

# Epigenética y modulación química de la transcripción génica con productos naturales

Ángel Rodríguez de Lera

**Resumen:** La Epigenética se ocupa de los cambios en la expresión de los genes que se deben a las modificaciones de la cromatina y no a las alteraciones en la secuencia de bases del genoma. Las proteínas y enzimas relacionadas con la epigenética son dianas valiosas para el tratamiento de diversas enfermedades, tales como el cáncer, los desórdenes neurológicos y las enfermedades metabólicas. La modulación de la actividad de estas enzimas con ligandos de bajo peso molecular, entre ellos los productos naturales, es un primer paso necesario para el desarrollo de epi-fármacos y su uso en terapia.

**Palabras clave:** Epigenética, productos naturales, fármacos, síntesis, mecanismos.

**Abstract:** Epigenetics refers to changes in gene expression that are due to chromatin modifications without changing the genome base sequence. Epigenetics-related proteins and enzymes are valuable targets for the treatment of various diseases, including cancer, neurological disorders and metabolic diseases. The modulation of their activity with small-molecule ligands, among them natural products, is the first required step towards the development of epi-drugs and their use in therapy.

**Keywords:** Epigenetics, natural products, drugs, synthesis, mechanisms.

## 1. INTRODUCCIÓN

La Genética es la parte de la Biología que se ocupa, de forma general, del estudio de los genes y de los mecanismos que regulan la transmisión de los caracteres hereditarios. A nivel molecular, la Genómica aborda la comprensión del genoma o secuencia de bases en el ADN de los organismos y su influencia en el fenotipo biológico.<sup>[1]</sup> La susceptibilidad humana a ciertas enfermedades se atribuye a mutaciones en uno o varios genes. Las mutaciones de la secuencia de bases del genoma mejor estudiadas son las debidas a procesos de desaminación, a las fotolesiones de la radiación ultravioleta, a la radiactividad y a las oxidaciones por especies reactiva de oxígeno generadas por la mitocondria, que producen a menudo daños irreversibles en la información génica de los organismos. Afortunadamente, estos han desarrollado un sofisticado mecanismo de protección de la integridad del genoma en el que participan enzimas de reparación y otras proteínas, las cuales se activan al detectar errores en la secuencia de bases. Precisamente, el Premio Nobel de Química en 2015 se concedió a tres investigadores que descubrieron funciones y mecanismos de acción de alguna de las enzimas reparadoras del ADN: Tomas Lindahl (Francis Crick Institute and Clare

Hall Laboratory, Reino Unido; reparación por excisión de bases), Paul Modrich (Duke University School of Medicine, EEUU; reparación por apareamiento incorrecto o *mismatch*) y Aziz Sancar (North Carolina University School of Medicine, EEUU; reparación de lesiones químicamente complejas, como la dimerización fotoquímica de timinas adyacentes que generan ciclobutanos).<sup>[2]</sup>

Para comprender nuestra propia herencia y la transmisión de los caracteres hereditarios entre generaciones es necesario asumir que el genoma es algo más complejo que la sucesión estática de combinaciones de las cuatro letras (A, T, C y G) que representan los nucleótidos del ADN. Si pensamos que los seres humanos adultos tenemos más de 200 tipos de células diferentes que comparten una secuencia de genes casi idéntica, hay que concluir necesariamente que la secuencia, por sí misma, no puede determinar el destino de dichas células en el proceso de desarrollo embrionario, ni tampoco definir y representar de manera adecuada el estado de cada una de ellas en un momento dado. Tiene que existir una estrategia de diferenciación celular que debe estar basada en la lectura apropiada de la información contenida en los genes por medio de los factores de transcripción o transcripción génica. Es en este nivel donde aparece esa nueva “superestructura dinámica” sobre la secuencia de bases que hoy conocemos como epigenoma.

El término Epigenética (etimológicamente, el prefijo *epi* deriva del griego y significa “en” o “sobre”) fue propuesto en 1942 por Conrad Waddington para representar la “Rama de la Biología que estudia las interacciones entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo” y así poder explicar las alteraciones de genes debidas al entorno que se producen en los organismos. Mediante estos procesos epigenéticos, que también son heredables, nuestras



Departamento de Química Orgánica  
Facultade de Química  
Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO)  
Universidade de Vigo, 36310 Vigo  
C-e: [qolera@uvigo.es](mailto:qolera@uvigo.es)

Á. Rodríguez de  
Lera

Recibido: 20/04/2016. Aceptado: 13/09/2016.

propias experiencias y el contacto con el entorno pueden determinar la herencia biológica hasta extremos insospitados, pudiendo llegar a inducir fenotipos diferentes para organismos en contacto con ambientes distintos. Las variaciones epigenéticas explicarían, por ejemplo, las discordancias entre gemelos idénticos monocigóticos que, teniendo el mismo ADN, pueden ser diferentes e incluso desarrollar enfermedades distintas.

La Epigenética contribuye a controlar y determinar la expresión de los genes a través de modificaciones en una estructura de orden superior denominada cromatina, que es la organización intrínseca del genoma de todas las especies. Piénsese que si uniésemos los 23 cromosomas para conseguir una única copia de los tres mil millones de pares de bases del genoma humano y los extendiésemos, cada secuencia combinada alcanzaría una longitud mayor de dos metros. Sin embargo, esa cadena debe empaquetarse en el interior del núcleo de la célula, que tiene un diámetro medio inferior a 10 micras.<sup>[3]</sup> Para mantener ese grado de empaquetamiento y permitir, al mismo tiempo, el acceso de la maquinaria enzimática responsable de la transcripción de los genes, todos los organismos (desde las levaduras más simples hasta los humanos), organizan sus genomas en una compleja estructura polimérica denominada cromatina. En ella, un núcleo central (*core*) de proteínas conocidas como histonas (dos de cada clase, las llamadas H2A, H2B, H3 y H4) sirve de molde alrededor del cual se dispone el ADN describiendo una estructura de superhélice levógira (Figura 1). Las unidades básicas del polímero de cromatina son los nucleosomas,<sup>[4]</sup> que se repiten en el genoma cada 160 a 240 pares de bases de ADN, y se encuentran separados por una histona de conexión H1.

La Epigenética, en su acepción actual, se ocupa de los cambios en la actividad y la expresión de los genes que se producen por la modificación de la estructura de la cromatina sin alterar la secuencia del ADN.<sup>[3]</sup> Como modificaciones de la cromatina se incluyen su remodelación, los cambios covalentes en el ADN y las histonas, y la acción de los ARN pequeños no codificantes. Las modificaciones epigenéticas llegan a ser las principales responsables del acceso controlado de los factores de transcripción, que son clave en la expresión génica, a la estructura de la cromatina para permitir la inducción de la actividad transcripcional. Determinan, por tanto, si una secuencia específica de genes se expresa o, por el contrario, se silencia (en cuyo caso el gen se dice *amputado*). Desde nuestra perspectiva como químicos, la Epigenética incluye cambios de naturaleza covalente y reversible, tanto en el ADN<sup>[5]</sup> como en las histonas,<sup>[6]</sup> que contribuyen de manera muy importante a la diversidad celular por medio de la regulación dinámica de la expresión global de los genes. El nivel de regulación epigenética, por tanto, se debe a las modificaciones de la cromatina y se produce con independencia de los cambios en la secuencia de bases del genoma.<sup>[7]</sup>

Estudios recientes han concluido que los mecanismos epigenéticos pueden también contribuir a la herencia transgeneracional,<sup>[8]</sup> por lo que los efectos a los que estuvieron expuestos nuestros padres y abuelos (ciertos

© 2016 Real Sociedad Española de Química

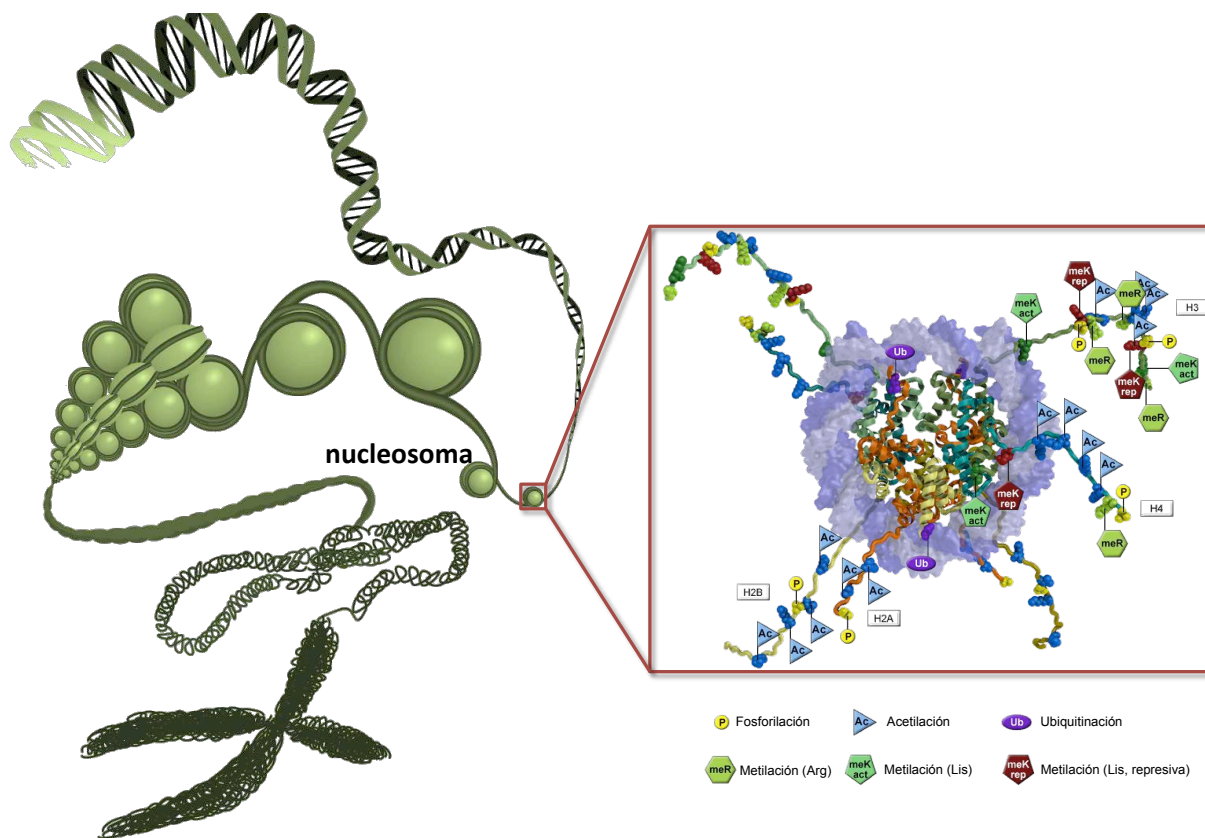


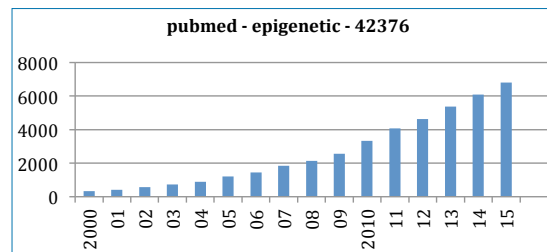
Figura 1. Estructura de la cromatina, el nucleosoma y selección de marcas epigenéticas

compuestos químicos, restricciones dietarias, estrés y condiciones asociadas con la fertilización *in vitro*, por ejemplo) pueden alterar nuestro fenotipo o el de nuestros hijos y nietos. La reprogramación epigenética es, como se indicó, reversible, diferente en cada tipo celular y sujeta a profunda reorganización durante el desarrollo. De hecho, esas alteraciones del epigenoma se denominan “epimutaciones”, de las que se distinguen dos tipos: a) primarias, consecuencia de la programación epigenética (patrones de metilación de ADN e histonas) y, b) secundarias, iniciadas por un efecto genético que desencadena la alteración de la programación epigenética normal y puede propagarse por herencia genética, epigenética o una combinación de ambas. Curiosamente, las epimutaciones pueden transmitirse por la vía paterna al estar asociadas a las escasas regiones del genoma del esperma que permanece complejado con el nucleosoma (1-3% en el ratón).<sup>[8]</sup>

El Consorcio Internacional del Epigenoma Humano (IHEC; <http://ihc-epigenomes.org/>) aspira a determinar los epigenomas de cada tipo de célula del cuerpo humano, estudiar los efectos de variabilidad genética específicos de cada célula, así como la influencia de los cambios que resultan del envejecimiento y de factores ambientales como nutrientes y determinados metabolitos. El Proyecto Roadmap Epigenomics ha desentrañado las huellas epigenómicas de una variada colección de tejidos humanos y de células que se encuentran experimentando transiciones cruciales en su desarrollo. Correlacionando esos epigenomas con la correspondiente información genética, los investigadores han proporcionado el pasado año<sup>[9]</sup> a la comunidad científica información de referencia de 127 tejidos y células. El mapa epigenómico humano ha localizado, hasta el momento las modificaciones covalentes en todos los tipos celulares importantes y también en 58 enfermedades de etiología compleja. Como consecuencia, se dispone de una valiosa información sobre la regulación de la expresión génica en el cuerpo humano por los elementos del epigenoma. El análisis de esos datos permitirá analizar la relación entre células y tejidos y comprender cómo se establecen y controlan los programas de expresión génica específicos de cada tipo celular.

Manolis Kellis (MIT, Boston), el líder del Proyecto Epigenoma Humano resume así la trascendencia de esta aportación científica: “El Proyecto Genoma Humano nos dio el *libro de la vida* que codifica a un ser humano. Todas nuestras células tienen una copia del mismo libro, pero cada una lee distintos capítulos, marca distintas páginas y subraya párrafos y palabras diferentes. El Epigenoma Humano es esta colección de marcas situadas en el genoma de cada tipo celular, que se obtienen mediante las modificaciones químicas del propio ADN y su estructura de empaquetamiento a gran escala”. Los resultados de este ambicioso proyecto, y las nuevas opciones abiertas a la comunidad científica, son difíciles de calibrar en el momento actual, aunque es razonable predecir que su influencia superará a la que ha tenido la secuenciación del genoma (constituido por entre 22.500 y 25.000 genes) en el Proyecto Genoma Humano completado hace 13 años.

La Epigenética es una de las áreas de investigación de mayor dinamismo en la actualidad (Figura 2). Al tratarse de alteraciones moleculares, la Química y los químicos es-



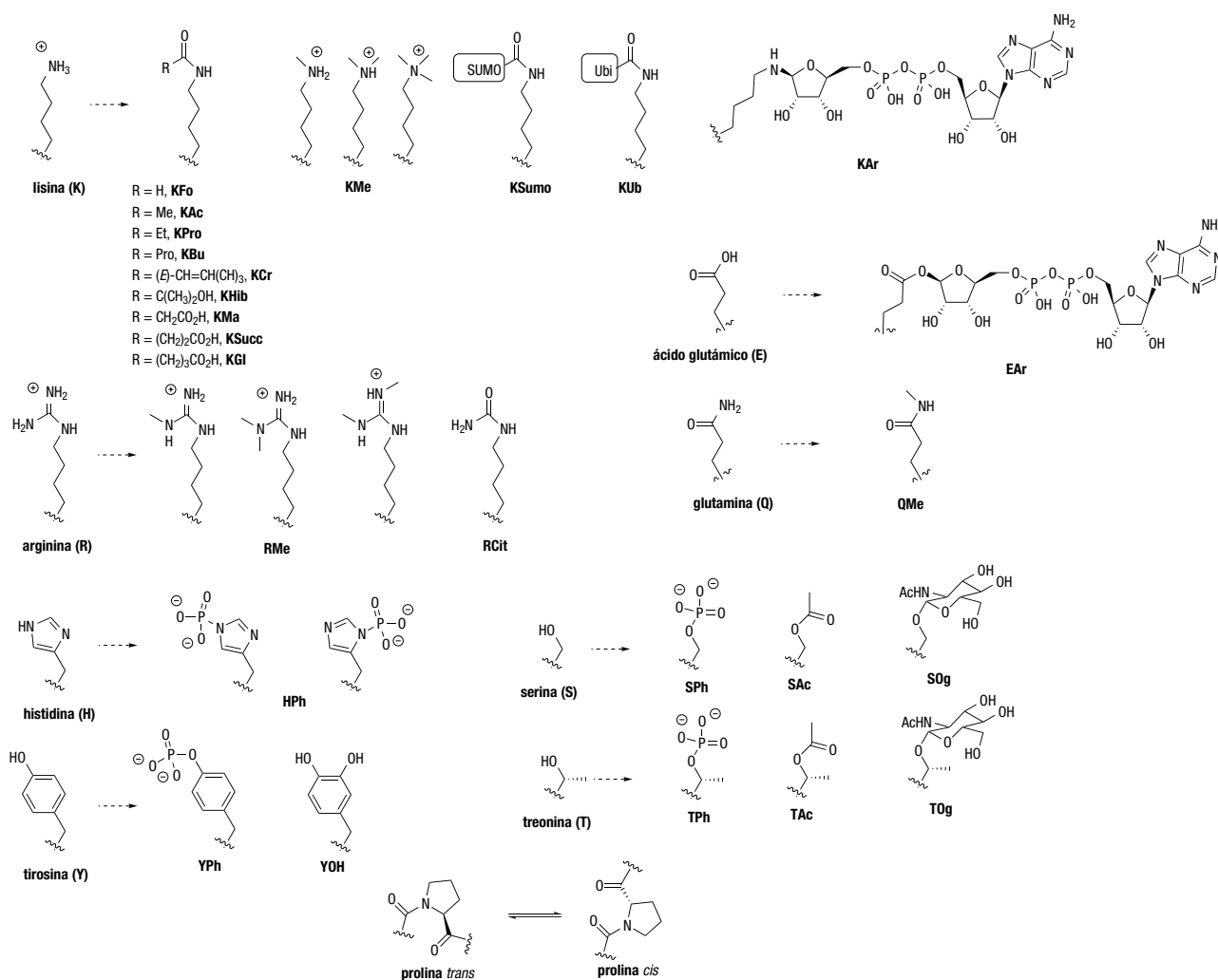
**Figura 2.** Estimación de la relevancia de la Epigenética en las Ciencias de la Vida, reflejada en la evolución del número de artículos en PubMed que contienen el término “epigenetic” en el título o en el resumen (abril 2016)

ta ya jugando un papel fundamental en este campo, tanto en la invención de nuevas herramientas y conceptos,<sup>[10]</sup> como en la comprensión mecanística de los procesos y en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas.<sup>[11]</sup>

Nuestro propio programa de investigación en Epigenética está orientado a la última de las aplicaciones, un campo de investigación por el que nos hemos interesado debido a la confluencia de varios factores: 1) la terapia epigenética, al no afectar a la secuencia de bases, es de naturaleza no genotóxica, en principio es reversible y puede ser empleada en combinación con otras opciones terapéuticas, 2) se han descrito desequilibrios, tanto en la metilación del ADN como en las modificaciones de las histonas, en diversas enfermedades,<sup>[12]</sup> en las que ciertos programas génicos de diferenciación y crecimiento celulares se encuentran silenciados epigenéticamente<sup>[13]</sup> y, c) en el caso del cáncer, hay estudios que vinculan de forma causal las alteraciones epigenéticas de la cromatina con la oncogénesis y la progresión de tumores, por lo que los reguladores de la cromatina constituyen dianas importantes<sup>[14]</sup> para el desarrollo de nuevos fármacos contra el cáncer.<sup>[15]</sup>

Desde el punto de vista de la Química Biológica y la Química Médica, la Epigenética es una disciplina fascinante en sus vertientes funcional y mecanística. En una clasificación funcional, las alteraciones epigenéticas son incorporadas por una serie de enzimas denominados de forma colectiva “escritores”, y esas modificaciones son reconocidas, a través de dominios de interacción proteína-proteína y proteína-ácido nucleico, por los “lectores”; finalmente, otra serie de enzimas, los “borradores” revierten la acción de los primeros. Aunque las modificaciones covalentes mejor estudiadas son la acetilación de residuos de lisina y la metilación de residuos de lisina y arginina en histonas, así como la metilación del ADN, hay muchas otras (fosforilación, crotonilación, ADP-ribosilación, SUMOilación, etc., Figura 3) que conjuntamente conforman un complejo mosaico de cambios estructurales (se ha hablado de la existencia de un “código de histonas”) cuyas consecuencias biológicas permanecen, en su mayor parte, inexploradas.<sup>[16]</sup> Por otro lado, las modificaciones reversibles del ADN y las histonas de la cromatina se producen mediante mecanismos enzimáticos que, en la mayoría de los casos, requieren de la presencia de co-factores o coenzimas, lo que incrementa la riqueza mecanística de estos procesos.

Todos estas consideraciones han estimulado el interés de laboratorios académicos, centros de investigación y empresas farmacéuticas por el diseño y desarrollo de los



**Figura 3.** Modificaciones post-traduccionales de las histonas. Me, metilación; Bu, butirilación; Ma, malonilación; Fo, formilación; Cit, citrulinación; Og, *O*-(2-*N*-acetil)-glucosilación; Ac, acetilación; Cr, crotonilación; Succ, succinilación; Ub, ubiquitilación; Ph, fosforilación; Ar, ADP-ribosilación; Pro, propionilación; Hib, 2-hidroxiisobutirilación; Gl, glutarilación; OH, hidroxilación. SUMO (small ubiquitin-like modifiers) y Ubiquitinas son pequeñas proteínas (de unos 100 y 76 aminoácidos, respectivamente). Adaptado, con modificaciones.<sup>[16]</sup>

denominados moduladores de enzimas epigenéticas o epifármacos, moléculas pequeñas que regulan la actividad enzimática y cuya estructura puede imitar a los sustratos, los cofactores o los productos de reacción. De especial importancia es el desarrollo de “sondas químicas” (<http://www.chemicalprobes.org>), pequeñas moléculas que modulan con elevada selectividad y potencia las enzimas epigenéticas, lo que ha permitido profundizar en el estudio de las actividades biológicas de estas proteínas.<sup>[10]</sup> Además, hay un numeroso grupo de moduladores de epi-enzimas de interés terapéutico que se encuentran en diversas fases de ensayos clínicos y seis de ellos han sido aprobados por la FDA para terapia de tumores del sistema hematopoyético (Figura 4), dos inhibidores de metiltransferasa de ADN (DNMTs) y cuatro inhibidores de desacetilasas de lisinas de histonas (HDACs). Azacitidina (Vidaza®) y decitabina (Dacogen®) son inhibidores de las DNMTs y se utilizan como medicamentos desde los años 2004 y 2006, respectivamente, para el tratamiento del síndrome mielodisplásico. Vorinostat (SAHA, Zolinza®) y romidepsina (FK228, Istodax®)

son inhibidores de HDACs, y se utilizan en clínica desde 2006 y 2009, respectivamente, para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T (CTCL). Belinostat (PDX-101, Beleodaq®) es también un inhibidor de HDACs que ha sido aprobado por la FDA en 2014 para el tratamiento del linfoma de células T periféricas (PTCL). Panobinostat (LBH-589, Farydaq®), otro inhibidor de HDACs, ha sido aprobado recientemente (2015) para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple. Además, chidamide (Epidaza®) es un fármaco aprobado en China en 2015 para el tratamiento de enfermedades hematológicas.

La descripción que sigue utiliza ejemplos de nuestro propio trabajo centrado en alguna de las enzimas que modifican la cromatina, e incluye también reflexiones sobre las enseñanzas<sup>[17]</sup> de los productos de la Naturaleza en la modulación de la maquinaria enzimática epigenética y en el descubrimiento de nuevas cabezas de serie contra el cáncer inspirados en la estructura de alguno de estos productos naturales.<sup>[18]</sup> Precisamente, uno de los fármacos epigenéticos es el producto natural romidepsina, aislado

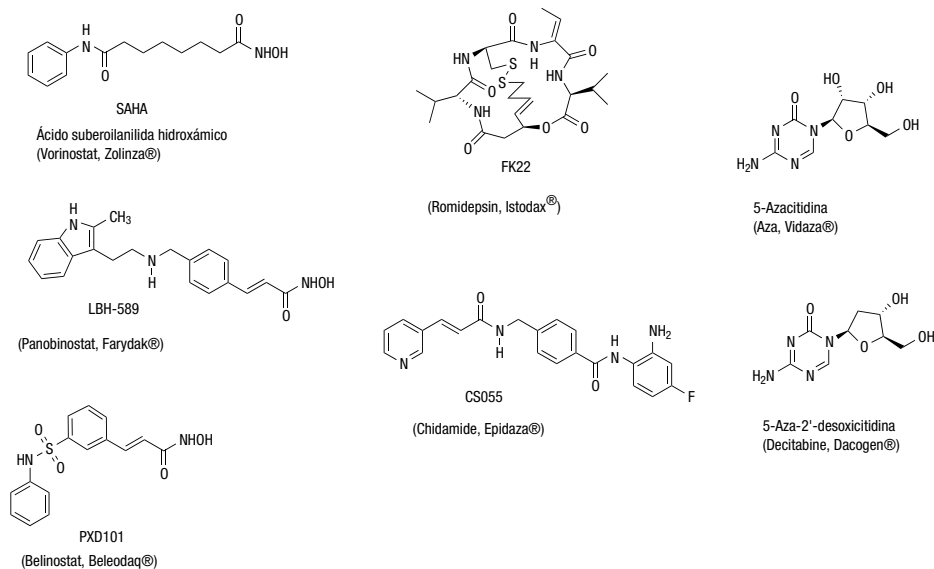


Figura 4. Fármacos que actúan sobre dianas epigenéticas

en 1994 de *Chromobacterium violaceum*.<sup>[19]</sup> Su característica estructural más llamativa es el esqueleto de depsipéptido bicíclico con un enlace disulfuro intramolecular.

### Lección 1: El pedigree de los productos naturales

La Epigenética no constituye una excepción a la hora de valorar la importancia que los productos naturales han tenido a lo largo de la Historia en el desarrollo de fármacos. En la estadística más reciente, que abarca el período 1981-2014, de los 1211 fármacos aprobados, solo el 35% son productos sintéticos, mientras el resto son productos naturales (el 6%), derivados de los mismos (26%), sintéticos miméticos (13%), así como otras categorías inspiradas en las estructuras de productos naturales.<sup>[20]</sup> Este aparente *pedigree* de los productos naturales podría estar relacionado con el hecho de que los productos de la bio-

génesis se han seleccionado en la evolución con el objetivo de servir funciones biológicas bien definidas (en la mayor parte de los casos, desconocidas para nosotros) en los organismos. Constituyen, por ello, una colección de estructuras privilegiadas que coexisten con biomoléculas, tales como receptores, enzimas, ácidos nucleicos, etc., e interaccionan con ellas para ejercer determinadas funciones en las células que son, con toda probabilidad, diferentes de aquellas que los humanos pretendemos optimizar.

Por todas esas razones, en el programa de descubrimiento de moduladores de enzimas epigenéticas hemos centrado nuestra atención en la Naturaleza al seleccionar estructuras de productos naturales como inspiración. La Figura 5 muestra la selección de productos naturales previamente validados como moduladores epigenéticos. Se trata de un grupo de compuestos aislados de la mayoría

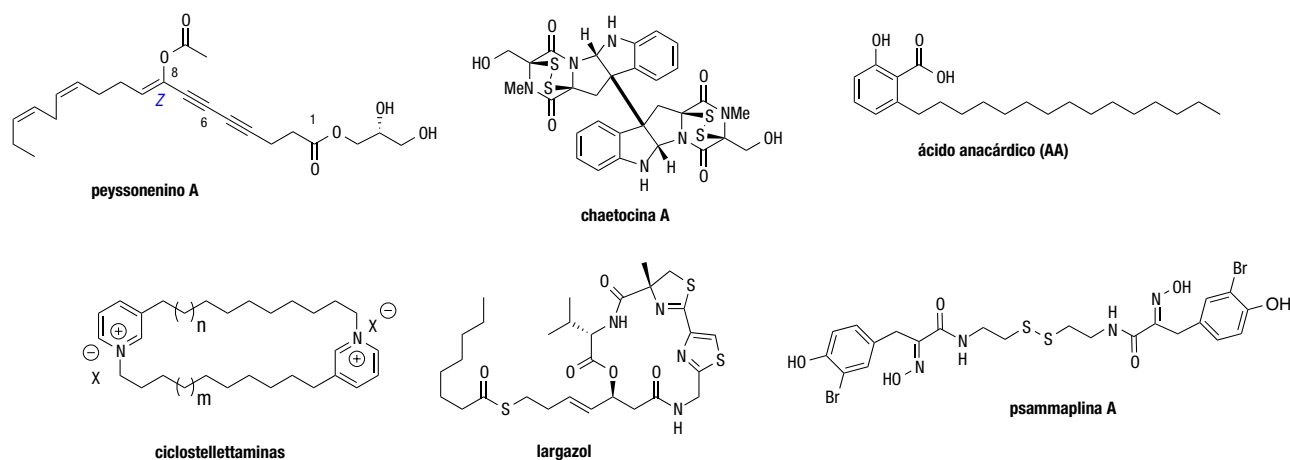


Figura 5. Estructuras de productos naturales previamente validados como moduladores de enzimas epigenéticas

de los reinos de la vida (de especies de hongos, cianobacterias, plantas, algas, esponjas) y generados por prácticamente todas las rutas metabólicas, desde alcaloides a ácidos grasos, pasando por policétidos, y péptidos no-ribosomales, aunque la mayoría tiene origen biosintético mixto. Cualquier otro grupo de seis moléculas naturales seleccionadas al azar revelaría características estructurales similares, que se resumen en dos: su diversidad y su similitud a los fármacos.

## Lección 2: Diversidad y complejidad de los productos naturales

Colectivamente, los productos naturales se caracterizan, en comparación con quimiotecas combinatorias o colecciones de compuestos obtenidos de catálogos comerciales, por presentar una mayor complejidad y rigidez estructural, reflejadas en el mayor número de estereocentros, átomos de oxígeno, y dadores y aceptores de enlaces de hidrógeno solvatados, así como un menor número de átomos en anillos aromáticos. Además, no presentan mayor porcentaje de incumplimiento de las reglas de Lipinski que los fármacos de origen sintético.<sup>[20]</sup>

## 2. ESCRITORES DE MARCAS EPIGENÉTICAS

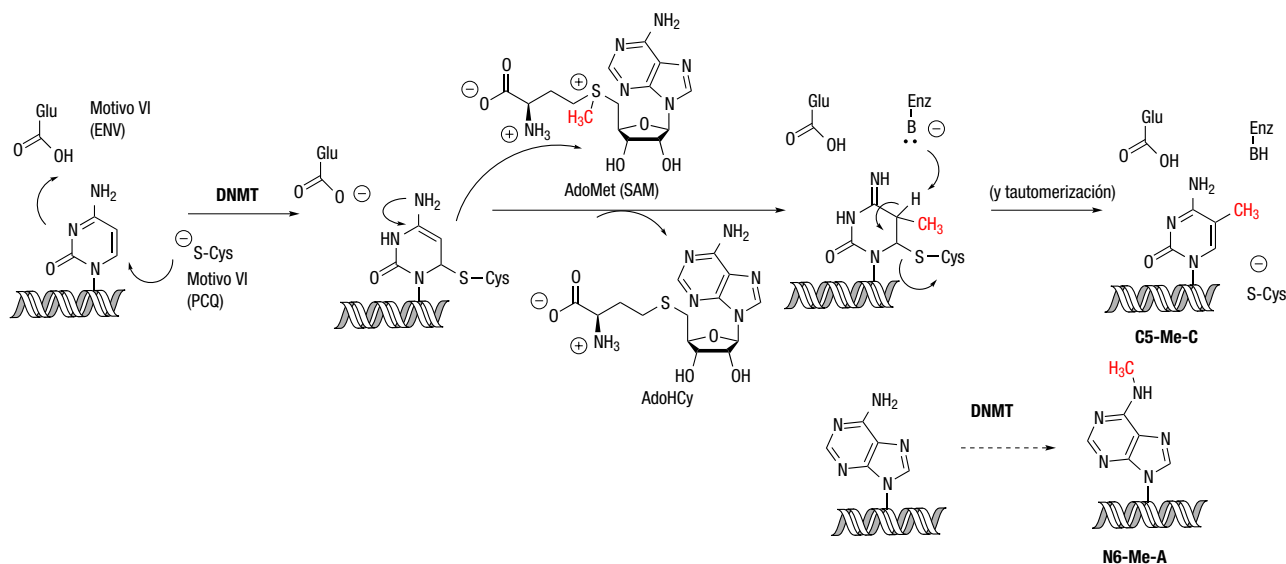
### 2.1. Metiltransferasas de ADN

Las metiltransferasas de ADN (DNMTs)<sup>[5]</sup> catalizan la metilación de la posición C5 de la citosina en secuencias de nucleótidos con regiones o islas CG, así como la posición N6 de la adenina<sup>[21]</sup> en regiones asociadas a la histona H2AX (al menos en células embrionarias de ratón)<sup>[21b]</sup> usando como cofactor el dador universal de grupos metilo, la S-adenosilmetionina (SAM).<sup>[22]</sup> La metilación del ADN está implicada

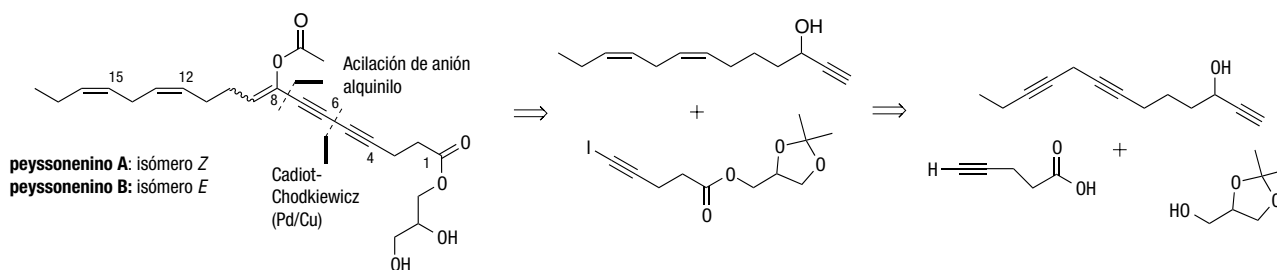
en el control de la expresión génica, la regulación de la inactivación del cromosoma X y el mantenimiento de la integridad del genoma. También interviene en el desarrollo del sistema inmunitario y en la reprogramación celular, así como en el funcionamiento del cerebro y el comportamiento.<sup>[5]</sup> Se han descrito dos familias de DNMT: a) DNMT1 es responsable del mantenimiento del patrón de metilación de ADN al metilar las hebras en formación; b) DNMT3A y DNMT3B son responsables de la metilación *de novo* del ADN (también DNMT1 puede cumplir esta función, mientras DNMT3A/B es capaz de metilar ADN hemimetilado); DNMT3L es un coactivante que participa en comunicaciones cruzadas con otros factores de modificación de la cromatina.<sup>[5]</sup>

El mecanismo de metilación de citosina comienza con la transferencia del grupo metilo de SAM a una enamina intermedia formada por la adición nucleófila de un residuo de cisteína del centro activo de la proteína a la posición C6 de la citosina, asistida por la protonación en N3 por un ácido glutámico, procesos no necesariamente simultáneos. A continuación, se produce la β-eliminación del intermedio 5-metil-6-Cys-S-5,6-dihidrocitosina.<sup>[23]</sup> La transferencia del grupo metilo parece ser la etapa limitante de la reacción, y se produce a través de un estado de transición que se ha descrito como “poco compacto”, tal y como sugiere la combinación de efectos isotópicos cinéticos y estudios computacionales.<sup>[24]</sup>

Se ha demostrado que las células tumorales muestran, a menudo, una hipometilación global del genoma y una hipermetilación específica del ADN en ciertas regiones promotoras de genes; en particular, las regiones de los genes supresores de tumores se encuentran, normalmente, hipometiladas, por lo que la hipermetilación de esas regiones se asocia a la represión de la transcripción. Los inhibidores de las enzimas DNMTs pueden, en principio, reactivar los genes de los supresores de tumores silenciados o los de reparación del ADN, constituyendo por



Esquema 1. Mecanismo de metilación de citosina en C5 por metil transferasas de ADN (DNMT2), y estructura de N6-Me-adenina



**Esquema 2.** Estructura propuesta y secuencia retrosintética de los peyssoneninos A y B, inhibidores de metiltransferasas de ADN (DNMT)

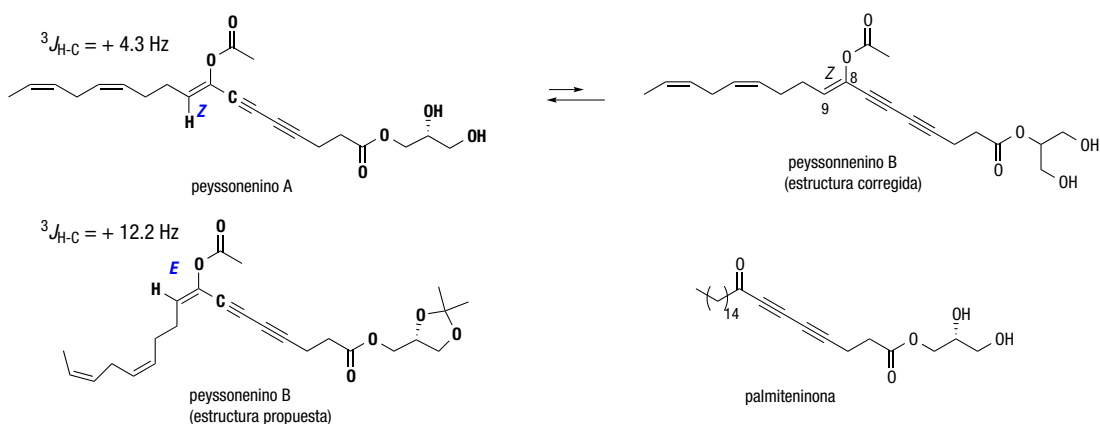
ello fármacos antitumorales prometedores,<sup>[25]</sup> tal y como lo demuestra el empleo de azacitidina y desoxiazacitidina, los primeros fármacos epigenéticos comercializados, en el tratamiento del síndrome mielodisplástico.

Nuestra incorporación a este área de investigación comenzó con la publicación de la actividad inhibitoria de DNMT mostrada por los peyssoneninos A y B, unos ácidos grasos poliinsaturados esterificados con una unidad de glicerol que fueron aislados del alga roja *Peyssonelia caulifera* en 2004.<sup>[26]</sup> Obtenidos en cantidades insuficientes para completar su elucidación estructural, y sin otras evidencias espectroscópicas que las confirmaran, sus estructuras se asignaron a los isómeros *E* y *Z* de la unidad de dienoenoil acetato. Al ser obtenidos en escasa cantidad, ni la geometría del enolacetato ni la configuración absoluta de estos productos naturales pudieron ser determinadas de manera inequívoca.

La síntesis de las estructuras propuestas para los peyssoneninos presentaba como retos la construcción de las unidades de dieno-1,4 y de dieno-1,3, que se resolvieron mediante una semihidrogenación *cis*-selectiva del precursor dieno-1,4 formado por sustitución nucleófila de derivados propargílicos con alquinos promovida por Cu, y mediante una reacción de acoplamiento cruzado de Cadiot-Chodkiewicz co-catalizada por Pd y Cu, respectivamente. Los métodos de formación del dienoenoil acetato a partir de la cetona precursora condujeron a la mezcla de los isómeros geométricos con moderada diastereose-

lectividad. La secuencia se completó con éxito para ambos enantiómeros derivados del glicerol (Esquema 2).<sup>[27]</sup>

La asignación estructural de dichos isómeros se vio dificultada por el escaso número de señales en la región del enolacetato, que impidió la aplicación de técnicas basadas en transferencia de polarización espín-espín mediante relajación cruzada (NOE). La determinación de la magnitud de las constantes de acoplamiento a larga distancia  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ , que son mayores para el isómero *E*, permitió la asignación de las estructuras de los dienoenoil acetato *E* y *Z*.<sup>[28]</sup> Aunque los datos espectroscópicos del último resultaron ser coincidentes con los del producto natural peyssonenino A, los del isómero *E* presentaron diferencias con aquellos publicados para el peyssonenino B. La solución a este rompecabezas se basó en la observación de la aparición de una pequeña banda en la traza de HPLC en cada intento de purificación del peyssonenino A, y que correspondía al tiempo de retención del peyssonenino B. El razonamiento mecanístico condujo a proponer que el último es, de hecho, el isómero *sn*-2 que se forma a partir del *sn*-1,3 mediante reordenamiento inducido por ácido o base, una propiedad intrínseca a los ésteres de glicerol (Esquema 3).<sup>[27b]</sup> Además, aunque la asignación de las estereoestructuras de los productos naturales aislados no fue posible, puesto que no se llevaron a cabo estudios de determinación de la configuración absoluta (o la pureza enantiomérica), la interconversión de los derivados de glicerol en disolución permite aventurar que podrían ser racematos.



**Esquema 3.** Estructura propuesta y corregida del peyssonenino B, inhibidores de metiltransferasas de ADN (DNMTs), y análogo derivado del ácido palmítico

De hecho, los cuatro estereoisómeros de los peysosoninos son inhibidores equipotentes, aunque con actividades moderadas, tal y como se dedujo de los ensayos enzimáticos de inhibición de DNMT1. Siguiendo las rutas sintéticas exploradas para esta familia de compuestos, se preparó también una pequeña serie de análogos<sup>[27a]</sup> de entre los que cabe destacar la palmiteninona (Esquema 3), un derivado de ácido palmítico, que se comporta como inhibidor de DNMT1 y activante de la metiltransferasa *de novo* DNMT3A. La actividad celular de este compuesto es muy intrigante, puesto que resultó ser citotóxico en células normales en comparación con las células transformadas, un perfil que podría tener aplicación en enfermedades basadas en la hiperproliferación de fibroblastos, tal como la fibrogénesis.<sup>[29]</sup>

### Lección 3: Trazabilidad biológica. Fuentes naturales de acceso limitado

La Química Sintética permite, en principio, acceder a cantidades suficientes de los productos que genera la Naturaleza, lo que es especialmente importante cuando se obtienen en cantidades minúsculas, o cuando las fuentes son perecedoras, las especies están en peligro, y su recolección es difícil. Con esa fuente inagotable de metabolitos sintéticos, los químicos pueden confirmar/rectificar las estructuras propuestas y disponer de los productos para su ensayo o evaluación biológica.

### 2.2. Acetiltransferasas de histonas

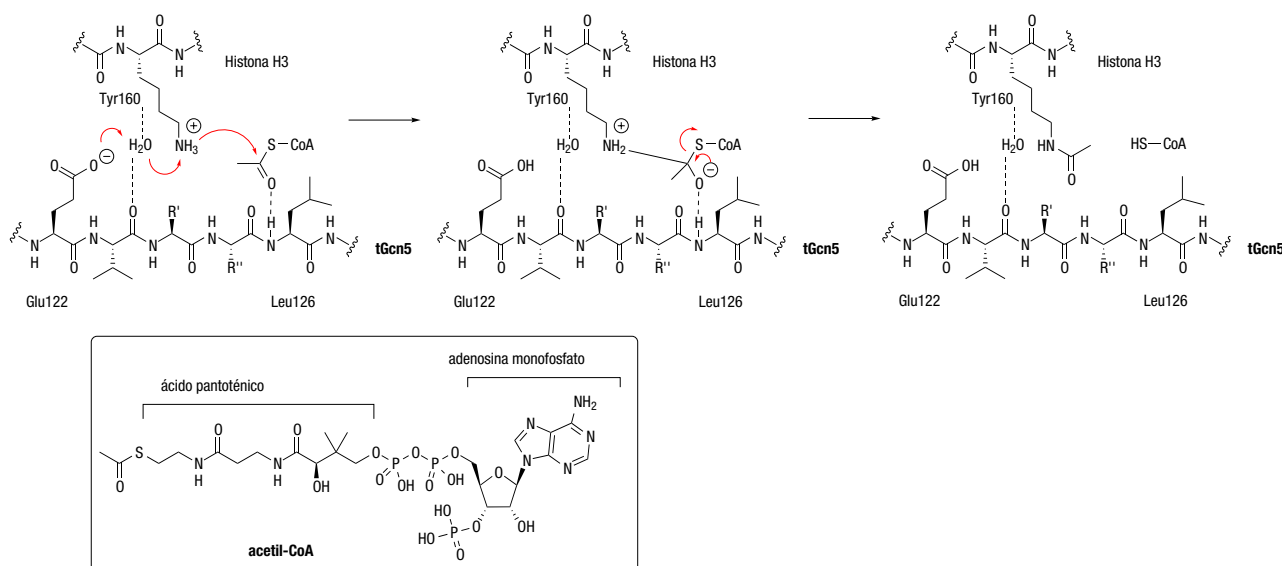
Las enzimas que transfieren grupos acetilo a residuos de lisina de histonas o KATs<sup>[30]</sup> actúan de forma coordinada

con las enzimas que revierten esa modificación epigenética, denominadas histona desacetilasas o HDACs. La acetilación (a diferencia de la metilación) debilita las interacciones de los residuos de histona con los grupos fosfato cargados negativamente del ADN en el nucleosoma, lo que convierte a la heterocromatina compactada, que no se transcribe, en una estructura menos compacta y más relajada denominada eucromatina, accesible a la maquinaria transcripcional.<sup>[30b, 31]</sup>

Los KATs se agrupan en siete familias<sup>[30a]</sup> siendo las más conocidas las denominadas Gcn/PCAF, MYST y p300/CBP.<sup>[32]</sup> Aunque todas esas enzimas requieren acetil-CoA como cofactor, el mecanismo detallado de transferencia de grupos acetilo a los residuos de lisina (se ha propuesto la formación de un complejo ternario, un proceso “ping-pong” y un mecanismo “hit and run”)<sup>[32b, 33]</sup> podría diferir para las isoformas de las KAT (Esquema 4).

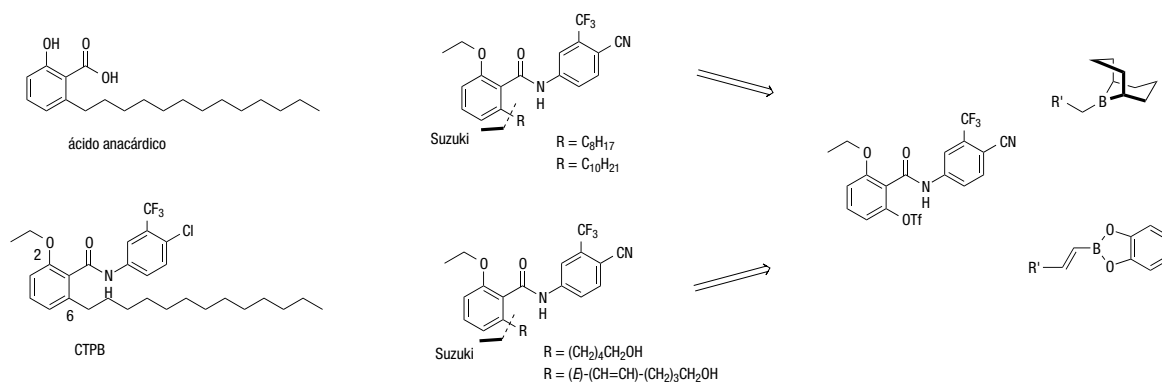
Las alteraciones en la actividad enzimática de transferencia de grupos acetilo se han asociado a la susceptibilidad a diversas enfermedades, incluyendo el cáncer, la enfermedad de Huntington, desórdenes inflamatorios, la diabetes y el SIDA.<sup>[30a]</sup> La corrección del balance entre la acetilación y la desacetilación usando moléculas pequeñas que actúan de moduladores podría conducir a procesos de crecimiento y diferenciación celulares normales.<sup>[34]</sup>

De entre los moduladores naturales de las KATs, se caracterizó el ácido 6-pentadecilsalicílico (ácido anacárdico, AA), componente principal del aceite de los anacardos (Esquema 5), como un inhibidor no-competitivo y poco potente de las isoformas p300 y PCAF,<sup>[35]</sup> así como de pGcn5 de *Plasmodium falciparum*.<sup>[36]</sup> Ciertas amidas derivadas del ácido anacárdico, en particular CTPB (*N*-4-cloro-3-trifluorometilfenil)-2-etoxi-6-pentadecilbenzamida, Esquema 5), son potentes activantes de p300/CBP.<sup>[35, 37]</sup>



Esquema 4. Un posible mecanismo de acetilación de lisina por la enzima KAT tGcn5. Se muestra la estructura del cofactor acetil-CoA





Esquema 5. Estructuras del ácido anacárdico y derivados de CTPB

Basados en esos precedentes, hemos preparado otras benzamidas con cadenas saturadas de menor longitud, incorporadas mediante el empleo de la reacción de Suzuki-Miyaura entre triflatos arílicos y derivados de boro con grupos saturados e insaturados, que se caracterizaron como inhibidores de p300 de similar potencia al producto natural (Esquema 5).<sup>[38]</sup> La incorporación de otros grupos de naturaleza polar y/o insaturada a la posición C6 para mejorar la permeabilidad condujo a una mayor activación de las enzimas KAT, que alcanzó un 30% para CBP y un 200% para PCAF.<sup>[39]</sup>

#### Lección 4: ¿Complementos nutricionales epigenéticos?

Dado que la Epigenética refleja cambios en la expresión de los genes independientes de la secuencia, hay un componente en esos cambios que está asociado a la nutrición; en particular, los alimentos contienen señales químicas que pueden inducir cambios fenotípicos. Además del ácido anacárdico, se han descrito actividades epigenéticas para algunos productos naturales que se ingieren en la dieta, tales como la curcumina (colorante extraído de *Curcuma longa*), ciertos flavonoides de diversos vegetales, el valproato sódico, el resveratrol (extraído de la uva), etc. ¿Hasta dónde somos lo que comemos (y bebemos)?

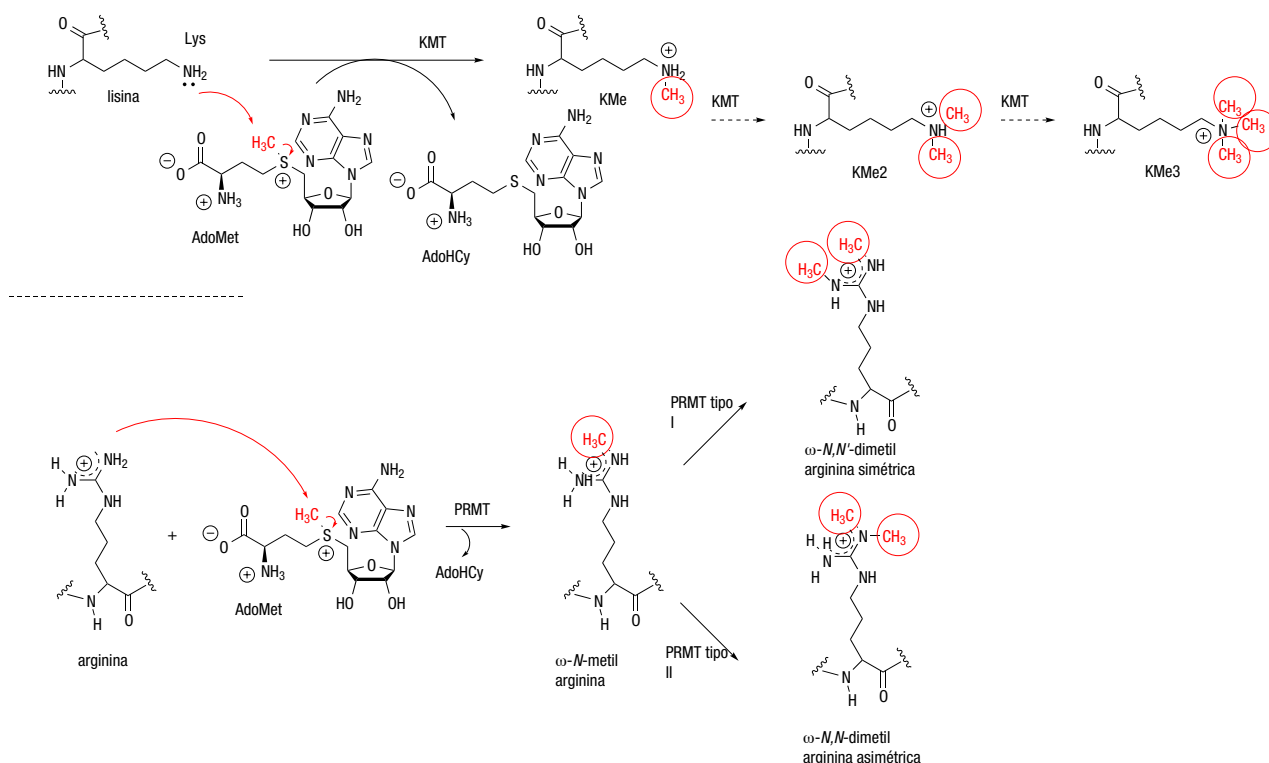
#### 2.3. Metiltransferasas de histonas

La metilación de residuos de lisina de las histonas juega un papel epigenético fundamental en la organización de los dominios de la cromatina y en la regulación de la expresión génica. Esta marca epigenética no altera la carga total de las histonas, aunque incrementa su basicidad e hidrofobicidad, reduciendo a su vez la afinidad que presentan por moléculas aniónicas tales como el ADN. La metilación de las histonas en la cromatina está asociada a la expresión génica<sup>[40]</sup> y, además, su consecuencia o interpretación depende de la posición que ocupan las correspondientes lisinas (y/o argininas) en las histonas: la metilación de H3K9, H3K27 y H4K20 está asociada al silenciado trans-

cripcional y a la represión génica, mientras que la misma modificación en H3K4, H3K36 y H3K79 se correlaciona con la activación transcripcional, y la metilación de H3K9 y H4K20, por su parte, interviene en la inactivación del cromosoma X.<sup>[41]</sup> La mayor parte de las HMTasas contiene un dominio denominado SET (*suppressor of variegation 3-9, enhancer of zeste, thritorax*).

Como muestra de la comunicación cruzada entre las diversas modificaciones covalentes de la cromatina, que en ocasiones son mutuamente excluyentes, baste señalar que la pérdida de la acetilación en H4K16 y la trimetilación en H4K20 es una etiqueta distintiva del cáncer humano.<sup>[42]</sup> Además, la lisina metil transferasa EZH2 es uno de los componentes del complejo represivo *polycomb 2* (PRC2)<sup>[43]</sup> y su inhibición libera la marca de inactivación transcripcional H3K9me3, lo que parece contribuir a la inducción de la apoptosis.<sup>[44]</sup> Por todo ello, el descubrimiento y caracterización de inhibidores selectivos de alguno de los miembros de esta clase de transferasas de grupos metilo es un primer paso para el desarrollo de nuevos fármacos y, de hecho, alguno de ellos se encuentra ya en estudios avanzados en fases clínicas.<sup>[45]</sup>

Mecanicamente, los más de 100 miembros de la familia de histona lisina metiltransferasas (HMTasas), utilizan un proceso tipo  $S_N2$  para transferir el grupo metilo del cofactor AdoMet a un grupo amino terminal parcialmente desprotonado de la lisina, liberando S-adenosilhomocisteína (SAH, AdoHCy) (Esquema 6).<sup>[46]</sup> Estudios computacionales recientes junto con efectos isotópicos cinéticos experimentales apoyan un mecanismo tipo  $S_N2$  que implica la transferencia del grupo metilo de AdoMet como etapa irreversible, a través de un estado de transición en el que la partida del grupo saliente se ve retardada (2.5 Å) en comparación con el ataque nucleófilo que define el enlace en formación (2.1 Å).<sup>[47]</sup> Las HMTasas difieren en la especificidad por el residuo de lisina y también en la capacidad de inducir procesos de mono, di, o trimetilación en el grupo  $\omega$ -amino de la lisina.<sup>[48]</sup> Por su parte, las metiltransferasas de arginina (proteína arginina metil transferasas o PRMTs) pueden producir metilación en uno de los nitrógenos de la guanidina o en dos de ellos de forma simétrica o no-simétrica, y su funcionamiento desregulado se ha asociado al cáncer.<sup>[49]</sup>



Esquema 6. Mecanismo de metilación por HMTs

En 2005 se identificó el producto natural (+)-chaetocina A, aislado del hongo *Chaetomium minutum*, como inhibidor de la enzima Su(var)3-9, un ortólogo en *Drosophila* de la HMT Suv39h de mamíferos.<sup>[50]</sup> Con posterioridad, se extendió su actividad inhibidora a una pequeña serie de HKMTs que contienen el dominio SET-SU(VAR)3-9, incluyendo DIM5 y G9a, que presentan potencial utilidad para el tratamiento del mieloma.<sup>[51]</sup>

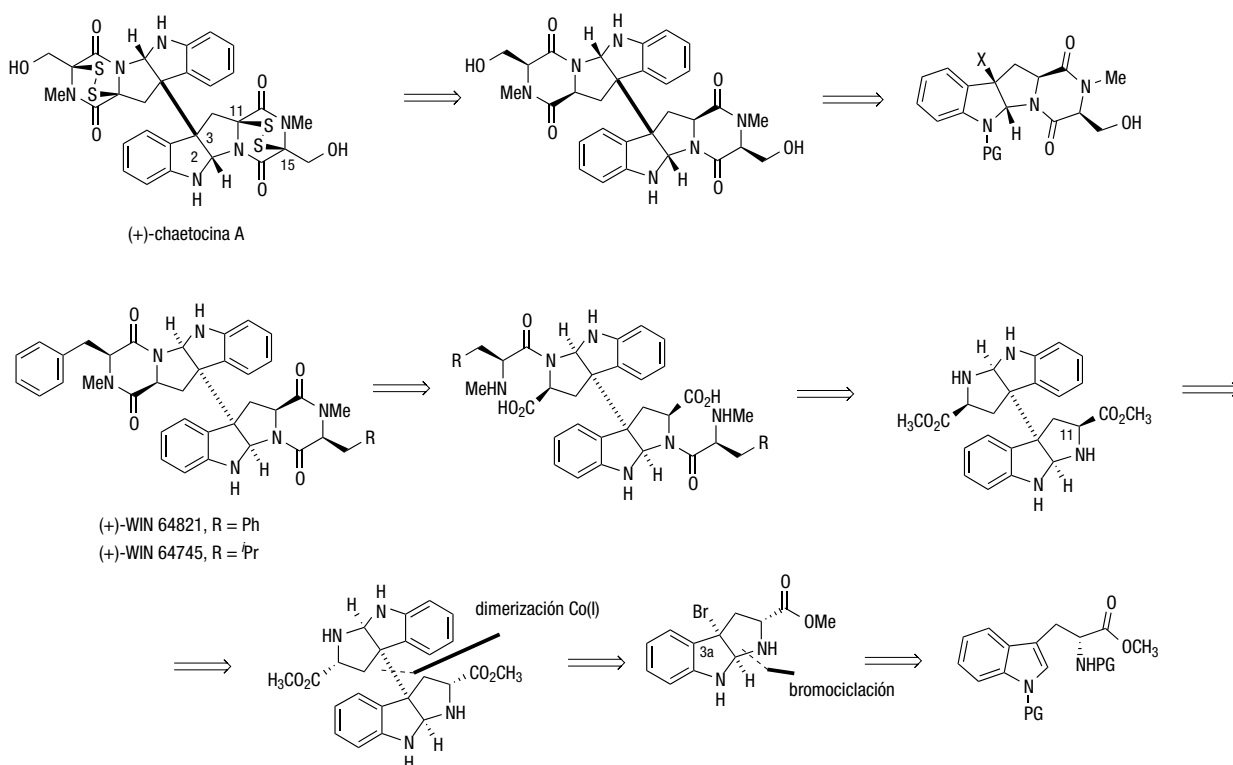
La (+)-chaetocina A (Esquema 7) es una epiditiodicetopiperazina dimérica y simétrica, que incluye un enlace C3-C3' entre estereocentros cuaternarios, y surge biogénicamente de la condensación de los aminoácidos triptófano y serina seguido de procesos de oxidación/metilación/formación del puente disulfuro. Este compuesto se acumula en las células cancerosas por medio de un proceso inhibido por la glutatona. Su actividad en el interior de la célula parece deberse a la promoción del estrés oxidativo, aunque es un inhibidor promiscuo que se enlaza covalentemente a otras proteínas y participa en vías de señalización asociadas a procesos red-ox mediante sus enlaces disulfuro.<sup>[52]</sup> Aunque se caracterizó originalmente como un inhibidor competitivo del cofactor SAM, (+)-chaetocina A puede actuar produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS), empleando para ello un proceso red-ox en el que el anillo de ditiodicetopiperazina se reduce en el medio celular y se reoxida posteriormente.<sup>[52]</sup>

Nuestra propuesta retrosintética a la (+)-chaetocina A planteaba postponer la formación de la epiditiodicetopiperazina a la dimerización a partir de un esqueleto de

hexahidropirrolo[2,3-*b*]indol funcionalizado en C3a. La construcción de este motivo estructural se basó en el tratamiento de ésteres de triptófano protegidos en el N como carbamatos con una fuente de bromo electrófilo (Esquema 8). Cálculos DFT confirmaron la selectividad *exo* del proceso y sugirieron un mecanismo a través de un intermedio azetidina formado al atrapar el carbocatión benílico con el nitrógeno del enol carbamato del triptófano, seguido de un doble reordenamiento concertado (diotrópico tipo I)<sup>[53]</sup> del bromo y el sustituyente del nitrógeno para obtener el 3-bromohexahidropirrolo[2,3-*b*]indol final como isómero *exo* mayoritario.<sup>[54]</sup> De forma simultánea, Sodeoka<sup>[55]</sup> completó la preparación del producto natural, y Movassaghi desarrolló un segunda síntesis de (+)-chaetocina A.<sup>[56]</sup>

A la vista de las dudas expresadas por algunos grupos sobre la caracterización de la chaetocina A como un inhibidor no específico de KMTs,<sup>[52]</sup> fijamos nuestra atención en la preparación de otras estructuras de hexahidropirrolo[2,3-*b*]indolil dicetopiperazinas (DKPs) diméricas.<sup>[57]</sup> Las DKPs homo y heterodiméricas (+)-WIN 64821 y (+)-WIN 64745 (Esquema 7) son alcaloides aislados en el año 1993 de cultivos de *Aspergillus sp.* en Sterling Winthrop Pharmaceuticals. Se caracterizaron como potentes antagonistas de la sustancia P para los receptores humanos de neurocinina-I y colecistocinina B, dianas de potencial relevancia para el tratamiento de la artritis, el asma o la enfermedad inflamatoria intestinal.<sup>[58]</sup>

La configuración relativa del estereocentro en C11 de las estructuras diméricas con respecto a los anillos de fusión es

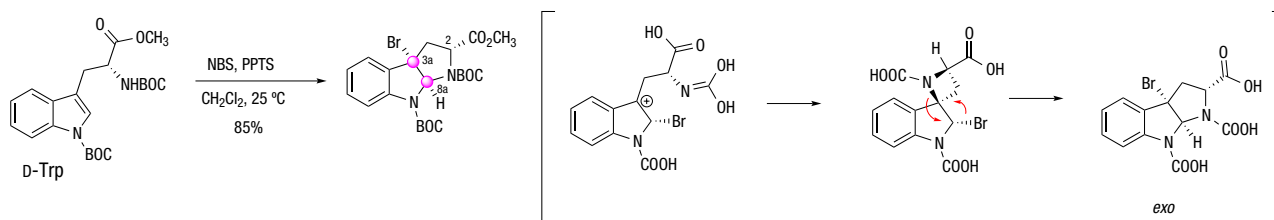


**Esquema 7.** Estructura de chaetocina A y otros alcaloides del grupo de las pirrolidinoindolina dicetopiperazinas, y secuencia retrosintética

*endo*, lo que requirió la epimerización del producto cinético *exo*-bromopirrolidinoindolina obtenido en la ciclación con NBS para generar el producto termodinámico *endo*. La dimerización mediada por un complejo de Co(I) originó los dos centros cuaternarios contiguos en C3/C3',<sup>[59]</sup> y la formación bidireccional de enlaces amida, desprotección y formación de la DKP proporcionó (+)-WIN 64821 (Esquema 7).<sup>[60]</sup> Lo que tiene mayor interés sintético es que la misma estrategia permite la preparación del heterodímero C<sub>1</sub>-no-simétrico (+)-WIN 64745 comenzando con el mismo intermedio, dado que la velocidad de formación del segundo enlace peptídico es más lenta, por lo que se pueden incorporar dos aminoácidos diferentes de forma secuencial.<sup>[60]</sup>

Esta ruta sintética se aplicó a otros productos naturales, lo que requirió un redoblado esfuerzo sintético al tener que corregir todas las estructuras originales ya que, sin excepción, resultaron estar erróneamente asignadas.<sup>[60b, 61]</sup>

(+)-Asperdimina (Figura 6), aislada de extractos de *Aspergillus niger* en 2004, es otro alcaloide dimérico del mismo grupo que mostró actividad antiviral contra ciertos virus (flavivirus y picornavirus) con un segmento de un nucleótido o sitio de entrada interno ribosomal (IRES) que guía la síntesis de proteínas dependiente del huésped.<sup>[62]</sup> Tras sintetizar la estructura propuesta, así como otras correspondientes a varios diastereómeros, concluimos que los estereocentros en las posiciones C2, C3 y C11 debían presentar la configuración opuesta, lo que se confirmó al comparar los datos espectroscópicos de los productos sintético y natural.<sup>[60b]</sup> De forma similar, se sintetizaron varios estereoisómeros de la (+)-cristatumina, aislada de extractos de cultivos de *Eurotium cristatum* EN-220, un hongo endofítico del alga marina *Sargassum thunbergii*, para finalmente corregir la configuración de los estereocentros en C2, C3 y C11.<sup>[63]</sup>



**Esquema 8.** Bromociclación estereoselectiva de derivados de triptófano a bromo-pirrolidinoindolinas y estructura de los intermedios clave en el mecanismo propuesto (B2PLYP-PCM (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)/6-31G\*\*// B3LYP-631G\*).[54]

En definitiva, la asignación basada en datos espectroscópicos de esta familia de productos naturales conduce a menudo a errores. Aunque la configuración del estereocentro en C15 se confirma aplicando el análisis degradativo de aminácidos de Marfey, las correlaciones NOE (a menudo, de intensidad débil) de H15 con otros espacialmente próximos son evidencias insuficiente para establecer la configuración relativa en la posición C11. Además, la asignación de la configuración de los átomos de fusión C2-C3 de la pirrolidinoindolina no es posible en ausencia de datos de difracción de rayos X o de la comparación de las curvas de microismo circular calculadas usando DFT y las experimentales.<sup>[64]</sup>

Pueden prepararse también estructuras de DKP monoméricas a partir del mismo intermedio bromopirrolidinoindolina derivado de Trp por condensación con otro aminoácido. La (-)-protubonina A y su derivado *O*-acetilado (-)-protubonina B (Figura 6), han sido aislados recientemente de cultivos del hongo *Aspergillus sp.* SF-5044 recogido en una muestra de sedimento en Corea.<sup>[65]</sup> Tras completar la síntesis de la estereoestructura propuesta para (-)-protubonina A, y detectar discrepancias entre las señales de los espectros de RMN del producto sintético y el natural, se llevó a cabo la síntesis de los diastereoisómeros en C2, C3 y C11, pudiendo confirmarse que los productos naturales son los epímeros en C11 (Figura 6).<sup>[61b]</sup>

Otra estructura incorrectamente asignada es la correspondiente a la (+)-pestalazina B, un alcaloide DKP heterodimérico aislado del hongo patógeno *Pestalotiopsis theae* que contiene también dos unidades de triptófano, una de ellas formando una pirrolidinoindolina fusionada a la unidad de DKP.<sup>[66]</sup> En contraste con las restantes estructuras diméricas, unidas a través del enlace C3-C3', estos productos naturales muestran una conexión no simétrica (C3-N1' para pestalazina B) entre la unidad de indolina y la de

indol (Figura 6). De nuevo, la estructura propuesta sintetizada, confirmada por difracción de rayos X, presentaba datos espectroscópicos que no coincidían con los descritos. Finalmente, la estructura resultado del intercambio de las unidades de fenilalanina y leucina de los anillos de DKP resolvió las discrepancias espectroscópicas.<sup>[61a]</sup>

### Lección 5: Prueba de identidad: estructuras que nunca existieron

La prueba definitiva de la estereoestructura de los productos naturales es la comparación con las muestras auténticas preparadas por síntesis química. La síntesis ha permitido corregir un gran número de estructuras incorrectamente propuestas, incluso empleando datos de difracción de rayos X.<sup>[67]</sup>

## 3. BORRADORES DE MARCAS EPIGENÉTICAS

### 3.1. Desacetilasas de histonas

La siguiente familia de enzimas epigenéticas, las desacetilasas de histonas o HDACs,<sup>[68]</sup> pertenece a los “borradores”, y tiene como misión el hidrolizar el grupo acetilo incorporado en las histonas de la cromatina (y en otras proteínas celulares) por la acción de las acetiltransferasas (KATs).<sup>[30b]</sup> La familia de las desacetilasas de histonas está formada por 18 miembros agrupados en dos subfamilias: la dependiente de Zn<sup>2+</sup> o HDAC clásica (HDACs1-11) y la dependiente de NAD<sup>+</sup> o sirtuina (SIRT1-7). Las metaloproteínas, a su vez, se clasifican en tres clases: a) Clase I (HDAC1-3 y 8), que en humanos se expresa en la mayoría de las líneas celulares y se localiza fundamentalmente en el núcleo; b) Clase II

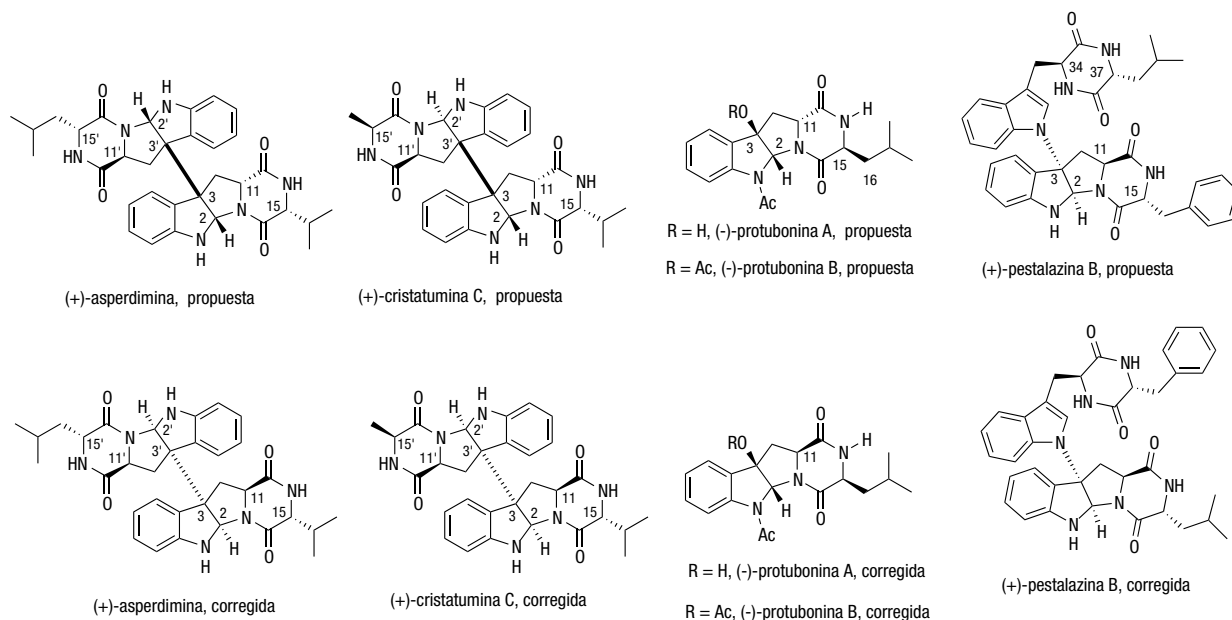
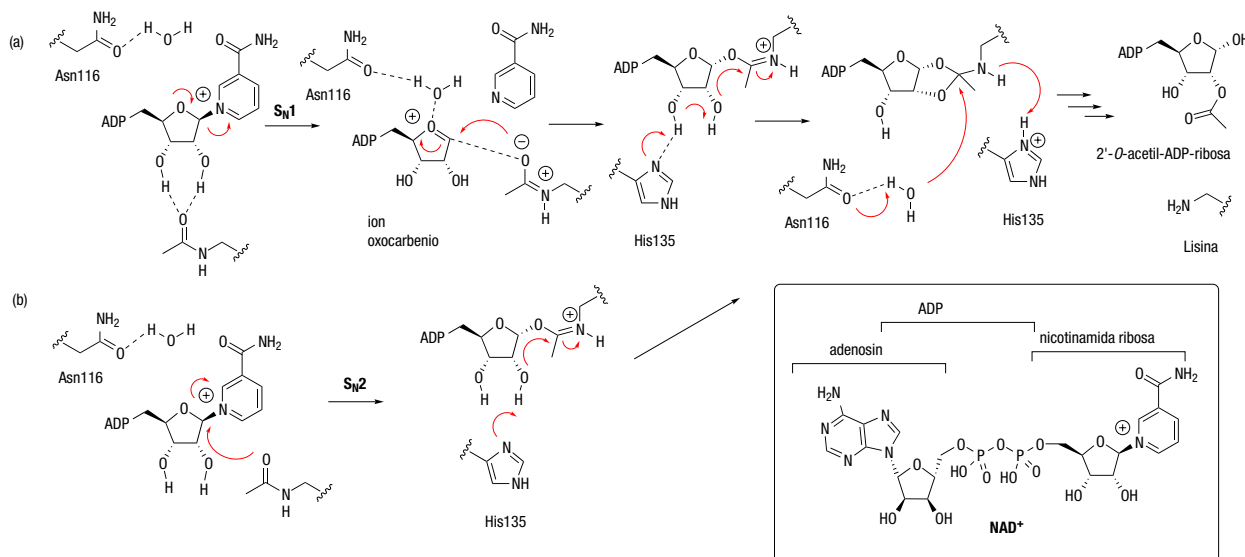


Figura 6. Estructuras propuestas y corregidas de algunos alcaloides del grupo de las pirrolidinoindolina dicetopiperazinas



**Esquema 9.** Mecanismo(s) de desacetilación de lisina acetilada catalizada por sirtuinas, y estructura del cofactor NAD<sup>+</sup>

(HDAC4-7 y 9-10), expresada en el núcleo y el citoplasma de un pequeño número de tejidos, y que puede subdividirse en dos subclases, clase IIa (HDACs 4, 5, 7 y 9) y clase IIb (HDACs 6 y 10); y c) Clase IV, formada por HDAC11.

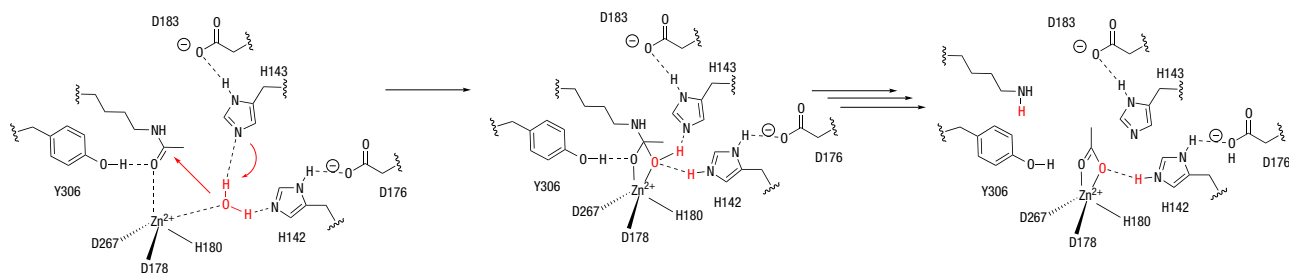
Son numerosos los estudios que relacionan la deficiente regulación de estas enzimas con el cáncer, enfermedades neurológicas y desórdenes de la inmunidad.<sup>[69]</sup> De hecho, para la primera de las aplicaciones ya están aprobados cuatro fármacos (Figura 4), aunque se cree que los inhibidores selectivos de cada isotipo de HDAC podrían tener mejor perfil farmacológico con menos efectos secundarios que los inhibidores no selectivos.<sup>[70]</sup>

Por otra parte, los miembros de la subfamilia de histona desacetilasas denominadas sirtuinas regulan diversas funciones celulares como la conservación del genoma, la longevidad y el metabolismo,<sup>[71]</sup> y han sido consideradas dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer.<sup>[72]</sup> En los mamíferos, se han caracterizado siete enzimas, SIRT1-7, que presentan un dominio catalítico conservado de unos 275 amino ácidos y difieren en su localización celular y en sus funciones.<sup>[73]</sup>

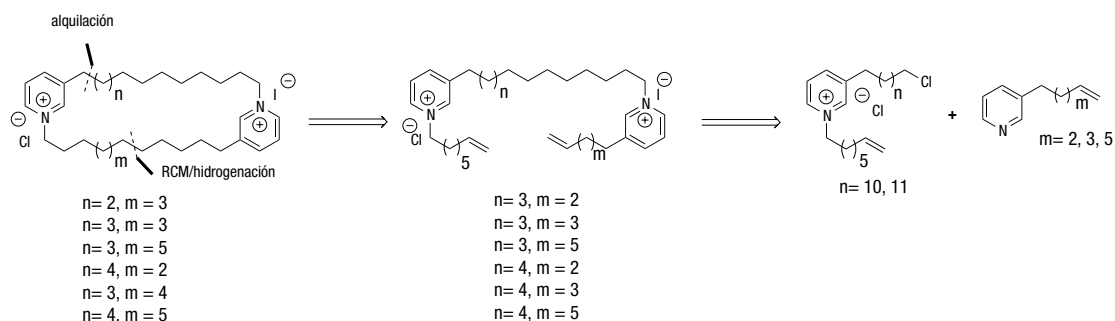
Se han propuesto mecanismos de catálisis para la desacetilación de lisinas acetiladas por las sirtuinas de tipo S<sub>N</sub>2 y S<sub>N</sub>1 con la formación de un intermedio *O*-alquilamidato (Esquema 9).<sup>[74]</sup> Los estudios cinéticos sugieren que la ro-

tura del enlace nicotinamida-ribosilo se produce con participación del nucleófilo entrante (el oxígeno de la amida), y que no se forma el ión oxocarbenio intermedio.<sup>[75]</sup> El estudio de simulación dinámica QM/MM al nivel B3LYP/6-31G(d) ha llevado a proponer un mecanismo de desplazamiento disociativo y concertado de nicotinamida como primera etapa del mecanismo de desacetilación, un estado de transición con características de ión oxocarbenio, y una rotura de enlace facilitada por la asistencia como nucleófilo de la lisina acetilada (Esquema 9).<sup>[76]</sup>

El mecanismo de desacetilación de las HDAC clásicas (Esquema 10) consiste en la hidrólisis del grupo aceto de la lisina asistida por la quelación al ión Zn<sup>2+</sup>, que también activa la molécula de agua, y por la contribución de dos sistemas de *relay* de carga, uno de ellos actuando como base general, para dar lugar al intermedio tetraédrico estabilizado por un residuo de tirosina antes de la liberación de acetato y de lisina desacetilada.<sup>[77]</sup> Por ello, en la estructura de los inhibidores se incluye un grupo funcional (ácido hidroxámico, tiol, cetona, anilino-benzamida...) capaz de interactuar con el ión Zn<sup>2+</sup> en el bolsillo catalítico de la enzima, además de una región de reconocimiento de la entrada al canal reactivo, y un conector de longitud variable que simula el tamaño y forma del sustrato nativo de lisina acetilada.<sup>[78]</sup>



**Esquema 10.** Mecanismo simplificado de desacetilación de lisina acetilada por HDAC-8



Esquema 11. Estructura de ciclostellataminas naturales y no naturales, y secuencia retrosintética

Se han descubierto productos naturales que actúan como inhibidores de esta familia de enzimas epigenéticas y contienen alguno de los grupos quelantes mencionados.<sup>[79]</sup> Por ello, resultó intrigante descubrir que los alcaloides denominados ciclostellataminas (Figura 5), una familia de sales de bispiridinio macrocíclicas aisladas de la esponja *Haliclona Sp.* y de otros organismos marinos,<sup>[80]</sup> son inhibidores de HDACs dependientes de  $Zn^{2+}$ , a pesar de carecer de un grupo quelante de  $Zn^{2+}$ .<sup>[81]</sup>

La síntesis de las ciclostellataminas empleó la alquilación del anión de la 3-picolina, seguido de la formación consecutiva de los iones alquilpiridinio y la macrociclación de las sales de bis-piridinio diénicas mediante cierre de anillo por metátesis (RCM). Este proceso se completó en 20 minutos, empleando irradiación con microondas a potencia constante (90 W) y permitió generar de forma casi cuantitativa las sales de bis-piridinio macrocíclicas de entre 29 y 33 átomos, como mezcla de isómeros *E/Z*. Sin purificación, la mezcla de olefinas cíclicas se hidrogenó en presencia de Pd/C para producir finalmente las ciclostellataminas A, B, D, E y G, así como otras no naturales en rendimientos casi cuantitativos (Esquema 11).<sup>[82]</sup>

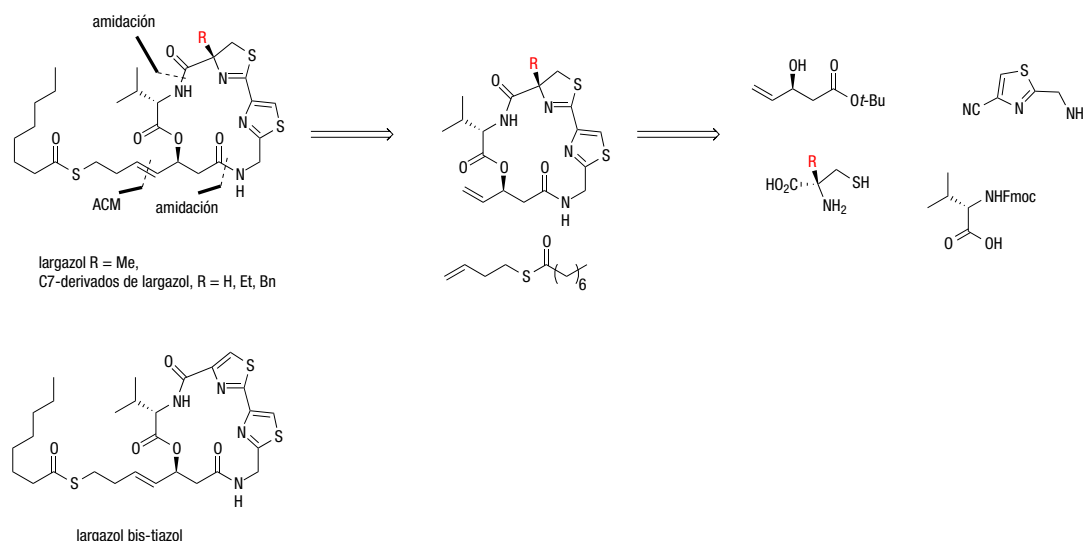
Los compuestos con estructura de bis-piridinio macrocíclicos mostraron escasa potencia como inhibidores (en el rango de concentración micromolar) con enzimas HDAC recombinantes de las clases I y II. En contraste,

los dienos precursores presentaron actividades de mayor interés. En concreto, el compuesto con  $n=3$ ,  $m=3$  se caracterizó como un inhibidor selectivo de HDAC1, mientras que su homólogo inferior con  $n=3$ ,  $m=2$  inhibió selectivamente la subclase IIa.<sup>[82]</sup>

### Lección 6: Los desvíos de las rutas sintéticas

Danishefsky se refiere a la síntesis total desviada (*diverted total synthesis*) como aquel proceso sintético por el que los químicos pueden soslayar la biogénesis y diversificar los intermediarios generados a lo largo de la ruta sintética para poblar un espacio químico que no es accesible a la Naturaleza, dados los recursos biosintéticos limitados a los que tiene acceso.<sup>[83]</sup> La síntesis química, por tanto, permite eliminar muchas de las restricciones impuestas por las rutas biogénicas, que siguen caminos de reacción universales y predecibles, al menos en la fase de construcción de los esqueletos.<sup>[84]</sup>

El depsipéptido cíclico largazol (Esquema 12) fue aislado de una cianobacteria marina del género *Symploca sp.* en las costas de Florida<sup>[85]</sup> y caracterizado como un inhibidor potente de HDAC.<sup>[86]</sup> En la estructura del depsipéptido se reconocen, como elementos estructurales, el 2-aminome-



Esquema 12. Estructura de largazol y análogos en posición C-7, y secuencia retrosintética

tiliazol-4-carboxilato conectado a un anillo de metiltiazolina flanqueado a su vez por L-valina, y el fragmento de (3*S*,4*E*)-3-hidroxi-7-mercapto-4-heptenoico que cierra el depsipéptido y, a su vez, presenta el grupo tiol esterificado como tioéster de *n*-octanoilo, probablemente para incrementar su estabilidad fisiológica.

El largazol es un inhibidor potente y selectivo ( $GI_{50}$  de rango nanomolar) de una serie de líneas celulares transformadas frente a las células normales, lo que sugirió su potencial aplicación como agente antitumoral,<sup>[85]</sup> una actividad que ha sido investigada por diversos grupos.<sup>[87]</sup> De hecho, para comportarse como inhibidor de HDAC debe activarse *in vivo* por acción de esterasas/lipasas liberando de ese modo el tiol, que coordina  $Zn^{2+}$ .<sup>[86]</sup>

La síntesis de largazol (Esquema 13) involucró la preparación del  $\beta$ -hidroxiéster alílico enantiopuro por resolución cinética mediante acilación enzimática/saponificación, y su condensación con L-valina, seguida de la desprotección y formación del enlace amida con aminometiltiazol, la construcción de la tiazolina y el cierre del depsipéptido en el enlace C15(O)-C(N). La metátesis cruzada acíclica (ACM) completó la síntesis de la cadena lateral. Una secuencia similar condujo a varios análogos de largazol modificados en C7, así como el derivado que presenta un grupo 2,4'-bis-tiazol.<sup>[88]</sup>

De manera similar al producto natural, los depsipéptidos análogos sustituidos en C7 (H, Et, Ph), así como el 2,4'-bis-tiazol, mostraron una potente inhibición de HDAC1 recombinante, así como selectividad con respecto a HDAC4. Se midieron potentes efectos pro-apoptóticos al tratar la línea celular leucémica NB4 con esos compuestos aunque, a diferencia de otros HDACis, no promovieron la diferenciación a granulocitos maduros.<sup>[88]</sup>

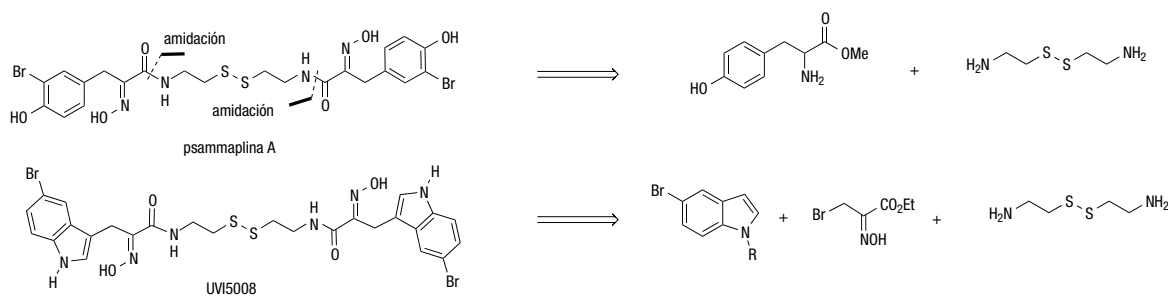
## Lección 6: Procesado (edición) molecular

El extraordinario desarrollo de la metodología sintética durante las últimas cuatro décadas permite en la actualidad una mayor edición molecular (*molecular editing*)<sup>[84]</sup> que nunca antes en la historia de la síntesis química; como consecuencia, se ha incrementado de forma extraordinaria el nivel de complejidad de las estructuras accesibles por síntesis para incorporarse a programas

de descubrimiento de fármacos. Prueba de ello es la estructura del fármaco mesilato de eribulina (Halaven<sup>®</sup>) obtenido por síntesis (Figura 7), un derivado del producto natural halicondrina B, aislado de la esponja *Halichondria okadai*, que contiene el farmacóforo del mismo, compuesto por diversos anillos heterocíclicos oxigenados, 19 estereocentros y gran número de grupos funcionales, que fue aprobado en 2010 para el tratamiento del cáncer de mama metastático.

La psammaplina A (Esquema 13) es un disulfuro simétrico que, de forma casi simultánea, fue aislado en 1987 por tres grupos de investigación a partir de diversas esponjas.<sup>[89]</sup> Puede considerarse un tetrapéptido modificado de Cys y Tyr. En 2002 se evaluó de nuevo esta molécula y se documentó que posee una capacidad única de inhibir las enzimas epigenéticas HDAC y DNMT,<sup>[90]</sup> lo que llamó nuestra atención al ser actividades enzimáticas con mecanismos muy diferentes.

La secuencia sintética desarrollada para psammaplina A y sus análogos es muy corta y en ella interviene la oxidación de tirosina al  $\alpha$ -oximinoéster, seguido de la bromación, saponificación y condensación bidireccional con cistamina. La versátil ruta permitió llevar a cabo un estudio de relación estructura-actividad (SAR) con una pequeña quimioteca dirigida, en la que se varió la longitud de la cadena, la sustitución en la oxima y en el anillo aromático, y el grupo disulfuro/tiol. Como resultados de este estudio destacan la necesidad de mantener el disulfuro (o el tiol) para observar la actividad inhibitoria de HDAC. Sin embargo, la actividad como inhibidor de DNMT no pudo ser corroborada, por lo que psammaplina A no puede considerarse un inhibidor epigenético dual.<sup>[91]</sup> Las modificaciones sintéticas que permitieron una mejora sustancial de la actividad y la potencia inhibitoria frente a HDAC fueron aquellas que afectaron al anillo aromático. En concreto, los derivados de haloindol resultaron ser mucho más potentes como inhibidores epigenéticos y en ensayos celulares, en particular el compuesto codificado como UVI5008. Estos compuestos se prepararon por captura del nitrosoacrilato en la posición C3 del haloindol para generar el  $\alpha$ -oximinoéster seguido de la protección de la oxima como derivado tritilado, condensación bidireccional con cistamina y desprotección.<sup>[92]</sup>



Esquema 13. Estructuras de la psammaplina A y del análogo UVI5008, y secuencia retrosintética

Tal como se corroboró con el producto natural, el derivado UVI5008 requiere la bioactivación para ejercer su acción biológica, al menos sobre HDAC. La Naturaleza es también sabia en el uso de “armas químicas” y tácticas de “camuflaje”,<sup>[93]</sup> ya que el grupo quelante de Zn<sup>2+</sup> está enmascarado como un disulfuro en psammaplina A (y como un tioéster en el caso de largazol), (Esquema 14) y en el fármaco romidepsina (Figura 4). Probablemente, también el diinoenol acetato de los peyssoneninos (Figura 5) sea una forma camuflada de un potente aceptor de Michael.

### Lección 8: El camuflaje de las “armas químicas”

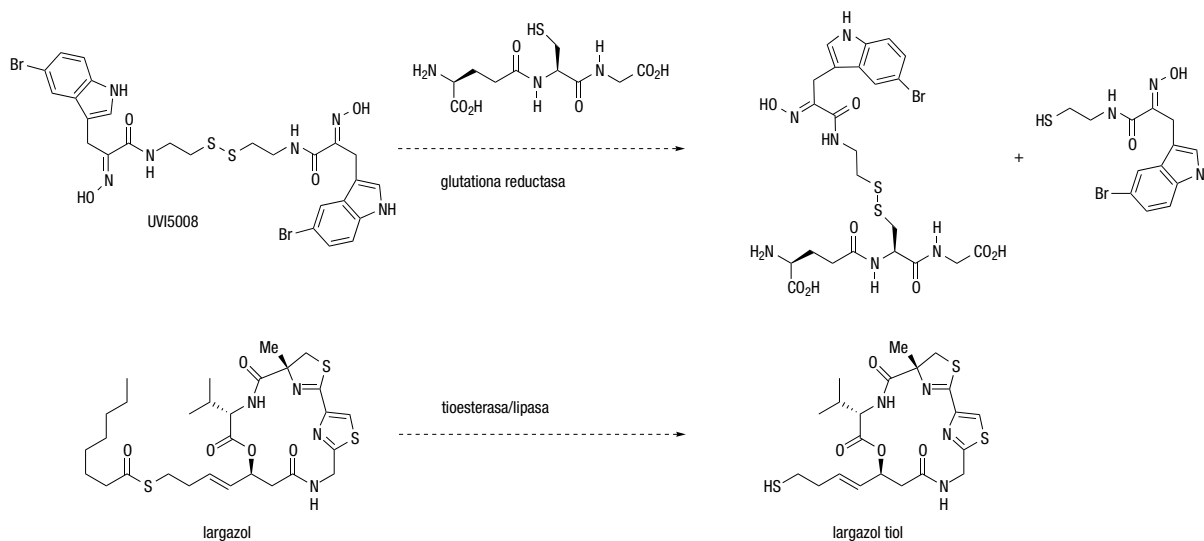
En ocasiones, los productos naturales con estructuras exquisitamente funcionalizadas y mecanismos de acción poco usuales, no son las especies activas. La Naturaleza no solo proporciona estructuras químicas complejas sino que es también una fuente de inspiración inagotable para diseñar elegantes transformaciones moleculares que ofrecen soluciones ingeniosas a la administración de fármacos.<sup>[93]</sup>

El compuesto UVI5008 produjo la inducción de la apoptosis por activación tanto de las caspasas iniciadoras como de las ejecutoras, y también por pérdida del potencial de membrana mitocondrial en células cancerosas derivadas de leucemias (U937, Ku-812F, y K562) y tumores sólidos, como los de mama (MCF7), osteosarcoma (U2OS), próstata (DU145), colon (HCT116) y melanoma (A375).<sup>[94]</sup> UVI5008 también ejerció una potente actividad antitumoral *in vivo*, tal como se demostró empleando, en ratones inmunocomprometidos, injertos de células de cáncer de colon humano que expresan luciferasa. Al ser tratados con dosis de 40 mg/Kg, el compuesto UVI5008

bloqueó de forma pronunciada, sin efectos secundarios aparentes, el crecimiento de los tumores HCT116, tal como se visualizó por imagen *in vivo* y se cuantificó mediante contaje fotónico directo. Se observaron resultados similares al tratar con el mismo compuesto, en presencia de estradiol, tumores generados por injertos de células de cáncer de mama MCF7 en otro modelo murino similar. Se comprobó, también, la reducción del crecimiento de tumores en modelos genéticos murinos de cáncer de mama (“MMTV-myc” y MMTV-cerbB2 b), lo que indica que el compuesto UVI5008 muestra una potente actividad anticancerosa no solo en modelos de cáncer injertado, sino también en modelos genéticos que imitan el cáncer de mama humano.<sup>[94]</sup>

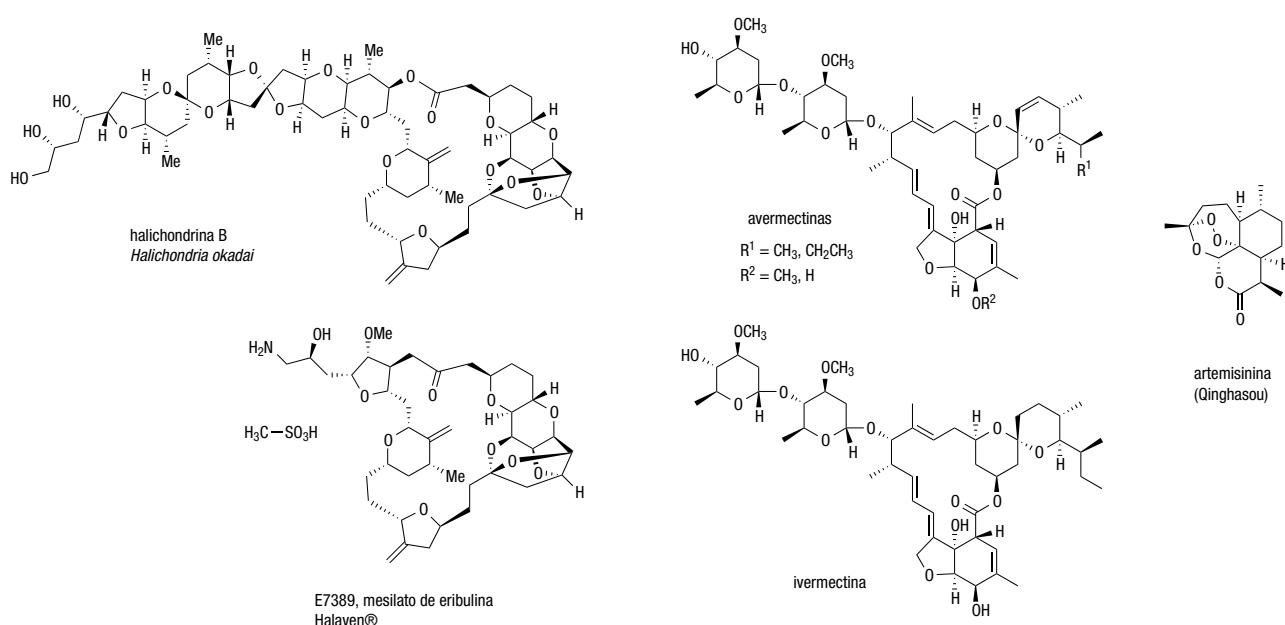
Al contrario que el producto natural psammaplina A, el derivado UVI5008 actuó como inhibidor de la DNA metiltransferasa *de novo* DNMT3A y provocó una inhibición marginal de DNMT1. Por otra parte, actuó como un inhibidor general de las enzimas desacetilasas dependientes de Zn<sup>2+</sup> de clase I y de clase II. Además, UVI5008 resultó ser un potente inhibidor de las desacetilasas de clase III SIRT1 y SIRT2, con selectividad por la posición H3K56ac.<sup>[92]</sup>

Lo que resulta sorprendente es que un solo compuesto sea capaz de inhibir tres epi-enzimas que actúan mediante mecanismos de acción tan dispares: histona desacetilasas dependientes de Zn<sup>2+</sup> y de NAD<sup>+</sup> o SIRT y transferasas de metilo a la citosina del ADN, por lo que este compuesto es el ejemplo más notable de polifarmacología epigenética.<sup>[95]</sup> Es razonable asociar la potente actividad antitumoral de UVI5008 a su capacidad de inhibir simultáneamente, al menos, tres enzimas epigenéticas, HDAC, DNMT y SIRT, que podrían actuar de forma sinérgica para conseguir una mayor eficacia que la obtenida con tres compuestos diferentes utilizados en combinación.



Esquema 14. Mecanismos posibles de bioactivación de moduladores epigenéticos





**Figura 7.** Estructura de los productos naturales avermectina, artemisinina y halichondrina B, y derivados (semi)sintéticos

#### 4. CONCLUSIONES

En resumen, la Epigenética como nueva disciplina científica no es una excepción en lo referente al importante papel que los productos naturales tienen en los sistemas biológicos.<sup>[96]</sup> Los productos naturales ya contienen farmacóforos valiosos, pero estos no han sido necesariamente optimizados por los organismos que los producen para que cumplan la función deseada por los seres humanos. Con esos esqueletos diversos, la función de los químicos consiste en identificar los elementos estructurales clave de los que depende la actividad biológica, así como aquellos fragmentos o grupos funcionales que pueden ser perjudiciales desde el punto de vista del desarrollo farmacéutico. Armados con las poderosas herramientas sintéticas contemporáneas, la complejidad estructural de muchos productos naturales puede ser abordada con éxito cuando se garantizan los recursos materiales y personales necesarios para esta actividad científica.

#### Lección 9: Productos naturales y descubrimiento de fármacos

Los productos naturales permiten a los investigadores en Química Médica el incorporarse a programas de descubrimiento de fármacos en etapas más avanzadas, dada la preselección estructural que la Naturaleza ha ejercido en miles de años de evolución.

En resumen, en proyectos de Química Biológica y Química Médica, los químicos sintéticos pueden proporcionar no solo el producto natural, confirmando o corrigiendo su estructura, sino también intermedios o productos derivados no disponibles en la Naturaleza al no ser sus secuencias sintéticas necesariamente fieles a las rutas bio-

genéticas. La evaluación biológica de esas colecciones de productos naturales puede dirigir los esfuerzos posteriores cuando el producto natural no posee las adecuadas características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los candidatos finales a fármacos, y este proceso iterativo puede generalmente conducir a la obtención de otras colecciones de moléculas inspiradas en la estructuras privilegiadas de los productos naturales y de sus derivados sintéticos, de las cuales pueden derivarse candidatos a fármacos.

La reciente concesión del Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2015 a William C. Campbell (Drew University, EEUU), Satoshi Ômura (Kitasato University, Japón) y Youyou Tu (Academy of Traditional Chinese Medicine, China) por el descubrimiento de curas para enfermedades de nematodos (Ômura-Campbell: avermectinas y su derivado semisintético ivermectina, Figura 7) y malaria (Tu: artemisinina, Figura 7) basadas en productos naturales<sup>[97]</sup> constituye un reconocimiento justo, aunque tardío, al papel de estas moléculas en la curación de enfermedades y el aumento de la esperanza de vida de las poblaciones, y un homenaje a los químicos de productos naturales del pasado siglo que, en la mayor parte de los casos, trabajaban “enfrentándose a la materia sin ningún tipo de ayuda, a base de manos y de cerebro, de razonamiento y fantasía”.<sup>[98]</sup>

#### AGRADECIMIENTOS

Los verdaderos artífices del programa de investigación expuesto son el grupo de colaboradores con los que he tenido el privilegio de compartir esta y otras aventuras in-

telectuales, cuyos nombres aparecen recogidos en las referencias. Su talento y entusiasmo por el trabajo son valores imprescindibles para abordar con éxito los proyectos de Química Orgánica Sintética. La ayuda financiera ha corrido a cargo del MINECO (SAF2010-17935 y SAF2013-48397-R-FEDER), la Xunta de Galicia (08CSA052383PR de la DXI+D+i; Consolidación 2013/007 de la DXPCTSUG; INBIOMED-FEDER “Unha maneira de facer Europa”), y la Unión Europea (EPITRON, un proyecto integrado que ha permitido llevar a cabo la caracterización de los productos obtenidos en nuestro laboratorio, sobre todo a través de una colaboración de muchos años con la Profesora Lucía Altucci -SUNAP, Nápoles y con el Dr. Hinrich Gronemeyer-IGBMC, Estrasburgo). Las Acciones COST CM1406 “Epigenetic Chemical Biology” (EPICHEMBIO; [www.epichembio.eu](http://www.epichembio.eu)) y CM1407 “Challenging organic synthesis inspired by Nature – from natural products chemistry to drug discovery” (<http://www.natchemdrugs.eu/>) permiten el intercambio de ideas y personal y la colaboración con otros grupos en estos dos aspectos de la investigación presentada en esta contribución.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] T. A. Brown, *Introduction to Genetics: A Molecular Approach*, Garland Science: Oxfordshire, UK, 2011.
- [2] [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2015/](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/), 2015. Ver: a) T. Lindahl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8528; b) Modrich, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8490; c) Sancar, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8502.
- [3] T. O. Tollefsbol, *Handbook of Epigenetics: The New Molecular and Medical Genetics*, Elsevier: London, 2011.
- [4] R. K. McGinty and S. Tan, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2255-2273.
- [5] D. Schubeler, *Nature* **2015**, *517*, 321-326.
- [6] M. M. Müller and T. W. Muir, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2296-2349.
- [7] K. Helin and D. Dhanak, *Nature* **2013**, *502*, 480-488.
- [8] K. Siklenka, S. Erkek, M. Godmann, R. Lambrot, S. McGraw, C. Lafleur, T. Cohen, J. Xia, M. Suderman, M. Hallett, J. Trasler, A. H. F. M. Peters and S. Kimmins, *Science* **2015**, *350*, 651-663.
- [9] C. Roadmap Epigenomics, A. Kundaje, W. Meuleman, J. Ernst, M. Bilenky, A. Yen, A. Heravi-Moussavi, P. Kheradpour, Z. Zhang, J. Wang, M. J. Ziller, V. Amin, J. W. Whitaker, M. D. Schultz, L. D. Ward, A. Sarkar, G. Quon, R. S. Sandstrom, M. L. Eaton, Y.-C. Wu, A. R. Pfenning, X. Wang, M. Claussnitzer, Y. Liu, C. Coarfa, R. A. Harris, N. Shores, C. B. Epstein, E. Gjoneska, D. Leung, W. Xie, R. D. Hawkins, R. Lister, C. Hong, P. Gascard, A. J. Mungall, R. Moore, E. Chuah, A. Tam, T. K. Canfield, R. S. Hansen, R. Kaul, P. J. Sabo, M. S. Bansal, A. Carles, J. R. Dixon, K.-H. Farh, S. Feizi, R. Karlic, A.-R. Kim, A. Kulkarni, D. Li, R. Lowdon, G. Elliott, T. R. Mercer, S. J. Neph, V. Onuchic, P. Polak, N. Rajagopal, P. Ray, R. C. Sallari, K. T. Siebenthal, N. A. Sinnott-Armstrong, M. Stevens, R. E. Thurman, J. Wu, B. Zhang, X. Zhou, A. E. Beaudet, L. A. Boyer, P. L. De Jager, P. J. Farnham, S. J. Fisher, D. Haussler, S. J. M. Jones, W. Li, M. A. Marra, M. T. McManus, S. Sunyaev, J. A. Thomson, T. D. Tlsty, L.-H. Tsai, W. Wang, R. A. Waterland, M. Q. Zhang, L. H. Chadwick, B. E. Bernstein, J. F. Costello, J. R. Ecker, M. Hirst, A. Meissner, A. Milosavljevic, B. Ren, J. A. Stamatoyannopoulos, T. Wang and M. Kellis, *Nature* **2015**, *518*, 317-330.
- [10] a) S. L. Schreiber, J. D. Kotz, M. Li, J. Aubrey, C. P. Austin, J. C. Reed, H. Rosen, E. L. White, L. A. Sklar, C. W. Lindsley, B. R. Alexander, J. A. Bittker, P. A. Clemons, A. de Souza, M. A. Foley, M. Palmer, A. F. Shamji, M. J. Wawer, O. McManus, M. Wu, B. Zou, H. Yu, J. E. Golden, F. J. Schoenen, A. Simeonov, A. Jadhav, M. R. Jackson, A. B. Pinkerton, T. D. Y. Chung, P. R. Griffin, B. F. Cravatt, P. S. Hodder, W. R. Roush, E. Roberts, D.-H. Chung, C. B. Jonsson, J. W. Noah, W. E. Severson, S. Ananthan, B. Edwards, T. I. Oprea, P. J. Conn, C. R. Hopkins, M. R. Wood, S. R. Stauffer, K. A. Emmitte, L. S. Brady, J. Driscoll, I. Y. Li, C. R. Loomis, R. N. Margolis, E. Michelotti, M. E. Perry, A. Pillai and Y. Yao, *Cell* **2015**, *161*, 1252-1265; b) A. Huston, C. H. Arrowsmith, S. Knapp and M. Schapira, *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 542-545; c) A. Finley and R. A. Copeland, *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 1196-1210.
- [11] a) S. J. Conway, P. M. Woster, W. J. Greenlee, G. Georg and S. Wang, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 1247-1248; b) R. A. Copeland, *ACS Med. Chem. Lett.* **2016**, *7*, 124-127.
- [12] M. Szyf, *Nat Rev Drug Discov* **2015**, *14*, 461-474.
- [13] a) W. Timp and A. P. Feinberg, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 497-510; b) M. L. Suvá, N. Riggi and B. E. Bernstein, *Science* **2013**, *339*, 1567-1570.
- [14] N. Carey, *MedChemComm* **2012**, *3*, 162-166.
- [15] a) H. Shen and P. W. Laird, *Cell* **2013**, *153*, 38-55; b) M. Rius and F. Lyko, *Oncogene* **2012**, *31*, 4257-4265.
- [16] a) G. D. Bowman and M. G. Poirier, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2274-2295; b) H. Huang, S. Lin, B. A. Garcia and Y. Zhao, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2376-2418.
- [17] a) N. I. Vasilevich, R. V. Kombarov, D. V. Genis and M. A. Kirpichenok, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 7003-7009; b) W. H. Gerwick and B. S. Moore, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 85-98.
- [18] a) L. A. Salvador-Reyes and H. Luesch, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 478-503; b) J. W. Blunt, B. R. Copp, R. A. Keyzers, M. H. G. Munro and M. R. Prinsep, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 116-211; c) D. J. Newman and G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311-335; d) D. G. I. Kingston, *J. Nat. Prod.* **2010**, *74*, 496-511.
- [19] a) N. Shigematsu, H. Ueda, S. Takase, H. Tanaka, K. Yamamoto and T. Tada, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 311-314; b) H. Ueda, H. Nakajima, Y. Hori, T. Fujita, M. Nishimura, T. Goto and M. Okuhara, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 301-310.
- [20] D. J. Newman and G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 629-661.
- [21] a) M. J. Koziol, C. R. Bradshaw, G. E. Allen, A. S. H. Costa, C. Frezza and J. B. Gurdon, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2016**, *23*, 24-30; b) T. P. Wu, T. Wang, M. G. Seetin, Y. Lai, S. Zhu, K. Lin, Y. Liu, S. D. Byrum, S. G. Mackintosh, M. Zhong, A. Tackett, G. Wang, L. S. Hon, G. Fang, J. A. Swenberg and A. Z. Xiao, *Nature* **2016**, *advance online publication*, doi:10.1038/nature17640.
- [22] X. Cheng and R. M. Blumenthal, *Structure* **2008**, *16*, 341-350.
- [23] R. Zangi, A. Arrieta and F. P. Cossì, *J. Mol. Biol.* **2010**, *400*, 632-644.
- [24] Q. Du, Z. Wang and V. L. Schramm, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, *113*, 2916-2921.
- [25] a) A. Erdmann, L. Halby, J. Fahy and P. B. Arimondo, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2569-2583; b) H. Wu and Y. Zhang, *Cell* **2014**, *156*, 45-68.
- [26] K. L. McPhail, D. France, S. Cornell-Kennon and W. H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1010-1013.

- [27] a) P. García-Domínguez, I. Lepore, C. Erb, H. Gronemeyer, L. Altucci, R. Álvarez and A. R. de Lera, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 6979-6987; b) P. García-Domínguez, R. Álvarez and A. R. de Lera, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 4762-4782.
- [28] P. García-Domínguez, M. Martín-Pastor, A. R. de Lera and R. Álvarez, *Magn. Res. Chem.* **2010**, *48*, 543-549.
- [29] P. García-Domínguez, M. Weiss, I. Lepore, R. Álvarez, L. Altucci, H. Gronemeyer and A. R. de Lera, *ChemMedChem* **2012**, *7*, 2101-2112.
- [30] a) C. D. Allis, S. L. Berger, J. Cote, S. Dent, T. Jenuwein, T. Kouzarides, L. Pillus, D. Reinberg, Y. Shi, R. Shiekhattar, A. Shilatifard, J. L. Workman and Y. Zhang, *Cell* **2007**, *131*, 633-636; b) A. Farria, W. Li and S. Y. R. Dent, *Oncogene* **2015**, *34*, 4901-4913.
- [31] M. D. Shahbazian and M. Grundstein, *Ann. Rev. Biochem.* **2007**, *76*, 75-100.
- [32] a) B. M. Dancy and P. A. Cole, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2419-2452; b) S. C. Hodawadekar and R. Marmorstein, *Oncogene* **2007**, *26*, 5528-5540.
- [33] X. Liu, L. Wang, K. Zhao, P. R. Thompson, Y. Hwang, R. Marmorstein and P. A. Cole, *Nature* **2008**, *451*, 846-850.
- [34] a) R. P. Simon, D. Robaa, Z. Alhalabi, W. Sippl and M. Jung, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 1249-1270; b) Z. Wang, C. Zang, K. Cui, D. E. Schones, A. Barski, W. Peng and K. Zhao, *Cell* **2009**, *138*, 1019-1031.
- [35] K. Balasubramanyam, V. Swaminathan, A. Ranganathan and T. K. Kundu, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 19134-19140.
- [36] L. Cui, J. Miao, T. Furuya, Q. Fan, X. Li, P. K. Rathod, X.-z. Su and L. Cui, *Eukaryotic Cell* **2008**, *7*, 1200-1210.
- [37] K. Mantelingu, A. H. Kishore, K. Balasubramanyam, G. V. P. Kumar, M. Altaf, S. N. Swamy, R. Selvi, C. Das, C. Narayana, K. S. Rangappa and T. K. Kundu, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 4527-4534.
- [38] J. A. Souto, M. Conte, R. Alvarez, A. Nebbioso, V. Carafa, L. Altucci and A. R. de Lera, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 1435-1442.
- [39] J. Souto, R. Benedetti, K. Otto, M. Miceli, R. Álvarez, L. Altucci and A. de Lera, *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1530-1540.
- [40] a) T. Kouzarides, *Curr. Op. Genetic. Develop.* **2002**, *12*, 198-209; b) A. Shilatifard, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 243-269.
- [41] J. C. Black, C. Van Rechem and J. R. Whetstone, *Mol. Cell* **2012**, *48*, 491-507.
- [42] M. F. Fraga, E. Ballestar, A. Villar-Garea, M. Boix-Chornet, J. Espada, G. Schotta, T. Bonaldi, C. Haydon, S. Roperio, K. Petrie, N. G. Iyer, A. Pérez-Rosado, E. Calvo, J. A. Lopez, A. Cano, M. J. Calasanz, D. Colomer, M. A. Piris, N. Ahn, A. Imhof, C. Caldas, T. Jenuwein and M. Esteller, *Nat. Genetics* **2005**, *37*, 391-400.
- [43] a) J. R. Müller, C. M. Hart, N. J. Francis, M. L. Vargas, A. Sengupta, B. Wild, E. L. Miller, M. B. O'Connor, R. E. Kingston and J. A. Simon, *Cell* **2002**, *111*, 197-208; b) B. Schuettengruber, D. Chourrout, M. Vervoort, B. Leblanc and G. Cavalli, *Cell* **2007**, *128*, 735-745; c) A. P. Bracken and K. Helin, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 773-784; d) R. Margueron and D. Reinberg, *Nature* **2011**, *469*, 343-349.
- [44] a) S. K. Verma, *Curr. Top. Med. Chem.* **2015**, *15*, 714-719; b) R. C. Rao and Y. Dou, *Nat Rev Cancer* **2015**, *15*, 334-346; c) K. H. Kim and C. W. M. Roberts, *Nat. Med.* **2016**, *22*, 128-134.
- [45] H. ú. Kaniskan, K. D. Konze and J. Jin, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 1596-1629.
- [46] X. Cheng, R. E. Collins and X. Zhang, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Structure* **2005**, *34*, 267-294.
- [47] M. B. Poulin, J. L. Schneck, R. E. Matico, P. J. McDevitt, M. J. Huddleston, W. Hou, N. W. Johnson, S. H. Thrall, T. D. Meek and V. L. Schramm, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2016**, *113*, 1197-1201.
- [48] A. N. D. Scharf and A. Imhof, *FEBS Lett.* **2011**, *585*, 2001-2007.
- [49] Y. Yang and M. T. Bedford, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 37-50.
- [50] D. Greiner, T. Bonaldi, R. Eskeland, E. Roemer and A. Imhof, *Nature Chem. Biol.* **2005**, *1*, 143-145.
- [51] C. R. Isham, J. D. Tibodeau, W. Jin, R. Xu, M. M. Timm and K. C. Bible, *Blood* **2007**, *109*, 2579-2588.
- [52] a) F. L. Cherblanc, K. L. Chapman, R. Brown and M. J. Fuchter, *Nat Chem Biol* **2013**, *9*, 136-137; b) F. L. Cherblanc, K. L. Chapman, J. Reid, A. J. Borg, S. Sundriyal, L. Alcazar-Fuoli, E. Bignell, M. Demetriades, C. J. Schofield, P. A. DiMaggio, R. Brown and M. J. Fuchter, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8616-8625.
- [53] I. Fernández, F. P. Cossío and M. A. Sierra, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 6687-6711.
- [54] C. Silva Lopez, C. Pérez-Balado, P. Rodríguez-Graña and A. R. de Lera, *Org. Lett.* **2007**, *10*, 77-80.
- [55] E. Iwasa, Y. Hamashima, S. Fujishiro, E. Higuchi, A. Ito, M. Yoshida and M. Sodeoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4078-4079.
- [56] J. Kim and M. Movassaghi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14376-14378.
- [57] a) P. Ruiz-Sanchis, S. A. Savina, F. Albericio and M. Álvarez, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1388-1408; b) A. D. Borthwick, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3641-3716.
- [58] C. J. Barrow, P. Cai, J. K. Snyder, D. M. Sedlock, H. H. Sun and R. Cooper, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6016-6021.
- [59] a) M. Movassaghi, M. A. Schmidt and J. A. Ashenurst, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1485-1487; b) J. Kim, J. A. Ashenurst and M. Movassaghi, *Science* **2009**, *324*, 238-241; c) J. Kim and M. Movassaghi, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3035-3050; d) J. Kim and M. Movassaghi, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1159-1171.
- [60] a) C. Pérez-Balado and A. R. de Lera, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3701-3704; b) C. Pérez-Balado, P. Rodríguez-Graña and A. R. de Lera, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9928-9937.
- [61] a) C. Perez-Balado and A. R. de Lera, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5179-5186; b) P. Lorenzo, R. Álvarez and A. R. de Lera, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 2557-2564.
- [62] S. P. B. Oviden, G. Sberna, R. M. Tait, H. G. Wildman, R. Patel, B. Li, K. Steffy, N. Nguyen and B. M. Meurer-Grimes, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 2093-2095.
- [63] P. Lorenzo, R. Álvarez and A. R. de Lera, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 421-423.
- [64] C. Pérez-Balado, H. Sun, C. Griesinger, Á. R. de Lera and A. Navarro-Vázquez, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 11983-11986.
- [65] S. U. Lee, Y. Asami, D. Lee, J.-H. Jang, J. S. Ahn and H. Oh, *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1284-1287.
- [66] G. Ding, L. Jiang, L. Guo, X. Chen, H. Zhang and Y. Che, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1861-1865.
- [67] K. C. Nicolaou and S. A. Snyder, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1012-1044.

- [68] a) M. W. Van Dyke, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 511-522; b) Y. Zhang, H. Fang, J. Jiao and W. Wu, *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 2840-2849.
- [69] K. J. Falkenberg and R. W. Johnstone, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, *13*, 673-691.
- [70] a) F. Thaler and C. Mercurio, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 523-536; b) J. H. Kalin and J. A. Bergman, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6297-6313.
- [71] a) H. Jing and H. Lin, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 2350-2375; b) C. Sebastián, F. K. Satterstrom, M. C. Haigis and R. Mostoslavsky, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 42444-42452; c) J. A. Baur, Z. Ungvari, R. K. Minor, D. G. Le Couteur and R. de Cabo, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11*, 443-461.
- [72] a) A. Chalkiadaki and L. Guarente, *Nat Rev Cancer* **2015**, *15*, 608-624; b) M. Roth and W. Y. Chen, *Oncogene* **2014**, *33*, 1609-1620.
- [73] B. Chen, W. Zang, J. Wang, Y. Huang, Y. He, L. Yan, J. Liu and W. Zheng, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 5246-5264.
- [74] H. Yuan and R. Marmorstein, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 42428-42435.
- [75] B. C. Smith and J. M. Denu, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5802-5803.
- [76] P. Hu, S. Wang and Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16721-16728.
- [77] K. Chen, X. Zhang, Y.-D. Wu and O. Wiest, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11636-11643.
- [78] P. Jones in *Histone Deacetylase Inhibitors*, Vol. Eds.: W. Sippl and M. Jung), Wiley-VCH, Weinheim, **2009**, pp. 185-223.
- [79] a) C. Seidel, M. Schnekenburger, M. Dicato and M. Diederich, *Genes & Nutrition* **2012**, *7*, 357-367; b) S. Tan and Z.-P. Liu, *ChemMedChem* **2015**, *10*, 441-450.
- [80] N. Fusetani, N. Asai, S. Matsunaga, K. Honda and K. Yasumuro, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3967.
- [81] N. Oku, K. Nagai, N. Shindoh, Y. Terada, R. W. M. Van Soest, S. Matsunaga and N. Fusetani, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2617-2620.
- [82] C. Pérez-Balado, P. Rodríguez-Graña, A. Nebbio, A. Mini-chiello, M. Miceli, L. Altucci and A. R. de Lera, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2497-2505.
- [83] R. M. Wilson and S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8329-8351.
- [84] S. Danishefsky, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1114-1116.
- [85] K. Taori, V. J. Paul and H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806-1807.
- [86] Y. Ying, K. Taori, H. Kim, J. Hong and H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8455-8459.
- [87] J. Hong and H. Luesch, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 449-456.
- [88] J. A. Souto, E. Vaz, I. Lepore, A.-C. Pöppler, G. Franci, R. Álvarez, L. Altucci and A. R. de Lera, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4654-4667.
- [89] a) E. Quiñoà and P. Crews, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3229-3232; b) A. D. Rodríguez, R. K. Akee and P. J. Scheuer, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4989-4992; c) L. Arabshahi and F. J. Schmitz, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3584-3586.
- [90] Y. Park, Y. Liu, J. Hong, C. O. Lee, H. Cho, D. K. Kim, K. S. Im and J. H. Jung, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1495-1498.
- [91] J. García, G. Franci, R. Pereira, R. Benedetti, A. Nebbio, F. Rodríguez-Barrios, H. Gronemeyer, L. Altucci and A. R. de Lera, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 3637-3649.
- [92] R. Pereira, R. Benedetti, S. Pérez-Rodríguez, A. Nebbio, J. García-Rodríguez, V. Carafa, M. Stuhldreier, M. Conte, F. Rodríguez-Barrios, H. G. Stunnenberg, H. Gronemeyer, L. Altucci and A. R. de Lera, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9467-9491.
- [93] J. C. Kwan and H. Luesch, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13020-13029.
- [94] A. Nebbio, R. Pereira, H. Khanwalkar, F. Matarese, J. García-Rodríguez, M. Miceli, C. Logie, V. Keding, F. Ferrara, H. G. Stunnenberg, A. R. de Lera, H. Gronemeyer and L. Altucci, *Mol. Cancer Ther.* **2011**, *10*, 2394-2404.
- [95] a) J.-U. Peters, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8955-8971; b) R. Álvarez, H. Gronemeyer, L. Altucci and A. R. de Lera, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 2749-2787.
- [96] D. Dhanak, *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 521-523.
- [97] [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2015/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/press.html), **2015**. Ver: a) W. C. Campbell, W. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10184b) S. Omura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10210. c) Y. Tu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10210.
- [98] P. Levi, *El sistema periódico*, El Aleph, Barcelona, **2004**.



8-11 Noviembre 2016

**XIII Simposio de Investigadores Jóvenes**  
Real Sociedad Española de Química - Sigma Aldrich\*