

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

**LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL**

**DISEÑO, CRIBADO VIRTUAL Y SÍNTESIS DE  
DERIVADOS HETEROCÍCLICOS DE  
CHALCONAS CON POTENCIAL  
ANTICANCEROSO**

**PRESENTA:**

**EDITH CITLALY BARTOLO MANDUJANO  
2203059412**

**ASESOR:**

**Dr. JUAN FRANCISCO PALACIOS ESPINOSA**

**ASESOR EXTERNO:**

**Dra. YESHENIA MARGARITA FIGUEROA DE PAZ**

Ciudad de México, abril 2025

## RESUMEN

Las chalconas son una clase importante de compuestos naturales que están presentes en muchas plantas. Son de gran importancia debido a su amplia gama de propiedades farmacológicas, la facilidad de síntesis y son precursores de compuestos heterocíclicos con destacadas actividades biológicas tales como antiinflamatoria, anticancerosa, antimicrobiana, entre otras. Se ha observado que la incorporación de anillos heterocíclicos, en especial de tipo pirazolina y pirazol al núcleo chalcona, mejora la actividad antiproliferativa sobre células de cáncer, dejando en evidencia la versatilidad de las chalconas para emplearse como plantillas para el diseño de compuestos heterocíclicos novedosos.

En este documento se describen diversas técnicas empleadas, como la química combinatoria y métodos computacionales (Docking molecular), con el fin de analizar y seleccionar para su síntesis a compuestos orgánicos selectos.

En este trabajo de investigación se presenta el diseño por cribado virtual de derivados de chalconas heterocíclicas con posible actividad citotóxica mediada por la inhibición de las proteínas tubulina y ciclooxigenasa-2. Se realizó un estudio de acoplamiento molecular entre 216 derivados pirazólicos de chalconas y las proteínas tubulina y COX-2. Los resultados permitieron seleccionar a dos moléculas candidatas que presentaron valores mayores de energía de unión que las moléculas de referencia de ambas proteínas. Para obtener las moléculas candidatas, primero se sintetizaron las chalconas precursoras mediante la reacción de Claisen-Schmidt y para la formación del anillo heterocíclico se probaron diferentes metodologías. Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$ ) y Espectroscopía de Infrarrojo (IR).

## CONGRESOS

El presente proyecto de investigación se desarrolló en el laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas (N-015) en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Los resultados parciales del proyecto fueron presentados a manera de póster en el marco de la 19a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, realizada del 22 al 25 de mayo de 2024 en la ciudad de Cuernavaca, Morelos.

Se generó una guía rápida para realizar docking molecular empleando el programa Autodock Vina a través del programa Yasara.

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES</b>	<b>5</b>
2.1 DISEÑO Y DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS	5
2.1.1	7
2.1.2 Polifarmacología	8
2.2 TUBULINA	9
2.3 COX-2	11
2.4 CHALCONAS	13
2.4.1 Derivados heterocíclicos de chalconas	14
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>16</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS PARTICULARES	17
<b>CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	<b>19</b>
3.1 REACTIVOS	19
3.2 EQUIPOS	19
3.3 CRIBADO VIRTUAL POR ACOPLAMIENTO MOLECULAR	19
3.4 SÍNTESIS DE CHALCONAS MEDIANTE CONDENSACIÓN DE CLAISEN-SCHIMIDT	20
3.5 SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS HETEROCÍCLICOS DE CHALCONA CON ANILLO DE PIRAZOL	20
<b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>21</b>
4.1 CRIBADO VIRTUAL POR ACOPLAMIENTO MOLECULAR	21
4.1.1 Estudio de la interacción ligando-proteína (docking)	22
4.2 SÍNTESIS DE LOS DERIVADOS DE CHALCONAS	25
4.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS MOLÉCULAS SINTETIZADAS	30
<b>CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 6. PERSPECTIVAS</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 7. REFERENCIAS</b>	<b>34</b>
<b>ANEXO 1</b>	<b>39</b>
<b>ANEXO 2</b>	<b>40</b>
<b>ANEXO 3</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO 4</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO 5</b>	<b>42</b>
<b>ANEXO 6</b>	<b>44</b>



## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es un conjunto de enfermedades que se puede originar en cualquier órgano o tejido y se puede extender a partes adyacentes del cuerpo invadiendo y/o propagándose a otros órganos (metástasis).<sup>1-3</sup> Se caracteriza por el crecimiento acelerado de células a través de señales celulares incontroladas, como mantenimiento de la señalización proliferativa, evasión de la muerte celular, activar la invasión y la metástasis, entre otras.<sup>2-4</sup> Esta enfermedad multifactorial es una de las principales causas de importante carga de morbilidad que rápidamente está aumentando en todo el mundo. Según estadísticas de GLOBOCAN en línea con la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) y el Observatorio Mundial del Cáncer (GCO, por sus siglas en inglés) (<https://gco.iarc.fr/en>) en 2022 hubo casi 20 millones de casos nuevos y más de 9 millones de muertes.<sup>5</sup> Varias organizaciones líderes en cáncer como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Sociedad Americana del Cáncer (ACS) y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) han reportado que para el año 2035 las cifras aumenten a 27 millones de casos nuevos y más de 13 millones de muertes a nivel mundial.<sup>6</sup>

Existen diversas estrategias para el tratamiento del cáncer; sin embargo, la quimioterapia sigue siendo uno de los métodos más empleados. Esta terapia consiste en el uso de fármacos para inhibir la proliferación celular y la multiplicación tumoral, evitando así la invasión y/o la metástasis,<sup>7</sup> los mecanismos de acción son diversos que va desde la inhibición de microtúbulos, inhibición de ciertas proteínas o daño al ADN<sup>8</sup> (Tabla 1). Desafortunadamente, los medicamentos usados no tienen una actividad anticancerosa específica, por lo que no solo inhiben la proliferación incontrolada de células malignas, sino que también afectan a las células normales que poseen altas tasas de proliferación, lo que provoca efectos secundarios graves y daños en las células y tejidos normales.<sup>7,9,10</sup> Por esta razón, el desarrollo de nuevas moléculas que hagan frente a esta patología, sigue siendo un área importante en la investigación. Hoy en día se utilizan herramientas de modelado asistido por computadora y enfoques bioinformáticos para el diseño de fármacos que facilitan la detección de posibles candidatos con potencial farmacológico.<sup>11</sup> En la actualidad, los productos naturales y sus derivados son de gran importancia en el desarrollo de nuevos fármacos, un ejemplo de estos son las chalconas, una clase importante de compuestos naturales de la familia de los flavonoides. Estos compuestos han ganado relevancia debido a su facilidad de síntesis, su amplio espectro de actividades farmacológicas y por ser intermediarios particularmente valiosos en la síntesis de compuestos heterocíclicos.<sup>12-14</sup> Bajo esta tesitura, en este trabajo se diseñó, sintetizó y caracterizó un grupo de compuestos heterocíclicos derivados de chalconas cuyos blancos terapéuticos son las proteínas  $\beta$ -tubulina y ciclooxigenasa-2 (COX-2), ya que juegan un papel importante en el desarrollo del cáncer.

**Tabla 1.** Ejemplos selectos de agentes quimioterapéuticos y sus mecanismos de acción.

<i>Clase de quimioterapéutico</i>	<b>Ejemplos</b>	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Aplicaciones</b>
<i>Agentes antimicrotubulos</i>	Taxanos (paclitaxel, docetaxel)	Inhiben la polimerización/despolimerización de la tubulina, lo que provoca la detención del ciclo celular y muerte celular. <sup>15</sup>	Diferentes tipos de cáncer como de ovario, mama, pulmón, próstata y estómago, entre otros. <sup>16</sup>
	Alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina)		
<i>Agentes inhibidores de topoisomerasa</i>	Análogos de camptotecina (irinotecan y topotecan)	Se intercalan entre los pares de bases de los ácidos nucleicos e interrumpen la reparación del ADN mediada por la topoisomerasa II, impidiendo que se vuelva a sellar la doble hélice del ADN e inhibiendo así la replicación del ADN. <sup>8,17</sup>	Cáncer de mama, adenocarcinoma de pulmón, sarcoma de tejidos blandos, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, linfoma, leucemia linfocítica aguda, etc. <sup>16</sup>
	Antraciclinas (doxorrubicina, daunorubicina y sus derivados)		
	Mitoxantrona, dactinomicina, etc.		
<i>Antimetabolitos</i>	5-fluorouracilo, 6-tiopurinas	Actúa como un inhibidor de la timidilato sintasa (TS), que metila el monofosfato de desoxiuridina (dUMP) para formar monofosfato de timidina (dTMP), que a su vez bloquea la síntesis de la timidina y pirimidina que se requiere para la replicación del ADN. <sup>18</sup>	Cáncer de colon, esófago, estómago, páncreas, mama, etc. <sup>16</sup>
	Citarabina, gemcitabina, clofarabina	Inhibe las enzimas ADN polimerasa y la ribonucleótido reductasa para detener la replicación del ADN, entre otras. <sup>18</sup>	Distintos tipos de cáncer, entre ellos cáncer de páncreas, vejiga, sarcoma de tejidos blandos, etc. <sup>16</sup>
<i>Agentes alquilantes</i>	Ciclofosfamida, mitomicina, dacarbazina, procarbazona, temozolomida y estreptozima	Inducen daño al ADN al transferir un grupo alquil al ADN, generando aductos covalentes que inducen el rompimiento de una o ambas cadenas del ADN. <sup>8</sup>	Mieloma múltiple, leucemia, cáncer de mama, neuroblastoma, linfoma, cáncer de ovario, retinoblastoma. <sup>16</sup>
	Cisplatino, carboplatino y oxaliplatino.	Inducen enlaces cruzados entre cadenas de ADN. Este proceso es irreversible y conduce a la apoptosis celular. <sup>19</sup>	Cáncer de testículo, ovario, cuello uterino, mama, vejiga, entre otros. <sup>16</sup>



## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Diseño y descubrimiento de fármacos

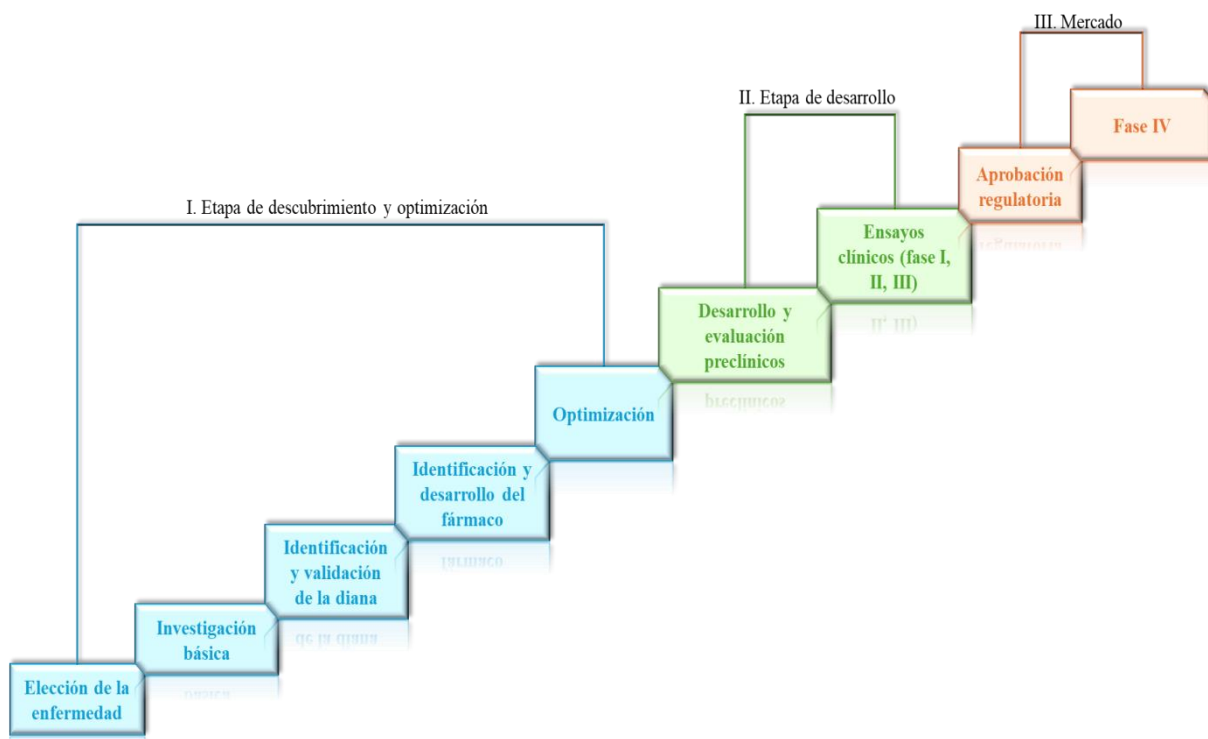
El diseño de fármacos es el proceso inventivo de encontrar nuevos medicamentos basados en el conocimiento de un blanco biológico. En el sentido más básico, el diseño de fármacos implica plantear moléculas que sean complementarias estructural, conformacional y de carga hacia el blanco molecular con el que interactúan y se unen.<sup>11</sup> Actualmente, aún se considera que un fármaco ideal debería tener una acción específica, ser seguro, no tóxico, sin efectos secundarios o con los menores posibles, ser química y metabólicamente estables, ser sintéticamente factibles, ser soluble en agua en concentraciones terapéuticas para evitar la precipitación en el torrente sanguíneo, ser soluble también en lípidos para poder atravesar las membranas lipídicas y distribuirse por el cuerpo, y finalmente, ser una molécula única.<sup>20</sup> La interacción que ejerce un fármaco sobre algún blanco específico es lo que desencadena un efecto biológico en el cuerpo humano. Como resultado de estas interacciones, se producen dos tipos de efectos: efectos del fármaco sobre el cuerpo humano y efectos del cuerpo humano sobre el fármaco; ambos son estudiados por la farmacodinámica y la farmacocinética, respectivamente.<sup>21</sup>

El proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos consta de tres etapas principales: descubrimiento de fármacos, desarrollo preclínico y ensayos clínicos (Figura 1).<sup>22-24</sup> El descubrimiento de fármacos comienza con el hallazgo de una molécula *hit*, se trata de una molécula que tiene una actividad deseada en un ensayo de detección.<sup>22,23</sup> Luego, la estructura de este compuesto se optimiza en términos estructurales con el objetivo de mejorar la afinidad y selectividad por el blanco, reducir su toxicidad, mejorar la solubilidad en agua y lípidos además de las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción), para obtener una molécula líder. La optimización adicional de la molécula líder proporciona el candidato a fármaco. A continuación, los estudios preclínicos se centran en aclarar el modo de acción, su farmacocinética en animales, así como la biodisponibilidad, los metabolitos tóxicos, las vías de excreción, la eficacia en animales, la formulación del fármaco y las pruebas de estabilidad de esta formulación. Los ensayos clínicos para cáncer son la etapa más larga y costosa del proceso, que consta de tres fases. En la primera fase, participan hasta 100 voluntarios que se encuentran en fase terminal o con lesiones premalignas. El objetivo de esta fase es evaluar la seguridad del medicamento, su farmacocinética y los efectos secundarios inmediatos. En la segunda fase, el medicamento se administra a cientos de pacientes que padecen la enfermedad en cuestión; en esta fase se prueba la eficacia del medicamento y su seguridad a corto plazo. En la tercera fase, participan miles de pacientes de diferentes centros clínicos; el objetivo de esta fase es recopilar datos suficientes sobre la eficacia y la seguridad del medicamento. Si el medicamento supera esta fase con éxito, está listo para su registro y comercialización. Sin embargo, la vigilancia del medicamento no termina aquí, el medicamento continúa siendo observado para comprobar su seguridad y sus efectos secundarios. Esta última fase se conoce como vigilancia postcomercialización

(farmacovigilancia) y es prácticamente inacabable, ya que continúa hasta que el medicamento se comercializa.<sup>25</sup>

### 2.1.1 Métodos *in silico* en el diseño y descubrimiento de fármacos

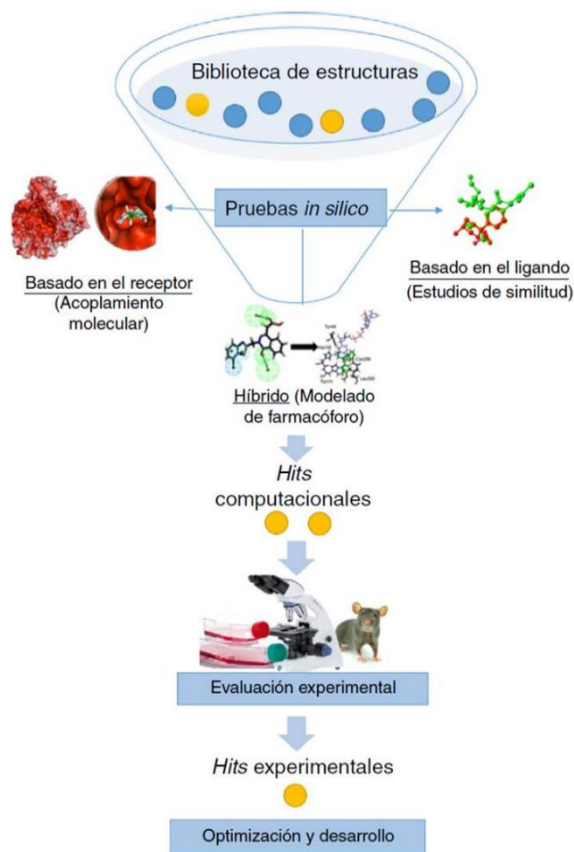
El diseño de fármacos con frecuencia, pero no necesariamente, emplea estrategias de modelado por computadora y enfoques bioinformáticos.<sup>11</sup> Una de las estrategias que hace uso de herramientas de modelado molecular, así como de métodos de diseño de fármacos asistidos por computadora (CADD, por sus siglas en inglés), como el diseño basado en la estructura del receptor, entre ellos, el diseño *de novo*, que consiste en la construcción de moléculas directamente en el receptor<sup>26</sup> o el acoplamiento (docking) molecular, cuyo objetivo es encontrar el modo de unión más favorable de un ligando.<sup>27</sup> El otro método es el diseño basado en la estructura del ligando, se emplea cuando no se conoce la estructura del receptor, este método depende de la información experimental disponible para una serie de estructuras químicas con actividad biológica conocida, un método común en esta área son los estudios de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) que se define como la aplicación de métodos matemáticos y estadísticos al problema de encontrar relaciones empíricas.<sup>24,28</sup> Estos estudios reducen el tiempo y los recursos necesarios para encontrar y/o mejorar a candidatos a fármacos (Figura 2); por lo que, su descubrimiento mediante estudios *in silico* se ha convertido en un método esencial de la investigación farmacológica contemporánea.<sup>29</sup>



**Figura 1.** Etapas principales en el descubrimiento y desarrollo de fármacos. Basado de Saldívar-González et al., 2016.

El desarrollo de fármacos se beneficia enormemente de la investigación *in silico* por diversas razones; facilita el proceso de identificación de posibles candidatos con potencial terapéutico,<sup>30</sup> además, los métodos *in silico* ayudan a predecir la toxicidad, lo que permite a los investigadores reconocer los efectos nocivos en las primeras fases de desarrollo, ahorrando tiempo y dinero. El cribado virtual basado en acoplamiento molecular (Figura 2) ayuda a identificar compuestos nuevos y/o prometedores, al predecir los modos de unión de posibles candidatos y permite analizar sus patrones de interacción.<sup>31-33</sup>

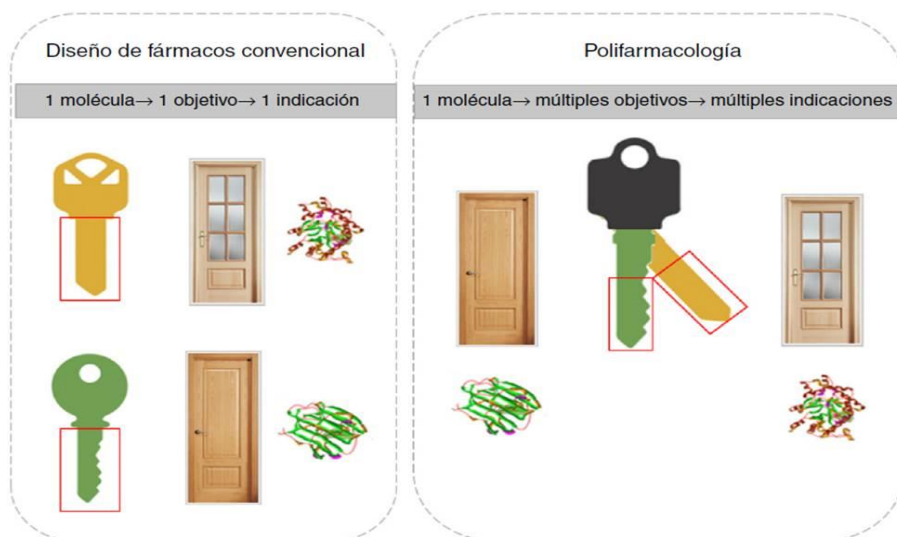
Gracias al descubrimiento de fármacos *in silico* se han descubierto diversos candidatos terapéuticos prometedores, entre ellos, fármacos para tratar diferentes tipos de cáncer, por ejemplo, en un estudio realizado por Rajagopal y colaboradores (2023),<sup>31</sup> emplearon estudios de acoplamiento molecular, modelado de farmacóforos y el estudio QSAR, para sintetizar chalconas heteroaromáticas para el tratamiento del cáncer. Por otro lado, Sehrawat et al., (2023),<sup>32</sup> utilizaron estudios computacionales, como el acoplamiento molecular, para identificar nuevas moléculas con actividad antiproliferativa para el tratamiento del cáncer de mama. Por último, se sintetizaron una serie de híbridos de quinolina-chalcona, las cuales demostraron tener buena actividad citotóxica en diferentes líneas celulares de cáncer, los estudios de acoplamiento molecular demostraron la posible interacción de estos compuestos en el sitio diana.<sup>33</sup>



**Figura 2.** Representación esquemática del proceso de cribado virtual.(Obtenido de Saldívar-González et al., 2016).

## 2.1.2 Polifarmacología

Recientemente, se ha incrementado el número de publicaciones científicas donde se evidencia que un sólo fármaco puede interactuar con diversos blancos terapéuticos promoviendo un efecto biológico mejorado, dando origen al concepto de polifarmacología. Bajo esta tesitura, la polifarmacología está modificando el paradigma actual del diseño de fármacos, donde moléculas que interactúan de forma selectiva frente a una sola diana biológica cambia o toma en cuenta el diseño dirigido a múltiples blancos terapéuticos. Esta estrategia se conoce como diseño multi-objetivo (multitarget, por sus siglas en inglés) donde resalta el objetivo de diseñar una «llave maestra» que se una selectivamente a una serie de blancos moleculares que produzcan una respuesta clínica deseada (Figura 3).<sup>24</sup>

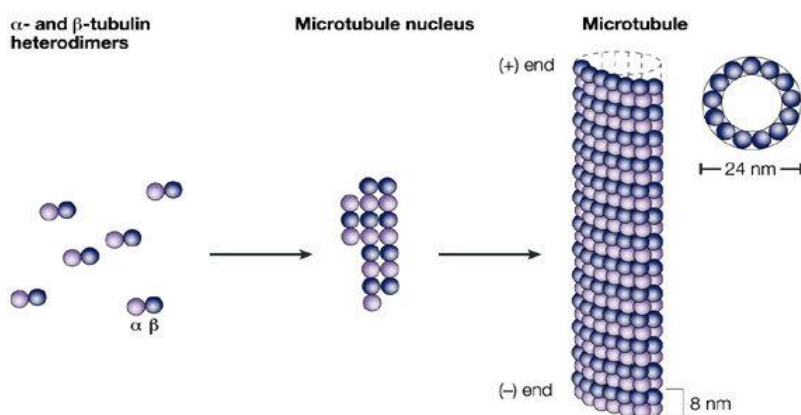


**Figura 3.** Representación de la polifarmacología y diseño de “llaves maestras”. Obtenido de Saldívar-González et al., 2016.

## 2.2 Tubulina

Se ha descrito en varias investigaciones que la tubulina juega un papel importante en el desarrollo del cáncer. Es bien sabido que dímeros de tubulina ( $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulina) forman a los microtúbulos que están involucrados en la división celular, tráfico vesicular, y morfología celular (Figura 4).<sup>34</sup> La red de microtúbulos es reconocida por su papel en la regulación del crecimiento y movimiento celular, así como por eventos de señalización clave que modulan los procesos celulares fundamentales. Se han identificado y caracterizado diversos cambios en la red de microtúbulos en una amplia variedad de cánceres, incluida la expresión alterada de isotipos de tubulina, alteraciones en las modificaciones postraduccionales de tubulina y cambios en la expresión de proteínas asociadas a microtúbulos (MAP),<sup>35</sup> las cuales están involucradas en la migración de células metastásicas, resistencia a los medicamentos, vascularización del tumor<sup>36</sup> y la resistencia a la quimioterapia.<sup>37</sup> Los microtúbulos pueden ayudar a las células cancerosas a realizar funciones complejas, como la migración y adhesión

celular. La vía de señalización Rho guanosina-5'trifosfatasa (GTPasas) es una de las principales vías de señalización celular asociadas con los microtúbulos citoesqueléticos.<sup>38</sup> Los microtúbulos son extremadamente importantes en el proceso de mitosis, durante el cual los cromosomas duplicados de una célula se separan en dos conjuntos idénticos antes de la escisión de la célula en dos células hijas,<sup>39</sup> lo cual es clave importante ya que se pueden diseñar fármacos que tengan la función de inhibir la división celular y evitar la formación de nuevas células cancerígenas. Bajo esta tesitura, diversas investigaciones concuerdan con que los microtúbulos son una diana biológica importante para la terapia contra el cáncer,<sup>39,40</sup> por lo que resalta que el diseño y síntesis de fármacos de esta clase continúen siendo agentes quimioterapéuticos importantes. Uno de los fármacos para tratar diferentes tipos de cáncer como el de mama, ovario, entre otros, es el paclitaxel un inhibidor de la  $\beta$ -tubulina, cuyo mecanismo de acción es estabilizar los microtúbulos lo que provoca un bloqueo mitótico disminuyendo su actividad dinámica conduciendo a muerte celular por apoptosis.<sup>41</sup> También existen agentes dirigidos a tubulina que provocan la desestabilización de los microtúbulos, es decir, conlleva a una despolimerización de los mismos conduciendo a una muerte celular (alcaloides de la vinca, sitio de la colchicina, etc).<sup>34</sup> Muchos de los fármacos contra tubulina se encuentran aprobados o en fase II-III (Tabla 2).<sup>34</sup>



**Figura 4.** Heterodímeros de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tubulina se polimerizan formar los microtúbulos. Obtenido de (Jordan & Wilson, 2004).

**Tabla 2.** Agentes dirigidos a tubulina con ensayos en fase II-III y aprobados. Obtenido de Čermák et al., 2020.

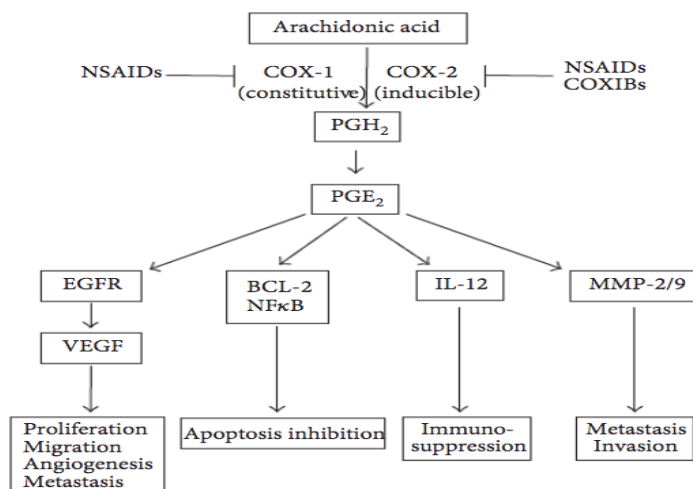
Grupo/Compuesto	Fase	Aplicaciones
<b>Alcaloides de la vinca</b>		
Vincristina	Aprobado	Cáncer de mama, linfomas, sarcomas
Vinblastina	Aprobado	

<b>Macrólidos</b>		
Eribulina	Aprobado	Liposarcomas, cáncer de mama metastásico, etc.
<b>Péptidos</b>		
Dolastatina 10	Fase II	Tumores sólidos
Plinabulina	Fase II	Cáncer de pulmón
<b>Compuesto nitrogenado heterocíclico</b>		
Verubulina	Fase I	Glioblastoma
<b>Sitio de colchicina</b>		
Omrabulina	Fase II	Cáncer de ovario y cáncer de tiroides
Fosbretabulina		
<b>Taxanos</b>		
Paclitaxel	Aprobados	Cáncer de ovario, mama, pulmón, etc.
Docetaxel		
Cabazitaxel		Cáncer de próstata resistente a las hormonas
<b>Epotilonas</b>		
Epotilona B	Fase II	Cáncer de pulmón
Ixabepilona	Fase III	Cáncer de mama y endometrio
<b>Otros</b>		
TDM1 (Trastuzumab + mertansina)	Aprobado	Cáncer de mama metastásico

### 2.3 Cox-2

La ciclooxigenasa-2 (COX-2) es una enzima de prostaglandina (PG)-endoperóxido sintasa 2 responsable de la generación de prostanoides como la prostaglandina E2 (PGE2), un

mediador importante de la inflamación y la angiogénesis.<sup>42</sup> . La expresión de COX-2 es insignificante en células normales en las que su expresión basal solo ocurre en el estómago, el riñón, el sistema nervioso central y en los órganos de reproducción femenina. Sin embargo, se sobreexpresa con frecuencia en los nidos tumorigénicos de dierentes tipos de cánceres, incluidos el adenocarcinoma, el carcinoma de células escamosas (SCC), el colangiocarcinoma, el carcinoma de células transicionales, el carcinoma endometrial y el carcinoma hepatocelular.<sup>43</sup> La COX-2 es altamente inducible, es decir, cuando hay una serie de estímulos inflamatorios, desencadenan señalizaciones intracelulares que provoca la expresión de la enzima y puede llegar a sobreexpresarse en respuesta a diversos agentes proinflamatorios, incluidas las citocinas, los mitógenos y los promotores tumorales (Figura 5), especialmente en las células implicadas en la inflamación, el dolor, la fiebre, la enfermedad de Alzheimer, la osteoartritis o la formación de tumores.<sup>42</sup>



**Figura 5.** Biosíntesis de prostaglandinas E y efectos celulares posteriores.

La acción de COX-2, sobre la prostaglandina E2 es responsable de diversas funciones a favor de la promoción tumoral, como:

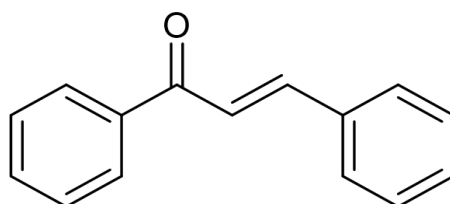
- Resistencia a la apoptosis.<sup>44</sup>
- Angiogénesis a través de la regulación positiva del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).<sup>45</sup>
- Metástasis por regulación positiva de las metaloproteinasas de matriz (MMP) tipo 2 y 9<sup>44,45</sup> e interleucina-11(IL-11) junto con la activación de un microARN oncogénico (miR526b).<sup>46</sup>
- Crecimiento tumoral a través de la regulación positiva del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).<sup>44,45</sup>
- Supervivencia de células cancerosas<sup>46</sup> e inflamación a través de la interacción con PI3K/AKT (fosfatidilinositol 3-quinasa).<sup>46</sup>

- Invasión de células cancerosas a través de la regulación positiva de la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK).<sup>46</sup>

La expresión constitutiva de COX-2 y la biogénesis sostenida de PGE2 parecen desempeñar papeles predominantes en el inicio y promoción de la progresión del cáncer. La PGE2 puede mediar estos efectos a través de numerosas vías de señalización, incluida la activación del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que conduce a una mayor proliferación celular, potencial metastásico e invasivo y angiogénesis.<sup>47</sup> Dada su importancia, la enzima COX-2 es una diana terapéutica relevante.

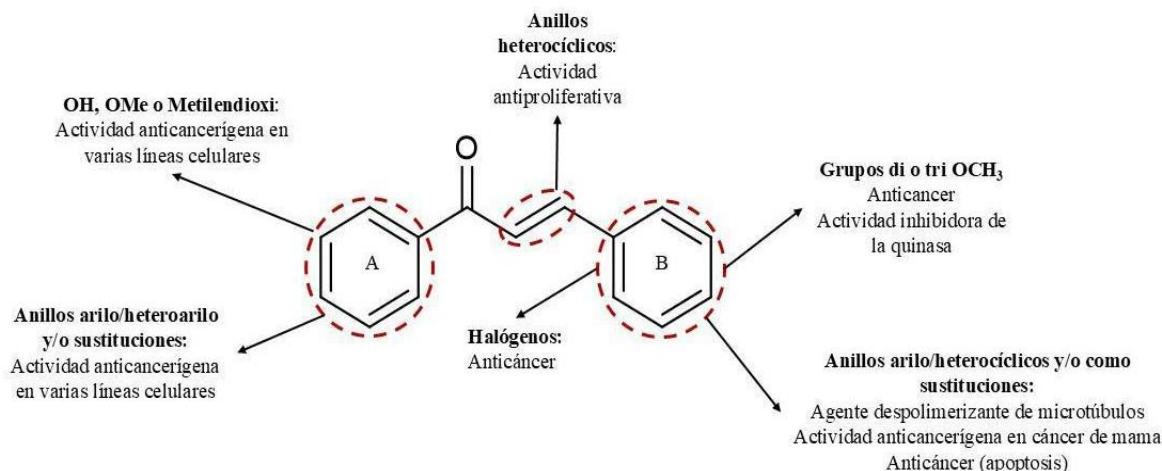
## 2.4 Chalconas

En la actualidad, los productos naturales son una fuente importante para la obtención de productos medicinales y son de gran importancia en el desarrollo de nuevos fármacos sintetizados a partir de materias primas naturales y renovables con actividades biológicas específicas. Las plantas han sido una fuente principal de fármacos y productos medicinales como las chalconas, que son una clase importante de compuestos naturales de la familia de los flavonoides, están presentes en muchas plantas comestibles como frutas, frutos secos, verduras y té.<sup>48,49</sup> Las chalconas se han utilizado a menudo en la medicina tradicional, donde chalconas naturales y análogos sintéticos han mostrado un amplio espectro de actividades biológicas incluyendo anticancerosas, antibacterianas, antifúngicas, antipalúdicas, antidiabéticas, antiinflamatorias y antioxidantes.<sup>12</sup> Químicamente, las chalconas o 1,3-diaril-2-propen-1-onas consisten en dos anillos aromáticos que están unidos por un sistema de carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado de tres carbonos y pueden existir en formas isoméricas *cis* y *trans*, siendo la forma *trans* la más estable termodinámicamente (Figura 6).<sup>50</sup> Las chalconas han recibido una atención considerable no solo por su amplio espectro de actividades biológicas, sino también por la facilidad de síntesis y modificación del núcleo principal.<sup>13,14</sup> Además, tienen la ventaja de ser menos tóxicas, fáciles de sintetizar y más asequibles.<sup>51</sup>



**Figura 6.** Núcleo de chalcona

Karthikeyan et al. (2014)<sup>52</sup> han establecido la relación estructura-actividad de chalconas con actividad citotóxica, donde se exhibe que las propiedades anticancerígenas de las chalconas están influenciadas principalmente por las sustituciones en los anillos arilo sobre la molécula de chalcona y por sus patrones de sustitución (Figura 7).



**Figura 7.** Relación estructura-actividad anticancerígena de compuestos con el núcleo chalcona. Obtenido de Karthikeyan et al. (2014).

Por otro lado, se han aprobado distintos fármacos tomando como plantilla estructural al núcleo chalcona, tales son los casos de la metochalcona y la sofalcona, para el tratamiento de diversas enfermedades, como: colerético, diurético, antiulceroso, mucoprotector, etc.<sup>48,53</sup> Consecuentemente, la fracción de chalcona es un modelo útil para el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos.

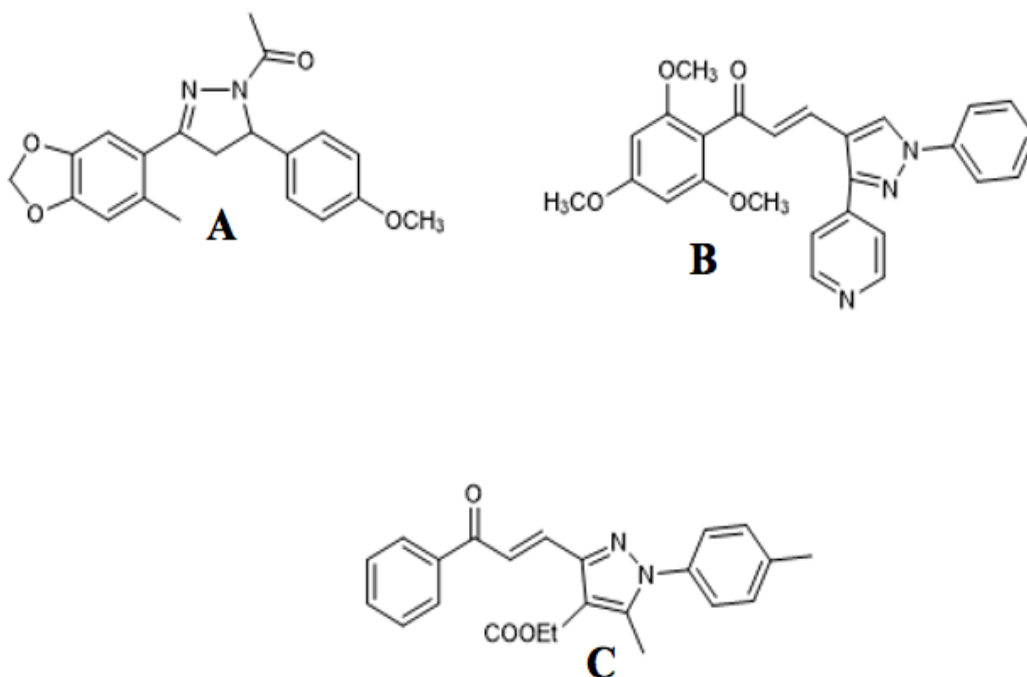
#### 2.4.1 Derivados heterocíclicos de chalconas

Aunque la disponibilidad de chalconas heterocíclicas de fuentes naturales es limitada, se ha reportado que poseen una amplia gama de bioactividades, especialmente actividad citotóxica.<sup>54,55</sup> Las chalconas son intermediarios particularmente valiosos en la síntesis de compuestos heterocíclicos, ya que presentan un sitio químicamente reactivo (carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado) el cual puede reaccionar con reactivos como hidroxilamina, hidracina, urea, tiourea y aminas heterocíclicas para producir compuestos heterocíclicos, lo que muestra la versatilidad y el potencial de las chalconas.<sup>54</sup> Por esta razón se pueden utilizar diferentes chalconas como intermediarios para sintetizar diferentes compuestos heterocíclicos novedosos.

Los azoles, como imidazoles, oxazoles, pirazoles, tetrazoles, tiazoles, 1,2,3-triazoles y 1,2,4-triazoles, son la clase más importante de anillos heteroaromáticos que contienen nitrógeno. Los azoles son farmacóforos comunes en el desarrollo de nuevos agentes anticancerosos, y alguno de ellos como la cefatrizina, carboxiamidotriazol, y AZD8835 ya han sido evaluados en ensayos clínicos o empleados en la clínica para el tratamiento de varios tipos de cánceres.<sup>56,57</sup> Por lo tanto, la hibridación o la modificación del núcleo chalcona con la fracción de azol puede ofrecer oportunidades para el desarrollo de nuevos agentes anticancerosos.<sup>54</sup>

En este estudio nos centramos en sintetizar compuestos heterocíclicos de chalcona con anillos de pirazol, ya que a este anillo se le atribuye un amplio espectro de propiedades biológicas y

aplicaciones terapéuticas, como propiedades analgésicas, anticancerosas, antiinflamatorias, antimicrobianas, antivirales, antidiabéticas, anticonvulsivas, antipiréticas y antidepresivas.<sup>58,59</sup> Debido a que muchos estudios han informado de la importancia de la fracción heterocíclica del anillo de pirazol en la química medicinal, los esqueletos de los pirazoles a menudo se modifican para mejorar su actividad biológica. Entre otros, los pirazoles derivados de las chalconas muestran un aumento en la potencia y el espectro de actividad.<sup>60</sup> Recientemente, en un estudio realizado por Maciejewska et al. (2022),<sup>13</sup> sintetizaron pirazoles derivados de chalcona (Figura 8A) como agentes terapéuticos en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas, los cuales demostraron tener una  $CI_{50}$  de 4.32 a 20.95  $\mu\text{M}$  en diferentes líneas celulares (A-549, H226, H460, HEK293) con respecto al cisplatino (17.47- 29.01  $\mu\text{M}$ ) Por otro lado, Hawash et al. (2017),<sup>61</sup> sintetizaron híbridos de chalcona-pirazol (Figura 8B) con una  $CI_{50}$ : 0.3-28.8  $\mu\text{M}$  respecto a Fluorouracilo ( $CI_{50}$ : 1.4-21.0  $\mu\text{M}$ ), los cuales exhibieron actividad citotóxica potencial contra las líneas celulares cancerosas Huh7, MCF-7 y HCT116, el estudio demostró que estos híbridos podían causar la detención del ciclo celular en la fase G2/M seguida de la muerte celular apoptótica y el deterioro del crecimiento celular. De la misma manera, Sombhi et al. (2018),<sup>62</sup> demostraron la relación estructura-actividad anticancerosa de los híbridos de chalcona-pirazol (Figura 8C) contra células HCT116 ( $CI_{50}$ : 0,69-25,09  $\mu\text{M}$ ), en comparación con doxorubicin ( $CI_{50}$ : 0.42  $\mu\text{M}$ ).



**Figura 8.** Chalconas heterocíclicas con anillo de pirazol probadas contra diferentes líneas celulares.

## JUSTIFICACIÓN

Diversas organizaciones líderes en cáncer como la IARC, han predicho estadísticamente el aumento de la morbilidad y mortalidad a causa del cáncer, exhibiendo cifras preocupantes. Si bien, existen diversas estrategias para el tratamiento contra el cáncer, como la cirugía, la radioterapia, la inmunoterapia, la quimioterapia, terapia hormonal, trasplante de células madre, etc., la quimioterapia es el tratamiento convencional para pacientes con cáncer y se ha utilizado sola o en combinación desde hace varias décadas para mejorar los resultados en los pacientes.<sup>14</sup> La quimioterapia consiste en el uso de fármacos que detienen o retrasan el crecimiento de células cancerígenas que crecen y se dividen rápidamente, evitando la invasión y la metástasis. Sin embargo, además de destruir las células cancerosas también ataca a células sanas se caracterizan por crecer y dividirse aceleradamente como células del tracto gastrointestinal, de médula ósea y folículos piloso y, por ende, causa mielosupresión, náuseas, vómitos, mucositis, alopecia, esterilidad, infertilidad, reacciones a la infusión y mayor riesgo de contraer infecciones. Aunado a esto, algunos de los medicamentos de quimioterapia son tóxicos para el hígado o los riñones.<sup>7</sup> A pesar de la eficacia de los medicamentos quimioterapéuticos, su administración a largo plazo se ve obstruida por la resistencia a múltiples fármacos<sup>63</sup> y los efectos secundarios debido a la escasa selectividad de los fármacos empleados, estas desventajas constituyen importantes impedimentos para una terapia eficaz contra el cáncer, además del costo elevado de los medicamentos disponibles.<sup>64</sup>

Ciertas proteínas, hormonas y factores de crecimiento participan y controlan aspectos celulares como la proliferación, diferenciación, angiogénesis y senescencia. Estas moléculas interactúan con receptores celulares y se comunican con el núcleo de la célula a través de una red de vías de señalización intracelular. Cuando son células cancerosas, estas alteran los componentes clave de estas vías de señalización mediante sobreexpresión o mutación, lo que conlleva a señalizaciones celulares desreguladas provocando inhibición de la apoptosis, metástasis, proliferación celular, entre otras.<sup>65</sup> Cabe señalar, que algunas proteínas partícipes en procesos celulares y que en este trabajo son el interés de estudio son las proteínas tubulina y COX-2, ya que se ha demostrado que la tubulina juega un papel importante en el desarrollo del cáncer<sup>35,37,66,67</sup> pues es una proteína que desempeña una de las funciones principales en el comportamiento celular, donde participa como una unidad estructural de microtúbulos y estos a su vez participan en la división celular formando el huso mitótico, y por ello se han desarrollado fármacos que se unan a la tubulina para suprimir la dinámica del huso, provocando una posterior detención mitótica y muerte celular. Por otro lado, se ha observado la sobreexpresión de la ciclooxigenasa-2 en varios cánceres humanos,<sup>42</sup> ya que se ha comprobado que induce una actividad similar a las células madre cancerosas y promueve la resistencia apoptótica, proliferación, angiogénesis, inflamación, invasión y metástasis de las células cancerosas.<sup>43,68</sup> Por tanto, existe evidencia de que inhibir a la enzima COX-2 es una alternativa en la terapia antiangiogénica y prevención de la metástasis,<sup>47</sup> además, como alternativa se han usado fármacos como los AINES (antiinflamatorios no esteroideos) que

han demostrado resultados favorables, sin embargo, el uso prolongado de los AINES conlleva a efectos secundarios indeseables como hemorragias gastrointestinales y perforación de úlceras gastroduodenales, entre otros.<sup>47</sup> El desafío de desarrollar fármacos selectivos que inhiben la COX-2 y que además sean eficaces a concentraciones pequeñas, pero con una toxicidad mínima favorece una estrategia más segura para la prevención y el tratamiento del cáncer. Bajo esta tesitura, en este trabajo se diseñó, sintetizó y se caracterizaron compuestos heterociclos con el núcleo chalcona cuyas dianas terapéuticas son las proteínas  $\beta$ -tubulina y ciclooxigenasa-2 (COX-2), por su papel importante en el desarrollo del cáncer; a través de herramientas como la química combinatoria, plataformas computacionales y síntesis orgánica convencional.

## HIPÓTESIS

El uso de herramientas como el cribado virtual y el análisis por consenso permitirá seleccionar moléculas de una quimioteca de derivados heterocíclicos de chalconas con mejor interacción con la proteína  $\beta$ -tubulina y la enzima COX-2, involucradas en el cáncer.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Diseñar, seleccionar, sintetizar y caracterizar derivados heterocíclicos de chalconas cuyas dianas terapéuticas sean las proteínas  $\beta$ -tubulina y ciclooxigenasa-2, a través del uso de herramientas computacionales, su síntesis orgánica convencional y elucidación estructural por métodos espectroscópicos.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- Diseñar mediante química combinatoria una quimioteca virtual de 216 derivados pirazólicos de chalconas, empleando los programas ChemBioOffice.
- Optimizar y realizar un cribado virtual de la quimioteca mediante acoplamiento molecular (docking) frente a la proteína  $\beta$ -tubulina y la enzima COX-2, empleando los programas de Pymol, AutoDock 4.2, AutoDock Vina y Gold.
- Seleccionar, mediante consenso, a los derivados heterocíclicos con mayores valores de afinidad o score frente a los blancos moleculares seleccionados.
- Sintetizar a los derivados heterocíclicos de chalconas mediante la síntesis de Claisen-Schmidt y su condensación con hidracina.

- Caracterizar mediante Espectroscopia de infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) las estructuras químicas de los compuestos sintetizados.

## CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 3.1 Reactivos

Todos los reactivos fueron utilizados grado reactivo sin purificación adicional y fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los disolventes empleados fueron de grado analítico sin purificación adicional adquiridos de Química Rique S.A. DE C.V.

### 3.2 Equipos

Los estudios de punto de fusión se realizaron en el laboratorio N-015 con el aparato Fisher-Johns.

El Equipo de RMN empleado fue de 600 MHz, modelo Agilent DD2.

### 3.3 Cribado virtual por acoplamiento molecular

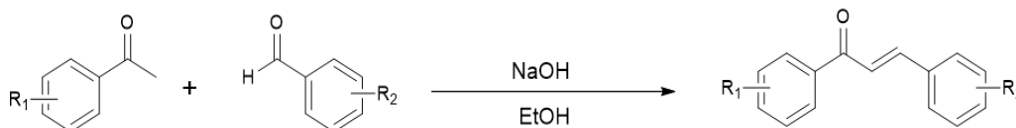
Se diseñó una quimioteca virtual de 216 moléculas mediante química combinatoria entre aldehídos aromáticos, acetofenonas e hidrazina en el software ChemDraw 22.2.2., para generar moléculas de derivados heterocíclicos de chalconas. Con esta quimioteca se realizaron estudios de acoplamiento molecular con las proteínas  $\beta$ -tubulina y COX-2. La estructura cristalina de ambas proteínas, se obtuvieron de Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>), los códigos PDB ID son 5LYJ para tubulina y 5KIR para COX-2. Luego, se emplearon los programas Autodock Vina y Autodock 4.2 (AD4) desde la interfaz de YASARA, y el programa Gold, para realizar el acoplamiento molecular en los sitios catalíticos de cada proteína. Adicionalmente, se evaluaron como referencias a la Combretastatina A-4 (CA4) para tubulina, y Rofecoxib (ROX) para COX-2. El tamaño y ángulo del grid fueron de 50.0 Å para X, Y y Z, y 90° para  $\alpha$   $\beta$  y  $\gamma$ , para VINA y AD4. Por otro lado, para el programa Gold, el tamaño del grid fue de 14 Å, las coordenadas exactas se seleccionaron en el espacio donde se ubicaba el ligando que cocrystalizó con la proteína cuando se obtuvo el monocristal (sitio catalítico). De forma paralela, se realizó la validación del método de acoplamiento molecular mediante el cálculo de la raíz de la desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés Root Mean Squared Deviation). Se considera que el método de acoplamiento molecular ha sido validado si la  $RMSD \leq 1.5$  Å. Para ello, se utilizó la página <https://zhanggroup.org/DockRMSD/>.<sup>69</sup>

El consenso del crivado virtual se basó en un filtrado de datos que consistió en elegir a las moléculas con mayor energía de unión a los sitios catalíticos de ambas proteínas respecto a los ligandos de referencia, las cuales se seleccionaron para su posterior síntesis química.

Todos los resultados obtenidos del acoplamiento molecular se visualizaron con los programas BIOVA Discovery Studio 2024 y PyMOL 2.5.8., donde se pudo analizar las y el tipo de interacciones que ocurren entre los ligandos de la quimioteca y los aminoácidos que se encuentran en el sitio catalítico de ambas proteínas.

### 3.4 Síntesis de chalconas mediante condensación de Claisen-Schmidt

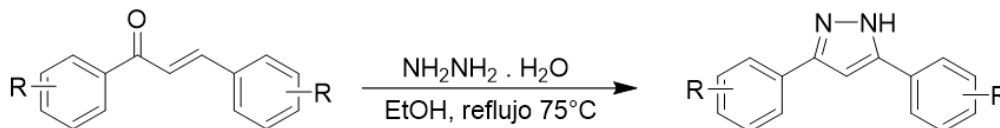
La síntesis de chalconas (precursores de los derivados heterocíclicos) se realizó mediante la condensación de un aldehído y una cetona aromática en medio básico (Síntesis de Claisen-Schmidt). La reacción general se muestra en el Esquema 1.



*Esquema 1.* Reacción general de la síntesis de Claisen-Schmidt.

### 3.5 Síntesis de los derivados heterocíclicos de chalcona con anillo de pirazol

Para la síntesis de los derivados heterocíclicos de chalcona con anillo de pirazol se realizó mediante la adición de hidrazina monohidratada como se muestra en el Esquema 2.



*Esquema 2.* Reacción general para la síntesis de los derivados heterocíclicos de chalcona.

## CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

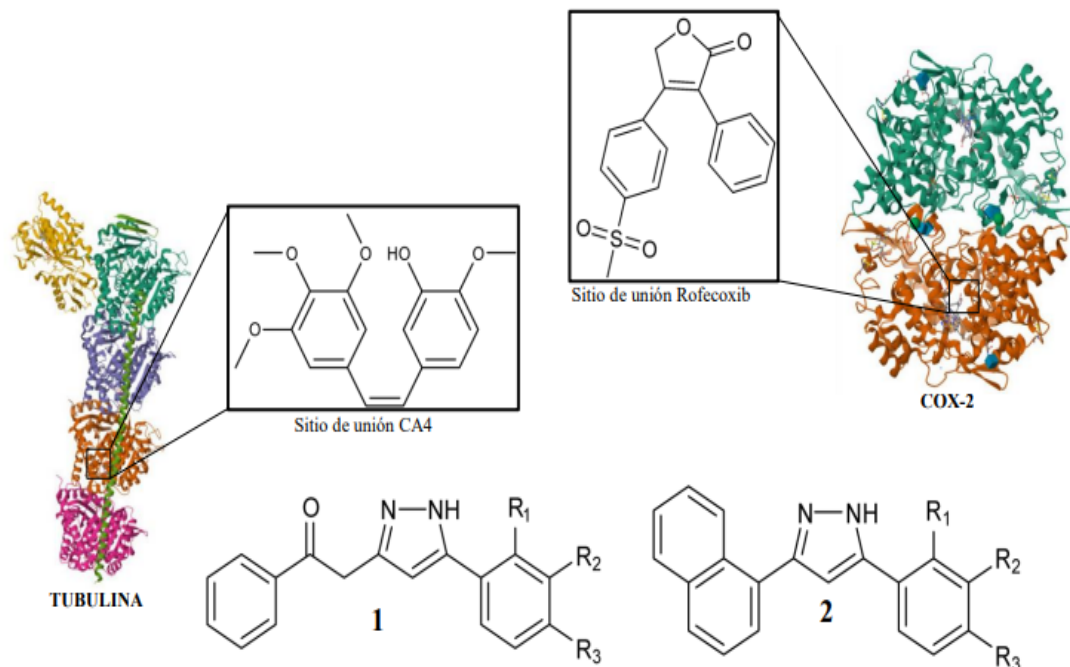
### 4.1 Cribado virtual por acoplamiento molecular

Se realizó el acoplamiento molecular de las 216 chalconas heterocíclicas con anillo de pirazol y los ligandos CA4 y ROX (fármacos de referencias de tubulina y COX-2, respectivamente) empleando tres diferentes programas de docking.

Los resultados obtenidos del análisis por consenso, que consistió en elegir aquellas moléculas que tuvieron mejor score que los ligandos de referencia, resaltan cinco moléculas con clave CM032, CM037, CM072, CM108 y CM143 (Tabla 3), estructuralmente resaltan dos quimiotipos identificados (Figura 9) que presentan mejor afinidad a los sitios de catalíticos. Sin embargo, se tomó la decisión de sintetizar aquellas moléculas que tuvieran mejor factibilidad sintética, para ello, se utilizó la página de SwissADME (<https://www.swissadme.ch/>). Las moléculas con mejor accesibilidad sintética fueron CM108 y CM143 (quimiotipo 2), además, las moléculas CM032, CM037 y CM072 podrían presentar diferentes subproductos debido a la presencia del carbonilo adicional.

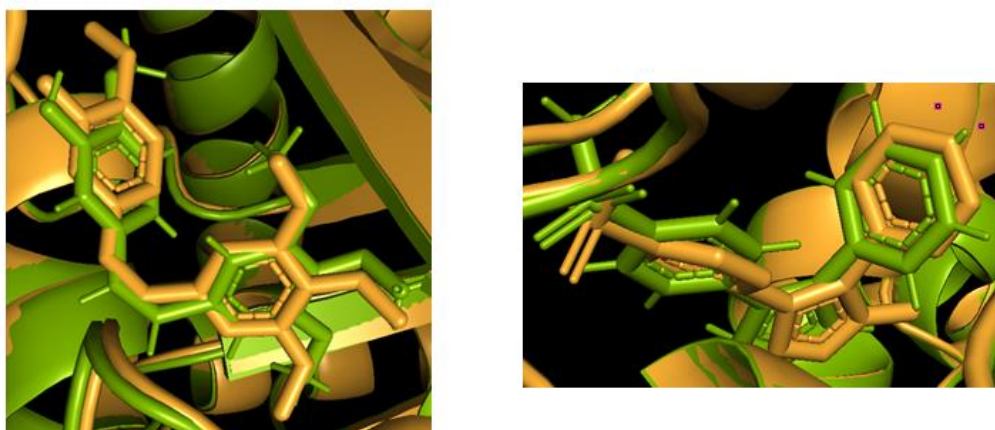
**Tabla 3.** Puntuaciones obtenidas en el estudio de acoplamiento molecular.

ID	QUIMIO TIPO	R	VINA (kcal/mol)		AD4 (kcal/mol)		GOLD			
			tubulina	COX-2	tubulina	COX-2	PLP		GOLDscore	
							tubulina	COX-2	tubulina	COX-2
CM032	1	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H R <sub>3</sub> =OH	-9.6472	-8.84	-11.228	-10.07	80.8404	50.2759	61.9055	-3.9955
CM037	1	R <sub>1</sub> =Cl R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =H	-9.9248	-8.78	-10.612	-10.10	75.6798	53.9467	55.4932	36.3326
CM072	1	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =OH	-9.7316	-8.21	10.762	-10.58	76.9165	40.401	56.1155	16.7464
CM108	2	R <sub>1</sub> =R <sub>2</sub> =H R <sub>3</sub> =OCH <sub>3</sub>	-9.381	-8.11	-10.65	-10.66	73.7663	51.7344	59.3931	10.4985
CM143	2	R <sub>1</sub> =Cl R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =H	-10.2464	-9.88	-11.08	-11.19	74.8098	71.6709	56.5985	16.9717
CA4	-	-	-8.0292	-	-8.778	-	72.8606	-	54.9128	-
ROX	-	-		-9.93	-	-9.90	-	73.4527	-	59.7684



**Figura 9.** Quimiotipos identificados en el estudio de acoplamiento molecular con los ligandos de referencia.

Para validar la fiabilidad del acoplamiento, se superpusieron las estructuras el ligando cocrystalizado en las proteínas con el ligando de referencia construido (Figura 10). De manera cuantitativa se calculó el RMSD entre la posición acoplada y la posición cristalográfica para CA4 y ROX los valores obtenidos son de 0.764 y 0.959, respectivamente.



**Figura 10.** Validación del acoplamiento molecular entre el ligando cocrystalizado (verde) y el ligando construido (amarillo) para CA4 (izquierda) y ROX (derecha).

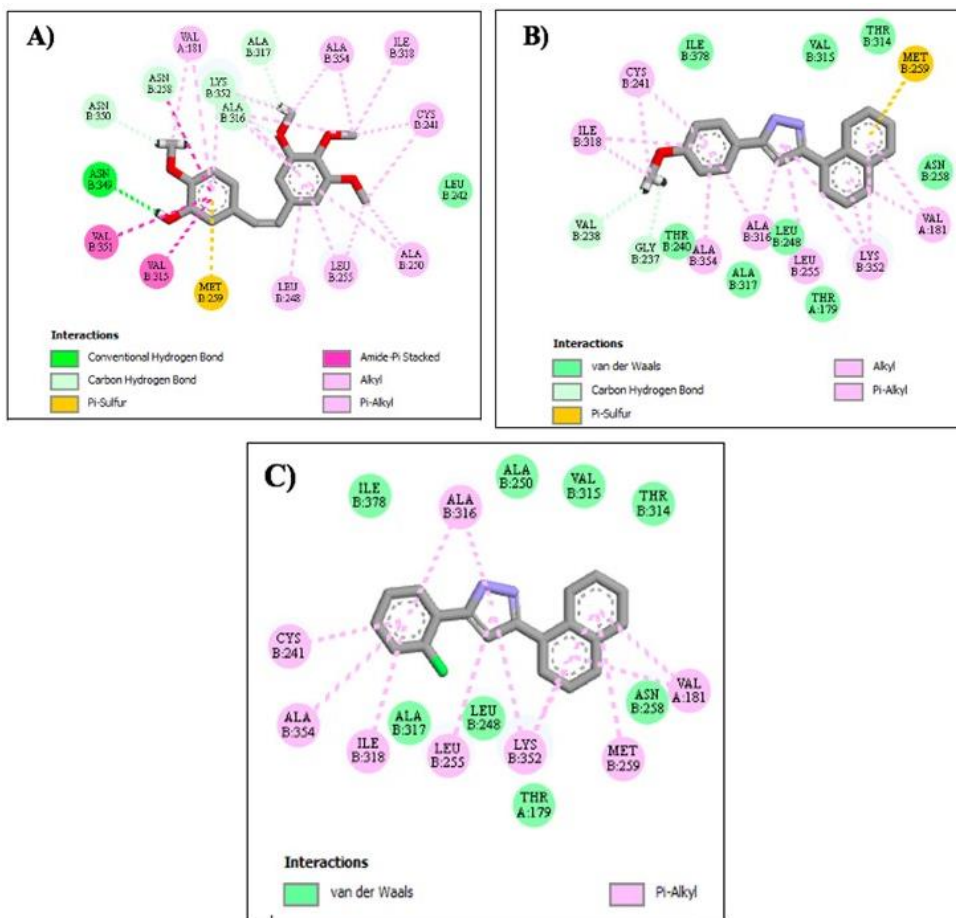
#### 4.1.1 Estudio de la interacción ligando-proteína (docking)

El estudio de acoplamiento molecular con las cinco moléculas con mejores energías de unión y los ligandos de referencia CA4 y ROX se muestran en la Figura 11 y 13, respectivamente.

#### 4.1.1.1 Tubulina

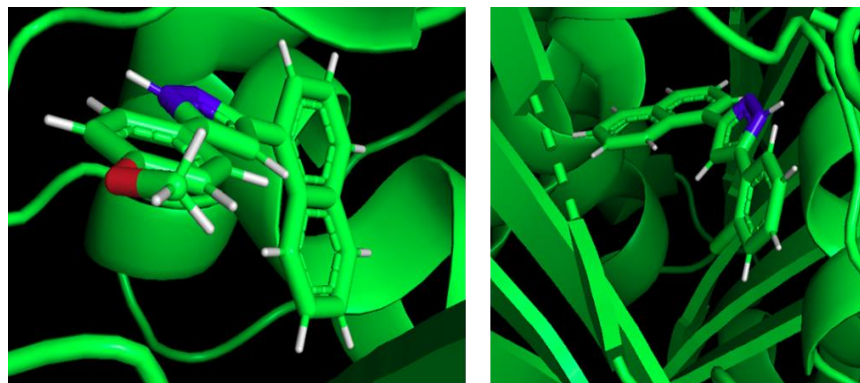
Como se muestra en la Figura 11A, CA4 mostró seis interacciones, alquilo y  $\pi$ -alquilo entre los grupos metoxilo y los anillos de benceno con los aminoácidos ALA-354, ILE-318, CYS-241, ALA-250, LEU-255, LEU-248, LYS-352, ALA-316 y VAL-181. De igual manera, con los grupos metoxilo se forman interacciones C-H con los residuos ASN-350, ASN-258, LYS-352, ALA316 y ALA-317. El anillo de benceno forma interacciones  $\pi$ -amida apilado interactuando con ASN-350, VAL-351 y VAL315 e interacciones  $\pi$ -azufre con MET259. Por último, el átomo de H del grupo hidroxilo forma una interacción de enlace convencional de hidrógeno con ASN349. Por otro lado, los compuestos CM108 y CM143, forman interacciones de tipo alquilo y  $\pi$ -alquilo entre los aminoácidos CYS-241, ALA-354, ILE-318, LEU-255, ALA316, LYS-352 y VAL-181 con los anillos aromáticos de los compuestos. Sin embargo, sólo CM108 forma interacciones de tipo  $\pi$ -azufre con el residuo MET-259 con el anillo de naftaleno, también se observaron interacciones de enlace C-H con GLY-237 y VAL-238 con los protones del grupo metoxilo (Figura 11B). También moléculas forman interacciones de van der Waals con los mismos aminoácidos (Figura 11B y 11C).

En resumen, se puede observar que tanto CM108 y CM143 comparten las mismas interacciones de tipo  $\pi$ -alquilo con los mismos aminoácidos con el anillo de pirazol y el naftaleno. También se observa que CM108 forma interacciones de enlace C-H con diferentes aminoácidos respecto a CA4 que interacciona con otros residuos, asimismo, CM108 y CA4 comparten la misma interacción ( $\pi$ -azufre) con el mismo aminoácido (MET-259), a diferencia de CM143 donde la interacción con MET-259 es de tipo  $\pi$ -alquilo.



**Figura 11.** Interacciones ligando-proteína en 2D. A) CA4, B) CM108, C) CM143.

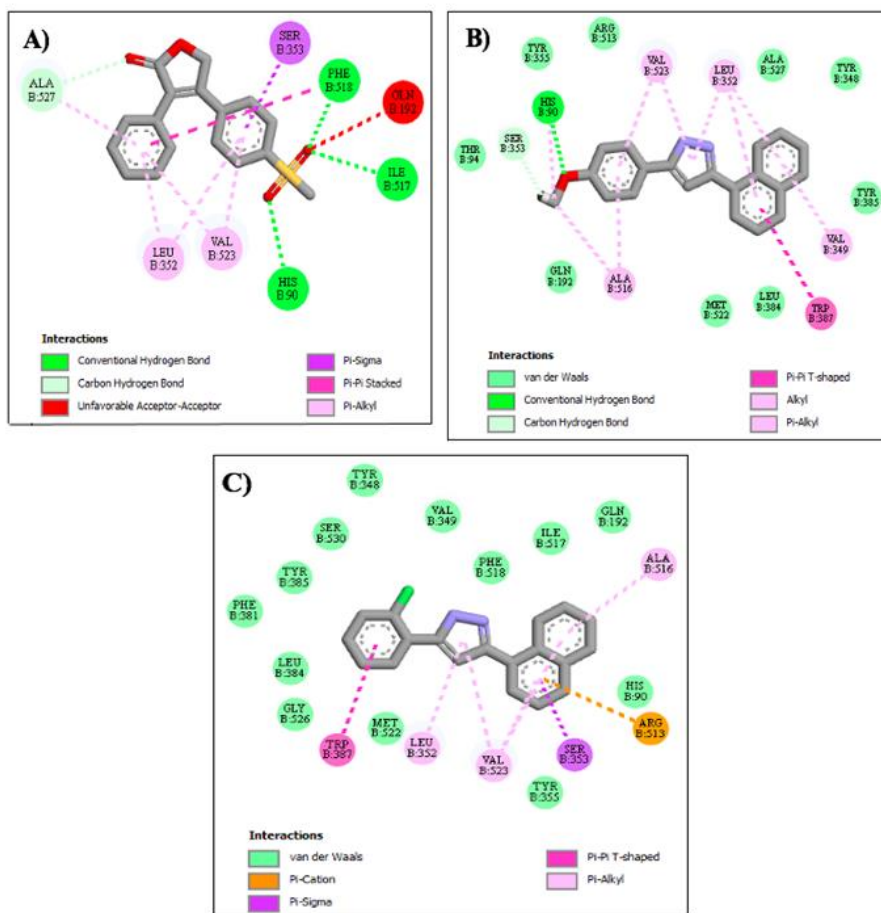
De forma general, las moléculas CM108 y CM143 presentan un mayor número de interacciones con diversos aminoácidos presentes en el sitio catalítico, lo que sugiere una mayor estabilidad dentro de la cavidad de la proteína por lo que pueden evitar la polimerización de la tubulina. Además, esto podría deberse a la forma de unión de CM108 y CM143 al sitio catalítico que es mediante el anillo de naftaleno (Figura 12).



**Figura 12.** Unión de CM108 (izquierda) y CM143 (derecha) al sitio de unión de tubulina.

#### 4.1.1.2 Cox-2

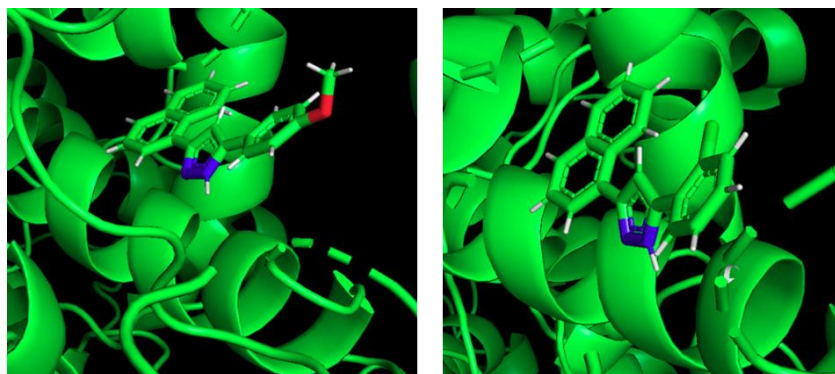
En la figura 13A, se puede observar que ROX presentan interacciones de tipo  $\pi$ -alquilo entre ALA-527, LEU-352 y VAL-523 con los anillos aromáticos, también presenta una interacción  $\pi$ - $\sigma$  entre SER-353 con un anillo aromático e interacciones de puentes de hidrógeno. También se encontró una interacción desfavorable aceptor-aceptor entre GLN-192 con el grupo sulfonilo del rofecoxib, lo que conlleva a repulsiones de cargas. Por otra parte, para los compuestos CM108 y CM143 se observó que forman interacciones de tipo alquilo y  $\pi$ -alquilo entre VAL-523, LEU-352 y ALA-516 con los anillos aromáticos de los compuestos. También presentan el mismo tipo de interacción  $\pi$ - $\pi$  en forma de T con TRP-387 con uno de los anillos aromáticos de los compuestos. Sin embargo, CM143 mantiene más tipos de interacciones como  $\pi$ -sigma con SER-353 y  $\pi$ -catión con ARG-513 (Figura 13B y 13C).



**Figura 13.** Interacciones ligando-proteína en 2D. A) ROX, B) CM108, C) CM143.

Nuevamente se observó que CM143 y CM108 presentan más interacciones con diferentes aminoácidos respecto a ROX, y más importante aún, no presentan interacciones desfavorables con los aminoácidos en el sitio de acción, esto podría deberse a que CM108 y CM143 se unen al sitio de unión por medio del anillo de naftaleno (Figura 14); esto puede

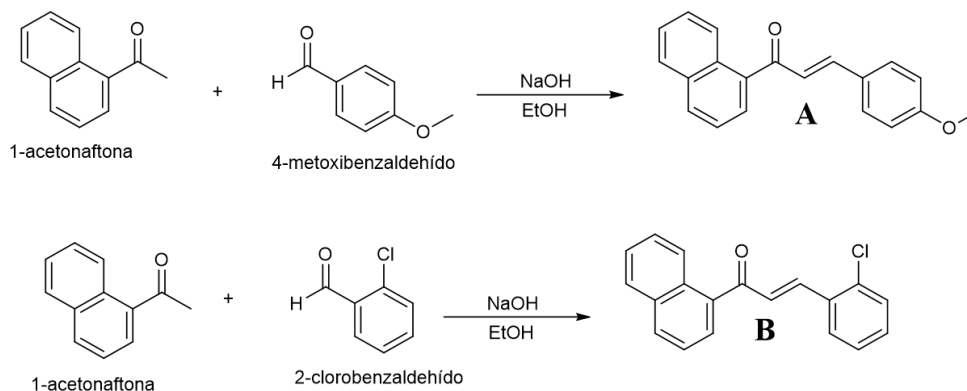
sugerir que el incluir un anillo de naftaleno mejora la afinidad de unión entre los ligandos y el sitio catalítico de COX-2, por lo que estas moléculas podrían inhibir la función de dicha proteína convirtiéndose en potentes inhibidores.



**Figura 14.** Unión de CM108 (izquierda) y CM143 (derecha) al sitio de unión de COX-2.

## 4.2 Síntesis de los derivados de chalconas

Para sintetizar a CM108 y CM143 se obtuvieron las chalconas precursoras las cuales se ilustran en el esquema 1 (**A** y **B**).



**Esquema 1.** Reacción general de la reacción de Claisen-Schmidt. **A)** CCM108 y **B)** CCM143.

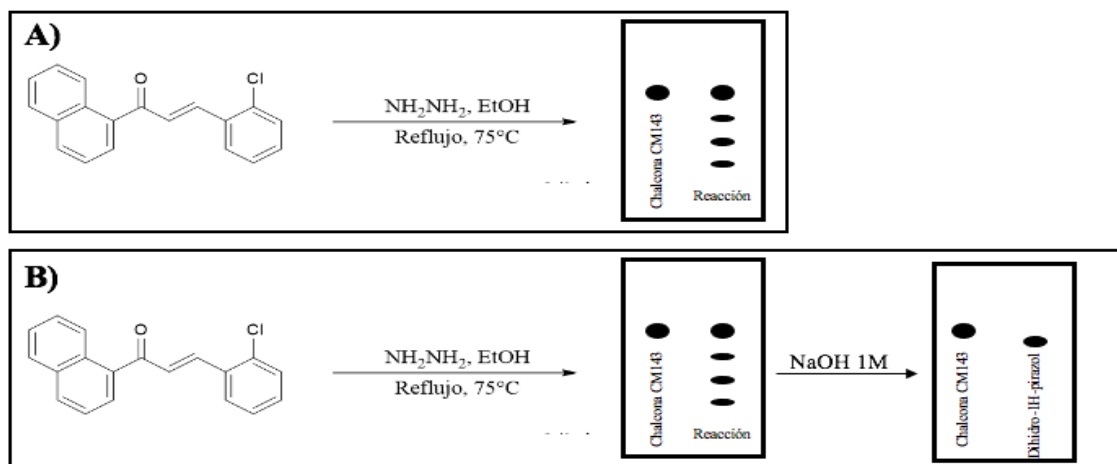
La síntesis de las chalconas se realizó mediante la reacción de Claisen-Schmidt, la cual conlleva una condensación entre un aldehído y una cetona aromática (Esquema 1). La chalcona precursora CCM108 (**A**) se sintetizó con 1-acetonaftona (cantidad en mol) y 4-metoxibenzaldehído (cantidad en mol), así mismo, para la chalcona precursora CCM143 (**B**) se sintetizó con 1-acetonaftona y 2-clorobenzaldehído, ambas chalconas se prepararon de la siguiente manera: en un matraz de bola de 100 ml se colocó la cetona aromática con 5 ml de etanol, una vez disuelto se le añadió un equivalente de hidróxido de sodio (empleando una disolución 0.5 M) esta reacción se dejó en agitación constante por 1 hora, transcurrido ese tiempo se le añadió el aldehído correspondiente y se dejó agitando durante 24 horas aproximadamente. La chalcona CCM108 (**A**) es un líquido viscoso color amarillo (Figura

15A), que en CCF se observa una mancha amarilla. Por otra parte, la chalcona CCM143 (**B**) es un sólido verde opaco (Figura 15B) y esta no deja color al plaquear. Las estructuras de las chalconas CM108 y CM143 se confirmó mediante RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 1 y 2).

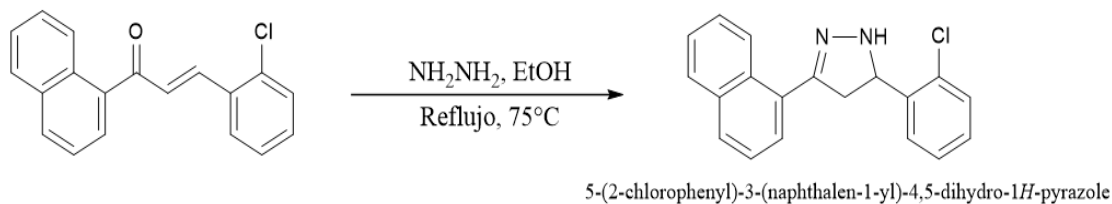


**Figura 15.** Apariencia y color de las chalconas. **A)** CM108 y **B)** CM143

Para la síntesis de CM143, se utilizó hidracina monohidratada en medio de etanol a reflujo a  $75^\circ\text{C}$ . Después de aproximadamente 2 horas a reflujo, se monitoreo la reacción mediante cromatografía en capa fina (CCF), donde se observaron varias manchas (Esquema 2A). Debido a esto, se añadieron aproximadamente 10 gotas de NaOH 1M y se puso la reacción en agitación aproximadamente 15 minutos, observándose un precipitado color blanquecino. Se realizó una CCF del precipitado y se observó una mancha con un  $r_f$  distinto al de la chalcona precursora (Esquema 2B). Sin embargo, mediante esta metodología se obtuvo la molécula dihidro-1H-pirazol (Esquema 3) la cual fue caracterizada por RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 3). Este compuesto se degrada con la luz y la humedad, ya que, al exponerlo a la luz, el sólido cambia a un color café y al monitoriar por CCF se observan varias manchas como se muestra en el esquema 2A. También se observó que al añadirle una gota de NaOH 1M, el compuesto volvía a un color blanquecino y al plaquear se observaba una sola mancha como se muestra en el esquema 2B.

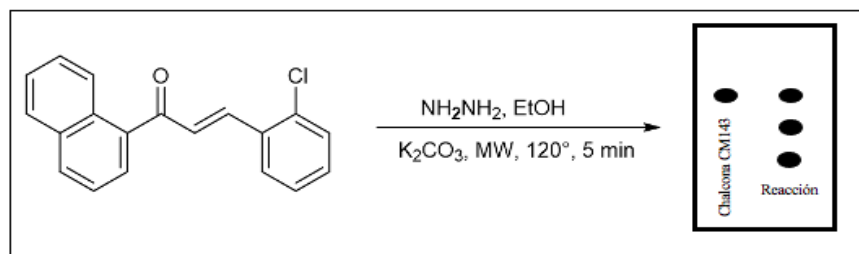


**Esquema 2.** Monitoreo de la reacción por CCF. El eluyente utilizado fue Hexano:Acetato de Etilo (Hex:AcOEt) en una proporción 9:1.



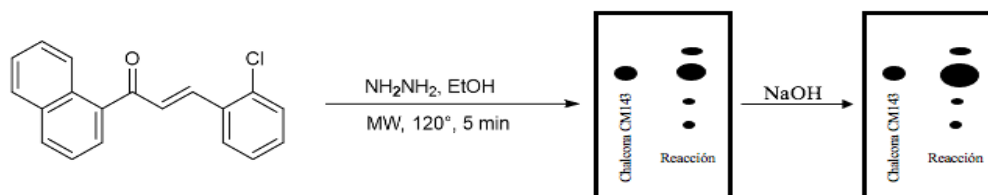
**Esquema 3.** Reacción general de la formación de la dihidro-1H-pirazol.

Se probaron otras rutas sintéticas para la formación del pirazol. Corradi y colaboradores (2007),<sup>70</sup> utilizaron cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y p-toluensulfonyl hidrazida (TsNHNH<sub>2</sub>) con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en microondas. Si bien, en el laboratorio no se contaba con el TsNHNH<sub>2</sub> se sustituyó por hidrazina monohidratada, como se muestra en el esquema 4. Esta metodología se siguió mediante CCF, en la placa se observaban 3 manchas muy pronunciadas, por lo que no se logró determinar si alguna de ellas era el pirazol (Esquema 4).



**Esquema 4.** Reacción asistida por microondas. Fase de elución fue Hex:AcOEt en proporción 8:2.

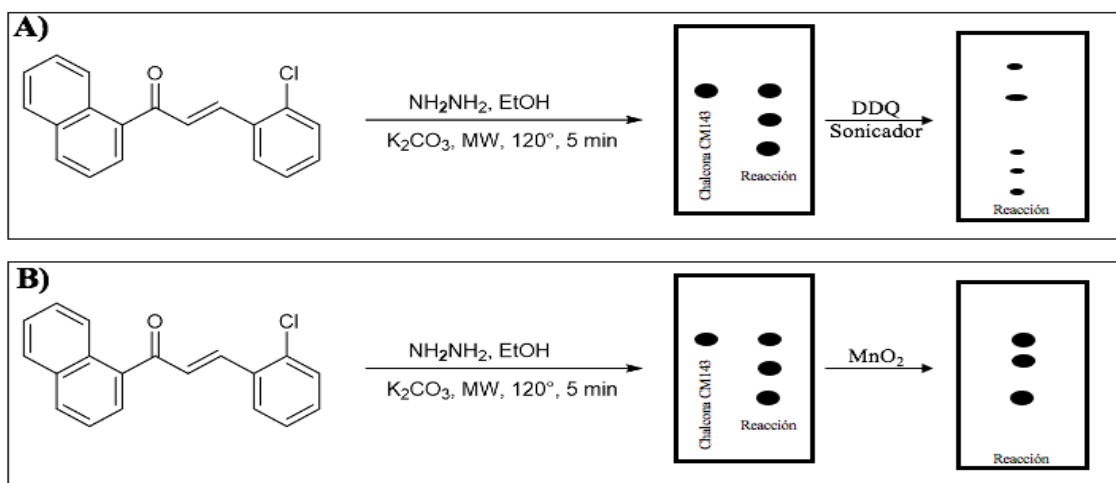
La misma metodología anterior se siguió, pero con una ligera modificación, es decir, no se utilizó el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Al observar la reacción por CCF se observan cuatro manchas, una de ellas más pronunciada con el mismo rf de la chalcona. Cuando la reacción se sacó del microondas, se goteó aproximadamente 20 gotas de NaOH 1M y se puso en agitación por unos 10 minutos, la reacción se monitoreo por CCF y se observó la misma cantidad de manchas, sin embargo, la mancha más pronunciada aumento de tamaño, como se observa en el Esquema 5. Además de que la reacción es más rápida, se forma un producto mayoritario con la adición de NaOH que con el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Además, tiene un rf distinto al de la dihidro-1H-pirazol, por lo que sí se purifica y se envía a RMN <sup>1</sup>H podría confirmarse o descartarse la formación del pirazol.



**Esquema 5.** Reacción asistida por microondas sin la presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La fase de elución fue Hex:AcOEt en proporción 8:2

Huang y Katzenellenbogen (2000),<sup>71</sup> obtuvieron pirazoles a través de la oxidación de pirazolinas con agentes oxidantes como 2,3-Dicloro-5,6-Diciano-1,4-Benzoquinona (DDQ)

y óxido de manganeso ( $\text{MnO}_2$ ). Para la reacción con DDQ, se tomaron 3 ml de la reacción realizada en el esquema 4, al que posteriormente se adicionó el DDQ y se pasó al sonicador por una hora y media. Esta reacción se monitoreó por CCF, sin embargo, no se observan avances en cuanto a las manchas (Esquema 6A). Del mismo modo, con  $\text{MnO}_2$  la reacción se ve con las mismas manchas, sin ver algún cambio notorio en la reacción (Esquema 6B). Esto se podría deber a que se tomó parte de otra reacción y solo se añadieron los oxidantes, por lo que se sugiere tomar directamente la dihidro-1H-pirazolina y estequiométricamente añadir el DDQ y el  $\text{MnO}_2$ . Estas reacciones se realizaron por separado como se muestra en el Esquema 6.



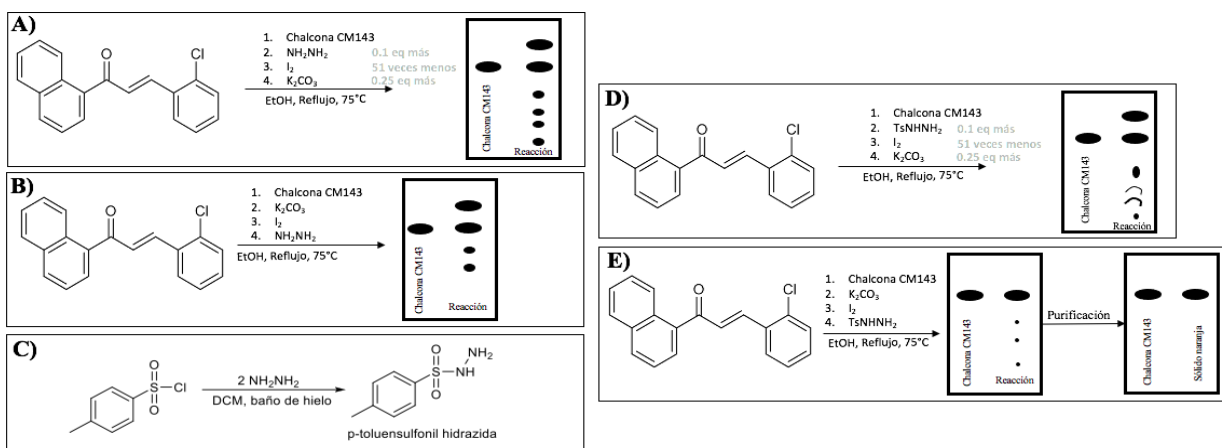
**Esquema 6.** Reacción realizada con A) DDQ y B)  $\text{MnO}_2$ ). Fase de elución fue Hex:AcOEt en proporción 8:2

En otro estudio realizado por Zhang et al. (2016),<sup>72</sup> sintetizaron pirazoles usando carbonilos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados,  $\text{TsNHNH}_2$  y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  usando  $\text{I}_2$  como catalizador. Al no contar con el  $\text{TsNHNH}_2$  se utilizó  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  monohidratada, como se muestra en el Esquema 7. En el estudio, se añadieron las materias primas en un orden específico con proporciones diferentes (1. Chalcona, 2.  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ , 3.  $\text{I}_2$ , 4.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ), es decir, a la cantidad de chalcona añadida, se agregó 0.1 equivalentes más de  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  monohidratada, 0.25 equivalentes más de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y 51 veces menos de  $\text{I}_2$ . La reacción se dejó en reflujo por 2 horas aproximadamente, luego se monitoreó la reacción por CCF obteniendo muchos subproductos (Esquema 7A). Por otro lado, se propuso un orden diferente para añadir las materias primas y en concentraciones estequiométricas (1. Chalcona, 2.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 3.  $\text{I}_2$ , 4.  $\text{NH}_2\text{NH}_2$ ), y se observó en la CCF una reacción más “limpia”, es decir, con menos subproductos (Esquema 7B).

Posteriormente, se sintetizó el  $\text{TsNHNH}_2$  usando cloruro de p-toluensulfonilo ( $\text{TsCl}$ ) en diclorometano (DCM) en baño de hielo, como se muestra en el esquema 7C. La estructura fue confirmada por RMN  $^1\text{H}$  (Anexo 4). Al tener el  $\text{TsNHNH}_2$  se prosiguió con la metodología reportada por Zhang y colaboradores en el orden y concentraciones anteriormente mencionado (Esquema 7D). Del mismo modo, se realizó la reacción en el

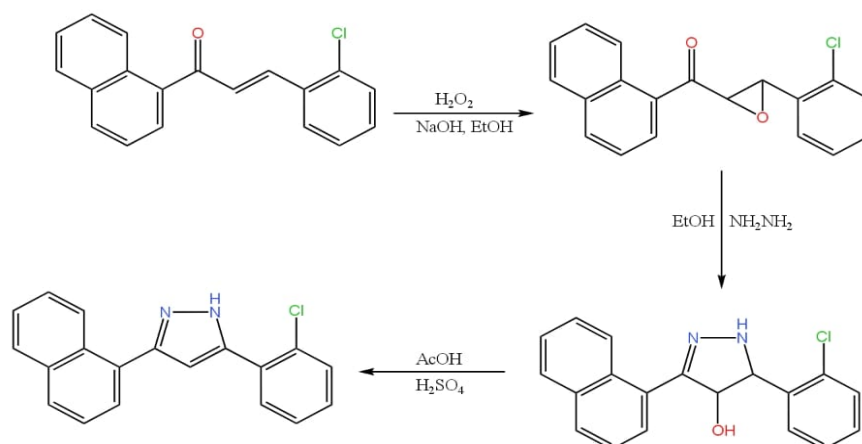
orden sugerido, se observó el consumo de materias primas y un producto mayoritario, el cual se purificó, obteniéndose un sólido anaranjado (Esquema 7E). El compuesto mayoritario se llevó a RMN  $^1\text{H}$  e IR, sin embargo, los espectros confirmaron la estructura de la chalcona precursora CCM143, obteniendo un punto de fusión de 90-93°C, similar al de la chalcona. El cambio de color del sólido puede deberse a un rearrreglo cristalográfico de la molécula.

A pesar de los resultados, la reacción con  $\text{TsNHNH}_2$  en el orden sugerido y estequiométricamente, muestran una reacción más limpia, por lo que podría realizarse en otras condiciones de reacción como aumento de temperatura, cambio de disolvente, reacción en microondas, en sonicador, etc.



**Esquema 7.** Representaciones de las reacciones basadas en la metodología realizada por Zhang et al. (2016). Sistema de elución Hex:AcOEt en proporción 9:1

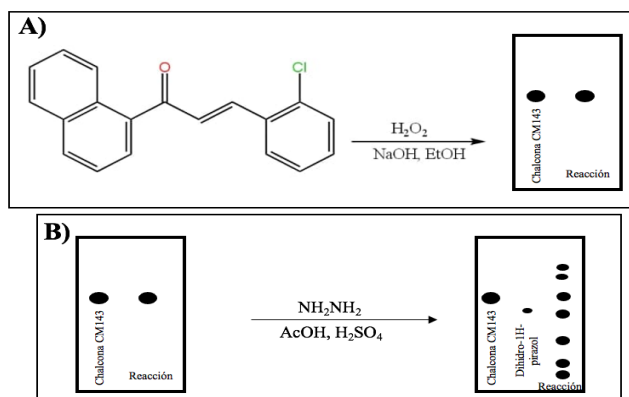
En investigaciones realizadas por Bhat et al. (2005),<sup>73</sup> sintetizaron pirazoles empleando chalconas y peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), la reacción consistió en formar dos intermediarios antes de formar el pirazol (Esquema 8).



**Esquema 8.** Reacción general de la síntesis de pirazol con  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Realizada por Bhat et al. (2005).

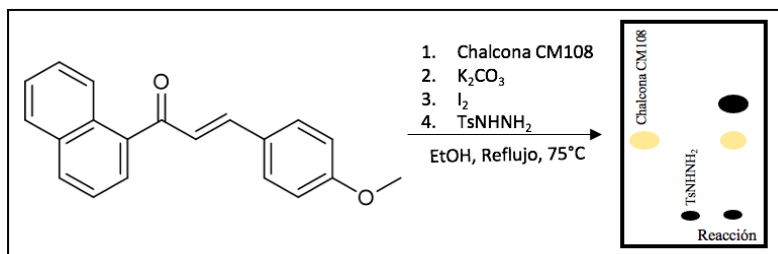
Para formar la epoxichalcona, primeramente, se solubilizó la chalcona en EtOH, seguidamente se añadió  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{NaOH}$  en baño de hielo. La reacción se dejó en agitación en

baño de hielo aproximadamente 12 horas, formándose un precipitado blanco, y al plaquear este sólido se observa una sola mancha (Esquema 9A). Posteriormente, se añadió la  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  en medio de EtOH y se dejó en reflujo durante 6 horas. Luego se añadió AcOH y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y se volvió a dejar en agitación por 6 horas. Después se neutralizó la reacción con  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Al añadir la base se formó un precipitado color café y se plaqueó (Esquema 9B), se observan muchos subproductos por lo que no se pudo separar ni purificar dado que son rendimientos muy bajos para cada mancha y un alto gasto de reactivo para su purificación..



**Esquema 9.** Reacción realizada para la formación del pirazol con  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Por otra parte, para sintetizar CM108, se utilizó la metodología realizada por Zhang y colaboradores (2016),<sup>72</sup> con la adición de las materias primas en el orden sugerido (1. Chalcona, 2.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 3.  $\text{I}_2$ , 4.  $\text{TsNHNH}_2$ ) estequiométricamente. La reacción se dejó en reflujo aproximadamente tres horas. Al monitorear la reacción por CCF se observa un nuevo producto, ya que las demás manchas corresponden a la chalcona y al  $\text{TsNHNH}_2$  (Esquema 10). Se realizó una columna cromatográfica para separar el compuesto. Este se purificó obteniendo un sólido grisáceo. Al realizarse espectro de IR, se observan bandas confirmatorias de enlaces  $\text{C}=\text{N}$  y  $\text{N}-\text{H}$  (Anexo 5). Sin embargo, al mandarse a RMN  $^1\text{H}$  se observa un espectro con muchas impurezas, por lo que no se pudo integrar los hidrógenos.



**Esquema 10.** Reacción basada en la metodología realizada por Zhang et al. (2016). Sistema de elución Hex:AcOEt en proporción 9:1

## 4.4 Caracterización de las moléculas sintetizadas

Los compuestos sintetizados han sido caracterizados por infrarrojo (IR) y RMN  $^1\text{H}$ .

### **(E)-3-(4-metoxifenil)-1-(naftalen-1-ilo)prop-2-en-1-ona. Chalcona CCM108.**

Líquido viscoso color amarillo. RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  3.78 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.92 (m, 1H, ArH), 7.18 (d, 1H, ArH), 7.54 (m, 5H, anillo naftaleno), 7.74 (dd,  $\alpha$ -H-insaturado), 7.91 (m, 1H, ArH cerca del carbonilo), 7.99 (dt,  $\beta$ -H-insaturado), 8.3 (m, 1H, ArH cerca del carbonilo) ppm.

### **5-(4-metoxifenil)-3-(naftalen-1-ilo)-1H-pirazol. CM108.**

IR (KBr): 3217.98 (enlace N-H), 3030.03- 2807.66 (enlaces C-H aromáticos), 1674.27 (enlace C=N), 1589.62 (enlace C=C), 1371.55 (enlace C-O-C)  $\text{cm}^{-1}$

### **(E)-3-(2-clorofenil)-1-(naftalen-1-ilo)prop-2-en-1-ona. Chalcona CCM143.**

Sólido verde opaco, punto de fusión: 93-95°C, rendimiento: 90.6-94.6%. RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz  $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  7.31 (m, 3H, ArH), 7.43 (d, 1H, anillo naftaleno), 7.56 (m, 3H, anillo naftaleno), 7.73 (d,  $\beta$ -H-insaturado), 7.82 (d, 1H, anillo de naftaleno), 7.92 (d,  $\alpha$ -H-insaturado), 8.03 (m, 2H, anillo de naftaleno), 8.38 (d, 1H, anillo de naftaleno) ppm. IR (KBr): 3889.41 – 3654.12 (enlace C-H), 1650, 1596.79 (enlace C=O y enlace C=C de estiramiento), 1050.18, 783.33 (enlace C-Cl)  $\text{cm}^{-1}$

### **5-(2-clorofenil)-3-(naftalen-1-ilo)-4,5-dihidro-1H-pirazol. Dihidro-1H-pirazol CM143.**

Sólido blanquecino, punto de fusión: 83°C. RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz  $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  3.14 (dd, 1H, dihidro-1H-pirazol), 3.82 (dd, 1H, dihidro-1H-pirazol), 5.37 (t, 1H, ArH), 6.26 (s, 1H, N-H), 7.27 (dtd, 2H, ArH, anillo de naftaleno), 7.43 (m, 1H, ArH), 7.52 (ddd, 2H, anillo naftaleno y ArH), 7.6 (ddd, 1H, anillo naftaleno), 7.7 (dd, 1H, anillo naftaleno), 7.86 (m, 2H, anillo naftaleno), 9.22 (d, 1H, anillo naftaleno) ppm.

### **Cloruro de p-toluensulfonilhidrazida**

Sólido blanco, punto de fusión 105-115°C, rendimiento: 86.54%. RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz  $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  2.32 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 3.48 (s, 4H,  $-\text{NH}_2$ ), 7.22 (d, 1H, ArH), 7.68 (d, 1H, ArH), 8.39 (s, 1H, -NH) ppm.

## CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

El estudio de acoplamiento molecular y el análisis por consenso permitió seleccionar dos derivados heterocíclicos de chalconas que presentaron mejores energías de unión hacia tubulina y COX-2. El estudio de la interacción ligando-proteína demostró para las chalconas heterocíclicas nuevas interacciones con diferentes residuos en comparación con los ligandos de referencias, lo que permite suponer que estos compuestos tendrán mejor actividad inhibitoria sobre tubulina y COX-2; por lo que creemos que estas moléculas pueden exhibir citotoxicidad sobre células de cáncer. Las chalconas precursoras fueron sintetizadas y caracterizadas, también se obtuvieron derivados heterocíclicos de pirazolininas, lo que abre un panorama extenso para explorar diversas alternativas de síntesis para obtener derivados de pirazol con buenos rendimientos de reacción.



## CAPÍTULO 6. PERSPECTIVAS

A manera de perspectivas, las chalconas precursoras serán evaluadas en líneas celulares cancerígenas y sobre las proteínas aisladas.

Se pretende mejorar o encontrar la ruta de síntesis para obtener el anillo de pirazol en lugar del anillo de pirazolina.

## CAPÍTULO 7. REFERENCIAS

1. OMS. CANCER. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (2022).
2. OMS. Cancer. [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1) (2019).
3. American Association for Cancer Research (AACR). WHAT IS CANCER? <https://www.cancer.org/cancer/understanding-cancer/what-is-cancer.html> (2024).
4. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* vol. 144 646–674 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013> (2011).
5. Ferlay J *et al.* Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. (2024).
6. The International Agency for Research on Cancer (IARC). The International Agency for Research on Cancer (IARC). (2024).
7. Muhammad T. Amjad, Anusha Chidharla & Anup Kasi. Cancer Chemotherapy. (2023).
8. Tilsed, C. M., Fisher, S. A., Nowak, A. K., Lake, R. A. & Lesterhuis, W. J. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in Oncology* vol. 12 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.960317> (2022).
9. Behranvand, N. *et al.* Chemotherapy: a double-edged sword in cancer treatment. *Cancer Immunology, Immunotherapy* vol. 71 507–526 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03013-3> (2022).
10. Alam, A. Chemotherapy Treatment and Strategy Schemes: A Review. *Open Access J Toxicol* 2, (2018).
11. Zhou, S. F. & Zhong, W. Z. Drug design and discovery: Principles and applications. *Molecules* vol. 22 Preprint at <https://doi.org/10.3390/molecules22020279> (2017).
12. Tekale, S. *et al.* Biological Role of Chalcones in Medicinal Chemistry. in *Vector-Borne Diseases - Recent Developments in Epidemiology and Control* (IntechOpen, 2020). doi:10.5772/intechopen.91626.
13. Maciejewska, N. *et al.* Novel chalcone-derived pyrazoles as potential therapeutic agents for the treatment of non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 12, (2022).
14. Ouyang, Y. *et al.* Chalcone derivatives: Role in anticancer therapy. *Biomolecules* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3390/biom11060894> (2021).
15. Weaver, B. A. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Molecular Biology of the Cell* vol. 25 2677–2681 Preprint at <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-04-0916> (2014).
16. Larionova, I. *et al.* Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy. *OncoImmunology* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1596004> (2019).
17. Thorn, C. F. *et al.* Doxorubicin pathways: Pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics* 21, 440–446 (2011).
18. Miura, K. *et al.* 5-FU metabolism in cancer and orally-administrable 5-FU drugs. *Cancers* vol. 2 1717–1730 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers2031717> (2010).
19. Basu, A. & Krishnamurthy, S. Cellular responses to cisplatin-induced DNA damage. *Journal of Nucleic Acids* vol. 2010 Preprint at <https://doi.org/10.4061/2010/201367> (2010).
20. David C. Young. *COMPUTATIONAL DRUG DESIGN. A Guide for Computational and Medicinal Chemists.* (Hoboken, New Jersey, 2009).
21. Hartmut Derendorf Ph.D. & Stephan Schmidt Ph.D. *Rowland and Tozer's Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Concepts and Applications.* (2019).



22. Vohora, Divya. & Singh, Gursharan. *Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research*. (Academic Press, an imprint of Elsevier, 2018).
23. Hughes, J. P., Rees, S. S., Kalindjian, S. B. & Philpott, K. L. Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology* vol. 162 1239–1249 Preprint at <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x> (2011).
24. Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. D. & Medina-Franco, J. L. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educacion Química* 28, 51–58 (2017).
25. Doytchinova, I. Drug Design—Past, Present, Future. *Molecules* vol. 27 Preprint at <https://doi.org/10.3390/molecules27051496> (2022).
26. Schneider, G. & Fechner, U. Computer-based de novo design of drug-like molecules. *Nature Reviews Drug Discovery* vol. 4 649–663 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrd1799> (2005).
27. Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R. & Bajorath, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery* vol. 3 935–949 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrd1549> (2004).
28. Medina-Franco José Luis, López-Vallejo Fabian & Castillo Rafael. gabriela\_araujo,+XVII-4-PROFD1. *Educación Química* (2018) doi:<https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.4.66027>.
29. Chang, Y. *et al.* A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics* vol. 15 Preprint at <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010049> (2023).
30. Nimgampalle, M., Devanathan, V. & Saxena, A. Importance of in silico studies on the design of novel drugs from medicinal plants against 21st-century pandemics: Past, present, and future. in *Pandemic Outbreaks in the 21st Century: Epidemiology, Pathogenesis, Prevention, and Treatment* 211–223 (Elsevier, 2021). doi:10.1016/B978-0-323-85662-1.00013-6.
31. Rajagopal, K. *et al.* In Silico Drug Design of Anti-Breast Cancer Agents. *Molecules* 28, (2023).
32. Sehrawat, R. *et al.* In silico design of novel bioactive molecules to treat breast cancer with chlorogenic acid derivatives: a computational and SAR approach. *Front Pharmacol* 14, (2023).
33. Mirzaei, S., Hadizadeh, F., Eisvand, F., Mosaffa, F. & Ghodsi, R. Synthesis, structure-activity relationship and molecular docking studies of novel quinoline-chalcone hybrids as potential anticancer agents and tubulin inhibitors. *J Mol Struct* 1202, (2020).
34. Čermák, V. *et al.* Microtubule-targeting agents and their impact on cancer treatment. *European Journal of Cell Biology* vol. 99 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2020.151075> (2020).
35. Parker, A. L., Kavallaris, M. & McCarroll, J. A. Microtubules and their role in cellular stress in cancer. *Frontiers in Oncology* vol. 4 JUN Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00153> (2014).
36. Lopes, D. & Maiato, H. The tubulin code in mitosis and cancer. *Cells* vol. 9 1–17 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cells9112356> (2020).
37. Trisciuglio, D. & Degrossi, F. The tubulin code and tubulin-modifying enzymes in autophagy and cancer. *Cancers* vol. 14 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cancers14010006> (2022).
38. Fife, C. M., McCarroll, J. A., Kavallaris, M., Kavallaris, M. & Program, T. Movers and shakers: cell cytoskeleton in cancer metastasis Correspondence LINKED ARTICLES. (2014) doi:10.1111/bph.2014.171.issue-24.
39. Jordan, M. A. & Wilson, L. *Microtubules and Actin Filaments: Dynamic Targets for Cancer Chemotherapy*.

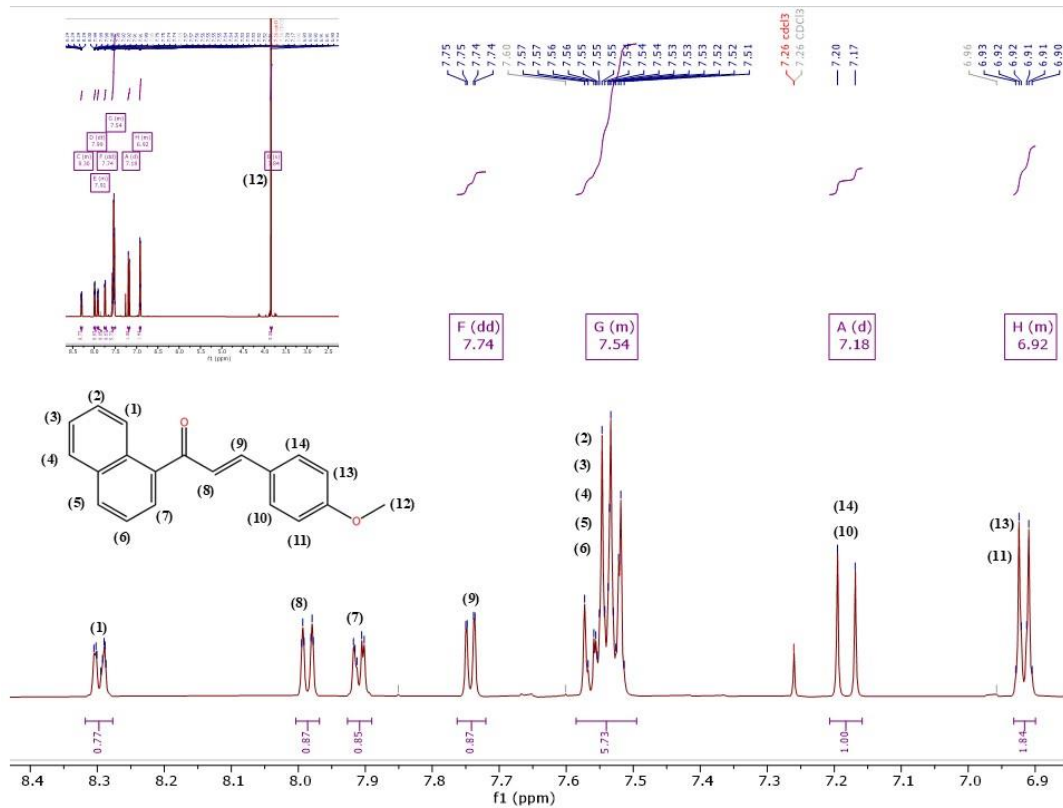


40. Giannakakou, P., Sackett, D. & Fojo, T. *Tubulin/Microtubules: Still a Promising Target for New Chemotherapeutic Agents*. <http://jnco.oxfordjournals.org/>.
41. Prota, A. E. *et al.* Structural insight into the stabilization of microtubules by taxanes. *Elife* 12, (2023).
42. Pang, L. Y., Hurst, E. A. & Argyle, D. J. Cyclooxygenase-2: A role in cancer stem cell survival and repopulation of cancer cells during therapy. *Stem Cells International* vol. 2016 Preprint at <https://doi.org/10.1155/2016/2048731> (2016).
43. Hashemi Goradel, N., Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B. & Mortezaee, K. Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. *Journal of Cellular Physiology* vol. 234 5683–5699 Preprint at <https://doi.org/10.1002/jcp.27411> (2019).
44. Hosseini, F. *et al.* Anti-inflammatory and anti-tumor effects of  $\alpha$ -L-guluronic acid (G2013) on cancer-related inflammation in a murine breast cancer model. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 98, 793–800 (2018).
45. Todoric, J., Antonucci, L. & Karin, M. Targeting inflammation in cancer prevention and therapy. *Cancer Prevention Research* vol. 9 895–905 Preprint at <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-16-0209> (2016).
46. Majumder, M., Landman, E., Liu, L., Hess, D. & Lala, P. K. COX-2 elevates oncogenic miR-526b in breast cancer by EP4 activation. *Molecular Cancer Research* 13, 1022–1033 (2015).
47. Xu, L. *et al.* *COX-2 Inhibition Potentiates Antiangiogenic Cancer Therapy and Prevents Metastasis in Preclinical Models*. [www.ScienceTranslationalMedicine.org](http://www.ScienceTranslationalMedicine.org) (2014).
48. Sahu, N. K., Balbhadra, S. S., Choudhary, J. & Kohli, D. V. *Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review*. *Current Medicinal Chemistry* vol. 19 (2012).
49. Rozmer, Z. & Perjési, P. Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews* vol. 15 87–120 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9387-8> (2014).
50. Zhou, K., Yang, S. & Li, S. M. Naturally occurring prenylated chalcones from plants: Structural diversity, distribution, activities and biosynthesis. *Natural Product Reports* vol. 38 2236–2260 Preprint at <https://doi.org/10.1039/d0np00083c> (2021).
51. Do, T. H. *et al.* Synthesis and selective cytotoxic activities on rhabdomyosarcoma and noncancerous cells of some heterocyclic chalcones. *Molecules* 21, (2016).
52. Karthikeyan, C. *et al.* *Advances in Chalcones with Anticancer Activities*. vol. 10 (2015).
53. Higuchi, K. *et al.* Sofalcone, a gastroprotective drug, promotes gastric ulcer healing following eradication therapy for *Helicobacter pylori*: A randomized controlled comparative trial with cimetidine, an H<sub>2</sub>-receptor antagonist. in *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* vol. 25 (Blackwell Publishing, 2010).
54. Gao, F., Huang, G. & Xiao, J. Chalcone hybrids as potential anticancer agents: Current development, mechanism of action, and structure-activity relationship. *Medicinal Research Reviews* vol. 40 2049–2084 Preprint at <https://doi.org/10.1002/med.21698> (2020).
55. Nayak, Y. N., Gaonkar, S. L. & Sabu, M. Chalcones: Versatile intermediates in heterocyclic synthesis. *Journal of Heterocyclic Chemistry* vol. 60 1301–1325 Preprint at <https://doi.org/10.1002/jhet.4617> (2023).
56. Kapkoti, D. S., Singh, S., Luqman, S. & Bhakuni, R. S. Synthesis of novel 1,2,3-triazole based artemisinin derivatives and their antiproliferative activity. *New Journal of Chemistry* 42, 5978–5995 (2018).
57. Zhang, J., Wang, S., Ba, Y. & Xu, Z. Tetrazole hybrids with potential anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* vol. 178 341–351 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.071> (2019).



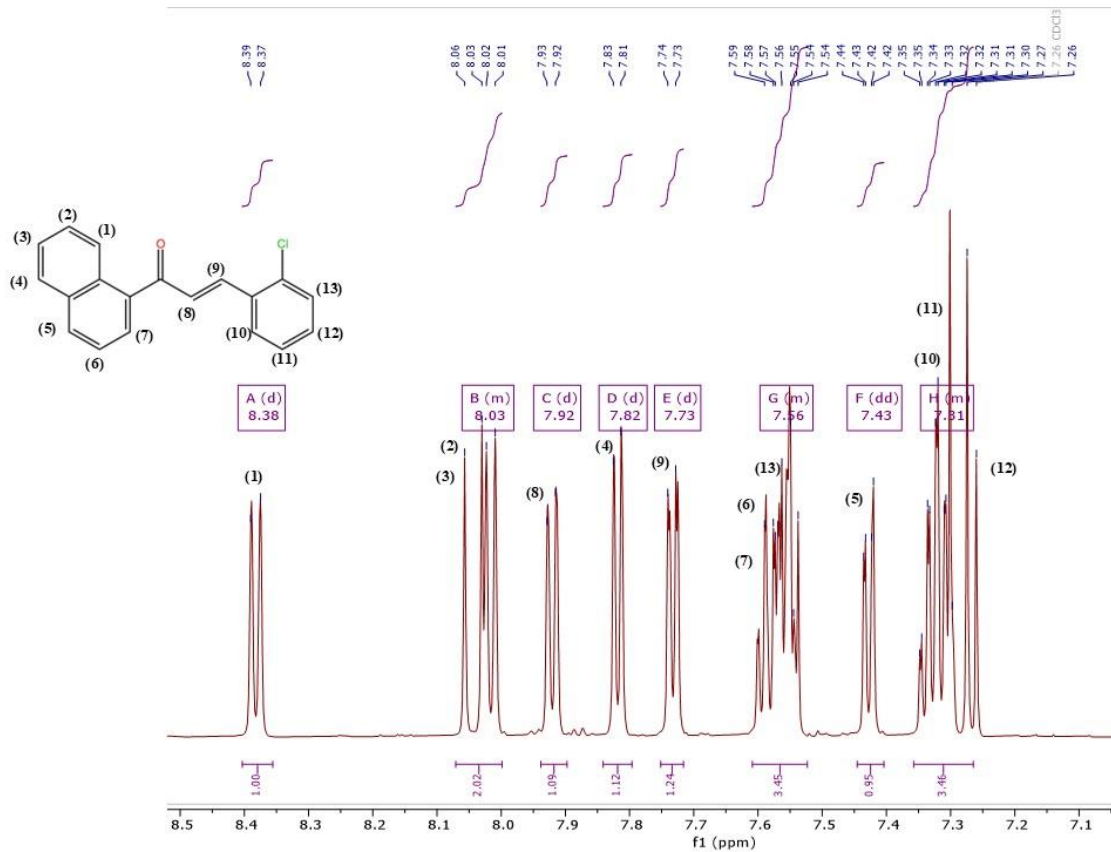
58. Faria, J. V. *et al.* Recently reported biological activities of pyrazole compounds. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* vol. 25 5891–5903 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.09.035> (2017).
59. Naim, M. J., Alam, O., Nawaz, F., Alam, M. J. & Alam, P. Current status of pyrazole and its biological activities. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* vol. 8 2–17 Preprint at <https://doi.org/10.4103/0975-7406.171694> (2016).
60. Monga, V. *et al.* Synthesis and evaluation of new chalcones, derived pyrazoline and cyclohexenone derivatives as potent antimicrobial, antitubercular and antileishmanial agents. *Medicinal Chemistry Research* 23, 2019–2032 (2014).
61. Hawash, M. M. A., Kahraman, D. C., Eren, F., Cetin Atalay, R. & Baytas, S. N. Synthesis and biological evaluation of novel pyrazolic chalcone derivatives as novel hepatocellular carcinoma therapeutics. *Eur J Med Chem* 129, 12–26 (2017).
62. Sobhi, M. G., Magda A. Abdallah, Ikhlass M. Abbas & Mariam S.H. Kazem. Synthesis, Cytotoxicity Evaluation, Molecular Docking and Utility of Novel Chalcones as Precursors for Heterocycles Incorporating Pyrazole Moiety. *Med Chem (Los Angeles)* 14, 344–355 (2018).
63. Hussain, S. *et al.* Cancer drug resistance: A fleet to conquer. *J Cell Biochem* 120, 14213–14225 (2019).
64. Huerta, E. , M. Cáncer: El daño que provoca la “toxicidad financiera”. (2015).
65. Adjei, A. A. & Hidalgo, M. Intracellular signal transduction pathway proteins as targets for cancer therapy. *Journal of Clinical Oncology* vol. 23 5386–5403 Preprint at <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.23.648> (2005).
66. Dolhyi, V., Avierin, D., Hojoui, M. & Bondarenko, I. Tubulin Role in Cancer Development and Treatment. *Asp Biomed Clin Case Rep. Sept* 5, 15–22 (2019).
67. Wattanathamsan, O. & Pongrakhananon, V. Post-translational modifications of tubulin: their role in cancers and the regulation of signaling molecules. *Cancer Gene Therapy* vol. 30 521–528 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41417-021-00396-4> (2023).
68. Wang, D. & Dubois, R. N. Prostaglandins and cancer. *Gut* vol. 55 115–122 Preprint at <https://doi.org/10.1136/gut.2004.047100> (2006).
69. Bell, E. W. & Zhang, Y. DockRMSD: An open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *J Cheminform* 11, (2019).
70. Corradi, A. *et al.* New ‘Green’ Approaches to the Synthesis of Pyrazole Derivatives. *Molecules* 12, 1482–1495 (2007).
71. Huang, Y. R. & Katzenellenbogen, J. A. Regioselective synthesis of 1,3,5-triaryl-4-alkylpyrazoles: Novel ligands for the estrogen receptor. *Org Lett* 2, 2833–2836 (2000).
72. Zhang, H., Wei, Q., Zhu, G., Qu, J. & Wang, B. A facile and expeditious approach to substituted 1H-pyrazoles catalyzed by iodine. *Tetrahedron Lett* 57, 2633–2637 (2016).
73. Bhat, B. A., Puri, S. C., Qurishi, M. A., Dhar, K. L. & Qazi, G. N. Synthesis of 3,5-diphenyl-1H-pyrazoles. *Synth Commun* 35, 1135–1142 (2005).

# ANEXO 1



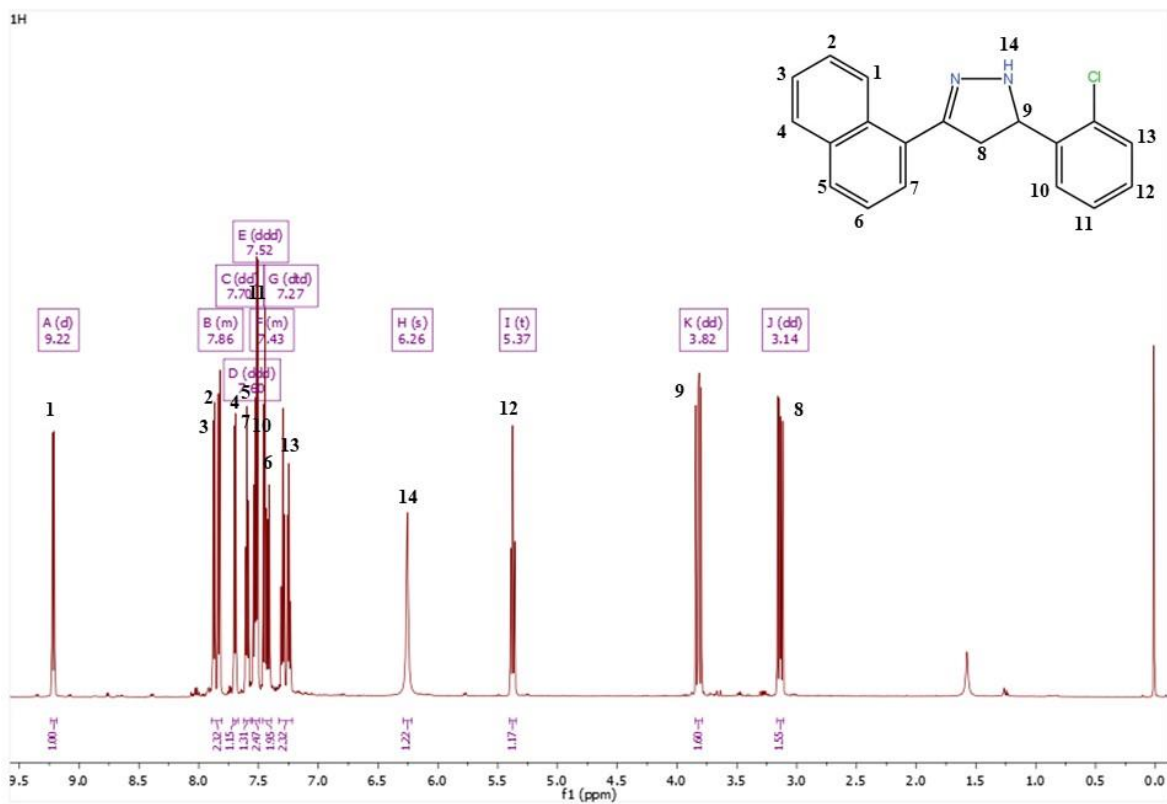
**Espectro de RMN <sup>1</sup>H (experimental). Molécula: Chalcona CM108**

## ANEXO 2



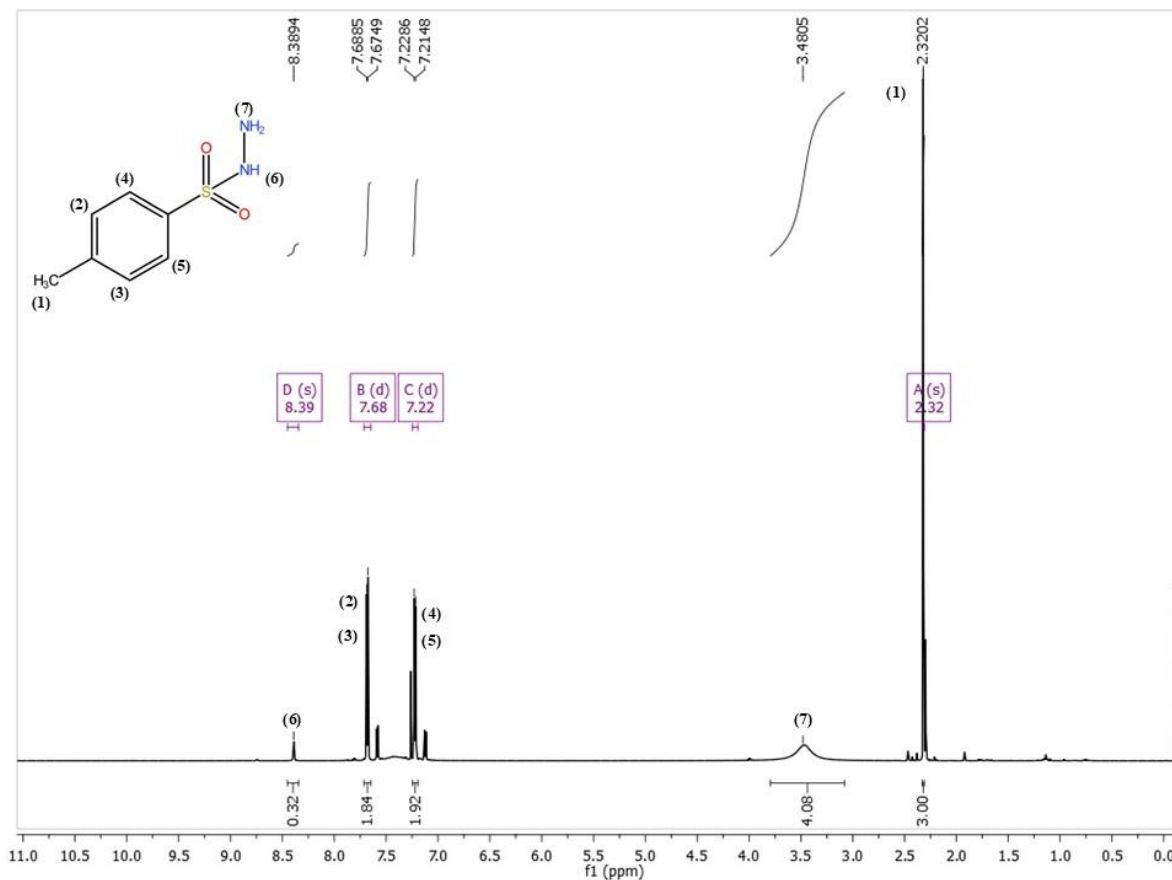
**Espectro de RMN <sup>1</sup>H (experimental). Molécula: Chalcona CM143**

## ANEXO 3



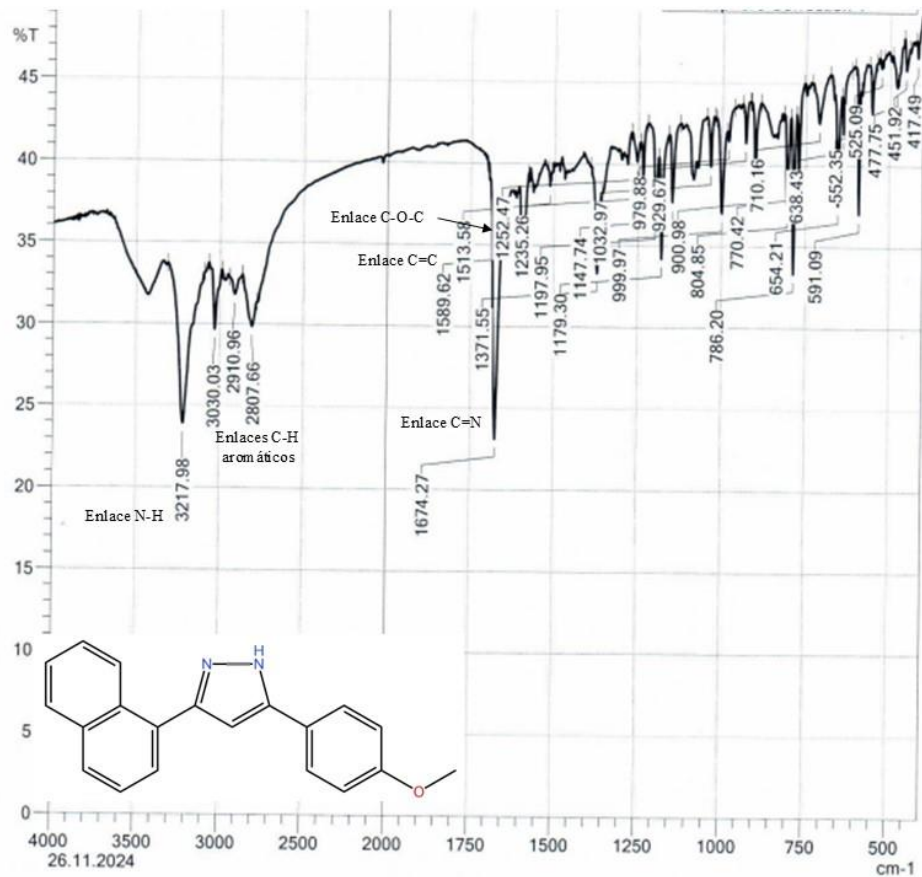
**Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (experimental). Molécula: Dihidro 1H-pirazol CM143**

## ANEXO 4



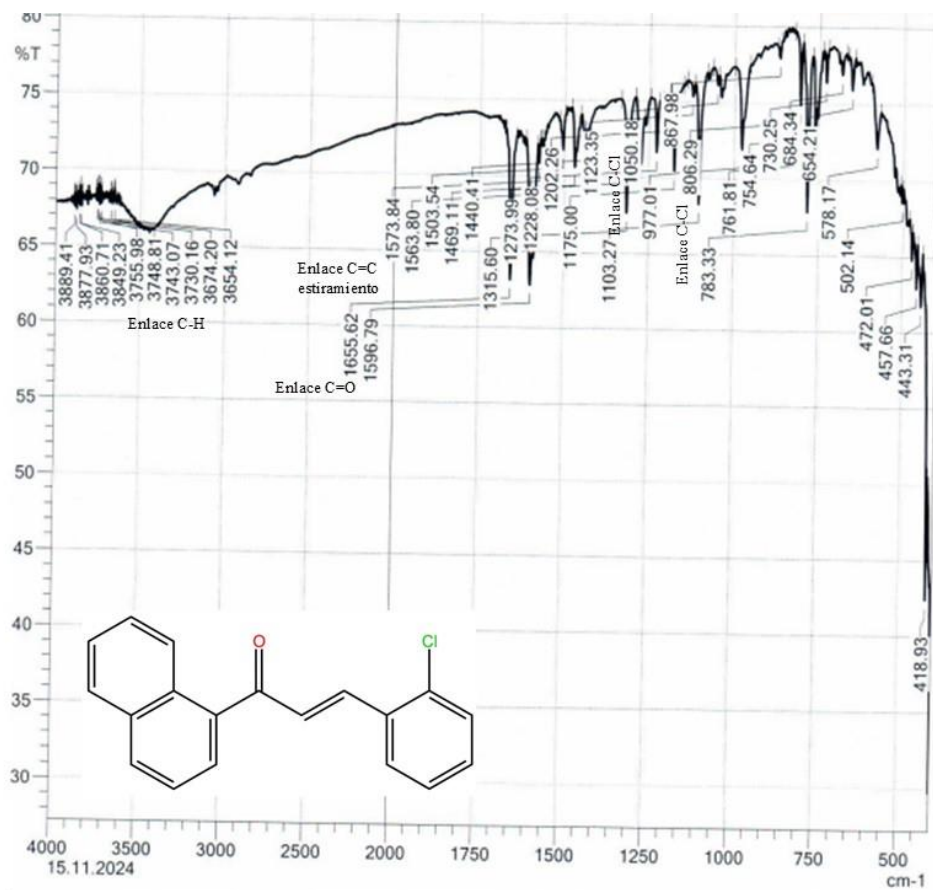
Espectro de RMN <sup>1</sup>H (experimental). Molécula: Cloruro de p-toluensulfonilhidrazida (TsNHNH<sub>2</sub>)

## ANEXO 5



**Espectro de IR (Experimental). Molécula: CM108**

## ANEXO 6



**Espectro de IR (Experimental). Molécula: Chalcona CCM143**