



5

**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

**Facultad de Ciencias Químicas**

**Maestría en Ciencias Químicas**

**Síntesis y estudios *in silico* de espiroimidazoles esteroidales**

**Ing. Quim. Jazmin Moreno Rico**

**Directora de tesis:**

**Dra. Sara Montiel Smith**

**Codirectora de tesis:**

**Dra. Penélope Merino Montiel**

**Junio 2023**



# BUAP

Oficio PCQ/215/2023

**Mtro. Alfredo Avendaño Arenaza**  
**Director General de Bibliotecas**  
**Presente**

A través de este medio me dirijo a usted para informarle que la tesis con título **Síntesis y estudios in silico de espiroimidazoles esteroideos**, ha sido avalada bajo los preceptos de integridad académica; por tanto se autoriza la impresión de tesis de la alumna:

Nombre de la alumna: **Jazmín Moreno Rico**

Matrícula: **220470223**

Facultad: **Facultad de Ciencias Químicas – Instituto de Ciencias**

Programa Educativo: **Maestría en Ciencias Químicas**

Licenciatura o Posgrado: **Posgrado**

Sin más por el momento, agradezco la atención al presente.

**ATENTAMENTE**  
**“Pensar bien, para vivir mejor”**  
**H. Puebla de Z., a 20 de junio de 2023**

**Dra. Jaqueline Jiménez Hernández**  
**Secretaria Académica**



**Dra. María Concepción Sara Montiel Smith**  
**Directora de Tesis**

**Dra. Penélope Merino Montiel**  
**Codirectora de Tesis**




# BUAP

## A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por el Dr. José Luis Vega Báez, Dr. Oscar López López, Dra. Ana bel Romero López y la Dra. Blanca Iris Colín Lozano, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada “**Síntesis y estudios in silico de espiroimidazoles esteroidales**”, que presenta la alumna **Jazmín Moreno Rico** para obtener el grado de Maestra en Ciencias Químicas.

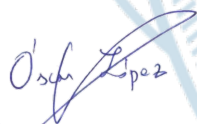
Se extiende la presente a los veinte días del mes de junio del año dos mil veintitrés.

**ATENTAMENTE**




---

Dr. José Luis Vega Báez




---

Dr. Oscar López López



---

Dra. Anabel Romero López



---

Dra. Blanca Iris Colín Lozano

---

## ÍNDICE

---

ABREVIATURAS .....	3
RESUMEN .....	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
ANTECEDENTES.....	10
Esteroides y su importancia farmacológica .....	10
Compuestos heterociclos nitrogenados y su importancia biológica .....	11
Heterociclos nitrogenados esteroidales. ....	14
Imidazoles. ....	17
Estudios <i>in silico</i> y Acoplamiento Molecular.....	17
OBJETIVOS.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos particulares .....	19
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	20
Síntesis de espiroimidazoles esteroidales.....	20
Obtención de 2 <i>H</i> -imidazoles a partir de estrona.....	20
Obtención de nitronas a partir de diamino glioxima .....	25
Síntesis de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno.....	27
Síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona 8b.....	31
Estudios <i>in silico</i> y de acoplamiento molecular. ....	33
De acuerdo a estudios realizados por el grupo de investigación, se encontró que compuestos derivados de la estrona sustituida con heterociclos nitrogenados sobre C-17 presentaron un efecto significativo sobre líneas celulares de cáncer (Esquema 11 compuestos C3-C5) [22], como se aprecia en la tabla 4, para ello se empleó un panel de 6 líneas celulares de tumores sólidos humanos: A549 (células de pulmón no pequeñas), HBL-100 (mama), HeLa (cérvix) y SW1573 (células de pulmón no pequeñas), como líneas sensibles a fármacos, así como T-47D (mama) y WiDr (colon), como líneas resistentes a multifármacos.....	33
Validación del acoplamiento molecular con TOPIIB .....	34
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C1 .....	36
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C2 .....	36
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C3 .....	37

Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C4 .....	37
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C5 .....	38
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C6 .....	38
Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C7 .....	39
Evaluación <i>in silico</i> de propiedades .....	39
DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	43
Síntesis de compuestos de tipo esteroidal .....	43
Síntesis de 1,2-difeniletanodiona 1b .....	43
Síntesis de Diaminogloxima 4b .....	44
Síntesis de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno 5b .....	44
Síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona 8b .....	45
Acoplamiento molecular .....	45
CONCLUSIONES .....	47
Síntesis de compuestos de tipo esteroidal .....	47
Acoplamiento molecular .....	47
BIBLIOGRAFÍA .....	49

---

## ABREVIATURAS

---

AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
ADMET	Absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ala	Alanina
Arg	Arginina
ARN	Ácido ribonucleico
Asp	Ácido aspártico
CCF	Cromatografía en capa fina
DA	Desoxiadenilato
DC	Desoxicitidilato
DG	Desoxiguanilato
DGA	Diaminogloxima
DMSO	Dimetilsulfóxido
DT	Desoxitimidilato
EMATE	Estrona sulfamato
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia Infrarroja
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
P.a	Probabilidad de ser activo
P.i	Probabilidad de ser inactivo
ppm	Partes por millón
<i>p</i> -TSA	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
RMN	Resonancia Magnética Nuclear

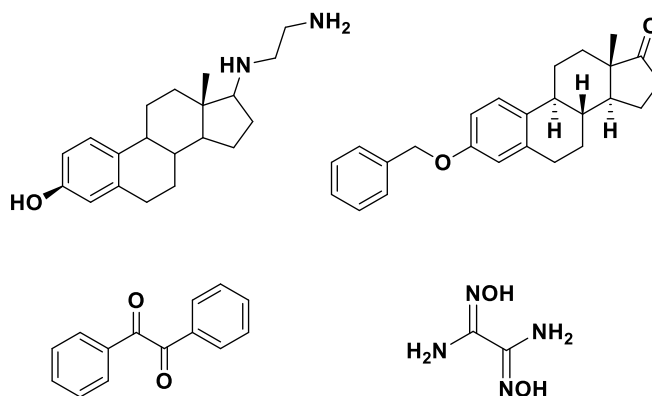
RMSD	Raíz de la desviación cuadrática media ( <i>Root-mean-square deviation</i> )
SERD	Degradador selectivo de receptores de estrógenos ( <i>Selective estrogen receptor degrader</i> )
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
TOPIIB	Topoisomerasa II B
UV	Ultravioleta

---

## RESUMEN

---

El presente trabajo contempla la síntesis y estudios computacionales de espiroimidazoles esteroidales, los cuales contienen un grupo imidazol de tipo espiro sobre el C-17 de la estrona. Siguiendo diferentes rutas sintéticas y empleando diversas metodologías se obtuvieron cuatro productos que fueron caracterizados mediante espectroscopias de RMN ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) e IR.



Adicionalmente se presentan los estudios *in silico*, como modelos predictivos, así como el acoplamiento molecular sobre Topoisomerasa IIB como posible blanco farmacológico. Este último ensayo se realizó sobre los compuestos derivados de estrona planteados en este trabajo y algunos previamente sintetizados por el grupo de trabajo; fueron seleccionados aquellos con diferentes núcleos heterocíclicos de tipo espiro, que han mostrado resultados prometedores en ensayos *in vitro* de actividad antiproliferativa frente a células cancerosas. El uso de estas herramientas predictivas tiene la intención de identificar una posible diana farmacológica, así como realizar una mejora en el diseño de estos compuestos como probables agentes anticancerígenos.



---

## ABSTRACT

---

The present work describes the synthesis and computational studies of steroidal spiroimidazoles, bearing the spiroimidazol ring at C-17 of the estrone framework. It was obtained four compounds through different synthetic pathways and using various methodologies. All products were characterized by NMR ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ ) and IR spectroscopies.

Furthermore, it was accomplished *in silico* studies as predictive model, and the molecular docking with Topoisomerase IIB as possible pharmacological target. This essay was performed using the steroidal compounds obtained in this work and some other previously reported by our investigation group; It was selected those compounds with spiroheterocycles moieties that have shown promising results in previous antiproliferative activity tests. The use of this predictive computational tools has the intention of identify a possible pharmacological target and to improve the design of these type of compounds as anticancer agents.

---

## INTRODUCCIÓN

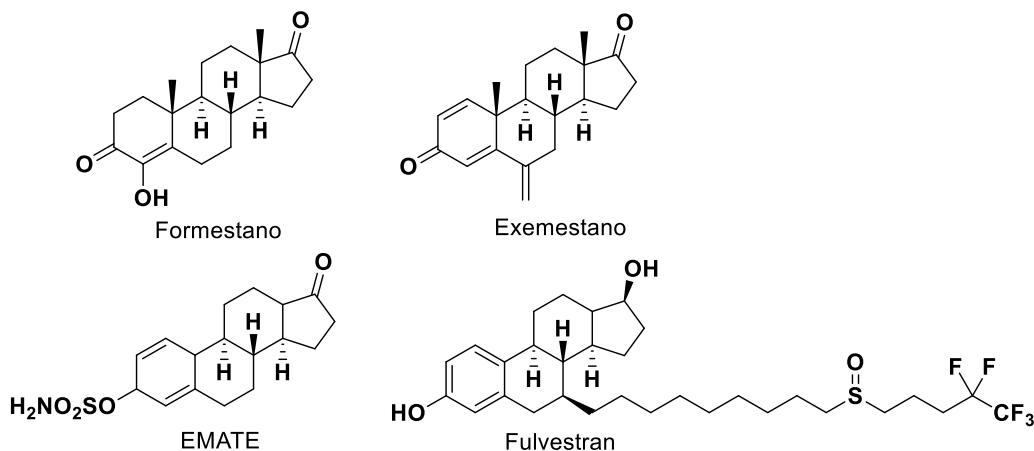
---

El cáncer es una de las principales causas de enfermedad en todo el mundo y representa 12,7 millones de casos nuevos cada año y se espera que este número aumente a 26 millones para 2030, tan solo en México esta anormal proliferación celular es la tercera causa de muerte, provocando el fallecimiento de 14 de cada 100 mexicanos [1].

Teniendo en cuenta el impacto en la salud humana y la economía, el cáncer presenta un gran desafío para el mundo científico y existe la necesidad de descubrir nuevos agentes para el tratamiento de este padecimiento. A pesar de la accesibilidad de varios medicamentos contra esta enfermedad, problemas comunes como la resistencia a múltiples medicamentos, menor eficacia terapéutica, solubilidad, efectos secundarios adversos y/o problemas de baja biodisponibilidad requieren el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos.

El diseño de moléculas con actividad biológica, así como novedosas rutas sintéticas ofrecen sin lugar a duda una de las mayores esperanzas de éxito en el presente como en el futuro, en el contexto del descubrimiento de nuevos fármacos, los esteroides han sido ampliamente investigados no solo por su fascinante marco estructural, sino también por su asombrosa variedad de propiedades farmacológicas debido a su excelente capacidad para penetrar las membranas celulares y unirse a los receptores nucleares y de membrana, incluso un pequeño cambio en su estructura puede mejorar su respuesta biológica [2-4].

Hasta ahora se han sintetizado y evaluado una variedad de esteroides con estructuras interesantes por su actividad antitumoral, por ejemplo, inhibidores de aromatasa como formestano y exemestano, el inhibidor de esteroides sulfatasa EMATE, y el degradador selectivo del receptor de estrógenos (SERD) Fulvestrant (Figura 1) [5-8].

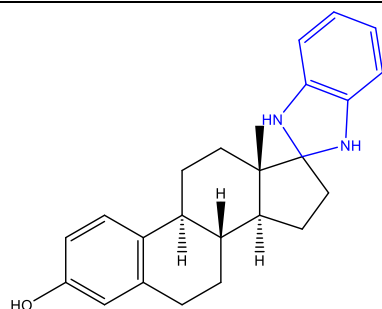


**Figura 1.** Compuestos esteroidales anticancerígenos

Entre los diversos derivados de estos compuestos, los esteroides que contienen un átomo de nitrógeno en un anillo condensado con una entidad esteroidea han atraído especial atención como fármacos prometedores en el tratamiento de varios tipos de cáncer [9,10,11], puesto que los heterociclos que contiene átomos de nitrógeno poseen donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno lo que permite su interacción con enzimas y receptores diana mediante fuerzas de atracción intermolecular de enlaces de hidrógeno, promueven la afinidad de unión, modulan el carácter lipofílico de las moléculas del fármaco y ayudan a mejorar la solubilidad acuosa, lo que los hace excelentes sustituyentes en el núcleo esteroidea proporcionando así las propiedades farmacoterapéuticas deseadas [12-14].

Dentro de este marco, el grupo de trabajo se ha enfocado a la síntesis de derivados esteroidales conteniendo diversos núcleos heterocíclicos, desarrollando una versatilidad de metodologías, con el fin de optimizar su actividad antiproliferativa [15-21].

De entre los heterociclos nitrogenados empleados, los imidazoles nos han inspirado al desarrollo de nuevos compuestos con propiedades mejoradas, conjugando este núcleo heterocíclico con una estructura esteroidea, debido a que, han demostrado poseer un efecto sinérgico de ambos farmacóforos biológicamente activos, dando lugar a propiedades únicas. De manera particular, los derivados de estrona con un núcleo imidazol, han exhibido una mayor actividad antiproliferativa frente a diferentes líneas de células cancerígenas, de acuerdo con los ensayos previos llevados a cabo por nuestro grupo, obteniendo resultados prometedores (Figura 2) [22].



Actividad Antiproliferativa ( $GI_{50}$ ,  $\mu M$ ) de la Espiro[3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno-17, 2'-benzimidazolina] frente a líneas celulares derivadas de tumores sólidos humanos.

A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
3.3±0.5	4.5±0.7	3.6±0.6	1.6±0.6	3.7±0.4	4.3±0.9

Errores expresados como la desviación estándar.

**Figura 2.** Resultados de los ensayos de compuestos de tipo espiroimidazol frente a células cancerígenas [22].

Tomando en consideración la actividad biológica y los antecedentes descritos, una de las estructuras que es de nuestro interés como el objeto de investigación del presente trabajo son los espiroimidazoles esteroidales. Una vez identificados estos compuestos con actividad antiproliferativa como nuevos agentes anticancerígenos, la selección y validación de nuevas dianas terapéuticas es el paso siguiente para poder llevar a cabo estudios de acoplamiento molecular sobre un posible blanco farmacológico asociado a cáncer.

Las dianas terapéuticas son aquellas estructuras moleculares susceptibles de ser moduladas por la acción de un fármaco, como resultado de esta interacción se produce el efecto deseado. Inicialmente, los fenómenos de proliferación, diferenciación, y apoptosis, fueron identificados como los cambios clave que afectan las transformaciones malignas de las células normales, ahora bien, ya que las ADN topoisomerasas son responsables de cortar las hebras de ADN, desempeñan funciones críticas en muchos procesos biológicos que lo involucran específicamente las topoisomerasas de tipo II alteran el número de enlace en pasos de dos al romper ambas hebras de ADN inhibiendo la replicación del ADN, afectando así la proliferación celular [23,24]. De acuerdo con esto, hemos identificado como posible diana para los compuestos de tipo esteroide propuestos, a la topoisomerasa II B (TOPIIB) [25].

Debido a las interesantes propiedades de los compuestos de tipo esteroide así como a la peculiar distribución espacial implícita en una estructura espiránica, la síntesis de espiroheterociclos esteroidales se ha convertido en objeto de gran interés en el área de Química Orgánica, por lo que el presente trabajo contempla el diseño, la síntesis y caracterización espectroscópica de espiroimidazoles esteroidales, así el uso de técnicas *in silico* de acoplamiento molecular sobre un posible blanco farmacológico asociado a este tipo de enfermedad, TOPIIB.

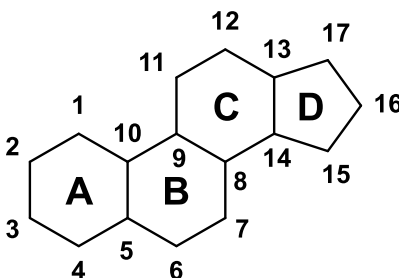
---

## ANTECEDENTES

---

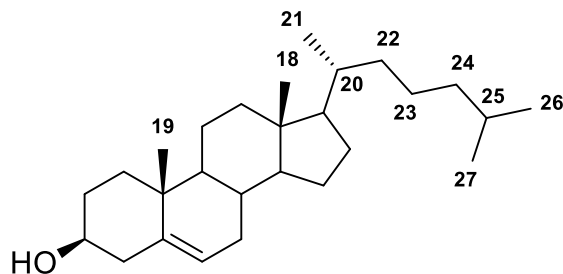
### Esteroides y su importancia farmacológica

Los esteroides son compuestos orgánicos con importante actividad biológica ya que muchos de estos son los constituyentes de plantas, animales y organismos vivos, se caracterizan por poseer un esqueleto derivado del ciclopenta[ $\alpha$ ]fenantreno construido de cuatro anillos en una orientación altamente específica (Figura 3).



**Figura 3.** Estructura y numeración del ciclopenta[ $\alpha$ ]fenantreno descrito por la IUPAC.

En general, la estructura del núcleo del esteroide tiene 17 átomos de carbono conectados con 4 anillos fusionados de una manera particular donde tres de estos son ciclohexanos (A, B y C) y uno es el sistema de ciclopentano (anillo D) [26]. Por lo general contiene grupos metilo sobre las posiciones C-10 y C-13, mientras que en C-17 frecuentemente poseen una cadena lateral hidrocarbonada. La gran mayoría de los compuestos esteroidales poseen un grupo oxigenado en C-3. Los dobles enlaces son también grupos funcionales usualmente observados en moléculas esteroidales naturales; un ejemplo de ello es el colesterol, con una insaturación en la posición C-5.



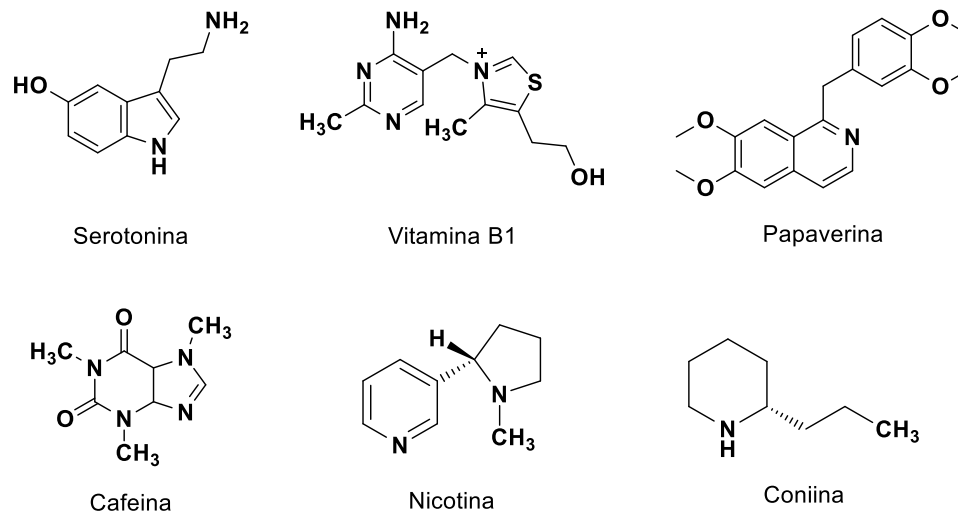
**Figura 4.** Colesterol, esteroide ampliamente distribuido en el reino animal.

Es importante destacar que los esteroides juegan un rol primordial en la regulación de procesos fisiológicos, las hormonas esteroides por ejemplo controlan los sistemas endocrinos y regulan las vías metabólicas. Estas hormonas influyen en funciones endocrinas como la diferenciación sexual y la vida reproductiva, también mantienen el metabolismo de la sal y los carbohidratos en el cuerpo humano. Varios glucocorticoides, vitamina D, ácidos biliares, progesterina y esteroides también se distribuyen en las células. Ya que se encuentran con una gran diversificación estructural presentan interacción con numerosas dianas terapéuticas, tanto en compuestos que presentan el núcleo esteroide como en derivados de estos, lo que hace a este tipo de metabolitos una familia inmensa con múltiples y diversas actividades biológicas, lo que incrementa su importancia a nivel farmacológico [27].

En este contexto, las modificaciones químicas de los esteroides se han convertido en una gran herramienta sintética para los químicos. El colesterol, el estigmasterol y el lanosterol y los productos que se obtienen de ellos son moléculas cruciales en el tratamiento de diversos tipos de cáncer. Los derivados del estrógeno se utilizan en el tratamiento del cáncer de mama. Las cortisonas son útiles contra la artritis reumatoide. Los derivados de testosterona sirven como antileucemia linfocítica. Los glucocorticoides son importantes agentes antiinflamatorios [28]. Numerosas moléculas de esteroides aisladas de fuentes marinas demuestran propiedades citotóxicas [29]. Lo que es más importante, muchos esteroides se emplean como medicamentos clínicos activos. A menudo, sirven como moldes de fármacos o enzimas debido a su capacidad para penetrar en las células, sus fuertes caracteres lipofílicos y, sobre todo, su rigidez conformacional [30]. Aunque muchos de estos esteroides pueden aislarse de forma natural o mediante métodos sintéticos, un fácil acceso a los esteroides medicinalmente activos es un tema esencial y muy exigente [31].

### **Compuestos heterociclos nitrogenados y su importancia biológica**

Los compuestos heterocíclicos ocupan una posición central en la química orgánica y son de particular interés y significativa importancia en la búsqueda de nuevas moléculas bioactivas en la industria farmacéutica [32]. Los heterociclos que contienen nitrógeno, en particular, exhiben una amplia gama de actividades biológicas debido en parte a sus similitudes con muchas moléculas naturales y sintéticas con actividades biológicas conocidas, por ejemplo, vitaminas, hormonas y antibióticos. Algunos alcaloides representativos y otros productos naturales que contienen nitrógeno muestran diversas actividades biológicas, y varios de ellos incluso son medicamentos recetados como la serotonina, la tiamina, que también se denomina vitamina B1, atropina, morfina, codeína, papaverina, coniina, cafeína y nicotina [33].



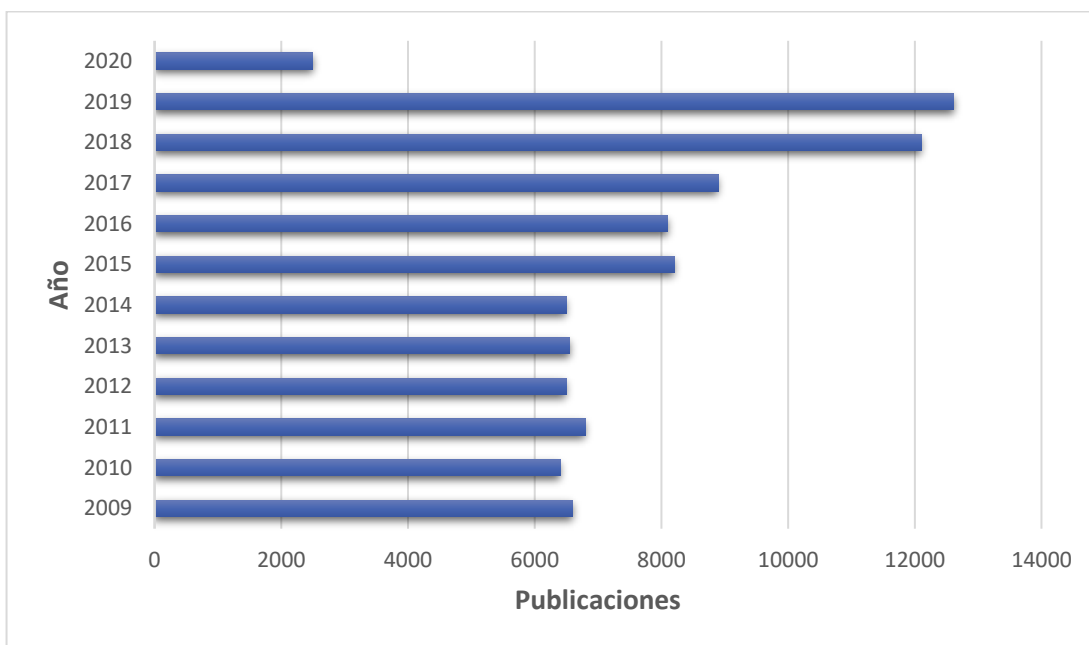
**Figura 5.** Productos naturales que contienen heterociclos nitrogenados.

Estos heterociclos que contienen nitrógeno no solo están presentes como columna vertebral en varios productos naturales biológicamente activos utilizados como medicamentos tradicionales o medicamentos recetados, pero algunos de sus derivados sintéticos en diferentes proporciones, hoy en día son medicamentos recetados y comercializables. Los más famosos son el diazepam, la isoniazida, la clorpromazina, el metronidazol, el ácido barbitúrico, el captopril, la cloroquinina, la azidotimidina y la antipirina. Además, la mayoría de las vitaminas, ácidos nucleicos, enzimas, coenzimas, hormonas y alcaloides contienen heterociclos basados en N como andamios [34].

Debido a que exhiben diversas actividades biológicas, los compuestos heterocíclicos de nitrógeno siempre han sido objetivos atractivos para los químicos orgánicos. Dado que varios de ellos prevalecen en los productos naturales, han recibido mucha atención de la comunidad sintética, especialmente de aquellos que se dedican a la síntesis total de productos naturales. Como resultado, la gran cantidad de compuestos heterocíclicos de nitrógeno han estado bajo investigaciones continuas desde diferentes puntos de vista, por lo que han encontrado aplicaciones en la investigación farmacéutica y el descubrimiento de fármacos [35,36]. Recientemente, los heterociclos basados en N han atraído mucho el interés de los químicos, debido a la amplia gama de actividades biológicas y abundantes aplicaciones en los extensos campos de la farmacia. Las bases de datos de la FDA han revelado que alrededor del 60 % de los fármacos únicos de molécula pequeña comprenden heterociclos basados en N, lo que demuestra la importancia estructural de los heterociclos basados en N en el diseño y descubrimiento de fármacos [37]. La prevalencia de heterociclos N en compuestos biológicamente

activos se puede atribuir a su estabilidad y eficiencia operativa en el cuerpo humano y al hecho de que los átomos de nitrógeno se unen fácilmente con el ADN a través de enlaces de hidrógeno, un ejemplo de ello son los derivados de pirimidina los cuales tienen varias aplicaciones terapéuticas en química medicinal y el esqueleto de pirimidina de timina, citosina y uracilo son componentes esenciales de los ácidos nucleicos, el ADN y el ARN. De hecho, las actividades anticancerígenas de los agentes heterocíclicos basados en N se deben en gran medida a su tendencia a la interacción con el ADN a través de enlaces de hidrógeno [38].

A través de distintas investigaciones se tiene conocimiento de que los esqueletos *N*-heterocíclicos presentan significativamente varias clases de aplicaciones terapéuticas y se utilizan como componentes básicos de una serie de nuevos candidatos a fármacos [39,40]. Se sabe que una gran cantidad de compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno exhiben una amplia gama de actividades farmacológicas que incluyen actividades anticancerígenas, antipalúdicas, antituberculosas, antimicrobianas y diabéticas [41-47]. Una medida de su importancia en el diseño de heterociclos de nitrógeno se puede ver en las más de 97 400 publicaciones sobre heterociclos de nitrógeno que han aparecido entre 2009 y principios de 2020, como se ilustra en la Figura 6, de las cuales 12 615 publicaciones se informaron en el año 2019 [48].



**Figura 6.** Publicaciones basadas en heterociclos nitrogenados entre 2009 y principios de 2020

(<https://www.scopus.com/sources.uri>)



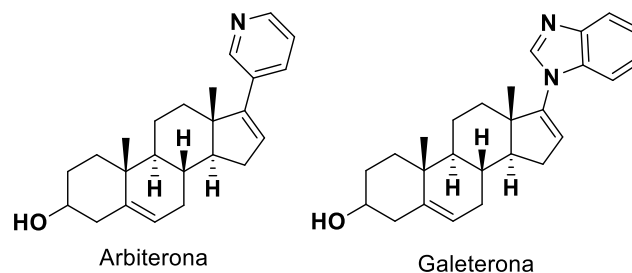
En particular, entre los años 2018-2020 se han reportado 282 publicaciones con heterociclos nitrogenados relacionados con la química médica. La utilidad de los compuestos *N*-heterocíclicos es un tema trascendental en el descubrimiento de moléculas nuevas con actividad farmacológica donde el papel excepcional del nitrógeno para interacciones variables con dianas biológicas amplía el alcance del desarrollo de fármacos.

### **Heterociclos nitrogenados esteroidales.**

Los esteroides han atraído constantemente el interés de los investigadores en la síntesis y el diseño de fármacos por sus estructuras inflexibles exclusivas y su capacidad excepcional de unirse a receptores hormonales particulares [49]. Basados en compuestos esteroidales reportados los cambios en las posiciones C3, C16 y C17 de los esqueletos de esteroidales muestran ser variaciones estructurales con las que se percibió un aumento en la viabilidad celular en relación con la actividad citotóxica y anticancerígena [50-53].

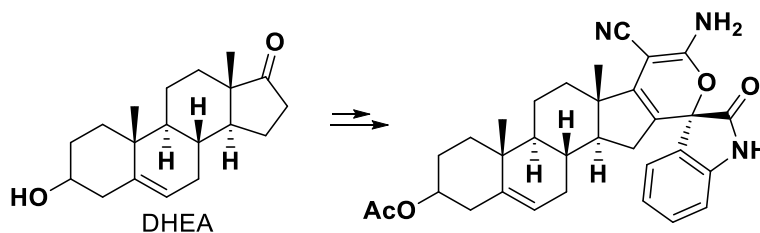
En este contexto los esteroides heterocíclicos revelaron una bioactividad potente ya que la incorporación del anillo heterocíclico fusionado en el esqueleto del esteroide mejora las propiedades biológicas [54-60]. En investigaciones detalladas, los heterociclos esteroides demostraron una potente citotoxicidad contra las diversas células cancerosas [61-66]. Por otro lado, los esteroides naturales como una clase vital de compuestos mostraron propiedades biológicas significativas [67], así como los alcaloides esteroides naturales [68], se identifica que poseen notables actividades fisiológicas. Por lo tanto, los esfuerzos del investigador se han centrado en la modificación de nuevos esteroides heterocíclicos debido a los grandes impactos biológicos y farmacéuticos, ya que estos esteroides se muestran antitumorales, antiinflamatorios, anabólicos, androgénicos [69], antiproliferativos [70], antibacterianos, anti -actividades proliferativas, citotóxicas y anticancerígenas [71].

Hasta el momento, se han reportado interesantes heterociclos nitrogenados esteroidales y se están utilizando en ensayos clínicos contra diferentes tipos de cáncer. Abiraterona y galeterona (Figura 7) son claros ejemplos de este tipo de fármacos utilizados en el tratamiento del cáncer de próstata, actuando como potentes y selectivos inhibidores de  $17\alpha$ -hidroxilasa/17,20 liasa para bloquear la síntesis de andrógeno [72].



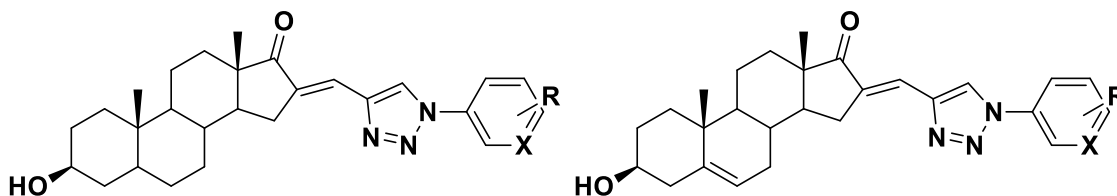
**Figura 7.** Heterociclos esteroideos usados en el tratamiento de cáncer de próstata.

Shi y colaboradores desarrollaron una nueva familia de espirooxindoles con el mismo núcleo esteroideo de la abiraterona y galeterona los cuales mostraron actividad inhibitoria del crecimiento tumoral principalmente a través de mecanismos mediados por ROS [73].



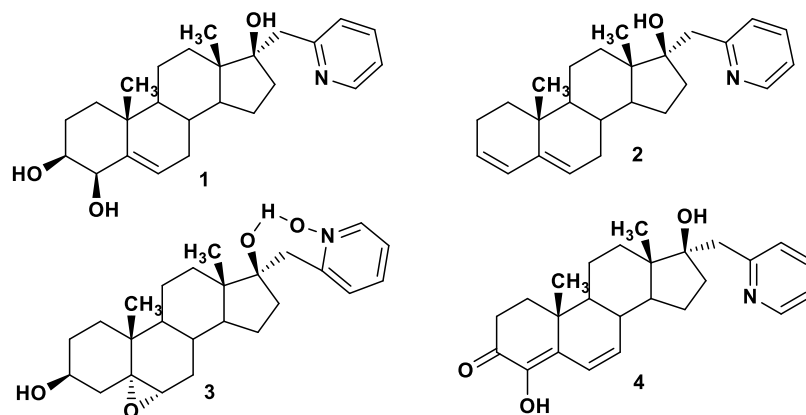
**Figura 8.** Estructura Química de la síntesis de espirooxiindoles.

En otro estudio Zhao y colaboradores llevaron a cabo el diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevas  $\beta$ -triazolinenonas esteroidales las cuales demostraron actividad antiproliferativa contra un panel de células cancerosas de diferentes orígenes [74].



**Figura 9.**  $\beta$ -triazolinenonas esteroidales

Mientras que en 2015, Jakimov y colaboradores describieron una serie de derivados seleccionados de 17 $\alpha$ -picolilo y 17(*E*)-picolinilideno androstano los cuales demostraron inducir la muerte apoptótica en células de cáncer de mama MDA-MB-231 [75].



**Figura 10.** Algunas estructuras de 17 $\alpha$ -picolilo (1–2) y 17(*E*) picolinilideno (3-4) derivados de androstano sustituidos y formestano.

Fundamentalmente los derivados de esteroides que contienen nitrógeno son fármacos clínicos comunes en la quimioterapia del cáncer [76, 77]. Como casi todos los fármacos contra el cáncer, su uso clínico se ha visto limitado por la toxicidad en los tejidos normales [78]. Por lo tanto, es un objetivo importante de la quimioterapia contra el cáncer amplificar la inhibición selectiva de las células tumorales y, al mismo tiempo, disminuir la toxicidad para los tejidos normales [79]. Un enfoque para mejorar la selectividad es fusionar diferentes heterociclos que contienen nitrógeno unidos al núcleo esteroidal ya que el aducto citotóxico formado puede dirigirse a tumores específicos.

Estudios previos muestran que las modificaciones que permiten interacciones adicionales entre una molécula pequeña y el receptor parecen ser determinantes clave para el diseño de nuevos compuestos esteroidales heterociclos ya que se sabe que diferentes sustituyentes pueden tener diferentes interacciones hidrofóbicas, tamaños y efectos electrostáticos que pueden influir en la interacción de un ligando con su receptor objetivo, estas consideraciones racionales proporcionaron el ímpetu para las modificaciones sistemáticas de los restos atados a C-17, C-16 y C-3 del esqueleto esteroidal [80, 81].

## Imidazoles.

El imidazol es un resto heterocíclico de cinco miembros, conocido también como 1,3-diazol, contiene dos átomos de nitrógeno, N-H llamado nitrógeno pirrólico y otro de tipo piridínico (Figura 11). Es el núcleo básico de algunos productos naturales como histidina, purina, histamina y estructuras basadas en ADN, etc.

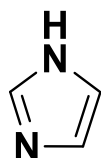


Figura 11. Estructura del imidazol.

Debido a que el anillo de imidazol se encuentra ampliamente en productos naturales y moléculas con actividad farmacéutica, aunado a su característica estructural rica en electrones, que permite que los grupos de imidazol se combinen con varios receptores y enzimas en sistemas biológicos, esta molécula heterocíclica se ha convertido en un sintón importante en el desarrollo de nuevos fármacos [82]. En la actualidad, existe una gran cantidad de compuestos que contienen imidazol con un alto potencial médico como fármaco clínico los cuales se han utilizado ampliamente para tratar diversos tipos de enfermedades, como antibacterianas [83], antifúngicas [84], antiinflamatorias [85], antivirales [86], antiparasitario [87], anticancerígeno [88], antihistamínico e inhibidor enzimático debido a la notable actividad farmacológica de los imidazoles [89, 90], incluidas sus interesantes propiedades anticancerígenas. Por lo que se cree que el desarrollo de nuevos compuestos con la conjugación de un motivo heterocíclico daría lugar a fármacos con propiedades mejoradas tomando importancia dentro de la química orgánica y medicinal [91].

## Estudios *in silico* y Acoplamiento Molecular.

Durante varios años, el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos estuvo basado en métodos experimentales, lo que elevaba el tiempo y los costos requeridos. El uso de metodologías *in silico* para el diseño racional y descubrimiento de candidatos a fármacos prometedores y seguros está desempeñando un papel cada vez más importante, ya que es posible modelar y predecir propiedades farmacológicas limitando el uso de modelos animales, haciendo así que el proceso de

desarrollo de candidatos a fármacos novedosos se acorte a la vez que se mejoran algunas propiedades como la actividad biológica, y esto a su vez, derive en la disminución de los efectos secundarios.

Aunado a esto muchas moléculas activas no logran ingresar al mercado debido a sus perfiles farmacocinéticos desfavorables por ello es importante considerar la evaluación de estas propiedades en las primeras etapas de la evaluación biológica del candidato, derivando en una mejor comprensión de las conexiones entre la estructura molecular y propiedades farmacocinéticas como absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET), actualmente varios servidores en línea se encuentran disponibles para llevar a cabo el pronóstico de las propiedades ADMET.

Sin embargo, el diseño de nuevos fármacos es un proceso complejo en el cual la identificación de objetivos proteicos juega un papel clave en múltiples áreas del descubrimiento de fármacos, ya que permite la priorización de compuestos para el descubrimiento de nuevos inhibidores frente a un conjunto de objetivos terapéuticos, así como la estimación de sus efectos no objetivo. Una vez identificadas las dianas moleculares se hace uso del acoplamiento molecular o Acoplamiento molecular el cual es una técnica computacional empleada para predecir el modo de unión del ligando de interés con la proteína, las interacciones proteína-ligando tienen un papel fundamental en varias rutas metabólicas [92, 93].

El uso de estas metodologías ha demostrado ser útil para la identificación de compuestos activos, la selección de candidatos para pruebas experimentales y la optimización de compuestos, es por ello que se busca emplear estos modelos con el fin de crear modelos predictivos que puedan ayudar al diseño racional de compuestos derivados de estrona conteniendo un núcleo imidazol (Figura 2), de los cuales se busca posean actividad antiproliferativa frente a células cancerígenas.

---

## OBJETIVOS

---

### Objetivo General

- Sintetizar una serie de compuestos derivados de estrona conteniendo un grupo imidazol de tipo espiro, sobre el anillo D de la estructura esteroidal, a través de diversas metodologías sintéticas, así como llevar a cabo los correspondientes estudios *in silico* y de acoplamiento molecular.

### Objetivos particulares

- ✓ Realizar estudios *In silico* como modelos predictivos que puedan ayudar en la optimización del diseño racional de compuestos a sintetizar.
- ✓ Realizar estudios de acoplamiento molecular de los compuestos a sintetizar para evaluarlos como inhibidores de la enzima topoisomerasa IIB.
- ✓ Sintetizar diversos compuestos de tipo esteroidal partiendo de la materia prima estrona agregando un núcleo espiro de tipo imidazol sobre el C-17, con la aplicación de distintas rutas sintéticas.
- ✓ Caracterizar los productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópico.

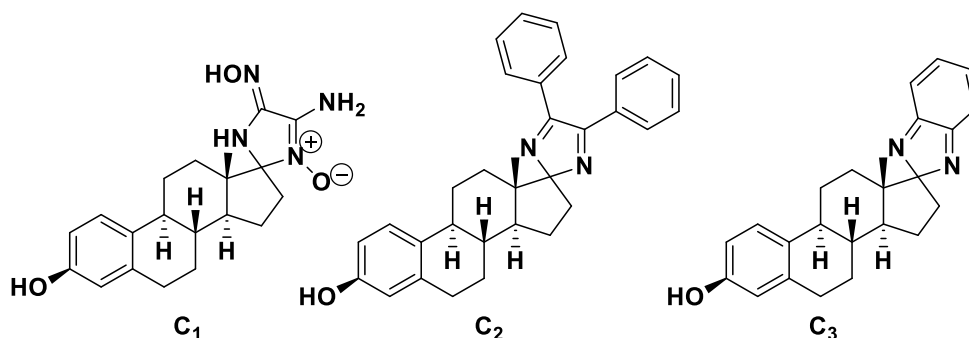


Figura 12. Derivados de estrona con un núcleo de imidazol tipo espiro.

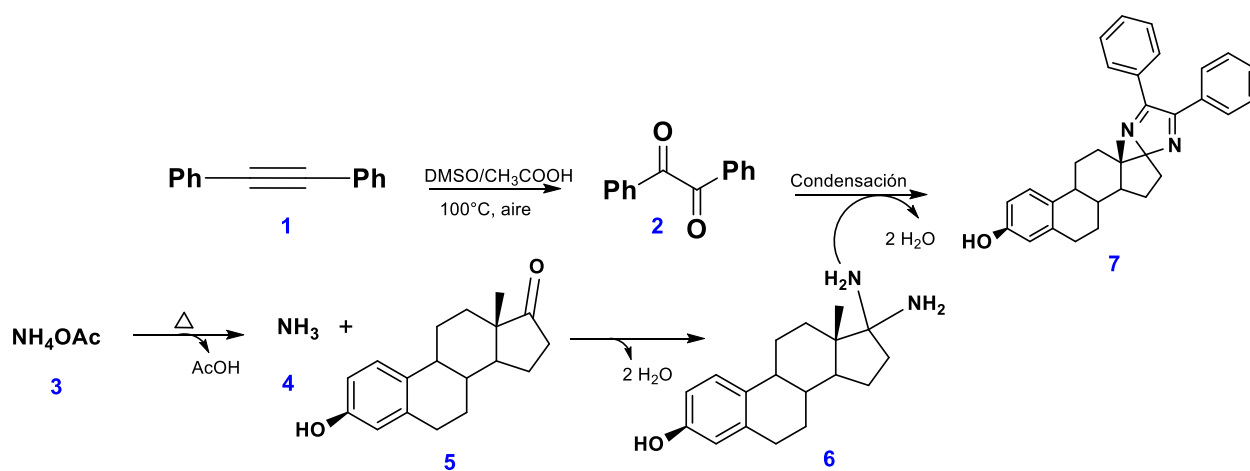
## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### Síntesis de espiroimidazoles esteroidales

Con base en lo descrito en los antecedentes y considerando la importancia química, farmacológica y medicinal de los compuestos esteroidales que contienen heterociclos nitrogenados; nos interesamos en la síntesis de derivados esteroidales con un anillo de imidazol de tipo espiro al anillo D bajo diferentes metodologías; empleando estrona como materia de partida, ya que este ha demostrado una mejor actividad biológica frente a células de tipo cancerígenas de acuerdo a ensayos realizados previamente por el grupo de investigación.

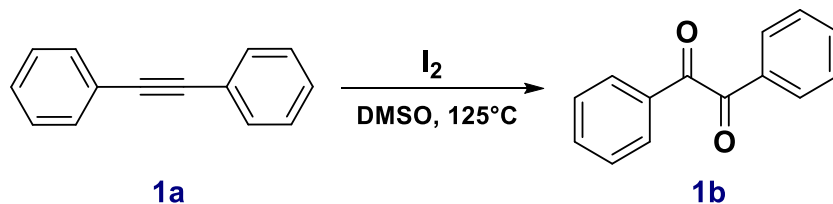
### Obtención de 2*H*-imidazoles a partir de estrona.

Se propuso la obtención de 2*H*-imidazoles mediante una ruta de reacción de dos pasos, de la cual se esperaba en primera instancia la formación de un intermediario dicetonico (**2**) generado por la oxidación de difenilacetileno (**1**) en presencia de DMSO y un medio ácido (CH<sub>3</sub>COOH), a partir de un segundo paso de reacción se contemplaba la descomposición del acetato de amonio (**3**) en las condiciones de reacción para generar amoníaco *in situ* (**4**), el cual posteriormente se esperaba reaccionara con el grupo cetona (**5**) en el C-17 de la estrona proporcionando un intermediario diamina (**6**) que después de una reacción de condensación pudiera dar como producto final la estrona con un núcleo de 2*H*-imidazol sobre C-17 (**7**), descrito en el (Esquema 1), basados en la metodología descrita por Kumar y colaboradores [94].

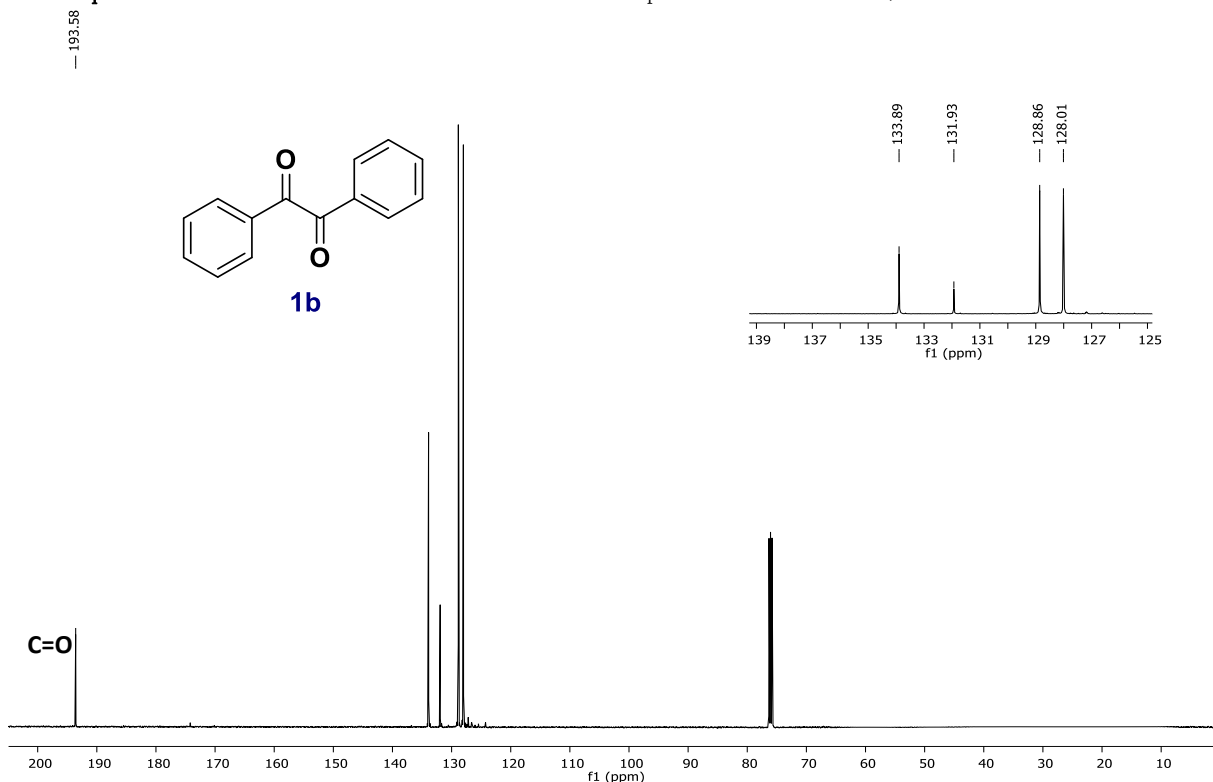


**Esquema 1.** Ruta propuesta para la obtención de estrona con un núcleo de 2*H*-imidazol.

Esta metodología describe una reacción *one-pot* para la obtención de 2*H*-imidazol tetrasustituidos a partir de alquinos disustituidos y cetonas diversas. Sin embargo, para el caso de esteroides al ser una estructura de mayor peso molecular y reactividad distinta a la de una cetona convencional, ya que se sabe que los grupos funcionales en los anillos contiguos al anillo D de la estrona afectan directamente la reactividad de este, no fue posible ensayar una metodología en un solo paso por ello se llevaron a cabo algunas pruebas experimentales para corroborar la formación de los intermediarios. Sobre esta se logró con éxito la obtención de 1,2-difeniletanodiona **1b** mediante la oxidación de difenilacetileno, basados en la metodología descrita por Yusubov y col. [95], usando DMSO y I<sub>2</sub> a 125°C (Esquema 2), esta reacción condujo a la obtención del producto dicetonico esperado **1b** como un sólido amarillo con un rendimiento del 86%, el cual se confirmó mediante RMN<sup>13</sup> C, <sup>1</sup>H e IR (Espectros 1,2 y 3).



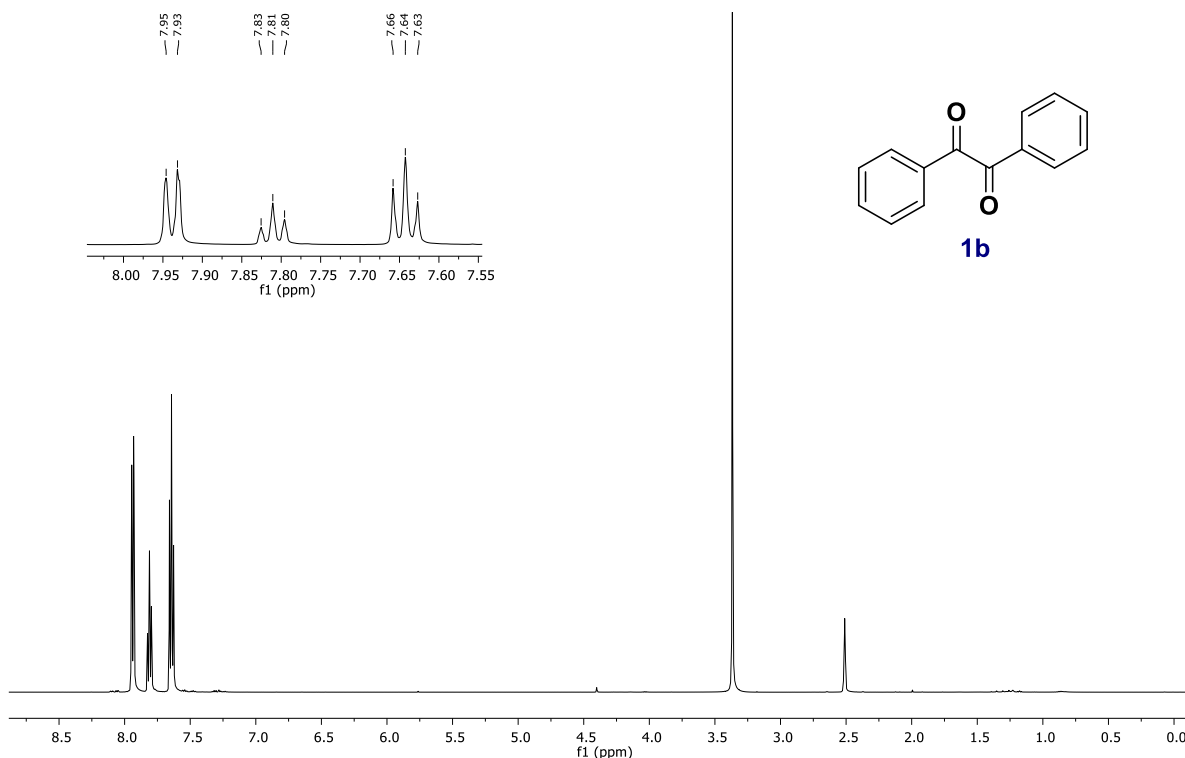
**Esquema 2.** Reacción de oxidación de difenilacetileno para la obtención de 1,2-difeniletanodiona **1b**.



**Espectro 1.** Espectro de <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 1,2-difeniletanodiona **1b**.

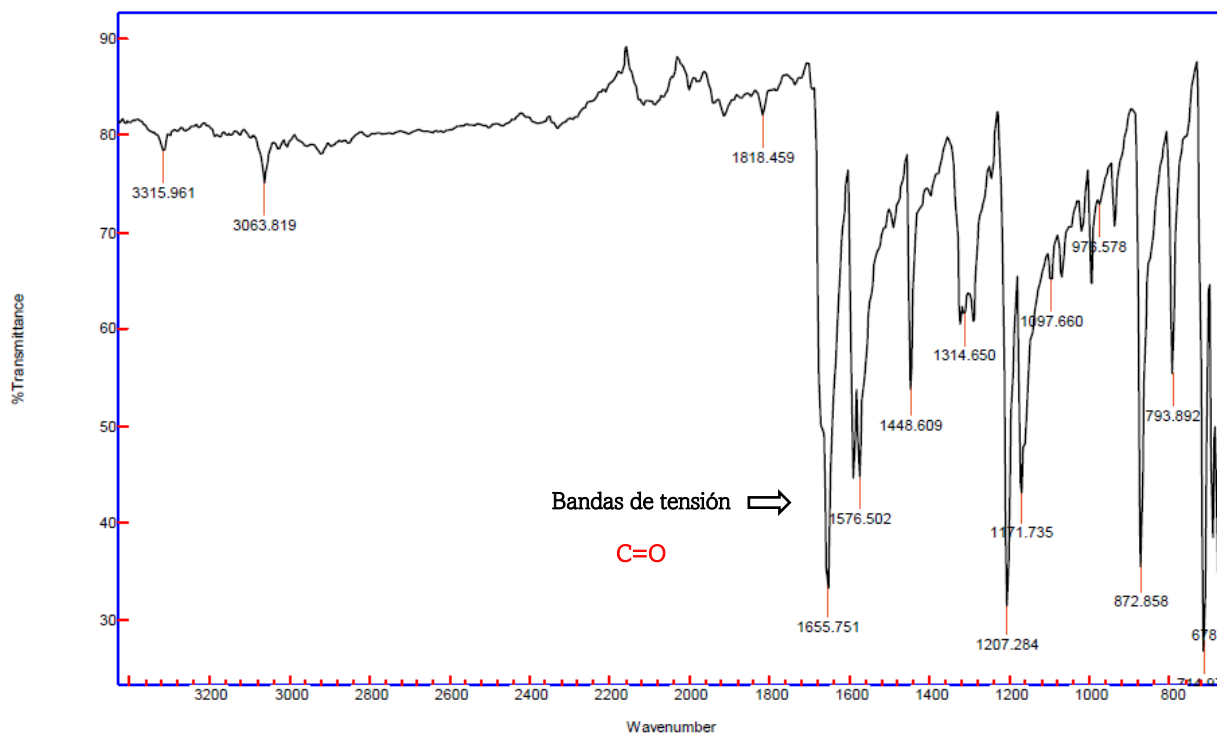


Mediante el espectro de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **1b** se puede confirmar que se llevó a cabo la oxidación del difenilacetileno ya que observamos la presencia de una señal a 193.6 ppm perteneciente a los grupos carbonilo, además de las señales correspondientes a los anillos aromáticos en 128.0 ppm a 133.9 ppm.



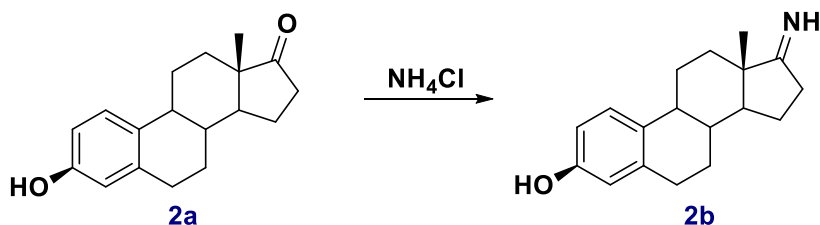
**Espectro 2.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 1,2-difeniletanodiona **1b**.

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del producto **1b** podemos observar dos señales triples en 7.64 ppm, y 7.81 ppm y a 7.94 ppm un doblete. Por otro lado el espectro de IR nos es de utilidad para corroborar la presencia de los grupos carbonilos ya que observamos la banda de tensión característica de los enlaces  $\text{C}=\text{O}$  a un número de onda de  $1655.75\text{ cm}^{-1}$  lo que confirmo el producto esperado.



**Espectro 3.** Espectro IR de 1,2-difeniletanodiona **1b**.

En un segundo paso de reacción se planteó la formación del intermediario diamino de estrona **6**, como se describe en el esquema 1. De acuerdo con el mecanismo de reacción planteado, se empleó en un inicio acetato de amonio para generar amoníaco en el medio de reacción, el cual mediante una adición nucleofílica reaccionaria con el grupo cetona en el C-17 de la estrona proporcionando un intermediario diamina, sin embargo es más probable que bajo estas condiciones se obtenga el grupo imina el cual igualmente fue de utilidad para corroborar los intermediarios obtenidos y si la metodología planteada era viable para la formación de esteroides con 2H-imidazoles (Esquema 3).



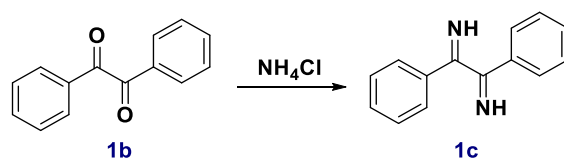
**Esquema 3.** Esquema general para la obtención del imino de estrona.

De esta manera la reacción se llevó a cabo en DMSO a 125°C, monitoreando la reacción por cromatografía de capa fina (CCF) por 48 h, pasado este tiempo no se observó cambio alguno en la materia prima, por lo que se decidió probar distintas condiciones de reacción con las que se pudiera llevar a cabo la transformación química (Tabla 1) además de estas se optó por el uso de cloruro de amonio (NH<sub>4</sub>Cl) en lugar de acetato de amonio ya que por experiencia previa en el laboratorio se ha notado una mejora en la reactividad.

<i>Disolvente</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Catalizador</i>	<i>Tiempo de reacción (h)</i>
DMSO	125°C		48
CH <sub>3</sub> CN	75°	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48
DMSO	125°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48
CH <sub>3</sub> OH	50°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48
THF	55°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48

**Tabla 1.** Condiciones de reacción empleadas para obtener el imino de estrona.

La reacción se monitoreo por CCF durante 48 h, durante este periodo de tiempo no se observó reacción bajo ninguna de las condiciones. Por otro lado, el producto dicetónico (**1b**) se usó como materia prima para la obtención de 1,2-Diimino-1,2-difeniletano **1c**, como se presenta en el esquema 4, esta prueba tiene la finalidad de verificar que se lleve a cabo el ataque nucleofílico del amoniaco, generado *in situ* por la presencia de NH<sub>4</sub>Cl, hacia el carbonilo de la dicetona, para ello se ensayaron diferentes condiciones de reacción las cuales se describen en la tabla 2.



**Esquema 4.** Esquema general para la obtención de 1,2-Diimino-1,2-difeniletano **1c**.

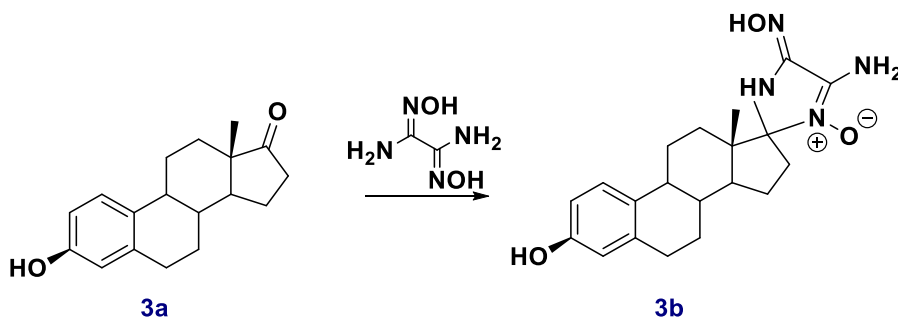
<i>Disolvente</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Catalizador</i>	<i>Tiempo de reacción (h)</i>
DMSO	90°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	24
CH <sub>3</sub> CN	65°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	24
DMSO	90°C		48
CH <sub>3</sub> CN	65°C		48

**Tabla 2.** Condiciones de reacción empleadas para obtener el 1,2-Diimino-1,2-difeniletano **1c**.

De manera similar a la prueba experimental realizada a partir de estrona en presencia de cloruro de amonio, el ataque nucleofílico esperado por el amoniaco generado *in situ* hacia los carbonilos de la dicetona no procedió bajo ninguna de las condiciones de reacción, con esto podemos observar que la metodología no es factible ya que no es posible formar los intermediarios para llevar a cabo una reacción *one-pot* basados en este tipo de mecanismo para moléculas esteroidales.

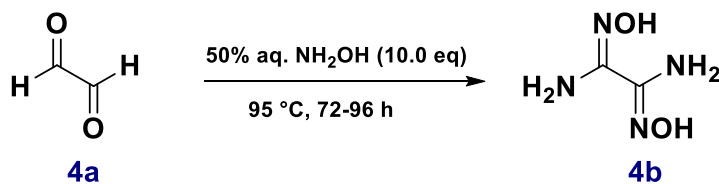
### Obtención de nitronas a partir de diamino glioxima

Fundamentados en la metodología de Moghimi y col. [96], para la preparación de nitronas a partir diaminoglioxima, la cual describe su uso en una serie de ensayos usando diferentes aldehídos y cetonas. Este trabajo evaluó la aplicabilidad de esta técnica usando estrona como materia de partida Esquema 5.



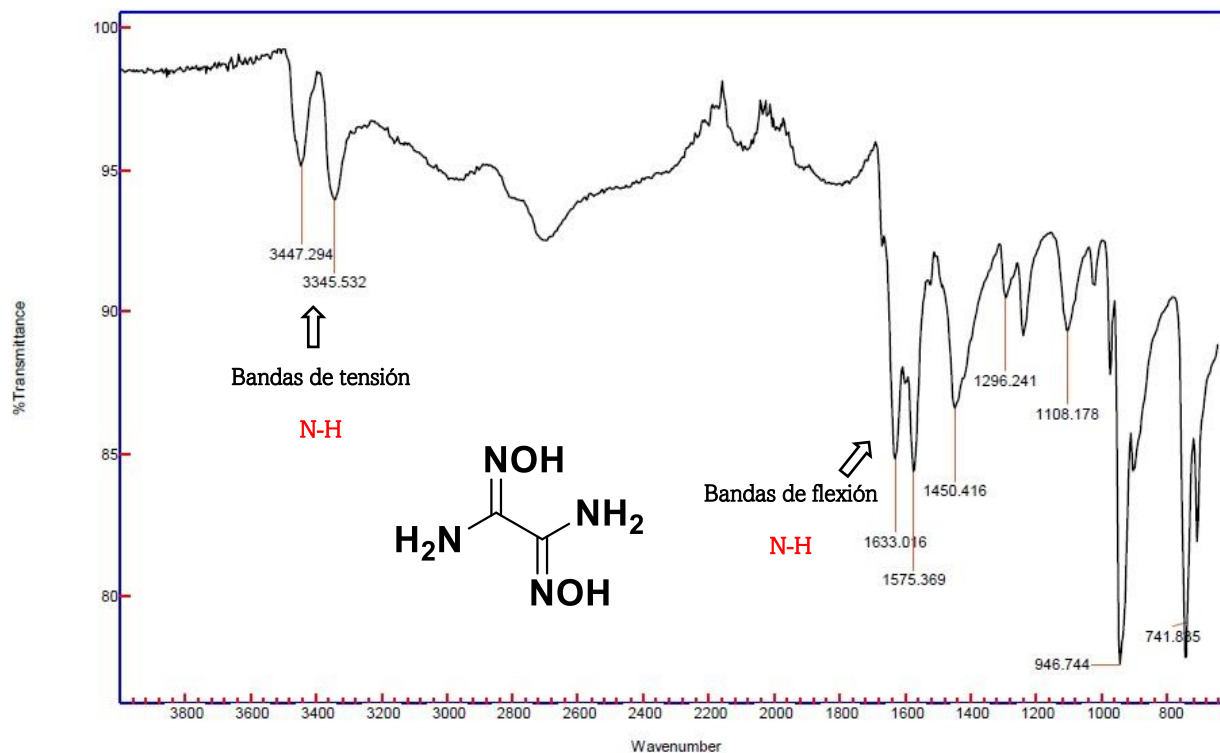
Esquema 5. Esquema general para la síntesis de nitronas de estrona.

Como primer paso para la síntesis de nitronas de estrona se efectuó la obtención de diaminoglioxima (DGA), ya que esta no se encuentra disponible comercialmente, la cual posteriormente se usó para el acoplamiento con estrona, esta se llevó a cabo usando glioxal e NH<sub>2</sub>-OH como materias de partida, como se describe de manera general en el esquema 6, empleando la metodología descrita por Johnson y col. [97]. Obteniendo un precipitado color blanco el cual se filtró con una cantidad mínima de agua fría y se dejó secar para obtener un sólido blanco con un rendimiento del 70% el producto se caracterizó mediante IR (Espectro 4).



Esquema 6. Metodología sintética para la obtención de diaminoglioxima.

Mediante el espectro 4 de IR podemos confirmar la presencia de los grupos amina primaria, se perciben las bandas de tensión características de los enlaces N-H a un número de onda de 3447.29 y 3345.53  $\text{cm}^{-1}$  así como las bandas flexión a 1633.01 y 1575.36  $\text{cm}^{-1}$ .



**Espectro 4.** Espectro de IR de diaminogloxima (DGA).

Para llevar a cabo la reacción de formación de nitronas, en un inicio la metodología utilizada describe el uso de MeOH/H<sub>2</sub>O como disolvente y *p*-TSA como medio catalizador, sin embargo bajo estas condiciones la reacción empleando estrona no procedió. En un paso subsiguiente se ensayaron diferentes condiciones de reacción con el fin de encontrar las más adecuadas estas se describen en la tabla 3.

<i>Disolvente</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Catalizador</i>	<i>Tiempo de reacción (h)</i>
H <sub>2</sub> O/MeOH	t.a	<i>p</i> -TSA	24
CH <sub>3</sub> CN	70°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48
THF	50°C	BF <sub>3</sub> OEt <sub>2</sub>	48

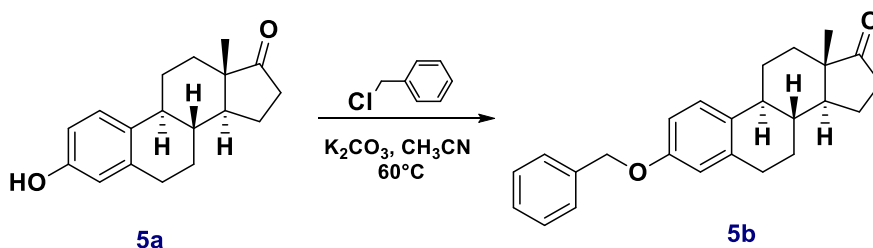
**Tabla 3.** Condiciones de reacción ensayadas para la formación de nitronas de estrona **3b**.

Todas las pruebas se monitorearon por CCF la cual no mostro cambio alguno en la materia prima por lo que se llegó a la conclusión de que bajo las condiciones ensayadas la reacción no procedió tampoco fue posible obtener el precipitado descrito por Moghimi y col. [96].

Dado que las metodologías planteadas hasta este punto no dieron los resultados esperados se llevaron a cabo algunos ensayos experimentales bajo los cuales se buscó determinar la reactividad de la estrona frente a distintos nucleófilos e igualmente se evaluó la reactividad del carbonilo de cetona estando la molécula esteroidal protegida en el hidroxilo de C-3 y sin protección, estas pruebas se describen a continuación.

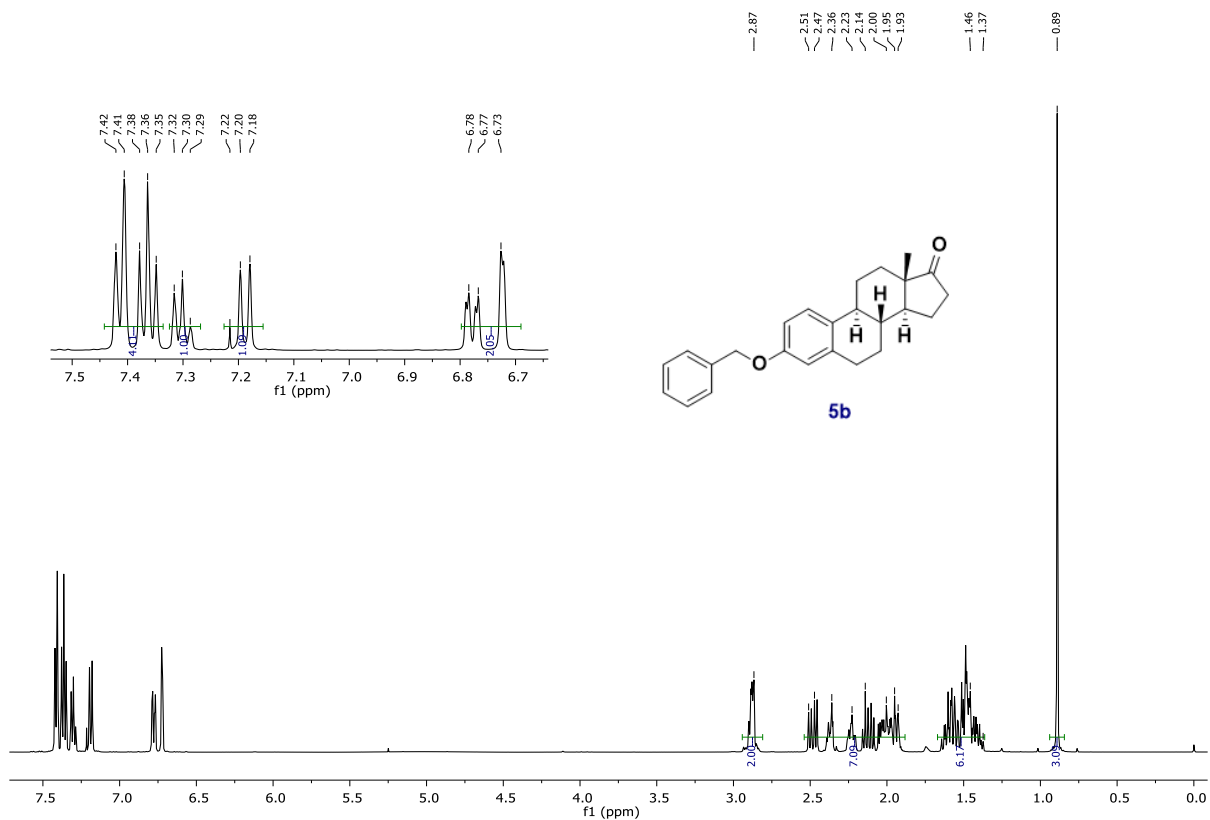
### Síntesis de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno

Se realizó la reacción de protección sobre el OH del C-3 de la estrona con un grupo bencilo como se muestra en el esquema, usando cloruro de bencilo en CH<sub>3</sub>CN y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> como base a 60°C y agitación, se monitoreo mediante CCF por ocho horas hasta que se observó menor cantidad de materia prima, la reacción fue extraída con una mezcla de salmuera: AcOEt (3 X 40 ml), el producto se recuperó en la fase orgánica a la cual se le agrego Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para eliminar los restos acuosos esta se llevó a evaporación obteniendo un precipitado color blanco, el cual se separó mediante columna de cromatografía Hex:AcOEt 9:1, finalmente el producto fue secado en una bomba de alto vacío dando como producto final un sólido de color blanco con un rendimiento del 85% este se confirmó mediante espectroscopias de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C e IR (Espectro 5, 6 y 7).



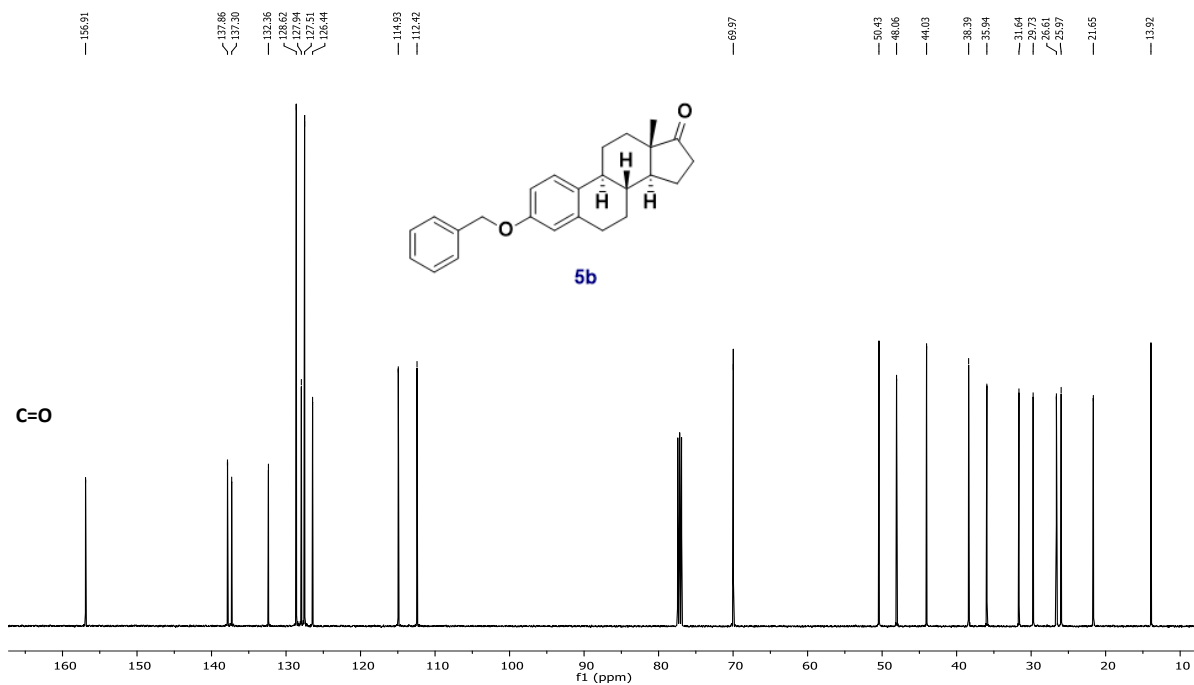
Esquema 7. Esquema general de la síntesis de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno 5b.

En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H podemos observar las señales características del esqueleto esteroidal entre 0.83 a 2.82 ppm así como las señales correspondientes a los anillos aromáticos de 6.72 a 7.44 ppm.



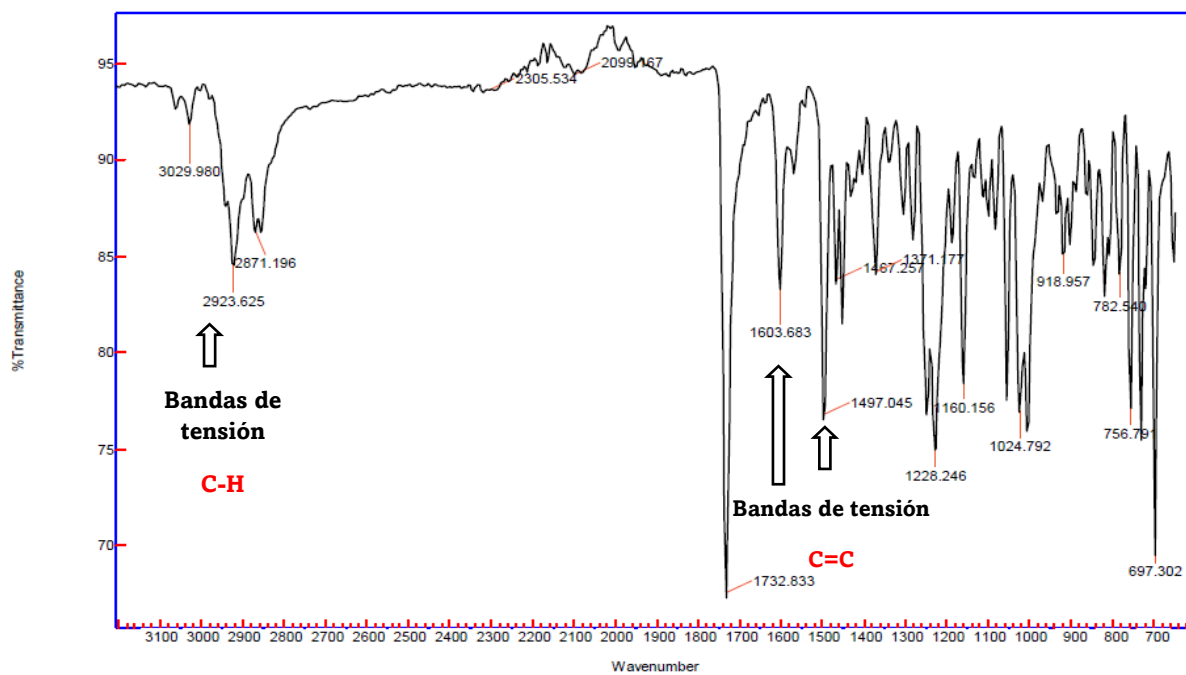
**Espectro 5.** Espectro de  $^1\text{H}$  de RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno **5b**.

El espectro 6 de RMN de  $^{13}\text{C}$  por otro lado corrobora la señal característica del grupo carbonilo a 156.9 ppm, además de las señales propias del anillo aromático de grupo bencilo entre 112.4 y 137.9 ppm.



**Espectro 6.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  de RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno **5b**

ppm.



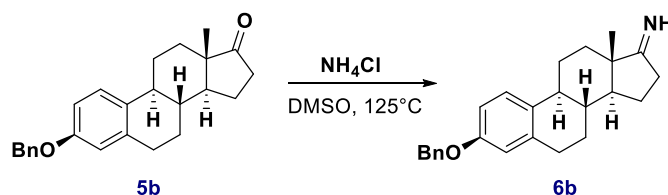
**Espectro 7.** Espectro de IR de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno **5b**.



Mientras que en el espectro 7 de IR de la estrona con un grupo bencilo (**5b**) se observan las bandas de tensión correspondientes a los enlaces C=C a un número de onda de 1603.68 además de las bandas de tensión de los enlaces C-H de a 2871.19 a 3029  $\text{cm}^{-1}$ , por otro lado no se observa la banda de tensión a 3335  $\text{cm}^{-1}$  perteneciente al OH de la estrona con lo cual comprobamos que se obtuvo el producto esperado.

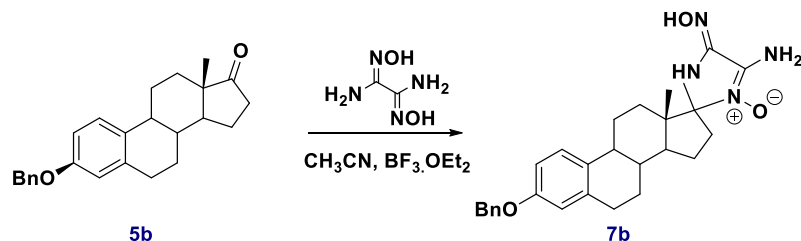
Posteriormente usando el 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno como materia de partida, se realizaron diversas pruebas experimentales con el fin de comparar la reactividad de la estrona protegida en el C-3 y sin proteger los resultados de estos se presentan a continuación:

En el esquema 8 se describe la reacción general para la formación del grupo imino sobre C-17 a partir de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno **5b**,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  en DMSO y  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  como catalizador, la reacción se mantuvo en agitación y calentamiento ( $125^\circ\text{C}$ ) por un tiempo de reacción de aprox. 24 h, la reacción se monitoreo mediante CCF, bajo estas condiciones no se observó una mejora en la reactividad de esta en comparación con el uso de estrona.



**Esquema 8.** Esquema general que describe la reacción para la formación del grupo imino de estrona (**6b**).

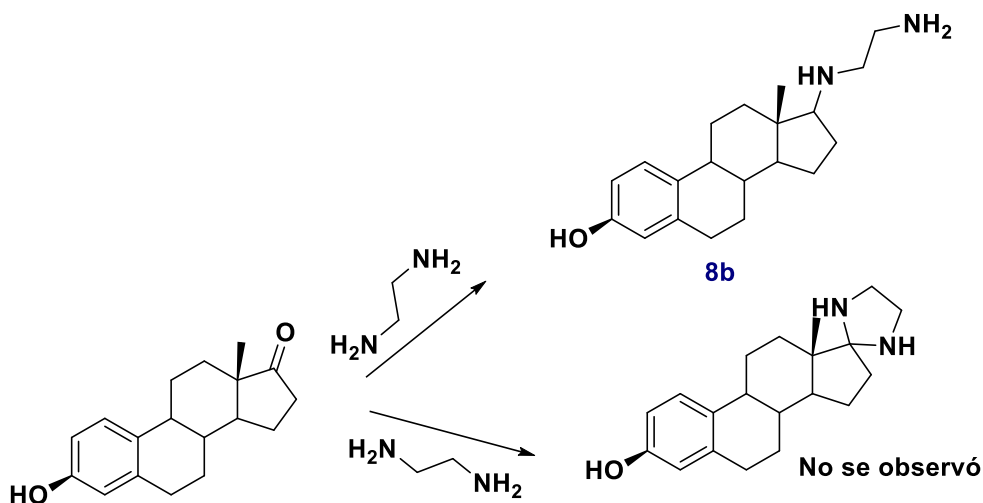
En el esquema 9 podemos observar la reacción general para la formación de nitronas sobre C-17 usando como materia prima el compuesto **5b**, esta reacción se llevó a cabo mediante la DGA previamente sintetizada, además de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  como catalizador en  $\text{CH}_3\text{CN}$  a temperatura ambiente y agitación por un tiempo aproximado de 48 h durante el cual se monitoreo el progreso por CCF. Bajo las condiciones descritas no se observó cambio en la materia prima por lo que no existe una diferencia significativa en comparación con el uso de estrona sin proteger el OH de C-3.



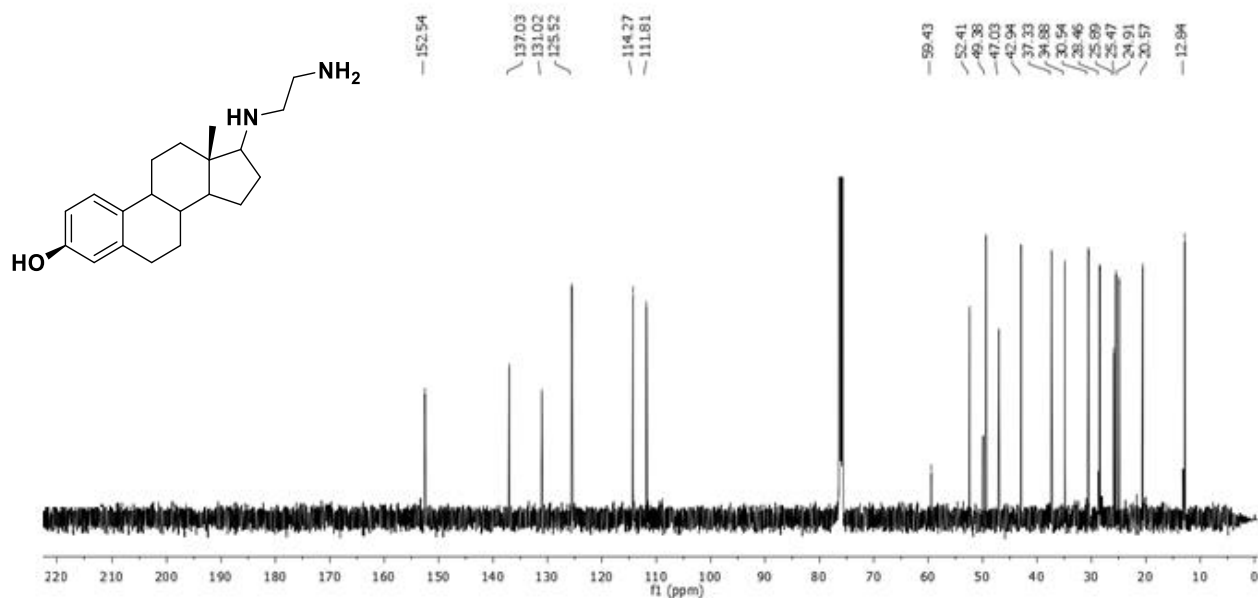
**Esquema 9.** Esquema general para la obtención de nitronas (**7b**) a partir de la estrona (**5b**).

## Síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona **8b**

En otro sentido se efectuó la síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona **8b** Esquema 10, esta reacción se realizó con la finalidad de corroborar la susceptibilidad del grupo cetona de la estrona al ataque nucleofílico de un compuesto con características electrofílicas de menor peso molecular e impedimento estérico a los ensayos en las metodologías planteadas previamente, esta reacción se llevó a cabo usando estrona como materia prima la cual se disolvió en  $\text{CH}_3\text{CN}$ , agregando una cantidad catalítica de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  y posteriormente etilendiamina. El crudo de reacción fue lavado con salmuera:  $\text{AcOEt}$  (3 x 20 ml) y se separó mediante columna de cromatografía con un sistema Hex- $\text{AcOEt}$  70:30, se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 18%, y se caracterizó mediante RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Espectros 8 y 9). Mediante los cuales se confirmó que el producto obtenido fue 17-((2-aminoetil)amino)-estrona **8b** en el cual la etilendiamina se unió de un solo lado quedando con la cadena abierta mientras que el producto con el heterociclo fusionado no se formó a pesar de aumentar el tiempo de reacción.

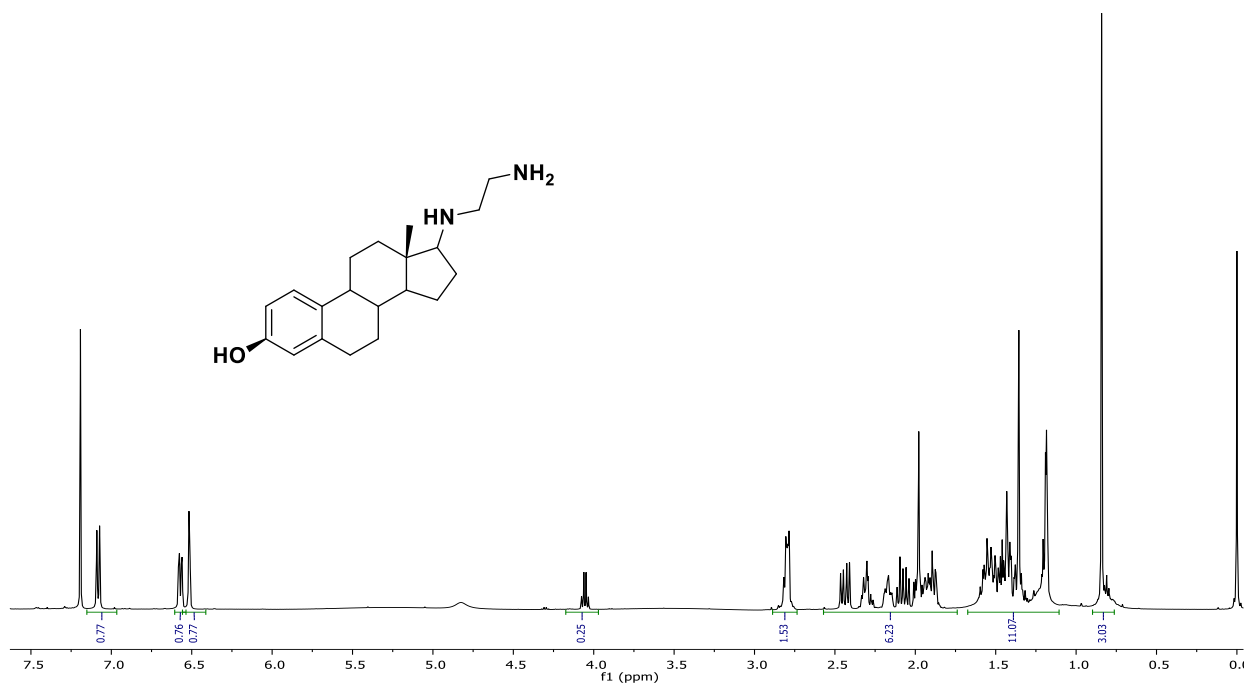


Esquema 10. Reacción general para la síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona **8b**.



**Espectro 8.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 17-((2-aminoetil)amino)-estrone **8b**.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de la 17-((2-aminoetil)amino)-estrone **8b** observamos la desaparición de la señal característica de carbonilo de cetona a 220 ppm, mientras que a 49.9 ppm, 52.4 ppm aparecen las señales pertenecientes a la cadena lateral en C-17 y a 5 ppm la señal de C-17.



**Espectro 9.** Espectro de  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 17-((2-aminoetil)amino)-estrone **8b**.

De acuerdo con el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **8b**, podemos observar las señales correspondientes al esqueleto esteroideal así como a las de los metilenos de la cadena lateral unida al esteroide de 0.84 ppm a 4.06 ppm, mientras que de 6.52 ppm a 7.09 ppm observamos las correspondientes señales al anillo aromático.

Como se puede corroborar en los espectros de RMN a partir de estrona y etilendiamina fue posible corroborar la posibilidad de llevar a cabo reacciones de tipo nucleofílicas sobre el grupo cetona de la estrona sin necesidad de proteger el hidroxilo del C-3, a pesar de ello la reacción tuvo un rendimiento bajo (18%) por lo que es posible que bajo distintas condiciones o el uso de catalizadores diferentes se pudiera lograr un mejor rendimiento, igualmente notamos que el segundo ataque nucleofílico por parte de la amina terminal no se llevó a cabo por lo que no se obtuvo el anillo heterociclo de tipo espiro sobre C-17, como en un principio se planteó, por lo que pudiera ser que el tamaño de la molécula elegida como electrófilo así como el impedimento estérico que generan los grupos unidos a él jueguen un papel importante para la síntesis de productos de tipo esteroideal partiendo de estrona con anillos nitrogenados.

#### Estudios *in silico* y de acoplamiento molecular.

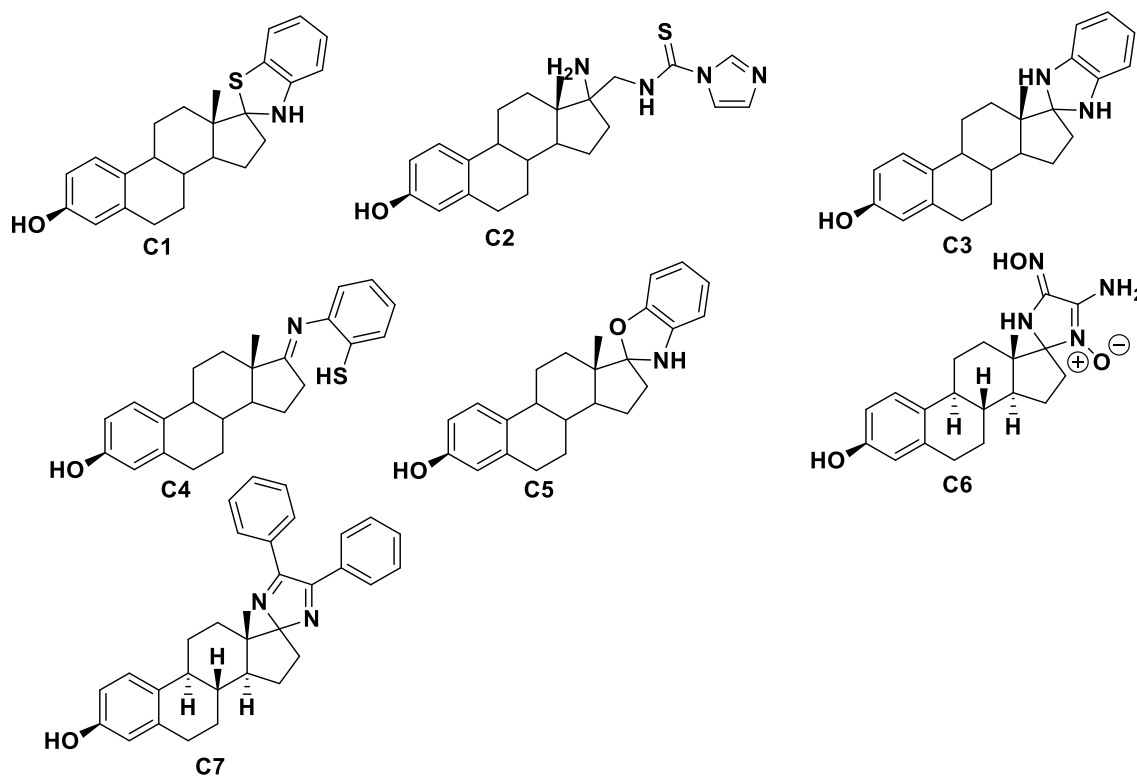
De acuerdo a estudios realizados por el grupo de investigación, se encontró que compuestos derivados de la estrona sustituida con heterociclos nitrogenados sobre C-17 presentaron un efecto significativo sobre líneas celulares de cáncer (Esquema 11 compuestos C3-C5) [22], como se aprecia en la tabla 4, para ello se empleó un panel de 6 líneas celulares de tumores sólidos humanos: A549 (células de pulmón no pequeñas), HBL-100 (mama), HeLa (cérvix) y SW1573 (células de pulmón no pequeñas), como líneas sensibles a fármacos, así como T-47D (mama) y WiDr (colon), como líneas resistentes a multifármacos.

**Tabla 4.** Actividad antiproliferativa ( $GI_{50}$ ,  $\mu\text{M}$ ) de derivados esteroideales frente a líneas celulares derivadas de tumores sólidos humanos [22].

Compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
C3	3.3±0.5	4.5±0.7	3.6±0.6	1.6±0.6	3.7±0.4	4.3±0.9
C4	44±6.6	>100	25±4.9	24±8.8	36±6.6	78±17
C5	2.1±0.4	3.6±1.0	1.7±0.2	0.52±0.1	2.9±0.2	2.8±0.5

Los errores se expresan como la desviación estándar.

Basados en los resultados obtenidos de los estudios *in vitro*, se llevó a cabo la evaluación *in silico* del perfil farmacodinámico, farmacocinético y toxicológico de dichas moléculas; así como de los compuestos de tipo esteroidal propuestos en este trabajo de tesis. Adicionalmente, se realizaron estudios de acoplamiento molecular para predecir su posible modo de unión y afinidad sobre TOP IIB. Cabe mencionar, que este tipo de estudios *in silico* permiten mejorar sistemáticamente las propiedades de las moléculas en etapas tempranas de su desarrollo, lo cual amplía la probabilidad de éxito de estas, motivo por el cual este método tiene un rol muy importante en el diseño racional de fármacos.



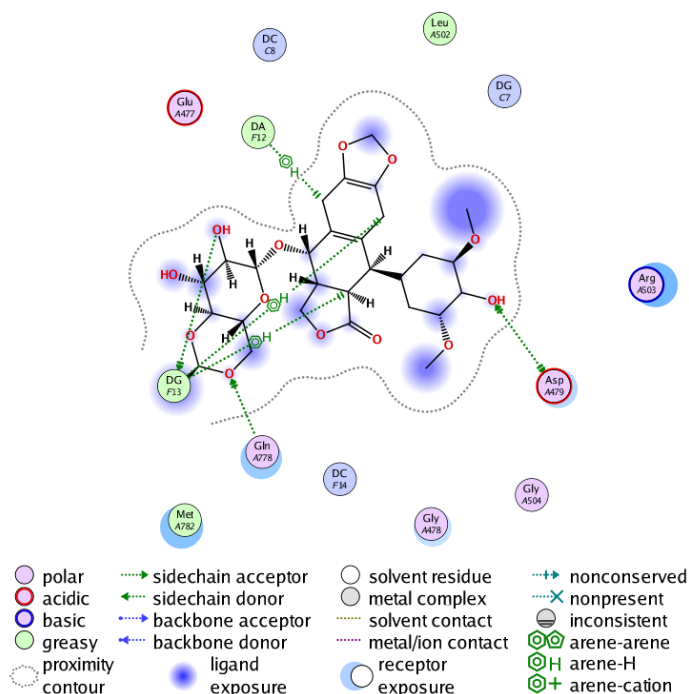
**Esquema 11.** Derivados de estrona sustituidos con heterociclos nitrogenados sobre C-17.

Por otro lado, se llevaron a cabo estudios de acoplamiento molecular de estos compuestos sobre la Topoisomerasa II, (código PDB.3QX3).

### Validación del acoplamiento molecular con TOPIIB

La validación es un proceso previo que se lleva a cabo con el fin de asegurar que la predicción del modo de unión del ligando cristalográfico con el blanco farmacológico se lleve a cabo con éxito, este arrojo un

puntaje de -7.2 kcal/mol y un RMSD= 0.9094 Å, (el valor de RMSD tiene que ser menor a 2 Å, para que el modelo sea válido).



**Figura 14.** Modelo de validación del ligando cristalográfico en el sitio activo de TOPIIB

En la figura 14 se observa que se conservan las interacciones con los ácidos nucleicos, desoxiadenilato (DA), desoxiguanilato (DG), desoxicitidilato (DC) y desoxitimidilato (DT), del sitio de unión de la proteína. Los sitios de unión del ADN son las interacciones más importantes debido a que las topoisomerasas de tipo II (Top2) son un grupo de enzimas implicadas en el proceso de transcripción del ADN, muchos fármacos anticancerosos y antimicrobianos clínicamente activos actúan inhibiendo este proceso afectando así la proliferación celular, la reducción de afinidad de la enzima por el ADN, hace probable que se produzcan menos complejos de escisión y, por lo tanto, comprometan la acción del fármaco [98].

Por otro lado, el ligando etopósido interactúa con los residuos de aminoácidos, Arginina 503, Leucina 502, Glutamina 778, Metionina 782, Glicina 478 y ácido aspártico 479 [99], por lo que la interacción de las moléculas esteroideas elegidas con estos restos pudiese aumentar la probabilidad de interacción con el sitio de inhibición de la enzima.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C1

El compuesto **C1** presenta interacciones de tipo aceptor por puente de hidrogeno con el nucleótido DG C10 y con DG B13 interacción de tipo aceptor por puente de sulfuro como se puede observar en la figura 15 con un puntaje de -5.95 kcal/mol.

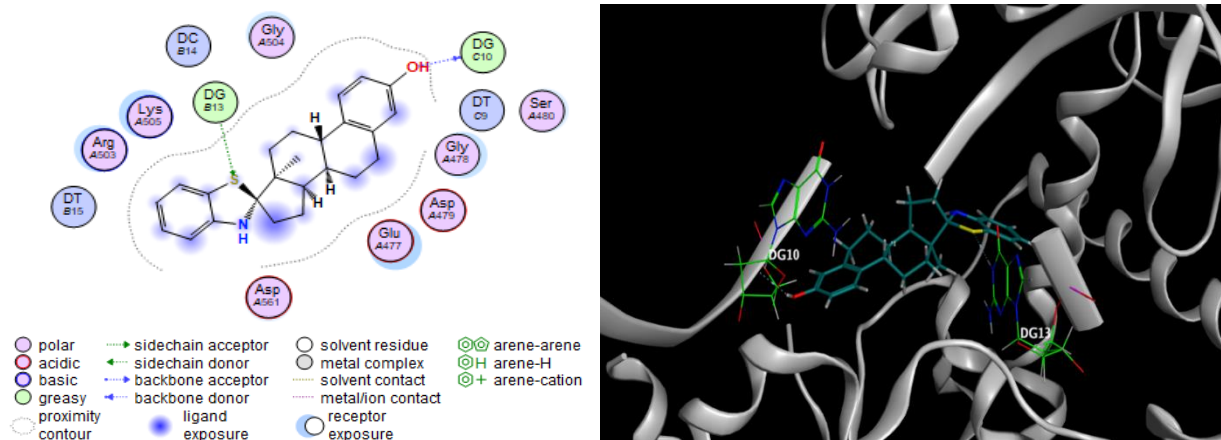


Figura 15. Diagrama de interacción 2D y 3D de C1 con el sitio activo de TOPIIB.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C2

Como se observa en la figura 16, el compuesto **C2** presenta interacciones de donador por puente de hidrogeno con el nucleótido DT B15, DT C9, de tipo aceptor por puente de sulfuro con DG B13 e interacción de tipo  $\pi$ - $\pi$  con DG B13 la pose elegida arroja un puntaje de -6.96 kcal/mol.

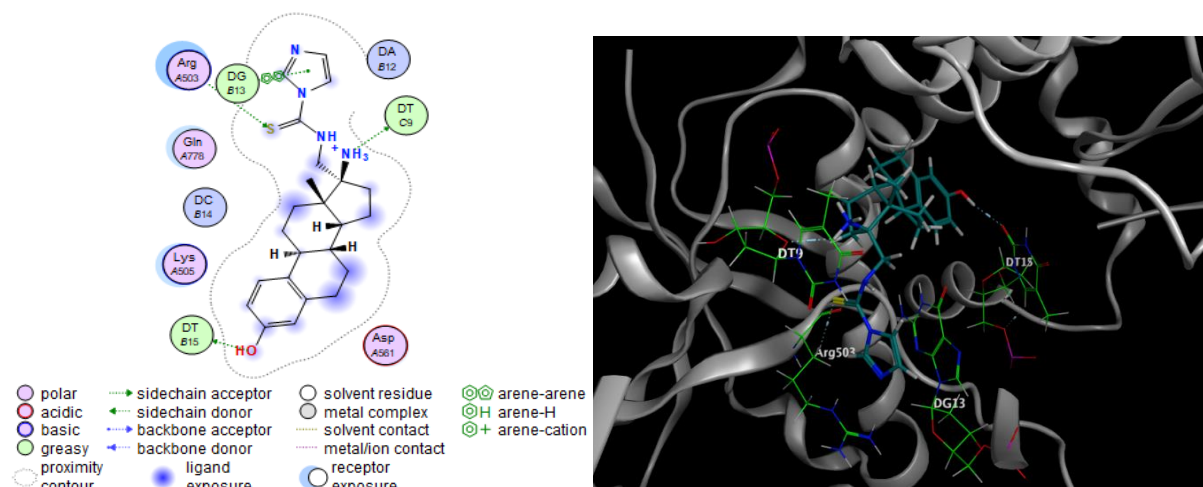


Figura 16. Diagrama de interacción 2D y 3D de C2 con el sitio activo de TOPIIB.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C3

Como se puede ver en la figura 17 para el compuesto **C3** se predijeron interacciones de donador por puente de hidrogeno con el residuo de aminoácido Histidina (His) 775, de tipo  $\pi$ -hidrogeno con DT C9 y  $\pi$ - $\pi$  con DA B12 con un puntaje de -6.4397 kcal/mol.

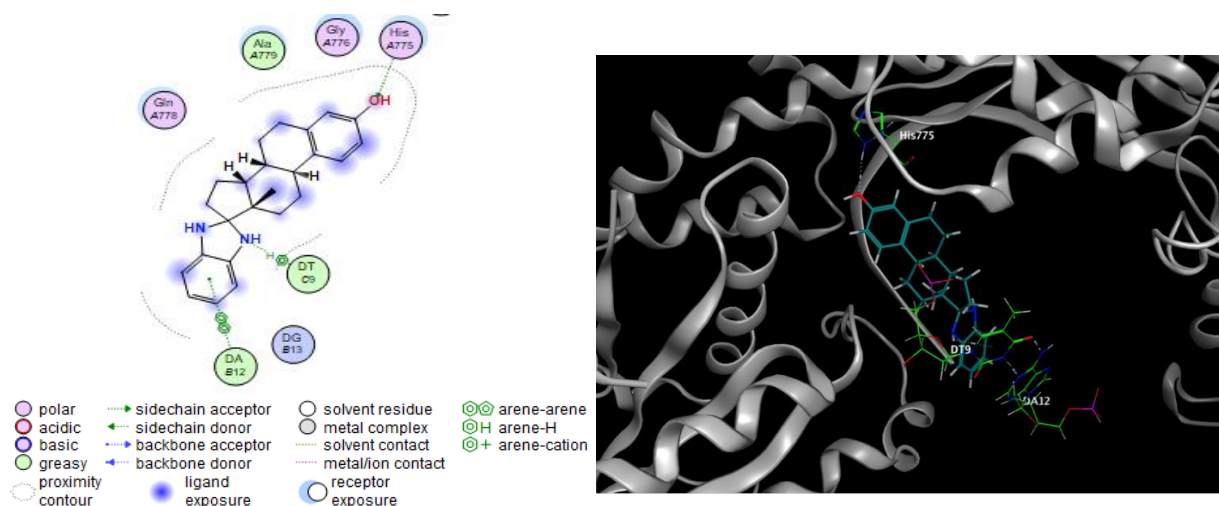


Figura 17 Diagrama de interacción 2D y 3D de C3 con el sitio activo de TOPIIB.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C4

Como se puede ver en la figura 18 para la molécula **C4** esta presenta interacciones de receptor por puente de hidrogeno con el resto de aminoácido Arginina (Arg) 729 y de tipo  $\pi$ -hidrogeno con DG B13 con un puntaje de -6.21 kcal/mol.

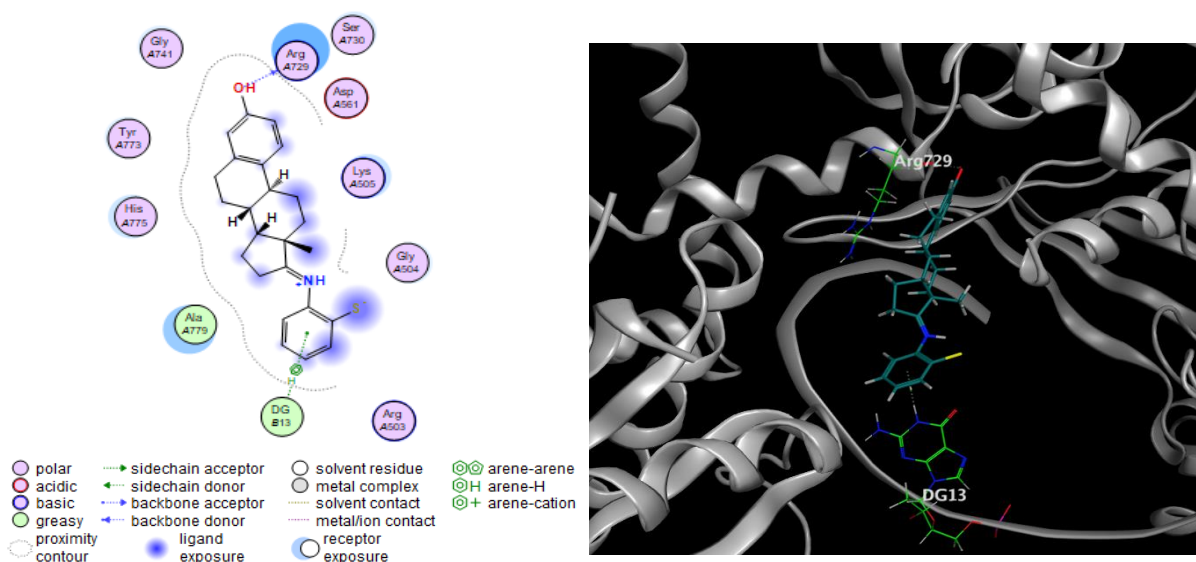


Figura 18. Diagrama de interacción 2D y 3D de C4 con el sitio activo de TOPIIB.



## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C5

La estructura **C5** presenta interacción con el resto de aminoácido Ácido aspártico (Asp) 479 de tipo aceptor por puente de hidrogeno y de tipo  $\pi$ -H con DT C9 con un puntaje de -5.80 kcal/mol.

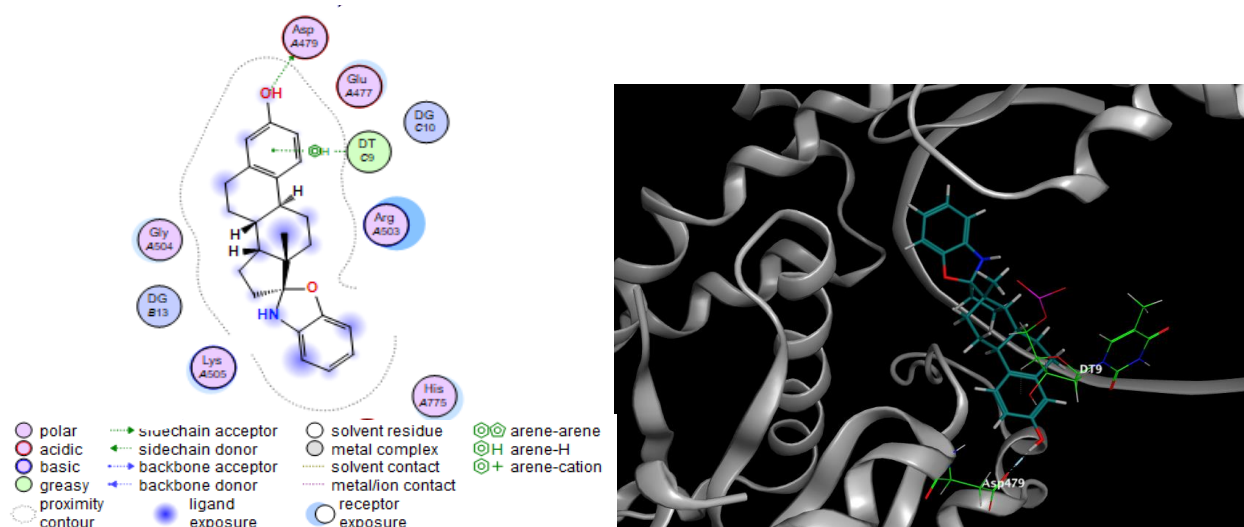


Figura 19. Diagrama de interacción 2D y 3D de C5 con el sitio activo de TOPIIB.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C6

En la figura 20 se pueden observar las interacciones mostradas por la molécula **C6** con el resto de aminoácido Treonina (Thr) 783 como aceptor por puente de hidrogeno, con los nucleótidos CD B14, DT B15 como aceptor por puente de hidrogeno, interacción donadora por puente de hidrogeno con DG B13 así como  $\pi$ -H con Alanina (Ala) 779 la pose elegida arrojo un puntaje de -6.50 kcal/mol.

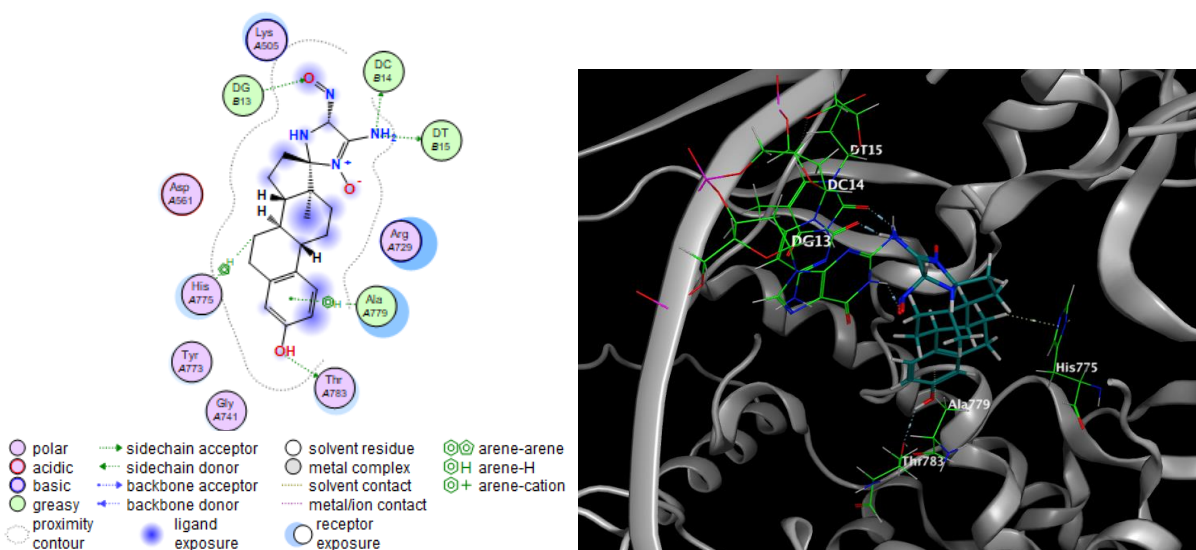


Figura 20. Diagrama de interacción 2D y 3D de C6 con el sitio activo de TOPIIB.

## Modelo de acoplamiento molecular de TOPIIB con C7

Como se observa en la figura 21 el compuesto C7 mostro interacción de tipo  $\pi$ - $\pi$  con el nucleótido DG B13 y la pose elegida presenta un puntaje de -6.94 kcal/mol.

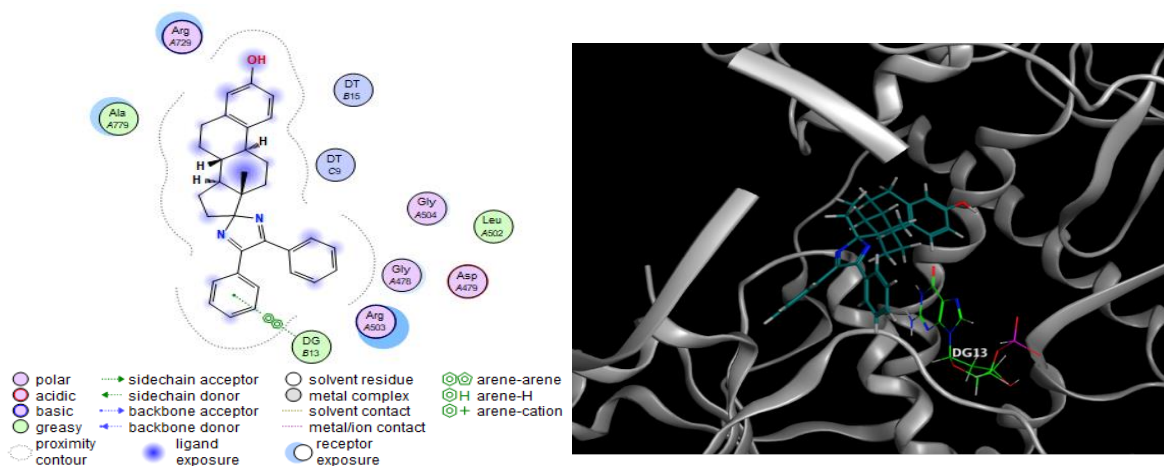


Figura 21. Diagrama de interacción 2D y 3D de C7 con el sitio activo de TOPIIB.

## Evaluación *in silico* de propiedades

Para llevar a cabo la evaluación *in silico*, de las propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas y toxicológicas de los compuestos C1-C7, se hizo uso de los servidores en línea Epigenetic target Profiler [100], AdmetSAR [101, 102], CLC-Pred [103] y PASS online [104]. Los resultados obtenidos se muestran a continuación en forma de tablas para cada una de las estructuras propuestas C1-C7.

En la tabla 5 se muestran los resultados de las propiedades farmacocinéticas ADMET a través del servidor admetSAR. Para este proyecto se calcularon los siguientes parámetros: absorción intestinal humana, permeabilidad sobre células Caco-2, probabilidad de sustrato de la glicoproteína P, sustrato de los CYP 450 3A4, toxicidad de Ames (genototoxicidad) y carcinogénesis. Dichos parámetros son calculados por la comparación de la molécula de interés con otras que se encuentran en una base de datos con resultados experimentales

**Tabla 5.** Predicción de propiedades ADMET con el programa AdmetSAR

Modelo	Probabilidad						
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
<b>Absorción</b>							
Absorción en intestino humano	1.000	0.987	1.000	0.989	1.000	0.929	1.000
Permeabilidad Caco-2	0.529	0.659	0.659	0.538	0.639	0.688	0.715
No sustrato de glicoproteína P	0.583	0.737	0.737	0.525	0.505	0.776	0.901
<b>Metabolismo</b>							
CYP450 3A4 no sustrato	0.750	0.695	0.695	0.691	0.739	0.671	0.729
<b>Toxicidad</b>							
No tóxico AMES	0.830	0.800	0.800	0.761	0.860	0.590	0.870
No carcinogénico	0.820	0.830	0.850	0.661	0.830	0.830	0.840

Los resultados obtenidos de los compuestos C1-C7 muestran una alta probabilidad de absorción intestinal con un valor de entre 0.929-1.00. Por otra parte la permeabilidad sobre células Caco-2 se utiliza principalmente como modelo de la barrera epitelial intestinal, estas son una línea de células inmortalizadas de adenocarcinoma colorrectal humano, respecto a este parámetro se encontró una probabilidad media entre 0.529-0.715. Asimismo, se predijeron probabilidades de medias a altas 0.505-0.901 de que los compuestos no sean sustratos de la glicoproteína P, este parámetro está asociado a multirresistencia a fármacos, ya que algunas células tumorales expresan gran cantidad de P-gp (proteína de eflujo). De manera adicional se calculó la probabilidad de no ser sustrato del CYP450 3A4 que es la isoforma más abundante en el cuerpo humano, ya que el citocromo P450 presenta interacciones adversas en fármacos, debido a los cambios en la actividad de la enzima CYP este puede afectar el metabolismo y el aclaramiento de diversos fármacos por ello se incluye el modelo CYP450 3A4 no sustrato en la parte de metabolismo donde se obtuvieron valores de probabilidad de 0.695-0.750 siendo C4 el de más baja probabilidad.

Igualmente se incorporaron algunos parámetros de toxicidad con una probabilidad discreta de presentar toxicidad entre ellos se encuentra la toxicidad AMES, este test es un ensayo biológico para evaluar el potencial genotóxico de compuestos químicos puesto que el cáncer está vinculado a menudo con el daño del ADN, la prueba también sirve como un ensayo rápido para estimar el potencial cancerígeno de un compuesto.

En la tabla 6 se resumen los resultados de la actividad biológica de los compuestos C1-C7 ensayados en el servidor en línea PASS, [104] se muestran las actividades relacionadas a cáncer, así como a inhibición de isomerasas que actúan sobre la topología del ADN. Se presenta la probabilidad de actividad como P.a y la probabilidad de inactividad como P.i con ello se busca predecir la probable bioactividad que tendrán los compuestos como agentes anticancerígenos. En donde se observó que todos los compuestos ensayados presentan una probabilidad similar de ser activos en los blancos seleccionados.

Podemos destacar que los compuestos C1-C7 presentan una probabilidad discreta de ser inhibidores de ARN polimerasa lo cual podría tener una implicación en la acción antitumoral de candidatos a fármacos, además de presentar una probabilidad discreta de ser probables antineoplásicos de cáncer tiroideo. Como se menciona anteriormente las probabilidades son bastante discretas, esto no implica que los compuestas no pudieran presentar la actividad sino más bien que en la base de datos de PASS no se encuentran moléculas estructuralmente similares con las actividades buscadas, por ello es necesario corroborar mediante ensayos biológicos.

**Tabla 6. Predicción de la actividad biológica con el programa PASS**

Modelo	P.a	P.i	P.a	P.i	P.a	P.i	P.a	P.i	P.a	P.i	P.a	P.i	P.a	P.i
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7							
Inhibidor de la ARN polimerasa dirigido por ARN	0.363	0.084	0.237	0.231	0.441	0.028	0.310	0.138	0.394	0.058	0.381	0.069	0.426	0.036
Tratamiento de trastornos asociados a cáncer	0.282	0.123	-	-	0.278	0.047	-	-	0.250	0.172	-	-	0.308	0.086
Tratamiento del cáncer de próstata	0.135	0.131	-	-	-	-	0.134	0.133	0.159	0.107	-	-	0.323	0.036
Anticancerígeno	-	-	0.249	0.186	0.267	0.074	-	-	0.203	0.116	-	-	0.287	0.064
Antineoplásico (cáncer de cerebro)	-	-	-	-	0.242	0.064	-	-	-	-	-	-	0.248	0.058
Antineoplásico (cáncer de mama)	0.176	0.111	-	-	0.212	0.088	0.168	0.118	0.230	0.080	-	-	0.254	0.070
Antineoplásico (cáncer de pulmón)	-	-	-	-	0.127	0.126	-	-	0.132	0.119	-	-	0.176	0.082
Antineoplásico (cáncer tiroideo)	0.202	0.030	0.160	0.098	0.209	0.025	0.177	0.059	0.197	0.034	0.167	0.079	0.211	0.024

Por último, se presenta la tabla 7 que contiene las predicciones *in silico* del efecto citotóxico de compuestos químicos en líneas celulares no transformadas y cancerosas para lo cual se hizo uso de CLC-Pred (Cell Line Cytotoxicity Predictor) el cual es un servicio web que proporciona una predicción de la citotoxicidad de un compuesto químico para evaluar la relevancia de la inclusión de la sustancia en la detección experimental.

De los resultados obtenidos para las 7 estructuras planteadas C2, C4, C5 y C6 no presentan probabilidad de poseer un efecto citotóxico esto se traduce en que no podrían impedir que las células cancerosas se dividan y crezcan, y pueden disminuir el tamaño de los tumores como futuros fármacos según lo obtenido mediante CLCL-Pred, en cambio C1, C3 Y C7 podrían poseer un posible efecto sobre líneas celulares de carcinoma de pecho, carcinoma de pulmón y glioblastoma con una probabilidad de ser activos (p.a.) intermedia de entre 0.523-0.557.

**Tabla 7. CLCL-Pred predicción del efecto citotóxico de los compuestos en líneas celulares de cáncer.**

Compuesto	Tejido	Línea celular	P.a	P.i
C1	Pecho	Carcinoma de pecho	0.523	0.047
C2	-	-	-	-
C3	Pulmón	Carcinoma de pulmón de células no pequeñas	0.538	0.007
C4	-	-	-	-
C5	-	-	-	-
C6	-	-	-	-
C7	Cerebro	Glioblastoma	0.529	0.010
	Pulmón	Carcinoma de Pulmón	0.557	0.048

---

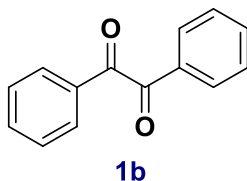
## DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### Síntesis de compuestos de tipo esteroidal

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-IR 380 ( $\bar{\nu}_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup>). Los espectros de RMN se registraron en un instrumento Bruker Ascend de 500 MHz. Los desplazamientos químicos se reportan en ppm ( $\delta$ ) y los espectros fueron referenciados de acuerdo con los valores de los picos residuales de cada disolvente: CDCl<sub>3</sub> (7.26 y 77.1 ppm), CD<sub>3</sub>OD (3.31 y 49.0 ppm) y DMSO (2.54 y 40.4 ppm) para RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C respectivamente. Las constantes de acoplamiento (*J*) se expresan en hercios (Hz). La cromatografía en columna se realizó usando gel de sílice Merck 60 (malla 230-400). La CCF se realizó usando placas comerciales de gel de sílice 60 F254. Para su revelado se empleó luz UV de onda corta (254 nm, utilizando una lámpara modelo UVG-54, y su carbonización con 5% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ac), 10% de vainillina en EtOH que contenía 1% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o con 0,1% de ninhidrina en EtOH.

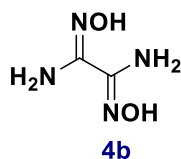
### Síntesis de 1,2-difeniletanodiona 1b



En un matraz de fondo redondo se colocaron 0.5 g de difenil acetileno (2.80 mmol, 1 eq), en 5 ml de DMSO, este se puso bajo agitación hasta observar disuelta toda la materia prima, posteriormente se agregaron 1.07 g de I<sub>2</sub> (4.2 mmol, 1.5 eq), la mezcla permaneció en agitación y a 125 °C por un tiempo aproximado de 5 horas. Pasado el tiempo de reacción, la mezcla se purificó a través de un proceso de percolación empleando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil la mezcla de disolventes Hex:AcOEt 9:1, el producto obtenido se lavó con una solución de salmuera: AcOEt (2X20 ml) para eliminar los restos de DMSO, finalmente el producto se obtuvo como un sólido color amarillo el cual se dejó secar en bomba de vacío, obteniendo un rendimiento del 86%. **IR (cm<sup>-1</sup>):** 1655.75 (CO), 1576, 1488.60 (CH aromático). **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.64 (t, 4H, *J*=7.82 Hz, H-aromáticos), 7.81 (t, 2H, *J*=7.13 Hz, H-aromáticos), 7.94 (d, 4H, *J*= 7 Hz, H-aromáticos). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 193.58 (CO), 133.89, 131.93, 128.86, 128.01 (C-aromáticos).

## Síntesis de Diaminogloxima 4b

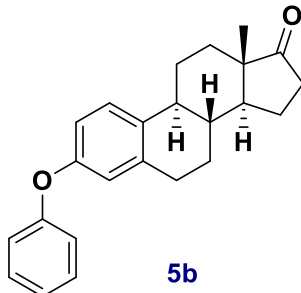
En un matraz de dos bocas se colocó  $\text{NH}_2\text{OH}$  (3.33 ml, 10.9 mmol, 1 eq.) a  $95\text{ }^\circ\text{C}$  se agito durante 30 min, pasado este tiempo se agregaron 0.5 ml (109 mmol, 10 eq) de glioxal, la reacción



prosiguio a  $95\text{ }^\circ\text{C}$  con reflujo durante 72 h pasado este tiempo la mezcla se dejo enfriar hasta temperatura ambiente y se dejó bajo agitación hasta observar la formación de un sólido blanco aproximadamente 72 h más, el sólido obtenido se filtró mediante un embudo Buchner con una mínima cantidad de agua fría el sólido obtenido se secó en una bomba de vacío consiguiendo un polvo blanco con un rendimiento del 70%. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3447.29 y 3345.53 (NH).

## Síntesis de 3-benciloxiestra-1,3,5(10)-trieno 5b.

A una solución de estrona (0.6 g, 2.22 mmol, 1 eq) en 15 ml de  $\text{CH}_3\text{CN}$ , se añadió  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0.46 g, 3.33 mmol, 1.5 eq), la solución se mantuvo a reflujo hasta observar una mezcla homogénea después de

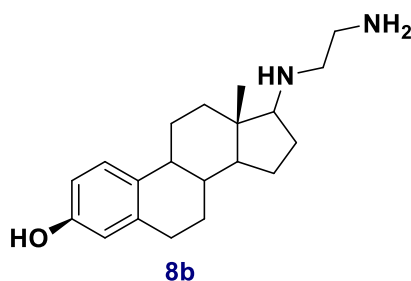


ello se adiciono por goteo cloruro de bencilo (0.3 ml, 2.4 eq). La mezcla de reacción se mantuvo a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  por aproximadamente 8 h, una vez concluida se lavó con una solución de salmuera: AcOEt (3X40ml) la fase orgánica se secó mediante  $\text{MgSO}_4$  y se evaporo el disolvente con ayuda del rotavapor dando como resultado un sólido blanco el cual se purifico con cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de Hex: AcOEt 8:2, el producto final se colocó en bomba de vacío hasta obtener un polvo de color blanco con un rendimiento del 85%. IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) 1224.24, 1160.15 (C-C), 1603.68, 1497.04 (C=C), 1732.83 (CO), 2923.65 (CH). RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.38 ppm (m, 4H,  $J_{\text{orto}}=7.4$  Hz, H-aromáticos), 7.30 ppm (m, 1H,  $J_{\text{orto}}=7.3$  Hz, H-aromáticos), 7.20 ppm (m, 1H,  $J_{\text{orto}}=7$  Hz, H-aromáticos), 6.77 ppm (m, 2H,  $J_{\text{orto}}=6$  Hz, H-aromáticos), 1.37 a 2.89 ppm (m, 19H, esqueleto esteroidal), 0.89 ppm (s, 1H,  $\text{CH}_3$ ). RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 156.9 ppm (CO), 137.9 ppm (C-2 aromático), 137.3 ppm (C-

3 aromático), 132.4 ppm (C-5 aromático), 128.6 ppm (C-10 aromático), 127.9 ppm (C-6', C-4' aromático), 127.5 ppm (C-1 aromático), 126.4 ppm (C-5' aromático), 114.9 ppm (C-1', C-3' aromático), 112.4 ppm (C-2 aromático), 50.4 ppm (C-14), 48.0 ppm (C-13), 44.0 ppm (C-9), 38.4 ppm (C-8), 35.9 ppm (C-16), 31.6 ppm (C-12), 29.7 ppm (C-6), 26.6 ppm (C-7), 25.9 ppm (C-11), 21.65 ppm (C-15), 13.92 ppm (C-CH<sub>3</sub>).

### Síntesis de 17-((2-aminoetil)amino)-estrona 8b.

En un matraz de dos bocas se colocaron 0.05 g de estrona (0.185 mmol, 1eq) en 5 ml de CH<sub>3</sub>CN



la solución se dejó en agitación durante aproximadamente 15 minutos hasta volverse homogénea, pasado este tiempo se adiciono una cantidad catalítica de BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> por goteo, se dejó reaccionar por unos minutos para después agregar 0.2 ml (2.77 mmol, 1.5 eq) de etilendiamina la mezcla de reacción prosiguió por 48 h a una temperatura de 60 °C, posteriormente el crudo se lavó con una solución de salmuera: AcOEt (3X20 ml), el sólido obtenido se purifico mediante columna cromatográfica Hex:AcOEt 70:30, recuperando como producto final un sólido blanco con un rendimiento del 18%. **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) 1.18-2.46 (m, 14H, C-H esteroidal), 2.54 (m, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.57 (m, 1H, NH), 2.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub> alifáticos), 2.81 (m, 1H, C17) 2.85 (m, 2H, CH<sub>2</sub> alifáticos), 6.52 (m, 1H, C4-aromatico), 6.57 (dd, 1H, C2-aromatico), 7.13 (dd, 1H, C1-aromatico). **RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12.9 (CH<sub>3</sub>), 20.6 (C-15), 24.9 (C-11), 25.5 (C-7), 25.9 (C-16), 28.5 (C-6), 30.6 (C-12), 34.9 (C-8), 37.3 (C-20), 42.9 (C-9), 47.0 (C-13), 49.4 (C-19), 52.4 (C-14), 59.4 (C-17), 111.8 (C-2), 114.3 (C-4), 125.5 (C-1), 131.0(C-10), 137.0 (C-5), 152.5 (C-3)

### Acoplamiento molecular.

Los ligandos elegidos (compuestos esteroidales C1-C7) fueron preparados y minimizados a través de ChemDraw v.18. Posteriormente las proteínas se prepararon mediante MOE 2020.01, se eligió trabajar sobre la cadena B de la proteína por lo que la cadena A se eliminó, además de los residuos de Mg y solo se conservó uno de los dos ligandos, para la minimización se utilizó el modelo Amber10: EHT, para este estudio se obtuvieron 50 poses de las cual se eligió la menor energía Para el acoplamiento



molecular de nuevos ligandos se debe asegurar que la predicción de su modo de unión con el blanco farmacológico se lleve a cabo con éxito. Por tal motivo, se realizó la validación de su acoplamiento. Tanto para el acoplamiento molecular del ligando de interés, así como el proceso de validación, se hizo uso de MOE 2020.01.

---

## CONCLUSIONES

---

### Síntesis de compuestos de tipo esteroidal

A partir de los resultados presentados en este trabajo de tesis se obtienen las siguientes conclusiones:

- I. Se efectuaron diversos ensayos sintéticos con el fin de obtener los compuestos de tipo esteroidal partiendo de la materia prima estrona agregando un núcleo espiro de tipo imidazol sobre el C-17, con lo que se logró tener como productos los compuestos **1b**, **4b**, **5b**, **8b**.
- II. Los compuestos obtenidos fueron caracterizados confirmando los productos obtenidos mediante espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, e IR.

### Acoplamiento molecular.

Se realizaron los modelos de acoplamiento molecular (acoplamiento) mediante el programa MOE, este es útil en la predicción de la orientación del enlace de las estructuras de tipo esteroidal con distintos núcleos heterocíclicos nitrogenados sobre C-17 de la estrona (C1-C7), sobre la Topoisomerasa IIB la cual se podría ser un blanco de candidatos a fármacos anticancerígenos, con ello se busca predecir la afinidad y la actividad de los compuestos planteados y de esta manera poder tener un diseño racional de fármacos los resultados se presentan mediante diagramas de interacción 2D y 3D en las figuras de la 3 a la 8. Por otra parte se efectuaron predicciones de tipo *in silico* de propiedades ADMET, efectos citotóxicos y actividad biológica mediante predictores en línea las determinaciones se encuentran contenidas en las tablas 1-3.

A partir de los diagramas de interacción obtenidos y las tablas mencionadas se presentan las siguientes conclusiones:

- I. Los resultados de acoplamiento molecular exhiben interacción con nucleótidos del fragmento de DNA presente en la enzima TOPIIB, y ya que esta glicoproteína se encuentra implicada en el proceso de transcripción celular y se observa acoplamiento con nucleótidos tiene posibilidades de ser una buena diana terapéutica, que al ser inhibida podría manifestar actividad antiproliferaria frente a células cancerígenas, siendo los compuestos C1, C2 y C6 los que muestran una mejor interacción con nucleótidos.

- II. Las predicciones de actividad biológica predichas mediante PASS revelaron posibles actividades relacionadas a blancos de cáncer, las cuales correlacionan con los planteados en este proyecto observando una probabilidad de intermedia a discreta, además de predecir algunas propiedades farmacocinéticas relevantes para identificar los compuestos como agentes anticancerígenos con una probabilidad moderada a discretas presentadas en la tabla 1.
- III. Las estructuras C1, C3 y C7 mostraron citotoxicidad *in silico* sobre células de tipo, MCF7 (Carcinoma de pecho), HOP-18 (Carcinoma de pulmón de células no pequeñas) , SF-539 (Glioblastoma) y A549 (Carcinoma de pulmón) respectivamente.
- IV. Se concluye que la presencia de grupos nitro y especies iónicas tienen posibilidad de mejorar los resultados de acoplamiento molecular.
- V. Finalmente basados en los estudios *in silico* realizados concluimos que los compuestos de tipo esteroidal con diferentes núcleos nitrogenados pudieran tener potencial como agentes antiproliferativos frente a células de tumores cancerosos.

---

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Scherbakov, A. M; Komkov, A. V; Komendantova, A. S; Yastrebova, M. A; Andreeva, O. E; Shirinian, V. Z; Volkova, Y. A; Steroidal Pyrimidines and Dihydrotriazines as Novel Classes of Anticancer Agents against Hormone-Dependent Breast Cancer Cells. *Front. Pharmacol.* **2018**, *8*.
3. Carlini, P; Frassoldati, A; De Marco, S; Casali, A; Ruggeri, E. M; Nardi, Cognetti, F; Formestane, a steroidal aromatase inhibitor after failure of non-steroidal aromatase inhibitors (anastrozole and letrozole): Is a clinical benefit still achievable?. *Annals of Oncology* **2001**, *12(11)*, 1539–1543.
4. Jamal, M. S; Parveen, S; Beg, M. A; Suhail, M; Chaudhary, A; Damanhour, G. A; Rehan, M; Anticancer Compound Plumbagin and Its Molecular Targets: A Structural Insight into the Inhibitory Mechanisms Using Computational Approaches. *PLOS ONE* **2014**, *9(2)*.
5. Purohit, A; Foster, P. A. Steroid sulfatase inhibitors for estrogen- and androgen-dependent cancers. *J Endocrinol.* **2011**, *212(2)*, 99–110.
6. Nathan, M. R; Schmid, P; A Review of Fulvestrant in Breast Cancer. *Oncology and Therapy* **2017**, *5(1)*, 17–29.
7. Alzahrani, W.M; Alghamdi, S. A; Zughabi, T. A; Rehan, M; Exploring the Natural Compounds in Flavonoids for Their Potential Inhibition of Cancer Therapeutic Target MEK1 Using Computational Methods. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 95.
8. Chavda, V. P; Ertas, Y. N; Walhekar, V; Modh, D; Doshi, A; Shah, N; Anand, K; Chhabria, M; Advanced Computational Methodologies Used in the Discovery of New Natural Anticancer Compounds. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*.
9. Tantawy, M. A; Nafie, M. S; Elmegeed, G. A.; Ali, I. A; Auspicious role of the steroidal heterocyclic derivatives as a platform for anti-cancer drugs. *Bioorg Chem.* **2017**, *73*, 128–146.
10. Salvador, J; Carvalho, J; Neves, M; Silvestre, S; Leitão, A; Silva, M; Sae-Melo, M; Anticancer steroids: linking natural and semi-synthetic compounds. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30(2)*, 324–374.
11. Shi, X; Yu, B; Wang, W; Qi, P; Tang, K; Huang, X; Liu, H; Structurally novel steroidal spirooxindole by 241 potently inhibits tumor growth mainly through ROS-mediated mechanisms, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 31-60.
12. Gaba, M; Mohan, C; Development of drugs based on imidazole and benzimidazole bioactive heterocycles: recent advances and future directions. *Med. Chem. Res.* **2015**, *25(2)*, 173–210.
13. Kumar A; Singh AK; Singh H; Vijayan V; Kumar D; Naik J; Thareja S; Yadav JP; Pathak P; Grishina M, Verma A; Khalilullah H; Jaremko M; Emwas A-H; Kumar P; Nitrogen Containing Heterocycles as Anticancer Agents: A Medicinal Chemistry Perspective. *Pharmaceuticals.* **2023**; *16(2)*:299.
14. Abdelhalim, M. M; Kamel, E. M; Rabie, S. T; Mohamed, N. R; Synthesis and biological evaluation of some nitrogen containing steroidal heterocycles. *Steroids* **2011**, *76(1-2)*, 78–84.

15. Romero López, A; Montiel-Smith S; Meza-Reyes, S; Merino-Montiel, P; Vega-Báez, J, L; Synthesis of steroidal derivatives containing substituted, fused and spiro pyrazolines. *Steroids* **2014**, *87*, 86-92.
16. Romero-Hernández, L, L; Merino- Montiel, P; Montiel-Smith, S; Meza-Reyes, S; Vega-Baez, J, L; Abasolo I; Schwartz, S; López, O; Fernández-Bolaños J, G; Diosgenin-based thio(seleno)ureas and triazolyl glycoconjugates as hybrid drugs. Antioxidant and antiproliferative profile. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *99*, 67-81.
17. Arenas-González, A; Méndez-Delgado, L, A; Merino-Montiel, P; Padrón, J, M; Montiel-Smith, S; Vega-Báez, J, L; Meza- Reyes, S; Synthesis of monomeric and dimeric steroids containing [1,2,4] triazolo [1,5-a] pyrimidines. *Steroids* **2016**, *116C*, 13-19.
18. Martínez-Pascual, R; Meza-Reyes, S; Vega-Baéz, J, L; Merino-Montiel, P; Padrón, J, M; Mendoza, A; Montiel-Smith, S; Novel synthesis of steroidal oximes and lactams and their biological evaluation as antiproliferative agents. *Steroids* **2017**, *122*, 24–33.
19. Fuentes-Aguilar, A; Romero-Hernández, L.L.; Arenas-González, A; Merino-Montiel P; Montiel-Smith, S; Meza-Reyes, S; Vega-Báez, J, L; Plata, G, B; Padrón, López, J, M; Fernández-Bolaños O; New selenosteroids as antiproliferative agents. *Org Biomol Chem.* **2017**, *15(23)*, pp. 5041-5054.
20. Romero-Hernández, L, L; Merino-Montiel, P; Meza-Reyes, S; Vega-Báez, J, L; López, O; Padrón, J, M; Montiel-Smith, S; Synthesis of unprecedented steroidal spiro heterocycles as potential antiproliferative drugs. *Eur J Med Chem.* **2018**, *143*, 21-32.
21. Cortés-Percino, A; Vega-Báez, J, L; Romero-López, A; Puerta, A; Merino-Montiel, P; Meza-Reyes, S; Padrón, J, M; Montiel-Smith, S; Synthesis and Evaluation of Pyrimidine Steroids as Antiproliferative Agents. *Molecules* **2019**, *24*, 3676
22. Ahuja-Casarín, A.I. (2021). Síntesis y evaluación biológica de nuevos azaderivados esteroidales y sacarídicos [Tesis doctoral, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. Repositorio Institucional de Acceso Abierto. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/12722>
23. Jayashree, B, S; Nigam, S; Pai, A; Patel, H, K; Reddy, N, D; Nitesh, K; Rao, C, M; Targets in anticancer research. *J Exp Biol.* **2015**, *Vol. 53*, pp. 489-507.
24. Jadhav, A. K; Karuppayil, S. M; Molecular acoplamiento studies on thirteen fluoroquinolines with human topoisomerase IIa and b. *In Silico Pharmacology* **2017**, *5(1)*.
25. Delgado, J. L; Hsieh, C.-M; Chan, N.-L; Hiasa, H; Topoisomerases as anticancer targets. *Biochem J.* **2018**, *475(2)*, 373–398.
26. Makin, H, L; Gower, D, B; Steroid Analysis. *Springer* **2010**, *2nd ed.*
27. Akhtar, J.; Khan, A.A.; Ali, Z.; Haider, R.; Yar, M.S; Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 143–189.

28. Iványi, Z; Szabó, N; Wölfling, J; Szécsi, M; Julesz, J; Schneider, G; Novel series of  $17\beta$ -pyrazolylandrosta-5,16-diene derivatives, and their inhibitory effect on  $17\alpha$ -hydroxylase/C17,20-lyase. *Steroids* **2012**, *77(11)*, 1152–1159.
29. Gupta, A; Sathish, K; Negi, A. S; Current status on development of steroids as anticancer agents. *J Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *137*, 242–270.
30. Minorics R; Zupko I; Steroidal Anticancer Agents: An Overview of Estradiol-related Compounds. Anticancer Agents. *Med Chem.* **2018**;18(5):652-666
31. El-Seedi, H.R.; Yosri, N.; El-Aarag, B.; Mahmoud, S.H.; Zayed, A.; Du, M.; Saeed, A.; Musharraf, S.G.; El-Garawani, I.M.; Habib, M.R.; Tahir, H.E.; Hegab, M.M.; Zou, X.; Guo, Z.; Efferth, T.; Khalifa, S.A.M. Chemistry and the Potential Antiviral, Anticancer, and Anti-Inflammatory Activities of Cardiotoxic Steroids Derived from Toads. *Molecules* **2022**, *27*, 6586
32. Gaba M; Singh S; Mohan C; Benzimidazole: an emerging scaffold for analgesic and anti-inflammatory agents. *Eur J Med Chem.* **2014**, *76*, 494–505
33. Heravi, M. M; Zadsirjan, V; Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview. *RSC Advances.* **2020**, *10(72)*, 44247–44311.
34. Mohi, E; Anwar M; Gwaad, E; Amina, A; Karam, E; Ashrey E; Kassab, M, K; Novel Pyridothienopyrimidine Derivatives: Design, Synthesis and Biological Evaluation as Antimicrobial and Anticancer Agents. *Molecules* **2022**, *27*, 803.
35. Aysha, G; Mudasir, N, P; Nashrah, S, K; Imran, A; Amir A; Synthesis and Anticancer Evaluation of Novel Indole Based. *ACS Omega.* **2022**, *7*, 42036–42043.
36. Panda, S; Pradhan, N; Chatterjee, S; Morla, S; Saha, A; Roy, A; Manna, D; 4,5-Disubstituted 1,2,3-triazoles: Effective Inhibition of Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 Enzyme Regulates T cell Activity and Mitigates Tumor Growth. *Scientific Reports* **2019**, *9(1)*.
37. Vitaku, E; Smith, D, T; Njardarson, J, T; Analysis of the Structural Diversity, Substitution Patterns, and Frequency of Nitrogen Heterocycles among U.S. FDA Approved Pharmaceuticals. *J Med Chem.* **2014**, *57(24)*, 10257–10274.
38. Martins, P; Jesus, J; Santos, S; Raposo, L; Roma-Rodrigues, C; Baptista, P; Fernandes, A; Heterocyclic Anticancer Compounds: Recent Advances and the Paradigm Shift towards the Use of Nanomedicine's Toolbox. *Molecules* **2015**, *20(9)*, 16852–16891.
39. El-Sayed, A, A; Ismail, M, F; Amr, A, E.-G; Naglah, A, M; Synthesis, Antiproliferative, and Antioxidant Evaluation of 2-Pentylquinazolin-4(3H)-one(thione) Derivatives with DFT Study. *Molecules* **2019**, *24(20)*, 3787.
40. Kerru, N; Gummidi, L; Maddila, S; Gangu, K, K; Jonnalagadda, S, B; A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications. *Molecules* **2020**, *25(8)*, 1909.

41. Özkay, Y; Işıklıdağ, İ; İncesu, Z; Akalın, G; Synthesis of 2-substituted-N-[4-(1-methyl-4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl) phenyl] acetamide derivatives and evaluation of their anticancer activity. *Eur J Med Chem.* **2010**, *45(8)*, 3320–3328.
42. Patel, R, V; Keum, Y, S; Park, S, W; Sketching the historical development of pyrimidones as the inhibitors of the HIV integrase. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 649–663.
43. Walsh, C, T; Nature loves nitrogen heterocycles. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56(23)*, 3075–3081.
44. Zhang, B.; Studer, A; Recent advances in the synthesis of nitrogen heterocycles via radical cascade reactions using isonitriles as radical acceptors. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3505–3521.
45. Chaudhari, K.; Surana, S.; Jain, P.; Patel, H, M; Mycobacterium tuberculosis (MTB) GyrB inhibitors: An attractive approach for developing novel drugs against TB. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 160–185.
46. Sameem, B; Saeedi, M; Mahdavi, M; Shafiee, A; A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer’s disease. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 332–345.
47. Akhtar, J; Khan, A, A; Ali, Z; Haider, R; Yar, M, S; Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 143–189.
48. Gráfico Nitrogen Heterocycles in Medicinal Chemistry. Available Online: <https://www.scopus.com/sources.uri> (consultado el 30 Junio 2022).
49. Gupta, A; Sathish Kumar, B; Negi, A, S; Current status on development of steroids as anticancer agents. *J Steroid Biochem Mol Biol.* **2013**, *137*, 242–270.
50. Hu, H; Rao, Z; Xu, J; Zhu, Q; Altenbach, H.-J; Chen, H; Hu, X; 16-Morpholino quaternary ammonium steroidal derivatives as neuromuscular blocking agents: Synthesis, biological evaluation and in silico probe of ligand–receptor interaction. *Eur J Med Chem.* **2012**, *56*, 332–347.
51. Huang, L.-H; Zheng, Y.-F; Lu, Y.-Z; Song, C.-J; Wang, Y.-G; Yu, B; Liu, H.-M; Synthesis and biological evaluation of novel steroidal[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidines. *Steroids* **2012**, *77(6)*, 710–715.
52. Yu, B; Shi, X.-J; Qi, P.-P; Yu, D.-Q; Liu, H.-M; Design, synthesis, and biological evaluation of novel steroidal spiro-oxindoles as potent antiproliferative agents. *J Steroid Biochem Mol Biol.* **2014**, *141*, 121–134.
53. Guo, H; Wu, H; Yang, J; Xiao, Y; Altenbach, H.-J; Qiu, G; Hu, X; Synthesis, characterization, and biological evaluation of some 16E-arylidene androstane derivatives as potential anticancer agents. *Steroids* **2011**, *76(7)*, 709–723.
54. Elattar, K. M; El-Mekabaty, A; Heterocyclic Steroids: Synthetic Routes and Biological Characteristics of Steroidal Fused Bicyclic Pyrimidines. *J Heterocycl Chem.* **2020**.
55. Hanson, J. R; Steroids: partial synthesis in medicinal chemistry. *Nat Prod Rep.* **2007** *24(6)*, 1342.
56. Brueggemeier, R, W; Li, P.-K; Fundamentals of Steroid Chemistry and Biochemistry. *Medicinal Chemistry and Drug Discovery* **2010**.
57. Mohareb, R. M; Abbas, N. S; Abdelaziz, M. A; Heterocyclic ring extension of androstenedione: Synthesis and cytotoxicity of fused pyran, pyrimidine and thiazole derivatives. *Steroids* **2014**, *86*, 45–55.

58. Tiefenbacher, K; Daxenbichler, G; The Role of Androgens in Normal and Malignant Breast Tissue. *Breast Care* **2008**, *3(5)*, 325–331.
59. Pasqualini, J. R; Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J Steroid Biochem Mol Biol.* **2005**, *97(5)*, 401–415.
60. Duncan, K. A; Estrogen Formation and Inactivation Following TBI: What we Know and Where we Could go. *Frontiers in Endocrinology* **2020**, *11*.
61. Zhao, F; Sun, X; Lu, W; Xu, L; Shi, J; Yang, S; Cao, F; Synthesis of novel, DNA binding heterocyclic dehydroabietylamine derivatives as potential antiproliferative and apoptosis-inducing agents. *Drug Delivery* **2020**, *27(1)*, 216–227.
62. Kang, F.-A; Allan, G; Guan, J; Ain, N; Linton, O; Tannenbaum, P; Sui, Z; Synthesis and identification of novel oxa-steroids as progesterone receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* **2007**, *17(4)*, 907–910.
63. Ma, B; Xiao, Z.-Y; Chen, Y.-J; Lei, M; Meng, Y.-H ; Guo, D.-A ; Hu, L.-H; Synthesis and structure–activity relationships study of cytotoxic bufalin 3-nitrogen-containing-ester derivatives. *Steroids* **2013**, *78(5)*, 508–512.
64. El-Kady, D. S; Abd Rabou, A. A; Tantawy, M. A; Abdel-Rahman; A. A.-H; Abdel-Megeed, A. A.-S; AbdElhalim, M. M; Elmegeed, G. A; Synthesis and Evaluation of Novel Cholestanoheterocyclic Steroids as Anticancer Agents. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2019**.
65. Stulov, S. V; Misharin, A. Y; Synthesis of steroids with nitrogen-containing substituents in ring D (review). *Chem Heterocycl Compd.* **2013**, *48(10)*, 1431.
66. Zavarzin, I. V; Chertkova, V. V; Levina, I. S; hernoburova, E. I; Steroids fused to heterocycles at positions 16, 17 of the D-ring. *Russ Chem Rev.* **2011**, *80(7)*, 661–682.
67. Tantawy, M. A; Nafie, M. S; Elmegeed, G. A.; Ali, I. A. I; Auspicious role of the steroidal heterocyclic derivatives as a platform for anti-cancer drugs. *Bioorganic Chemistry* **2017**, *73*, 128–146.
68. Yang, Y.-T; Du, S; Wang, S; Jia, X; Wang, X; Zhang, X; Synthesis of New Steroidal Quinolines with Antitumor Properties. *Steroids* **2019**, 108465.
69. El-Kady, D. S; Abd Rabou, A. A; Tantawy, M. A; Abdel-Rahman, A. A.-H; Abdel-Megeed, A. A.-S; AbdElhalim, M. M; Elmegeed, G. A; Synthesis and Evaluation of Novel Cholestanoheterocyclic Steroids as Anticancer Agents. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2019**.
70. Elmegeed, G. A; Yahya, S. M. M; Abd-Elhalim, M. M; Mohamed, M. S; Mohareb, R. M; Elsayed, G. H; Evaluation of heterocyclic steroids and curcumin derivatives as anti-breast cancer agents: Studying the effect on apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Steroids* **2016**, *115*, 80–89.
71. Singh, R; Panda, G; An overview of synthetic approaches for heterocyclic steroids. *Tetrahedron* **2013**, *69(14)*, 2853–2884.
72. Salvador, J. A. R; Carvalho, J. F. S; Neves, M. A. C; Silvestre, S. M; Leitão, A. J; Silva, M. M. C; Sá e Melo, M. L; Anticancer steroids: linking natural and semi-synthetic compounds. *Nat. Prod Rep* **2013.**, *30(2)*, 324–374.



73. X.-J. Shi, B; Yu, J. W; Wang, P.-P; Qi, K; Tang, X; Huang, H.-M; Liu; Structurally novel steroidal spirooxindole by 241 potently inhibits tumor growth mainly through ROS-mediated mechanisms, *Sci. Rep.* **2016**, *6* 31607.
74. Zhao, J.-W; Guo, J.-W; Huang, M.-J; You, Y.-Z., Wu; Z.-H; Liu, H.-M; Huang, L.-H; Design, synthesis, and biological evaluation of new steroidal  $\beta$ -triazoly enones as potent antiproliferative agents. *Steroids* **2019**, *150*, 108431.
75. Jakimov, D. S; Kojić, V. V; Aleksić, L. D; Bogdanović, G. M; Ajduković, J. J; Djurendić, E. A; Jovanović-Šanta, S. S; Androstane derivatives induce apoptotic death in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Bioorg Med Chem.* **2015**, *23*(22), 7189–7198.
76. Ma, X; Lv, X; Zhang, J; Exploiting polypharmacology for improving therapeutic outcome of kinase inhibitors (KIs): An update of recent medicinal chemistry efforts. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 449–463.
77. Kaur, R; Dahiya, L; Kumar, M; Fructose-1,6-bisphosphatase inhibitors: A new valid approach for management of type 2 diabetes mellitus. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *141*, 473–505.
78. Martins, P; Jesus, J; Santos, S; Raposo, L, R; Rodrigues, C, R; Baptista, P, V; Fernandes, A, R; Heterocyclic anticancer compounds: Recent advances and the paradigm shift towards the use of nanomedicine's toolbox. *Molecules* **2015**, *20*, 16852–16891.
79. Kerru, N; Gummidi, L.; Maddila, S; Gangu, K. K; Jonnalagadda, S. B; A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications. *Molecules* **2020**, *25*(8), 1909.
80. Iványi, Z; Wölfling, J; Görbe, T; Szécsi, M; Wittmann, T; Schneider, G; Synthesis of regioisomeric 17 $\beta$ -N-phenylpyrazolyl steroid derivatives and their inhibitory effect on 17 $\alpha$ -hydroxylase/C17,20-lyase. *Steroids* **2010**, *75*(6), 450–456.
81. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* **2007**; *70*:461–77.
82. Cutler SJ, Cutler HG. Biologically active natural products: pharmaceuticals. *CRC Press*; **2000**. p. 5–23.
83. Cragg GM, Kingston DGI, Newman DJ, editors. Anticancer agents from natural products. Boca Raton: *CRC Press*; **2005**.
84. Zhang, B.; Studer, A; Recent advances in the synthesis of nitrogen heterocycles via radical cascade reactions using isonitriles as radical acceptors. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3505–3521.
85. Chaudhari, K.; Surana, S.; Jain, P.; Patel, H.M; Mycobacterium tuberculosis (MTB) GyrB inhibitors: An attractive approach for developing novel drugs against TB. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 160–185.
86. Sameem, B.; Saeedi, M.; Mahdavi, M.; Shafiee, A; A review on tacrine-based scaffolds as multi-target drugs (MTDLs) for Alzheimer's disease. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *128*, 332–345.
87. Ma, X.; Lv, X.; Zhang, J; Exploiting polypharmacology for improving therapeutic outcome of kinase inhibitors (KIs): An update of recent medicinal chemistry efforts. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 449–463.
88. Kaur, R.; Dahiya, L.; Kumar, M; Fructose-1,6-bisphosphatase inhibitors: A new valid approach for management of type 2 diabetes mellitus. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *141*, 473–505.

89. Patel, R.V.; Keum, Y.S.; Park, S.W; Sketching the historical development of pyrimidones as the inhibitors of the HIV integrase. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 649–663.
90. Martins, P.; Jesus, J.; Santos, S.; Raposo, L.R.; Rodrigues, C.R.; Baptista, P.V.; Fernandes, A.R. Heterocyclic anticancer compounds: Recent advances and the paradigm shift towards the use of nanomedicine's toolbox. *Molecules* **2015**, *20*, 16852–16891.
91. Kerru, N; Gummidi, L; Maddila, S; Gangu, K; Jonnalagadda, S. B; A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications. *Molecules* **2020**, *25*(8).
92. Jayashree BS; Nigam Sukriti; Pai Aravinda; Patel Harsh K; ND Reddy; Kumar Nitesh; Rao CM; Targets in anticancer research.. *Indian J Exp Biol.* **2015**, *53*, 489-507.
93. De Ruyck, J; Brysbaert, G; Blossey, R; Lensink, M; Molecular acoplamiento as a popular tool in drug design, and in silico travel. *Adv. Appl. Bioinform. Chem.* **2019**, *9*, 1–11.
94. Boominathan, S. S. K; Chen, C.-Y; Huang, P.-J; Hou, R.-J; Wang, J.-J; A sequential one-pot approach to 1,2,4,5-tetrasubstituted-2H-imidazole synthesis from disubstituted alkynes. *New J. Chem.* **2015**, *39*(9), 6914–6918.
95. Yusubov, M. S; Filimonov, V. D; Chi, K.-W; Oxidation of alkylphenylacetylenes and dialkylacetylenes on palladium catalyst in DMSO. *Russ Chem Bull* **2001**, *50*(4), 649–653.
96. Moghimi, A; Khanmiri, R. H.; Shaabani, A; Hamadani, H; A green synthesis of nitrones from diamino glyoxime using aldehydes and ketones. *J Iran Chem Soc.* **2013**, *10*(5), 929–936.
97. Johnson, E. C; Sabatini, J. J; Zuckerman, N. B; A Convenient and Safer Synthesis of Diaminoglyoxime; *Org Process Res Dev.* **2017** *21*(12), 2073–2075.
98. Nitiss, J. L.; Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*(5), 338–350.
99. Wu, C.-C., Li, T.-K., Farh, L., Lin, L.-Y., Lin, T.-S., Yu, Y.-J., Chan, N.-L.; Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide. *Science* **2011**, *333*(6041), 459–462.
100. Sánchez-Cruz, N; Medina-Franco, J. L; Epigenetic Target Profiler: A Web Server to Predict Epigenetic Targets of Small Molecules. *J. Chem. Inf. Model.* **2021**.
101. Feixiong Cheng; Weihua Li; Yadi Zhou; Jie Shen; Zengrui Wu; Guixia Liu; Philip W. Lee; Yun Tang; admetSAR: a comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*(11): 3099-3105.
102. Hongbin Yang; Chaofeng Lou; Lixia Sun; Jie Li; Yingchun Cai; Zhuang Wang; Weihua Li; Guixia Liu; Yun Tang; admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*, **2018**.
103. Lagunin A.A; Dubovskaja V.I; Rudik A.V; Pogodin P.V; Druzhilovskiy D.S; Glorizova T.A; Filimonov D.A; Sastry G.N; Poroikov V.V; CLC-Pred: a freely available web-service for in silico prediction of human cell line cytotoxicity for drug-like compounds. *PLOS One*, **2018**, *13* (1).

104.Poroikov V; Druzhilovskiy D; Drug Repositioning: New Opportunities for Older Drugs. In: In Silico Drug Design, 1st Edition. Repurposing Techniques and Methodologies. Chapter 1. Editors: Kunal Roy. Elsevier, Academic Press, **2019**. - 750 p.p.