



Nobel Prizes of Chemistry and Physiology or Medicine. Biology invades Chemistry and Chemistry invades Medicine

Title in Spanish: *Premios Nobel de Química y de Fisiología o Medicina 2105. La biología “invade” a la química y ésta a la medicina*

M.^a del Carmen Avendaño López¹

¹Catedrática de Química Orgánica, Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid

ABSTRACT: We argue that the outcome of the 2015 Nobel Prizes shows that the barriers between physical and life sciences are increasingly subtle. Biology continues its Chemistry invasion and the Nobel Prize of Physiology or Medicine is given to a classical Medicinal Chemistry methodology: the search for new drugs through natural products optimization.

RESUMEN: Se pretende demostrar que ambos premios reflejan la dificultad de establecer líneas divisorias entre las ciencias relacionadas con la vida. La biología sigue “invadiendo” a la Química y el Nobel de Fisiología o Medicina se otorga a descubrimientos enmarcados en un campo propio de la Química Médica: el descubrimiento de fármacos por manipulación estructural de productos naturales.

*Corresponding Author: avendano@farm.ucm.es

Received: October 22, 2015 Accepted: October 27, 2015

An Real Acad Farm Vol. 82, Nº 2 (2016), pp. 121-128

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

Desde el año 1901 han sido galardonadas 870 personas y 23 organizaciones con Premios Nobel. A ellas se han sumado en el año 2015 Takaaki Kajita y Arthur B. McDonald, que han sido nominados para el Nobel de Física "por el descubrimiento de las oscilaciones de los neutrinos, que demuestran que los neutrinos tienen masa"; Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar, galardonados con el Nobel de Química "por los estudios mecanísticos de la reparación del ADN"; William C. Campbell y Satoshi Ōmura "por sus descubrimientos relacionados con una nueva terapia contra infecciones causadas por nematodos", comparten el premio de Fisiología o Medicina con Youyou Tu "por sus descubrimientos relacionados con una nueva terapia contra la malaria"; Svetlana Alexievich ha sido premiada con el Nobel de Literatura "por sus escritos polifónicos, un monumento al sufrimiento y al coraje en nuestro tiempo"; a la organización “National Dialogue Quartet” se otorga el Nobel de la Paz "por su decisiva contribución a la construcción de una democracia plural en Túnez en el despertar de la Revolución de los Jazmines en 2011”; y a Angus Deaton el Premio en Ciencias Económicas (*Sveriges Riksbank Prize in Economic Sciences in Memory of Alfred Nobel*) "por su análisis sobre el consumo, la pobreza y el bienestar". A lo largo de los años, varias concesiones de estos premios han provocado reacciones contradictorias a nivel internacional, basadas con frecuencia en razones políticas. Este año parece haber

destacado en este sentido la concesión del Premio Nobel de Literatura a la periodista bielorrusa Svetlana Alexievich, autora de una obra en la que la ficción ha sido reemplazada por testimonios y documentos.

Aunque los Nobel de Química y de Fisiología o Medicina de 2015 se analizarán detenidamente en la sesión organizada anualmente al efecto por la RANF, aquí pretendemos demostrar que ambos premios reflejan la dificultad de establecer líneas divisorias entre las ciencias relacionadas con la vida. La biología sigue “invadiendo” a la química y el Nobel de Fisiología o Medicina se otorga a descubrimientos enmarcados en un campo propio de la Química Médica: el descubrimiento de fármacos por manipulación estructural de productos naturales (1).

2. LA QUÍMICA MÉDICA, UNA NUEVA ORIENTACIÓN DE LA QUÍMICA

Se puede decir que las bases científicas del desarrollo de los medicamentos surgieron alrededor de 1850 con la síntesis de Perkin del primer colorante artificial y con el inicio de los estudios farmacológicos en animales. En 1868, el químico orgánico A. C. Brown y el farmacólogo T. R. Fraser pusieron de manifiesto que lo que determina los efectos de los compuestos en los sistemas biológicos es su estructura química (2). Aunque algunos científicos pensaron que se podrían diseñar fármacos para tratar cualquier enfermedad, los nuevos fármacos surgían todavía por la vía empírica del ensayo y el error, de tal forma que el famoso farmacólogo A. J. Clark (3) opinaba en los años 1930s que los que se dedicaban el estudio de

las relaciones entre la estructura química y los efectos biológicos de los compuestos habían conseguido entender cual era su nivel de ignorancia.

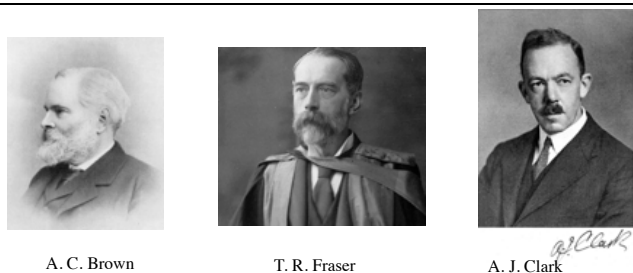


Figura 1. Pioneros y críticos de las relaciones estructura química-actividad biológica.

La Química Médica apareció en la bibliografía después de la Segunda Guerra Mundial, cuando el avance de las técnicas farmacológicas permitió cuantificar la actividad biológica, que pasó a ser una nueva propiedad de las moléculas. Esta nueva orientación de la química surgió en grupos de investigación de la industria farmacéutica de los EEUU, y tomó carta de naturaleza cuando la *American Chemical Society* aceptó que la *Division of Pharmaceutical Chemistry* (fundada in 1909 y transformada en 1920 en *Division of Chemistry and Medicinal Products*) se denominara en 1948 *Division of Medicinal Chemistry*. Posteriormente comenzó a desarrollarse en Europa a nivel industrial y académico.

En 1959, la *Division of Medicinal Chemistry* comenzó a publicar la revista *Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, que pasó a llamarse en 1963 *Journal of Medicinal Chemistry* y se convirtió en la de mayor impacto de esta disciplina. En 1966 esta División empezó también a publicar los *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, una serie que recogía los principales avances de cada año. El término *Medicinal Chemistry* se tradujo al español de varias formas, adoptándose el de Química Médica cuando se creó el correspondiente Instituto del CSIC en 1973, mientras que la Sociedad de Química Terapéutica creada para promover el desarrollo de la investigación y el desarrollo en el sector farmacéutico español adoptó ese nombre cuando se fundó en 1977. Los nombres de Química Medicinal o Química Farmacéutica se aplicaron a la nueva disciplina que se incluyó por primera vez en los planes de estudios de la Licenciatura de Farmacia de 1973, no sin ciertas reticencias por sus contenidos, que según las directrices de la Comunidad Europea eran el diseño, la síntesis y el análisis de los fármacos, entendidos en el sentido amplio de moléculas activas biológicamente y no sólo como los aceptados oficialmente para su comercialización y uso humano.

Este nuevo campo interdisciplinar de la química se apoyó primero en la química orgánica y en particular en la síntesis orgánica, pero el estudio de las relaciones estructura química-actividad biológica y la interpretación de los mecanismos de acción de los compuestos bioactivos tuvieron cada vez más relevancia. La cuantificación de la actividad biológica de las moléculas y la introducción de los métodos computacionales posibilitó establecer

relaciones cuantitativas e hizo pensar en que el diseño racional de fármacos era un objetivo alcanzable. Además, el marcaje de las moléculas con radioisótopos permitió desarrollar ensayos de enlace e identificar y validar dianas para los distintos fármacos, que pasaron a ser una herramienta para el conocimiento de la biología celular y molecular y de los mecanismos de acción de los fármacos. La IUPAC definió en 1998 a la Química Médica como “*a chemistry-based discipline, also involving aspects of biological, medical and pharmaceutical sciences. It is concerned with the invention, discovery, design, identification and preparation of biologically active compounds, the study of their metabolism, the interpretation of their mode of action at the molecular level and the construction of structure-activity relationships*”. Sus posibilidades se incrementaron gracias al progreso de los métodos de cribado molecular, las técnicas analíticas y las tecnologías computacionales aplicadas al modelado molecular y al cribado virtual. Actualmente, además de permitir optimizar la actividad biológica o el índice terapéutico, la Química Médica proporciona herramientas útiles para el diagnóstico y el entendimiento de las enfermedades, y facilita la evaluación clínica de nuevos fármacos. Por otra parte, la diversidad estructural de las moléculas sometidas a estudio es cada vez mayor e incluye ligandos sintéticos, productos naturales o de semisíntesis, peptidomiméticos y proteínas modificadas, conjugados de fármacos con anticuerpos, compuestos multifuncionales y vacunas sintéticas (4).

3. PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2015

Si asignamos los campos de investigación correspondientes a los Nobel de Química que se han otorgado en el siglo XXI (Tabla 1), corresponderían 9 a la Química Biológica (entre ellos el del año 2015), 2 a la Química Física, 1 a la Química Aplicada a la Ingeniería de Materiales, 1 a la Química Computacional, y 3 a la Síntesis Orgánica.

El Nobel de Química de 2015 premia los estudios sobre la reparación del ADN llevados a cabo por T. Lindahl, P. Modrich y A. Sancar. El primero ha trabajado en el Instituto Francis Francis Crick de investigación biomédica y en el Laboratorio de Investigación sobre el cáncer Clare Hall en Gran Bretaña; Modrich es investigador del Instituto Médico Howard Hughes y catedrático de Bioquímica en la Facultad de Medicina de la Universidad Duke de EEUU; y Sancar es catedrático de biofísica y bioquímica en la Facultad de Medicina de la Universidad de Carolina del Norte (Figura 2). Sus trabajos han sido relevantes para conocer que la actividad celular, así como diversos factores ambientales, pueden producir daño en el ADN. La inestabilidad de esta molécula fue demostrada en los primeros años 1970s por el Dr. Lindahl, quien descubrió una maquinaria molecular que lo repara constantemente. El Dr. Sancar trazó el camino para establecer cómo las células reparan el daño que origina en el ADN la luz ultravioleta y el Dr. Modrich mostró cómo la maquinaria celular corrige los errores producidos durante la replicación del ADN.

Tabla 1. Premios Nobel de Química 2001-2015.

Año	Científicos premiados	Tema
2001	K.B. Sharpless, W.S. Knowles y R. Noyori	Catalizadores quirales en reacciones de oxidación y reducción.
2002	J.B. Fenn, K. Tanaka y K. Wüthrich	La desorción iónica y la RMN en el análisis espectrométrico de moléculas biológicas.
2003	P. Agre y R. MacKinnon	Canales de agua y mecanismos de intercambio iónico en las membranas celulares.
2004	A. Ciechanover, A. Hershko e I. Rose	Descubrimiento de la reacción proteínica causada por la ubiquitina
2005	Y. Chauvin, R. H. Grubbs y R.R. Schrock	Desarrollo del método de metátesis olefínica en la química orgánica.
2006	R.D. Kornberg	Bases moleculares de la transcripción genética.
2007	G. Ertl	Procesos químicos sobre superficies sólidas.
2008	O. Shimomura, M. Chalfie y R.Y. Tsien	Descubrimiento y desarrollo de la proteína verde fluorescente (GFP).
2009	V. Ramakrishnan, T.A. Steitz y A. Yonath	Estructura y función de los ribosomas.
2010	R. Heck, E-i. Negishi y A. Suzuki	Reacciones químicas catalizadas por paladio.
2011	D. Shechtman	Descubrimiento de los cuasicristales (sólidos cuasiperiódicos).
2012	B.K. Kobilka y R.J. Lefkowitz	Descubrimiento de los receptores acoplados a proteínas G.
2013	M. Karplus, M. Levitt y A. Warshel	Desarrollo de modelos informáticos que permiten entender y predecir sistemas químicos complejos.
2014	E. Betzig, S.W. Hell y W.E. Moerner	Desarrollo del microscopio de fluorescencia de alta resolución.
2015	T. Lindahl, P. Modrich y A. Sancar	Estudios mecanísticos de la reparación del ADN.



T. Lindahl

Paul Modrich

Aziz Sancar

Figura 2. Científicos galardonados con el Premio Nobel de Química 2015.

Se calcula que el genoma de una célula de un ser humano puede experimentar diariamente miles de cambios espontáneos y que en la división y multiplicación de las células que tiene lugar diariamente en las personas millones de veces, pueden introducirse defectos. Muchas lesiones originan un daño estructural en el ADN que altera o inhibe la transcripción genética o induce mutaciones que afectan a la supervivencia celular. Las lesiones más comunes son las roturas de una hebra (*single-strand breaks*, SSBs). Cuando se detecta el daño se activan los procesos de respuesta (*DNA damage response*, DDR), que implican su reparación o la muerte celular programada de

la célula dañada (apoptosis). Si estos procesos fallan, se producen lesiones irreversibles que conducen a distintas enfermedades, fundamentalmente al cáncer (que se origina cuando se acumulan varias de estas lesiones y las células entran en una división descontrolada), y a otras enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Por ello, varios fármacos que inhiben la DDR potencian el efecto de los tratamientos anticancerosos al alterar o inhibir los procesos de reparación del ADN a fin de que las células cancerosas, sensibles a dichos tratamientos, entren en apoptosis (5). Aunque el aumento de la eficacia terapéutica de los antitumorales administrados conjuntamente con estos quimiosensibilizantes puede inducir efectos indeseables derivados de la inhibición de la reparación del ADN en tejidos normales o aumentar el riesgo de malignidades secundarias, serían muy útiles como coadyuvantes en la radioterapia porque la inhibición de la respuesta al daño del ADN sensibilizará selectivamente a las células radiadas. Hoy se conocen cuatro modos de reparar el ADN: la reparación directa (*direct repair*, DR), la reparación por excisión de una base (*base excision repair*, BER), la recombinación homóloga (homologous recombination, HR), y la unión de extremos no homólogos (*non-homologous end joining*, NGEJ) (Figura 3).

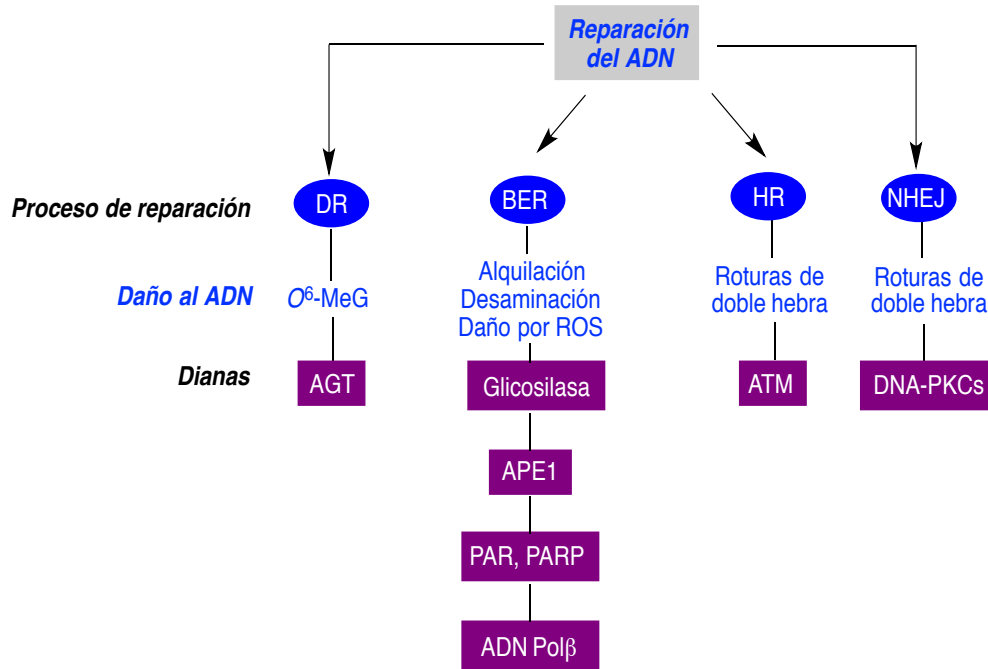


Figura 3. Modos de reparación del ADN, daño que se repara y dianas implicadas.

5. PREMIO NOBEL DE FISIOLÓGÍA O MEDICINA 2015

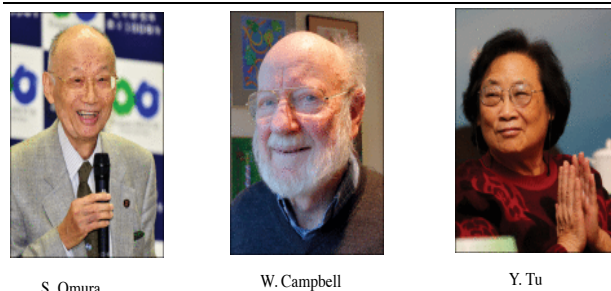
Si analizamos los Premios Nobel de Fisiología o Medicina concedidos en el mismo periodo (Tabla 2) podemos observar que se premian frecuentemente descubrimientos relacionados con la biología molecular (especialmente con la genética) que explican el funcionamiento del organismo humano. Otros descubrimientos han permitido el desarrollo de animales manipulados genéticamente para el estudio de

enfermedades y fármacos o el de métodos para modificar artificialmente ciertos procesos vitales (como la fertilización in vitro). También se ha premiado el descubrimiento de patógenos externos (bacterias o virus) causantes de enfermedades. Se salen de estos campos científicos el premio del año 2003, otorgado a la aplicación de la resonancia magnética de imagen para observar alteraciones en tejidos y detectar tumores u otras patologías utilizando métodos físicos (campos magnéticos), y el premio del año 2015.

Tabla 2. Premios Nobel de Fisiología o Medicina 2001-2015.

Año	Científicos premiados	Tema
2001	L.H. Hartwell, T. Hunt y Sir P. Nurse	Descubrimiento de los reguladores clave del ciclo celular.
2002	S. Brenner, H.R. Horvitz y J. E. Sulston	Descubrimientos relacionados con la regulación genética del desarrollo de los órganos y de la muerte celular programada.
2003	P.C. Lauterbur y Sir P. Mansfield	Descubrimientos relacionados con la resonancia magnética de imagen.
2004	R. Axel y L.B. Buck	Descubrimiento de los receptores de los olores y de la organización del sistema olfativo.
2005	B.J. Marshall y J.R. Warren	Descubrimiento de la bacteria <i>Helicobacter pylori</i> y de su papel en la gastritis y la úlcera péptica.
2006	A.Z. Fire y C.C. Mello	Descubrimiento del ARN de interferencia – silenciamiento genético por ARN de doble hebra.
2007	M.R.M. Capecchi, Sir M.J. Evans y O. Smithies	Descubrimientos para introducir modificaciones genéticas específicas en ratones utilizando células madre embrionarias.
2008	H. zur Hausen F. Barré-Sinoussi, L. Montagnier	Descubrimiento de los virus del papiloma humano causantes del cáncer cervical. Descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana.
2009	E.H. Blackburn, C.W. Greider y J.W. Szostak	Descubrimiento de cómo están protegidos los cromosomas por los telómeros y la enzima telomerasa.
2010	R. Edwards	Desarrollo de la fertilización in vitro.
2011	R.M. Steinmann B.A. Beutler y J.A. Hoffmann	Descubrimiento de las células dendríticas y de su papel en la inmunidad adaptativa. Descubrimientos acerca de la activación del sistema inmune innato.
2012	Sir J.B. Gurdon y S. Yamanaka	Descubrimiento de que las células maduras pueden ser reprogramadas para convertirse en pluripotentes.
2013	J.E. Rothman, R.W. Sheckman y T.C. Südhof	Descubrimiento de la maquinaria que regula el tráfico de vesículas, un importante sistema de transporte en nuestras células.
2014	J. O'Keefe, M.-B. Moser y E.I. Moser	Descubrimiento de las células que constituyen un sistema de posicionamiento en el cerebro.
2015	W.C. Campbell y S. Ōmura Y. Tu	Descubrimiento de una nueva terapia contra infecciones causadas por nematodos. Descubrimientos de una nueva terapia contra la malaria.

Los tres investigadores premiados este año (Figura 4), han identificado tratamientos contra importantes enfermedades parasitarias, y ejemplifican cómo la ciencia puede cambiar el mundo en los países más pobres.



S. Omura

W. Campbell

Y. Tu

Figura 4. Investigadores premiados con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2015.

Satoshi Ōmura, de la Kitasato University de Tokio, y William Campbell, de la Drew University de Madison (EEUU), comparten la mitad del premio por sus trabajos sobre las avermectinas y sus derivados. La avermectinas son lactonas macrocíclicas (Figura 5a) producidas en la fermentación de *Streptomyces avermitilis*, un actinomiceto del suelo. Estos compuestos han resultado eficaces en el tratamiento de la oncocercosis o ceguera del río, la filariasis linfática y otras enfermedades infecciosas producidas por gusanos nematodos. La ivermectina es una mezcla de estos macrólidos y uno de los antihelmínticos más eficaces que existen, generando ventas de alrededor de mil millones de dólares anuales. Ōmura es un experto en el aislamiento de productos naturales que desarrolló técnicas para cultivar bacterias a gran escala, siendo

coautor de al menos 1179 publicaciones. Entre otras bacterias se interesó por el género *Streptomyces*, del que ya se había aislado la estreptomycin. Dado que era pionero en buscar en estos cultivos actividades distintas a la antibiótica, envió varios compuestos aislados del cultivo de *Streptomyces avermitilis* a los laboratorios de la compañía Merck en EEUU, donde Campbell observó que uno de ellos denominado avermectina era muy eficaz contra parásitos de animales de granja, llegando así a la ivermectina que es capaz de controlar parásitos de animales y seres humanos. Es tan eficaz en el tratamiento de la oncocercosis y de otras infecciones que éstas están a punto de ser erradicadas, gracias en parte a que para lograr este propósito la compañía Merck donó este tratamiento en el año 1983.

La otra mitad del Premio Nobel de Fisiología o Medicina, se ha otorgado a Youyou Tu por su descubrimiento de la artemisinina. Tu es directora de la Academia de Medicina China, y a sus casi 85 años es el primer científico chino que ha alcanzado un Premio Nobel por trabajos desarrollados en China, representando a la primera generación de científicos que fundó Mao Zedong. La artemisinina es un compuesto natural aislado de la planta *Artemisia annua* (ajenjo dulce), cuyo extracto se utilizaba como antimalárico y como antihelmíntico con anterioridad al año 168 antes de Cristo. En 1972, se aisló de sus hojas un compuesto cristalino al que se denominó "qinghaosu" (6), que es el responsable de la actividad biológica y actualmente es la base de los tratamientos más eficaces frente a la malaria (7) (Figura 5b).

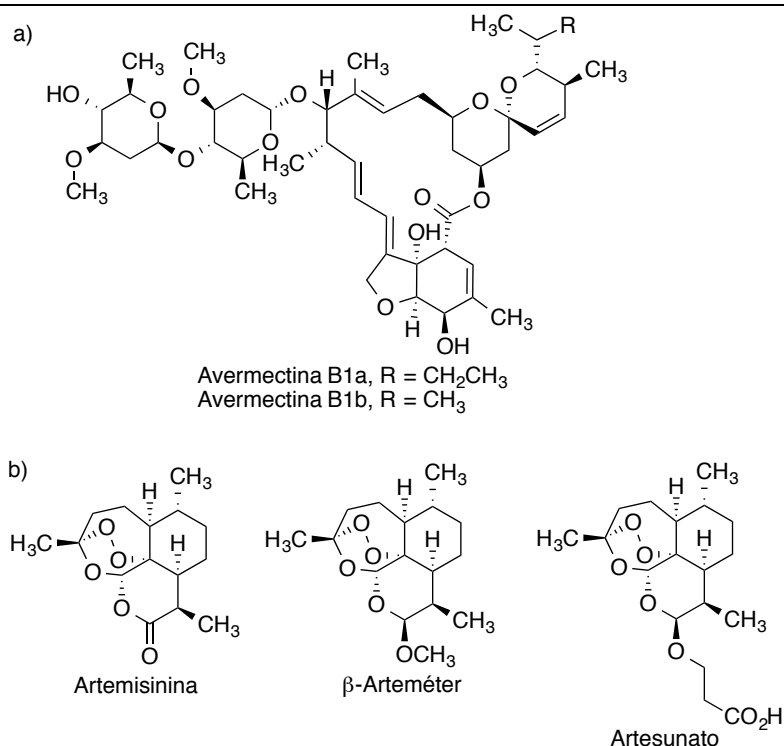


Figura 5. Estructura de algunas avermectinas. Artemisinina y algunos de sus análogos.

El descubrimiento de la artemisinina se produjo en la Revolución Cultural, resultando de una iniciativa del gobierno chino para ayudar a Vietnam del Norte en la guerra con EEUU. El desastre que producían en las tropas las cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a la cloroquina llevó al descubrimiento en los laboratorios estadounidenses de la mefloquina (8), mientras que China organizó un proyecto secreto en 1967, denominado proyecto 523, en el que estaban implicados 600 científicos y alrededor de 60 laboratorios e institutos. Dentro de este proyecto la Prof. Tu dirigía un equipo que estudió la literatura y las recetas de la medicina tradicional china, y tras seleccionar 640 recetas que parecían tener alguna actividad antimalárica ensayó 380 extractos de hierbas en un roedor utilizado como modelo para esta actividad, encontrando que los extractos de *Artemisia annua* (Qinghao) inhibían el crecimiento del parásito en porcentajes bajos. En 1971 logró el extracto 191, que debía contener el principio activo puro ya que mostró un 100% de inhibición, pero no llegó a obtenerlo en forma cristalina. Tras presentar estos resultados en la reunión del proyecto 523 celebrada en marzo de 1972, su información permitió que dos equipos de químicos lograran aislar la artemisinina en forma cristalina. Dado que se trataba de un secreto militar, los resultados no se publicaron hasta 1979, y lo hicieron en una revista médica china sin los nombres de sus descubridores. Así estaban las cosas hasta que en 2007 los especialistas en malaria de los Institutos Nacionales de la Salud de Estados Unidos Louis Miller y Xinzhuan Su lograron identificar a Youyou Tu como descubridora de la artemisinina. Tras otorgarle en el año 2011 el prestigioso premio Albrt Lasker de investigación médica, ahora se le ha asignado la mitad del Premio Nobel de Fisiología o Medicina. Se estima que las terapias en las que la artemisinina se combina con otro fármaco antimalárico han reducido alrededor de un 20% la mortalidad, salvando unas 100.000 vidas al año.

6. NUESTRA RELACIÓN CON EL PROF. ŌMURA

El Prof. Ōmura ha sido un antiguo conocido en nuestro grupo de investigación desde que publicó en el año 1983 la estructura del nuevo antibiótico diazaquinomicina A, cuyo efecto antitumoral atribuyó en 1985 a su actividad antifolato por inhibir la enzima timidilato sintasa (9). La escasez de datos sobre la síntesis y actividad biológica de aza y diazaantraquinonas y las dudas que nos planteó el mecanismo de acción propuesto nos motivaron a desarrollar su síntesis y a estudiar su actividad antitumoral, una tarea que desarrollamos en colaboración con la empresa Pharmamar y dio lugar a varias publicaciones (10) y patentes (11). Varios de los análogos de diazaquinomicina sintetizados mostraron una potente actividad antitumoral in vitro, pero no mostraron actividad significativa como inhibidores de timidilato sintasa, sino como inhibidores de la biosíntesis de proteínas, ADN y ARN.

7. REFLEXIÓN FINAL

Las invasiones no son perniciosas en el campo de batalla de la ciencia, donde la interdisciplinariedad facilita una mayor productividad.

8. REFERENCIAS

1. Sobre este tema, ver por ej.: a) Avendaño C. Síntesis de nuevos antitumorales por manipulación de modelos naturales de origen marino. *Anal Real Acad Nac Farm* 2007;73:1079-92. b) Avendaño C. Los productos naturales en la búsqueda de nuevos fármacos. Una visión de conjunto. *Anal Real Acad Nac Farm* 2011;77:15-35.
2. Brown AC, Fraser TR. On the Connection between Chemical Constitution and Physiological Action; with special reference to the Physiological Action of the Salts of the Ammonium Bases derived from Strychnia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia, and Nicotia, *J Anat Physiol* 1868;2:224-42 (Abstract de una lectura realizada el 6 de enero de 1868 en la Royal Society de Edimburgo).
3. Parascandola JA. J. Clark: quantitative pharmacology and the receptor theory. *Trends Pharm Sci* 1982;3:421-23.
4. Timmerman J. Medicinal Chemistry in Europe; annotations on the History of the European Federation for Medicinal Chemistry. *MedChemWatch* 2008; 5 (publicación periódica de la European Federation for Medicinal Chemistry, EFMC, creada en 1972).
5. Ljungman M. Targeting the DNA Damage Response in Cancer *Chem Rev* 2009;109:2929-50.
6. Miller LH, Su X. Artemisinin: discovery from the Chinese herbal garden. *Cell* 2011;146:855-8.
7. Ver una revisión reciente en: Avendaño C. A brief updated report on the battle against malaria, *Anal Real Acad Nac Farm* 2015;81:145-57.
8. Trenholme CM, Williams RL, Desjardins RE, *et al.* *Science* 1975;190:792-4.
9. a) Ōmura S, Nakagawa A, Aoyama, H, Hinotozawa K, Sano H. The structure of diazaquinomycins A and B, new antibiotic metabolites. *Tetrahedron Lett* 1983;24:3643-6. b) Murata M, Miyasaka T, Tanaka H, Ōmura S. Diazaquinomicin A, a new antifolate antibiotic, inhibits thymidylate synthase. *J Antibiotics* 1985;38:1025-33. c) Tsuzuki K, Yokozuka T, Murata M, Tanaka H, Ōmura S. Synthesis and biological activity of analogues of diazaquinomicin A, a new thymidylate synthase inhibitor. *J. Antibiot* 1989;42:727-37.
10. Ver algunos resultados en: a) Gesto C, de la Cuesta E, Avendaño C. Synthesis of diazaantraquinones by hetero Diels-Alder cycloaddition reactions. *Tetrahedron* 1989;45:4477-84. b) Gesto C, de la Cuesta E, Avendaño C. An efficient synthesis of 8-methoxy- and 8-hydroxy-1-methylcarbostyryl. *Synthetic Commun* 1990;20:35-9. c) Gesto C, de la Cuesta E, Avendaño C, Emling F. Synthesis and

- Biological Activity of New 1,8-Diaza-2,9,10-anthracenetrione Derivatives. *J Pharm Sci* 1992;81:815-6. d) González R, Ramos MT, de la Cuesta E, Avendaño C. Base-Catalyzed Electrophilic Substitution in 2(1*H*)-quinolinone. *Heterocycles* 1993;36:315-22. e) Alonso MA, Blanco MM, Avendaño C, Menéndez JC. Synthesis of 2,5,8-(1*H*)-quinolinetrione derivatives through Vilsmeier-Haack formylation of 2,5-dimethoxyanilides. *Heterocycles* 1993;36:2315-25. f) Alonso MA, Úbeda JI, Avendaño JI, Menéndez JC, Villacampa M. New findings on the Vilsmeier Haack-Approach to Quinoline Derivatives. *Tetrahedron* 1993;47:10997-11008. g) Pérez JM, Vidal L, Grande MT, Menéndez JC, Avendaño C. Regioselectivity of the Diels-Alder Reactions of 2,5,8(1*H*)-Quinolinetriones. *Tetrahedron* 1994;50:7923-32. Ocaña B, Espada M, Avendaño C. *N*-Oxides of Azaanthraquinones. *Tetrahedron* 1994;50:9505-10. h) Marcos A, Pedregal C, Avendaño C. Synthesis of 2- and 4-oxo-1*H*-1-azaanthracene-9,10-dione from 2-Amino-1,4-naphthoquinone. *Tetrahedron* 1994; 50, 12941-52. i) Ocaña B, Espada M, Avendaño C. Reactions of Aza- and Diazaanthraquinone *N*-oxides. *Tetrahedron* 1995; 51: 1253-58. j) Villacampa M, de la Cuesta E, Avendaño C. Regioselective Synthesis of 1,8-Diazaanthracene-9,10-dione by Tandem Directed *ortho*-Metallation/Metal-Halogen Exchange. *Tetrahedron* 1995;51:1259-64. k) Marcos A, Pedregal C, Avendaño C. Synthesis of 1,5- and 1,8-Diazaanthraquinones by Reaction of Aminoquinolinequinones with β -dielectrophiles. *Tetrahedron* 1995;51:1763-74. l) Pérez JM, Avendaño C, Menéndez JC. 1-Acylamino-1-azadienes as an alternative to 1-dimethylamino-1- azadienes in the preparation of 1,8-diazaanthracene-2,9,10-triones. *Tetrahedron* 1995;51:6573-86. m) Martín O, de la Cuesta E, Avendaño C. Electrophilic Substitution in 3-and 4-Methyl-2(1*H*)quinolinone through Metallated Species. *Tetrahedron* 1995;51:7547-54. n) Ferrer P, Avendaño C, Söllhuber MM. Synthesis of 5,8-Dimethoxy-2(1*H*)quinolinones by Intramolecular Wittig Reaction. *Liebigs Ann* 1995;1895-9. ñ) Fernández M, de la Cuesta E, Avendaño C. Metallation of 2(1*H*)-Quinolinone: Synthesis of 3-Substituted Compounds. *Synthesis* 1995;11:1362-4. o) Ramos MT, Díaz-Guerra LM, García-Copín S, García-Grávalos D, García de Quesada T, Avendaño C. Synthesis and Antitumor Activity of Fluorinated 1-Aza and 1,8-Diazaanthraquinones. *Il Farmaco* 1996;51:375-9. p) Blanco MM, Alonso MA, Avendaño C, Menéndez JC. New Findings in Hetero Diels-Alder Reactions of Quinolinetriones. *Tetrahedron* 1996;52:5933-44. q) Moreno T, Fernández M, de la Cuesta E, Avendaño C. Metallation of Methoxy-2(1*H*)-Quinolinones. *Heterocycles* 1996;43:817-28. r) López-Alvarado P, Avendaño C, Menéndez JC. 1,2-Dihydroquinolin-2-one (carbostyryl) anions as bidentate nucleophiles in their reactions with aryllead triacetates: synthesis of 1-aryl and 3-aryl-tetrahydroquinoline-2,5,8-triones. *J Chem Soc (Perkin 1)* 1996;229-33. s) Pérez JM, Avendaño C, Menéndez JC. A Very Efficient Synthesis of 1,8-Diazaanthraquinones. *Tetrahedron Lett* 1997;38:4717-20. t) Pérez JM, López-Alvarado P, Avendaño C, Menéndez JC. Total Synthesis of Diazaquinomycin A. *Tetrahedron Lett* 1998;39:673-6. u) Avendaño C, Menéndez JC. Recent progress in the Synthesis of Antitumour Azaanthraquinones. *Recent Res Develop in Org Chem* 1998;2:69-86. v) López-Alvarado P, Avendaño C, Menéndez JC. A General Synthesis of Quinoline-2,5,8(1*H*)-triones via Acylation of 2,5-Dimethoxyaniline with *S*-tert-Butyl Thioacetates by Application of the Knorr Cyclization. *Synthesis* 1998;186-94. x) Avendaño C, Pérez JM, Blanco MM, de la Fuente JA, Manzanaro S, Vicent MJ, Martín MJ, Salvador-Tormo N, Menéndez JC. Synthesis and structure-activity relationships of 1,5-diazaanthraquinones as antitumour compounds. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14:3929-32.
11. a) Avendaño C, Alonso MA, Espada M, García-Grávalos D, Menéndez JC, Ocaña B, Pérez JM. "New Synthetic Antitumoral Compounds", patentes No. 9212222000.5 (Gran Bretaña. 5/06/92), No. 0 574 195 (EEUU, 15/12/93), y otras solicitudes en Canadá, Japón, Australia y Suráfrica. b) Avendaño C, García-Grávalos D. "Nuevos Derivados Antraquinónicos con Actividad Antitumoral y sus Aplicaciones". Patente Internacional No. WO 95/2314 (31/08/1995). c) Avendaño C, Pérez JM, Blanco M.M, Menéndez JC, García-Grávalos D, de la Fuente J.A, Martín J.A. "Antitumour 1,5-diazaanthraquinones", International Publication Number: WO 99/59996 (25/11/99).