

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE DOS DERIVADOS DEL 1-CARBOXILATO DE 2-(3-AMINOFENIL)-8,9-DIMETOXI-3-METIL-5,6-DIHIDROPIRROLO [2,1-*a*]ISOQUINOLINA DE ETILO Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD CITOTÓXICA.

> T E S I S QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO

> > PRESENTA:

MARLENE HERNÁNDEZ SÁNCHEZ



MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional Autónoma de México



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:

PRESIDENTE	JOSÉ MANUEL MÉNDEZ STIVALET
VOCAL	ANA ADELA SÁNCHEZ MENDOZA
SECRETARIO	ROBERTO MARTÍNEZ
1er SUPLENTE	BLAS FLORES PÉREZ
2do SUPLENTE	JUAN GÓMEZ DUEÑAS

Este trabajo se realizó en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la U.N.A.M.

Dr. Roberto Martínez Asesor

M.C. Rubén O. Torres Ochoa Supervisor Técnico

Marlene Hernández Sánchez

Sustentante

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección y asesoría del Dr. Roberto Martínez y el M.C. Rubén O. Torres Ochoa, gracias al financiamiento otorgado por el CONACyT (Proyecto **131295**) y la beca de Ayudante de Investigador Nacional Nivel III o Emérito.

"Il faut faire de la vie un rêve et faire d'un rêve une réalité" (Hay que hacer de la vida un sueño y de un sueño una realidad). **Pierre Curie**

A mis padres Rebeca Sánchez y Francisco Hernández, y a mis abuelos Lourdes Domínguez y Joel Sánchez, que siempre han estado presentes a lo largo de mi vida, acompañándome, apoyándome y dándome ánimo cuando he tenido ganas de desistir. A mi hermanita, Lissete, a quien amo profundamente y con quien he compartido momentos maravillosos. A todos mis maestros, ya que sin sus enseñanzas y llamadas de atención no sería lo que soy; sobretodo, agradezco a la Dra. Susy Castillo, quien me ayudo a tener confianza y seguridad en mí, así como a entender que la Química es una vocación y que se debe ejercer con constancia, astucia, conocimiento y amor.

AGRADECIMIENTOS

- Con especial agradecimiento al Dr. Roberto Martínez por haberme acogido en su grupo de investigación, por haberme brindado los medios necesarios para llevar a cabo este trabajo y por su interés.
- También quiero agradecer profundamente al M.C. Rubén O. Torres Ochoa por haberme enseñado pacientemente las técnicas de laboratorio, por haber resuelto todas mis dudas, por demostrar enorme conocimiento y dominio de la Química Orgánica, y sobretodo, por haberme brindado su amistad.
- A mis compañeros del laboratorio 2-11: Cristina, Rosa, Víctor y Salomón, que a lo largo de este tiempo se han convertido en mi segunda familia. Gracias por orientarme, escucharme, corregirme, enseñarme, y por haber compartido conmigo tan buenos momentos.
- A mis amigos del laboratorio 2-2: Maricela, Ever, Lalo, Edgar y Omar por todos los préstamos y los buenos ratos que pasamos juntos.
- A mis sinodales por sus valiosos consejos y aportaciones.

CONTENIDO

ABREVIACIONESiii
RESUMEN
1. INTRODUCCIÓN2
2. ANTECEDENTES
2.1. Cáncer
2.2. Pirroloisoquinolinas
3. OBJETIVOS
3.1. Objetivos generales
3.2. Objetivos específicos 22
4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.1. Ruta de síntesis propuesta 23
4.2. Obtención de la urea asimétrica disustituida 55
4.3. Obtención de las olefinas disustituidas 56 y 57
4.4. Obtención de los pirroles 2,3,4-trisustituidos 62 y 63 mediante una reacción de van Leusen
4.5. <i>N</i> -alquilación de los pirroles 2,3,4-trisustituidos 62 y 63 47
4.6. Obtención de las pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoquinolinas 10 y 11 51
5. PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD

6. CON	CLUSIONES	68	8
--------	-----------	----	---

7.	SECCIÓ	N EXPERIMENTAL	69
-	7.1. Consid	deraciones generales	69
-	7.2. Parte	sintética	70
	7.2.1.	Formación de las ureas asimétricas disustituidas	71
	7.2.2.	Síntesis de las olefinas disustituidas	74
	7.2.3.	Síntesis de los pirroles 2,3,4-trisustituidos	76
	7.2.4.	Síntesis de los pirroles N-alquilados	78
	7.2.5.	Síntesis de las pirrolo[2,1-a]isoquinolinas	81
	7.2.6.	Actividad citotóxica	83

ABREVIACIONES

%	Por ciento
AcOEt	Acetato de etilo
ATF	Ácido trifluoroacético
C	Cuadruplete
ccf	Cromatografía en capa fina
CDCI ₃	Cloroformo deuterado
CF ₃ CO ₂ Ag	Trifluoroacetato de plata
CH_2CI_2	Diclorometano
CHCl ₃	Cloroformo
cm	Centímetros
-CO ₂ Et	Carboxilato de etilo
d	Doblete
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
DIEA	Diisopropiletilamina
DLP	Peróxido de dilauroilo
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometría de masas
Eq.	Equivalentes
EtOH	Etanol
eV	Electrón voltios
g	Gramos
GEA	Grupo electroatractor
h	Horas
Hx	Hexano
Hz	Hertz
l ₂	Yodo
IE	Impacto Electrónico

IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
KI	Yoduro de potasio
m	multiplete
M ^{+•}	lón molecular
m/z	Relación masa carga
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
Me-TosMIC	Metil TosMIC
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
МО	Microondas
N.D.	No determinado
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NaH	Hidruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NBS	N-bromosuccinimida
<i>n</i> -Bu₃SnH	Hidruro de <i>n</i> -tributilestaño
O°	Grados Celsius
-OTs	Tosilo
p.f.	Punto de fusión
Pd(OAc) ₂	Acetato de paladio
PPh₃	Trifenilfosfina
ppm	Partes por millón
PS-NEt ₂	Dietilaminometilpoliestireno
Ру	Piridina
RMN- ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
S	Singulete
S.A.	Sin actividad
SAR	Relación Estructura Actividad

SRB	Sulforrodamina B
t	Triplete
т	Temperatura
ta	Temperatura ambiente
TBAI	Yoduro de tetrabutilamonio
td	Triple doblete
TEA / Et ₃ N	Trietilamina
TosMIC	p-Toluensulfonilmetilisocianuro
TsCl	Cloruro de <i>p</i> -toluensulfonilo
δ	Desplazamiento químico
μΜ	Micromolar
v_{max}	Frecuencia máxima

RESUMEN

El presente trabajo describe la síntesis de los compuestos **10** y **11**, derivados del 1-carboxilato de 2-(3-aminofenil)-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidropirrolo [2,1-*a*] isoquinolina de etilo. La síntesis de estos compuestos es resultado de diversas modificaciones estructurales realizadas al compuesto líder **9**, con el fin de determinar si dichos cambios son favorables o no para la actividad citotóxica. La obtención del compuesto **11** se llevó a cabo en cinco pasos, que comenzaron por la reacción en un solo paso (*one-pot*) para la formación de la urea **59**, seguida por la reacción de Heck para obtener el éster α , β -insaturado **57**; después la reacción de van Leusen para generar el pirrol **63**, la reacción de *N*-alquilación del compuesto anterior con el agente alquilante **75**, y finalmente la ciclación intramolecular del pirrol **76** por medio de una reacción tipo Heck, siendo la clave de este último paso la elección del sistema catalítico, los aditivos y la temperatura.

Por otro lado, para la síntesis del compuesto **10** primero se llevó a cabo la formación del éster α , β -insaturado **77**, a partir del acrilato de etilo y la 3-yodoanilina, seguida por la formación del pirrol **78**, cuya *N*-alquilación produce **79**. A continuación se llevó a cabo la ciclación intramolecular de **79** para generar **80**, y finalmente, se formó la urea asimétrica **10**, a través de una reacción *one-pot* entre los compuestos **80** y **46**.

Es importante señalar, que pese a que en un inicio se pretendía llevar a cabo la obtención de los compuestos **10** y **11** a través de una ciclación intramolecular radical oxidativa aromática de los pirroles **69** y **70**, los resultados no fueron favorables, por lo que se tuvo que explorar otra opción con la finalidad de generar los triciclos y llevar a cabo su evaluación biológica.

Para concluir el trabajo, las pirroloisoquinolinas **10** y **11**, así como los pirroles **62**, **63**, **69** y **70** fueron sometidos a ensayos de citotoxicidad *in vitro* en seis líneas celulares cancerosas, lo que permitió clasificarlos como activos o inactivos.

1

1.INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte en los países desarrollados, de manera que una de cada tres personas se ve afectada por esta enfermedad, y entre 20 y 25% fallece por su causa.¹ El tratamiento de este padecimiento involucra en la mayoría de los casos la utilización de moléculas citotóxicas, siendo las pirroloisoquinolinas un grupo destacable de moléculas activas. Este núcleo tricíclico ha sido encontrado en muchos compuestos naturales y biológicamente activos como la Crispina A, la Lettowianthine y la Lamelarina D, las que han mostrado poseer alta actividad citotóxica.² Asimismo, compuestos que poseen en su estructura el esqueleto de la pirroloisoquinolina han sido descritos como inhibidores de la fosfodiesterasa 10a (PDE 10a).³



Figura 1. Productos naturales que contienen la estructura tricíclica (1): Crispina A (2), Lettowianthine (3), Lamelarina D (4).

¹ Cancer in the UK: December 2011. Cancer Research UK. <u>http://publications.cancerresearchuk.org/downloads/Product/UK%20SUMMARY%20</u> <u>DECEMBER%202011%20FINAL.pdf</u>

² Blaszykowski, C.; Aktoudianakis, E.; Bressy, C.; Alberico D.; Lautens, M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2043-2045.

³ U. Niewohner, et al. WO 02/48144 (*Chem. Abstr.*, 2002, 137,47106b).

Dada la importancia biológica que exhiben estos compuestos, se han desarrollado múltiples rutas sintéticas para la construcción del esqueleto de pirrolo[2,1-a]isoquinolina; la mayoría de ellas basadas en la formación del pirrol a partir de isoquinolinas N-funcionalizadas. Recientemente, en nuestro grupo de trabajo, se propuso una síntesis novedosa de este tipo de estructuras a partir de pirroles polisustituidos, empleando una reacción tipo radical oxidativa aromática como paso clave del proceso. Siguiendo esta secuencia sintética, en estudios preliminares, se obtuvieron las pirroloisoquinolinas 5-9, a las que se les evaluó su actividad citotóxica en seis líneas celulares. (Tabla 1). Los resultados obtenidos mostraron que el sustituyente etoxicarbonilo (-CO₂Et) en C-1 (5-7) juega un papel importante en la actividad de este tipo de estructuras, ya que cuando fue cambiado por un grupo nitrilo (R_1 = -CN, 8), la actividad citotóxica fue prácticamente nula. Otro de los resultados que arrojó este estudio, fue la importancia del sustituyente aromático en la posición C-2 donde el compuesto 5 (R_2 = H) comparado con 6 (R_2 = - C_6H_5) mostró una actividad citotóxica menor. Por otro lado, se observó que el sustituyente amino en la posición meta del grupo fenilo en 7 ($R^2 = m - C_6 H_4 - N H_2$) mejoró la actividad en comparación con su análogo **6** ($R^2 = -C_6H_5$).

Tabla 1. Valores de IC₅₀ (μM) para los compuestos **5-8**, **9** y **9**·HCl en seis líneas celulares.



Comp	PC-3	U-251	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
comp.	(próstata)	(SNC)	(leucemia)	(cólon)	(mama)	(pulmón)
5	68.17±5.30	33.43±4.50	48.11±0.60	54.07±4.40	68.51±4.70	>100
6	18.15±0.60	4.86±0.60	76.78±7.30	0.14±0.10	25.2±2.00	0.59±0.01
7	21.2±1.20	5.96±0.50	2.5±0.80	0.01±0.01	1.3±0.100	0.10±0.01
8	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9	0.16±0.01	0.05±0.01	0.16±0.01	0.02±0.01	5.58±0.04	0.02±0.01
9·HCI	3.58±0.10	0.16±0.02	1.15±0.05	0.05±0.01	1.06±0.04	0.44±0.01

*El clorhidrato 9·HCl se obtuvo a partir de una solución etérea de 9 con HCl 1M.⁴

Finalmente, las moléculas más complejas como **9** y su clorhidrato **9**·HCl, que poseen un sustituyente amidopiperazinilo mostraron valores de IC₅₀ en el intervalo de nanomoles. De todos los compuestos evaluados, el que resultó tener la mayor actividad citotóxica en prácticamente todas las líneas celulares fue **9**. Dado lo anterior, el presente trabajo se enfocó en llevar a cabo la síntesis y evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos **10** y **11**, análogos de **9**, con el fin de determinar si las modificaciones estructurales propuestas son favorables o no para la actividad citotóxica.

⁴ Reyes-Guitérrez, P. E.; Camacho, J.; Ramírez-Apan, T.; Osornio, M. Y.; Martínez, R. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4374-4382.



Figura 2. Estructuras de los compuestos 10 y 11, análogos del compuesto 9.

2.ANTECEDENTES

2.1. CÁNCER

Cada célula en nuestro cuerpo está rigurosamente regulada con respecto a su crecimiento, interacción con otras células, e incluso, en la duración de su vida. El *cáncer* ocurre cuando una célula ha perdido estos mecanismos de control y crece en una forma que el organismo ya no puede regular; tomando como base la premisa anterior, puede definirse al cáncer como una enfermedad caracterizada por el crecimiento descontrolado y proliferación de células anormales. El cáncer es causado tanto por factores externos (tabaco, organismos infecciosos, químicos y radiaciones) como por factores internos (mutaciones heredadas, hormonas o mutaciones que se producen a partir del metabolismo). Estos factores actúan de forma conjunta o en secuencia para iniciar o promover la *carcinogénesis*. Las diferentes clases de cáncer tienen distintos signos, síntomas, tratamientos y resultados, dependiendo del tipo de células involucradas y del grado de proliferación.^{5,6}

Cada año, '*La Sociedad Americana del Cáncer*' estima el número de nuevos casos de cáncer y las muertes relacionadas con este padecimiento en los Estados Unidos de América y compila los datos más recientes sobre la incidencia, mortalidad y supervivencia de este padecimiento. Tan sólo en el 2011, se previó un total de 1 596 670 nuevos casos y 571 950 muertes.⁷ En México el cáncer es la segunda causa de muerte, quedando superado únicamente por las enfermedades cardiovasculares. La mortalidad para los hombres mexicanos es mayor en cánceres de pulmón, próstata y estómago,

⁵ Cancer facts & figures 2011, *American Cancer Society*, 1-55.

⁶ What is cancer... what are the signs... could my baby have it?, <u>www.babymackenzie.org</u>

⁷ Siegel, R.; Ward, E.; Brawley, O.; Jemal, A. *Cancer Journal for Clinicians* **2011**, *61*, 212-236.

mientras que para las mujeres es mayor en cáncer de mama, cervicouterino e hígado.⁸

En general, los tratamientos para el cáncer son variados y la elección de la terapia depende del tipo de cáncer y la extensión del mismo, aunque entre los más comunes se encuentra la cirugía, la radiación y la quimioterapia. La cirugía consiste en remover el tumor y un amplio margen de tejido normal, con el fin de asegurar la eliminación total de las células anormales; sin embargo, cuando el tumor no se encuentra localizado, se remueve tanto como sea posible. Aunque siempre hay que tener presente que la remoción del tejido canceroso es un procedimiento que implica un gran riesgo. Por su parte, la radiación destruye las células cancerosas a través del empleo de radiación o la implantación de material radioactivo (braquiterapia); lamentablemente, también los tejidos normales pueden verse afectados, por lo cual el paciente puede experimentar una gran variedad de efectos secundarios, que dependen del grado de deterioro de los tejidos normales. Asimismo, la radiación puede incrementar el riesgo de padecer otro tipo de cáncer. Otra opción, es la quimioterapia, utilizada para tratar a aquellos pacientes que padecen cánceres sensibles a la radioterapia, que son difíciles de remover a través de cirugía o que se han extendido al resto del cuerpo (metástasis). Consiste en la administración de fármacos antineoplásicos que provocan la destrucción de las células tumorales al obstaculizar sus funciones, incluida la división celular.9

⁸ Cancer burden in Mexico, http://www.cancer.gov/aboutnci/organization/olacpd/crn/mexico

⁹ Paciente con tratamiento de quimioterapia. Plan de cuidados estandarizados. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Comunidad de Madrid. <u>http://www.madrid.org/cs/Satellite?cid=1142436671577&language=es&pagename=</u> <u>HospitalRamonCajal%2FPage%2FHRYC contenidoFinal</u>

2.2. PIRROLOISOQUINOLINAS

Los agentes policíclicos aromáticos de unión al ADN constituyen una de las clases principales de fármacos en el campo de la quimioterapia, ya que al intercalarse forman complejos moleculares con el ADN que son estabilizados por puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals; asimismo, la presencia de cadenas laterales en la estructura, incrementa la afinidad de unión y mejora la solubilidad bajo condiciones fisiológicas.¹⁰ En particular, los derivados de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina han despertado gran interés, debido a que además de poseer actividad anticancerígena son utilizados como antidepresivos, agonistas muscarínicos, antiplaquetarios y como intermediarios avanzados en la síntesis de diversos tipos de alcaloides.¹¹

Las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas constituyen el núcleo estructural de novedosos productos marinos conocidos como alcaloides lamelarínicos, conformados por más de 30 miembros en la familia, que han mostrado tener diversas y prometedoras propiedades biológicas. Por ejemplo, la Lamelarina D es un potente inhibidor de la topoisomerasa humana I, ya que actúa sobre las mitocondrias induciendo apoptosis; la Lamelarina α -20-sulfato, que produce la inhibición selectiva de la integrasa del VIH-1 *in-vitro;* la Lamelarina I, un inhibidor MDR, y la Lamelarina K, análogo de la Lamelarina I, exhibe actividad antitumoral.^{12,13}

¹⁰ Vlachou, M.; Tsotinis, A.; Kelland, L. R.; Thurston, D. E. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2002**, *17*, 139-143.

¹¹ Kianmehr, E.; Estiri, H.; Bahreman, A. *J. Heterocyclic Chem.* **2009**, *46*, 1203-1207.

¹² Su, S.; Porco A., J. J. Am. Chem. Soc. **2007**, 129, 7744-7745.

¹³ Yu, C.; Zhang, Y.; Zhang, S.; Li, H.; Wang, W. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1036-1038.





Lamelarina D (4): $R_1 = R_2 = R_3 = H$ Lamelarina α -20-sulfonato (12): $R_1 = Me; R_2 = H; R_3 = SO_3Na$

Lamelarina I (**13a**): $R_1 = Me$, $R_2 = Me$ Lamelarina K (**13b**): $R_1 = R_2 = H$

Figura 3. Importancia biológica de los alcaloides lamelarínicos.

Asimismo, el anillo pirroloisoquinolínico es una subunidad clave en los alcaloides derivados de la Eritrina, un género que ha sido ampliamente utilizado en la medicina tradicional de regiones tropicales y sub-tropicales; en este aspecto, el alcaloide pirroloisoquinolínico (+)-Crispina A (2), aislado del Clathrus crispus, muestra actividad biológica relevante en una amplia gama de cancerígenas.^{14,15} Por líneas celulares humanas otra parte, las 5,6-dihidropirrolo[2,1-a]isoquinolinas acetoxi sustituidas (14) exhiben una gran afinidad de unión para el receptor de estrógeno de MDA-MB 231 y MCF-7 en líneas de cáncer mamario, mientras que el esqueleto pirroloisoquinolínico es un antagonista del a₂-adrenorreceptor, y sus 5-fenil derivados exhiben actividad antidepresiva. También se ha visto que las 1-benzoil-3-ciano-pirrolo [1,2-a]quinolinas (15) son activadoras de las caspasas e inductoras de la apoptosis, razón por la cual son agentes anticancerígenos efectivos.¹¹ (Figura 4).

 ¹⁴ García R., J. L.; Fraile, A.; Rosario M., M.; González, G.; Fajardo, C.; Martín-Castro, A. M. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3296-3305.

¹⁵ Arumugam, N.; Raghunathan, R. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 969-975.



Figura 4. Estructuras de los compuestos 2, 14 y 15.

Dada la importancia de este tipo de moléculas, se han desarrollado múltiples estrategias sintéticas que tienen como objetivo común la obtención de los compuestos antes mencionados. Por ejemplo, Katritzky y colaboradores¹⁶ reportaron una síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas usando la metodología del *benzotriazol*, que consiste en la preparación del cloruro de 2-(benzotriazol-1-ilmetil)isoquinolinio **16**, a partir de la isoquinolina y el 1-(clorometil)benzotriazol (BtCH₂CI). El tratamiento de **16** con α -bromoacrilonitrilo o dicarboxilato de dietilacetileno en presencia de una base genera los compuestos objetivo **17** y **18**. La clave de esta ruta sintética consiste en la fácil desprotonación de las sales de 2-(benzotriazol-1-ilmetil)isoquinolinio bajo condiciones suaves para generar los correspondientes iluros de azometino, quienes participan en cicloadiciones 1,3-dipolares con dipolarófilos deficientes en electrones. (Esquema 1).

¹⁶ Katritzky R., A.; Qiu, G.; Yang, B.; He, H.-Y. J. Org. Chem. **1999**, *64*, 7618-7621.



Esquema 1. Metodología propuesta por Katritzky.

Otra variante sintética empleada para la obtención del esqueleto pirroloisoquinolínico consiste en la modificación de la reacción de cicloisomerización de alquiniliminas que involucran cicloadiciones dipolares de derivados de iluros de azometino.¹² Como ejemplo tenemos que el tratamiento de la alguinilamina **19** con un metal alguinofílico como catalizador genera el iluro de azometino 20, que posteriormente, es sometido a una cicloadición dipolar en presencia de un dipolarófilo. Finalmente, la subsecuente aromatización, que puede ser catalizada por Au, Ag, Cu y Pd, conduce a la formación de la pirroloisoquinolina 21. (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis propuesta por Su.

Otras estrategias sintéticas están basadas en reacciones multicomponentes, tal es el caso de la propuesta por Ley y colaboradores,¹⁷ quienes realizaron la condensación secuencial de una sal de isoquinolinio (**22**) con un isotiocianato, lo cual genera el zwitterion **23**; posteriormente, la adición de un isocianuro a **23** resulta en un ataque nucleofílico sobre el anillo de isoquinolinio. El producto de adición resultante, es capaz de someterse a una ciclación intramolecular *6-exo-dig* seguida de una transferencia de protón para formar un intermediario con estructura antiaromática. Después ocurre un rearreglo intramolecular, cuya fuerza motriz es la ganancia de aromaticidad, *vía* la formación de un sistema tricíclico tenso que luego se abre. Finalmente, la adición de un tiófilo induce la eliminación del azufre, conduciendo a la pirroloisoquinolina **24**. (Esquema 3). En este enfoque, el uso de microondas es esencial para acceder a las estructuras deseadas, de forma relativamente sencilla, en un amplio intervalo de temperaturas utilizando disolventes con bajo punto de ebullición.

¹⁷ Hopkin D., M.; Baxendale R., H.; Ley V., S. *Synthesis* **2008**, *11*, 1688-1702.



Esquema 3. Metodología propuesta por Ley.

También pueden encontrarse procedimientos *one-pot*, como el propuesto por Kianmehr y colaboradores,¹¹ en el cual las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas son obtenidas en rendimientos que van de buenos a excelentes, usando como materias primas isoquinolina, derivados de α -bromoacetofenona y alquinos activados en medio acuoso. (Esquema 4). Esta reacción involucra la formación inicial de un iluro por la reacción de la isoquinolina y un derivado de la α -bromoacetofenona **25** seguido por una desprotonación en presencia de K₂CO₃. Finalmente, la formación de la pirroloisoquinolina **27** ocurre tras una oxidación del intermediario formado por la reacción entre dicho iluro con el alquino activado **26**.





Como se puede ver, la mayoría de las rutas sintéticas están basadas en la construcción del anillo pirrólico a partir de isoquinolinas *N*-funcionalizadas, y muy pocos son los trabajos donde se emplea un anillo de este tipo con el fin de generar el núcleo tricíclico. Uno de ellos fue desarrollado por nuestro grupo de trabajo⁴ e involucra una reacción radicalaria como paso clave. (Esquema 5). La ruta consiste en la generación del pirrol **29** a partir del alqueno 1,2-disustituido **28** y Me-TosMIC, por medio de la reacción de síntesis de pirroles de van Leusen, seguido por la *N*-alquilación del heterociclo. Finalmente, la ciclación del pirrol tetrasustituido **30** a través de una reacción radical oxidativa aromática.



Esquema 5. Metodología propuesta por Reyes-Gutiérrez.

2.3. REACCIÓN DE MIZOROKI-HECK (MH)

Las reacciones de acoplamiento de haluros de arilo y vinilo con alguenos catalizadas por paladio han demostrado ser métodos extremadamente poderosos en la construcción de enlaces C-C. Desde las importantes contribuciones hechas por Mizoroki y Heck en los años 70's, estas transformaciones catalizadas por metales de transición han encontrado amplias aplicaciones en síntesis, y gracias a ellas se han podido preparar una gran cantidad de estructuras orgánicas complejas. El mecanismo propuesto para la reacción de Heck, como se muestra en el esquema 6, involucra en primera instancia, una *adición oxidativa*, en el que el Pd(0) se inserta en el haluro de arilo para generar un complejo σ -arilpaladio (II) (32); es importante señalar, que el orden de reactividad de X para este paso es I > OTf > Br > Cl. Por otra parte, la coordinación del alqueno y la subsecuente formación del enlace C-C, a través de una adición sin, induce la formación de un intermediario σ -alguilpaladio (II) (**33**), gue con facilidad experimenta una β -eliminación de hidruro liberando con ello el nuevo algueno, producto de la reacción de MH. Finalmente, para completar el ciclo catalítico, se requiere de una base con la cual se logra la conversión del hidruro-Pd complejo (34) al catalizador activo de Pd(0).¹⁸

¹⁸ Dounay B., A.; Overman E., L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2945-2963.



Esquema 6. Ciclo catalítico de la reacción de Heck.

Es importante señalar que el mecanismo explicado en el esquema 6 provee una descripción general de los pasos involucrados en la olefinación catalítica y representa una simplificación excesiva del proceso involucrado en la reacción.¹⁹

2.4. SÍNTESIS DE UREAS

Las ureas sustituidas de forma asimétrica son estructuras características de compuestos que presentan actividad biológica de interés,²⁰ como por ejemplo, inhibidores enzimáticos y pseudopéptidos. El interés químico en las ureas se ha enfocado en su propiedades estructurales y medicinales más que en su

¹⁹ Beletskaya P., I.; Cheprakov V., A. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009-3066.

²⁰ Majer, P.; Randad, H. S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1937-1938.

reactividad, ya que generalmente son estables en condiciones ácidas y básicas, y poseen una gran habilidad para establecer puentes de hidrógeno, lo que les permite formar parte de estructuras supramoleculares, ligantes, catalizadores y fármacos.^{21,22} Por ejemplo, Du y colaboradores usando métodos computacionales encontraron que ciertas aril ureas y tioureas exhiben potente actividad *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi*, lo que provee de una amplia variedad de estructuras líderes como potenciales fármacos antiparasitarios.²³



Figura 5. Estructuras de compuestos que tienen valores de IC₅₀ menores a 10 μM para *Trypanosoma cruzi*.

Otro ejemplo de este tipo lo constituye la investigación realizada por Krajacik, en la que mediante estudios SAR lograron sintetizar potentes antimaláricos de azalidos de 15 miembros que contenían ureas y tioureas en su estructura.²⁴

²¹ Ripka S., A.; Díaz D., D.; Sharpless, B. K; Finn G., M. Org. Lett. **2003**, *5*, 1531-1533.

 ²² Lefranc, J.; Tetlow J., D; Donnard, M.; Minassi, A.; Gálvez, E.; Clayden, Org. Lett.
 2011, *13*, 296-299.

 ²³ Du, X.; Hansell, E.; Engel C., J.; Caffrey R., C.; Cohen E., F.; McKerrow H., J. *Chemistry & Biology* 2000, *7*, 733-742.

²⁴ Krajacik B., M.; Peric, M.; Smith S., K.; Schönfeld I., Z.; Ziher, D.; Fajdetic, A.; Kujundzic, N.; Schönfeld, W.; Landek, G.; Padovan, J.; Jelic, D.; Ager, A.; Milhous K., W.; Ellis, W.; Spaventi, R.; Ohrt, C. J. Med. Chem. **2011**, *54*, 3595-3605.





 $\mathsf{R}=\mathsf{cladinosil},\,\mathsf{X}=\mathsf{O}$ ó S , $\mathsf{R}'=\mathsf{alquil}$ o aril

R = cladinosil, X = O ó S, R' = alquil o aril

Figura 6. Ureas y tioureas de azalidos de 15 miembros.

Con el propósito de acceder a compuestos de este tipo se han desarrollado diversos procedimientos sintéticos, como ejemplos tenemos los siguientes. La carbonilación de aminas alifáticas a través del uso de *S*,*S*-dimetilditiocarbonato (DMDTC) en medio acuoso como sustituto de fosgeno²⁵ para generar las *N*-alquilureas, *N*,*N*'-dialquilureas (simétricas o asimétricas) y *N*,*N*,*N*'-trialquilureas.²⁶ (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis de alquilureas mediante el uso de DMDTC.

²⁵ Nowick, S. J.; Powell, A. N.; Nguyen, M. T.; Noronha, G. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7364-7366.

²⁶ Leung, M.-K.; Lai, J.-L.; Lau, K.-H.; Yu, H.-H.; Hsiao, H.-J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4175-4179.

El carbonildiimidazol (**38**) promueve el rearreglo de Lossen de diversos ácidos hidroxámicos (**37**) a los correspondientes isocianatos (**39**). (Esquema 8). Este proceso es experimentalmente simple y requiere de condiciones suaves, siendo imidazol y CO₂ los subproductos de la reacción.²⁷



R': alquil, aril

Esquema 8. Síntesis de alquilureas mediante el uso de carbonildiimidazol.

Lebel y Leogane²⁸ hicieron reaccionar el clorofomiato de fenilo (**41**) y azida de sodio con un ácido carboxílico aromático para producir la correspondiente acil azida. Posteriormente, este compuesto se sometió a un rearreglo de Curtius, lo cual generó un derivado de isocianato (**42**) que es atrapado por una amina, formando de esta manera la urea aromática correspondiente (**43**). (Esquema 9).



Esquema 9. Síntesis de aril ureas mediante el uso de cloroformiato de fenilo.

²⁷ Dubé, P.; Nathel, N. F. F.; Vetelino, M.; Couturier, M.; Abossafy, C. L.; Pichette, S.; Jorgensen, M. L.; Hardink, M. Org. Lett. **2009**, *11*, 5622-5625.

²⁸ Lebel, H.; Leogane, O. *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 5717-5720.

Ciertas ureas asimétricas disustituidas pueden ser preparadas utilizando trifosgeno, en presencia de una base terciaria (DIEA) en diclorometano. Bajo estas condiciones de reacción se genera fosgeno *in situ*, el cual reacciona con una amina primaria produciendo una molécula de isocianato que posteriormente es atrapada por otra amina primaria o secundaria.²¹



Esquema 10. Síntesis de ureas mediante el uso de trifosgeno.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS GENERALES.

- Sintetizar el 2-[3-[[4-(ciclohexilmetil)piperazinil-1-carbonil]amino]fenil]-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidropirrolo[2,1-a]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (10).
- Sintetizar el 2-[3-(dietilcarbamoilamino)fenil]-8,9-dimetoxi-5,6dihidropirrolo[2,1-a]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (11).
- Evaluar la actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos **10** y **11** en seis líneas celulares cancerosas (neoplásicas): U-251 (Sistema Nervioso Central), PC-3 (Carcinoma Prostático Humano), K-562 (Leucemia Humana), HCT-15 (Cáncer de Colon), SKLU-1 (Adenocarcinoma de Pulmón Humano) y MCF-7 (Cáncer de Mama).



OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- i. Sintetizar las materias primas: la piperazina **46**, el agente alquilante **68** y el Me-TosMIC.
- ii. Determinar las condiciones óptimas de reacción para la síntesis de las ureas asimétricas disustituidas 55 y 59.
- iii. Determinar las condiciones óptimas de reacción para la obtención de la olefina disustituida 56.
- iv. Sintetizar los siguientes intermediarios: las ureas asimétricas disustituidas 55 y 59, las olefinas disustituidas 56 y 57, los pirroles 2,3,4-trisustituidos 62 y 63, y los pirroles *N*-alquilados 69 y 70.
- v. Determinar las condiciones óptimas para llevar a cabo las ciclaciones intramoleculares de los intermediarios 69 y 70 para generar las pirroloisoquinolinas 10 y 11 a través de una reacción del tipo radical oxidativa aromática.
- vi. Caracterizar los compuestos antes mencionados mediante técnicas de Resonancia Magnética Nuclear H¹ y C¹³, espectrometría de masas e IR.
- vii. Determinar la actividad citotóxica de las pirroloisoquinolinas **10** y **11**, así como de algunos intermediarios.

Dicha ruta involucra cinco pasos e inicia con la formación de las ureas **55** y **59** a partir de la reacción entre la 3-yodoanilina, trifosgeno y las aminas secundarias **46** y **58**. A continuación se procede a sintetizar los alquenos **56** y **57** mediante un acoplamiento tipo Heck entre las ureas previamente sintetizadas y el acrilato de etilo, en presencia de Pd(OAc)₂ como catalizador. El siguiente paso consiste en llevar a cabo la síntesis de los pirroles 2,3,4-trisustituídos **62** y **63** siguiendo el procedimiento reportado por van Leusen, para lo cual se hacen reaccionar los alquenos **56** y **57** con el Me-TosMIC. Posteriormente, es planteada la *N*-alquilación de los pirroles con el agente alquilante **68**, lo cual produce los pirroles tetrasustituidos **69** y **70**, quienes son ciclados vía radicales libres para generar las pirroloisoquinolinas **10** y **11**.

4.2. OBTENCIÓN DE LA UREA ASIMÉTRICA DISUSTITUIDA 55.

De acuerdo con el esquema general de síntesis (esquema 11), el primer reto de este trabajo se centró en la construcción de la urea asimétrica disustituida **55**. Para llevar a cabo la síntesis de dicho compuesto fue necesario en primera instancia, obtener la 1-(ciclohexilmetil)piperazina (**46**), misma que fue preparada a través del método desarrollado por Reyes-Gutiérrez.²⁹ El procedimiento consiste en llevar a cabo la hidrólisis básica de la 1-formil-4-(ciclohexilmetil)piperazina (**45**a), obtenida por la reacción entre el bromuro de metilciclohexilo (**44**) y la formilpiperazina (**45**). (Esquema 12). A pesar de que dicha síntesis se reporta con rendimientos que van desde 65 hasta 70%, la piperazina **46** no pudo generarse en rendimientos mayores a 40%, en tiempos totales de reacción de aproximadamente 2 días.

²⁹ Reyes Gutiérrez, P. E., Tesis de Maestría, U.N.A.M., 2006.



Esquema 12. Método reportado por Reyes-Gutiérrez. Condiciones: i) K₂CO₃, KI, MeCN, reflujo, 23h; ii) NaOH 5N, EtOH, reflujo, 4h.

Debido a que la síntesis anterior proporcionaba rendimientos bajos y requería tiempos largos de reacción, se propuso una ruta alterna que consistió en cambiar el acetonitrilo por acetona como disolvente, y el KI por NaI, utilizando esta sal en exceso estequiométrico. (Esquema 13). Bajo este método, el bromuro de metilciclohexilo reacciona con el NaI generando yoduro de metilciclohexilo; dicha reacción al proceder, puede corroborarse por la inmediata precipitación de NaBr, un sólido blanco insoluble en acetona. Una vez que ha ocurrido el intercambio del halógeno, se añade la formilpiperazina, la cual lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el derivado yodado, generando la 1-formil-4-(ciclohexilmetil)piperazina (**45a**). Finalmente, la hidrólisis básica de este compuesto produce la piperazina **46**.



Esquema 13. Optimización de las condiciones de reacción para la obtención de 46.
Condiciones: *i*) Nal, acetona, reflujo, 30min; *ii*) formilpiperazina, K₂CO₃, reflujo, 4.5h; *iii*) NaOH 5N, EtOH, reflujo, 4h.

4. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

4.1. RUTA DE SÍNTESIS PROPUESTA

Para llevar a cabo la síntesis de las moléculas propuestas **10** y **11**, primero fue establecida la ruta general de síntesis, la cual está expresada en el esquema 11.



Esquema 11. Secuencia general de reacciones para la obtención de las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas 10 y 11. Condiciones: *i*) DIEA, trifosgeno, CH₂Cl₂, velocidad de adición de 9.4mL/h, t.a.; *ii*) Pd(OAc)₂, Et₃N, CH₃CN, reflujo, 4h; *iii*) Me-TosMIC, NaH, éter/DMSO (2:1), 4h, t.a.; *iv*) NaH, DMSO, 3h, t.a.; *v*) *n*-Bu₃SnH, DLP, tolueno, reflujo (T < 110°C).</p>
Bajo este método de síntesis, los rendimientos son aproximadamente del doble de lo obtenido usando el método de Reyes-Gutiérrez, además los tiempos de reacción se reducen a la mitad. La piperazina 1-sustituída **46** fue caracterizada únicamente por RMN-¹H dado que ésta ya había sido descrita con anterioridad.



Figura 7. Caracterización del compuesto 46.

El espectro de hidrógeno muestra un conjunto de multipletes que van de 0.76 a 1.80 ppm cuya integración es para 11H y son los correspondientes al ciclohexilo, en 2.17 ppm se observa un doblete (J = 7.0Hz) propio del metileno de la posición 1', cuya integral es para 2H. Dos tripletes, ambos con J de 4.8Hz, se observan en 2.57 ppm y 3.08 ppm, y son correspondientes a los metilenos de la posición 2 y 6, y 3 y 5, respectivamente; la integración para cada una de las señales es de 4H. Finalmente, en 5.02 ppm se observa un singulete ancho y de baja intensidad, cuya integración es para 1H, propia del N-H de la posición 4. Es importante destacar que esta información es congruente con lo reportado en la literatura.

Una vez preparada la piperazina de interés, se continuó con la síntesis de la urea **55**, para lo cual primero fueron realizadas una serie de pruebas que permitieran generarla. El primer método seleccionado para llevar a cabo esta síntesis fue el mismo que Gómez Prado³⁰ utilizó para realizar *N*-acilaciones de derivados de bencilamina, empleando como agente acilante trifosgeno (**49**). Como estudio modelo se intentó generar la urea **50**, utilizando como materias primas la formilpiperazina y anilina.

³⁰ Gómez Prado, R. A., Tesis de Maestría, U.N.A.M., 2010.



Esquema 14. Primer ensayo de la urea asimétrica **50**. Condiciones: *i)* trifosgeno, formilpiperazina, Et₃N, CH₂Cl₂, 0°C; *ii)* anilina, MeCN, t.a.

El resultado de este primer ensayo fue la formación de varios productos que por la proporción en la que se encontraban no fueron aislados. En un segundo intento, se siguió el mismo protocolo, sólo que en esta ocasión se invirtió el orden de adición de las aminas, es decir, primero se agregó la anilina, y después, la formilpiperazina. Al igual que en la ocasión anterior, se observó la presencia de una gran cantidad de productos, y al comparar una muestra del primer ensayo con la nueva reacción, se determinó que un compuesto se encontraba presente en ambas reacciones; por este motivo, se decidió aislarlo por cromatografía en columna con gel de sílice. Dicho compuesto presentaba un r.f. de 0.4 en un sistema de elución de Hx:AcOEt 7:3.



Figura 8. Estructura de la 1,3-difenilurea (51).

Una vez aislado el posible producto, se caracterizó por RMN-¹H y se determinó que se trataba de la 1,3-difenilurea. (Figura 8). El espectro muestra 4 señales, dos de ellas tripletes, el primero en 6.98 ppm ($J_O = 7.4$ Hz, 2H) propio de los hidrógenos de la posición 4', y el segundo en 7.26 ppm ($J_O = 7.4$ Hz, 4H)

correspondiente a los protones de C3' y C5'; la tercera aparece como un doblete en 7.43 ppm ($J_0 = 7.4Hz$, 4H) y pertenece a los hidrógenos de C2' y C6', y finalmente, la cuarta se observa como un singulente ancho y de baja intensidad en 8.23 ppm que integra para 2H correspondiente a los hidrógenos unidos a los nitrógenos. La información generada se comparó con lo reportado por la literatura, coincidiendo los desplazamientos químicos, integrales y p.f.

Debido al poco éxito que se había tenido utilizando esta técnica, al sólo haber logrado obtener la urea simétrica **51**, se decidió cambiar el método de síntesis. El nuevo método seleccionado fue el que reportó Majer²¹ y consiste en la adición secuencial de dos aminocompuestos a una solución de trifosgeno en diclorometano. Esta es una metodología *one-pot*, versátil y sencilla, que puede ser adaptada para llevar a cabo la síntesis de cualquier tipo de ureas asimétricas disustituidas. De acuerdo con Majer, inicialmente se forma un isocianato por la reacción entre la primera amina y el trifosgeno en presencia de una amina terciaria; luego, el segundo amino compuesto es añadido a la solución anterior para generar el compuesto de interés. (Esquema 10).

$$R-NH_{2} \xrightarrow{i} \left[R-N=C=0 \right] \xrightarrow{ii} R^{N} \xrightarrow{N} R^{N} \xrightarrow{N} R^{N}$$
39
36

Esquema 15. *i*) Amina primaria, trifosgeno, DIEA, CH₂Cl₂, velocidad de adición 9.4mL/h; **ii)** amina secundaria, CH₂Cl₂, t.a.

Al utilizar esta metodología de reacción, se logró obtener la 4-formil-*N*-fenilpiperazina-1-carboxamida **50** como un sólido blanco de punto de fusión de 170-172°C, en un rendimiento de 80%.



Figura 9. Caracterización del compuesto 50.

La estructura de dicho compuesto fue corroborada por las diferentes técnicas espectroscópicas. En el espectro de protón se observan las siguientes señales: un multiplete que va de 3.38 a 3.60 ppm que integra para 8H correspondiente a H-C2, H-C6, H-C3 y H-C5; dos tripletes, el primero en 7.03 ppm ($J_0 = 7.2Hz$, 1H) perteneciente a H-C4', y el segundo en 7.28 ppm ($J_0 = 8.4Hz$, 2H) perteneciente a los hidrógenos de las posiciones 3' y 5'; un doblete en 7.40 ppm ($J_0 = 8.5Hz$, 2H) generada por los hidrógenos de 2' y 6', y un singulete ancho y de baja intensidad en 7.47 ppm con integración para 1H propia del N-H. Finalmente, en 8.10 ppm se observa un singulete correspondiente al formilo.

El espectro de RMN-¹³C muestra 4 tipos de carbonos alifáticos en 40.1 ppm, 44.1 ppm, 44.8 ppm y 45.5 ppm, correspondientes al núcleo piperazinilo (C2, C5, C3 y C6); 4 tipos de carbonos aromáticos: en 120.5 ppm C2', en 123.3 ppm C4', en 128.9 C3' y en 139.3 ppm C1'; y 2 tipos de carbonos carbonílicos: en 155.4 ppm C7 y en 161.0 ppm C9.

Diversas repeticiones de esta reacción evidenciaron que la velocidad de adición de la mezcla anilina : DIEA al trifosgeno es crucial, ya que velocidades de adición elevadas son causantes de la formación de la urea simétrica en mayor proporción. Esto es consecuencia de que el isocianato formado reacciona con la amina primaria, antes de añadir la amina secundaria. Una vez optimizado el método de síntesis de ureas, éste fue utilizado para obtener la 4-formil-*N*-(3-yodofenil)piperazina-1-carboxamida, para lo cual hubo que hacer el cambio de anilina por 3-yodoanilina.



Esquema 16. *i***)** 3-Yodoanilina, trifosgeno, DIEA, CH₂Cl₂, velocidad de adición 9.4mL/h; *ii***)** formilpiperazina, CH₂Cl₂, t.a.

El ensayo ocurrió sin contratiempo y procedió de la misma forma que el experimento modelo, obteniéndose la urea deseada como un sólido blanco con un rendimiento del 78%.



Figura 10. Caracterización del compuesto 53.

El compuesto **53** únicamente fue caracterizado por RMN-¹H y su descripción es la siguiente: dos multipletes en 3.29 y 3.47 ppm que integran un total de 8H correspondientes a H-C3 y H-C5, y H-C2 y H-C6, respectivamente; en 6.91 ppm se encuentra presente un triplete que integra para 1H con J_O de 8.2Hz y corresponde al protón de la posición 5', en 7.26 ppm se observa un doble doblete que integra para 1H (J_O = 7.8Hz, J_m = 0.8Hz) y es propio de C4', en 7.36 ppm se ubica otro doble doblete que integra para 1H (J_O = 8.2Hz, J_m = 1.2Hz) correspondiente a C6' y en 7.71 ppm se observa un triplete con J_m de 1.8Hz y que integra para 1H propio de C2'. Además de las señales mencionadas, en 7.96 ppm se observa un singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H propio del grupo formilo.



Esquema 17. Reacción de hidrólisis del compuesto 50. Condiciones: *i)* NaOH 5N, EtOH, reflujo, 4h.

A continuación, al compuesto **50** le fue removido el grupo formilo bajo una hidrólisis básica, utilizando NaOH en EtOH, de acuerdo con el procedimiento descrito por Reyes-Gutiérrez,²⁹ y al producto crudo se le efectuaría una *N*-alquilación con bromuro de metilciclohexilo (**44**). La reacción procedió en un tiempo de aproximadamente 3.5h, observándose por ccf la formación de un compuesto altamente polar. La purificación del compuesto resultó complicada, ya que fue difícil encontrar el sistema de elución idóneo con el cual se pudiera separar adecuadamente el compuesto deseado. El sistema elegido para la purificación fue acetona : MeOH (7:3) con el cual se obtuvo un líquido altamente viscoso de color naranja poco soluble en disolventes orgánicos incluido el DMSO. Dicho compuesto fue caracterizado únicamente por RMN-¹H.



Figura 11. Caracterización del compuesto 54.

En el espectro se observan dos tripletes en 2.87 ppm y 3.47 ppm con J de 4.8Hz cada uno, correspondientes a H-C3 y H-C5, y H-C2 y H-C6, respectivamente; en 7.00 ppm se encuentra un triplete con J_0 de 7.2Hz que integra para 1H y corresponde a H-C4', en 7.25 ppm se ubica otro triplete con J_0 de 8.4Hz y que integra para 2H propia de H-C3' y H-C5', y en 7.40 ppm se

observa un doblete con J₀ de 7.4Hz y que integra para 2H correspondiente a H-C2' y H-C6'; mientras que la señal del N-H se encuentra intercalada en las señales de los protones aromáticos. Es importante destacar que la hidrólisis del formilo se corrobora por la ausencia de la señal en 8.10 ppm. Se debe mencionar que en el espectro se observan señales no esperadas a campo alto, mismas que fueron atribuidas a la descomposición del producto con el CDCl₃; dicha descomposición fue verificada más tarde por ccf.

Debido a lo complicado que resultó la purificación y manipulación del compuesto **54**, no se continuó con su alquilación como se tenía planeado, ni tampoco se realizó la hidrólisis del formilo en el compuesto **53**, ya que probablemente se comportaría de la misma manera que **54**. Se decidió entonces utilizar como materia prima la piperazina **46**, previamente sintetizada. (Esquema 13).



Esquema 18. *i*) 3-Yodoanilina, trifosgeno, DIEA, CH₂Cl₂, velocidad de adición 9.4mL/h; *ii*) piperazina **46**, CH₂Cl₂, t.a.

Para llevar a cabo esta reacción, nuevamente se adaptó la metodología reportada por Majer;²¹ la reacción procedió sin ningún contratiempo, de forma similar a las anteriores, obteniéndose la 4-(ciclohexilmetil)-*N*-(3-yodofenil)piperazina-1-carboxamida (**55**), como un sólido cristalino de color beige de p.f. de 162-164°C, con rendimientos de 80%.



Figura 12. Caracterización del compuesto 55.

Para este compuesto, en el espectro de RMN-¹H de 0.82 a 1.79 ppm se observa un conjunto de multipletes que integran en total para 11H propios del ciclohexilo, en 2.16 ppm se observa un doblete (J = 7.2Hz) que integra para 2H correspondiente a H-C1", en 2.42 ppm y 3.49 ppm se ven dos tripletes con J de 4.8Hz que integran para 8H propios de H-C3 y H-C5, y H-C2 y H-C6, respectivamente; éste último desplazado a campo más bajo por efecto de desprotección del grupo carboxamida; mientras que en 6.60 ppm se observa un singulete ancho y de baja intensidad correspondiente al N-H de la urea. Además de estas señales, se ubican dos tripletes, uno en 6.97 ppm con J_o de 8.1Hz que integra para 1H propia de H-C5', y otro en 7.77 ppm con J_m de 1.8Hz que integra para 1H correspondiente a H-C2'; finalmente, en 7.34 ppm se ubica un doble doblete (J_m = 1.5Hz, J_o = 7.8Hz) que integra para 2H correspondiente a H-C4' y H-C6'.

La estructura fue corroborada también por RMN-¹³C en donde se observan 7 tipos de carbonos alifáticos: en 26.3 ppm se encuentra la señal propia de C4" y C6", en 26.9 ppm la de C5", en 32.0 ppm la de C3" y C7", en 35.1 la de C2", en 44.2 ppm la de C2 y C6, en 53.4 ppm la de C3 y C5, y en 65.6 ppm la de C1". Además, en el espectro se ven 6 tipos de carbonos aromáticos: en 94.2 ppm se ve C3', fácilmente identificable por el desplazamiento químico y la baja intensidad de la señal por ser carbono cuaternario, en 119.3 ppm se encuentra C6', en 128.8 ppm C2', en 130.5 ppm C5' y en 132.1 ppm C4', respectivamente; finalmente en 140.6 ppm se ubica C1', identificable por el desplazamiento químico y la baja intensidad de la señal por ser carbono cuaternario. Por último, en 154.7ppm se observa C7, que es el carbonilo de la urea.

Además de esta información, el espectro de IR muestra dos bandas relevantes, una en 1635.2cm⁻¹, correspondiente a la vibración C=O del carbonilo de la urea, y la otra, en 3302.5cm⁻¹ propia de la vibración N-H, lo que corrobora la presencia de la urea **55**.

4.3. OBTENCIÓN DE LAS OLEFINAS DISUSTITUIDAS 56 Y 57.

Habiendo logrado la construcción de la urea **55**, y siguiendo la estrategia sintética propuesta en el esquema 11, se procedió a realizar la síntesis del alqueno **56** *vía* una reacción de Heck. (Esquema 19). Como ya se mencionó anteriormente, la reacción de Heck es un acoplamiento catalizado por paladio y representa un método de construcción de ligaduras carbono-carbono frecuentemente utilizado en síntesis orgánica.³¹



Esquema 19. Reacción de Heck. Condiciones: *i)* acrilato de etilo, Pd(OAc)₂, PPh₃, base, MeCN, 3.5-4h, reflujo.

Inicialmente, la reacción se llevó a cabo entre la urea **55** y el acrilato de etilo, utilizando Pd(OAc)₂, TEA y PPh₃, para obtener el alqueno **56**, un sólido de color ligeramente café de p.f. 142-144°C, exclusivamente como isómero *E* en rendimientos moderados (70%).

³¹ Beletskaya P., I., Cheprakov V., A. Chem. Rev. **2000**, 100, 3009-3066.

La estructura del compuesto fue corroborada por las diferentes técnicas espectroscópicas. En RMN-¹H, tanto el desplazamiento químico como las integrales correspondientes al sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo se mantuvieron constantes; aunado a esto en 1.32 ppm se observa un triplete (J = 7.2Hz) que integra para 3H propio de C11 y en 4.25 ppm un cuadruplete (J = 7.2Hz) que integra para 2H correspondiente a C10, lo que hace evidente la presencia del sustituyente etilo. Por su parte, el singulete correspondiente al N-H se muestra en 6.74 ppm, mientras que las señales de H-C2 y H-C3 se observan como dobletes en 6.42 ppm (J_{trans} = 16.2Hz, 1H) y 7.63 ppm (J_{trans} = 16.2Hz, 1H), respectivamente. En cuanto a los hidrógenos aromáticos, H-C8 se observa como un triplete en 7.27 ppm (J_O = 7.8Hz, 1H), H-C5 como un triplete en 7.62 ppm (J_m = 1.8Hz, 1H), y H-C9 y H-C7 como un multiplete de 7.17 a 7.36 ppm.



Figura 13. Caracterización del compuesto 56.

En tanto que el IR corrobora la presencia del carbonilo del éster por la vibración C=O en 1723.2cm⁻¹ (probablemente desplazado a números de onda menores por efecto de la conjugación con la doble ligadura), y las bandas provocadas por el estiramiento simétrico y asimétrico de C-O-R en 1250.5 y 1175.8cm⁻¹. Además en el espectro se aprecia en 1635.2cm⁻¹ la señal correspondiente a la vibración C=O del carbonilo de la urea, y otra, en 3302.5cm⁻¹ propia de la vibración N-H.

En el espectro de RMN-¹³C se observan 9 tipos de carbonos alifáticos, de los cuales 7 son los pertenecientes al sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo y no

presentan cambios significativos en cuanto al desplazamiento químico con respecto a los observados para el compuesto **55**; no obstante, aparecieron dos nuevas señales correspondientes a C10 y C11 en 60.6 y 14.5 ppm, respectivamente. El espectro también evidencia la presencia de los seis carbonos aromáticos, dos carbonos vinílicos en 119.4 ppm (C2) y 144.7 ppm (C3), así como de los carbonilos del éster en 167.2 ppm (C1) y de la urea en 155.0 ppm (C7').

Como subproducto de la reacción se aisló e identificó un nuevo compuesto, cuya formación iniciaba tras haberse generado una cantidad considerable del producto **56** y antes del agotamiento de la materia prima (**55**); es importante señalar que la cantidad de dicho subproducto se incrementaba con el transcurso del tiempo. El análisis de las diferentes espectroscopías del subproducto aislado arrojó algunos de los siguientes datos: el espectro de masas muestra un ión molecular de 290, mientras que en el espectro de IR se observa la vibración de un enlace N-H en 3358.4cm⁻¹ y la vibración C=O en 1640.4cm⁻¹, lo que pone en evidencia la presencia del grupo carboxamida. Además, una banda intensa en 1708.2cm⁻¹ correspondiente a otra vibración C=O, más otras dos bandas intensas en 1311.5 y 1179.4cm⁻¹ indican la presencia de un éster. El p.f. del compuesto resultó ser de 116-118°C.

Por su parte, el espectro de RMN-¹H advierte la presencia de dos tripletes, uno con integración para 6H en 1.23 ppm (J = 7.2Hz) y otro en 1.33 ppm con integración para 3H (J = 7.2Hz). Además, se ven dos cuadrupletes, uno en 3.39 ppm (J = 7.2Hz) que integra para 4H, y otro, en 4.25 ppm (J = 7.2Hz) que integra para 2H. A campos más bajos se encuentran dos dobletes, uno en 6.44 ppm con J de 16.2Hz y que integra para 1H, y otro en 7.64 ppm con J de 15.9Hz cuya integración es para 1H, lo que indica un acoplamiento trans. Además, se observa un singulete ancho y de baja intensidad con integración para 1H propio de un N-H y 4 señales de protones aromáticos: en 7.17 ppm un triple doblete (J₀ = 7.5Hz, J_m = 1.5Hz, 1H), en 7.28 ppm un triplete con J₀ de 8.1Hz e integración para 1H, un doble doble doblete en 7.39 ppm con integración para 1H (J₀ = 8.0Hz, J_m = 2.2Hz, J_m = 1.2Hz) y un triplete en

36

7.65 ppm con J_m de 2.1 Hz e integración para 1H. Este patrón indica sustitución meta del anillo aromático.

En el espectro de RMN-¹³C se observan 4 tipos de carbonos alifáticos: en 14.1 ppm C5' y C7', en 14.5 ppm C11, en 41.9 ppm C4' y C6', y en 60.6 ppm C10; 6 tipos de carbonos aromáticos: en 118.7 ppm C5, en 121.7 ppm C7, en 122.8 ppm C9, en 129.4 ppm C8, en 135.3 ppm C4 y en 140.1 ppm C6; 2 carbonos vinílicos: en 119.2 ppm C2 y en 144.7 ppm C3; y finalmente, 2 carbonos carbonílicos: en 154.6 ppm C2' y en 167.2 ppm C1.

Conjuntando toda la información espectroscópica, se concluyó que el subproducto **57**, que en un principio se consideró como indeseable, se trataba del (E)-3-[3-(dietilcarbamoilamino)fenil]prop-2-enoato de etilo. (Figura 14).



Figura 14. Subproducto 57 obtenido durante la reacción de la preparación de la olefina 56.

Para comprobar la asignación estructural hecha al alqueno **57** se decidió verificar su identidad de manera sintética. Esto se logró primero por la formación de la urea **59** partiendo de la 3-yodoanilina y la dietilamina de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente para la urea **55**, seguida por la reacción de Heck con acrilato de etilo, Pd(OAc)₂ como catalizador y TEA como base. (Esquema 20).



Esquema 20. Confirmación sintética de la estructura del subproducto 57. Condiciones: *i*) 3-Yodoanilina, trifosgeno, DIEA, CH₂Cl₂, velocidad de adición de 9.4mL/h; *ii*)
dietilamina, CH₂Cl₂, t.a.; *iii*) acrilato de etilo, Pd(OAc)₂, PPh₃, TEA, MeCN, reflujo, 4h.

La obtención del alqueno **57** corroboró la estructura planteada para el subproducto de la reacción de Heck, dicho compuesto se obtuvo como un sólido ligeramente amarillento de p.f. 116-118°C (que coincidió con el determinado anteriormente) en un rendimiento global de 70%. Como ya se tenía identificado el compuesto **57**, únicamente se caracterizó la urea asimétrica disustituida **59**.



Figura 15. Caracterización del compuesto 59.

En el espectro de IR se observan dos bandas relevantes que ponen en evidencia la presencia del grupo urea, una intensa en 1640.3 cm⁻¹ correspondiente a la vibración del grupo carbonilo, y otra de intensidad media en 3320.3 cm⁻¹ debida a la vibración del enlace N-H. En el espectro de RMN-¹H se visualiza un triplete en 1.21 ppm que integra para 6H (J = 7.2Hz)

correspondiente a los hidrógenos de C2' y C4', un cuarteto que integra para 4H en 3.37 ppm (J = 7.2Hz) correspondiente a los hidrógenos de C1' y C3', un singulete ancho y de baja intensidad en 6.50 ppm que integra para 1H propia del N-H, un triplete en 6.98 ppm con J_o de 8.1Hz e integración para 1H correspondiente a H-C8, un doble doble doblete en 7.32 ppm cuya integración es para 1H (J_o = 7.9Hz, J_m = 1.5Hz, J_m = 1.2Hz) propia de H-C7, un doble doble doblete en 7.39 ppm que corresponde a H-C9 (J_o = 8.1Hz, J_m = 2.1Hz, J_m = 0.9Hz, 1H), y un triplete en 7.83 ppm con J_m de 2.1Hz que integra para 1H correspondiente a H-C5, lo que evidencia la sustitución meta del anillo aromático.

Por su parte, el espectro de RMN-¹³C muestra dos señales correspondientes a carbonos alifáticos, una en 14.1 ppm propia del C2' y C4', y otra en 41.8 ppm del C1' y C3', bases de nitrógeno; asimismo, se observan seis señales de carbonos aromáticos: en 94.2 ppm de C6, en 119.2 ppm de C9, en 128.5 ppm de C5, en 130.4 ppm de C8, en 131.7 ppm de C7 y en 140.9 ppm de C4; finalmente, el carbonilo C2, se encuentra en 154.4 ppm.

Retomando la preparación del alqueno **56** y con el fin de optimizar la reacción se probaron diferentes condiciones de reacción mostradas en la tabla 2.

Exp.	Base	Eq. Pd(OAc) ₂	t _{reac.} (h)	Rendimiento 56	Rendimiento 57
1	Et ₃ N	0.19	4.0h	71.96	7.11
2	K ₂ CO ₃	0.19	4.0h	60.10	0.00
3	Et₃N	0.09	6.0h	70.31	13.53

Tabla 2. Diferentes condiciones experimentales para la obtención delcompuesto 56.

*En la tabla se muestran únicamente los experimentos más relevantes.

Como se puede apreciar, en el experimento 1 el tiempo que tarda en consumirse toda la materia prima es de 4h, obteniéndose prácticamente 72% de rendimiento del algueno 56 y 7% del subproducto 57. Cuando se cambió la TEA por K_2CO_3 (ensavo 2), manteniéndose todas las demás variables constantes, el tiempo fue nuevamente de 4h, y aunque no se observó formación del subproducto 57, el rendimiento del algueno 56, disminuyó hasta 60%. Más tarde, se decidió utilizar TEA como base, de nueva cuenta, y disminuir la cantidad de catalizador. Los resultados de este experimento mostraron que, como era de esperarse, al disminuir la cantidad de catalizador el tiempo de reacción se incrementó, con respecto a los experimentos anteriores; y a pesar de que el rendimiento del alqueno 56 fue similar al obtenido en el experimento 1, la cantidad del subproducto 57 se incrementó 6%. Con base en estas observaciones, concluimos que el compuesto 57 probablemente se forme en mayor proporción por el acoplamiento del acrilato de etilo con la urea 59, formada a partir de la descomposición térmica de la urea 55, y en menor proporción, por la descomposición térmica del algueno 56 ya formado.

4.4. OBTENCIÓN DE LOS PIRROLES 2,3,4-TRISUSTITUIDOS **62** Y **63** MEDIANTE UNA REACCIÓN DE VAN LEUSEN.

En paralelo a la obtención de los alquenos **56** y **57**, se procedió a realizar la alquilación del compuesto comercial TosMIC de acuerdo con lo reportado por van Leusen,³² encontrándose que los rendimientos de la monoalquilación iban desde 60 hasta 80%, en tiempos de reacción de 4 hasta 8h, a pesar de que se repetía el mismo procedimiento en cada experimento. Aunado a lo anterior, se encontró que en algunas ocasiones pese a utilizar más de 5eq de MeI, la materia prima no se consumía por completo, detectándose en algunos ensayos el producto de dialquilación. Debido a la poca repetibilidad de los experimentos se decidió investigar las causas de dichas incongruencias.

 ³² Van Leusen, A. M.; Siderius, H.; Hoogenboom, B. E.; Van Leusen, D. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *52*, 5337-5340.



Esquema 21. Monoalquilación del TosMIC. Condiciones: *i)* NaOH 30%, TBAI, MeI, CH₂Cl₂, 4h, 5-10°C.

Experimento	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)	Observaciones
1	≤ 0	60	No se consumió m.p.
2	5-10	85	Se consumió m.p.

Para ello, se llevaron a cabo dos experimentos en los que se varió la temperatura manteniendo todas las demás variables constantes. En uno de los experimentos se fijó $T \le 0^{\circ}$ C (exp. 1) y, en el otro, 5° C $\le T \le 10^{\circ}$ C (exp. 2), siempre evitando que la temperatura aumentara más, ya que se observó que a temperatura ambiente se propicia la dialquilación del TosMIC o la posterior descomposición del producto de monoalquilación. Tras 6h horas de reacción, se observó por ccf que mientras en el experimento 2 toda la materia prima se había agotado, en el experimento 1, sólo se había consumido la mitad de la materia prima inicial. A partir de estos experimentos se concluyó que a temperaturas menores a 0°C, las moléculas no tienen suficiente energía cinética para colisionar en la forma y orientación adecuadas para dar origen al producto, es decir, $E_{kt} < E_a$. Es por este motivo, que aunque se añadieran más equivalentes de Mel, la reacción no procedía; además, de que se tiene en competencia la reacción $S_N 2$ del OH⁻ sobre el Mel.

En experimentos posteriores, se controló rigurosamente la temperatura, la concentración de NaOH y los equivalentes de Mel añadidos para evitar la formación del producto de dialquilación, asimismo, se monitoreó

41

constantemente la reacción por ccf con el fin de determinar el momento en el que toda la materia prima se hubiera consumido. Siguiendo este protocolo, se obtuvieron rendimientos mayores a 90% del producto de monoalquilación.

El siguiente obstáculo a superar fue el hecho de que el Me-TosMIC es altamente sensible a la humedad y temperatura del ambiente, a la acidez de los disolventes y a la humedad de los mismos, y pese a estar reportado como un sólido amarillo amorfo, es difícil llevar a cabo su solidificación. Tras haberlo purificado se sometía a secado en la bomba de vacío; sin embargo, tras varias horas se observaba un cambio drástico de coloración de amarillo a café caoba, que indica la severa descomposición del producto. Después de muchos intentos por logar la obtención del sólido amarillo y conseguir como resultado un aceite café, se decidió que tras haber purificado el producto se secara al vacío en un tiempo máximo de 2h e inmediatamente se llevara a cabo la reacción de formación de los pirroles.

Transcurrido el tiempo de secado del Me-TosMIC, y tras corroborar por ccf que el compuesto no presentaba signos de descomposición, se llevó a cabo la síntesis de los pirroles **62** y **63**, utilizando para ello los alquenos **56** y **57**, previamente sintetizados, siguiendo la técnica descrita por van Leusen y colaboradores.³²



Esquema 22. Síntesis de los pirroles 2,3,4-trisustituidos **62** y **63**. Condiciones: *i*) Me-TosMIC, NaH, Et₂O-DMSO (2:1). De acuerdo con la técnica de van Leusen, la metodología de síntesis de los pirroles involucra el uso de éter; con el fin de investigar el papel de este disolvente en la reacción, se realizaron una serie de experimentos (tabla 3) con el alqueno **57**, que evidenciaron la importancia de añadirlo. En un inicio se pensó que el rendimiento de la reacción era bajo cuando se utilizaba únicamente DMSO o en proporción 2:1 (DMSO:Et₂O), debido a que el Me-TosMIC no estaba completamente seco o con una alta pureza, así que se hicieron reaccionar 3eq de Me-TosMIC por cada equivalente del alqueno **57**. Los resultados mostraron que pese a que el Me-TosMIC era el reactivo en exceso, tras 1h de reacción todo el Me-TosMIC se había consumido y aún quedaba una cantidad considerable del alqueno sin reaccionar; asimismo, en la cromatoplaca no se observaba otro producto distinto al pirrol **63**, el Me-TosMIC ni el alqueno **57**.

Tabla 4. Diferentes condiciones experimentales para la reacción de van Leusendel alqueno disustituido 57 y el Me-TosMIC.

Experimento	Disolvente	Rendimiento (%)
1	Et ₂ O –DMSO (1:2)	60.02
2	DMSO	53.73
3	Et ₂ O –DMSO (2:1)	70.00

Como estequiométricamente era imposible que el Me-TosMIC fuera el reactivo limitante en la reacción, se concluyó que probablemente dicho reactivo estaba consumiéndose en otra reacción colateral. Investigando en la literatura, se encontró que el Me-TosMIC no es estable bajo ciertas condiciones básicas, por ejemplo, van Leusen y colaboradores,³³ determinaron que la vida media del Me-TosMIC en una solución de DME y 1eq de NaH es de aproximadamente 15min; asimismo, propusieron el siguiente mecanismo de descomposición:

³³ Van Leusen, A. M.; Wildeman, J.; Oldenzie H., O. J. Org. Chem. **1977**, 42, 1153-1159.



Esquema 23. Propuesta para la descomposición del Me-TosMIC.

Habiendo optimizado la reacción de obtención de los pirroles **62** y **63**, se procedió a realizar su caracterización.



Figura 16. Caracterización del compuesto 62.

En este caso, el espectro de RMN-¹H muestra que tanto el desplazamiento químico como las integrales correspondientes al sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo se mantuvieron prácticamente constantes con respecto al éster α,β -insaturado **56**; no obstante, el triplete y el cuadruplete de C8 y C7 se desplazaron ligeramente a campo alto, además en 2.14 ppm se visualiza un singulete que integra para 3H propio de C9. El espectro también muestra un singulete que integra para 1H en 10.07 ppm correspondiente a N1-H, lo que corrobora la presencia del pirrol. En cuanto a los hidrógenos aromáticos, en 6.96 ppm se observa un triple doblete ($J_0 = 7.5Hz$, $J_m = 1.2Hz$) que integra para 1H propio de C6', en 7.22 ppm se encuentra un triplete que integra para 1H con J_O de 7.8Hz correspondiente a H-C5', en 7.28 ppm hay un doblete que integra para 1H con $J_{(1-2)}$ de 2.7Hz y pertenece a H-C2; la señal propia de H-C2' queda intercalada en la zona donde aparecen H-C2, H-C5' y la señal del cloroformo; por último, H-C4' se observa como un multiplete de 7.35 a

7.39 ppm. Es importante destacar que no se observa el singulete ancho y de baja intensidad correspondiente al N-H de la urea.

Por su parte, el espectro de RMN-¹³C indica la presencia de 10 carbonos alifáticos, de los cuales 9 no muestran cambios significativos en desplazamiento químico con respecto a la materia prima, el único nuevo es el correspondiente a C9 que aparece en 11.4 ppm. También se observan 10 carbonos aromáticos: en 113.7 ppm C3, en 118.0 ppm C2', en 121.5 ppm C4, en 122.4 ppm C4', en 122.9 ppm C2, 125.3 ppm C6', en 126.9 ppm C5, en 127.6 ppm C5', en 136.0 ppm C3'y en 138.6 C1'; y 2 carbonos carbonílicos: en 155.4 ppm C7'' y en 165.0 ppm C6.

El espectro de IR también evidencia al pirrol debido a las bandas en 3228.0cm⁻¹ propias de la vibración N-H, y en 754.6cm⁻¹ y 791.6cm⁻¹ correspondientes a la vibración C-H; de la urea por la vibración N-H en 3359.5cm⁻¹ y la vibración C=O en 1640.4cm⁻¹; y del éster por la vibración C=O en 1685.6cm⁻¹ y las bandas en 1169.2cm⁻¹ y 1248.8 cm⁻¹ causadas por el estiramiento simétrico y asimétrico C-O-R.



Figura 17. Caracterización del compuesto 63.

En el caso de compuesto **63**, el espectro de RMN-¹H muestra a campo alto dos tripletes traslapados en 1.17 y 1.20 ppm (J = 7.2Hz) que integran en total para 9H correspondientes a los protones de C8 y C5"-C7", respectivamente; un singulete en 2.15 ppm que integra para 3H propio de los hidrógenos de C9, y dos cuadrupletes: uno en 3.38 ppm que integra para 4H propio de H-C4" y

H-C6", y otro en 4.11 ppm que integra para 2H correspondiente a H-C7. Por otra parte, en 6.80 ppm se encuentra N3"-H, fácilmente identificable por el singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H. En cuanto a los protones aromáticos, en 6.96 ppm hay un triple doblete que integra para 1H propio de H-C6' ($J_0 = 7.7$ Hz, $J_m = 1.4$ Hz), en 7.24 ppm se ve un triplete con J_0 de 8.1Hz que integra para 1H propio de H-C5', en 7.29 ppm se encuentra un doblete con $J_{(1-2)}$ de 3.3Hz e integración para 1H correspondiente a H-C2, la señal perteneciente a H-C2' queda intercalada en la zona donde se localizan H-C2, H-C5' y la señal del cloroformo, y finalmente, de 7.38 a 7.41 ppm se observa un multiplete propio de H-C4'. Además de estas señales, en 10.24 ppm se ubica un singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H correspondiente a H-N1.

En el espectro de RMN-¹³C se observan 5 tipos de carbonos alifáticos, de los cuales los correspondientes a C4", C5", C6", C7", C7 y C8 no mostraron cambios significativos en el desplazamiento químico con respecto a la materia prima, aunque se ubica otra señal en 11.3 ppm, que al igual que en el compuesto anterior corresponde a C9. Asimismo, el espectro evidencia la presencia de 10 carbonos aromáticos: en 113.6 ppm C3, en 118.0 ppm C2', en 121.4 ppm C4, en 122.3 ppm C4', en 122.8 ppm C2, 125.1 ppm C6', en 126.8 ppm C5, en 127.5 ppm C5', en 136.0 ppm C3' y en 138.5 C1'; y 2 carbonos carbonílicos: en 154.8 ppm C2" y en 164.9 ppm C6.

Al igual que en el compuesto anterior, el espectro de IR también confirma la presencia del pirrol debido a las bandas en 3203.7cm⁻¹ propias de la vibración N-H, y en 764.0cm⁻¹ y 790.7cm⁻¹ correspondientes a la vibración C-H. Asimismo, indica la presencia de la urea por la vibración N-H en 3378.0cm⁻¹ y la vibración C=O en 1627.1cm⁻¹, y del éster por la vibración C=O en 1690.3cm⁻¹ y las bandas en 1173.4cm⁻¹ y 1300.6 cm⁻¹ por el estiramiento simétrico y asimétrico C-O-R.

46

4.5. *N*-ALQUILACIÓN DE LOS PIRROLES 2,3,4-TRISUSTITUIDOS 62 Y 63.

El siguiente paso implicado en la ruta sintética involucró una reacción de *N*-alquilación de los pirroles 2,3,4-trisustituidos previamente sintetizados utilizando como agente alquilante el tosilato **68**, el cual fue preparado de acuerdo con lo reportado por Reyes-Gutiérrez.²⁹ No fue necesario caracterizar el tosilato **68** porque ya se tenía referencia de este compuesto.



Esquema 24. Síntesis del agente alquilante 66. Condiciones: *i*) (a) NBS, 0°C, DMF, 30min; (b) t.a., 12h; *ii*) (a) Py, DMAP, CH₂Cl₂, t.a., 10min; (b) TsCl, 0°C, 15min; (c) 4-5h, t.a.

Habiendo sintetizado el compuesto **68**, se hizo reaccionar con los pirroles **62** y **63**, de acuerdo con el esquema 24, en presencia de NaH como base y DMSO anhidro como disolvente, bajo agitación constante a t.a.



Esquema 25. Formación de los pirroles *N*-alquilados 69 y 70. Condiciones: *i*) Agente alquilante 68, NaH, DMSO, t.a., toda la noche.

Los rendimientos de las reacciones, así como sus respectivos puntos de fusión se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de la reacción de	N-alquilación de los pirroles 62 y 6
---------------------------------------	--------------------------------------

Compuesto	Х	Rendimiento (%)	p.f. (°C)	
67	Br	91	78-80	
68	Br	91	64-66	

La descripción espectroscópica de los productos de *N*-alquilación es la siguiente:



Figura 18. Caracterización del compuesto 69.

En el caso del compuesto **69**, el espectro de RMN-¹H muestra que tanto el desplazamiento químico como las integrales correspondientes al sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo se mantuvieron prácticamente constantes, con respecto al compuesto **62**; por otra parte, el singulete propio de C9, se desplazó ligeramente a campo alto (1.97 ppm), debido al cambio en su ambiente químico con respecto al pirrol **62**. Tanto, el triplete como el cuarteto

correspondientes a C8 y C7, no muestran cambios significativos en cuanto al desplazamiento químico y las integrales, apareciendo en 1.16 ppm (J = 7.2Hz) y 4.11 ppm (J = 7.2Hz), respectivamente. Además, se observan dos tripletes correspondientes a C1' v C2', en 4.05 ppm (J = 6.9Hz, 2H) v 3.08 ppm (J = 7.2Hz, 2H); y dos singuletes que integran para 3H cada uno propios de C8" y C7" en 3.86 ppm y 3.73 ppm. El protón de la urea se localiza en 6.42 ppm, y es fácilmente identificable por el singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H; mientras que en 6.37 ppm y 7.02 ppm se localizan dos singuletes que integran para 1H cada uno correspondientes a C6" y C3". En cuanto a los protones aromáticos, en 6.91 ppm se encuentra un triple doblete propio de H-C6"'($J_0 = 7.5Hz$, $J_m = 1.2Hz$, 1H), en 7.13 ppm se ve un triplete con J_m de 1.8Hz e integración para 1H correspondiente a H-C2", en 7.25 ppm hay otro triplete con J_{Ω} de 7.8Hz que integra para 1H propio de H-C5''', en 7.25 ppm hay un singulete que integra para 1H y corresponde a H-C2, y en 7.35 ppm se ve un doble doble doblete ($J_O = 8.1Hz$, $J_m = 2.1Hz$, $J_m = 1.2Hz$) correspondiente a H-C4"".

Esta información es corroborada por el espectro de RMN-¹³C, en donde se observan 14 tipos de carbonos alifáticos, de los cuales los correspondientes al sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo no mostraron cambios significativos en cuanto a desplazamiento químico con respecto a los compuestos **55**, **56** y **62**. C7, C8 y C9 tampoco muestran cambios relevantes en su desplazamiento químico, observándose en 50.4 ppm, 14.5 ppm y 10.2 ppm, respectivamente. Además de estas señales, se ubican 4 nuevas, propias de C1', C2', C7" Y C8", quienes se presentan en 47.2 ppm, 38.1 ppm, 56.4 ppm y 56.2 ppm, respectivamente. También se observan 16 tipos de carbonos aromáticos: en 113.4 ppm C3, 113.7 ppm C6", en 114.3 ppm C2", en 115.8 ppm C3", en 118.3 ppm C2", en 122.4 ppm C4", en 123.1 ppm C6", en 125.8 ppm C2, 165.0 ppm C5, en 128.2 ppm C5", en 128.2 ppm C1", 129.0 ppm C3", 136.3 ppm C1", en 138.4 ppm C4, en 148.7 ppm C4" y en 148.9 ppm C5". Finalmente, en 155.3 ppm y 164.9 ppm se ubican los carbonos carbonílicos propios de C7"" y C6, respectivamente.

49



Figura 19. Caracterización del compuesto 70.

Para el pirrol N-alquilado 70, el espectro de protón muestra dos tripletes traslapados en 1.16 y 1.22 ppm que integran en total para 9H (J = 7.2Hz) propios de H-C5"", H-C7"" y H-C8; un singulete en 1.99 ppm que integra para 3H correspondiente a H-C9; dos tripletes en 3.08 y 4.05 ppm (J = 7.2Hz) que integran para 2H cada uno propios de H-C2' y H-C1', respectivamente; dos cuadrupletes en 3.37 y 4.11 ppm (J = 7.2Hz) que integran para 4H y 2H cada uno, y corresponden a H-C4""-H-C6"" y H-C7, respectivamente; dos singuletes en 3.74 y 3.86 ppm que integran para 3H cada uno, propios de H-C8" y H-C7", respectivamente; y un singulete ancho y de baja intensidad en 6.29 ppm con integración para 1H correspondiente al N-H de la urea. En cuanto a los protones aromáticos se observan tres singuletes en 6.38, 7.02 y 7.25 ppm que integran para 1H cada uno propios de H-C6", H-C3" y H-C2, respectivamente; un triple doblete en 6.90 ppm propio de C6''' ($J_0 = 7.7Hz$, $J_m = 1.2Hz$, 1H); dos tripletes, uno en 7.16 ppm con J_m de 1.8Hz, y otro, en 7.25 ppm con J_O de 8.1Hz, ambos con integración para 1H correspondientes a H-C2" y H-C5"; finalmente, en 7.38 ppm se ubica un doble doble doblete propio de H-C4" $(J_{O} = 8.1Hz, J_{m} = 2.3Hz, J_{m} = 1.2Hz, 1H).$

El espectro de carbono muestra 9 tipos de carbonos alifáticos, de los cuales los correspondientes a C4^{''''}, C5^{''''}, C6^{''''}, C7^{''''}, C7, C8 y C9 no presentan cambios

significativos en cuanto a su desplazamiento químico con respecto a **63**, pero se observan otros 4: en 41.5 ppm C2', en 46.9 ppm C1', en 56.02 ppm C8'' y en 56.16 ppm C7''. Además se aprecian 16 tipos de carbonos aromáticos: en 113.3 ppm C3, en 113.4 ppm C6'', en 114.0 ppm C2'', en 115.5 ppm C3'', en 118.0 ppm C2''', en 122.1 ppm C4''', en 122.9 ppm C6''', en 125.4 ppm C2, en 125.7 ppm C5, en 127.9 ppm C5''', en 128.0 ppm C1'', en 128.8 ppm C3''', en 136.1 ppm C1''', en 138.4 ppm C4, en 148.5 ppm C4'', en 148.7 ppm C5'''; y 2 carbonos carbonílicos: en 154.6 ppm C2'''' y en 164.6 ppm C6.

El espectro de IR de ambos compuestos (**69** y **70**) confirma la *N*-alquilación de los pirroles **62** y **63**, por la ausencia de las bandas en 3228cm⁻¹ correspondientes a la vibración N-H, aunque las propias de las vibraciones C-H en 755cm⁻¹ y 789cm⁻¹ permanecieron sin cambios significativos; además, de la presencia de una banda en 591cm⁻¹ por la vibración C-Br. Los espectros también muestran la presencia de la urea por la vibración N-H en 3367cm⁻¹ y la vibración C=O en 1648cm⁻¹, y del éster por la vibración C=O en 1697cm⁻¹ y las bandas en 1163cm⁻¹ y 1227 cm⁻¹ causadas por los estiramientos simétrico y asimétrico C-O-R.

4.6. CIERRE DEL ANILLO PARA OBTENER LAS PIRROLO[2,1-*a*]ISOQUINOLINAS **10** Y **11**.

Una vez sintetizados y caracterizados los pirroles *N*-alquilados **69** y **70**, se procedió a realizar el cierre del anillo para obtener los compuestos **10** y **11**, en primera instancia, a través de la metodología desarrollada por Reyes-Gutiérrez,²⁹ que consiste en llevar a cabo una ciclación del tipo radical oxidativa aromática. El sustento de esta propuesta se basó en el hecho de que las reacciones de ciclación *vía* radicales libres son herramientas poderosas que permiten acceder, de forma relativamente sencilla, a diferentes tipos de compuestos cíclicos, muchos de los cuales son biológica y farmacéuticamente activos. Asimismo, algunas de las ventajas de llevar a cabo este tipo de reacciones es el hecho de que pueden llevarse a cabo bajo condiciones suaves

51

con altos niveles de regio y estereocontrol, así como tolerancia a ciertos grupos funcionales. Es importante señalar que en este tipo de ciclaciones, se forman radicales *arilo*, que debido a que su formación no implica la pérdida de aromaticidad, son altamente reactivos, y por lo tanto, las velocidades de ciclación son altas.³⁴

Como se muestra en el esquema 26, se utilizó *n*-Bu₃SnH como propagador de radicales libres y DLP como iniciador, quien sufre una ruptura homolítica por termólisis, generando un radical acilo, que posteriormente sufre una β -fragmentación que da como resultado un radical alquilo. La ventaja de utilizar estos reactivos es el hecho de que es posible generar un radical centrado en el estaño a través de la abstracción del protón del *n*-Bu₃SnH por el radical alquilo, en condiciones relativamente suaves.



Esquema 26. Ciclación intramolecular del tipo radical oxidativa de los pirroles *N*-alquilados **69** y **70**. Condiciones: *i) n*-Bu₃SnH, DLP, tolueno, reflujo (T < 110° C).

La reacción se llevó a cabo en reflujo de tolueno anhidro y bajo atmósfera de nitrógeno. El *n*-Bu₃SnH se añadió diluido con tolueno con ayuda de una bomba de adición, en un lapso de tiempo que dependió de cada experimento

³⁴ García Olivares, I., Tesis de Licenciatura, U.N.A.M., 2010.

realizado, y el DLP fue añadido en forma sólida cada hora. Antes de llevarla a cabo se verificó que el material y el tolueno estuvieran perfectamente secos, y previo a la adición del *n*-Bu₃SnH y el DLP, se desoxigenó la solución de los compuestos 69 y 70 en tolueno, mediante el burbujeo de N₂ a dicha solución por aproximadamente 30 min. Transcurrido este lapso, se comenzó el calentamiento a reflujo, cuidando que la temperatura se mantuviera por debajo de 110°C y se programó la adición de una solución de *n*-Bu₃SnH al 5% en tolueno, en un lapso de 7h. Cuando comenzó a adicionarse, se añadieron 0.36eq de DLP, y a partir de esta momento, se añadió la misma cantidad del sólido cada hora hasta completar 2.5eq. A pesar de que ya se han logrado sintetizar múltiples compuestos a través de esta metodología, y que se siguió al pie de la letra el protocolo desarrollado por Reyes-Gutiérrez,²⁹ en un primer intento por ciclar el compuesto 69, lo único que se observó por ccf fue una severa descomposición de la materia prima. En un inicio se pensó que este fracaso se debía a un manejo incorrecto de la técnica, ya que como se dijo, ésta ya ha sido probada con otros sustratos en múltiples ocasiones; así que se repitió nuevamente teniendo mucho más cuidado en el manejo de la muestra, los reactivos, el disolvente, la programación de la bomba de adición, la desoxigenación de la muestra y el monitoreo del avance de la reacción. En esta ocasión, se tomó una alícuota de la reacción a las 5h, observándose que el producto formado se encontraba aproximadamente en proporción 1:1 con respecto a la materia prima sin reaccionar, así que se continuó con las adiciones restantes de n-Bu₃SnH y DLP, y al final de las 7h, nuevamente se volvió a plaquear observándose una severa descomposición tanto de la materia prima como del producto formado.

Debido al poco éxito de los experimentos utilizando el pirrol **69**, se decidió emplear el compuesto **70** en lugar del **69**, ya que la ruta sintética para su obtención es mucho más sencilla que la otra, además de que se tenía en mayor cantidad. El siguiente experimento se realizó de la misma manera que los anteriores, sólo que en esta ocasión además de cuidar que la temperatura fuera menor a 110°C, se disminuyeron los tiempos de adición del *n*-Bu₃SnH y del DLP a 5.5h. En este caso, se tomó una alícuota de la reacción a las 3h observándose un avance de aproximadamente 50%, así que se continuó con el

53

calentamiento a reflujo hasta concluir las adiciones de los reactivos. Terminado este tiempo se observó que aún quedaba aproximadamente 1/3 de la materia prima, pero comenzaba a observarse la presencia de varios subproductos, así que la reacción se detuvo y el producto se aisló con el fin de llevar a cabo su caracterización espectroscópica. El compuesto **11** se obtuvo con un 15% de rendimiento como un sólido anaranjado de p.f. 86-88°C.



Figura 20. Caracterización del compuesto 11.

En el espectro de RMN-¹H se aprecia el desplazamiento a campo bajo de prácticamente todas las señales con respecto al pirrol N-alquilado 70, por ejemplo, H-C5"-H-C7" y H-C13 que se encontraban como dos tripletes traslapados en el espectro del compuesto 70 se separaron en dos tripletes independientes en 1.23 ppm (J = 7.2Hz, 6H) y 0.94 ppm (J = 7.2Hz, 3H), respectivamente. H-C14 muestra el mismo comportamiento, ubicándose como un singulete en 2.19 ppm que integra para 3H; así como H-C4" y H-C6", quienes se observan como un cuadruplete en 3.38 ppm (J = 7.2Hz, 4H). H-C15 v H-C16 también se desplazaron a campo bajo, y se ubican como dos singuletes con integración para 3H cada uno en 3.92 ppm y 3.91 ppm, respectivamente, aunque el cambio más relevante fue el que presentó H-C16 probablemente por el efecto de resonancia que puede presentar el par libre de electrones del oxígeno CH₃O-C16 con el resto de la molécula.²⁹ H-C6 y H-C5 se observan como dos tripletes con integración para 2H cada uno, en 2.99 ppm (J = 6.9Hz) y 3.92 ppm, este último traslapado con los singuletes de H-C15 y H-C16, y ligeramente desplazado a campo más alto con respecto a 70; mientras que H-C12 se ve como un cuadruplete en 4.04 ppm (J = 7.2Hz, 2H). El protón de la urea no muestra un cambio relevante en su desplazamiento químico, apareciendo como un singulete ancho y de baja intensidad en 6.28 ppm que integra para 1H. Es importante destacar que la ausencia de H-C2 indica la ciclación del pirrol *N*-alquilado **70**. Además, H-C7 y H-C10 se observan como dos singuletes en 6.72 ppm y 7.97 ppm, desplazados a campo más bajo comparados con el compuesto **70**, siendo más relevante el cambio en el desplazamiento de H-C10. En 6.93 ppm se observa un triple doblete ($J_O = 7.7Hz$, $J_m = 1.2Hz$, 1H) propio de H-C6', en 7.12 y 7.27 ppm se ubican dos tripletes, el primero con J_m de 1.8Hz e integración para 1H propio de H-C2', y el segundo con J_O de 7.8Hz que integra para 1H y corresponde a H-C5'; finalmente, en 7.49 ppm se observa un doble doble doblete que integra para 1H propio de H-C4' ($J_O = 8.3Hz$, $J_m = 1.2Hz$).

El espectro de RMN-¹³C muestra 9 tipos de carbonos alifáticos: en 10.5 ppm C14, en 13.9 ppm C5" y C7", en 14.2 ppm C13, en 29.4 ppm C6, en 41.4 ppm C4" y C6", en 41.8 ppm C5, en 56.1 ppm C16, en 56.2 ppm C15 y en 60.1 ppm C12. Además se observan 16 tipos de carbonos aromáticos: en 110.3 ppm C10, en 110.5 ppm C7, en 110.8 C1, en 117.8 ppm C2', en 121.5 ppm C4', en 123.6 ppm C10A, en 125.0 ppm C6', en 125.4 ppm C3, en 126.0 ppm C6A, en 128.3 ppm C10B, en 130.9 ppm C5', en 137.3 ppm C3', en 138.9 ppm C1', en 139.1 C2, en 147.9 ppm C9 y en 148.1 ppm C8. Así como dos carbonos carbonílicos: en 154.8 ppm C2" y en 167.3 C11.

El IR únicamente muestra la presencia de la urea por la vibración N-H en 3331.6cm⁻¹ y la vibración C=O en 1642.9cm⁻¹, y del éster por la vibración C=O en 1689.3cm⁻¹, y las bandas en 1144.7cm⁻¹ y 1255.3 cm⁻¹ por las vibraciones simétrica y asimétrica R-C-O.

Dado el bajo rendimiento con el que se generó la pirroloisoquinolina **11** y la infructífera síntesis del sistema tricíclico utilizando esta reacción radicalaria, se decidió intentar una nueva metodología que nos condujera a la ciclación de la molécula **70** con mejores rendimientos. Debido a ello, optamos por llevar a cabo una reacción de Heck intramolecular, ya que como se mencionó

anteriormente, los acoplamientos catalizados por paladio de haluros de vinilo y arilo con alquenos o sistemas aromáticos son métodos muy poderosos para la construcción de enlaces C-C; y en particular, las versiones intramoleculares de este tipo de reacción han proporcionado una ruta de construcción muy útil y versátil de compuestos con una diversidad estructural muy amplia. Otra de las ventajas de utilizar este método es que la construcción directa de enlaces C-C biarílicos a través de acoplamientos catalizados por paladio de heteroarenos con haluros de arilo es relativamente limpio y eficiente.



Esquema 27. Ciclación intramolecular catalizada por paladio del pirrol *N*-alquilado **70**. Condiciones: *i)* Pd(OAc)₂, PPh₃, TEA, MeCN, reflujo, 48h.

En un inicio se intentó la ciclación del pirrol **70** utilizando las mismas condiciones usadas en la generación de los alquenos **56** y **57** (tabla 6). Lamentablemente, los resultados obtenidos eran poco alentadores, ya que aunque los tiempos de reacción eran largos y las cargas de catalizador elevadas, los rendimientos resultaban sumamente pobres. Se decidió entonces optimizar las condiciones de reacción, ya que ninguno de los 3 ensayos resultó viable, sobretodo el último en el que se empleó 1eq de catalizador.

Exp.	Eq.	Eq.	Eq.	Solvente	Tiempo	Temp.	11
	Pd(OAc) ₂	PPh_3	TEA		(h)	(°C)	(%)
1	0.10	0.40	1.80	MeCN	48	Reflujo	
2	0.25	1.00	4.20	MeCN	48	Reflujo	7.2
3 ³⁵	1.00	2.50	18.0	MeCN	48	Reflujo	7.2

 Tabla 6. Condiciones experimentales para la ciclación del pirrol 70.

Recientemente, Lage y colaboradores³⁶ describieron la arilación intramolecular directa catalizada por paladio de alquenos sustituidos con *N*-(*o*-yodobencil)pirroles, con el fin de obtener pirrolo[1,2-*b*]isoquinolinas (**72**) y pirrolo[2,1-*a*]isoindoles (**73**), siendo la clave del éxito de la reacción la elección del sistema catalítico y la presencia de aditivos.



Esquema 28. Reacción de Mizoroki - Heck o arilación directa de 71.

Tomando como base la metodología propuesta por Lage, se realizó una modificación adicional al plan sintético original. Dada la dificultad de generar los productos tricíclicos deseados utilizando un derivado bromado, se pensó que

³⁵ Peschko, C.; Winklhofer, C.; Terpin, A.; Steglich, W. *Synthesis* **2006**, *18*, 3048-3057.

³⁶ Lage, S.; Martínez-Estíbalez, U.; Sotomayor, N.; Lete, E. Adv. Synth. Catal. 2009, 351, 2460-2468.

un compuesto yodado sería un mejor sustrato para la reacción de acoplamiento ya que la energía de disociación de un enlace C-I es menor que la de un enlace C-Br, lo que facilitaría la adición oxidativa del Pd(0) en el yoduro de arilo y se traduciría en tiempos de reacción menores y rendimientos superiores.

Para comprobar la hipótesis planteada tuvo que prepararse primero el yodotosilato **75**, mismo que se obtuvo a partir del 3,4-dimetoxifeniletanol (**66**) en dos pasos:³⁷ en el primero se llevó a cabo la yodación del anillo aromático, mientras que en el segundo se formó el sulfonato deseado como cristales blancos en forma de agujas con p.f. de 104-105°C con un rendimiento global de 79%.



Esquema 29. Síntesis del agente alquilante 75 y del pirrol *N*-alquilado 76.
Condiciones: *i*) I₂, CF₃CO₂Ag, CHCI₃, t.a.; *ii*) (a) Et₃N, TsCl, CH₂Cl₂, 0°C, 10min; (b)1-1.5h, t.a.; *iii*) pirrol 63,NaH, DMSO, t.a., toda la noche.

³⁷ Ruiz, J.; Ardeo, A.; Ignacio, R.; Sotomayor, N.; Lete, E. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 3311-3324.

Una vez generado el compuesto yodado **75**, éste fue utilizado como agente alquilante en la reacción de *N*-alquilación del pirrol **63**; de esta manera, pudo obtenerse el pirrol **76** como un sólido blanco con p.f. de 76-78°C con rendimientos de 80%. El tosilato **75** fue caracterizado por RMN-¹H y RMN-¹³C y la información obtenida fue la misma que reportó Ruiz.



Figura 21. Caracterización del compuesto 75.

El espectro de RMN-¹H muestra dos tripletes en 3.01 ppm (J = 6.8Hz) y 4.20 ppm (J = 6.8Hz) propios de C2 y C1, respectivamente, y tres singuletes que integran para 3H cada uno: el primero en 2.43 ppm propio de C7', y los otros dos en 3.82 ppm y 3.83 ppm correspondientes a C7" y C8". En cuanto a los protones aromáticos, en 6.68 ppm y 7.12 ppm se ubican dos singuletes propios de H-C6" y H-C3"; y dos dobletes que indican un sistema del tipo A_2B_2 señalando un patrón de sustitución *para* en el anillo, en 7.27 ppm (J_O = 8.2Hz, 2H) y 7.69 ppm (J_O = 8.2Hz, 2H) correspondientes a H-C3' y H-C5', y H-C2' y H-C6', respectivamente.

Mientras que el espectro de RMN-¹³C muestra 5 tipos de carbonos alifáticos: en 21.8 ppm C7', en 39.8 ppm C2, en 56.1 ppm C7'', en 56.3 ppm C8'' y en 69.5 ppm C1; y 10 tipos de carbonos aromáticos: en 88.1 ppm C2'', en 113.4 ppm C6'', en 121.8 ppm C3'', en 128.0 ppm C2' y C6', en 129.9 ppm C3' y C5', en 131.4 ppm C1'', en 133.1 ppm C4', en 144.9 ppm C1', en 148.7 ppm C5'' y en 149.5 ppm C4''.



Figura 22. Caracterización del compuesto 76.

En cuanto al pirrol **76**, el espectro de protón muestra en 1.16 ppm (J = 7.2Hz) y 1.22 ppm (J = 7.2Hz) dos tripletes traslapados que integran en total para 9H y corresponden a H-C8 y H-C5""-H-C7""; en 1.98 ppm se ve un singulete que integra para 3H propio de H-C9, mientras que en 3.09 ppm (J = 7.2Hz) y 4.05 ppm (J = 7.2Hz) hay dos tripletes que integran para 2H cada uno correspondientes a H-C2' y H-C1', respectivamente. En 3.37 ppm (J = 7.2Hz) y 4.11 ppm (J = 7.2Hz) se observan dos cuadrupletes que integran para 4H y 2H, respectivamente, propios de H-C4""- H-C6"" y H-C7; mientras que en 3.73 ppm y 3.85 ppm se ven dos singuletes que integran para 3H cada uno correspondientes a H-C8" y H-C7". En 6.27 ppm se observa un singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H propio del protón de la urea. En cuanto a los protones aromáticos, en 6.37, 7.23 y 7.27 ppm se observan tres singuletes propios de H-C6", H-C3" y H-C2, respectivamente; en 6.90 se ubica un triple doblete que integra para 1H ($J_0 = 7.5Hz$, $J_m = 1.2Hz$) correspondiente a H-C6"; en 7.16 y 7.26 ppm se observan dos tripletes que integran para 1H cada uno, con J_m de 2.1Hz y J_O de 7.8Hz, propios de H-C2" y H-C5"; y finalmente, en 7.39 ppm se encuentra un doble doble doblete con integración para 1H propio de H-C4''' ($J_0 = 8.1Hz$, $J_m = 2.1Hz$, $J_m = 0.9Hz$).

El espectro de RMN-¹³C muestra 9 tipos de carbonos alifáticos, de los cuales los correspondientes a C4^{''''}, C5^{''''}, C6^{''''}, C7^{''''}, C7, C8 y C9 no mostraron cambios significativos en cuanto a su desplazamiento químico con respecto al compuesto **63**. En 41.8 ppm se encuentra C2', en 47.4 ppm está C1', en 56.1 ppm se observa C8'' y en 56.4 ppm se ve C7''. Además se observan 16 tipos de carbonos aromáticos: en 88.1 ppm C2'', en 113.0 ppm C3, en 113.6 ppm C6'', en 118.3 ppm C2''', en 121.8 ppm C4''', en 122.3 ppm C6''', 123.1 ppm C3'', 125.6 ppm C2, en 125.9 ppm C5, en 128.1 ppm C5''', en 128.3 ppm C1'', en 132.9 ppm C3''', en 136.4 ppm C1''', en 138.6 ppm C4, en 148.8 ppm C5'' y en 149.7 ppm C4'''. Asimismo, se pueden apreciar dos carbonos carbonílicos: en 154.9 ppm C2'''' y en 164.9 ppm C6.

Al igual que para el compuesto **70**, el espectro de IR corrobora la *N*-alquilación del pirrol **63**, por la ausencia de la banda en 3203.7cm⁻¹ correspondiente a la vibración N-H del pirrol, aunque las propias de la vibración C-H en 754.5cm⁻¹ y 784.3cm⁻¹ permanecieron sin cambios significativos; además, se observa una banda en 459.3cm⁻¹ por la vibración C-I. El espectro también muestra la presencia de la urea por las vibraciones de los enlaces N-H en 3366.0cm⁻¹ y C=O en 1642.9cm⁻¹, y del éster por la vibración C=O en 1694.3cm⁻¹ y las bandas en 1160.8cm⁻¹ y 1253.1 cm⁻¹ a causa del estiramiento simétrico y asimétrico R-C-O.

Habiendo caracterizado al compuesto **76** se procedió a utilizarlo como sustrato en la reacción de ciclación intramolecular para generar el compuesto tricíclico **11** empleando condiciones muy similares a las propuestas por Lage.³⁶ (Tabla 7). Con base en estos experimentos se llegó a la conclusión de que las condiciones óptimas para generar la pirroloisoquinolina **11** se obtienen al añadir 0.1eq de Pd(OAc)₂, 0.4eq de PPh₃ y 1.8eq de TEA, y utilizar DMF como disolvente y TBAI como aditivo, siempre teniendo el cuidado de mantener la temperatura en un intervalo de 90 a 110°C. Es importante señalar que pese a que se requieren temperaturas mayores a 82°C, no se debe llegar hasta la ebullición de la DMF (153°C), ya que esto propicia la descomposición tanto de la materia prima como del producto, lo que deriva en la disminución del rendimiento.

61
Exp.	Eq. Pd(OAc) ₂	Eq. PPh ₃	Eq. TEA	Aditivo	Solvente	Tiempo (h)	Temp. (°C)	11 (%)
1	0.10	0.40	1.80	TBAI	DMF	3.5	Reflujo	23.2
2	0.10	0.40	1.80	TBAI	MeCN	48.0	Reflujo	10.0
3	0.10	0.40	1.80	TBAI	DMF	3.5	90-110	35.62
4	0.10	0.40	1.80	TBAI	DMF	4.5	90-110	47.29

 Tabla 7. Condiciones experimentales para la ciclación intramolecular del pirrol 76.

Habiendo establecido las condiciones óptimas para la ciclación intramolecular del pirrol **76**, se procedió a obtener el compuesto **10**. Sin embargo, dado que únicamente se poseía el bromoderivado **69** y habiendo aceptado la hipótesis de que un derivado yodado da mejores resultados en esta reacción, tuvo que prepararse el compuesto yodado análogo de **69**.



Esquema 30. Formación de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina 80. Condiciones: *i*) acrilato de etilo, Pd(OAc)₂, PPh₃, TEA, MeCN, 4h, reflujo; *ii*) Me-TosMIC, NaH, Et₂O-DMSO (2:1); *iii*) agente alquilante 75, NaH, DMSO, t.a., toda la noche; *iv*) Pd(OAc)₂, PPh₃, TEA, TBAI, DMF, 90°C<T<110°C.

Debido a que dicho compuesto tenía que prepararse desde el inicio, se modificó la estrategia general de síntesis, dejando como último paso la reacción de formación del grupo urea y no la preparación del sistema pirroloisoquinolínico. (Esquema 30). Siguiendo la nueva ruta. la pirroloisoquinolina se obtuvo con un rendimiento global de 18.38%; aunque hay que recalcar que la reacción de formación del triciclo se prolongó cerca de 3 días. De todos los intermediarios sintetizados, sólo fue caracterizado 79, un sólido amorfo de color beige de p.f. 58-60°C, por RMN-¹H, dado que los demás compuestos ya habían sido descritos previamente.



Figura 23. Caracterización del compuesto 79.

El espectro de RMN-¹H del compuesto **79** muestra un triplete y un cuarteto en 1.17 ppm (J = 7.2Hz, 3H) y 4.13 ppm (J = 7.2Hz, 2H) propios de C8 y C7; 3 singuletes que integran para 3H cada uno en 1.92 ppm, 3.71 ppm y 3.86 ppm correspondientes a H-C9, H-C8" y H-C7", respectivamente; dos tripletes que integran para 2H cada uno en 3.09 ppm (J = 7.0Hz) y 4.03 ppm (J = 7.0Hz) propios de C2' y C1', y un singulete ancho y de baja intensidad que integra para 2H propia de H-N7". Con respecto a los protones aromáticos, aparecen tres singuletes en 6.33 ppm, 7.22 ppm y 7.27 ppm correspondientes a C6"-C3" y C2, respectivamente; en 7.12 ppm se ubica un triplete que integra para 1H con J_O de 7.6Hz propio de H-C5" y los demás protones aromáticos aparecen como un multiplete de 6.50-6.62 ppm que integra para 3H en total.

Habiéndose obtenido el compuesto **80**, se procedió a generar la urea asimétrica disustituida **10**, de acuerdo con el esquema 31.



Esquema 31. Formación de la urea asimétrica disustituida 10. Condiciones: *i)* pirroloisoquinolina 80, trifosgeno, DIEA, CH₂Cl₂ velocidad de adición de 9.4mL/h, t.a.; *ii)* piperazina 46, CH₂Cl₂, t.a.

La reacción procedió al igual que las otras, sin ningún contratiempo; de esta forma se pudo obtener el compuesto **10** en rendimientos de 40% y rendimientos globales de 7.4% a partir de la 3-yodoanilina. El compuesto **10** fue caracterizado por las siguientes espectroscopías:



Figura 49. Caracterización del compuesto 10.

El espectro de RMN-¹H no mostró cambios significativos en cuanto a integrales ni desplazamientos químicos del sistema 4-(ciclohexilmetil)piperazinilo: de 0.81 a 1.79 ppm se observa un conjunto de multipletes que integran en total para 11H propios del ciclohexilo, en 3.14 ppm se ubica un doblete (J = 7.2Hz) que integra para 2H correspondiente a H-C1", en 2.41 y 3.48 ppm se encuentran dos tripletes con J de 4.8Hz que integran para 4H cada uno, y corresponden a H-C3" y H-C5", y H-C2" y H-C6", respectivamente. El espectro también muestra un triplete en 0.93 ppm (J = 7.2Hz) que integra para 3H y un cuarteto en 4.04 ppm (J = 7.2Hz) con integración para 2H propios de H-C13 y H-C12, respectivamente; así como 3 singuletes ubicados en 2.18, 3.91 y 3.92 ppm que integran para 3H cada uno propios de H-C14, H-C16 y H-C15, y un triplete con integración para 2H en 2.98 ppm que corresponde a H-C6. Es importante destacar que el triplete de H-C5 no se observa en el espectro, ya que la señal queda traslapada con los singuletes de H-C15 y H-C16. El protón de la urea se ubica en 6.41 ppm como un singulete ancho y de baja intensidad que integra para 1H. En cuanto a los protones aromáticos, en 6.72 y 7.96 ppm se encuentran dos singuletes que integran para 1H cada uno correspondientes a H-C7 y H-C10, respectivamente; este último desplazado a campo más bajo probablemente por la interacción con el oxígeno del éster. Además de estas señales en 6.93 ppm se encuentra un triple doblete que integra para 1H propio de H-C6' ($J_0 = 7.7Hz$, $J_m = 1.2Hz$), en 7.12 y 7.26 ppm se ubican dos tripletes con J_m de 1.8Hz y J_O de 7.8Hz e integración para 1H cada uno, correspondientes a H-C2' y H-C5', respectivamente. Finalmente, en 7.40 ppm se observa un doble doble doblete que integra para 1H propio de H-C4'.

El espectro de RMN-¹³C muestra cambios en el desplazamiento químico de la mayoría de los carbonos alifáticos, siendo en total 14 que aparecen en: 10.5 ppm C14, 14.0 ppm C13, 26.3 ppm C4''' y C6''', 27.0 ppm C5''', 29.4 ppm C6, 32.0 ppm C3''' y C7''', 35.2 ppm C2''', 41.3 ppm C5, 44.3 ppm C2'' y C6'', 53.5 ppm C3'' y C5'', 56.1 ppm C16, 56.2 ppm C15, 60.1 ppm C12, 65.7 ppm C1'''. Es importante señalar que sólo se observan 15 tipos de carbonos aromáticos, debido a que una de las señales está traslapada con otra: en 110.3 ppm C10, en 110.5 ppm C7, en 110.8 ppm C1, en 117.8 ppm C2', en 121.6 ppm C4', en 123.6 ppm C10A, en 125.2 ppm C6', en 125.4 ppm C3, en 125.9 ppm C6A, en 128.4 ppm C10B, en 130.9 ppm C5', en 137.4 ppm C3', en 138.7 ppm C1', en 138.7 ppm C2, en 147.8 ppm C9 y en 148.1 ppm C8. Finalmente, en el espectro también se visualizan 2 tipos de carbonos carbonílicos: en 155.2 C7'' y en 167.3 ppm C11.

El IR únicamente muestra la presencia de la urea por la vibración N-H en 3327.5cm⁻¹ y la vibración C=O en 1643.3cm⁻¹, y del éster por la vibración C=O en 1691.1cm⁻¹, y las bandas en 1146.4cm⁻¹ y 1213.5 cm⁻¹ por las vibraciones simétrica y asimétrica R-C-O.

5. PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD

Se evaluó la actividad citotóxica de los pirroles **62** y **63**, de los pirroles *N*-alquilados **69** y **70** en seis líneas celulares cancerosas, con el fin de determinar el por ciento de inhibición de crecimiento celular (%IC) y la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) para aquellos compuestos que presentaran %IC mayor a 50. A continuación se presentan sólo los valores obtenidos en %IC para los compuestos **62**, **63**, **69** y **70**, ya que por cuestiones de tiempo no se alcanzó a realizar la curva de IC₅₀.

%IC (50μM)								
Compuesto	U-251	PC-3	K-562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1		
62	N.D.	89.11	46.23	61.28	56.80	52.36		
63	14.42	18.94	3.6	14.26	2.99	10.97		
69	37.66	68.45	S.A.	58.72	40.51	47.22		
70	76.54	91.46	97.15	83.87	78.76	64.30		

Tabla 8. Valores de %IC para los compuestos 62, 63, 69 y 70.

En la tabla 8 se observa que el pirrol **62** presentó la mayor actividad en la línea celular PC-3 y en menor grado en las líneas celulares HCT-15, MFC-7 y SKLU-1. Por su parte, el pirrol **63** mostró menor actividad que el primero en todas las líneas celulares, de hecho, en ningún caso el %IC fue mayor a 50. En cuanto a los pirroles *N*-alquilados, el compuesto **69** mostró actividad relevante en las líneas celulares PC-3 y HCT-15; mientras que el pirrol **70** presentó actividad en todas las líneas celulares, siendo por mucho el más activo de los compuestos evaluados hasta el día de hoy.

En lo referente a las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas **10** y **11**, actualmente se está llevando a cabo la determinación de su porcentaje de inhibición.

6. CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo la síntesis de los derivados del 1-carboxilato de 2-(3-aminofenil)-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina de etilo 10 y 11, obteniéndose ambos compuestos con rendimientos globales de 7.35% y 18.35%, respectivamente, en cinco pasos de reacción. Es importante destacar que la preparación de estos dos compuestos no ha sido descrita previamente en la literatura.
- Todos los intermediarios, así como los productos finales, fueron caracterizados por su p.f. y mediante técnicas de Resonancia Magnética Nuclear H¹ y C¹³, espectrometría de masas e IR.
- A lo largo de la realización del trabajo se optimizaron diversas condiciones de reacción con el fin de aumentar los rendimientos y evitar las reacciones colaterales. Algunos ejemplos de ello son la reacción para la generación de la piperazina 46, la reacción para la obtención del alqueno 56, la reacción para llevar a cabo la síntesis del Me-TosMIC y la reacción para la formación de las pirroloisoquinolinas 10 y 11.
- Con base en los resultados de las pruebas de actividad citotóxica de los compuestos evaluados hasta el momento, se puede decir que el pirrol trisustituido 63 es el menos activo de todos. Por otro lado, el pirrol *N*-alquilado 70 es quien ha mostrado los mejores resultados.

7.SECCIÓN EXPERIMENTAL

7.1. CONSIDERACIONES GENERALES

- El avance de las reacciones se verificó por ccf utilizando cromatofolios Alugram (sílica gel 60 con indicador fluorescente UV₂₅₄), mismas que fueron reveladas utilizando luz ultravioleta, ninhidrina, vainillina, yodo y permanganato de potasio.
- La purificación de los productos se llevó a cabo por cromatografía en columna de gel de sílice (230-400 mallas), utilizando como eluyentes mezclas de polaridad variada; y recristalización por par de disolventes.
- Los puntos de fusión se reportan en °C, no están corregidos y se determinaron en un aparato Melp-temp II.
- Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker FT-IR Tensor 27, usando la técnica de pastilla en KBr.
- Los espectros de RMN-¹H y ¹³C se realizaron en un equipo Varian Gemini 200 (200 MHz para ¹H, y 50 MHz para¹³C) y Varian Gemini 300 (300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C). El desplazamiento químico está expresado en partes por millón (ppm) utilizando el parámetro de δ y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna (0 ppm). Las señales de los espectros de ¹³C-RMN fueron identificadas con ayuda de experimentos DEPT. La terminología usada es la siguiente: s = singulete, d = doblete, t = triplete, c = cuarteto, m = multiplete, dd = doble doblet doblet doblete y td = triple doblete. Las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz). Las muestras fueron disueltas en CDCl₃ y CDCl₃/DMSO.
- Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrofotómetro de masas JEOL JEM-AX505HA de doble enfoque, utilizando la técnica de impacto electrónico y una energía de ionización de 70 eV.

7.2. PARTE SINTÉTICA



1-Formil-4-(ciclohexilmetil)piperazina (45a)

En un matraz de dos bocas de 25mL, acondicionado con un sistema de reflujo y agitación magnética se preparó una solución de 0.2g (1.13mmol) de bromuro de metilciclohexilo y 0.845g (5.65 mmol) de Nal en 5mL de acetona grado reactivo. Dicha mezcla se colocó en reflujo por aproximadamente 30min y luego se le añadieron 0.129g

(1.13mmol) de formilpiperazina y 0.078g (0.57mmol) de K₂CO₃ a través de la boca libre del matraz. Se continuó con el calentamiento a reflujo por aproximadamente 4.5h más. El avance de la reacción se siguió por ccf, utilizando ninhidrina como revelador. Consumida la materia prima, se añadió CH_2Cl_2 para precipitar los sólidos, se filtró al vacío, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y eliminó el disolvente remanente a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice usando una mezcla de Hx : AcOEt : TEA (50:30:20) como fase móvil. El compuesto resultó ser un líquido viscoso de color amarillo y fue generado con 92% de rendimiento. *RMN-¹H* (200 MHz, CDCl₃) δ 0.80-0.95 (m, 2H), 1.12-1.27 (m, 4H), 1.44-1.54 (m, 1H), 1.67-1.80 (m, 4H), 2.16 (d, J = 7.0Hz, 2H), 3.39 (t, J = 5.0Hz, 4H), 3.56 (t, J = 5.0Hz, 4H), 8.02 (s, 1H).



1-(Ciclohexilmetil)piperazina (46)

En un matraz de 10mL equipado con agitación magnética, se colocó una solución de 0.2g (0.951mmol) de la piperazina formilada **46a** en 3mL de EtOH. A esta mezcla se añadieron 0.33mL de NaOH 5N lentamente y a continuación fue llevada a reflujo por aproximadamente 4h. La reacción se monitoreó por

ccf utilizando como revelador ninhidrina. Habiéndose consumido la materia prima, el producto crudo se extrajo con CH₂Cl₂ : salmuera, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice usando una mezcla de

AcOEt : MeOH : TEA (75:15:10) como fase móvil. El producto se obtuvo en 86% de rendimiento como un sólido blanco que descompone a T > 260° C. *RMN-***¹***H* (200 MHz, CDCl₃) δ 0.80-0.98 (m, 2H), 1.08-1.30 (m, 4H), 1.30-1.58 (m, 1H), 1.60-1.80 (m, 4H), 2.17 (d, J = 7.0Hz, 2H), 2.57 (t, J = 4.8Hz, 4H), 3.08 (t, J = 4.8Hz, 4H), 5.02 (s, 1H).

7.2.1. FORMACIÓN DE LAS UREAS ASIMÉTRICAS DISUSTITUIDAS.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz bola de 25mL provisto de agitación magnética y una aguja para el escape de gases, se colocó una solución de 0.06g (1eq) de trifosgeno en 1.3mL de CH₂Cl₂. En este sistema se adaptó una bomba de adición y se añadió a una velocidad de 9.4 mL/h una solución de 2.7eq de la amina primaria y 6eq de DIEA en 2.2mL de CH₂Cl₂. Terminado el tiempo de adición se retiró la bomba de adición y se dejó agitar por 10min más, para posteriormente, añadir en una adición rápida una mezcla de 2.7eq de la amina secundaria de interés en 1.3mL de CH₂Cl₂. Una vez concluidas las adiciones, se dejó agitar por 30min más y el avance de la reacción se monitoreó por ccf haciendo uso de mezclas de Hx : AcOEt de polaridad variada. El producto crudo se extrajo con CH_2Cl_2 : salmuera, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se concentró y el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice.



4-Formil-*N*-fenil-piperazinil-1-carboxamida (50)

Fue generada a partir del método general para la formación de ureas asimétricas disustituidas

(sección 7.2.1) a partir de anilina y formilpiperazina como un sólido blanco con p.f. 170-172°C en 80% rendimiento. Mezcla de elución Hx : AcOEt (2:8). *RMN-¹H* (200 MHz, CDCl₃) δ 3.38-3.60 (m, 8H), 7.03 (t, J_O = 7.2Hz, 1H), 7.28 (t, J_O = 8.4Hz, 2H), 7.40 (d, J_O = 8.5Hz, 2H), 7.47 (s, 1H), 8.10 (s, 1H); *RMN-*¹³*C* (50 MHz, CDCl₃) δ 40.1, 44.1, 44.8, 45.5, 120.5, 123.3, 128.9, 139.3, 155.4, 161.0.



4-Formil-*N*-(3-yodofenil)piperazinil-1carboxamida (53)

Obtenida a partir del método general para la formación de ureas asimétricas disustituidas

(sección 7.2.1) a partir de 3-yodoanilina y formilpiperazina como un sólido blanco con un rendimiento de 78%. Mezcla de elución Hx : AcOEt (2:8). **RMN-**¹*H* (300 MHz, CDCl₃) δ 3.29-3.34 (m, 4H), 3.47-349 (m, 4H), 6.91 (t, J₀ = 8.2Hz, 1H), 7.26 (dd, J₀ = 7.8Hz, J_m = 0.8Hz, 1H), 7.36 (dd, J₀ = 8.2Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.71 (J_m = 1.8Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 8.02 (s, 1H).



4-(Ciclohexilmetil)-N-(3-

yodofenil)piperazinil-1-carboxamida (55)

Fue obtenida utilizando el método general

para la formación de ureas asimétricas disustituidas (sección 7.2.1) a partir de la 3-yodoanilina y la 1-(ciclohexilmetil)piperazina como un sólido cristalino de color beige con p.f. 162-164°C en 80% rendimiento. Mezcla de elución Hx : AcOEt (6:4). *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3302.5, 2912.3, 2774.0, 1635.2, 1509.8, 1231.3, 766.8, 588.2; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 0.82-0.93 (m, 2H), 1.14-1.30 (m, 4H), 1.44-1.56 (m, 1H), 1.70-1.79 (m, 4H), 2.16 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.42 (t, J = 4.8Hz, 4H), 3.49 (t, J = 4.8Hz, 4H), 6.60 (s, 1H), 6.97 (t, J₀ = 8.1Hz, 1H), 7.34 (dd, J₀ = 7.8Hz, J_m = 1.5 Hz, 2H), 7.77 (t, J_m = 1.8Hz, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃) δ 26.3, 26.9, 32.0, 35.1, 44.2, 53.4, 65.6, 94.2, 119.3, 128.8, 130.5, 132.1, 140.6, 154.7; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 427M⁺ (10), 344 [M-83]⁺ (100), 245 [M-182]⁺ (20), 152 [M-275]⁺ (13), 140 [M-287]⁺ (10), 99 [M-328]⁺ (38).



1,1-Dietil-3-(3-yodofenil)urea (59)

Generada de acuerdo a la metodología general para la obtención de las ureas asimétricas disustituidas (sección 7.2.1) a partir de la 3-yodoanilina y

dietilamina como un sólido blanco en forma de agujas con p.f. de 108-110°C en 83% de rendimiento. Mezcla de elución Hx : AcOEt (6:4). *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3320.3, 2972.6, 2927.6, 2928.0, 2872.1, 1640.3, 1584.7, 1520.7, 1422.9, 774.0; *RMN-*¹*H* (300 MHz, CDCl₃) δ 1.21 (t, J = 7.2Hz, 6H), 3.37 (c, J = 7.2Hz, 4H), 6.50 (s, 1H), 6.98 (t, J_o = 8.1Hz, 1H), 7.33 (ddd, J_o = 7.9Hz, J_m = 1.5Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.39 (ddd, J_o = 8.1Hz, J_m = 2.1Hz, J_m = 0.9Hz, 1H), 7.83 (t, J_m = 2.1Hz, 1H); *RMN-*¹³*C* (75 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 41.8, 94.2, 119.2, 128.5, 130.4, 131.7, 140.9, 154.4; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 318M⁺ (63), 245 [M-73]⁺ (4), 100 [M-218]⁺ (100), 72 [M-246]⁺ (38), 44 [M-274]⁺ (7), 29 [M-289]⁺ (10).



2-[3-[[4-(Ciclohexilmetil)piperazin il-1-carbonil]amino]fenil]-8,9dimetoxi-3-metil-5,6dihidropirrolo[2,1*a*]isoquinolina-1-

carboxilato de etilo (10). Este compuesto fue generado siguiendo la metodología general de síntesis de ureas (sección 7.2.1) a partir de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **80** y la piperazina **46**; fue obtenido como un sólido amorfo de color anaranjado con p.f. de 106-108°C en 47% de rendimiento. Mezcla de elución Hx : AcOEt : TEA (5:3:2). *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3327.5, 2922.9, 2849.0, 2808.4, 2769.6, 1691.1, 1643.3, 1528.6, 1488.6, 1443.8, 1466.0, 1260.4, 1213.5, 1146.4, 1808.7, 1001.7, 888.6, 852.4, 789.4, 751.0, 731.0, 701.9, 581.5; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 0.85-0.95 (m, 2H), 0.93 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.18-1.28 (m, 4H), 1.56-1.41 (m, 1H), 1.69-1.79 (m, 4H), 2.14 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.41 (t, J = 4.8Hz, 4H), 2.98 (t, J = 6.3Hz, 2H), 3.48 (t, J = 4.8Hz, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.91-3.92 (t, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.04 (c, Mathematical context of the sector of the sector

J = 7.2Hz, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.93 (td, $J_0 = 7.7Hz$, $J_m = 1.2Hz$, 1H), 7.12 (t, $J_m = 1.8$, 1H), 7.26 (t, $J_0 = 7.8Hz$, 1H), 7.40 (ddd, $J_0 = 7.4Hz$, $J_m = 2.1$, $J_m = 0.9Hz$, 1H), 7.96 (s, 1H); **RMN-¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ 10.5, 14.0, 26.3, 27.0, 29.4, 32.0, 35.2, 41.4, 44.3, 53.5, 56.1, 56.2, 60.1, 65.7, 110.3, 110.5, 110.8, 117.9, 121.6, 123.6, 125.2, 125.4, 125.9, 128.3, 130.9, 137.4, 138.7, 147.9, 148.1, 155.2, 167.3; **EM** (IE, 70eV) m/z (%) 614 M⁺ (1), 615 [M+1]⁺ (2), 433 [M-182]⁺ (68), 432 [M-183]⁺ (88), 417 [M-198]⁺ (29), 389 [M-226]⁺ (15), 371 [M-244]⁺ (14), 343 [M-272]⁺ (18), 99 [M-516]⁺ (100), 86 [M-529]⁺ (18), 56 [M-559]⁺ (15).

7.2.2. SÍNTESIS DE LAS OLEFINAS DISUSTITUIDAS.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz bola de 10mL de una sola boca provisto de agitación magnética, canastilla de calentamiento y bajo atmósfera de nitrógeno, se colocaron 0.1g (1eq) de la urea asimétrica de interés, 0.1eq de $Pd(OAc)_2$ y 0.4eq de PPh_3 . Todos estos sólidos se disolvieron en 1.5mL de MeCN anhidro, y se añadieron a continuación 1.8eq de Et_3N y 1.8eq de acrilato de etilo. La mezcla resultante fue llevada a reflujo (aprox. 80°C) por un lapso no mayor a 3.5h, dependiendo de la urea en estudio. La reacción fue monitoreada constantemente por ccf usando una mezcla Hx : AcOEt (6:4) como eluyente. Habiéndose consumido la materia prima, se dejó enfriar el sistema a temperatura ambiente, se realizaron una serie de extracciones con CH_2Cl_2 : salmuera, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice.



(*E*)-3-[3-[[4-(Ciclohexilmetil)piperazinil-1carbonil]amino]fenil]prop-2enoato de etilo (56)

Este producto fue obtenido con la metodología general para la

síntesis de olefinas (sección 7.2.2) a partir de la urea **55** como un sólido cristalino de color ligeramente café en 70% de rendimiento y p.f. de 142-144°C. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3768.8, 3332.6, 2939.8, 2866.5, 2821.8, 1723.2, 1648.4, 1539.5, 1314.2, 1250.5, 1175.8, 1019.3, 1001.3; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 0.83-0.94 (m, 2H), 1.18-1.28 (m, 4H), 1.32 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.43-1.57 (m, 1H), 1.70-1.80 (m, 4H), 2.17 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.44 (t, J = 4.2Hz, 4H), 3.53 (t, J = 4.8Hz, 4H), 4.245 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.42 (d, J_{trans} = 16.2Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 7.17-7.36 (m, 2H), 7.27 (t, J₀ = 7.8Hz, 1H), 7.62 (t, J_m = 1.8Hz, 1H), 7.63 (d, J_{trans} = 16.2Hz, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃) δ 14.5, 26.2, 26.9, 32.0, 35.1, 44.2, 53.4, 60.6, 65.6, 118.7, 119.5, 120.2, 121.9, 129.5, 135.3, 140.0, 144.7, 155.0, 167.2; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 399 M⁺ (4), 400 [M+1]⁺ (5), 316 [M-83]⁺ (53), 302 [M-97]⁺ (11), 283 [M-116]⁺ (23), 262 [M-137]⁺ (13), 218 [M-181]⁺ (61), 199 [M-200]⁺ (75), 195 [M-204]⁺ (35), 172 [M-227]⁺ (28), 152 [M-247]⁺ (19), 140 [M-259]⁺ (16), 99 [M-300]⁺ (100), 70 [M-329]⁺ (30), 56 [M-343]⁺ (28), 55 [M-344]⁺ (18).



(*E*)-3-[3-

(Dietilcarbamoilamino)fenil]prop-2enoato de etilo (57)

EI compuesto fue preparado de acuerdo con el método general de síntesis de olefinas (sección 7.2.2) a partir de la urea **59** y se obtuvo como un sólido cristalino de color ligeramente amarillento con p.f. de 116-118°C en 84% de rendimiento. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3558.4, 2978.9, 2930.0, 2901.5, 1708.2, 1640.4, 1540.8, 1486.0, 1311.5, 1179.4, 1031.5, 1007.3, 867.1, 792.8; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 1.23 (t, J = 7.2Hz, 6H), 1.33 (t, J = 7.2Hz, 3H), 3.39 (c, J = 7.2Hz, 4H), 4.25 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.41 (s, 1H), 6.44 (d, J_{trans} = 16.2Hz, 1H), 7.17 (td, J₀ = 7.5Hz, J_m = 1.5Hz, 1H), 7.28 (t, J₀ = 8.1Hz, 1H), 7.39 (ddd, J₀ = 8.0Hz, J_m = 2.2Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.65 (t, J_m = 2.1Hz, 1H), 7.64 (d, J_{trans} = 15.9Hz, 1); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃) δ 14.1, 14.5, 41.9, 60.6, 118.7, 119.2, 121.7, 122.8, 129.5, 135.3, 140.1, 144.7, 154.6, 167.2; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 290 M⁺ (20), 291 [M+1]⁺ (100), 291 [M+2]⁺ (21), 273 [M-17]⁺ (32), 100 [M-190]⁺ (52).

7.2.3. SÍNTESIS DE LOS PIRROLES 2,3,4-TRISUSTITUIDOS.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz de 10mL (A) provisto de agitación magnética y atmósfera de nitrógeno se colocaron 0.1g (1eg) de la olefina disustituida de interés, 1.5eg de Me-TosMIC y se disolvieron en 1.5mL de Et₂O anhidro y 0.5mL de DMSO anhidro. Por otra parte, en otro matraz de 10mL (B) provisto de agitación magnética, atmósfera de nitrógeno y baño de hielo, se colocaron 2.2eq de NaH en 3mL de Et₂O anhidro. Una vez disuelta la olefina de interés y el Me-TosMIC, esta mezcla se adicionó lentamente a través de una cánula al matraz B, manteniendo todo el tiempo en agitación vigorosa el contenido de este matraz y bajo condiciones escrupulosamente anhidras. Terminada la adición se retiró el baño de hielo y se continuó con la agitación a temperatura ambiente por aproximadamente 2h. El avance de la reacción se monitoreó por ccf usando una mezcla Hx : AcOEt (4:6). Consumida la materia prima se añadió un poco de agua para destruir el NaH remanente, y luego se realizaron una serie de extracciones con CH_2CI_2 : salmuera, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, se concentró y el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice.



4-[3-[[4-

(Ciclohexilmetil)piperazinil-1carbonil]amino]fenil]-5-metil-1H-pirrol-3-carboxilato de etilo (62)

siguiendo el procedimiento general de síntesis de pirroles 2,3,4-trisustituidos (sección 7.2.3) a partir del algueno 56, y se obtuvo como un sólido amorfo de color blanco que descompone a T>160°C en 70% de rendimiento. IR (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3559.5, 3228.7, 2923.4, 2850.9, 2805.4, 2768.7, 1658.6, 1640.4, 1248.8, 1169.2; **RMN-¹H** (300 MHz, CDCl₃/DMSO) δ 0.83-0.93 (m, 2H), 1.17 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.17-1.26 (m, 4H), 1.45-1.59 (m, 1H), 1.69-1.80 (m, 4H), 2.14 (s, 3H), 2.17 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.43 (t, J = 4.2Hz, 4H), 3.52 (t, J = 4.8Hz,

4H), 4.11 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.96 (td, $J_0 = 7.5Hz$, $J_m = 1.2Hz$, 1H), 7.22 (t, $J_0 = 7.8Hz$, 1H), 7.28 (d, $J_{(1-5)} = 2.7Hz$, 1H), 7.27-7.28 (t, 1H), 7.35-7.39 (m, 1H), 10.07 (s, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃) δ 11.4, 14.2, 26.0, 26.6, 31.7, 34.7, 43.8, 53.3, 59.0, 65.34, 113.7, 118.0, 121.5, 122.4, 122.9, 125.3, 126.9, 127.6, 136.0, 138.6, 155.4, 165.0; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 452 M⁺ (1), 270 [M-182]⁺ (35), 225 [M-227]⁺ (35), 99 [M-353]⁺ (100), 56 [M-396]⁺ (18).



4-[3-(Dietilcarbamoilamino)fenil]-5metil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo (63)

El compuesto fue generado siguiendo la metodología general de síntesis de pirroles 2,3,4-trisustituidos (sección

7.2.3) a partir del alqueno **57** como un sólido amorfo de color blanco con p.f. 178-180°C, en rendimientos de 70%. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3378.0, 3203.7, 3151.8, 3041.4, 2976.8,2930.9, 2872.2, 1690.3, 1627.1, 1540.0, 1491.9, 1173.4, 1121.4, 1091.6, 790.7, 764.0; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 1.17 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.20 (t, J = 7.2Hz, 6H), 2.15 (s, 3H), 3.38 (c, J = 7.2Hz, 4H), 4.11 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.80 (s, 1H), 6.96 (td, J_O = 7.7Hz, J_m = 1.4Hz, 1H), 7.24 (t, J_O = 8.1Hz, 1H), 7.27-7.29 (t, 1H), 7.29 (d, J₍₁₋₂₎ = 3.3Hz, 1H), 7.38-7.41 (m, 1H), 10.24 (s, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃/DMSO) δ 11.3, 13.8, 14.1, 41.3, 58.9, 113.6, 118.0, 121.4, 122.3, 122.8, 125.1, 126.8, 127.5, 136.0, 138.5, 154.8, 164.9; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 343 M⁺ (92), 344 [M+1]⁺ (21), 345 [M+2]⁺ (3), 270 [M-73]⁺ (70), 225 [M-118]⁺ (83), 224 [M-119]⁺ (50), 197 [M-146]⁺ (18), 154 [M-189]⁺ (11), 100 [M-243]⁺ (100), 71 [M-272]⁺ (20), 72 [M-271]⁺ (50), 58 [M-285]⁺ (17), 29 [M-314]⁺ (20).

7.2.4. SÍNTESIS DE LOS PIRROLES N-ALQUILADOS.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz bola de 10mL de una sola boca provisto con agitación magnética y atmósfera de nitrógeno se disolvieron 0.1g (1eq) del pirrol 2,3,4-trisustituido de interés y 0.83eq del agente alquilante correspondiente (**68** ó **77**) en 1.7mL de DMSO anhidro. Una vez disueltos ambos sólidos, se añadieron lentamente 3eq de NaH y la mezcla se agitó por 15min; transcurrido este tiempo se añadieron otros 0.83eq del agente alquilante, se dejó agitar 15 min y, finalmente, se añadieron 0.83eq más del agente alquilante. La agitación se mantuvo toda la noche; al día siguiente la reacción fue monitoreada por ccf para verificar la consumación de toda la materia prima usando una mezcla Hx : AcOEt (4:6). Corroborado lo anterior, a la mezcla de reacción se le añadió un poco de agua destilada para destruir el NaH que quedó sin reaccionar. Posteriormente, se realizaron una serie de extracciones con CH₂Cl₂ : salmuera, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y el producto deseado se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice.



1-[2-(2-Bromo-4,5-dimetoxifenil)etil]-4-[3-[[4-(ciclohexilmetil)piperazinil-1carbonil]amino]fenil]-5-metilpirrol-3-carboxilato de etilo (69)

Este producto fue obtenido siguiendo la metodología general para la síntesis de pirroles *N*-alquilados (sección

7.2.4) a partir del pirrol **62** y el agente alquilante **68** como un sólido cristalino de color beige con p.f. de 78-80°C en 91% de rendimiento. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3367.1, 2924.1, 2848.7, 2808.1, 2771.4, 1697.5, 1647.7, 1530.9, 1510.4, 1256.3, 1226.9, 1163.4, 1133.8, 1035.5, 1001.2, 789.3, 754.6; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 0.82-0.93 (m, 2H), 1.16 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.14-1.25 (m,

4H), 1.42-1.56 (m, 1H), 1.69-1.79 (m, 4H), 1.97 (s, 3H), 2.14 (d, J = 7.2Hz, 2H), 2.41 (t, J = 4.8Hz, 4H), 3.08 (t, J = 7.2Hz, 2H), 3.48 (t, J = 4.8Hz, 4H), 3.73 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.05 (t, J = 6.9Hz, 2H), 4.11 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.37 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.91 (td, J_0 = 7.5Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.13 (t, J_m = 1.8Hz, 1H), 7.25 (t, J_0 = 8.1Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.35 (ddd, J_0 = 8.1Hz, J_m = 2.1Hz, J_m = 1.2Hz, 1H); *RMN***-¹³C** (75 MHz, CDCI₃) δ 10.2, 14.5, 26.3, 27.0, 32.0, 35.2, 38.1, 44.3, 47.2, 53.5, 56.2, 56.4, 59.4, 65.8, 113.4, 113.7, 114.3, 115.7, 118.3, 122.4, 123.1, 125.8, 126.0, 128.2, 128.2, 129.0, 136.3, 138.4, 148.7, 148.9, 155.3, 164.9; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 694 M⁺ (0), 434 [M-260]⁺ (15), 433 [M-261]⁺ (100), 387 [M-307]⁺ (13); 360 [M-334]⁺ (43), 345 [M-349]⁺ (10), 99 [M-595]⁺ (41), 18 [M-676]⁺ (20).



1-[2-(2-Bromo-4,5-dimetoxi-fenil)etil]-4-[3-(dietilcarbamoilamino)fenil]-5-metilpirrol-3-carboxilato de etilo (70)

Este compuesto fue generado siguiendo la metodología general de síntesis de pirroles *N*-alquilados (sección 7.2.4) a partir del pirrol **63** y el agente alquilante **68**, y fue obtenido como un sólido amorfo de color beige con p.f. de $64-66^{\circ}$ C en 91% rendimiento. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹)

3357.1, 2970.2, 2931.1, 2868.9, 1693.9, 1643.0, 1505.4,1441.7, 1255.9, 1218.9, 1161.8, 1032.4, 786.6, 753.9, 698.5, 596.2; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCI₃) δ 1.16 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.22 (t, J = 7.2Hz, 6H), 1.99 (s, 3H), 3.08 (t, J = 7.2Hz, 2H), 3.37 (c, J = 7.2Hz, 4), 3.74 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.05 (t, J = 7.2Hz, 2H), 4.11 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.29 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.90 (td, = 7.7Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.16 (t, J_m = 1.8Hz, 1H), 7.25 (t, J₀ = 8.1Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.38 (ddd, J₀ = 8.1Hz, J_m = 2.3Hz, J_m = 1.2Hz, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCI₃) δ 10.0, 14.0, 14.2, 37.8, 41.5, 46.9, 56.0, 56.2, 59.1, 113.3, 113.4, 114.0, 115.5, 118.0, 122.1, 122.9, 125.4, 125.7, 127.9, 128.0, 128.8, 136.1, 138.4, 148.5, 148.7, 154.6, 164.6; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 585 M⁺ (0), 584 [M-1]⁺ (2), 586 [M+1]⁺ (5),

506 [M-79]⁺ (35), 434 [M-151]⁺ (100), 433 [M-152]⁺ (75), 387 [M-198]⁺ (40), 360 [M-225]⁺ (40), 345 [M-240]⁺ (33), 231 [M-354]⁺ (21), 211 [M-374]⁺ (15), 100 [M-485]⁺ (13), 72 [M-513]⁺ (20), 58 [M-527]⁺ (17).



1-[2-(2-Bromo-4,5-dimetoxi-fenil)etil]-4-[3-(dietilcarbamoilamino)fenil]-5-metilpirrol-3-carboxilato de etilo (76)

Este producto fue obtenido siguiendo la metodología general de síntesis de pirroles *N*-alquilados (sección 7.2.4) a partir del pirrol **63** y el agente alquilante **75** como un sólido amorfo de color beige con p.f. de 76-78°C en 80% de rendimiento. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 2973.2,

2931.7, 2872.8, 2839.7, 1694.3, 1642.9, 1526.0, 1501.0, 1253.1, 1217.7, 1160.8, 1030.4, 784.3,754.5; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCI₃) δ 1.16 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.22 (t, J = 7.2Hz, 6H), 1.98 (s, 3H), 3.09 (t, J =7.2Hz, 2H), 3.37 (c, J = 7.2Hz, 4H), 3.73 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 4.03 (t, J = 6.9Hz, 2H), 4.12 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.27 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 6.90 (td, J₀ = 7.5Hz, J_m = 1.2Hz, 1H), 7.16 (t, J_m = 2.1Hz, 1H), 7.23 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.26 (t, J₀ = 7.8Hz, 1H), 7.39 (ddd, J₀ = 8.1Hz, J_m = 2.1Hz, J_m = 0.9Hz, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCI₃) δ 10.4, 14.2, 14.5, 41.8, 42.4, 47.4, 56.1, 56.4, 59.4, 88.0, 113.0, 113.6, 118.3, 121.8, 122.3, 123.1, 125.6, 126.0, 128.1, 128.3, 132.9, 136.4, 138.6, 148.8, 149.7, 154.9, 164.9; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 633 M⁺ (1), 506 [M-127]⁺ (11), 433 [M-200]⁺ (100), 387 [M-246]⁺ (20), 360 [M-273]⁺ (74), 345 [M-278]⁺ (21), 277 [M-356]⁺ (14), 164 [M-469]⁺ (12), 28 [M-605]⁺ (15).



4-(3-Aminofenil)-1-[2-(2-yodo-4,5-dimetoxifenil)etil]-5-metil-pirrol-3-carboxilato de etilo (79)

Este compuesto fue obtenido siguiendo la metodología general de síntesis de pirroles *N*-alquilados (sección 7.2.4) a partir del pirrol **78** y el agente alquilante **75** como un sólido amorfo de color beige de p.f. 58-60°C en rendimientos de 87%. **RMN-**¹*H* (300 MHz, CDCl₃) δ 1.17 (t,

J = 7.2Hz, 3H), 1.92 (s, 3H), 3.09 (t, 2H), 3.61 (s, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (t, J = 7.2Hz, 2H), 4.13 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.33 (s, 1H), 6.50-6.62 (m, 3H), 7.12 (t, $J_{O} = 7.6Hz$, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.27 (s, 1H).

7.2.5. SÍNTESIS DE LAS PIRROLO[2,1-a]ISOQUINOLINAS.

PROCEDIMIENTO GENERAL

En un matraz de 25mL de un sola boca perfectamente seco de 25mL provisto con una barra de agitación magnética se colocaron 0.1g (1eq) del pirrol *N*-alquilado en cuestión, 0.1eq de Pd(OAc)₂, 0.4eq de PPh₃ y 1.5eq de TBAI. Todos estos sólidos fueron disueltos en 5mL de DMF anhidro; posteriormente, se adicionaron 1.8eq de TEA, se adaptó un refrigerante y la mezcla se calentó en un baño de aceite bajo condiciones anhidras, siempre teniendo cuidado de que la temperatura estuviera entre 90 y 110°C. El tiempo de calentamiento dependió de cada compuesto y el avance de las reacciones se monitoreó por ccf usando una mezcla de Hx : AcOEt : TEA (50:30:20) como fase móvil. Una vez consumida la materia prima se detuvo el calentamiento, se dejó que el sistema se atemperara y se realizaron una serie de extracciones con AcOEt : salmuera, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró y el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice.



2-[3-(Dietilcarbamoilamino)fenil]-8,9-dimetoxi -5,6-dihidropirrolo [2,1-a]isoquinolina- 1-carboxilato de de etilo (11)

Este compuesto se obtuvo siguiendo la metodología general de síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas (sección

7.2.5) a partir del pirrol *N*-alquilado **76** como un sólido amorfo de color anaranjado con p.f. 86-88°C y rendimiento de 40%. *IR* (Pastilla-KBr) v_{max} (cm⁻¹) 3331.6, 2970.7, 2930.1, 1689.3, 1642.9, 1526.4, 1486.5, 1434.5, 1255.3, 1213.0, 1144.7, 1078.6, 886.9, 853.4, 787.4, 751.8, 698.3, 539.4, 450.0; *RMN-¹H* (300 MHz, CDCl₃) δ 0.94 (t, J = 7.2Hz, 3H), 1.23 (t, J = 7.2Hz, 6H), 2.19 (s, 3H), 2.98 (t, J = 6.9Hz, 2H), 3.38 (c, J = 7.2Hz, 4H), 3.91 (s, 3H), 3.91-3.92 (t, 2H), 3.92 (s, 3H), 4.04 (c, J = 7.2Hz, 2H), 6.28 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.93 (td, J₀ = 7.5Hz, J_m = 1.2, 1H), 7.12 (t, J_m = 1.8Hz, 1H), 7.27 (t, J₀ = 7.8Hz, 1H), 7.49 (ddd, J₀ = 8.1Hz, J_m = 2.1Hz, J_m = 0.9Hz, 1H), 7.97 (s, 1H); *RMN-¹³C* (75 MHz, CDCl₃) δ 10.5, 13.9, 14.2, 29.4, 41.4, 41.8, 56.1, 56.2, 60.1, 110.3, 110.5, 110.8, 117.8, 121.5, 123.6, 125.0, 125.4, 126.00, 128.4, 130.9, 137.3, 138.9, 139.1, 147.9, 148.1, 154.8, 167.3; *EM* (IE, 70eV) m/z (%) 505 M⁺ (7), 506 [M+1]⁺ (3), 432 [M-73]⁺ (100), 417 [M-88]⁺ (23), 387 [M-118]⁺ (13), 343 [M-162]⁺ (10), 277 [M-228]⁺ (22), 181 [M-324]⁺ (24), 97 [M-408]⁺ (47), 77 [M-428]⁺ (18), 28 [M-477]⁺ (91), 18 [M-487]⁺ (10).

7.2.6. ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Los ensayos de actividad citotóxica se realizaron en el Laboratorio de Pruebas de Actividad Biológica del Instituto de Química de la U.N.A.M., bajo el mismo criterio en metodología y tratamiento de datos utilizado por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos de América. Dicho procedimiento se describe a continuación.

Líneas celulares y medio de cultivo.

Se utilizan seis líneas celulares: cáncer de colon (HCT-15), cáncer de mama (MCF-7), leucemia (K-562 CML), sistema nervioso central (U-251 Glio), cáncer de próstata (PC-3) y adenocarcinoma de pulmón humano (SKLU-1). Las líneas celulares se cultivan en medio RPMI-1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino, 2mM de L-glutamina, 100 UI/mL de Penicilina G, 100 μ M de sulfato de estreptomicina, 0.25 μ g/mL de anfotericina B y 1% de aminoácidos no esenciales (Gibco). Para asegurar su viabilidad se mantienen en condiciones de humedad de 37% y atmósfera de CO₂ al 5% y se someten a la prueba con azul de tripán (conteo celular / hemocitómetro).

Ensayo citotóxico

La determinación de actividad citotóxica en los compuestos químicos a estudiar se determina utilizando el ensayo de unión a proteínas con el colorante sulforrodamina B (SRB). El procedimiento general se divide en dos fases (obtención del por ciento de inhibición y determinación del IC₅₀) y sigue estos pasos:

 En dos placas de microcultivo (A1y A2) de 96 pozos cada una, se colocaron por duplicado 100μL de cada línea celular correspondiente junto con un blanco (medio de crecimiento RPM-1640). La distribución de células se muestra en la figura 50.







Figura 50. Distribución de las celdas en las placas de microcultivo.

Una tercera placa (**B**) se utilizó como testigo (evaluación a tiempo cero) en la cual se colocaron los mismos volúmenes de cada línea celular, así como del blanco (medio de crecimiento RPMI-1640).

2. Las densidades celulares que se colocan en suspensión por pozo se indican en la tabla 7.

Línea celular	Células / 100µL		
MCF-7	5 000		
K-562	5 000		
U-251	7 500		
PC-3	7 500		
SKLU-1	7 500		
HCT-15	10 000		

Tabla 7. Densidades celulares por pozo línea celular.

- Teniendo las placas preparadas (A1, A2, B), se incuban a 37°C en atmósfera con 5% de CO₂ por 24h.
- 4. Pasado este tiempo, se adiciona a las placas A1 y A2 100μL de los compuestos químicos a evaluar, previamente disueltos en medio RPMI-1640 y DMSO al 0.1%, para después incubarlas por 48h a 37°C en atmósfera con 5% de CO₂. Por otra parte, a la placa B sólo se le añaden 100μL de medio de cultivo (RPMI-1640), incubándose en las mismas condiciones.
- Concluido el tiempo de incubación anterior, se procede a fijar las células neoplásicas; esto se logra adicionando una solución acuosa de ácido tricloroacético (TCA) al 50% (50μL/pozo) para después incubar las placas a 4°C por 60min.
- Los sobrenadantes resultantes se desechan, posteriormente las placas se lavan con agua destilada por triplicado y se dejan secar a temperatura ambiente.
- Al secarse las placas, las células se tratan adicionando 100μL de sulforrodamina B (SRB) al 4% durante 30min a temperatura ambiente. Aquí la SRB (colorante aniónico) se une a las proteínas de las células cancerosas, las cuales se fijaron previamente con TCA.
- Después, las placas se lavan por triplicado con una disolución de ácido acético al 1% y se dejan secar a temperatura ambiente.
- Se extrae el colorante, añadiendo 100μL de una solución 10mM de base Tris no amortiguada.
- 10. Se lee la densidad óptica (D.O.) de las muestras tratadas en un lector de microplacas Bio Kinetis a una longitud de onda de 515nm. Cabe mencionar que aquí, la intensidad del color es directamente al número de células vivas, de manera que a mayor coloración en los pozos, mayor cantidad de células vivas y, por lo tanto, menor porcentaje de inhibición del crecimiento celular.

POR CIENTO DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO CELULAR

El porcentaje de inhibición del crecimiento celular (%IC) se calculó para cada concentración y para cada línea celular utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\% IC = 100 - \left(\frac{B}{A} \times 100\right)$$

Donde:

- % IC = Porcentaje de inhibición del crecimiento.
- B = Densidad óptica real promedio de las células tratadas con el compuesto en estudio.
- A = Densidad óptica promedio de las células sin tratar.

Concentración inhibitoria 50 (IC50)

Para obtener el IC₅₀ de cada compuesto en las líneas celulares, se repiten los pasos 1-3 del procedimiento general, aplicando este ensayo únicamente a aquellos compuestos que hayan resultado con un valor mayor de 50 en %IC. Se utilizan el número de placas de microcultivo necesarias, siguiendo el ejemplo de distribución de la figura 51, así como las densidades celulares que se ilustran en la tabla 7. Posteriormente, se adiciona en cada pozo 100μ L de los compuestos químicos a evaluar, previamente disueltos en medio RPMI-1640 y DMSO al 0.1%, a concentraciones (dosis) de 3.1, 10, 31 y 100μ L, y se incuban a 37° C durante 48h y atmósfera con 5% de CO₂. (Figura 51). Posteriormente, se continúa con el proceso de fijación de las células descrito en los puntos 5-10 del procedimiento general.



Figura 51. Distribución de la placa de microcultivo para determinar IC₅₀.

Con los datos de IC_{50} se construyeron curvas de concentración-respuesta, donde los valores de las dosis y %IC fueron las respectivas variables *x* y *y*. El valor de IC_{50} se obtiene a partir de la ecuación de regresión lineal (y=mx+b).



Figura 52. Gráfica de respuesta como función de la concentración.

Un caso ideal consiste en un fármaco que posea selectividad hacia una línea celular y además posea un valor pequeño de IC₅₀.