presencia del grupo $-\text{OCH}_3$. La cantidad reducida de señales de carbono respecto al número total de átomos presentes en la molécula se explica por la equivalencia química de varios carbonos, particularmente en el anillo aromático para-disustituido.

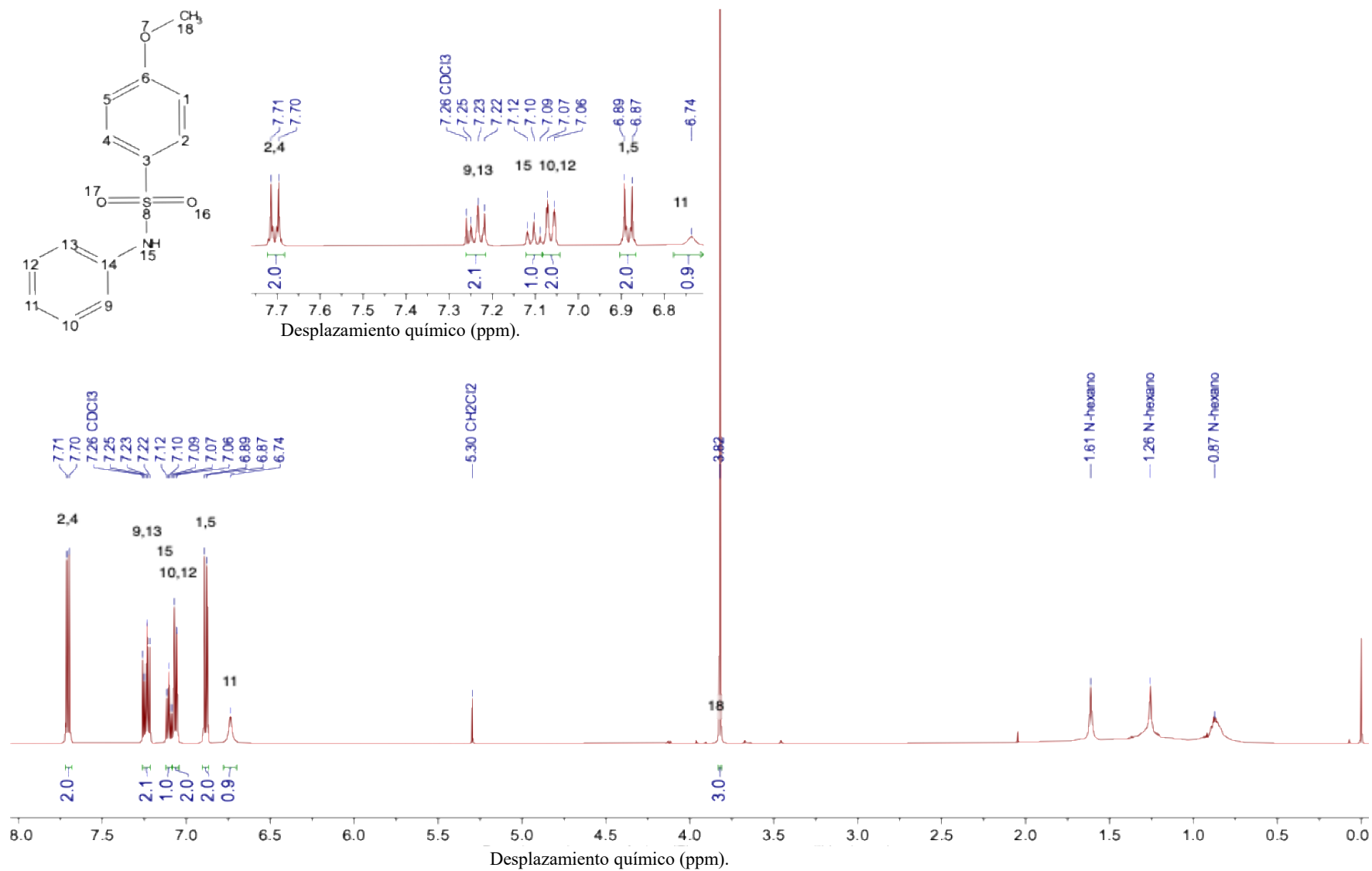


Figura 11. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), 4-metoxi-N-fenilbencenosulfonamida.

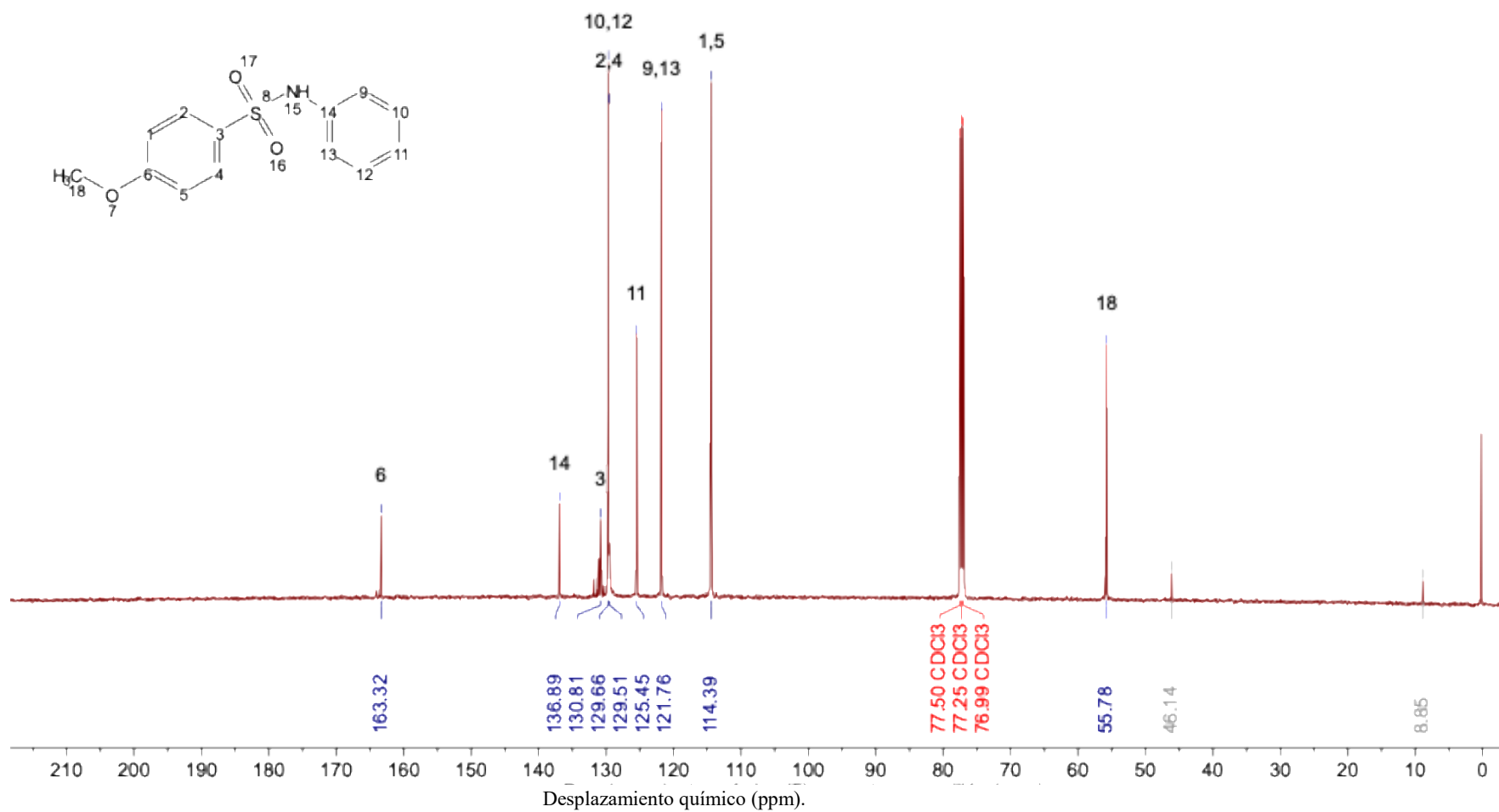


Figura 12. RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) 4-metoxi-*N*-fenilbencenosulfonamida.

Metil (2-bromoacetil)-L-serinato

En el espectro de RMN de ^1H registrado a 500 MHz en MeOD **figura 13** muestra cuatro señales de protón asignables a la molécula. La señal a δ 4.52 ppm (t, $J = 4.35$ Hz, 1H) indica un protón metínico (CH) con un único vecino magnéticamente equivalente o dos vecinos con constantes similares, desplazado a campo bajo por encontrarse simultáneamente en alfa a un carbonilo y unido a un heteroátomo, lo que sugiere un fragmento $-\text{NH}-\text{CH}(\text{R})-$. A δ 3.94 ppm aparece un singlete para dos protones (CH_2), cuya falta de acoplamiento vecinal indica que este metileno no tiene protones adyacentes; el desplazamiento a campo relativamente bajo sugiere la presencia de un sustituyente fuertemente electroatractor, compatible con un átomo de bromo y proximidad a un carbonilo, lo que permite postular el fragmento $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{Br}$. La señal a δ 3.86 ppm (dd, $J = 12, 5.95$ Hz, 2H) corresponde a dos protones diastereotópicos de un $-\text{CH}_2-$ próximo a un centro quiral, con acoplamiento geminal ($J = 12$ Hz) y vicinal con un CH adyacente ($J = 5.95$ Hz); este patrón es consistente con un grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ en un sistema quiral. A δ 3.76 ppm el singlete de tres protones confirma la presencia de un grupo éster metílico ($-\text{COOCH}_3$). Cabe señalar que la señal a δ 3.31 ppm corresponde a la señal residual del solvente MeOD y no a un protón molecular. En el espectro de RMN de ^{13}C **figura 14** registrado a 126 MHz en MeOD, muestra seis carbonos. Las señales a δ 170.70 y 168.22 ppm corresponden a dos carbonos carbonílicos: el primero, más desprotegido, al éster metílico, y el segundo a una amida, cuyo apantallamiento relativo es típico de este grupo funcional. A δ 61.40 ppm aparece un carbono unido a oxígeno ($-\text{CH}_2\text{OH}$), y a δ 55.48 ppm un carbono alfa al nitrógeno y al carbonilo ($-\text{CH}-\text{NH}-$). El carbono del metoxilo del éster resuena a δ 51.74 ppm, y a δ 27.32 ppm el $-\text{CH}_2\text{Br}$, cuyo desplazamiento refleja el efecto combinado del bromo y el carbonilo adyacente. En conjunto, los datos espectroscópicos son consistentes con una molécula que contiene un fragmento de serina esterificada como metil éster, acilada en el nitrógeno con un grupo bromoacetilo, lo que permite proponer la estructura del metil (2-bromoacetil)-L-serinato.

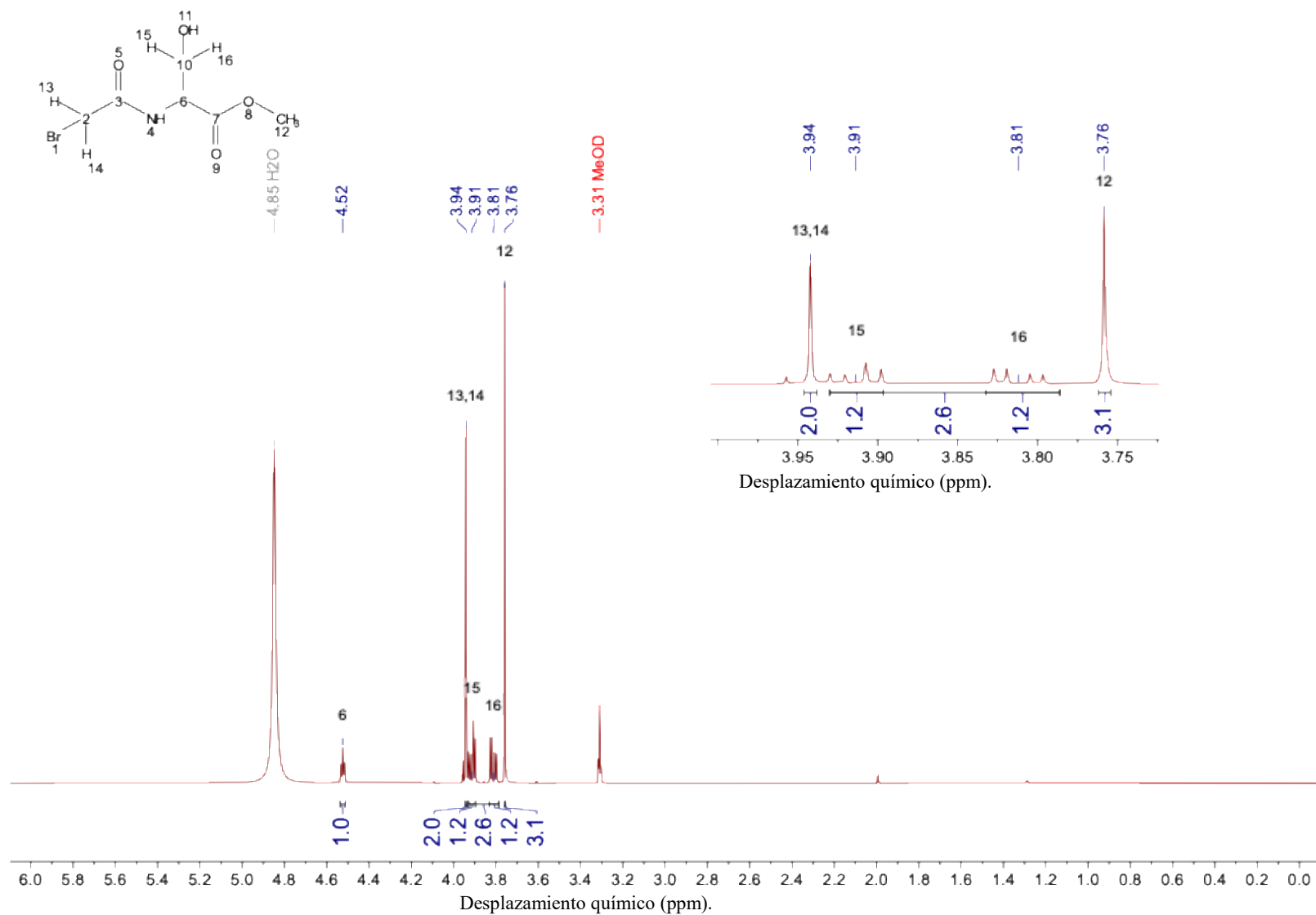


Figura 13. RMN ¹H (500 MHz, MeOD) metil (2-bromoacetil)-L-serinato.

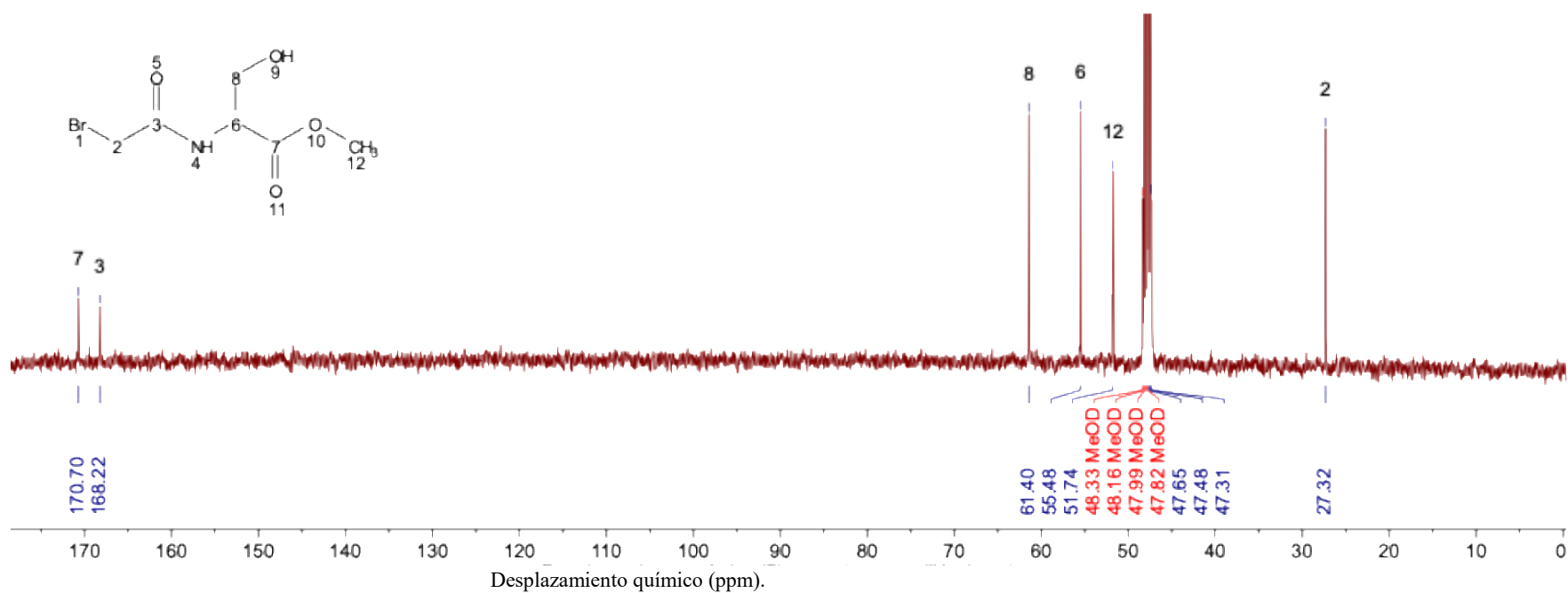


Figura 14. RMN ¹³C (126 MHz, MeOD) metil (2-bromoacetil)-*L*-serinato.

Fenilglicinato de etilo

En el espectro de RMN de ^1H del fenilglicinato de etilo, registrado a 500 MHz en CDCl_3 **figura 15**, permite identificar tres regiones de señales. En la región aromática, los protones resuenan en un patrón de 2:1:2 (δ 7.19, 6.75 y 6.61 ppm), sumando cinco protones aromáticos totales, lo que indica un anillo fenilo monosustituido. Sin embargo, el desplazamiento marcadamente a campo alto de los protones en δ 6.61 ppm (H en posición orto al sustituyente) respecto a los valores típicos de benceno simple ($\sim\delta$ 7.3 ppm) señala inequívocamente la presencia de un sustituyente fuertemente donador de electrones por resonancia en el anillo, siendo el grupo amino ($-\text{NH}-$) el candidato más consistente. La señal ancha a δ 4.27 ppm (s, 1H) confirma la presencia del protón NH de una amina secundaria aromática. A δ 4.24 ppm el cuadruplete ($J = 7.2$ Hz, 2H) y a δ 1.29 ppm el triplete ($J = 7.2$ Hz, 3H) constituyen el patrón inequívoco de un grupo etilo de éster ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), donde la constante de acoplamiento y la relación de integración 2:3 son diagnósticas. La señal a δ 3.89 ppm (d, $J = 5.1$ Hz, 2H) corresponde a un $-\text{CH}_2-$ acoplado con un único protón vecino, ubicado entre el nitrógeno y el grupo carbonilo, postulándose el fragmento $\text{Ph}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOEt}$.

En el espectro de RMN de ^{13}C , registrado a 126 MHz en CDCl_3 **figura 16**, muestra ocho señales. A δ 171.37 ppm el carbonilo del éster y a δ 147.27 ppm el carbono ipso del anillo unido al nitrógeno, este último muy desapantallado respecto a un carbono ipso típico ($\sim\delta$ 128 ppm), lo que confirma la presencia del amino directamente sobre el anillo. Los carbonos CH aromáticos a δ 129.54, 118.42 y 113.24 ppm reflejan el gradiente de densidad electrónica generado por el grupo amino: las posiciones meta (129.54 ppm) son las menos afectadas, mientras que las posiciones orto y para (113.24 ppm) muestran el mayor apantallamiento. A δ 61.55 ppm el $-\text{OCH}_2-$ del éster, a δ 46.10 ppm el $-\text{CH}_2-$ entre el nitrógeno y el carbonilo (valor típico para $\text{N}-\text{CH}_2$ de glicina), y a δ 14.42 ppm el $-\text{CH}_3$ del etilo.

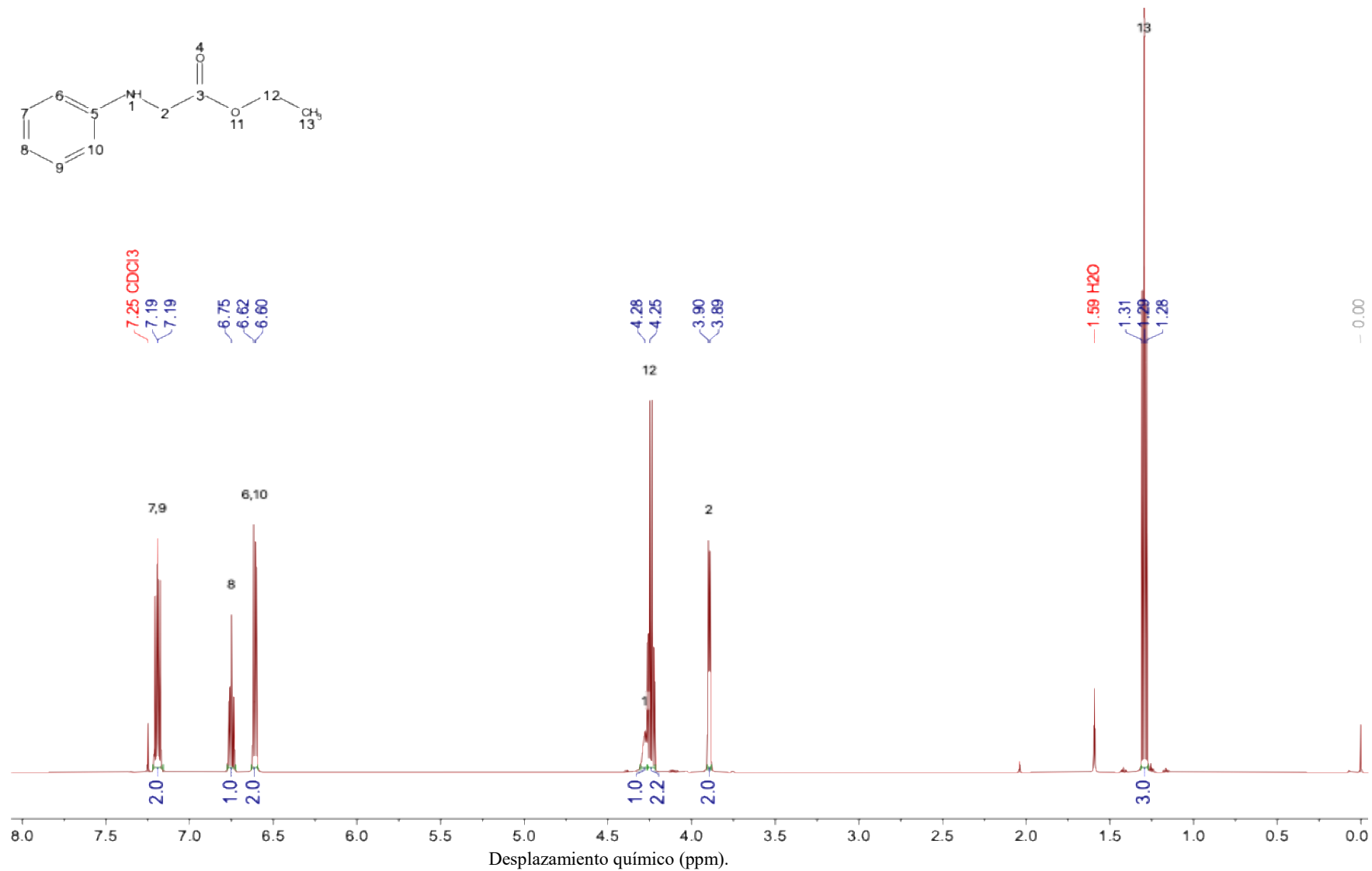


Figura 15. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) fenilglicinato de etilo.

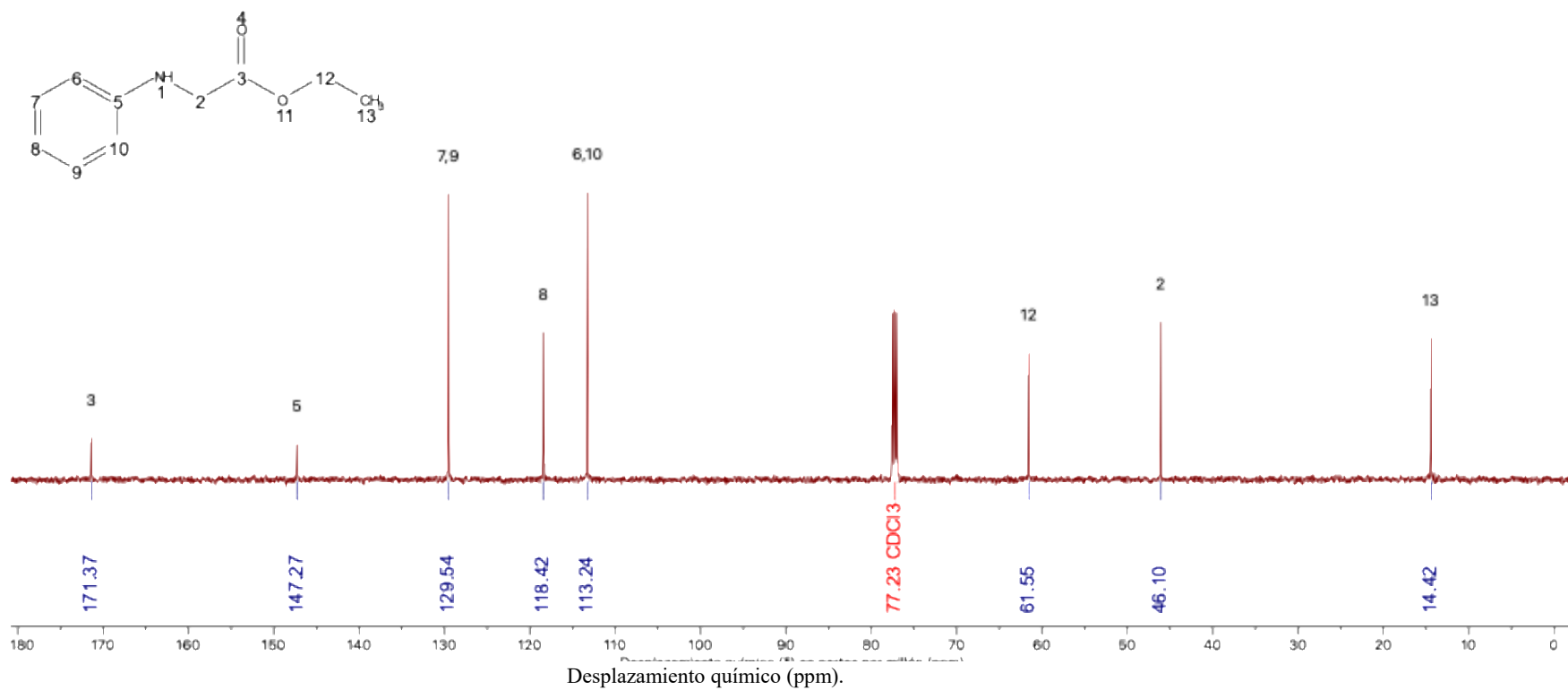


Figura 16. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) fenilglicinato de etilo.

N-((4-metoxifenil)sulfonyl)-N-fenilglicinato de etilo

En el espectro de RMN de ^1H del *N-((4-metoxifenil)sulfonyl)-N-fenilglicinato de etilo*, registrado a 600 MHz en CDCl_3 **figura 17**, muestra nueve señales que revelan una molécula de mayor complejidad. En la región aromática se observan cuatro grupos de señales: un doblete a δ 7.59 ppm ($J = 8.9$ Hz, 2H) y otro a δ 6.89 ppm ($J = 8.9$ Hz, 2H) que, por su patrón AA'BB' y la diferencia de desplazamiento, indican un anillo para-disustituido con un grupo electroatractor y uno donador, compatible con el fragmento 4-metoxifenilsulfonyl. Las señales entre δ 7.28–7.18 ppm, integrando para cinco protones en patrón 3:2, corresponden a un anillo fenilo monosustituido. La total ausencia de señal de NH en el espectro, a diferencia del compuesto 3, indica que el nitrógeno ha perdido su protón lábil, es decir, es ahora un nitrógeno terciario. Esto sugiere que tanto el grupo sulfonyl como el fragmento glicinato se encuentran sobre el mismo nitrógeno, formando una sulfonamida N-sustituida. El singulete a δ 4.38 ppm (2H) para un $-\text{NCH}_2-$ sin protones vecinos acoplables confirma el fragmento $-\text{N}(\text{SO}_2\text{Ar})-\text{CH}_2-\text{COO}-$. El cuádruplete a δ 4.13 ppm ($J = 7.1$ Hz) y el triplete a δ 1.20 ppm ($J = 7.1$ Hz) son el patrón diagnóstico del éster etílico. El singulete a δ 3.84 ppm (3H) confirma el $-\text{OCH}_3$ del anillo aromático. En el espectro de RMN de ^{13}C **figura 18**, muestra trece señales se observó la señal carbonílica del éster a δ 169.01 ppm, junto con la señal a δ 163.17 ppm correspondiente al carbono aromático unido al grupo metoxi. Las señales aromáticas entre δ 140.07 y 114.00 ppm confirmaron la presencia de ambos anillos. Finalmente, las señales a δ 61.59, 55.71, 52.87 y 14.20 ppm correspondieron al OCH_2 , OCH_3 , NCH_2 y CH_3 del grupo etoxi. La desaparición de la señal NH observada en el precursor y la presencia del grupo NCH_2 junto con el patrón aromático del anillo sulfonylado confirman la formación del producto sulfonamídico propuesto.

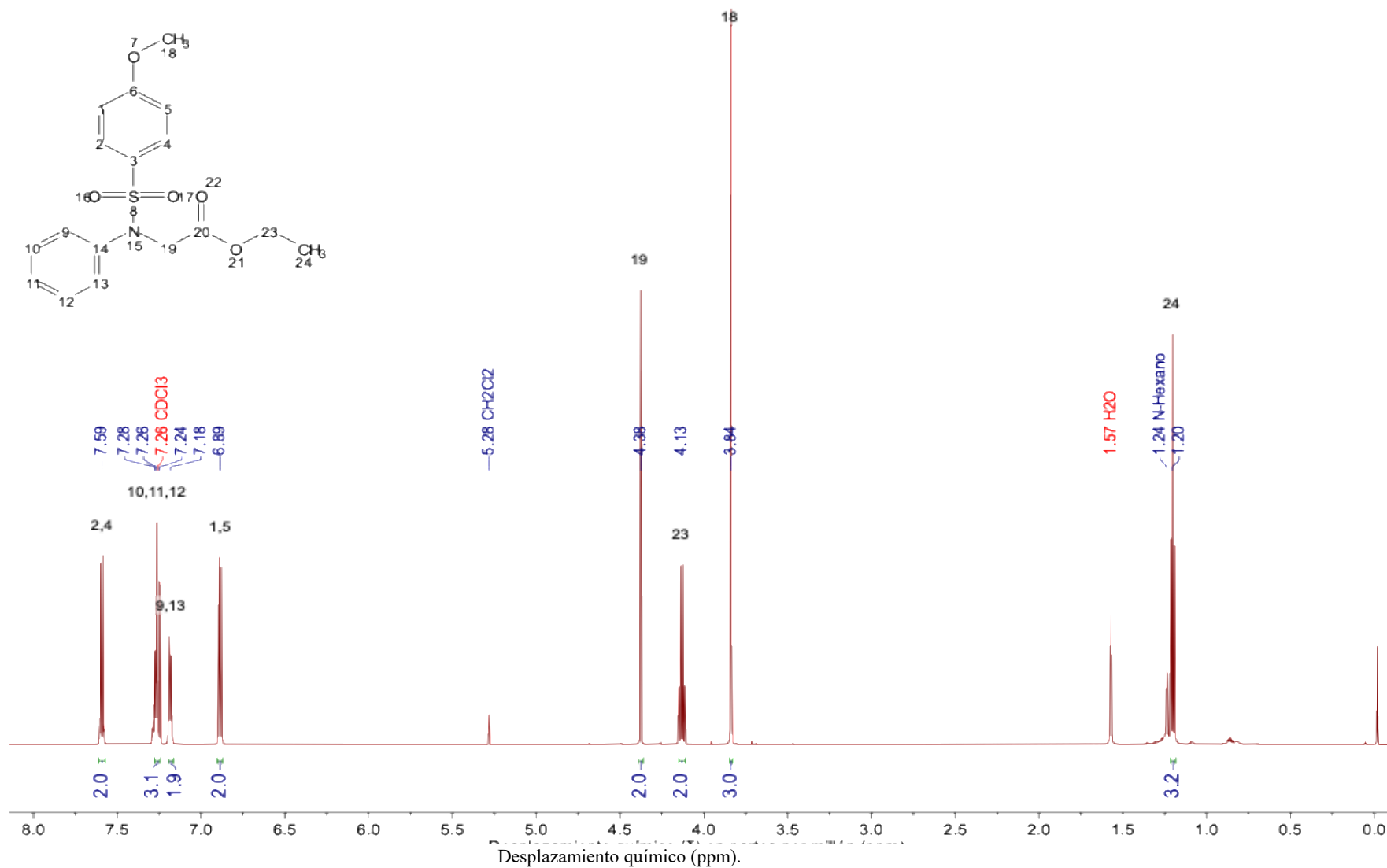


Figura 17. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) *N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)-*N*-fenilglicinato de etilo.

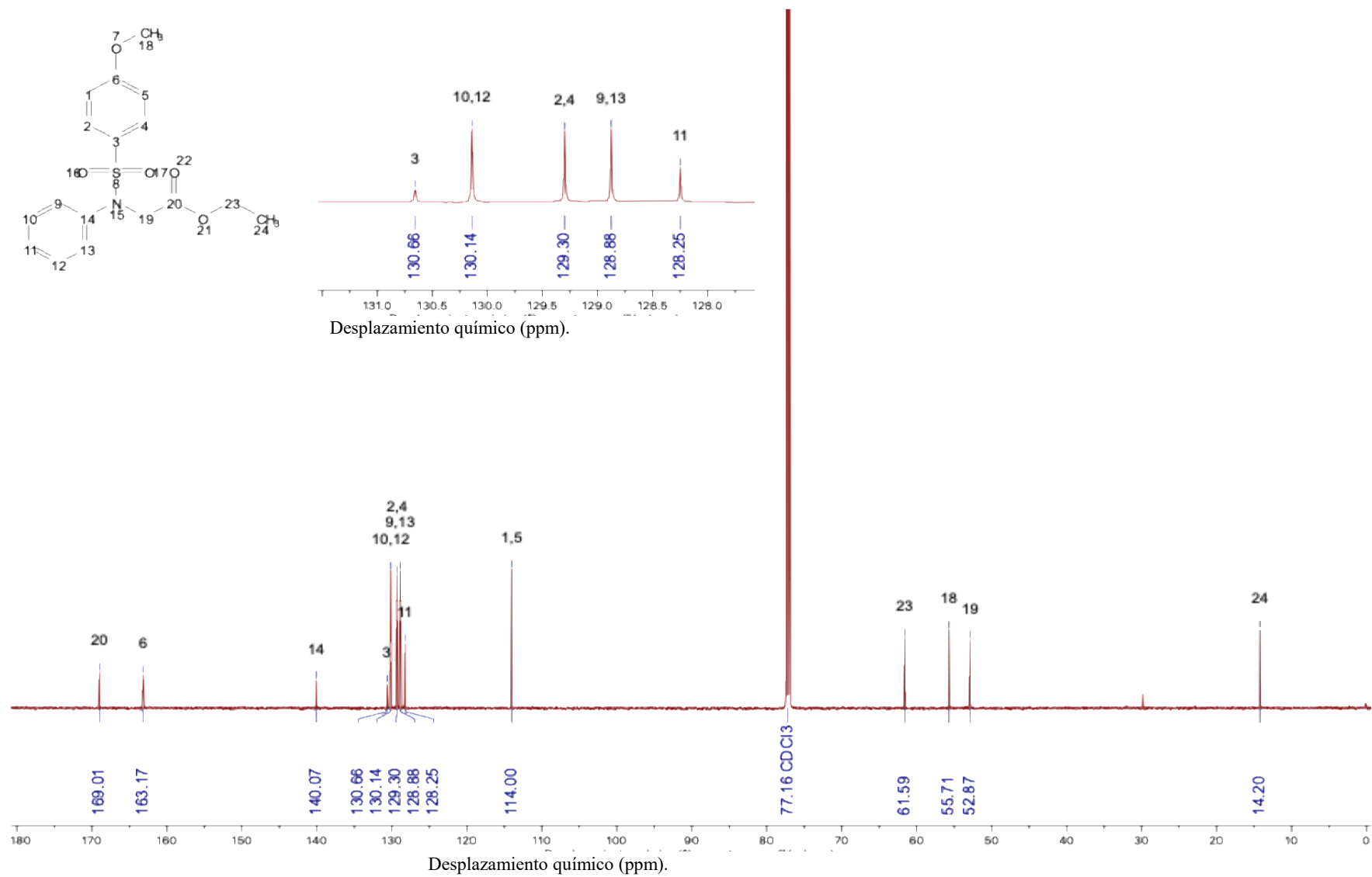


Figura 18. RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) *N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)-*N*-fenilglicinato de etilo.

N-(4-metoxifenil)-*N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo.

En el espectro de RMN de ^1H del *N*-(4-metoxifenil)-*N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo, registrado a 500 MHz en CDCl_3 **figura 19**, en la región aromática se observan cuatro dobletes (δ 7.54, 7.06, 6.96 y 6.85 ppm), cada uno con integración para dos protones y constantes de acoplamiento orto características ($J \approx 8.9$ Hz), lo que establece la presencia de dos anillos para-disustituídos independientes con el patrón AA'BB'. Los desplazamientos de cada par revelan sus entornos: los protones a mayor campo (δ 6.96 y 6.85 ppm) están adyacentes a grupos metoxilo, mientras que los más desprotegidos (δ 7.54 y 7.06 ppm) se ubican cerca de grupos electroattractores como el sulfonylo o la amida. La señal a δ 7.60 ppm (m, 1H) corresponde al protón NH de una amida secundaria, cuyo desplazamiento a campo bajo es característico de este tipo de enlace. A δ 4.65 ppm el doble triplete ($J = 7.2, 3.4$ Hz, 1H) indica un protón metínico acoplado con dos grupos de vecinos magnéticamente distintos, compatible con el fragmento $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})-\text{COO}-$, es decir, el residuo de serina. Los protones diastereotópicos a δ 4.24 y 4.11 ppm (dd, $J = 12, 5.95$ Hz, 2H) con acoplamiento geminal de 12 Hz confirman el $-\text{CH}_2\text{OH}$ del residuo de serina en un entorno quiral. El doblete a δ 3.98 ppm (2H) para el $-\text{CH}_2\text{N}-$ entre el fragmento glicinilo y el nitrógeno es análogo al observado en los compuestos precedentes. La presencia de tres singuletes de tres protones cada uno a δ 3.90, 3.82 y 3.81 ppm indica tres grupos metoxilo con entornos ligeramente diferenciados: dos de ellos pertenecen a los anillos aromáticos ($-\text{OCH}_3$ aromáticos) y uno al éster metílico del serinato. En el espectro de RMN de ^{13}C **figura 20**, registrado a 126 MHz en CDCl_3 , los carbonos a δ 170.59 y 168.32 ppm corresponden a los dos grupos carbonílicos de la molécula: el éster metílico del serinato y la amida del fragmento aminoácido respectivamente, diferenciados por el mayor desapantallamiento típico del éster frente a la amida. Las señales a δ 163.79 y 159.67 ppm revelan dos carbonos ipso de anillos aromáticos sustituidos con oxígeno, confirmando los dos anillos metoxifenilo. El carbono a δ 132.69 ppm corresponde al carbono ipso unido al nitrógeno sulfonylado, y los carbonos aromáticos entre δ 114–130 ppm completan los sistemas aromáticos de ambos anillos. Las señales a δ 63.19, 55.89, 55.69, 55.24, 55.14 y 53.07 ppm correspondieron al CH_2OH , los grupos metoxi, el carbono metínico de serina y el CH_2N . En conjunto, la presencia del NH amídico, los dos carbonilos, los tres grupos metoxi, el CH_2OH y los dos sistemas aromáticos para-disustituídos confirma la obtención del glicilserinato sulfonylamídico propuesto.

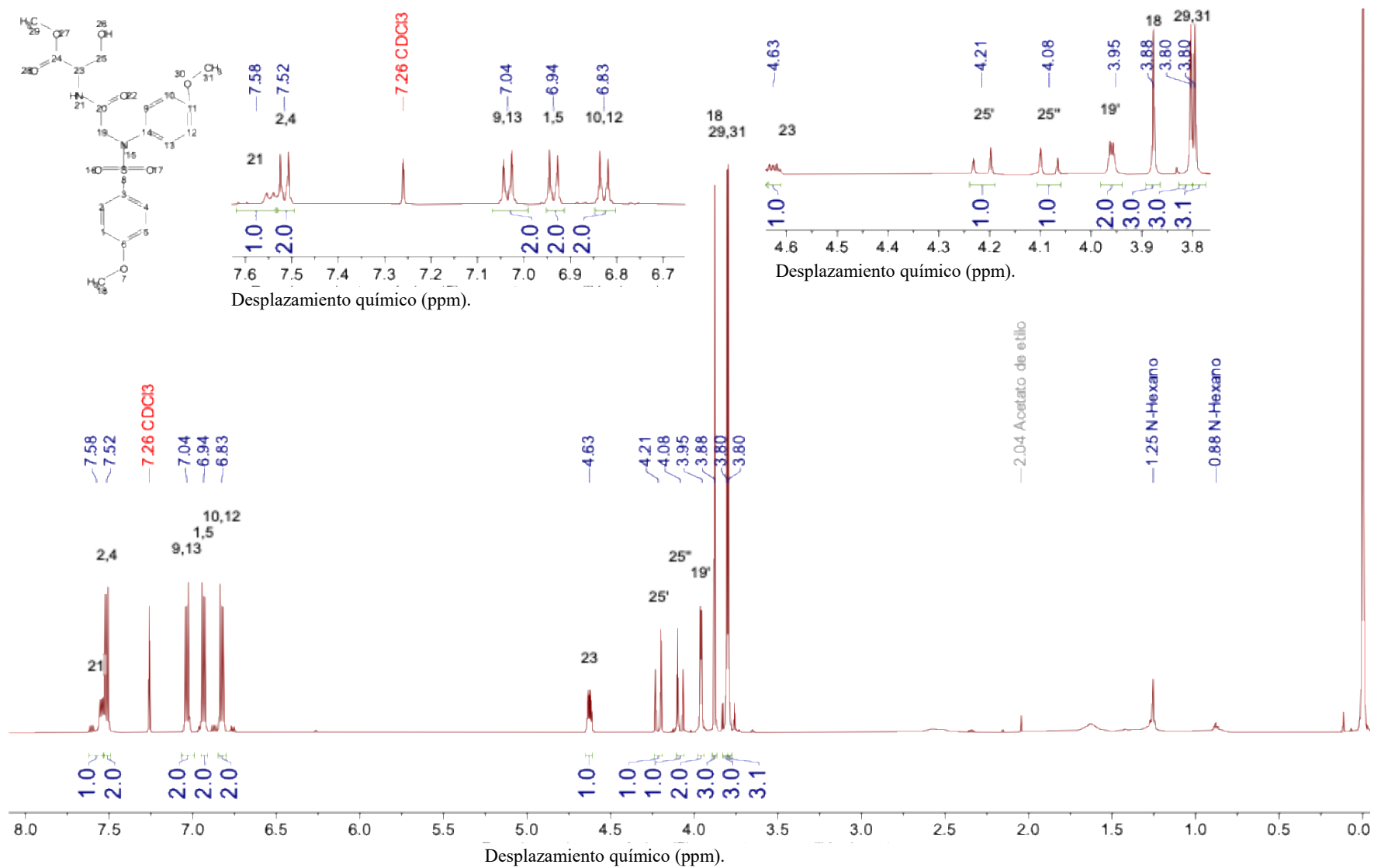


Figura 19. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) *N*-(4-metoxifenil)-*N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo.

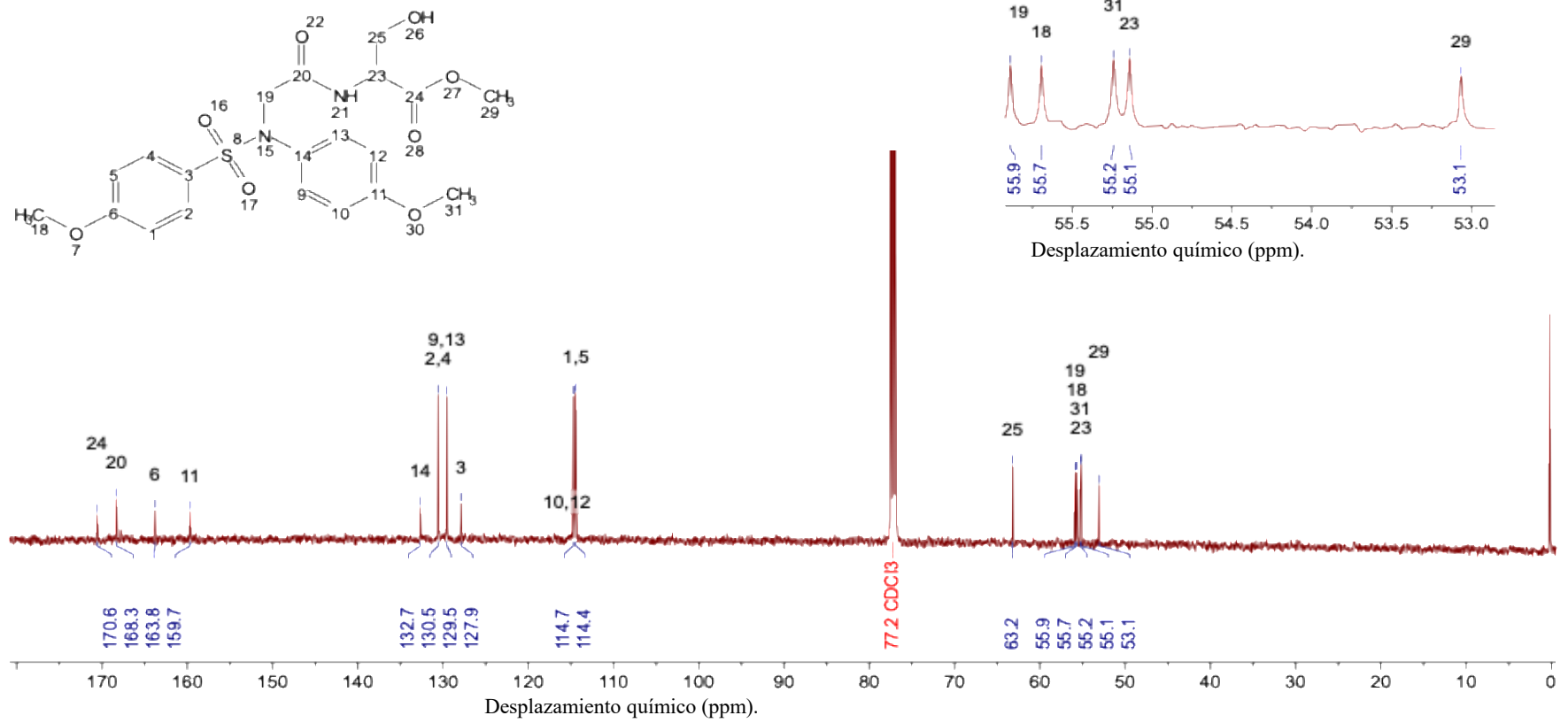


Figura 20. RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃) *N*-(4-metoxifenil)-*N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo.

Se obtuvieron cuatro moléculas (**figura 21**) ASF, AE1, ASN y ASHY con porcentajes de rendimiento químico entre 78-95%, las cuales son derivados estructurales inspirados racionalmente en Belinostat debido a que conservan elementos farmacofóricos parciales relacionados con la arquitectura típica de inhibidores de HDAC, particularmente la presencia de sistemas aromáticos hidrofóbicos, enlaces sulfonamida y fragmentos carbonilo/ésteres capaces de modular polaridad y reconocimiento molecular. Los derivados obtenidos retienen principalmente la región “cap” sulfonamida y modifican o eliminan el zinc-binding group, permitiendo estudiar cómo la pérdida de la coordinación al metal afecta la actividad biológica.

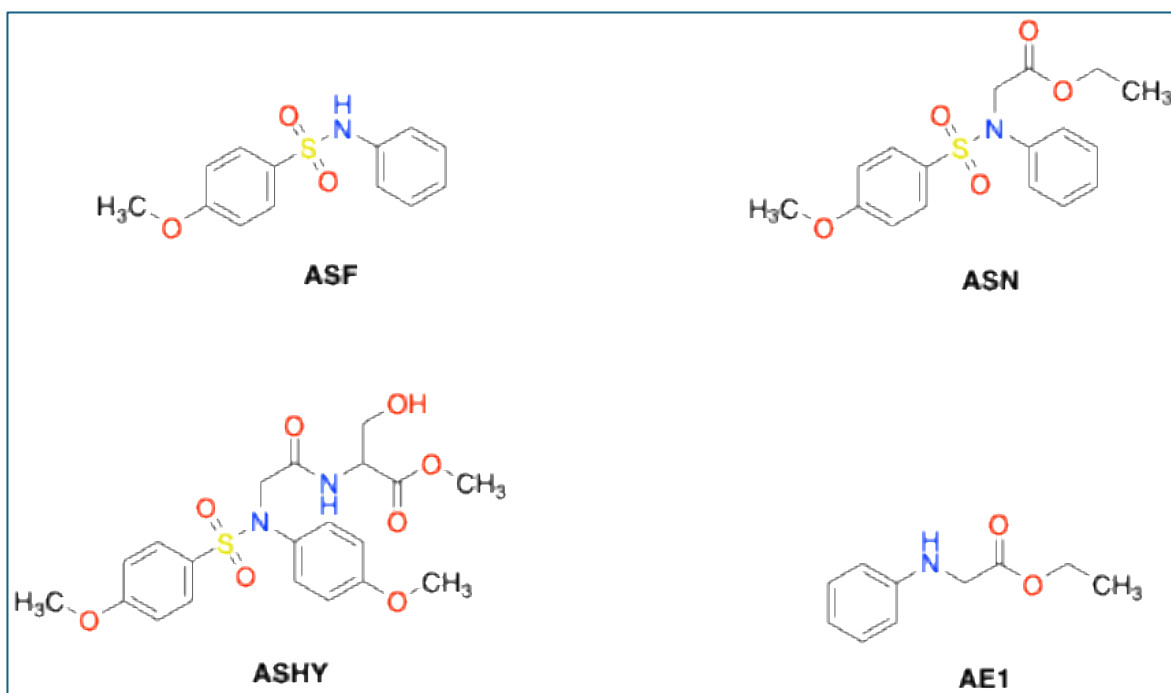


Figura 21. Moléculas objetivo finales.

Los resultados del ensayo de citotoxicidad mediante MTT (Ensayo de Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) de la **tabla 5** reflejan un comportamiento dependiente de la concentración para todos los compuestos evaluados en las líneas celulares Vero (riñón de mono verde africano/No tumoral), MCF7(cáncer de mama humano), A549 (cáncer de pulmón humano) y PC-3 (cáncer de próstata humano), evidenciado por una disminución progresiva de la viabilidad celular conforme aumenta la dosis.

Además muestran que el compuesto de referencia Belinostat, presenta una marcada actividad citotóxica, particularmente en la línea A549, donde alcanza valores de viabilidad cercanos al 6% a la concentración de 10 µg/mL, así como en MCF7, confirmando su eficacia como agente citotóxico. No obstante, también muestra efectos sobre células no tumorales (Vero) con una viabilidad celular 37.55% a la misma concentración, lo que sugiere una selectividad moderada. En comparación, el compuesto **ASF** exhibe una potente actividad citotóxica en todas las líneas celulares, alcanzando valores de viabilidad inferiores al 10% a altas concentraciones (100 µg/mL), pero con una marcada falta de selectividad a esa concentración al afectar de manera similar a células normales. Aunque cabe destacar que para la línea celular A549 a una concentración de 6.25µg/mL se redujo la viabilidad a 41.41% mientras que en línea celular Vero a la misma concentración se mantuvo en 73.33%, lo cual nos muestra un área de oportunidad donde a bajas concentraciones puede llegar a generar una selectividad media y abre una ventana de oportunidad a desarrollar trabajos a futuro de acuerdo a la especificidad celular y a la diversidad estructural sobre la modificación sistemática univariable sobre este modelo. Por otro lado, **AE1** presenta una actividad significativamente menor, manteniendo porcentajes de viabilidad (>50%) relativamente altos incluso a concentraciones elevadas (100 µg/mL), lo que indica un perfil citotóxico limitado. El compuesto **ASN** muestra un comportamiento intermedio, con una reducción considerable de la viabilidad en todas las líneas celulares a una concentración elevada (100 µg/mL) lo que sugiere poca selectividad y mostrando un perfil altamente citotóxico. Finalmente, **ASHY** destaca como el compuesto más potente del conjunto, con una drástica disminución de la viabilidad celular en líneas tumorales; sin embargo, este efecto también se extiende a células normales en concentraciones elevadas sin embargo, a una concentración de 12.5 µg/mL la viabilidad en Vero supera el 80% mientras que mantiene su actividad en A549 y PC-3 con viabilidades de 50.91 y 19.19% respectivamente. como se muestra en la **tabla 5**.

Tabla 5. Resultados evaluación de citotoxicidad por MTT.

Belinostat								
Concentración (µg/mL)	Vero		MCF7		A549		PC-3	
	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS
0.001	94.83	1.46	99.50	1.83	88.76	10.57	95.53	2.48
0.01	91.72	2.19	98.15	1.59	75.11	5.85	95.94	5.83
0.1	58.64	1.38	66.68	1.85	43.26	6.05	74.37	7.72
1	40.16	2.13	39.88	2.15	16.16	0.49	58.28	10.17
10	37.55	6.83	34.16	1.22	6.40	1.32	55.29	11.26

ASF								
Concentración (µg/mL)	Vero		MCF7		A549		PC-3	
	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS
6.25	73.33	7.13	78.08	3.49	41.41	13.23	76.14	6.00
12.5	54.25	0.56	60.36	4.24	34.85	7.62	79.03	7.99
25	42.08	0.81	48.97	3.36	28.30	5.40	69.33	10.85
50	29.36	0.76	34.67	2.41	24.95	2.27	61.72	13.84
100	8.35	1.93	7.45	2.08	7.32	0.70	32.86	7.67

AE1								
Concentración (µg/mL)	Vero		MCF7		A549		PC-3	
	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS
6.25	82.33	4.55	81.72	6.73	80.05	4.24	77.96	7.51
12.5	74.09	3.23	77.81	4.65	71.14	6.23	78.65	5.06
25	66.63	2.42	71.28	7.10	60.82	2.60	74.45	13.31
50	58.91	2.99	67.21	3.51	54.61	1.29	73.63	7.19
100	51.35	4.41	56.12	4.68	44.30	2.35	57.81	10.11

ASN								
Concentración (µg/mL)	Vero		MCF7		A549		PC-3	
	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS
6.25	79.83	6.99	92.01	0.95	72.41	1.04	76.94	6.43
12.5	70.44	3.69	81.42	5.99	56.41	3.75	80.73	11.37
25	54.78	2.50	63.71	3.96	39.89	1.80	67.07	6.44
50	40.37	2.30	45.74	0.65	31.31	1.30	61.12	3.80
100	27.15	6.01	36.71	2.24	24.30	4.66	56.97	4.66

ASHY								
Concentración (µg/mL)	Vero		MCF7		A549		PC-3	
	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS	$\bar{x}$	DS
1.5	99.74	5.23	97.17	6.11	88.75	2.55	91.42	5.60
3.125	94.14	3.66	93.27	2.85	79.74	3.57	78.03	13.19
6.25	92.80	3.04	88.43	2.28	68.10	4.77	55.89	13.96
12.5	81.34	0.76	78.65	2.35	50.91	2.47	19.19	2.63
25	70.40	2.34	67.04	0.93	26.75	4.05	13.46	1.09
50	1.52	0.88	52.07	5.96	3.86	1.05	4.20	0.65

Al desarrollar el análisis anterior observamos que ASF corresponde esencialmente al fragmento sulfonamida diaromático del Belinostat, este compuesto conserva la región hidrofóbica aromática y el puente sulfonilo, pero carece completamente del linker α,β -insaturado y del grupo hidroxamato. La disminución parcial de viabilidad observada en MCF7 y Vero sugiere que el núcleo diarilsulfonamida posee actividad biológica intrínseca, probablemente relacionada con interacciones hidrofóbicas o alteraciones de permeabilidad celular, pero insuficiente para reproducir la potente inhibición HDAC del compuesto original. Esto apoya la idea de que el cap group contribuye al reconocimiento molecular, pero no es el principal determinante de potencia como lo menciona T. Wani [51] donde hacen un análisis docking/dinámica computacional y observan cómo la sulfonamida brinda la capacidad de generar distintos tipos de interacciones como se mencionaron previamente.

AE1 representa un fragmento aún más simplificado, compuesto por una anilina unida a un éster etílico. Su elevada viabilidad celular indica una pérdida casi total de actividad citotóxica. Estructuralmente, esto demuestra que la simple presencia de un carbonilo o un fragmento aminoaromático no basta para inducir efecto biológico significativo. La ausencia de aromaticidad extendida, sulfonamida y zinc-binding group limita considerablemente sus interacciones con blancos epigenéticos.

ASN integra simultáneamente el núcleo sulfonamida aromático y un fragmento éster aminoacético, funcionando como una aproximación híbrida entre ASF y AE1. Este compuesto mostró una reducción de viabilidad más pronunciada que ASF, especialmente a 100 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere que la incorporación de una cadena carbonilada incrementa propiedades como lipofilia balanceada, permeabilidad o capacidad de interacción intermolecular. Además, el grupo éster puede actuar como un profármaco susceptible a hidrólisis enzimática intracelular, generando posteriormente el correspondiente ácido carboxílico [52]. Esta estrategia es relevante en química medicinal, ya que los ésteres suelen incrementar la permeabilidad de membrana y favorecer la entrada celular antes de convertirse metabólicamente en la especie ácida activa [53]. Aunque el éster no puede quelar Zn^{2+} como el hidroxamato del Belinostat, podría actuar como precursor bioisostérico hacia un ácido carboxílico o favorecer orientación conformacional del sistema aromático.

ASHY es el derivado estructuralmente más complejo y el más cercano al diseño tipo HDAC inhibitor. Contiene: una sulfonamida aromática, una cadena de aminoácido funcionalizada, y un éster terminal. Esta arquitectura incrementa notablemente el volumen molecular y la polaridad, intentando aproximarse al arreglo tridimensional del Belinostat. Al igual que ASN, el grupo éster presente en ASHY puede considerarse una funcionalidad profármaco capaz de sufrir hidrólisis para originar el ácido carboxílico correspondiente, lo que potencialmente modificaría afinidad, ionización y comportamiento farmacocinético intracelular. Sin embargo, la actividad citotóxica fue moderada respecto al fármaco de referencia debido a que el éster terminal no reemplaza adecuadamente la capacidad quelante del grupo hidroxamato, pero obteniendo una mayor selectividad a concentraciones medias (12.5-6.25 µg/mL) entre células tumorales (A549 y PC-3) y células sanas (Vero). Esto es consistente con la SAR conocida de inhibidores HDAC, donde la pérdida del zinc-binding group suele reducir drásticamente la afinidad enzimática. Sin embargo, también recalca la aplicación del uso del profármaco favoreciendo considerablemente la selectividad.

De manera general, los resultados muestran una clara tendencia estructura-actividad: conforme las moléculas se alejan del farmacóforo completo de Belinostat, particularmente del grupo hidroxamato conjugado, disminuye significativamente la citotoxicidad. La mayor actividad observada para Belinostat confirma que la quelación del ion Zn^{2+} catalítico es crítica para la inhibición eficiente de HDAC y, por ende, para la inducción de muerte celular. Además, el hecho de que algunos derivados como ASF y AHY conserven actividad parcial sugiere que el núcleo diarilsulfonamida sí contribuye al reconocimiento biológico y podría emplearse como plataforma para futuras optimizaciones químicas. Esto justifica considerarlos derivados estructurales de Belinostat y no moléculas completamente independientes.

Como se muestra en la **tabla 6** el Belinostat fue el compuesto más potente en general, especialmente en A549, con un IC_{50} aproximado de 0.061 µg/mL, seguido de Vero y MCF7. En PC-3 no alcanzó el 50% de viabilidad dentro del intervalo probado, por lo que se reporta como $IC_{50} > 10$ µg/mL. Entre los compuestos evaluados, ASHY mostró una actividad importante en PC-3, con un IC_{50} de 6.99 µg/mL, siendo el mejor resultado de los derivados

en esa línea celular. También presentó buena actividad en A549, con 12.83 $\mu\text{g/mL}$. ASF fue muy activo en A549, pero como el primer punto evaluado ya presentó viabilidad menor al 50%, su IC_{50} sólo puede reportarse como $<6.25 \mu\text{g/mL}$, y sería necesario evaluar concentraciones más bajas para calcularlo con precisión. AE1 fue el menos citotóxico en la mayoría de las líneas, ya que no alcanzó 50% de viabilidad en Vero, MCF7 ni PC-3 a 100 $\mu\text{g/mL}$. En conjunto, los datos sugieren que ASHY tiene mayor potencial frente a PC-3, mientras que ASF y ASHY muestran mejor respuesta frente a A549.

Tabla 6. Cálculos de IC_{50} de compuestos obtenidos.

Compuesto	Vero	MCF7	A549	PC-3
Belinostat	0.29	0.42	0.061	>10
ASF	15.92	23.48	<6.25	66.25
AE1	>100	>100	68.17	>100
ASN	31.46	42.42	16.36	>100
ASHY	30.7	>50	12.83	6.99

Al hacer el análisis del índice de selectividad (IS, **tabla 7**) Belinostat tiene un IS de 4.75 en A549, porque su IC_{50} en A549 es muy bajo (0.061 $\mu\text{g/mL}$) comparado con Vero (0.29 $\mu\text{g/mL}$). Esto indica que A549 es más sensible al Belinostat que Vero. Sin embargo, también hay que considerar que el IC_{50} en Vero es muy bajo, lo que significa que Belinostat también es altamente citotóxico para células normales. Por eso, aunque su IS frente a A549 es alto, su toxicidad general también es elevada.

Tabla 7. Índice de selectividad de los compuestos sintetizados.

Compuesto	MCF7	A549	PC-3
Belinostat	0.69	4.75	<0.03
ASF	0.68	>2.55	0.24
AE1	No concluyente	>1.47	No concluyente
ASN	0.74	1.92	<0.31
ASHY	<0.61	2.39	4.39

Por otro lado, ASHY mostró un IS de 2.39 en A549 y de 4.39 en PC-3. Esto indica que ASHY fue más selectivo hacia células tumorales de pulmón y, especialmente, hacia células de

próstata. Aunque ASHY es menos potente que Belinostat porque requiere concentraciones mayores para alcanzar el IC_{50} , presenta una ventaja importante: su IC_{50} en Vero fue mucho más alto (30.7 $\mu\text{g/mL}$), lo que sugiere menor toxicidad sobre células normales.

En conclusión, Belinostat es más potente, pero también más agresivo, mientras que ASHY es menos potente, pero más interesante desde el punto de vista de selectividad, especialmente contra PC-3, donde obtuvo uno de los mejores perfiles con un IS de 4.39. **Esto sugiere que las modificaciones estructurales realizadas no aumentaron la potencia frente al fármaco de referencia, pero sí ayudaron a obtener una respuesta más dirigida hacia células tumorales, con menor afectación relativa sobre células normales.**

Es importante señalar que para el fármaco de referencia no existen específicamente en el conjunto exacto de líneas celulares utilizadas en este estudio, bajo condiciones experimentales idénticas, lo que limita comparaciones directas con literatura previa. Sin embargo, su uso como compuesto de referencia se justifica debido a su amplio reconocimiento como inhibidor pan-HDAC aprobado clínicamente, su mecanismo de acción bien caracterizado y su consistente actividad antiproliferativa reportada en diversas líneas celulares tumorales. En este contexto, Belinostat funciona como un control positivo adecuado que permite validar el ensayo biológico y establecer un punto de comparación relativo para la evaluación de nuevos análogos, facilitando la interpretación de tendencias de actividad y selectividad dentro de la serie estudiada.

En la búsqueda del mecanismo de acción, se realizó un docking molecular para cada molécula frente a HDAC3, HDAC6 y HDAC8 que son las isoformas más reportadas como desreguladas en cáncer. Para interpretar los resultados se tomaron como parámetros principales la energía libre de unión estimada, la constante inhibitoria teórica K_i , la energía intermolecular, la penalización torsional y la distribución de clústeres.

La energía libre de unión fue el primer criterio de comparación, ya que valores más negativos sugieren una interacción más favorable entre el ligando y el sitio activo de la enzima. La K_i estimada se utilizó como una aproximación de potencia teórica: valores en rango nanomolar

o micromolar bajo se interpretaron como más prometedores que valores milimolares. Sin embargo, no se consideró únicamente la mejor energía individual, porque una pose aislada **puede no ser completamente representativa**. Por eso también se evaluó la convergencia de clústeres, es decir, cuántas conformaciones repetían una orientación similar dentro del sitio activo. Una molécula con buena energía y muchas poses agrupadas en un mismo clúster se consideró más confiable que una molécula con una energía muy favorable pero presente sólo en una corrida.

Estos hallazgos son consistentes con lo reportado en la literatura reciente sobre análogos estructurales de Belinostat. Madrigal-Angulo *et al.* estudiaron dos bencenosulfonamidas estructuralmente relacionadas con Belinostat y, mediante docking molecular contra HDAC2, encontraron que, al carecer del grupo hidroxamato, dichos compuestos no logran coordinarse con el ion Zn^{2+} y muestran una penetración limitada en la cavidad catalítica en comparación con Belinostat, aunque conservan un modo de unión similar gracias a la región aromática; no obstante, estos mismos compuestos mostraron actividad antiproliferativa *in vitro* comparable a la de cisplatino y doxorubicina en líneas de cáncer de mama [54]. Este comportamiento es análogo al observado en este trabajo para ASF, ASN y ASHY, donde la pérdida del hidroxamato reduce la afinidad teórica por el sitio catalítico sin eliminar por completo la citotoxicidad, atribuible al núcleo diarilsulfonamida. Esta interpretación es coherente con la literatura clásica sobre el mecanismo de inhibición de HDAC: desde los trabajos fundacionales sobre SAHA se documentó que los derivados que carecen del grupo hidroxámico pierden actividad inhibitoria, confirmando el papel determinante de este grupo en la quelación del Zn^{2+} catalítico [55].

De manera similar, la revisión de Zhang *et al.* sobre grupos de unión a zinc en inhibidores de HDAC señala que las alternativas estructurales al hidroxamato tienden a ser menos efectivas que el grupo hidroxámico original, lo cual respalda la tendencia estructura-actividad observada en la serie ASF-AE1-ASN-ASHY [55]. En contraste, cuando se conserva el hidroxamato y solo se modifica la región del cap, los resultados de potencia reportados en la literatura son considerablemente superiores a los obtenidos en este trabajo. Zhang *et al.* diseñaron una serie de análogos de Belinostat basados en N-hidroxicinamamida, de los cuales

el compuesto más activo ((E)-3-(3-(hidroxiamino)-3-oxoprop-1-en-1-il)-N-(2-metoxifenil)benzamida) alcanzó un IC₅₀ de 11.5 nM en un ensayo pan-HDAC. Esto refuerza la interpretación de que el cap sulfonamídico contribuye al reconocimiento molecular, pero no sustituye al hidroxamato como principal determinante de la potencia inhibitoria.

De acuerdo con la **tabla 8** tomando como referencia HDAC3, la molécula más destacada fue ASF, ya que presentó la mejor energía de unión de todo el conjunto, con -9.16 kcal/mol, una Ki estimada de aproximadamente 192 nM y una convergencia perfecta de 50/50 poses en un solo clúster. Esto indica que ASF no sólo mostró una afinidad teórica muy alta, sino también una orientación muy estable y reproducible dentro del sitio activo de HDAC3. Este resultado sugiere una alta compatibilidad estructural entre ASF y la cavidad catalítica de HDAC3. En comparación, ASHY también mostró una interacción favorable con HDAC3, con -7.36 kcal/mol y Ki de 4.03 µM, pero con mayor dispersión conformacional. AE1 presentó una energía menor, de -6.72 kcal/mol, pero con una convergencia muy buena de 45/50 poses, lo que indica que, aunque su afinidad estimada fue inferior a ASF y ASHY, su modo de unión fue bastante estable. Por el contrario, ASN fue poco favorable frente a HDAC3, con -3.06 kcal/mol y Ki en rango milimolar, por lo que no se consideraría una molécula prometedora para esta isoforma.

Tabla 8. Análisis del docking molecular realizado en AutoDock 4.2

Molécula	HDAC	ΔG unión kcal/mol	Ki estimada	Energía intermolecular	Torciones activas	Interpretación general
ASF	HDAC3	-9.16	192.15 nM	-10.65	5	Mejor resultado global. Alta afinidad y máxima convergencia.
ASF	HDAC8	-7.73	2.16 µM	-9.22	5	Unión favorable y relativamente estable.
ASHY	HDAC6	-7.60	2.7 µM	-10.88	11	Buena energía, pero baja reproducibilidad de la pose.
ASN	HDAC6	-7.38	3.9 µM	-9.77	8	Muestra preferencia clara hacia HDAC6.
ASHY	HDAC3	-7.36	4.03 µM	-10.64	11	Afinidad favorable, aunque con dispersión conformacional.

Continuación tabla 8.

ASF	HDAC6	-7.30	4.46 μ M	-8.79	5	Buena afinidad y mejor estabilidad que ASHY en HDAC6.
AE1	HDAC3	-6.72	11.83 μ M	-8.21	5	Afinidad moderada, pero excelente convergencia
AE1	HDAC8	-6.61	14.18 μ M	-8.11	5	Unión moderada y pose mayoritaria estable.
AE1	HDAC6	-6.06	36.23 μ M	-7.55	5	Menor afinidad relativa frente a HDAC6.
ASHY	HDAC8	-5.80	56.04 μ M	-9.08	11	Afinidad débil y alta dispersión de poses.
ASN	HDAC3	-3.06	5.73 mM	-5.44	8	Pose repetible, pero energía débil.
ASN	HDAC8	-1.35	102.69 mM	-3.73	8	Interacción muy pobre; no favorable.

En el caso de HDAC6, el análisis mostró un comportamiento distinto. La mejor energía individual fue para ASHY, con -7.60 kcal/mol y una K_i estimada de 2.70 μ M, lo que sugiere una interacción favorable. Sin embargo, esta mejor pose apareció sólo en 1 de 50 corridas (**figura 22**), lo que indica baja reproducibilidad y obliga a interpretar el resultado con cautela. Esto significa que ASHY puede alcanzar una orientación energéticamente muy favorable en HDAC6, **pero esa orientación no fue la más frecuente durante el docking.**

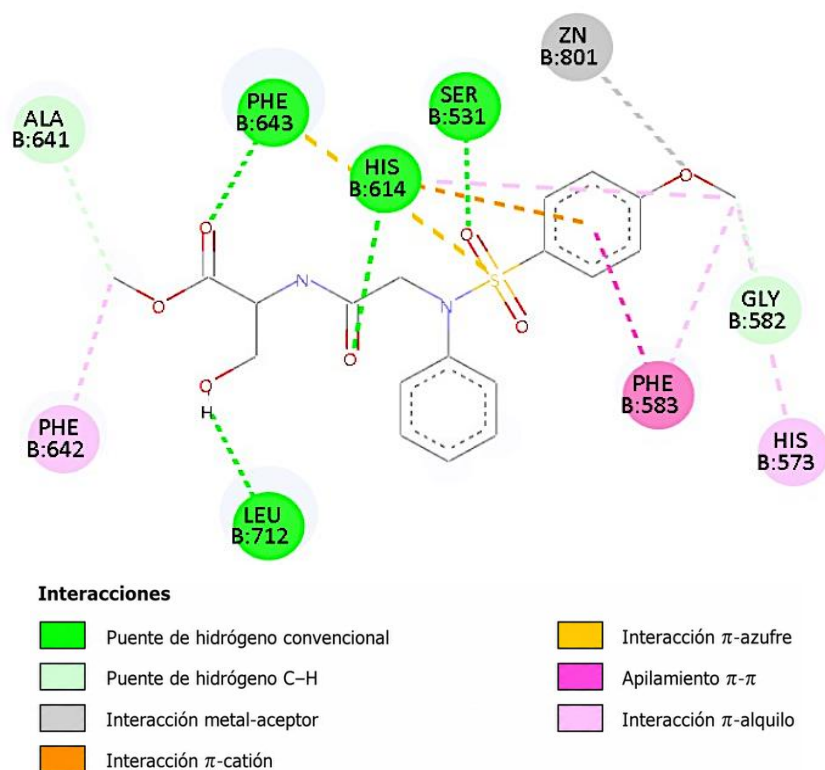


Figura 22. Diagrama de Interacción Molecular 2D de *N*-(4-metoxifenil)-*N*-((4-metoxifenil)sulfonyl)glicilserinato de metilo (ASHY) con el sitio de la HDAC6.

ASN también mostró una afinidad importante hacia HDAC6, con -7.38 kcal/mol y K_i de 3.90 μ M, siendo esta isoforma claramente su mejor blanco en comparación con HDAC3 y HDAC8. ASF tuvo una energía muy cercana, de -7.30 kcal/mol, con K_i de 4.46 μ M, pero con una convergencia más confiable que ASHY, ya que su clúster principal agrupó 26/50 poses. Por ello, en HDAC6 puede decirse que ASHY fue la mejor por energía, pero ASF mostró un acoplamiento más ordenado y ASN evidenció una preferencia clara por esta isoforma.

Para HDAC8, la molécula con mejor comportamiento fue nuevamente ASF, con una energía de -7.73 kcal/mol, K_i estimada de 2.16 μ M y un clúster principal de 34/50 poses. Esto indica una unión favorable, estable y relativamente consistente. AE1 ocupó el segundo lugar, con -6.61 kcal/mol y K_i de 14.18 μ M, mostrando una afinidad moderada pero aceptable. ASHY tuvo un desempeño más débil frente a HDAC8, con -5.80 kcal/mol y K_i de 56.04 μ M, además de una alta dispersión de clústeres, lo que sugiere una unión menos definida. Finalmente, ASN fue la molécula menos favorable para HDAC8, con -1.35 kcal/mol y K_i de

102.69 mM, valores que indican una interacción muy pobre y poco relevante desde el punto de vista del docking. En conjunto, el análisis indica que las moléculas no tienen el mismo comportamiento frente a las tres isoformas de HDAC mostrando una selectividad dirigida. ASF fue la molécula más robusta y prometedora, principalmente por HDAC3, donde combinó la mejor energía, la Ki más baja y la máxima convergencia conformacional. Además, mantuvo buenos resultados frente a HDAC8 y HDAC6, por lo que puede considerarse el candidato más fuerte de la serie.

ASHY mostró afinidad interesante hacia HDAC6 y HDAC3, pero su alta flexibilidad, reflejada en sus 11 torsiones activas, generó una mayor penalización torsional y una mayor dispersión de poses, especialmente en HDAC6 y HDAC8. AE1 mostró un perfil más moderado, pero bastante estable, principalmente frente a HDAC3 y HDAC8. ASN, en cambio, presentó una posible preferencia por HDAC6, ya que sus resultados frente a HDAC3 y HDAC8 fueron mucho más débiles.

Como conclusión general del análisis computacional, tomando como referencia las isoformas de HDAC evaluadas, HDAC3 fue el blanco donde se observó el resultado más confiable, especialmente con ASF, lo que sugiere que esta molécula posee una alta compatibilidad con el sitio activo de dicha isoforma. HDAC8 fue favorecida principalmente por ASF y, en menor medida, por AE1, mientras que ASN fue claramente desfavorable. Por lo tanto, el perfil global sugiere que ASF es el mejor candidato general, con una posible preferencia hacia HDAC3, mientras que ASHY y ASN podrían explorarse como candidatos relacionados con HDAC6, siempre considerando que estos resultados son predictivos y deben complementarse con análisis visual de interacciones, identificación de residuos clave, redocking, dinámica molecular y validación experimental. HDAC6 mostró afinidad relevante para ASHY, ASN y ASF, aunque en el caso de ASHY la baja convergencia de la mejor pose impide considerarla concluyente sin validación adicional, por lo que los resultados de la evaluación biológica no se pueden relacionar directamente a la inhibición de las proteínas de interés dejando en un trabajo futuro, la incorporación de un ensayo enzimático utilizando un kit específico de HDAC complementaría los resultados de citotoxicidad, ya que permitiría correlacionar la actividad antiproliferativa observada con la inhibición directa de las enzimas HDAC.

Respecto a la metodología combinada de citotoxicidad y docking molecular empleada en este trabajo, Sixto-López *et al.* siguieron un enfoque equivalente al diseñar derivados de ácido hidroxámico dirigidos a HDAC1, HDAC6 y HDAC8, evaluándolos como antiproliferativos en múltiples líneas tumorales mediante docking y dinámica molecular [56]. La diferencia principal respecto al presente estudio es que dicho trabajo conservó el grupo hidroxamato, lo que probablemente explica la mayor actividad reportada en comparación con los valores de índice de selectividad obtenidos para ASHY (2.39-4.39) en este trabajo. Esta comparación sugiere que una segunda generación de análogos que retenga parcialmente la capacidad de quelación del Zn^{2+} , en combinación con el núcleo diarilsulfonamida ya identificado como biológicamente activo, podría mejorar tanto la potencia como la selectividad de los compuestos derivados de Belinostat.

Capítulo VI

Conclusiones

Se obtuvieron cuatro moléculas orgánicas derivados estructurales inspirados racionalmente en Belinostat con porcentajes de rendimiento entre 78-95%.

Su caracterización estructural se llevó acabo utilizando RMN ^1H y ^{13}C . Las señales observadas fueron congruentes con los protones y carbonos aromáticos, grupos metoxi, carbonilos y fragmentos alifáticos esperados para cada estructura.

Se relacionaron las características estructurales de los compuestos, como sistemas aromáticos, enlaces sulfonamida y grupos carbonilo/éster, con su actividad citotóxica en Vero, MCF7, A549 y PC-3 mediante MTT. Aunque los derivados fueron menos potentes que Belinostat, mostraron mayor selectividad hacia células tumorales de pulmón y próstata. En particular, ASHY presentó IS de 2.39 en A549 y 4.39 en PC-3, con menor toxicidad sobre Vero, lo que sugiere que las modificaciones estructurales favorecieron un perfil biológico más selectivo y menos agresivo que el fármaco de referencia.

Dentro del análisis computacional realizado en Autodock 4.2 se observó que HDAC6 mostró afinidad relevante para los compuestos obtenidos y sientan las bases para futuros estudios de relación estructura-actividad más controlados, donde se modificarán individualmente las regiones estructurales identificadas como relevantes.

Capítulo VII

Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos, especialmente a la selectividad de ASHY y la afinidad computacional de ASF, se propone realizar una segunda generación de análogos donde se modifique de forma sistemática una sola región del modelo farmacofórico a la vez: CAP, linker o grupo quelante de zinc.

La incorporación de un ensayo enzimático mediante un kit específico para HDAC permitiría complementar los resultados de citotoxicidad, al facilitar la asociación entre la actividad antiproliferativa observada y una posible inhibición directa de las enzimas HDAC. Este enfoque contribuiría a la elucidación del mecanismo de acción de los compuestos evaluados, fortaleciendo la evidencia de que los efectos citotóxicos podrían estar mediados, al menos en parte, por la modulación epigenética asociada a la inhibición de histonas desacetilasas.

Bibliografía

- [1] S. e. a. Ekhtiari, «First case of osteosarcoma in a dinosaur: a multimodal diagnosis,» *The Lancet Oncology*, vol. 21, nº 8, pp. 1021-1022, 2020.
- [2] J. Monge, M. Kricun y J. Radovčić , «Fibrous dysplasia in a 120,000+ year old Neandertal from Krapina, Croatia.,» *PLoS One.*, vol. 8, 2013.
- [3] M. Binder , C. Roberts, N. Spencer, D. Antoine y C. Cartwright , «On the Antiquity of Cancer: Evidence for Metastatic Carcinoma in a Young Man from Ancient Nubia,» *PLoS ONE*, 2014.
- [4] S. A, « History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods.,» *J Cancer Sci Ther*, vol. 1, 2009.
- [5] INEGI, «Esperanza de Vida en México,» CONAPO. Consejo Nacional de Población. , 2023.
- [6] S. Dattani, L. Rodés-Guirao y H. Ritchie, «Life Expectancy,» p. Online Resource, 2023.
- [7] T. Ho, «Thirty years of HDAC inhibitors: 2020 hindsight,» *J Medicinal Chem*, 2020.
- [8] C. Chaffer y R. Weinberg, «A perspective on cancer cell metastasis.,» *Science*, vol. 331, nº 6024, pp. 1559-1564 , 25 Mar 2011.
- [9] U.S. Department of Health and Human Services, «National Cancer Institute,» 11 Octubre 2021. [En línea]. Available: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- [10] International Agency for Research on Cancer , «CANCER TODAY,» 2022. [En línea]. Available: <https://gco.iarc.fr/today/en>.
- [11] INEGI, «ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL CONTRA EL CÁNCER,» 2023.
- [12] C. Pucci, C. Martinelli y G. Ciofani , «Innovative approaches for cancer treatment: current perspectives and new challenges.,» *Ecancermedicalscience*, vol. 13, p. 961, 2019.
- [13] D. Debela, S. Muzazu , K. Heraro , M. Ndalama y B. Mesele, «New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives.,» *SAGE Open Med*, vol. 9, 12 Agosto 2021.
- [14] C. K. B. L. Brunton Laurence Hilal-Dandan Randa, The Pharmacological Basis of Therapeutics, vol. 13th , B. L. G. & Gilman's, Ed., McGraw-Hill Education, 2018.
- [15] M. W. C. Van der Brug, « Navigating genomic maps of cancer cells,» *Nat Biotechnol* , vol. 28, p. 241–242 , 2010.
- [16] A. Muntean y J. Hess , «Epigenetic dysregulation in cancer,» *Am J Pathol.* , vol. 175, nº 4, pp. 1353-1361, 2009.

- [17] S. I. Ortiz Zamora, R. Nieto Aguilar, A. Rueda Rocha y J. A. Sánchez Moreno, «La epigenética y el cáncer: Terapia epigenética, una alternativa terapéutica.,» *Ciencia Nicolaita*, n° 89, p. <https://doi.org/10.35830/cn.vi89.716>, 2023.
- [18] M. Sanei, . B. Amirheidari y N. Satarzad, «Mutuality of epigenetic and nanoparticles: two sides of a coin.,» *Heliyon*, vol. 10, n° 1, p. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23679>., 2024.
- [19] G. K, N. Akshaya , N. Srinaath , M. Rohini y N. Selvamurugan , «Histone acetyl transferases and their epigenetic impact on bone remodeling.,» *Int J Biol Macromol.*, vol. 170, pp. 326-335., 2021 .
- [20] B. Delgado-Coello, «¿Qué es la epigenética?,» *Ciencia*, vol. 62, pp. 73-82, 2011.
- [21] S. Parbin, S. Kar , A. Shilpi, D. Sengupta , M. Deb , S. Rath y S. Patra, «Histone deacetylases: a saga of perturbed acetylation homeostasis in cancer.,» *J Histochem Cytochem*, vol. 62, n° 1, pp. 11-33, 2014.
- [22] A. Belmonte, «Las HDAC en la regulación de la expresión génica y el cáncer.,» *Moleqla Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide.*, vol. 13, pp. 16-19, 2014.
- [23] R. Alseksek , W. Ramadan , E. Saleh y R. El-Awady , «The Role of HDACs in the Response of Cancer Cells to Cellular Stress and the Potential for Therapeutic Intervention.,» *Int J Mol Sci.*, vol. 23, n° 15, p. 8141, 2022.
- [24] C. Hubbert, «HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase.,» *Nature*, vol. 417, pp. 455-458, 2002.
- [25] C. Brochier and G. Dennis, "Specific acetylation of p53 by HDAC inhibition prevents DNA damage-induced apoptosis in neurons," *J Neurosci*, vol. 15, no. 20, pp. 8621-32, 2013.
- [26] J. Zain y O. O'Connor , «Targeting histone deacetylases in the treatment of B- and T-cell malignancies.,» *argeting histone deacetylases in the treatment of B- and T-cell malignancies.*, vol. 28, pp. 58-78, 2010.
- [27] P. Liu y Xiao, J., «Posttranslational modification and beyond: interplay between histone deacetylase 6 and heat-shock protein 90.,» *Mol Med*, vol. 27, n° 110, 2021.
- [28] J. Kovacs, «HDAC6 Regulates Hsp90 Acetylation and Chaperone-Dependent Activation of Glucocorticoid Receptor, Molecular Cell,» *Molecular Cell*, vol. 18, n° 5, pp. 601-607, 2005.
- [29] J. Giustiniani, «Tubulin acetylation favors Hsp90 recruitment to microtubules and stimulates the signaling function of the Hsp90 clients Akt/PKB and p53,» *Cell signal*, vol. 21, n° 4, pp. 529-39, 2009.
- [30] P. Liu, «Posttranslational modification and beyond: interplay between histone deacetylase 6 and heat-shock protein 90,» *Molecular Medicine*, vol. 27, n° 110, 2021.
- [31] R. Chen, «The acetylase/deacetylase couple CREB-binding protein/Sirtuin 1 controls hypoxia-inducible factor 2 signaling,» *J Biol Chem*, vol. 287, n° 36, pp. 30800-11, 2012.
- [32] Y. Liu, «Modulation of Histone Deacetylase 6 (HDAC6) Nuclear Import and Tubulin Deacetylase Activity through Acetylation,» *J Biol Chem*, vol. 287, n° 34, pp. 29168-174, 2012.

- [33] A. v. d. Horst, «FOXO4 is acetylated upon peroxide stress and deacetylated by the longevity protein hSir2(SIRT1),» *J Biol Chem*, vol. 279, nº 28, pp. 28873-9, 2004.
- [34] Towards Healthcare, «Global Epigenetics Market Analysis and Forecast 2023-2033,» *Market Research Future*, 2023.
- [35] P. C. K. V. V. C. K. A. R. Tirumalaraju, «Azacitidine process and polymorphs». Estados Unidos de América Patente us8703932b2:, 22 05 2014.
- [36] Food and Drug Administration , «Approval for Vidaza (azacitidine) NDA 050794,» U.S. Food and Drug Administration. , 2004.
- [37] Food and Drug Administration (FDA), « Approval for Dacogen (decitabine) NDA 021790.,» U.S. Food and Drug Administration, 2006.
- [38] Food and Drug Administration (FDA) , «Approval for Zolanza (vorinostat) NDA 022065.,» U.S. Food and Drug Administration., 2006.
- [39] Food and Drug Administration (FDA), «Approval for Istodax (romidepsin) NDA 022393,» U.S. Food and Drug Administration, 2009.
- [40] Food and Drug Administration (FDA), «Approval for Beleodaq (belinostat) NDA 205104,» U.S. Food and Drug Administration, 2014.
- [41] Food and Drug Administration (FDA), «Approval for Farydak (panobinostat) NDA 205353.,» U.S. Food and Drug Administration, 2015.
- [42] Food and Drug Administration (FDA), «Approval for Tazverik (tazemetostat) NDA 214643,» U.S. Food and Drug Administration. , 2020.
- [43] A. Jóna , N. Khaskhely , D. Buglio , J. Shafer, E. Derenzini , C. Bollard , L. Medeiros , A. Illés , Y. Ji y A. Younes , «The histone deacetylase inhibitor entinostat (SNDX-275) induces apoptosis in Hodgkin lymphoma cells and synergizes with Bcl-2 family inhibitors,» *Exp Hematol.*, vol. 39, nº 10, pp. 1007-1017, 2011.
- [44] National Medical Products Administration (NMPA). , «Approval for Cedar (chidamide) S20150006.,» 2015.
- [45] Y. He, D. Liu , Y. Wang , R. Zhang y L. Chen , «"The selective histone deacetylase inhibitor mocetinostat enhances anti-tumor effects of anti-PD-1 therapy in lymphoma models.",» *Journal of Hematology & Oncology*, 2022.
- [46] H. P. Nguyen, «Anti-multiple myeloma potential of resynthesized belinostat derivatives: an experimental study on cytotoxic activity, drug combination, and docking studies.,» *RSC Adv*, vol. 12, pp. 22108-22118, 2022.
- [47] J. H. Kim, «Design, synthesis, and biological evaluation of histone deacetylase inhibitor with novel salicylamide zinc binding group,» *Medicine (Baltimore).*, vol. 6, nº 29, 2022.
- [48] T. Mosmann, «Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays,» *J Immunol Methods*, 1983.
- [49] Q. Fithrotunnisa, «In Vitro Cytotoxicity of Hibiscus sabdariffa Linn Extracts on A549 Lung Cancer Cell Line,» *Pharmacogn J.*, vol. 12, nº 1, pp. 14-19, 2020.
- [50] A. G. Arietta-García, «Advances in the Properties of Incomptine A: Cytotoxic Activity and Downregulation of Hexokinase II in Breast Cancer Cell Lines,» *Int. J. Mol. Sci*, vol. 24, nº 15, 2023.

- [51] T. A. Wani, «Anticancer Potential of Sulfonamide Moieties via In-Vitro and In-Silico Approaches: Comparative Investigations for Future Drug Development,» *Int J Mol Sci*, 2023.
- [52] A. Citarella, «Hydroxamic Acid Derivatives: From Synthetic Strategies to Medicinal Chemistry Applications,» *ACS Omega*, nº 6, p. 21843–21849, 2021.
- [53] M. M. d. Souza, «Prodrug Approach as a Strategy to Enhance Drug Permeability,» *Pharmaceuticals*, 2025.
- [54] J. L. Madrigal-Angulo, «X-Ray Crystallography, Hirshfeld Surface Analysis, and Molecular Docking Studies of Two Sulfonamide Derivatives,» *Crystals*, 2025.
- [55] J. H. Zhang, «Design, synthesis and evaluation of belinostat analogs as histone deacetylase inhibitors,» *Future Med Chem*, 2019.
- [56] Y. Sixto-López, «Hydroxamic acid derivatives as HDAC1, HDAC6 and HDAC8 inhibitors with antiproliferative activity in cancer cell lines,» *Sci Rep*, 2020.

Divulgación

Leonardo Adolfo Heredia Núñez, Juan José de Jesús Carrizales Castillo, Saúl Alejandro Aguirre Rentería, Dra. María del Rayo Camacho Corona, Eder Ubaldo Arredondo Espinoza, Selene Laguna Rivera, Elvira Garza González, Francisco Guadalupe Avalos Alanís. Oxazolinas y oxazoles, heterociclos con actividad dual (cáncer y tuberculosis) camino hacia un tratamiento único, LVII Reunión **Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas (AFM)** 10-13 noviembre 2024 Acapulco, Guerrero, **(Presentación Cartel)**.

José Luis Viveros Ceballos, Héctor Gustavo Ruiz Ponce, **Leonardo Adolfo Heredia Núñez**, **Ponencia y exposición en la práctica demostrativa:** “Extracción de un indicador de pH de origen natural” en el evento **Puertas abiertas al Centro de Investigaciones Químicas**, UAEM, dirigido a estudiantes de la Escuela de Técnicos Laboratoristas que se llevó a cabo el día 07/11/2024; esto como parte de la divulgación de la Licenciatura en Diseño Molecular y Nanoquímica en el Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas.

Juan J.J. Carrizales-Castillo, María del Rayo Camacho-Corona, Eugenio Hernández-Fernández, **Leonardo Adolfo Heredia-Núñez**, Selene Lagunas-Rivera, Maria Yolanda Rios, Eder Arredondo-Espinoza, Francisco G. Avalos-Alanís, Synthesis of oxazoline hydroxamates α,β -unsaturated: Cytotoxic evaluation and inhibitory activity in vitro of histone deacetylases, **Results in Chemistry**, Volume 14, 2025, 102117, ISSN 2211-7156, <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102117>.

Resumen Autobiográfico



Leonardo Adolfo Heredia Núñez

Candidato para el grado de:

Maestro en Ciencias con Orientación en Farmacia

Tesis: Síntesis y caracterización de nuevos derivados del Belinostat , análisis *in silico* y evaluación de su actividad anticancerígena y citotóxica *in vitro*

Campo de estudio: Farmacia

Biografía:

Datos personales: Nacido en León, Guanajuato, México en agosto del 2000, hijo de Pedro Heredia Jiménez y Julia Eustorgia Núñez Hinojosa.

Educación:

Egresado de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato en 2022, grado obtenido Licenciado en Biología Experimental.