

00570

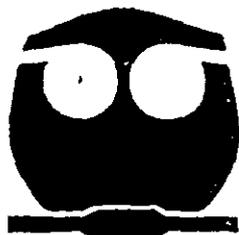


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-b]  
QUINOLINA COMO POTENCIALES INTERCALADORES  
DEL DNA

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS  
(QUÍMICA FARMACÉUTICA)  
P R E S E N T A  
Q.F.B. MARIA DEL PILAR RODRIGUEZ LOAIZA



MEXICO, D.F.

273207

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO**

<b>PRESIDENTE</b>	<b>DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA</b>
<b>1er VOCAL</b>	<b>DR. RAYMUNDO CRUZ ALMANZA</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>DR. GUILLERMO DELGADO LAMAS</b>
<b>SUPLENTE</b>	<b>DR. ROBERTO MARTINEZ</b>
<b>SUPLENTE</b>	<b>DR. ANDRES NAVARRETE</b>

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:**

**LABORATORIO 121, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA,  
FACULTAD DE QUIMICA, UNAM.**

**Asesor de Tesis**



---

**M.enC. Alfonso S. Lira Rocha**

**Sustentante**



---

**Q.F.B. María del Pilar Rodríguez Loaíza.**

## DEDICATORIAS

### **A mis padres:**

A pesar de no entender la química me enseñaron a nunca rendirme ante los obstáculos.

### **A mis hermanos:**

Por ser siempre ejemplo de superación y tenacidad en la adversidad.

### **A la familia Loáiza:**

Por su comprensión y apoyo en todo momento.

### **A Alfonso Lira:**

Por ser más que un asesor; un padre, amigo incondicional, confidente y fuente inagotable de comprensión, aliento y cariño. No solo me enseñaste química, me enseñaste un estilo y una forma diferente de ver las cosas. Con tu dureza me regalaste el temple, con tu comprensión me ofreciste seguridad, con tu paciencia me diste objetividad. Este es el comienzo de proyectos y expectativas. Mil gracias por toda tu ayuda, por tu tiempo, por tus consejos y sobretodo, por tu amistad.

### **A Eri y Ady:**

Por ser siempre mis mejores amigas en las cuales siempre pude confiar lo que sea, en cualquier momento. Sin ustedes nada sería igual; ¡son únicas! Mil gracias por ser mis amigas.

### **A Hugo, Marichú, Bere, Mini:**

Por ser más que amigos, son hermanos en los cuales encontré una mano amiga, una palabra de aliento, un regaño en el momento preciso, además de mil momentos inolvidables que hicieron de este período algo único en mi vida. Los quiero mucho.

### **A Isabel Rivero y Jose Luis Trejo:**

Por traspasar las barreras y hacer realidad una amistad.

### **A Erick:**

Por tu inagotable amor.

### **Al Dr. Mario González de la Parra:**

Por todo el apoyo brindado no solo para la realización de este proyecto, además por el apoyo brindado para mi superación académica, profesional y personal. Lo más valioso es contar con su amistad.

### **Al M.enC. Carlos Ramos:**

Por ser un ejemplo de fortaleza y optimismo. Gracias por darme más que una clase, gracias por tu amistad y por compartir conmigo tu experiencia.

### **Al Dr. Jose Miguel Lazcano:**

Por depositar su confianza en mí, y por todo el apoyo brindado para lograr esta meta.

### **A mis amigos de la Universidad La Salle:**

A Rafa, Marisol, Bruno, Elisa, Anabelle, Kare, Roberto, Oso, por seguir siendo mis amigos.

### **A la memoria de Hugo Souza:**

Donde quiera que te encuentres, te dedico este trabajo con todo mi cariño. Siempre estás presente en mí, en mi vida y en todo lo que hago.

### **A Juan Antonio:**

Bebo, eres el mejor amigo con el que se puede contar. Gracias por tu amistad incondicional y tu interminable amor y cariño. Te quiero mucho.

### **A mis amigos de Signa:**

A Jorge N., Adolfo M., Javier P., Donato, David B., Jaime, Nidia, Roberto, Cuau, Arturo, Georgette, Alice, Diana, en los cuales siempre encontré motivación.

### **A mis amigos:**

Magali, Vanesa, Jessica, Ceci J., Sergio R., Javier, Sergio J., Mike, Chava, Deby, Luz, Pili, Tona, Gastón, Anthony, Vicky, que siempre han estado conmigo en las buenas y en las malas.

### **A Marco C.:**

Por mostrarme una actitud diferente ante la vida y por todo el apoyo que me has brindado, además de tu amistad.

## AGRADECIMIENTOS

A Conacyt, por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de posgrado.

A Signa S.A. por el apoyo económico para la impresión del presente trabajo.

A la M.enC. Isabel Chávez y Wilber Matus del Instituto de Química, a la M.enC. Rosa Isela del Villar y al Q.F.B. Oscar Yañez de la Facultad de Química, por la realización de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

A la Q.F.B. Graciela Chávez y a la Q. Maricela Gutiérrez por la realización de los espectros de Infrarrojo.

Al I.Q. Luis Velasco del Instituto de Química, y a la Q. Margarita por la determinación de los espectros de masas.

Al Dr. Rafael Castillo por el asesoramiento técnico.

A la Dra. Ofelia Espejo por sus consejos.

A Teresa del Rocío Kuri Rojas, Isela Solís Rivera, Cynthia Meza Huacuja, Evelyn Hernández Acosta, del programa Jóvenes a la Investigación, por el apoyo técnico proporcionado.

# INDICE

RESUMEN .....	i
ABSTRACT .....	ii
I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
II.I Quimioterapia en la leucemia.....	3
II.II Sales biscuatemarias como intercaladores.....	6
II.III 9-anilinoacridinas.....	8
II.IV Estudios QSAR en las 9-anilinoacridinas.....	10
II.V Conformación de las 9-anilinoacridinas.....	16
II.VI Estudios de unión al DNA de las 9-anilinoacridinas.....	17
II.VI metabolismo de las 9-anilinoacridinas como vía de actividad.....	20
II.VII 9-aminoacridincarboxamidas.....	24
II.VIII Acridinas como agentes alquilantes.....	34
II.IX Derivados de acridinas.....	36
III. OBJETIVOS .....	44
IV. PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS.....	45
IV.I Análisis molecular .....	45
IV.II Análisis conformacional de las moléculas patrón .....	46
IV.III Análisis electrónicos de los derivados de acridinas.....	48
IV.IV Análisis electrónicos de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina.....	51
IV.V Análisis electrónicos de las moléculas patrón.....	53
V. ANALISIS DE RESULTADOS .....	56
V.I Modelado molecular.....	56
V.I.I Análisis conformacional de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina.....	56
V.I.II Análisis electrónico del compuesto VI.....	58
V.I.III Análisis electrónico del compuesto VIII.....	60
V.I.IV Análisis electrónico del compuestoXI.....	61
V.I.V Análisis electrónico del compuesto XII.....	63
V.I.VI Análisis electrónico del compuesto X.....	64
V.I.VII Análisis de cargas electrostáticas para los compuestos patrón.....	66
V.II Parte química.....	69
V.II.I Diseño de síntesis.....	69
V.II.II Analisis espectroscópico .....	71
V.II.III Compuesto II.....	71
V.II.IV Compuesto III .....	72

V.II.V Compuesto IV .....	75
V.II.VI Compuesto V .....	76
V.II.VII Compuesto VI .....	76
V.II.VIII Compuesto VII .....	79
V.II.IX Compuesto VIII .....	80
V.II.X Compuesto IX .....	83
V.II.XI Compuesto X .....	84
V.II.XII Compuesto XI .....	85
V.II.XIII Compuesto XII .....	86
V.II.XIV Diseño de síntesis del AHMA .....	87
V.II.XV Acido 2-yodobenzoico .....	88
V.II.XVI Acido N-fenilntranílico .....	88
V.II.XVII 9-cloroacridina .....	89
V.II.XVIII AHMA .....	89
<b>VI. PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>91</b>
VI.I Modelado molecular .....	92
VI.f equipo y método .....	92
VI.II Resultados .....	93
VI.III Parte química .....	97
VI.III Reactivos y equipos .....	97
VI.IV Cromatografía .....	97
VI.V Descripción de la síntesis .....	98
VI.V.I PREPARACION DEL COMPUESTO I .....	98
VI.V.II PREPARACION DEL COMPUESTO II .....	98
VI.V.III PREPARACION DEL COMPUESTO III .....	99
VI.V.IV PREPARACION DEL COMPUESTO IV .....	100
VI.V.V PREPARACION DEL COMPUESTO V .....	101
VI.V.VI PREPARACION DEL COMPUESTO VI .....	102
VI.V.VII PREPARACION DEL COMPUESTO VII .....	103
VI.V.VIII PREPARACION DEL COMPUESTO VIII .....	104
VI.V.IX PREPARACION DEL COMPUESTO IX .....	105
VI.V.X PREPARACION DEL COMPUESTO X .....	107
VI.V.XI PREPARACION DEL COMPUESTO XI .....	108
VI.V.XII PREPARACION DEL COMPUESTO XII .....	109
VI.VI Metodología para AHMA .....	110
a)OBTENCION DEL ACIDO 2-BENZOICO .....	110
b)OBTENCION DEL ACIDO N-FENIL ANTRANILICO .....	110

c)OBTENCION DE LA 9-COLORO-ACRIDINA .....	111
d) PREPARACION DEL AHMA .....	112
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	<b>113</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>115</b>
<b>IX. ESPECTROS</b> .....	<b>119</b>

# RESUMEN

La investigación de los fármacos anticancerígenos ha sido enfocada a obtener sustancias que puedan alterar el principal proceso de replicación del DNA. A la fecha, no existen compuestos selectivos que puedan diferenciar entre células tumorales y células normales. Una hipótesis planteada para alcanzar este objetivo es el de modificar las sustancias citotóxicas, por ejemplo, el núcleo de acridina. Se sabe que algunos derivados de las acridinas son buenos agentes intercaladores en el DNA; sin embargo, también se conoce que el proceso de intercalación no es suficiente para obtener una actividad anticancerígena. El proceso de intercalación es mediado por interacciones electrostáticas entre el fármaco y las pares de bases del DNA.

Este trabajo describe los estudios conformacionales y los cálculos de los potenciales moleculares electrostáticos de la 3-[(9-Acridinil)amino]-5-(hidroximetil)anilina (AHMA) y la 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina. Estos compuestos son activos en leucemia o en pruebas *in vitro*. También algunos análogos inactivos fueron estudiados teóricamente con el propósito de determinar sus propiedades conformacionales y electrostáticas. Los resultados de este análisis mostraron algunas similitudes conformacionales y electrostáticas entre compuestos activos y no activos.

El análisis conformacional mostró que el anillo de anilina es ortogonal con respecto al sistema tricíclico planar. En el análisis electrostático, observamos que existen tres zonas principales de densidad de carga en todas las moléculas.

Tomando en cuenta estas similitudes, propusimos las siguientes moléculas como posibles agentes intercaladores en el DNA:

9-Anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto VI).

9-Anilino-2-(*N,N*-dietiletilendiamino)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto VIII).

9-[[[3-Amino-5-(hidroximetil)]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto X).

9-[(3-Aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto XI).

9-[[3-(Acetamido)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto XII).

En esta tesis se describe los resultados de los cálculos teóricos, los métodos sintéticos y las propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos preparados.

## ABSTRACT

The research of anticancer drugs has been focused to obtain substances that can alter the principal replication process of DNA. To date, there are no selective compounds that can differentiate between tumor cells and normal cells. One approach to get this type of selective compound is to modify cytotoxic substances, such as the acridine nucleus. We know that some acridine derivatives are good intercalating agents in the DNA; however, we also know that the intercalation process is not enough to get anticancer activity. The intercalation process is mediated by electrostatic interactions between the drug and the DNA pair bases.

This work describes the conformational studies, and the molecular electrostatic potential calculations of 3-[(9-Acridinyl)amino]-5-(hydroxymethyl)aniline (AHMA) and 2-(*N,N*-Diethyletilendiamino)-9-hydroxytiazolo[5,4-*b*]quinoline. These compounds are active on leukemia and *in vitro* tests. Also, some inactive analogues were studied theoretically, in order to determine the conformational and electrostatic properties. The results of this analysis showed several conformational and electrostatic similarities, between active and non-active compounds.

Conformational analysis showed that the anilino ring is orthogonal to the planar tricyclic system. In the electrostatic analysis, we observed three principal zones of charge density in all molecules.

Taking into account these similarities, we propose the molecules listed below as possible DNA intercalating agents.

9-Anilino-2-(methylthio)tiazolo[5,4-*b*]quinoline (compound VI).

9-Anilino-2-(*N,N*-diethyletilendiamine)tiazolo[5,4-*b*]quinoline (compound VIII).

9-[[[3-Amino-5-(hydroxymethyl)]phenyl]amino]-2-(methylthio)tiazolo[5,4-*b*]quinoline (compound X).

9-[(3-Aminephenyl)amino]-2-(methylthio)tiazolo[5,4-*b*]quinoline (compound XI).

9-[[3-(Acetamide)phenyl]amino]-2-(methylthio)tiazolo[5,4-*b*]quinoline (compound XII).

We applied the same theoretical studies to potential molecules and we prepared these compounds by a divergent synthesis. Physical and spectroscopic properties as well as results of theoretical calculations of these compounds are described.

## **I. INTRODUCCION**

## I. INTRODUCCION

La humanidad ha sido plagada por enfermedades a través de la historia de la civilización: lepra, peste bubónica, tuberculosis, etc. En el siglo XX, con el uso de los avances en microbiología y farmacología, la ciencia médica ha conquistado muchas de las enfermedades infecciosas, mejorando la expectativa de vida. Pero estos beneficios no han podido ser totalmente efectivos con una enfermedad: el cáncer.

Hace 80 años, el cáncer era un misterio, tanto en sus procesos bioquímicos como en la enfermedad en sí misma; sin embargo, ya no se le veía como un *enemigo vigoroso, como un virus* o una bacteria, sino como una aberración de los procesos normales de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular.

Con el avance de la genética se pudo observar el papel determinante de los genes en el desarrollo del cáncer; la célula aberrante (responsable de la proliferación desordenada) usa el proceso genético normal, que involucra el crecimiento y desarrollo, expresando a su vez genes (*oncogenes*).

A pesar de los avances logrados no se ha podido llegar a un acuerdo acerca de la definición del cáncer que pueda dejar claro los procesos de la enfermedad. Muchos científicos han propuesto diferentes definiciones que están basadas en su área de investigación. Una definición general es la planteada por el patólogo J. Ewing: "Un neoplasma es un desarrollo de tejido hereditariamente alterado, relativamente autónomo".<sup>1</sup> Se ha usado el término "cáncer" o "tumor" de una manera general para referirse a la enfermedad que conocemos como cáncer; sin embargo, el término científico o médico es "neoplasma".

La definición de J. Ewing implica algunos conceptos que deben ser ampliados:

- Los cambios exhibidos por una célula neoplásica son hereditarios.
- La autonomía indica que el cáncer no está sujeto a las reglas que gobiernan a las células normales y en especial a las funciones del organismo.
- El término "relativo" indica que los tumores no son totalmente autónomos, están sujetos al tejido en el cual se originan. El término tejido se refiere a que los tumores son encontrados solamente en organismos multicelulares, por lo tanto, el cáncer proviene del curso de la evolución.

Cualquiera que sea la definición, el entendimiento de los cambios moleculares básicos en el cáncer es la meta principal de todos los estudios, así como, la *obtención de agentes terapéuticos efectivos y selectivos*.

La quimioterapia actual tiene como objetivo el uso de fármacos para tratar la enfermedad sin dañar al paciente. La efectividad de la quimioterapia depende de la naturaleza del cáncer, ya que no existe un agente único para todos los neoplasmas. A pesar de que las células neoplásicas

difieren de las células normales en sus requerimientos nutritivos, desafortunadamente no difieren lo suficiente en el aspecto biológico y bioquímico.

Por lo anterior, es necesario encontrar nuevos agentes químicos contra el cáncer que puedan diferenciar entre células normales y células neoplásicas.

Los agentes terapéuticos actuales han sido obtenidos a partir de estudios empíricos que a su vez han llevado a estudios científicos para mejorar la actividad y selectividad. Cuando ciertos compuestos mostraban efectos terapéuticos se sintetizaron derivados que tuvieron notables mejoras sobre el compuesto patrón. De esta manera se han logrado obtener una gran diversidad de fármacos; sin embargo, aún no se ha podido controlar el cáncer en sus diferentes formas.

Una de estas formas neoplásicas, probablemente la más agresiva, es la leucemia la cual cobra un gran número de vidas por año.

## **II. ANTECEDENTES**

## II. ANTECEDENTES

La leucemia es una neoplasia maligna de las células precursoras hematopoyéticas que se caracteriza por una sustitución difusa de la médula ósea por células neoplásicas. En la mayoría de los casos, las células leucémicas difunden a la sangre en donde pueden encontrarse en gran número. Pueden también infiltrarse en el hígado, bazo, ganglios linfáticos y otros tejidos del organismo.

La presencia de un número excesivo de células anormales en la sangre periférica es una enfermedad primaria de la médula ósea; este exceso de células anormales da origen a la leucemia. Aunque cada una de las clases de leucemias difieren en su fisiopatología o en sus manifestaciones clínicas, presentan ciertas características en común como son la depresión de las funciones de la médula ósea, fatiga, anemia, anorexia y pérdida de peso. Se puede afirmar que la leucemia es una de las neoplasias más agresivas y que tiene una gran incidencia en la población de todas las edades.

La quimioterapia para la leucemia comprende una gran diversidad de agentes como los agentes alquilantes, los análogos de purina, los alcaloides de la vinca, los agentes intercaladores de DNA, los antibióticos, las hidroxiaureas y los adrenocorticoesteroides.<sup>(2)</sup> Cada uno de estos agentes tiene un mecanismo de acción diferente, y cada uno presenta ventajas y desventajas, pero es importante destacar que nunca se administran solos.

### II.1 Quimioterapia en la leucemia

La quimioterapia con agentes alquilantes tiene en común la propiedad de reaccionar con centros nucleofílicos a través de la formación de carbocationes intermedios o complejos de transición con las moléculas "blanco". La quimioterapia y los efectos citotóxicos se encuentran directamente relacionados con la alquilación del DNA. Dentro de sus principales acciones farmacológicas esta la capacidad para interferir en la mitosis y división celular normales en tejidos de rápida proliferación. Los agentes alquilantes más comunes para el tratamiento de las leucemias son la Ciclofosfamida, Clorambucil, Busulfan (figura 1).

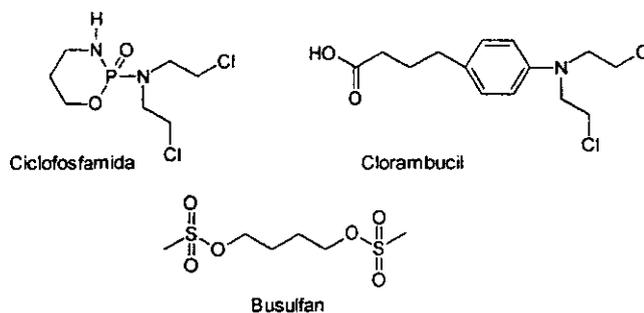


Figura 1. Agentes alquilantes

Los derivados de purina, como la mercaptopurina y tioguanina (figura 2), son análogos de las purinas naturales hipoxantina y guanina, en los cuales el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la posición 6 de la purina es reemplazado por un átomo de azufre. Aún no es posible asignar precisamente el papel de la incorporación de la tioguanina o mercaptopurina al DNA celular en la producción de los efectos terapéuticos o tóxicos de estos fármacos. En vista de las diversas acciones bioquímicas de la tiopurina, las cuales comprenden sistemas vitales como son la síntesis de purina, la interconversión de nucleótidos, la síntesis de DNA y RNA, la replicación cromosómica, la síntesis de glicoproteínas, no es posible fijar un evento bioquímico como la causa de su citotoxicidad.

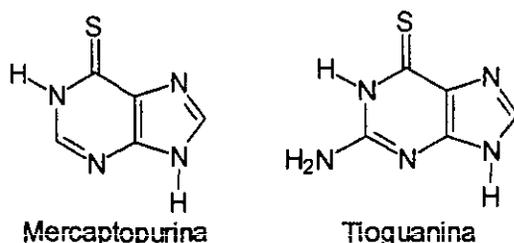


Figura 2. Análogos de purina

Los alcaloides de la Vinca son agentes específicos del ciclo celular, bloquean la mitosis y producen la detención de la metafase. Su actividad puede ser explicada por unirse específicamente a la tubulina y bloquear la habilidad de la proteína para polimerizarse en microtúbulos.

Existe una gran variedad de antibióticos que son usados en el tratamiento de las leucemias, la mayoría de los cuales tienen la capacidad de unirse con la doble hélice del DNA, afectando otras funciones como la síntesis de DNA y RNA. Los más usados son la Dactinomicina y la Daunorubicina (figura 3).

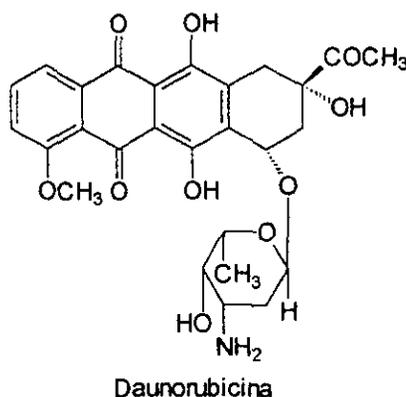
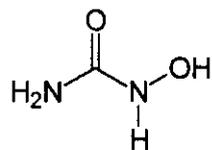


Figura 3. Antibiótico

La hidroxiaurea (figura 4) es representante de un grupo de compuestos que tienen su sitio primario de acción en la enzima ribonucleósido difosfato reductasa que cataliza la conversión reductiva de ribonucleótidos a desoxiribonucleótidos, la cual es una etapa crucial y probablemente limitante de la velocidad en la biosíntesis de DNA.



Hidroxiaurea

Figura 4

El valor de los adrenocorticoesteroides radica en su habilidad para suprimir la mitosis en linfocitos, por lo que son usados en el tratamiento de leucemias agudas en niños.

Los agentes intercaladores son una clase de compuestos con muchas semejanzas y que pueden interactuar con el DNA con o sin selectividad de secuencia en las bases púricas y pirimidínicas. Pueden ser estructuras simples o complejas que pueden unirse con sus cadenas cromofóricas (en un principio se denominaba cromóforo a un sistema planar altamente conjugado y que por lo tanto producía sustancias coloridas) en el surco mayor, en el surco menor o incluso en ambos surcos del DNA. La formación del complejo es usualmente reversible, su fuerza directora puede ser una combinación de interacciones de tipo electrostático, puentes de hidrógeno, interacciones de van der Waals e interacciones hidrofóbicas.<sup>(3)</sup>

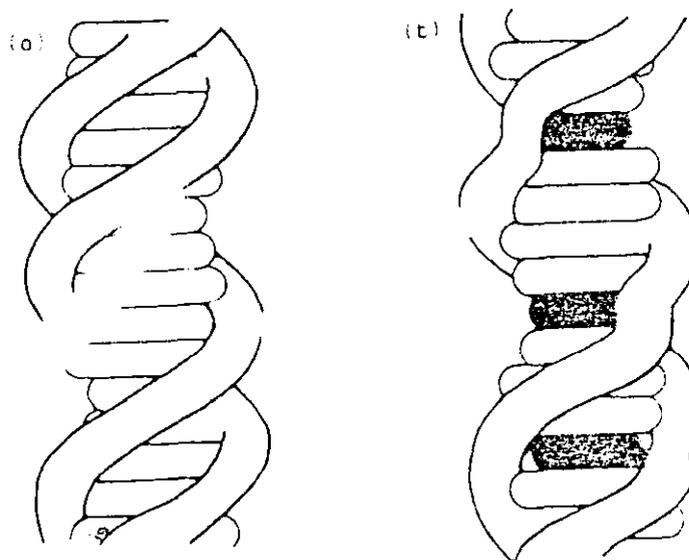


Figura 5. Modelo de intercalación

a) DNA normal B) DNA conteniendo el intercalador

Los primeros intercaladores del DNA eran compuestos que caían en la categoría de antibióticos; la mayoría de ellos contienen un cromóforo planar. Sin embargo, este tipo de compuestos presentaban reacciones adversas muy importantes como la toxicidad cardíaca (taquicardia, arritmias, disnea, hipotensión) por lo que siguiendo con la misma hipótesis de mecanismo de acción se probaron otro tipo de compuestos.<sup>(2)</sup>

## II. II Sales biscuaternarias como intercaladores

Durante los años 60's Cain y colaboradores comenzaron a estudiar las sales bis-cuaternarias de algunos heterociclos que mostraron efectividad experimental en leucemia.<sup>(4)</sup> En estos estudios trataron de determinar las características estructurales que podían ser responsables de la actividad. Basados en los compuestos activos denominados ftalanilidas (figura 6) correlacionaron sus características estructurales a diferentes agentes que habían mostrado actividad contra *Trypanosoma rhodesiense* o leucemia L1210. La hipótesis que plantearon era: la existencia de 3 anillos coplanares,<sup>(5)</sup> además de una total planaridad,<sup>(4, 6)</sup> son necesarias para obtener una alta actividad antileucémica.

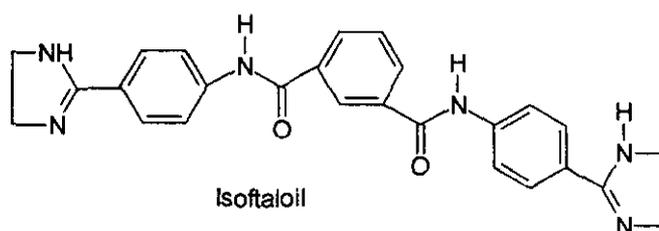


Figura 6. Ftalanilida

Cain y colaboradores suponían que las sales cuaternarias que prepararon (figura 7) y las ftalanilidas tenían una relación muy cercana debido a los datos de actividad biológica y a sus propiedades físicas (balance hidrofílico-lipofílico).<sup>(5)</sup>

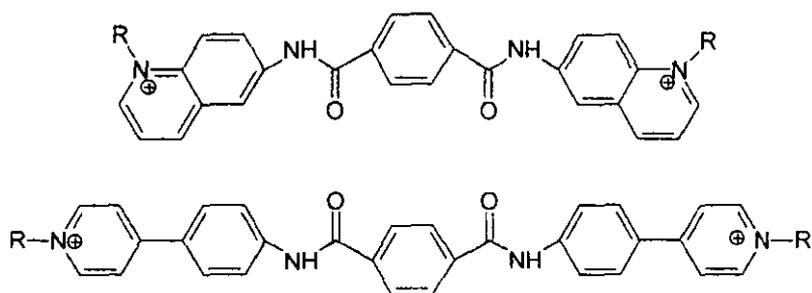


Figura 7. Sales bis-cuaternarias

Propusieron que este tipo de heterociclos bis-cuaternarios probablemente actuaban en la doble hélice del DNA, ya que los agentes denominados Homidinio y Tripaflavina (figura 8) mostraron que se intercalaban entre las pares de bases purina-pirimidina del DNA.<sup>(7-9)</sup>

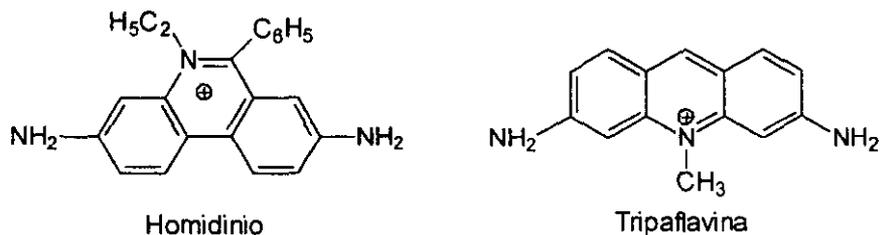


Figura 8. Compuestos heterociclos cuaternarios

A pesar de todos los resultados positivos obtenidos, la variedad de estructuras estudiadas dificultaba la obtención de un patrón que pudiera dirigir los estudios hacia resultados consistentes o predictivos. Se sabía que existía una amplia relación entre la lipofilicidad y la actividad, por lo que se trataba de mantener este balance mediante cadenas alquílicas incorporadas al anillo heterocíclico.

En 1970, Cain B.F. y sus colaboradores, observaron que un factor limitante en la penetración celular de los fármacos era la concentración de especies neutras y que por lo tanto existía una incongruencia entre las sales cuaternarias que habían estado estudiando y su actividad. Observaron que el valor del balance hidrofílico-lipofílico de las sales cuaternarias (obtenidas mediante cromatografía de partición) difería en gran medida del coeficiente de partición octanol-agua de Hansch, demostrando la naturaleza extremadamente hidrofílica de las sales cuaternarias.<sup>(10)</sup> Sin embargo, el log P de las sales difería en mucho del log P sugerido por Hansch para una difusión pasiva al sitio de acción (log P aprox. de 2).<sup>(11)</sup> De este estudio se preparó la base cuaternaria de la figura 9, la cual por el alto porcentaje de su forma neutra a pH fisiológico permite su rápida distribución en el organismo.

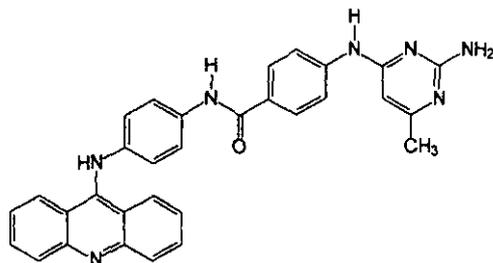


Figura 9

La simplificación de los heterociclos llevó a Cain y colaboradores<sup>(12)</sup> a la evaluación de la 9-(4-aminoanilino)acridina, la cual demostró una mayor actividad comparada a la del compuesto de

la figura 9, y se consideró como un análogo no cuaternario (figura 10) de las sales de 6-fenil-fenantridonio (agentes activos contra la leucemia).

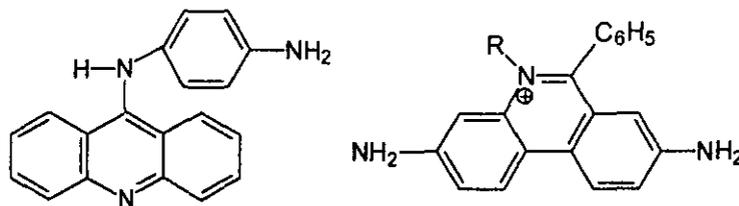
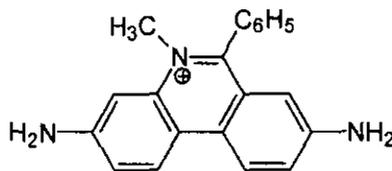


Figura 10. Analogía estructural de la 9-(4-aminoanilino)acridina y la sal de 6-fenilfenantridonio.

Al comparar los datos cristalográficos del Dimidinio (figura 11)<sup>(13)</sup> con los modelos moleculares de las 9-anilinoacridinas,<sup>(14)</sup> observaron que tanto el grupo fenilo, en el caso de la sal de Dimidinio, como el anilino en las 9-anilinoacridinas, se encontraban en posición ortogonal con respecto al sistema planar tricíclico. La mayor diferencia entre los dos modelos radicaba en que el átomo de nitrógeno se encontraba localizado en lugares opuestos del sistema anular fusionado.



Dimidinio

Figura 11

### II.III 9-anilinoacridinas

La 9-(4-aminoanilino)acridina (figura 10) fue el primer derivado que resultó ser significativamente activo. Los autores demostraron la importancia del sistema tricíclico fusionado para este tipo de compuestos: con la eliminación de un anillo aromático para formar análogos a la quinolina se obtuvieron compuestos inactivos.<sup>(14)</sup>

Las variaciones de los sustituyentes en el anillo de la anilina de las 9-anilinoacridinas, llevaron a la conclusión de que los grupos electrodonadores mejoraban la actividad, y que la distribución en el anillo de estos sustituyentes parecía ser determinante, siendo la sustitución en la posición 4' (posición *para* al nitrógeno de la anilina) la que más favorecía la actividad biológica; en el caso de la 9-(4-aminoanilino)acridina, la *remoción del grupo amino daba como resultado la pérdida de la actividad*. Los derivados diaminados en posición 3 y 4 del anillo de anilino también resultaron ser activos, aunque algo inestables.

Los derivados con sulfonamidas en la posición 4' del anillo de anilino, también fueron sintetizados y evaluados en leucemia L1210. Estos compuestos mostraron ser tan activos como el derivado diaminado, en especial el derivado metilado (figura 12).

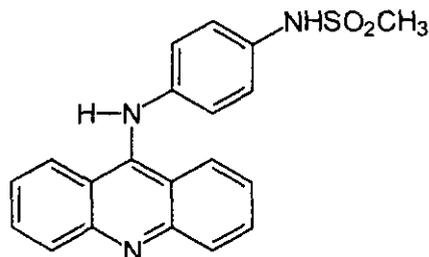


Figura 12. 9-(4-metanosulfoanilida-amino)acridina (AMSA)

La hipótesis de los autores para explicar la actividad de las 4'-sulfonamidas se basó en modelos moleculares, los cuales sugirieron que la función sulfonamida en 4' podría retener la posición de uno de los átomos de N de los derivados diaminados en posición 3' ó 4', y que uno de los átomos de oxígeno de la sulfonamida, rico en electrones, podría adoptar una conformación tal que podría residir en la posición del átomo de nitrógeno de la segunda amina, <sup>(12)</sup> simulando así los derivados diaminados (figura 13).

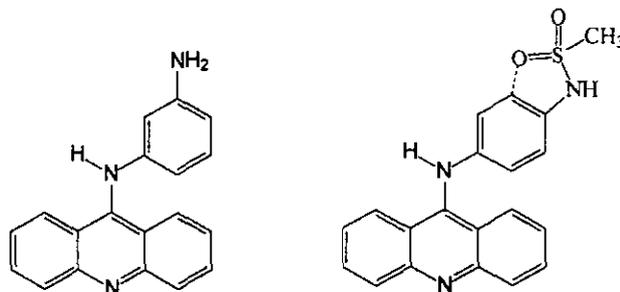


Figura 13. Comparación del derivado diaminado con el derivado metilsulfonamida.

Debido a la excelente actividad de las 4'-sulfonamidas se continuó con su estudio, obteniendo diferentes derivados, además de realizarse los estudios de relación estructura-actividad (SAR). Estos estudios mostraron que los sustituyentes electrodonadores en el anillo de anilino incrementaban la actividad; lo anterior concuerda con los estudios anteriores de los derivados de 9-anilinoacridinas. <sup>(12)</sup> El compuesto 2'-OCH<sub>3</sub> (*m*-AMSA, figura 14) mostró un incremento de 6.7 veces en su actividad con respecto al compuesto no sustituido. Este resultado se explicó postulando que la posición 5' del anillo de sulfonamida se encuentra electrodeficiente. <sup>(15)</sup> Sin embargo, estudios posteriores demostraron que la disposición de estos grupos en el anillo son importantes para la conformación de la molécula.

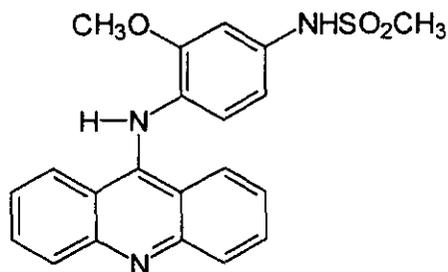


Figura 14. *m*-AMSA

La diferencia en las actividades biológicas entre AMSA y *m*-AMSA se comprobó por medio del marcaje con  $^3\text{H}$ ; la actividad *in vivo* de AMSA (figura 12) decaía rápidamente debido a la reacción química directa con los tioles del hospedero. Las 9-anilinoacridinas y los tioles reaccionan entre sí desplazando al grupo anilino, produciendo 9-tioéter acridinas, los cuales son capaces de reaccionar posteriormente con otros nucleófilos.<sup>(16)</sup> La presencia de los sustituyentes en la posición 2' disminuía la velocidad de esta hidrólisis por inhibición estérica.

Por otro lado, Waring demostró que el *m*-AMSA (figura 14) era un agente intercalante del DNA,<sup>(17)</sup> este compuesto fue elegido como candidato para estudios de tratamiento clínico (NSC249992),<sup>(18)</sup> actualmente es usado en el tratamiento de leucemia aguda.<sup>(19, 20, 21)</sup>

Posteriormente, Nelson<sup>(22)</sup> y Pommier,<sup>(23)</sup> reportaron que la actividad antitumoral de *m*-AMSA era atribuida a la inhibición de la Topoisomerasa II que lleva a cabo la ruptura de la doble cadena del DNA, un mecanismo que parece ser común a los agentes intercaladores del DNA.

#### II.IV Estudios QSAR en las 9-anilinoacridinas.

Hasta la obtención del *m*-AMSA, las únicas técnicas que se utilizaron para modelar las 9-anilinoacridinas fueron los modelos moleculares y la Difracción por Rayos X. Por medio de estas técnicas se pudo determinar que la función 9-anilino no se encontraba coplanar con el anillo de acridina, lo cual fue corroborado por medio de datos cristalográficos, además de indicar que los planos de los anillos se encontraban inclinados hacia un ángulo de  $77^\circ$ .<sup>(24)</sup>

Por otro lado, los análisis de regresión múltiple se utilizaron para observar los efectos de los sustituyentes en las diferentes posiciones. En un principio, estos análisis fueron parcialmente exitosos, sugiriendo que la adición de diferentes funciones en los anillos podía modular la actividad biológica por la variación del pKa de la acridina, densidades electrónicas en el anillo, aditividad de los valores de  $\pi$  de los sustituyentes, velocidad de rupturas tiofílicas, así como interacciones estéricas e hidrófobas.<sup>(13, 15, 16.)</sup>

Con estos descriptores moleculares, la herramienta QSAR (Quantitative structure-activity relationships) surgió como una opción viable para la obtención de nuevos derivados. A través del

QSAR parecía posible discernir las características del fármaco que se encontraban asociadas con la selectividad en la actividad biológica.

Algunos de los estudios QSAR que se llevaron a cabo fueron tomando en cuenta los valores hidrofóbicos de compuestos débilmente básicos (como son las 9-anilinoacridinas) sobre la selectividad en la actividad antitumoral,<sup>(18)</sup> y el estudio QSAR sobre las constantes de asociación agente-DNA (las cuales aportaron una fuerte evidencia de que el DNA es el sitio de acción) relacionadas a las constantes de Hammett y refractividad molar.<sup>(25)</sup>

En 1982, Cain, Hansch y colaboradores realizaron un análisis QSAR con 776 derivados de 9-anilinoacridinas. Los descriptores moleculares usados fueron los parámetros lipofílicos, electrónicos y estéricos.<sup>(26)</sup> Ya se sabía que la hidrofobicidad tenía una gran influencia sobre la bioactividad,<sup>(27, 28)</sup> y para este análisis QSAR, los resultados mostraron que la actividad decae rápidamente para los compuestos que se acercaban a la óptima hidrofiliidad ( $\Sigma\pi$  aprox -4.9) con un valor de log Po ligeramente negativo. El valor de log Po para el *m*-AMSA fue calculado de -0.6. Estos valores concordaron con otros estudios,<sup>(29,30)</sup> los cuales sugieren un valor negativo de log Po para que exista una buena actividad sobre leucemia. Sin embargo, en este estudio, la hidrofobicidad resultó ser un factor poco importante en las correlaciones, ya que las hidrofobicidades de los compuestos evaluados variaban en un amplio rango.

En cuanto a los parámetros electrónicos se corroboró que los sustituyentes electrodonadores en el núcleo de acridina incrementaban la actividad. Se sabía que la presencia de grupos electrodonadores en el anillo de acridina no favorecen el ataque de los grupos tiol, principal ruta de metabolismo *in vivo*. Un coeficiente negativo del parámetro estérico para los sustituyentes en el anillo de anilina indicó que los sustituyentes electrodonadores originan derivados más potentes. La razón de este resultado aún no quedaba claro.

Por último, la Refractividad molar (MR) fue usada como una medida primaria de las propiedades estéricas de los grupos en el anillo de acridina, y de cómo las mismas afectan la unión de los compuestos al sitio receptor. Se observó que las posiciones 1(8) y 2(7) del anillo de acridina, tenían una restricción hacia cualquier tipo de sustitución, en cambio un sustituyente pequeño en la posición 3(6) incrementaba la actividad, llegando a un volumen límite donde comienza a disminuir. La posición 4(5) no parece tener restricción estérica.

Según el mecanismo de acción conocido hasta 1980 para los derivados de las 9-anilinoacridinas (*m*-AMSA), este tipo de compuestos se une a la doble hélice del DNA por intercalación del sistema planar tricíclico entre los pares de bases.<sup>(17)</sup> El modo de unión propuesto sugirió que el grupo 9-anilino se intercalaba en el surco menor, y las posiciones 4 y 5 de la acridina interactuaban en el surco mayor (figura 15).

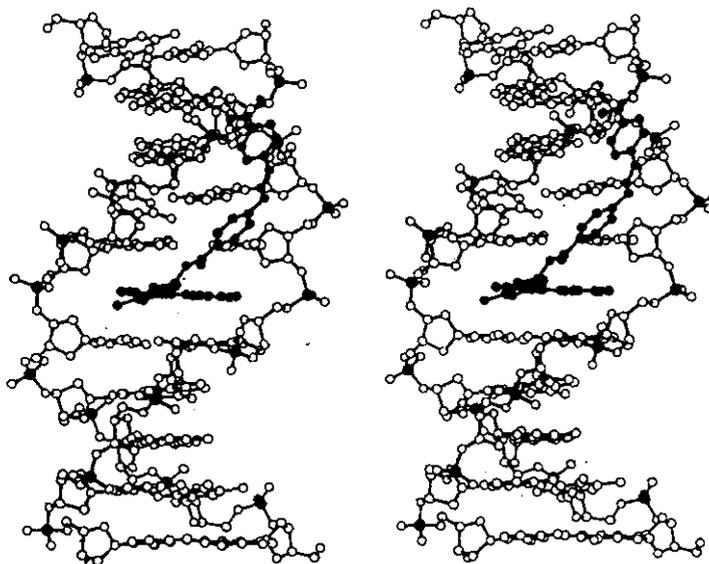


Figura 15. DNA con el intercalador

El patrón de restricción estérica, obtenido por medio de los resultados de la actividad antileucémica *in vivo*, sugirió que el anillo de acridina se orientaba de tal forma que las posiciones 1 y 2 se encontraban a 1 Å de las cadenas fosfatadas, con una consecuente carencia de tolerancia estérica a la incorporación de grupos en estas posiciones. Además, las posiciones 3 y 6 tienen una tolerancia estérica limitada, aceptando pequeños grupos hidrofóbicos.<sup>(16, 13)</sup> Las posiciones 4 y 5 de la acridina no indicaron ninguna restricción estérica, ya que estas posiciones se encontraban proyectadas hacia el surco mayor.

Haciendo un análisis global de todos los resultados se puede proponer el siguiente patrón de intercalación para los derivados de 9-anilinoacridina:

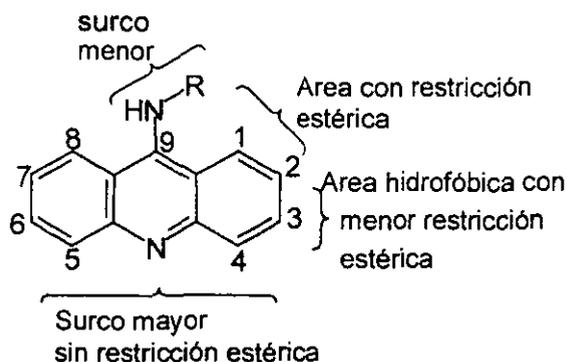


Figura 16. Patrón estérico e hidrofóbico de intercalación en DNA para el anillo de acridina

Respecto al anillo de anilino, Cain y Hansch no encontraron ninguna restricción estérica en la posición 4', aunque no quedó totalmente claro el papel estérico que juega el sustituyente en la posición 2'. Posiblemente, los sustituyentes más voluminosos causan una severa distorsión en la geometría ortogonal de las 9-anilinoacridinas, impidiendo el proceso de intercalación (figura 17).

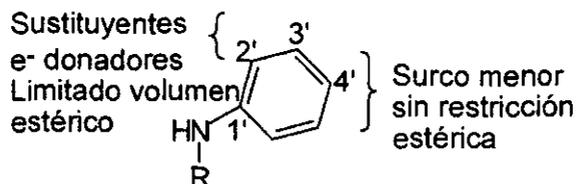


Figura 17. Patrón estérico para el anillo de anilina

Finalmente, de este estudio se obtuvieron dos ecuaciones con las cuales se podían modelar las dosis efectivas y tóxicas de las 9-anilinoacridinas. Estas ecuaciones, aunque algo complejas, demostraron que existe una relación entre los descriptores moleculares de hidrofobicidad, volumen estérico y parámetros electrónicos, con la actividad biológica, y, que a su vez, pueden ser modelados para obtener nuevos derivados activos. Al parecer los términos electrónicos y estéricos tuvieron mayor peso en las ecuaciones, y la correlación mostrada para estas ecuaciones fue bastante buena ( $r=0.893$  y  $0.771$  respectivamente) usando como variable de respuesta la actividad antileucémica sobre L1210.

Continuando con los estudios de los patrones de sustitución, se sintetizaron y evaluaron los derivados 2'-O-alkilados y 2'-N-alkilados, considerando que son mejores grupos electrodonadores. Los resultados concordaron con los resultados anteriores, en los cuales el volumen estérico es una restricción para la actividad. De todos los derivados sintetizados, el compuesto 2'-NHCH<sub>3</sub> (figura 18) fue particularmente efectivo,<sup>(33)</sup> siendo más activo que la amsacrina en las pruebas *in vivo* para leucemia a una dosis óptima.<sup>(35)</sup> Este compuesto también mostró un nivel favorable de actividad *in vitro* para carcinoma de colon,<sup>(36)</sup> en comparación con la citotoxicidad en la línea celular de leucemia.

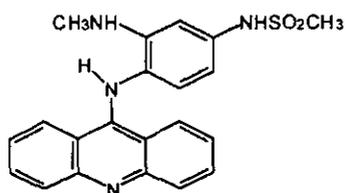


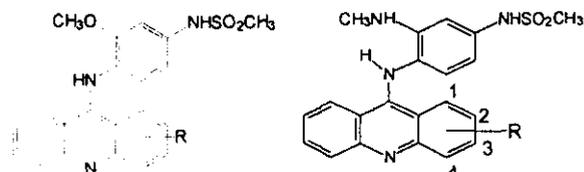
Figura 18

Una vez obtenido este derivado activo, se sintetizaron diferentes congéneres sustituidos en las posiciones 1 a 4 del anillo de acridina (los autores ya habían comprobado que los derivados 1-

sustituídos eran inactivos y no tóxicos,<sup>(26)</sup> además de la poca tolerancia estérica en la posición 2). Se esperaba que el reemplazo del grupo 2'OCH<sub>3</sub> ( $\pi = 0.02$ )<sup>(37)</sup> comparado a el 2'-NHCH<sub>3</sub> más polar ( $\pi = 0.47$ ) resultará en compuestos más polares, pero sus valores de lipofilidad son comparables con los correspondientes análogos de amsacrina.<sup>(38,37)</sup> Los derivados 3,5 metilaminodisustituídos resultaron ser más hidrofílicos que los análogos de amsacrina.

En cuanto a los resultados de unión al DNA se resume en la siguiente tabla:

**Tabla 1. Efectos de los sustituyentes en la unión al DNA en la amsacrina y el 2'-metilamino**



Sustituyente	$\Delta \log K$	
	amsacrina(a)	2'-metilamino (b)
1-H	log K= 5.57	Log K= 6.42
1-CH <sub>3</sub>	-	-0.42
2-CH <sub>3</sub>	-0.22	-0.53
2-OCH <sub>3</sub>	-0.08	-
2-Cl	-0.08	-0.20
3-CH <sub>3</sub>	0.38	0.29
3-OCH <sub>3</sub>	0.26	0.22
3-F	-0.03	-0.64
3-Cl	0.49	-0.24
3-Br	0.72	0.57
3-I	0.78	0.00
3-NO <sub>2</sub>	-	0.06
3-NHCH <sub>3</sub>	-	1.11
3-NHCOOCH <sub>3</sub>	-	0.79
4-CH <sub>3</sub>	0.46	0.18
4-OCH <sub>3</sub>	0.37	0.01
4-Cl	0.19	0.45
4-CONHCH <sub>3</sub>	-0.03	-0.31

a) referencia <sup>37</sup>

b) referencia <sup>39</sup>

En cuanto a la citotoxicidad *in vitro* destacó la actividad del derivado 3-NHCH<sub>3</sub> (figura 19) siendo altamente activo sobre leucemia, y de igual manera altamente activo en estudios *in vivo*.

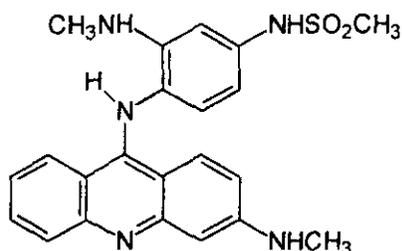


Figura 19

En conclusión, los derivados 2'-metilaminoamsacrina mostraron el patrón de sustitución determinado anteriormente para las amsacrina sustituidas.<sup>(37,26)</sup> grupos en posición 2 reducen la actividad en gran proporción, mientras que los sustituyentes en las posiciones 3 ó 4 (especialmente grupos lipofílicos no voluminosos) retienen o incrementan la actividad. Por lo tanto, la utilidad de reemplazar el grupo 2'-OCH<sub>3</sub> de la amsacrina, con el grupo electrodonador más potente 2'-NHCH<sub>3</sub> quedó establecida. Los derivados resultantes generalmente exhiben: 1)altos niveles de unión al DNA y 2)solubilidad acuosa. Sin embargo, las dos series no son idénticas, y los patrones de sustitución óptima son algo diferentes.

Además del derivado 2'-NHCH<sub>3</sub>, el derivado 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (figura 20) fue considerado como un prometedor análogo debido a su actividad antileucémica. A pesar que mostró una pobre potencia, su actividad en tumores de pulmón de Lewis garantizó el desarrollo posterior de esta clase de compuestos.

Por lo anterior, se realizaron los estudios de SAR con derivados de 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Este compuesto (figura 20) es considerablemente más lipofílico que la amsacrina o el derivado 2'-NHCH<sub>3</sub>.<sup>(40)</sup> En cuanto a su unión al DNA, el compuesto 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> mostró una unión significativamente menor; por otro lado, los diferentes derivados mostraron el mismo patrón de unión que la serie de 2'-NHCH<sub>3</sub>.<sup>(33)</sup>

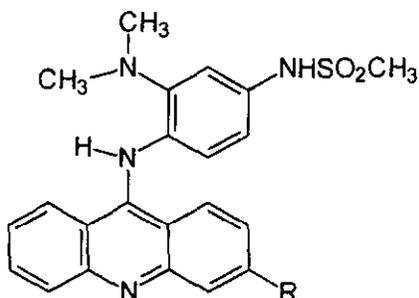


Figura 20

La actividad de los congéneres de 2'-N,N-dimetilamino amsacrina *in vitro* fue pobre en las líneas celulares de L1210 (leucemia) y HCT-8 (colón) con respecto al derivado de amsacrina y 3'-NHCH<sub>3</sub> correspondiente.

La característica más notable de los derivados de 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> es la marcada selectividad hacia la línea de tumores sólidos de HCT-8 sobre leucemia L1210. Esta "selectividad" mostrada no pudo ser aclarada.

A través de este estudio, los patrones de sustitución para los derivados de amsacrina fueron definidos con mayor claridad para mejorar la potencia; las posiciones 3,5 parecen ser las que la favorecen. En el caso de los derivados de 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> los mejores compuestos fueron los isoméricos 3,5 metil/metoxilo.

Los autores no pudieron explicar el porqué este tipo de compuestos muestran estas características en la actividad. Como ya se ha mencionado anteriormente, las propiedades fisicoquímicas juegan un papel importante en la actividad. Se mencionó que el compuesto 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> es más lipofílico y por lo tanto menos soluble en agua. Pero estas dos propiedades no fueron suficientes para explicar las diferencias en la actividad biológica, por esa razón se buscaron otro tipo de mecanismos.

## II.V Conformación de las 9-anilinoacridinas.

Como se mencionó anteriormente, el papel estérico de las posiciones 2' y 6' no quedó totalmente aclarado. Por lo tanto se continuaron con los estudios para elucidar la importancia estérica en estas dos posiciones.

Para evaluar cómo los diferentes sustituyentes en 2' y 6' podían alterar el anillo, y, a su vez, la actividad biológica, Denny W.A. y colaboradores determinaron los ángulos de torsión del anillo de anilino con respecto al sistema de acridina. Estos ángulos fueron definidos como  $\alpha$  (C13-C14-N15-C16) y  $\beta$  (C14-N15-C16-C17).<sup>(31)</sup>

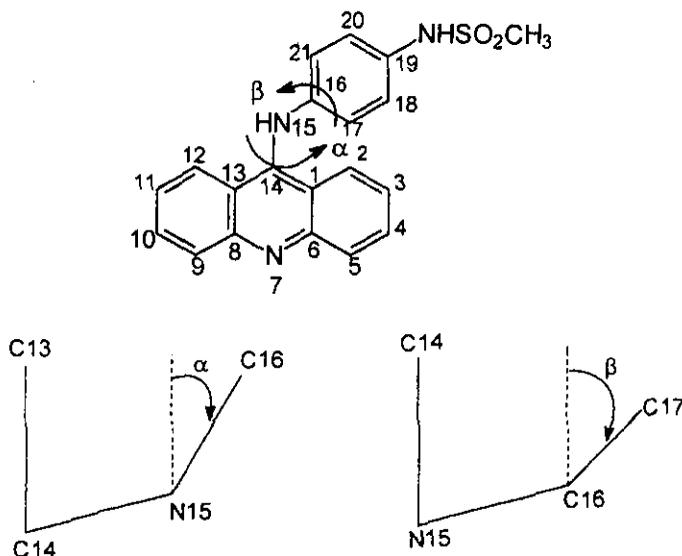


Figura 21. Descripción de los ángulos  $\alpha$  y  $\beta$ .

Los cálculos energéticos para AMSA, en los cuales se tomaron en cuenta los potenciales atómicos electrostáticos, dieron un valor de  $\alpha$  de  $81^\circ$  y de  $\beta$  de  $145^\circ$ . Comparando estos resultados con los determinados en estructuras cristalinas,<sup>(24)</sup> se observó que el ángulo de torsión  $\alpha$  fue de  $24^\circ$ . La principal razón para esta diferencia se atribuyó a que no existe una libre rotación en el ángulo C14-N-15 debido a la conjugación en este enlace, corroborado en la estructura cristalina, en donde el enlace C19-N-22 de  $1.35\text{-}1.36 \text{ \AA}$  es considerablemente menor de lo usual ( $1.43 \text{ \AA}$ ).<sup>(32)</sup>

Por otro lado, las conformaciones de estructuras cristalinas mostraron interacciones de no enlace entre H-2 y H-17, y un ángulo de  $127.2^\circ$  (con respecto a un ángulo normal de  $120^\circ$ ) para C13-C14-N-15, lo cual indica que la molécula se encuentra considerablemente tensionada.

En cambio para *m*-AMSA ( $2'\text{-OCH}_3$ ), el ángulo de torsión para  $\alpha$  no varió considerablemente, mientras que el ángulo  $\beta$  fue de  $214^\circ$ , colocando de esta manera el grupo metoxilo lo más lejano posible del anillo de acridina y a C-17 lo más lejano de H-2.

La adición de un segundo metoxilo en posición  $6'$  no mostró ningún cambio en el ángulo  $\beta$  (con respecto a *m*-AMSA), el ángulo  $\alpha$  fue de  $56^\circ$ , probablemente para incrementar el desarrollo de las interacciones de no enlace entre H-2 y el metoxilo de C-17. Sin embargo, se limita el grado de flexibilidad del grupo 9-anilino por un incremento de las barreras energéticas en la conformación. Además, al agregar este segundo metoxilo, se disminuye la unión al DNA con respecto a *m*-AMSA, con una disminución de 100 veces la actividad.

Los resultados anteriores demostraron que existe una disminución progresiva de unión al DNA conforme se aumenta al volumen estérico alrededor del anillo de anilina, pero no existe un cambio dramático en el modo de unión al DNA determinado por los ángulos.

## II.VI Estudios de unión al DNA de las 9-anilinoacridinas.

Feigon J. y colaboradores compararon los resultados biológicos obtenidos hasta el momento con estudios de RMN  $^1\text{H}$ .<sup>(33)</sup>

En base a los resultados de RMN se puede decir que este tipo de compuestos son intercaladores. El compuesto AMSA ( $4'\text{-NHSO}_2\text{CH}_3$ ) causa un rápido intercambio con el DNA (figura 23) originando un gran cambio en las señales de resonancia del par A-T y G-C. Resultados similares se observaron para la amsacrina (*m*-AMSA,  $2'\text{-OCH}_3$ ) (figura 22). En cambio, con los sustituyentes voluminosos en esta posición, no se observa en gran medida estos cambios en el espectro de resonancia.

El derivado disustituido  $2',6'$  ( $\text{OCH}_3$ )<sub>2</sub> no parece intercalarse del todo, al igual que el derivado 2-t-Bu-AMSA. Estos compuestos son biológicamente inactivos.

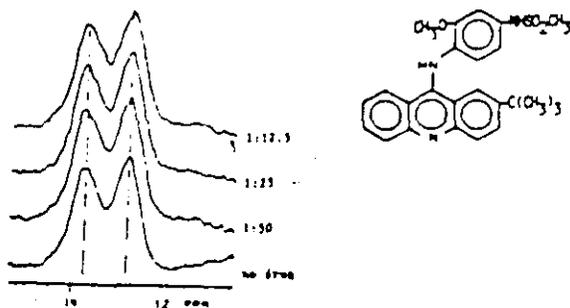


Figura 22. Efecto de *m*-AMSA en la resonancia del Par A-T, G-C del DNA

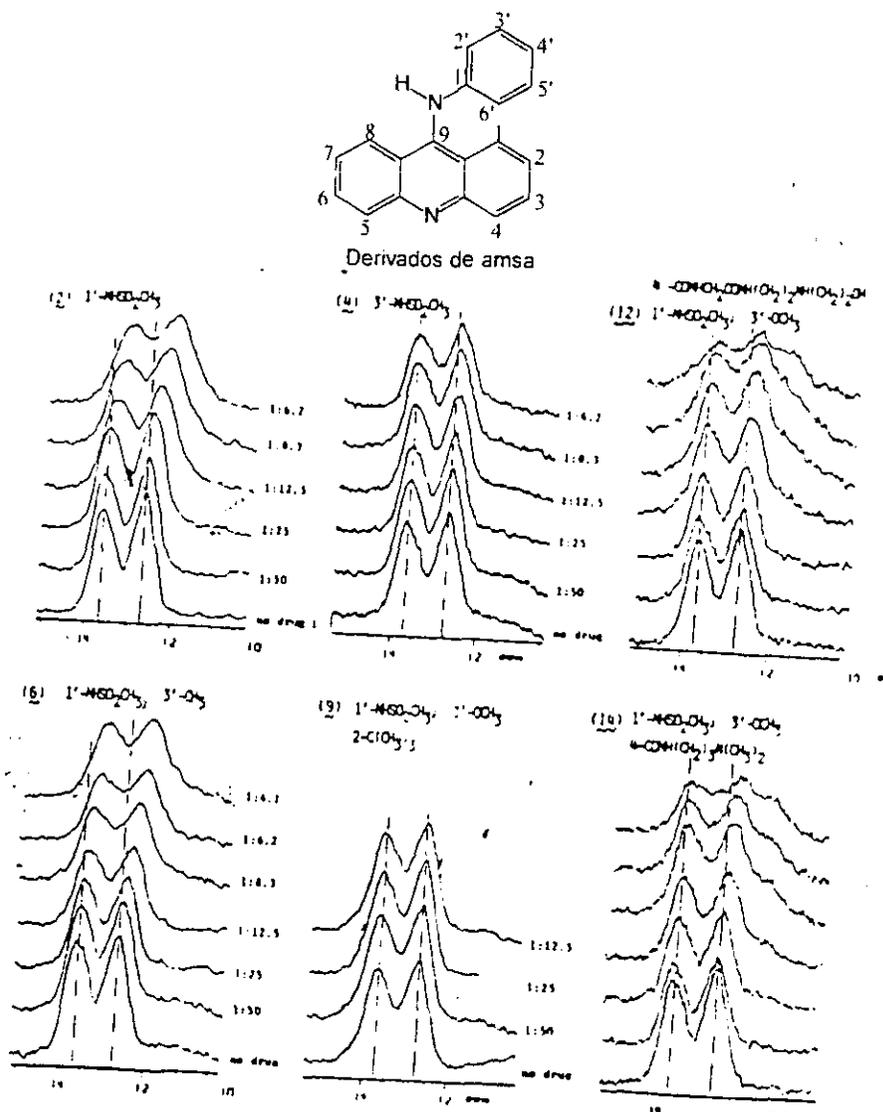


Figura 23. Efecto de AMSA y sus derivados en la resonancia del par A-T, G-C del DNA

Los estudios QSAR demostraron que la actividad biológica de los derivados de AMSA (figura 23) se encuentra relacionada con las constantes de asociación con el DNA,<sup>(18)</sup> los derivados que se unían más fuertemente eran los más activos. Sin embargo, según Feigon, estos estudios no tomaron muy en cuenta la pérdida de la actividad por la sustitución de grupos voluminosos en la posición 2, aunque las constantes de unión al DNA de estos derivados permanecen constantes. Por lo tanto Feigon concluyó que la pérdida de actividad mostrada en este tipo de compuestos (como los derivados SN19799 y SN 18982, figura 24) no es debido a la falta de unión al DNA, sino a un cambio en el modo de unión del fármaco en una forma indefinida en la parte externa de la hélice.

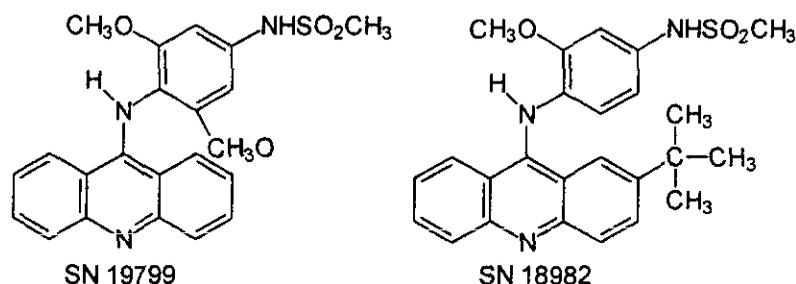


Figura 24. Derivados de AMSA

Otra técnica usada para observar la interacción con el DNA fue la medida del tiempo de relajación del spin-retículo del <sup>23</sup>Na en estudios de intercalación de algunos tipos de tetrahidro-9-aminoacridinas en DNA.<sup>(34)</sup> Se demostró, por medio de RMN, que la velocidad de relajación del <sup>23</sup>Na es un parámetro extremadamente sensible en la intercalación.

Los autores en este estudio concluyeron que no existe asociación electrostática externa entre los compuestos y el DNA como única interacción (podrían existir fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas), además corroboraron que la principal interacción con el DNA era la intercalación.<sup>(34)</sup>

Adicionalmente, los autores propusieron un modelo modificado para el modelo de intercalación de Lerman,<sup>(8)</sup> en particular, el cromóforo no se encontraba perpendicular al eje de la hélice del DNA, y las pares de bases en el sitio de unión podrían mostrar una distorsión de la conformación. Mostraron la influencia de la cadena de 9-metanosulfoanilida en los cambios conformacionales del DNA. Como ya se sabía, esta cadena se encuentra interactuando con el surco menor del DNA. Debido a los requerimientos estéricos del grupo 9-anilino, el plano se ve forzado a estar casi ortogonal al sistema de acridina. Estos requerimientos restringen los cambios conformacionales necesarios para la intercalación del *m*-AMSA.

Por lo anterior, los autores sugirieron que al introducir el grupo 2'OCH<sub>3</sub> se puede cambiar el modo de intercalación.

## II.VI Metabolismo de las 9-anilinoacridinas como vía de actividad.

Estudios preclínicos<sup>(41)</sup> con amsacrina establecieron que una ruta importante de metabolismo es la oxidación del anillo de anilina a la quinona diimina, la cual puede sufrir una reacción de adición 1,4 con tioles de bajo peso molecular (en particular con glutatión GSH). En algunos estudios tales conjugados de glutatión fueron los productos metabólicos mayoritarios. Un trabajo posterior<sup>(42)</sup> favoreció la hipótesis de que la inhibición de la Topoisomerasa II en la replicación del DNA, era el principal mecanismo de citotoxicidad.

El mecanismo redox para la quinona diimina (figura 25) mostró un papel importante en el metabolismo de los mamíferos.<sup>(41)</sup>

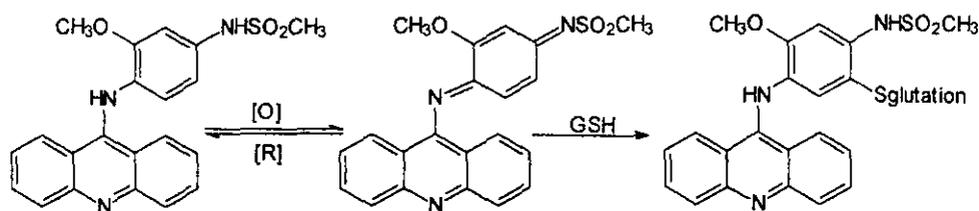


Figura 25. Metabolismo de *m*-AMSA

No se ha aclarado si la oxidación es obligada para la actividad biológica o es meramente una vía de desintoxicación por medio de la conjugación con glutatión. Este mecanismo de reacciones redox es similar para la familia de antibióticos antitumorales de las ellipticina.<sup>(43)</sup>

Todos los sustituyentes en la posición 4' que poseen un hidrógeno  $\beta$  sobre el heteroátomo (O ó N) mostraron una reacción redox químicamente reversible. El producto de oxidación (química o electroquímica) de 4'-OH es la quinona imina:

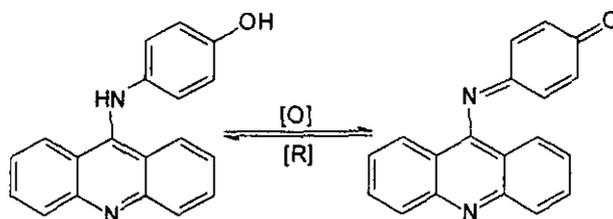


Figura 26

La oxidación química del derivado 4'-NH<sub>2</sub> también da la misma quinona imina como único producto debido a la hidrólisis de la inestable quinona diimina. La oxidación del derivado 4'-NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> da como resultado la siguiente quinona diimina:

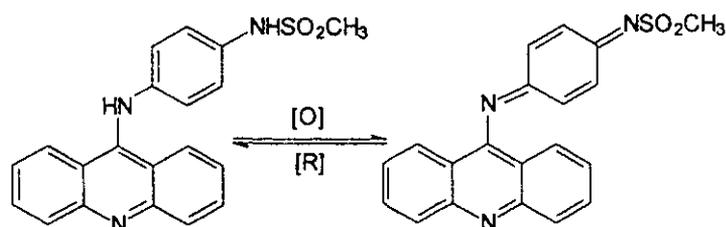


Figura 27. Metabolismo de oxidación

Este producto de oxidación es más estable, aunque cualquier manipulación provoca la hidrólisis dando como resultado la iminoquinona.<sup>(44)</sup>

Los derivados de las metanosulfonamidas también fueron estudiados.<sup>(45)</sup> Como es lógico, el grupo 2'-NHCH<sub>3</sub>, con propiedades electrodonadoras más potentes, hacen más factible la oxidación. Sin embargo, la reacción no es químicamente reversible. Esta oxidación irreversible es debido, presumiblemente, al hidrógeno del nitrógeno el cual permite el rearrreglo prototrópico de la 1,4 diimina inicialmente formada.<sup>(44)</sup> En contraste, el compuesto 2'-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> se comporta como la amsacrina, sometiéndose a una oxidación reversible (2e<sup>-</sup>) a la diimina; esta reacción es mucho más fácil que la oxidación de la amsacrina.

A pesar que no parece haber una correlación convincente entre actividad biológica y la facilidad de oxidación para los análogos de amsacrina, se concluyó que existen dos condiciones necesarias para la actividad biológica: los sustituyentes del anillo de acridina influyen en la unión al DNA y un potencial redox suficientemente bajo del anillo de anilino para permitir la formación rápida de la quinona diimina.

Sin embargo, los estudios redox en la actividad biológica deben ser más amplios para poder establecer una relación oxidación-actividad.

Para determinar si las propiedades redox de las 9-anilinoacridinas tienen una relación directa con la actividad antitumoral, Tsann-Long Su y colaboradores,<sup>(46)</sup> diseñaron y sintetizaron una serie de derivados de 9-anilinoacridinas, en los cuales el átomo de nitrógeno de la posición 9 fue sustituido por un átomo de oxígeno o azufre (figura 28).

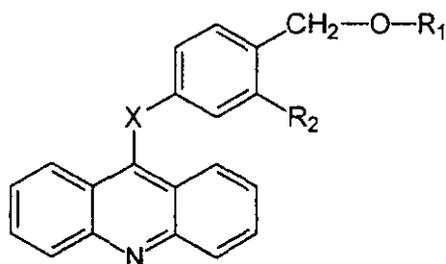


Figura 28. Patrón general de derivados de acridinas

Esta nueva serie de acridinas 9-sustituidas fueron incapaces de formar los intermediarios diiminoquinonas por oxidación, y por lo tanto, se esperaba que la acción de estos compuestos fuera más larga y con efectos terapéuticos mayores.

Los resultados obtenidos para los derivados 9-fenoxi y 9-feniltioacridinas se resumen en la siguiente tabla:

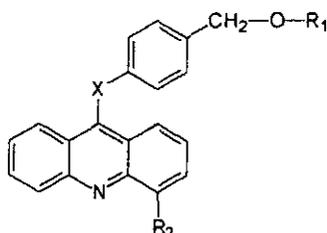


Tabla 2 Citotoxicidad in vitro de 9-fenoxi y 9-fenil tioacridinas

Compuesto	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Inhibición de Topo II que media la decadenación KDNA	CI <sub>50</sub> para la inhibición del desarrollo celular HL-60 (μM)
9 a	O	H	H	-	12.85
9b	O	CONHCH <sub>3</sub>	H	+	0.68
9c	O	CONH-t-Pr	H	+	1.49
10 a	O	H	OCH <sub>3</sub>	+	1.04
10b	O	CONHCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	±	0.95
10c	O	CONH-t-Pr	OCH <sub>3</sub>	-	0.42
11 a	S	H	H	-	3.33
11b	S	CONHCH <sub>3</sub>	H	+	1.96
11c	S	CONH-t-Pr	H	±	2.83
12 a	S	H	OCH <sub>3</sub>	±	1.83
12 b	S	CONHCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	-	2.71
12 c	S	CONH-t-Pr	OCH <sub>3</sub>	-	1.55

Los experimentos preliminares indicaron que tanto las 9-fenoxi como las 9-feniltioacridinas exhiben una moderada citotoxicidad en leucemia humana HL-60 y en la inhibición de la DNA-Topo II. A pesar de que muchos derivados mostraron efectos inhibitorios en la decadenación del K-DNA mediado por Topo II, las actividades no siempre estuvieron correlacionadas con la citotoxicidad, sugiriendo que algunos compuestos podrían tener diferentes o más de un modo de acción.

En la serie de 9-fenoxiacridina, la citotoxicidad del compuesto padre 9-a fue incrementada por la introducción del grupo N-carboxamida a la función hidroximetil o un grupo metoxilo al C-3 del

anillo de acridina. En cambio, la introducción del mismo grupo carboxamida o metoxilo incrementan ligeramente la citotoxicidad de los derivados 9-feniltioacridina.

Entre los compuestos que habían estudiado los autores se encontraba la 3-[(9-Acridinil)amino]-5-(hidroximetil)anilina (AHMA, figura 29), la cual posee una estructura química triangular; los sustituyentes en el anillo de anilino se encuentran en posición meta y por lo tanto no pueden formar la iminoquinona por medio de la oxidación.

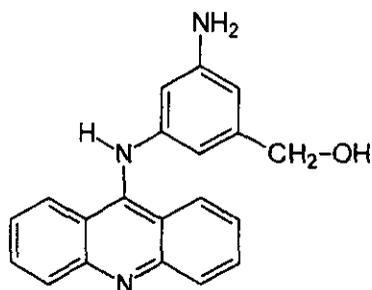


Figura 29. AHMA

Los autores encontraron que AHMA no solamente mostraba actividad antitumoral potente en leucemia L1210 y HL-60,<sup>(47)</sup> sino que también tuvo una vida media larga en plasma humano. Observaron que el DNA con AHMA exhibió decadenación y relajación mediada por Topo II.<sup>(48)</sup>

Los efectos citotóxicos de los inhibidores de la DNA Topoisomerasa son debido al bloqueo de la ruptura del complejo de DNA. El DNA y la enzima Topo forman un complejo reversible el cual es estabilizado por el fármaco para formar un complejo ternario. La estabilización del complejo da como resultado la interrupción de la escisión de la banda DNA, el paso y liberación.<sup>(49)</sup>

Basándose en los inhibidores de la Topoisomerasa, los autores consideraron las siguientes modificaciones para el estudio SAR en AHMA:

1. Unión de una cadena de acilo de diversos tamaños al grupo amino o hidroximetil para estudiar los efectos del tamaño del sustituyente sobre la citotoxicidad y la actividad inhibitoria de la Topo II.
2. Acoplamiento a los grupos amino o hidroximetilo una cadena lateral con carga para incrementar la estabilización del complejo reversible Topo II-DNA.
3. Sustitución de un grupo saliente a la función hidroxibencílica para que el ataque nucleofílico esperado por parte de los grupos del DNA o la Topo II formen un enlace covalente, y, por lo tanto, inhibir la isomerización y polimerización del DNA.

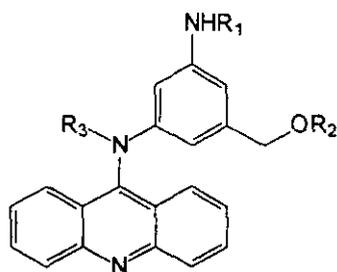


Figura 30. Patrón de sustitución para los Derivados de AHMA.

De los derivados de AHMA (figura 30) se observó que la adición de una cadena corta de acilo, acetilo o levulinilo al 1-NH<sub>2</sub> y/o 5-CH<sub>2</sub>-OH del anillo de anilina no afecta en gran medida la citotoxicidad del compuesto padre en leucemia HL-60, pero estos compuestos fueron menos citotóxicos que AHMA en L1210. El compuesto con la función levulinil fue un inhibidor más potente que AHMA y *m*-AMSA en la inhibición de la Topo II.

Contrariamente, la unión de AHMA con una cadena de succinil, fue menos tóxico, debido probablemente a su baja solubilidad.

Los autores también estudiaron la interacción de estos derivados con el DNA por medio de métodos espectrofotométricos. Los resultados mostraron que la correlación entre la formación del complejo fármaco-DNA y la actividad antitumoral de los fármacos no podría ser determinada; *m*-AMSA formó una de las intercalaciones más débiles entre los compuestos estudiados; además la incorporación de una cadena más voluminosa al anillo de anilina tiene poco efecto en la estabilidad cinética del complejo fármaco-DNA.

De los resultados obtenidos, los autores concluyeron que el cambio en el tamaño de los sustituyentes en NH<sub>2</sub> y/o CH<sub>2</sub>OH del anillo de anilina tiene poco efecto en la citotoxicidad, los resultados también sugirieron que la actividad de los análogos de AHMA, como las acridinsulfonanilidas, podría ser ejercida a través de la formación de complejos ternarios en los cuales el anillo planar de acridina sirve como ancla en la unión al DNA y los sustituyentes amino e hidroximetil podrían interaccionar con enzimas macromoleculares como las topoisomerasas.

## II.VII 9-aminoacridincarboxamidas.

Se había observado que una propiedad general que podría asistir a la afinidad de unión al DNA es la capacidad del cromóforo para actuar como un aceptor de carga de las bases del ácido nucleico. Además, la importancia de las interacciones por transferencia de carga de los agentes intercalantes en la unión al DNA, fue demostrada por Gabbay y colaboradores<sup>(50,50\*)</sup>, quienes emplearon las moléculas nitrobencenoideas (moléculas ya reportadas que se encontraban

deficientes de electrones, figura 31), como aceptores de transferencia de carga en un estudio extenso de interacciones ligando-DNA.

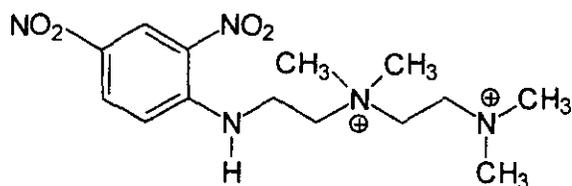


Figura 31

Por lo tanto, una propiedad deseable del cromóforo podría ser su habilidad para actuar como aceptor de transferencia de carga, y ésta puede ser incrementada al sustituir la cadena lateral con grupos electroattractores. Debido a lo anterior Atwell G.J. y colaboradores<sup>(50b)</sup> prepararon y examinaron una serie de 9-aminoacridincarboxamidas (figura 32).

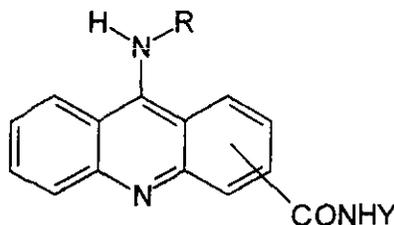


Figura 32. Patrón de sustitución para derivados de las 9-aminoacridincarboxamidas

De esta serie de compuestos, el derivado 9-aminoacridin-4-*N,N*-dimetiletienicarboxamida (figura 33) resultó ser altamente activo en leucemia P388 *in vivo*, mostrando también actividad cuando se administró oralmente, aunque en dosis más altas.

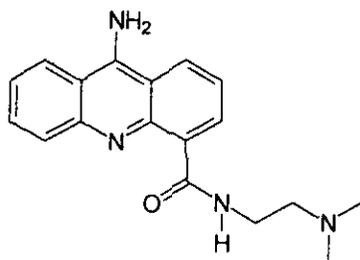


Figura 33. 9-aminoacridin-4-*N,N*-dimetiletienicarboxamida

Soportado por los resultados anteriores, los autores realizaron los estudios de relación estructura-actividad para este tipo de compuestos. Se sintetizaron derivados para evaluar los efectos de incrementar la lipofiliidad y la tolerancia estérica alrededor de la posición 9, además del

centro catiónico requerido. Los derivados activos como antitumorales fueron los siguientes (figura 32):

- |   |   |
|---|---|
| 1) R= H                                 | Y= (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> en posición 4     |
| 2) R= (CH <sub>2</sub> )CH <sub>3</sub> | Y= (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> en posición 4     |
| 3) R= H                                 | Y= (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> N(Et) <sub>2</sub> en posición 4                   |
| 4) R= H                                 | Y= (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH en posición 4 |

Estos compuestos fueron estables, solubles en agua y altamente activos sobre leucemia 1210 y leucemia P388. En general, el análisis de todos los derivados demostró que para la actividad *in vivo* existe una significativa tolerancia estérica para grupos lipófilicos, pero no para los grupos hidrofílicos y para los grupos lipófilicos e hidrofílicos del residuo catiónico de la cadena lateral en la posición 4. El requerimiento para los dos centros catiónicos pareció ser absoluto; una distancia de aproximadamente 8 Å.

Interpolando los anteriores resultados con los resultados obtenidos para los derivados de amsacrinas,<sup>(37,38,51)</sup> se obtuvo un compuesto de segunda generación (CI-921; NSC 343499, figura 34) con amplia actividad en diversos tumores y que fue sometido a estudios de Fase II de tratamiento clínico para leucemia aguda y tumores sólidos.<sup>(52, 53)</sup>

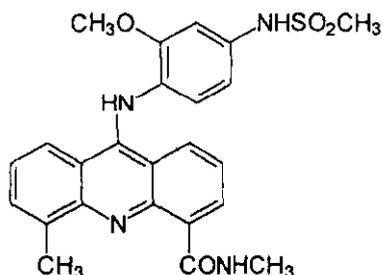


Figura 34. CI-921

Además, el compuesto denominado DACA, *N*-[(2-dimetilamino)etil]acridin-4-carboxamida, (NSC 601316, figura 35) emergió de esta serie de estudios como agente intercalante que mostró una actividad excepcional contra 38 tumores, mostró alta efectividad en líneas celulares que presentaban resistencia a diferentes fármacos mediante la sobreexpresión de la glicoproteína P y por la alteración en la estructura de la enzima Topoisomerasa II. DACA se encuentra en estudios de tratamiento clínico.<sup>(54)</sup>

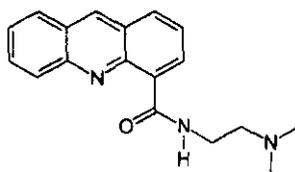


Figura 35. DACA

Debido a que las 9-aminoacridina-4-carboxamidas son especies dicatiónicas, altamente hidrofílicas, es posible que una pobre distribución limite su actividad biológica en células blanco que se encuentren lejanas. Los estudios con análogos de amsacrina han mostrado que los derivados débilmente básicos tienen un mayor espectro de actividad, que fue atribuido en parte a que tales compuestos, con una gran proporción de formas neutras a pH fisiológicos, pueden distribuirse con mayor efectividad.<sup>(55,56)</sup>

Estos estudios también describen que solamente la sustitución en la posición 5 fue generalmente compatible con la potencia y la actividad *in vivo*. Por lo tanto, se buscó sintetizar y evaluar nuevos derivados de 9-aminoacridin-4-carboxamidas con sustituyentes electrodonadores en las posiciones 5 y 7. Los compuestos sustituidos en la posición 7 se sintetizaron como indicadores de los efectos electrónicos; los sustituyentes en posiciones 5 y 7 han mostrado tener influencia electrónica similar en el pKa de la acridina.

La relación estructura-actividad de los sustituyentes en la posición 7 mostró ser diferente a los sustituyentes en la posición 5; todos los sustituyentes examinados dieron derivados activos en la posición 5 y derivados inactivos en la posición 7.

El pKa del átomo de nitrógeno del anillo de acridina fue considerado como un parámetro importante. La 9-aminoacridina por sí misma tiene un pKa en agua, a 25°C, de 9.99, debido a la gran estabilización por resonancia de la forma cargada. Los compuestos débilmente básicos mostraron la mejor actividad.

Los derivados 5-CF<sub>3</sub> y 5-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> mostraron la más alta actividad antileucémica. Particularmente para el derivado 5-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, la actividad fue atribuida a su cromóforo débilmente básico (pKa= 5.15), el cual permite su distribución como monocatión.<sup>(53)</sup>

Todas estas moléculas han mostrado ser activas, a pesar de que no se ha aclarado la disposición de estas dos cadenas laterales en la interacción con el DNA (cadenas de la posición 9 y 4). Han existido muchas discusiones acerca de la localización: para las moléculas que contienen una sola cadena, en la mayoría de los casos, parecen interactuar con el surco menor. Moléculas que contienen 2 cadenas en un mismo cromóforo pueden caer en el mismo surco (menor o mayor). Sin embargo, existe otra posibilidad de unión, en la cual cada cadena se ubica en cada surco con el cromóforo intercalado a través de la hélice del DNA. Esta forma de unión sería cinéticamente desfavorable y sólo sería importante cuando exista un traslape del grande cromóforo en el sitio de intercalación del DNA.

Existen diversos ejemplos de ligandos que deben poner una cadena en cada surco. Por ejemplo, las antraquinonas 1,5 disustituidas (figura 36) han mostrado por RMN que se unen por intercalación, y para realizarlo deben poner sus cadenas de esa manera.

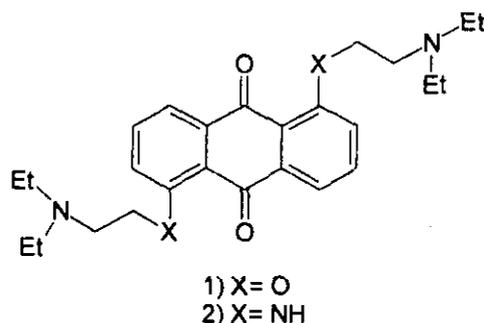


Figura 36. Patrón de sustitución de las 1,5-antraquinonas

Los estudios moleculares del derivado 2 de la figura 36, mostraron que solamente este modo de unión es energéticamente favorable.<sup>(57)</sup> Derivados de naftalendiimidias también mostraron que se unen al DNA por intercalación<sup>(58)</sup> con una cadena lateral en cada surco.

Tomando en cuenta esta posibilidad, Wakelin L.P.G. y colaboradores<sup>(59)</sup> realizaron estudios de unión al DNA, cinética de asociación y de disociación al DNA para dos series de compuestos: 9-amino-4-carboxamidas y derivados 4-carboxamidas del *m*-AMSA (figura 37).

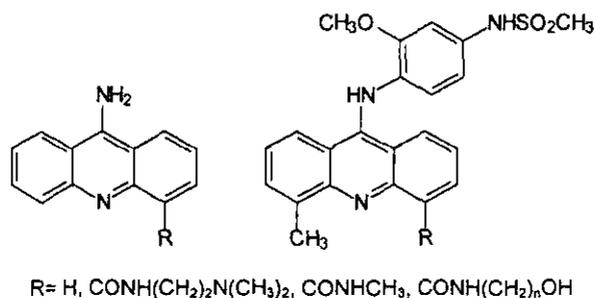


Figura 37

Las 4-carboxamidoamsacrinias tiene la topología correcta para ser un agente intercalante del DNA; el máximo traslape entre el cromóforo de acridina y las pares de bases del DNA pueden darse solamente si el ligando se encuentra orientado con una cadena en cada surco del DNA. Para entender el mecanismo por el cual los ligandos mantienen esta orientación de unión, se estudió la cinética de asociación con el DNA. La asociación para la 9-amino-carboxamida amsacrina y para el *m*-AMSA, los cuales contienen una sola cadena, fue muy rápida. Para los derivados de 4-carboxamidas de la amsacrina, con cadenas voluminosas en la posición 4, la asociación fue muy lenta, y las constantes para el proceso fueron independientes de la concentración del DNA, indicando que podría haber un rearrreglo de los ligandos en el DNA. La primera etapa en el arreglo monomérico de los ligandos de 4-carboxamidaamsacrina, después de la asociación bimolecular, puede involucrar la inserción de una de las cadenas a través de la hélice para permitir el máximo traslape del anillo de acridina.

Para la metilcarboxamida, la cadena más pequeña en la serie, el rearreglo fue muy rápido, sugiriendo que este compuesto se intercala vía inserción de la carboxamida. Los otros compuestos con cadenas carboxamidas más largas se asocian más lentamente.

La cinética de disociación de las 4-carboxamido-amsacrinas del DNA resultaron ser muy complejas. La amsacrina por sí misma ha mostrado una cinética de disociación muy rápida, en cambio la 9-aminoacridina mostró cinética de disociación más lenta, y la sustitución de una cadena voluminosa va disminuyendo la cinética de disociación del cromóforo.

Por lo tanto, en el equilibrio la 4-carboxamida amsacrina se une al DNA, con el anillo de acridina traslapado en los pares de bases y la cadena de carboxamida en el surco menor.

A pesar de que los datos cinéticos son solamente evidencia indirecta para un modelo de unión propuesto, fue difícil obtener más información. Sin embargo, cabe destacar que este tipo de compuestos, con dos cadenas laterales colocadas en cada surco del DNA, forman una clase única de ligandos que se unen al DNA.

Por otro lado, Antonini y colaboradores mostraron que la introducción de una segunda cadena básica en la posición 1 de compuestos tricíclicos<sup>(60)</sup> del tipo de acridonas incrementan excelentemente la citotoxicidad (figura 38).

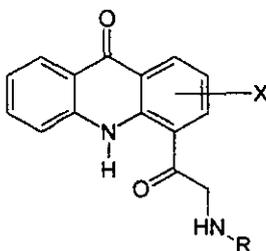


Figura 38. Patrón de sustitución de acridonas

También fueron evaluados compuestos relacionados a los cromóforos de acridina que contenían una cadena de carboxamida o un átomo electroattractor. Las carboxamidas de las fenazinas mostraron un amplio espectro de actividad antitumoral.<sup>(61)</sup>

Sin embargo, las benzoaftiridinas<sup>(62)</sup> mostraron niveles similares de unión al DNA a las 4-carboxamidoacridinas, pero menos potentes *in vitro*. La 6-carboxamida-benzo[b] [1,5]-naftiridina (figura 39) fue la única azacridina con actividad *in vivo*. Un factor que podría contribuir a la relativa inactividad de las benzoaftiridinas es su baja lipofilidad, lo cual puede resultar en niveles menores de captación celular.

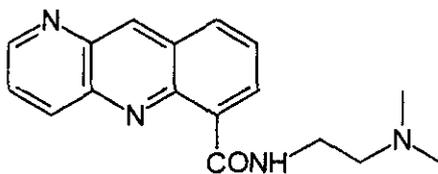


Figura 39. 6-carboxamida-benzo[b][1,5]-naftiridina

Otros derivados de acridinas con grupos electroattractores como la nitracrina 9-[(3-dimetilamino)propilamino]-1-nitroacridina (figura 40) fueron sintetizados y evaluados<sup>(63)</sup>, sin embargo, no mostró actividad significativa en células hipóxicas de tumores sólidos. En cambio, el N-óxido de la amina terciaria de la nitracrina (figura 40) fue evaluado posteriormente, pensando que la cadena dipolar, cargada formalmente podría proveer un profármaco con una unión muy débil al DNA.

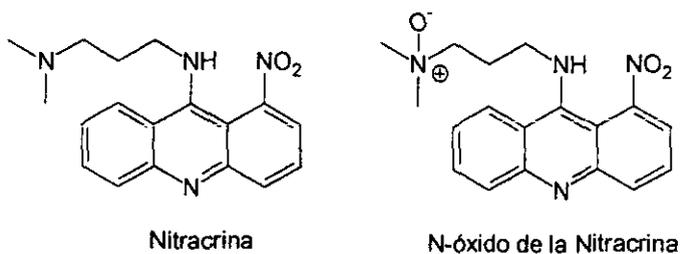


Figura 40. Derivados de Nitracrina

Se encontró que este compuesto mostró una selectividad hipóxica excepcional en cultivo de células AA8. La alta selectividad del N-óxido de la nitracrina parece ser debido a un requerimiento de la reducción de los grupos nitro y N-óxido, para una total activación. Este compuesto fue el primer reporte de un agente bis-bioreductivo, con dos centros redox independientes sensitivos al oxígeno (figura 41).

La reducción del grupo nitro parece generar intermediarios reactivos responsables para la alquilación del DNA, mientras que la reducción del N-óxido genera una cadena catiónica, incrementando de esta manera la afinidad intercaladora al DNA en 15 veces.

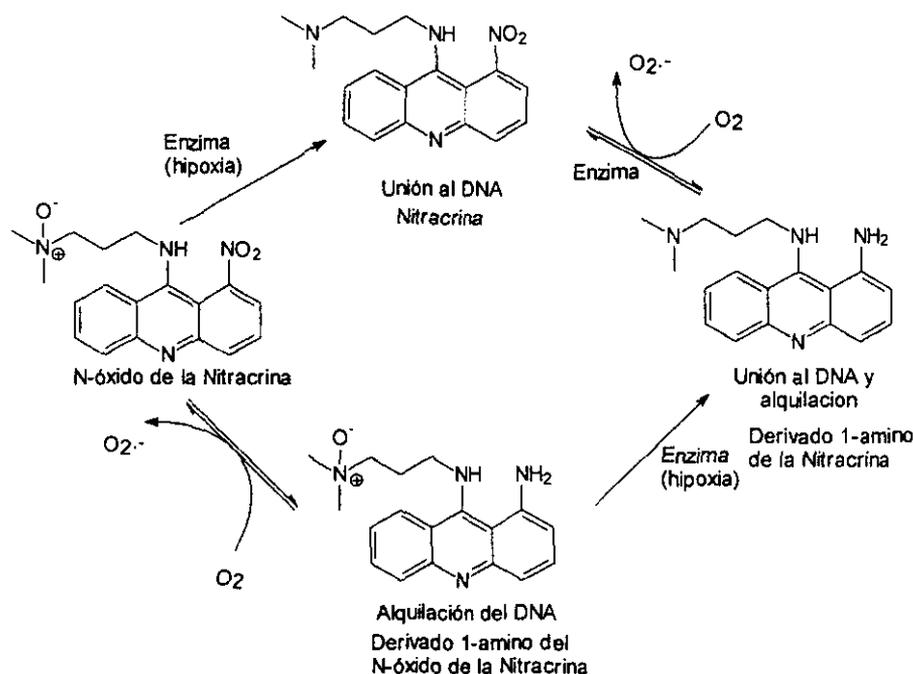


Figura 41. Proceso redox para la activación del N-óxido de la Nitracrina

El potencial de los N-óxidos, para actuar como profármacos hipoxi-activados de los intercaladores del DNA, fue demostrado por la selectividad hipóxica *in vitro* de la antraquinona di-N-óxido AQ4N y la acridina mono-N-óxido DACA-NO (figura 42).

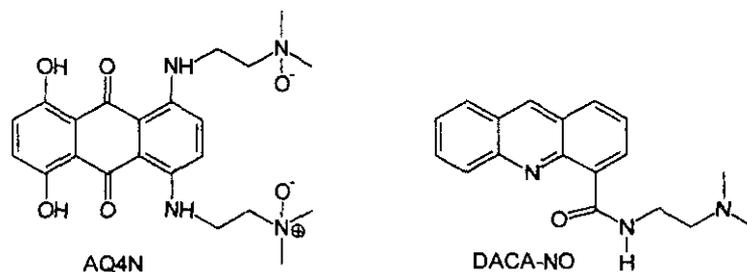


Figura 42

Con los antecedentes anteriores Lee H.H. y colaboradores<sup>(68)</sup> reportaron la síntesis y evaluación de análogos de nitracrina sustituidos en el anillo de acridina con grupos electrodonadores Me y OMe y sus correspondientes N-óxidos.

Este trabajo dio como resultado análogos del N-óxido de la nitracrina con potenciales de reducción menores y, por consecuencia, velocidades menores de activación metabólica. Los resultados mostraron que la disustitución 4,5 de la nitracrina con grupos Me, OMe no provee derivados con potenciales de reducción menores que los correspondientes análogos monosustituidos. Esto no parece deberse al concomitante incremento del pKa de la acridina, pero

sí a una ausencia de efectos electrónicos directos de los sustituyentes. En cambio, colocando dos grupos OMe en el anillo que contiene el grupo nitro resulta en una substancial disminución de E (-355mV a -401mV). Con todos los compuestos sustituidos con Me o OMe se observó una estabilización metabólica significativa en cultivo de células hipóxicas.

Mientras que el N-óxido 2,4 diOMe sustituido mostró una pobre selectividad hipóxica en cultivo, los N-óxidos de los derivados 4-sustituidos y 4,5 disustituidos de la nitracrina generalmente retienen la alta selectividad del N-óxido de la nitracrina. Para el derivado 4-OMe y el 4,5-diOMe esta selectividad fue 1000 veces mayor, a pesar de que la potencia fue mucho menor que el compuesto padre (N-óxido de la nitracrina).

Estudios posteriores sobre DACA mostraron que este agente intercalante del DNA, exhibía una actividad inhibitoria en las enzimas reguladoras del DNA: Topoisomerasa I y Topoisomerasa II.

El derivado con el átomo de Cl en la posición 7 fue alrededor de 4 veces más potente que DACA, estimulando la ruptura del DNA por la Topoisomerasa I, y fue más efectivo en superar la resistencia "atípica" en las líneas celulares de leucemia humana.

Por los resultados anteriores, Spicer y colaboradores<sup>(69)</sup> sintetizaron nuevos análogos de DACA y 7-Cl-DACA (figura 43).

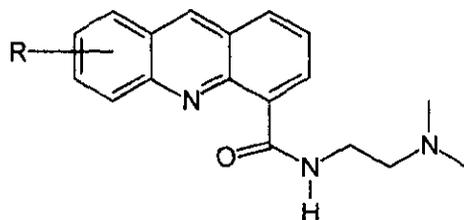


Figura 43. Patrón de sustitución de los derivados de DACA

En este estudio se utilizaron tres líneas celulares humanas de leucemia (línea Jurkat), y la línea de leucemia P388 fue usada como una directriz de comparación de propiedades antiproliferativas. Las líneas Jurkat fueron la JLC (línea sensitiva), JLA (línea resistente al intercalador amsacrina y agentes similares) y JLD (línea resistente a la doxorubicina). Los valores absolutos de  $CI_{50}$  fueron dados para P388 y JLC y las otras 2 líneas Jurkat (JLA/JLC y JLD/JLC); el valor de las relaciones que sean menores de 2 sugiere un mecanismo de acción nuevo no mediado por topoisomerasa II. DACA, el cual es un inhibidor mixto de topoisomerasa I/II muestra valores de 2.3 y 2.5, respectivamente. El panel de análogos fue diseñado para proveer una visión inicial para análogos selectos de DACA con una potencia mayor, pero valores similares o menores de JLA/JLC y JLD/JLC.

Para la realización del QSAR, la refractividad molar (MR) fue usada como una medida del volumen estérico, debido a que los valores estaban disponibles para todos los sustituyentes, y correlacionaban bien ( $r=0.96$ ) con el parámetro estérico Taft ( $E_s$ ). La lipofilicidad fue medida por los

valores de  $\pi$ ; las propiedades electrónicas por  $\sigma_p$  para los sustituyentes en 5 y 7 y  $\sigma_m$  para los sustituyentes en 6.

Los resultados obtenidos mostraron que en los derivados 5 sustituidos, la potencia parece ser gobernada primariamente por el tamaño de los sustituyentes. Los análogos que contienen sustituyentes pequeños en posición 5 fueron más potentes que DACA a pesar de que estos sustituyentes tenían propiedades electrónicas diferentes, con valores de  $\sigma_p$  de -0.28 (OMe) a +0.46 (CF<sub>3</sub>). De igual manera, compuestos que contenían sustituyentes voluminosos fueron menos potentes que DACA, a pesar de que los valores de  $\sigma_p$  de tales sustituyentes caían de -0.83 (NMe<sub>2</sub>) a 0.03 (Ph). Se realizó el estudio QSAR usando  $\sigma$ ,  $\Pi$  y MR, y una ecuación de un solo parámetro confirmó las observaciones anteriores. El parámetro estérico MR fue el que correlacionó mejor con la citotoxicidad en células JL<sub>C</sub>, aunque DACA no se ajustó bien, por lo que fue excluido de la ecuación. Lo anterior puede deberse a que los compuestos 5-sustituidos pudieran tener un modo de citotoxicidad diferente a DACA.

$$\text{Log (IC}_{50}\text{)}_{\text{JL}_C} = 0.90 (\pm 0.50)\text{MR} + 1.40(\pm 0.66)$$

$$N = 10 \quad r = 0.76 \quad F = 11$$

La alta colinearidad de la lipofilia ( $\Pi$ ) y del tamaño (MR) de los sustituyentes imposibilitan a estas variables el ser usadas juntas en ecuaciones multi-variables, pero la regresión lineal múltiple con MR y  $\sigma$  dio una mejor ecuación:

$$\text{Log (IC}_{50}\text{)}_{\text{JL}_C} = 0.90 (\pm 0.50)\text{MR} - 0.98 (\pm 0.90)\sigma + 1.54(\pm 0.54)$$

$$N = 10 \quad r = 0.85 \quad F = 9.5$$

La refractividad molar fue la variable más significativa, pero la ecuación sugiere un efecto electrónico pequeño, con un electroatractor incrementando la citotoxicidad.

Todos los compuestos 5-sustituidos no variaron en gran medida en comparación a la amsacrina, clásico inhibidor de Topoisomerasa II, debido a los niveles menores de la enzima en las líneas JL<sub>A</sub> y JL<sub>D</sub>, pero algunos contienen relaciones JL<sub>A</sub>/JL<sub>C</sub> y JL<sub>D</sub>/JL<sub>C</sub> de 4-6 veces, sugiriendo una actividad primaria de topoisomerasa II, en contraste con el modo de acción mixto de topoisomerasa I / II de DACA.

Los derivados 6-sustituidos, en general, tuvieron una potencia similar a DACA. Los derivados 7-sustituidos mostraron un patrón similar a los derivados 5-sustituidos, con una clara correlación entre la citotoxicidad y el tamaño del sustituyente. En este caso el compuesto patrón pudo ser incluido en la parametrización, obteniendo la siguiente ecuación:

$$\text{Log (IC}_{50}\text{)}_{\text{JL}_C} = 0.59 (\pm 0.18)\text{MR} + 2.62(\pm 0.19)$$

$$N = 11 \quad r = 0.91 \quad F = 42$$

En este caso, la regresión múltiple lineal con MR y  $\sigma$  no dio una mejor ecuación.

El compuesto 7-fenilo fué considerablemente más citotóxico de lo esperado. Estudios en líneas celulares mutadas mostraron que este compuesto es el único derivado 7-sustituido con cocientes sustanciales de  $J_{LA} / J_{LC}$  y  $J_{LD} / J_{LC}$  (3-6 veces, similar a los obtenidos con los 5-derivados y consistente con el mecanismo de citotoxicidad primario de Topoisomerasa II).

Todos estos estudios mostraron una nueva dirección hacia los agentes intercaladores para obtener una mayor selectividad en los mecanismos de acción.

## II.VIII ACRIDINAS COMO AGENTES ALQUILANTES.

Se buscaron nuevos derivados de las acridinas que contuvieran especies más reactivas y con una mayor "selectividad".

Ya se sabía que el objetivo deseado era el DNA, y los derivados de las 9-amino o 9-anilino acridina son capaces de alcanzar este objetivo.

Por otro lado, de los agentes anticancerígenos más agresivos que se conocían, se encontraban los agentes alquilantes. Sin embargo, este tipo de compuestos presentan muchas desventajas: Debido a su alta reactividad pueden alquilar al DNA, pero en realidad no tienen afinidad por él. Como consecuencia, es muy fácil que estos compuestos sean hidrolizados, o que interactúen con otras macromoléculas celulares antes de alcanzar al DNA. Es por estas razones que se había pensado que los agentes alquilantes estuvieran unidos a un "acarreador".

Esta idea se llevó a cabo con una variedad de acarreadores, incluyendo azúcares, proteínas y esteroides. Creech y colaboradores han estudiado series de mono y dialquilantes unidos a varios cromóforos heterocíclicos, particularmente acridinas.<sup>(71)</sup> Este tipo de compuestos mostraron ser más potentes que los correspondientes alquilantes *in vivo*,<sup>(72)</sup> sugiriendo que esta actividad es debido a la alta afinidad del cromóforo por el DNA, y los cambios en el cromóforo podrían incrementar la unión al DNA, incrementando a su vez la potencia.

Por lo anterior, Gourdie G.A. y colaboradores<sup>(73)</sup> sintetizaron y probaron las 9-aminoacridinas sustituidas con las mostazas de las 4-anilina (figura 44).

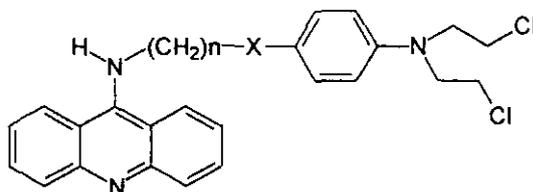


Figura 44. Mostazas de las acridinas

Los resultados de la cinética de la hidrólisis mostraron que en general, la sustitución por el cromóforo de acridina no tiene ningún efecto en la velocidad de hidrólisis de la mostaza, la cual mostró ser dependiente solamente de los efectos de los sustituyentes.

Otro tipo de acarreador que se sintetizó fue el derivado de acridina-dicloro-etilendiamina-platino II (figura 45), como parte de un estudio de interacciones cooperativas de diferentes ligandos que se unen al DNA<sup>(74)</sup>.

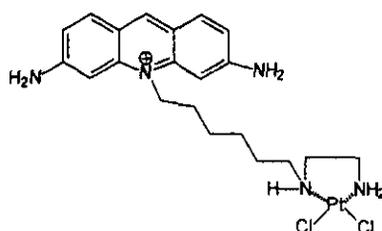


Figura 45. Derivado de acridina-dicloro-etilen-diamino-platino II.

La síntesis de un complejo de 9-aminoacridina-Pt(II) (figura 46), con el metal unido directamente al grupo amino exocíclico de la acridina, también fue reportado.<sup>(75)</sup>

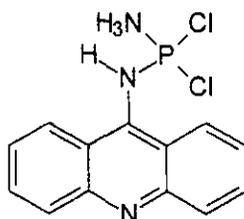


Figura 46. 9-aminoacridina-PtII

Palmer, B.D. y colaboradores<sup>(76)</sup> reportaron la síntesis y la evaluación preliminar de los complejos de 9-anilino acridina-cis-diamino-dicloro-platino (II) (figura 47).

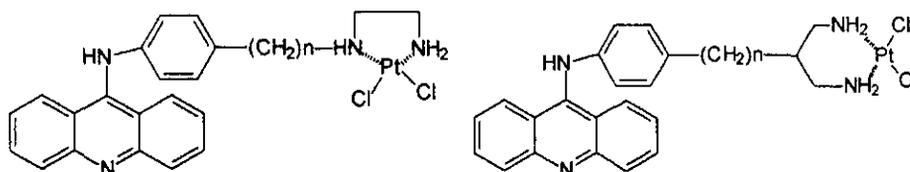


Figura 47

En comparación con las mostazas de acridina, estos complejos de Platino mostraron tener escasa citotoxicidad intrínseca, y ninguno mostró actividad *in vivo*. Los complejos fueron muy insolubles, lo cual puede ser un factor para su inactividad, aunque el derivado carboxamida, más

soluble (figura 48), mostró una actividad significativa (aunque baja) en la actividad antileucemica *in vivo*.

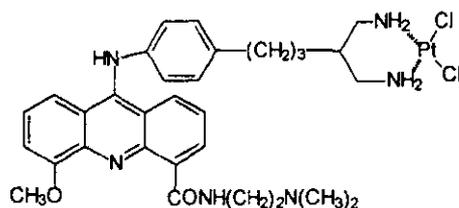


Figura 48

Debido a estos resultados no fue posible determinar el papel del acarreador de 9-anilinoacridina, por lo que fue necesario estudiar una nueva serie de compuestos de platino unidos a acridin-carboxamida más solubles.

Los complejos de acridincarboxamida sintetizados y evaluados por Lee, H.H. y colaboradores<sup>(77)</sup> mostraron poco incremento en la citotoxicidad *in vitro* y en la actividad *in vivo* en células P-388. Sin embargo, el complejo de 9-amino-acridin-4-carboxamida (figura 49) mostró una actividad *in vivo* significativa contra la línea celular resistente al cis-platino.

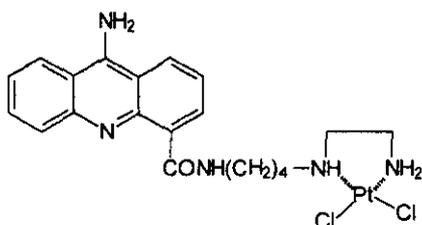


Figura 49

## II.IX DERIVADOS DE ACRIDINAS.

El estudio de las 9-aminoacridinas requería de técnicas que permitieran obtener derivados novedosos, con mayor selectividad hacia el DNA, y que contuvieran las características electrónicas, estéricas y lipofílicas que se habían reportado.

Sebolt y colaboradores obtuvieron la 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazolo [3,4,5-kl]acridina-2(6H)propanoamina (figura 50), el cual era un compuesto con una toxicidad selectiva hacia células de HCT-8 de adenocarcinoma de colón humano comparado con células de leucemia L1210.<sup>(64)</sup> En este estudio, los ensayos en cultivo de tejido demostraron que 29 de 46 derivados evaluados<sup>(64)</sup> fueron más activos en la línea celular de HCT-8.

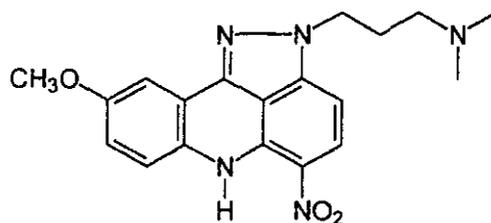


Figura 50. 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazolo [3,4,5-k]acridina-2(6H)propanoamina

Durante el mismo periodo, Wozniak<sup>(65,65a)</sup> observó que el 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitropirazolo [3,4,5-k] acridina-2(6H)propanoamina exhibió una citotoxicidad selectiva para células tumorales de páncreas y colon en comparación con células leucémicas. *In vivo* este agente fue curativo en adenocarcinoma 38 de colon y adenocarcinoma 03 ductal pancreático, un hallazgo consistente con el estudio de Sebolt. Basados en todos estos hallazgos, este compuesto fue seleccionado para su investigación clínica de Fase I.

Las pirazoloacridinas, como se esperaba, se intercalan en el DNA,<sup>(65a)</sup> lo anterior se basa en la medición del desplazamiento del etidinio del DNA. Como la amsacrina, las pirazoloacridinas provocan que las bandas sencillas y dobles del DNA se rompan. La frecuencia de la ruptura de las bandas simple y doble correlacionaron con la citotoxicidad en células L1210.

Se ha sugerido que las pirazoloacridinas podrían tener dos mecanismos de acción no relacionados: su actividad *in vitro* en leucemia L1210, la cual incidentalmente corresponde con los resultados de los estudios *in vivo* en leucemia P388<sup>(66)</sup>, se encuentra relacionada a la ruptura del DNA asociada a proteínas y que puede ser mediada por la DNA Topoisomerasa II. En cambio, otros miembros de estas series que no mostraron alta potencia en su citotoxicidad en L1210 son activos contra tumores sólidos, pero a altas concentraciones. Una evidencia adicional para los dos mecanismos de acción derivan de estudios de inhibición de RNA y DNA sintetasas.<sup>(64)</sup>

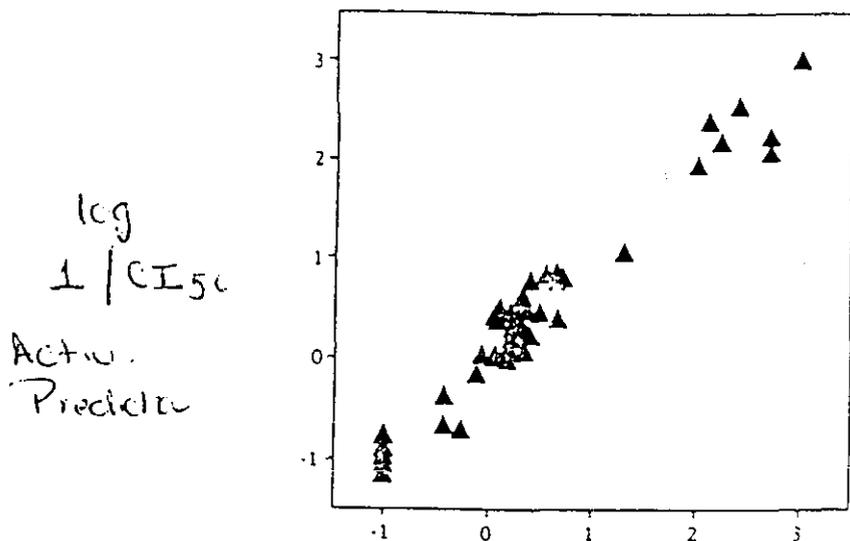
Estas diferencias en la actividad biológica dieron una excelente oportunidad para determinar si las propiedades electrostáticas o estéricas de las pirazoloacridinas, con otros parámetros adicionales como el log P podrían relacionarse a estas diferencias en la actividad.

Horwitz y colaboradores<sup>(67)</sup> utilizaron el método de CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis), desarrollado por Cramer y colaboradores,<sup>(67a)</sup> para determinar que parámetros podrían estar correlacionados en la actividad de las pirazoloacridinas.

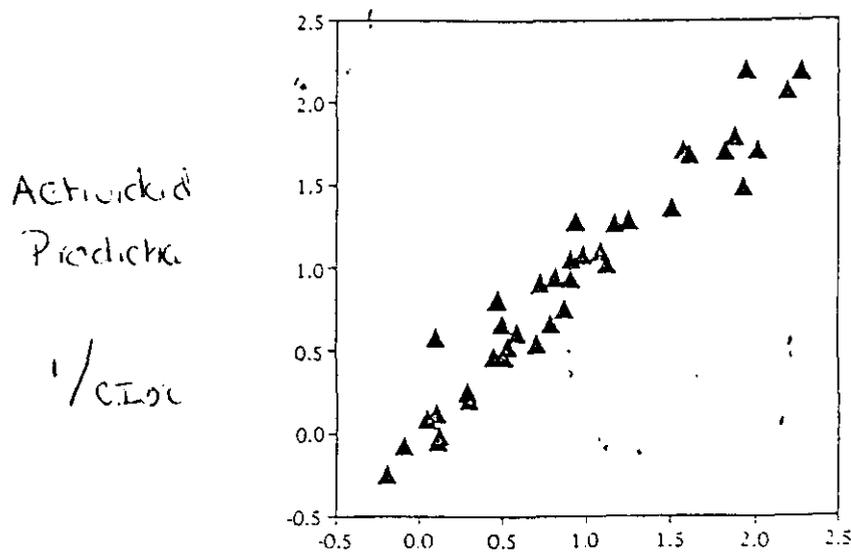
La alineación molecular es el paso determinante en el estudio CoMFA.<sup>(67)</sup> Además, un valor bajo de validación cruzada ( $r_2$ ) puede indicar un compuesto no alineado de forma adecuada. Los autores validaron los datos del CoMFA por un ajuste de RMS (root mean square) usando una estrategia alternativa de alineación. Este método denominado SEAL (steric and electrostatic alignment) optimiza la alineación de estructuras tridimensionales usando sus cargas atómicas parciales y volumen estéricos como factores. La clave principal para el uso del SEAL fue que, a diferencia del ajuste RMS, ninguna preasignación de alineación átomo-átomo es especificada por

el usuario; el método es automático y exhaustivo, incluyendo la posibilidad de alineaciones que no sean muy evidentes.

El poder predictivo de los modelos derivados de CoMFA para esta serie de compuestos fue observado en las gráficas de inhibición (figura 51) de los valores actuales y predichos en L1210 y HCT-8.



Actividad observada log 1/CI<sub>50</sub>  
para pirrolizidinas en L1210

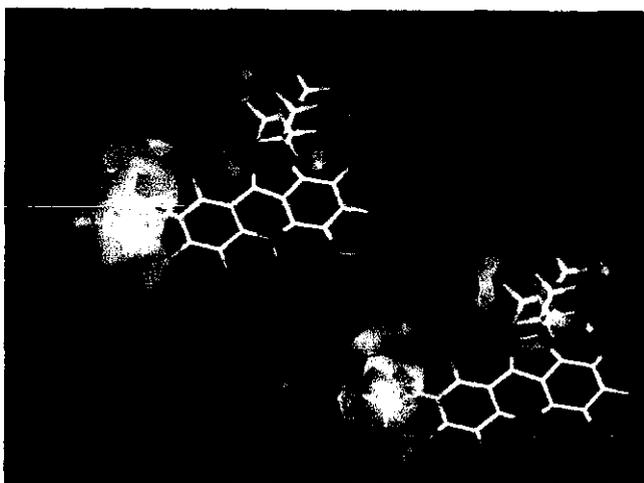


relación HCT-8

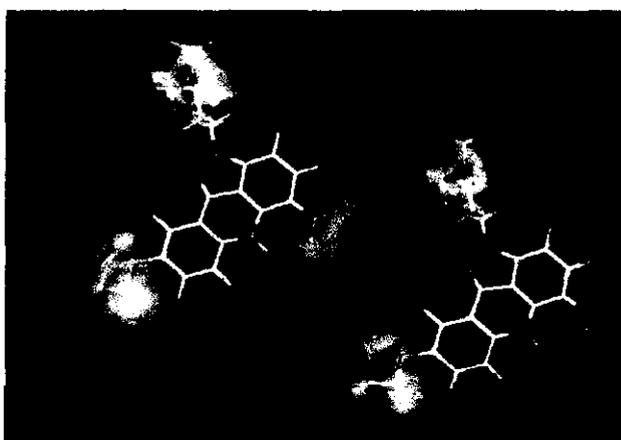
Actividad observada 1/CI<sub>50</sub>  
Figura 51. Gráficas de valores predichos contra actuales

Las potencia de las pirazoloacridinas en las dos líneas celulares son extraordinariamente predecibles por los modelos, los cuales en ausencia de evidencia experimental, fueron basados en una alineación hipotética.

Por otro lado, ni el log P, ni el HOMO o LUMO (que reflejan la energía del estado de transición de la interacción donador-receptor) contribuyeron al modelo. Los campos electrostáticos y estéricos fueron relevantes en la correlación estructura-actividad (por validación cruzada y convencional) con los datos de las citotoxicidades en L1210 y HCT-8. Además, los mapas de superficie generados mostraron que las modificaciones en las pirazoloacridinas (disminución o incremento de las interacciones electrostáticas o estéricas (figura 52) disminuyen o favorecen la inhibición de células L1210 o HCT-8.



Los contornos amarillos indican las regiones de la molécula donde el incremento en el volumen estérico podría incrementar la inhibición del desarrollo celular. Los contornos azules indican las regiones donde la disminución de las interacciones estéricas podrían mejorar el desarrollo de la inhibición celular.



Los contornos amarillos indican las regiones donde a interacción electrostática más negativa podría mejorar el desarrollo de la inhibición celular. Los contornos azules indican las regiones donde una interacción electrostática positiva podría incrementar la inhibición del desarrollo celular.

Figura 52. Grafica de CoMFA

Por otro lado, hipótesis acerca del diseño de compuestos que se unen al DNA, y que son capaces de "reconocer" secuencias heterogéneas del DNA, han incluido moléculas bifuncionales (combilexinas), las cuales contienen residuos que se intercalan en el surco menor. En esta estrategia, el acoplamiento de este residuo con un cromóforo intercalante afín al DNA, provee una base para modular la secuencia selectiva de la unión.

McConnaughie A.W. y colaboradores<sup>(70)</sup> reportaron la síntesis de una serie de híbridos de acridín-combilexinas, donde el cromóforo fue combinado con un residuo distal de 1,3-diariltriazeno para proveer una interacción secundaria con el surco menor en el DNA (figura 53). El residuo del diariltriazeno es sustituido al cromóforo planar de acridina a través de un grupo tiazoloetanol. Esta unión fue seleccionada usando modelaje molecular y estudios de mecánica cuántica; el anillo de 5 miembros permite la fácil rotación a través del enlace 9 del anillo de acridina sin impedimento estérico causado por el átomo de H con los protones 1/8 de la acridina. Por lo tanto, los ángulos de torsión interplanares de aproximadamente 20-30° pueden ser alcanzados debido a la baja barrera energética, en contraste con los sistemas aromáticos de 6 miembros donde el arreglo ortogonal es favorecido.<sup>(70)</sup>

La flexibilidad de esta unión es esencial para que los sustituyentes interactúen con el surco; las paredes del surco se encuentran orientadas a aproximadamente 40° relativo al plano de intercalación en el DNA.<sup>(70)</sup>

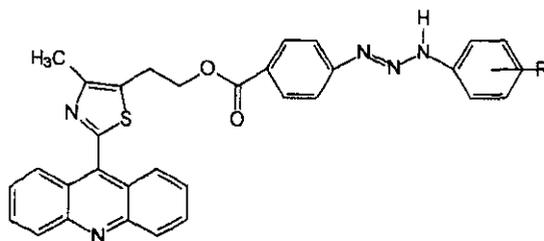


Figura 53

Los estudios basados en la fluorescencia confirmaron que estas combilexinas tienen una fuerte afinidad de unión al DNA. La actividad *in vitro* mostró una buena citotoxicidad en 2 líneas celulares.

En 1997 emergió un nuevo concepto para la síntesis de nuevos derivados de acridinas y quinolinas. Entre estos derivados la síntesis y evaluación de las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas (figura 54) rara vez han sido reportadas en la literatura; estos compuestos han sido descritos como antiespasmódicos potenciales, precursores de cianinas simétricas y antiinflamatorios.

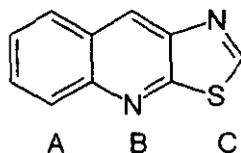


Figura 54. tiazolo [5,4-*b*] quinolina

Alvarez -Ibarra C. y colaboradores, en 1997 reportaron la síntesis de tiazolo[5,4-*b*]quinolina desconocidas (figura 55) y su estudio *in vitro* de estos derivados como agentes antitumorales potenciales<sup>(78)</sup>.

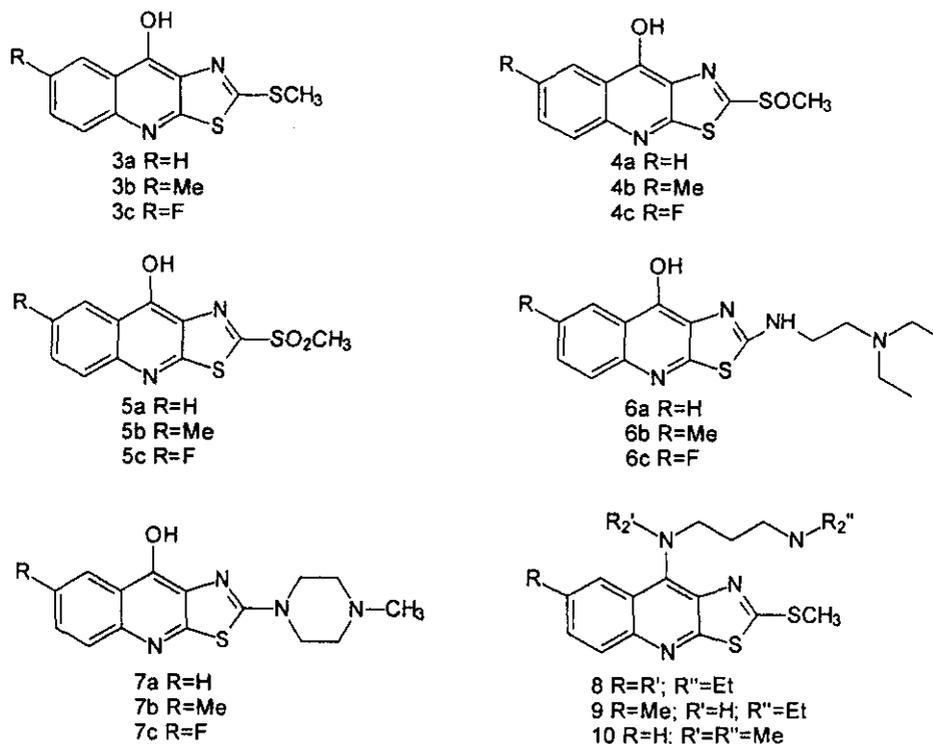


Figura 55. Derivados de las tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Estos derivados están relacionados estructuralmente a las quinolinas y acridinas por sustitución isostérica del residuo bencénico por un anillo de tiazol.

Los resultados biológicos obtenidos en neoplasma linfoide de ratón (P-388), carcinoma humano de pulmón (A-549) y tumor humano de colon (HT-29) *in vitro* para esta serie de compuestos, proveyeron información acerca de la relación estructura - actividad:

a).- El derivado 2-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]-7-fluoro-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina mostró los niveles más altos de citotoxicidad en las líneas celulares de P-388 y A-549.

b).- Un átomo de flúor en la posición 7 o un grupo [(*N,N*-dietilamino)etil]amino en la posición 2, mostraron ser importantes para la inducción de una actividad antitumoral significativa. El cambio del Fluor en C-7 por un grupo metilo o hidrógeno mostró ser muy importante para la actividad antitumoral en las 3 líneas celulares (ver tabla 3). Los compuestos con ausencia de la cadena -NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N- en C<sub>2</sub> no fueron efectivos contra los 3 tipos de líneas celulares, o fueron menos activos.

c).- La diferencia entre los grupos [(*N,N*-dietilamino)etil]amino y 1-(4-metilpiperazinil) en la posición 2 mostró ser crítica para la actividad antitumoral ( $CI_{50}$ ).

d).- El cambio del grupo [(*N,N*-dialquilamino)alquil]amino de la posición 2 a la posición 9 resultó en un ligero decremento de los valores de  $CI_{50}$ .

Las características estructurales de estos derivados, como la densidad de la carga inducida por el sustituyente en C-7, el valor del  $pK_a$  y la flexibilidad conformacional de la cadena lateral básica en la posición 2, mostraron ser esenciales para la actividad antitumoral *in vitro* (tabla 3).

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas y datos biológicos para los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas

Compuesto	Q c-7 <sup>a</sup>	pKa	$CI_{50}(\mu M)$ <i>in vitro</i>	
			P-388(±SE)	A-549(±SE)
3 a	-0.076	5.9	>70.2	>70.2
3b	-0.116	4.6	>66.9	>66.9
3c	0.131	5.7	>66.1	>66.1
5 a	-0.056	5.2	32.4 (0.9)	32.4 (0.9)
5b	-0.113	4.0	>60.4	>60.4
5c	0.134	5.5	6.0 (0.8)	6.0 (0.8)
6 a	-0.076	9.3	5.76 (0.07)	7.22 (0.02)
6b	-0.115	8.4	3.3 (0.3)	5.6 (0.2)
6c	0.132	8.3	1.65 (0.05)	2.9 (0.3)
7 a	-0.143	8.6	18.8 (0.3)	18.8 (0.3)
7b	-0.080	10.0	16.9 (0.6)	29.6 (1.0)
7c	0.079	8.0	>56.4	>56.4
8	-0.065	7.5	6.0 (0.7)	6.0 (0.7)
9	-0.110	7.9	5.4 (0.5)	5.4 (0.5)
10	-0.069	6.5	12.1(0.9)	12.1 (0.9)

a) Densidad de carga en C-7 calculado por MNDO

Como se observa en los resultados de la tabla 3, la densidad de carga en el carbono de la posición 7 debe ser positiva. La sustitución con el átomo de flúor mostró un decremento significativo de la densidad de carga sobre este carbono. Los resultados sugieren que un grupo electroatractor en la posición 7 podría ser significativo para la actividad.

La sustitución de la cadena flexible lateral [(*N,N* dietilamino)etil]amino en la posición 2 por un grupo 1-(4 metilpiperazinil) mostró ser crítico para la actividad antitumoral. El  $pK_a$  de la cadena lateral tuvo una influencia significativa sobre la citotoxicidad de los derivados tiazolo[5,4-*b*]quinolinas: un valor de  $pK_a$  menor a 7.5, el cual está asociado con la presencia de la cadena lateral

con 2 nitrógenos de amina básicos, podrían estar relacionados con el decremento significativo de la actividad.

Se pueden hacer algunas comparaciones interesantes para las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas con los datos publicados previamente para las acridinas y derivados de quinolinas. Las actividades citotóxicas de una nueva clase de alcaloides de acridinas las cuales poseen un núcleo de tiazolo [5,4-*b*] acridina (figura 56) fueron reportadas.<sup>(79,80)</sup>

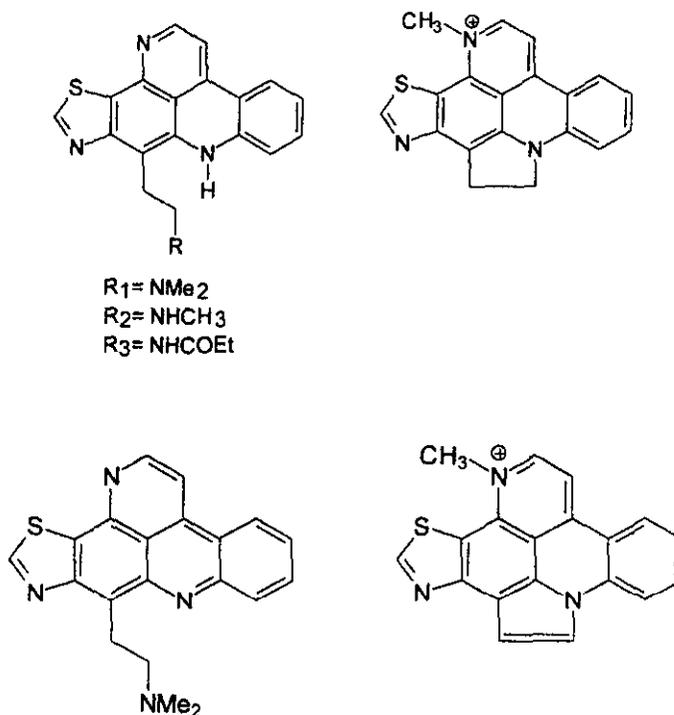


Figura 56. Derivados naturales de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas

Se encontró que las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas desplegaron una actividad antitumoral comparable a este tipo de compuestos

A partir de las características de estos nuevos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas, y considerando las características estructurales y electrónicas de las 9-anilinoacridinas, en este trabajo se presenta la hipótesis para el diseño de los compuestos "híbridos" de 9-anilinoacridinas y tiazolo[5,4-*b*]quinolinas, como potenciales intercaladores del DNA.

### **III. OBJETIVOS**

### III. OBJETIVOS

Con el propósito de contar con nuevas moléculas con potencial actividad intercaladora en el DNA, se realizó el presente trabajo de tesis, cuyos objetivos son los siguientes:

1. Estudios, cálculos teóricos y modelado molecular de moléculas conocidas (acridinas y derivados de acridinas) que son biológicamente activas, y que se conoce que se intercalan en el DNA.
2. Estudios, cálculos teóricos y modelado molecular de moléculas intercaladoras del DNA que son biológicamente inactivas.
3. En base a los resultados obtenidos de los estudios anteriores, se diseñaron nuevas estructuras con las características que se cree, son necesarias para la actividad.
4. Síntesis de las estructuras propuestas.
5. Elucidación estructural de los compuestos obtenidos.
6. Establecimiento de un patrón que permita obtener intercaladores potenciales.

Los objetivos particulares de esta tesis son:

1. Estudio teórico de las características electrónicas y conformacionales de las moléculas intercaladoras derivadas de acridinas, biológicamente activas e inactivas.
2. Obtención de las conformaciones estables para cada molécula patrón.
3. Obtención de las cargas electrostáticas.
4. Diseño de moléculas novedosas de acuerdo a las características conformacionales y electrónicas obtenidas del análisis de las moléculas patrón.
5. Síntesis de los derivados propuestos.
6. Caracterización de los derivados obtenidos.
7. Obtener el patrón electrostático de los intercaladores del DNA.
8. Obtener un patrón conformacional de intercaladores del DNA.

## **IV. PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS**

## IV. PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS

### IV.1 Análisis Molecular

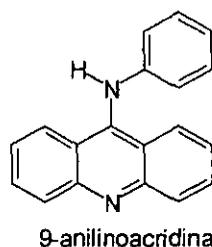
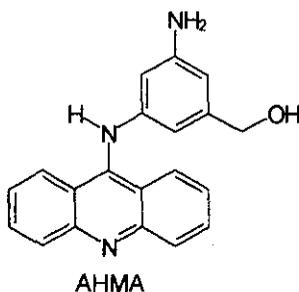
Considerando que el potencial molecular electrostático (PME) es muy útil en la racionalización de las interacciones entre moléculas y los procesos de reconocimiento, decidimos utilizarlo como una medida cualitativa de las posibles interacciones entre las moléculas y sus sitios de acción. Lo anterior se basa en que las fuerzas electrostáticas son responsables de las interacciones de "largo alcance" entre las moléculas.

Debido a que el PME varía a través del espacio, este puede ser calculado y visualizado de la misma forma que la densidad electrónica. Los contornos de potencial electrostático se pueden emplear para proponer el posible lugar de una interacción con un electrófilo o un centro electrofílico; por lo general los centros electrofílicos son atraídos a regiones donde el potencial electrostático es más negativo.

Las interacciones no covalentes entre las moléculas a menudo ocurren a una distancia donde los radios de van der Waals de los átomos apenas se tocan, por lo cual, resulta útil examinar el PME en esta región. Por esta razón, el potencial molecular electrostático se calcula en la superficie molecular o la superficie de isodensidad; tales representaciones pueden ser usadas para asignar cualitativamente el grado de similitud electrostática entre dos moléculas.

Considerando lo anterior, se decidió calcular el PME de las siguientes moléculas patrón:

1. AHMA : alta actividad contra leucemia; intercalador del DNA.
2. 9-anilinoacridina: biológicamente inactivo; gran capacidad como intercalador.
3. 9-Hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina; compuesto de baja actividad biológica.
4. 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-b]quinolina; compuesto de gran actividad antileucémica.



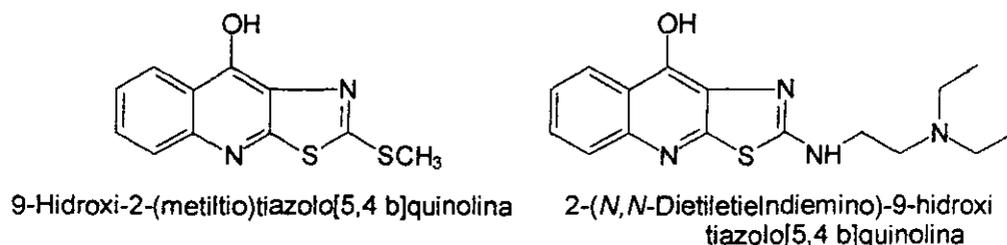


Figura 57. Moléculas patrón

#### IV.II Análisis conformacional de las moléculas patrón.

En primer lugar, se realizó un análisis conformacional de los sustituyentes en la posiciones 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino) y 9-anilino, con el fin de obtener el conformero de menor energía, ya que la relación espacial de los átomos puede afectar en gran manera el potencial molecular electrostático.

Tabla 4. Ángulos dihedros de las moléculas patrón

Compuesto	Angulo dihedro (C8a-C9-N-C1')
AHMA	-114.49
9-anilinoacridina	-113.87
9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo [5,4- <i>b</i> ]quinolina	179.99
2-( <i>N,N</i> -dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinolina	46.1647

De los valores del ángulo dihedro de los compuestos AHMA y 9-anilinoacridina se desprende que existe una relación ortogonal del anillo de anilino con respecto al sistema tricíclico. Más adelante veremos que este patrón se mantiene en las moléculas proyectadas. Si se considera que el sistema tricíclico se encuentra sobre el plano del papel, entonces podemos decir que la orientación del fenilo del grupo anilino se encuentra hacia atrás del plano y el átomo de hidrógeno del anilino sobre el plano, permaneciendo en el plano el átomo de nitrógeno. En el caso del grupo *N,N*-Dietiletilendiamino, la amina secundaria permanece en el mismo plano del anillo aromático, mientras que el resto del residuo guarda una relación ortogonal con respecto al sistema tricíclico, además la cadena de  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  presenta una conformación alternada, guardando una relación antiperiplanar ambos grupos amino (Figura 58).

Por otra parte, el resultado del ángulo dihedro C8a-C9-N-C1' indica que el átomo de hidrógeno del grupo anilino se encuentra orientado hacia uno de los anillos de benceno del núcleo de acridina; esta disposición afecta las densidades de carga como veremos más adelante.

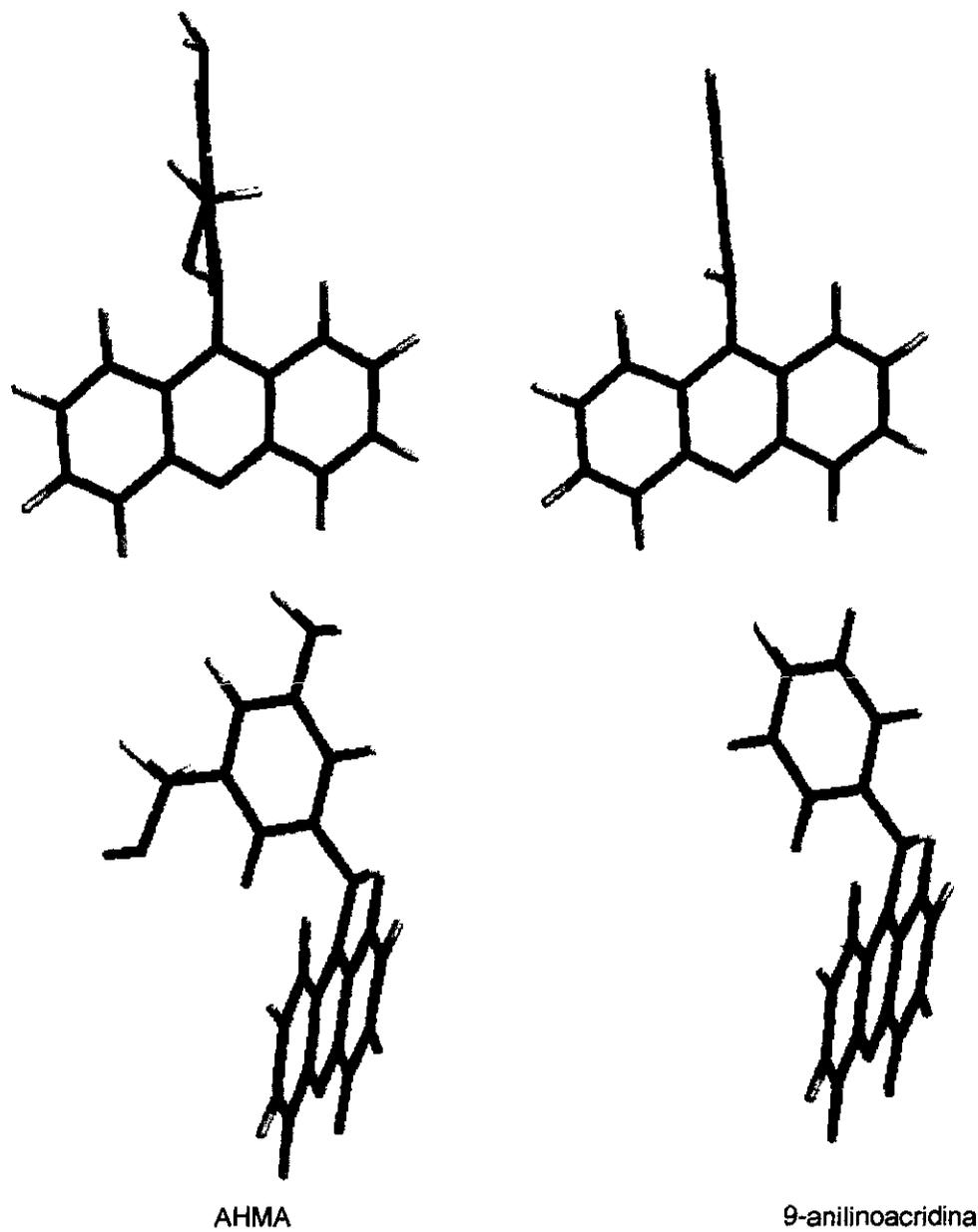


Figura 58. Conformación de las moléculas patrón

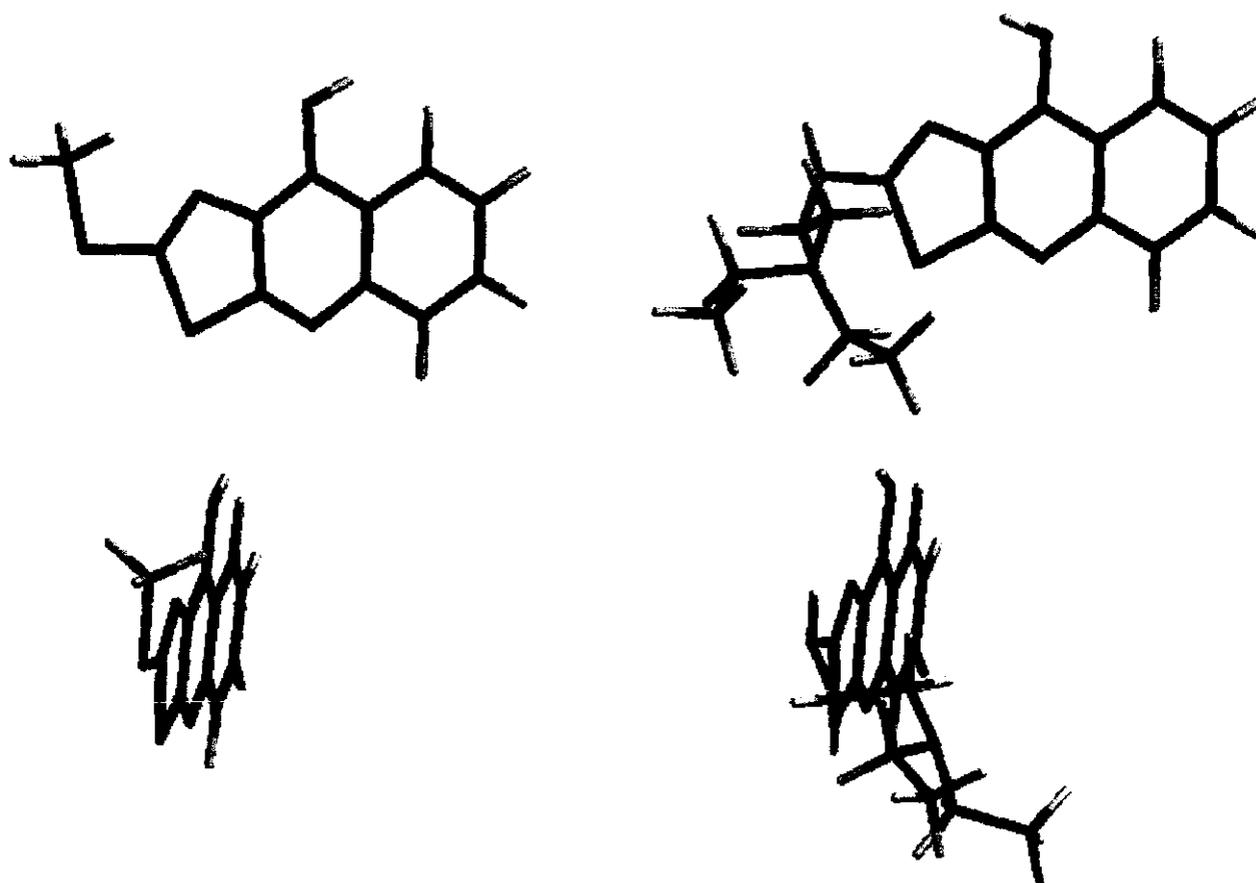
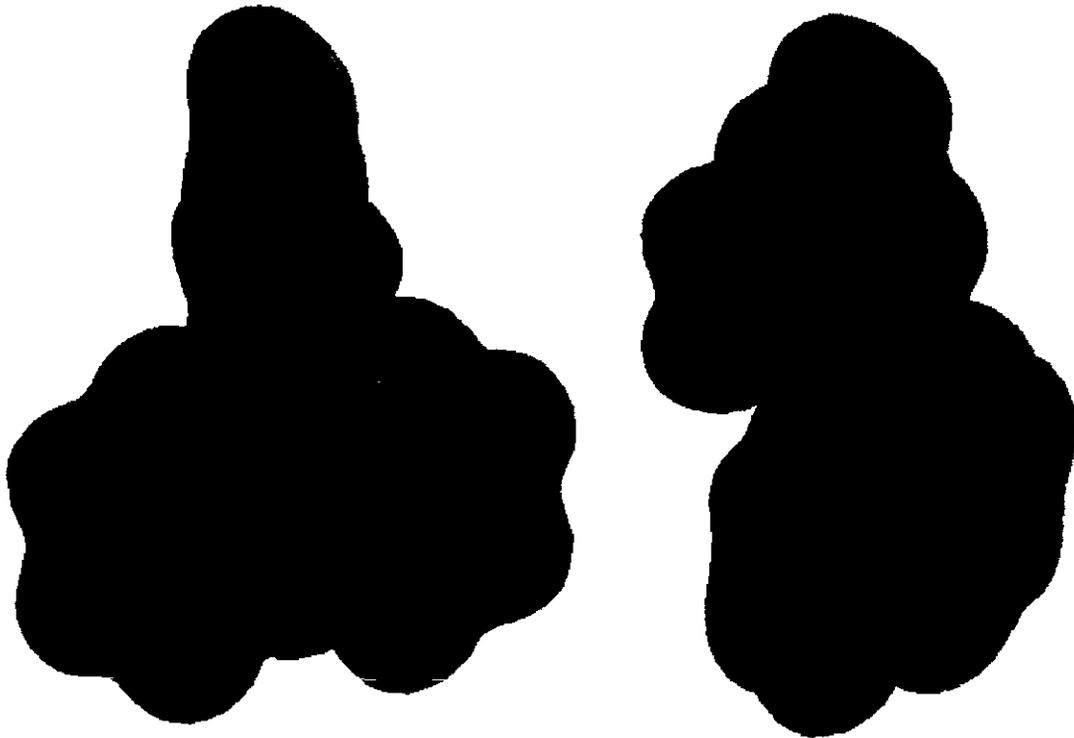


Figura 58. Conformación de las moléculas patrón (continuación).

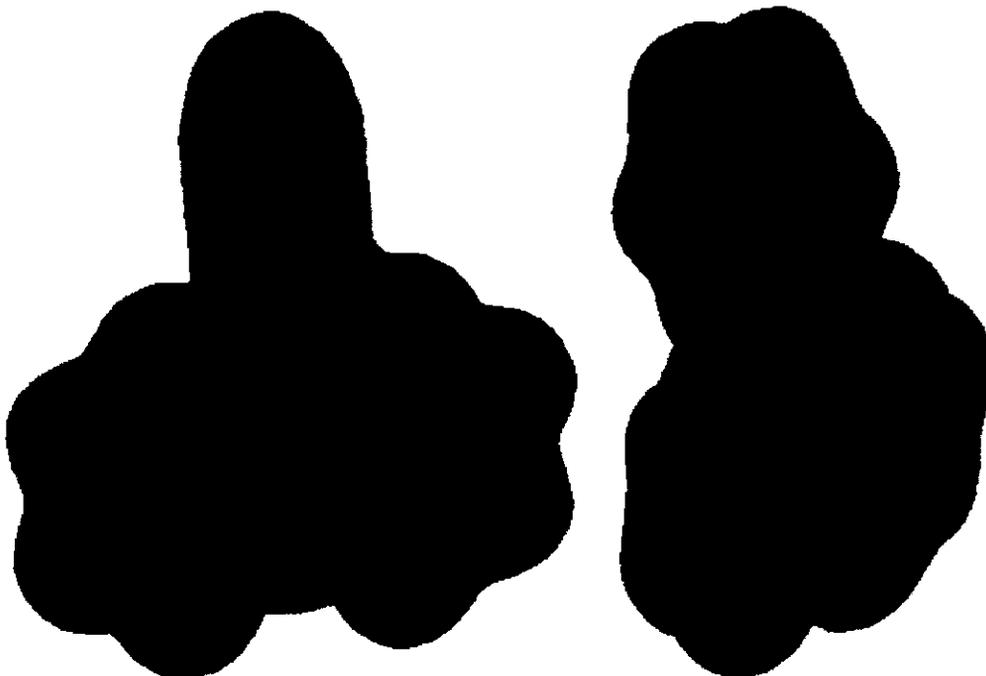
#### IV.III Análisis electrónicos de los derivados de acridinas.

En el gráfico del PME del AHMA, se observa un máximo potencial negativo sobre el átomo de nitrógeno (zona "caliente") del anillo tricíclico, además de otro potencial negativo sobre el átomo de nitrógeno del anillo de anilina y otras zonas que comprenden a los sustituyentes amino e hidroximetilo de la anilina.(Figura 59)



**Figura 59. Potencial molecular electrostático de AHMA.**

En el caso de la 9-anilinoacridina, esta molécula presenta un potencial negativo sobre el nitrógeno del núcleo de acridina, además de otro de menor intensidad sobre el átomo de nitrógeno del anilino. (Figura 60)



**Figura 60. Potencial molecular electrostático de la 9-anilinoacridina**

La diferencia entre los potenciales de ambas moléculas permite racionalizar el hecho de que la presencia de un centro electronegativo promueve una mayor actividad biológica, además de los grupos electrodonadores como ya se había mencionado anteriormente.

El gráfico de isopotencial de la 9-anilinoacridina muestra 2 máximos, uno localizado sobre el átomo de nitrógeno del sistema tricíclico (lóbulo A) y otro sobre el átomo de nitrógeno del grupo anilino (lóbulo B). Se observa que el lóbulo B está sobre una de las caras del anilino, lo que se atribuye al par de electrones no compartido del nitrógeno y que en consecuencia provoca una carga no simétrica en los átomos de carbono de las posiciones 1 y 8 del núcleo de acridina.

El gráfico de isopotencial para el AHMA también presenta el lóbulo A, así como el lóbulo B, pero este último tiene una leve conexión con otro potencial significativo localizado sobre el átomo de nitrógeno de la posición 3' y que se encuentra en la misma cara del anillo de anilina. Existe un cuarto potencial que está localizado sobre el grupo hidroximetilo. Entonces ambas moléculas presentan zonas similares de potencial negativo que son los lóbulos A y B. ( Figura 61)

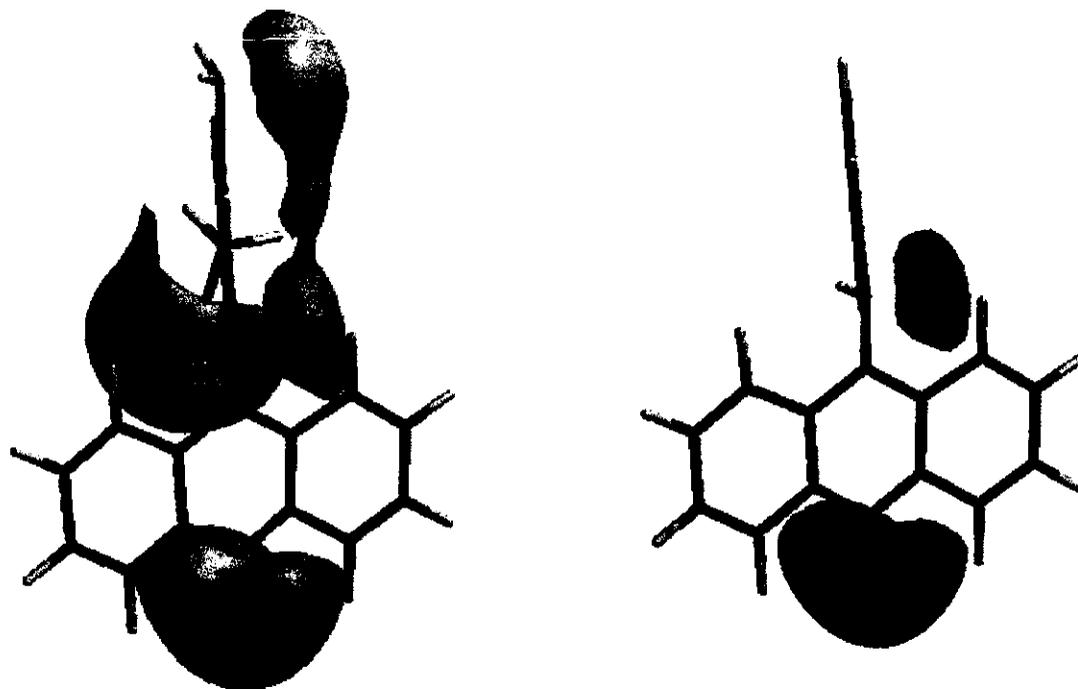


Figura 61. Gráfica de isopotencial de AHMA y 9-anilinoacridina

#### IV.IV Análisis electrónicos de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Con respecto al potencial molecular electrostático de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, en el caso del compuesto 9-hidroxi-2-(metilíio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina, se observaron dos potenciales negativos. El primero se localiza sobre el nitrógeno del anillo de quinolina, el segundo se encuentra localizado sobre el nitrógeno del anillo de tiazol (Figura 62).

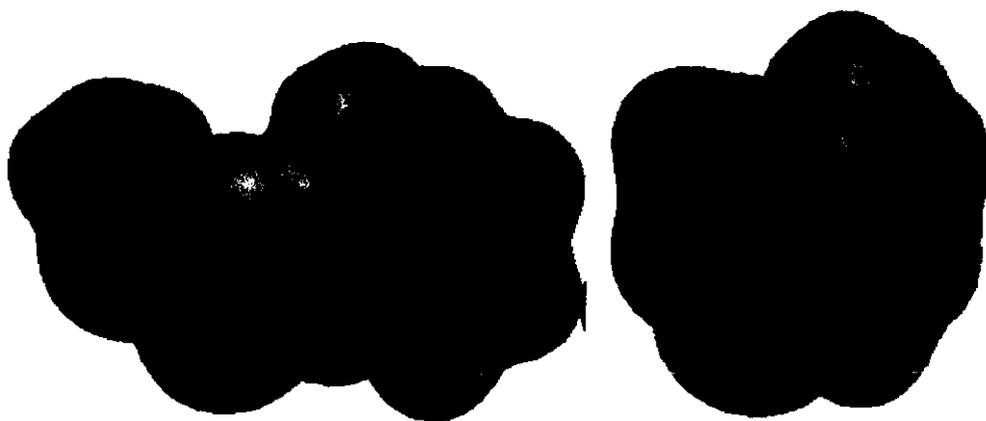


Figura 62. Potencial molecular electrostático del 9-hidroxi-2-(metilíio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Para el caso de la 2-(*N,N*-Dietilelilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina se observan dos zonas de potencial negativo, la primera se localiza sobre el átomo de nitrógeno del anillo de quinolina, el segundo se encuentra sobre el nitrógeno del amino terciario de la cadena lateral, aunque existe un potencial negativo sobre el nitrógeno del anillo de tiazol, su magnitud es menor que en las zonas señaladas anteriormente. (Figura 63).



Figura 63. Potencial molecular electrostático de la 2-(*N,N*-Dietilelilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Con respecto al gráfico de isotencial de la 9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina se observa un potencial sobre el átomo de nitrógeno de la quinolina (lóbulo A) y otro sobre el átomo de nitrógeno del anillo de tiazol (lóbulo C) (Figura 64).

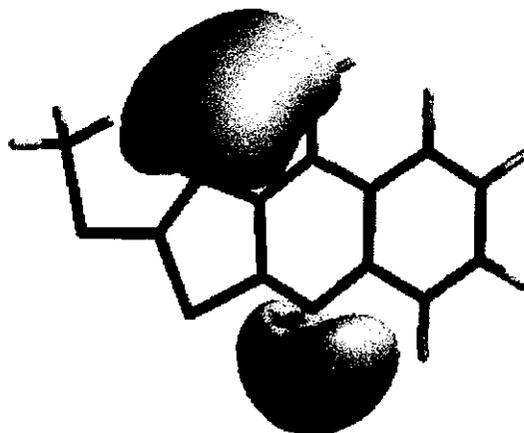


Figura 64. Isopotencial del 9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

En el gráfico de isotencial de la 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina se observa un potencial sobre el átomo de nitrógeno de la quinolina (lóbulo A) y otro sobre el átomo de nitrógeno del tiazol, además de los potenciales correspondientes a los átomos de nitrógeno de la cadena lateral (Figura 65).

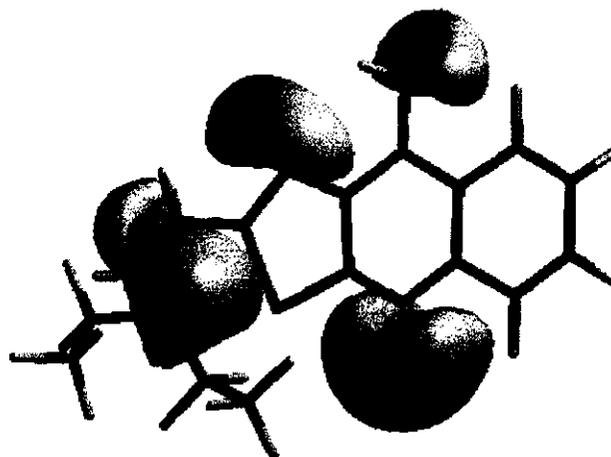


Figura 65. Isopotencial de la 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina.

#### IV.V Análisis electrónicos de las moléculas patrón.

Al comparar los isopotenciales de los derivados de 9-anilinoacridinas con los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, podemos afirmar que existe una similitud en los potenciales entre el átomo de carbono de la posición 8 (lóculo B) y el átomo de nitrógeno (lóculo C) del anillo de tiazol; en ambas zonas existe un potencial negativo, aunque de magnitud diferente (figura 66).

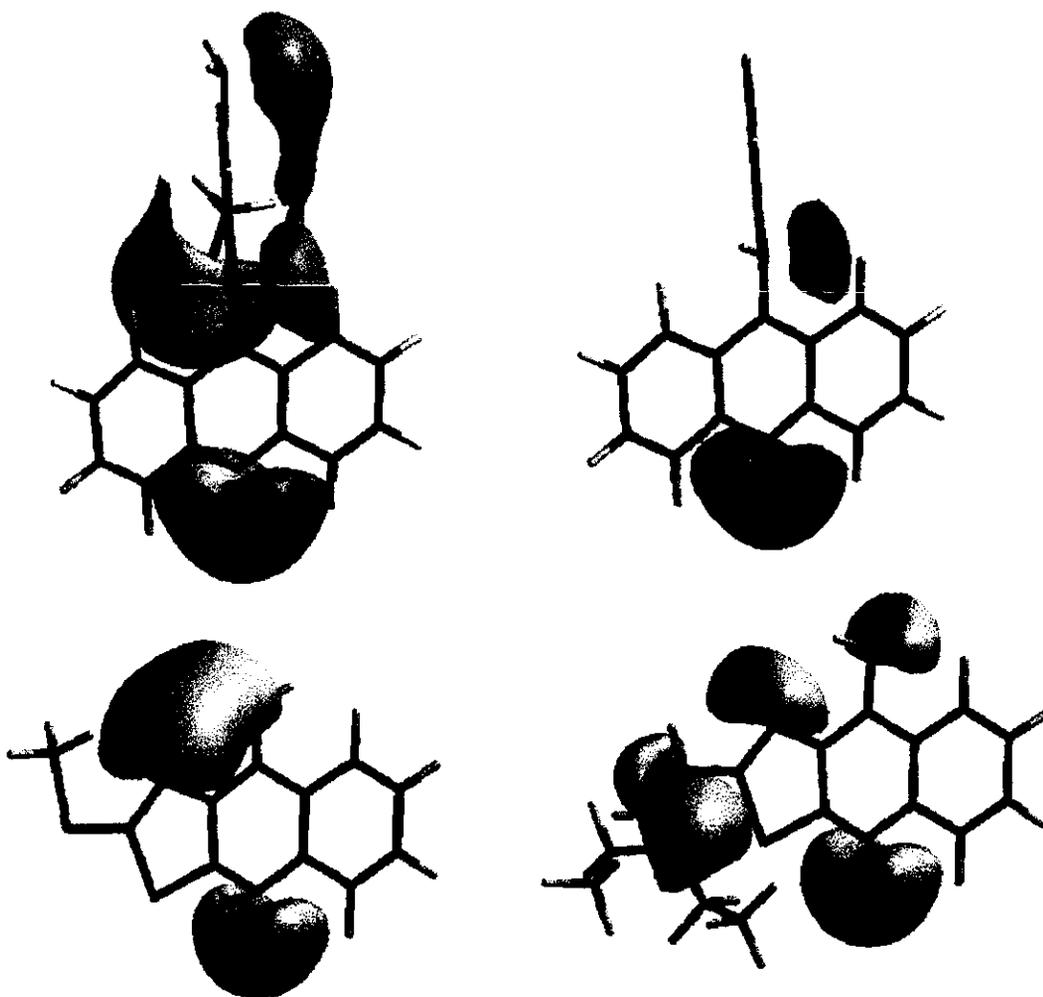


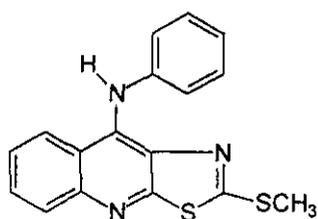
Figura 66. Gráficas de isopotencial para las moléculas patrón

La 9-anilinoacridina y la 9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina son biológicamente inactivas, pero comparten similitudes electrostáticas con los compuestos AHMA y 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina, los cuales son bioactivos, esto confirma, por una parte, que es necesaria la presencia de grupos electrodonadores en el anillo de anilina y por otra parte la presencia de una cadena lateral con grupos amino.

De los dos grupos analizados se puede concluir que para obtener una actividad biológica considerable, no solamente es necesaria la intercalación en el DNA debido a la existencia de un sistema planar, es necesaria una cadena lateral que, según los modelos de actividad biológica, pueda intercalarse en el surco menor, además de que dicha cadena posea un carácter negativo o sustituyentes fuertemente electrodonadores en el anillo de anilino.

En base a todo a lo analizado, y conjuntando los patrones bioactivos, se proyectó el diseño de las siguientes moléculas con el fin de explorar sus propiedades electrónicas y postular su potencialidad como intercalantes del DNA, y, por lo tanto, como potenciales anticancerígenos.

El patrón que se postula es el mantener un sistema tricíclico de tiazolo[5,4-*b*]quinolina con un grupo anilino en la posición 9, así como una cadena de *N,N*-Dietiletilendiamino en la posición 2, además de grupos electrodonadores en el anillo de anilina, y un grupo metiltio en la posición 2.



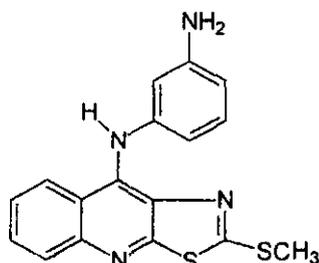
9-anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina

**Compuesto VI**



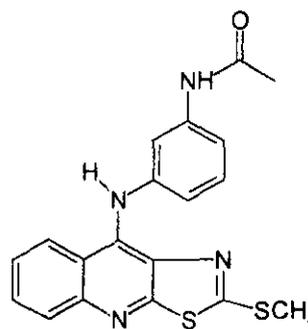
9-anilino-2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)tiazolo[5,4-*b*]quinolina

**Compuesto VIII**



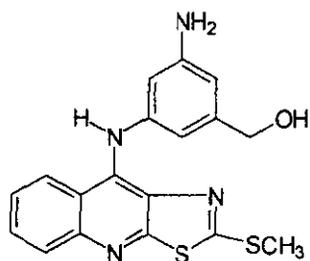
9-[(3-aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina

**Compuesto XI**



9-[[3-(acetamido)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina

**Compuesto XII**



9-[[[3-amino-5-(hidroximetil)]fenil]amino  
tiazolo[5,4-b]quinolina  
**Compuesto X**

**Figura 67 Compuestos propuestos**

## **V. ANALISIS DE RESULTADOS.**

## V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### V.I Modelado molecular.

#### V.I.I Análisis conformacional de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina

De la misma manera que a las moléculas patrón, se realizó el análisis conformacional de las moléculas propuestas, así como sus propiedades electrónicas.

En cuanto a la conformación, en todos los casos, el anillo anilino guarda una relación ortogonal (Figura 68) con respecto al sistema tricíclico, de manera similar a los derivados de acridina empleados como patrón de referencia .

Tabla 5. Angulos dihedros de los derivados propuestos

Compuesto	Angulo dihedro (C8a-C9-N-C1')
Compuesto VI	-123.13
Compuesto VIII	-120.56
Compuesto X	-124.96
Compuesto XI	-124.04
Compuesto XII	-123.87

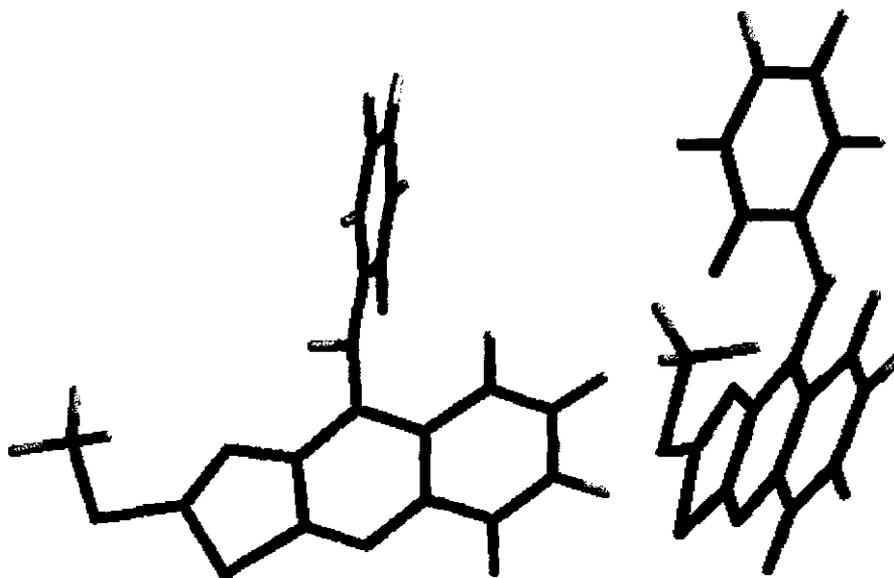
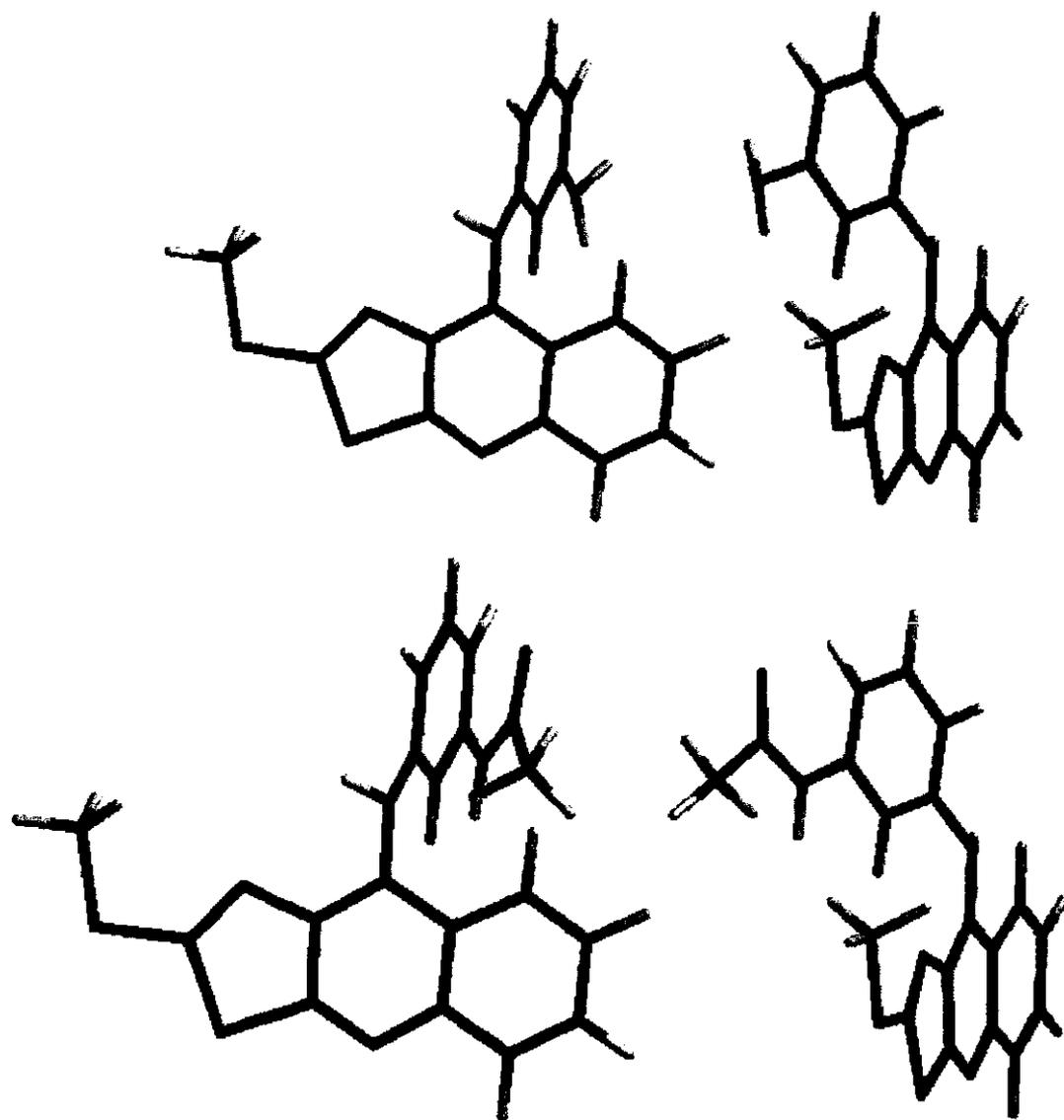


Figura 68. Conformación energéticamente favorables de los derivados propuestos.



**Figura 68. Conformación energéticamente favorable de los derivados propuestos (continuación).**

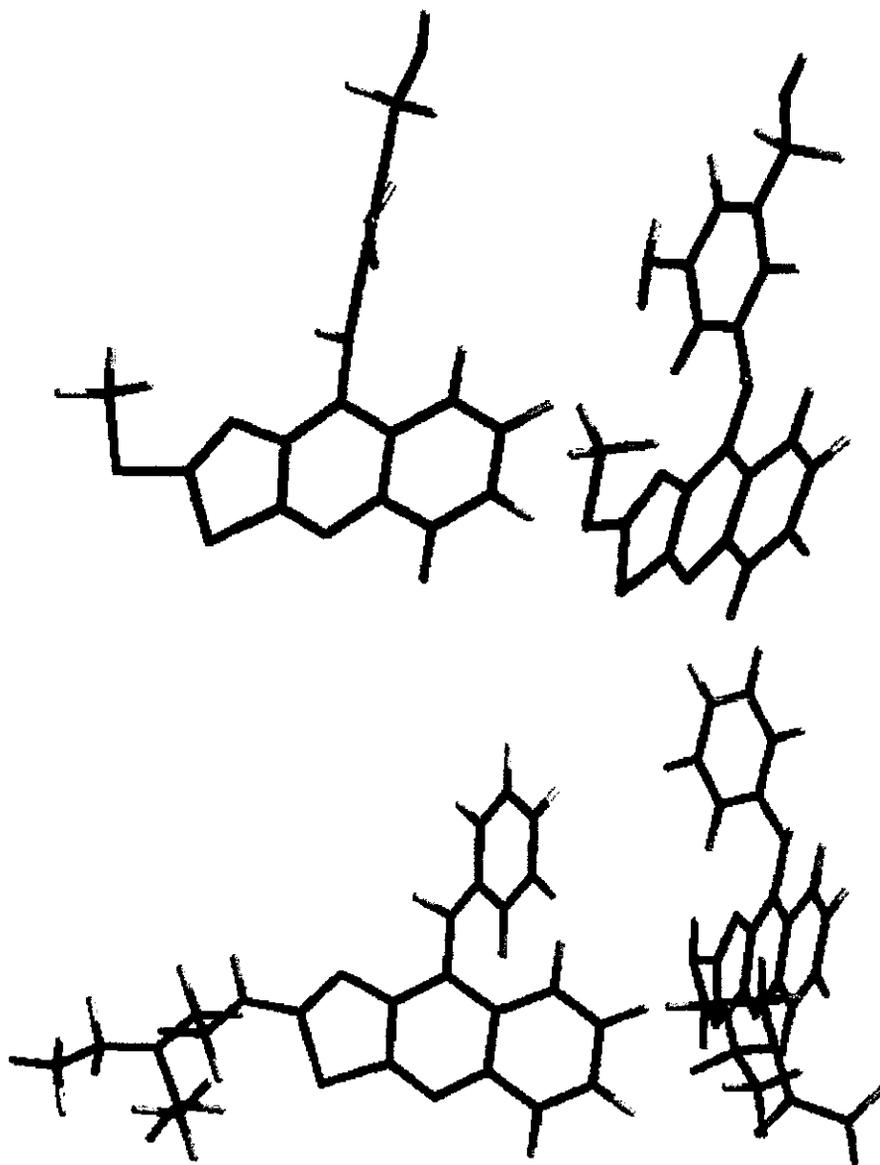


Figura 68. Conformación energéticamente favorable de los derivados propuestos (continuación).

### V.I.II Análisis electrónico del 9-anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto VI).

El análisis del PME del compuesto VI (Figura 69) es muy similar al presentado en el anillo de 9-anilinoacridina, con respecto a la parte aromática de anilino. En cuanto al sistema tricíclico, el potencial es similar al presentado en el 9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

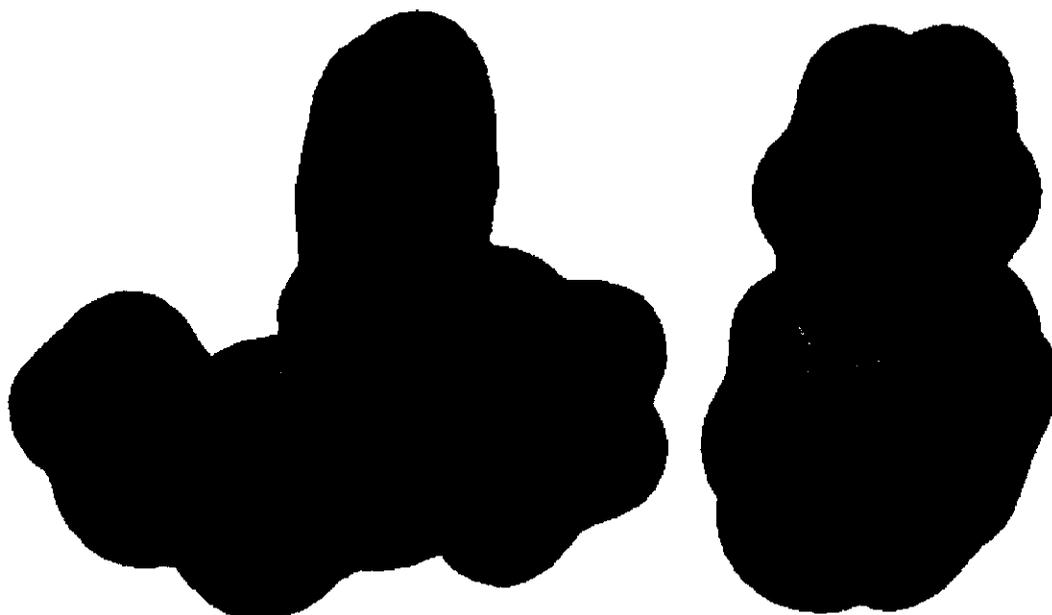


Figura 69. Potencial molecular electrostático del derivado VI.

El análisis de las gráficas de isopotencial para el compuesto VI (Figura 70) nos muestra que existen tres zonas electronegativas radicadas en el nitrógeno del anillo de quinolina, en el nitrógeno del anilino y en el nitrógeno del tiazol, en comparación con la 9-anilinoacridina, que como ya se había descrito existen dos. En cambio, comparado con el isopotencial del 9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina tiene una mayor similitud, aunque en el caso de este último, las zonas electronegativas se encuentran distribuidas desde el oxígeno de la posición 9 y es continua hasta el nitrógeno del anillo de tiazol.

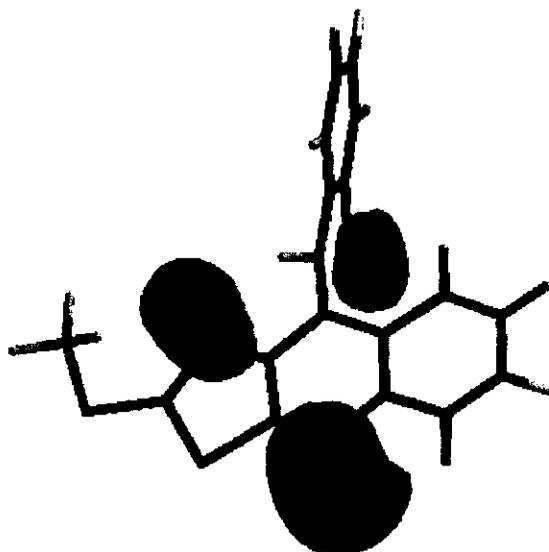


Figura 70. Gráfica de isopotencial para el compuesto VI.

Por lo tanto, se esperaría que esta molécula se intercalara más fuertemente en el DNA por las interacciones electrostáticas más fuertes presentes en el sistema planar, aunque probablemente la actividad podría ser menor a la de AHMA debido a que faltarían las interacciones de grupos electrodonadores en el sistema aromático de anilina.

### V.I.III Análisis electrónico del 9-anilino-2-(*N,N*-dietiletilendiamino)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto VIII).

Si al compuesto VI se le adiciona una cadena lateral de carácter negativo como la *N,N*-Dietiletilendiamino (compuesto VIII), se podría incrementar la actividad de este derivado. El potencial molecular electrostático para este compuesto (Figura 71) se muestra idéntico al obtenido para el 2-(*N,N*-Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolina, además de que el potencial molecular para el caso del anillo de anilino es el mismo que en la 9-anilinoacridina.

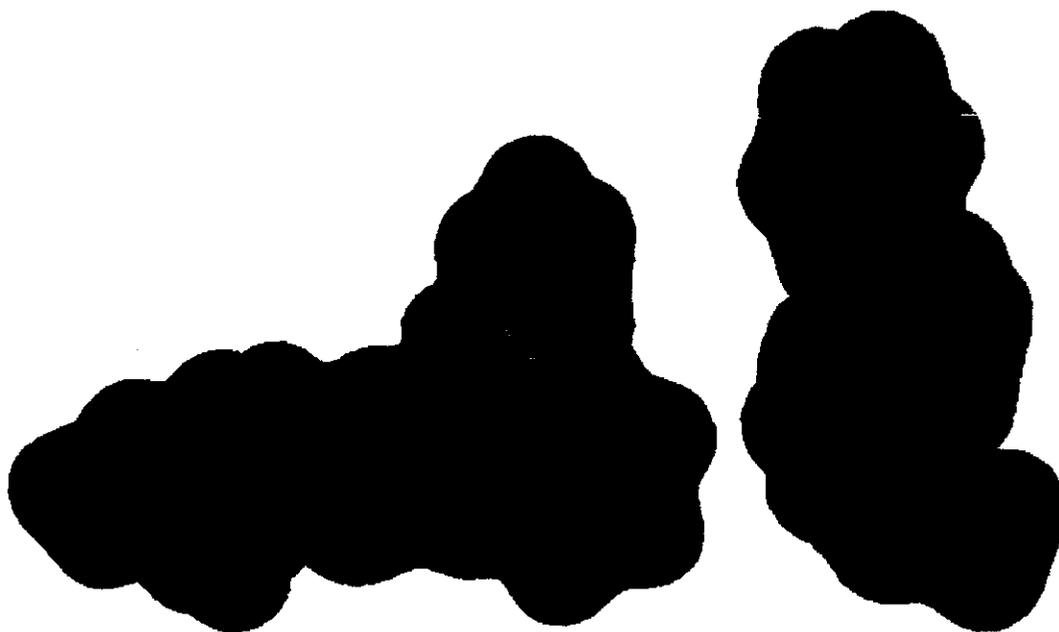


Figura 71. Potencial molecular electrostático del compuesto VIII.

Además, las figuras de isopotencial corroboran con mayor claridad la similitud del compuesto VIII con el patrón (figura 72).

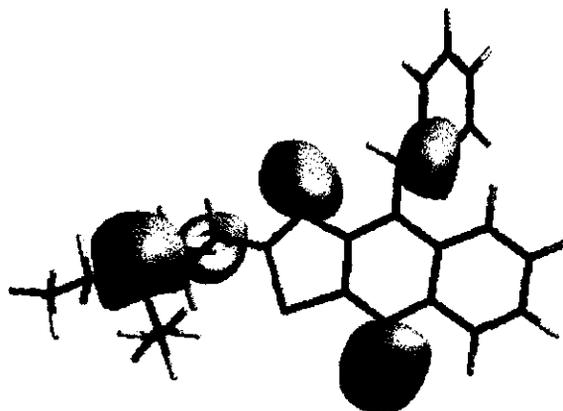


Figura 72. Gráfica de isopotencial para el compuesto VIII.

Para el compuesto VIII se podría considerar que existirían, dos factores que afectarían la actividad: el carácter electrónico de la cadena, la cual se intercalará en el surco menor del DNA, y el factor estérico en el que se desconoce si es posible la intercalación de una segunda cadena en las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas. Se mencionó anteriormente que existían diversos derivados de las acridinas que contenían dos cadenas laterales y que presentaban buena actividad biológica, aunque se desconoce la función exacta de la segunda cadena. Si este derivado llegara a presentar actividad biológica, será importante para el estudio determinar si esta actividad es debida a un mecanismo de intercalación.

#### V.I.IV Análisis electrónico del 9-[(3-aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto XI).

Analizando el potencial molecular electrostático del derivado XI (figura 73) se observan zonas electronegativas en el anillo de fenilendiamino, las cuales podrían incrementar la fuerza en la intercalación con el surco menor y de esta manera incrementar la actividad biológica. En cuanto al sistema planar, se observan las mismas zonas negativas localizadas sobre los átomos de nitrógeno del anillo de quinolina y tiazol.

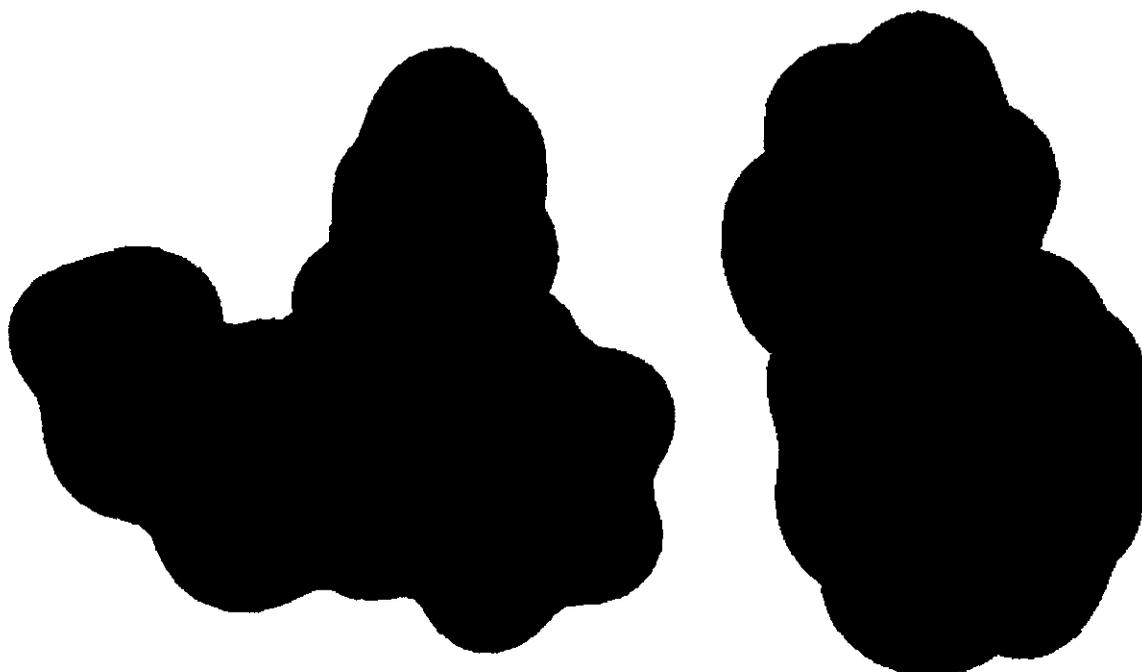


Figura 73. Potencial molecular electrostático del compuesto XI.

La figura de isopotencial del compuesto XI (Figura 74) nos muestra los tres lóbulos (A, B y C) así como un potencial adicional sobre el átomo de nitrógeno de la posición 3' y que se extiende hacia los átomos de carbono de las posiciones 3', 4' y 5', lo cual genera una zona fuertemente electronegativa en la zona "izquierda" de la molécula, muy similar a la presente en el AHMA (figura 66).

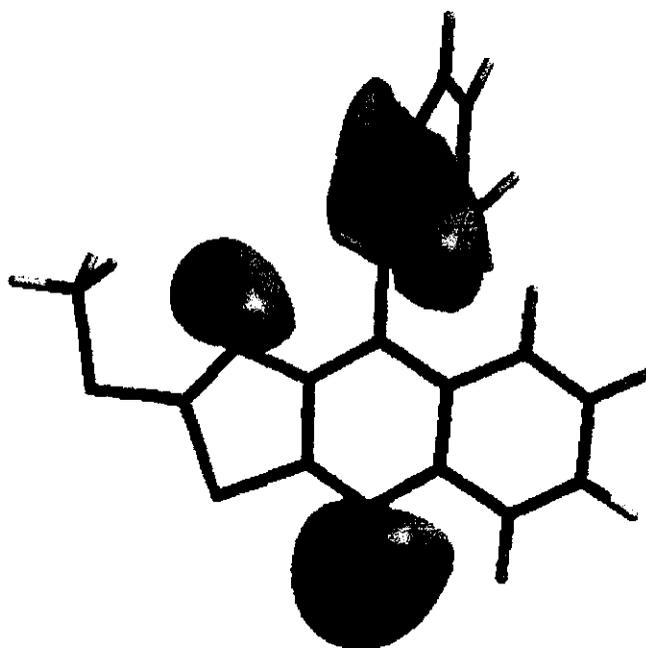


Figura 74. Figura de isopotencial del compuesto XI.

### V.I.V Análisis electrónico del 9-[[3-(acetamido)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo [5,4-*b*]quinolina (compuesto XII).

La acetilación del amino primario del compuesto XI para la obtención del derivado XII (Figura 75) tiene como consecuencia un aumento en el potencial negativo, esto se debe a la presencia del átomo de oxígeno, que conjuntamente con el átomo de nitrógeno incrementan este potencial, manteniendo, a su vez, las regiones positivas en el anillo de anilino. El sistema planar permanece sin cambios con respecto a los derivados anteriores.

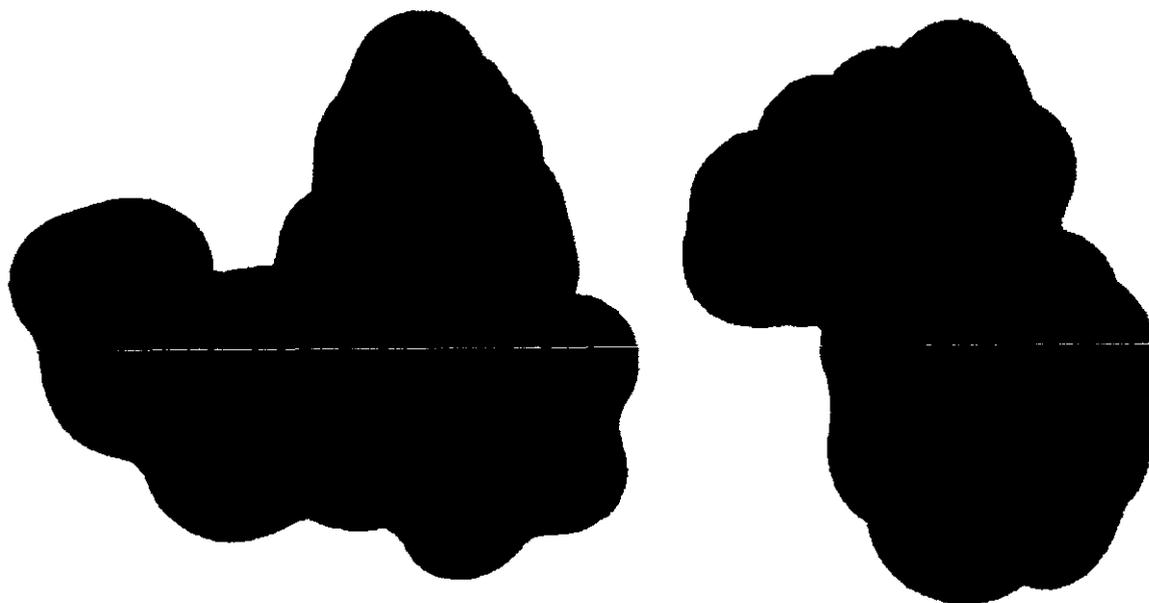


Figura 75. Potencial molecular electrostático del compuesto XII.

El análisis de su gráfico de isopotencial (figura 76) muestra que existe una zona electronegativa adicional localizada sobre al átomo de oxígeno del grupo acetilo, y que la zona negativa que se encuentra distribuida del átomo de nitrógeno del tiazol y termina en el átomo del nitrógeno del acetilo, se mantiene.

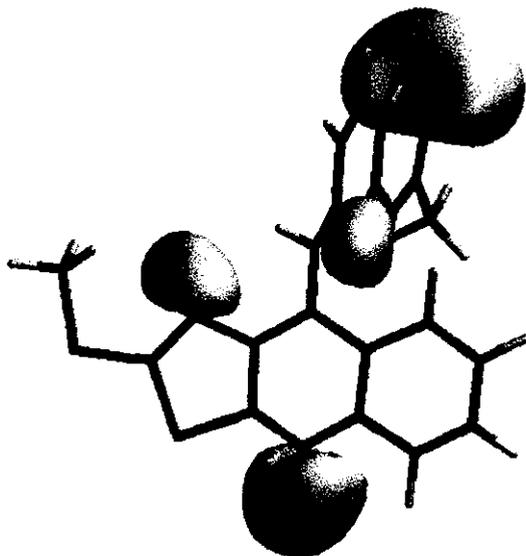


Figura 76. Isopotencial para el compuesto XII.

#### V.I.VI Análisis electrónico del 9-[[[3-amino-5-(hidroximetil)]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (compuesto X).

Finalmente, si se adiciona otro grupo, con un átomo electronegativo, al anillo de anilina (Figura 77), como es un alcohol de tipo primario (compuesto X), se observa como se incrementa el potencial negativo en el anillo de anilina, aunque en comparación con AHMA se encuentra distribuido en dos regiones diferentes y es de menor intensidad.

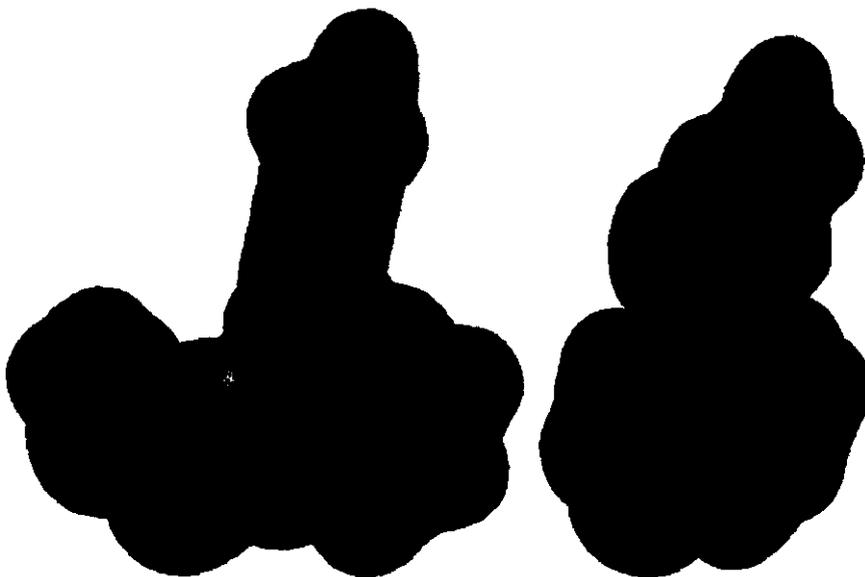


Figura 77. Potencial molecular electrostático para el compuesto X.

El isopotencial (Figura 78) confirma lo anterior, ya que, a pesar de encontrarse las mismas zonas de densidad electrónica, éstas se encuentran distribuidas de manera diferente con respecto al AHMA. En el AHMA, estas zonas se encuentran distribuidas de manera que interactúan espacialmente entre sí los grupos electrodonadores del anillo de anilino (Figura 66), en cambio para el compuesto X las zonas electronegativas se encuentran muy definidas. Será importante determinar qué efecto tiene esta interacción espacial para la actividad biológica. Por lo pronto, se espera que este derivado sea altamente activo debido a la similitud tan cercana que guarda con AHMA.

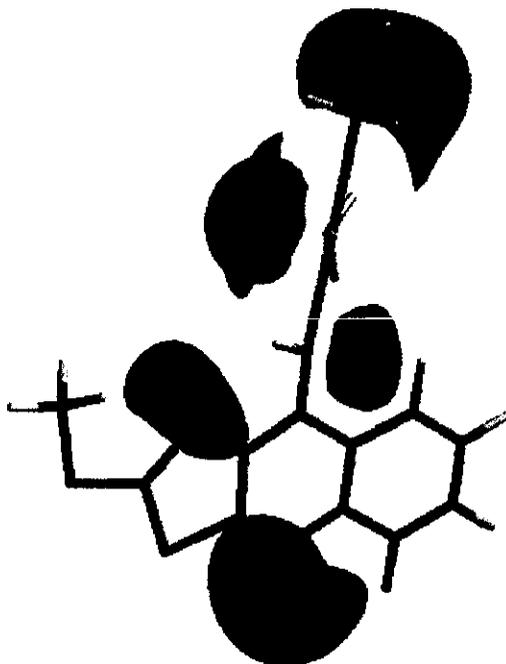


Figura 78. Isopotencial para el compuesto X.

Por otro lado, el análisis de las cargas electrostáticas de las moléculas patrón (figura 79) y de los derivados, muestra que la conformación del anillo de anilina modifica el potencial en los carbonos vecinos del sistema tricíclico, haciendo más "fría" la zona hacia donde se encuentra orientado el hidrógeno del anilino; por lo tanto, en el caso de las 9-anilinoacridinas, las densidades no son equivalentes en los átomos vecinos. Los átomos de carbono de la posición 8 de las dos moléculas de acridina son más electronegativos que los átomos de carbonos de la posición 1, esto es importante, ya que se pensaría que estos núcleos son simétricos. Los carbonos de la posición 2 y 7, sí mantienen su simetría de carga.

En el caso de las moléculas patrón de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, se observa que el espacio donde radica el C-8 para las 9-anilinoacridinas, ahora se encuentra sustituido por el átomo de nitrógeno en la posición 3, el cual contiene una de las zonas más "calientes" de toda la molécula, y puede sustituir al C-8 en su carácter de mayor densidad de carga y con mayor intensidad.

## V.I.VII Análisis de cargas electrostáticas para los compuestos patrón.

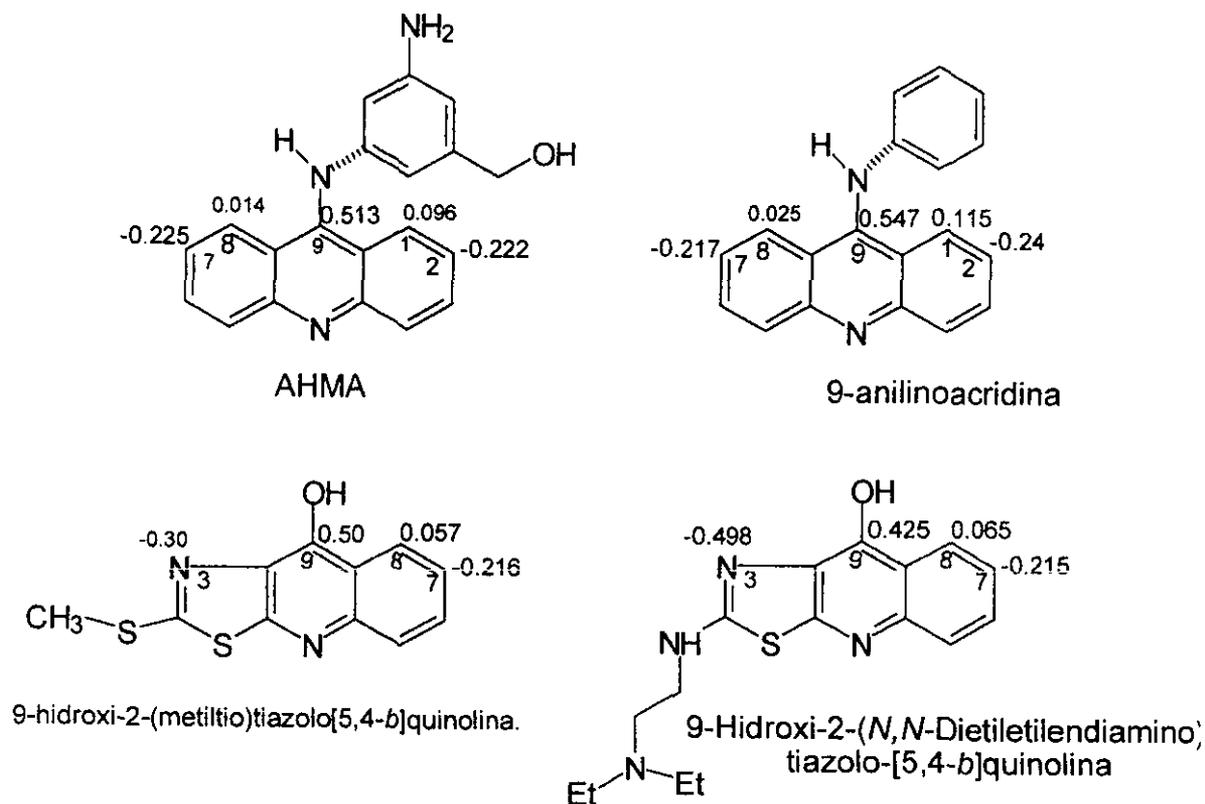


Figura 79. Comparación de cargas de las moléculas patrón

Para los derivados propuestos se observa la misma tendencia, en la cual el nitrógeno contiene una zona "caliente" simulando la carga del C-8 de la acridina, aunque como es lógico, de mayor intensidad (figura 80). En estos derivados las cargas negativas de los carbonos de la posición 7 se mantienen iguales que en el caso del átomo C-2 de las acridinas.

## V.I.VIII Análisis de cargas electrostáticas para los compuestos patrón.

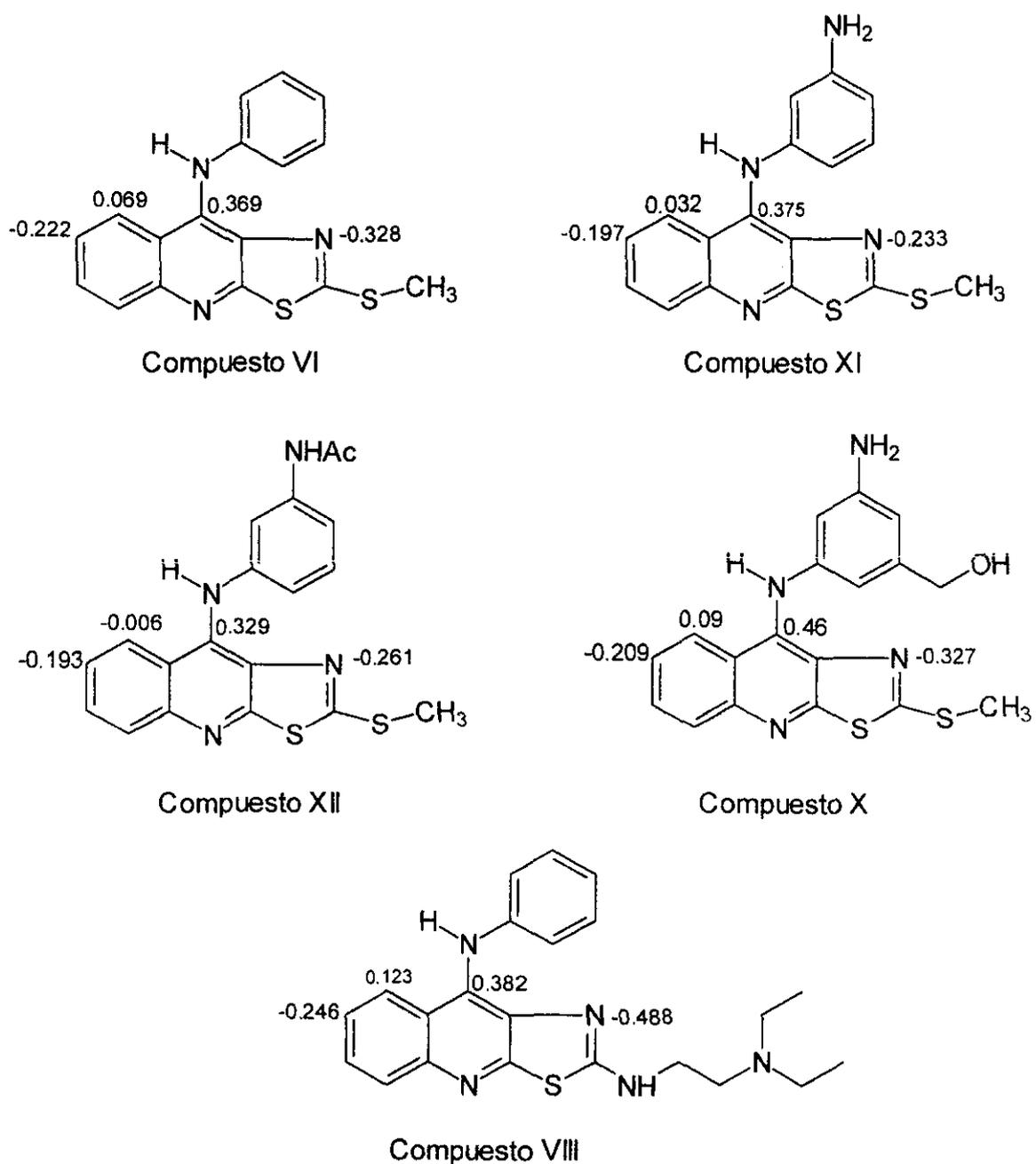


Figura 80. Comparación de los derivados propuestos

Se puede observar que las tendencias de cargas son las mismas para todos los derivados propuestos, y que éstos, a su vez, tienen similitud con los derivados de acridinas. Es importante destacar la importancia de las cargas electrostáticas dentro de una molécula, ya que cada una de ellas aportan un cierto carácter al potencial molecular electrostático.

El análisis teórico de los derivados de acridina, biológicamente activos e inactivos, permite visualizar dos aspectos importantes: el conformacional y el electrostático, los cuales se considera, pueden afectar de manera significativa la actividad biológica.

La conformación del sustituyente sobre el núcleo de acridina juega un papel importante en el mecanismo de intercalación. Además, las propiedades electrónicas de los sustituyentes ejercen una marcada influencia en la intercalación en el surco menor.

Como ya se sabía, la conformación que guarda el anillo de anilino con respecto al sistema de acridina es una relación ortogonal. Al realizar la sustitución isostérica de un anillo de benceno, por el anillo de tiazol, la conformación del sustituyente no se ve afectada en gran medida, y en todos los derivados resultantes se guarda la misma relación. Además, los ángulos diedros se mantienen constantes en todos los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Las propiedades electrostáticas de los derivados de acridina mostraron tener similitudes tanto en los derivados activos como inactivos. El análisis de las gráficas de isopotencial de los derivados inactivos mostró dos máximos electrostáticos; uno localizado sobre el átomo de nitrógeno del sistema tricíclico (lobulo A) y otro sobre el átomo de nitrógeno del grupo anilino (lobulo B), sin embargo, los derivados activos mostraron una zona adicional de densidad, la cual se encuentra localizada en el anillo de anilino y que esta dada por los grupos electrodonadores presentes en este anillo.

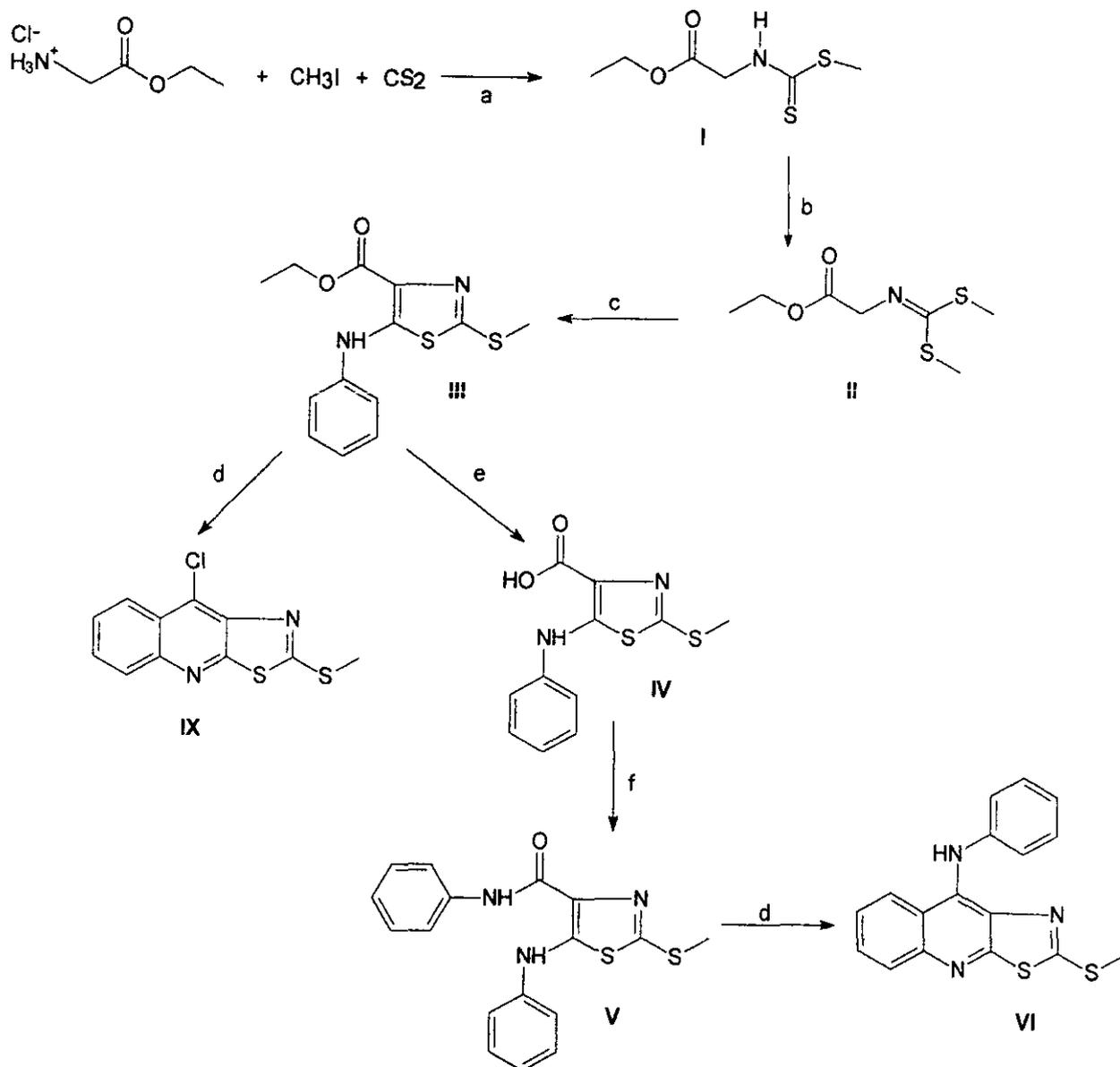
Es muy probable que las propiedades electrostáticas del núcleo de tiazolo-quinolina son las que determinen el mecanismo de intercalación. Sin embargo, sabemos que la intercalación no es suficiente para mostrar actividad biológica. El análisis mostró que es necesario tener ciertas zonas de densidad electrónica en las cadenas laterales, que, como ya se mencionó anteriormente, son las que se intercalan en el surco menor.

Teniendo un análisis global de los requerimientos conformacionales y electrostáticos, se procedió a realizar la síntesis de los derivados propuestos.

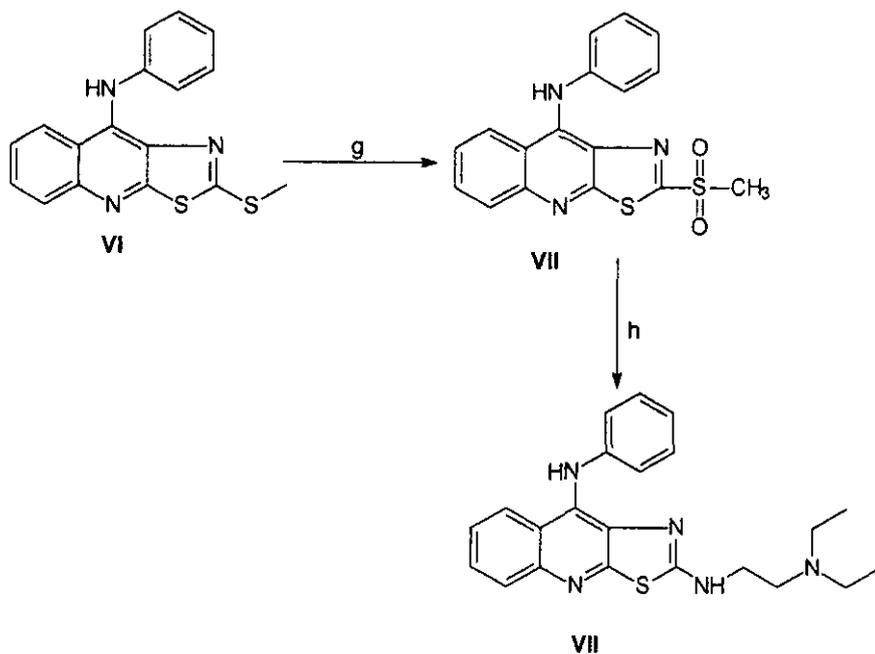
## V.II Parte Química.

## V.II.I Diseño de síntesis.

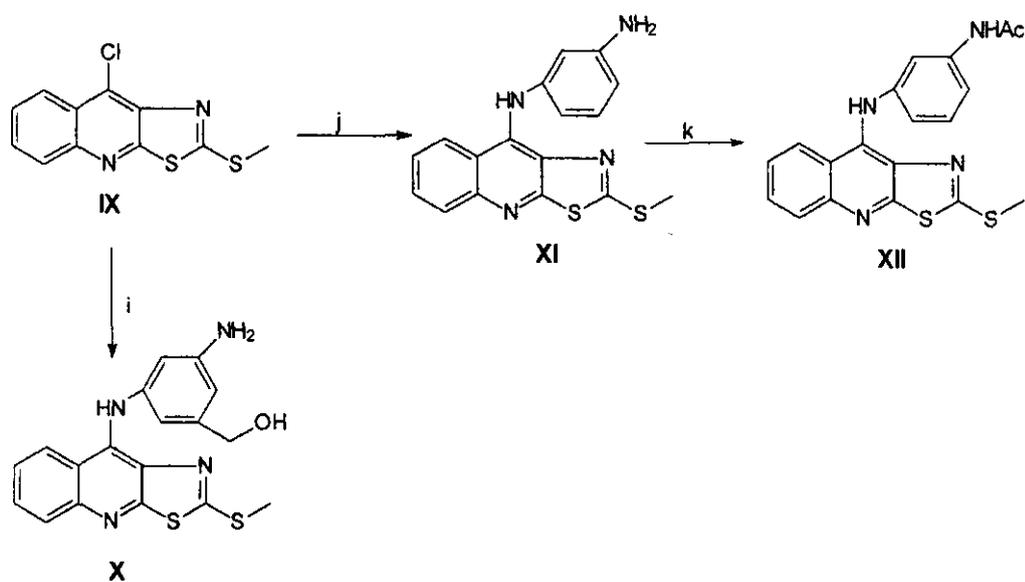
## ESQUEMA GENERAL DE SÍNTESIS



(a)  $\text{CS}_2$ ,  $\text{NaOH}$  <sup>(82)</sup>; (b)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  <sup>(83)</sup>; (c) 1)  $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ , THF anh.,  $\text{Ar}_2$ ; 2)  $\phi\text{-N}=\text{C}=\text{S}$  <sup>(85)</sup>; (d)  $\text{POCl}_3$ , APP; (e)  $\text{KOH}$ , EtOH; (f) 1)  $\text{SOCl}_2$ , benceno, piridina; 2) anilina, benceno <sup>(81)</sup>.



(g)  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{AcOH}^{(21)}$ ; (h)  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{Et})_2^{(31)}$ .



(i) 1)  $\text{HCl}$ ,  $\text{MeOH}$ ; 2) diclorhidrato del alcohol 3,4,diamino bencilico; (j)  $\text{HCl}$ ,  $\text{MeOH}$ ; Fenilendiamina; (k)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , piridina.

## V.II.II Análisis Espectroscópico.

### V.II.III COMPUESTO II

En el espectro de IR (espectro 1) se puede apreciar la banda de carbonilo de éster, la cual es evidencia que durante la reacción no se llevó a cabo la hidrólisis básica. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 2) confirma la presencia del grupo éster por la señal triple a 1.3 ppm ( $J= 7.1$  Hz) que integra para 3 protones, que corresponden al grupo metilo, y el cual se encuentra acoplado a la señal cuadruple a 4.2 ppm ( $J= 7.1$  Hz) que corresponde al metileno del éster que se encuentra desplazado a campo bajo debido al efecto desprotector del átomo de oxígeno del éster. A 2.4 y 2.57 ppm se observan dos señales simples que corresponden a los grupos metilos del ditiocarbamato, los cuales, al encontrarse sobre la doble ligadura que soporta el átomo de nitrógeno, son magnéticamente diferentes. También, a 4.2 se observa una señal simple que corresponde a un metileno que no se encuentra acoplado.

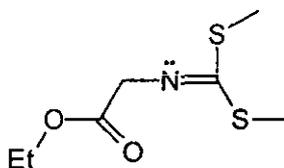


Figura 81. Compuesto II

La estructura se confirmó por la espectrometría de masas (IQ). En el espectro 3 se observa la mayor contribución del  $M+1$  (100 %) el cual corresponde a un peso molecular de 207. Se puede observar una mínima fragmentación que puede ser explicada de la siguiente manera:

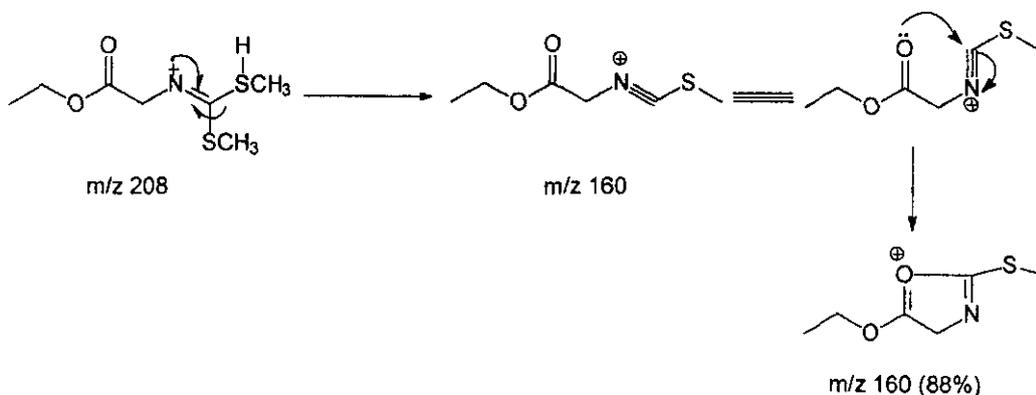


Figura 82. Patrón de fragmentación del compuesto II.

## V.II.IV COMPUESTO III.

La síntesis de este derivado por el método usado resultó selectiva ya que se podría considerar la obtención de diferentes productos, tomando en cuenta la regioselectividad de las condensaciones y ciclizaciones:

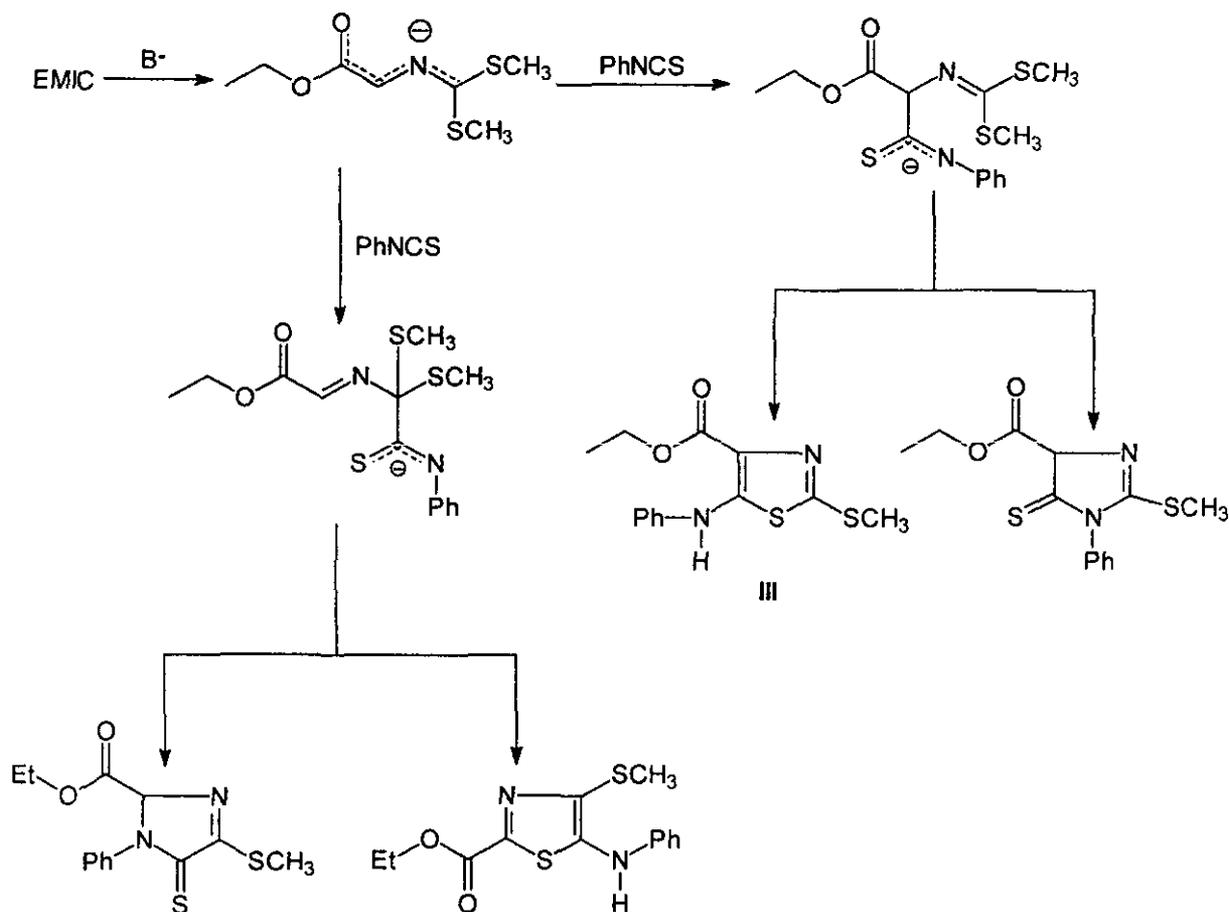


Figura 83. Posibles productos de la etapa III.

El compuesto III se obtuvo como un sólido blanco. Por su punto de fusión y por análisis en CCF se encontraba puro. En su espectro de IR (espectro 4) se observan bandas para el grupo amino secundario ( $3426\text{ cm}^{-1}$ ), y para el grupo carbonilo de éster aromático ( $1656\text{ cm}^{-1}$ ). En su espectro de RMN  $^1H$  (espectro 5) se observa el éster etílico con la señal triple a 1.4 ppm y la señal cuádruple a 4.5 ppm, que corresponden a metilo y metileno respectivamente. A 2.7 ppm se observa una señal simple que corresponde al grupo metilo del tioéter. Como se puede apreciar en el espectro, la señal simple que correspondía al otro tioéter no se encuentra presente, por lo que se deduce que la reacción se llevó a cabo en forma satisfactoria. Lo anterior se corrobora con la

presencia de las señales aromáticas de 7.2 ppm, que corresponden a los protones en posición orto del anillo aromático monosustituido, esta señal se observa como una señal doble; por su constante de acoplamiento ( $J=10$  Hz) corresponde a un acoplamiento de tipo orto. A 7.1 ppm se observa una señal doble de doble con 2 constantes orto diferentes ( $J= 7.5, 7.2$  Hz) que integra para un protón y que corresponde al protón de la posición *para*, la señal a 7.3 ppm se observa como un doble de doble ( $J= 8.5, 7.5$  Hz) que corresponde a los acoplamientos con los protones *orto* y *para*. Finalmente, la presencia de la amina secundaria aromática se observa como una señal simple a 9.8 ppm que intercambia con  $D_2O$ .

En este caso, se observa que el protón *para* se encuentra a campo más alto que el protón *orto* lo cual no ocurre en condiciones normales, por lo que esta asignación resulta algo incierta. En el espectro de  $^{13}C$  (espectro 6) tanto el *Corto* como el *Cpara* se encuentran desplazados en posiciones inversas (118.2 ppm y 123.8 ppm, respectivamente) y no concuerdan con las asignaciones reportadas en la literatura.<sup>(81)</sup> Sin embargo, estas señales se asignaron de esta manera al observar en el espectro de  $^{13}C$  el tipo de señales: la señal a 118.2 ppm se observa como una señal que contiene más de 1 carbono, lo cual no sucede con la señal a 123.87 ppm que se observa como una señal más pequeña. Adicionalmente, en el espectro HETCOR (espectro 7) se observa la clara correlación entre la señal de 123.8 ppm y la señal a 7.1 ppm, además de la correlación entre la señal a 118.2 ppm con la señal de protón a 7.2 ppm. Por las evidencias anteriores se propone esta asignación de señales diferente.

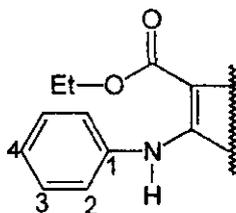


Figura 84. Protones aromáticos.

Otra ambigüedad existente en la asignación de esta molécula es con respecto a los átomos de carbono no protonados. Por medio del experimento de HMBC (espectro 8) se pudo determinar el desplazamiento del carbonilo del éster y de esta manera descartar la confusión de esta señal a 164.7 ppm.

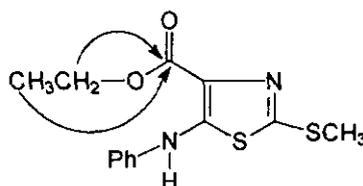


Figura 85. Correlación espacial observada en HMBC entre el carbonilo y los protones del éster.

La señal a 155.8 ppm se asignó para el C-2 en el anillo de tiazol, el cual es un desplazamiento característico, aunque se ha reportado que la señal de 155 ppm que corresponde al *Cipso* del fenilo, a este carbono se le asignó la señal de 146.4 ppm que es un desplazamiento característico. El resto de las señales fueron asignadas de manera similar a lo reportado en la literatura.<sup>(81)</sup>

La espectrometría de masas (IE, espectro 9) confirma la estructura, presentando un pico base de 294 que corresponde al PM de la estructura. Además, se observa el M+2 que corresponde a la contribución isotópica de los átomos de azufre. El patrón de fragmentación puede ser explicado de la siguiente manera:

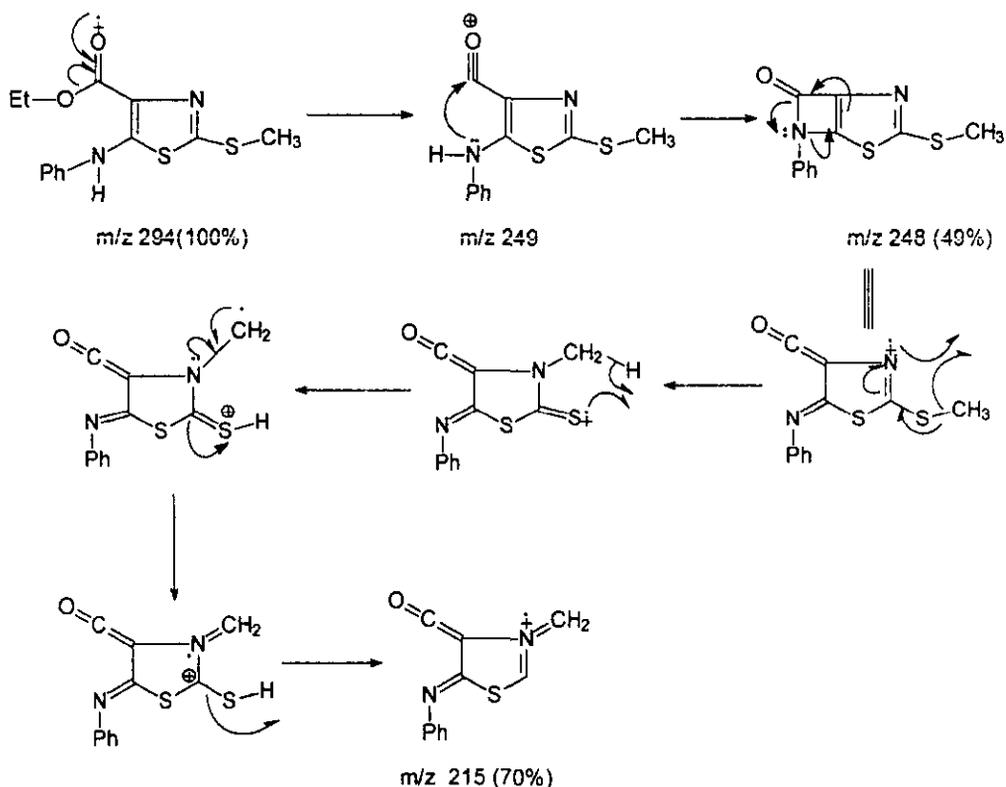


Figura 86. Posible patrón de fragmentación del derivado III.

Las constantes físicas y espectroscópicas estuvieron de acuerdo a lo reportado en la literatura.<sup>(81)</sup>

## V.II.V COMPUESTO IV.

El compuesto IV fue aislado puro como único producto de la reacción de hidrólisis. En su espectro de IR (espectro 10) se pueden observar las bandas del ácido carboxílico a  $3258\text{ cm}^{-1}$  y que se corrobora con la señal a  $1638$  que corresponde al carbonilo del ácido; por otra parte, se observa a  $3428\text{ cm}^{-1}$  la señal intensa que corresponde al enlace N-H.

En su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 11) se observa la desaparición de las señales del éster etílico, y se observa una nueva señal simple ancha a  $10.7\text{ ppm}$  que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$ . El resto de las señales no se ve influenciada en su desplazamiento. Cabe destacar que las señales aromáticas tampoco se ven afectadas por lo que se puede pensar que el anillo aromático de anilina se encuentra en una conformación tal, que la influencia del ácido es nula.

El espectro de masas (espectro 12) muestra un ion molecular de 266 lo que corresponde a 56.5% de abundancia, la principal ruta de fragmentación es la pérdida del ácido carboxílico:

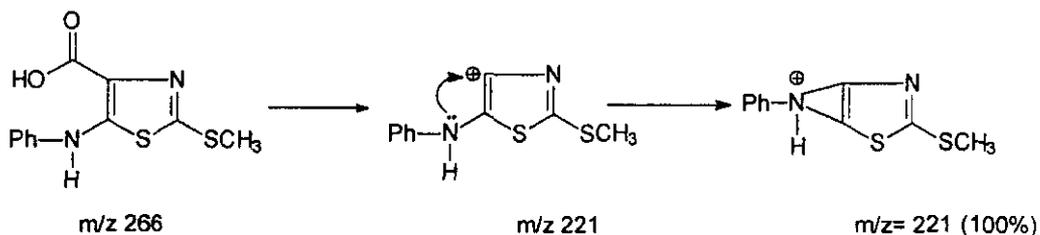


Figura 87. Principal ruta de fragmentación del compuesto IV.

Sin embargo se pueden observar otras rutas alternas de fragmentación:

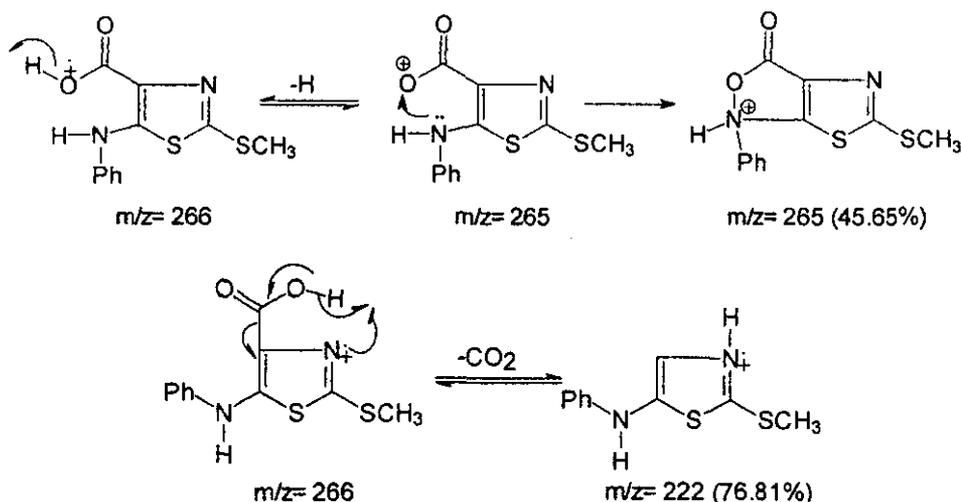


Figura 88. Fragmentaciones alternas para el compuesto IV.

## V.II.VI COMPUESTO V.

El compuesto V fue obtenido como cristales puros a partir de un proceso de recristalización. En el espectro de IR (espectro 13) se puede observar la desaparición de la banda del ácido carboxílico, y se observa una banda intensa a  $3364\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a N-H, además de la señal a  $1646\text{ cm}^{-1}$  que corresponde al carbonilo de una amida aromática.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 14) se observa la señal simple a 2.7 ppm que corresponde al grupo metilo del tioéter, a 7.1 ppm se observa una señal triple que integra para 2 H por lo que se trata de los 2 protones *para* de los dos sistemas aromáticos presentes en la molécula (H-4 y H-4'). A 7.2 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 8.7, 1.0\text{ Hz}$ ) y que se asigna a la señal del protón *orto* del sistema de anilino (H-2). A 7.3 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 4 protones y fue asignada para los protones *meta* (H-3 y H-3') de los dos sistemas aromáticos. A 7.6 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 9.0, 1.2\text{ Hz}$ ) y que por su desplazamiento a campo bajo se asigna a los protones *orto* del sistema aromático de la amida (H-2'). Por último, se observa la señal simple a 8.8 ppm, que intercambia lentamente con  $\text{D}_2\text{O}$  y que corresponde al protón del grupo amida, y a 10.3 ppm la señal simple que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$  y que corresponde al protón del anillo de anilina.

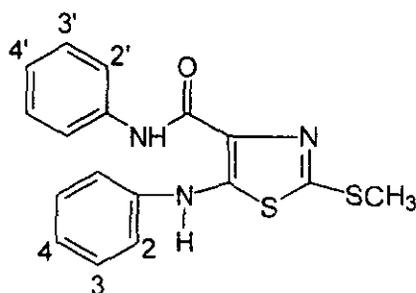


Figura 89. protones aromáticos del compuesto V.

El espectro de masas (IE, espectro 15) muestra que la especie (341) al ión molecular de igual masa al de la fórmula condensada.

## V.II.VII COMPUESTO VI.

El derivado VI fue aislado en forma pura a través de lavados del crudo con acetona, como un polvo amorfo de color amarillo mostaza. En el espectro de IR (espectro 16) se puede observar a  $3353\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a la amina secundaria.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 17) se asigna a 2.3 ppm la señal simple que corresponde al grupo metilo del tioéter; en la región aromática se observa a 8.4 ppm una señal doble ( $J=8.4\text{ Hz}$ ) que corresponde a una constante de tipo orto y que por integración corresponde a 1 H, este protón fue asignado como H-8 por desplazamiento químico teórico,<sup>(78)</sup> en el espectro de

COSY (17 a) se observa la correlación de H-8 y la señal triple (7.8 Hz) a 7.5 ppm por lo que esta señal se asigna como H-7. Esta señal se observa que se encuentra acoplada a la señal doble de doble de doble (J=8.4, 1.5 Hz) a 7.7 ppm y que se asigna como H-6. Por último esta señal observa acoplamiento con la señal doble (J= 7.9 Hz) a 7.9 ppm y que por integración corresponde al protón H-5 (figura 90).

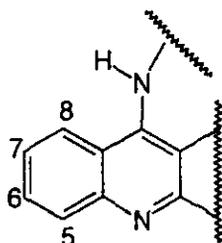


Figura 90. Protones del sistema de acridina

El sistema aromático de anilina fue asignado de la siguiente manera: a 7.1 ppm se observa una señal doble (J= 7.2 Hz) que integra para 2 H y que por el valor de su constante corresponde a un acoplamiento de tipo *orto*, por lo tanto se asignó como H-2', en el espectro COSY (17 a) se observa el acoplamiento de este protón con la señal doble de doble a 7.3 ppm (J= 7.8, 7.2 Hz) que correspondería a H-3', que contiene dos constantes de acoplamiento diferentes de tipo *orto*; esta señal se encuentra acoplada a la señal doble de doble (J= 7.5, 7.2 Hz) a 7.0 ppm por lo que correspondería a H-4. Se esperaba que el protón H-4' se observara como una señal triple, pero probablemente la conformación del anillo aromático de anilino hace que los protones meta sean electrónicamente diferentes y esto se vea reflejado en la constante de acoplamiento con el protón H-4'.

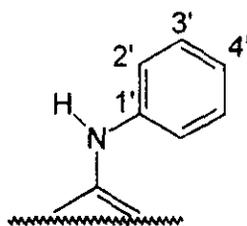


Figura 91. Protones del anilino.

Para la asignación del  $^{13}\text{C}$  (espectro 18) fue necesario el espectro HETCOR (espectro 19), con el cual se pudo determinar los desplazamientos de los carbonos protonados:

- La señal a 14.5 ppm corresponde al carbono del tioéter.
- La señal a 121.8 ppm corresponde a C-2'.
- La señal a 128.1 ppm corresponde a C-3'.
- La señal a 122.7 ppm corresponde a C-4'.

- La señal a 123.9 ppm corresponde a C-8.
- La señal a 124.3 ppm corresponde a C-7.
- La señal a 127 ppm corresponde a C-5.
- La señal a 129.6 ppm corresponde a C-6.

Todas estas señales concordaron con los desplazamientos reportados para este tipo de moléculas.<sup>(78)</sup>

Para la asignación de los átomos no protonados C-2, C-3a, C-9 y C-9a se tienen que tomar en cuenta varios factores:

1. Los carbonos más desprotegidos son los carbonos C-2 y C-9; el C-2 se encuentra unido a tres heteroátomos, y el C-9 es un carbono de tipo  $\gamma$  en un anillo de quinolina.
2. La asignación de los carbonos C-3a y C-9 se puede establecer considerando que el C-3a se encuentra más desprotegido que el C-9a; el C-3a se encuentra unido a dos heteroátomos y el C-9 solamente a uno.

Se ha reportado que los cambios inducidos en los desplazamientos como consecuencia la ciclación de las tiazoloquinolinas puede ser calculado con 15 ppm adicionales para el C-9a y -3 ppm para el C-3a.<sup>(78)</sup>

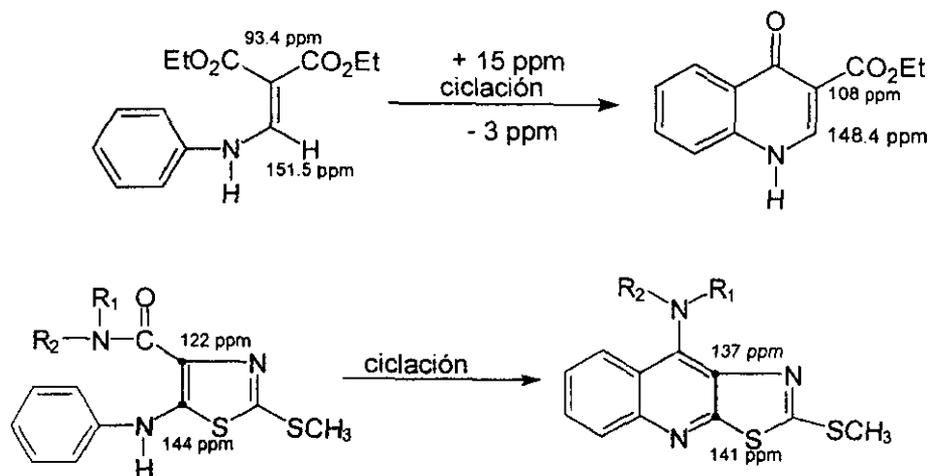
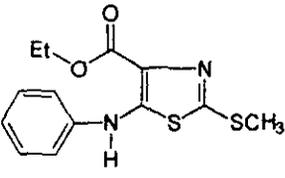
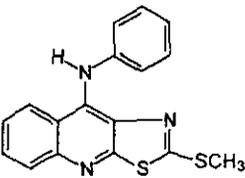


Figura 92. Desplazamiento en ppm despues de ciclar.

Tomando las consideraciones anteriores se realizó la asignación estructural de los carbonos no protonados del compuesto VI, de la siguiente manera:

Tabla 6

	
C2 155.8 ppm	C2 161.9 ppm
C4 122.9 ppm	C9 a 138.6 ppm
C5 140.5 ppm	3 a 131.4 ppm
C=O 164.7 ppm	C9 160.6 ppm
	C1' 145.3 ppm

En la espectrometría de masas (espectro 20) se observa el M+1 como la especie más abundante, y, por lo tanto, la más estable. El ion molecular se observa como la segunda especie más abundante.

#### V.II.VIII COMPUESTO VII.

El compuesto VII se obtuvo como un sólido amarillo, algo inestable al medio ambiente. En el espectro de IR (espectro 21) se observa la banda de  $3373\text{ cm}^{-1}$  que indica la presencia de una amina secundaria, por otro lado se observan dos bandas a  $1313\text{ cm}^{-1}$  y  $1140\text{ cm}^{-1}$  que son características del grupo  $-\text{SO}_2-$ , además de las bandas a  $745$  y  $690\text{ cm}^{-1}$  que muestran la vibración del enlace S-O.

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 22) mostró el mismo patrón de señales que el compuesto VI: a 7.2 ppm se observa una señal triple ( $J= 6.9\text{ Hz}$ ), que corresponde al H-4' del anillo de anilino; a 7.3 ppm se observa una señal múltiple, que corresponde a H-2' y H-3'. El sistema de quinolina se observa como una señal doble de doble ( $J= 8.7, 0.9\text{ Hz}$ ) a 8.3 ppm, que corresponde a H-8; a 8.0 ppm se presenta una señal doble de doble ( $J= 8.4, 0.6\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-5; a 7.8 ppm se observa un doble de doble ( $J= 9.0, 8.4\text{ Hz}$ ), que corresponde a H-6; a 7.5 ppm se observa una señal doble de doble de doble ( $J= 9.0, 8.1, 1.2, 1.8\text{ Hz}$ ), que corresponde a H-7; y, por último, el protón del nitrógeno del anilino se presenta a 9.2 ppm como una señal simple ancha. Además, se observa que la señal simple que corresponde al metilo del tioéter, se desplazó hasta 3.3 ppm.

El espectro de masas (espectro 23) confirma la estructura, ya que se observa que el ión molecular, que es la especie más abundante, concuerda con el peso molecular (355). Además, se presenta diversos patrones de fragmentación que pueden ser explicados de la siguiente manera:

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

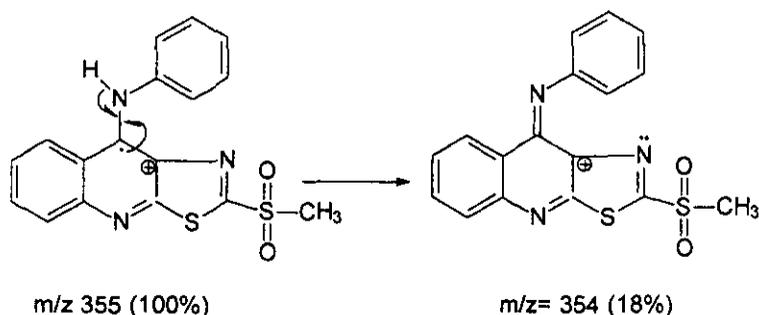


Figura 93. Patrón de fragmentación para compuesto VI.

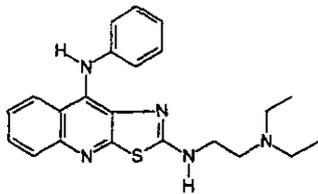
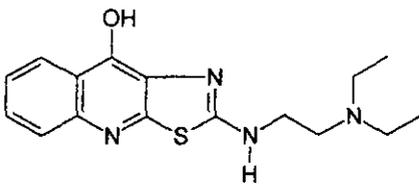
### V.II.IX COMPUESTO VIII.

El compuesto VIII se obtuvo como un sólido blanco amorfo. En el espectro de IR (espectro 24) se observa la banda intensa de amina secundaria a  $3373\text{ cm}^{-1}$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 25) muestra el mismo patrón de señales en la región aromática: a 6.8 ppm una señal múltiple que integra para 3H, y que corresponde a los protones H-2' y H-4'; a 7.1 ppm se encuentra un doble de doble ( $J= 8.4, 7.2\text{ Hz}$ ) que integra para 2H, y que corresponde al protón H-3'; a 7.4 ppm se observa un doble de doble ( $J= 9.0, 6.0\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-7; a 7.5 ppm se observa un doble de doble ( $J= 9.0, 6.0\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-6; a 7.8 ppm se encuentra una señal doble ( $J= 9\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-5; a 8.0 ppm se observa una señal doble ( $J= 9\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-8.

La región de protones alifáticos se asignó de la siguiente manera: a 0.8 ppm se encuentra una señal triple ( $J= 7\text{ Hz}$ ) que integra para 6 hidrógenos, y que corresponde a los dos grupos metilos del etilo, esta señal se encuentra acoplada a la señal cuadruple ( $J= 7.2\text{ Hz}$ ) que se encuentra a 2.3 ppm, y que integra para 4 H. Esta señal se encuentra desplazada a campo bajo debido al efecto de desprotección del átomo de nitrógeno, al cual se encuentran unidos los grupos etilo. A 2.5 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 7.2, 6.3\text{ Hz}$ ) que corresponde al grupo metileno, que se encuentra unido al átomo de nitrógeno terciario; a 3.2 ppm se observa una señal múltiple que se asigna al grupo metileno que se encuentra unido al átomo de nitrógeno secundario, y que se encuentra acoplada con el protón del amino secundario. La asignación de estos dos grupos metileno se realizó por medio del espectro de HETCOR (espectro 27) y  $^{13}\text{C}$  (espectro 26). Los protones de los grupos amino se observan como dos singuletes a 8.2 y 8.5 ppm.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  (espectro 26) se asignó por la comparación con un derivado cercano:

Tabla 7

No C		
C2	161.4 ppm	167.0 ppm
C3a	144.7 ppm	145.4 ppm
C4a	131.2 ppm	126.6 ppm
C5	127.8 ppm	128.5 ppm
C6	126.8 ppm	128.8 ppm
C7	124.0 ppm	127.7 ppm
C8	123.3 ppm	124.6 ppm
C8a	122.1 ppm	126.0 ppm
C9	160.1 ppm	160.2 ppm
C9a	135.8 ppm	144.3 ppm
C1'	144.0 ppm	-
C2'	117.3 ppm	-
C3'	128.0 ppm	-
C4'	119.0 ppm	-
CH <sub>2</sub> -NH	41.6 ppm	42.3 ppm
CH <sub>2</sub> -N	51.1 ppm	52.2 ppm
CH <sub>3</sub>	11.7 ppm	11.6 ppm
CH <sub>2</sub>	46.5 ppm	48.5 ppm

La espectrometría de masas (espectro 28) confirmó la estructura: El ion molecular (391) tiene una abundancia alta, y se observan algunas fragmentaciones:

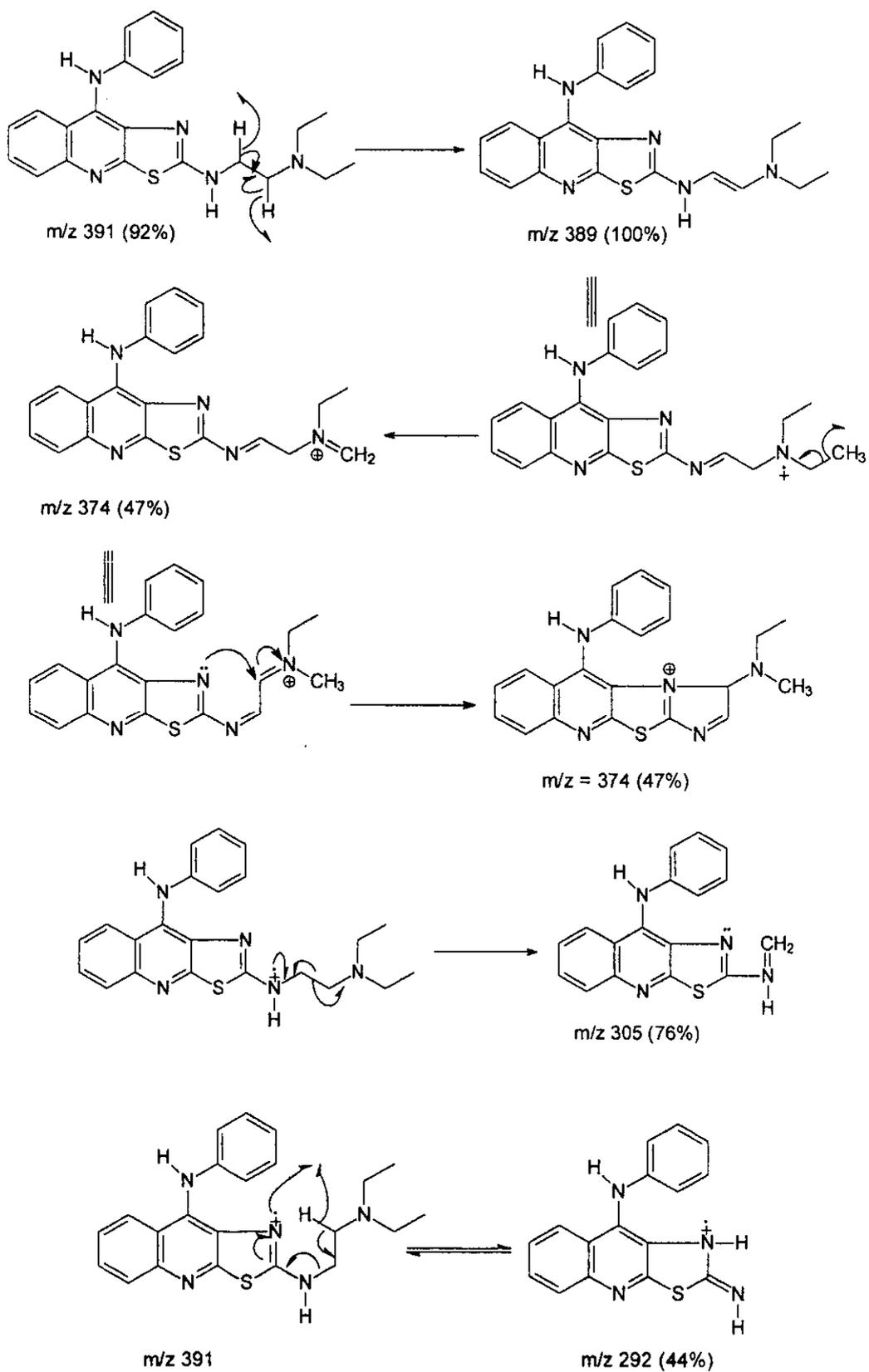


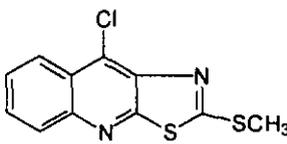
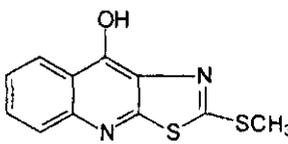
Figura 94. Patrón de fragmentación para el compuesto VIII

## V.II.X COMPUESTO IX.

El compuesto IX fue aislado como agujas de color amarillo que se tornan naranja con la exposición al medio ambiente. El análisis del espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 30) mostró las señales características del sistema aromático: a 2.8 ppm un singulete que integra para 3 protones, que se asigna al grupo metilo del tioéter; a 7.6 ppm se observa una señal triple que se escinde en doble ( $J= 7.6, 1.5, 1.2$  Hz); que se asigna a H-7; a 7.7 ppm se observa una señal triple de doble ( $J= 9.0, 6.6, 1.8$  Hz), que corresponde a H-6; a 8.0 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 7.2, 0.6$  Hz), que corresponde a H-5, y a 8.3 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 8.7, 0.9$  Hz) que corresponde a H-8.

La interpretación del espectro de  $^{13}\text{C}$  (espectro 31) no presentó problema alguno con la asignación de los carbonos protonados; sin embargo, los carbonos no protonados fueron asignados mediante la comparación con un derivado similar y siguiendo con la propuesta anteriormente mencionada para el caso de las ciclaciones:

Tabla 8

No C		
C2	172.0 ppm	171.8 ppm
C3a	145.6 ppm	145.9 ppm
C4a	131.1 ppm	130.6 ppm
C8a	124.7 ppm	124.6 ppm
C9	160.1 ppm	160.3 ppm
C9a	142.1 ppm	141.8 ppm

El espectro de masas (espectro 32) confirmó la estructura propuesta, en el cual el ion molecular es la especie más abundante (266, 100%), además que se corrobora la presencia del cloro con la contribución isotópica en el M+2 (41.30%). Se observa una fragmentación principal que se puede explicar de la siguiente manera:

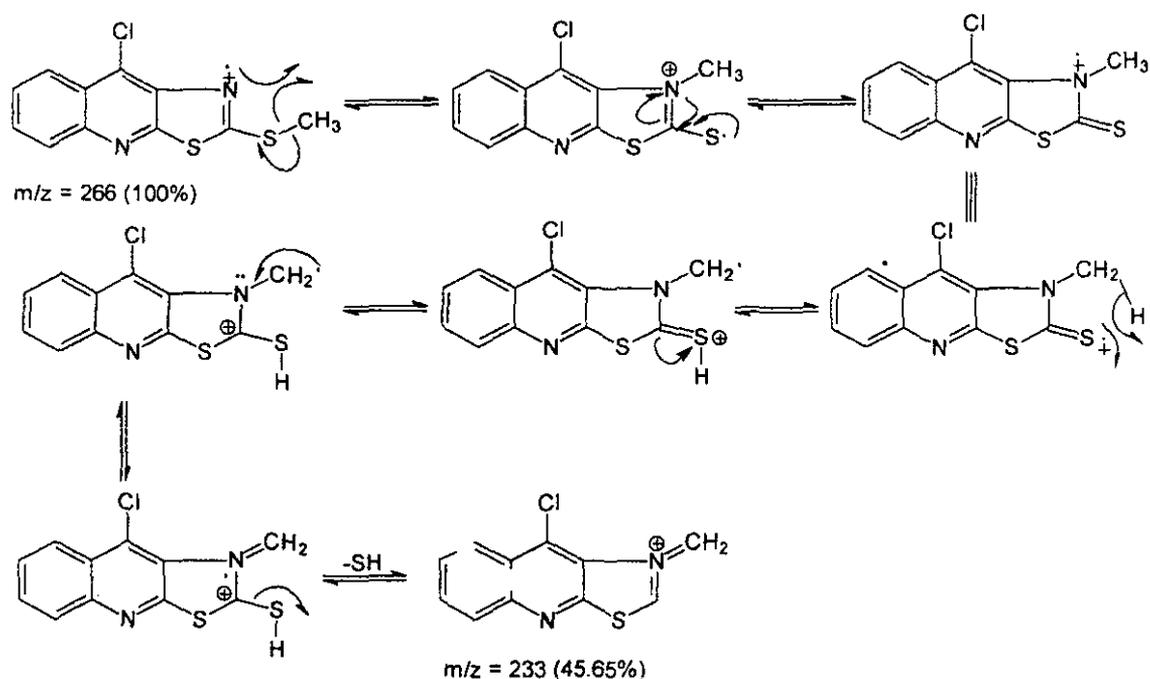


Figura 95 Patrón de fragmentación compuesto IX

Además, el espectro FAB<sup>+</sup> (espectro 33) de alta resolución confirmó la estructura para una fórmula molecular de C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>ClS<sub>2</sub>.

#### V.II.XI COMPUESTO X.

Este derivado se obtuvo como un sólido amorfo de color beige. En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (espectro 34) se observa a 2.5 ppm, la señal simple que corresponde al grupo metilo; a 4.2 ppm se observa una señal doble que corresponde al grupo metileno del alcohol bencílico; esta señal doble muestra acoplamiento con el alcohol, el cual se observa a 4.9 ppm como una señal triple. A 6.1-6.2 ppm se observan tres señales simples, que corresponden al sistema aromático del anilino. A 7.4 ppm se observa una señal triple de doble, que corresponde al protón H-7; a 7.7 ppm se observa una señal doble de doble, que corresponde al protón de la posición 6; el protón 5 se observa como una señal doble a 7.8 ppm; y el protón de la posición 8 se observa como una señal doble a 8.2 ppm. El protón del amino secundario se observa a 8.8 ppm.

Se requerirán mayores análisis para corroborar al 100% la estructura de este derivado, ya que se presentaron muchas dificultades en su purificación.

## V.II.XII COMPUESTO XI.

El compuesto XI se obtuvo como un sólido amorfo de color mostaza. El espectro de IR (espectro 35) muestra varias bandas de aminas a 3447, 3347, 3301  $\text{cm}^{-1}$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 36) muestra la señal simple a 2.6 ppm, que corresponde al grupo metilo del tioéter; a 4.2 ppm se observa una señal simple ancha que corresponde a los nitrógenos del grupo amino primario; a 6.4 ppm se observa una señal simple ancha que corresponde a los nitrógenos del grupo amino primario; a 6.4 ppm se observa una señal múltiple que integra para 3 H, que corresponden a H-2', H-4' y H-6'; a 7.0 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 9.0, 7.2$  Hz), que se asigna a H-5' por ser el protón que siente menos el efecto electrónico de los grupos amino; a 7.3 ppm se presenta una señal doble de doble ( $J= 9.0, 7.5$  Hz), que corresponde al protón H-7 del anillo de quinolina; a 7.6 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 7.8, 7.5$  Hz), que corresponde al protón H-6; a 7.9 ppm se observa una señal doble ( $J= 8.4$  Hz), que corresponde al protón H-5; a 8.0 ppm se presenta una señal doble ( $J= 9.0$  Hz), que corresponde al protón H-8; y por último, se observa una señal simple a 8.1 ppm, que corresponde al protón del grupo amino secundario.

El espectro de masas (espectro 37) confirma la estructura con un ión molecular de 338 (100%) que corresponde al peso molecular. Además se observa el patrón de fragmentación constante:

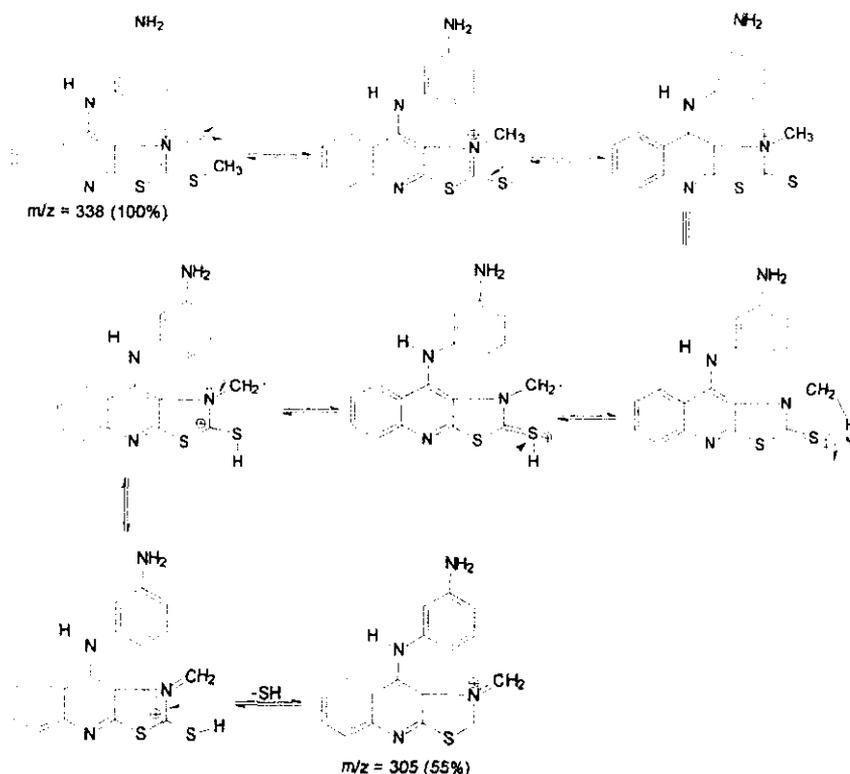


Figura 96. Patrón de fragmentación compuesto XII

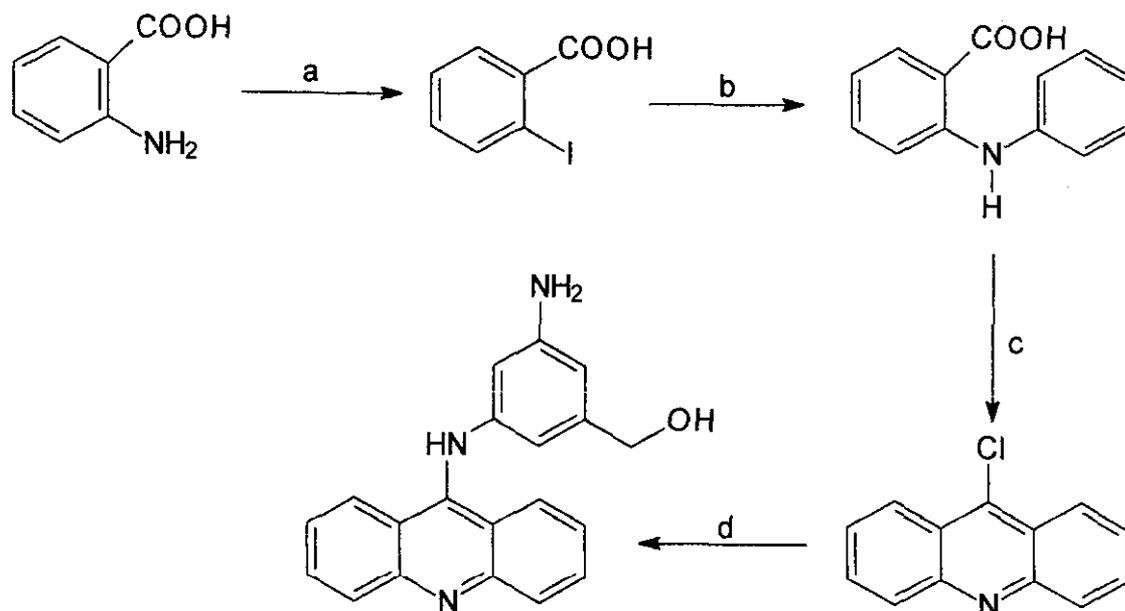
**V.II.XIII COMPUESTO XII.**

El compuesto XII se obtuvo como un polvo amorfo de color amarillo. En el espectro de IR (espectro 38) se observa la banda a  $3283\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde al grupo amino, y a  $1667\text{ cm}^{-1}$ , la señal que corresponde a un carbonilo de amida. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 39) muestra a 1.2 ppm una señal simple que integra para 3 protones, la cual corresponde al grupo metilo de la acetamida, lo que indica que el compuesto se monoacetiló. A 2.4 ppm se observa la señal simple del grupo metilo del tioéter; a 6.7 ppm se observa una señal doble ( $J= 12\text{ Hz}$ ), que se asigna al protón H-6'; a 7.1-7.3 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 3 protones, y que corresponde a los protones H-2', H-4' y H-5'; a 7.5 ppm se observa una señal doble de doble de doble ( $J= 12.6, 10.5, 2.1\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-7 del anillo de quinolina; a 7.7 ppm se observa una señal doble de doble de doble ( $J= 12.0\text{ Hz}, 10.0, 2.1\text{ Hz}$ ), que se asigna al protón H-6; a 7.9 ppm se observa una señal doble ( $J= 12.0\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón de la posición H-5; y por último, se observa una señal doble ( $J= 12.0\text{ Hz}$ ) a 8.3 ppm, que corresponde al protón H-8.

El espectro de masas (espectro 40) muestra que el ión molecular (380) es la especie más estable (100%).

## V.II.XIV Diseño de síntesis del AHMA.

## Esquema sintético del 3-[(9-Acridinil)amino]-5-(hidroximetil)anilina (AHMA).



(a) 1)  $\text{NaNO}_2$ , 2)  $\text{KI}$ ; (b) anilina,  $\text{Cu}$ ; (c)  $\text{POCl}_3$ ; (d) diclorhidrato del alcohol 3,5-diaminobencílico,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{MeOH}$ .

### V.II.XV ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DEL ÁCIDO 2-YODOBENZOICO.

El ácido 2-yodobenzoico se obtuvo como agujas blancas. El análisis del espectro de IR (espectro 41) muestra la banda a  $3060\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a la banda del ácido carboxílico, a  $2976\text{ cm}^{-1}$  se observa la banda de la vibración COO-H, a  $1680\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la banda que indica la presencia del grupo carbonilo de ácido, a  $739\text{ cm}^{-1}$  se observa la señal de la vibración C-I. El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 42) muestra las siguientes señales: a 7.2 ppm se observa una señal doble de doble de doble ( $J= 9.0, 6.0, 3.0\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-3; a 7.4 ppm se observa una señal doble de doble de doble ( $J= 9.0, 6.0, 1.2\text{ Hz}$ ), que corresponde al protón H-2; a 8.0 ppm se encuentra la señal doble ( $J= 9.0\text{ Hz}$ ) que integra para dos protones, y que corresponde a los protones H-1 y H-4.

El espectro de masas (espectro 43) confirma la presencia del yodo, se observa un ión molecular de 248 que es la especie más abundante. Se aprecia una pequeña fragmentación que se puede explicar de la siguiente manera:

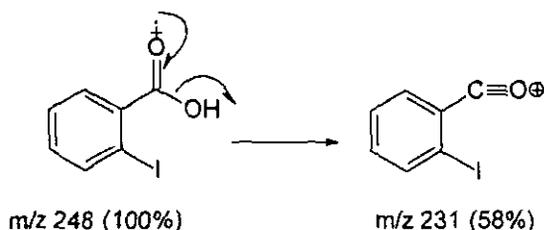


Figura 97. Fragmentación del ácido 2-yodobenzoico.

### V.II.XVI ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DEL ÁCIDO N-FENIL ANTRANILICO.

El ácido N-Fenilantranílico se obtuvo puro mediante cromatografía en columna. El espectro de IR (espectro 44) muestra la banda de la amina a  $3333\text{ cm}^{-1}$ , a  $3041\text{ cm}^{-1}$  se observa la banda del ácido carboxílico.

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 45) muestra una señal doble de doble ( $J= 9.0, 6.0\text{ Hz}$ ) a 6.7 ppm que integra para un protón, que corresponde a H-2; a 7.1 ppm se encuentra una señal doble de doble ( $J= 7.2\text{ Hz}, 6.9\text{ Hz}$ ), que corresponde a H-3; a 7.2 ppm se encuentra una señal doble ( $J= 6.0\text{ Hz}$ ), que corresponde a H-4; a 7.3 ppm se observa una señal múltiple que integra para 5 hidrógenos, que corresponde a los protones del N-fenilo; a 8.0 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 9.0, 1.5\text{ Hz}$ ), que corresponde a H-1.

El espectro de masas (espectro 46) muestra el ión molecular de 213 que tiene gran estabilidad (75.71%). Además, se observa el siguiente patrón de fragmentación:

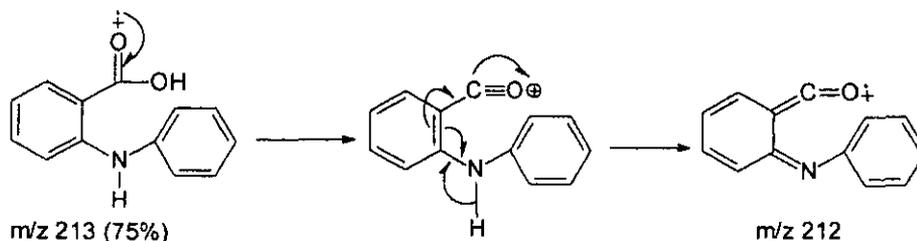


Figura 98. Patrón de fragmentación del  
Acido *N*-fenilanthranílico.

### V.II.XVII ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DE LA 9-CLOROACRIDINA.

El análisis de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 47) muestra la presencia del sistema de acridina: a 7.6 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 8.1, 7.5$  Hz), que corresponde a los protones equivalentes H-3 y H-6; a 7.8 ppm se observa una señal doble de doble ( $J= 8.4, 7.2$  Hz) que corresponde a los protones equivalentes H-2 y H-7; a 8.3 ppm se observa una señal doble ( $J= 8.7$  Hz), que corresponde a los protones H-4 y H-5; a 8.4 ppm se observa una señal doble ( $J= 8.7$  Hz), que corresponde a los protones H-1 y H-8.

El espectro de masas (espectro 48) muestra un ión molecular 213 (100%) que corresponde al peso molecular de la molécula. Existe una fragmentación de la molécula que se puede explicar de la siguiente manera:

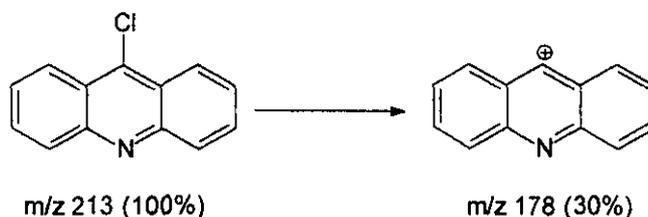


Figura 97. Fragmentación de la 9-cloro-acridina.

### V.II.XVIII ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO DE AHMA.

El AHMA se obtuvo como un sólido amorfo de color naranja. En su espectro de IR (espectro 49) se puede observar la banda ancha de la amina. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (espectro 50) se observa a 4.3 ppm una señal doble, que corresponde al metileno del alcohol bencílico; esta señal doble muestra acoplamiento con el alcohol el cual se observa a 5.0 ppm como una señal triple. Se corrobora lo anterior por el intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$  que desaparece la señal asignada como alcohol, y la señal doble de metileno se simplifica. A 6.1, 6.2 y 6.4 ppm se observan tres señales simples que corresponden a los protones H-2', H-4' y H-6' del anillo de anilino. A 7.2 ppm se

## ANALISIS DE RESULTADOS

observa una señal múltiple que corresponde a los protones H-2 y H-7; a 7.7 ppm se observa una señal múltiple, que corresponde a los protones H-3 y H-6 del anillo de acridina; a 8.1 ppm se observa una señal múltiple, que corresponde a H-4 y H-5; a 8.1 ppm se observa una señal simple, la cual intercambia con agua deuterada, y que corresponde al protón del amino secundario.

Las anteriores constantes concuerdan con las reportadas.

En esta segunda parte se obtuvieron los derivados de 9-anilino[5,4-b]quinolina propuestos en la parte teórica. Estos compuestos fueron obtenidos a partir de una síntesis divergente con buenos rendimientos. La metodología, aun que ya fue descrita en su mayoría, resulta una forma eficaz de obtener el intermediario del tiazol con ese patrón de sustitución. Cabe mencionar que los derivados 5-anilino[5,4-b]quinolina no son comunes.

Todos los derivados fueron identificados por métodos espectroscópicos y se les determinaron sus constantes físicas, las cuales no se encuentran reportadas por tratarse de estructuras novedosas.

Existen en la literatura ambigüedades en las asignaciones de los carbonos no protonados, las cuales se resolvieron a través de cálculos teóricos, por la comparación con análogos relacionados, y en el caso que fuera factible, por técnicas de resonancia a 2 y 3 ligaduras.

En general, la síntesis propuesta resulta una opción viable para la obtención de estos compuestos.

## **VI. PARTE EXPERIMENTAL**

## VI. PARTE EXPERIMENTAL

Como se mencionó anteriormente, se diseñaron y sintetizaron los siguientes derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas:

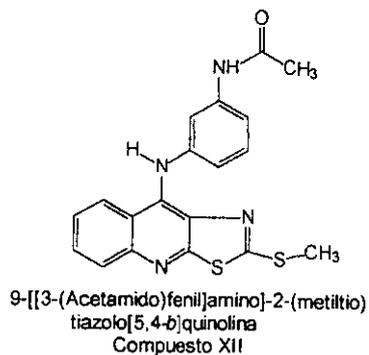
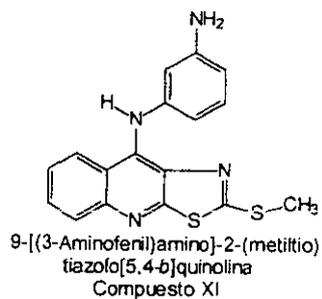
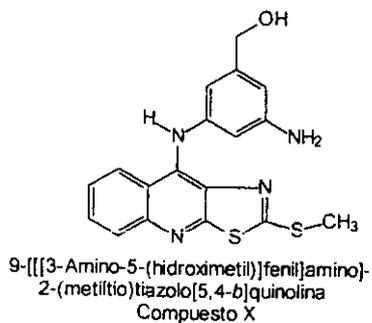
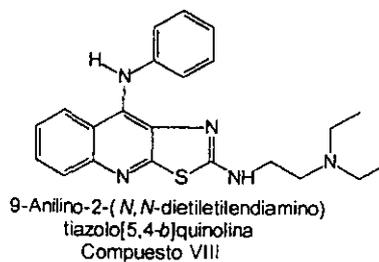
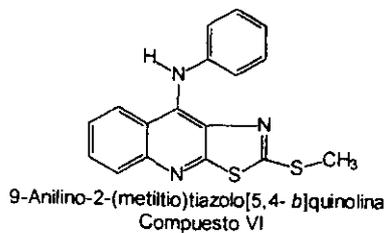


Figura 98. Derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas propuestos.

Los compuestos que se utilizaron como moléculas patrón fueron los siguientes, de los cuales, el único que se sintetizó fue el AHMA.

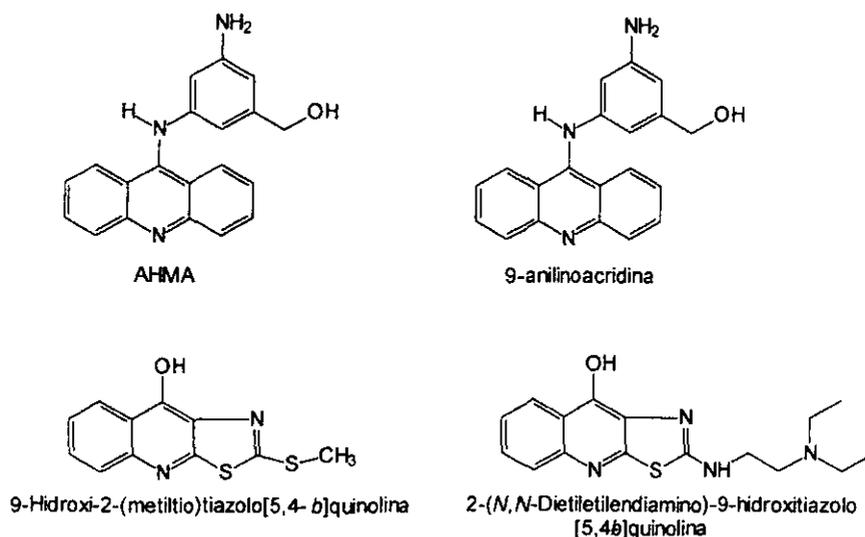


Figura 99. Moléculas patrón.

## Parte I Modelado Molecular

### VI.1 Equipo y método.

Los estudios de modelaje molecular se realizaron en una estación de trabajo Silicon Graphics modelo Indigo con 96 Mb de memoria en RAM, utilizando el programa Spartan 5.3, con el método semiempírico AM1. Las moléculas se construyeron a partir de fragmentos convencionales y se preoptimizó su geometría.

Posteriormente, se realizó el análisis conformacional para el caso de las moléculas con un sustituyente en la posición 2 y en la posición 9, empleando el campo de fuerza Sybyl y como protocolo el de "Búsqueda sistemática". El conformero de menor energía y mayor abundancia fue seleccionado, se optimizó su geometría, además de calcular sus propiedades electrónicas, mediante el método semiempírico AM1. Los datos obtenidos se emplearon para generar las energías de potencial molecular electrostático. Las moléculas se consideraron en su forma neutra

Al mínimo local encontrado para cada molécula se le determinaron propiedades electrónicas como:

- Descriptores QSAR
- Superficies de propiedades electrónicas (HOMO, LUMO y Potencial Molecular electrostático).
- Ángulo dihedro alrededor de los C-C-N-C
- Cargas electrostáticas.
- Polarizabilidad

## VI.II Resultados

Tabla 9. Angulos dihedros de las moléculas patrón.

Compuesto	Angulo dihedro (C8a-C9-N-C1')
AHMA	-114.49
9-Anilinoacridina	-113.87
9-Hidroxi-2-(metiltio)tiazolo [5,4- <i>b</i> ]quinolina	179.99
2-( <i>N,N</i> -Dietiletilendiamino)-9-hidroxitiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinolina	46.1647

Tabla 10. Angulos dihedros de los derivados propuestos.

Compuesto	Angulo dihedro (C8a-C9-N-C1')
Compuesto VI	-123.13
Compuesto VIII	-120.56
Compuesto X	-124.96
Compuesto XI	-124.04
Compuesto XII	-123.87

En la tabla 11 se muestran los resultados de las cargas electrostáticas obtenidas para cada molécula. La numeración de los átomos se muestra a continuación:

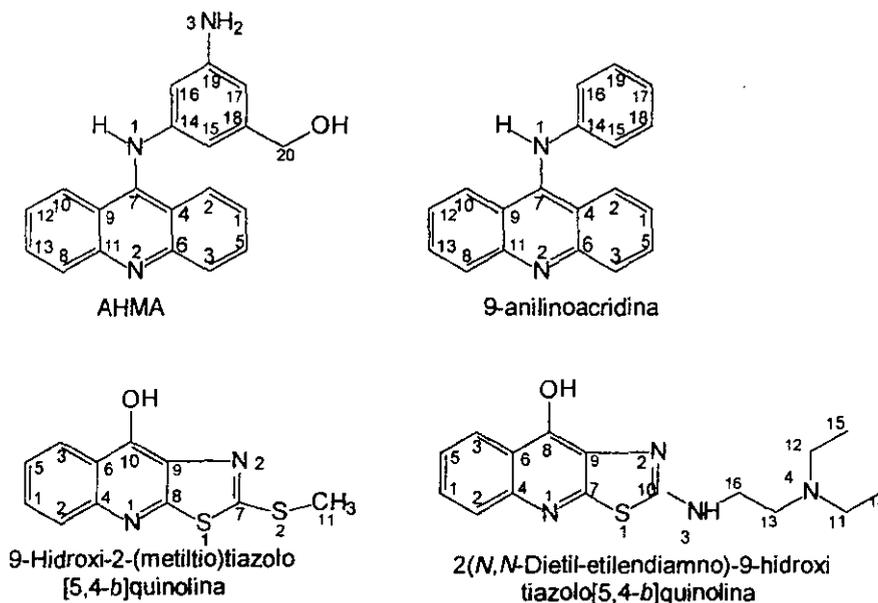


Figura 100. Numeración de las moléculas patrón.

Tabla 11. Cargas electrostáticas de las molécula patrón

AHMA		9-anilino acridina		9-hidroxi-2-(metiltio)tiazolol [5,4-b]quinolina		2-(N,N-Dietil-etilendiamino-9-hidroxi tiazolol[5,4-b]quinolina	
átomo	Carga	átomo	Carga	átomo	Carga	átomo	Carga
H-1	0.120071	H-1	0.126295	H-1	0.098124	H-1	0.094983
C-1	-0.222909	C-1	-0.243982	C-1	-0.005321	C-1	-0.00373
H'-2	0.074464	H-2	0.073062	H-2	0.124951	H-2	0.120227
C-2	0.096014	C-2	0.115936	C-2	-0.201021	C-2	-0.201554
C-3	-0.302663	C-3	-0.31031	C-3	0.057588	C-3	0.065536
C-4	-0.450831	C-4	-0.475129	C-4	0.432123	C-4	0.396914
C-5	0.008073	C-5	0.018298	C-5	-0.216265	C-5	-0.215151
C-6	0.626596	C-6	0.637733	C-6	-0.392655	C-6	-0.338821
C-7	0.513433	C-7	0.547251	N-1	-0.562636	N-1	-0.53453
H-3	0.092871	H-3	0.09424	H-3	0.126442	H-3	0.121162
C-8	-0.285219	C-8	-0.254311	O-1	-0.51223	O-1	-0.439098
H-4	0.147979	H-4	0.149076	H-5	0.058566	H-4	0.087997
C-9	-0.392669	C-9	-0.402043	C-8	0.38535	C-7	0.338783
N-1	-0.727833	N-1	-0.760041	C-10	0.501679	C-8	0.425576
C-10	0.014098	C-10	0.025286	S-1	-0.016618	S-1	-0.064478
C-11	0.596417	C-11	0.573533	C-9	-0.189289	C-9	-0.110859
H-5	0.14916	H-5	0.140017	N-2	-0.303294	N-2	-0.498722
N-2	-0.718026	N-2	-0.712484	C-7	0.199521	C-10	0.504311
C-12	-0.225277	C-12	-0.217194	S-2	-0.084568	N-3	-0.749458
H-6	0.099863	H-6	0.09166	H-4	0.377491	H-5	0.336876
H-7	0.125637	H-7	0.125489	H-6	0.082844	C-11	0.295792
C-13	0.010282	C-13	-0.010055	C-11	-0.16672	N-4	-0.730062
H-8	0.091875	H-8	0.099062	H-7	0.082845	C-12	0.185789
N-3	-0.967671	C-14	0.491357	H-8	0.123093	C-13	0.208598
C-14	0.669277	C-15	-0.204075			H-6	-0.017163
C-15	-0.405772	C-16	-0.316959			H-7	0.00509
C-16	-0.60112	C-17	-0.31821			C-14	-0.252638
C-17	-0.47934	C-18	-0.003174			H-8	0.077615
C-18	0.080396	C-19	-0.016317			H-9	0.053667
C-19	0.579178	H-9	0.134231			H-10	0.081754
H-9	0.172998	H-10	0.146498			H-11	0.035258
H-10	0.142503	H-11	0.095692			C-15	-0.193938
C-20	0.268736	H-12	0.100279			H-12	0.010405
H-11	0.017239	H-13	0.115098			H-13	0.074437
H-12	0.186599	H-14	0.344191			H-14	0.065545
H-13	0.381137					H-15	0.04446
H-14	0.385071					C-16	0.213159
H-15	0.015828					H-16	0.037459
O-1	-0.538439					H-17	0.033232
H-16	0.312763					H-18	0.061975
H-17	0.339211					H-19	0.034377
						H-20	0.339224

En la tabla 12 se muestran los resultados de las cargas electrostáticas obtenidas para los derivados diseñados. Estas cargas fueron obtenidas a partir de los conforméromos más estables. La numeración de los átomos se muestra a continuación:

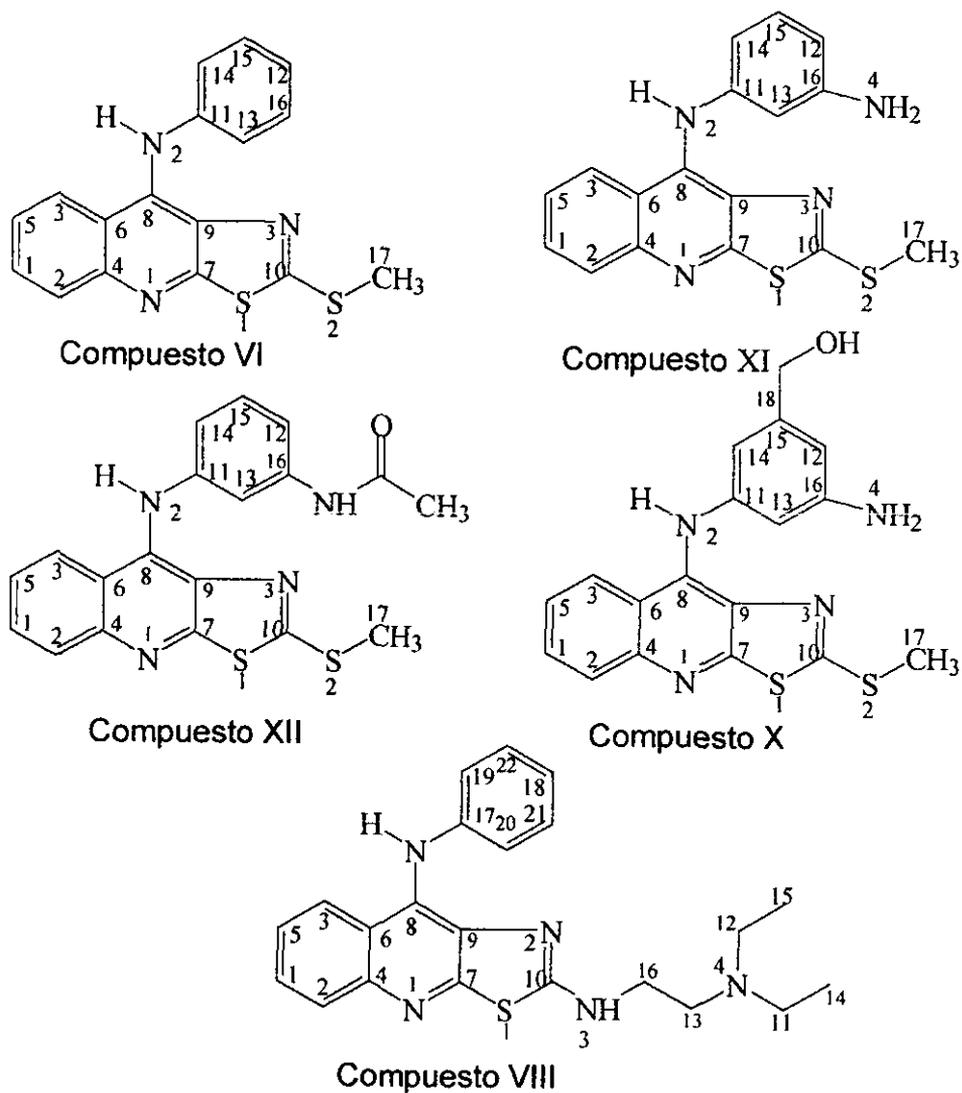


Figura 101. Numeración de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina propuestos.

Tabla 12. Cargas electrostáticas de los compuesto propuestos

compuesto VI		compuesto VIII		compuesto X		compuesto XI		compuesto XII	
átomo	Carga	átomo	carga	átomo	carga	átomo	carga	átomo	carga
H-1	0.092213	H-1	0.091994	H-1	0.09632	H-1	0.092585	H-1	0.093695
C-1	0.002702	C-1	0.012089	C-1	-0.012145	C-1	0.016731	C-1	0.01169
H-2	0.132164	H-2	0.127036	H-2	0.129006	H-2	0.131492	H-2	0.131059
C-2	-0.232347	C-2	-0.23362	C-2	-0.228873	C-2	-0.251018	C-2	-0.248586
C-3	0.069081	C-3	0.123994	C-3	0.09159	C-3	0.143344	C-3	0.108099
C-4	0.422304	C-4	0.432541	C-4	0.45628	C-4	0.465685	C-4	0.454922
C-5	-0.222065	C-5	-0.246244	C-5	-0.209707	C-5	-0.25508	C-5	-0.226946
C-6	-0.310221	C-6	-0.372679	C-6	-0.39995	C-6	-0.41409	C-6	-0.399029
N-1	-0.544629	N-1	-0.530409	N-1	-0.559219	N-1	-0.553809	N-1	-0.540314
H-3	0.126038	H-3	0.127918	H-3	0.119571	H-3	0.128225	H-3	0.121144
N-2	-0.655894	H-4	0.341129	N-2	-0.660845	N-2	-0.872177	N-2	-0.65558
H-4	0.078528	H-5	0.062559	H-4	0.07563	H-4	0.060024	H-4	0.070623
C-7	0.343263	C-7	0.31705	C-7	0.352611	C-7	0.348941	C-7	0.328532
C-8	0.369252	C-8	0.382744	C-8	0.462422	C-8	0.445059	C-8	0.452014
S-1	-0.009588	S-1	-0.066993	S-1	-0.007995	S-1	-0.008944	S-1	-0.008093
C-9	-0.090982	C-9	-0.031207	C-9	-0.137646	C-9	-0.117943	C-9	-0.11923
N-3	-0.32879	N-2	-0.488475	N-3	-0.327803	N-3	-0.325943	N-3	-0.330536
C-10	0.172648	C-10	0.487006	C-10	0.18087	C-10	0.175136	C-10	0.186164
S-2	-0.074702	N-3	-0.740495	S-2	-0.084338	S-2	-0.083866	S-2	-0.077804
C-11	0.437684	N-4	-0.670896	C-11	0.570986	C-11	0.581907	C-11	0.478428
C-12	-0.179101	C-11	0.288951	C-12	-0.412488	C-12	-0.482059	C-12	-0.282243
C-13	-0.263022	N-5	-0.719056	C-13	-0.584779	C-13	-0.590511	C-13	-0.464504
C-14	-0.315184	C-12	0.175052	C-14	-0.473471	C-14	-0.462314	C-14	-0.337177
C-15	-0.011323	C-13	0.185237	C-15	0.089162	C-15	0.098331	C-15	-0.005095
C-16	-0.037672	H-6	-0.00969	C-16	0.640967	C-16	0.654731	C-16	0.378164
H-5	0.136168	H-7	0.005068	H-5	0.187765	H-5	0.18597	H-5	0.174949
H-6	0.144684	C-14	-0.252536	H-6	0.154122	H-6	0.161418	H-6	0.145077
H-7	0.093198	H-8	0.078053	C-18	0.280597	H-7	0.097128	H-7	0.105305
H-8	0.098411	H-9	0.051716	N-4	-0.95178	N-4	-0.960596	N-4	-0.564109
H-9	0.110857	H-10	0.0834	H-9	0.157259	H-9	0.149588	H-9	0.171417
H-10	0.325572	H-11	0.039574	H-10	0.318764	H-10	0.327171	H-10	0.317102
C-17	-0.142317	C-15	-0.163815	C-17	-0.115406	C-17	-0.103153	C-17	-0.146614
H-11	0.07027	H-12	0.006203	H-11	0.064911	H-11	0.057675	H-11	0.073546
H-12	0.11951	H-13	0.062777	H-12	0.107732	H-12	0.11074	H-12	0.120425
H-13	0.073288	H-14	0.061051	H-13	0.069804	H-13	0.061119	H-13	0.074445
		H-15	0.037618	H-8	0.380883	H-8	0.381353	C-19	-0.296027
		O-16	0.201516	H-14	0.382042	H-14	0.387152	C-18	0.861654
		H-16	0.04301	H-7	0.010321			O-1	-0.530828
		H-17	0.039899	O-1	-0.532688			H-14	0.283417
		H-18	0.065525	H-16	0.012233			H-8	0.092185
		H-19	0.042237	H-15	0.307459			H-15	0.093332
		H-20	0.331879					H-16	0.105128
		C-17	0.487862						
		C-18	-0.213696						
		C-19	-0.342389						
		C-20	-0.303491						
		C-21	-0.006149						
		C-22	0.009646						
		H-21	0.142594						
		H-22	0.14332						
		H-23	0.093979						
		H-24	0.093288						
		H-25	0.116322						

## Parte II

## Parte Química

## VI.III Reactivos y Equipos.

Todos las materias primas utilizadas en las síntesis se adquirieron comercialmente en grado analítico, con excepción de las materias primas iniciales para la síntesis del AHMA, las cuales se obtuvieron en el laboratorio.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johnes y no se están corregidos.

Los espectros de IR se determinaron en un aparato Nicolet FT-5SX en pastilla de KBr. Las unidades se indican en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y HMBC se realizaron en un aparato Varian VxR-300S (300 MHz) y Varian-300S (75 MHz) respectivamente. Los desplazamientos químicos están dados en ppm ( $\delta$ ) y las constantes de acoplamiento se reportan en Hertz. La multiplicidad se expresa como s=singulete, d=señal doble, t=señal triple, c=señal cuadruple, dd=doble de doble, sa=singulete ancho, td=señal triple de doble. Se utilizó como referencia interna TMS y como disolventes DMSO- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  y  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ .

Los espectros de masas se determinaron por el método de IE en un espectrométero JEOL JMS-AX505HA, IQ y FAB<sup>+</sup> en un espectrométero de masas JOELSx102. El ión molecular se indica como  $M^+$ . La nomenclatura se indica como  $m/z$ = masa/carga con su respectiva abundancia relativa.

## VI.IV Cromatografía.

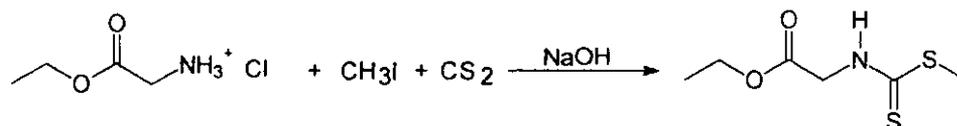
Para las cromatografías en columna se empleó gel de sílice Merck 60 malla 70-230. Para la cromatografía en capa fina preparativa se utilizaron placas de gel de sílice Merck 60 F<sub>254</sub> con un espesor de 2 mm. Los análisis cromatográficos se efectuaron en capa fina analítica siguiendo técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice Merck 60 F<sub>254</sub> espesor 0.2 mm. Para la visualización de las placas se empleó una lámpara de luz UV.

Tabla 13. Sistema de elución empleados

Sistema	Mezcla de disolvente	Proporción
I	Hex/AcOEt	8:2
II	Hex/AcOEt	7:3
III	$\text{CHCl}_3$	-
IV	Hex/AcOEt	1:1
V	$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$	8:2
VI	Tol/THF/AcOH	180:16:1

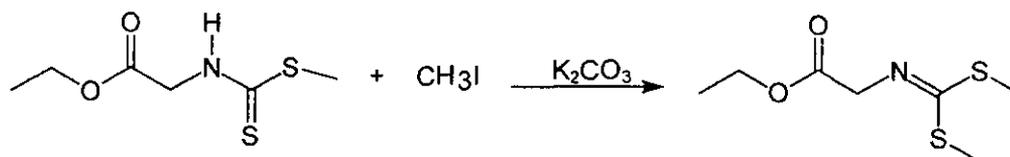
## VI.V Descripción de las síntesis.

### VI.V.I N-[(Etoxicarbonil)metil]ditiocarbamato de metilo (I).



En un matraz bola de 3 bocas acondicionado con termómetro, agitación mecánica y embudo de adición, se mezcló 300 ml de DMSO y 83.76 g ( 0.6 moles) del clorhidrato de glicinato de etilo. La suspensión se agitó vigorosamente a temperatura ambiente hasta la disolución total del sólido. A esta solución se le adicionó, lentamente, 36 ml de una solución 20 M de NaOH, manteniendo la temperatura a 20°C. Terminada la adición, se agregó 48 ml (0.78 moles) de CS<sub>2</sub> lentamente, manteniendo la temperatura a 20°C por medio de un baño de hielo-agua. La adición en esta escala tomó 20 minutos. Se agitó por 45 minutos a temperatura ambiente. La solución naranja se enfrió a 0°C y se adicionaron lentamente 48ml (0.78 moles) de CH<sub>3</sub>I, manteniendo la temperatura interna de la reacción a 0°C. La adición en esta escala fue de aproximadamente 30 min. La agitación se mantuvo por 3 horas a temperatura ambiente (20°C). Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se vertió sobre 3000 ml de una mezcla hielo-agua, con agitación constante. El precipitado formado se aisló y secó por filtración. Se obtuvieron 46.07g (39.78%) de un precipitado ligeramente amarillo (Lit.<sup>82,83</sup> 51%) con un Rf= 0.30 (Sistema I).

### VI.V.II N-[(Etoxicarbonil)metil]iminoditiocarbonato de dimetilo (EMIC, II).

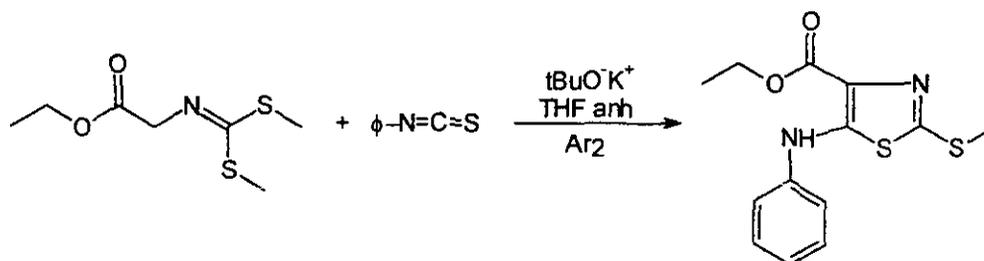


A una solución de 46 g (0.238 moles) del crudo del compuesto I en 120 ml de DMSO se le agregaron, lentamente, una solución acuosa de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (49.5 g en la mínima cantidad de agua), manteniendo la temperatura a 20°C. La adición de la solución en esta escala tomó 30 minutos formando una suspensión oscura. Terminada la adición, la suspensión se enfrió a 0°C en un baño de hielo, se adicionaron lentamente 20 ml (0.32 moles) de CH<sub>3</sub>I, manteniendo la temperatura interna de la reacción a 0°C. La adición tomó 30 minutos. La solución se dejó agitando por 18 horas. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se vertió en 1000 ml de H<sub>2</sub>O con agitación

constante. La solución acuosa se extrajo con AcOEt (400 ml x 3), se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se eliminó el AcOEt, obteniendo 60.76 g de un aceite ámbar. Este aceite se purificó por destilación fraccionada a presión reducida, colectando la fracción que destiló entre 145-160°C. Se obtuvieron 45.32 g (91.87%) de un aceite amarillo claro (Lit.<sup>83</sup> 98%), con un R<sub>f</sub>= 0.4 (Sistema II) al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (película, espectro 1): 2981,2925 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 1748 (carbonilo de éster), 1580 (señal de C=N), 1182 (señal de C=S). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, espectro 2): 1.3 (t, J=7.1, 3H) CH<sub>3</sub>; 4.2 (c, J=7.1) OCH<sub>2</sub>; 2.4 (s, 3H) SCH<sub>3</sub>; 2.57 (s) SCH<sub>3</sub>; 4.2 (s) NCH<sub>2</sub>. EM (IQ, espectro 3): 210 (M<sup>+</sup>+3, 13%); 209 (M<sup>+</sup>+2, 13%); 208 (M<sup>+</sup>+1, 100%); 160 (M<sup>+</sup>-48, 88%); 153 (M<sup>+</sup>-54, 24%).

### VI.V.III 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (III).



En un matraz de tres bocas, tipo europeo, acondicionado con termómetro de tolueno, embudo de adición, condiciones anhidras y atmósfera de Argón, se mezclaron 3.17g (28.30 mmoles) de *terc*-butóxido de potasio en 100 ml de THF anhidro. La suspensión blanca que se formó se enfrió a -75°C. En el embudo de adición se colocó una solución de 4g (19.32 mmoles) de EMIC en 8 ml de THF anhidro. Esta solución se adicionó, gota a gota, a la suspensión de *terc*-butóxido de potasio, manteniendo la temperatura a -75°C; la adición tomó 25 min. Terminada la adición, la mezcla de reacción se dejó agitar por 1.5 horas a la misma temperatura. Posteriormente, se goteó una solución de 2.4 ml de fenilisotiocianato (19.32 mmoles) en 8 ml de THF, manteniendo la temperatura a -75°C. Terminada la adición se agitó a la misma temperatura durante 50 minutos. Posteriormente, se retiró el sistema de enfriamiento. Al acercarse a 0°C, de una solución amarilla se formó un precipitado amarillo, en este punto se debió tener cuidado de que la agitación no se detuviera. Al llegar a la temperatura ambiente, la suspensión se agitó por 17 horas. Después la suspensión amarilla se vertió sobre 1,600 ml de una mezcla hielo-agua, con agitación constante, formando un precipitado blanco cristalino. Este precipitado se aisló mediante filtración con vacío, se lavó con 500 ml de agua y dejó secando toda la noche con succión. Se obtuvieron 5.03 g del 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (88.55%) puro (Lit.<sup>81</sup> 90 %) con un punto de fusión de 79°C (Lit.<sup>81</sup> 79-80°C) y un R<sub>f</sub>= 0.56-0.6 (Sistema I), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

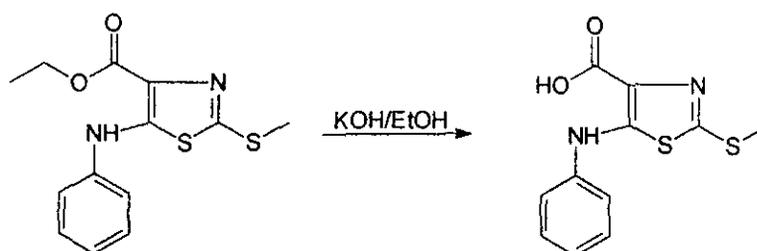
IR (pastilla, espectro 4): 3426 (N-H); 2980, 2927, (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>); 1656, 1540 (C=O), 1271, 1201 (C-S). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, espectro 5): 1.4 (t, J=7.2, 3H)CH<sub>3</sub>; 2.7 (s, 3H)CH<sub>3</sub>-S; 4.5 (c, J=7.2) OCH<sub>2</sub>; 7.1 (dd, J=7.5, 7.2, 1H) H-*p*; 7.3 (dd, J=8.5, 7.5, 2H), H-*m*; 7.2 (d, J=10, 1.5, 2H) H-*o*; 9.8 (s, que intercambia con D<sub>2</sub>O)N-H. El espectro de <sup>13</sup>C (espectro 6) se asignó de la siguiente manera:

Tabla 14. desplazamiento de <sup>13</sup>C para el compuesto III

Grupo	δC ppm	δC Reportado <sup>(81)</sup>
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -	14.5	14.5
CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub>	60.9	60.8
CH <sub>3</sub> -S-	17.6	17.5
C2	155.8	164.7
C4	122.9	140.6
C5	140.5	122.9
C ipso	146.4	155.7
C orto	118.2	123.8
C meta	129.6	129.6
C para	123.8	118.6
COO-	164.7	164.7

EM (IE, espectro 9): 296 (M<sup>+</sup>+2, 11%); 295 (M<sup>+</sup>+1, 17%); 294 (M<sup>+</sup>, 100%); 248 (M<sup>+</sup>-46, 49%); 215 (M<sup>+</sup>-79, 70%); 214 (M<sup>+</sup>-80, 36%).

#### VI.V.IV 4-Carboxi-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (IV).

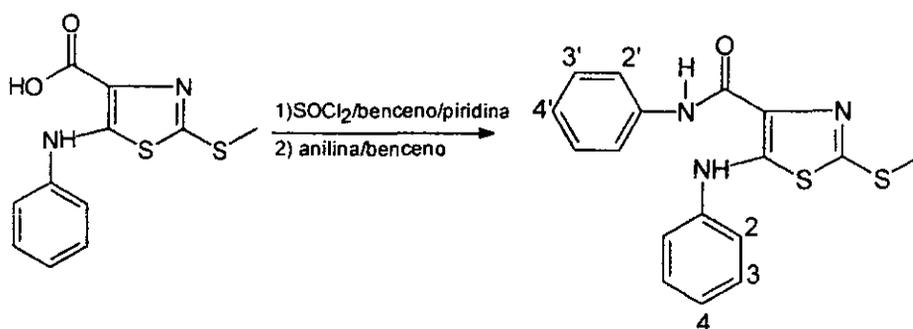


En un matraz bola de 3 bocas, acondicionado con termómetro y agitación magnética, se disolvieron 4.30 g (14.62 mmoles) del compuesto III por agitación en 43 ml de EtOH absoluto. A la solución se le agregó 2.45 g de KOH disueltos en 3.5 ml de H<sub>2</sub>O y se calentó en baño maría a 70°C (reflujo) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió, y vertió sobre 500 ml de H<sub>2</sub>O con agitación constante. Se acidificó con HCl al 10% hasta un pH de aproximadamente 6. El precipitado formado se separó por filtración y dejó secar al vacío. Se obtuvieron 5 g del ácido carboxílico. El producto crudo se recrystalizó de etanol, para obtener 3.51 g ( 90.23%) de cristales

color rosa del 4-Carboxi-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol puro, con un punto de fusión de 142-144°C, sus constantes espectroscópicas son las siguientes:

IR (pastilla, espectro 10): 3258, 3018 (COOH); 3428 (N-H); 1638 (C=O); 1550 (C=N); 1232 (C=S). RMN  $^1\text{H}$  (  $\text{CDCl}_3$ , espectro 11): 2.6 (s, 3H)CH<sub>3</sub>-S; 7.2 (d, J=8.0, 2H) H-*o*; 7.3 (dd, J=7.8, 7.5, 2H) H-*m*; 7.1 (dd, J=7.5, 7.2, 1H)H-*p*; 9.6 (s, intercambia con D<sub>2</sub>O)N-H; 10.7 (sa) COO-H. EM (IE, espectro 12): 267 ( $\text{M}^+$ +1, 21%); 266 ( $\text{M}^+$ , 56%); 265 ( $\text{M}^+$ -1, 45%); 248 ( $\text{M}^+$ -18, 27%); 223 ( $\text{M}^+$ -43, 15%); 222 ( $\text{M}^+$ -44, 76%); 221 ( $\text{M}^+$ -45, 100%); 215 ( $\text{M}^+$ -51, 44%); 189 ( $\text{M}^+$ -77, 44%); 175 ( $\text{M}^+$ -91, 16%).

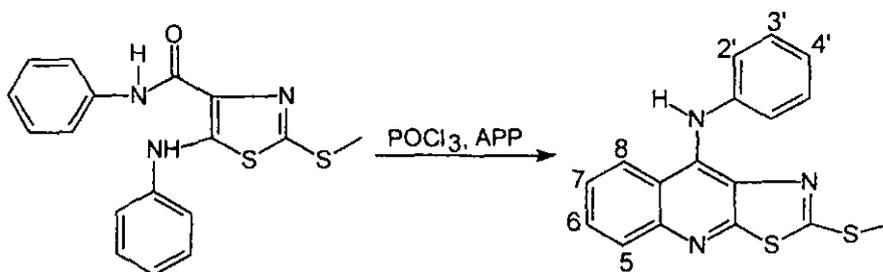
### VI.V.V 5-(Fenilamino)-4-(fenilcarbamoil)-2-(metiltio)tiazol (V).



En un matraz bola de 3 bocas, acondicionado con agitación magnética, termómetro de alcohol y embudo de adición, se pesaron 3.03 g del compuesto IV en condiciones anhidras; posteriormente, se agregaron 35 ml de benceno anhidro y 0.92 ml de piridina anhidra. La suspensión se enfrió a 6°C, se transfirieron al embudo de adición 2.5 ml de  $\text{SOCl}_2$ , y éstos se adicionaron, gota a gota, manteniendo la temperatura anterior. Se formó una suspensión de color naranja que fue tornando a verde. Terminada la adición, la suspensión se dejó agitando por 1.5 horas a 6°C. Posteriormente, se eliminó el exceso de benceno y  $\text{SOCl}_2$  por medio de una destilación a presión reducida utilizando un baño maría. El sólido verde residual se lavó con 15 ml de benceno que nuevamente se destiló. El residuo se disolvió en 25 ml de benceno anhidro, se agregaron 2.5 ml de anilina, y la mezcla de reacción, mantenida en baño de agua fría, se agitó a temperatura ambiente por 1 hora. Después, la solución oscura se vertió sobre 200 ml de agua y se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ . La fase orgánica se lavó con una solución de  $\text{NaHCO}_3$  al 10% (2 x 100 ml), solución salina (2 x 100 ml) y secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. Después de concentrar al vacío se obtuvieron 3.97 g de un sólido, el cual se recrystalizó en etanol. El producto puro, 2.98 g (76.80%) de cristales color verde olivo del 5-(Fenilamino)-4-(fenilcarbamoil)-2-(metiltio)tiazol; dio un punto de fusión de 99-102°C y un  $R_f = 0.68$  (Sistema III), al cual se le determinaron las siguientes constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 13): 3364 (N-H); 1646 (carbonilo de amida); 1594 (C=N); 1560, 1526 (enlace N-C=O); 958, 748, 690 (aromáticos monosustituídos). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , espectro 14): 2.7 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{-S}$ ; 7.1(t,  $J=7.5$ , 2H) H-4 y H-4'; 7.2 (dd,  $J=8.7, 1.0$ , 2H) H-2; 7.3 (m, 4H) H-3 y H3'; 7.65(dd,  $J=9.0, 1.2$ , 2H) H-2'; 8.8(s, 1H) N-H amida; 10.3(s, 1H) N-H. EM (IE, espectro 15): 341 ( $M^+$ , 100%); 248 ( $M^+-93$ , 25%); 234 ( $M^+-107$ , 11%); 215 ( $M^+-126$ , 58%).

### VI.V.VI 9-Anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VI).



En un matraz bola de 2 bocas, acondicionado con termómetro, agitación magnética y condensador, se pesó 1g del derivado V y se añadieron 213 mg de APP y 0.9 ml de  $\text{POCl}_3$ . La mezcla se agitó vigorosamente con calentamiento en baño de aceite a una temperatura de 130-135°C por 4 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, en el cual se observó la fusión del sólido, un reflujo intenso y la formación de un aceite viscoso de color oscuro, se enfrió la reacción a temperatura ambiente y adicionó EtOH, con agitación constante. La reacción es altamente exotérmica y desprende vapores mientras se va formando un precipitado de color naranja. Después de la desaparición del aceite se eliminó el EtOH a presión reducida. La suspensión naranja-rojiza se vertió en 20 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y se neutralizó con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . El sólido naranja-amarillo se separó por filtración y dejó secando con succión durante 12 horas. Se lavó con acetona hasta que el filtrado de acetona fue incoloro. Se obtuvo 1g (98.93%) de un sólido amarillo mostaza de 9-Anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina, con un punto de fusión de 226-229°C y un  $R_f=0.45$  (Sistema I), al cual se le determinaron las siguientes constantes espectroscópicas:

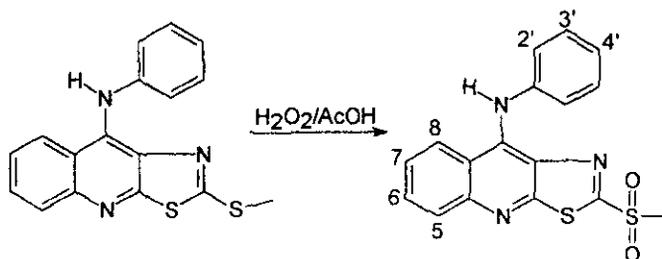
IR (pastilla, espectro 16): 3353 (NH); 3243-2711 (-CH-); 1593 (C=N); 1549-1453 (bandas de aromaticidad); 1415, 1301, 1247 (C-N); 756, 692 (C-S). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , espectro 17): 2.3 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{-S}$ ; 8.4 (d,  $J=8.4$ , 1H) H-8; 7.5 (td,  $J=7.8, 1.5$ , 1H) H-7; 7.7(dd,  $J=8.4, 1.5$ , 1H) H-6; 7.9 (dd,  $J=8.4, 0.9$ , 1H) H-5; 7.1 (d,  $J=7.2$ , 2H) H-2'; 7.3 (dd,  $J=7.8, 7.2$ , 1H) H-3'; 7.0 (dd,  $J=7.5, 7.2$ , 1H) H-4'; 10.5 (s) NH. El espectro de  $^{13}\text{C}$  (espectro 18) se asignó de la siguiente manera:

Tabla 15. Desplazamiento de  $^{13}\text{C}$  para el compuesto VI.

No C	$\delta \text{ C}$	$\delta \text{ C}^{(78)}$
C2	161.9	163.6
C3a	131.4	146.6
C4a	142.3	142.4
C5	127.0	128.3
C6	129.6	128.6
C7	124.3	122.9
C8	123.9	121.8
C8a	119.0	117.3
C9	160.6	158.5
C9a	138.6	145.0
C1'	145.3	-
C2'	121.8	-
C3'	128.1	-
C4'	122.7	-
CH <sub>3</sub> S-	14.5	14.0

EM (IQ, espectro 20): 324 ( $\text{M}^+ + 1$ , 100%); 323 ( $\text{M}^+$ , 83%).

### VI.V.VII 9-Anilino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-b]quinolina (VII).

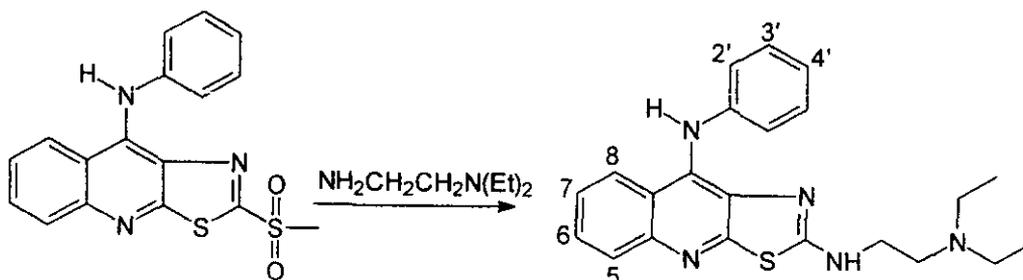


A una solución de 200 mg (0.56 mol) del compuesto VI, en 6 ml de ácido acético, se agregaron 6 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30%. La suspensión se calentó, con agitación constante, en baño maría a  $30^\circ\text{C}$  durante 3 horas. El avance de la reacción se siguió por CCF (Sistema IV). Transcurrido el tiempo se suspendió el calentamiento y se dejó agitando toda la noche a temperatura ambiente. La

solución amarilla se vertió sobre una mezcla de hielo-agua con agitación constante. El precipitado amarillo formado se separó por filtración, se lavó con agua fría y se dejó secar con vacío. Se obtuvieron 180 mg (82.19 %) de un sólido amarillo claro del 9-Anilino-2-(metilsulfonil)thiazolo[5,4-*b*]quinolina, con un punto de fusión de 212-214°C y un  $R_f = 0.53$  (Sistema IV).

IR (pastilla, espectro 21): 3373 (NH); 2921 (-CH-); 1577 (C=N), 1555-1525 (bandas de aromaticidad); 1313, 1140 (-SO<sub>2</sub>-); 745, 690 (S-O). RMN <sup>1</sup>H (acetona d<sub>6</sub>, espectro 22): 3.3 (s, 3H) CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-; 8.3 (dd, J=8.7, 0.9, 1H) H-8; 7.5 (ddd, J=9.0, 8.1, 1.2, 1.8) H-7; 7.8 (dd, J=9.0, 8.4, 1.2, 1.8) H-6; 8.0 (dd, J=8.4, 0.6, 1H) H-5; 7.3 (m) H-1' H-2'; 7.2 (t, J=6.9) H-3'; 9.2 (sa) NH. EM (IE, espectro 23): 355 (M<sup>+</sup>, 100%); 354 (M<sup>+</sup> -1, 18%); 275 (M<sup>+</sup> -80, 41%); 218 (M<sup>+</sup> -137, 42%); 205 (M<sup>+</sup> -150, 13%); 190 (M<sup>+</sup> -165, 27%).

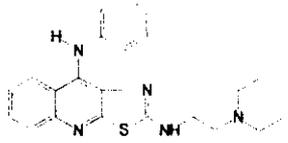
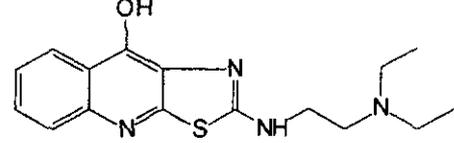
### VI.V.VIII 9-Anilino-2-(*N,N*-dietiletilendiamino)thiazolo[5,4-*b*]quinolina (VIII).



En un matraz bola de 1 boca se pesaron 0.177g (0.5 mmol) del compuesto VII y se adicionaron 0.214 ml (3 mmoles) de *N,N*-dietiletilendiamina. La suspensión se calentó, con agitación constante, a 140 °C por 20 minutos. Transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se adicionó CHCl<sub>3</sub> (30 ml) hasta la disolución total del aceite. La solución clorofórmica resultante se extrajo sucesivamente con una solución de NaOH 1N (3 x 10 ml), una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (3 x 10 ml) y solución saturada de NaCl (3 x 10 ml). La solución clorofórmica se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida. Al concentrar fue precipitando un sólido blanco, el cual se separó por filtración. Se obtuvo un producto puro cromatográficamente, con un punto de fusión de 253-256°C con descomposición y un  $R_f = 0.46$  (Sistema IV, alúmina). Sus constantes espectroscópicas son las siguientes:

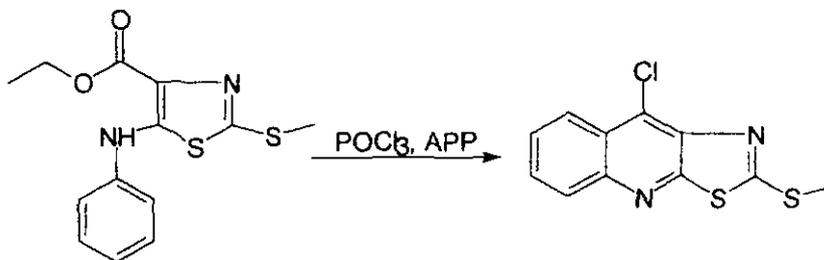
IR (pastilla, espectro 24): 3211 (NH); 3003-2596 (-CH-); 1588 (C=N); 1588-1519 (bandas de aromaticidad); 756 (C-S). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, espectro 25): 0.8 (t, J=7, 6H) CH<sub>3</sub>; 2.3 (c, J= 7.2, 4H) CH<sub>2</sub>; 3.2 (m) CH<sub>2</sub>-NH; 2.5 (dd, J=7.2, 6.3) CH<sub>2</sub>-N; 6.8 (m, 3H) H-2' y H-4'; 7.1(dd, J=8.4, 7.2, 2H) H-3'; 7.4 (dd, J=9.0, 6.0) H-7; 7.5 (dd, J= 9.0, 6.0) H-6; 7.8 (d, J= 9.3, 1H) H-5; 8.0 (d, J=9, 1H) H-8; 8.2 (s, 1H) NH; 8.5(s, 1H) NH. La asignación de <sup>13</sup>C (espectro 26) es de la siguiente manera

Tabla 16. Desplazamiento de  $^{13}\text{C}$  para el compuesto VIII

No Carbono	 $\delta \text{ C ppm}$	 $\delta \text{ reportado}^{(78)}$
C2	161.4	167.0
C3a	144.7	145.4
C4a	131.2	126.6
C5	127.8	128.5
C6	126.8	128.8
C7	124.0	127.7
C8	123.3	124.6
C8a	122.1	126.0
C9	160.1	160.2
C9a	135.8	144.3
C1'	144.0	-
C2'	117.3	-
C3'	128.0	-
C4'	119.0	-
CH <sub>2</sub> -NH	41.6	42.3
CH <sub>2</sub> -N	51.1	52.2
CH <sub>3</sub>	11.7	11.6
CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	46.5	48.5

EM (IE, espectro 28): 391 ( $\text{M}^+$ , 92%); 389 ( $\text{M}^+-2$ , 100 %); 374 ( $\text{M}^+-17$ , 47%); 339 ( $\text{M}^+-52$ , 34%); 326 ( $\text{M}^+-65$ , 18%); 305 ( $\text{M}^+-86$ , 76%); 292 ( $\text{M}^+-99$ , 44%).

### VI.V.IX 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (IX).



En un matraz bola de 1 boca se pesaron 2.94 g (10 mmoles) del compuesto III, se adicionaron 0.710 g de APP y 3 ml de  $\text{POCl}_3$ . La mezcla de reacción se calentó, con agitación constante, a  $136^\circ\text{C}$  durante 4 horas, en las cuales se observó un reflujo vigoroso. Transcurrido el tiempo, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se adicionaron 10 ml de EtOH. La adición fue exotérmica. Se permitió la total hidrólisis del aceite para formar un precipitado de color naranja. La suspensión se vertió en 20 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y se neutralizó con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . El precipitado amarillo se separó por filtración y secó por succión. Se obtuvieron 1.44 g del crudo de 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina. El crudo se suspendió en MeOH y dio 1.20 g (60.3%) del producto puro, con un punto de fusión de  $160^\circ\text{C}$  y un  $R_f = 0.65$  (Sistema I), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 29): 3447, 1583, 1543, 1450, 1371, 1310, 1292, 1014, 751. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , espectro 30): 2.88 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{-S}$ ; 7.6 (td,  $J=7.6, 1.5, 1.2, 1\text{H}$ ) H-7; 7.7 (td,  $J=9, 6.6, 1.8, 1\text{H}$ ) H-6; 8.0 (dd,  $J=7.2, 0.6, 1\text{H}$ ) H-5; 8.3 (dd,  $J= 8.7, 0.9, 1\text{H}$ ) H-8.

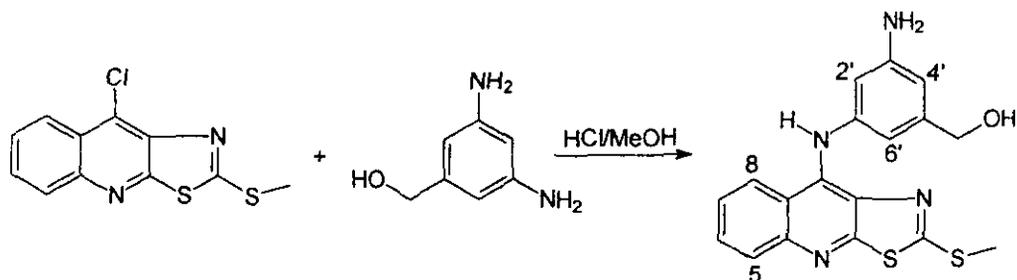
El espectro de  $^{13}\text{C}$  (espectro 31) se asignó de la siguiente manera:

Tabla 17. Desplazamiento  $^{13}\text{C}$  para el compuesto IX.

No de Carbono	$\delta$ de Carbono ppm
C2	172.0
C3a	145.6
C4a	131.1
C5	128.1
C6	129.7
C7	126.9
C8	124.5
C8a	124.7
C9	160.1
C9a	142.1
$\text{CH}_3\text{-S}$	15.3

EM (IE, espectro 32): 268 ( $M^+ + 2, 41\%$ ); 266 ( $M^+, 100\%$ ); 265 ( $M^+ - 1, 15\%$ ); 233 ( $M^+ - 33, 45\%$ ); 221 ( $M^+ - 45, 19\%$ ); 193 ( $M^+ - 73, 19\%$ ); 185 ( $M^+ - 81, 26\%$ ); 184 ( $M^+ - 82, 15\%$ ). EM (FAB $^+$ , espectro 33): 267 ( $M^+ + 1, 50\%$ ); 266 ( $M^+, 16\%$ ); 154 ( $M^+ - 112, 100\%$ ); 136 ( $M^+ - 130, 69\%$ ); 266 ( $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{ClS}_2$ ).

### VI.V.X 9-[[[3-Amino-5-(hidroximetil)]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo [5,4-*b*]quinolina (X).

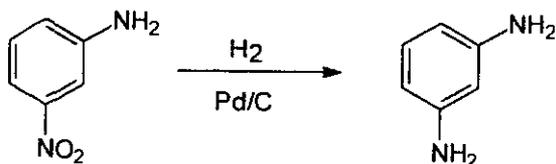


En un matraz bola de 1 boca se pesaron 133 mg (0.5 mmol) del compuesto IX; se agregaron 7 ml de MeOH, 3 ml de H<sub>2</sub>O, 3 gotas de HCl concentrado y se agitó a temperatura ambiente. Por otro lado, en un matraz se mezclaron 105 mg del diclorhidrato del alcohol 3,5-diamino bencílico, 5 ml de MeOH y 200 mg de NaHCO<sub>3</sub>. Se agitó y una vez que se liberaron las bases (se observó una total disolución del precipitado) se tomó la solución sobrenadante, evitando tomar el NaHCO<sub>3</sub> residual, y se adicionó a la solución del compuesto IX. La mezcla se calentó a reflujo por 3 días durante los cuales se monitoreó el avance de reacción por CCF. Si se observaba que no avanzaba la reacción se agregaba otro equivalente del diclorhidrato del alcohol 3,5-diamino bencílico. Transcurrido el tiempo, la solución se neutralizó y filtró para obtener 110 mg del crudo de la reacción; el cual, se purificó por medio de cromatografía preparativa (Sistema V) obteniendo 24.72 mg (13.43 %) del 9-[[[3-Amino-5-(hidroximetil)]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. El resto del crudo se recuperó como materia prima.

RMN<sup>1</sup>H (espectro 34): 2.5 (s) CH<sub>3</sub>-S; 4.2 (d, J=9.0) CH<sub>2</sub>; 4.9(t, J=9.0) OH; 6.1 (s); 6.2 (s); 6.2 (s) H-2', H-4', H-6'; 7.4( td, J=12) H-7; 7.7 (dd, J=15, 9.0) H-6; 7.8 (d, J=12) H-5; 8.2 (d, J=15) H-8; 8.8 (s) NH.

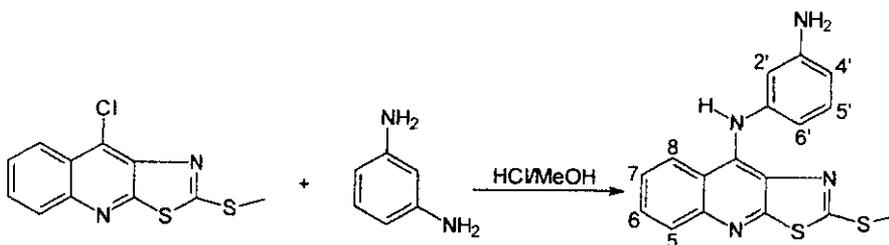
## VI.V.XI 9-[(3-Aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (XI).

a) Síntesis de la *m*-fenilendiamina.



En un reactor para hidrogenación se mezclaron 6 g de *m*-nitroanilina, 250 mg de Pd/C al 10% y 200 ml de MeOH. Se tapó el reactor y se llevó a hidrogenación. La mezcla se filtró sobre celita y la solución clara, que rápidamente se torna oscura, se concentró a presión reducida hasta obtener un aceite de color oscuro del crudo de la *m*-fenilendiamina. Este crudo se guardó como tal en atmósfera de N<sub>2</sub> protegido de la luz para su uso posterior.

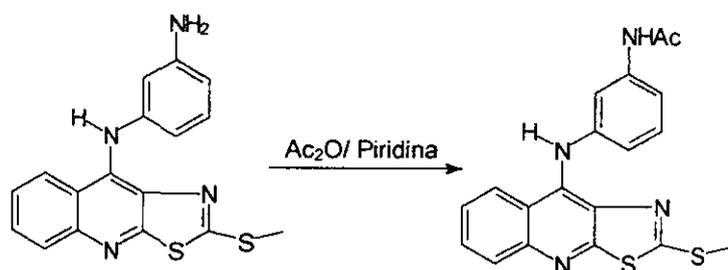
b) 9-[(3-Aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina.



En un matraz bola de 1 boca se pesaron 266 mg (0.1 mmoles) del compuesto IX, se adicionaron 15 ml de MeOH y 2 gotas de HCl. A la mezcla agitada se le adicionaron 80 mg de la *m*-fenilendiamina y se calentó a reflujo por 8.5 horas. Se siguió el avance de la reacción por CCF (Sistema VI). Transcurrido el tiempo se eliminó el MeOH a presión reducida. Se agregaron 25 ml de AcOEt, se agitó y filtró por gravedad. El sólido residual colectado se suspendió en H<sub>2</sub>O y se alcalinizó con una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10%. Después de filtrar y secar con succión, se obtuvieron 250 mg del crudo de reacción. El producto crudo se recristalizó en MeOH para dar 200 mg (59.17%) de cristales amarillos puros del 9-[(3-Aminofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina, con un punto de fusión de 178-183°C y un R<sub>f</sub> = 0.51 (Sistema V), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 35): 3447, 3347, 3301 (NH); 3186 (señal de heteroaromático); 1593 (C=N); 1550, 1490, 1452 (aromáticos). RMN  $^1\text{H}$  (  $\text{CDCl}_3$  +  $\text{DMSO-d}_6$ , espectro 36): 2.6 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{-S-}$ ; 4.2 (sa)  $\text{NH}_2$ ; 6.4(m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 7.0 (dd, J= 9.0, 7.2, 1H) H-5'; 7.3 (dd, J=9.0, 7.5, 1H) H-7; 7.6 (dd, J=7.8, 7.5, 1H) H-6; 7.9 (d, J= 8.4, 1H) H-5; 8.0 (d, J=9.0, 1H) H-8; 8.1 (s, 1H) NH. EM (IE, espectro 37): 338 ( $\text{M}^+$ , 100%); 322 ( $\text{M}^+-16$ , 16%); 305 ( $\text{M}^+-33$ , 55 %).

### VI.V.XII 9-[[3-(Acetamido)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XII).

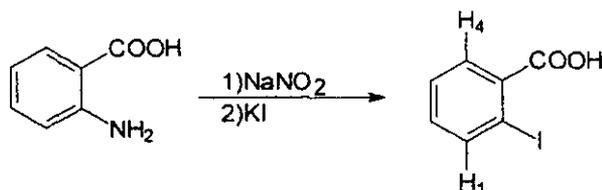


En un matraz bola de 1 boca se pesaron 200 mg (0.6 mmoles) del compuesto XI, se adicionaron 2 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina. La solución se agitó a temperatura ambiente por 14 horas, posteriormente la reacción se vertió sobre 30 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  con agitación constante. Se filtró con succión y el sólido residual se recrystalizó en MeOH. Se obtuvieron 160 mg (71.42 %) del 9-[[3-(Acetamido)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina con un punto de fusión de 207-210°C y un  $\text{Rf}=0.25$  (Sistema IV), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 38): 3283 (NH); 2923 (aromáticos); 1667 (C=O amida); 1586 (C=N); 1551 (NH- aromática). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , espectro 39): 1.2 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{-CO}$ ; 2.4 (s, 3H)  $\text{CH}_3\text{S-}$ ; 6.7 (d, J=12, 1H) H-6'; 7.1-7.3 (m, 3H) H-2'; H-4', H-5'; 7.5 (ddd, J=12.6, 10.5, 2.1, 1H) H-7; 7.7 (ddd, J=12.0, 10.0, 2.1, 1H) H-6; 7.9 (d, J=12.0, 1H) H-5; 8.3 (d, J=12.0, 1H) H-8. EM (IE, espectro 40): 381 ( $\text{M}^++1$ , 21%); 380 ( $\text{M}^+$ , 100 %); 365 ( $\text{M}^+-15$ , 9%); 347 ( $\text{M}^+-33$ , 12 %); 337 ( $\text{M}^+-43$ , 11 %); 305 ( $\text{M}^+-75$ , 13 %).

## VI.VI Metodología para AHMA.

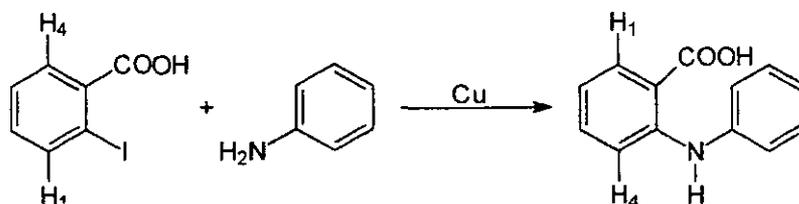
### a) Acido 2-yodobenzoico.



En un vaso de precipitados de 200 ml se pesaron 7 g de ácido antranílico y se suspendieron en 50 ml de H<sub>2</sub>O y 7 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La suspensión se enfrió a 4°C con baño de hielo-sal, y, con agitación constante se le adicionó, lentamente, una solución fría de 3.5 g de NaNO<sub>2</sub> en 12.5 ml de H<sub>2</sub>O. La temperatura se mantuvo entre 4-6°C durante la operación. Terminada la adición se agregó, lentamente, una solución de 3 g de KI en 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a la misma temperatura. Posteriormente, se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente. Después, se calentó a ebullición por 10 minutos (durante este período se observó la evolución de N<sub>2</sub>) y se enfrió. El crudo obtenido se disolvió en 300 ml de CHCl<sub>3</sub>, la solución clorofórmica se lavó con una solución de tiosulfato de sodio 20% (3x 100 ml). El extracto clorofórmico se trató con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para obtener un precipitado de color café claro. Este sólido se disolvió en agua caliente y se trató con carbón activado, se filtró en caliente. Los cristales formados en el seno de la solución se colectaron por filtración. Se obtuvieron 6.53 g (51.53%) del ácido 2-yodobenzoico con un punto de fusión de 155-157°C (Lit.<sup>84</sup> 162-164°C) y un Rf= 0.38 (Sistema VI), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas.

IR (pastilla, espectro 41): 3060 (COOH); 2976 (COO-H); 2878, 2813, 2643 (aromáticos); 1680 (C=O); 1581, 1267, 1014 (aromáticos); 739 (C-I). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, espectro 42): 7.2 (ddd, J=9.0, 6.0, 3.0, 1H) H-3; 7.4 (ddd, J= 9.0, 6.0, 1.2, 1H) H-2; 8.0 (d, J=9.0), (d, J=9.0, 2H) H-1, H-4. EM (IE, espectro 43): 249 (M<sup>+</sup>+1, 7%); 248 (M<sup>+</sup>, 100 %); 231 (M<sup>+</sup>-17, 58%).

### b) Acido N-fenilantranílico.

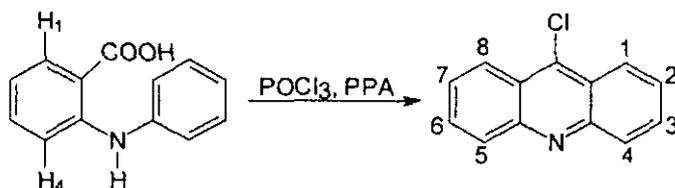


En un matraz bola de 1 boca se pesaron 1.19g del ácido 2-yodobenzoico, 350 mg de Cu en polvo y 3 ml de anilina. Esta mezcla se calentó, con agitación constante, a reflujo por 6.5 hrs. Transcurrido el tiempo de reacción, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se formó una masa verde. Se agregaron 30 ml de HCl 2 N, y el precipitado formado se separó por filtración. El residuo se trató con  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 10% y se agitó por 30 minutos hasta disolución total. La solución oscura obtenida se aciduló con HCl y se formó un precipitado de color rosa, que fue 210 mg del crudo.

Por otro lado, el filtrado ácido se extrajo con AcOEt (2x100 ml), los extractos reunidos se secaron con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se vertió sobre  $\text{H}_2\text{O}$ , se aciduló y filtró. El ácido crudo se disolvió en  $\text{NH}_4\text{OH}$ , se aciduló y filtró de nuevo. Se obtuvieron 200 mg del ácido *N*-fenilantranílico (rendimiento total 40.19%) que por análisis en CCF es igual al crudo obtenido anteriormente con un  $R_f = 0.51$  (Sistema VI), al cual se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 44): 3333 (NH); 3041 (COOH); 1661 (C=O de ácido); 1589 (aromáticos); 1575 (NH). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , espectro 45): 6.7 (dd,  $J=9.0, 6.0, 1\text{H}$ ) H-2; 7.1 (dd,  $J=7.2, 6.9, 1\text{H}$ ) H-3; 7.2 (d,  $J=6.0, 0.9$ ) H-4; 7.3 (m, 5H) fenilo; 8.0 (dd,  $J=9.0, 1.5, 1\text{H}$ ) H-1. EM (IE, espectro 46): 213 ( $M^{+}$ , 75 %); 195 ( $M^{+}-18, 100\%$ ), 167 ( $M^{+}-46, 61\%$ ); 139 ( $M^{+}-74, 7\%$ ).

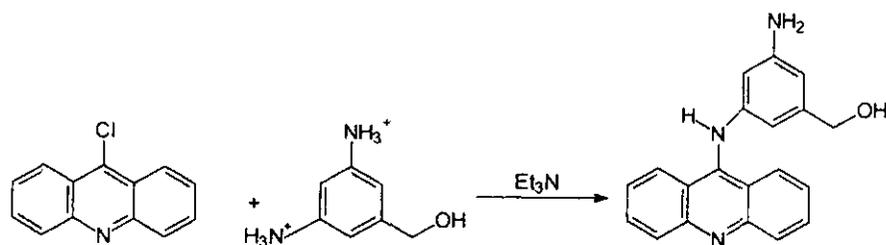
### c) 9-cloroacridina.



En un matraz bola de 1 boca se pesaron 710 mg del ácido *N*-fenilantranílico y se le agregaron 12 ml de  $\text{POCl}_3$ . La mezcla se calentó a reflujo, con agitación constante, por 2 horas, durante las cuales se formó lentamente, una solución verde transparente. Posteriormente, se enfrió a temperatura ambiente, y, se adicionó a una mezcla agitada de  $\text{NH}_4\text{OH}$ -hielo. Por filtración de la mezcla se obtuvieron 1.33 g del crudo. El crudo se suspendió en 20 ml de MeOH y dió 0.73 g (98.59 %) de la 9-cloroacridina, con un punto de fusión de  $160^\circ\text{C}$ .

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , espectro 47): 7.6 (dd,  $J=8.1, 7.5, 1\text{H}$ ) H-2 y H-7; 7.8 (dd,  $J=8.4, 7.2, 1\text{H}$ ) H-3 y H-6; 8.3 (d,  $J=8.7, 1\text{H}$ ) H-4 y H-5; 8.4 (d,  $J=8.7, 1\text{H}$ ) H-1 y H-8. EM (IE, espectro 48): 215 ( $M^{+}+2, 34\%$ ); 213 ( $M^{+}, 100\%$ ); 195 ( $M^{+}-18, 22\%$ ); 178 ( $M^{+}-35, 30\%$ ); 167 ( $M^{+}-46, 11\%$ ); 151 ( $M^{+}-62, 10\%$ ).

## d) 3-[(9-Acridinil)amino]-5-(hidroximetil)anilina (AHMA).



En un matraz bola de una boca se pesaron 213 mg (1 mmol) de 9-cloroacridina, 210 mg del diclorhidrato del alcohol 3,5 diamino bencilico (1 mmol), 202 mg (0.278 ml, 2 mmol) de trietilamina y se adicionaron 4 ml de MeOH. La mezcla se calentó a reflujo, con agitación constante, por 4 horas. Transcurrido el tiempo se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. Del precipitado formado se tomaron 100 mg, se disolvieron en MeOH, se aplicaron a una placa preparativa y se eluyó con el sistema V. Se separó la fracción más polar para obtener 28.2 g del producto puro al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 49): 3412 (amina secundaria); 3091-2878 (aromáticos). RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, espectro 50): 4.3 (d, J=5.4, 2H) CH<sub>2</sub>; 5.0 (dd, J=6.0, 5.1, 1H) OH; 6.1 (s, 1H); 6.2 (s, 1H); 6.4 (s 1H) H-2', H-4', H-6'; 7.2 (m, 2H) H-2 y H-7; 7.7 (m) H-3 y H-6; 8.12 (s) H-4 y H-5; 8.15 (s) H-1 y H-8; 11.8 (sa) NH.

## **VII. CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

En el desarrollo de este estudio se obtuvieron 5 compuestos derivados de las 9-anilino acridinas y de las 9-hidroxitiazolo[5,4-*b*]quinolinas. Estos derivados fueron diseñados mediante el estudio de las propiedades electrostáticas de las moléculas patrón empleando el método semiempírico de AM1.

Con los resultados obtenidos se podrán definir los posibles requerimientos electrostáticos de los compuestos que se pretende que funcionen como intercaladores. La conclusión a la cual se llegó es que la relación espacial que guarda el anillo de anilino con respecto al sistema tricíclico es importante en el proceso de intercalación.

La sustitución de un anillo bencénico por su isómero de tiazol tiene como objetivo el incrementar las propiedades electrostáticas del núcleo lo cual podría influir en la actividad biológica.

Por otra parte se sabe que la presencia de grupos electrodonadores presentes en el anillo de anilino de las 9-anilinoacridinas favorece la actividad biológica. Considerando esto, la incorporación de grupos amino en los derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolinas podría ser determinante en sus propiedades biológicas. El análisis del potencial molecular electrostático de esta molécula mostró un incremento en el potencial localizado sobre el anillo de anilino. Estos grupos amino podrían estar favoreciendo la intercalación mediante la formación de puentes de hidrógeno. Si lo anterior resulta cierto, se esperaría que la 2-metil-9-fenilendiaminotiazolo[5,4-*b*]quinolina fuera más activo que la 2-metil-9-anilino[5,4-*b*]quinolina.

Con el fin de estudiar lo anterior, se decidió monoacetilar al amino primario. Por medio del potencial molecular electrostático se observó que la densidad se localiza ahora sobre el átomo de oxígeno del grupo carbonilo. Esto permitirá explorar el papel que tiene este grupo electrodonador.

La incorporación de un nuevo electrodonador como el hidroximetilo al anillo de anilino se sabe que es importante para mantener la actividad biológica, razón por la cual se decidió añadir a la molécula anterior este grupo. El estudio de su potencial molecular electrostático muestra una zona adicional localizada sobre el grupo hidroxilo.

Por otra parte, las cadenas de alquilamino presentes como sustituyentes en el sistema tricíclico presentan un alto grado de libertad, lo cual parece favorecer la intercalación en el surco menor del DNA, además de la presencia de grupos electrodonadores en estas. Como se mencionó anteriormente, en este tipo de moléculas existen dos residuos que intercalan en el surco menor (anilino y *N,N*-dietil-etilendiamino). Cabe destacar que la presencia de la cadena de *N,N*-dietil-etilendiamino no altera las zonas de isopotencial (zonas A, B y C) que presentan todas las moléculas propuestas.

Por lo dicho anteriormente, este tipo de moléculas resultan novedosas debido a sus propiedades electrostáticas que pueden emular a las 9-anilino acridinas pero con una intensidad mayor.

Una de las perspectivas de este estudio sería la evaluación biológica de los compuestos obtenidos, así como la determinación de su mecanismo de acción.

## **VIII. BIBLIOGRAFIA.**

## BIBLIOGRAFIA

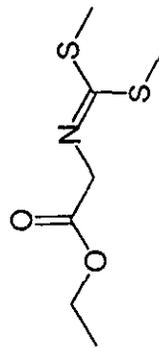
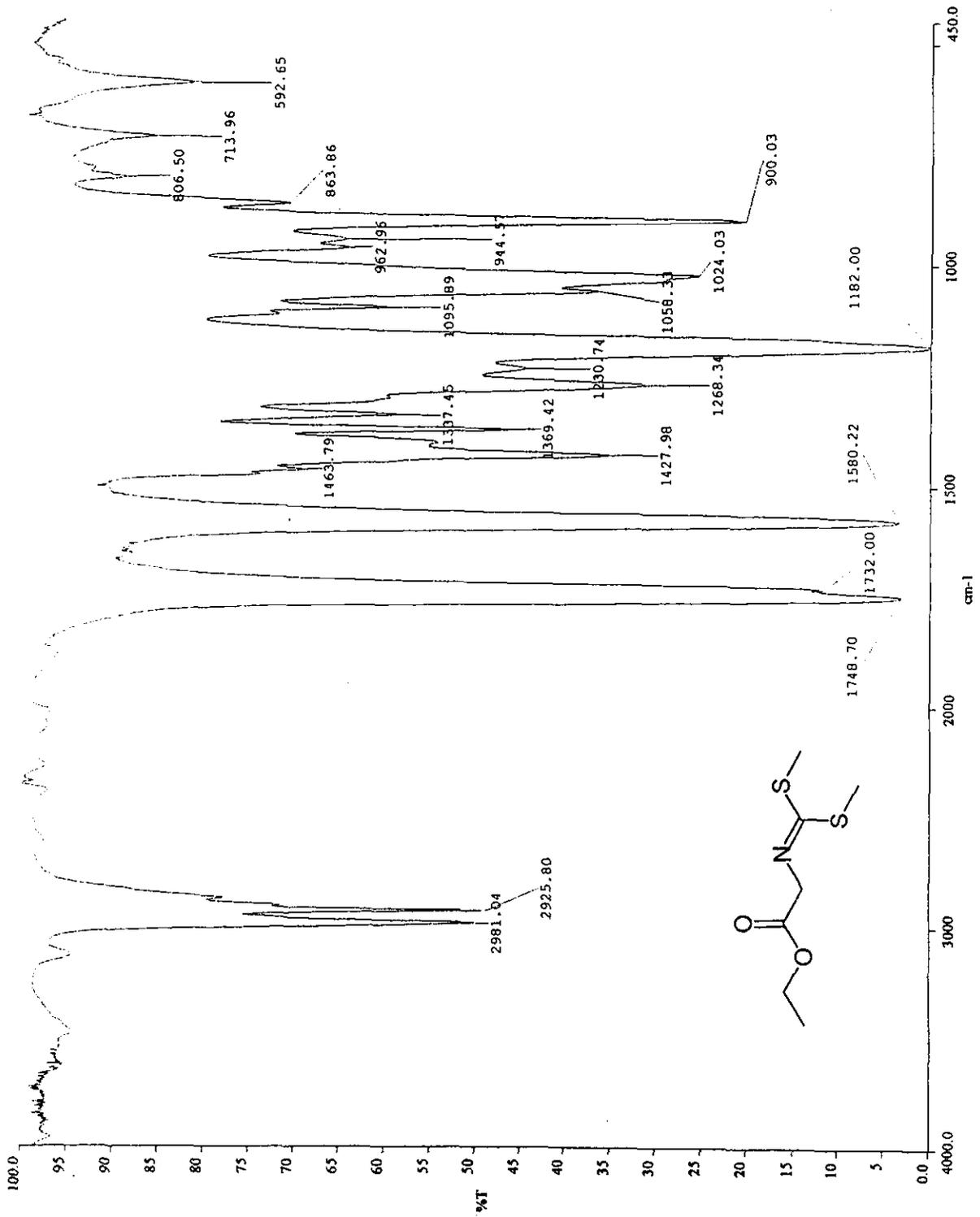
1. La Fond, R.; Cancer; The outlaw cell; American Chemical Society, Washington, D.C.; 1988.
2. Goodman & Gilman; The Pharmacological basis of therapeutics; ed Addison Wesley; 11 ed; volume 2; 1988.
3. Hansh, C.; Comprehensive Medicinal Chemistry; Pergamon Press; 1990; volume 2; pp 10.1.
4. Cain, B. F.; Atwell, G. J.; *J. Med Chem*; **1968**; *11*; 963
5. Cain, B. F.; Atwell, G. J.; Seelye, R.N.; *J. Med Chem*; **1969**, *12*, 199-206
6. Atwell G.J.; Cain B. F.; *J. Med Chem*; **1967**; *10*,706.
7. Lerman,L.; *J. Mol. Biol.*; **1961**, *3*, 18.
8. Luzzati, V.; Mason F.; Lerman, L.; *J. Mol. Biol.*; **1961**, *3*, 364.
9. Waring,M.J.; *Biochim. Biophys. Acta*; **1964**; *87*, 358.
10. Cain, B.F.; Atwell, G. J.; Seelye, R.N.; *J. Med. Chem.*; **1971**; *14*, 311.
11. Hansh C.; Sterrand A.R.; Anderson S. M.; *J. Med. Chem.*; **1968**; *11*; 1.
12. Atwell, G. J.; Cain B.F.; Seelye, R.N.; *J. Med. Chem.*; **1972**; *15*; 611.
13. Subramanian E.; Trotter J.; Bugg C.E.; *J. Cryst. Mol Struct.*; **1971**; *1*; 3.
14. Cain B.; Seeley R.; Atwell G.; *J. Med Chem.*; **1974**; *17*; 922.
15. Cain B.F.; Atwell G.J.; Denny W.A.; *J. Med. Chem.*; **1975**; *18*; 1110.
16. Cain B.F.; Atwell G.J.; *J. Med Chem.*; **1976**; *19*; 1124.
17. Cain, B.F.; Baguley, B.C.; Denny W.A.; *J. Med Chem.*; **1978**; *21*; 658.
18. Denny, W.A.; Atwell, G.J.; Cain, B.F.; *J. Med Chem.*; **1979**; *22*; 1453.
19. Arlinh, Z.A.; Sklaroff, R.B.; Gee, T.S.; *Cancer Res.*; **1980**, *40*, 3304.
20. Cain, B.F.; Atwell, G.L.; *Eur. J. Cancer*; **1974**; *10*, 539-549.
21. Arlinh, Z.; *Cancer Treat. Rep.*; **1983**; 967-970.
22. Nelson, E.M.; Tewey, K.M.; Leu L. F.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*; **1984**; *81*; 1361.
23. Pommier, Y.; Zwelling, L.A.; Kao- Shaw; *Cancer Research*; **1985**; *45*; 3143.
24. Hall, D.; Swann, D.A.; Waters, F.N.; *J. Chem Soc. Perkin Trans. 2*; **1974**; 1334.
25. Baguley B.C.; Denny, W.A.; Cain, B.F.; Atwell G.J.; *J. Med. Chem.*; **1981**; *24*; 170.
26. Denny, W.A.; Cain, B.F.; Atwell, G.J.; Hansch, C.; Panthananickal, A.; Leo A.; *J. Med. Chem.*; **1982**; *25*; 276.
27. Hansch, C.; Drug Design, Ariens, E.J., ed. Academic Press: New York, 1971; Vol. I, p 271.
28. Martin, Y. C.; Quantitative Drug Design: A Critical Introduction; Marcel Dekker: New York, 1978
29. Panthananickal, A.; Hansch, C.; Leo, A.; Quinn, F.R.; *J. Med. Chem.*; **1978**; *21*; 16.
30. Panthananickal, A.; Hamsch, C.; Leo, A.; *J. Med. Chem.*; **1979**; *22*, 1267.
31. Denny, W.A.; Atwell, G.J.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1983**; *26*;1625.
32. Karle, J.M.; Cysik, R.L.; Karle, I.L.; *Acta Crystallogr., Sect B*; **1980**; *B 36*, 3012.
33. Feigon J.; Denny W.A.; Leupin W.; Kearns D.R.; *J. Med Chem.*; **1984**; *27*, 450.

34. Dinesen J.; Jacobsen, J. P.; Hansen, F.P.; Pedersen E.B.; *J. Med. Chem.*; **1990**; *33*; 93.
35. Atwell, G.J.; Rewcastle G.W.; Denny, W.A.; Cain, B.F.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1984**; *27*; 367.
36. Finlay, G.J.; Baguley, B.C.; Wilson, W.R.; *Anal. Biochem.*; **1984**; *139*; 272.
37. Baguley, B.C.; Denny, W.A.; Atwell, G.J.; Cain, B.F.; *J. Med. Chem.*; **1981**; *24*; 520.
38. Denny W.A.; Atwell, G.J.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1983**; *26*; 1619.
39. Atwell, G.J.; Baguley B.C.; Finlay, G. J.; Rewcastle, G. W.; Denny, W.A.; *J. Med. Chem.*; **1986**; *29*; 1769.
40. Atwell, G.J.; Rewcastle G.W.; Baguley, B.C.; Denny W.A.; *J. Med. Chem.*; **1987**; *30*; 652.
41. Shoemaker, D.D.; Cysik, R.L.; Gormiey, D.E.; De Souza, J. *Cancer Res.*; **1984**; *44*; 1939.
42. Pommier Y.; Minford J. K.; Schwartz R.E.; *Biochemistry*; **1985**; *24*; 6410.
43. Bernadou, J.; Meunier, G.; *J. Med. Chem.*; **1983**; *26*; 574.
44. Jurlina J.L.; Lindsay A. ; Packer J.E.; Baguley B.C.; Denny, W.A.; *J. Med. Chem.*; **1987**; *30*; 473.
45. Atwell G. J.; Rewcastle G. W; Baguley B.C.; *J. Med. Chem.*; **1987**; *30*; 652.
46. Su, T.L.; Huang, J. - T; Watanabe, K.A; *J. Med. Chem.*; **1995**; *38*; 3226.
47. S.u, T. - L., Huang, J. - T.; Watanabe, K.A; *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*; **1993**; 2241.
48. Chou, T. - C.; Leteurtre, F.; Su, T. -L.; Watanabe, K. A.; *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*; **1994**; 368.
49. Schneide, E.; Hsiang Y. H.; Liu, L.F.; *Adv. Pharmacol.*; **1990**; *21*; 149.
50. Gabbay, E.J.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1968**; *90*; 6574.
- 50<sup>a</sup>) Gabbay, E.J.; depaolis, A.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1971**; *93*; 562.
- 50<sup>b</sup>) Atwell G. J.; Cain, B.F.; Baguley, B.C.; Finlay G.J.; Denny W.A.; *J. Med. Chem.*; **1984**; *27*; 1481.
51. Denny, W.A.; Atwell, G.J.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1984**; *27*; 363.
52. Baguley, B.C.; Denny, W.A.; Atwell G. J.; *Cancer Research*; **1984**; *44*; 3245.
53. Denny, W.A.; Atwell, G. J.; Rewcastle, G. W.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1987**; *30*; 658.
54. Chen, φ.; Deady, L. W.; Baguley B. C.; Denny, W. A.; *J. Med. Chem.*; **1994**; *37*; 593.
55. Baguley, B.C.; Denny, W. A.; Atwell, G. J.; Finlay, G.J.; *Cancer Research.*; **1984**; *44*; 3245.
56. Denny, W. A.; Atwell, G. J.; Baguley, B. C.; *J. Med. Chem.*; **1984**; *27*; 363.
57. Islam S.A.; Neidle, S.; Gandecha, B.M.; Partridge, M.; *J. Med. Chem.*; **1985**; *28*; 857.
58. Yen, -S.F.; Gabbay, E.J.; Wilson, W. D.; *Biochemistry*; **1982**; *21*; 2070.
59. Wakelin, L. P. G.; Chetcuti, P.; Denny, W.A.; *J. Med. Chem.*; **1990**; *33*; 2039.
60. Antonini, H.; Polucci, P.; Jenkins, T.C.; Kelland, L.R.; *J. Med. Chem.*; **1997**; *40*; 374.
61. Rewcastle, G. W.; Denny, W.A.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1987**; *30*; 843.
62. Chen Q.; Deady, L.W.; Baguley, B.C.; Denny, W.A.; *J. Med. Chem.*; **1994**; *37*; 593.
63. Wilson, W.R.; Anderson, R.T.; Denny, W.A.; *J. Med. Chem.*; **1989**; *32*; 23.
64. Sebolt, J. S.; Scavone, S.V.; Pister, C.D.; *Cancer Res.*; **1987**; *47*; 4299 - 4304.

65. LoRusso, P.; Wozniak, A.J.; Polin, L.; *Cancer Reserach*; **1990**; *50*; 4900.
- 65\*) Sebolt - Leopold, J.S.; Scavone, S.; *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1991**, *32*, 334
66. Capps, D. B.; Dunbar, J.; Kesten, S.R.; *J. Med. Chem.*; **1992**; *35*; 4770, 4778.
67. Horwitz, J.P.; Massova T.; Wieset, T.E.; *J. Med. Chem.*; **1993**; *36*; 3511.
- 67\*) Cramer, R. D.; Datterson, D. E.; *J. Am. Chem Soc.*; **1998**; *110*; 5959.
68. Lee, H.H.; Wilson, W.R.; Ferry, D. M.; *J. Med. Chem.* **1996**; *39*; 2508.
69. Spicer, J.A.; Gamage, S.A.; Atwell, G.J.; *J. Med. Chem.*; **1997**; *40*; 1919.
70. Mc. Connaughie A. W.; Jenkins, T.C.; *J. Med. Chem.*; **1995**; 3488.
71. Creech, H. J.; Preston, R. K.; Peck, R. M.; *J. Med. Chem.*; **1972**; *15*; 739.
72. Creech, H. J.; Breuninger, E., *Cancer Research*; **1960**; *20*; 471.
73. Gourdie, C. A.; Valu, K. K.; Gravatt, G. L.; *J. Med. Chem.*; **1990**; *33*; 1177.
74. Bowler, B. E.; Ahmed, K.J.; Sundquist, W. I.; Hollis, L. S.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1989**; *111*; 1299.
75. Sundquist, W. I.; Bancroft, D. P.; Chassat, L.; Lippard, S. J.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1988**; *110*; 8559.
76. Palmer, B. D.; Lee, H. H.; Johnson, P.; Baguley, B.C.; *J. Med. Chem.*; **1990**; *33*; 3008.
77. Lee, H. H.; Paimer, B. D.; Baguley, B.C.; Chin, M.; *J. Med. Chem.*; **1992**; *35*; 2983.
78. Alvarez-Ibarra C.; Fernández - Grauda R.; Quiroga, M.A.; *J. Med. Chem.*; **1997**; *40*; 668.
79. Gunaawardana, G. P.; Kohmoto, S.; Gunasekera, S.P.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1988**; *110*; 4856.
80. Gunawardana G. P.; Kohmoto, S.; Bures, N. S.; *Tetrahedron Lett.*; **1989**; *30*; 4359.
81. Alvarez-Ibarra C.; Gil, M.; *Heterocycles*; **1988**; *27*; 2177.
82. Garin, J.; Martínez, V.; Mayoral, J.; Meléndez, E.; Merchan, F.; *Synthesis*, **1981**, 961.
83. Alvarez-Ibarra, C.; Cereceda, J.A.; Ortiz, P.; Vicente, A.; Quiroga, M.L.; *Tetrahedron Letters*; **1985**; *26*; 243.
84. Aldrich; compuesto 41, 846-3.
85. Alvarez-Ibarra, C.; Gil, M.; Ortiz, P.; Quiroga, M.L.; *Heterocycles*; **1988**; *27*; 2175.

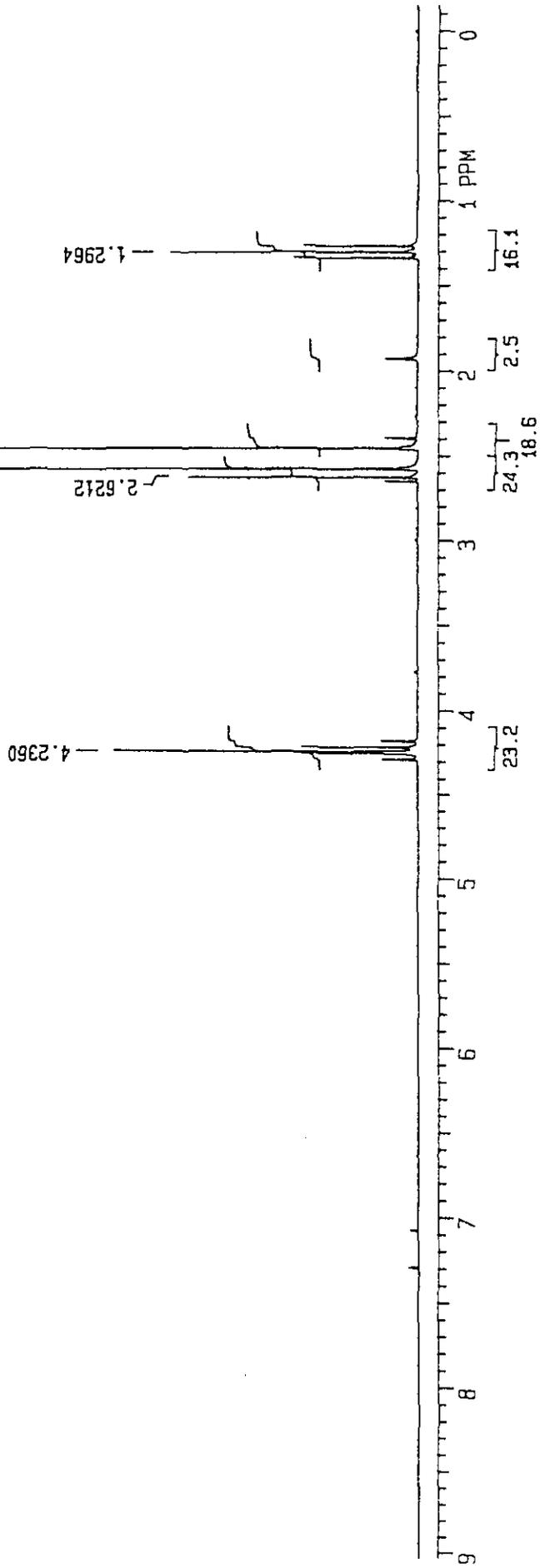
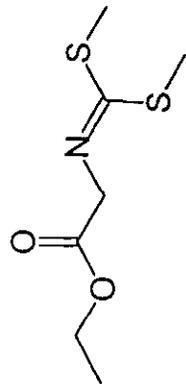
## **IX. ESPECTROS.**

Espectro 1

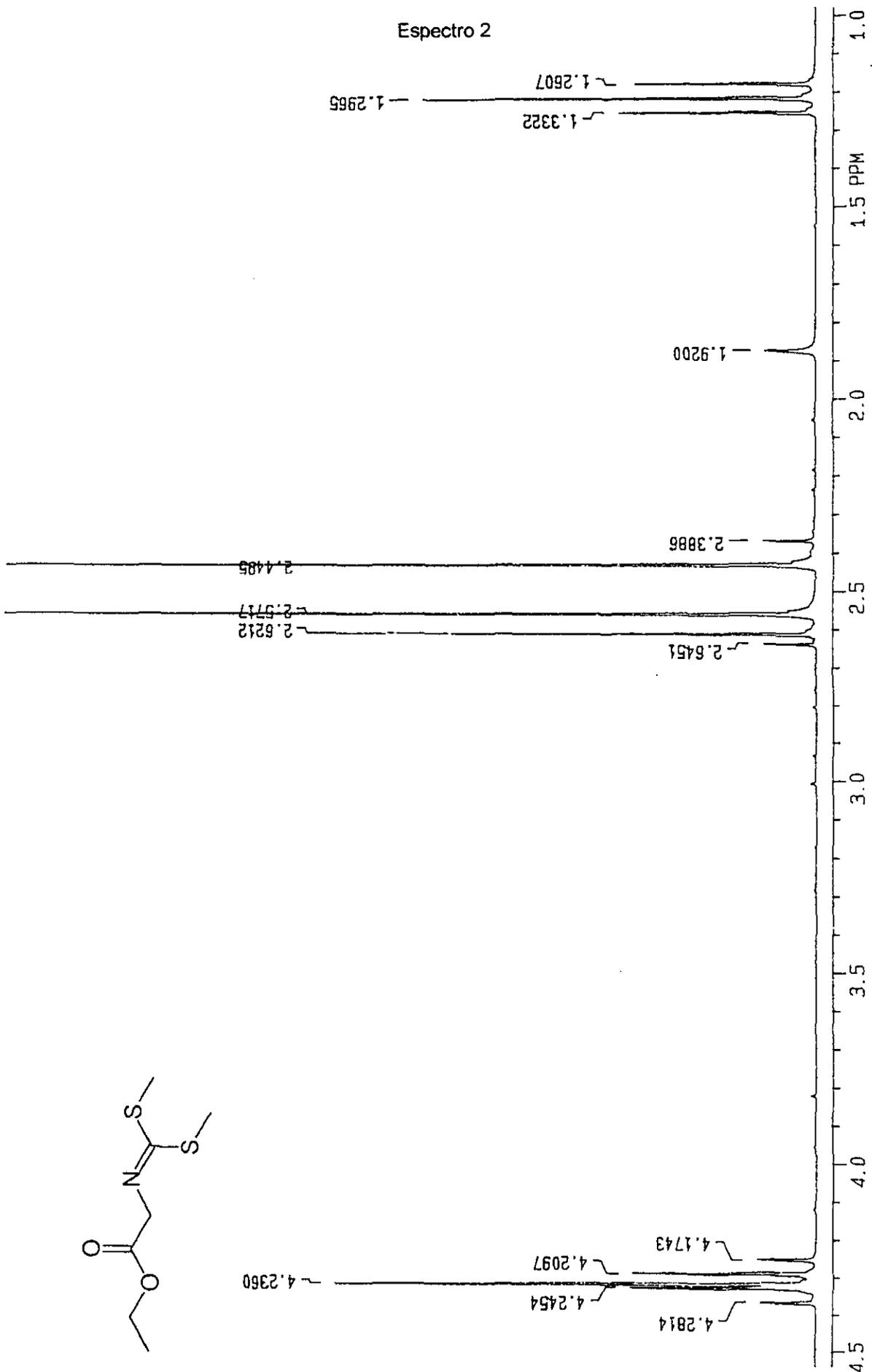


a:\spectra\arith.001

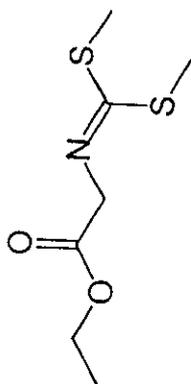
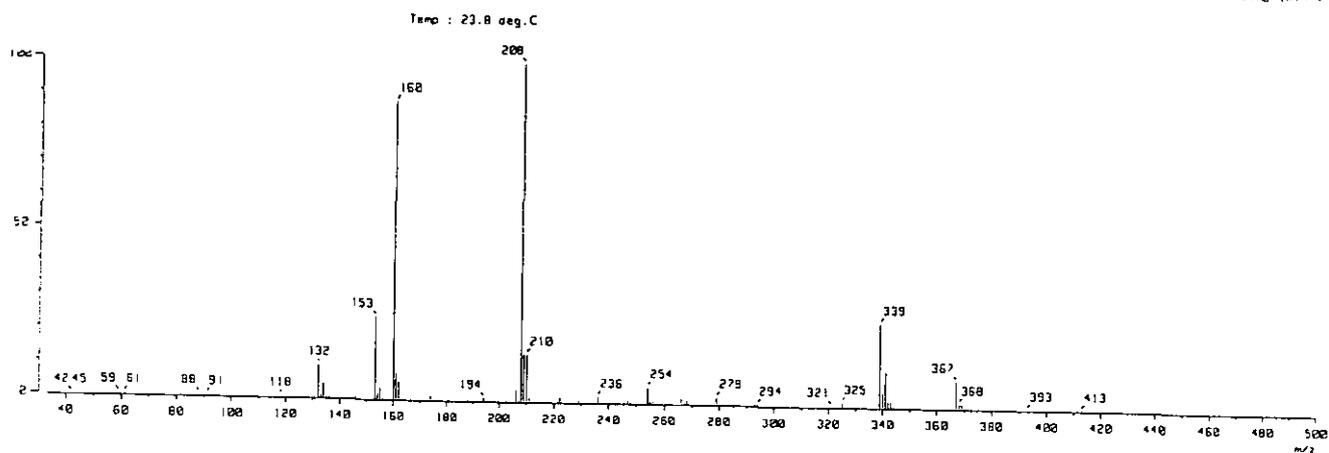
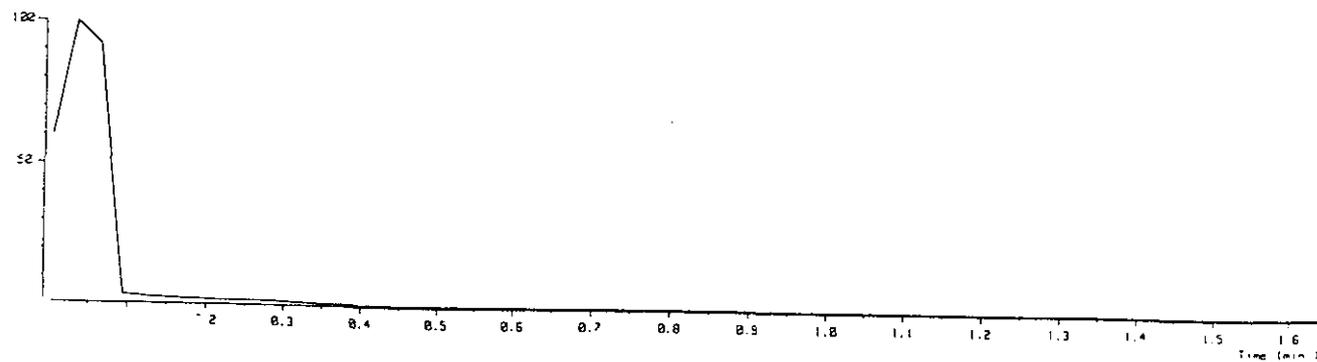
Espectro 2



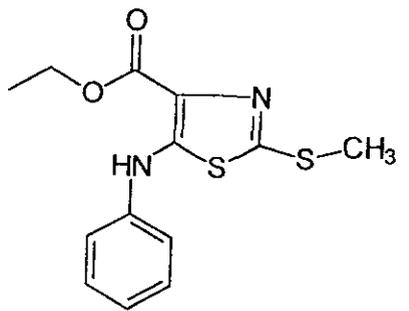
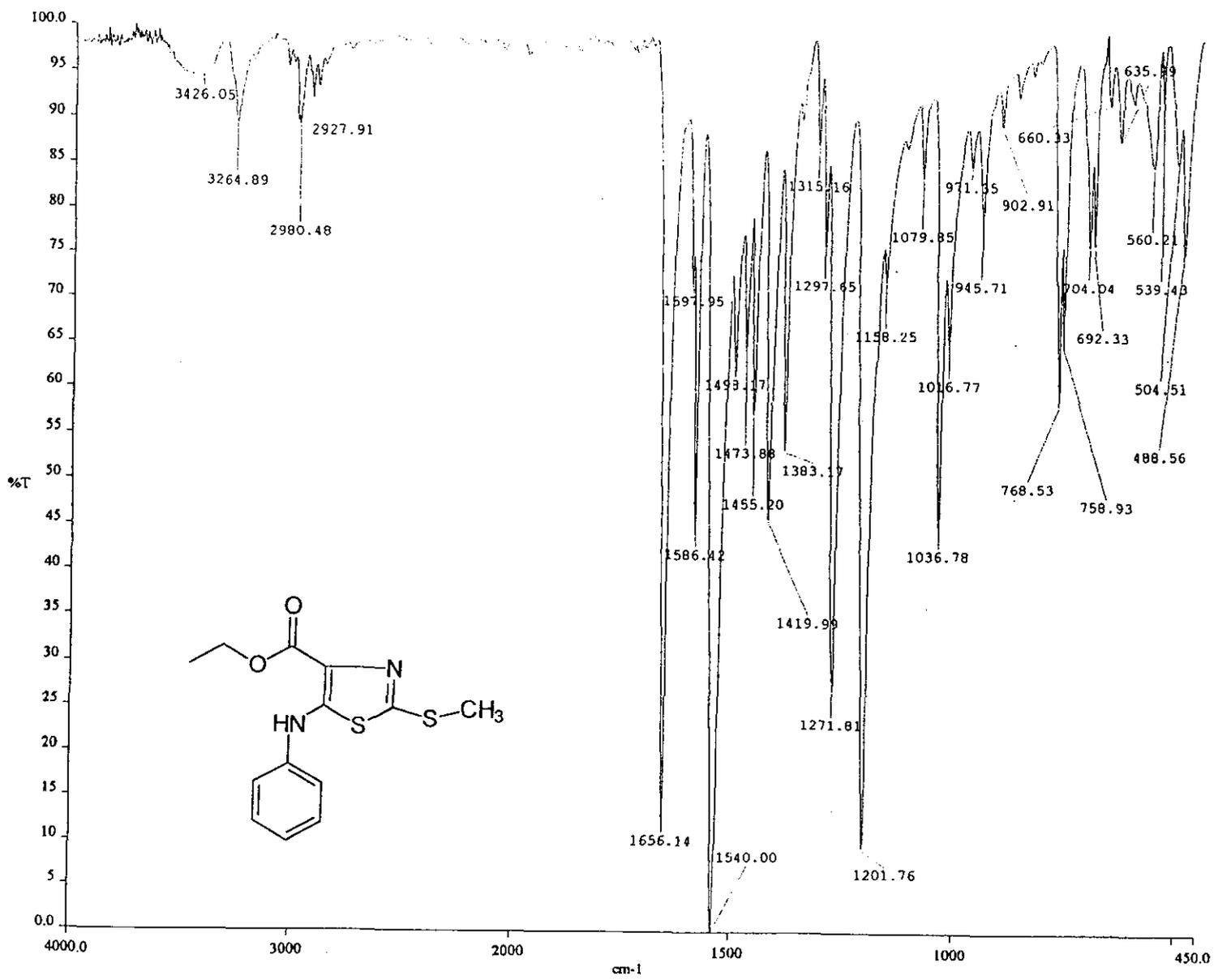
Espectro 2



# Espectro 3



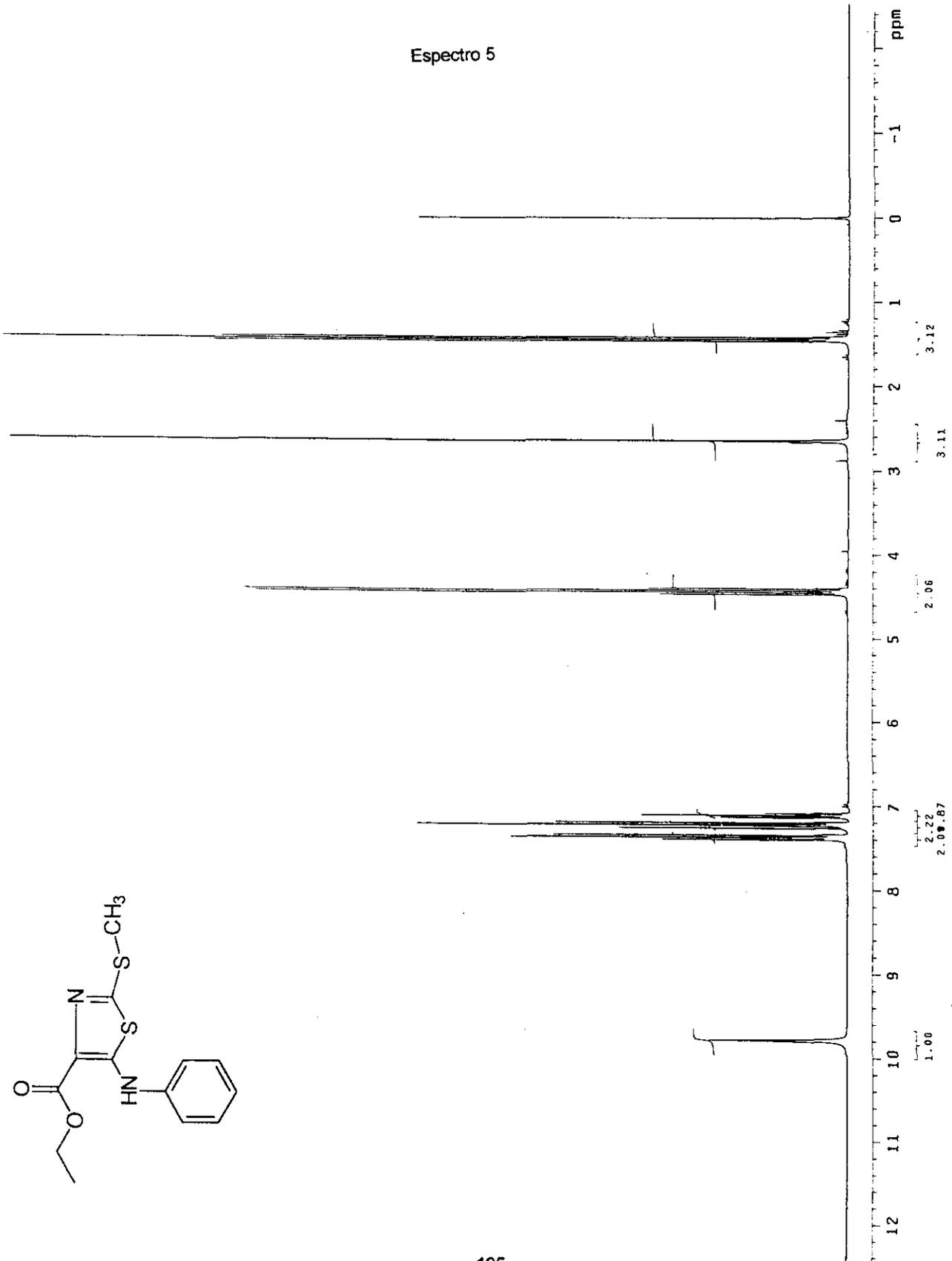
124

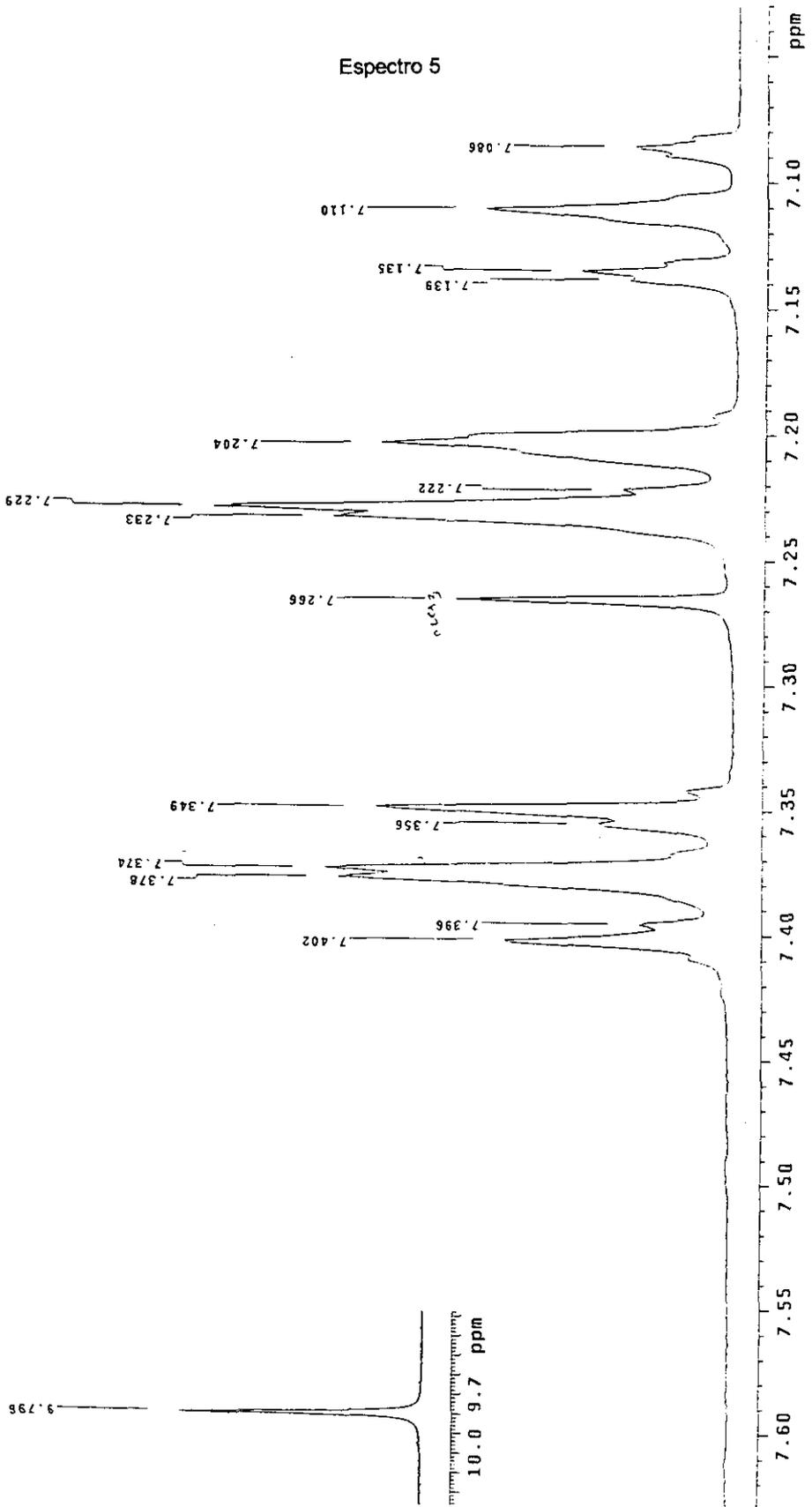
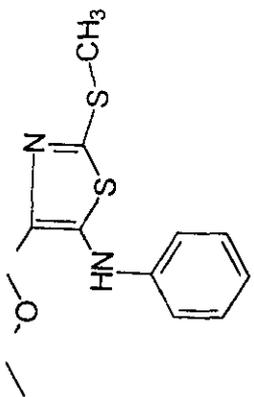


a:\spectra\ar1th.003

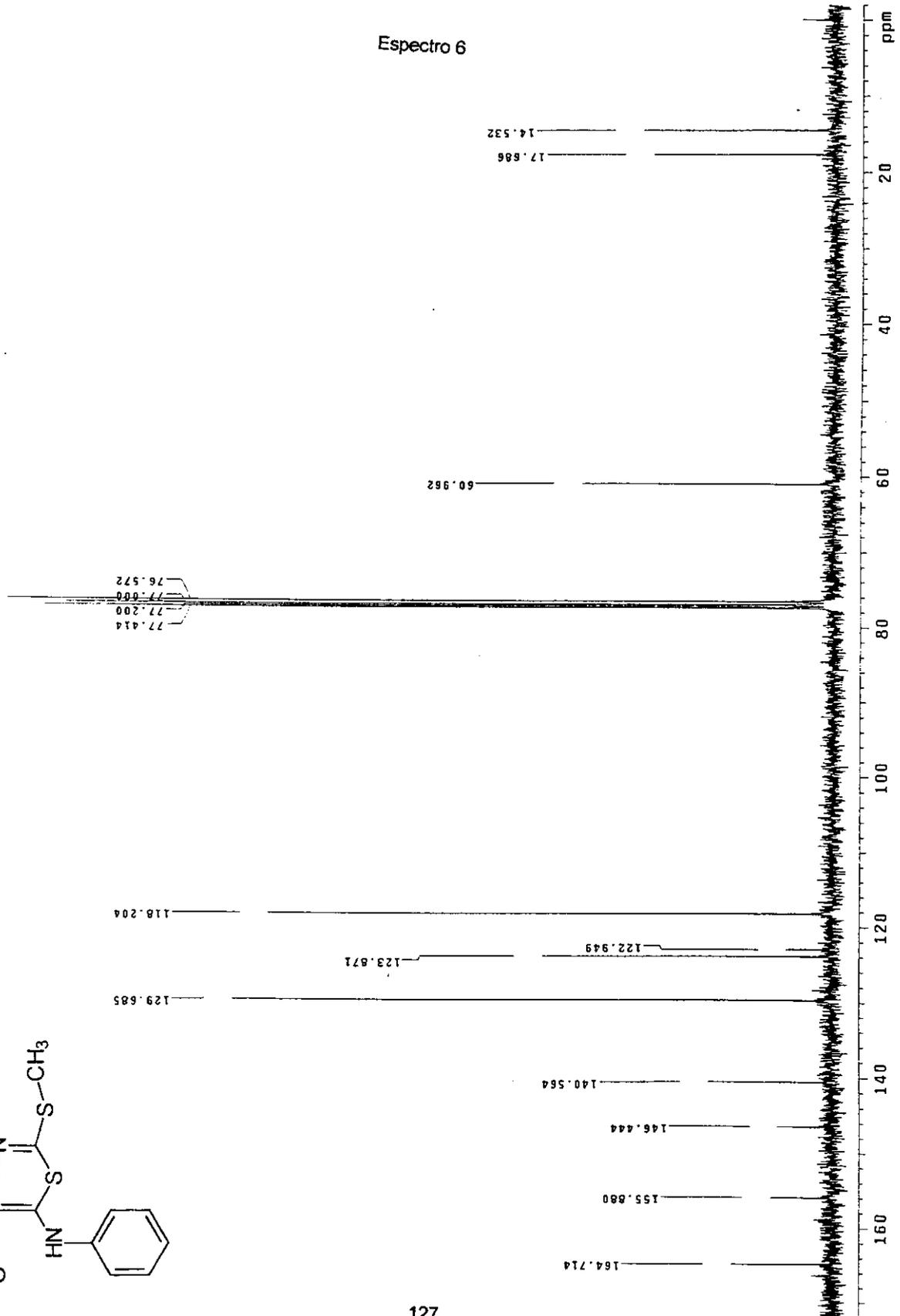
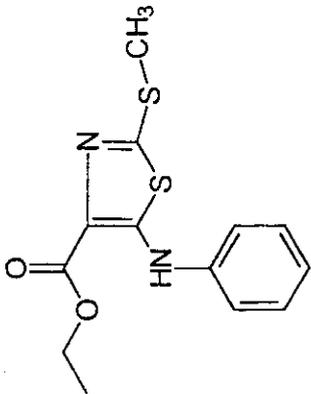
Espectro 4

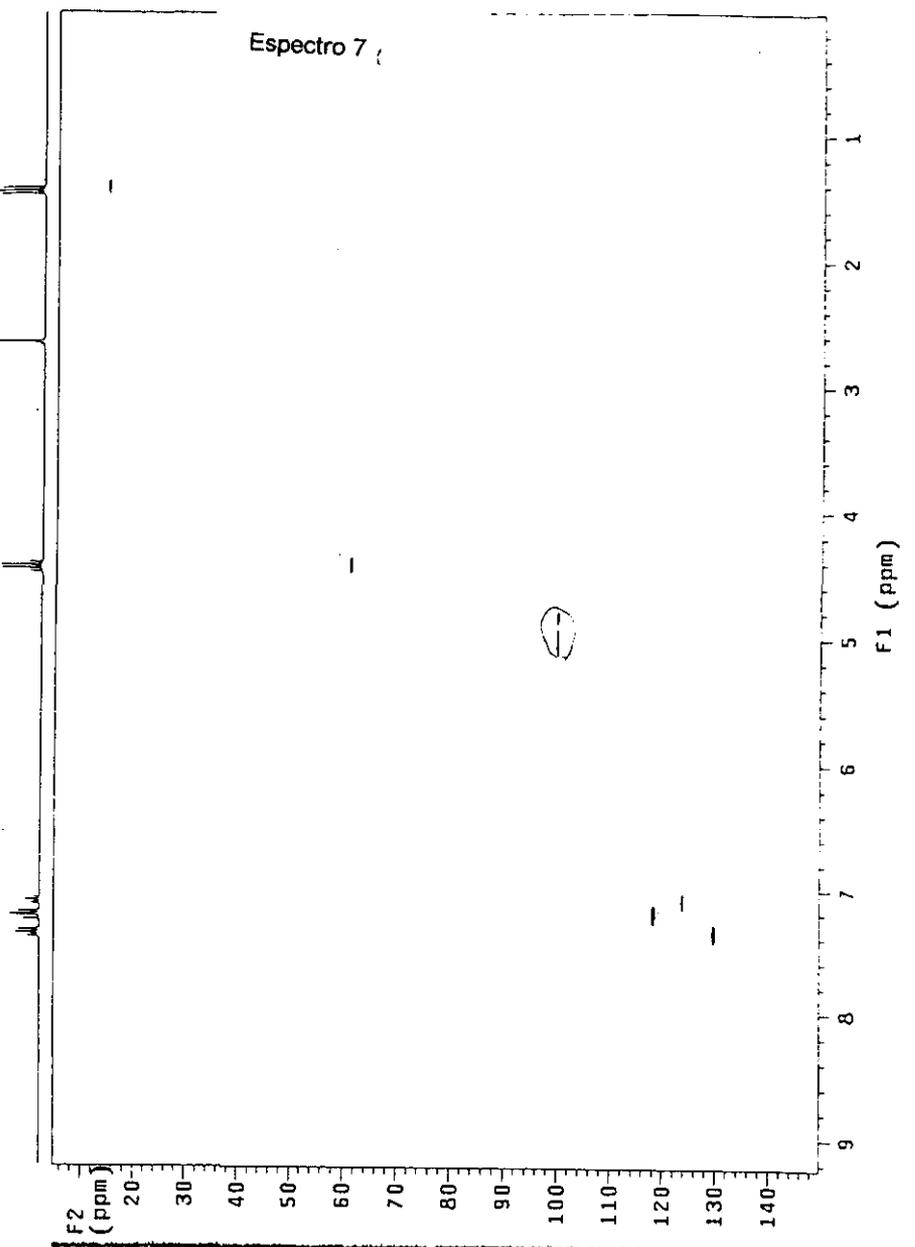
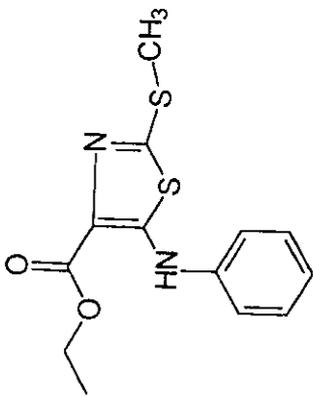
Espectro 5



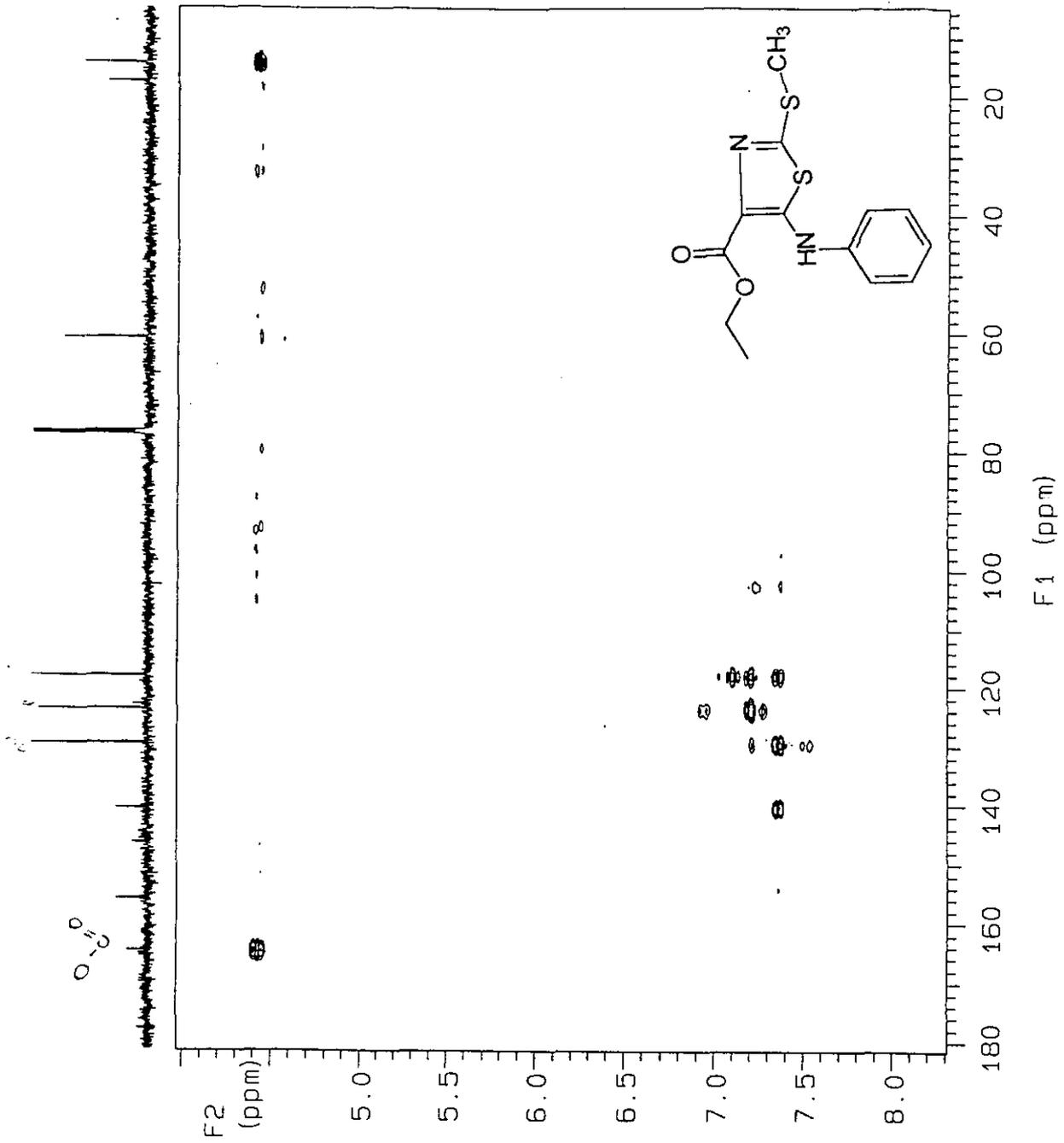


Espectro 6





Espectro 8

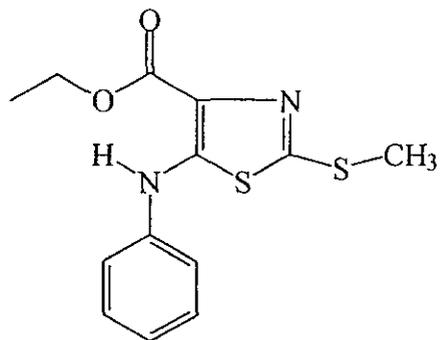


130

100 %

100% = 2195295

294



215

248

SMP  
-  
BKG

Espectro 9

40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340

51

77

91

104

132

161

187

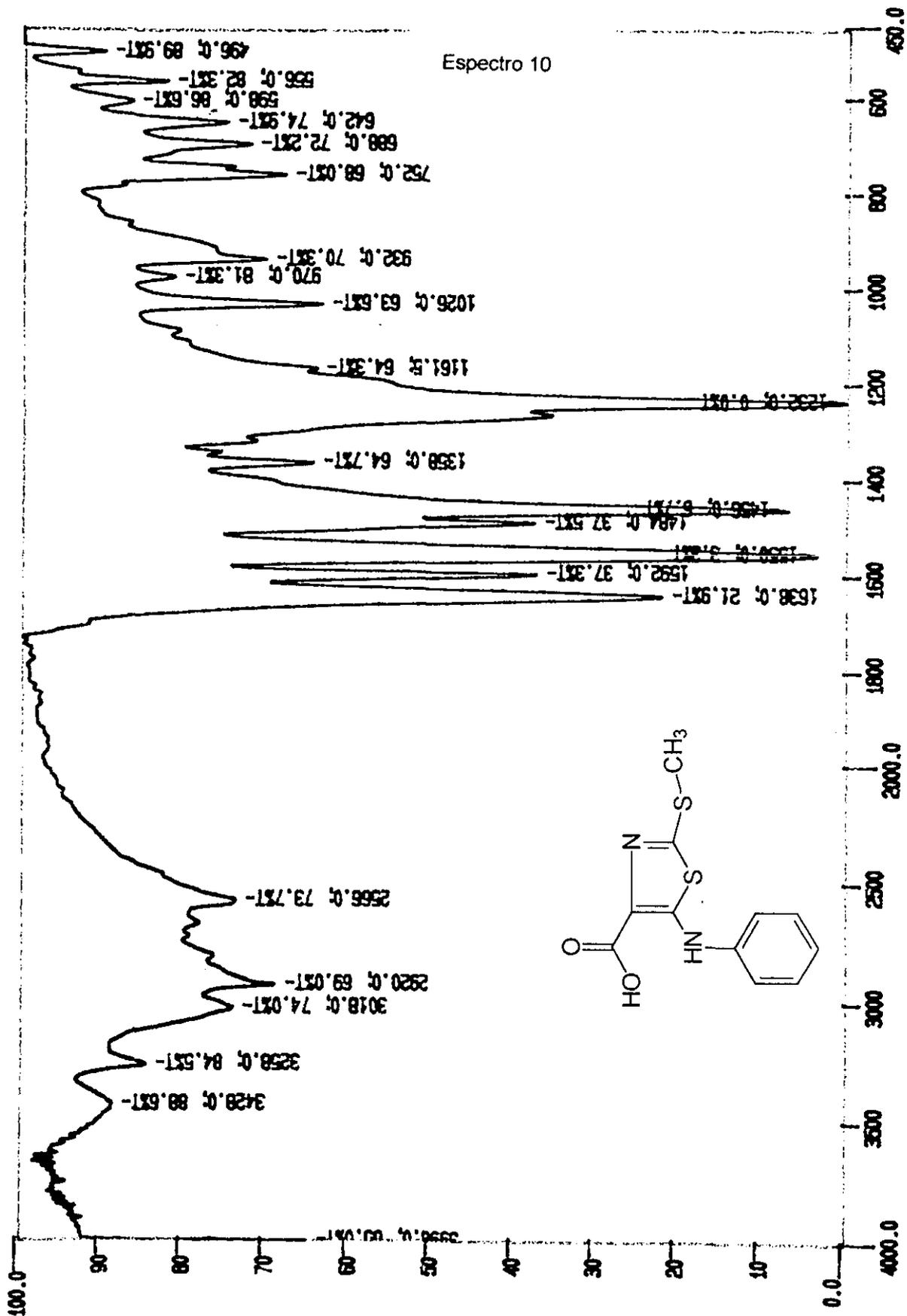
203

261

279

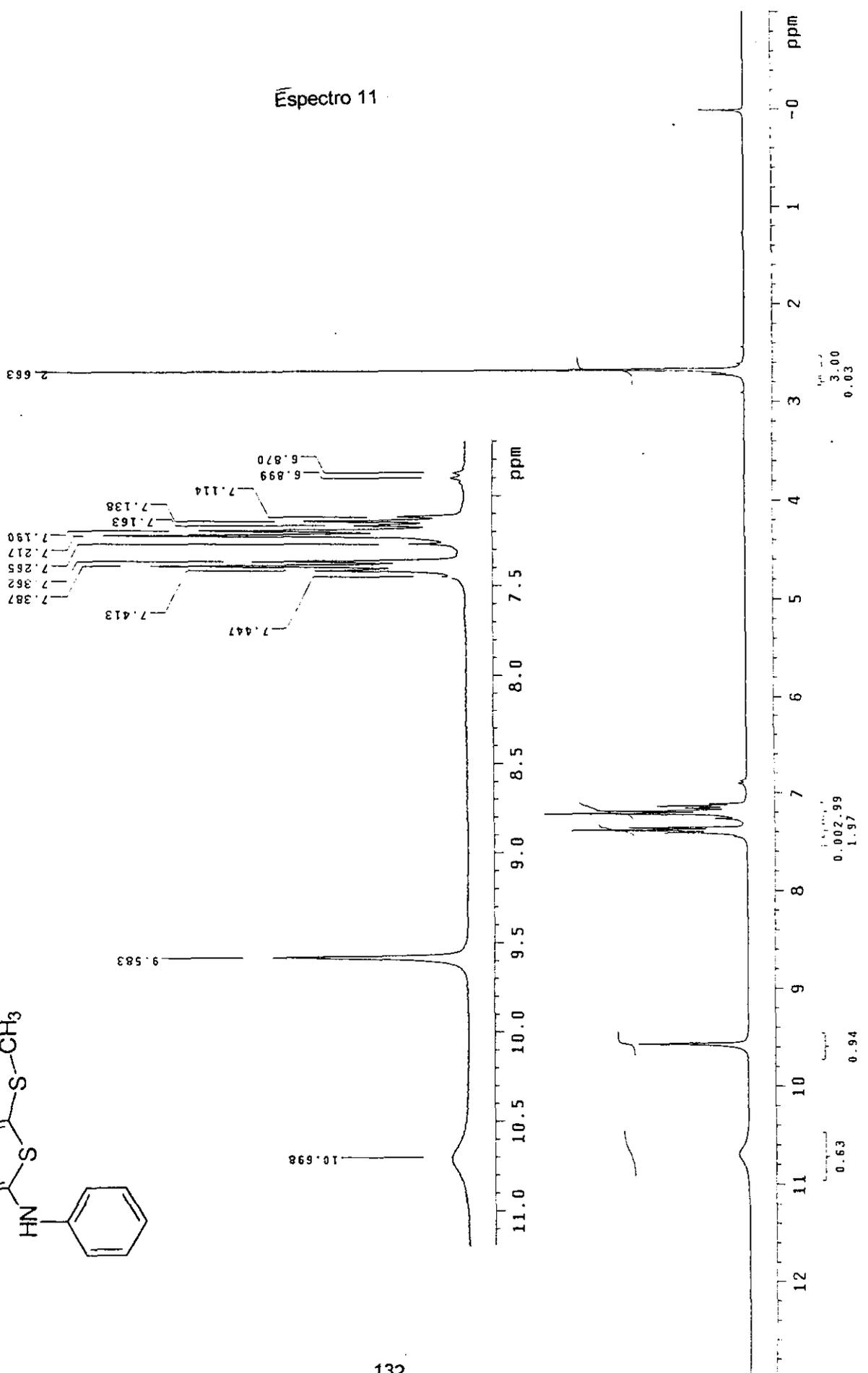
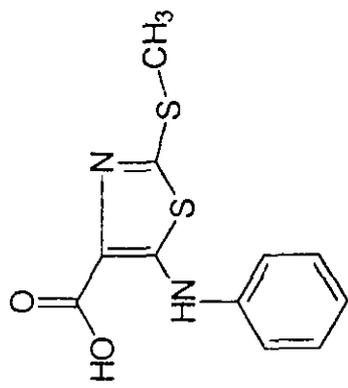
313

340



1-10

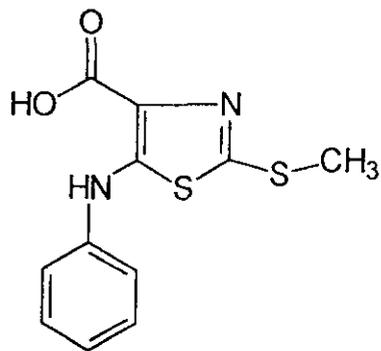
Espectro 11



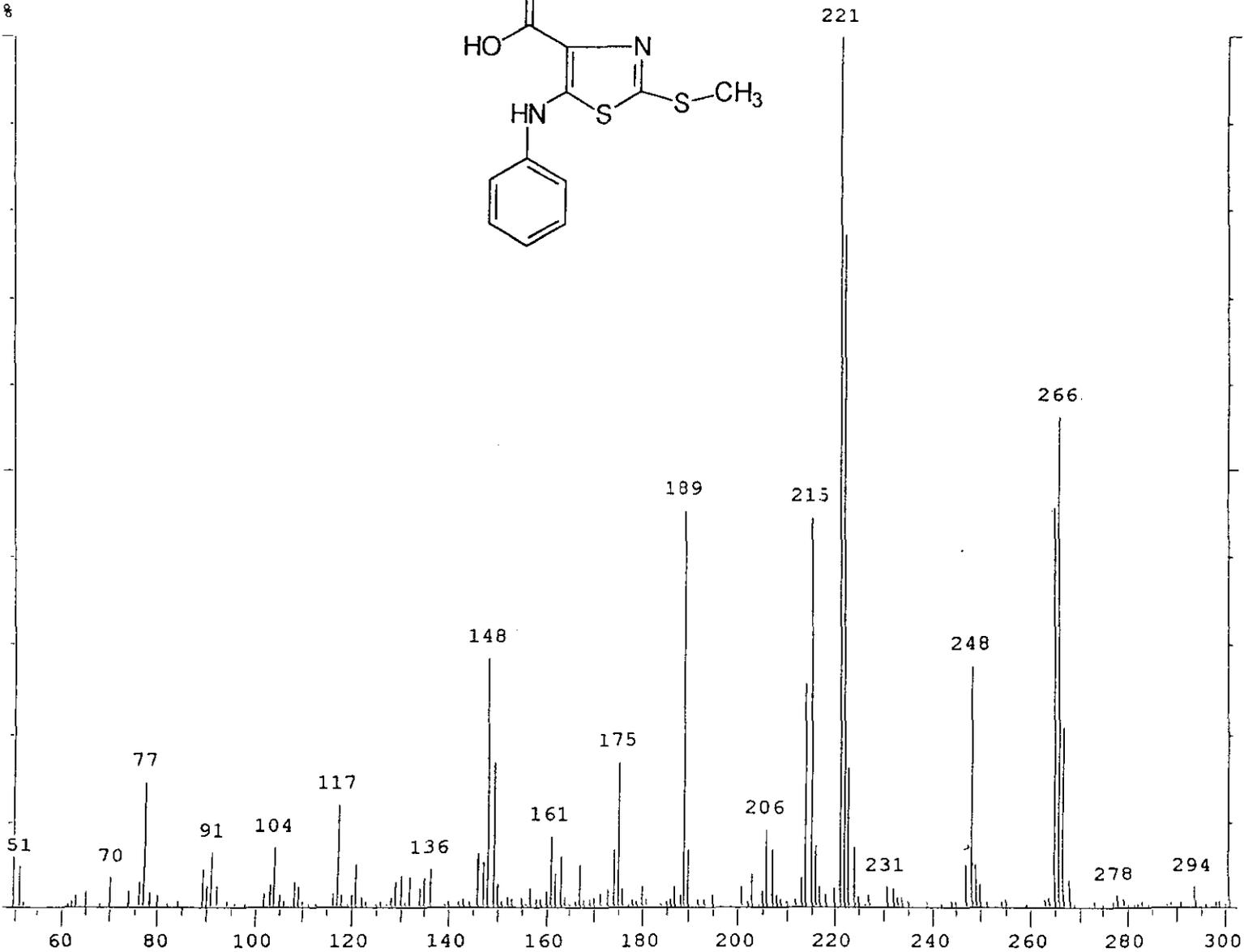
133

100 %

SMP  
-  
BKG

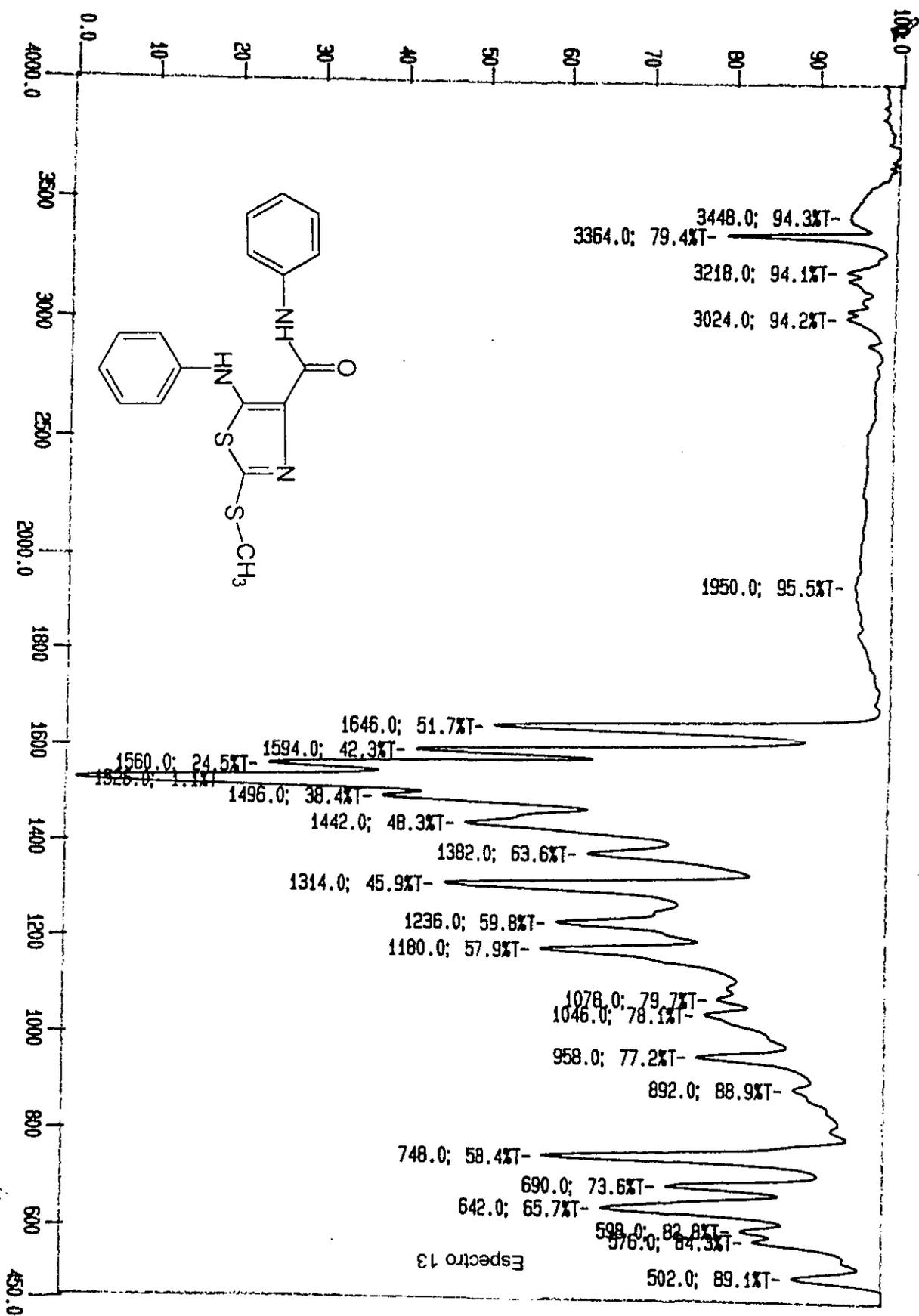


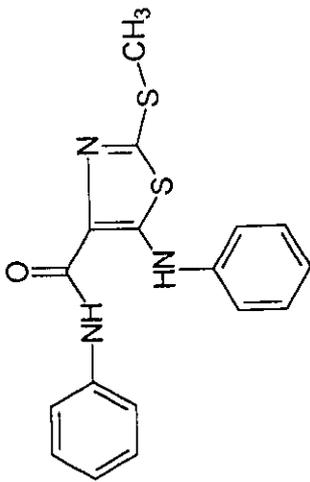
100% = 1074035



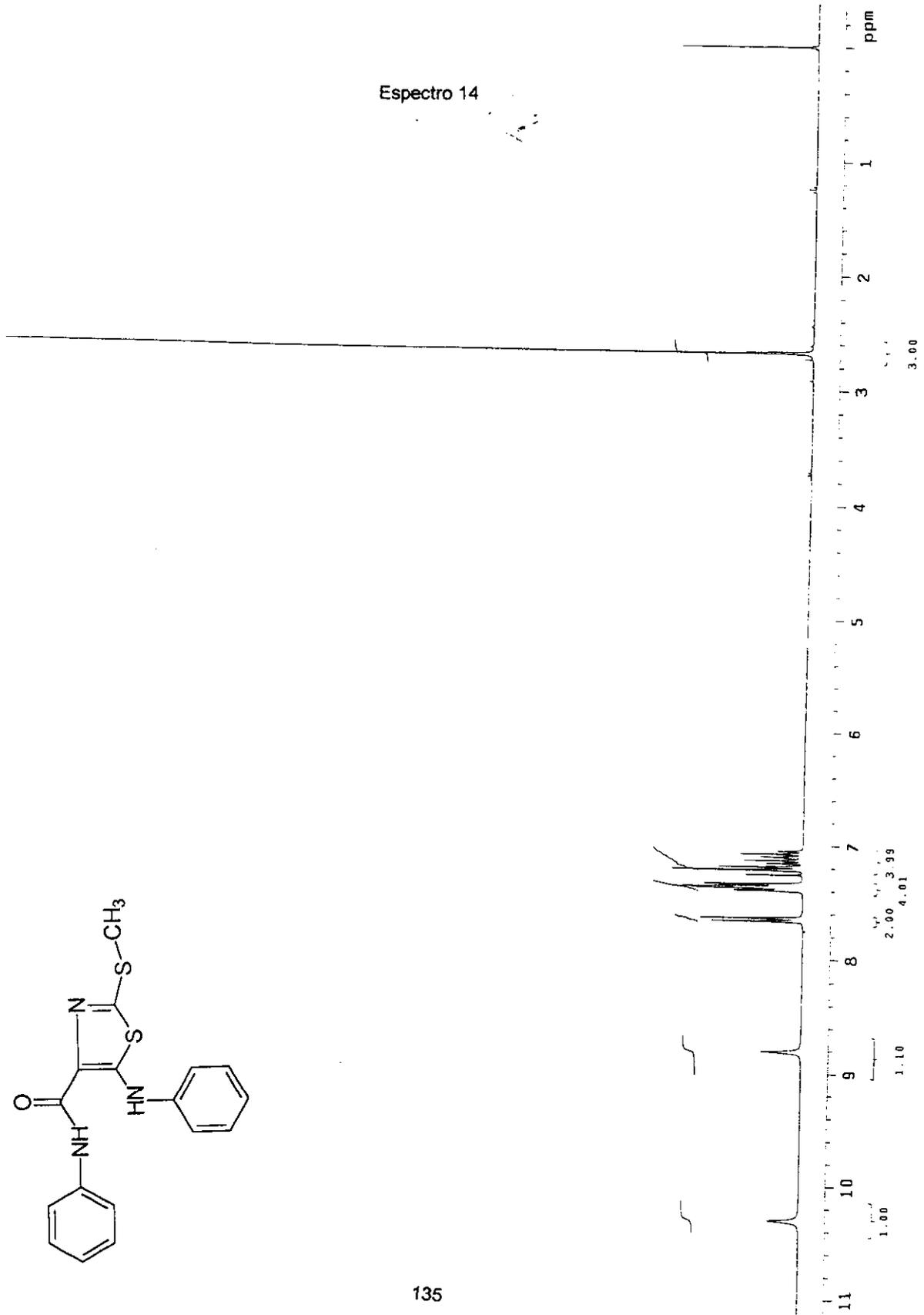
Espectro 12

CH-1

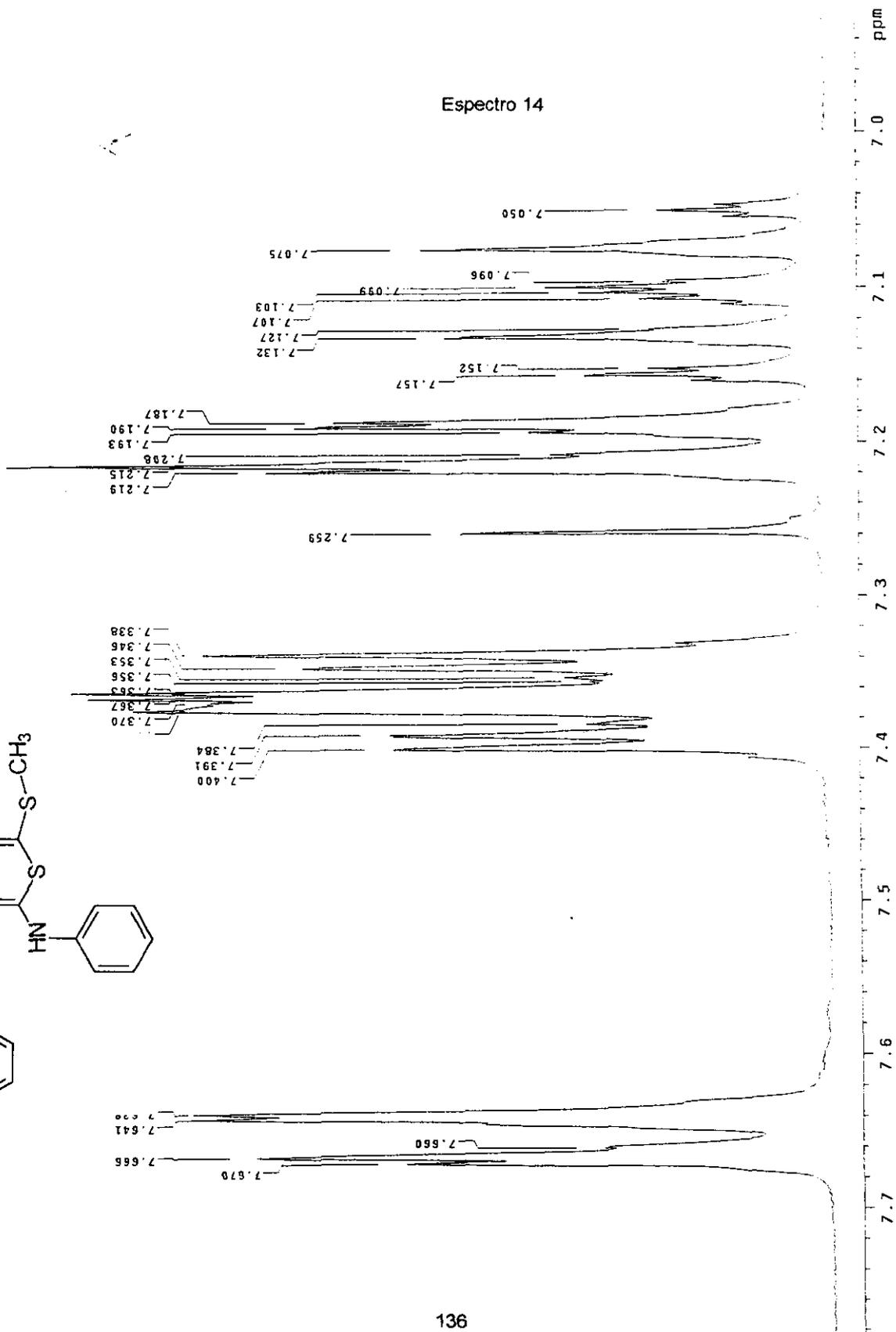
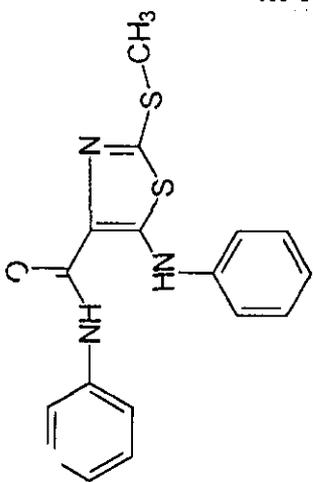




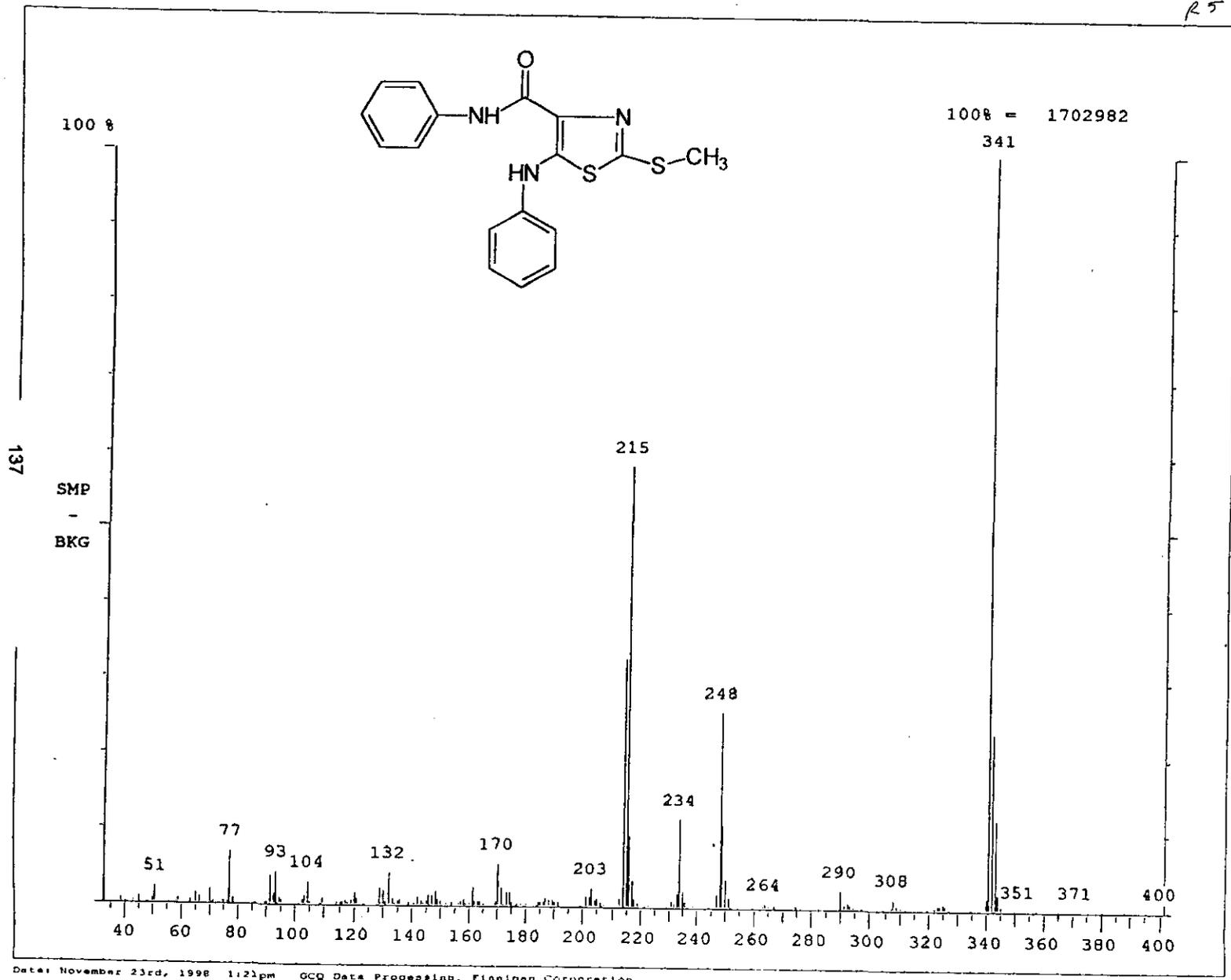
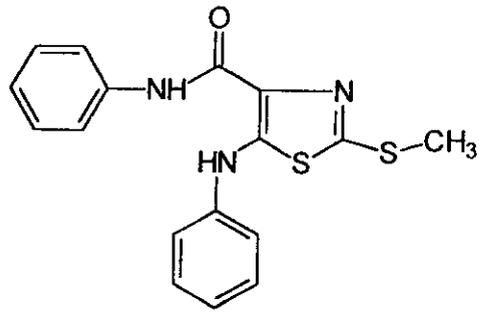
Espectro 14



Espectro 14

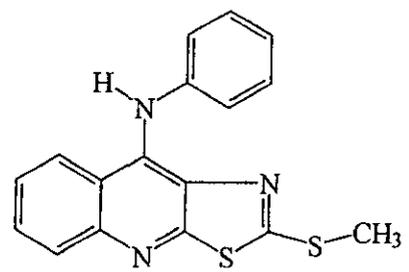
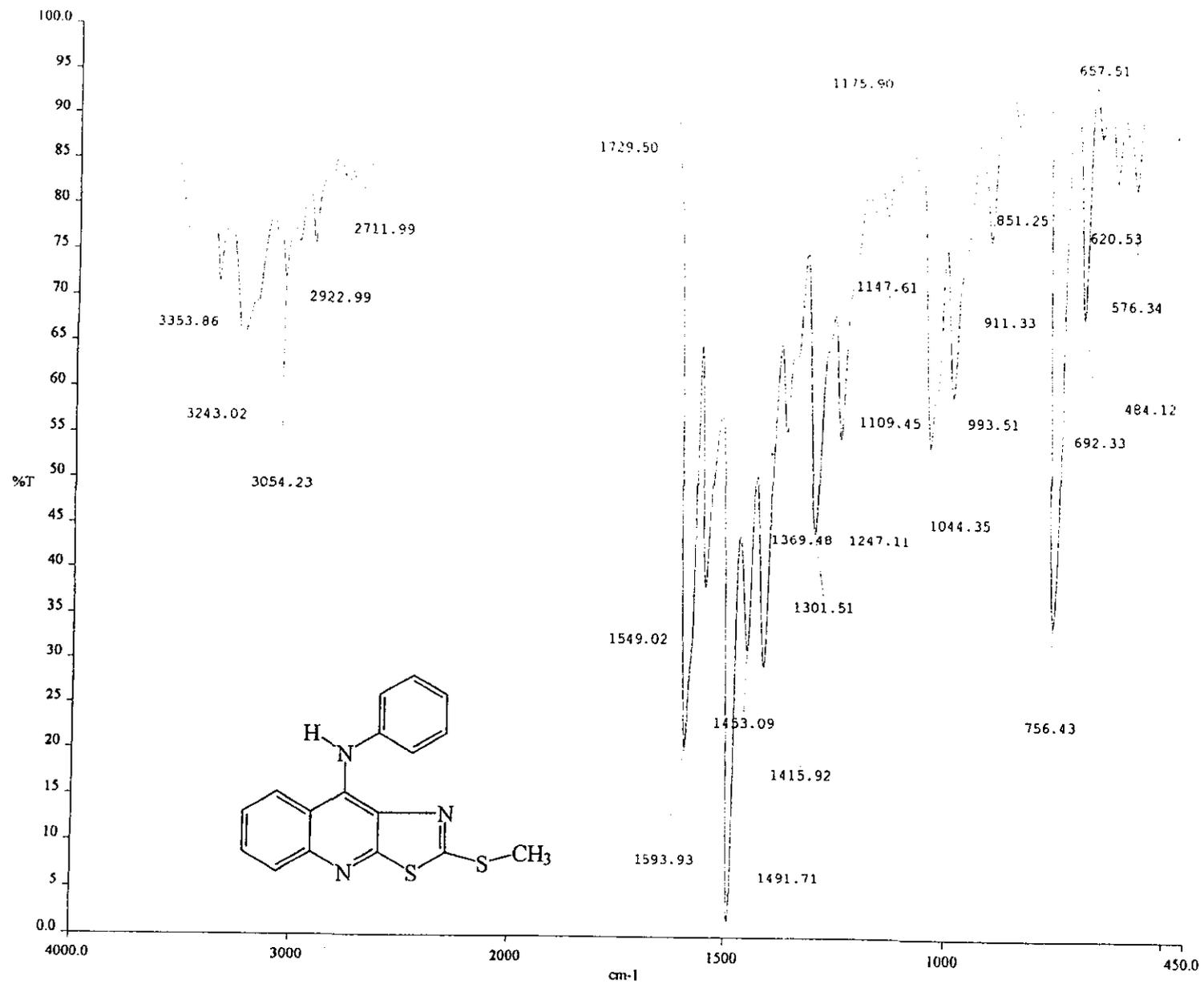


R5

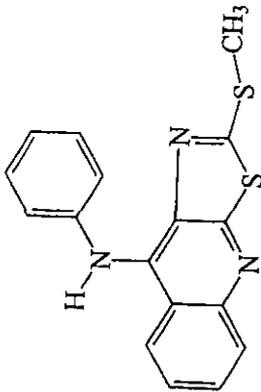


Espectro 15

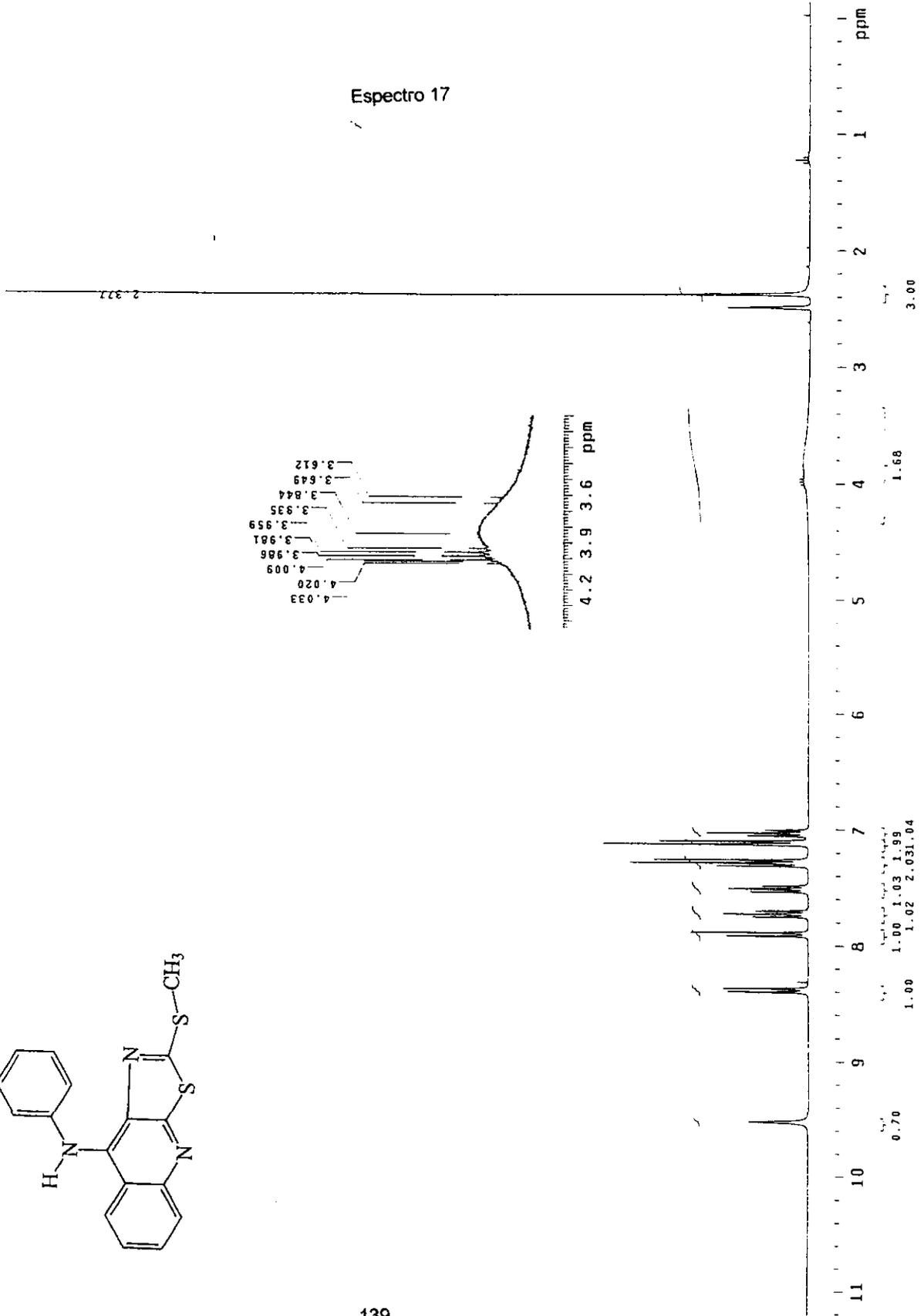
138

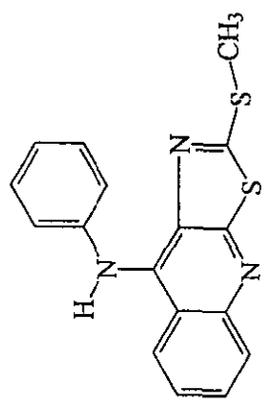
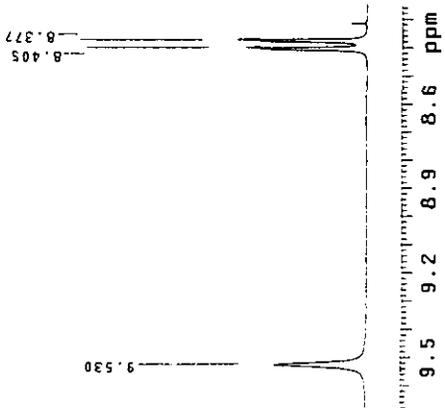


a:\spectra\6a.003

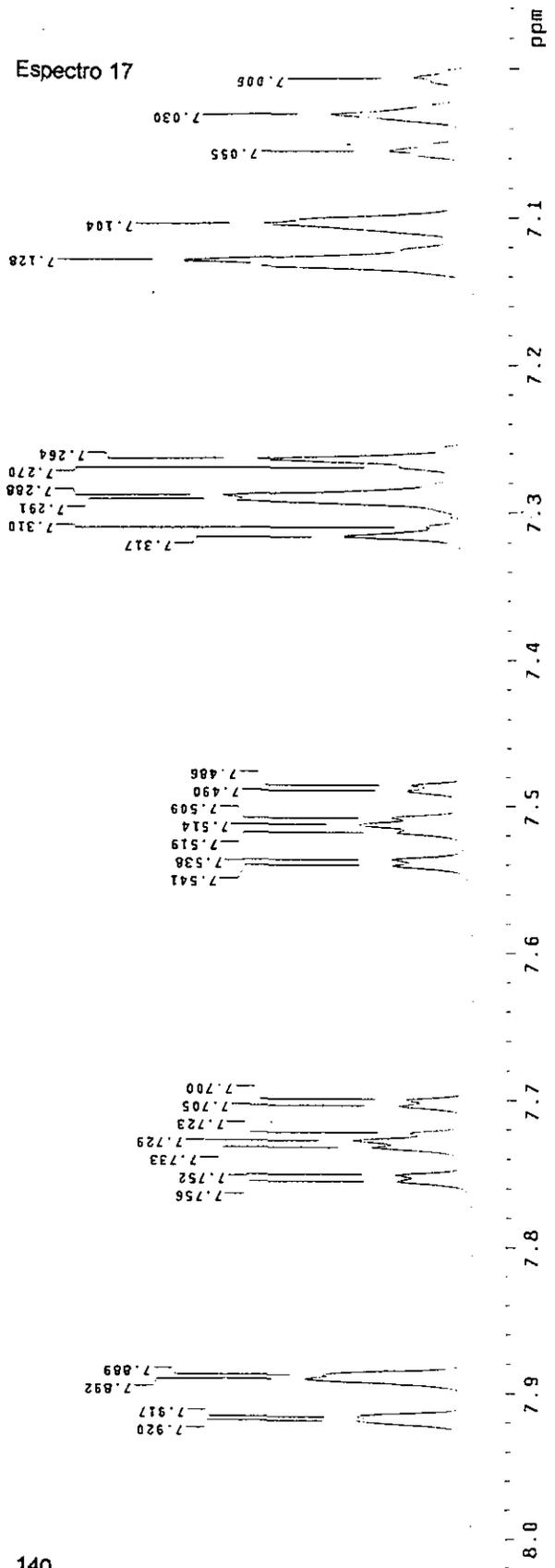


Espectro 17

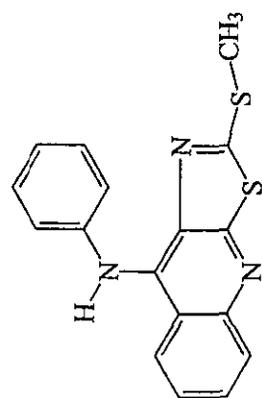
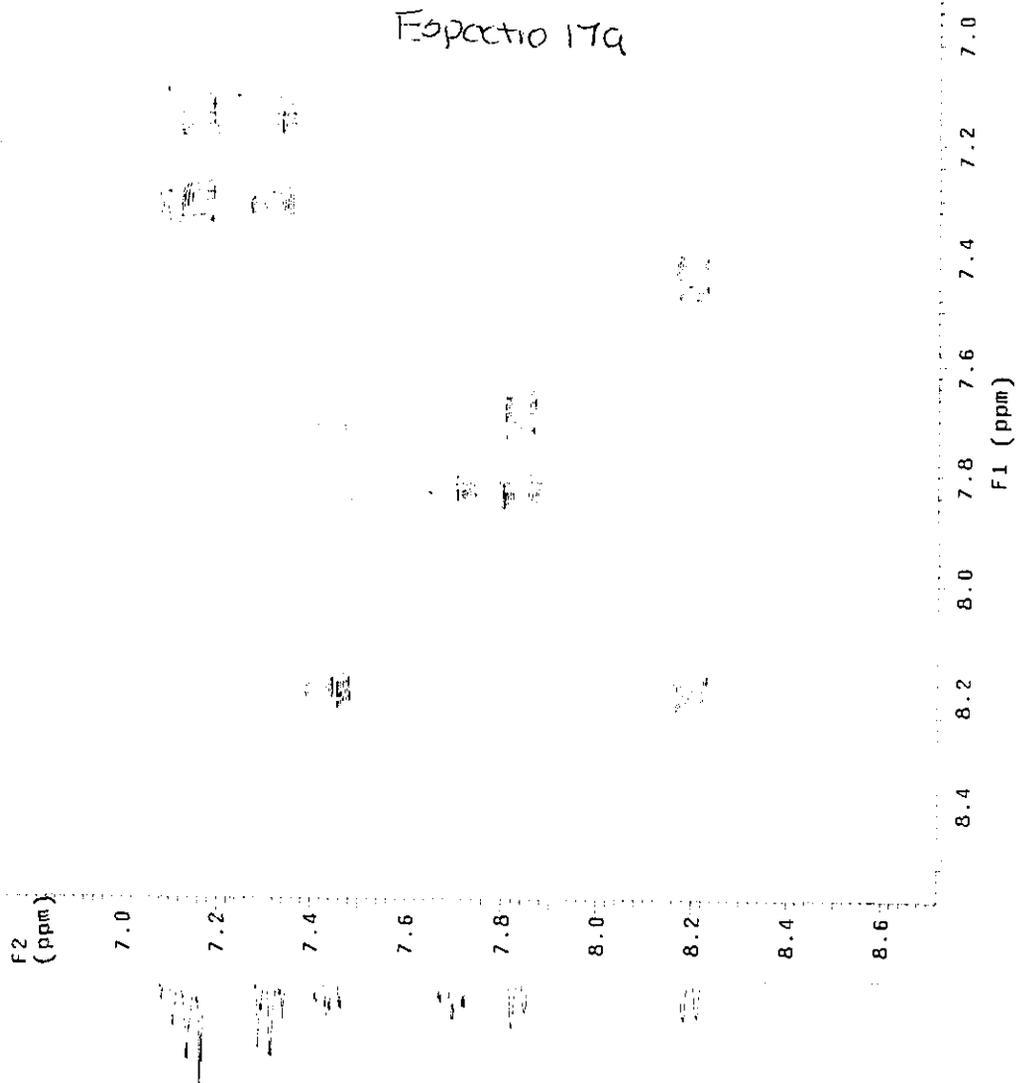




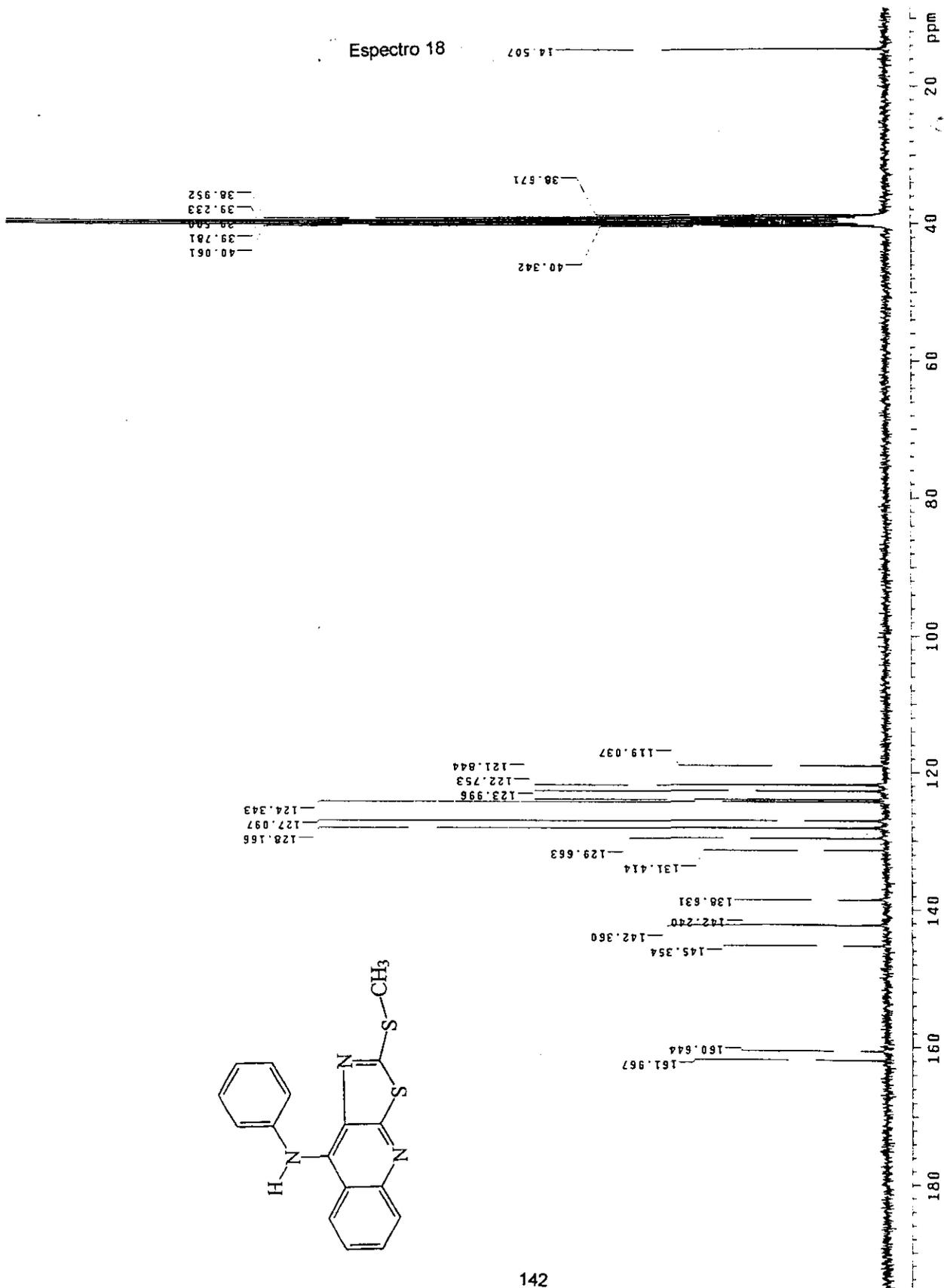
Espectro 17

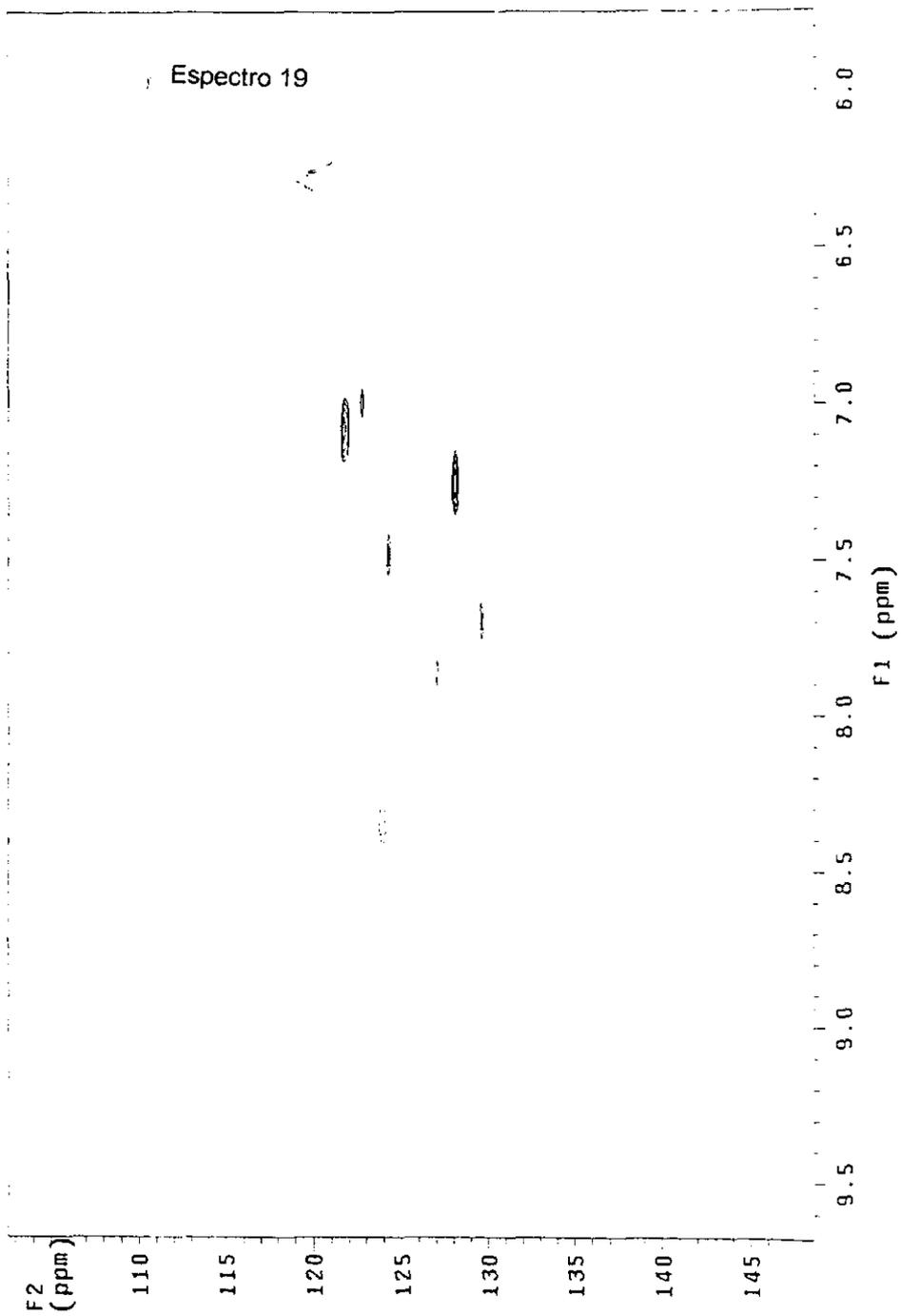
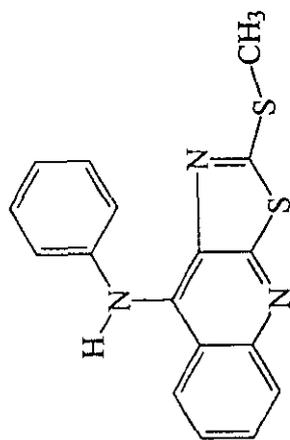


Espectro 17a

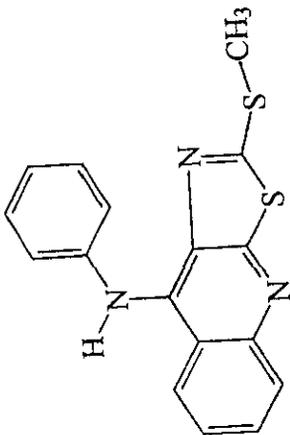
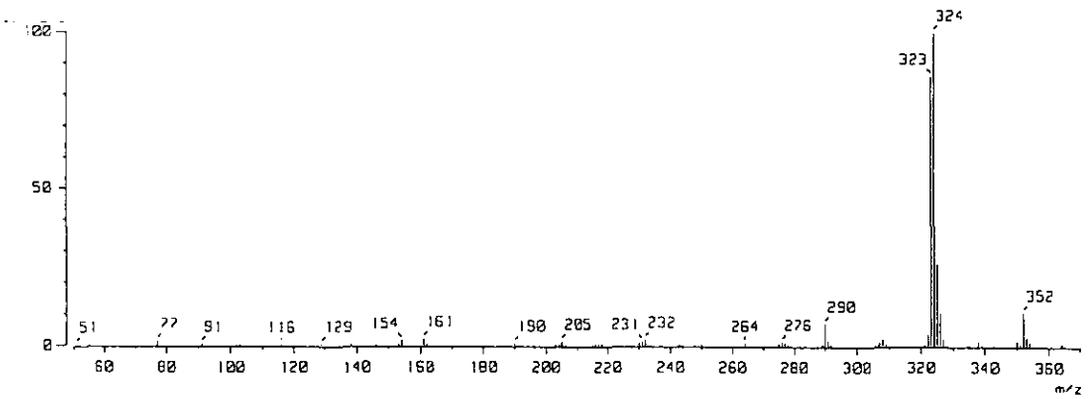
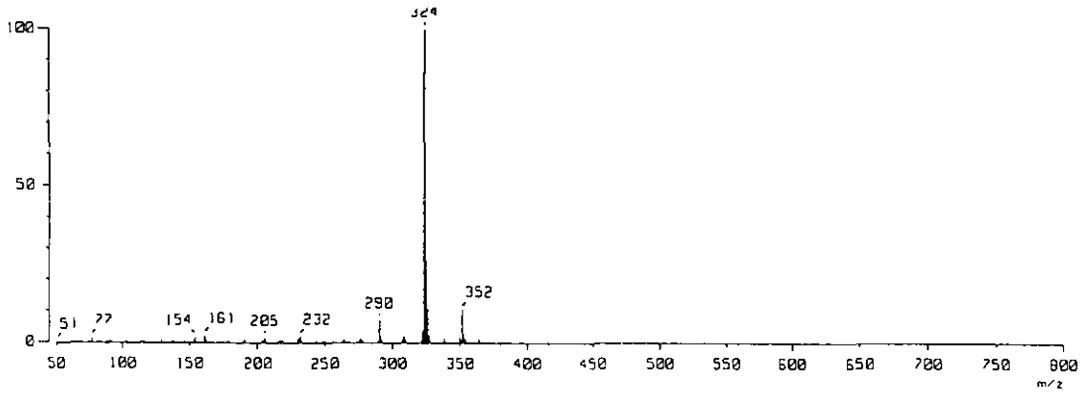
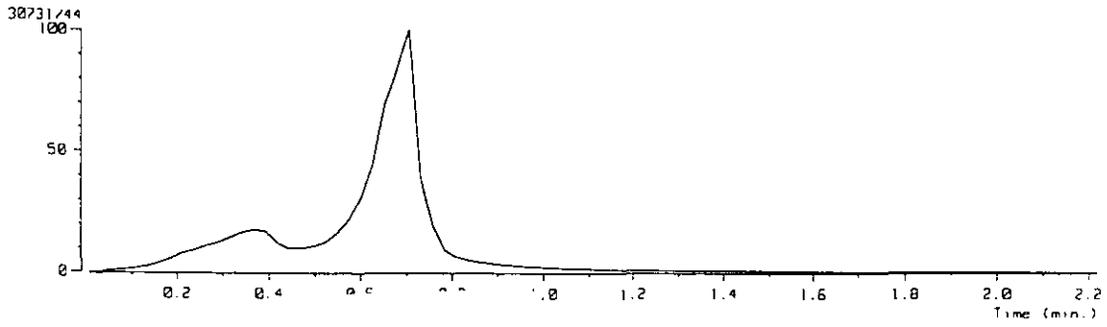


Espectro 18

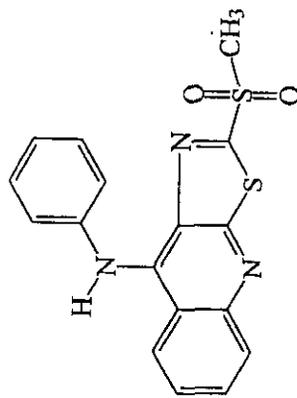
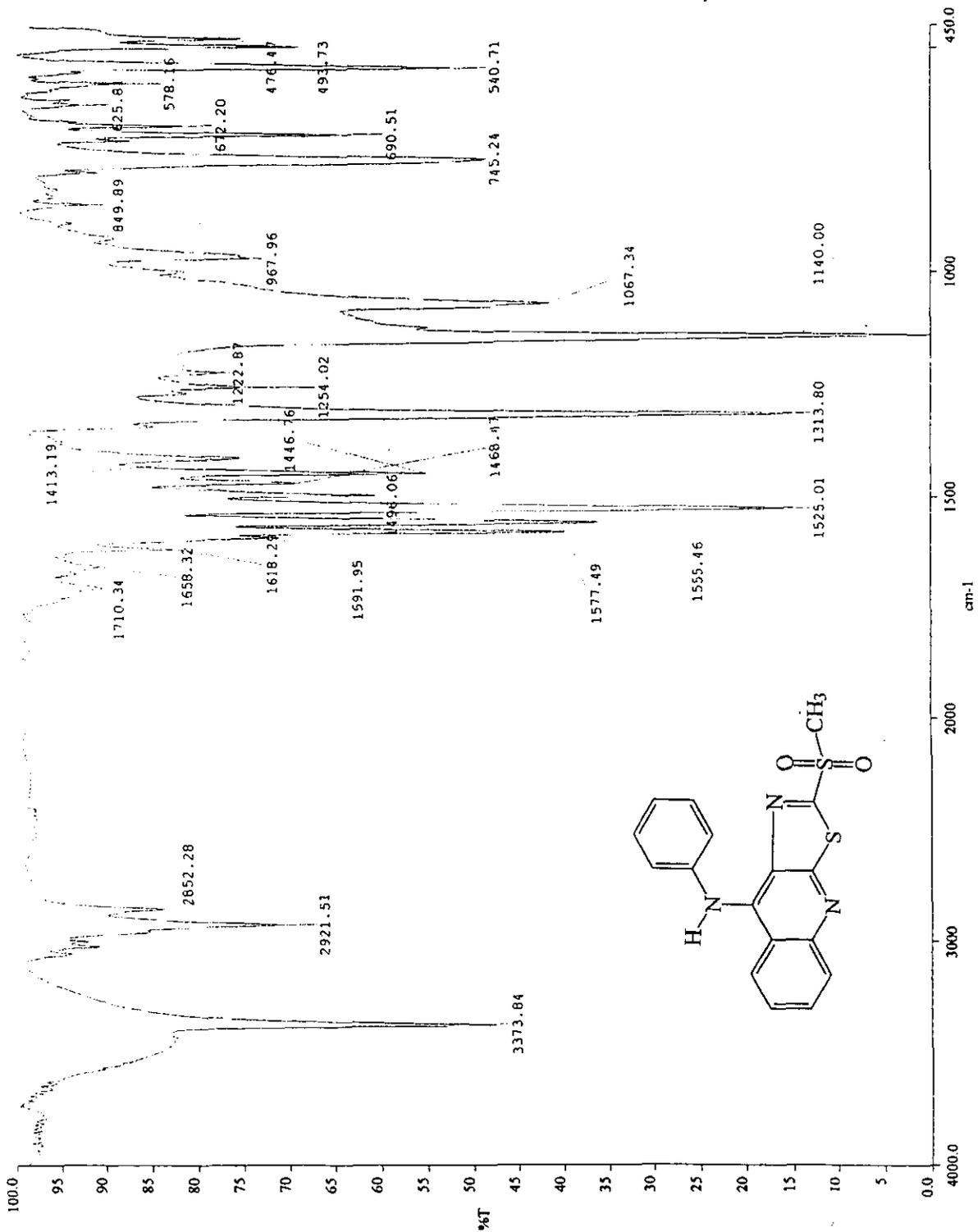




# Espectro 20

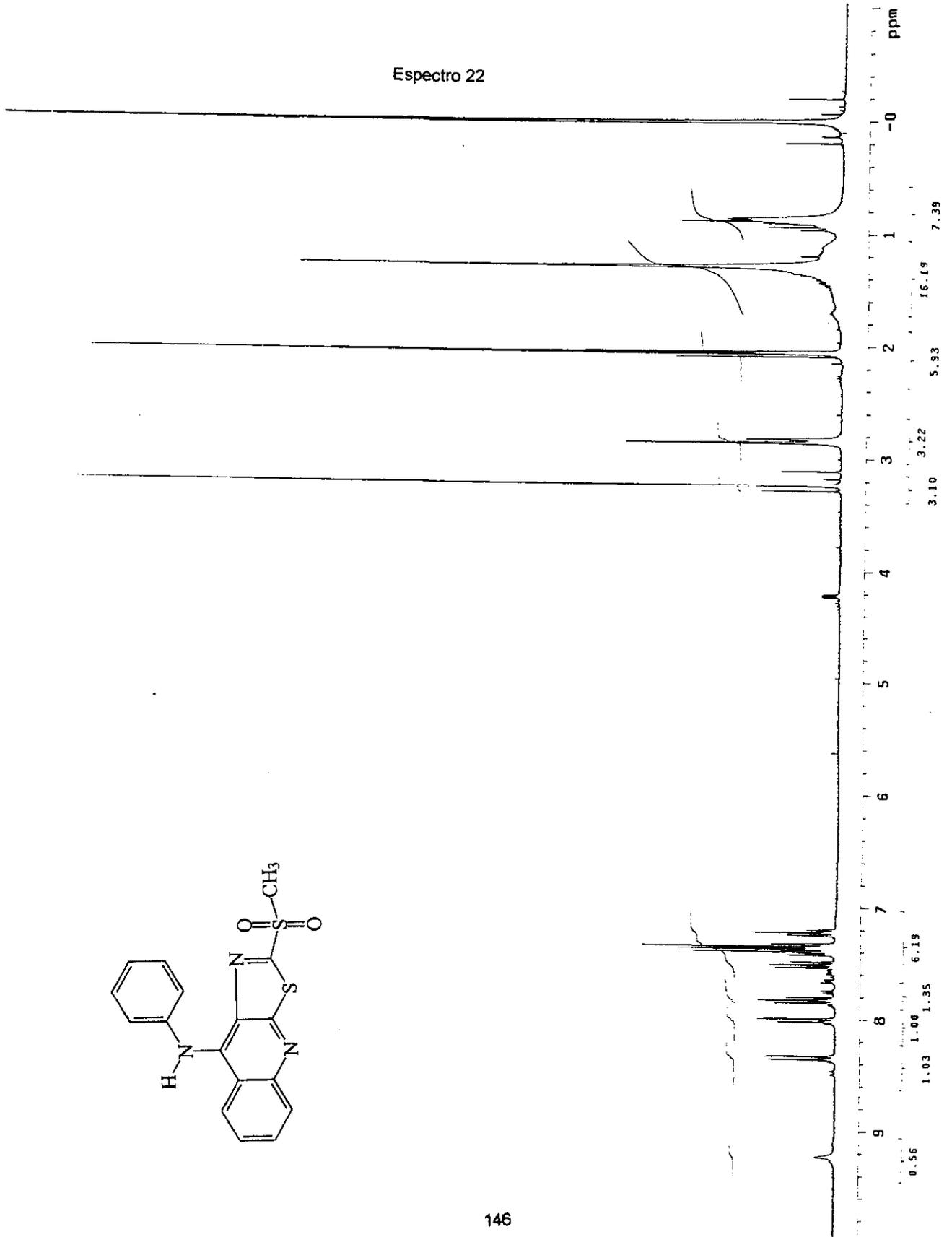
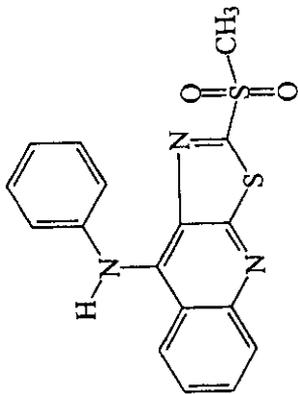


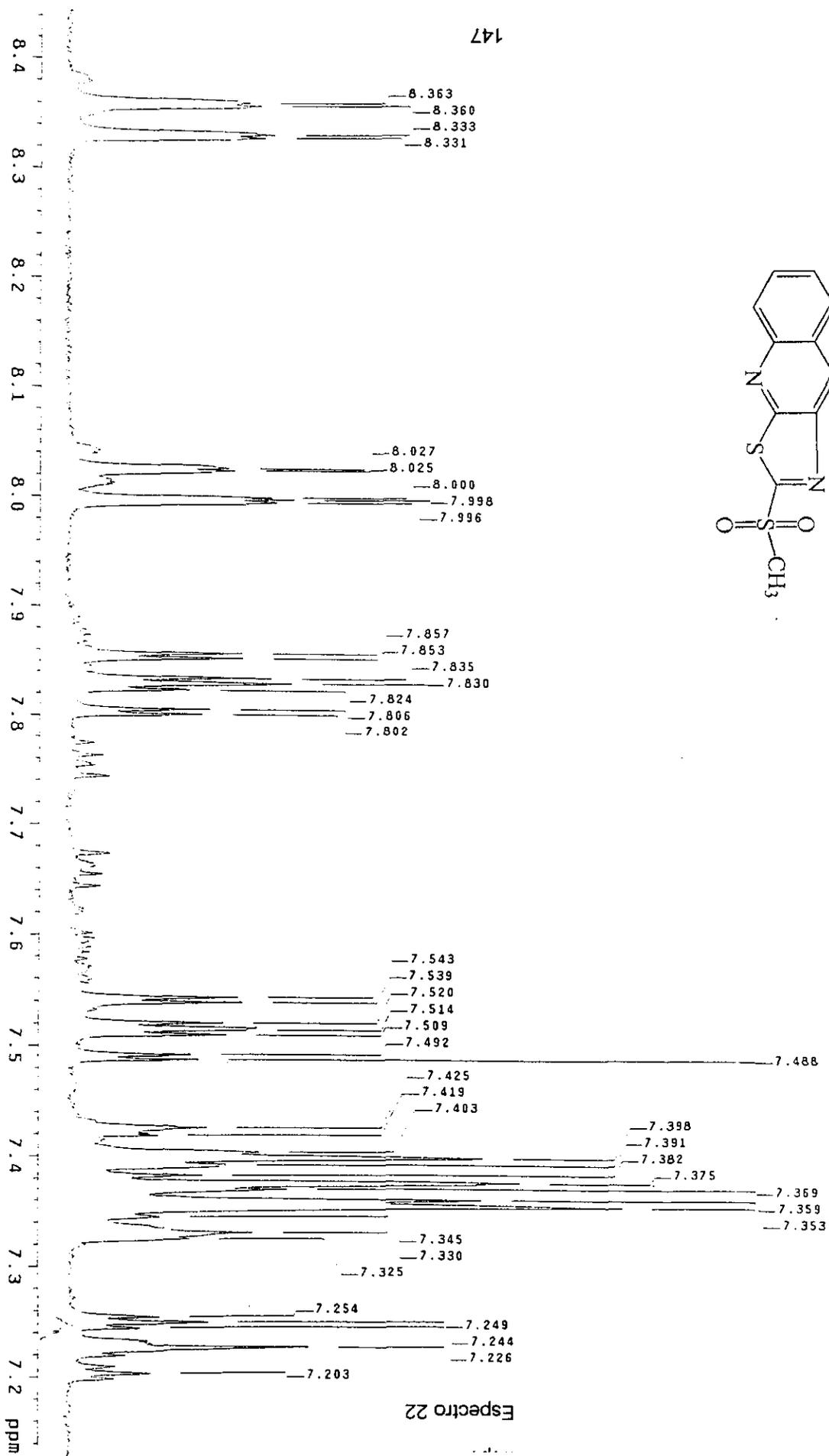
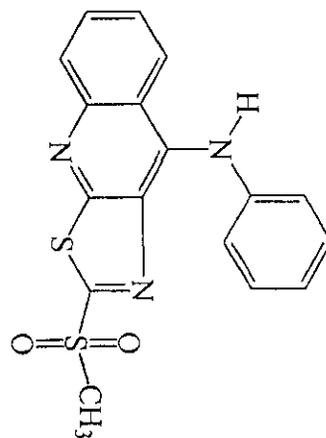
Espectro 21



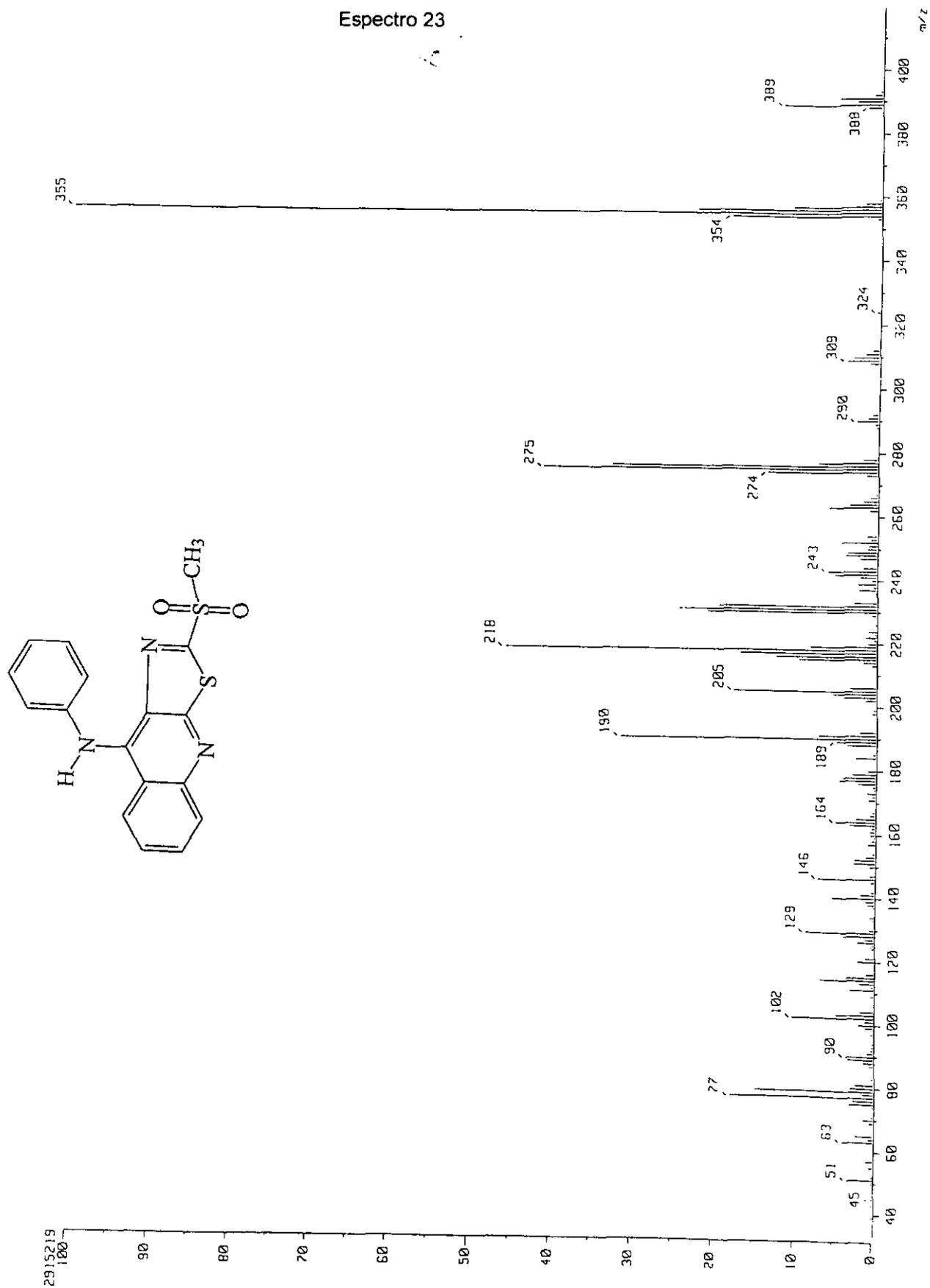
a:\spectra\anth.002

Espectro 22

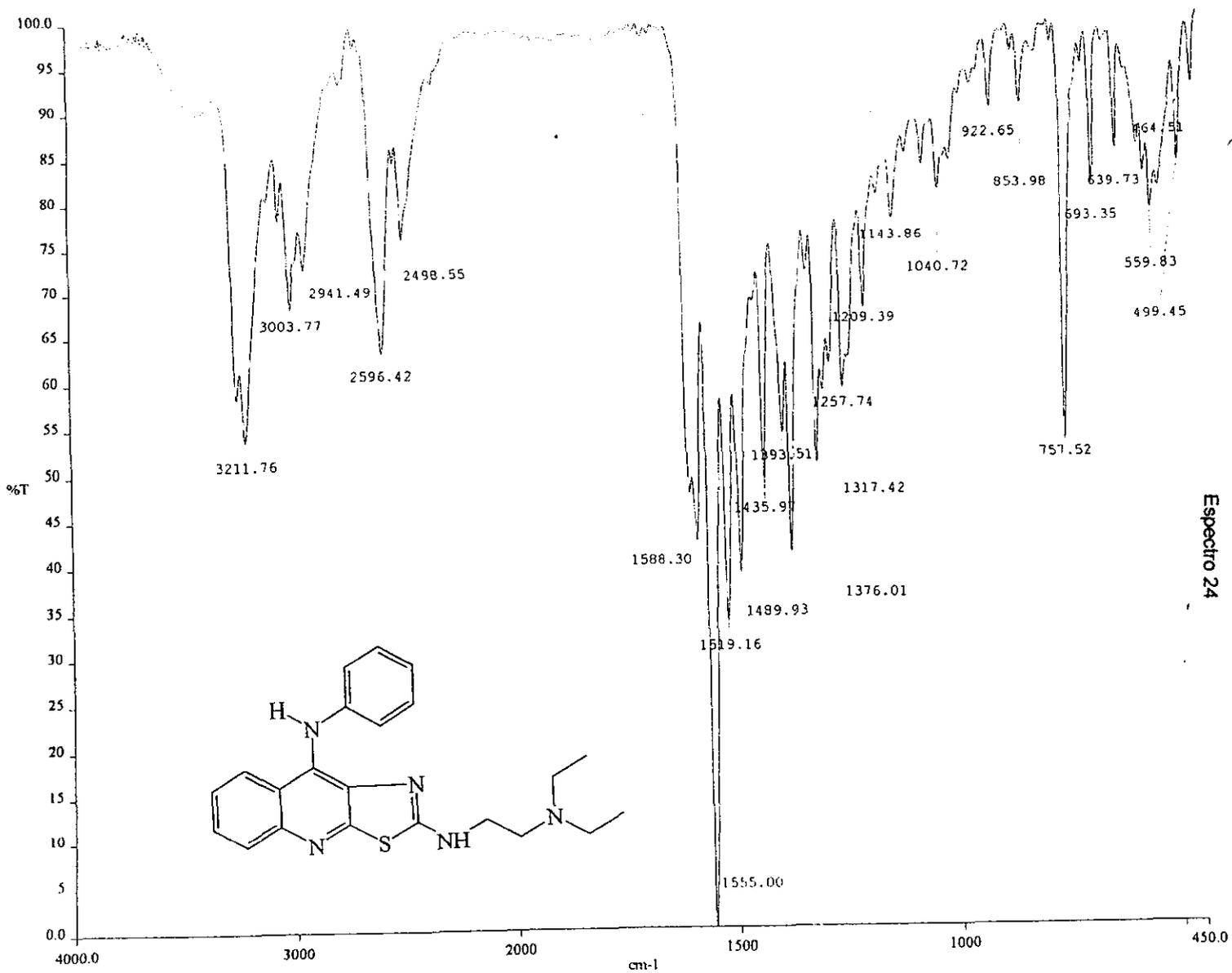




Espectro 23

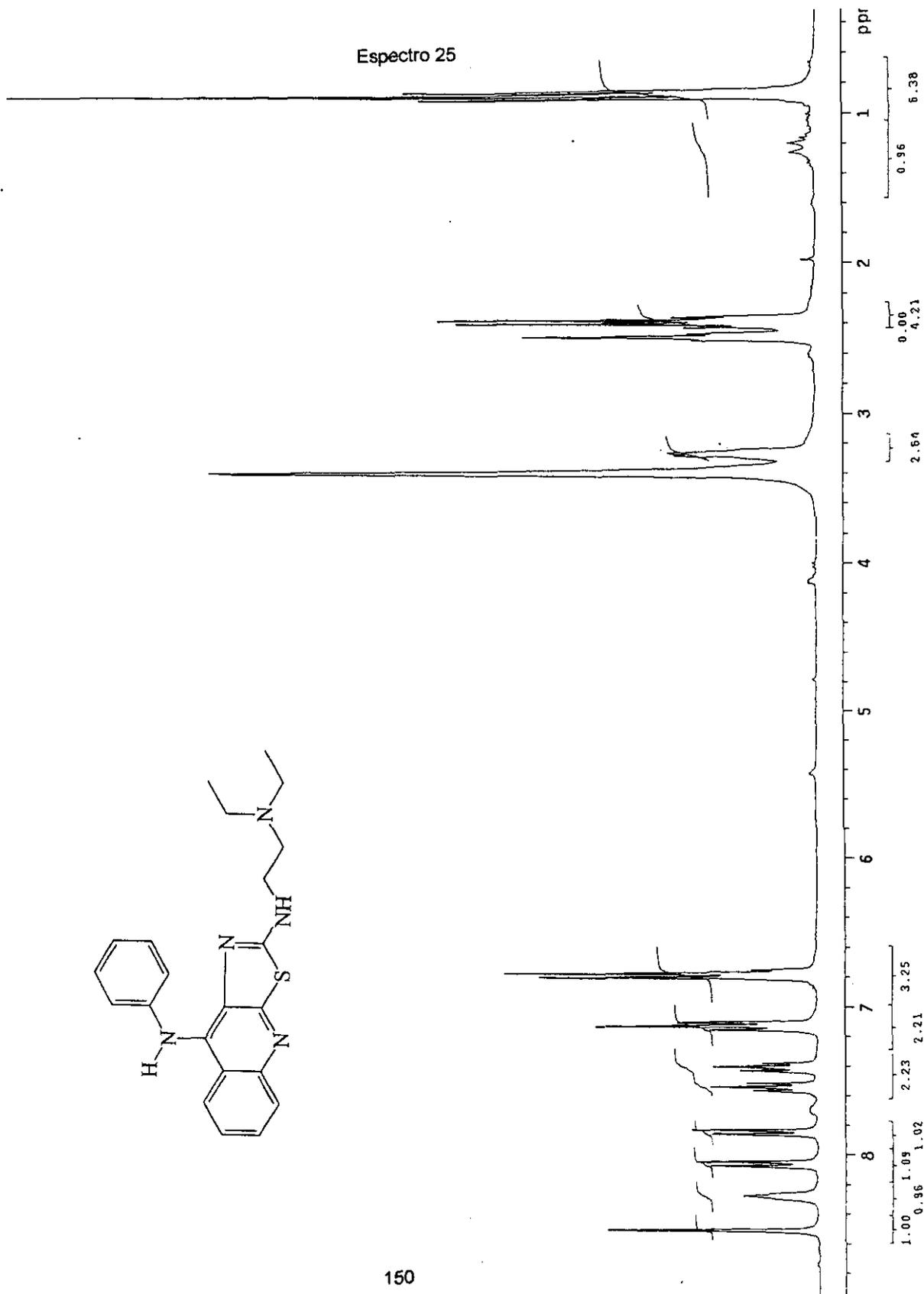
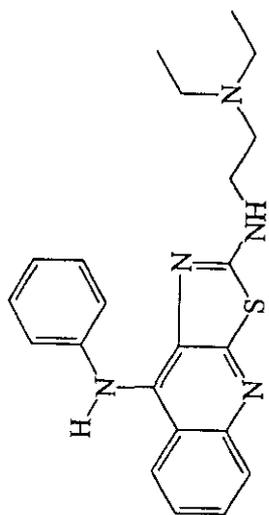


149

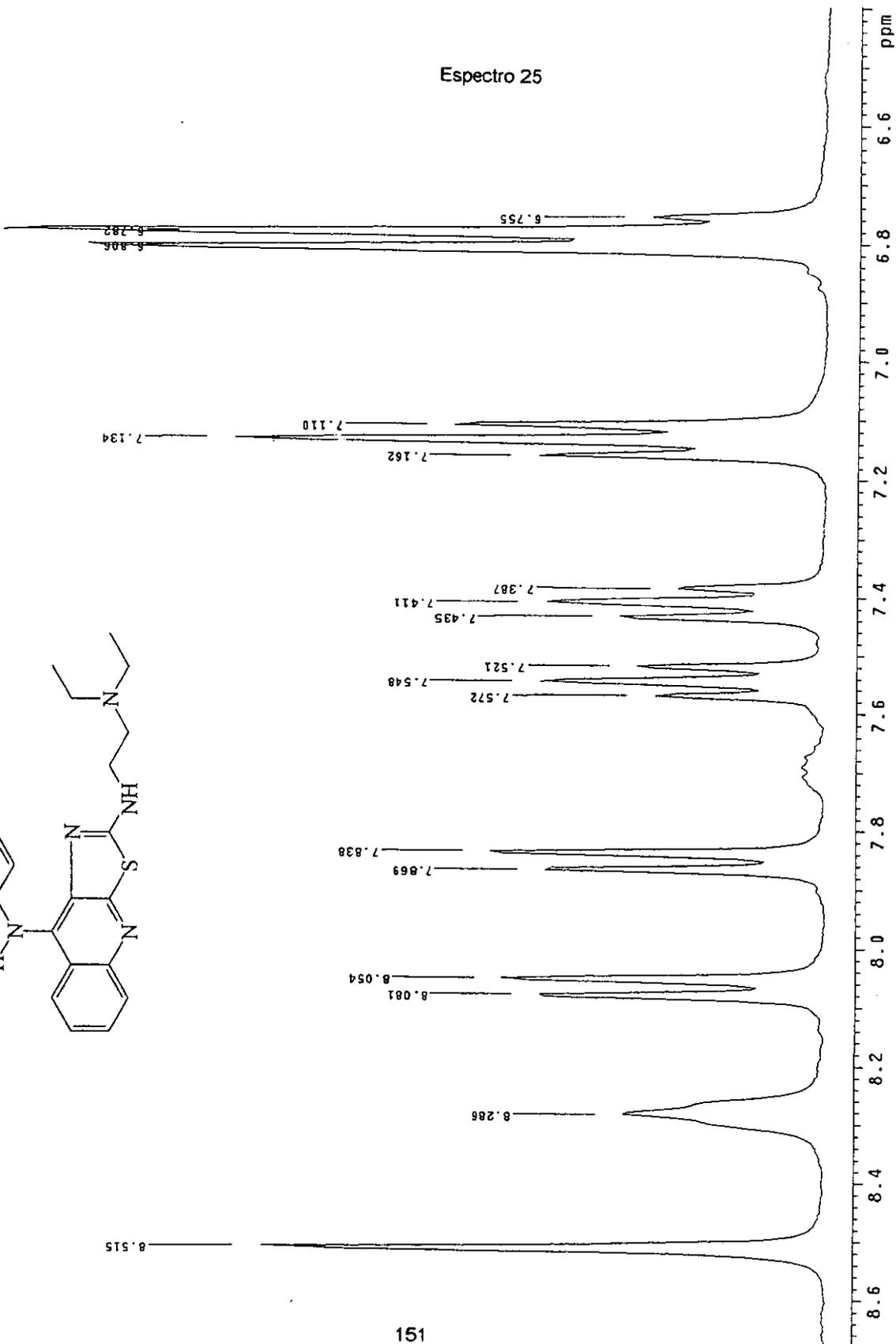
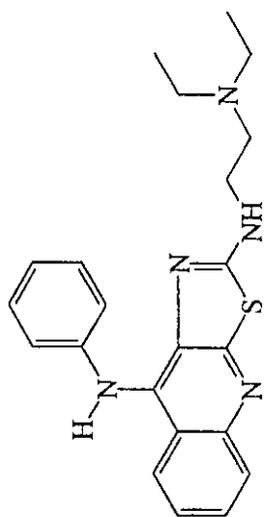


Espectro 24

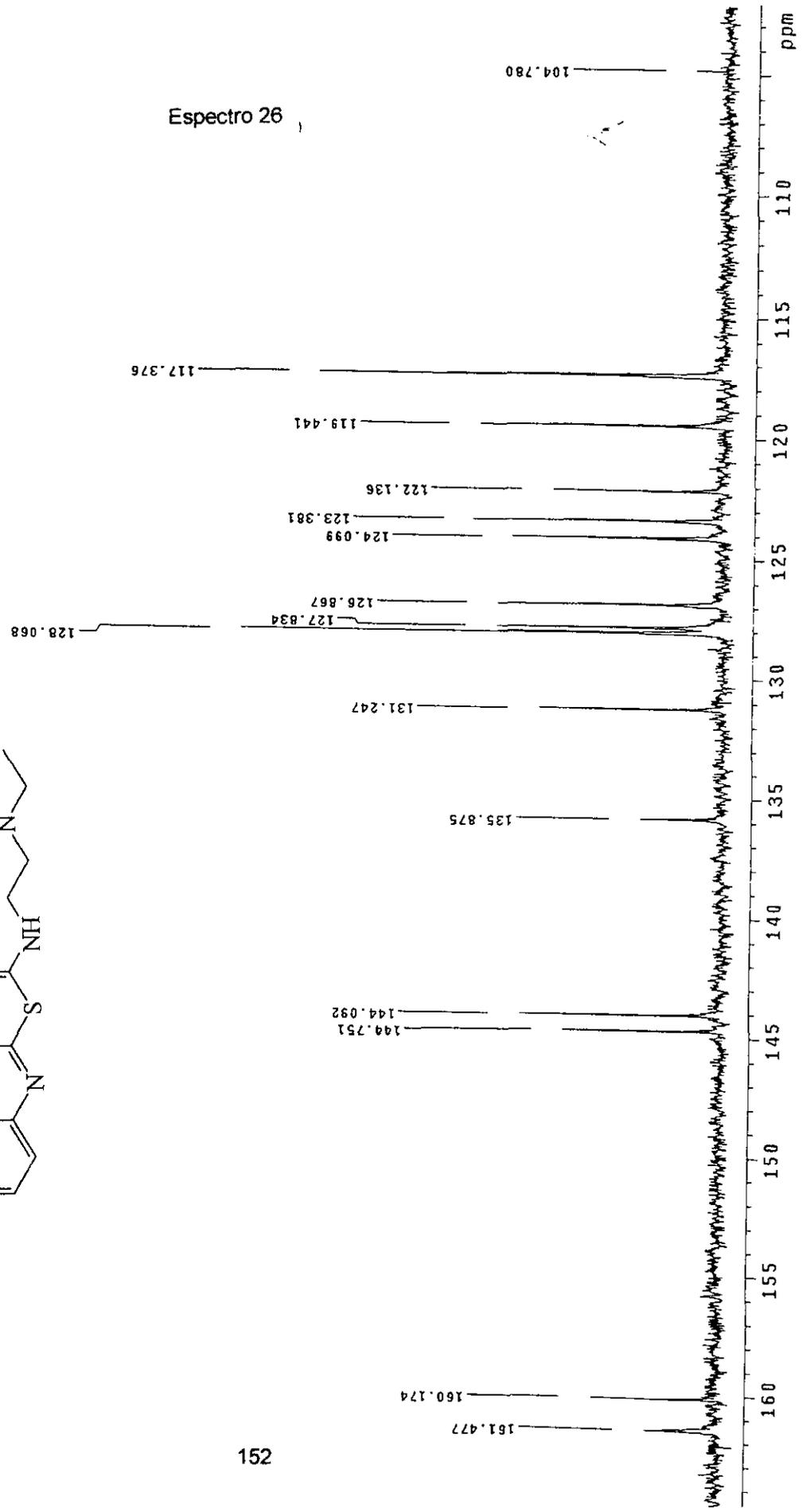
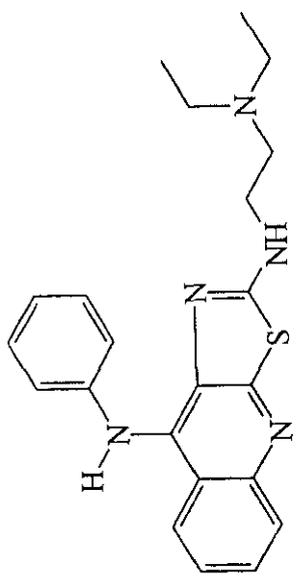
Espectro 25



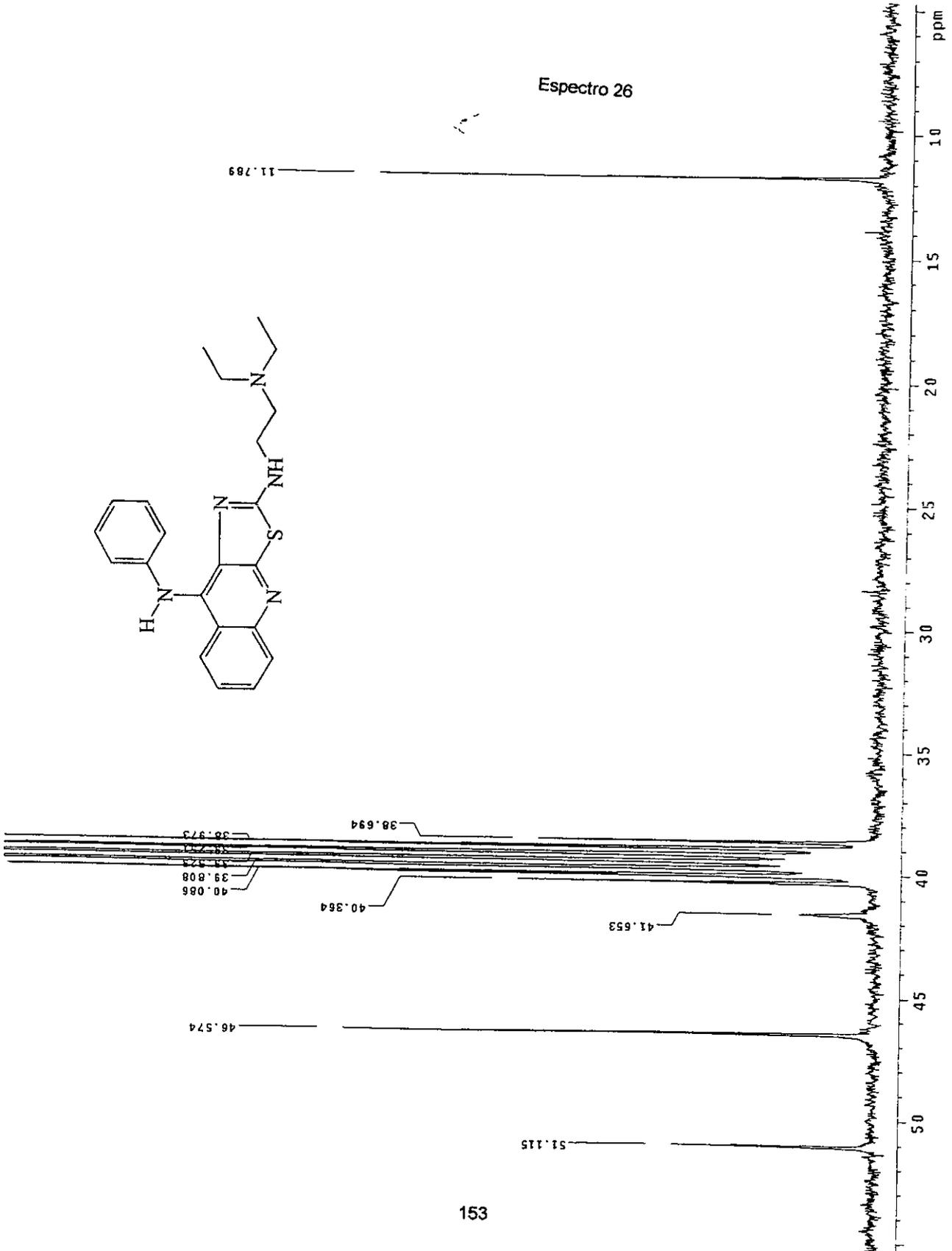
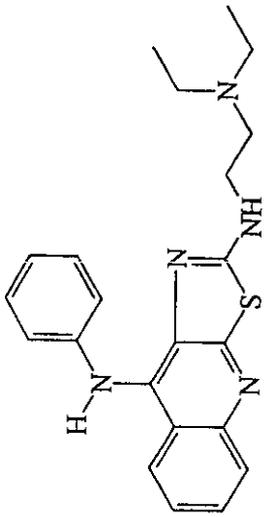
Espectro 25

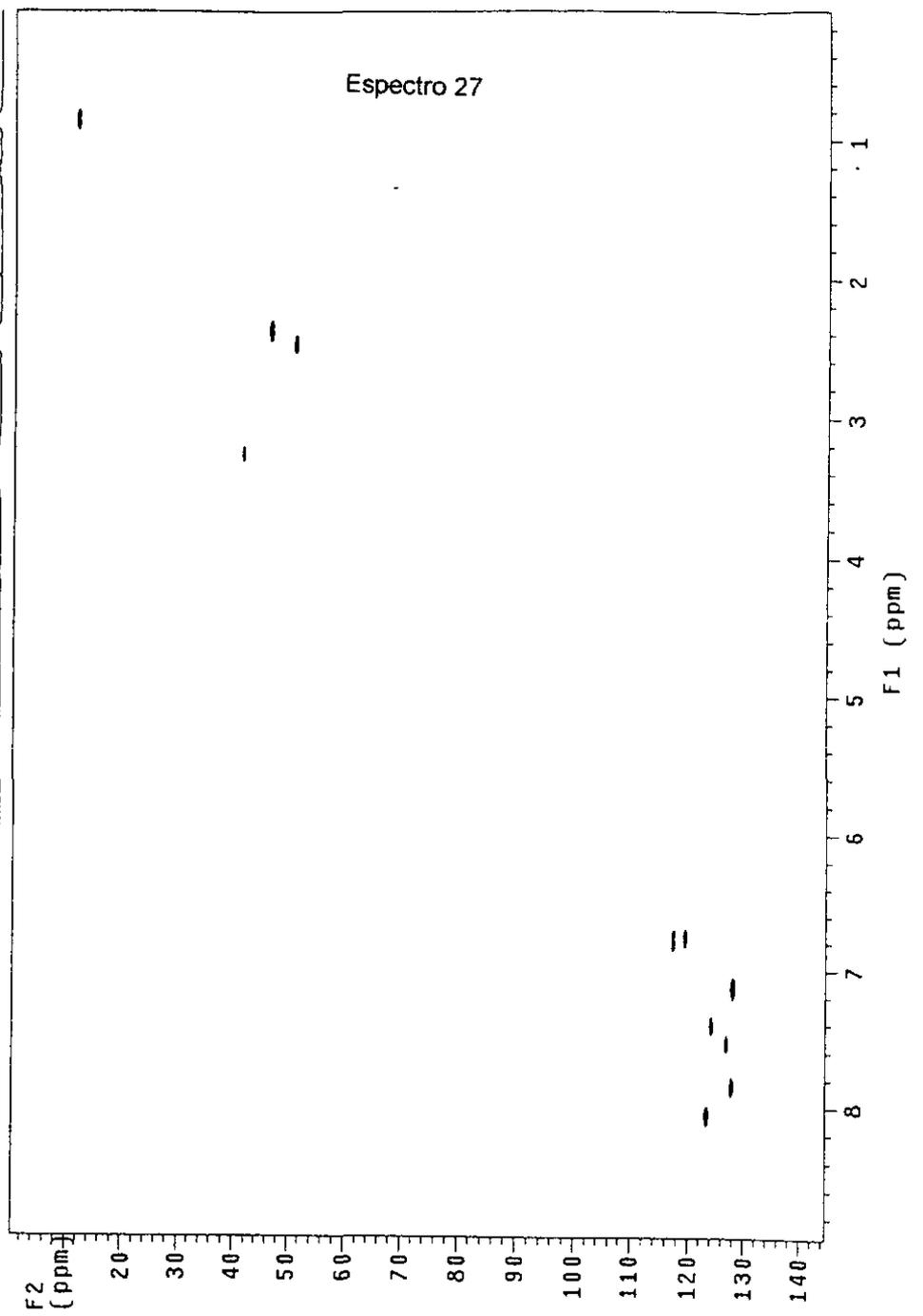
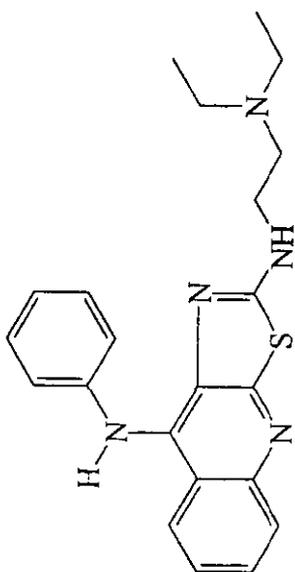


Espectro 26

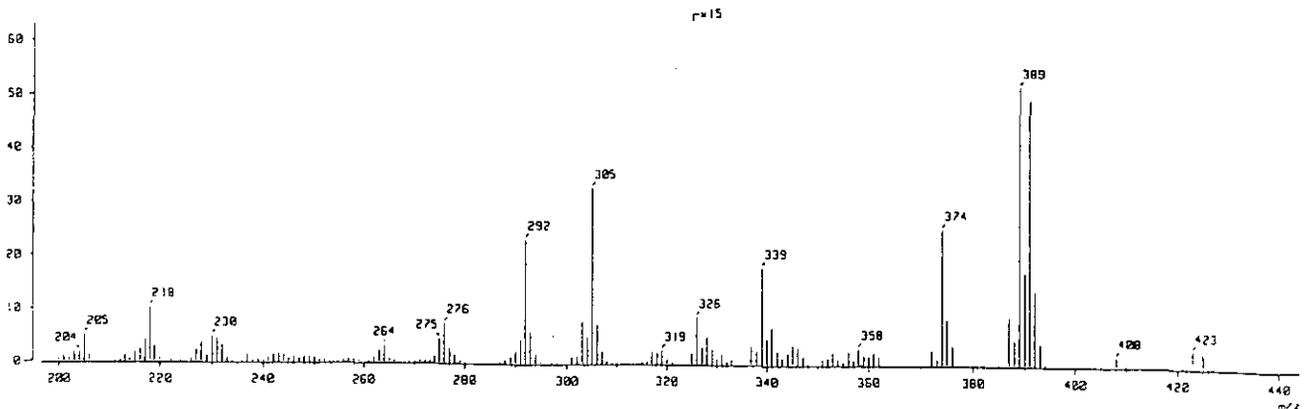
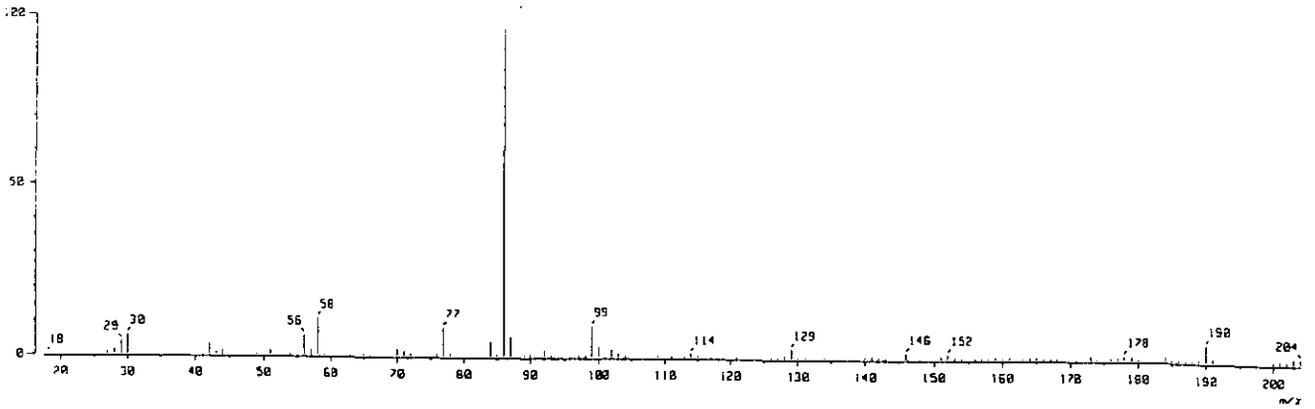
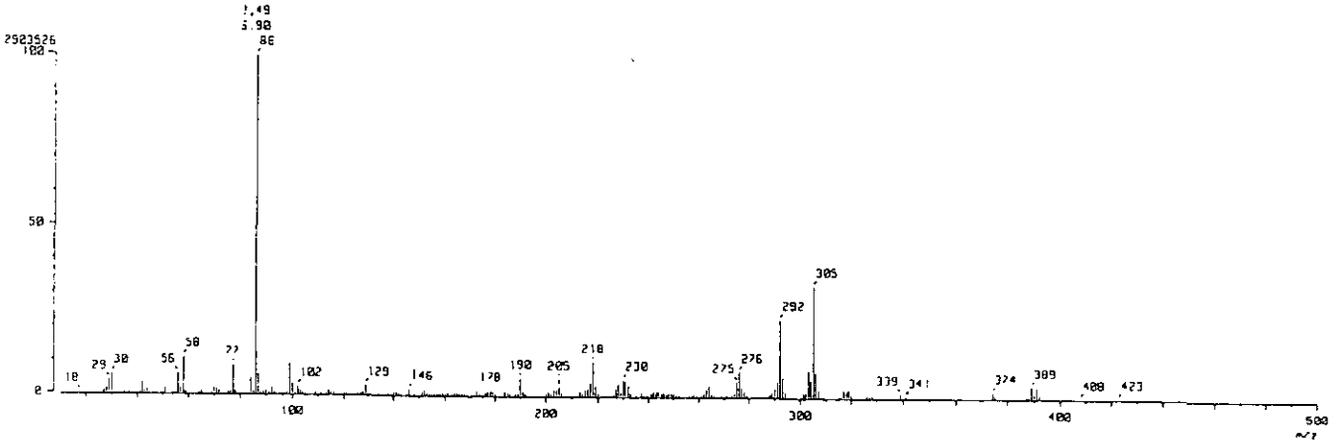
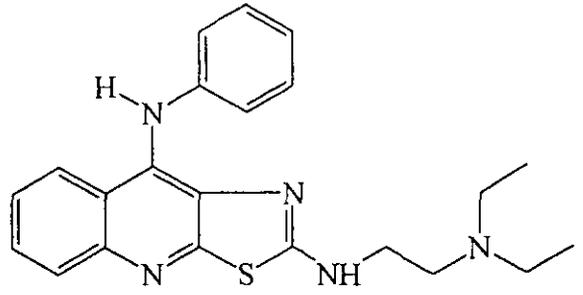
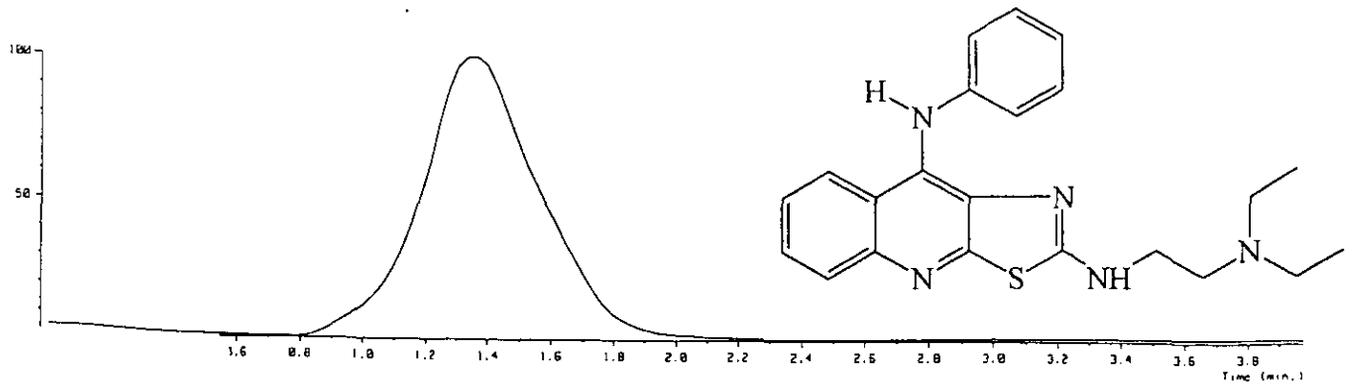


Espectro 26

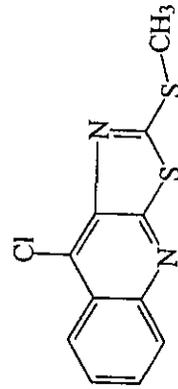
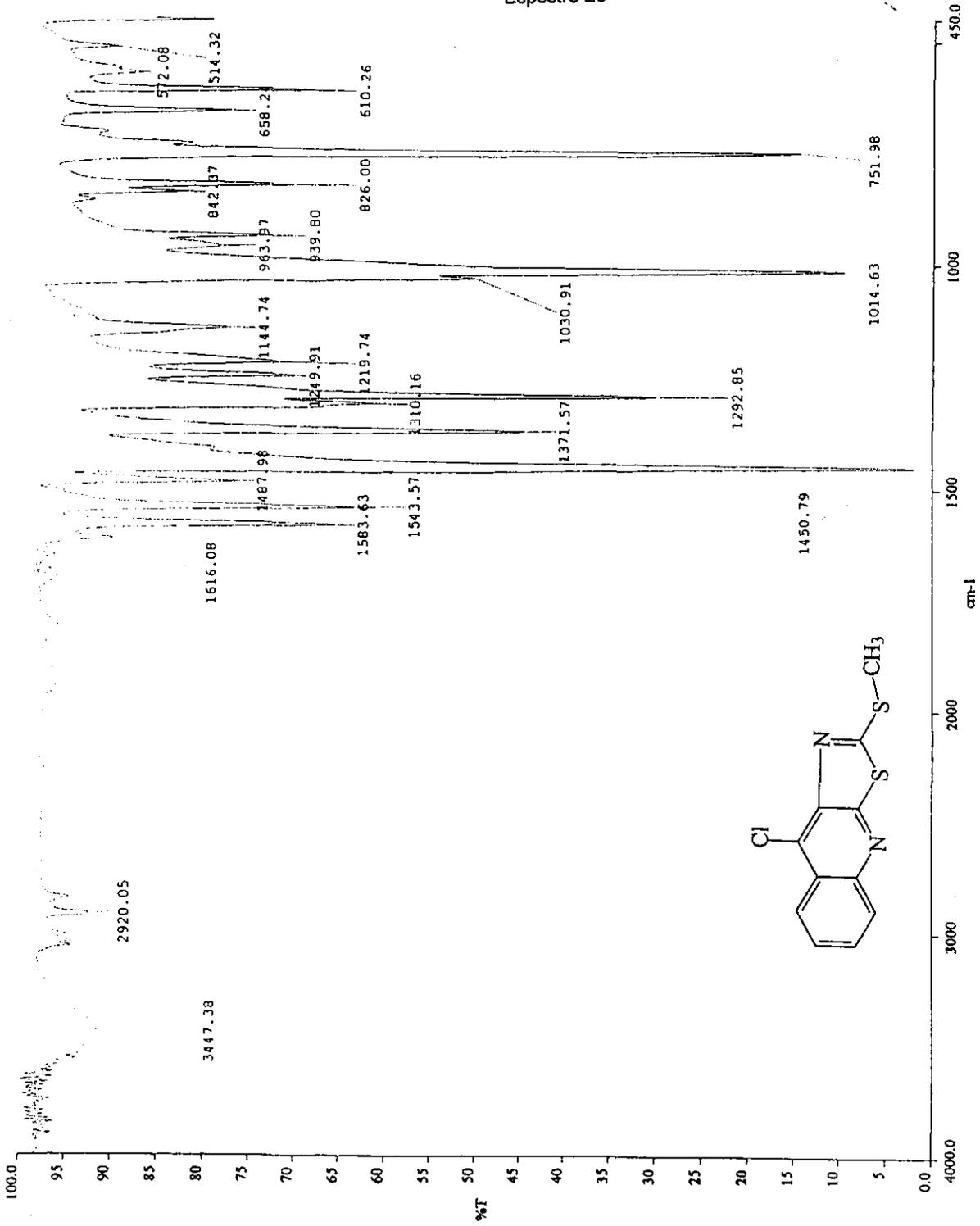




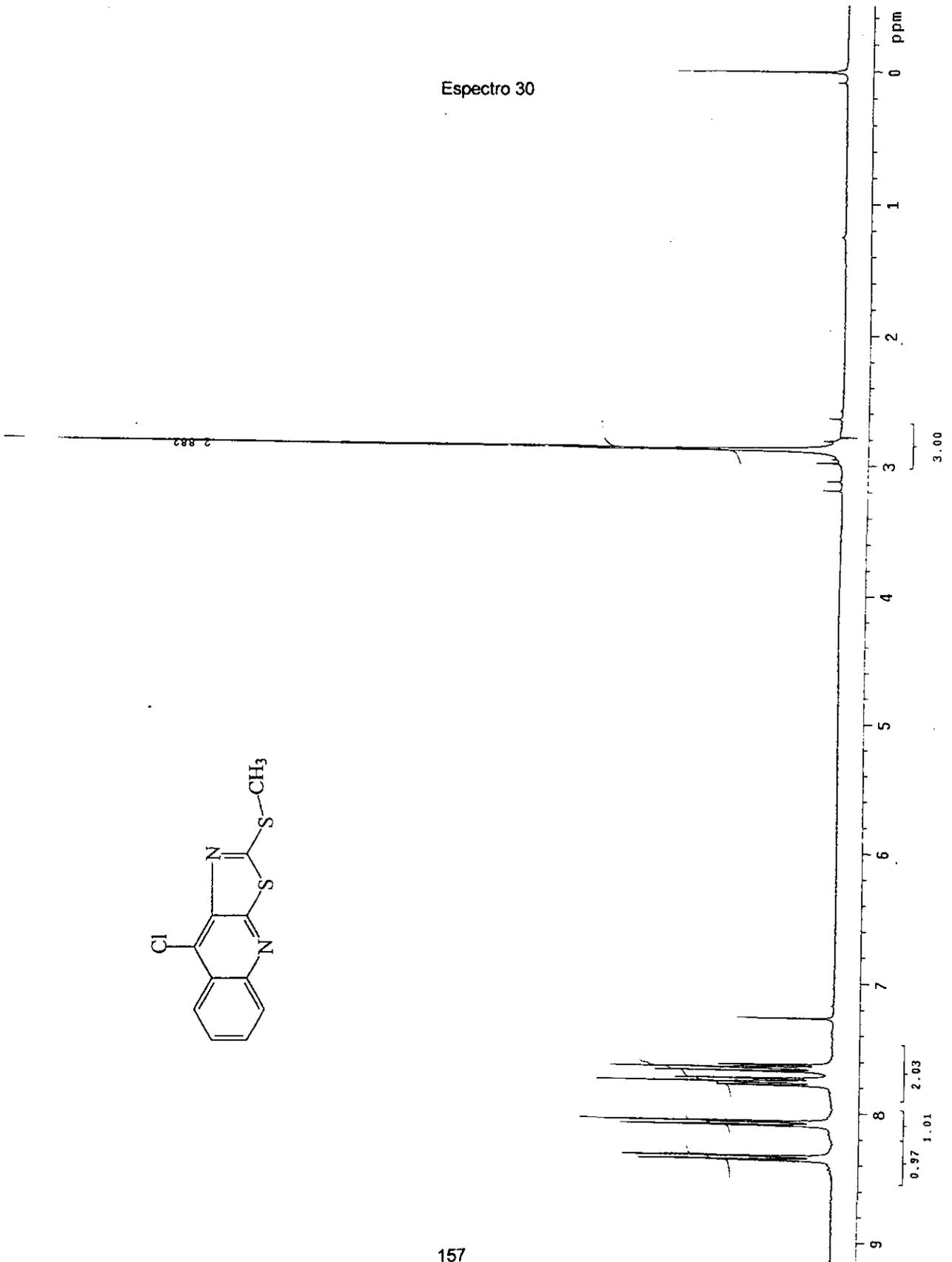
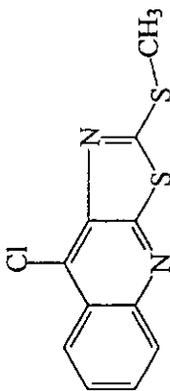
Espectro 28



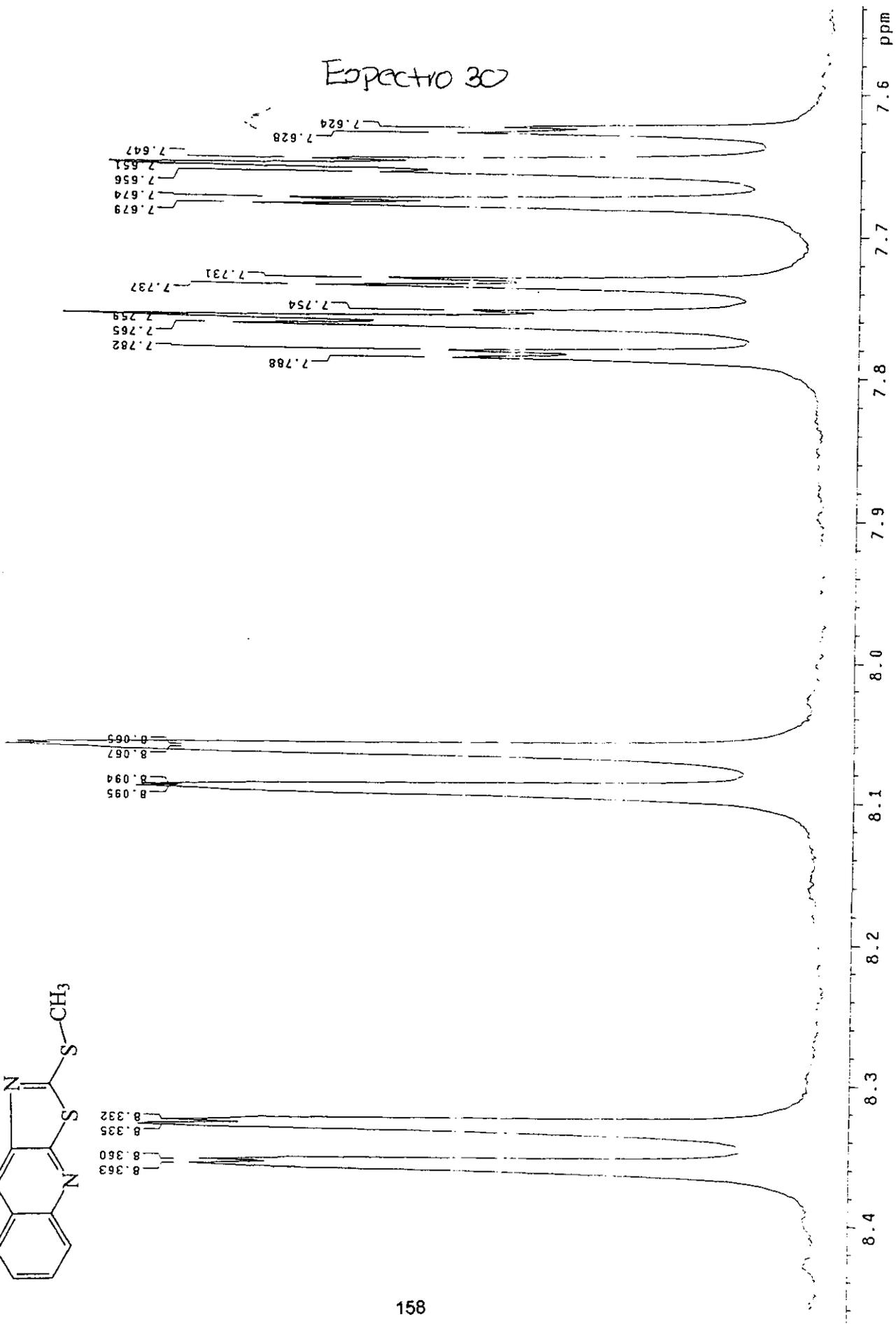
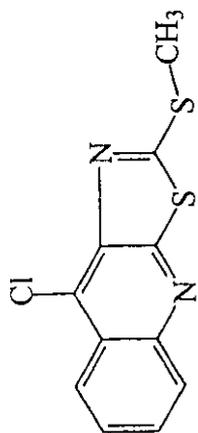
Espectro 29



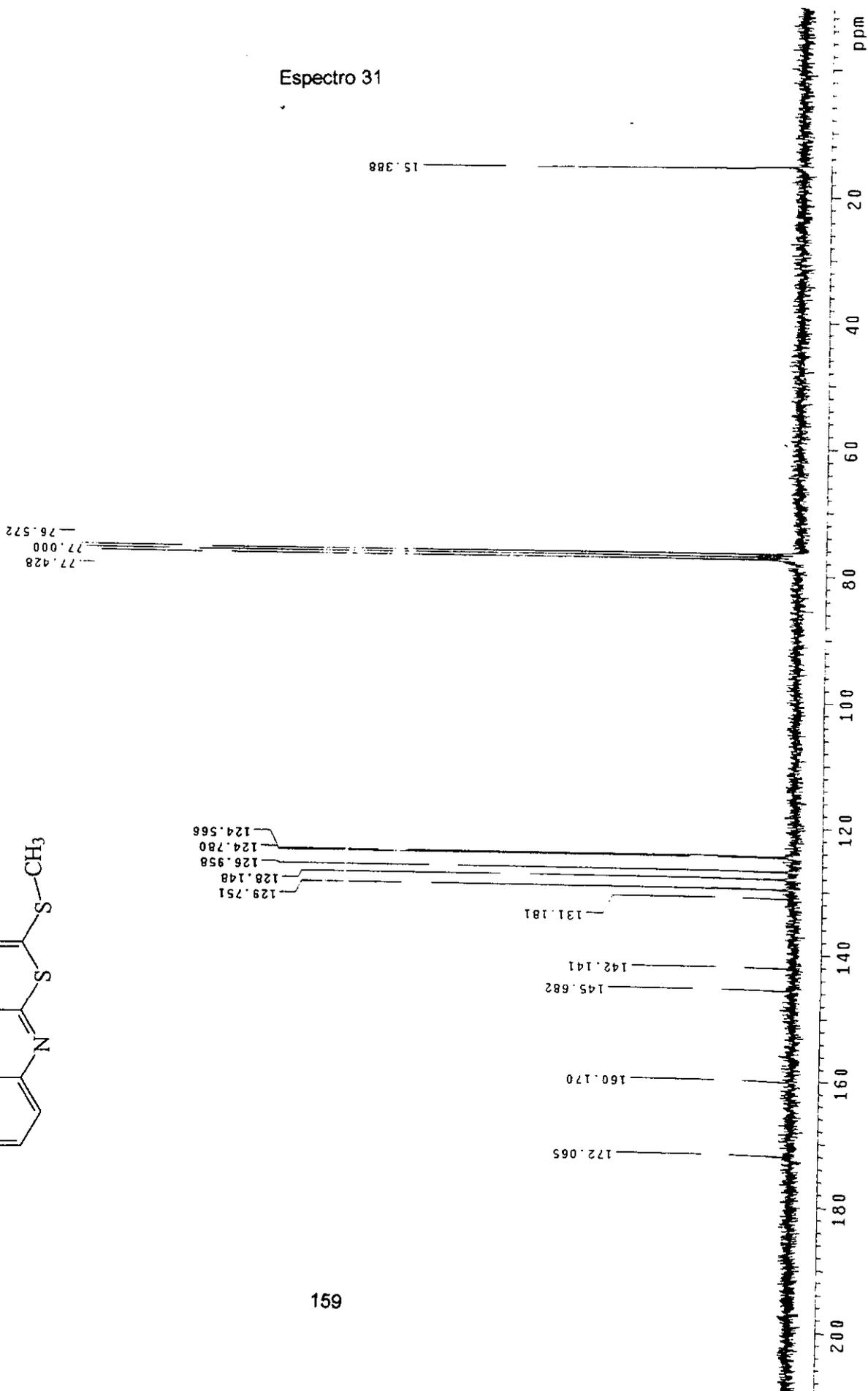
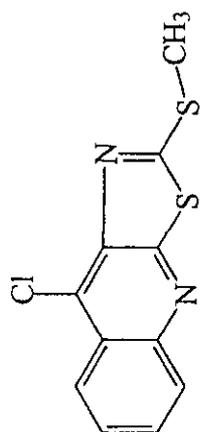
Espectro 30



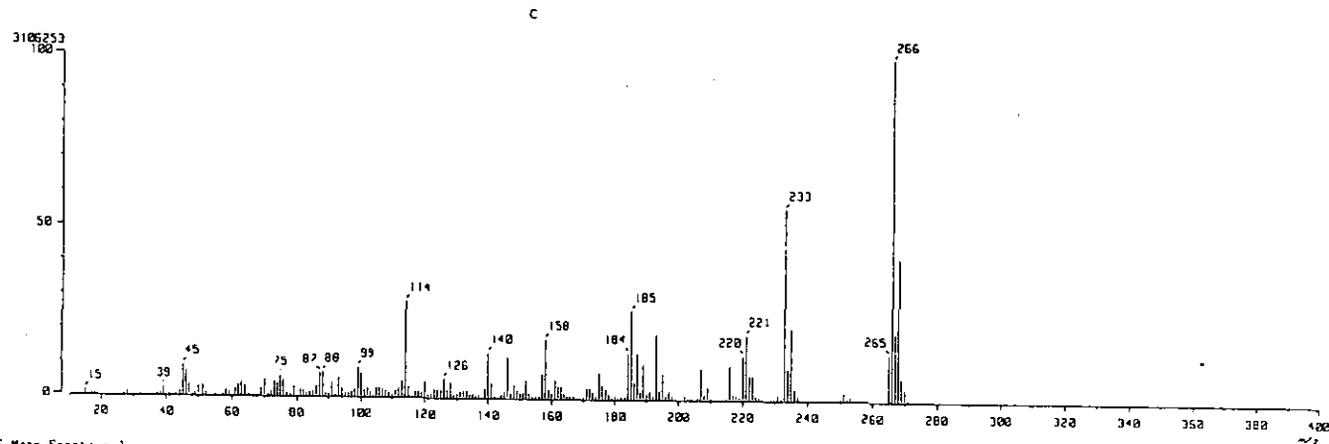
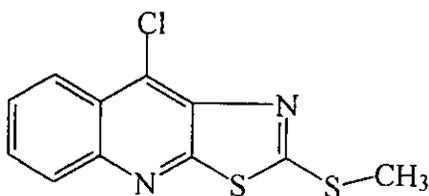
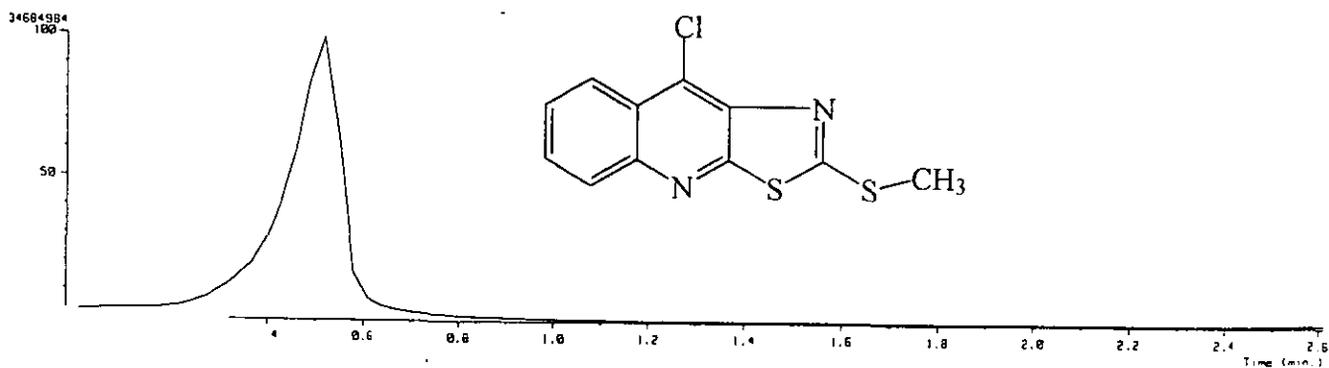
Espectro 30



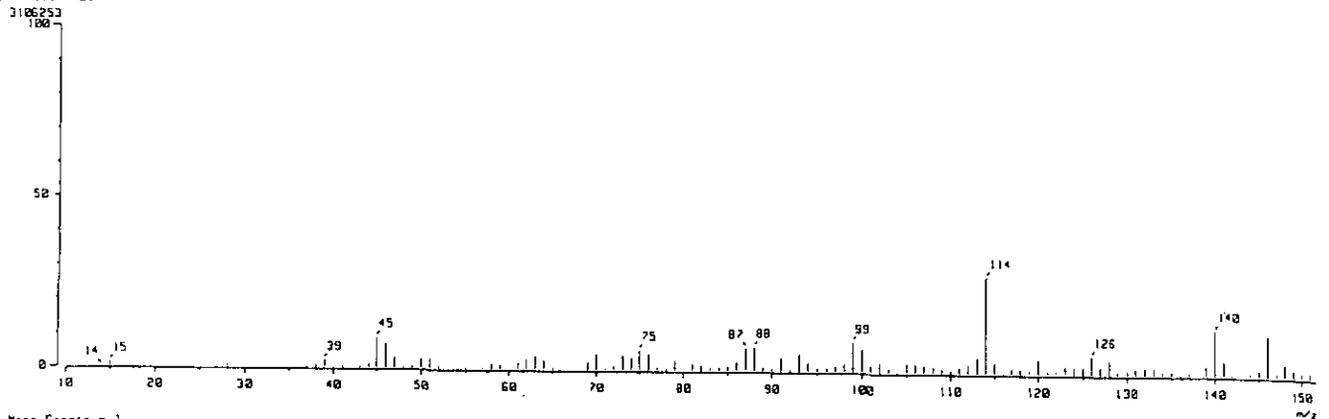
Espectro 31



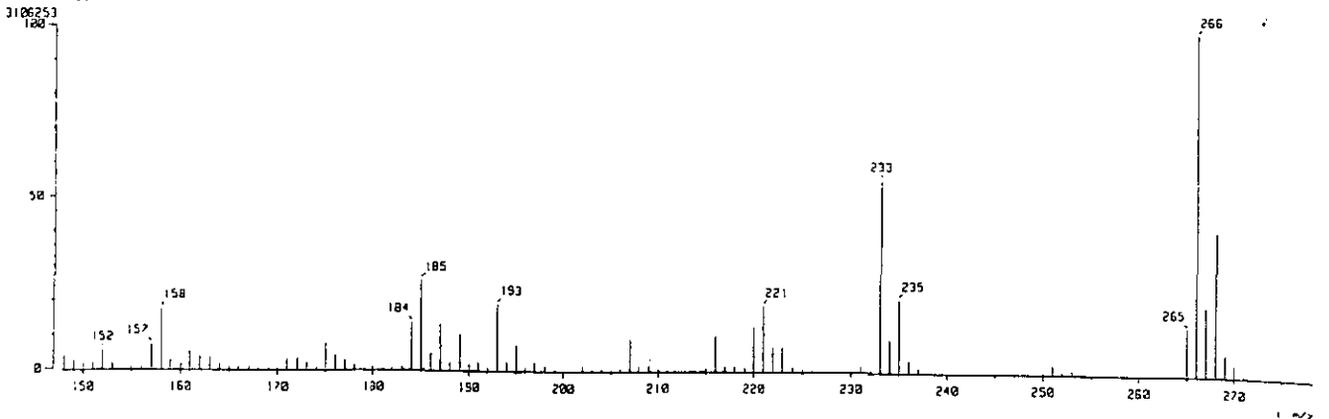
# Espectro 32



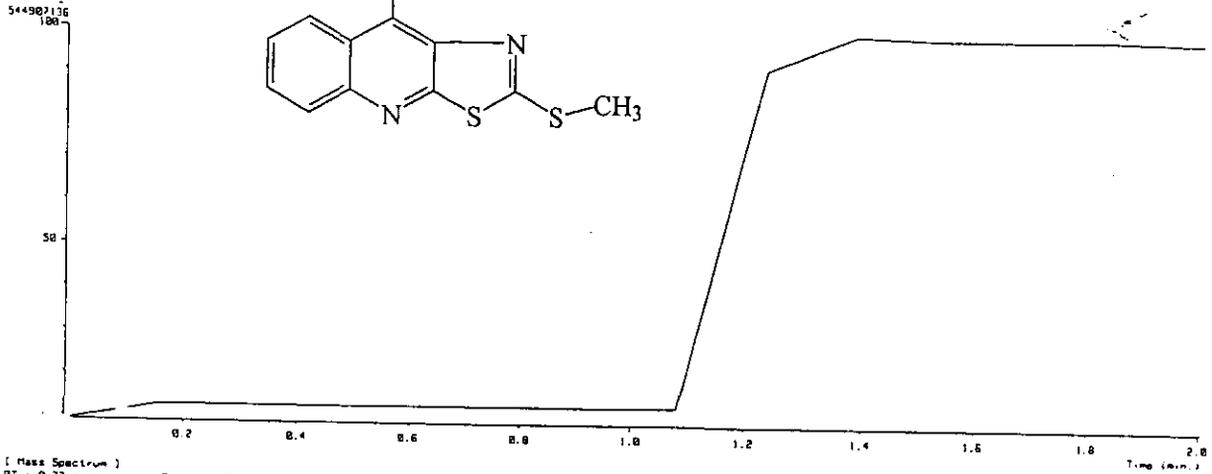
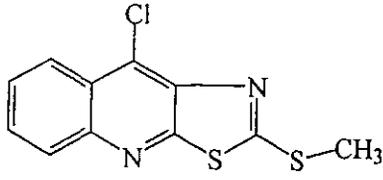
Mass Spectrum ]  
 RT : 0.49 min  
 Ion Mode : E1+



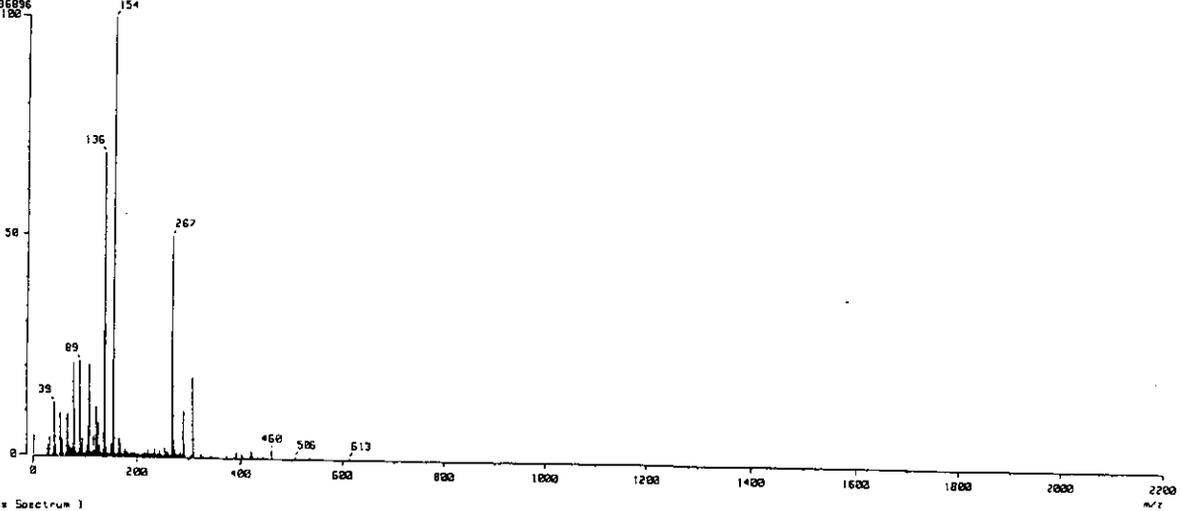
Mass Spectrum ]  
 RT : 0.49 min  
 Ion Mode : E1+



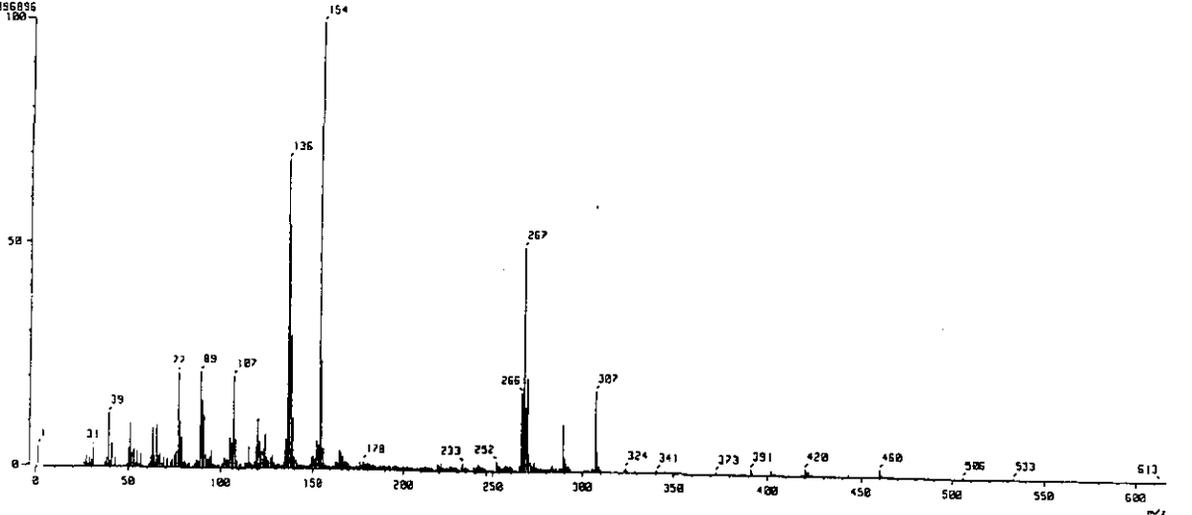
Espectro 33



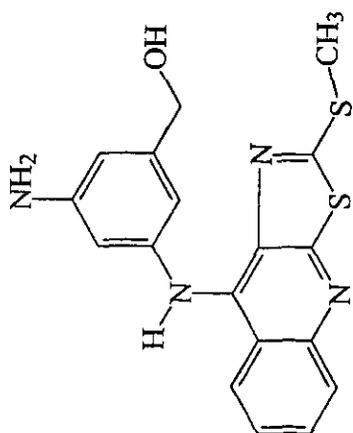
[ Mass Spectrum ]  
RT : 0.77 min  
Ion Mode : FIB+  
Scan# : (5, 8)  
Int. : 753.11  
Temp : 6.4 deg.C



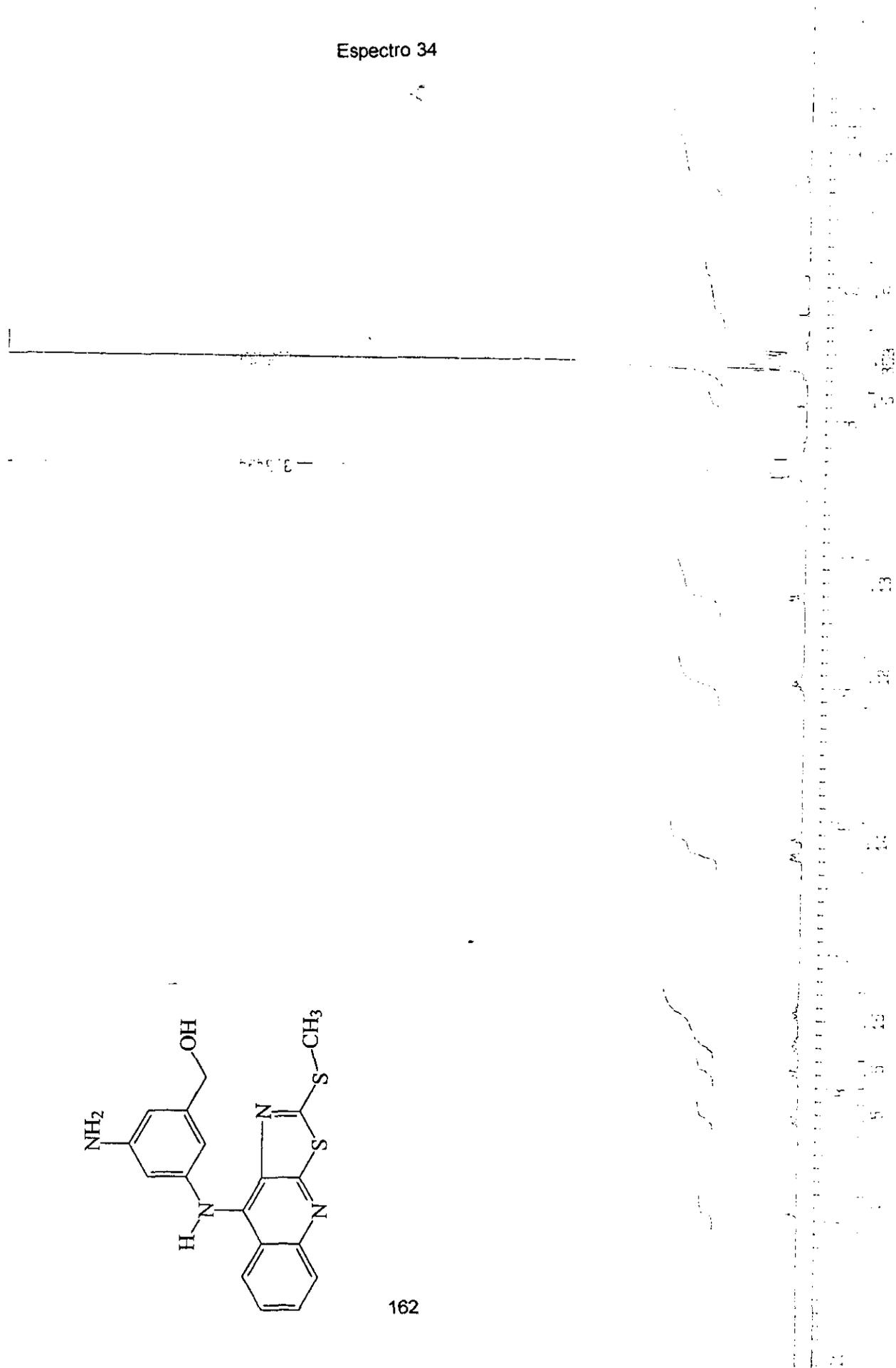
[ Mass Spectrum ]  
RT : 0.77 min  
Ion Mode : FIB+  
Scan# : (5, 8)  
Int. : 753.11  
Temp : 6.4 deg.C



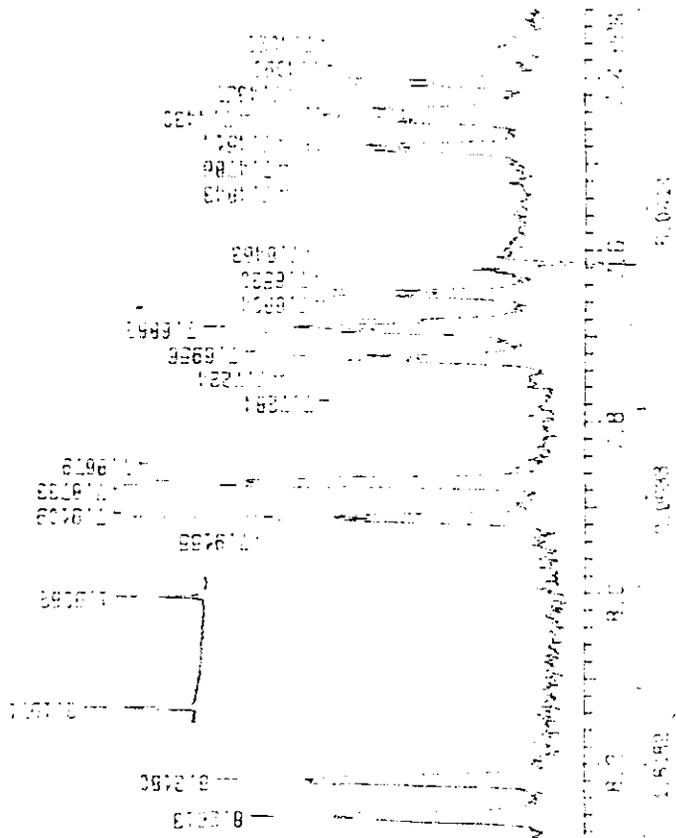
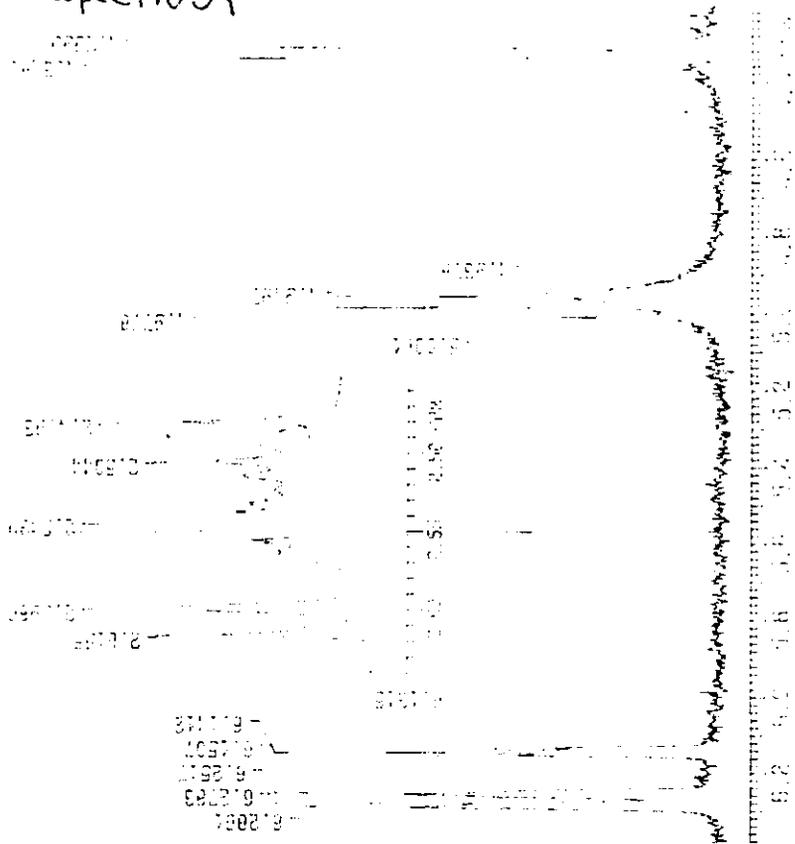
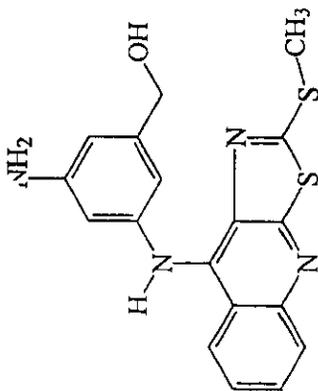
Espectro 34



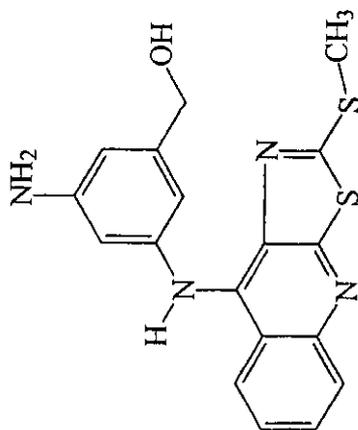
162



# Espectro 34



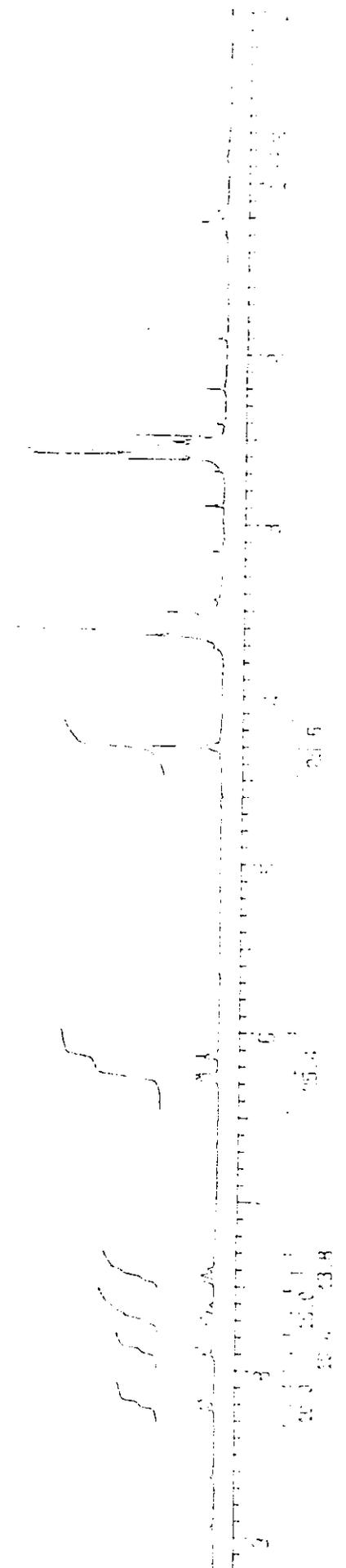
# Espectro 34

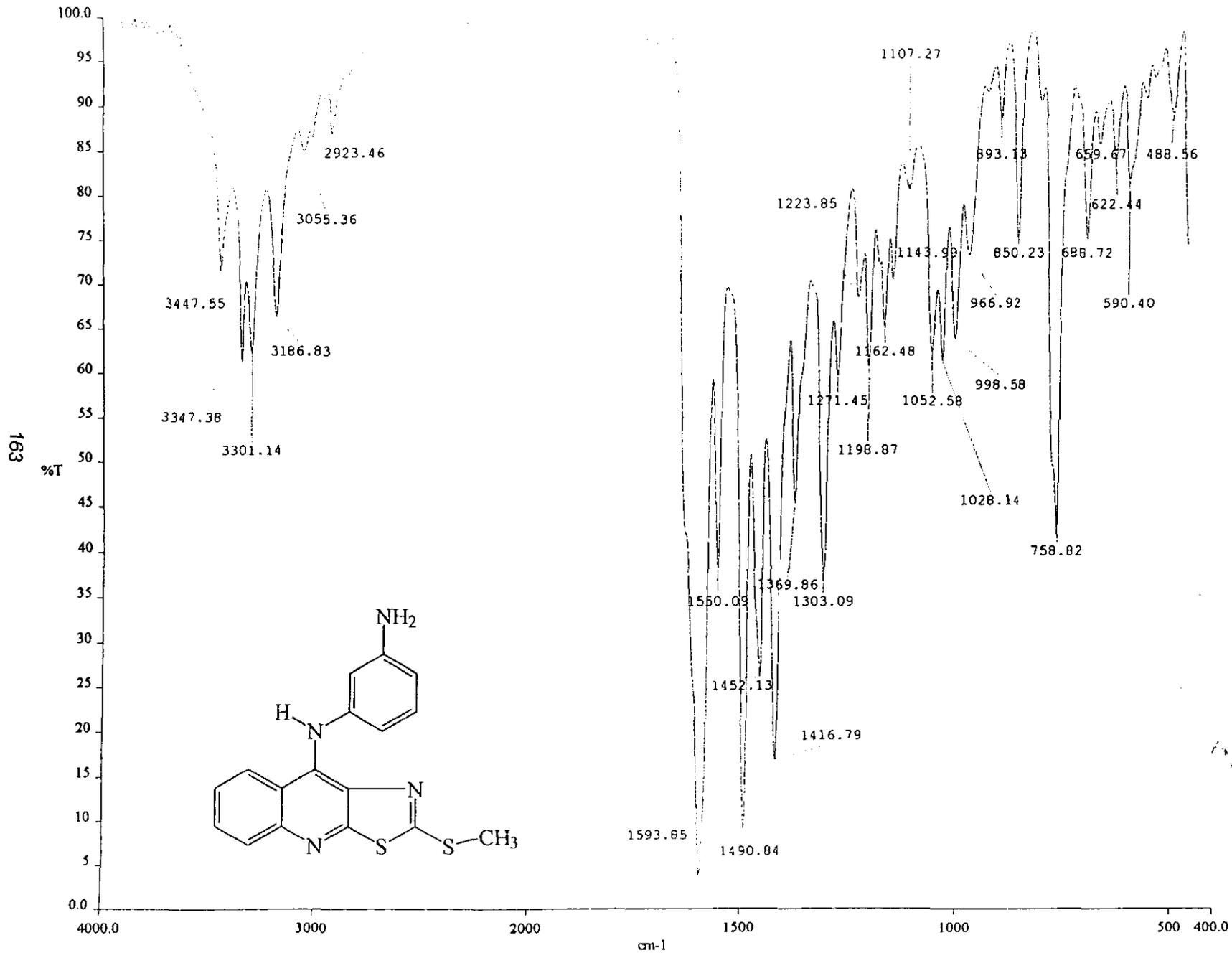


3.00  
2.95  
2.90  
2.85  
2.80  
2.75  
2.70  
2.65  
2.60  
2.55  
2.50  
2.45  
2.40  
2.35  
2.30  
2.25  
2.20  
2.15  
2.10  
2.05  
2.00  
1.95  
1.90  
1.85  
1.80  
1.75  
1.70  
1.65  
1.60  
1.55  
1.50  
1.45  
1.40  
1.35  
1.30  
1.25  
1.20  
1.15  
1.10  
1.05  
1.00  
0.95  
0.90  
0.85  
0.80  
0.75  
0.70  
0.65  
0.60  
0.55  
0.50  
0.45  
0.40  
0.35  
0.30  
0.25  
0.20  
0.15  
0.10  
0.05  
0.00

9.0 8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 0.0

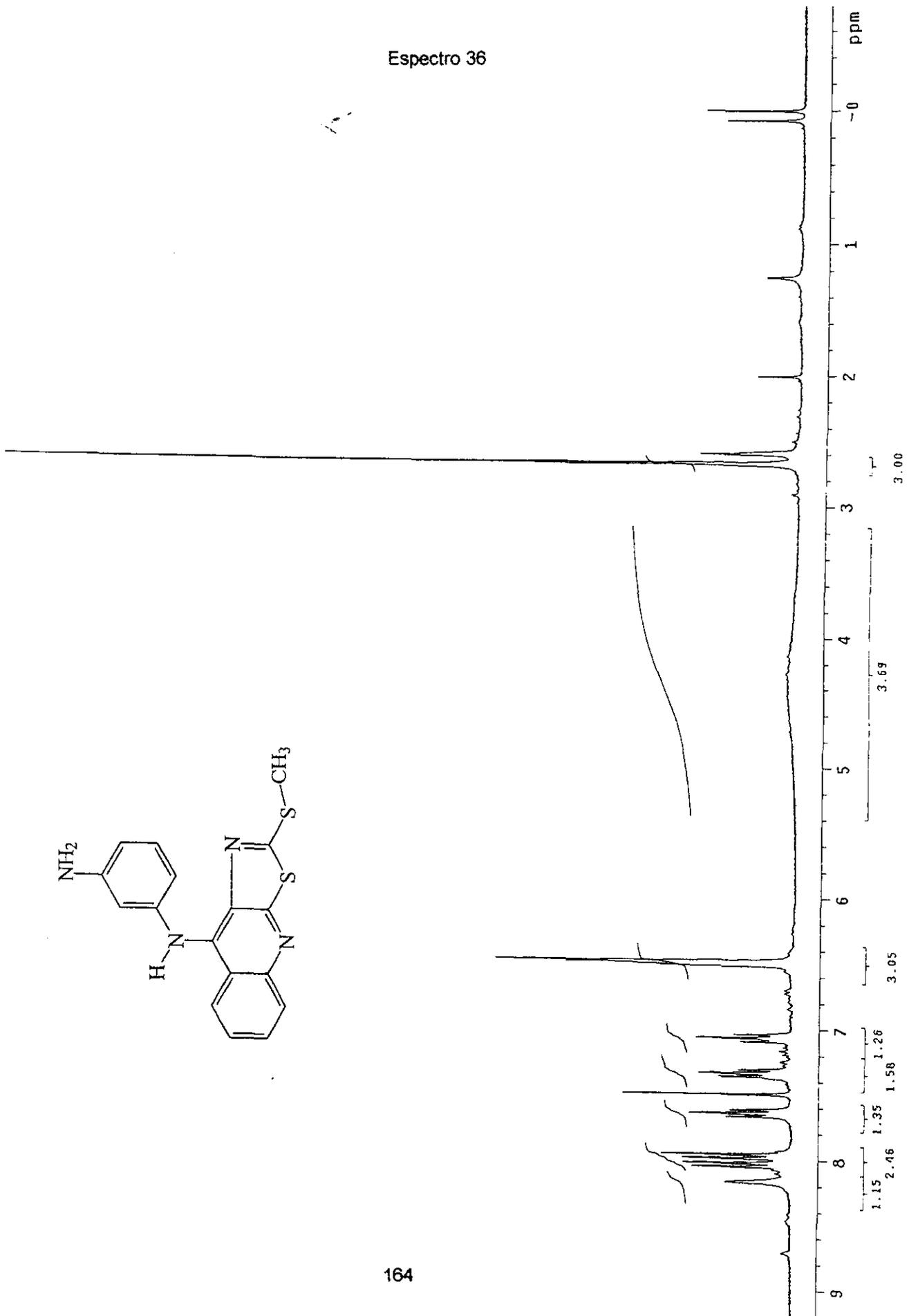
120000  
100000  
80000  
60000  
40000  
20000  
0



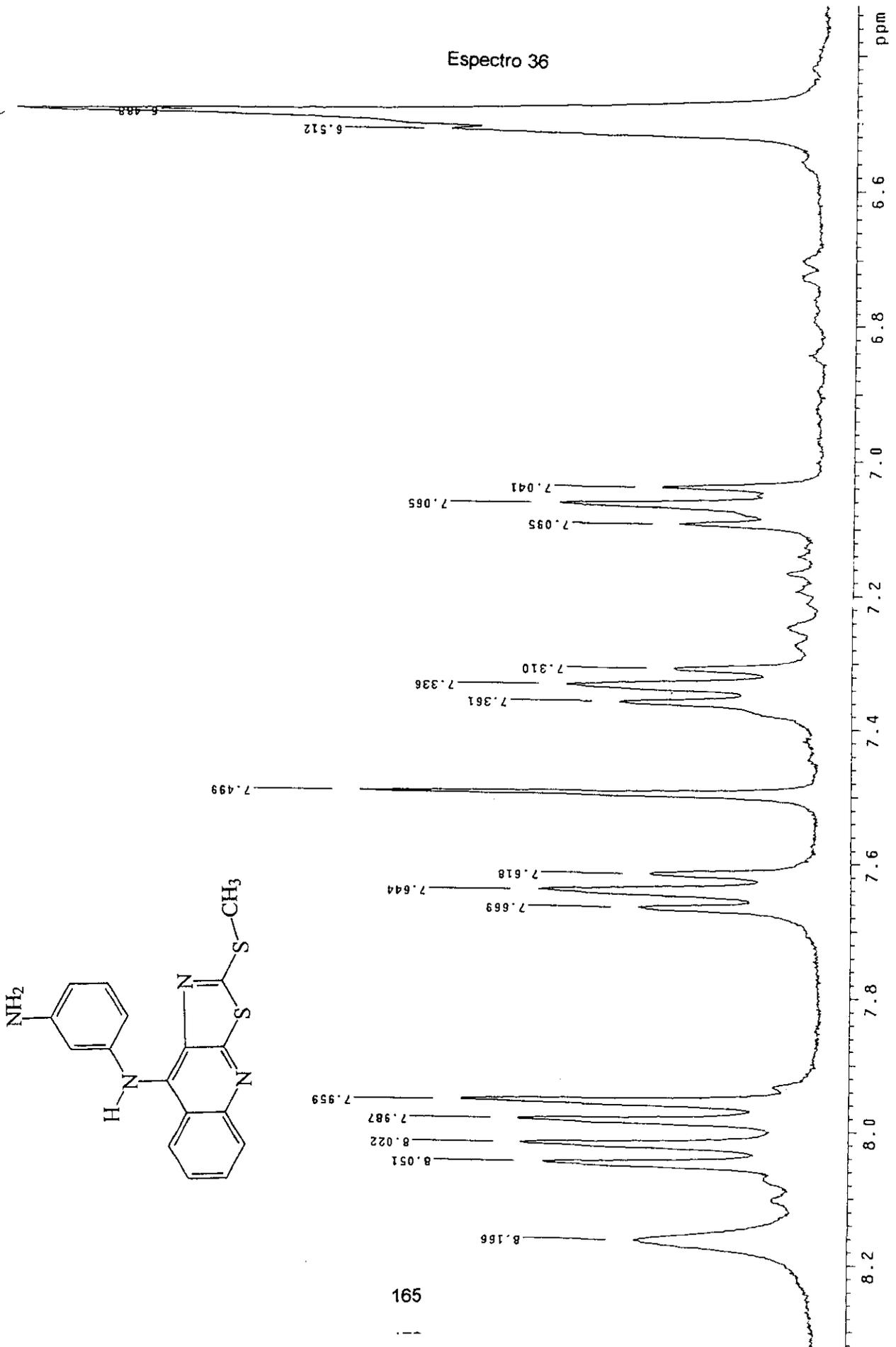


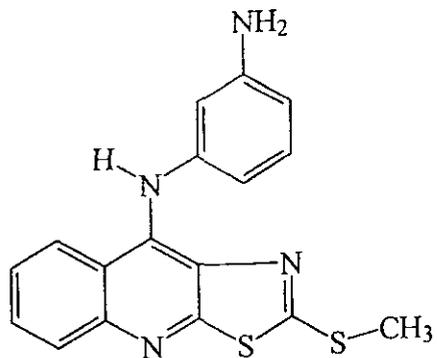
Espectro 35

Espectro 36

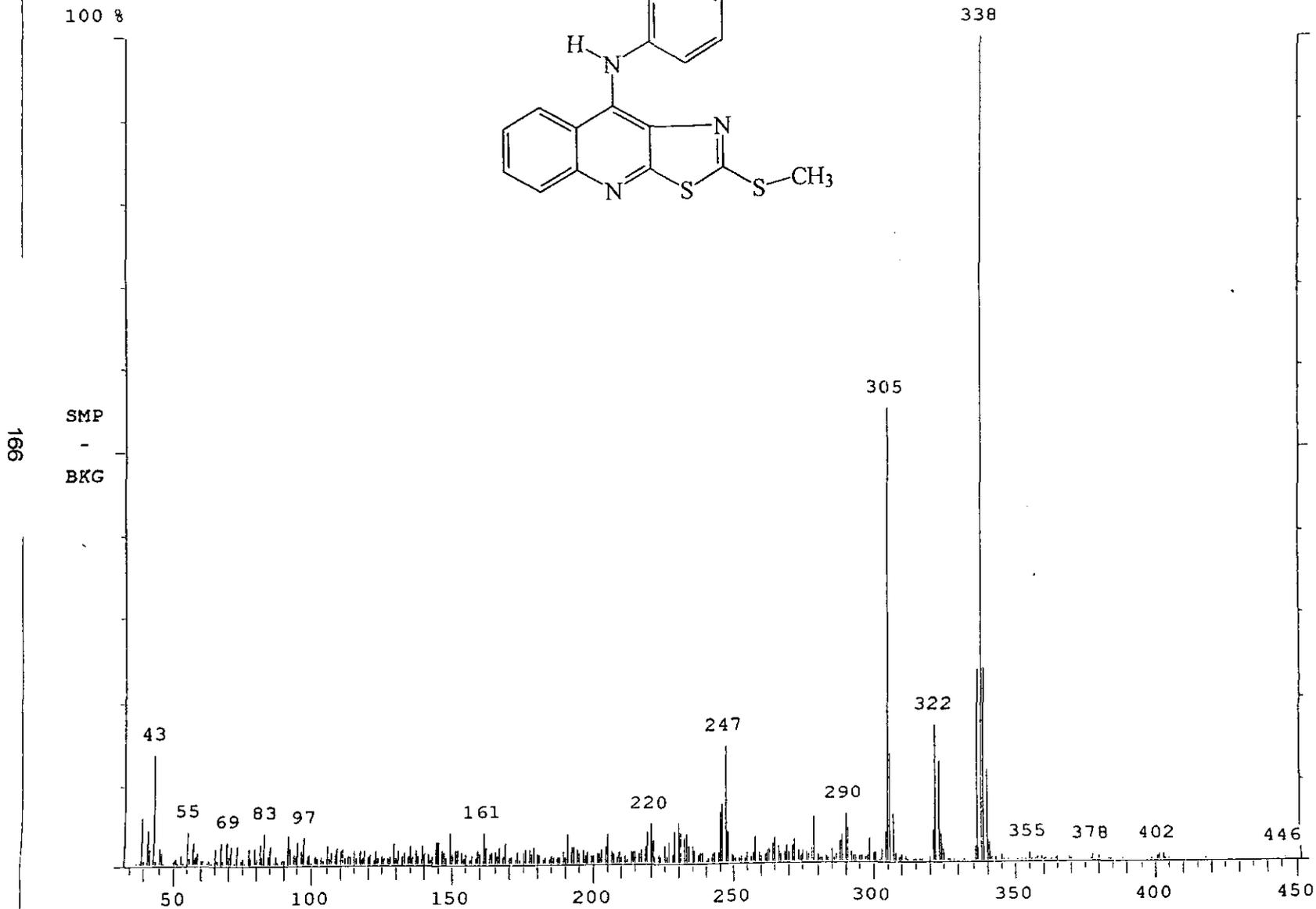


Espectro 36





100% = 163830

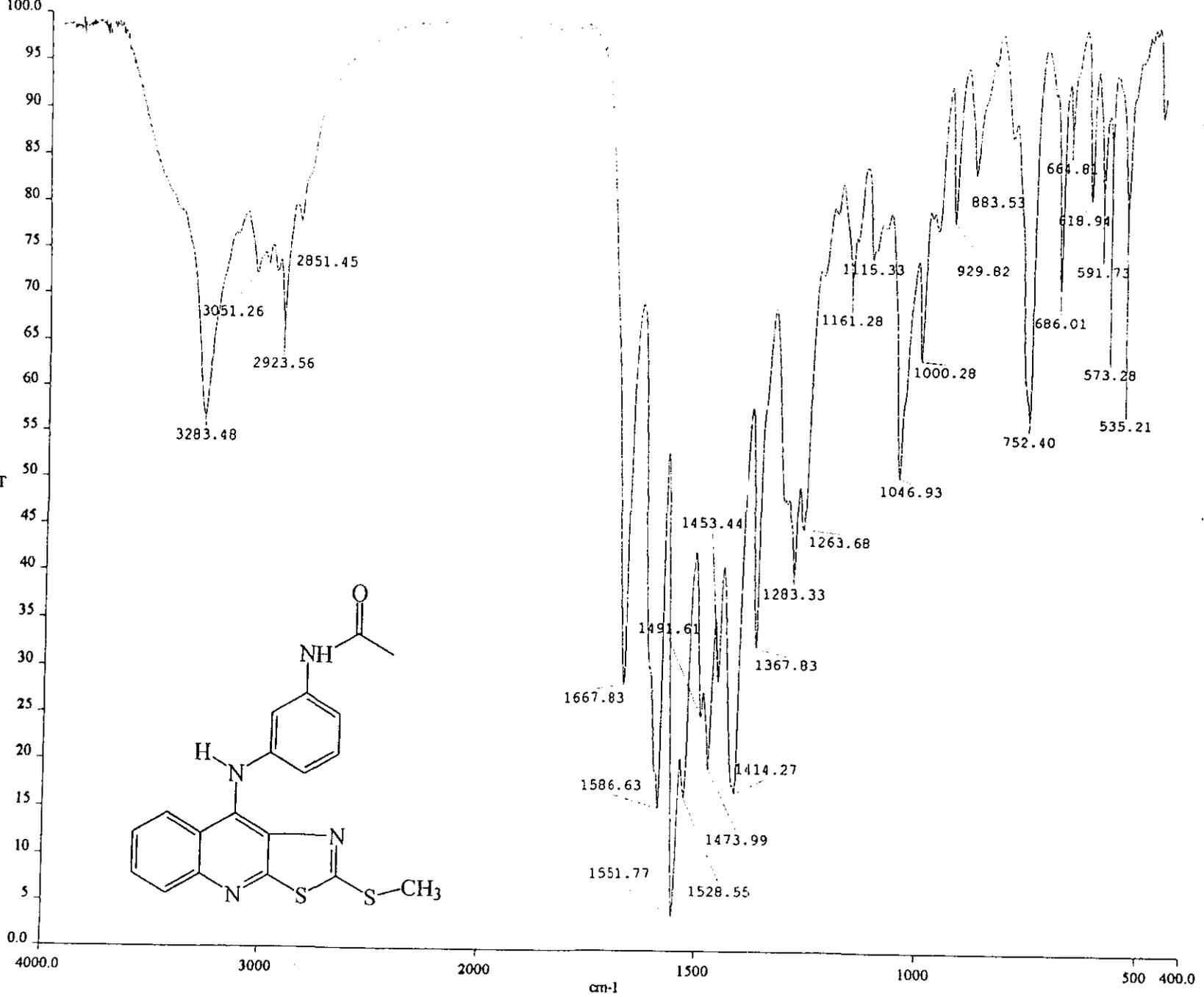


Espectro 37

167

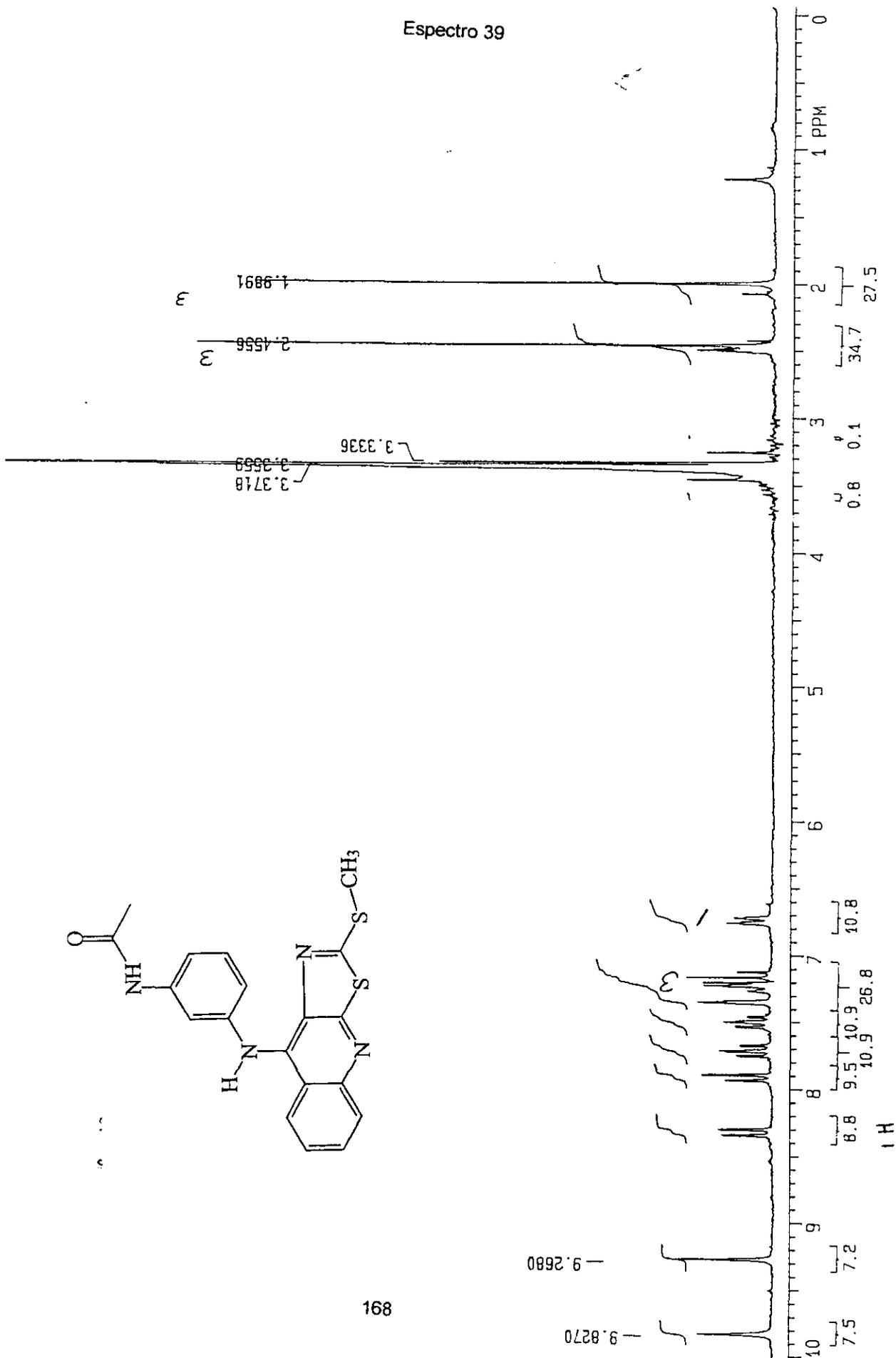
%T

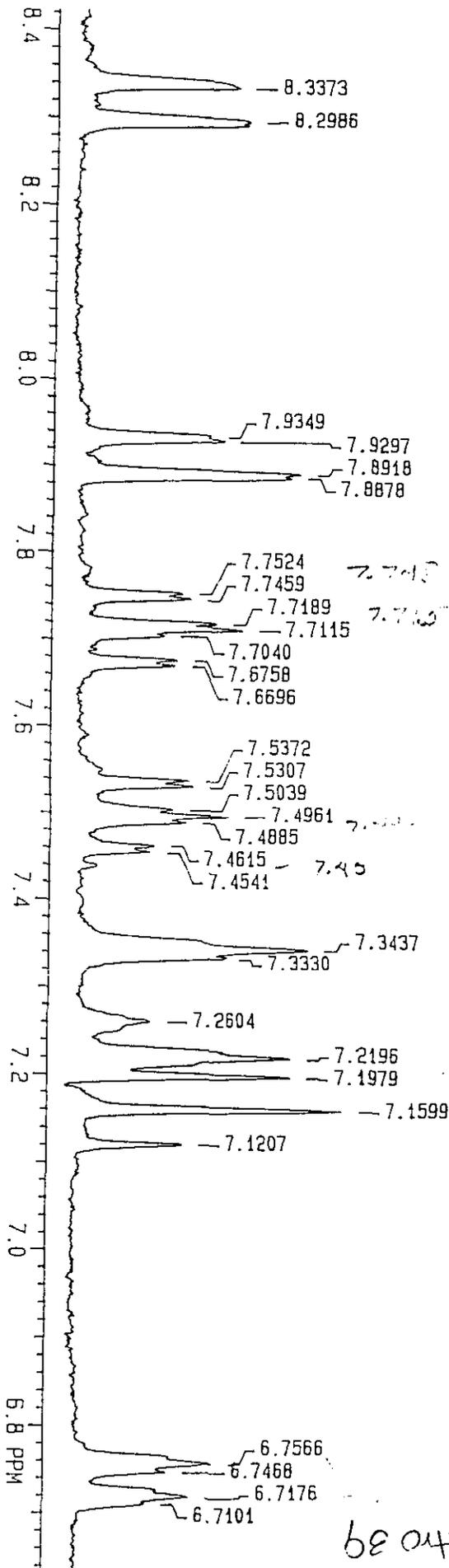
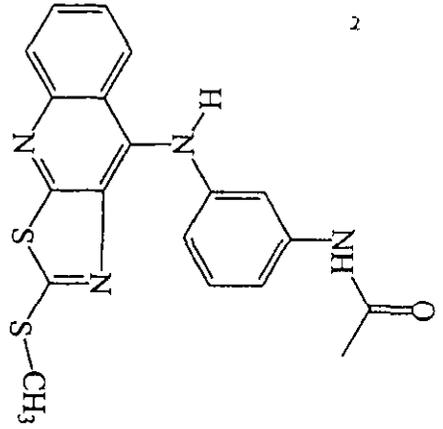
Espectro 38



a:\spectra\ar1th.001

Espectro 39

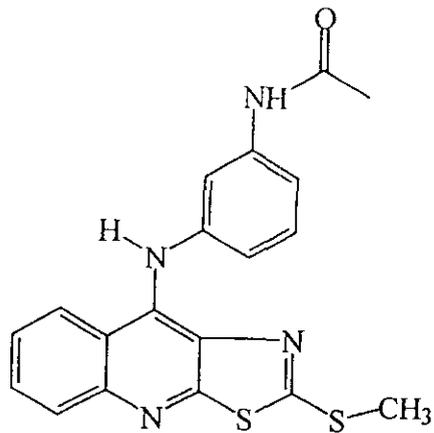




Espectro 39

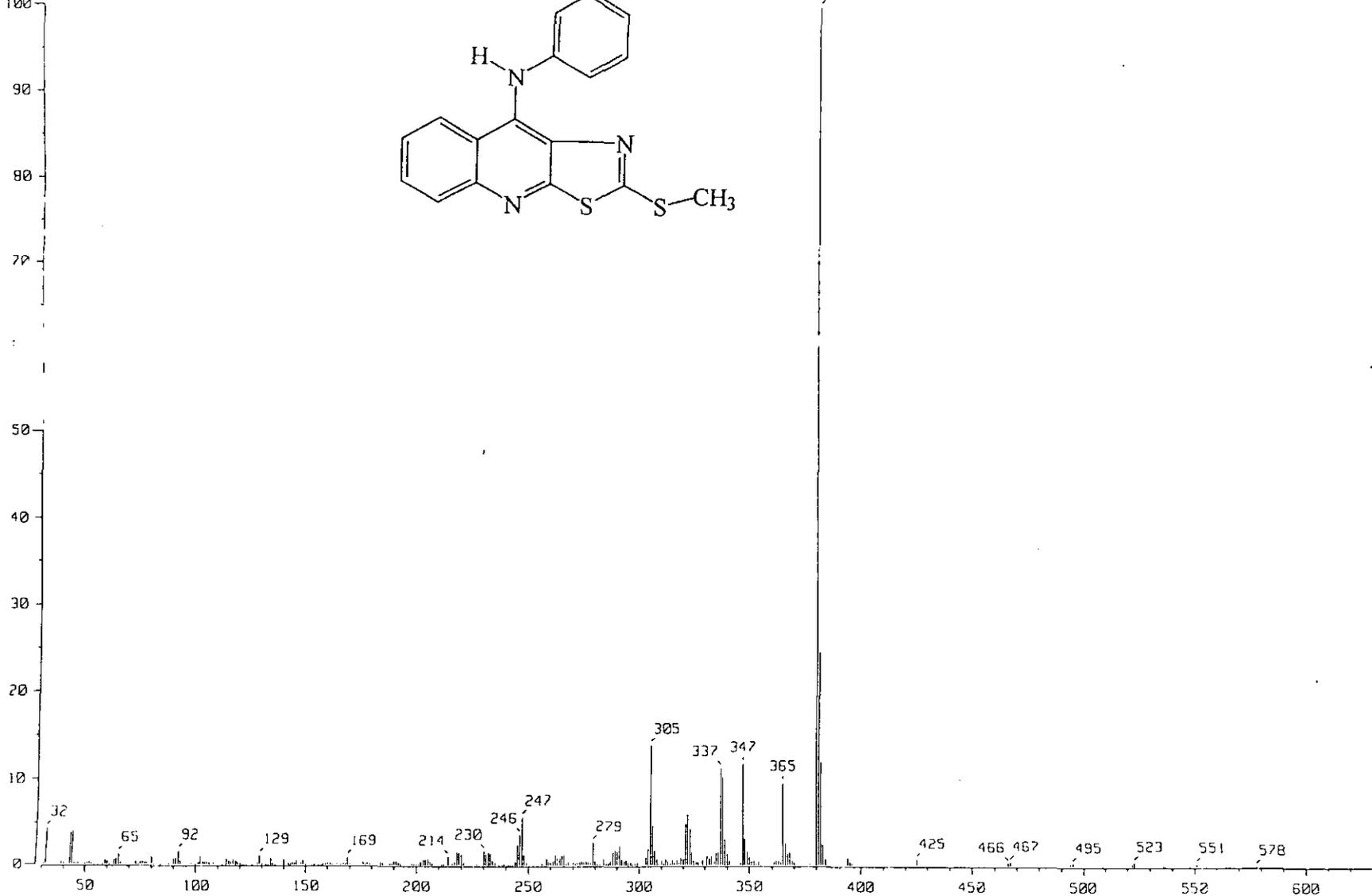
Output m/z range : 30

3572909  
100



170

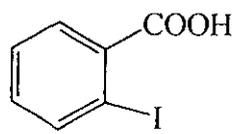
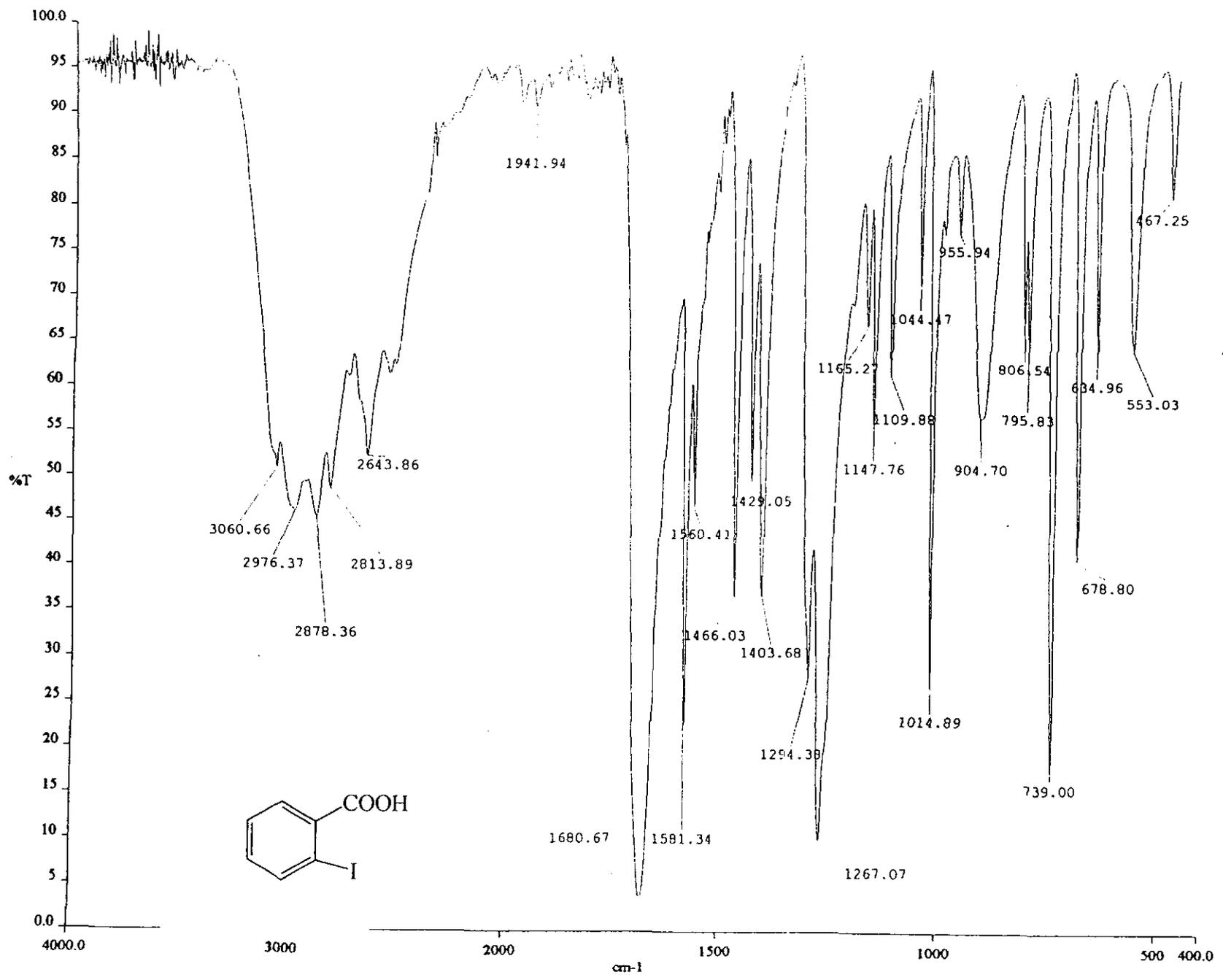
380



m/z

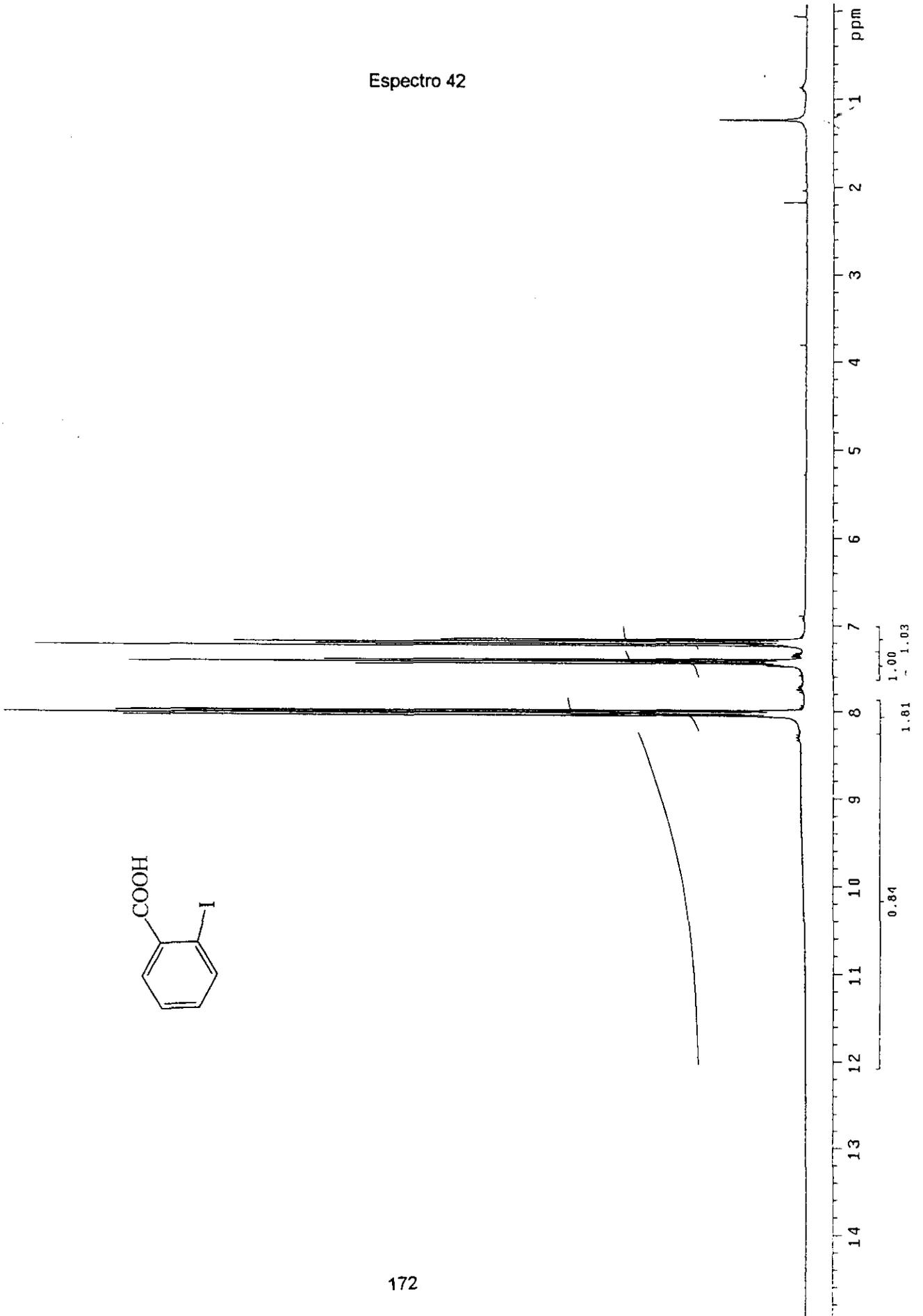
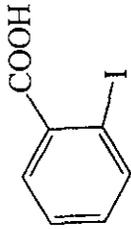
Espectro 40

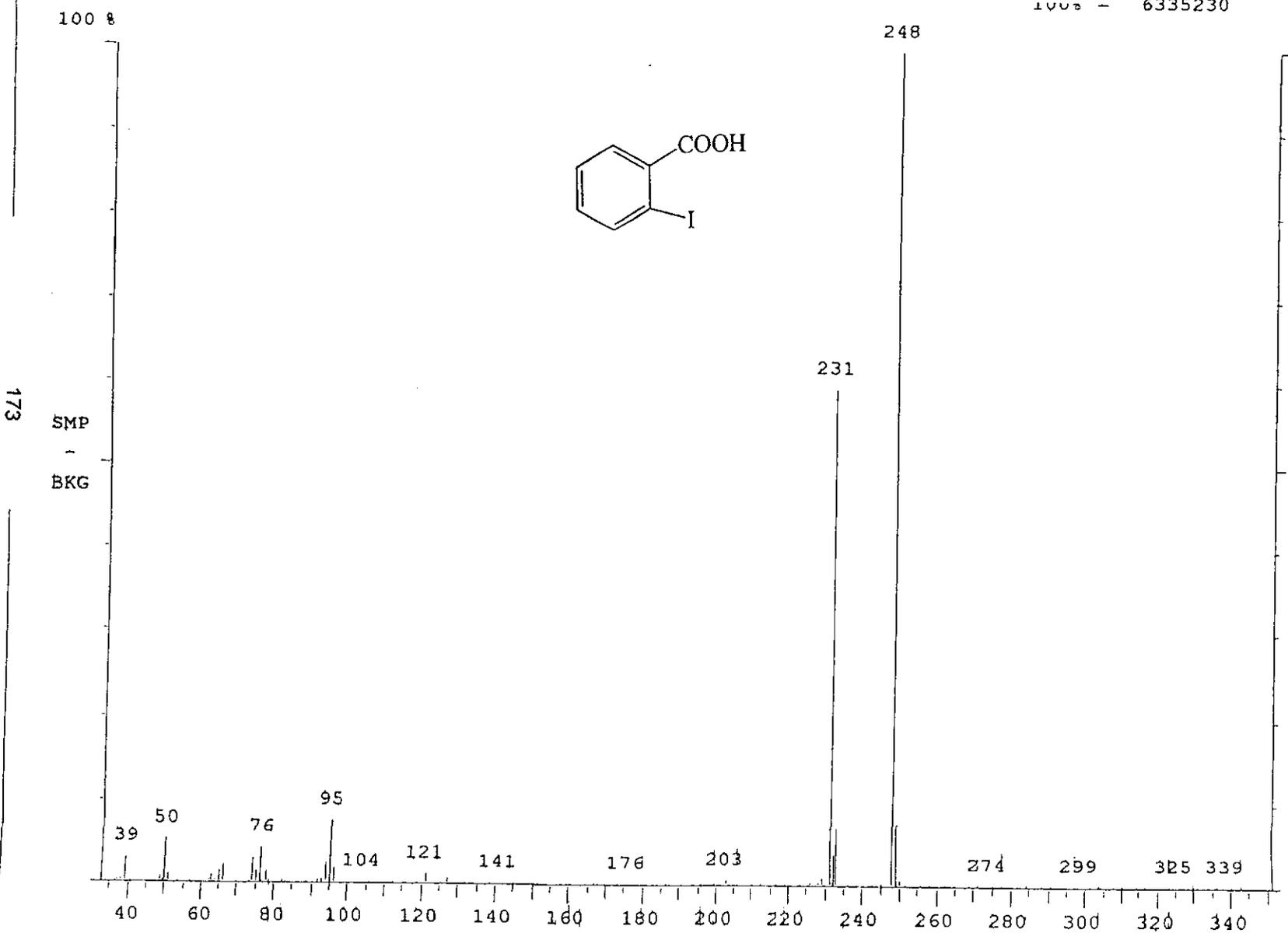
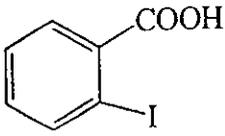
171



Espectro 41

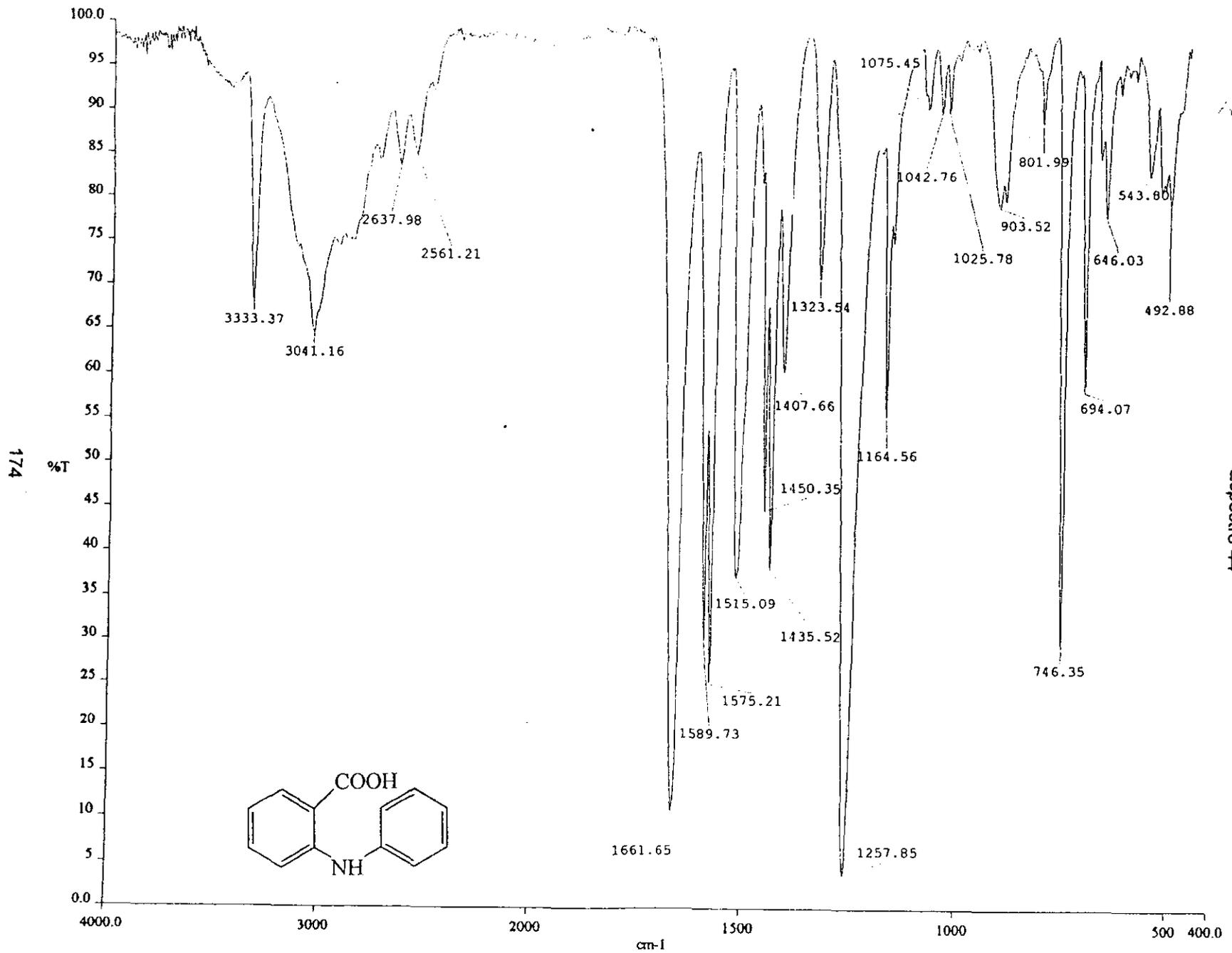
Espectro 42



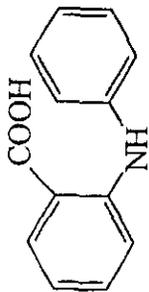


100% - 6335230

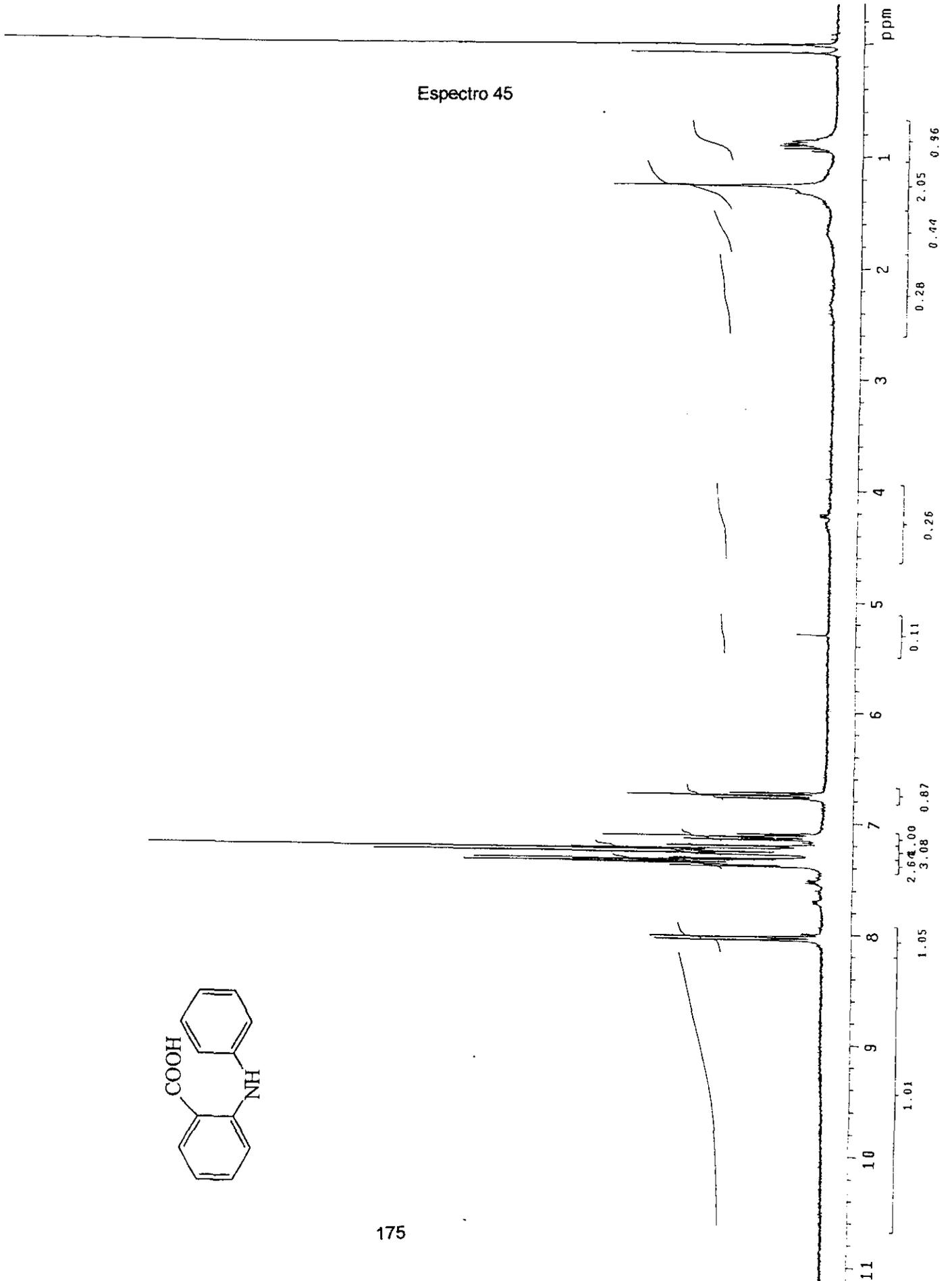
Espectro 43



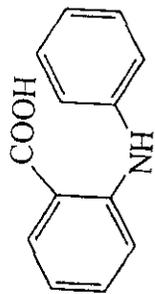
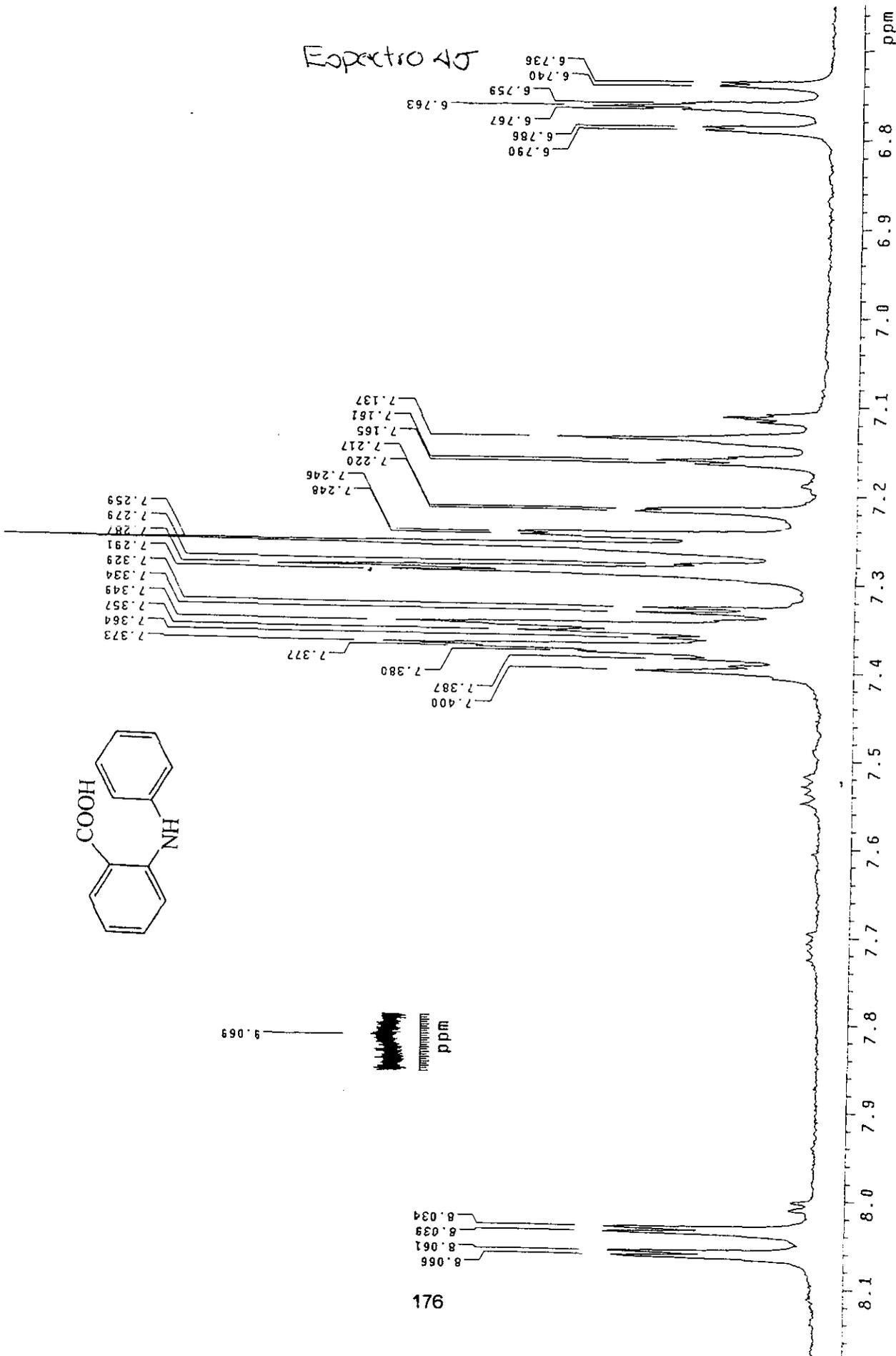
ESPECTRO 44



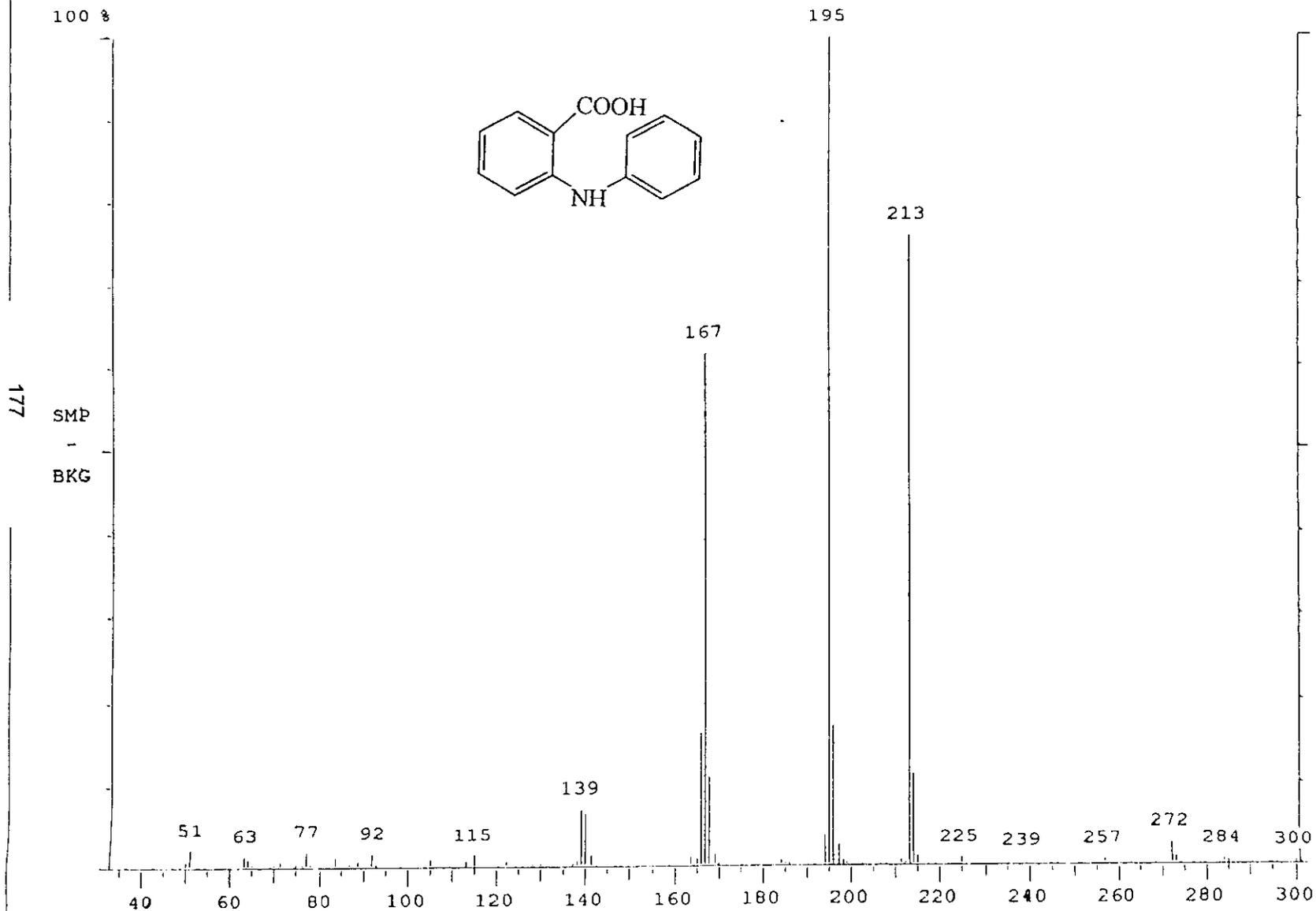
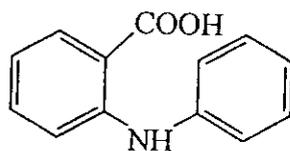
Espectro 45



Espectro 45

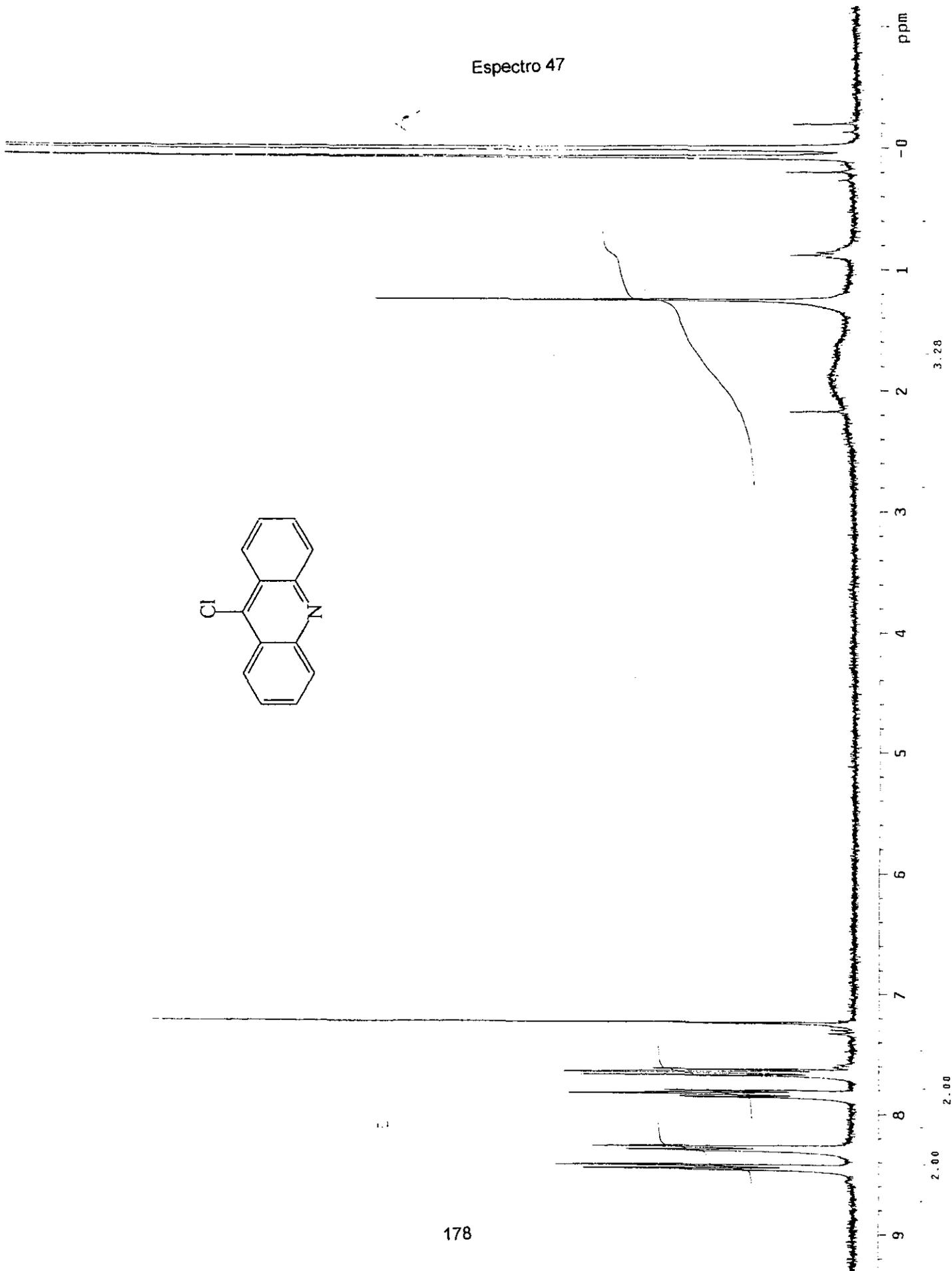
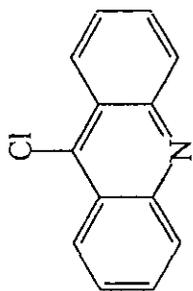


100% = 2850036

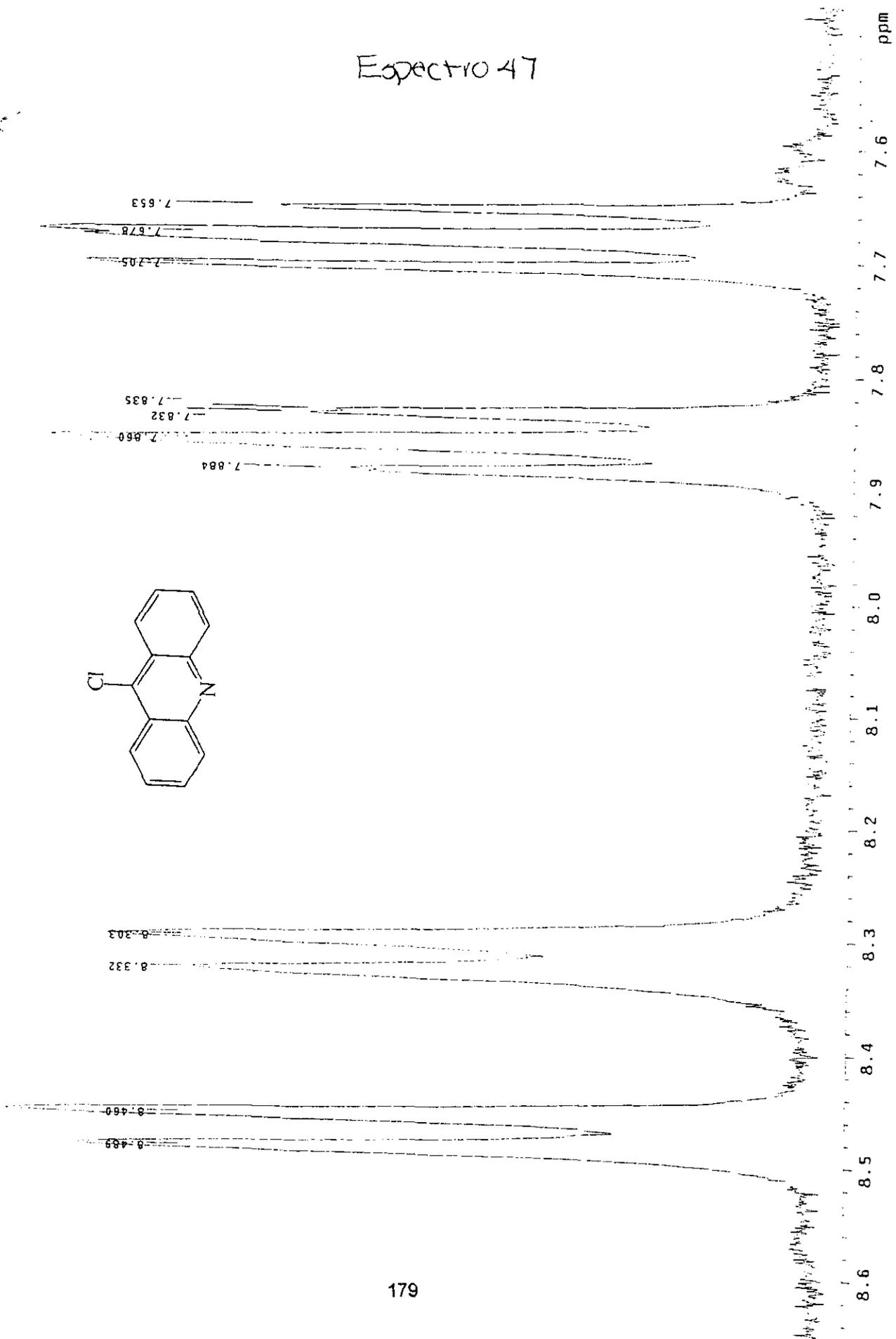


Espectro 46

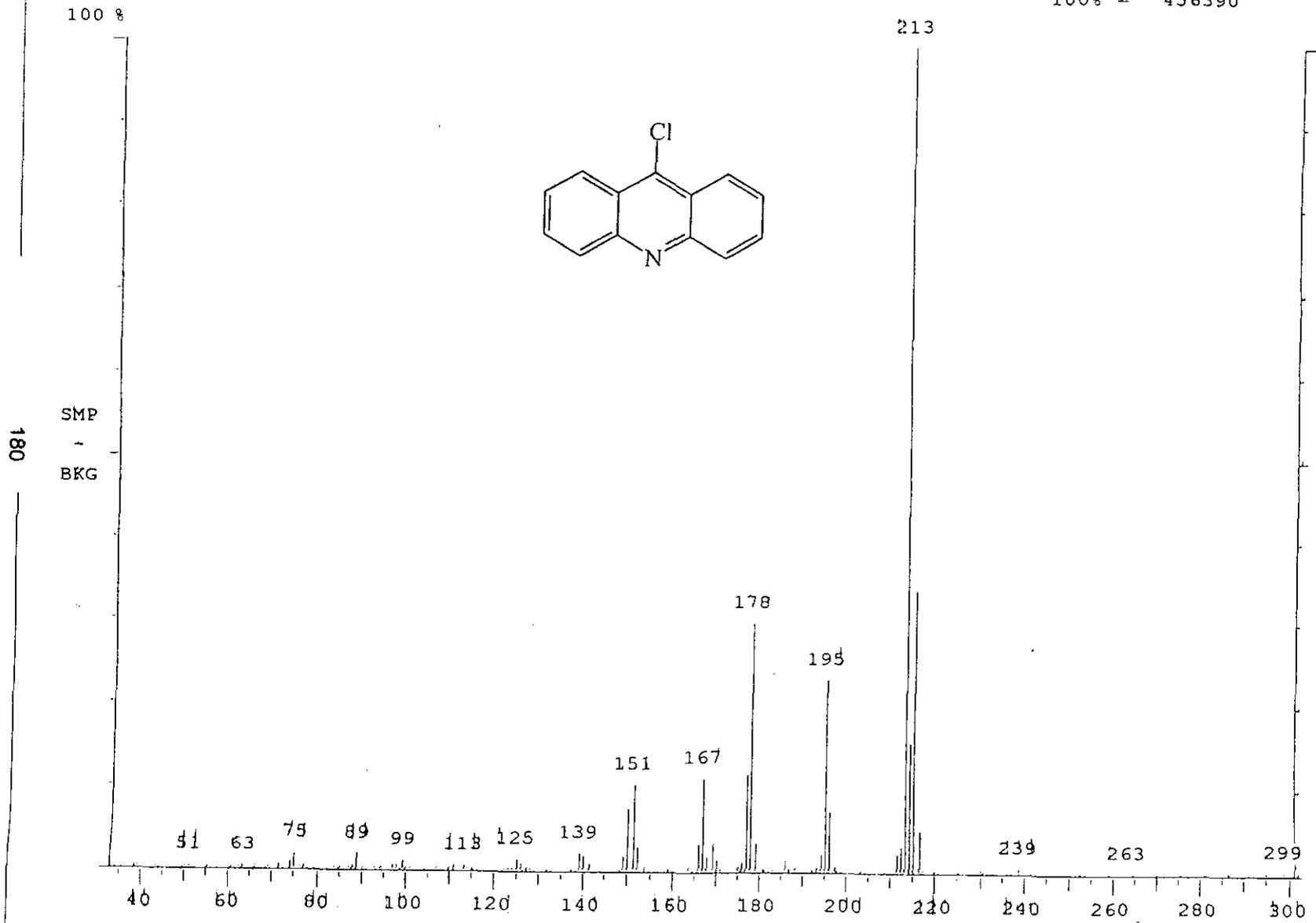
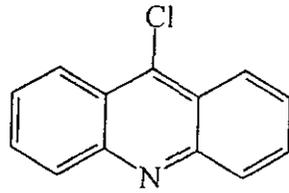
Espectro 47



# Espectro 47

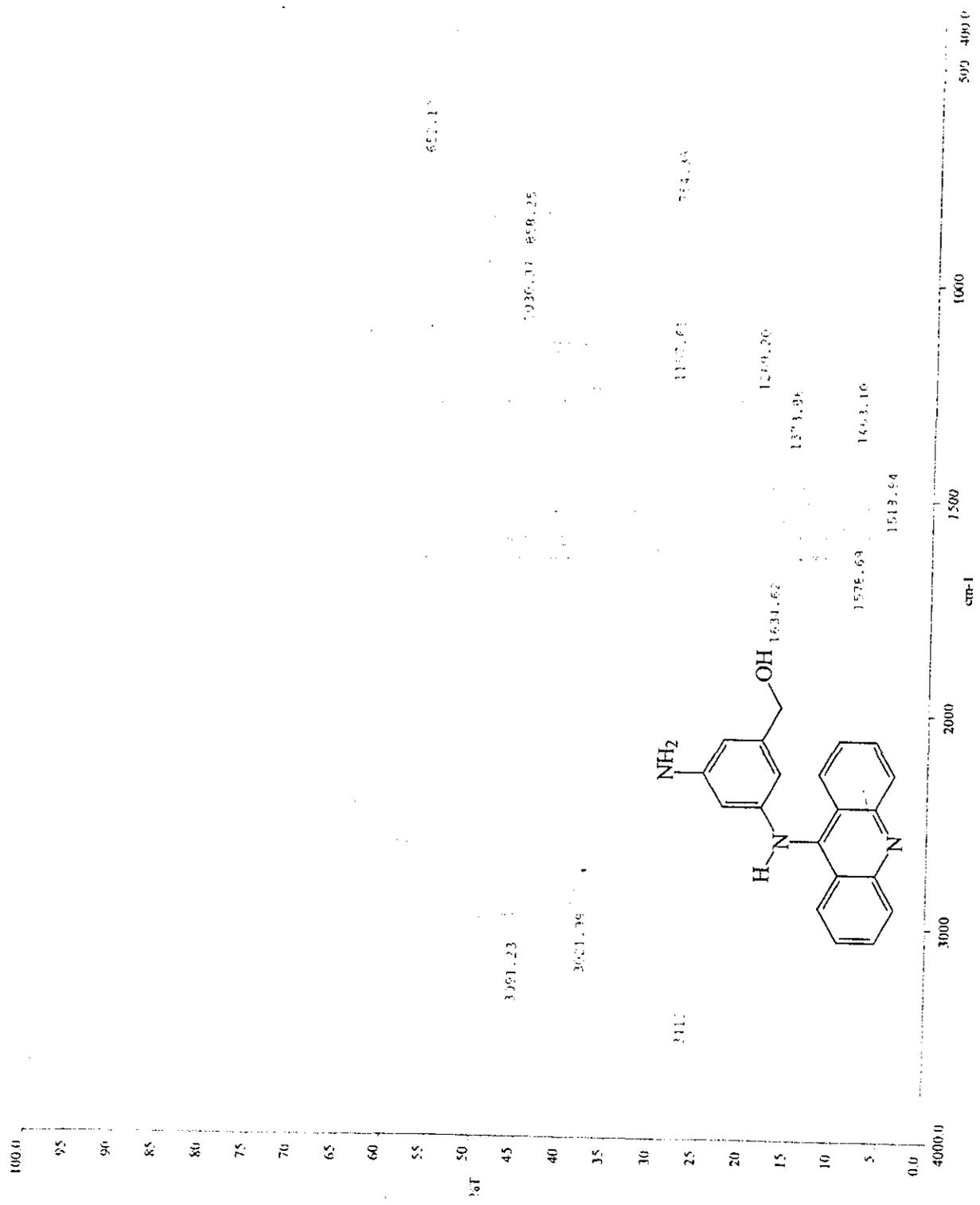


1008 = 456390



Espectro 48

Espectro 49



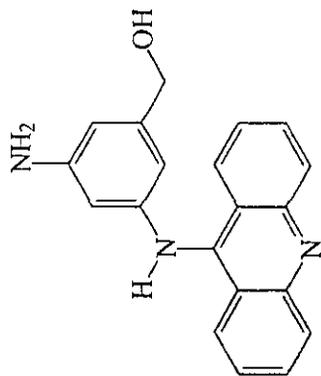
a:\spectra\2427.sp

Pulse Sequence: s2pu1

11.835

182

13.0 11.5 ppm



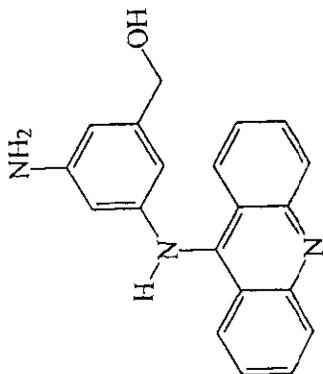
Espectro 50

2.502  
2.496  
2.490  
2.484

ppm

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

2.00 3.01 0.55 1.80 0.91 1.61 1.37 2.00 0.43 0.75 1.89



Espectro 50

