



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

**Diseño, síntesis y evaluación biológica de derivados
de quinazolina como potenciales inhibidores de
Lactato Deshidrogenasa A**

TESIS

Que para obtener el título de

Químico

PRESENTA

Luis Daniel Chávez Vargas



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	HERNÁNDEZ LUIS FRANCISCO
VOCAL:	ROMERO ÁVILA MARGARITA
SECRETARIO:	MENDOZA JASSO MARÍA EUGENIA
1er. SUPLENTE:	JIMÉNEZ CURIEL CRISTINA DEL CARMEN
2° SUPLENTE:	AGUAYO ORTIZ RODRIGO

**LABORATORIO 121, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA,
FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

ASESOR DEL TEMA

SUPERVISOR TÉCNICO

DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS

M. EN C. ULISES MARTÍNEZ ORTEGA

SUSTENTANTE

LUIS DANIEL CHÁVEZ VARGAS

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Química y a todos los profesores que me formaron a lo largo de mi bachillerato y licenciatura, por ser parte de mi educación, por los conocimientos y las experiencias adquiridas.

Al Dr. Francisco Hernández Luis, al M. en C. Ulises Martínez Ortega y al resto del laboratorio 121, por confiar en mí, abrirme las puertas a su espacio y permitirme desarrollar el proyecto a través de sus enseñanzas.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT – UNAM 2020 IN 223120) por la beca otorgada a lo largo del proyecto.

A SERMACS – iRIPS 2022 de la ACS por darme la oportunidad de compartir mi trabajo de tesis en un congreso internacional.

A los miembros del jurado por sus valiosas aportaciones al presente trabajo.

Índice General

Abreviaturas.....	6
Resumen	7
1. Introducción.....	8
2. Antecedentes	11
2.1 Y para la bioquímica, ¿qué es el cáncer?	11
<i>Inestabilidad genética.....</i>	<i>12</i>
<i>Apoptosis y ciclo celular</i>	<i>13</i>
<i>Proliferación, angiogénesis y metástasis</i>	<i>15</i>
2.2 ¿Qué terapias se han ocupado para su tratamiento?.....	17
<i>Cirugía</i>	<i>17</i>
<i>Radioterapia</i>	<i>18</i>
<i>Hormonoterapia</i>	<i>19</i>
<i>Inmunoterapia.....</i>	<i>19</i>
<i>Quimioterapia</i>	<i>20</i>
2.3 ¿Cuáles son las dianas farmacológicas más comunes como tratamiento?, ¿tienen efectos secundarios?	21
<i>Moléculas pequeñas</i>	<i>22</i>
<i>¿Y qué pasa con el sistema inmune?</i>	<i>24</i>
2.4 ¿Qué puede inhibir la quinazolina?	26
2.5 ¿Podemos utilizar la quinazolina para inhibir nuevas dianas biológicas? ...	30
2.6 ¿Qué moléculas sí han podido inhibir LDH?	33
3. Planteamiento del problema	36
4. Hipótesis.....	37
5. Objetivos.....	37
6. Metodología	38

6.1	Diseño de la serie QD	38
6.2	Acoplamiento molecular	38
6.3	Síntesis química	39
	<i>Análisis retrosintético para la obtención de la serie QD</i>	39
6.4	<i>Análisis espectroscópico</i>	40
6.5	Evaluación biológica.....	41
	<i>Ensayos de inhibición enzimática sobre Lactato deshidrogenasa</i>	41
7.	Resultados y análisis	42
7.1	Diseño de la serie QD	42
7.2	Síntesis química	45
	<i>Síntesis de los intermediarios de la serie QD</i>	45
	<i>Síntesis de los productos finales de la serie QD</i>	49
7.3	<i>Análisis espectroscópico</i>	51
	<i>Resonancia Magnética Nuclear</i>	51
	<i>Espectroscopía de Infrarrojo</i>	53
7.4	Evaluación biológica.....	53
	<i>Ensayos de inhibición enzimática sobre Lactato deshidrogenasa</i>	53
8.	Conclusiones	56
9.	Perspectivas	56
10.	Referencias	57
11.	Anexo	61

Abreviaturas

BCN	2-amino-5-nitrobenzotrilo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DMF–DMA	Dimetilacetal de la dimetilformamida
FIMI	Formamidina
LDH	Lactato deshidrogenasa
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido (oxidada)
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido (reducida)
OMS	Organización Mundial de la Salud
RMSD	Raíz de la desviación cuadrada media
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
RNA	Ácido ribonucleico
GST	Genes supresores de tumores
ATP	Adenosín trifosfato
PDGFR	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas
BCR-ABL	Gen de fusión de BCR y ABL
HEPG2	Línea celular de cáncer de hígado
HCT116	Línea celular de cáncer de colon
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama triple positivo
TNF- α	Factor de necrosis tumoral
IL-6	Interleucina-6
VEGF	Receptor del factor de crecimiento vascular
MYC	Familia de genes que elaboran proteínas

Resumen

El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. En 2015, provocó 8.8 millones de muertes, siendo una de las enfermedades de mayor recurrencia y la segunda causa de muerte a nivel mundial. Actualmente, una de las opciones más viables para el tratamiento del cáncer es la quimioterapia. La quinazolina es considerada una estructura privilegiada al poder presentar diferentes actividades biológicas, siendo de vital importancia su actividad anticancerosa. La LDH cataliza la reacción de reducción de piruvato a L-Lactato, utilizando como cofactor NADH. Esta reacción puede ser monitoreada por espectroscopía UV-Vis a 340 nm. La enzima se relaciona con algunos tipos de cáncer mediante el efecto Warburg. Considerando que existen quinolinas que inhiben la actividad de la enzima LDH, se realizó el diseño, la síntesis y la evaluación biológica de ocho derivados de 2,4-diaminoquinazolininas, de las cuales, sólo siete moléculas presentaron actividad inhibitoria mayor al 50% al probarse a 15 μ M.

1. Introducción

1.1. Introducción

El cáncer engloba un conjunto de enfermedades, aunque en realidad, su principio es el mismo. En todos los tipos, algunas de las células comienzan a dividirse de manera descontrolada, lo cual se disemina a diferentes órganos o tejidos, provocando así diferentes alteraciones. De manera normal, las células crecen y se dividen para formar nuevas, según sea necesario, permitiendo que al envejecer, éstas puedan morir y ser reemplazadas por su descendencia. Sin embargo, cuando el cuerpo no tiene controlado este proceso, las células comienzan a ser anormales, es decir, aunque las células envejeczan y/o estén dañadas, estas no mueren, aún manteniendo un ciclo normal de reproducción, por lo cual se genera un crecimiento descontrolado y la formación de masas conocidas como tumores.¹

En México, fallecen 14 de cada 100 personas anualmente por cáncer, convirtiéndola en la tercera causa de muerte a nivel nacional, con una esperanza de vida para quienes la padecen de 63 años. A lo largo de aproximadamente tres décadas, su tasa de mortalidad ha sido prácticamente duplicada, al pasar de 41000 muertes en 1990 a 89000 muertes en 2019.²

El cáncer tiene efectos importantes en todo el mundo. Las estadísticas nos dicen cuántas personas reciben un diagnóstico de cáncer y mueren por esta enfermedad cada año, cuántas personas tienen un diagnóstico en la actualidad, la edad promedio y el número de personas todavía vivas en un momento dado después del diagnóstico. También nos informan sobre las diferencias entre grupos definidos por edad, sexo, raza o grupo étnico, ubicación geográfica, entre otras.¹

El 2020 trajo consigo la enfermedad por coronavirus COVID-19, provocando una pandemia a nivel global y múltiples afecciones a la salud pública, con la necesidad de albergar más pacientes y más infraestructura para su correcto cuidado.

En la actualidad, se han contabilizado más de 130000 muertes y se detectó un exceso en la mortalidad que a la fecha sigue sin ser cuantificado con exactitud, pero en julio de 2020 alcanzaba ya un 38%, con alrededor de 218000 muertes por encima

de las esperadas. Sin duda, un número importante de dichas muertes se asocian directamente a la pandemia, muertes por COVID-19 no registradas y, de otras formas indirectas, debido primordialmente a las enfermedades crónico-degenerativas, cardiovasculares y cáncer que no fueron atendidas y, desafortunadamente, progresaron hacia la muerte.³

En el último año, en México y en todo el mundo, los pacientes oncológicos han sufrido retrasos en su diagnóstico, tratamiento y rehabilitación, debido a la saturación del sistema de salud por COVID-19, confinamiento domiciliario indicado y/o voluntario, y un desabasto mundial y nacional de medicamentos.³

Tomando en consideración la información citada anteriormente, la búsqueda de nuevas alternativas más económicas que funjan como fármacos para tratamiento del cáncer, es sumamente importante.

Actualmente, una de las opciones más viables para el tratamiento del cáncer es la quimioterapia. La quimioterapia usa fármacos para destruir las células cancerosas. Esta funciona al detener o hacer más lento el crecimiento de las células cancerosas, las cuales crecen y se dividen con rapidez. Pero puede también dañar las células sanas que crecen y se dividen rápidamente, como las células que revisten la boca y los intestinos o las que hacen crecer el cabello. El daño a las células sanas puede causar efectos secundarios. Con frecuencia, los efectos secundarios disminuyen o desaparecen después de que termina la quimioterapia.⁴

En julio de 2015, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés), aprobó el Gefitinib para el tratamiento inicial de pacientes con cáncer metastásico de pulmón de células no pequeñas, cuyos tumores tienen mutaciones específicas en el gen para el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).⁵ El Gefitinib es un inhibidor del dominio tirosina-cinasa del EGFR. En algunos tipos de cáncer, este receptor es hiperactivo, lo que produce que las células proliferen y se dividan demasiado rápido. Al inhibirlo, el fármaco impide la proliferación descontrolada de células que contribuye al crecimiento del tumor.⁶ Con lo anterior, se puede entonces tomar la estructura base del Gefitinib: la quinazolina.

Las quinazolininas son probablemente una de las familias más importantes de la química heterocíclica. Su estructura química está compuesta por dos anillos aromáticos de 6 miembros condensados: una pirimidina y un benceno. Este anillo heterocíclico se considera una estructura privilegiada, al presentar sus derivados actividades antimaláricas, anticancerosas, antimicrobianas y antivirales. Esto implica que, la quinazolinina tiene la capacidad de actuar sobre diferentes dianas terapéuticas a la vez, por lo que incide en el campo de la polifarmacología.

Por lo anterior, el trabajo de tesis se enfoca en el diseño y la síntesis de derivados de quinazolinina con potencial acción polifarmacológica en distintas dianas biológicas, utilizando el acoplamiento molecular como un auxiliar para su diseño.

2. Antecedentes

2.1. Y para la bioquímica, ¿qué es el cáncer?

Como ya se dijo anteriormente, el cáncer no se define como una sola enfermedad, sino que constituye un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por la acumulación de mutaciones en el genoma de las células, hasta el punto en que estas mutaciones afectan las diversas funciones a nivel molecular, celular, tisular y sistémico, con la consecuente muerte del paciente.⁷ El cáncer es una entidad genética y la mayoría de las neoplasias ocurren por errores puntuales en el DNA. Por lo general, una sola mutación es insuficiente para producir la transformación maligna, de modo que se necesitan varios genes alterados en forma secuencial para dar lugar a neoplasias establecidas.⁹

Los mecanismos responsables de mantener y reparar el DNA pueden verse afectados por mutaciones. Las mutaciones pueden ser hereditarias o esporádicas y pueden presentarse en todas las células del organismo, o sólo en las células tumorales. A nivel nucleótido, estas mutaciones alteran la fisiología celular induciendo la transformación de esta. Varios oncogenes pueden ser activados por mutaciones puntuales que llevan a la sustitución de aminoácidos en porciones críticas de las proteínas.⁸

En el 2000, Hanahan y Weinberg describen los *hall marks*, o rasgos distintivos del cáncer como las capacidades que va adquiriendo la célula cancerosa durante el desarrollo y progresión de un cáncer clínicamente manifiesto. Los seis rasgos son: mantener la señalización proliferativa, evadir la supresión del crecimiento, resistir la muerte celular, activar la invasión y metástasis, permitir la inmortalidad replicativa e inducir la angiogénesis. Otros cuatro rasgos que se pueden considerar son las desregulaciones energéticas, la evasión de la respuesta inmunitaria, promover la inflamación y la inestabilidad genética. Estos rasgos hoy en día son blancos de múltiples investigaciones con la finalidad de caracterizar molecularmente al cáncer y desarrollar nuevas herramientas terapéuticas dirigidas específicamente contra los mecanismos celulares y vías de señalización que se encuentran alterados en esta patología.⁷

Las células neoplásicas tienen un comportamiento anormal, caracterizado por un crecimiento desordenado que sobrepasa los mecanismos de control fisiológico, junto con una fuerte tendencia a invadir localmente o a distancia, otros órganos. Tales fenómenos son explicados por fallas en los procesos de división celular, diferenciación y apoptosis, así como en los mecanismos tendientes a conservar la integridad genómica.⁹

El descubrimiento de que los virus RNA producían tumores (retrovirus), surgió de la observación que la producción del tumor era el resultado de la introducción de oncogenes virales dentro del genoma celular del huésped. Al mismo tiempo se observó que el DNA de varios tumores humanos diferían del tejido no tumoral, y que el elemento responsable de la transformación maligna podría inducirse en otras “células blanco”.⁸

El surgimiento de la biología molecular ha permitido el estudio de las estructuras celulares desde el punto de vista de sus constituyentes moleculares, en particular de las moléculas de proteínas y ácidos nucleicos. Representa una tendencia de la biología moderna que ha permitido conocer el papel de cada organelo en el contexto de la regulación de la expresión genética.⁷

En el caso del cáncer, como se ha mencionado, las principales vías que se encuentran alteradas en las células cancerosas y que se les han determinado como los rasgos característicos son:

- Inestabilidad genética.
- Apoptosis y ciclo celular.
- Proliferación, angiogénesis y metástasis.

A continuación, se detallan brevemente algunos de estos rasgos o marcadores característicos del cáncer.⁷

Inestabilidad genética.

Se ha sugerido que las tasas normales de mutación, junto con la velocidad de expansión clonal, son suficientes para generar una alteración en el proceso normal en los seres humanos e inducir cáncer, pero que es a partir de un mecanismo de

evasión en la corrección de estas mutaciones lo que origina a las células tumorales transformadas. Es importante recalcar que la inestabilidad genética es necesaria para que un tumor se desarrolle, pero no son exactamente los mismos cambios los que ocurren en todos los tipos de tumores.⁷

Las alteraciones genéticas inciden no sólo en la distribución del gen, sino también en gran porcentaje en su función, afectando principalmente los mecanismos naturales de las células relacionadas a su ciclo celular, apoptosis, proliferación y en determinados casos, a la angiogénesis.⁷

Apoptosis y ciclo celular.

El ciclo celular está dividido en cuatro etapas: G1, S, G2 y M. En la fase G1 (Gap 1 o de presíntesis) la célula funciona normalmente, pero en cualquier momento es capaz de iniciar el proceso de replicación. En el periodo S (síntesis) ocurre la síntesis de DNA y culmina con la duplicación completa de todo el genoma. Durante la fase G2 (Gap 2 o de postsíntesis), son reparados los errores producidos mientras el DNA es sintetizado y, por último, en la fase M o de mitosis ocurre la división celular, produciendo dos células hijas con idéntico contenido genético.⁹

Mientras esto ocurre, existen puntos de chequeo en los que se lleva a cabo una vigilancia del proceso. Se han descrito tres de estos puntos durante el ciclo celular; el primero es el punto Start (G1/S), que se encuentra a finales del periodo G1, cuando la célula va a comenzar la síntesis de DNA. En este punto, la célula verifica si las condiciones son apropiadas y si ha alcanzado el tamaño adecuado para entrar en división; si esto no ha sucedido, entonces el ciclo se detiene en este punto. El segundo se encuentra a la entrada de la mitosis (G2/M), la célula detiene la progresión en el ciclo si la replicación está incompleta o si el DNA está dañado. El tercer punto de este tipo se encuentra en la transición metafase – anafase y es el que regula la salida de la mitosis (M/G1), donde el paso a G1 se detiene si los cromosomas no se han acoplado correctamente al huso mitótico. Cuando se localiza cierto daño, el punto envía una señal que detiene el ciclo celular hasta que se realiza la reparación. Cuando no es posible reparar el daño, se marca la célula para su destrucción por apoptosis; las células normales están programadas para

morir si se ven sujetas a distintos estímulos que produzcan estrés no fisiológico; si se aíslan de su medio, las células son incapaces de recibir señales de supervivencia específicas del tejido, produciendo expresión de oncogenes (genes que codifican proteínas del ciclo celular que favorecen la proliferación celular) o a la inactivación de genes supresores de tumor (genes que codifican proteínas que frenan el ciclo celular) de manera espontánea.⁷

El paso de G1 a S y de G2 a M es regulado por ciclasas y cinasas dependientes de ciclinas. El complejo ciclina B/cdk2 o factor promotor de la mitosis interviene en la transición entre G2 y M. Por su parte, la ciclina D/cdk4 y la ciclina E/cdk2 favorecen el viraje de G1 a S. Tales compuestos fosforilan el producto del gen Rb, activando de esa forma vías moleculares que promueven la transcripción genómica y la síntesis de DNA.⁹

Por lo tanto, se entiende que, en algunos tipos de cáncer, la reparación del DNA no es adecuada, debido a mutaciones en los genes que codifican para las proteínas encargadas de cumplir cierta función.⁹

Se ha propuesto que la habilidad de supervivencia inherente a las células cancerosas transformadas se debe a su alta resistencia a la apoptosis, mientras que la capacidad invasora local y a distancia se debe a mutaciones adicionales. En condiciones normales no se permite la progresión del ciclo hasta que el error no se haya corregido; sin embargo, las células tumorales tienen mutaciones con las que son capaces de repetir el ciclo indefinidamente, aún sin integridad del DNA.⁷

Las ciclinas y cinasas dependientes de ciclina regulan el ciclo celular mediante complejas vías enzimáticas. Mutaciones en tales moléculas se encuentran relacionadas con la génesis del cáncer.⁹

Uno de los inhibidores más importantes es p53; esta molécula es expresada cuando ocurre algún daño importante en el DNA e induce la transcripción de otros factores como p21, el cual detiene el ciclo celular en varios puntos, permitiendo que actúen los mecanismos de reparación del genoma. En casos extremos, cuando no es

posible solucionar el daño genómico, p21 interviene favoreciendo los mecanismos de apoptosis.⁹

La replicación del DNA que ocurre durante el ciclo normal de división celular tiene como fin que el complemento genético de las células hijas resultantes sea igual al de la célula madre, por lo que este debe poseer un muy alto grado de fidelidad. El daño al DNA se puede deber al funcionamiento normal de las células y su necesidad de reparación, la luz UV, algunos medicamentos contra el cáncer y la radiación que también se usa para tratar el cáncer. Es bien conocido que tanto la inflamación como el estrés oxidante continuo actúan como fuertes promotores tumorales, favoreciendo el desarrollo del tumor.⁷

Proliferación, angiogénesis y metástasis

Dentro de los mecanismos desregulados en las células tumorales, encontramos de manera general que estas células se duplican aceleradamente y que su tasa de proliferación es mayor a la del tejido normal de origen, esto principalmente debido a que su ciclo celular y sus puntos de regulación se encuentran desregulados, activando oncogenes y apagando los genes supresores de tumor. Esta desregulación permite el escape de las células tumorales de su ciclo celular normal, promoviendo la invasión de vasos sanguíneos que nutren el tumor mediante una angiogénesis y que incluso permite que estas células salgan a circulación e invadan otros tejidos u órganos en el proceso conocido como metástasis.⁷

Los genes que participan en estos fenómenos son muy diversos, y entre ellos podemos destacar aquellos que como se ha mencionado desempeñan un papel como oncogenes o como genes supresores de tumor.⁷

El concepto de los genes supresores de tumores (GST), proviene de los experimentos genéticos en células somáticas, donde la hibridación entre células cancerosas y células normales fue no tumorigénica, lo que sugiere que la presencia de uno o varios genes de las células normales eran dominantes y capaces de suprimir el potencial tumorigénico de las células cancerosas. Con el avance de la

tecnología genética, se hizo posible analizar fusiones microcelulares que contenían cromosomas, resultando un híbrido no productor de tumor.⁸

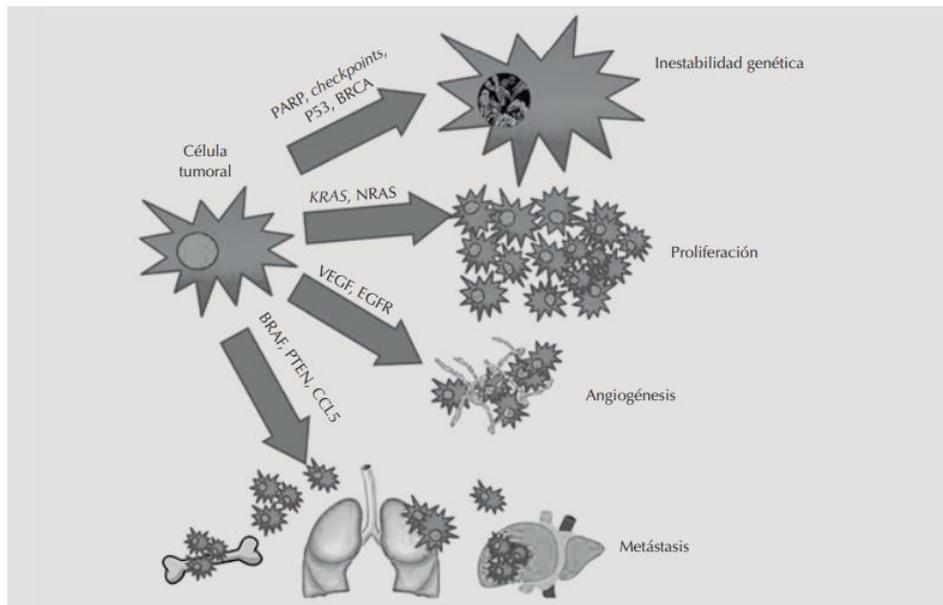


Figura 1. Marcadores moleculares relacionados con estabilidad genética, proliferación, angiogénesis y metástasis de células tumorales.⁷

La existencia de los GST ha permitido un mejor entendimiento de la predisposición genética al cáncer, el tipo celular o tejido específicamente asociado con algunos genes anormales sus productos, así como la reproducibilidad en las anomalías cariotípicas de ciertos cánceres.⁸

Las mutaciones que activan a los proto-oncogenes hacia oncogenes pueden residir en el gen estructural y alterar directamente al producto proteico o en algunos casos son encontradas en la porción reguladora de un gen y condicionan la sobreproducción del producto proteico normal. En ambos casos el producto genético alterado gana una función, resultando en una continua señalización o una señal anormal para la proliferación o crecimiento celular. En contraste, los productos de los GST actúan de alguna forma para detener la proliferación celular, aun en presencia de señalizaciones anormales, en este contexto los GST son reguladores negativos de la proliferación celular y la pérdida o mutación de un alelo no impacta

en la función del otro, por lo que ambos alelos deben estar mutados para inactivar la función de un gen.⁸

Cuando mutan, los oncogenes tienen el potencial de hacer que las células normales se vuelvan cancerosas y principalmente inducir la migración de éstas a otros órganos mediante la metástasis.⁷

En cuanto a la angiogénesis, se ha descrito como el proceso mediante el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a expensas de un lecho vascular preexistente. La angiogénesis tumoral consiste en una serie de complejos pasos consecutivos que llevan en último lugar a la formación de nuevos vasos sanguíneos que suministran sangre y nutrientes a la masa tumoral. Por tanto, se trata de un proceso esencial tanto para el crecimiento del propio tumor como para el desarrollo de metástasis a distancia. Las células neoplásicas, así como las células inmunes infiltrantes y/o las células de los tejidos sanos son capaces de secretar sustancias con actividad angiogénica.⁷

2.2. ¿Qué terapias se han ocupado para su tratamiento?

El tratamiento de los tumores malignos se basa en el empleo aislado o en combinación de cirugía, radioterapia y quimioterapia, y en algunos tumores concretos, de tratamientos hormonales e inmunológicos. Teniendo en cuenta los efectos secundarios que pueden derivarse de estos tratamientos, cualquier decisión terapéutica que se tome en el transcurso de la enfermedad puede repercutir significativamente en la calidad de vida del paciente.¹⁰

Todos los métodos de tratamiento son diferentes y están relacionados según el tamaño, el lugar donde se localiza y la etapa en la que se encuentre el tumor. El oncólogo es responsable de elegir el tratamiento adecuado, acorde a la condición del paciente y del tumor.¹¹

Cirugía

La cirugía es uno de los pilares fundamentales del tratamiento de los pacientes oncológicos. Prácticamente la totalidad de los pacientes van a necesitar en algún

momento de alguna intervención quirúrgica.¹⁰ La cirugía es un tratamiento común para muchos tipos de cáncer si son encontrados en una etapa temprana. Sin embargo, debido a que el cáncer de origen primario desconocido ya se ha propagado más allá del lugar donde comenzó, la cirugía es menos probable que sea útil. Esta puede ser una opción si el cáncer sólo se encuentra en los ganglios linfáticos o en un órgano donde el cirujano puede extirparlo por completo. Sin embargo, aún existe una probabilidad de que el cáncer puede estar en cualquier otro lugar del cuerpo.¹²

Radioterapia

La radioterapia, como la cirugía, es un tratamiento local. Su efecto terapéutico se basa en la interacción de la energía, habitualmente fotones con la materia. Cuando un fotón incide sobre un órgano, se producen diferentes interacciones con los átomos que dependen de la energía del fotón incidente y de la probabilidad de impacto con los electrones de las distintas capas energéticas del átomo.¹⁰

Cuando el cáncer se ha propagado extensamente, la radiación puede ser usada para aliviar síntomas tal como dolor, sangrado, dificultad para tragar, obstrucción intestinal, compresión de los vasos sanguíneos o nervios debido a tumores y los problemas causados por las metástasis que han llegado a los huesos.¹²

El efecto citotóxico de la radiación se debe fundamentalmente a su acción sobre las moléculas de DNA y, en menor medida, por alteración directa de la función de la membrana celular y los microtúbulos. Aunque parte del daño sobre el DNA puede deberse a impactos directos de los fotones sobre la doble hélice, el principal mecanismo de lesión se debe a la ionización del medio interno con formación de radicales hidroxilos que “roban” electrones del DNA. Existen factores extrínsecos que pueden modificar la radiosensibilidad celular como son el oxígeno circundante, que estabiliza los radicales libres producidos prolongando su semivida, y el uso de fármacos citotóxicos radiosensibilizadores.¹⁰

Este tratamiento se considera invasivo y consiste en la radiación ionizante que provee una dosis letal a tumores definidos. Sin embargo, la radiación puede afectar

al DNA y provocar que las células cancerosas mueran durante la mitosis con el daño mínimo posible. En este método, el tumor debe ser erradicado y la calidad de vida del paciente suele aumentar. Es esencial para el 50 al 60 % de los casos de cáncer. Según el tipo de tumor, hay diferentes sensibilidades.¹¹

Hormonoterapia

Después del descubrimiento de los receptores hormonales en las células de determinados tumores y de un mejor conocimiento de la fisiología endocrinológica, los tratamientos hormonales están basados en fármacos diseñados específicamente para modificar la homeostasis hormonal. Las hormonas se asemejan bastante al fármaco ideal: su mecanismo de acción es bastante específico, se administran de forma oral, tienen escasos efectos secundarios y son baratos.¹⁰

En casos donde el cáncer de origen primario desconocido es probable que sea un cáncer de mama o de próstata, la terapia hormonal puede ser una manera eficaz de disminuir el crecimiento del cáncer, o quizás hasta reducir su tamaño y puede que ayude a la persona a vivir por más tiempo.¹²

Cerca del 25% de tumores en hombres y del 40% en mujeres son conocidos por tener una base hormonal. El tratamiento hormonal es efectivo contra el cáncer sin actividad citotóxica asociada a la quimioterapia. Únicamente cuando se ocupan los esteroides como un procedimiento de quimioterapia, estos compuestos son conocidos como fármacos quimioterapéuticos, siendo entonces que esta hormona suele ser abundante en la naturaleza y pueden ser ocupadas como tratamiento contra algunos tipos de cáncer, como lo son el de linfoma, leucemia y mieloma múltiple. Además, antes de ser usada la quimioterapia, suelen mitigar la hipersensibilidad del tratamiento. Algunos ejemplos son: Prednisona, Metilprednisolona y la Dexametasona.¹³

Inmunoterapia

La modulación del sistema inmunológico mediante la administración de interferones, citocinas, vacunas específicas o linfocitos estimulados ha sido objeto de numerosos

estudios en el tratamiento de algunos tumores, como el melanoma o el tumor de células renales. También se utilizan como tratamiento de mantenimiento en linfomas de bajo grado y mieloma múltiple tras la respuesta a quimioterapia de inducción con intención de retrasar las recaídas.¹⁰

Quimioterapia

La quimioterapia (quimio) es el uso de medicamentos para tratar el cáncer. A menudo, estos medicamentos se administran por vía intravenosa o se toman vía oral. Estos medicamentos entran al torrente sanguíneo y alcanzan todo el cuerpo, por lo que este tratamiento es potencialmente beneficioso en los casos en los que el cáncer se ha propagado más allá del órgano en el que inició.¹²

Los citostáticos son fármacos que producen un daño molecular directo que acaba induciendo la apoptosis o muerte celular. La mayoría de estos fármacos actúan durante el proceso de división celular, situación que aprovechamos al tener las células tumorales una mayor tasa de división que las células normales. Muchas veces se utilizan combinaciones de fármacos debido a que muchos de ellos presentan sinergismo y para salvar fenómenos de resistencia de las células.¹⁰

Para los cánceres que son claramente avanzados, la quimioterapia puede ser el tratamiento principal, y resulta poco probable que los tratamientos locales tal como cirugía o radioterapia sean útiles. En algunos casos, puede ser muy eficaz en reducir el tamaño de los tumores o incluso desaparecerlo por completo. Para los cánceres que parecen haberse extraído completamente con cirugía o radiación, la quimioterapia puede ser agregada para tratar de destruir las células cancerosas remanentes en el cuerpo.¹²

El uso conjunto de quimioterapia y radioterapia puede proveer mejores resultados en el tratamiento. En cáncer rectal, cerebral y cervical, la combinación de ambas terapias es más efectiva.¹¹

Las terapias dirigidas utilizan fármacos que tienen efectos adversos menos severos y que las células tumorales sean las únicas afectadas. Los anticuerpos monoclonales e inhibidores de moléculas pequeñas son los dos principales tipos de

terapias dirigidas. En estas técnicas, el crecimiento del tumor es detenido desde una vía bioquímica o bien, alterando la función de una proteína que realizan la proliferación y la supervivencia de las células tumorales. Los fármacos se acoplan en el receptor de la membrana de la proteína e inhiben el crecimiento de estas células cancerosas.¹¹

Los fármacos utilizados en quimioterapia rondan aproximadamente en 100, los cuales pueden ser ocupados de manera individual o combinada. Cada uno tiene una composición y una estructura química diferente.¹³

2.3. ¿Cuáles son las dianas farmacológicas más comunes como tratamiento?, ¿tienen efectos secundarios?

Las dianas de los fármacos comprenden una amplia variedad de componentes celulares que pueden estar presentes tanto en el hospedador como en el huésped, en el caso de enfermedades ocasionadas por un patógeno, incluyendo proteínas, ácidos nucleicos, lípidos o carbohidratos. Puesto que las proteínas son los componentes macromoleculares más abundantes, no sorprende que estas sean las dianas de los fármacos más frecuentes.¹⁴

La terapia dirigida es la base de la medicina de precisión. Se trata de un tipo de tratamiento del cáncer que actúa sobre los cambios que promueven el crecimiento, la división y diseminación de las células cancerosas. La mayoría de las terapias dirigidas utilizan medicamentos micromoleculares o anticuerpos monoclonales.¹⁵

Los medicamentos micromoleculares o de moléculas pequeñas son capaces de entrar fácilmente en las células debido a su tamaño pequeño y por ello se usan para que actúen sobre el objetivo o blanco del tratamiento que está en el interior de las células. Los anticuerpos monoclonales, también conocidos como anticuerpos terapéuticos, son proteínas producidas en el laboratorio. Estas proteínas están diseñadas para que se adhieran a blancos específicos que se encuentran en las células cancerosas.¹⁵

Los indicadores de las terapias dirigidas son muy concretos, ya que no todos los tumores tienen los mismos blancos o dianas. Es importante tener en cuenta que¹⁶:

- Un tratamiento dirigido no funcionará si el tumor no tiene la diana específica.
- Si tiene la diana, no significa que el tumor responderá al fármaco.
- La respuesta al tratamiento puede ser temporal.

En el caso de los anticuerpos monoclonales, las dianas se localizarán en el exterior de las células tumorales; mientras que, para las moléculas pequeñas, pueden actuar sobre sustancias intracelulares.¹⁶

Moléculas pequeñas

Los fármacos de moléculas pequeñas son sintéticos, no biológicos. Se utilizan en la quimioterapia convencional (por ejemplo: metotrexato) y se desconoce si actúan sobre dianas concretas. Sin embargo, los fármacos dirigidos de moléculas pequeñas están diseñados para actuar sobre una diana terapéutica específica, al igual que los anticuerpos monoclonales. Actúan bloqueando el proceso que ayuda a las células patógenas a multiplicarse y diseminarse; muchos de ellos se administran por vía oral.¹⁶

Pueden actuar sobre receptores extracelulares de la superficie y, por su pequeño tamaño, también pueden penetrar a través de la membrana celular e interactuar con dianas intracelulares. Habitualmente están diseñados para interferir con la actividad enzimática de la proteína diana hacia la que van dirigidos.¹⁶

¿Cómo funciona la terapia dirigida? Beneficios y efectos secundarios

La quimioterapia convencional actúa sobre todas aquellas células que se reproducen rápidamente, tanto las células tumorales como sanas de crecimiento rápido, desencadenando efectos secundarios como la bajada de defensas, caída del cabello, diarreas o llagas en la boca. Por el contrario, los tratamientos dirigidos actúan más selectivamente sobre las células tumorales con una característica determinada, lo cual les confiere un perfil de efectos secundarios más tolerable.¹⁶

Sin embargo, estos fármacos se enfrentan a dos problemas básicos:

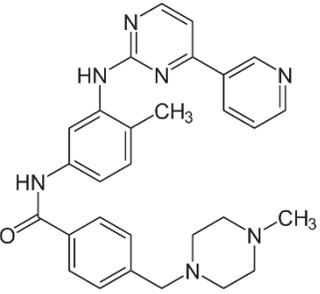
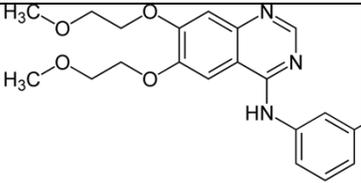
- Hoy en día, se conocen pocas moléculas o procesos que sean exclusivas o características de las células tumorales, lo que dificulta la aparición de

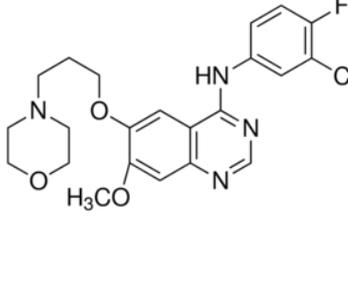
nuevos fármacos selectivos, haciendo que sus dianas sean poco adecuadas a nuevos tratamientos, ya que la mayor parte de los procesos celulares son comunes al resto de células del organismo.¹⁶

- Las células tumorales disponen de ciertos recursos que les confieren ventajas respecto a las células sanas. Así, aunque se bloquee un determinado mecanismo de crecimiento tumoral, la célula tumoral encuentra una vía alternativa para crecer independientemente del mecanismo bloqueado, por lo que hay que localizar tratamientos eficaces que impidan que el tumor encuentre otras alternativas de crecimiento.¹⁶

A continuación, se enlistan algunos fármacos y sus dianas farmacológicas correspondientes, más comunes.

Tabla 1. Terapias dirigidas en oncología.¹⁶

Medicamento	Estructura	Diana farmacológica	Indicación en oncología
Imatinib	 The chemical structure of Imatinib consists of a central pyrimidopyrimidine ring system. It features a methyl group (CH3) and a pyridine ring attached to the pyrimidine part, and a benzamide group attached to the other pyrimidine part. The benzamide group is further substituted with a piperazine ring containing a methyl group on the nitrogen atom.	c-kit PDGFR BCR-ABL	Neoplasias malignas hematológicas (leucemia mieloide crónica y leucemia linfoblástica aguda) Tumores del estroma gastrointestinal Dermatofibrosarcoma protuberans
Erlotinib	 The chemical structure of Erlotinib features a central pyrimidopyrimidine ring system. It has two methoxypropoxy groups (H3C-O-CH2-CH2-O-) attached to the pyrimidine ring and a benzamide group attached to the other pyrimidine ring.	EGFR (HER 1/ERBB1)	Carcinoma de pulmón no microcítico (con mutaciones activadoras del EGFR) Cáncer de páncreas

Gefitinib	 <p>The chemical structure of Gefitinib consists of a central benzimidazole ring system. It features a methoxy group (H₃CO) at the 2-position, a morpholine ring connected via an ether linkage at the 4-position, and a 4-chloro-3-fluorophenylamino group at the 5-position.</p>	EGFR (HER 1/ERBB1)	Carcinoma de pulmón no microcítico (con mutaciones activadoras del EGFR)
-----------	--	--------------------	--

¿Y qué pasa con el sistema inmune?

Hay numerosas evidencias de que el sistema inmune puede contribuir a eliminar y/o controlar la expansión de las células transformadas. La profundización del conocimiento de cómo funcionan las distintas ramas del sistema inmune innato y adaptativo, de los mecanismos moleculares involucrados en los procesos inflamatorios sumados al advenimiento de técnicas como la citometría de flujo, la inmunohistoquímica y la biología molecular permitieron discernir el complejo diálogo entre sistema inmune y cáncer. A grandes rasgos, se podría simplificar diciendo que algunos componentes del sistema inmune pueden ser considerados factores capaces de promover la iniciación, promoción y progresión del cáncer y además que pueden actuar paralizando otros mecanismos inmunológicos claves para efectuar la destrucción del tumor.²¹

En el año 2000, Douglas Hanahan y Robert A. Weinberg, resumieron una enfermedad tan compleja como el cáncer en seis características (figura 2) que debiera adquirir una determinada célula para generar una transformación a célula neoplásica. Estas seis características del proceso neoplásico son compartidas por cualquier tipo de célula, independientemente de su origen embrionario o del tejido u órgano al cual ella pertenezca y son entonces, comunes a la increíble diversidad de enfermedades neoplásicas.²¹

Los primeros de estos cuatro rasgos esenciales en un proceso de transformación maligna son aquellos relacionados con: (1) el sostenimiento de una señal proliferativa; (2) la evasión de mecanismos supresores o inhibidores de la replicación celular; (3) la resistencia a la muerte; (4) la permisividad para la

inmortalidad replicativa. Las dos características restantes: (5) inducción de angiogénesis y (6) activación de la invasión y la metástasis, ejemplifican la adquisición de habilidades que le van a permitir a la célula tumoral crecer y diseminarse mediante la modificación del microambiente.²¹

En los últimos años, hubo un importante cambio en la forma de abordar el problema y se comenzó a trabajar en la noción de que los tumores malignos son más que una masa de células transformadas proliferando indefinidamente, sino que más bien son tejidos complejos formados por múltiples y heterogéneos tipos celulares que participan interaccionando entre ellos mismos. Así, tanto el estroma asociado al tumor como también las células reclutadas al mismo son participantes activos en el proceso de tumorigénesis y no sólo testigos pasivos de ese proceso.²¹

Once años después de haberse descrito los seis atributos distintivos del proceso neoplásico se reforman estos postulados agregando dos nuevos rasgos fundamentales a la biología del cáncer (figura 1). Estos dos nuevos rasgos que completan la enumeración anterior son: (7) la capacidad de reprogramar el metabolismo energético (aumento de glicólisis y captación de glucosa) y (8) la capacidad de las células neoplásicas de evadir su destrucción por parte del sistema inmune.²¹

El sistema inmune tiene tres roles fundamentales en la prevención de tumores malignos pudiendo los dos primeros ser considerados como mecanismos indirectos. Por un lado, el sistema inmune protege al organismo de neoplasias inducidas por virus al suprimir las correspondientes infecciones virales. Además, es responsable de la eliminación eficiente y a tiempo de patógenos con una pronta resolución de la respuesta inflamatoria, lo cual evita el establecimiento de un ambiente inflamatorio crónico, el cual es un fuerte promotor de la tumorigénesis. Finalmente, el sistema inmune puede específicamente identificar y eliminar células tumorales que expresen antígenos específicos de tumor. Este proceso, denominado *inmunovigilancia* ocurre cuando el sistema inmune identifica células transformadas que han escapado a los mecanismos intrínsecos supresores de tumor y pueden así generar un tumor maligno. Las células efectoras del sistema inmune emplean diversos mecanismos

para controlar y eliminar a esas células mutadas y es por eso que es considerado el tercer mecanismo supresor tumoral extrínseco. Así, la habilidad de evadir la inmunovigilancia ha sido incluida como un nuevo rasgo distintivo del cáncer.²¹

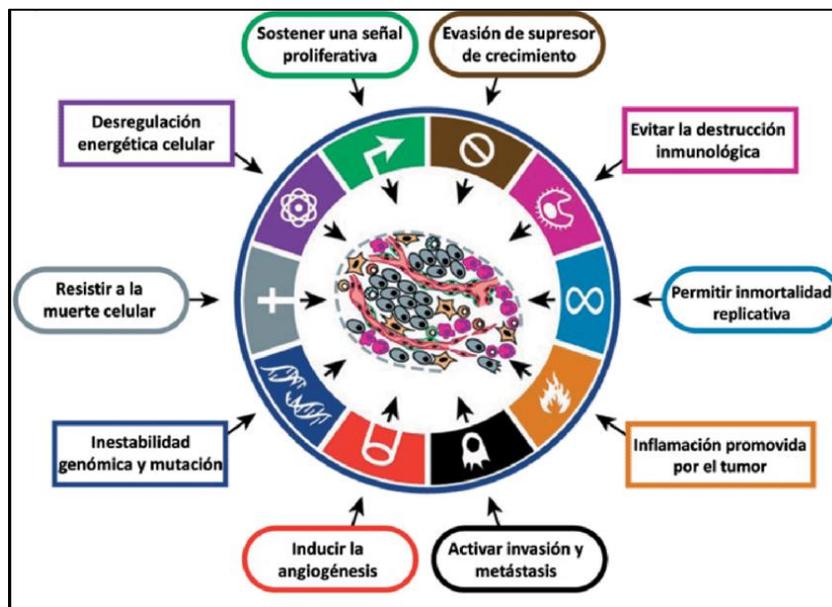


Figura 2. Las características del cáncer (“The hallmarks of cancer”).²¹

Los efectos secundarios más comunes de la terapia dirigida son la diarrea y problemas en el hígado. Otros efectos secundarios pueden incluir problemas de coagulación de la sangre y cicatrización de heridas, presión arterial alta, fatiga, llagas en la boca, cambios en las uñas, pérdida de color del cabello y problemas en la piel, los cuales pueden incluir erupciones o piel reseca. En muy pocas ocasiones, se forma una perforación en la pared del esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el recto o la vesícula biliar.¹⁵

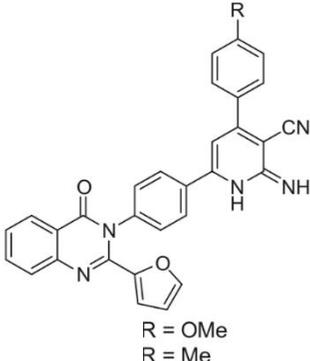
2.4. ¿Qué puede inhibir la quinazolina?

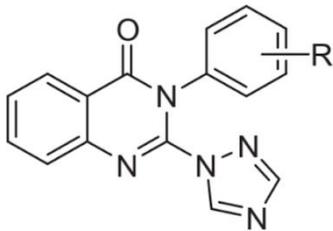
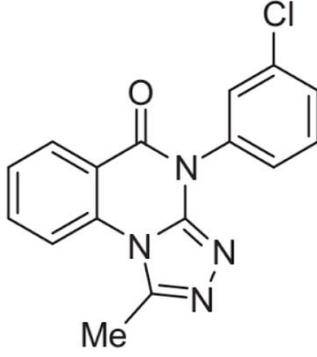
Las quinazolininas son un grupo de moléculas del tipo heterocíclica con bioactividad en términos de síntesis y aplicaciones de medicina química muy importantes. Múltiples actividades y/o aplicaciones han sido reportadas a lo largo de los años, trayendo consigo un desarrollo de diseño estructural de estos compuestos para ser selectivos y con alto potencial farmacológico.

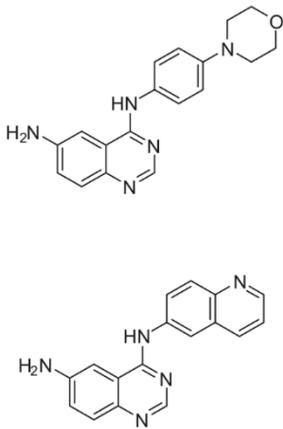
En 1988, Evans junto a su equipo de Merck, encontraron un compuesto terapéutico derivado de asperlicina y reconocieron que esa estructura tenía afinidad a receptores de benzodiazepinas, opioides, α -adrenérgicos, serotonina, muscarínicos y angiotensina I. Para llamar de alguna forma a esta estructura, Evans la denominó como privilegiada. Algunos inhibidores de EGFR como erlotinib, gefitinib, dacomitinib y afatinib tienen un núcleo base de quinazolina, mismo que es considerado como una estructura privilegiada al poder presentar actividades antifúngicas, antibacterianas, antimaláricas, antivirales, antituberculosas, inhibidoras de timidilato sintasa y, por supuesto, de las tirosin cinasas. Lo anterior muestra entonces que, la polifarmacología existe en las quinazolininas y explica los diversos efectos adversos que, eventualmente, pueden ser utilizados a favor del diseño de fármacos.¹⁷

A lo largo de la última década, se han hecho avances en la investigación de la actividad que pueden presentar los compuestos sintetizados de quinazolina; esto ha permitido tener un mejor desarrollo estructural de estos compuestos para ser selectivos y que presenten un alto potencial farmacológico. En la tabla 2, se enlistan algunas de estas aplicaciones.

Tabla 2. Actividades farmacológicas descritas de derivados de quinazolina.

Actividad farmacológica	Investigación	Molécula
Anticancerígena	En 2016, Ahmed y Belal desarrollaron una serie de derivados de quinazolina incorporando piridina y pirano. Evaluados en HEPG2, HCT116 y MCF7. Actividad potencial en HEPG2. ²²	 <p>R = OMe R = Me</p>

<p>Anticonvulsiva</p>	<p>Zhang y colaboradores reportaron una serie de derivados de quinazolina, incorporando triazol y otros compuestos heterocíclicos. Evaluados mediante electroshock y pruebas rotarod de neurotoxicidad. Mayor índice de protección que los fármacos existentes y actividad oral significativa contra las convulsiones indicadas en ratones.²³</p>	 <p>R = 4-Cl R = 3-Br</p>
<p>Antihistamínico</p>	<p>Gobinath y colaboradores desarrollaron una serie de derivados de quinazolina, incorporando triazol y un fenilo sustituido. Evaluados por broncoconstricción inducida por histamina en conejillos de indias. El análisis de relación actividad – estructura revela que diferentes sustituyentes en el C-1 influyen en la actividad biológica en un grado variable. El 4-(3-clorometil)-1-metil-[1,2,4]triazol[4,3]quinazolin-5(4H)-ona es el análogo más potente con una protección del 69.65%.²²</p>	

Antiinflamatorio	Liang y colaboradores desarrollaron una serie de derivados de 4-aminoquinazolinas con actividad antiinflamatoria en macrófagos inducidos por lipopolisacáridos. Los más potentes inhiben tanto TNF- α e IL-6. ²³	
------------------	--	---

En la segunda mitad del siglo XIX se describió, por primera vez, en levaduras y otros organismos, al L-lactato y al etanol como productos de la fermentación de diversos azúcares. Se observó que las concentraciones de ambos metabolitos eran características de los procesos de fermentación anaerobios, y que ambos disminuían sus concentraciones en presencia de oxígeno. Para la primera década del siglo XX, utilizando células del músculo esquelético de ancas de rana, Walter M. Fletcher y Frederik G. Hopkins reportaron que, durante la estimulación muscular, cuando se llegaba a la fatiga, el transporte de lactato hacia el plasma aumentaba, y que la concentración de esta molécula en el plasma disminuía cuando las fibras musculares se colocaban en condiciones de alta oxigenación. En la década de 1940, Otto Fritz Meyerhof y Gustav Embden demostraron que el lactato derivaba de la degradación del glucógeno muscular y de la vía glucolítica. En este contexto, las funciones de la Lactado deshidrogenasa y del lactato quedaron relegadas a ser parte de un mecanismo que permitía la oxidación del NADH citoplasmático en la segunda parte de la vía glucolítica, siendo elemental para el correcto funcionamiento de la glucólisis.¹⁸

El Lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima que cataliza la oxidación de los ácidos pirúvico y láctico. Su valor real en oncología radica en que su incremento es acorde a la velocidad de duplicación de las células neoplásicas, con una relación directamente proporcional al volumen tumoral. De hecho, es factible encontrar una

elevación de esta enzima en aquellos pacientes con enfermedad neoplásica avanzada.¹⁹

2.5. ¿Podemos utilizar la quinazolina para inhibir nuevas dianas biológicas?

La LDH cataliza de forma simultánea y estereoespecífica la reacción de reducción de piruvato a L-lactato, utilizando como cofactor NADH que se oxida a NAD⁺. También puede catalizar la reacción inversa, es decir, la oxidación de L-lactato a piruvato, pasando de NAD⁺ a NADH. Esta reacción puede ser monitoreada por espectroscopía UV-Vis de forma continua a 340 nm, debido a que el NADH tiene una banda de absorción a esta longitud de onda.²⁰

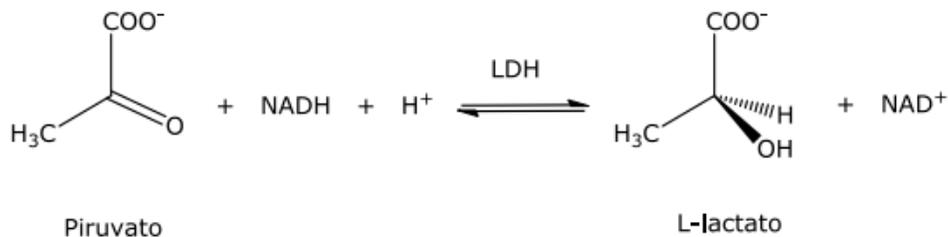


Figura 3. Reacción de piruvato a L-lactato, oxidando NADH a NAD⁺ como cofactor.

Esta oxidorreductasa ha sido relacionada con enfermedades como la malaria y algunos tipos de cáncer. Sin embargo, su relación con procesos cancerígenos es más estrecha de lo que se había pensado. En el año de 1956 se descubrió el efecto Warburg, el cual consiste en obtener energía por la rápida conversión de glucosa a L-lactato en condiciones aeróbicas. En condiciones aeróbicas en una célula sana se obtienen 38 ATP de energía por cada molécula de glucosa, siguiendo la vía de la fosforilación oxidativa, mientras que, en condiciones anaeróbicas sólo se obtienen 2 ATP de energía. Es decir, las células cancerígenas prefieren obtener energía de la conversión de glucosa en L-lactato por la vía de la glucólisis, que obtener energía de la fosforilación oxidativa.²⁰

La conversión de glucosa en L-lactato tiene varias aristas, como la alteración de los niveles normales de LDH, que dirige a la formación de especies reactivas de

oxígeno. El medio extracelular se acidifica porque la célula expulsa ácido láctico del interior de las células esto promueve factores de respuesta a la inflamación, que atraen macrófagos (células que degradan material celular), los cuales secretan sustancias que promueven el desarrollo celular y la metástasis.²⁰

Múltiples factores, como lo son las variaciones genéticas y cambios en la expresión de mRNA son conocidos por influir en la eficiencia de los fármacos. Sin embargo, la respuesta al fármaco también es afectada por cambios en la conformación, la localización y la expresión de diversas proteínas, las cuales regulan mutaciones y niveles de expresión de mRNA.²⁴

La expresión de diferentes proteínas séricas ha sido reportada como indicadores útiles de la sensibilidad de la quimioterapia en el cáncer, también se ha reportado que la variación en los niveles de LDH es útil como biomarcador de la eficiencia de bevacizumab, una molécula pequeña utilizada para tratar células con cáncer de pulmón.²⁴

Los anticuerpos monoclonales de EGFR, incluyendo cetuximab y panitumumab, son fármacos efectivos para el tratamiento de cáncer colorrectal. Sin embargo, estos son muy caros y suelen presentar efectos secundarios severos tales como reacciones infusionales (ocurren cuando el cuerpo tiene una respuesta inmunitaria fuerte al tratamiento) y erupciones cutáneas. Es por ello que, estos fármacos deben usarse sólo en pacientes donde se espera una correcta respuesta.²⁴

La LDH es una enzima glicolítica que cataliza la conversión del ácido pirúvico al ácido láctico y está compuesta por dos subunidades, LDHA (tipo muscular, subunidad M) y LDHB (tipo cardiaca, subunidad H). La LDHA es reportada por estar involucrada en la proliferación y metabolismo de células en la mayoría de los cánceres, mientras que la expresión de LDHB varía mucho según el tipo de cáncer.²⁴

En 2012, la expresión de LDHB estuvo relacionada al crecimiento celular de cáncer de pulmón con mutaciones del gen KRAS (gen que da origen a una proteína que participa en las vías de señalización celular que controlan la multiplicación, la

maduración y la destrucción de las células),²⁵ y su utilidad como factor del tipo pronóstico para el cáncer de seno triple negativo, osteosarcoma y NSCLC (cáncer de pulmón de células no pequeñas).²⁴

La activación de LDH ha sido reportada para mejorar el efecto Warburg.²⁴ Hace más de ochenta años el bioquímico alemán Otto Warburg hizo estudios de los procesos enzimáticos involucrados en la respiración celular; encontró cambios importantes en el metabolismo de las células tumorales por lo que recibió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1931. Reportó que la tasa de glucólisis fermentativa se incrementaba aún en condiciones aeróbicas. Se sabe que la fermentación es un proceso que ocurre independientemente del oxígeno, por lo que el fenómeno de Warburg era una contradicción al efecto Pasteur.²⁶

Con la observación de que la energía de las células tumorales se producía en el citosol y no mediante la fosforilación oxidativa las primeras hipótesis e ideas adjudicaban este cambio a daños irreversibles ocurridos en la mitocondria. Actualmente se acepta que el cáncer es el resultado de múltiples procesos patogénicos asociados, entre ellos un intenso anabolismo.²⁶

En condiciones normales la célula produce el ATP que requiere para cubrir sus necesidades mediante dos mecanismos catabólicos acoplados. El primero es la glucólisis, la cual consiste en 10 reacciones enzimáticas que degradan a la glucosa hasta piruvato. El otro mecanismo es el ciclo de Krebs con el que se obtiene un mayor aporte energético durante la oxidación completa de la glucosa en presencia de oxígeno molecular. El piruvato sufre cambios dentro de las mitocondrias mediante dos reacciones de condensación: 1) por la coenzima A y 2) por el oxalacetato. La oxidación completa del piruvato continúa mediante el ciclo de Krebs, la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.²⁶

A nivel celular los tumores presentan ventajas de supervivencia debido a la secreción de lactato. El ácido láctico confiere a las células tumorales propiedades invasivas, afectando la estructura normal de los tejidos. Adicionalmente, la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular y de su receptor (VEGF y VEGFR) responde a diferentes estímulos para generar nuevos vasos sanguíneos a

partir de los preexistentes. La estimulación del VEGF y su receptor tienen como objeto generar un mayor abastecimiento de oxígeno a las células para promover el metabolismo oxidativo y suprimir la glucólisis fermentativa. Sin embargo, en su lugar se promueve la metástasis.²⁶

Cuando la disponibilidad de oxígeno es limitada y el metabolismo oxidativo disminuye, el piruvato se reduce hasta lactato. Si la cadena respiratoria no trabaja adecuadamente (como en una célula tumoral) la oxidación del $\text{NADH} + \text{H}^+$ no ocurre por dicha vía. Es por esto, por lo que, el paso de piruvato a lactato es un punto crítico en el metabolismo de células tumorales. En células tumorales, se han observado cambios en la expresión en las células isoformas de la enzima lactato deshidrogenasa; como consecuencia hay alteraciones en la fisiología mitocondrial. Esto se comprobó en un estudio experimental en el que se observó que las células tumorales deficientes de lactato – deshidrogenasa mostraron un incremento en la respiración mitocondrial.²⁶

En presencia de oxígeno, la mayoría de las células normalmente diferenciadas dependen principalmente del fósforo oxidativo mitocondrial para generar ATP. Durante la oxidación fosforilativa, el piruvato derivado de la glucosa es transferido a la mitocondria y es usado como sustrato en el ciclo de Krebs. En contraste, la mayoría de las células cancerosas se han adaptado para que la mayoría de su ATP sea utilizada para convertir glucosa a lactato en el citosol, aún en presencia de oxígeno. Durante la glicólisis aeróbica, el piruvato mitocondrial es suprimido y la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) del citosol reduce el crecimiento de piruvato a ácido láctico, regenerando NAD^+ y permite que continúe la producción de energía. Como ya se dijo anteriormente, la LDH tiene dos subunidades, la LDHA y la LDHB, las cuales son proteínas reguladas de manera diferenciada en células cancerosas. LDHB, cuando se presenta, es constitutivamente expresada, mientras que la LDHA es inducible en condiciones hipóxicas y suele ser sobre expresada en cánceres con una amplificación de MYC. La reducción de niveles de LDHA en células cancerosas por siRNA (small interference RNA) o shRNA (short hairpin RNA), estimulan la

respiración mitocondrial y reduce la proliferación celular y su potencial tumorigénico.²⁸

La glucólisis induce a una acidificación del microambiente. La excreción de ácido láctico es la causa de la acidificación del área tumoral. El ambiente ácido promueve la muerte de las células normales debido a la falta de mecanismos que se adapten a la acidez extracelular. Lo anterior selecciona a aquellas células que resisten a un ambiente ácido en la rápida división del tumor, impidiendo a su vez una respuesta inmunitaria contra este y, de esta manera, facilitando los mecanismos de selección para el crecimiento agresivo del tejido tumoral.²⁶

2.6. ¿Qué moléculas sí han podido inhibir LDH?

Una de las familias de alcaloides más estudiada, debido a sus interesantes propiedades farmacológicas es la de los compuestos quinolínicos; muchos de sus derivados pueden actuar como agentes analgésicos potentes, hipertensores, amebicidas, virucidas, entre otros.²⁷

Uno de los casos más importantes a nivel biológico y sintético, es el de los alcaloides aislados de la corteza de la quina, que proviene de la familia *Rubicaceas* del género *Cinchona*. Los extractos de esta planta fueron introducidos como agentes médicos en el siglo XVII en Europa, cuando la condesa de Cinchón fue tratada y curada de malaria en el año 1638.²⁷

El análisis detallado del extracto de quina (figura 4) permitió a los químicos identificar más de 20 alcaloides, de los cuales la quinina (1), la cinconidina (2), la quinidina (3) y la cinconina (4) son las sustancias de mayor actividad biológica.²⁷

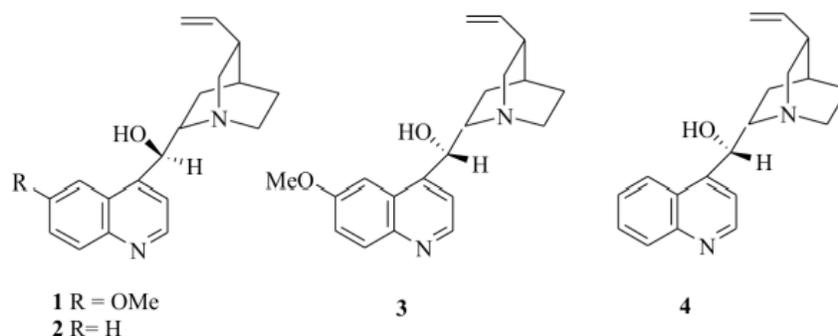


Figura 4. Moléculas quinolínicas con mayor actividad biológica aisladas del extracto de la quina. (1) Quinina, (2) cinchonidina), (3) quinidina, (4) cinconina.²⁷

En la figura 4, se presentan las estructuras de 4 diferentes productos de síntesis por el grupo de investigación de Billiard, los cuales permitieron la inhibición de producción de lactato, siendo entonces consideradas como inhibidores activos de LDHA. Estos compuestos son altamente probables de realizar la unión de la proteína con el citosol, considerando que presentan una alta tasa de unión en un ensayo de diálisis de equilibrio de proteína plasmática de rata.²

Tabla 3. Productos de síntesis derivados de quinolina 3-sulfonamidas que inhiben LDHA.²⁸

Compuesto	1	2	3	4
Estructura				

(1) Ácido 3-((3-(N-ciclopropilsulfamoil)-7-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)quinolin-5-il)amino)-5-(3,5-difluorofenoxi)benzoico; (2) ácido 3-cilopentil-5-((3-(N-cilopropilsulfamoil)-7-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)quinolin-5-il)amino)benzoico; (3) N-ciclopropil-7-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-5-((3-(4-fluorofenoxi)-5-sulfamoilfenil)amino)quinolina-3-sulfonamida; (4) N-ciclopropil-7-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-5-((3-(4-fluorofenoxi)-5-(trifluorometil)fenil)amino)quinolina-3-sulfonamida

El presente trabajo de investigación se enfoca entonces, en indagar si un derivado de quinazolina que tenga similitudes a los compuestos de la tabla 3 en su estructura, pueden o no inhibir a la LDHA y funcionar como terapia dirigida en quimioterapia.

3. Planteamiento del problema

Algunas quinolinas han sido desarrolladas debido a su impacto como inhibidores de la enzima Lactato deshidrogenasa (LDHA). Considerando su similitud estructural y tomando en cuenta algunos grupos funcionales que presentan las moléculas de quinolina, la pregunta inmediata sería, ¿se pueden diseñar derivados de 4-anilinoquinazolininas que puedan interaccionar como inhibidores de la LDHA?

4. Hipótesis

Considerando que algunos compuestos derivados de quinolina presentan actividad inhibitoria sobre LDHA, si se diseñan nuevas moléculas donde se reemplace dicho núcleo heterocíclico por una quinazolina debidamente sustituida, se podrán obtener moléculas con actividad inhibitoria sobre LDHA.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Diseñar, sintetizar y evaluar biológicamente derivados de quinazolina frente a la enzima LDHA.

5.2. Objetivos Particulares

- Diseñar y sintetizar derivados de quinazolina (serie QD)
- Caracterización espectroscópica de la serie QD
- Evaluación biológica de la capacidad inhibitoria de la serie QD sobre LDHA.

6. Metodología

6.1. Diseño de la serie QD

Con el fin de generar compuestos factibles se decidió utilizar derivados de cloruro de benzoilo, tales como cloruro de benzoilo, cloruro de 3-clorobenzoilo, cloruro de 4-clorobenzoilo y cloruro de 2,4-diclorobenzoilo.

Los diseños se basaron en la estructura de los inhibidores conocidos de LDH, por lo que se requiere añadir también una anilina (4-fluoroanilina y anilina). Se utilizaron técnicas de acoplamiento molecular para evaluar y validar las modificaciones propuestas.

6.2. Acoplamiento molecular

Para poder realizar el acoplamiento molecular, el protocolo se dividió en dos partes: uno es el modelado molecular de los productos y el otro es la preparación de la proteína. La primera parte se llevó a cabo en el software *Spartan* ^{14,29} donde se construyeron los compuestos y se generaron los conformeros óptimos. Mientras tanto, el modelo de la proteína 4AJP se extrajo directamente del *Protein Data Bank (PDB)*³⁰. La proteína se preparó eliminando moléculas de agua y iones interferentes, optimizando así energéticamente la estructura del modelo en *Chimera 1.15*³¹. El ligando co-cristalizado se conservó para facilitar la identificación del sitio de unión.

Se utilizó el software *LeDock*, con su herramienta *LePro*, se cargó la proteína preparada, ajustando 100 evaluaciones con un valor de RMSD de 2 Å. El RMSD se utiliza para comparar la conformación con su referencia, al tratarse en este caso de un ligante dibujado en una herramienta como lo es *Spartan* ¹⁴, entonces no requiere una corrección de su simetría, lo cual se debe a que no existe una diferencia significativa entre poses al ser más holgado el cluster³⁴. El acoplamiento molecular se llevó a cabo mediante la línea de comando utilizando Ubuntu 20.04 para Windows de acuerdo con lo que se menciona en el manual de *LeDock*³².

Finalmente, para poder obtener las mejores poses provenientes del acoplamiento molecular, se utilizó un programa prediseñado que interpreta la misma interfaz de

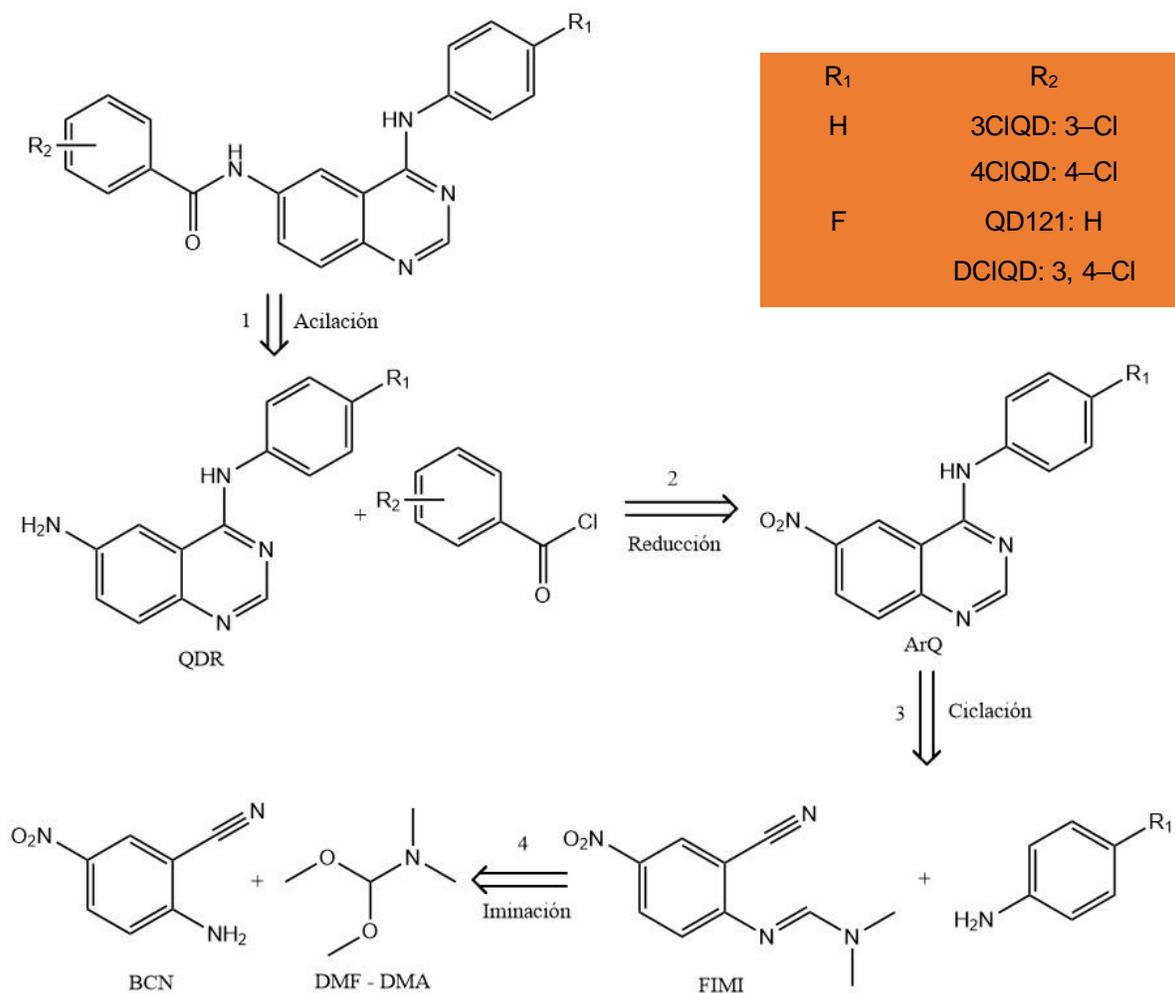
Ubuntu, permitiendo que se obtenga la pose con mayor probabilidad de salir, lo cual se lleva a *Maestro Elements*³³ para su visualización.

6.3. Síntesis química

Con base en lo anterior, se obtuvo la serie **QD** y se llevó a cabo el análisis retrosintético para proponer rutas de síntesis. Contemplando que el núcleo base se trata de una quinazolina, se propuso entonces una ruta sintética única.

Análisis retrosintético para la obtención de la serie QD

Para poder realizar la síntesis de la serie **QD**, el proceso se dividió en 4 pasos (esquema 1) partiendo de la materia prima **QDR** y los derivados de cloruro de benzoilo mediante una reacción de acilación (proceso 1). El intermediario **QDR** se genera a partir del compuesto nitrado **ArQ** mediante una reacción de reducción (proceso 2). De esta forma, la obtención de **ArQ** proviene del uso de la anilina correspondiente y el intermediario de tipo formamidina (**FIMI**) mediante una reacción de ciclación (proceso 4). Finalmente, esta **FIMI** fue generada mediante una reacción de iminación (proceso 4) con las respectivas materias primas: 2-amino-5-nitrobenzonitrilo (**BCN**) y el dimetilacetal de la dimetilformamida (**DMF-DMA**).



Esquema 1. Retrosíntesis de la serie QD

6.4. Análisis espectroscópico

Con tal de poder confirmar que se hayan logrado sintetizar cada uno de los productos, es necesario obtener su espectro de infrarrojo (IR), su resonancia magnética nuclear (RMN) y en teoría, su espectrometría de masas. Sin embargo, debido a que no se encuentra disponible la espectrometría de masas en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII), sólo nos quedamos con los primeros dos.

Para el espectro de infrarrojo se solicitó FTIR por reflectancia de ATR y, para el caso de la RMN, se solicitó tanto el RMN-¹H, RMN-¹³C; únicamente para los casos

donde se encuentra el cloro en posición 3, se solicitó NOESY por la probabilidad de presentar isomería.

6.5. Evaluación biológica

Ensayos de inhibición enzimática sobre Lactato deshidrogenasa (LDH)

Todos los componentes del ensayo se disolvieron en el amortiguador de trabajo a un pH de 7.2. El amortiguador fue preparado a partir del fosfato monosódico y el fosfato disódico, a una concentración de 1 mM y, de ser necesario, se añadió dimetilsulfóxido (DMSO) tomando en cuenta que la concentración máxima no debe de superar el 10% (v/v).

Para el ensayo, al sólo necesitar 20 μ L de cada componente, el piruvato se prepara a una concentración de 2000 μ M, para que, al ser añadida, culmine con una concentración de 400 μ M; la nicotina adenina dinucleótido-reducida (NADH) tuvo una concentración final de 200 μ M, para que dentro del pozo quede con una concentración de 40 μ M. La cantidad de enzima depositada fue de 0.011 U.

En el caso de las moléculas ensayadas y el inhibidor NHI-2, el cual servirá como un material de referencia, se evalúan por triplicado a una concentración de 15 μ M. La actividad de la enzima se sigue por la fluorescencia emitida por NADH a una longitud de excitación/emisión de 340 nm.

7. Resultados y análisis

7.1. Diseño de la serie QD

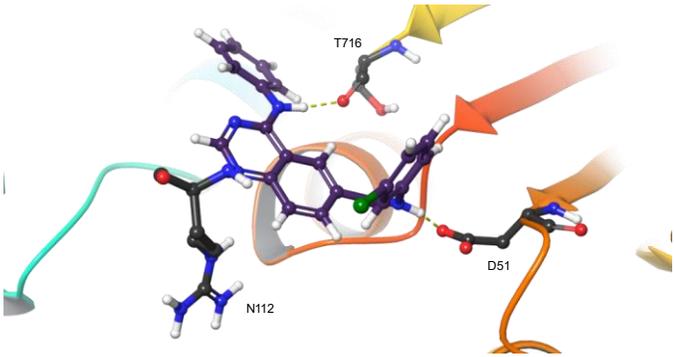
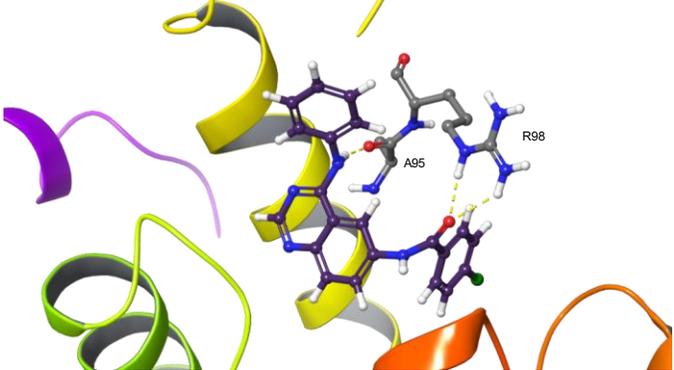
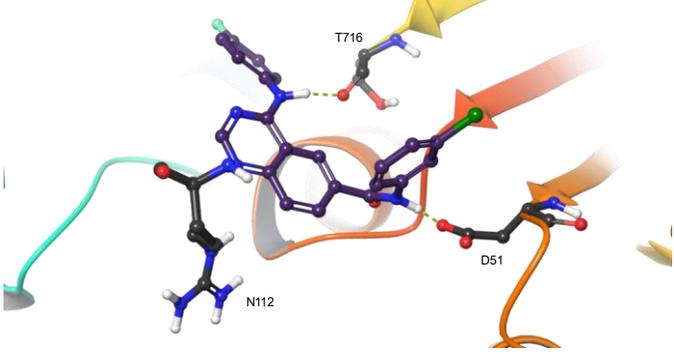
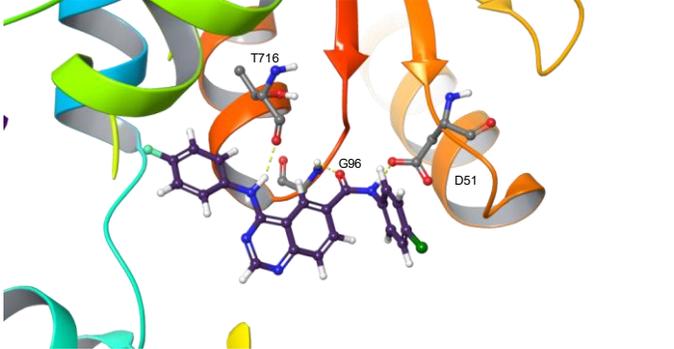
El diseño de la serie **QD** tomó en cuenta la similitud estructural con los inhibidores de LDH, donde a pesar de no ser una quinazolina, el hecho de tener en su estructura una piridina unida a benceno por un enlace simple, no debería de perjudicar en su actividad. Aunado a esto, todos los compuestos presentan una amina unida en la posición 4, se propuso la adición de una anilina. Las modificaciones fueron realizadas con tal de generar derivados que puedan ser generados en un solo paso, de forma que se optimice la síntesis de las moléculas correspondientes.

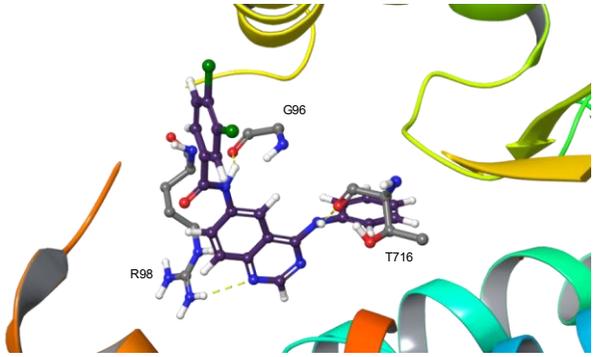
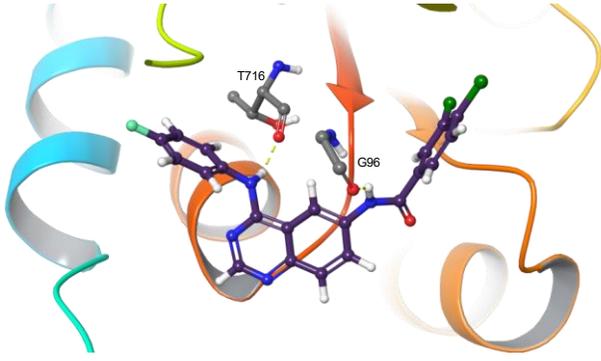
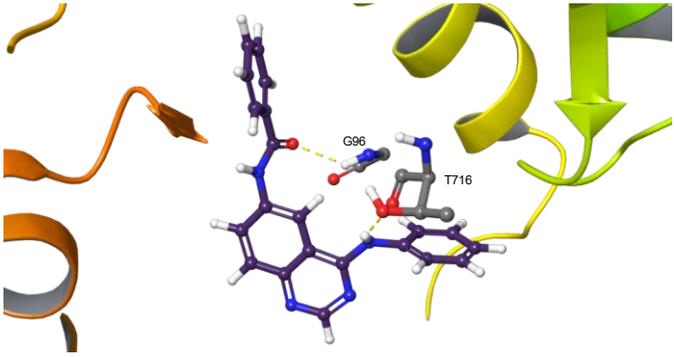
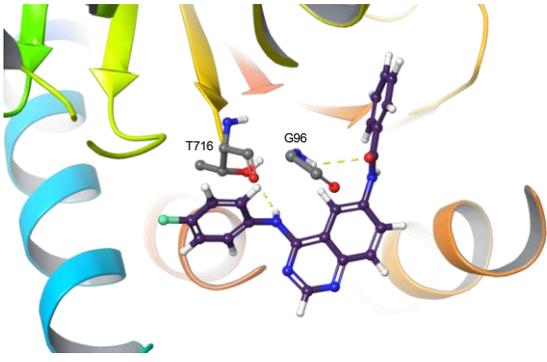
La estructura de la LDHA utilizada para realizar el acoplamiento molecular fue de humano (4AJP), por lo que no hubo ningún problema posteriormente con los ensayos de inhibición enzimática.

El acoplamiento molecular se llevó a cabo utilizando *LeDock* para su validación; esto debido a que este programa se considera como aquel que presenta mejor desempeño para encontrar poses dentro de los programas de acoplamiento molecular libres y comerciales.³⁵

Recordemos que, las técnicas de acoplamiento molecular son una forma de comprobar de manera teórica cómo ocurre el enlace entre la molécula de interés y una proteína, siendo en este caso la enzima Lactato Deshidrogenasa, también conocida como LDH, la cual ha tenido relevancia en estudios para tratamiento del cáncer, como ya se ha comentado en los antecedentes. Estas técnicas también permiten explorar los modos de unión de un sustrato con un receptor, enzima u otro sitio de unión determinado y cómo poder optimizar entonces la actividad molecular e inferir mecanismos de acción.

Para el presente trabajo de investigación, se obtuvieron ocho poses, una por cada molécula sintetizada, las cuales se muestran a continuación.

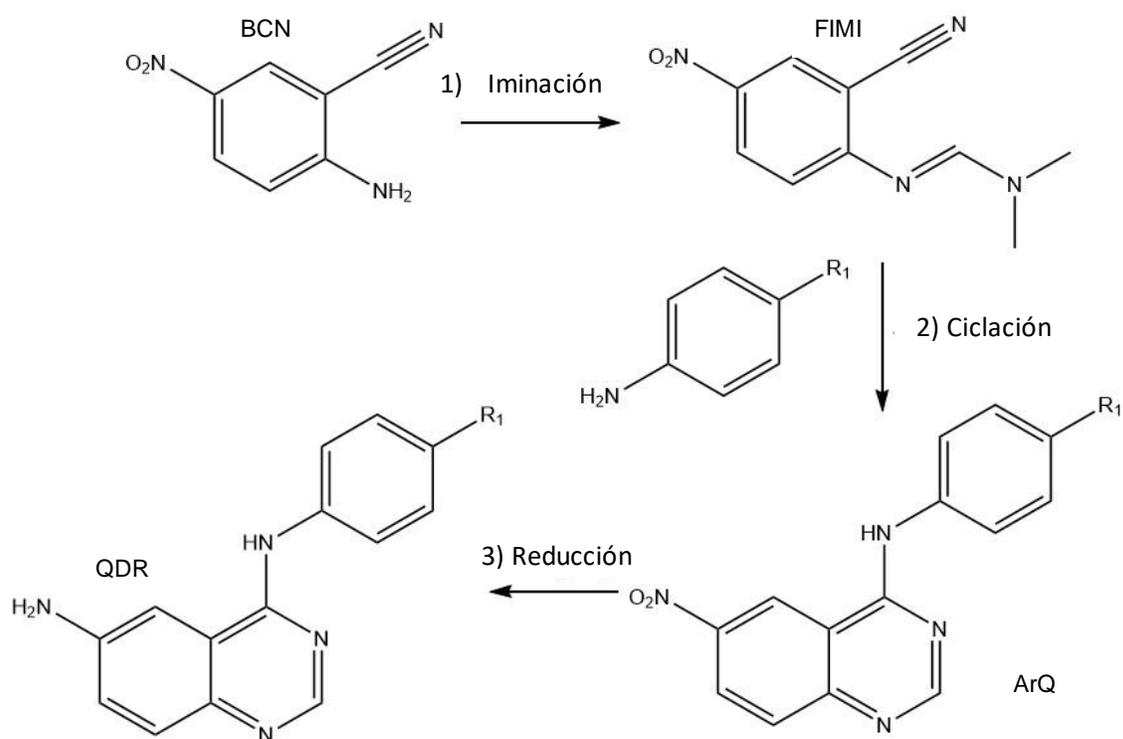
Compuesto	Visualización de <i>Maestro</i>
3CIQD	
4CIQD	
3CIFQD	
4CIFQD	

DCIQD	
DCIFQ	
QD121	
QFD121	

En todas las figuras se puede observar el mismo patrón: se señala con una línea punteada de color amarillo la interacción que presenta la molécula de quinazolina con diferentes aminoácidos (T, G, R, D, N, A). Se debe resaltar que no para todas las moléculas sintetizadas fueron los mismos aminoácidos, sin embargo, toda interacción ocurre por parte de sus grupos amino, lo cual asevera que debería de inhibir a la enzima LDH.

7.2. Síntesis química

Síntesis de los intermediarios de la serie QD



Esquema 2. Ruta sintética de la serie QD

Tabla 4. Condiciones de reacción y rendimiento de la serie QD

Reacción	Condiciones			Rendimiento (%)
	Reactivos	Disolventes	T (°C)	
1 ^{1a, 2a}	DMF-DMA	DMF	120	70 ¹ , 66 ²
2 ^{1b, 2b}	4-fluoroanilina, Anilina	AcOH/MeCN (7:3)	120	60 ¹ , 42 ²
3 ^c	HCO ₂ NH ₄ , Pd/C	MeOH	70	94

¹Método tradicional: ^a1.2 eq de DMF-DMA, 10 mL de disolvente. ^b1.8 eq de la anilina correspondiente, 15 mL de mezcla de disolventes. ²Vía microondas: ^a1.2 eq de DMF-DMA, 5 mL de disolvente. ^b1.8 eq de la anilina correspondiente, 5 mL de mezcla de disolventes. ^c6 eq de formiato de amonio, 10% en masa con respecto a la ArQ de Pd/C al 10% m/m.

Reacción 1: Iminación

La primera reacción se llevó a cabo mediante dos vías: método tradicional y vía microondas. Por método tradicional, la mezcla se sometió a calentamiento y agitación constante a 120 °C durante 1 h, se monitoreó la reacción mediante CCF. Por vía microondas, la mezcla se colocó en un vial tipo G30, cambiando el volumen de DMF a 5 mL. Se programó en una rampa de calentamiento, llevando a 120 °C en 2 minutos y se mantuvo a esta temperatura durante 15 minutos. El tratamiento final es el mismo para ambas vías, el cual consistió en filtrar los cristales en un sistema al vacío y hacer un lavado con una mezcla de MeCN y DMF.

Se debe recalcar que, la temperatura de reacción debe ser superior a los 90 °C con tal de promover la transformación de la DMF–DMA, en la cual se forma una especie altamente reactiva de tipo iminio, la cual reacciona rápidamente con la amina proveniente del BCN en un proceso de adición –eliminación. Se realizan los lavados con DMF debido a que el producto de interés formado es poco soluble en dicho disolvente a temperatura ambiente, lo cual beneficia al rendimiento de la reacción.

Reacción 2: Ciclación

En la segunda reacción, se coloca 1 eq del producto previamente formado (FIMI) y 1.8 eq de la anilina correspondiente en 15 mL de una mezcla AcOH/MeCN 7:3. El

procedimiento por ambos métodos es similar, cambiando únicamente el tiempo de reacción, siendo para el método tradicional 12 h y vía microondas 30 min.

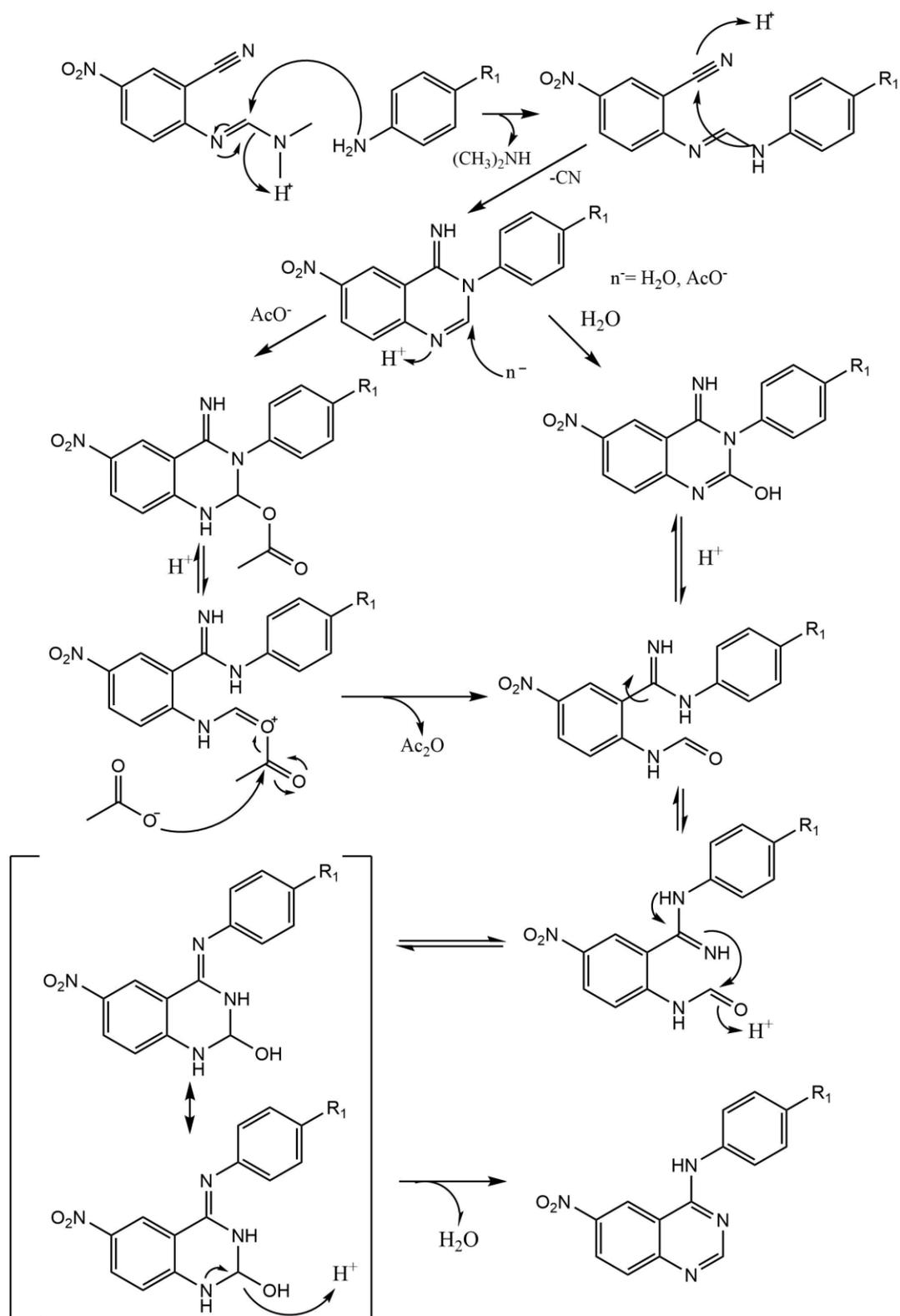
Esta reacción procede gracias al medio ácido inducido por el disolvente. La formación del producto ArQ se puede explicar mediante el rearrreglo de Dimroth (**esquema 3**). Para este punto, existen dos posibilidades dentro del mecanismo o bien, el carbonilo del enlace C-N₃ reacciona con el agua o con el anhídrido acético, permitiendo así la apertura del anillo. Y, aunque el anhídrido acético es indeseable al poder acilar a la anilina, en el último paso de la formación de la quinazolina se produce agua, evitando así cualquier acilación secundaria. Finalmente, igual que en el caso anterior, los productos son insolubles en el medio de reacción, por lo cual se pueden filtrar al vacío directamente.

Reacción 3: Reducción

En la tercera reacción, se colocó 1 eq del producto anterior (ArQ) en una proporción 1:10 de la masa de Pd/C 10% m/m. Los sólidos se mezclaron perfectamente hasta obtener una mezcla con coloración verdosa. Posterior a esto, se colocó 6 eq de formiato de amonio con respecto a ArQ y se mezcló perfectamente dentro del matraz. Se agregó entonces, lentamente, pequeñas porciones de 20 mL de MeOH. La mezcla se colocó bajo agitación y calentamiento a 70 °C.

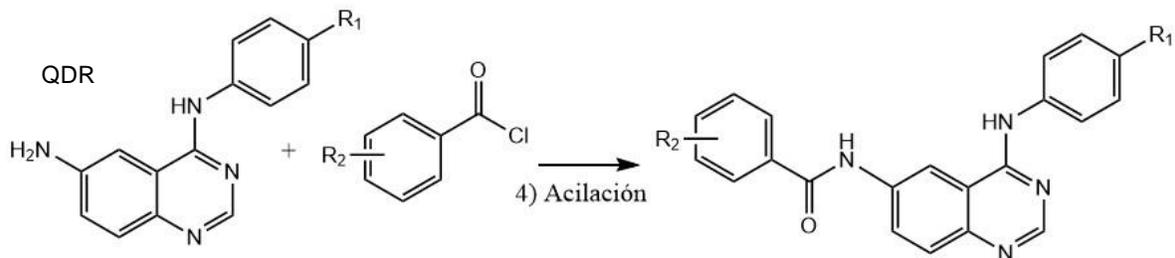
Una vez completada la reacción, se dejó enfriar y se filtró en un embudo de vidrio poroso, al cual se le agregó una cantidad de celita y se acopló a un sistema de filtración al vacío para eliminar y recuperar el Pd/C suspendido. La disolución ya filtrada se concentró en el rotavapor, sin llevar a sequedad. Para finalizar, al estar la disolución en un punto de saturación, se añadió agua para promover la cristalización del producto, manteniendo en disolución el formiato de amonio que pudiera encontrarse en exceso.

Es importante mencionar que el agente reductor, el disolvente y la temperatura son importantes para que la reacción pueda llevarse a cabo, debido a que el sustrato y el producto son muy solubles a temperaturas altas. El método por el cual se llevó a cabo la reducción es conocido también como hidrogenación catalítica.



Esquema 3. Mecanismo de reacción de la ciclación

Síntesis de los productos finales de la serie QD



Esquema 4. Síntesis de los productos finales de la serie QD

Tabla 5. Condiciones de reacción y rendimiento de la serie QD*

Clave	R ₁	R ₂	Reactivos	R (%)	Punto de fusión (°C)
3CIQD	H	3-Cl	Cloruro de benzoilo, Et ₃ N	75	(251.8 – 253.0)
4CIQD	H	4-Cl		90	(278.0 – 280.0)
DCIQD	H	H		49	(276.0 – 277.0)
QD	H	3, 4-Cl		79	(296.0 – 296.8)
3CIFQD	F	3-Cl		75	(269.6 – 271.9)
4CIFQD	F	4-Cl		56	(282.4 – 283.6)
DCIFQ	F	H		49	(284.0 – 285.0)
QFD121	F	3, 4-Cl		71	(297.8 – 299.0)

*2.5 eq del cloruro de benzoilo correspondiente, 3 eq de trietilamina, disolvente MeCN (anhidro) a temperatura ambiente durante 1 h.

Finalmente, para la adición del derivado clorado, se colocó 1 eq de QDR, 10 mL de acetonitrilo anhidro y 3 eq de trietilamina. La mezcla se agitó hasta que se disolvió por completo QDR y, posteriormente se adicionó 2.5 eq del cloruro de benzoilo correspondiente; luego, se dejó bajo agitación constante a temperatura ambiente por una hora.

Una vez transcurrida la hora, se agregaron gotas de una disolución de NaOH 1 mol/L, hasta que la disolución adoptó turbidez. En ese momento, la mezcla se retiró de la agitación y se precipitó para ser recolectado mediante una filtración al vacío. Toda la reacción se monitoreó mediante CCF. Únicamente en el caso de 4CIFQD

se realizó una purificación por cristalización con acetonitrilo debido que mediante CCF no se encontraba completamente puro.

Se debe aclarar que se requiere la presencia de la trietilamina ya que permite la solubilización completa de QDR y de esta manera, proceder fácilmente la reacción. El NaOH es utilizado como forma de detener la reacción, al provocar que el cloruro de benzoilo en exceso se convierte en su respectivo benzoato, el cual es soluble en agua, mientras que el producto puede comenzar a precipitar.

Hablando de los puntos de fusión, se deben comparar por pares, con tal de poder observar su comportamiento. Comparando entre los derivados donde el cloro se encuentra en la posición 3, con aquellos donde se encuentra en posición 4, existe una concordancia. Los derivados con el sustituyente de Cl en la posición 4, presentan un mayor punto de fusión con respecto a su análogo de la posición 3. Esto ocurre por efectos estéricos, donde al haber una mayor simetría, la molécula adopta una mejor estabilización de la red cristalina, lo cual le confiere un mayor punto de fusión.

El comportamiento anterior se mantiene cuando se encuentra el flúor en posición para a la anilina. Esto ocurre debido a que, al ser un electroattractor, le quita parte de su densidad electrónica, lo que provoca que su punto de fusión aumente.

Para el caso de los compuestos con dicloro y aquellos sin sustituyentes por parte del derivado de benzoilo, se presenta un caso muy similar. Para el caso donde no hay sustituyentes, la presencia del flúor provoca que incremente el punto de fusión, esto sucede debido a que, la densidad electrónica que le confiere el flúor a la molécula y al ser esta un gran electroattractor, le confiere una mayor resistencia a su red cristalina.

Cuando se comparan los compuestos con dicloro, los cloruros se encuentran de manera simétrica, por lo que no confiere ningún tipo de inestabilidad al momento de hablar de su estructura cristalina, a diferencia de cuando se encuentra sólo un cloruro, donde al haber sólo una contribución por un extremo, sí hay una diferencia.

Finalmente, se debe constatar que todos los compuestos presentan intervalos cortos (menores a 2 °C), por lo que se pueden suponer puros.

7.3. Análisis espectroscópico

Todos los productos finales fueron caracterizados mediante RMN – ^1H , RMN – ^{13}C , RMN de dos dimensiones e IR por FTIR. Los compuestos 3CIQD, 3CIFQD, 4CIQD y 4CIFQD se analizaron por espectroscopía de efecto nuclear Overhauser (NOESY) y conectividad heteronuclear a enlaces múltiples (HMBC); mientras que los compuestos QD121, QFD121, DCIQD y DCIFQ únicamente por coherencia heteronuclear cuántica simple (HSQC), todos los análisis se realizaron con tal de comprobar la estructura molecular que presentan las moléculas.

Como es de esperarse, las señales de RMN muestran un patrón similar entre las moléculas sintetizadas, con tal de no hacer una saturación de datos, se tomaron como ejemplos los compuestos 3CIQD y 3CIFQD para mostrar el comportamiento de las señales significativas en la figura 5. Estos patrones de señales permiten identificar las señales correspondientes a los respectivos sustituyentes; por ejemplo, por parte del RMN – ^1H , resaltan las señales de la amina y la amida que se encuentran en cada compuesto, siendo estas características de que el producto se sintetizó de manera adecuada.

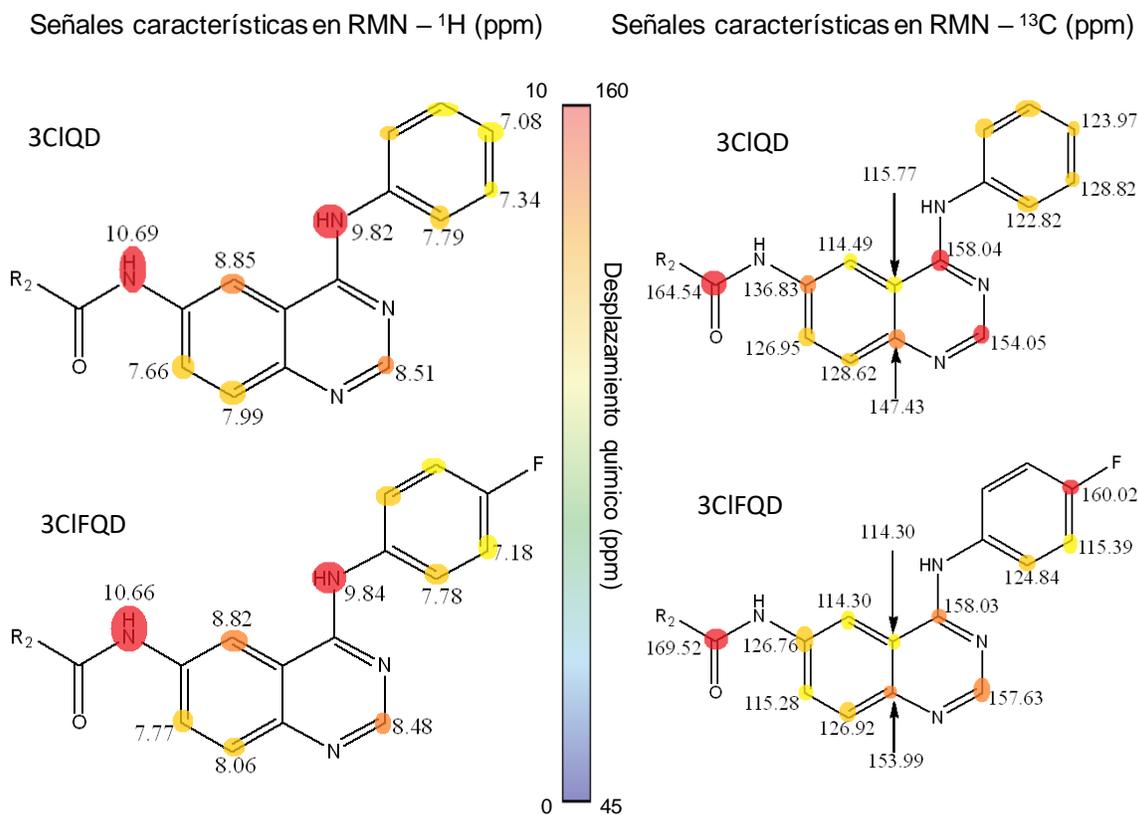


Figura 5. Señales características de resonancia magnética nuclear de protón (RMN – ^1H , 0 – 10 ppm en la barra de espectro) y resonancia magnética nuclear de carbono (RMN – ^{13}C , 45 – 160 ppm en la barra de espectro) de 3CIQD y 3CIFQD. Las señales marcadas son prácticamente comunes entre todas las moléculas (para poder observar el espectro de cada uno de los productos, consultar el anexo).

Para poder culminar con la resonancia magnética nuclear, los experimentos en dos dimensiones permiten identificar si un compuesto presenta o no isomería estructural. Sin embargo, ¿cuáles productos tienen esta posibilidad? Los únicos que pueden presentarla es 3CIQD y 3CIFQD; al no haber un eje de simetría que atraviese al cloro, son los únicos donde puede presentarse una orientación cis o trans.

Espectroscopía de Infrarrojo

Para poder observar el resultado que se obtuvo de cada producto, consultar el anexo. Aun así, esta técnica es muy útil para identificar los grupos funcionales que

presenta la molécula. Por lo tanto, los espectros de IR obtenidos permiten identificar si la reacción se llevó a cabo o no, mas no hay una idea conclusiva acerca de su estructura o conectividad, es por ello por lo cual, las dos técnicas son complementarias.

Las señales más significativas son:

- Amina secundaria: aproximadamente en 3450 cm^{-1} . De haber una banda ancha, indica la presencia de otra amina y esta se convierte en ancha por las interacciones del tipo puente de hidrógeno que pueden presentar.
- Carbonilo de amida: aproximadamente en 1650 cm^{-1} . Esta señal se encuentra desplazada debido a los anillos aromáticos aledaños a él.
- Halógenos: el flúor al estar en posición para a la anilina aproximadamente en 830 cm^{-1} ; el cloro dependiendo de si es meta o para, puede presentar una o dos bandas respectivamente, las cuales se encuentran aproximadamente en 700 cm^{-1}

7.4. Pruebas biológicas

Ensayo de inhibición enzimática sobre Lactato deshidrogenasa (LDH)

Como se dijo anteriormente, la LDH cataliza de forma simultánea la reacción de reducción de piruvato a L – lactato, utilizando como su cofactor a la NADH la cual, al presentar propiedades fluorescentes, puede ser observada a una longitud de onda de 340 nm. Por lo tanto, para poder comprobar que los compuestos sintetizados inhiben, al medir su fluorescencia, debería de registrar absorbancia, pues sólo indicaría que, aunque las condiciones de reacción están aptas para que ocurra la conversión, los compuestos se encuentran ubicados en el sitio de unión, por lo que la enzima queda inhibida. En caso contrario, de no haber absorbancia, implica que la NADH fue consumida y convertida a NAD^+ , por lo que los compuestos no habrían inhibido.

Por lo tanto, para poder realizar el ensayo, primero se busca el valor de CI_{50} que se encuentra reportado en la literatura de algún inhibidor de la LDH, por ejemplo, el NHI-2, siendo su valor de $15\text{ }\mu\text{M}$.

Se debe resaltar que el reactivo que inicia la prueba es la NADH, por lo cual es la última que se añade. Se coloca primero la enzima, posteriormente el piruvato, para que este se introduzca en su sitio de unión; luego cada uno de los productos, el cual se posiciona en el sitio de unión correspondiente a la NADH. Añadir al final este último, permite identificar si son capaces o no de inhibir. En la figura 6, se muestran los resultados del ensayo de inhibición enzimática.

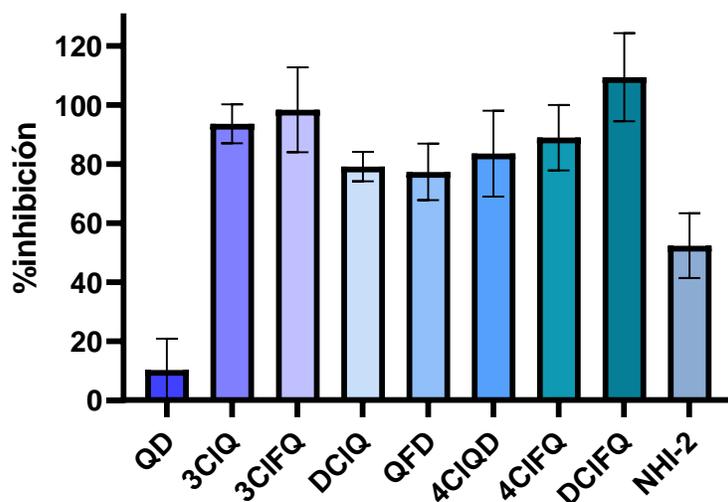


Figura 6. Resultados de inhibición enzimática de LDH. Se utilizó LDH de músculo de conejo para evaluar a las moléculas y a NHI-2 como control positivo. Los datos se compararon estadísticamente mediante ANOVA de una vía tomando como control a NHI-2.

Se pueden encontrar algunas características notables. La primera es que únicamente el compuesto QD no presenta una inhibición adecuada a la LDH, al ser esta prácticamente nula; por otra parte, el compuesto DCIFQ tiene un valor del porcentaje de inhibición mayor al 100%. Esto se podría considerar como un error, más no forzosamente es así, existe la probabilidad de que este compuesto absorba una cierta cantidad de la luz proveniente de la fuente de emisión, lo cual produce un incremento en su valor de fluorescencia y hace una ilusión de una mayor concentración de NADH.

También se debe resaltar que, al menos 7 de los productos finales presentan un porcentaje de inhibición mayor a la NHI-2, la cual es la referencia, por lo que se deduce que estos compuestos son efectivos. A su vez, puede notarse que la prueba con NHI-2, muestra el mismo comportamiento que es reportado de su CI_{50} en la literatura, el motivo por el cuál presenta biológica el compuesto, se atribuye a su forma de éster.

Para poder comprender por qué las moléculas sintetizadas presentaron este comportamiento, se hace alusión a sus respectivos acoplamientos moleculares. En ellos, se puede deducir que el enlace que forman los compuestos con la proteína, aún cuando el ensayo sea realizado con LDH de conejo, es del tipo π – catión, la cual confiere mayor estabilidad al compuesto, permitiendo que su inhibición sea mejor; incluso, es probable que este enlace produzca diferentes interacciones moleculares, tal como lo es el puente de hidrógeno.

Ahora bien, se ha de resaltar que, comparando las parejas de moléculas, la presencia del flúor provoca que el porcentaje de inhibición incremente. La presencia del flúor, al ser un átomo con una elevada electronegatividad, produce un efecto dentro de la deslocalización electrónica que le confiere mayor estabilidad al enlace producido con la proteína. Es decir, al haber una mayor densidad electrónica localizada en un punto, funge como ancla y genera mayor número de interacciones intermoleculares con respecto a su par análogo.

8. Conclusiones

Se logró diseñar y sintetizar 8 moléculas (serie **QD**) con núcleos de quinazolina, las cuales se evaluaron para la inhibición de la enzima LDHA.

Los resultados indican que 7 de las 8 moléculas cumplen su función inhibitoria de LDHA sobre el sitio de NADH. Incluso, estos productos presentan un porcentaje de inhibición mayor al control positivo, NHI-2, lo cual asegura que el acoplamiento molecular fue realizado correctamente.

Con respecto a su síntesis, se considera un éxito al presentar rendimientos mayores al 50%; sin embargo, existe la posibilidad de incrementar su valor al pulir la técnica.

Para continuar con el estudio, se deben evaluar los productos a diferentes líneas celulares, donde se pueda determinar de manera adecuada su actividad biológica y comprobar si los resultados coinciden o si ha de hacerse alguna modificación a su estructura molecular.

9. Perspectivas

- Evaluar la serie **QD** sobre diferentes líneas celulares y observar si presenta selectividad.
- Determinar CI_{50} de las moléculas más activas sobre LDHA.
- Realizar experimentos para determinar qué implicaciones fisiológicas pueden presentar el uso de estos productos.
- En caso de ser necesario, proponer modificaciones para promover su acción dual.

10. Referencias

- [1] Instituto Nacional del Cáncer NIH (2015) *¿Qué es el cáncer?* Estados Unidos: Instituto Nacional de Salud. Recuperado el 28 de junio de 2021 de: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
- [2] Maldonado C. (2021) *El cáncer, la otra pandemia mexicana*. El País. Salud. México. Recuperado el 21 de julio de 2021 de: <https://elpais.com/mexico/2021-02-04/el-cancer-la-otra-pandemia-mexicana.html>
- [3] Martínez H. (2021) *Challenges to come in Mexican oncology for 2021, from the pandemic to syndemic*. Gaceta mexicana de oncología, vol. 20, no. 1. doi: 10.24875/j.gamo.m21000205
- [4] Instituto Nacional del Cáncer NIH (2019) *La quimioterapia y usted*. Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/quimioterapia-y-usted.pdf>
- [5] Instituto Nacional del Cáncer NIH (2015) *Con la aprobación de la FDA, el gefitinib regresa al mercado de EE.UU. para algunos pacientes con cáncer de pulmón*. Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2015/fda-gefitinib>
- [6] Arnold-Korzeniowsky, K. (2021) *Acerca de: Gefitinib (Iressa®)*. Oncolink: Instituto Nacional del Cáncer NIH. Estados Unidos. Recuperado de: <https://es.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/oncolink-rx/gefitinib-iressa-r>
- [7] Pérez–Cabeza de Vaca, et al. *Biología molecular del cáncer y las nuevas herramientas en oncología*. Rev Esp Méd Quir. 2017;22;171-81. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2017/rmq174d.pdf>
- [8] Meza-Junco J., et al. *Bases moleculares del cáncer*. Rev Invest Clinc 2006; 58 (1): 56-70. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ric/v58n1/v58n1a8.pdf>
- [9] Pérez-Machado J, Jiménez-García R, Lie-Concepción A, González-Casañas B. Comportamiento bioquímico del cáncer. Medimay. Recuperado de: <http://revcmhabana.sld.cu/index.php/rcmh/article/view/465>

- [10] Introducción al tratamiento oncológico: indicaciones e intención de los tratamientos Principles of cancer management. Indications and intentions of treatment A. Muñoz, J. M. Mañé, A. Viteri, R. Barceló
- [11] Hosseinzadeh, Elham & Banaee, Nooshin & Nedaie, Hassan. (2017). Cancer and Treatment Modalities. Current Cancer Therapy Reviews. 13. 10.2174/1573394713666170531081818.
- [12] American Cancer Society (2022) *Cáncer de origen primario desconocido*. Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8970.00.pdf>
- [13] Abbas, Z., & Rehman, S. (2018). An Overview of Cancer Treatment Modalities. In (Ed.), Neoplasm. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76558>
- [14] López P., J.; del Olmo F., E.; San Feliciano, A. (2005) *Interacciones fármaco-diana. Bases para el diseño de nuevos fármacos*. Enf Emerg 2005;7(21):52-56, Recuperado de: <http://enfermedadesemergentes.com/articulos/a399/s-7-1-008.pdf>
- [15] Instituto Nacional del Cáncer NIH (2018) *Terapia dirigida para tratar el cáncer*. Estados Unidos: Instituto Nacional de Salud. Recuperado de: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/terapia-dirigida>
- [16] Sánchez P. M.; Vicente B., D. (2020) *Nuevas terapias en oncología: revisión descriptiva*. Centro Andaluz de Información de Medicamentos CADIME. Boletín Terapéutico Andaluz. Recuperado de: https://cadime.es/images/documentos_archivos_web/BTA/2020/CADIME_BTA_2020_35_03.pdf
- [17] Martínez, U. (2019) *Diseño de derivados de quinazolina como potenciales inhibidores duales en la vía de EGFR: Uso conjunto de adicción oncogénica, letalidad sintética y polifarmacología*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Recuperado de: <http://132.248.9.195/ptd2019/abril/0788071/0788071.pdf>
- [18] Matus-Ortega G., et al. (2020) *Las funciones metabólicas, endocrinas y reguladoras de la expresión genética del lactato*. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. Vol. 63, n. 5. Recuperado de: <http://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.5.02>

- [19] López-Aguilar, E.; et al. (1996) *La deshidrogenasa láctica como factor pronóstico del desarrollo de enfermedad metastásica pulmonar en pacientes con osteosarcoma*. Gaceta Médica de México. Vol. 132, No. 4. Recuperado de: https://www.anmm.org.mx/bgmm/1864_2007/1996-132-4-363-366.pdf
- [20] Rico, H. (2016) *Impacto de complejos anticancerígenos de rutenio y osmio sobre la actividad catalítica de oxidorreductasas*. [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México]. Recuperado de: http://rdu.iquimica.unam.mx/bitstream/20.500.12214/606/1/Rico_Bautista_tesisD_2016.pdf
- [21] Sanchez, Mercedes. (2013). Sistema inmune y daño por inflamación. Eduardo Chuluyán, Mercedes L. Sánchez, Diego Guerrieri, Nella Ambrosi. Revista Ciencia e Investigación. Divulgación. Tomo 63 N°1. Mayo 2013.. Sistema inmune y daño por inflamación. Eduardo Chuluyán, Mercedes L. Sánchez, Diego Guerrieri, Nella Ambrosi. Revista Ciencia e Investigación. Divulgación. Tomo 63 N°1. Mayo 2013.
- [22] Khan I., Zaib S., Batool S., Abbas N., Ashraf Z., Iqbal J., Saeed A. (2016) *Quinazolines and quinazolinones as ubiquitous structural fragments in medicinal chemistry: An update on the development of synthetic methods and pharmacological diversification*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 24, pp. 2361 - 2381. doi: 10.1016/j.bmc.2016.03.031
- [23] Khan I., Ibrar A., Ahmed W., Saeed A. (2015) *Synthetic approaches, functionalization and therapeutic potential of quinazoline and quinazolinone skeletons: The advances continue*. European Journal of Medicinal Chemistry, vol. 90, pp. 124 - 169. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.10.084
- [24] Nagamine A, Araki T, Nagano D, Miyazaki M, Yamamoto K. L-Lactate dehydrogenase B may be a predictive marker for sensitivity to anti-EGFR monoclonal antibodies in colorectal cancer cell lines. *Oncol Lett*. 2019 May;17(5):4710-4716. doi: 10.3892/ol.2019.10075. Epub 2019 Feb 26. PMID: 30944657; PMCID: PMC6444471.
- [25] Instituto Nacional del Cáncer NIH (2022) Definición: *Gen KRAS*. Estados Unidos: Instituto Nacional de Salud. Recuperado de: <https://www.cancer.gov>

- [26] Herrera-González NE, Martínez-García F, MejíaJiménez E. El efecto Warburg: la mano derecha en el desarrollo del cáncer. *Rev Esp Med Quir* 2015;20:171-177.
- [27] Meléndez–Gómez, C.; Kouznetsov, V. (2005) *Alcaloides Quinolínicos: Importancia Biológica y Esfuerzos Sintéticos*. Revista de la Facultad de Ciencias, vol. 10, N° 2, pp. 5 – 18. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- [28] Billiard et al.: Quinoline 3-sulfonamides inhibit lactate dehydrogenase A and reverse aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer & Metabolism* 2013 1:19.
- [29] Deppmeier, B., Driessen, A., Hehre, T., Johnson, J. A., Klunzinger, P. E., & Watanabe, M. (2011). Spartan'10. *Wavefunction Inc.*
- [30] Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
- [31] UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem*. 2004 Oct;25(13):1605-12.
- [32] Zhang, N.; Zhao, H. Enriching screening libraries with bioactive fragment space. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2016, 26, 3594-7.
- [33] Schrödinger Release 2022-2: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2021.
- [34] Bell, E.W., Zhang, Y. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *J Cheminform* **11**, 40 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>
- [35] Wang, Z.; Sun, H.; Yao, X.; Li, D.; Xu, L.; Li, Y.; Tian, S.; Hou, T. Comprehensive Evaluation of Ten Docking Programs on a Diverse Set of Protein–Ligand Complexes: The Prediction Accuracy of Sampling Power and Scoring Power. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2016, 18(18), 12964–12975. <https://doi.org/10.1039/C6CP01555G>

Síntesis química

En la síntesis de los productos finales, se ocuparon disolventes anhidros y reactivos comercialmente disponibles de la marca Sigma Aldrich®. El resto de los disolventes son de la marca J.T.Baker® de grado analítico. Las mediciones de masa se realizaron en una balanza analítica marca Sartorius™ modelo CP124S.

El proceso de agitación y calentamiento se llevaron a cabo en parrillas de inducción magnética de la marca IKA® modelos RET control-visc C, RCT basic y C-MAG HS 4. El calentamiento vía microondas en un aparato de la marca Anton Parr® Monowave 300 EXTRA, adaptado a un automuestreador modelo MAS 24 y viales de vidrio para microondas tipo G30.

El proceso de concentración de las mezclas de reacción y productos finales se llevó a cabo en un rotavapor de la marca IKA® modelo RV 10 digital, acoplado a una bomba al vacío marca Vacuubrand® modelo CVC 3000 y un refrigerante de espiral marca Brinkmann™. Finalmente, los puntos de fusión de productos finales fueron determinados mediante el uso de un aparato término digital de punto de fusión de la marca Electrothermal® modelo 9300.

El monitoreo de las reacciones se hizo mediante cromatografía en capa fina, utilizando para ello cromatoplasmas de sílica gel de la marca SORTECH®, con el uso de un indicador fluorescente a 240 nm. Las técnicas de revelado empleadas fueron la exposición a la luz UV, con una lámpara Spectroline®, modelo ENF-240C, ninhidrina como revelador de aminas y yodación.

Para la caracterización analítico – instrumental se hizo uso del servicio otorgado por la USAII, en donde únicamente se pudo realizar los análisis de RMN e infrarrojo (IR), ya que el equipo de espectrometría de masas se encuentra inhabilitado de momento.

3-cloro-N-(4-(fenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3313.83 (NH); 1537.65 (CONH); 733.60 (Cl).
RMN-¹H (400 MHz, TMS, DMSO-d₆) δ (ppm): 10.69 (s, 1H, CONH-18); 9.82 (s, 1H, NH-11); 8.85 (s, 1H, H-6); 8.51 (s, 1H, H-8); 8.07 (t, 2H, H-24,26); 7.99 (d, 1H, H-3); 7.80 (d, 2H, H-13,17); 7.76 (d, 1H, H-22); 7.66 (d, 1H, H-2); 7.57 (t, 1H, H-23); 7.34 (t, 2H, H-14,16); 7.08 (t, 1H, H-15). **RMN-¹³C (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 164.54 (C-19); 158.04 (C-10); 154.05 (C-8); 147.43 (C-4); 139.80 (C-12); 136.75 (C-1,20); 133.79 (C-25); 133.10 (C-24); 130.99 (C-23); 128.82 (C-14,16); 128.65 (C-22); 128.62 (C-3); 127.86 (C-26); 126.95 (C-2); 123.97 (C-15); 122.82 (C-13,17); 115.77 (C-5); 114.49 (C-6). **NOESY (400 MHz, TMS, DMSO-d₆) Interacción H-H:** 8.85 (H-3, H-26); (H-17, H-22); (H-15, H-16). Sólido amarillo cristalino.

4-cloro-N-(4-(fenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3290.95 (NH); 1523.91 (CONH); 748.10 (Cl).
RMN-¹H (400 MHz, TMS, DMSO-d₆) δ (ppm): 10.23 (s, 2H, H-11,18); 8.86 (s, 1H, H-6); 8.51 (s, 1H, H-8); 8.04 (d, 2H, H-13,17); 7.99 (d, 1H, H-3); 7.81 (t, 2H, H-22,26); 7.77 (d, 1H, H-2); 7.61 (t, 2H, H-23,25); 7.34 (T, 2H, H-14,16); 7.07 (t, 1H, H-15).
RMN-¹³C (400 MHz, TMS, DMSO-d₆) δ (ppm): 164.90 (C-19); 157.99 (C-10); 153.97 (C-8); 147.36 (C-4); 139.89 (C-12); 137.14 (C-1); 136.88 (C-24); 133.58 (C-20); 130.07 (C-22,26); 129.06 (C-23,25); 128.82 (C-14,16); 128.67 (C-3); 128.60 (C-2); 123.93 (C-15); 122.81 (C-13,17); 115.83 (C-5); 114.52 (C-6). Sólido amarillo cristalino.

3,4-dicloro-N-(4-(fenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3023.92 (NH); 1540.80 (CONH); 739.33 (Cl).
RMN-¹H (400 MHz, TMS, DMSO-d₆) δ (ppm): 9.83 (s, 1H, H-20); 10.73 (s, 1H, H-8); 8.83 (s, 1H, H-15); 8.52 (s, 1H, H-17); 8.27 (s, 1H, H-3); 7.84 (d, 1H, H-5); 7.79 (d, 1H, H-12); 7.81 (d, 1H, H-6); 7.73 (d, 1H, H-11); 8.00 (d, 2H, H-22,26); 7.35 (d, 2H, H-23,25); 7.09 (H-24). **RMN-¹³C (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 163.76 (C-7); 128.60 (C-24); 158.16 (C-19); 154.18 (C-17); 147.53 (C-13); 138.89 (C-21); 136.71 (C-10); 136.21 (C-1); 132.02 (C-2); 135.24 (C-4); 129.85 (C-5); 131.52 (C-3); 131.58

(C-6); 124.12 (C-12); 122.96 (C-22,26); 128.94 (C-11); 130.14 (C-23,25); 115.90 (C-14); 114.70 (C-15). Sólido amarillo cristalino.

N-(4-(fenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 2711.20 (NH); 1566.37 (CONH). **RMN- ^1H (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 11.64 (s, 1H, H-8); 10.97 (s, 1H, H-20); 9.22 (s, 1H, H-15); 8.83 (s, 1H, H-17); 8.27 (d, 1H, H-12); 8.07 (d, 2H, H-22,26); 8.03 (d, 1H, H-11); 7.65 (d, 2H, H-3,5); 7.60 (t, 1H, H-1); 7.55 (t, 2H, H-2,6); 7.44 (t, 2H, H-23,25); 7.30 (t, 1H, H-24). **RMN- ^{13}C (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 166.30 (C-7); 160.21 (C-19); 148.30 (C-13,17); 139.59 (C-21); 137.33 (C-10); 135.53 (C-4); 134.43 (C-1); 132.69 (C-23,25); 131.34 (C-3,5); 129.25 (C-2,6); 128.43 (C-12); 127.23 (C-11); 126.79 (C-24); 125.54 (C-22,26); 115.20 (C-14); 114.36 (C-15). Sólido amarillo cristalino.

3-cloro-N-(4-(4-fluorofenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3069.75 (NH); 1531.43 (CONH); 733.05 (Cl); 831.97 (F). **RMN- ^1H (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 10.66 (s, 1H, CONH-18); 9.84 (s, 1H, NH-11); 8.82 (s, 1H, H-6); 8.48 (s, 1H, H-8); 7.97 (t, 2H, H-24,26); 8.06 (d, 1H, H-3); 7.78 (d, 2H, H-13,17); 7.95 (d, 1H, H-22); 7.77 (d, 1H, H-2); 7.67 (t, 1H, H-23); 7.18 (t, 2H, H-14,16). **RMN- ^{13}C (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 164.52 (C-19); 165.02 (C-15); 158.03 (C-10); 157.63 (C-8); 153.99 (C-4); 147.34 (C-12); 136.76 (C-1); 136.01 (C-20); 133.75 (C-25); 132.10 (C-24); 130.99 (C-23); 115.39 (C-14,16); 127.82 (C-22); 126.92 (C-3); 128.63 (C-26); 115.28 (C-2); 124.84 (C-13,17); 114.30 (C-5); 114.30 (C-6). **NOESY (400 MHz, TMS, DMSO- d_6) Interacción H-H:** 8.85 (H-3, H-26); (H-17, H-22); (H-15, H-16). Sólido blanco cristalino.

4-cloro-N-(4-(4-fluorofenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3286.47 (NH); 1509.43 (CONH); 758.14 (Cl); 831.58 (F). **RMN- ^1H (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 10.62 (s, 1H, H-11); 9.83 (s, 1H, H-18); 8.83 (s, 1H, H-6); 8.48 (s, 1H, H-8); 7.62 (d, 2H, H-13,17); 7.94 (d, 1H, H-3); 8.02 (t, 2H, H-22,26); 7.76 (d, 1H, H-2); 7.78 (t, 2H, H-23,25); 7.18 (T, 2H, H-14,16). **RMN- ^{13}C (400 MHz, TMS, DMSO- d_6)** δ (ppm): 164.92 (C-19); 157.65 (C-10);

158.04 (C-8); 153.98 (C-4); 147.33 (C-12); 137.16 (C-1); 136.83 (C-24); 136.04 (C-20); 130.06 (C-22,26); 129.07 (C-23,25); 115.57 (C-14,16); 133.54 (C-3); 128.68 (C-2); 160.04 (C-15); 124.87 (C-13,17); 115.30 (C-5); 114.34 (C-6). Sólido blanco cristalino.

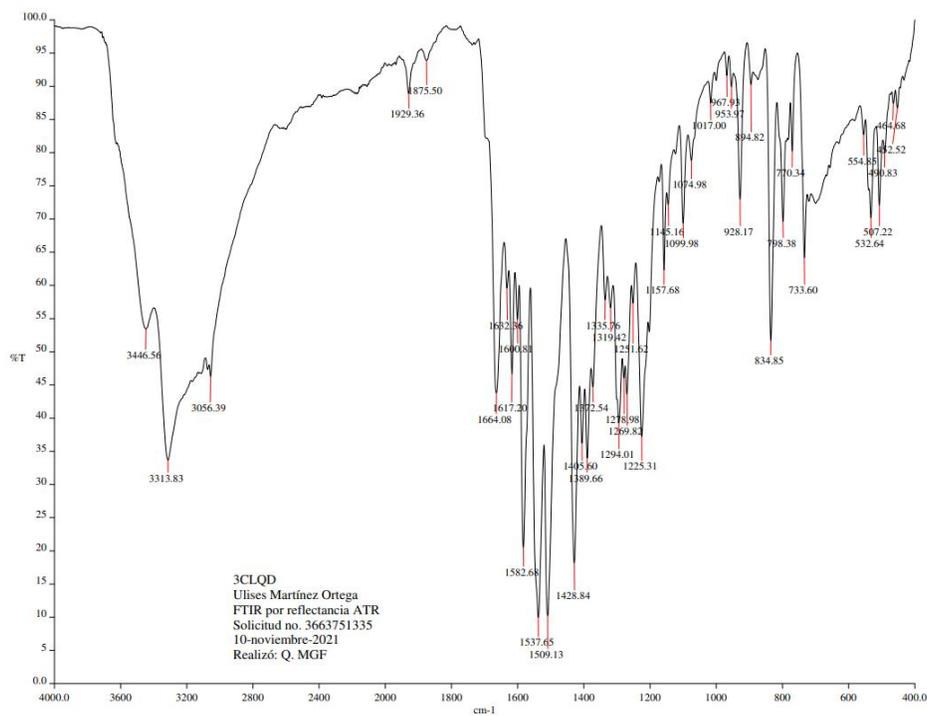
3,4-dicloro-N-(4-(4-fluorofenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 3283.02 (NH); 1506.27 (CONH); 688.82 (Cl); 830.94 (F). **RMN-¹H (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 10.94 (s, 1H, H-20); 9.87 (s, 1H, H-8); 8.85 (s, 1H, H-15); 8.84 (s, 1H, H-17); 8.45 (s, 1H, H-3); 8.47 (d, 1H, H-5); 8.44 (d, 1H, H-12); 8.01 (d, 1H, H-6); 7.83 (d, 1H, H-11); 7.80 (d, 2H, H-22,26); 7.18 (d, 2H, H-23,25). **RMN-¹³C (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 163.96 (C-7); 159.26 (C-24); 154.22 (C-19); 148.38 (C-17); 147.61 (C-13); 136.67 (C-21); 136.31 (C-10); 136.14 (C-1); 134.73 (C-2,4); 130.88 (C-5); 128.84 (C-3,6); 126.96 (C-12); 124.99 (C-22,26); 122.96 (C-11); 115.69 (C-23,25); 115.44 (C-14); 114.75 (C-15). Sólido blanco cristalino.

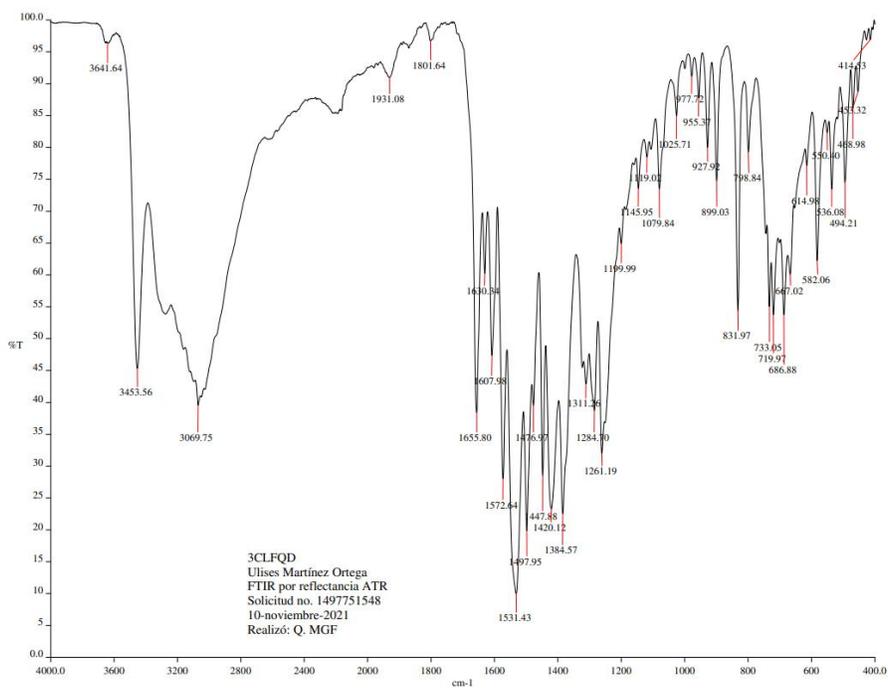
N-(4-(4-fluorofenilamino)quinazolin-6-il)benzamida

FTIR por reflectancia ATR (cm^{-1}): 2676.27 (NH); 1508.22 (CONH); 836.24 (F). **RMN-¹H (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 10.98 (s, 1H, H-8); 11.69 (s, 1H, H-20); 9.23 (s, 1H, H-15); 8.84 (s, 1H, H-17); 8.28 (d, 1H, H-12); 7.53 (d, 2H, H-22,26); 8.04 (d, 1H, H-11); 8.07 (d, 2H, H-3,5); 7.60 (t, 1H, H-1); 7.68 (t, 2H, H-2,6); 7.29 (t, 2H, H-23,25). **RMN-¹³C (400 MHz, TMS, DMSO-d₆)** δ (ppm): 166.28 (C-7); 161.62 (C-19); 139.64 (C-13); 149.94 (C-17); 135.37 (C-21); 134.41 (C-10); 133.61 (C-4); 132.68 (C-1); 114.76 (C-23,25); 128.45 (C-3,5); 129.28 (C-2,6); 131.38 (C-12); 127.73 (C-11); 160.15 (C-24); 120.53 (C-22,26); 116.15 (C-14); 116.00 (C-15). Sólido blanco cristalino.

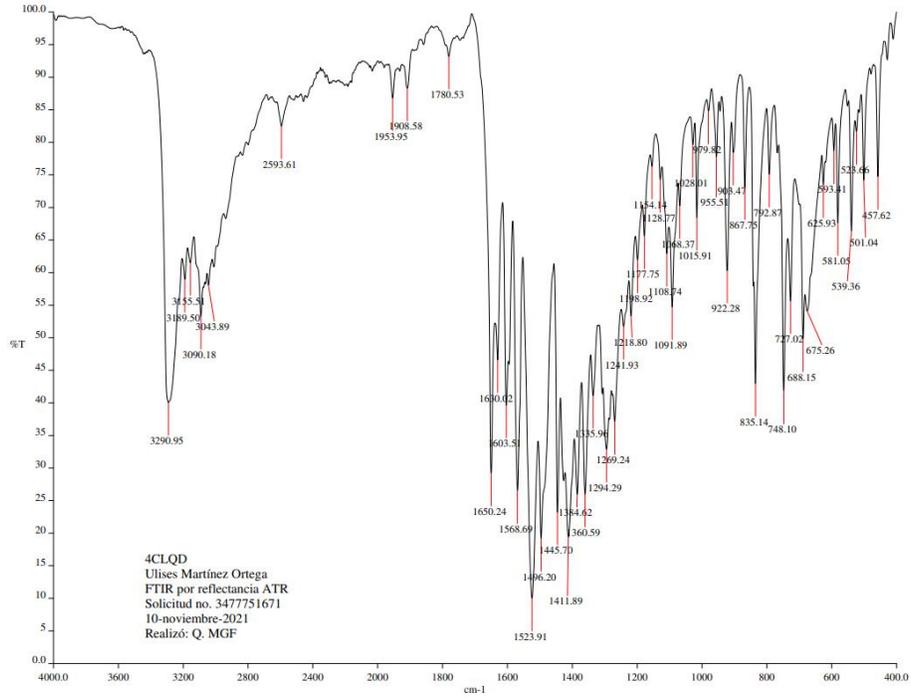
Espectros de IR



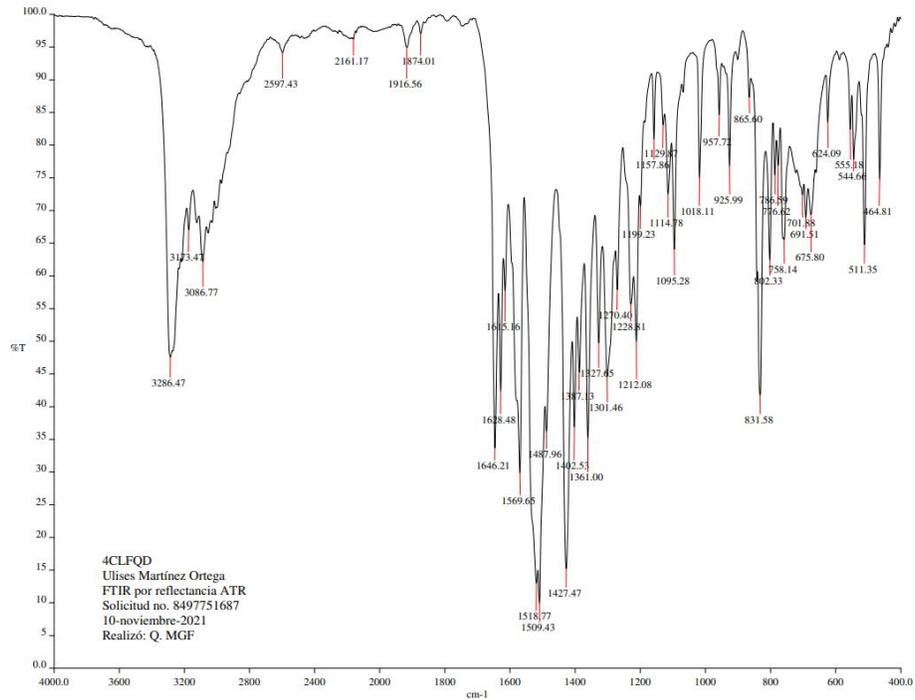
Espectro 1.1. Espectro de IR de la molécula 3CIQD



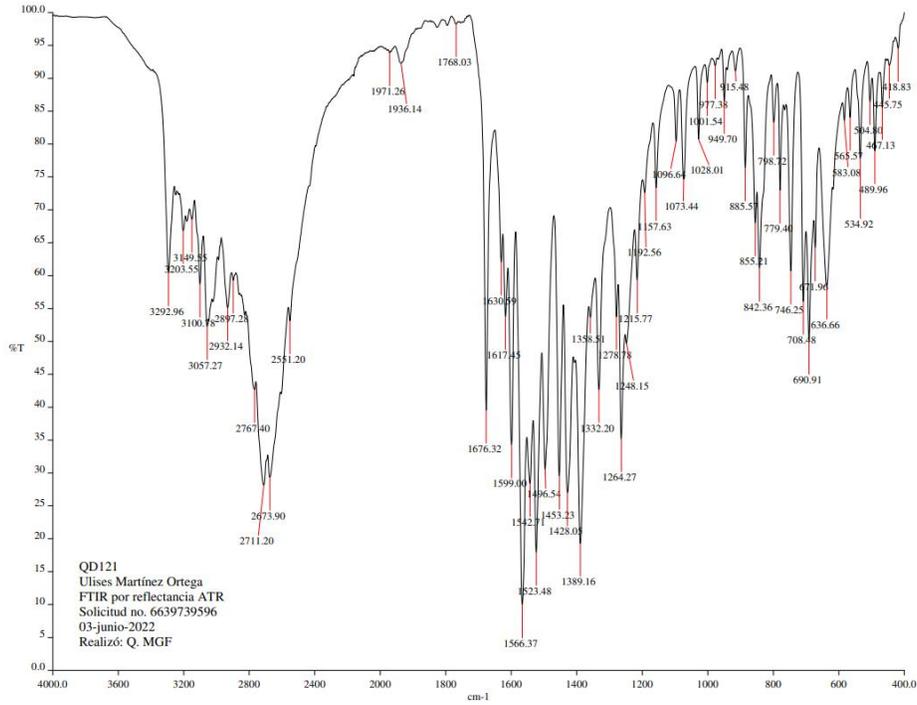
Espectro 1.2. Espectro de IR de la molécula 3CIFQD



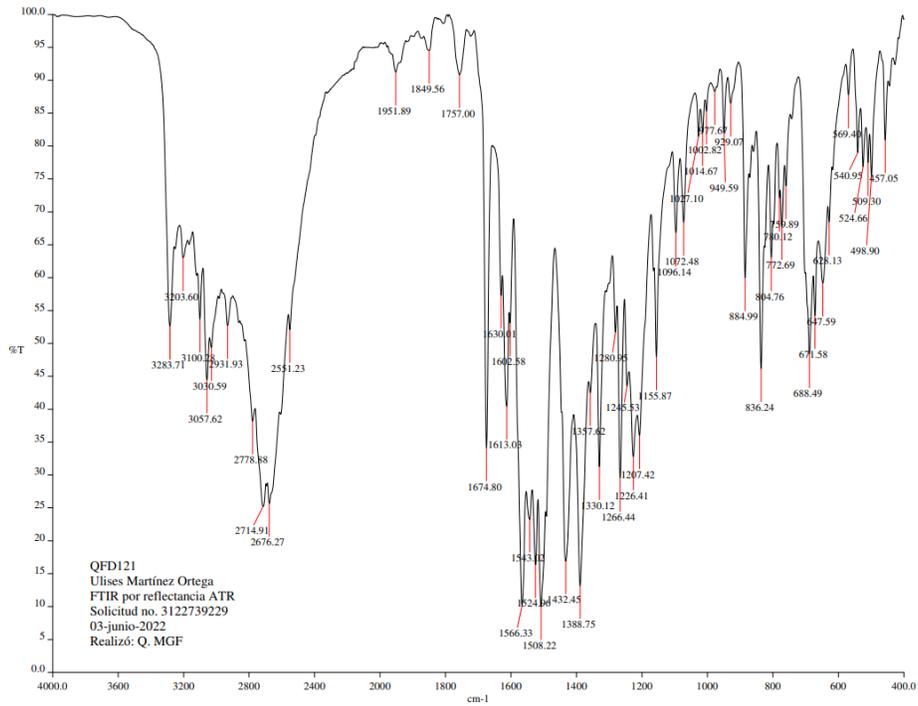
Espectro 1.3. Espectro de IR de la molécula 4CIQD



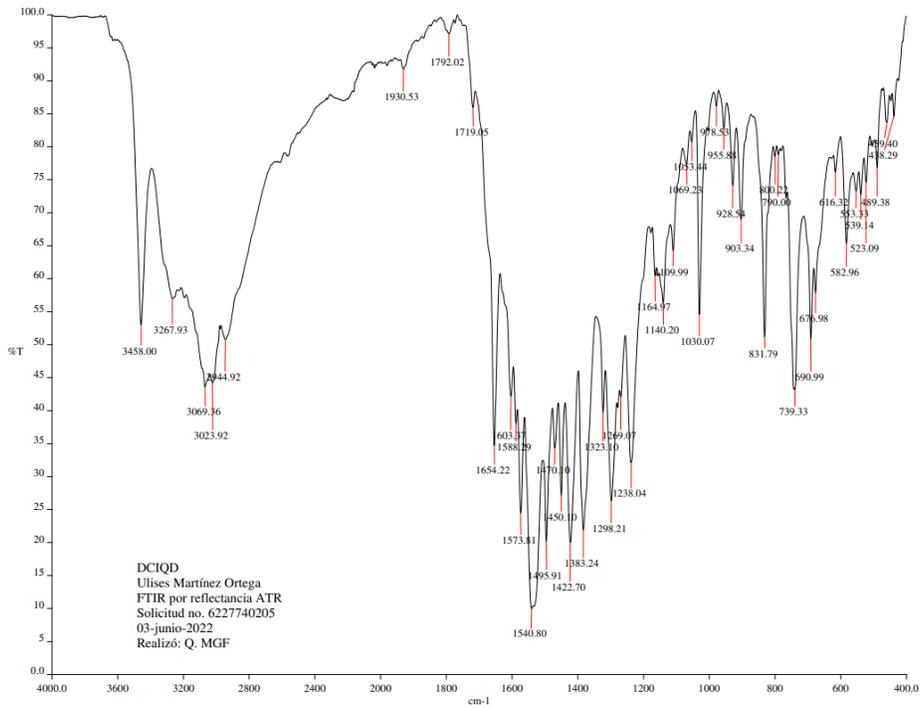
Espectro 1.4. Espectro de IR de la molécula 4CIFQD



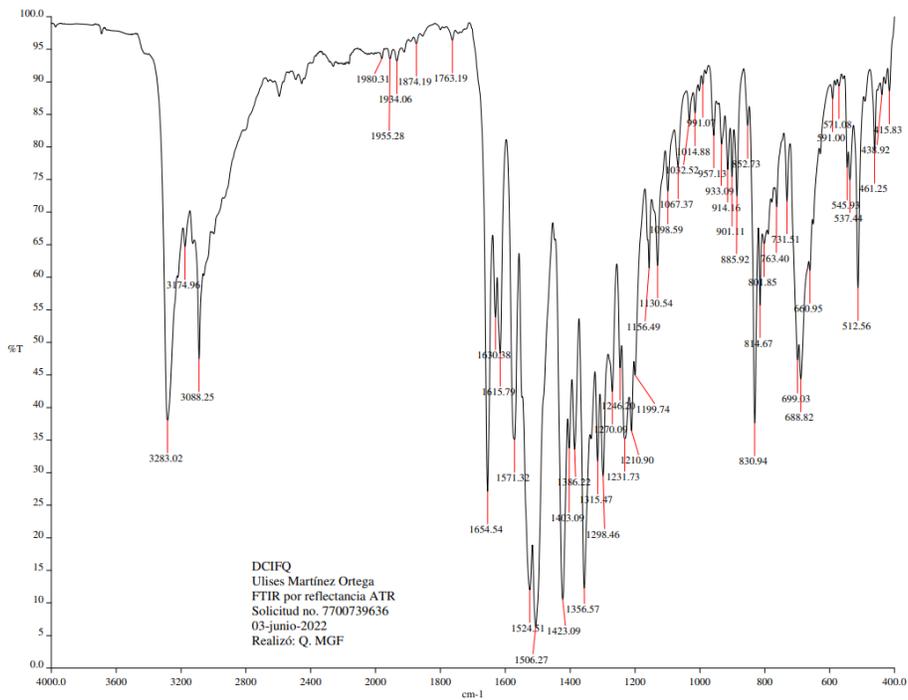
Espectro 1.5. Espectro de IR de la molécula QD121



Espectro 1.6. Espectro de IR de la molécula QFD121

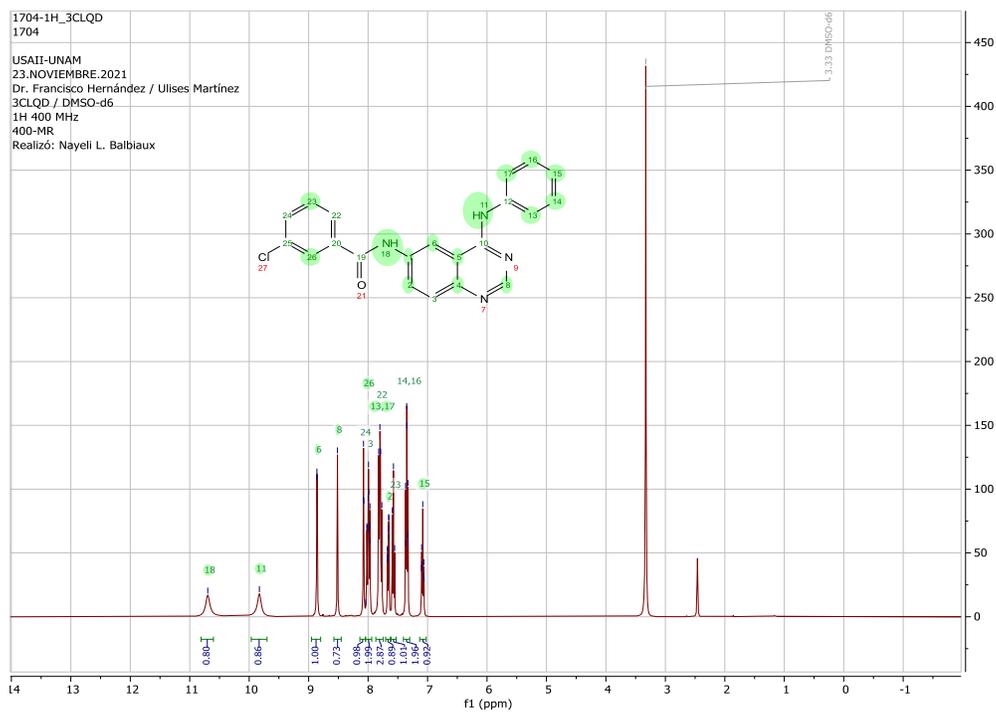


Espectro 1.7. Espectro de IR de la molécula DCIQD

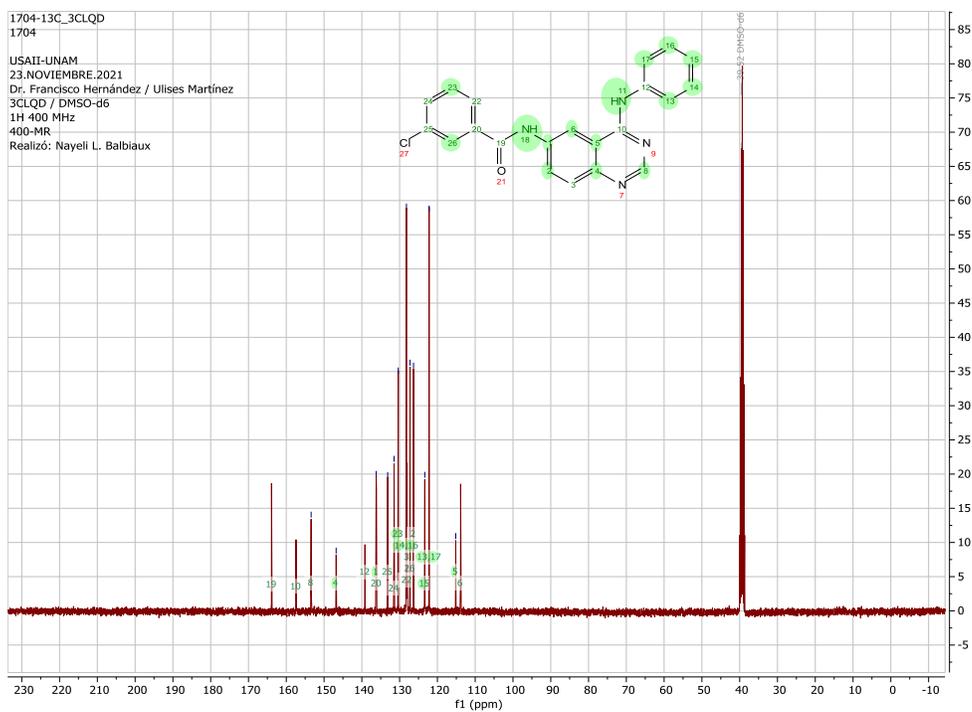


Espectro 1.8. Espectro de IR de la molécula DCIFQ

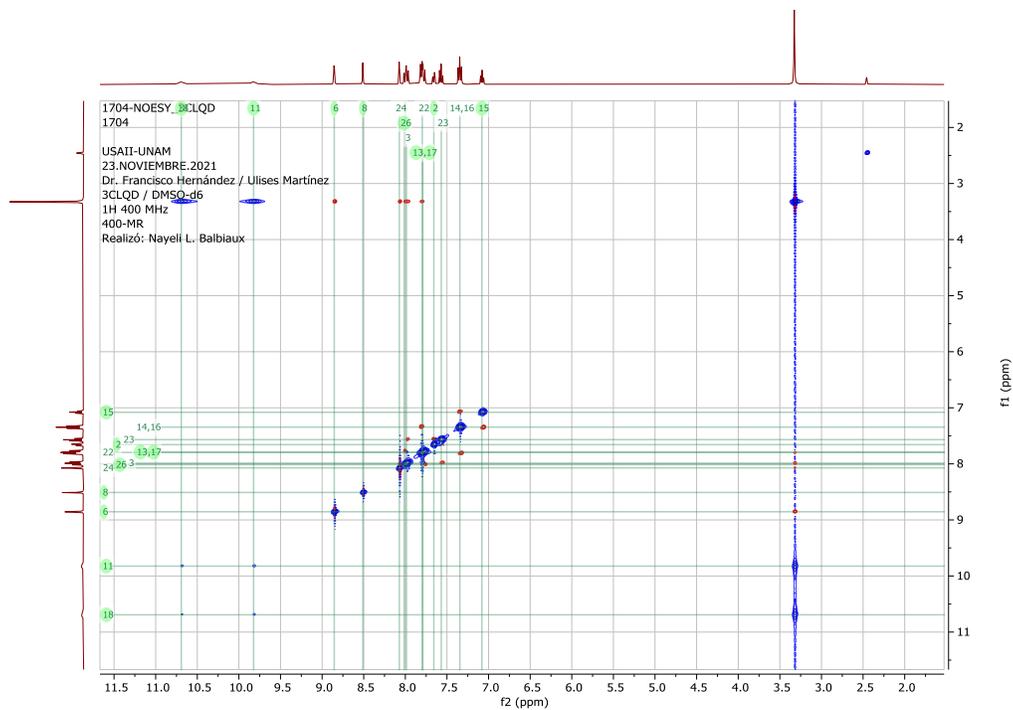
Espectros de RMN



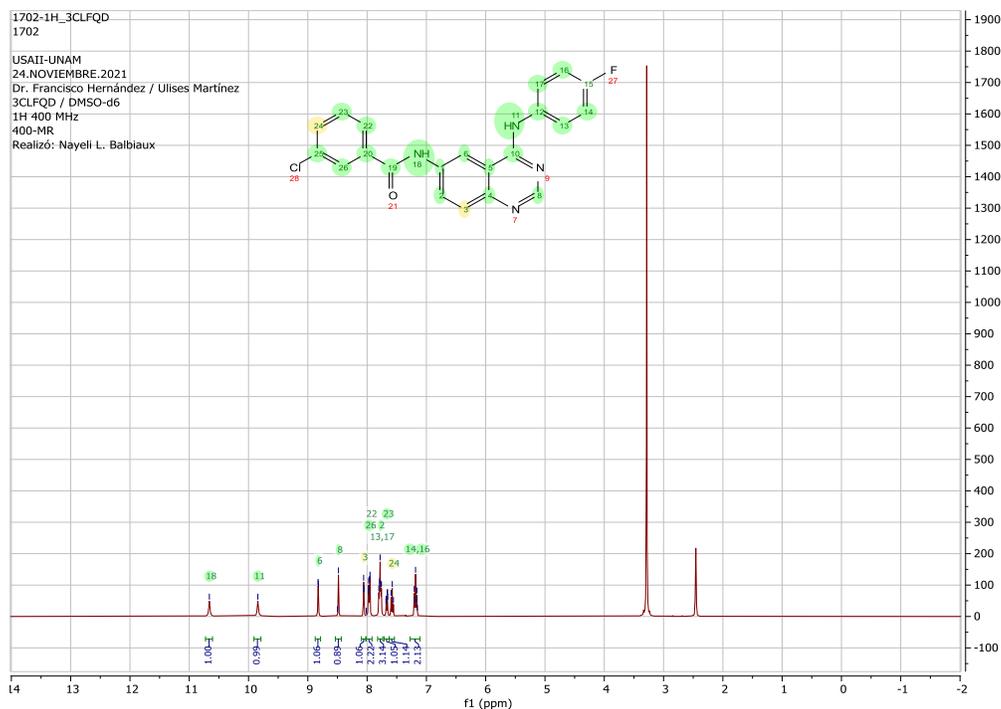
Espectro 2.1.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula 3CIQD



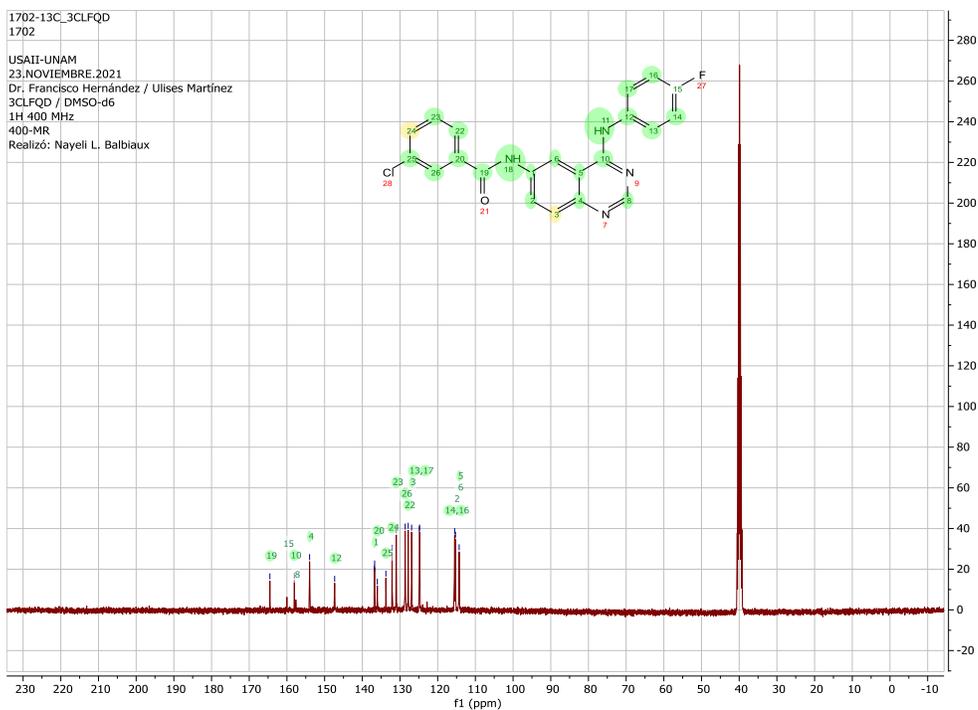
Espectro 2.1.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula 3CIQD



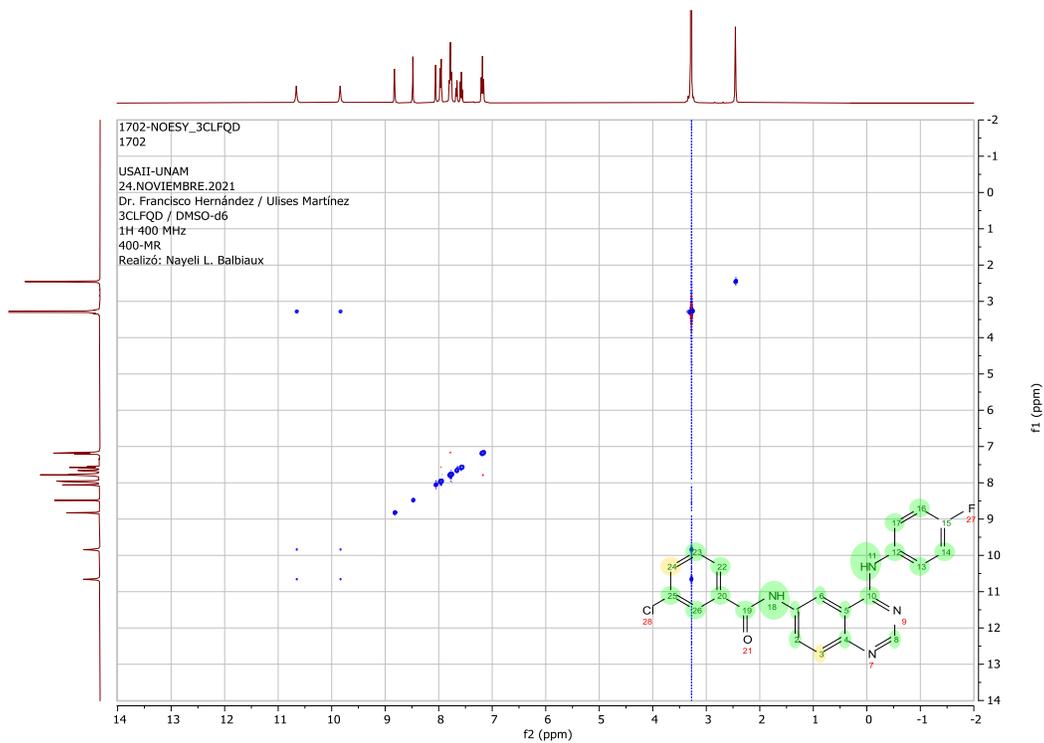
Espectro 2.1.3 Espectro NOESY de la molécula 3CIQD



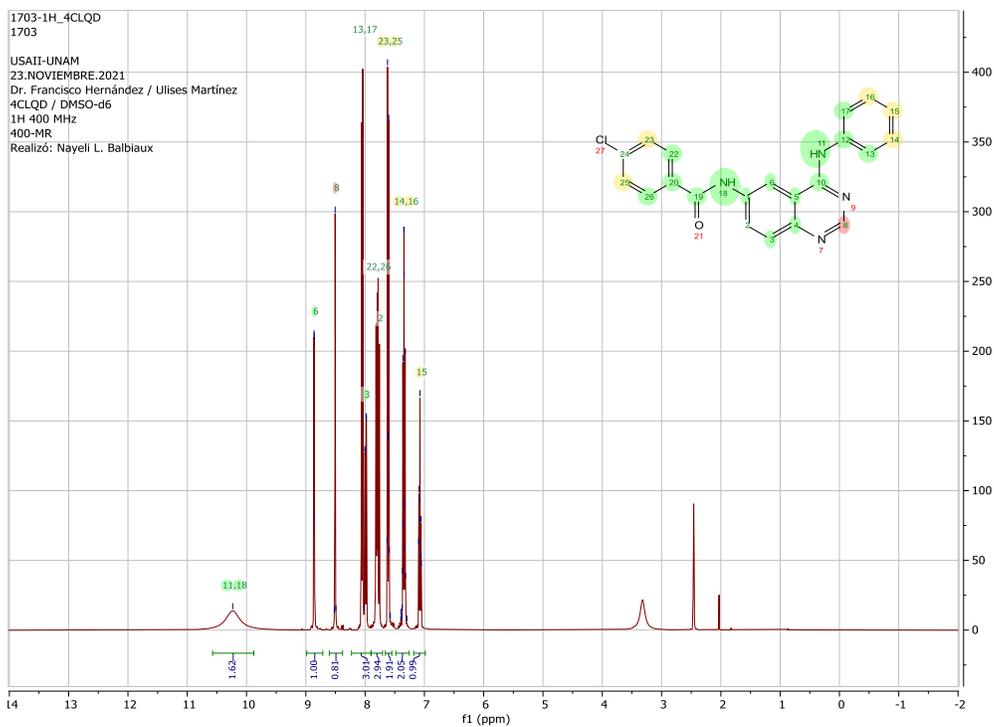
Espectro 2.2.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula 3CIFQD



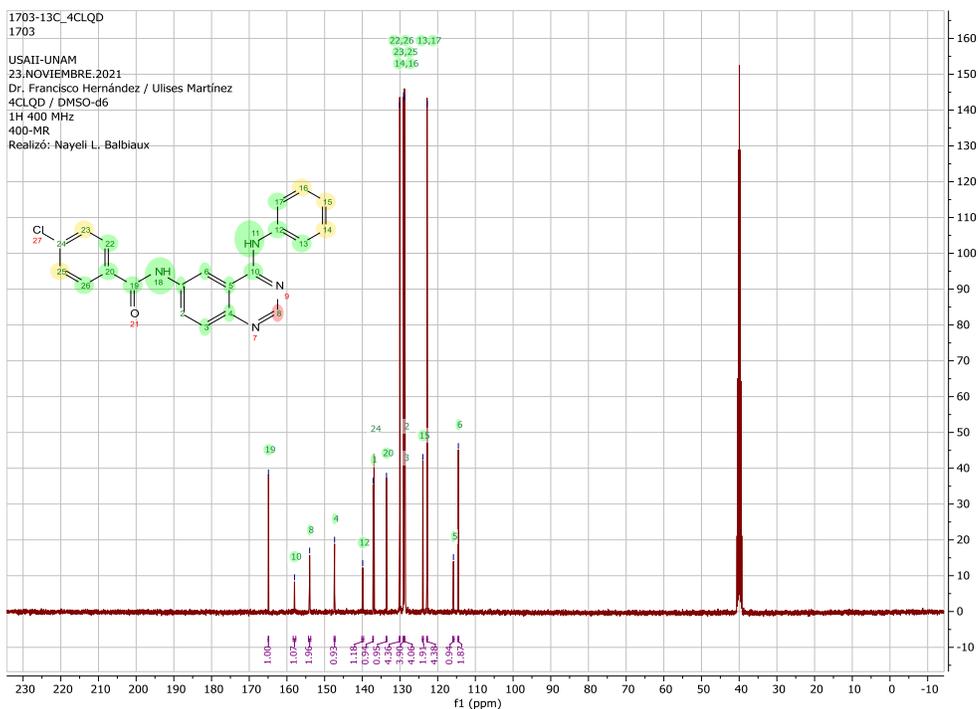
Espectro 2.2.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula 3CLFQD



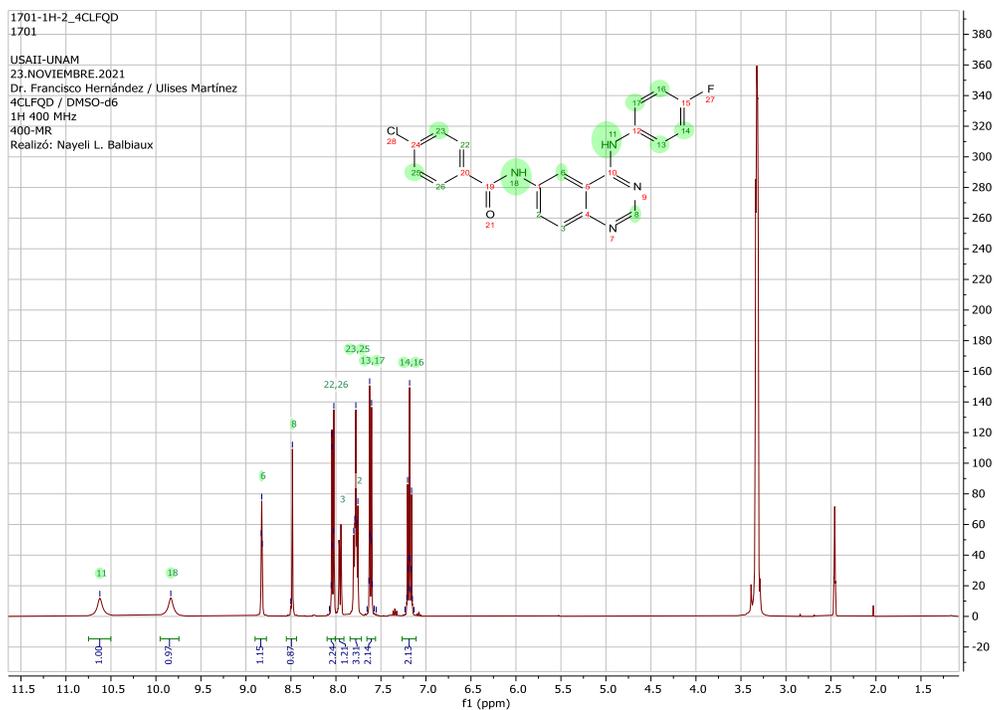
Espectro 2.2.3 Espectro NOESY de la molécula 3CLFQD



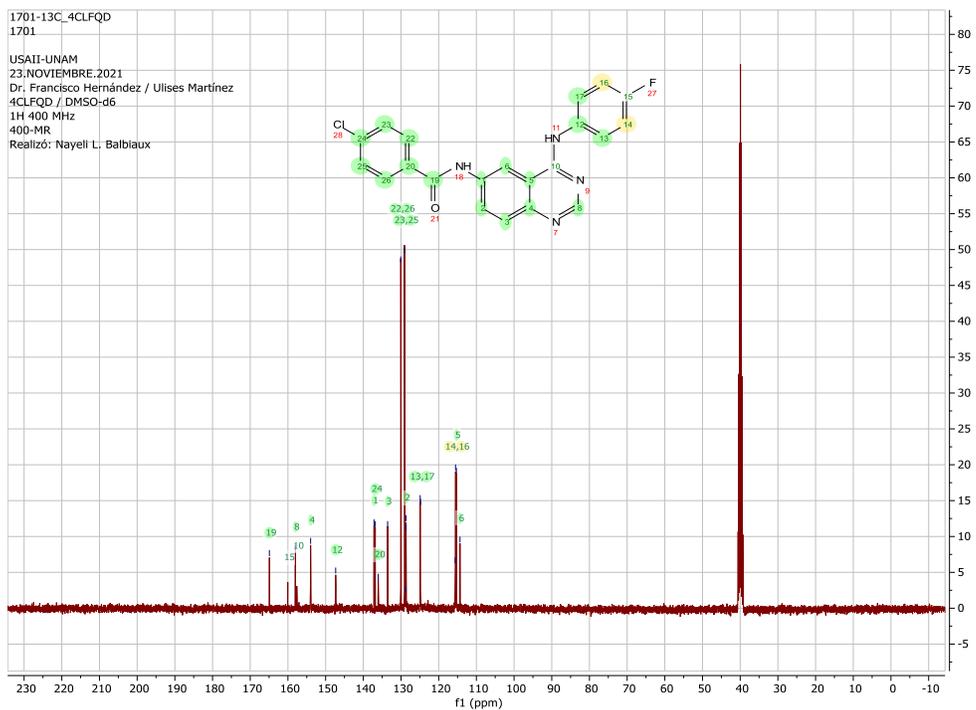
Espectro 2.3.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula 4CIQD



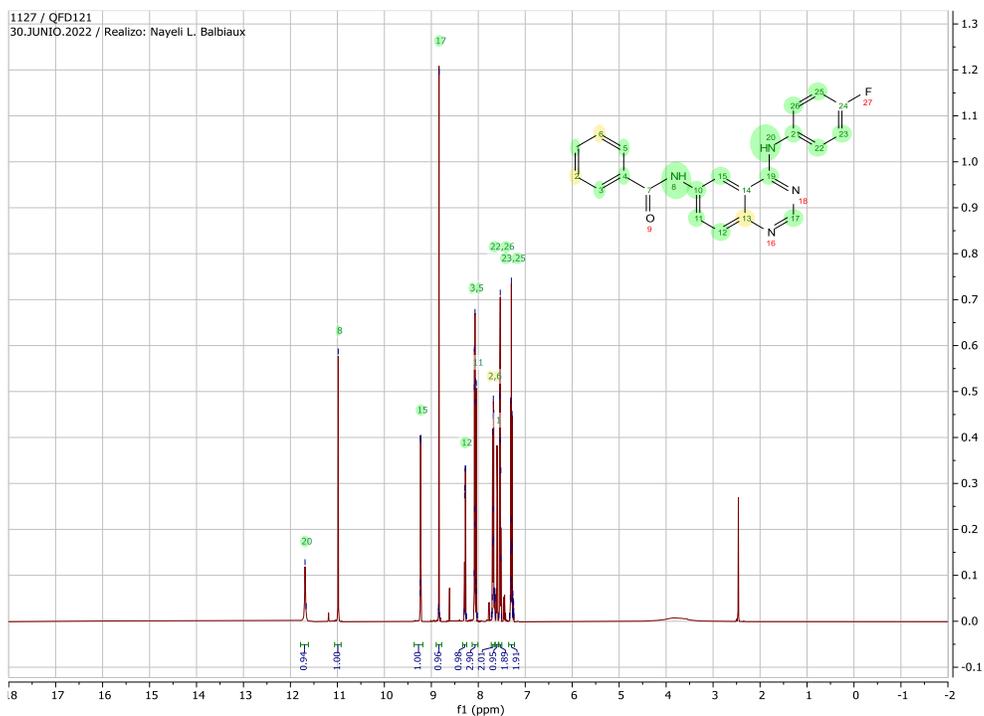
Espectro 2.3.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula 4CIQD



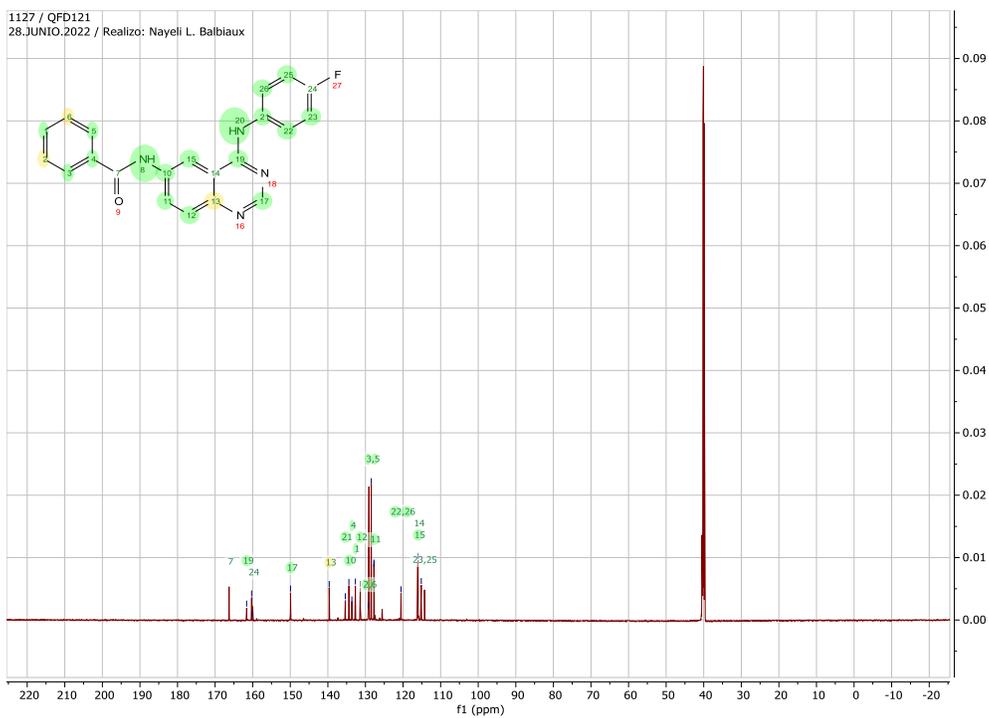
Espectro 2.4.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula 4CLFQD



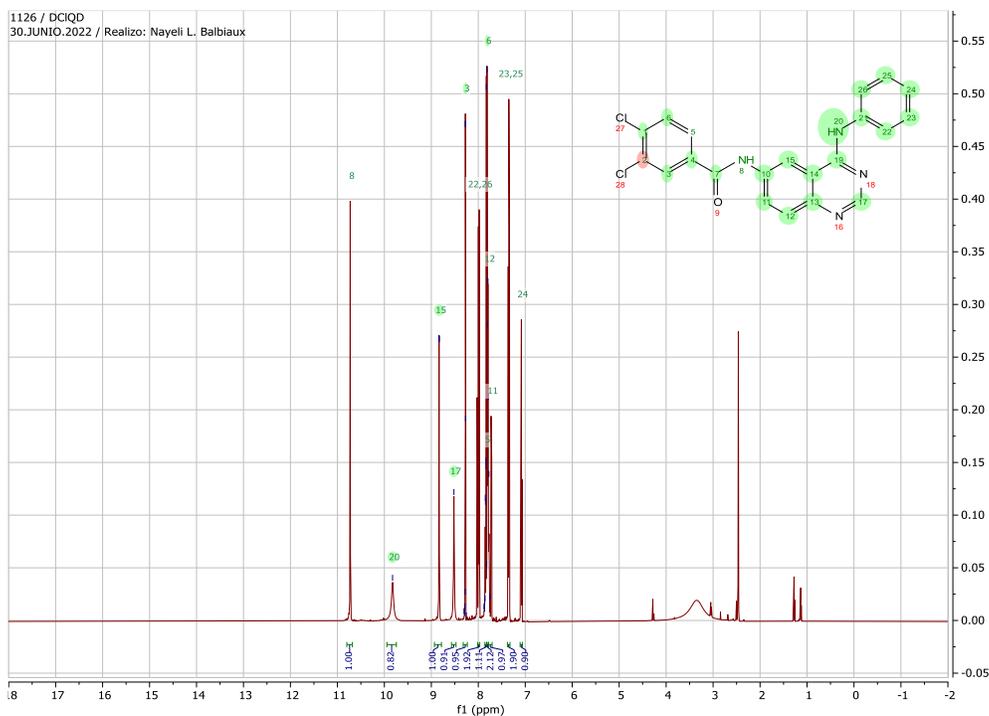
Espectro 2.4.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula 4CLFQD



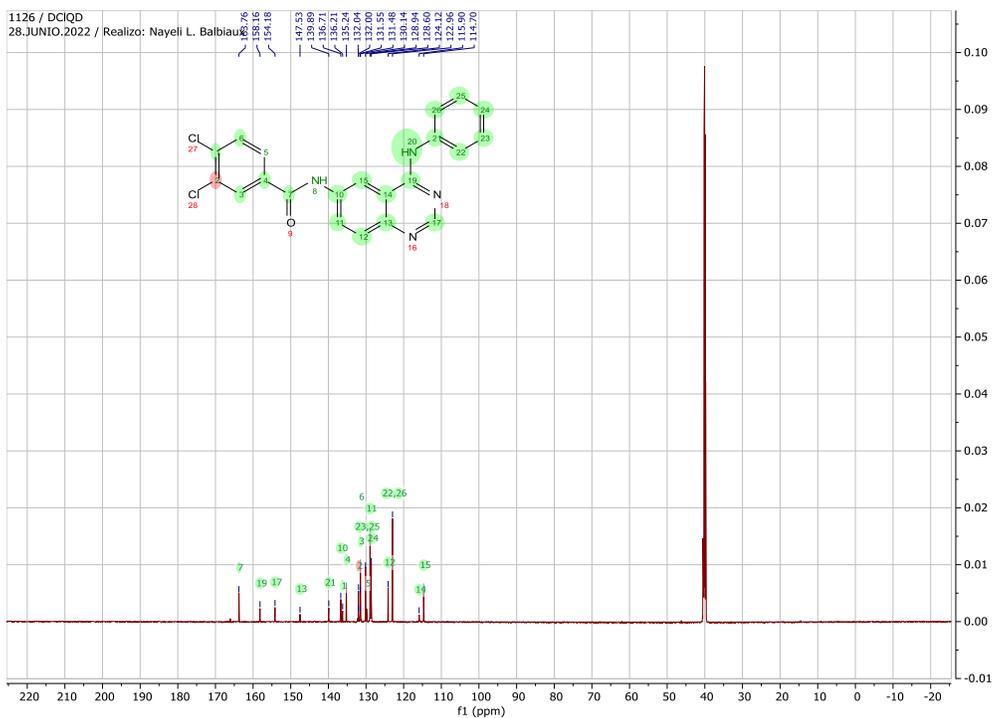
Espectro 2.6.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula QFD121



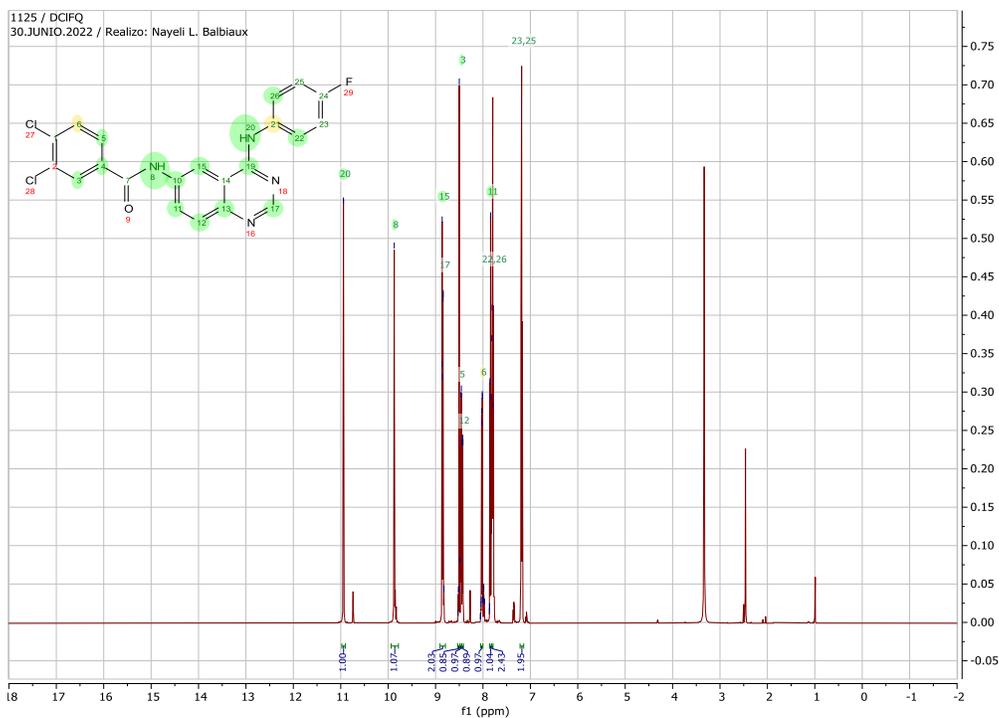
Espectro 2.6.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula QFD121



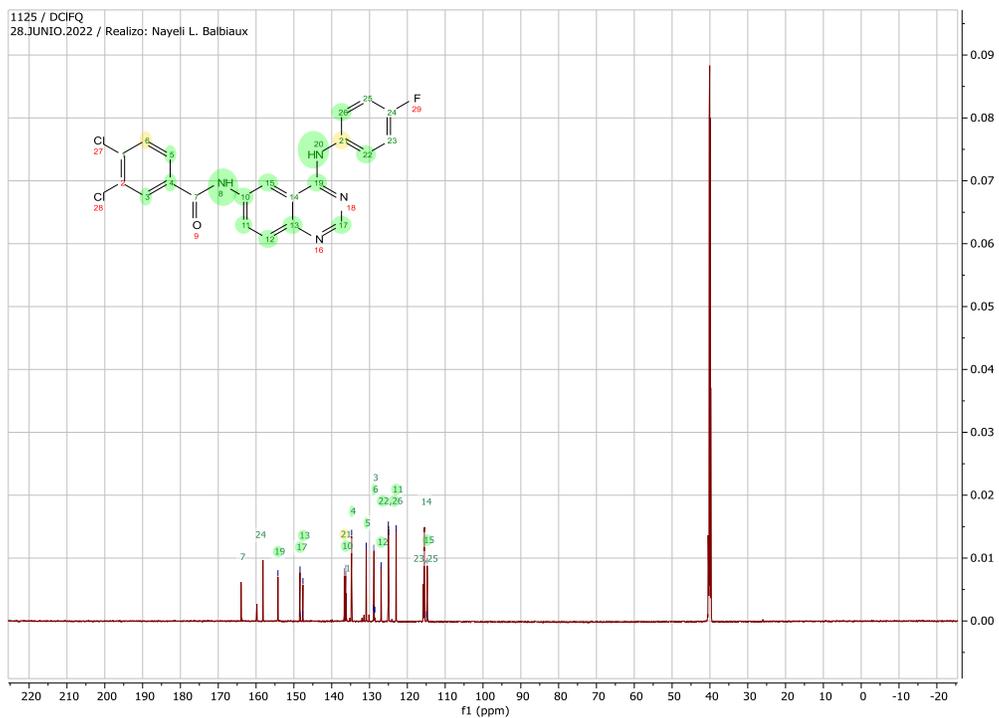
Espectro 2.7.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula DCIQD



Espectro 2.7.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula DCIQD



Espectro 2.8.1 Espectro de RMN-¹H de la molécula DCIFQ



Espectro 2.8.2 Espectro de RMN-¹³C de la molécula DCIFQ

Evaluación biológica

$$\%inhibición = \left(\frac{Fluorescencia_{compuesto} - Blanco}{Fluorescencia_{NADH} - Blanco} \right) \times 100$$

Ecuación 1. Cálculo de inhibición enzimática sobre LDH

Moléculas	%Inhibición enzimática sobre LDH
3CIQD	93.65±6.61
3CIFQD	98.39±14.37
4CIQD	83.51±14.52
4CIFQD	88.95±11.09
QD121	10.18±10.65
QFD121	77.32±9.54
DCIQD	79.13±4.97
DCIFQ	109.39±14.94
NHI-2	52.33±10.99