



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE REACCIONES DE 2-ACIL-3-
FERROCENIL ACRILATOS DE ETILO CON
SULFATO DE GUANIDINA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA:

JESSICA JAZMÍN SÁNCHEZ GARCÍA



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:	M. en C. JOSE MANUEL MÉNDEZ STIVALET
VOCAL:	Dra. ELENA IVANOVNA KLIMOVA
SECRETARIO:	Dr. EDUARDO ARTURO VÁZQUEZ LÓPEZ
1er. SUPLENTE:	M. en C. CRISTINA DEL CARMEN JIMÉNEZ CURIEL
2° SUPLENTE:	Dr. ALEJANDRO CORDERO VARGAS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 203, DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGÁNICA DE LA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE
QUÍMICA, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. ELENA IVANOVNA KLIMOVA

SUSTENTANTE:

JESSICA JAZMÍN SÁNCHEZ GARCÍA

AGRADECIMIENTOS:

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Particularmente a la **Facultad de Química.**

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT Proyecto 100970

Por la beca otorgada

A la DGPA –PAPITT IN 211112 y al CONACyT Proyecto 100970

Por el apoyo otorgado al proyecto de Investigación.

A los miembros del H. Jurado.

Por sus valiosas aportaciones para la mejora de este trabajo.

A los Técnicos de IR, EM, Rayos X y Pruebas Biológicas.

A la Dra. Elena I. Klimova

Por aceptarme en su investigación, por su orientación, consejos, confianza, paciencia y el apoyo permanente para la realización de este trabajo de investigación, un doble

GRACIAS.

Un especial agradecimiento la Q.B.P.Olga M. Vázquez por la oportunidad que me brindo.

A mi madre, a mi familia por todo el apoyo mostrado de forma incondicional.

A mis amigos y compañeros durante la formación Universitaria.



ÍNDICE

	ABREVIATURAS	X
1.	INTRODUCCIÓN	01
2.	ANTECEDENTES	02
	2.1 Reacciones orgánicas	02
	• Condensación aldólica	03
	• Condensación aldólica en medio básico	04
	• Condensación aldólica en medio ácido	05
	• Condensación de Knoevenagel	06
	2.2 Pirimidinas	08
	• Síntesis de Pirimidinas	08
	• Actividad Biológica de Pirimidinas	10
	2.3 Ferroceno Generalidades	12
	• Propiedades Químicas del ferroceno	12
	• Heterociclos de seis miembros con sustituyentes ferrocenílicos	14
	• Aplicaciones del ferroceno	19
	• Actividad Biológica de compuestos ferrocenílicos	20
	• El ferroceno y cáncer	22
	• Mecanismo del ferroceno en el tratamiento del cáncer	23
	2.4. Métodos para evaluar la actividad biológica	26
	• Modelo inducido de inflamación por TPA	26
	• Viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón	27
	• Ensayo de citotoxicidad <i>in vitro</i>	28
3.	JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	30
4.	OBJETIVOS	31
5.	HIPÓTESIS	32
6.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	33



6.1 Síntesis de compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos	34
6.2 Reacción de compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos con polinucleófilos	35
• Mecanismo de formación en la síntesis de ferrocenilpirimidinas	38
6.3 Reacción de deshidrogenación oxidativa de ferrocenildihidropirimidinas	41
• Mecanismo de deshidrogenación oxidativa	44
6.4. Estudio de actividad Biológica	45
• Modelo de edema inducido por TPA	45
• Viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón	46
• Citotoxicidad en líneas celulares humanas	46
7. SECCIÓN EXPERIMENTAL	48
7.1. Técnicas de caracterización	48
• Materiales y reactivos	49
• Síntesis de materias primas	49
7.2 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo	50
7.3 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con benzoilacetato de etilo	51
7.4 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con <i>p</i> -nitrobenzoilacetato de etilo	52
7.5 Reacciones de 2-ferrocenilacrilatos de etilo con guanidina	53
7.6 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil, 4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo	54
7.7 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-benzoil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo	55
7.8 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo	56
7.9 Síntesis de ferrocenilpirimidinas	57
• Reacción de ferrocenildihidropirimidinas con diacetoxi yodobenceno	58
7.10 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo	59



7.11 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-benzoilpirimidina-5-carboxilato de etilo	60
7.12 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil) pirimidina-5-carboxilato de etilo	61
7.13 Actividad Biológica	61
7.14 Método en vivo: Modelo de Edema Inducido por TPA	61
7.15 Ensayo de viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón	63
7.16 Ensayo de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano	66
14.5. Determinación de la Concentración inhibitoria media máxima IC ₅₀	68
VIII. CONCLUSIONES	70
IX. ANEXOS	X



A B R E V I A T U R A S

Å	Ángstrom
AINES	Antiinflamatorio no esteroideo
ATP	Adenosintrifosfato
ATPasa	Enzima reductora de ATP
Ar	Arilo
c	Cuadruplete
°C	Grados Centígrados
C _{ipso}	Carbono <i>ipso</i>
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
Cp	Ciclopentadienilo(s)
IC ₅₀	Concentración de inhibición del 50% de la población
COX	Ciclo-oxigenasa
d	Doblete
DMSO	Dimetil sulfóxido
EM EI ⁺	Espectometría de masas por impacto electrónico
FAB ⁺	Modo de ionización por bombardeo rápido de átomos
Fc	Ferroceno
Fe	Hierro
FNT-α	Factor de Necrosis Tumoral
FTIR	Infrarrojo de Transformada de Fourier
LPMN	Leucocito polimorfonuclear
Hz	Hertz
IE ⁺	Modo de ionización por impacto electrónico
IR	Infrarrojo
J	Constante de Acoplamiento
M	Concentración molar (mol/l)
m	Multiplete
M ⁺	Ión molecular
MHz	Mega Hertz
Me	Metilo



mL	Mililitro
mmol	Milimol
m/z	Masa por unidad de carga
nm	Nanómetro
pf	Punto de fusión
RMN ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
ppm	Partes por millón
s	Señal de singulete
t	Señal de triplete
UV-vis	Ultravioleta visible
δ	Desplazamiento químico en ppm
λ	Longitud de Onda en nm
γ	Número de onda en cm^{-1}



ESPECTROS

Espectro 1	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 2a
Espectro 2	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 2b
Espectro 3	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 2c
Espectro 4	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 2d
Espectro 5	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de 4a
Espectro 6	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) de 4a
Espectro 7	Espectro de EM (FAB^+) de 4a
Espectro 8	Espectro IR (KBr) de 4a
Espectro 9	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de 4b
Espectro 10	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) de 4c
Espectro 11	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 5a
Espectro 12	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 5a
Espectro 13	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 5b
Espectro 14	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de 5b
Espectro 15	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de 5c



ESQUEMAS

- | | |
|-------------------|--|
| Esquema 1 | Condensaciòn Aldòlica en medio básico |
| Esquema 2 | Condensaciòn Aldòlica en medio àcido |
| Esquema 3 | Condensaciòn de Knoevenagel |
| Esquema 4 | Mecanismo de Hann-Lapword usando aminas terciarias como catalizador |
| Esquema 5 | Mecanismo empleando como catalizador aminas primarias o secundarias |
| Esquema 6 | Variaciones a la síntesis de Pinner. |
| Esquema 7 | Síntesis de Beredek |
| Esquema 8 | Síntesis Remfry-Hull |
| Esquema 9 | Mecanismo general de la sustitución electrofílica aromática. |
| Esquema 10 | Formación y estructura de carbocationes α -ferrocenilicos |
| Esquema 11 | Obtención de 3-acil-6-ferrocenilpiridinas |
| Esquema 12 | Obtención de 2-ferrocenilpiridinas |
| Esquema 13 | Obtención de ferrocenilpiridinas |
| Esquema 14 | Obtención de cianoferrocenilpiridinas |
| Esquema 15 | Obtención de dimetilferrocenilpiridinas |
| Esquema 16 | Obtención de pirimidinas ferrocenilicas |
| Esquema 17 | Obtención de 2-amino-6-(tiofen-2-il) 4-ferrocenilpirimidinas. |
| Esquema 18 | Obtención de 2-amino-4-aril-6-ferrocenil pirimidinas |
| Esquema 19 | Obtención de 1-aril-2-arilimino-4,5 y 5,6-diferrocenil-1-2-dihidropirimidinas |
| Esquema 20 | Reacciones de complejos del ferroceno implicados en procesos biológicos |
| Esquema 21 | Mecanismo de ferrocifens con metinquinona |
| Esquema 22 | Reducción metabólica del MTT a sales de formazan |
| Esquema 23 | Síntesis de los compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos con <i>poli</i> -nucleófilos |
| Esquema 24 | Síntesis de compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos |
| Esquema 25 | Preparación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo |
| Esquema 26 | Mecanismo para la formación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo 4a – c |
| Esquema 27 | Reacción de 2-amino-6-ferrocenilpirimidinas-5-carboxilatos de etilo con diacetóxi yodobenceno |
| Esquema 28 | Mecanismo de formación de 2-amino-6-ferrocenilpirimidine-5-carboxilato de etilo |
| Esquema 29 | Mecanismo de reacción redox de la ferrocenil dihidropirimidina |
| Esquema 30 | Condensaciòn de ferrocenilcarbaldehido con acetoacetato de etilo |
| Esquema 31 | Condensaciòn de ferrocenilcarbaldehido con benzoilacetato de etilo |
| Esquema 32 | Condensaciòn de ferrocenilcarbaldehico con <i>p</i> -nitrobenzoil acetato de etilo |



FIGURAS

Figura 1	Acidez de los hidrógenos “ α ”.
Figura 2	Estructura de algunas pirimidinas naturales
Figura 3	Antimetabolitos de ácidos nucleicos
Figura 4	Estructura del ferroceno (FcH).
Figura 5	Derivado ferrocenilico de la cloroquina (Ferroquina)
Figura 6	Tamoxifeno y Ferrocifens
Figura 7	Estructura de TPA
Figura 8	Estructura de la Sulforrodamina B (SRB)
Figura 9	<i>Z</i> -2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo
Figura 10	<i>E</i> -2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo
Figura 11	<i>E</i> -2-benzoil-3-ferrocenil-2-acrilato de etilo
Figura 12	<i>E</i> -2-(<i>p</i> -nitrobenzoil)-3-ferrocenil-2-acrilato de etilo
Figura 13	2-amino-6-ferrocenil,4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo
Figura 14	2-amino-6-ferrocenil-4-fenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo
Figura 15	2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo
Figura 16	2-amino-6-ferrocenil-4-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo
Figura 17	2-amino-6-ferrocenil-4-benzoilpirimidina-5-carboxilato de etilo
Figura 18	2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil) pirimidina-5-carboxilato de etilo



TABLAS

Tabla 1	Señales de RMN ^1H para las ferrocenildihidropirimidinas
Tabla 2	Señales de RMN ^{13}C para las ferrocenildihidropirimidinas
Tabla 3	Longitudes de enlace y ángulos de enlace del compuesto 4a
Tabla 4	Datos y parámetros de la estructura de cristalina del compuesto 4a
Tabla 5	Señales de RMN ^1H para las ferrocenilpirimidinas
Tabla 6	Señales de RMN ^{13}C para las ferrocenilpirimidinas
Tabla 7	Inhibición de edema en oreja de ratón de 4a-c de 50 Mm
Tabla 8	Viabilidad celular realizada en macrófagos peritoneales (MØ)
Tabla 9	Inhibición del crecimiento celular de cáncer humano 4a-c y 5a-c
Tabla 10	Determinación de la concentración inhibitoria media máxima IC ₅₀



1. INTRODUCCIÓN:

Los compuestos heterocíclicos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estos desempeñan un papel primordial en muchos de los procesos biológicos y son esenciales para la vida. Entre sus principales aplicaciones se encuentran como intermediarios en los procesos industriales, son empleados como fármacos y en productos veterinarios o agroquímicos.¹

Las moléculas que contienen heterociclos nitrogenados se encuentran en muchos productos naturales y en otros compuestos bioactivos vitales. Esas estructuras representan una clase de moléculas que actúan como ligandos de diferentes receptores biológicos con un alto grado de afinidad de enlace.² La síntesis de derivados de la pirimidinas se llevan a cabo principalmente por el acoplamiento de los compuestos 1,3-dicarbonílicos con *gem*-diamino (o *gem*-amino-imino) compuestos como urea, guanidinas o derivados de amidinas.³

Por otra parte el ferroceno y sus derivados han jugado un papel importante en el progreso de la química de los complejos- π de los metales de transición.⁴ Tales compuestos han atraído la atención de muchos investigadores y en los últimos años la unión del ferroceno a diferentes sistemas se ha desarrollado rápidamente, en diferentes áreas de investigación como la biología, medicina y biotecnología.⁵ El interés principal en este tipo de sistemas es debido a las propiedades especiales y a veces inesperadas que presentan tales sistemas y que son atribuidas a la presencia del fragmento ferrocenílico dentro de la molécula. Ya que por lo general, mejora la actividad biológica de los compuestos y en los ensayos de monitoreo han demostrado tener actividad antineoplásica.⁶

En base a esto, surge el interés por sintetizar nuevos compuestos de ferrocenil pirimidinas, las cuales podrían presentar actividad farmacológica importante, como agentes antitumorales.

¹ Katritzky A.R., Ress, C.W., *Scriven Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Eds. Elsevier Oxford, (1996).

² Turk A., Plé N., Mongin., Queguiner G., *Tetrahedron*, 57 (2001) 4489.

³ Schvekhgeimer M.G., *Russ. Chem. Rev.*, 65 (1996) 80.

⁴ Togni A., Hayashi T., *Ferrocenes*, VCH Weinmen, (1995).

⁵ Van Staveren D. R., Metzler-Nolte N., *Chem Rev.*, 104 (2004) 5931.

⁶ Mohammad F.R., Fouda, Mokhles, Abad-Elzاهر, *Appl. Organomet Chem.*, 21 (2007) 613.



2. ANTECEDENTES

2.1 REACCIONES ORGÁNICAS:

Las reacciones orgánicas son reacciones químicas de formación y transformación de compuestos, principalmente con la participación de compuestos orgánicos. Estas pueden ser concertadas o no concertadas.

La principal clasificación de las reacciones orgánicas se basan en el mecanismo de reacción donde se toman en cuenta la naturaleza de reactivos e intermediarios con la destrucción y formación de enlaces. Se conocen principalmente las reacciones electrofílicas (participación de aceptores del par electrónico) y nucleofílicas (donadores de pares electrónicos).⁷

Los tipos básicos de reacciones químicas orgánicas son sustitución, adición, eliminación, redox e inserción.⁸

En las *reacciones de sustitución* un átomo o grupo de átomos de una molécula es intercambiado por un átomo o grupo de átomos que provienen de otra molécula.

En las *reacciones de adición* se llevan a cabo cuando dos o más moléculas se unen para formar un solo producto, en las moléculas que tienen dobles o triples enlaces se rompen posibilitando así la adición a la molécula de un átomo o grupo de átomos.

En las *reacciones de eliminación* dos átomos o grupos de átomos se remueven de una molécula, esta eliminación permite la formación de dobles o triples enlaces.

En las *reacciones orgánicas de oxidación-reducción (redox)* están involucrados los procesos de incremento (oxidación) o disminución (reducción) del número de enlaces del átomo que sufre la reacción.

En las *reacciones inserción* se lleva a cabo cuando un intermediario reactivo como un carbeno se inserta en una molécula, dando a la formación de una nueva molécula

⁷ Garnovskii A.D., *Ciencia AUNL.*, Vol VI, 2 (2003) 177

⁸ Barton D., Ollins W.D., *Comprehensive Organic Chemistry*, Ed. Pergamon Press Oxford, (1979).



En las **reacciones de condensación** son un tipo de reacciones donde se combinan reacciones de adición y eliminación. En particular la condensación aldólica, se lleva a cabo cuando se adiciona un compuesto nucleófilico a un enlace π , en donde primero se obtiene un alcohol como producto de adición, el cual por deshidratación da lugar a un producto de condensación que suele denominarse como compuesto carbonílico α,β -insaturado.

Existen diferentes tipos de reacciones de condensación entre las que se encuentran además de la aldólica, la de Claisen, Perkin, Knoevenagel, la anillación de Robinson, entre otras.

Condensación Aldólica.

Se lleva a cabo por la adición de un carbono en la posición “ α ” de un aldehído o cetona al grupo carbonilo de una segunda molécula. El producto resultante que se denomina aldol se suele deshidratar originando un compuesto carbonílico α, β -insaturado. Las reacciones de condensación se puede llevar a cabo en medio ácido o básico. El fundamento químico de esta reacción es que hay una parte electrófila (enlaces $C=O$) y una parte nucleófila (los hidrógenos “ α ” que están ubicados en los átomos de carbono adyacentes al grupo carbonilo y estos tienen diferente acidez) Figura 1.⁹

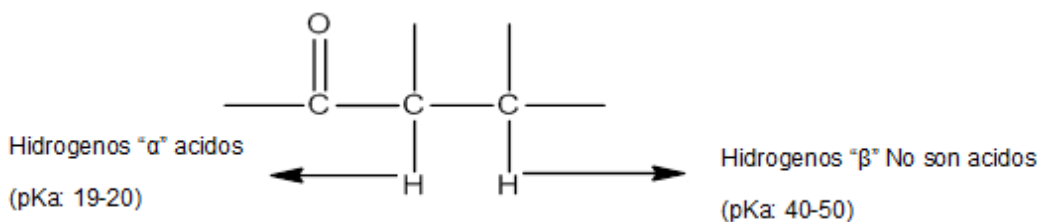


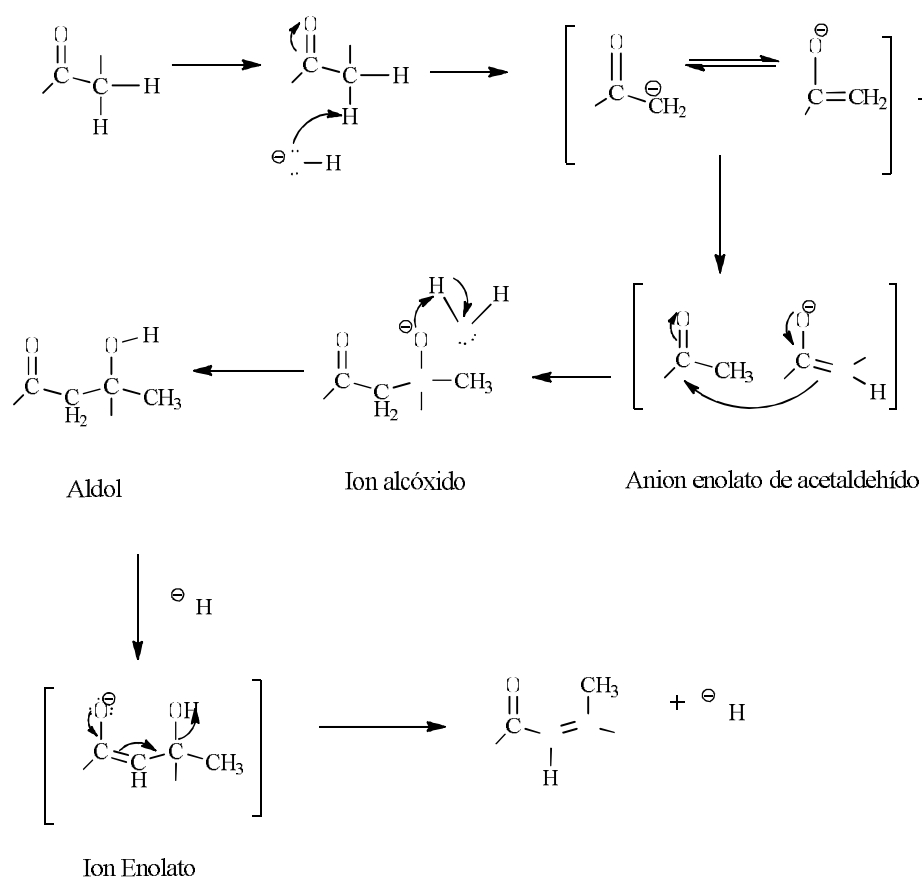
Figura 1. Acidez de los hidrógenos “ α ”

⁹Volhard K. Peter, *Química Orgánica, Estructura y Función*, 3ª Edición. Edit. Omega, Barcelona, 18 (2000)



Condensación aldólica en medio básico

Se forma el enolato por sustracción del hidrogeno en la posición “ α ”, posteriormente el ión enolato ataca al grupo carbonilo de otra molécula, generando un nuevo ión alcóxido el cual se protona para dar lugar a la formación de un aldol, seguida de una deshidratación del aldol para formar el compuesto α, β -insaturado. El mecanismo de esta última etapa transcurre a través de la eliminación de ión hidróxido formando el producto final (Esquema 1).¹⁰



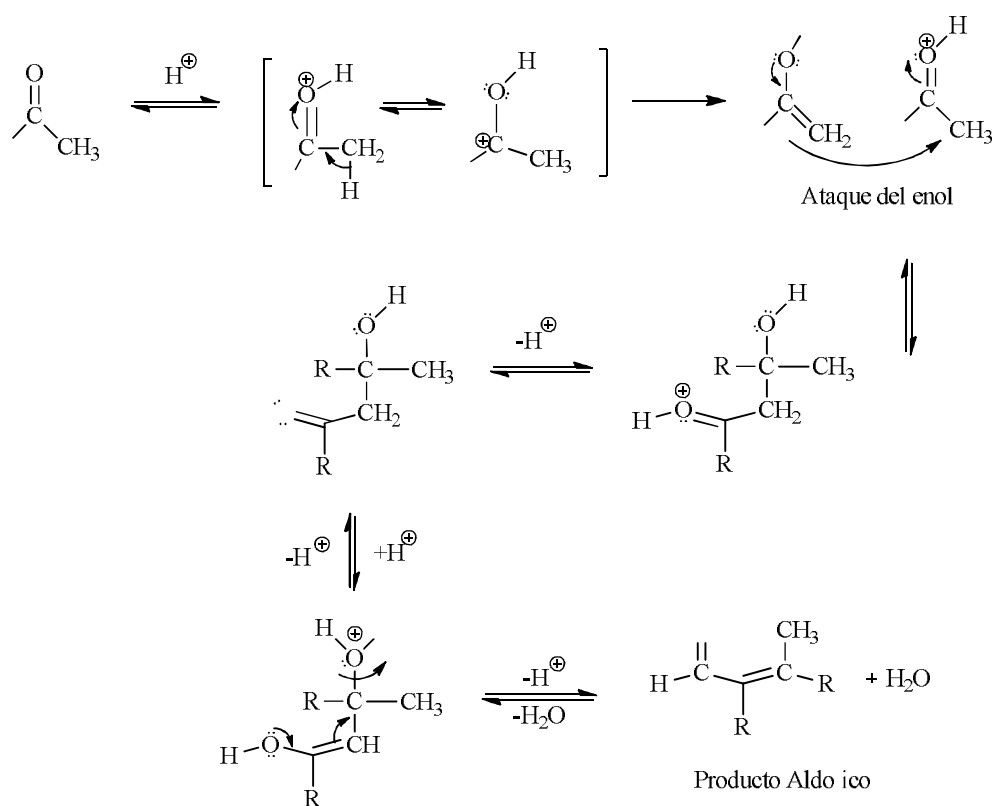
Esquema 1. Condensación Aldólica en medio básico.

¹⁰ McMurry, *Química Orgánica*, 7ª Edición, Edit. Thompson International, México, (2008) 937.



Condensación aldólica en medio ácido

La condensación aldólica en medio ácido (Esquema 2) se inicia con la formación de un enol, el cual sirve como un nucleófilo suave para atacar al grupo del carbonilo activado (protonado de otra molécula). Finalmente, el nuevo enol se protona y deshidrata para conseguir la formación del compuesto α, β -insaturado.¹¹



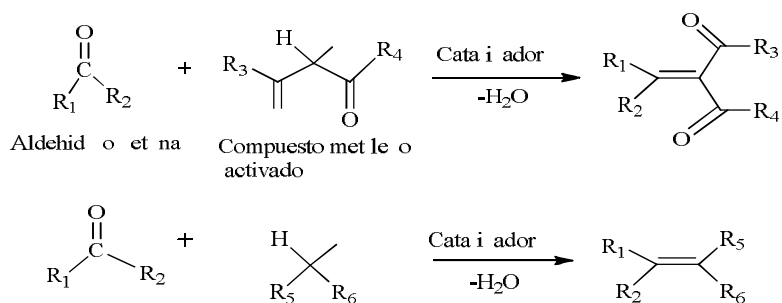
Esquema 2. Condensación Aldólica en medio ácido.

¹¹ Solomons, T.W.G., *Organic Chemistry*, 9ª Edición, Edit. Wiley, USA, (2008) 732.



Condensación de Knoevenagel

Es una reacción de condensación carbonílica donde intervienen los enlaces metílenos activos de compuestos β-dicarbonílicos con aldehídos o cetonas en presencia de bases débiles para generar un producto α,β-insaturado¹². El mecanismo de reacción depende de los tipos de sustratos y catalizadores empleados.



$\text{R}_1=\text{H}$, alquilo, arilo. $\text{R}_2=\text{H}$, alquilo, arilo. $\text{R}_3, \text{R}_4=\text{alquilo, arilo, H, O-alquilo, NH-alquilo, NH-arilo, N-dialquilo,}$

$\text{R}_5, \text{R}_6=\text{CO}_2\text{H}, \text{CO}_2\text{-alquilo}, \text{CO}_2\text{-arilo}, \text{C(O)NH-alquilo}, \text{C(O)NH-arilo}, \text{C(O)N-dialquilo}, \text{C(O)N-diarilo}, \text{C(O)-Iquilo}, \text{C(O)-arilo}, \text{CN}, \text{C}=\text{NR}_2, \text{PO(OR)}_2, \text{SO}_2\text{OR}, \text{SO}_2\text{NR}_2, \text{SO}_2\text{R}, \text{SOR}.$

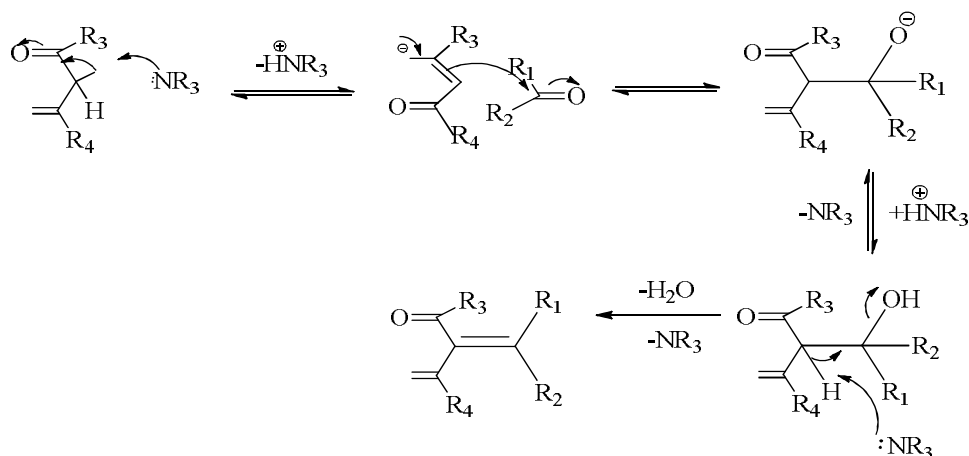
Catalizadores: aminas (1°, 2°, 3°), R_3NHX tal que $[\text{H}_3\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3](\text{OAc})_2$, acetato de piperidinio / $\text{Ac-H}_2\text{NH}_4\text{OAc}$, KF , CsF , RbF , $\text{TiCl}_4\text{R}_3\text{N}$ (modificación de Lehnert), piridina/piperidina (modificación de Doebner), alumina (modificación de F. ucaud), $\text{AlPO}_4/\text{AlO}_3$.

Esquema 3. Condensación de Knoevenagel

¹² McMurry John, *Química Orgánica*, 7ª Edición, Edit. Cengage Learning, (2008) 913.

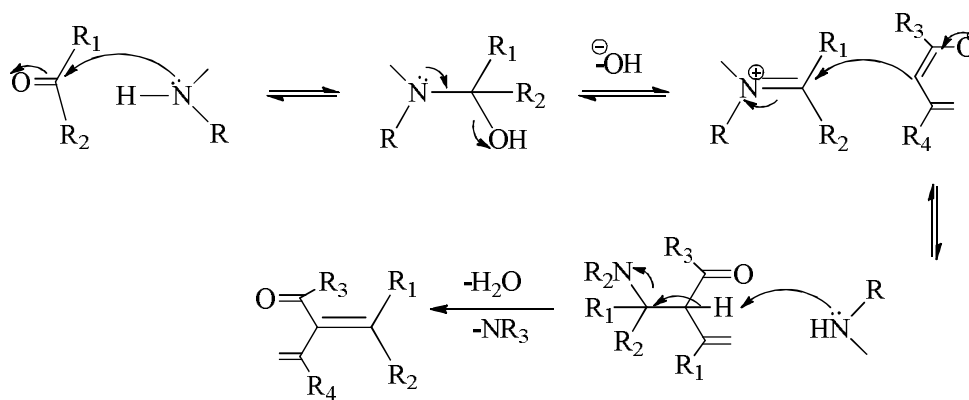


En 1904 Hann y Lapworth propusieron un mecanismo empleando como catalizadores a aminas terciarias, donde se lleva la formación de un intermediario β -hidroxicarbonílico, seguido de una deshidratación con la obtención del producto final (Esquema 4).



Esquema 4. Mecanismo de Hann-Lapword usando como catalizador a aminas terciarias

Un segundo mecanismo propuesto en la condensación de Knoevenagel, se realiza utilizando como catalizadores aminas primarias o secundarias. El aldehído y la amina se condensan para formar la sal de iminio, para la formación del ión enolato y finalmente con la obtención de compuestos dicarbonílicos α,β -insaturados (Esquema 5).¹³



Esquema 5. Mecanismo en donde se utilizan como catalizador aminas primarias o secundarias

¹³ Laszlo Kurti, Barbara Czako, *Strategic Application of Named Reactions in Organic Synthesis, Background and Detailed Mechanisms*, Edit.Elsevier (2005) 240.



2.2 PIRIMIDINAS.

La pirimidina es un heterociclo aromático que contiene dos átomos de nitrógeno en las posiciones 1 y 3 del anillo de 6 miembros, difícilmente puede sufrir sustitución electrofílica aromática debido a que los átomos de nitrógeno en el anillo aumentan la deslocalización de los electrones π y la hacen menos energética, pero puede sufrir fácilmente sustitución nucleofílica aromática.¹⁴

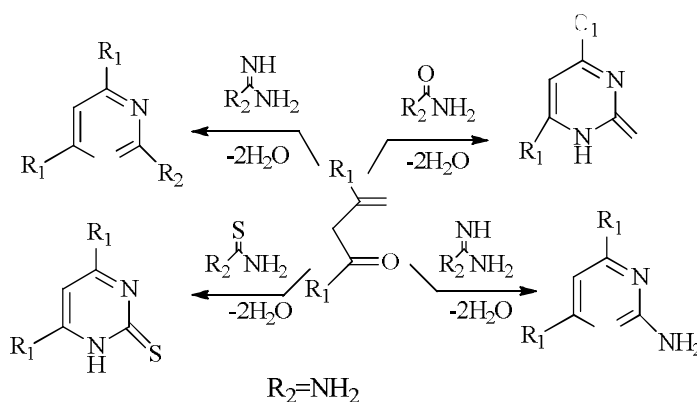
Síntesis de Pirimidinas.

Para la síntesis de pirimidinas se conocen tres métodos los cuales son:

Método “A”. Condensación de una unidad con tres átomos de carbono a una especie que tenga el enlace N-C-N.

La unidad de tres átomos de carbono puede ser un β -dialdehído, un β -cetoéster, un éster malónico, un β -cetoaldehído, un β -cetonitrilo o cualquier otra combinación de estos dos grupos funcionales. La unidad que contiene nitrógeno puede ser una tiourea, amidina, urea o guanidina.¹⁵

Un ejemplo de este método es la síntesis de Pinner.¹⁶



Esquema 6. Variaciones a la síntesis de Pinner.

¹⁴ Gilchrist, Thomas Lonsdale G., *Heterocyclic Chemistry*, Edit. Longman TL, Nueva York (1997).

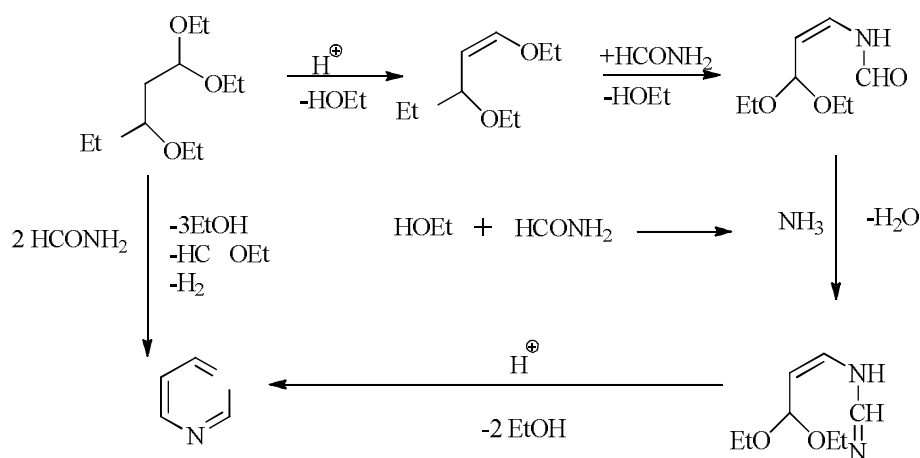
¹⁵ Paquette Leo A., *Fundamentos de Química Heterocíclica*, Edit. Limusa (1999) 310.

¹⁶ Moorty S., Erdman Paul, Mannig Mark, Bennett Brydon, *J. Med. Chem.*, 43 (2000) 3995.



Método “B”. Se emplea para obtener pirimidinas sustituidas en posición 2, se lleva a cabo mediante la condensación de la formamida con compuestos β -dicarbonílicos o con sus precursores a temperaturas elevadas.

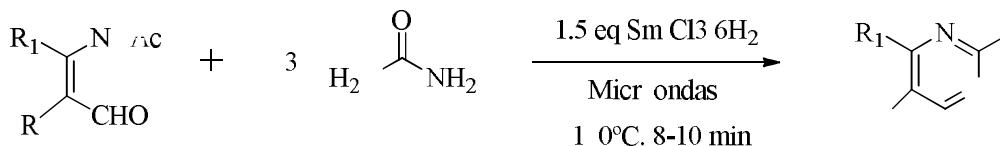
Como ejemplo de este método tenemos la síntesis de Berereck, en la cual se condensa el 1,1,3,3-tetraetoxipropano con formamida en fase gaseosa a 210 °C.¹⁷



Esquema 7. Síntesis de Beredeck.

Método “C”. Consiste en la adición de un fragmento C-N a una molécula que contenga la secuencia de C-C-C-N.

Como ejemplo de este método de síntesis de pirimidina a partir de β -formil enamida utilizando urea como fuente de amoniaco, empleando como catalizador cloruro de samario, radiación de microondas (Esquema 8).¹⁸



Esquema 8.

¹⁷ Bredereck H., Gompper L.R., Herlinger H., *Chem. Ber.*, 91 (1958) 2832.

¹⁸ Barthakur M.G., Borthakur M., Devi P., Saikia A., *Synlett.*, (2007) 223.



Actividad Biológica de Pirimidinas

Entre los compuestos naturales que tienen en su estructura la pirimidina encontramos al uracilo, la timina y la citosina, que son constituyentes de los ácidos nucleicos, también al ácido orótico que es un intermediario en la biosíntesis de muchas pirimidinas existentes en la naturaleza y es empleado como fármaco en el tratamiento de desórdenes metabólicos. El sistema anular de pirimidina se encuentra en vitaminas, un ejemplo es la tiamina conocida como vitamina B1. Algunas pirimidinas naturales son antibióticos como la bacimetrina, que es activa contra bacterias y levaduras. El alcaloide vasicina posee actividad broncodilatadora.

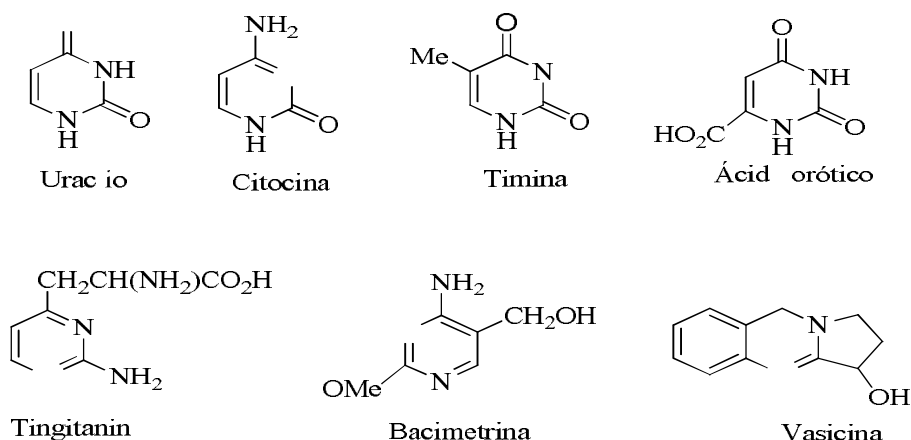


Figura 2. Estructura de algunas pirimidinas naturales.

Debido al papel esencial que desempeñan los ácidos nucleicos como metabolitos, en los procesos de la división celular, el diseño de antimetabolitos es un tema de gran interés en la síntesis de nuevos fármacos, ya que estos se pueden emplear terapéuticamente como agentes antineoplásicos o antivíricos.

El 5-fluorouracilo es un inhibidor de la enzima timidilato sintetasa, responsable de la biosíntesis del ácido timidílico que inhibe de la duplicación celular. Este compuesto se utiliza terapéuticamente como agente antitumoral, especialmente para combatir tumores de mama, colon y recto.



A partir de los principios moleculares que inspiraron a la síntesis del 5-fluorouracilo se diseñaron diversos nucleosidos análogos de las pirimidinas, algunos con utilidad como antivíricos. La 5-bromodesoxiurina, la 5-yododesoxiuridina y la 5'-amino-5-yododesoxiuridina son algunos de los más representativos.

La 5-fluorocitocina se diseñó inicialmente como agente antileucémico, y se le ha encontrado una mayor aplicación como agente antifúngico.

La gemcitabina es un nucleosido derivado de la citosina y de la 2,2-difluorodesoxirribosa. Es un compuesto con aplicación como agente antitumoral, ya que el derivado trifosforilado en posición 5' es un antimetabolito de la biosíntesis de ADN (Figura 3).¹⁹

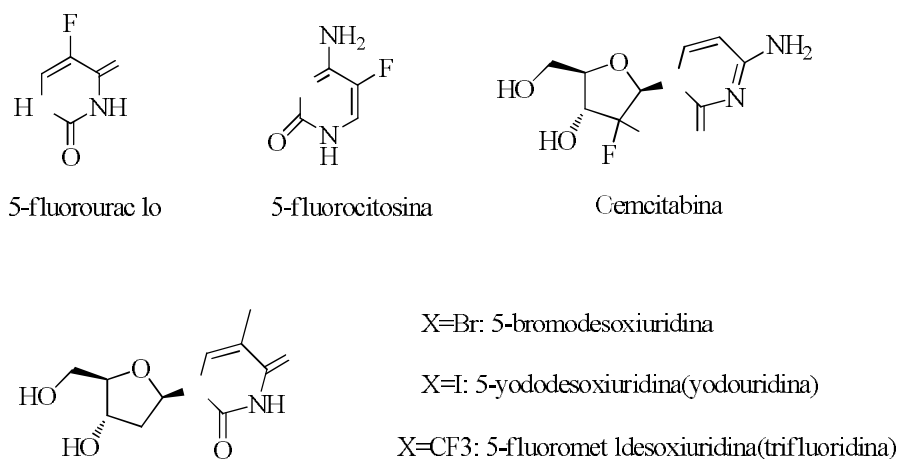


Figura 3. Antimetabolitos de ácidos nucleicos

¹⁹ Delgado A., Minguillon C., Joglar, J. *Introducción a la Química Terapéutica*, 2ª Edición, Edit. Díaz Santos, Madrid, 29 (2003) 497.



2.3 GENERALIDADES DEL FERROCENO

El bis(η^5 -ciclopentadienil)hierro(II) conocido como ferroceno, se dio a conocer por primera vez en la revista *Nature* el 15 de diciembre de 1951, cuyos autores fueron Kealy y Pauson²⁰ y de forma independiente en Febrero de 1952 fueron publicados en la revista *J. Chemical Society* por Miller, Tebboth y Tremaine.²¹ La estructura del ferroceno fue identificada por Wilkinson²² y por Pfab²³ en 1952 donde se determinó que el enlace entre el átomo metálico y los ciclopentadienilos ocurre de tal manera que todos los átomos de carbono de los ciclos, participan en la interacción con el átomo metálico, donde el Fe^{2+} interacciona con los electrones de los orbitales π de los ciclopentadienilos que se localizan por arriba y por abajo, proponiendo la estructura de la Figura 4, la cual fue confirmada mediante difracción de rayos X.²⁴

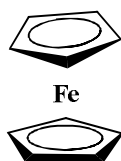


Figura 4. Estructura del ferroceno (FcH).

Propiedades Químicas del ferroceno:

El ferroceno es un sólido de color rojo con un punto de fusión de 173°C , sublima a 100°C , es soluble en alcohol, éter etílico y benceno, e insoluble en agua.

El átomo de hierro se considera como $\text{Fe}(\text{II})$ se puede oxidar con diversos métodos como son: electroquímicamente, fotoquímicamente y por agentes oxidantes entre los que se encuentran HNO_3 , FeCl_3 , I_2 , Ag^+ y *N*-bromosuccinamida. El producto de la oxidación es el

²⁰ Kealy T.J., Pauson P.L., *Nature*, 168 (1951) 1039.

²¹ Miller S.A., Tebboth J.A., Tremaine J.F., *J.Chem.Soc.*, (1952) 632.

²² Wilkinson G., Rosenblum M., Whiting M., Woodward R., *J.Amer.Chem.Soc.*, 74 (1952) 2125.

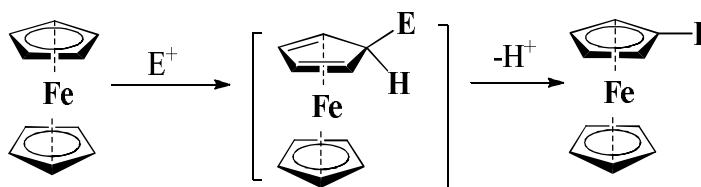
²³ Fischer, Pfab O., *Naturforsch*, B7 (1952) 378.

²⁴ Woodward R., Rosenblum M., Whiting M., *J.Amer.Chem Soc.* 74 (1952) 3458.



ión ferrícínio que es soluble en agua y de color azul-verde, este proceso de oxidación del ferroceno al ión ferrícínio es reversible.²⁵

Los anillos ciclopentadienilos en el ferroceno son de carácter aromático, por ello tienen la propiedad de sufrir con facilidad reacciones de sustitución electrofílica aromática (Esquema 9) produciéndose 1×10^6 veces más rápido que en el benceno.²⁶ La acidez de los protones anulares es mayor que la del benceno²⁷ y a diferencia de este puede experimentar su pérdida con gran facilidad lo que se puede usar en reacciones de metalación que proporcionan intermediarios interesantes en la síntesis de gran variedad de derivados.



Esquema 9: Mecanismo general de la sustitución electrofílica aromática.

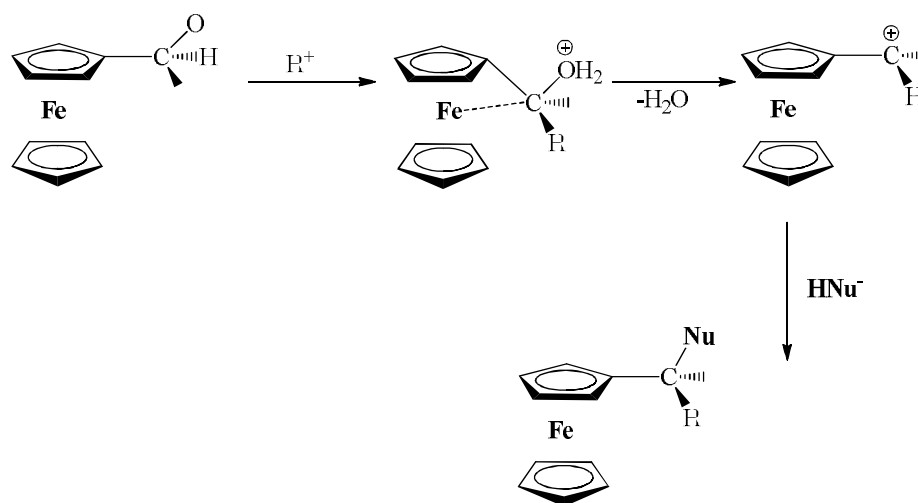
Un aspecto importante en la estructura del ferroceno es su habilidad para estabilizar carbocationes en posición “ α ”. La estabilización se da por la participación directa del átomo de hierro en la deslocalización de la carga. Como consecuencia de la rotación alrededor del enlace entre el anillo del ciclopentadienilo y el centro α -cationico es completamente inhibida. La reacción de sustitución sigue entonces por un mecanismo S_N1 donde se logra la retención total de su configuración (Esquema 10). Esta característica estructural le permite, a partir de la manipulación de centros α -estereogénicos del ferroceno, que la molécula pueda ser transformada en diversos derivados quirales sin pérdida de su pureza enantiomérica teniendo en cuenta la previa introducción de un centro quiral.²⁸

²⁵ Mason J.G., Rosenblum M., *J.Amer.Chem.Soc.*, 84 (1960) 4206.

²⁶ Elsenbroich Ch., Salzer A., *Organometallics: A concise Introduction*; Edit. VCH Weinheim, (1989).

²⁷ Benkeser R. A., Goggin D., Schroll G., *J.Am.Chem.Soc.*, 76 (1954) 4025.

²⁸ Marquarding D., Klusacek H., Gokel G., Hoffmann P., *J.Am.Chem.Soc.* 92 (1970) 5389.

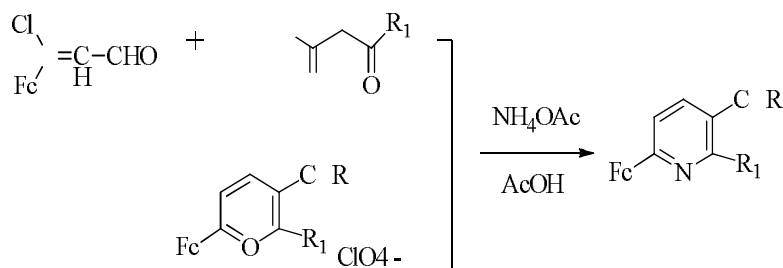


Esquema 10. Formación y estructura de carbocationes α -ferrocenilicos.

Heterociclos de seis miembros con sustituyentes ferrocenilicos

Se han descrito en la literatura heterociclos nitrogenados con sustituyentes ferrocenilicos, como triazoles, benzimidazoles, pirazoles, pirimidinas, derivados de tetrahidropiridazina, pirimidonas, piridazinas, 1,2,3-triazinas, 1,2,4-triazinas, oxazinas, etc.²⁹

La síntesis de ferrocenilpiridinas se da por la condensación de un aldehído con compuestos β -dicarbonilicos, en presencia de acetato de amonio, se obtienen como productos a las 3-acil-6-ferrocenilpiridinas, esta reacción se puede dar con las sales del pirilio con acetato de amonio³⁰.



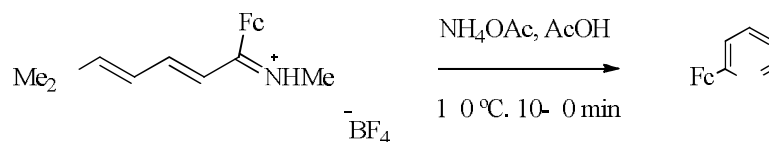
Esquema 11. Obtención de 3-acil-6- ferrocenilpiridinas

²⁹ Schvenkhgeimerk M. G., *Russ. Chem. Rev.*, 65 (1996) 80.

³⁰ Dorofeenko G. N., Domobrovskii V.V., *Pyshchev Khim Geterotsikl Soedin*, (1977) 599.

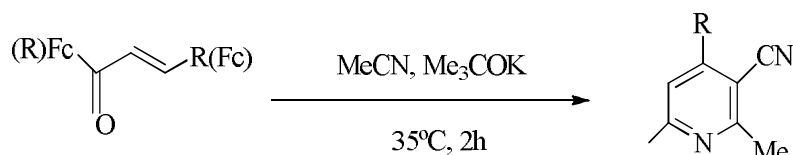


Los derivados de 2-ferrocenilpiridinas se han obtenido por la reacción de una sal de ferrocenil imonio con acetato de amonio, con un rendimiento del 57% (esquema 12).³¹



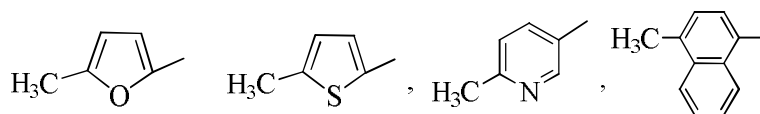
Esquema 12. Obtención de 2-ferrocenilpiridinas.

Se pueden obtener cianopiridinas ferrocénicas por medio de la condensación de cetonas insaturadas ferrocénicas con acetonitrilo a una temperatura de 35°C por 2 h con un rendimiento del 60% - 85%.³²



R = t-Bu, Ar, 4-ClC₆H₄, 4-MeOC₆H₄,

Fc = C₅H₅-Fe-C₅H₄



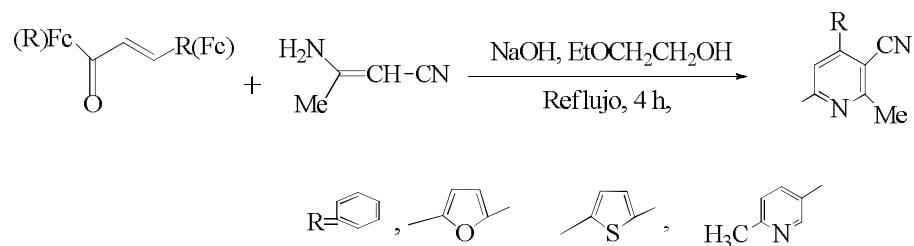
Esquema 13. Obtención de ferrocenilpiridinas

³¹ Kraniskov V. V., Andreichikov Yu P., Kholodova N. V., Dorofeenko G. N., *Org. Khim.*, 13 (1979) 1566.

³² Omote Y., Komatsu T., Kobayashi R., Sugiyama N., *Tetrahedron Lett.*, 13 (1972) 93.

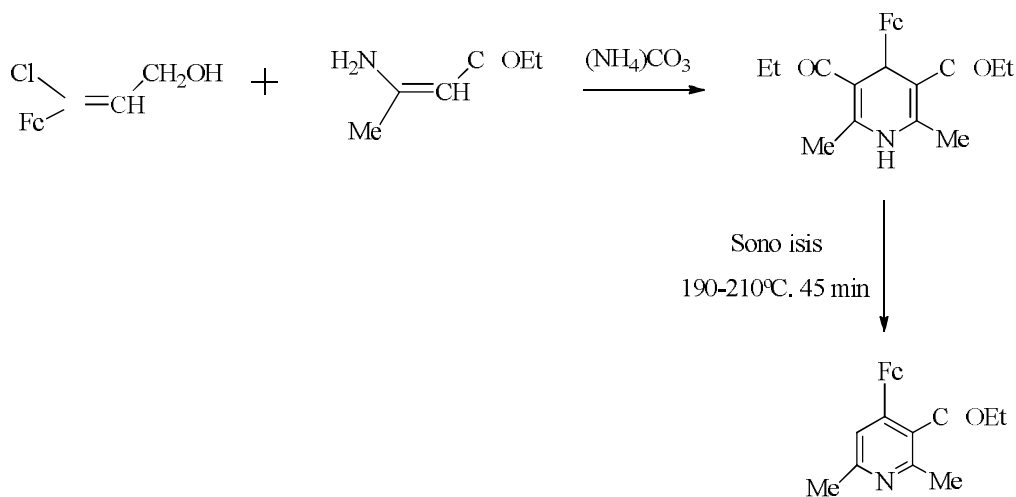


Las cetonas insaturadas reaccionan con el 3-aminocrotononitrilo en presencia de 2-etoxietanol, el producto es una piridina sustituida.³³



Esquema 14. Obtención de cianoferrocenilpiridinas

La síntesis del 3,5-bis(etoxicarbonil)-4-ferrocenil-2,6-dimetilpiridina se lleva a cabo por medio de la condensación de aldehídos ferrocenilicos con 3-amino-3-metil-crotonato de etilo en presencia de carbonato de amonio y se obtiene la 1,4-dihidropiridina, que puede ser oxidada por medio de sonólisis y obtener la piridina ferrocenólica.³⁴



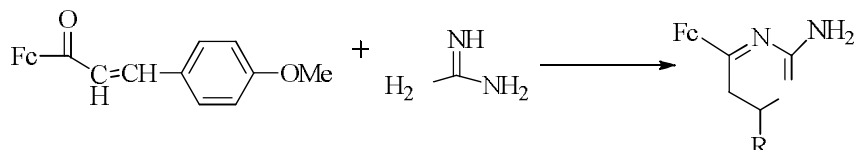
Esquema 15. Obtención de dimetilferrocenilpiridinas

³³ Shibata K., Katsuyama I., Matsui M., Muramatsu H., *J. Heterocycl. Chem.*, 30 (1993) 277.

³⁴ Sheinkman A., Nesterova E. Yu., Yashchenko G. N., *Chernyshov Khim Geterotsky Soedin.*, (1986) 1094.

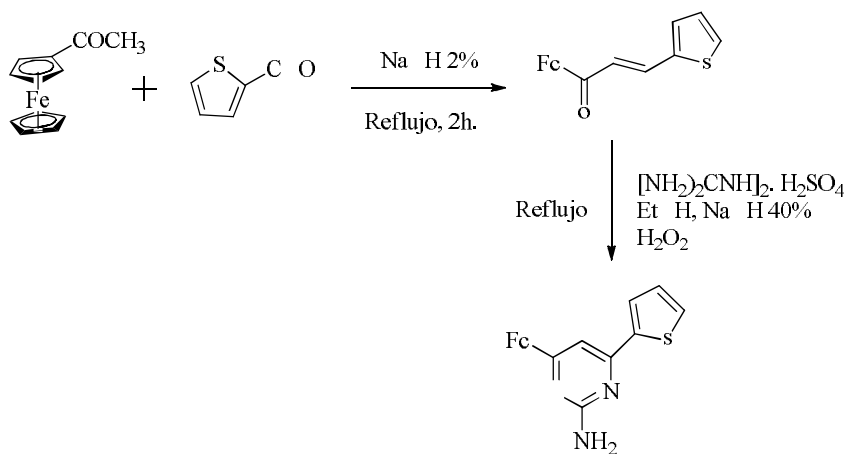


La reacción con el 1-ferrocenil-3-(*p*-metoxifenil)propenona con derivados de guanidina se emplea para obtener pirimidinas ferrocénicas.³⁵



Esquema 16. Obtención de pirimidinas ferrocénicas.

La reacción para producir 2-amino-6-(tiofen-2-il)-4-ferrocenilpirimidinas se logra mediante la interacción de chalconas ferrocénicas con sulfato de guanidinas.³⁶



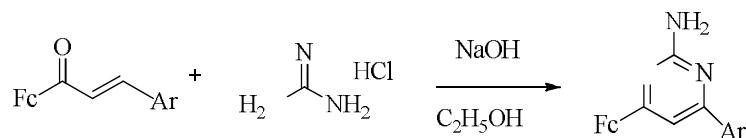
Esquema 17. Obtención de 2-amino-6-(tiofen-2-il) 4-ferrocenilpirimidinas.

³⁵ Metwally M. A., Kandell E.M., *Journal indian Chem. Soc.*, 64 (1987) 753.

³⁶ Abashev G.G., Antuff"eva A.D., Bushueva V., Kudryavtsev P. G., *Russian Journal of Applied Chemistry.*, 83(2010) 1436.

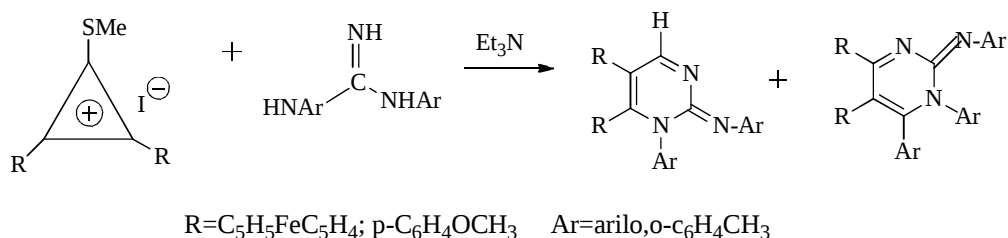


Las 2-amino-4-aryl-6-ferrocenilpirimidinas han sido sintetizadas usando la ciclocondensación de 3-aryl-1-ferrocenil-2-propen-1-onas con clorhidrato de guanidinas en medio básico.³⁷



Esquema 18. Obtención de 2-amino-4-aryl-6-ferrocenil pirimidinas.

El 2,3-diferrocenil y el yoduro de 2,3-dianisil-1-metilsulfanilciclopropenilo son reactivos que reaccionan con 1,3-difenil y 1,3,di-*o*-tolilguanidina para formar a las 1-aryl-2-aryl-imino-4,5 y 5,6-diferrocenil 1-2-dihidropirimidinas, y el 4,5-y 5,6-dianisil-3-fenil-2-fenilimino-1,2-dihidropirimidinas.³⁸



Esquema 19. Obtención de 1-aryl-2-aryl-imino-4,5 y 5,6-diferrocenil-1,2-dihidropirimidinas.

³⁷ Rashinkas G.S., Pore S.B., Mote K.B., Salunke R.S., *Indian Journal of Chemistry.*, 48B (2009) 610

³⁸ Klimova E.I., Vázquez López E.A., Flores Álamo M., Ortiz Frade L., *J.Heter Chem*, 2012 (en proceso de impresión)



Aplicaciones del ferroceno

Los derivados ferrocenilicos se han empleado como base para la síntesis de una gran variedad de ligandos en complejos, utilizados para transformaciones catalíticas como inductores quirales en catálisis asimétrica.³⁹ El éxito de estos sistemas es atribuido al impedimento estérico que presenta el grupo ferrocenílico y a su direccionalidad bastante limitada por los vectores quelato impuestos por la rigidez relativa del metaloceno. Muchos ligandos ferrocenilicos contienen una combinación de quiralidad central y planar, lo que los hacen útiles en catálisis asimétrica. El ferroceno actúa como un compuesto similar al benceno ya que posee una alta densidad electrónica, lo que lo ha hecho útil como precursor en la síntesis de diversos éteres corona, y se han sintetizado y caracterizado una gran variedad de macrociclos, criptofanos y cavitandos que contienen un ferroceno en su estructura.⁴⁰

Las sales de ferricinio son muy utilizadas como agentes oxidantes suaves de un electrón y el par redox ferroceno/ferricinio se utiliza como estándar secundario en muchos estudios electroquímicos. Esta actividad redox ha producido que cuando en la molécula se le adicione la unidad del ferroceno, esta actúa como un interruptor o receptor molecular con posible aplicación en el campo de sensores químicos y en el campo de la electrónica molecular.⁴¹

Los heterociclos ferrocenilicos se han empleado como agentes modificantes ya que mejoran las características operacionales de los combustibles y de los explosivos.⁴² La *N*-ferrocenilmetilpirrolidina ha sido usada como aditivo ya que aumenta las características balísticas y mecánicas en los combustibles de los cohetes.⁴³ La 1,4 bis(*N*-ferrocenil) piperazina y varios compuestos análogos⁴⁴ y el 2-ferroceniltetrahidrofurano⁴⁵ se pueden usar en combustibles basados en NH_4ClO_4 para regular el ritmo en que los cohetes queman su combustible. El 2-ferrocenil-2-(hidroxipropil)tetrahidrofurano se ha propuesto como catalizador en combustibles espaciales.⁴⁶

³⁹ Miller E.J., Weigelt C. A., Serth J.A., Rusyd R., Godlewski M.J., *J.Organomet.Chem.* 91 (1992) 440.

⁴⁰ Togni A., Hayashi T., *Ferrocene Homogeneous Catalysis, Organic Synthesis and Materials Science*, Edit. VCH, New York. (1995)

⁴¹ Mallik B., Kuma M.R., *Spectrochim.*, 61 (2005) 485.

⁴² US P. 3 925 410, *Chem. Abstr.*, 84 (1976), 59-752.

⁴³ US P. 3 765 965, *Chem. Abstr.*, 80 (1974), 61-709.

⁴⁴ US P. 4 397 700, *Re. Zh. Khim.*, 12N (1984), 223P.

⁴⁵ US P. 3 968 126, *Chem. Abstr.*, 84 (1978), 124-161

⁴⁶ US P. 3 745 177, *Chem. Abstr.*, 79 (1973), 94- 199.



Actividad Biológica de compuestos ferrocenilicos

La estabilidad del grupo ferrocenilico da la posibilidad a obtener una gran cantidad de derivados y es favorecido por sus propiedades electroquímicas. Se utiliza como sustituyente de grupos de arilos, ya que a las moléculas les confiere una mayor lipofilicidad, con las que aumenta su permeabilidad dentro de la membrana celular.

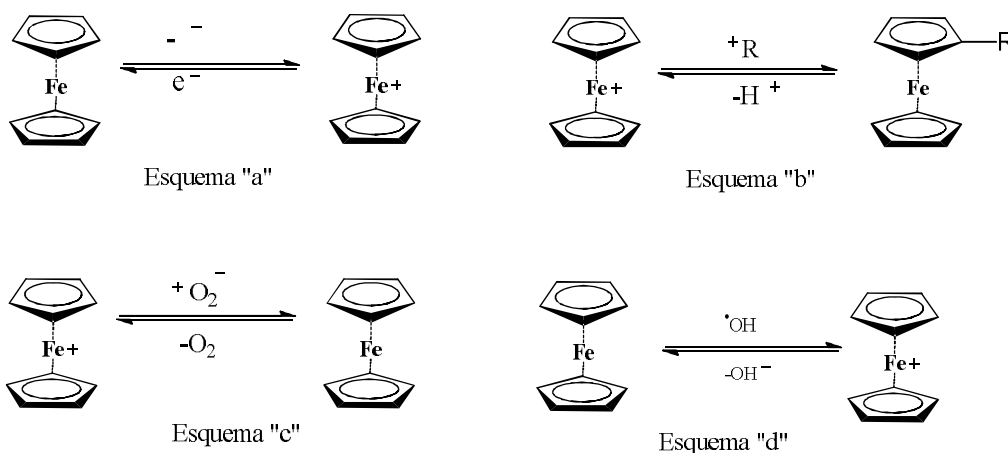
En el Esquema 20 se reúnen los principales procesos del ferroceno que le confieren tener una actividad biológica.

Esquema "a". Proceso de oxidación-reducción del ferroceno a los iones ferricínico por medio de la estabilidad de radicales libres, es una reacción reversible de transferencia de un electrón.

Esquema "b". Se basa en la relación biológica del control enzimático con compuestos ferrocenilicos, el ferroceno es oxidado por la hidrógeno peróxidasa (R), en donde el ión ferricínico es reducido por NADH y en metaloproteínas.

Esquema "c". El ion ferricínico participa en reacciones importantes biológicas debido al anión radical superóxido. Líder en la regeneración del ferroceno y el dioxígeno.

Esquema "d". La oxidación del complejo de ferroceno en la sal de ferricínico, esto ocurre con los ferrocenil carboxilatos altamente reactivos con la interacción de radicales hidroxilo.⁴⁷



Esquema 20. Reacciones de complejos del ferroceno implicados en procesos biológicos.

⁴⁷ David Dago N Da., Thesis Dr of Ph. *Synthesis of methotrexate and ferrocene conjugates as potential anticancer agents*, Johannserburg, (2004).



Muchos heterilferrocenos exhiben actividad biológica, los derivados de la 6-aminopenicilina o el ácido de aminocefalosporina que contienen grupos ferrocenales son recomendados como antibióticos efectivos ya que son inhibidores de betalactamasa.^{48, 49}

Los derivados de tetrafluorobatos y percloratos de benzotiazolio con sustituyentes ferrocenilicos inhiben a los grupos de estafilococos y estreptococos y han demostrado tener también actividad fúngica en contra del género *cándida*.⁵⁰

Los derivados de ferroceno que contienen fragmentos de dietil ésteres, fosfóricos y morfolina⁵¹ exhiben actividad antimicrobiana antagonista contra microorganismos Gram positivos y Gram Negativos.

El 3- ferrocenil-1-(2-furil)ciclopenten-1-eno se ha patentado, ya que es un agente en contra de la anemia inducida por la deficiencia de hierro en el organismo.⁵²

Un derivado ferrocenilico de la cloroquina (Ferroquina), ha superado con éxito ensayos clínicos en la fase II como un candidato a fármaco potencial en contra de la malaria⁵³ (Figura 6). La Ferroquina tiene una actividad similar a la cloroquina en el parásito de la malaria *P. falciparum* y es activo contra cepas resistentes a la cloroquina.⁵⁴

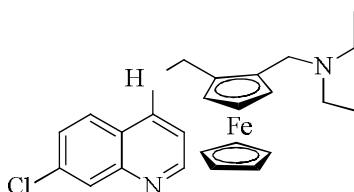


Figura 5. Derivado ferrocenilico de la cloroquina (Ferroquina)

⁴⁸ Edwards E. I., Epton R., Marr G., *J. Organomet. Chem.*, C49 (1976) 122.

⁴⁹ Edwards E. I., Epton R., Marr G., *J. Organomet. Chem.*, 168 (1979) 259.

⁵⁰ Boev V. I., Park A. L., Perepichko M. P., Volyanskii Yu. L., *Khim. Farm. Zh.*, 17 (1983) 1197.

⁵¹ Boev V. I., Drombovskii A. V., *Zh. Obshch. Khim.* 47 (1977) 2215.

⁵² BRD P. 2453977, *Chem. Abstr.*, 83 (1975) 640.

⁵³ Dive, D., Biot., *C. Chem. Med.*, 3 (2008) 383.

⁵⁴ Biot C., Taramelli D., Forfar-Bares I., Maciejewski L.A., *J.Mol. Pharmaceutics.*, 2 (2005) 185.



El ferroceno y el cáncer

El cáncer representa un grupo de enfermedades caracterizada por la multiplicación incontrolada de ciertas células en el organismo, estas células denominadas “malignas” son a menudo diferentes de las células normales, además presentan anomalías de estructura y de comportamiento. Estas anormalidades celulares pueden variar con la evolución de la enfermedad. En la célula el núcleo se hipertrofia y la célula entera puede agrandarse, en general las divisiones celulares tienen un desarrollo diferente a las células normales.⁵⁵

Se distinguen habitualmente tres tipos de cánceres: sólidos (cuando se desarrollan en un órgano), las leucemias (medula ósea) y los hematosarcomas (ganglios linfáticos).

La química de los radicales libres tiene un rol vital en la generación del cáncer, Ya que se le relaciona en varias fases del crecimiento y control de las neoplasias. La inhibición y desintoxicación en los procesos de cáncer en el organismo, pueden estar involucradas las reacciones de los radicales libres con la participación de los radicales superóxido. Algunos compuestos que contienen metales son buenos agentes reductores, por ejemplo, los radicales hidroxilo y superóxido se oxidan fácilmente del ferroceno hasta el ión ferricinio, el cual es muy estable; por lo tanto, esta actividad redox puede servir para eliminar el efecto de los radicales libres en el organismo. Se ha observado que el ferroceno podría servir como un buen agente antioxidante y antineoplásico.⁵⁶

Un proceso importante para la síntesis enzimática del ADN, ya que esta tiene una contribución potencial para la inhibición en la proliferación celular, se lleva a cabo con la contribución del ferroceno con la enzima nucleótido reductasa.⁵⁷

Las sales derivadas del ferroceno además de ser insolubles en agua no tienen una actividad biológica importante.

Las sales del ferricinio tienen solubilidad en agua y en solución fisiológica a $pH\ 7.4$ ⁵⁸, lo que les proporciona una rápida distribución y disipación en fluidos acuosos del sistema. La actividad citotóxica de los compuestos del ferroceno y de las sales de ferricinio está basada

⁵⁵ Khoury S., Jasmín C., *Cáncer los especialistas responden*. Edit. Aguilar, España, (1991) 29.

⁵⁶ Carraher C.E., Pittman C.U., *Organometallic compounds in biomedical applications*. Florida Atlantic University: Florida Center, (2004) 1.

⁵⁷ Neuse E.W., Kanzawa F., *Appl. Organomet. Chem.* 4 (1990) 19.

⁵⁸ Neuse E.W., Mbonzana C. W.N., *Inorganic and Metal-Containing Polymeric Materials*, Edit. Plenum Press, New York, (1990) 139.



directamente con los enlaces del ADN, pero puede ser debido a la regeneración de las especies activas del oxígeno cuando es inducido por el efecto oxidativo, lo que lleva a un daño en la estructura del ADN. El mecanismo de acción es aún incierto con la participación del ADN nuclear⁵⁹, la membrana celular, y la enzima topoisomerasa II.

La actividad antitumoral de los derivados del ferroceno, usualmente es asociada con los compuestos de las sales del ferricinio, Ya que se han observado que sus efectos antineoplasicos en células de Erlich (un tipo de tumor en ratones),^{60 61} determinando que las sales de ferricinio pueden generar radicales hidroxilo en solución.⁶²

Mecanismo del ferroceno en el tratamiento del cáncer

Se debe de correlacionar las propiedades redox de los compuestos metálicos con la transferencia de electrones, el estrés oxidativo, la formación de especies reactivas de oxígeno, y en general el estado redox de las células.⁶³ Es difícil determinar en una célula el "potencial redox" o incluso el "estado redox." La correlación entre la actividad redox de complejos metálicos y sus propiedades anti proliferativas, que han sido sólo tentativamente investigadas. Sin embargo, un mecanismo sugerido por Jaouen y colaboradores⁶⁴ donde se propone que la activación redox del ferroceno, induce la actividad anticancerígena. Sintetizaron una serie de compuestos llamados "Ferrocifens" que son derivados del tamoxifeno (agente quimioterapéutico de primera línea, empleado para los pacientes con cáncer de mama dependiente de hormonas, donde el metabolito activo es el hidroxitamoxifeno). En los ferrocifens se lleva a cabo la sustitución del grupo arilo por el ferroceno lo que reduce la actividad del receptor estrogenico, y cambia su biodisponibilidad.⁶⁵ Esto sugiere un modo de acción dual para los ferrocifens.

⁵⁹ Vashisht Gopal Y. N., Jayaraju D., Kondapi A. K., *Arch. Biochem. Biophys*, 376 (2000) 229.

⁶⁰ Kovjazin R., Eldar T., Patya, M., Vanichkin A., Lander H. M., Nogogrodsky, *A.Faseb J*, 17 (2003) 467.

⁶¹ Top S., Tang J., Vessieres A., Carrez D., Provot C., Jaouen G., *Chem Commun*, 8 (1996) 955.

⁶² Osella, D., Ferrali M., Zanello P., Laschi F., *Inorg. Chim. Acta*, 306 (2000) 42.

⁶³ Kovavic P., Popp W. J., Ames J. R., Ryan M. D., *Anti-Cancer Drug Des*, 3 (1988) 205.

⁶⁴ Schatzschneider U., Metzler-Nolte N., *New principles in medicinal organometallic chemistry*. Angew. Chem., Edit. International, Vol. 45 (2006) 1504.

⁶⁵ Jaouen G., Top S., Vessieres A., McGlinchey M. J., *Curr. Med. Chem.* 11 (2004) 2505.

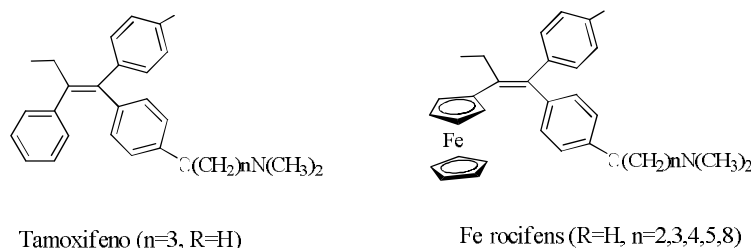


Figura 6. Tamoxifeno y Ferrocifens

El estudio de la actividad redox se ha propuesto como el segundo modo de acción⁶⁶ donde el metabolito activo (hidroxiferrocifen) se oxida fácilmente, produciendo como intermediario una quinona metiluro. Esta se activa para el ataque nucleofílico por nucleófilos metiluros quinona del metal libre de 4-hidroxi-tamoxifeno que son estables durante horas en condiciones fisiológicas. Esto se ha correlacionado con las propiedades electroquímicas de los ferrocifens.^{67,68}

Los aductos de metabolitos como el tamoxifeno con glutatión y bases nitrogenadas se piensa que son los responsables de su toxicidad y potencial mutagénico. Ahora se propone que la química relacionada aplica a los ferrocifens activados.⁶⁹

Por otra parte, la producción de las especies reactivas de oxígeno se han encontrado en líneas celulares tratadas con ferrocifen y derivados.⁷⁰ Los efectos citotóxicos son corroborados con la habilidad del ferroceno de transferir un electrón (en presencia de piridina) véase el Esquema 21. Basado en una serie de experimentos el mecanismo de acción propuesto involucra la generación de la metinoquinona lo que puede ser responsable de la citotoxicidad.

La oxidación del ferroceno y la deslocalización del electrón en los sistemas π induce la acidificación del protón en el grupo hidróxido, donde es abstraído por una base. De hecho se encontró que la base juega un papel importante en el proceso de desprotonación donde la quinona que es la especie más estable. Se puede dar una segunda oxidación seguida por la abstracción de protones del grupo etilo, lo que resulta la formación de una metinoquinona.

⁶⁶ Hillard E., Vessieres A., Thouin L., Jaouen G., *Angewandte Chemie*. Edit. International, 45 (2006) 285.

⁶⁷ Nguyen A., Pigeon P., Huche M., Hillard E. A., Jaouen G., *J. Organomet. Chem.*, 692 (2007) 1219.

⁶⁸ Hillard E. A., Pigeon P., Vessieres A., Amatore C., Jaouen G., *Dalton Trans.*, (2007) 5073.

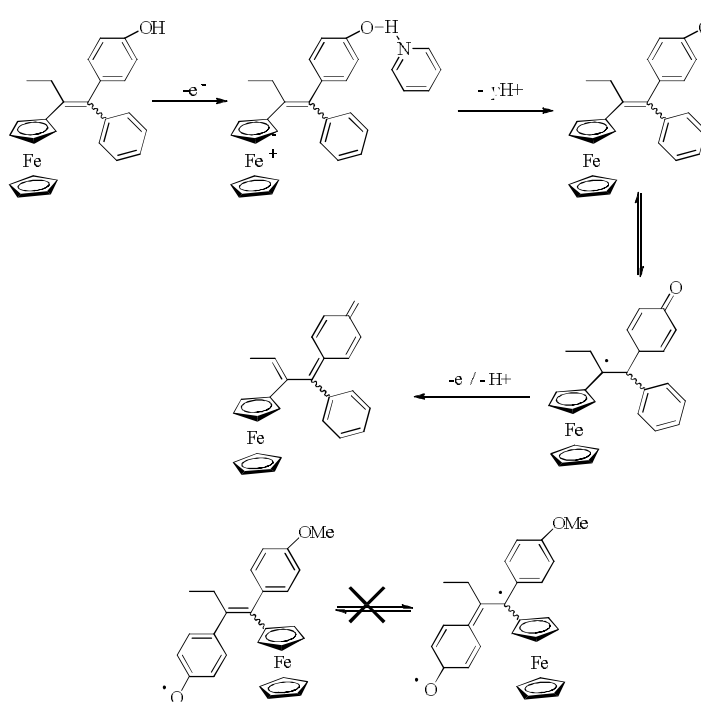
⁶⁹ Hillard E. A., de Abreu F. C., Ferreira D., Jaouen G., Goulart M. O. F., *Chem. Commun.*, (2008) 2612.

⁷⁰ Osella D., Mahboobi H., Colangelo D., Vessieres A., Jaouen G., *Inorg. Chim. Acta.*, 358 (2005) 1993.



Recientemente, el mismo grupo de investigadores han presentado trabajos sobre difenoles ferrocénicos conjugados y no conjugados de derivados fenólicos que tienen una buena actividad antiproliferativa y se analizan a través de un mecanismo relacionado con la activación y la formación de intermediarios similares.^{71,72}

Con el fin de promover el uso de los ferrocifens hacia los estudios clínicos, varios ensayos se están realizando con la formulación de nanopartículas,⁷³ nanocápsulas lipídicas,⁷⁴ y ciclodextrinas.⁷⁵ Más investigaciones incluyen la síntesis y pruebas preeliminares de la actividad antiproliferativa de los derivados del ferroceno de varias clases de compuestos, como curcuminoides,⁷⁶ derivados de andrógenos y anti andrógenos derivados de indoles⁷⁷ y la nilutamida.⁷⁸



Esquema 21. Mecanismo propuesto del ferrocifen con la metinoquinona, implicada en el efecto citotóxico.

⁷¹ Hillard E., Vessieres A., Le Bideau F., Plazuk D., Spera D., Jaouen G., *Chem Med*, 1 (2006) 551.

⁷² Vessieres A., Pigeon P., Hillard E., Boubeker L., Spera D., Jaouen G., *J. Med. Chem.* 48 (2005) 3937.

⁷³ Nguyen A., Bouclier C., Vessieres A., Pigeon P., Gref R., Legrand P., Jaouen G., *J. Pharm.*, 347 (2008) 128.

⁷⁴ Allard E., Huynh N. T., Vessieres A., Pigeon P., Jaouen G., Benoit, *J. Pharm.*, 379 (2009) 317.

⁷⁵ Buriez O., Labbe E., Vessieres A., Jaouen G., Amatore, *Chem. Eur. J.* 14 (2008) 8195.

⁷⁶ Arezki A., Brule E., Jaouen G., *Organometallics*, 28 (2009) 1606.

⁷⁷ Spencer J., Mendham A. P., Kotha A. K., Richardson S., Hillard E. A., Jaouen G., *Dalton Trans.*, (2009) 918.

⁷⁸ Top S., Thibaudeau C., Vessieres A., Marrot J., Herson P., Jaouen G., *Organometallics*, 28 (2009) 1414.



2.4 METODOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD BIOLOGICA

Actualmente existe una gran variedad de modelos experimentales para evaluar la actividad biológica *in vivo* e *in vitro*, aplicables al estudio de fármacos y de principios activos. Entre los métodos *in vivo* se encuentran los que evalúan la actividad antiinflamatoria, como el ensayo de edema, que se caracteriza por inducir una respuesta local que da lugar a la inhibición del edema es un indicativo del efecto antiinflamatorio de la sustancia que se evalúa.⁷⁹ En los ensayos *in vitro* principalmente se encuentran los ensayos de citotoxicidad, capaces de detectar mediante los diferentes mecanismos celulares donde se pueden conocer los efectos adversos de interferencia con estructura y/o propiedades esenciales para la supervivencia celular o sus funciones. Dentro de estos se encuentran la integridad de la membrana del citoesqueleto, el metabolismo celular, la liberación de constituyentes celulares o de sus productos, regulación iónica, división celular y síntesis y degradación de los compuestos dentro de la célula.⁸⁰

Modelo inducido de Inflamación por TPA.

El modelo de edema agudo inducido por TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol) Figura 8 en la oreja del ratón⁸¹ comprende la aplicación del TPA en el pabellón auditivo del animal. La respuesta inflamatoria es local y consiste en eritema, edema e infiltración del LPMN; además se liberan mediadores de tipo eicosanoide y se induce la de granulación de mastocitos. Por lo tanto, las sustancias que inhiben la biosíntesis de prostaglandinas y de leucotrienos producen resultados considerables en este estudio.

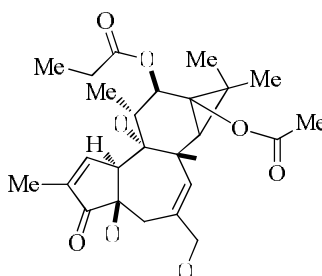


Figura 7. Estructura de TPA

⁷⁹ Willoughby, D. A., *In vivo* models of inflammation. En *Inflammation protocols. Methods in Molecular Biology*. Ed. Willoughby, D.A.& Winyard, P.G. Humana Press. Totowa, EUA (2003) 109.

⁸⁰ Repetto, M., *Toxicología Fundamental. Métodos Alternativos, Toxicidad in vitro*. Sevilla España, Editorial. Díaz Santos, Epsnes-Mercie Group. 3ª edición. (2002) 303.

⁸¹ De Young I. M., Kheifets J. B., Ballaron S. L., Young J. M., *Agents and actions*. 26 (1989) 335.



Los ésteres de forbol son diterpenos aislados de especies de la familia *Euphorbiacea*, de acción procarcinogénica⁸². La respuesta biológica del TPA es multifactorial, sin embargo algunos mecanismos no se conocen con precisión. La estereoquímica de los ésteres de forbol los hace análogos conformacionales al diacilglicerol y en consecuencia se desencadena una serie de eventos bioquímicos vinculados con la proteína cinasa C (PKC) dependiente de calcio.

La acción mitogénica de los ésteres de forbol involucra la activación de las enzimas descarboxilasa de ornitina y ATPasa, del factor activador de plasminógeno, un intercambio iónico de Na^+ / H^+ a través de las membranas, la inhibición de la unión entre células alteradas, la fosforilación de ciertos receptores para factores de crecimiento y las modificaciones en el esqueleto celular⁸³.

El TPA también participa en la inducción de quimiotaxis y en la diferenciación e infiltración de granulocitos y monocitos; estos últimos son responsables de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas⁸⁴. Existen evidencias de la participación del factor activador de plaquetas (PAF)⁸⁵ y de radicales libres⁸⁶ en la respuesta de TPA.

Viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón

Los macrófagos estimulados sintetizan y liberan un gran número de moléculas, así como especies reactivas de oxígeno, las enzimas lisosomales de acción fagocítica, los mediadores lipídicos, los factores de complemento, de coagulación, de crecimiento, de diferenciación y las citosinas. Los agentes estimulantes pueden ser el TPA, el zimósán y el lipopolisacárido (LPS).

⁸² Hecker E., *Cancer Research*, 28 (1968) 2338.

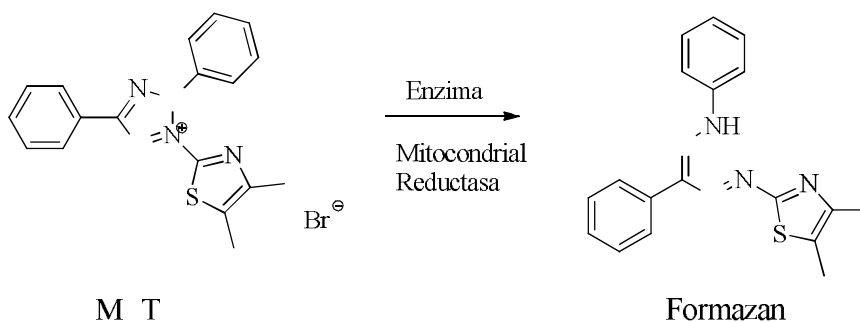
⁸³ Tardón-García A., *Biología molecular y celular del cáncer: Boletín informativo de la sociedad Asturiana de medicina y seguridad en el trabajo*, Edit. Asturias, Oviedo, España. 11, (2001) 3.

⁸⁴ Ricupero D., Taylor L., Tlucko A., Navarro J., Polgar., *Mediators of inflammation* 1 (1992) 133.

⁸⁵ Thannickal V. J., Fanburg B. L., *J. Physiology*, 279 (2000) L1005.

⁸⁶ Furstenberger G., Berry, D. L., Sorg B., Marks F., *Proceedings of the National Academy of science*, USA, 78 (1981) 7722.

El producto de reacción formazan queda retenido en las células. De esta forma es cuantificada la cantidad de MTT reducido, mediante un método colorimétrico, ya que se produce como consecuencia la reacción de un cambio de coloración del amarillo al azul.⁸⁹





celular o citotoxicidad se puede determinar mediante la cuantificación del daño de la membrana plasmática. Las enzimas Cinasa de Adenilato (KA) y Deshidrogenasa Láctica (DHL) se encuentran en todas partes, son estables y se liberan rápidamente al medio de cultivo cuando se producen daños en la membrana plasmática, entre ellos encontramos ensayos como la Sulforrodamina B, que es un método rápido, sensible y económico para la determinación de citotoxicidad inducida por fármacos.

La técnica de sulforrodamina B (SRB) es un ensayo colorimétrico, no radiactivo de cuantificación espectrofotométrica que se basa en la unión electrostática de la medición de células cancerosas con la SRB a un colorante anionico que se une a los aminoácidos básicos fijados con ácido tricloroacético (TCA), de esta manera, entre mayor sea la densidad óptica a 515 nm, mayor será el contenido de proteínas, y por ende menor la inhibición del crecimiento celular.^{90,91}

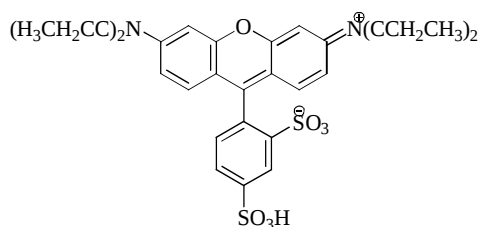


Figura 8. Estructura de la Sulforrodamina B (SRB).

⁹⁰Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Hose C., *Journal Nat. Cancer Inst.*, 83 (1991) 757.

⁹¹ Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., *Journal. Nat. Cancer Inst.*, 82 (1990) 1107.



3. JUSTIFICACION DEL TRABAJO

El aumento en los casos de cáncer ha promovido una intensa búsqueda de nuevas estructuras químicas que puedan ser usadas en el diseño de medicamentos antitumorales, en este contexto se investigan moléculas con estructura de heterociclos.⁹² Los compuestos que contienen piridinas, pirazoles, piperidinas han sido objeto de investigaciones en la búsqueda de la síntesis y diseño de nuevos agentes con actividad biológica.

La química de pirimidinas es un campo en crecimiento, ya que actualmente se enfoca sus estudios farmacológicos, ya que la mayoría de sus compuestos son biológicamente activos y presentan actividad antitumoral.⁹³

Se ha demostrado que la incorporación de una unidad de ferroceno en la molécula puede producir reacciones con productos ferrocenilicos con una mejorada actividad biológica, la cual está ausente o poco presente en la molécula inicial. Sin embargo la unión de estas estructuras a derivados ferrocenilicos ha sido relativamente poco explorada.

El efecto de la unión del grupo ferrocenil, aril y alquil a pirimidinas sustituidas han sido estudiados debido a que han presentado actividad como antibioticos contra *Estafilococcus aureus* y *Escherichia coli*.⁹⁴

Por lo tanto el siguiente trabajo plantea la síntesis de ferrocenilpirimidinas por medio del estudio de las propiedades químicas de compuestos ferrocenil β-dicarbonilicos con polinucleófilos y evaluar la actividad biológica de los compuestos obtenidos.

⁹² Biot C., Delhaces L., Diaye C.M.N., Maciejewski L.A., *Bioorg Med. Chem.*, 7 (1999) 2843.

⁹³ Rupseh Dudhe, Pramod K., Sharma, Prabhakar V., *J. Advanced Scientific Research*, 2 (2011) 10.

⁹⁴ Rashunkar G.S., Pore S.B., Mote K.B., Salunke R.S., *Indian Journal Of Chemistry* 48 (2009) 606.



4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Investigar profundamente las interacciones de los compuestos ferrocenales α,β dicarbonílicos (son compuestos polielectrofilicos) con derivados de guanidinas (polinucleofílicos).

OBJETIVOS PARTICULARES:

Sintetizar ferrocenildihidropirimidina-5-carboxilatos aromáticos.

Sintetizar ferrocenilpirimidina-5-carboxilatos aromáticas.

Realizar pruebas de actividad biológica de los compuestos sintetizados.

Modelo inducido de Inflamación por TPA

Evaluación de la viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón

Estimar la toxicidad de los compuestos obtenidos en 6 líneas celulares de cáncer humano (U251, PC-3, K-562, HCT-15, MCF-7 y SKLU-1).



5. HIPOTESIS

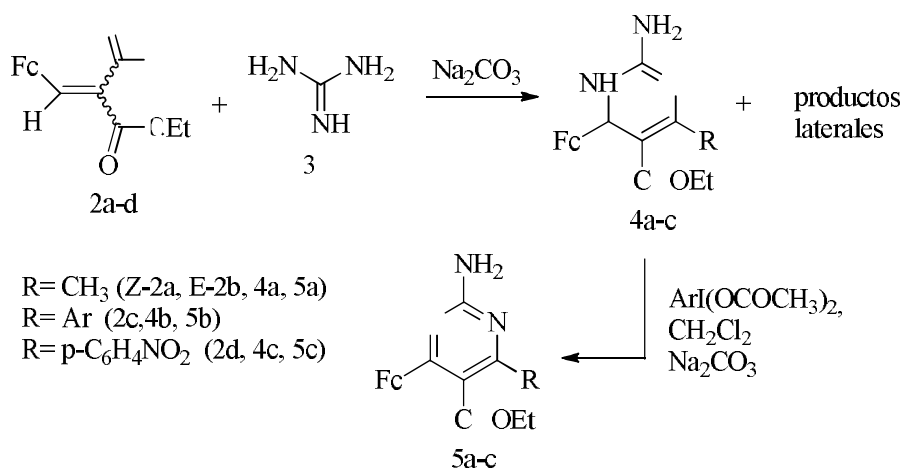
Se puede realizar la síntesis de ferrocenildihidropirimidinas y ferrocenilpirimidinas a partir de la reacción de compuestos ferrocenales β -dicarbonílicos con polinucleófilos como lo es el sulfato de guanidina, sabiendo que las propiedades biológicas dependen de los grupos funcionales dentro de la molécula heterocíclica, ya que moléculas con fragmentos ferrocenílicos y pirimidínicos han producido resultados prometedores en bioensayos.



6. ANALISIS DE RESULTADOS

Se conocen los métodos de síntesis clásica para la obtención de pirimidinas, a partir de compuestos β -dicarbonílicos con reactivos nucleofílicos como lo son ureas, o derivados de guanidinas. En esta investigación se realizó primero la síntesis de compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos para que reaccionaran con polinucleófilos como lo es el sulfato de guanidina para llegar a obtener como productos las ferrocenildihidropirimidinas, posteriormente se realizó su oxidación para tener como producto las ferrocenilpirimidinas (Esquema 23).

A los compuestos obtenidos se les realizaron diversas pruebas de actividad biológica para evaluar su capacidad citotóxica como un posible agente antitumoral.



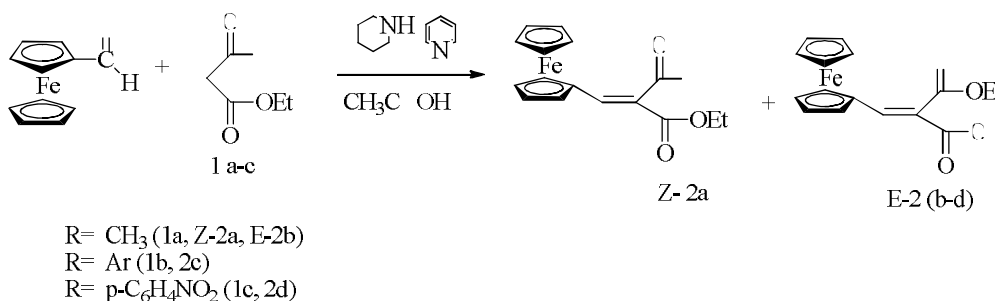
Esquema 23. Reacción de compuestos ferrocenil β -dicarbonílicos con polinucleófilos.



6.1 SINTESIS DE COMPUESTOS FERROCENAL β -DICARBONILICOS

Síntesis de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo

Los compuestos iniciales *E*-2-acetil-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2a** y *Z*-2-acetil-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2b**, *E*-2-benzoil-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2c**, y *E*-2-(*p*-nitrobenzoil)-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2d** fueron obtenidos por la reacción de condensación de Knoevenagel de ferrocenilcarbaldehído con acilacetato de etilo en medio básico. (Esquema 24).



Esquema 24. Síntesis de compuestos ferrocenol β -dicarbonílicos

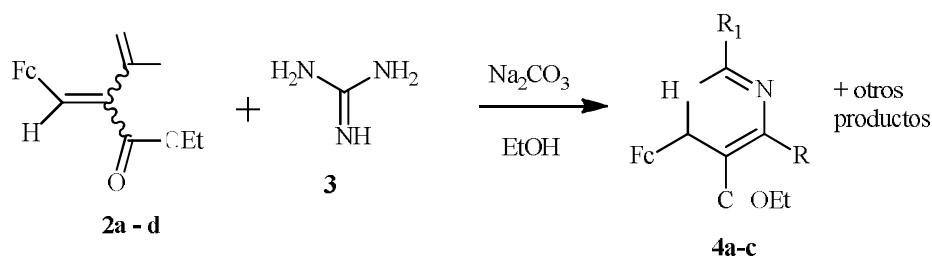
En las condensaciones realizadas para la obtención de compuestos ferrocenol β -dicarbonílicos se observó que en la reacción de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo tenemos 2 productos de reacción perfectamente aislados y caracterizados siendo el producto mayoritario el isómero *Z*, en el caso de las condensaciones de ferrocenilcarbaldehído con benzoilacetato de etilo y *p*-nitrobenzoilacetato se obtiene como producto mayoritario el isómero *E*. Las estructuras de los compuestos **2a–d**, se establecieron en base a los datos de espectroscopía de IR, RMN de ^1H y ^{13}C espectrometría de masas y análisis elemental.



6.2 REACCIÓN DE COMPUESTOS FERROCENAL β -DICARBONILICOS CON POLINUCLEÓFILOS

Interacciones de 2 acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo con guanidina

La reacción de los 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2a-d**, acil (acetil, benzoil, *p*-nitrobenzoil) con sulfato de guanidina **3** y etanol acuoso en presencia de Na_2CO_3 a 80-90 °C, produce 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilatos de etilo **4a-c**.



R= CH_3 (**2a, 2b, 4a**)

R= Ar (**2c, 4b**)

R= $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ (**2d, 4c**)

Esquema 25. Preparación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo.

Las ferrocenildihidropirimidinas obtenidas fueron aisladas por cromatografía en columna, como fase estacionaria se utilizó alúmina, el producto son cristales de color naranja, estables a temperatura ambiente. Las estructuras de los compuestos **4a-c** se establecieron en base a los datos de espectroscopia de IR, RMN de ^1H y ^{13}C , espectrometría de masas y análisis elemental.

Las ferrocenildihidropirimidinas **4a-c** se obtuvieron a partir de los 2-acil-3-ferrocenil acrilatos de etilo con sulfato de guanidina en la tabla 1 se presentan las señales observadas en los espectros de RMN ^1H , en la Tabla 2 se encuentran los espectros de RMN ^{13}C para los compuestos obtenidos.


Tabla 1. Señales de RMN ^1H observadas para las ferrocenildihidropirimidinas en ppm.

Compuesto	C_5H_5	C_5H_4	NH_2	NH	CH_3	CH_2	CH	R
4a	4.28	4.01 4.11 4.13 4.22	7.16	5.33	1.32	4.20	5.20	2.32 (3H, s, CH_3)
4b	4.14	3.99 4.06 4.09 4.18	7.10	6.42	0.83	3.76	5.12	7.16 (2H, m, C_6H_5) 7.22 (3H, m, C_6H_5)
5c	4.23	3.99 4.07 4.09 4.19	7.20	6.56	0.85	3.80	5.14	7.38 (2H, d, C_6H_4) 8.13 (2H, d, C_6H_4)

A partir de los datos de RMN para los compuestos **4a-c** se observan las señales características del ferroceno que corresponden a los 5 protones del anillo de ciclopentadienilo no sustituido C_5H_5 en el intervalo de δ 4.14 a 4.28 ppm, los protones del anillo de ciclopentadienilo sustituido C_5H_4 tienen las cuatro señales definidas en forma de singuletes con un intervalo de δ 3.99 a 4.22 ppm. Las señales de los protones de la amina NH_2 son singuletes ensanchados en el intervalo de δ 7.10 a 7.20, las señales de la dihidropirimidina (N-H) es un singulete ensanchado en un intervalo de δ 5.33 y 6.56. Las señales del grupo etoxilo se encuentran definidas para los 3 compuestos en un campo alto lo encontramos como un triplete para los 3 protones del CH_3 que integran con una constante de acoplamiento $J=7.2$ Hz, la señal de CH_2 se observa como un cuadruplete en un intervalo de δ 3.80 a 4.76. La señal del protón unido al carbono del anillo de la pirimidina (C-H) es un singulete en un intervalo de δ 5.14 a 5.20, para los sustituyentes **R** los tenemos desglosados de la siguiente forma: para el compuesto **4a** se tiene una señal a 2.31 singulete que corresponden a tres protones del grupo CH_3 . Para el compuesto **4b** el grupo R es un benzoilo la señal se encuentra como multiplete a δ 7.16 para 2H del C_6H_5 y a δ 7.22 como multiplete que corresponden a 3 protones del anillo C_6H_5 . En el compuesto **4c** el grupo R es *p*-nitrobenzoilo en un intervalo de δ 7.38 y 8.13 que corresponden 2 protones y se presentan como dobletes del anillo C_6H_4 .



Tabla 2. Señales de RMN ^{13}C observadas para las ferrocenildihidro pirimidinas en ppm.

Compuesto	C_{ipsoFc}	C_5H_4	C_5H_5	CH_3	CH_2	CH	R
4a	92.21	64.66 66.09 67.26 67.51	68.52	14.32	59.49	47.57	(CH_3) 21.79
4b	89.18	66.01 66.66 67.93 68.29	69.04	13.89	56.46	47.82	(C_6H_5) 121.05 126.99 128.72
4c	94.28	65.02 65.83 67.47 67.57	68.45	13.83	58.54	48.01	(C_6H_4) 122.65 129.75

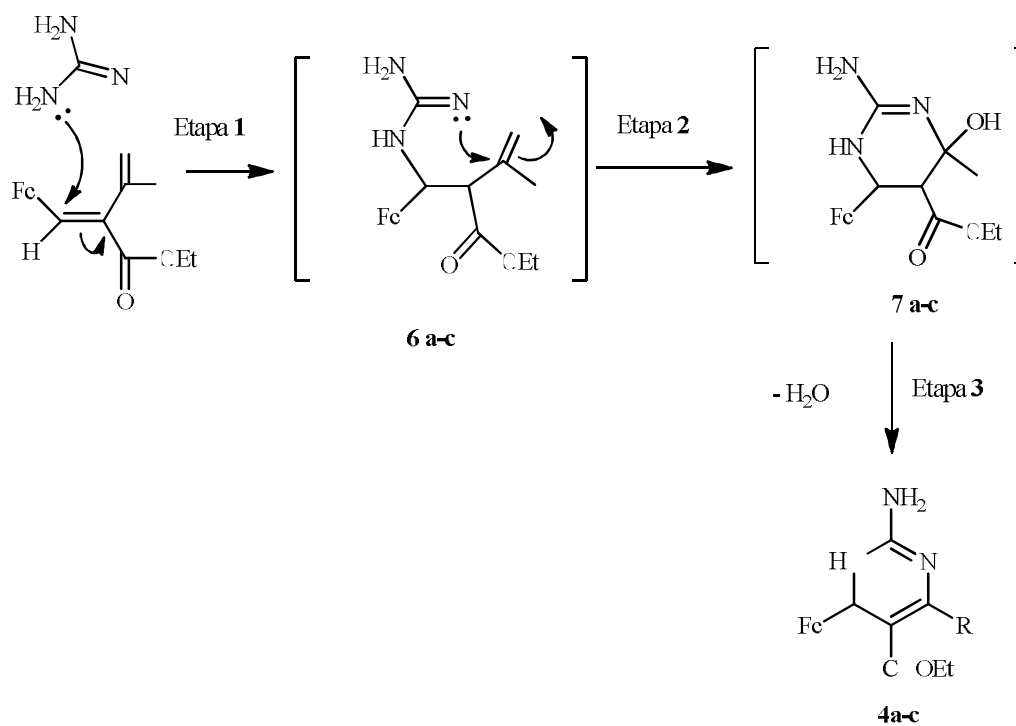
Los espectros de RMN ^{13}C de estos compuestos corroboran completamente la estructura de 1,6-dihidropirimidina. Estos contienen las señales de C_{ipsoFc} del ferrocenil en el intervalo de δ de 90 a 94, las cuatro señales para los átomos de carbono del anillo de C_5H_4 aparecen más hacia un campo alto en un intervalo de δ 64 a 68 ppm, comparado con la posición de singuletes que corresponden al anillo de C_5H_5 en el intervalo δ 89 a 95 ppm. Los átomos de carbono de metileno en el sustituyente $-\text{COOEt}$ tienen sus señal de resonancia para el CH_2 en el intervalo de δ 59 a 62 ppm.



Mecanismo de formación en síntesis de ferrocenilpirimidinas

El mecanismo de formación de las ferrocenilpirimidinas **4a-c** consiste en 3 etapas:

- 1.-El ataque secuencial o simultáneo de los sitios nucleofilicos de la guanidina al átomo de carbono en la posición 3 de los 2-acil-3-ferrocenilacrilatos **2a-d** con la obtención de productos intermediarios **5a-c** (por medio de la adición de Michael).
- 2.- Un segundo ataque nucleofilico de la guanidina a los átomos de carbono del grupo acilo con formación de intermediarios **6a-c**.
- 3.- Deshidratación de los intermediarios **6a-c** y obtención de dihidropirimidinas.



Esquema 26. Mecanismo para la formación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilatos de etilo **4a – c**



La estructura del compuesto **4a** (figura 21) fue determinada por medio de un análisis de difracción de rayos X, estos cristales fueron obtenidos por cristalización en dimetil sulfoxido.

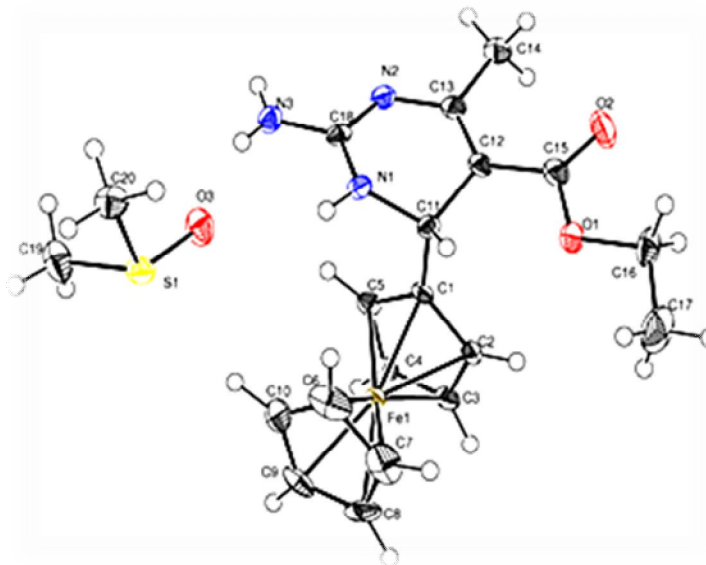


Figura 21. Estructura cristalina del compuesto **4a** (2-amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilatos de etilo).

Los parámetros de longitudes de enlace y ángulos de enlace de la estructura cristalina del compuesto **4a** se encuentran en la Tabla 3.

Tabla 3. Longitudes de enlace y ángulos de enlace del compuesto **4a**.

Longitud de enlace [Å]	Ángulos de enlace [°]	Longitud de enlace [Å]	Ángulos de enlace [°]
N(1)-C(19)	1.476(3)	C(18)-C(17)-N(2)	122.4(2)
N(1)-C(20)	1.342(3)	C(19)-C(18)-C(17)	114.3 (2)
N(2)-C(20)	1.342(3)	N(1)-C(19)-C(18)	105.49(18)
N(2)-C(17)	1.360(3)	C(17)-N(2)-C(20)	116.5(2)
N(3)-C(20)	1.341(3)	N(2)-C(20)-N(3)	118.4(2)
C(17)-C(18)	1.388(3)	N(3)-C(20)-N(1)	119.4(2)
C(18)-C(19)	1.511(3)	N(2)-C(20)-N(1)	122.2(2)

Los principales parámetros geométricos de la estructura del compuesto **4a** se encuentran enlistados en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Datos y parámetros de la estructura de cristalina del compuesto **4a**

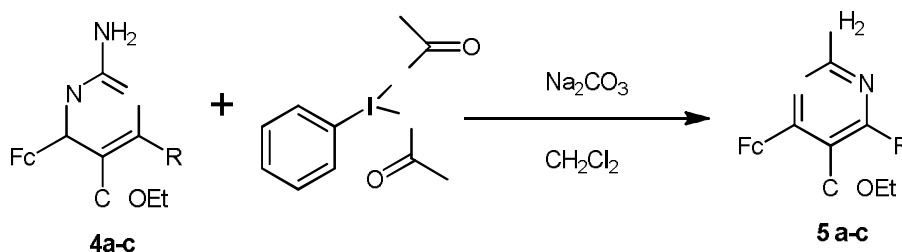
Datos	
Formula molecular	$C_{18}H_{21}FeN_3O_2 \cdot (CH_3)_2SO$
Peso Molecular	445.36
Temperatura (K)	130(2)
Sistema Cristalino	Monoclinico
Grupo espacial	P21/c
a (Å)	10.0339(5)
b (Å)	19.6886(7)
c (Å)	10.8598(5)
α (°)	90
β (°)	103.751(4)
γ (°)	90
V (Å ³)	2083.90(16)
Z	4
D _{calc} (gcm ⁻³)	1.420
Longitud de onda	1.54180
F (000)	936
Coeficiente de absorción	6.952
θ Intervalo (°)	4.49 - 68.08
Reflecciones Totales	13559
Reflexion Independiente	3799
R _{int}	0.0271
Indices R Final [I > 2 σ (I)]	R ₁ = 0.0306 wR ₂ = 0.0825
indices R	R ₁ = 0.0338 wR ₂ = 0.0834
Parámetro refinables	266
Ajuste en F ²	1.065
Densidad electrónica residual	0.326/- 0.324



6.3. REACCIÓN DE DESHIDROGENACIÓN OXIDATIVA DE FERROCENILDIHIDROPIRIMIDINAS

Reacciones de 2-amino-6-ferrocenilpirimidin-5-carboxilatos de etilo con diacetoxi yodobenceno

Las ferrocenildihidropirimidinas **4a-c** experimentan deshidrogenación oxidativa suave con diacetoxiyodobenceno en diclorometano en presencia de Na_2CO_3 en agitación por 20-30 min a temperatura ambiente para producir las pirimidinas correspondiente **5a-c** con rendimientos de aproximadamente 65-75%.



R= CH_3 (**4a**, **5a**)

R= Ar (**4b**, **5b**)

R= $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ (**4c**, **5c**)

$\text{Fc} = \text{C}_5\text{H}_5\text{FeC}_5\text{H}_4$

Esquema 27. Reacción de 2-amino-6-ferrocenildihidropirimidinas-5-carboxilatos de etilo con diacetoxi yodobenceno

Las ferrocenilpirimidinas **5a-c** se obtuvieron a partir de la oxidación de los compuesto **4a-c** con diacetoxiyodobenceno.

Los compuestos de 2-amino-6-ferrocenilpirimidina-5-carboxilatos de etilo **5a-c** se aislaron por columna de cromatografía en alúmina, siendo cristales color rojo estables a temperatura ambiente, solubles en diclorometano, etanol o acetona.

En la Tabla 8 se presentan las señales observadas en los espectros de RMN ^1H para las ferrocenildihidropirimidinas obtenidas.



Tabla 5. Señales de RMN ^1H observadas para las ferrocenil pirimidinas obtenidas.

Compuesto	C_5H_5	C_5H_4	NH_2	CH_3	CH_2	R
5a	4.11	4.40 (2H, m) 4.80 (2H, m)	5.32	1.34	4.36	2.34 ,3H, s, CH_3
5b	4.14	4.91 (2H, m) 5.32 (2H, bs)	5.23	0.99	4.10	7.58 (2H, m, C_6H_5) 7.43 (3H, m, C_6H_5)
5c	4.15	4.48 (2H, m) 4.91 (2H, m)	5.18	1.06	4.13	7.74 (2H, d, C_6H_4 $J=8.7$ Hz) 8.30 (2H, d, C_6H_4 , $J=8.7$ Hz)

Con base en los datos de RMN ^1H de las ferrocenilpirimidinas obtenidas **5a-c** se observan las señales características del ferroceno que corresponden a los 5 protones del anillo ciclopentadienilo no sustituido C_5H_5 en un intervalo de δ 4.14 a 4.28, las señales del anillo ciclopentadienilo sustituido C_5H_4 se observa en un intervalo de δ 4.40 a 5.32. Las señales de los protones unidos al nitrógeno de la amina NH_2 son singuletes ensanchados en el intervalo de δ 5.18 a 5.32, las señales del grupo etoxilo se encuentran definidas en campo alto hay un un triplete que corresponde a los 3 protones del CH_3 que integran con una constante de acoplamiento $J=7.2$ Hz y para CH_2 un cuádruplete en el intervalo de δ 4.10 a 4.36. En cuanto a los sustituyentes **R** para el compuesto **4a** hay una señal de singulete a δ 2.34 que corresponde a tres protones del grupo CH_3 . En el compuesto **4b** se observa un multiplete para 2H a δ 7.58 del anillo C_6H_5 y a δ 7.43 un multiplete que corresponden a 3 protones del anillo C_6H_5 . El compuesto **4c** se observan las señales en el intervalo de δ 7.74 y 7.80 que corresponden 2 H y se presentan como dobletes del anillo C_6H_4 .



Tabla 6. Señales de RMN ^{13}C observadas para las ferrocenildihidropirimidinas.

Compuesto	$\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$	C_5H_4	C_5H_5	CH_3	CH_2	R
5a	80.38	69.29 70.55	70.11	13.99	61.47	(CH_3) 22.18
5b	81.12	69.34 70.35	69.34	13.79	61.23	(C_6H_5) 128.17 128.37 129.15
5c	79.96	69.88 71.26	70.40	13.82	61.92	(C_6H_4) 123.64 129.35

Los espectros de RMN de ^{13}C de estos compuestos corroboran completamente la estructura de ferrocenilpirimidina. Estos contienen señales de $\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$ del ferrocenil en el intervalo de δ 79 a 80; las señales para los átomos de carbono del anillo de C_5H_4 aparecen en un intervalo de δ 69 a 71 comparado con el singulete que corresponde al anillo de C_5H_5 . Los átomos de carbono de metileno en el sustituyente $-\text{COOEt}$ tienen sus señal de resonancia en el intervalo δ 13.79 a 13.99, para el CH_2 en el intervalo de δ 61 - 62.



Mecanismo de deshidrogenación oxidativa

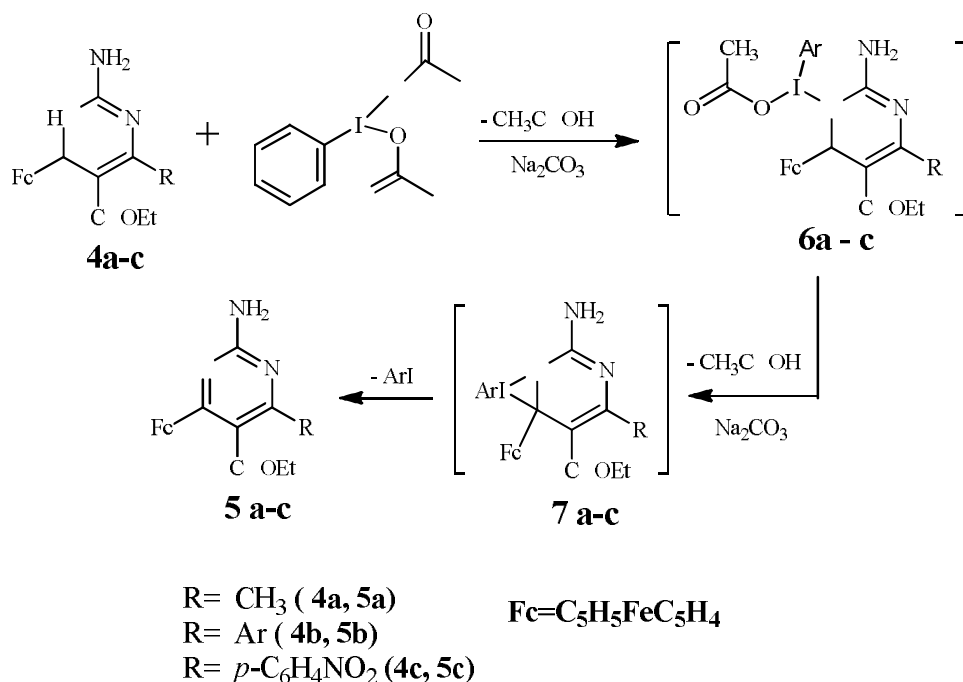
El mecanismo de deshidrogenación oxidativa con el sistema $\text{ArI}(\text{OAc})_2/\text{Na}_2\text{CO}_3$ propuesto por Richardson⁹⁵ parece ser aplicable a los compuestos **4a–c** (Esquema 28).

Inicialmente el $\text{ArI}(\text{OAc})_2$ reacciona con las dihidropirimidinas para formar los derivados $N(1)$ -[acetoxi(aril)- λ^3 -yodo] **6a–c**.

Su transformación en las pirimidinas deseadas **5a–c** ocurre posiblemente a través de los intermediarios **7a–c** con eliminación de ArI .

La deshidrogenación oxidativa de las dihidropirimidinas **4a–c** procede de manera rápida y sin formación de productos colaterales.

La reducción en el rendimiento de las pirimidinas con el grupo amino libre, se observa aún con el más mínimo aumento en el tiempo de reacción (la duración máxima es de 30 min) posiblemente debido a la implicación del grupo amino libre en la oxidación (la formación de nítrenos y sus transformaciones subsecuentes).



Esquema 28. Mecanismo para la formación de 2-amino-6-ferrocenilpirimidine-5-carboxilato de etilo **5a–c**

⁹⁵ R. D. Richardson, M. Desaize, T. Wirth, *Chem.Eur. J.* 13 (2007) 6745.



6.4 ESTUDIO DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se conoce que algunos derivados de heterociclos orgánicos con sustituyentes ferrocenílicos tienen relación con sistemas biológicos.⁹⁶ En este proyecto de investigación se propone el desarrollo de nuevas estrategias de síntesis para la producción rápida y eficiente de compuestos ferrocenilicos con actividad biológica a partir de estructuras relativamente simples, con referencia a que los compuestos ferrocenilicos.⁹⁷ Se decidió realizar las pruebas de actividad biológica a los compuestos después de haber sido sintetizados, purificados y caracterizados. Para ello se realizaron diversas pruebas como fueron inhibición del edema en oreja de ratón, viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón y pruebas de actividad citotóxica frente a 6 líneas celulares.

Modelo de edema inducido por TPA

El TPA induce el edema de forma inespecífica, es decir, con la participación de una variedad de mediadores químicos y celulares. Mediante este ensayo se puede saber si una sustancia es o no antiinflamatoria, pero no es posible conocer cómo interfiere en la inflamación. Sin embargo, el resultado que se obtiene suele ser de gran valor en la investigación de la actividad antiinflamatoria de los compuestos estudiados de las pirimidinas ferrocenilicas evaluadas.

Este ensayo solo se realizó a los compuestos **5a-c** que corresponden a las pirimidinas ferrocenilicas obtenidas.

En los resultados obtenidos en el modelo de edema inducido por TPA en oreja de ratón en la página 59 se observa que el compuesto **5b** tiene un mayor porcentaje (%) de inhibición del edema siendo del 78.32%, pero aún inferior al compuesto control que es la indometacina con un 84%. Para el **5a** el 56.47% y el **5c** un 40.12% no tienen actividad antiinflamatoria alta.

⁹⁶Hartinger Christian G., Dyson Paul J., *Chem.Soc Rev.*, 38 (2009) 391.

⁹⁷Hillard E.A., Pigeon P., Vessieres A., Amatore C. Jaounen, *Dalton Trans.*, (2007) 5073.



Viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón

Para los resultados se encuentran en la página 62, se observó que los compuestos que presentan una mayor viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón, estos son los **4a**, **4b**, **5a**, **5b**, **5c** con un intervalo de resultados del 31 al 37 %. El compuesto **4c** 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo tiene una menor viabilidad celular con un **72.5%**, con respecto al compuesto de referencia que es el cisplatino con un **23%** de inhibición.

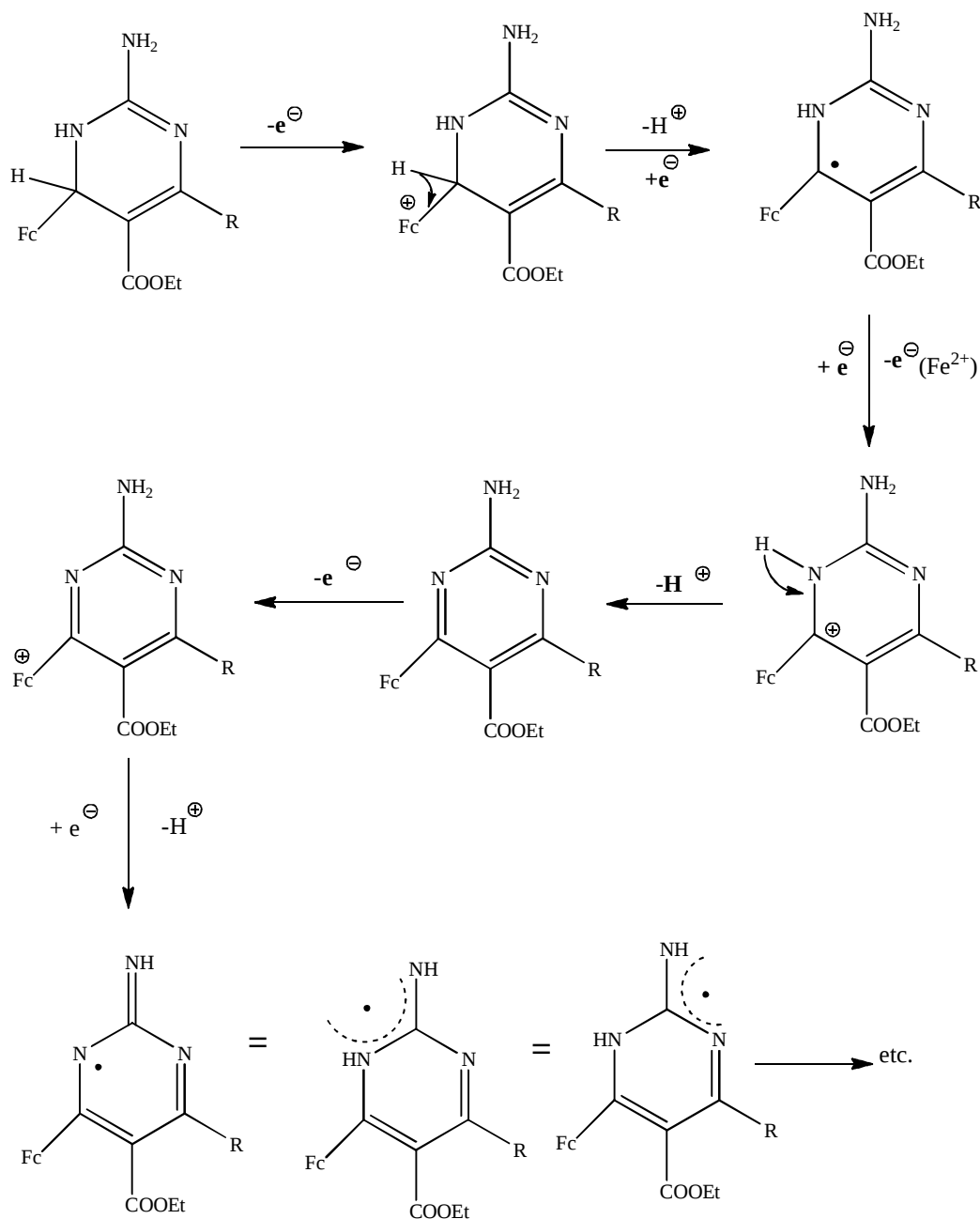
Citotoxicidad en líneas celulares

Las seis líneas celulares que se emplearon para este propósito fueron las células de cáncer humano U251 (SNC), PC-3 (Próstata), K562 (Leucemia), HCT-15 (Colon), MCF-7 (Mama) y SKLU-1 (Pulmón), evaluadas para los compuestos **4a**, **4b**, **4c** (ferrocenil dihidropirimidinas) y **5a**, **5b**, **5c** (ferrocenil pirimidinas) (los resultados son presentados en la página 64). El tipo de ensayo que se realizó primero se trató de un monitoreo primario que consiste en exponer a cada línea celular un compuesto en una concentración conocida (50 μ M) para observar su capacidad inhibitoria reportada en porcentaje relativo (%).

Observamos que los compuestos **4b** y **4c** presentan una mayor citotoxicidad para todas las líneas celulares de cáncer evaluadas, inclusive mayor que la del cisplatino, Estas estructuras corresponden a ferrocenildihidropirimidinas en contraste con sus análogos de ferrocenilpirimidinas que exhiben una notable disminución en su actividad citotóxica.

Se evaluó la concentración inhibitoria media IC_{50} en donde se escogieron 2 líneas celulares PC-3 y K562 que presentaron mayor actividad en el monitoreo primario. Los resultados se muestran en la Tabla 9. Los compuestos **4a**, **4b**, **4c** tienen una mejor actividad biológica en comparación con sus análogos los ferrocenilpirimidinas **5a-c** que no mostraron tener actividad biológica tan significativa.

En general, las ferrocenil dihidropirimidinas presentan mayor actividad citotóxica que las ferrocenilpirimidinas obtenidas, esto puede ser debido a que los protones de las dihidropirimidinas ayudan al sistema de oxidación y reducción en el sistema ferrocenílico, la explicación de estas propiedades se presenta en el Esquema 29.



Esquema 29. Mecanismo de reacción de los procesos redox de la ferrocenildihidropirimidina.

El Esquema 29 muestra que los procesos redox de las ferrocenildihidropirimidinas ocurren durante un par de etapas mientras que para las ferrocenilpirimidinas aromáticas participan las conversiones redox solo durante una etapa.



7. SECCION EXPERIMENTAL

7.1 TECNICAS DE CARACTERIZACION

El análisis espectroscópico por resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C se efectuó con un espectrofotómetro unidad Inova Varian 300-MR (300 y 75 MHz) y el espectrómetro 400-MR Varian (400 y 100 MHz) utilizando soluciones en CDCl_3 y DMSO-d_6 , con Me_4Si como patrón interno.

La espectroscopia por infrarrojo se efectuó con un espectrofotómetro Perkin Elemer Spectrum 400. Los espectros UV fueron realizados en un espectrofotómetro Specord UV-VIS.

El análisis espectrométrico de masas se efectuó por el método de Bombardeo Rápido de átomos (FAB^+) y se realizó con un espectrofotómetro Varian MAT CH-6 MS IE (70-eV). Las muestras se obtuvieron de una matriz de alcohol nitrobenílico usando átomos de Xenón a 6 ke V. Las mediciones de FAB se llevaron a cabo a una resolución de 10,000 empleando barridos de campos electrónicos y como material de referencia: iones de polietilenglicol.

Para conocer el análisis elemental se empleó un equipo Elementar Analysen systeme LECO CHNS-900.

El análisis por difracción de rayos X de monocristal, se llevó a cabo en un difractómetro Geminis (detector Atlas CCD, Cryojet N2). La resolución estructural de los compuestos se realizó por métodos directos mediante el programa SHELXS-97 y refinada por el método de mínimos cuadrados (Full matrix least squares F2). Las distancias interatómicas se expresan en amstrongs (Å) y los ángulos de enlace en grados ($^\circ$).



MATERIALES Y REACTIVOS

Todos los reactivos fueron obtenidos de proveedores comerciales y fueron usados sin purificar: ferrocenecarbaldehído (99%, Aldrich), acetoacetato de etilo (99%, Aldrich), fenilacetato de etilo (90%, Aldrich), 4-nitrofenilacetato de etilo (97%, Aldrich), sulfato de guanidina (99%, Aldrich), diacetoxi iodo benceno (98%, Aldrich).

Las columnas de cromatografía se prepararon con alúmina (Brockman grado III), empleando como eluyente mezclas de diferentes disolventes (hexano, acetato de etilo, diclorometano, metanol) en diferentes proporciones.

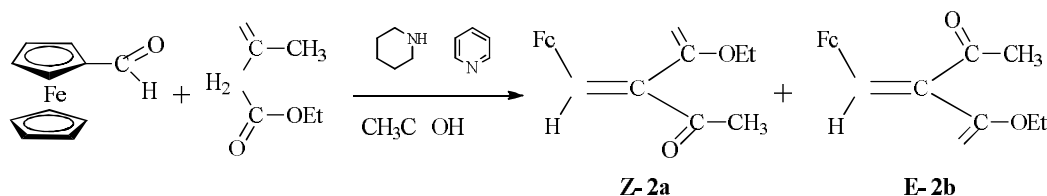
SINTESIS DE MATERIAS PRIMAS

La primera etapa de la estrategia de síntesis planteada para este proyecto fue la obtención de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo como materias primas, para ello se empleo la condensación de Knoevenagel, mediante la metodología propuesta de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo, benzoilacetato de etilo, 4-nitrobenzoilacetato de etilo en benceno en presencia de acetato de piperidinio. Las características físicas y espectroscópicas de RMN ^1H coinciden con los reportados en la literatura.⁹⁸

⁹⁸ . a) Postnov V.N., Polivin Yu. N., Sazonova V. A., *Dokl. Akad. Nauk SSSR*. 276 (1984) 617.
b) Chang C.H., Porter R.F., Bauer S. H., *J. Am. Chem. Soc.*, 92 (1970) 5313.
c) Klimova E.I., Klimova T., Flores Alamo M., Méndez Stivalet J. M., Ruiz Ramirez L., Backinowsky V., Martínez García M., *J. Heterocycl. Chem.*, 48 (2011) 441.



7.2 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo.



Esquema 30

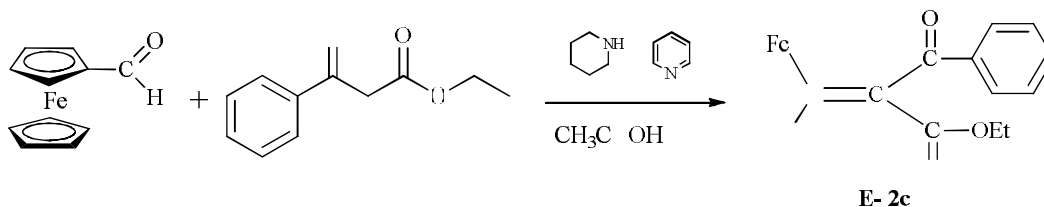
Una mezcla de ferrocenilcarbaldehído (20 mmol), acetoacetato de etilo (25 mmol), piperidina (1.0 mL), piridina (1.0 mL) y CH_3COOH glacial (2.0 mL) y benceno (100 mL) se calentó a reflujo durante 12 hrs. Las aminas fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica separada al vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de Al_2O_3 (Brockmann actividad III), utilizando como eluyente con una mezcla de 4:1 hexano-diclorometano, obteniéndose 2.5 g de *Z*-2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo **2a** (45%, p.f. 75-77°C, sólido rojo) y 2.1 g de *E*-2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo **2b** (32%, líquido rojo).

^1H NMR de **2a** (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.36 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.32 (s, 3 H, CH_3), 4.19 (s, 5 H, C_5H_5), 4.35 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.46 (m, 2 H, C_5H_4), 4.49 (m, 2 H, C_5H_4), 7.44 (s, 1 H, CH=). MS: m/z 326 (M^+)

^1H NMR de **2b** (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.31 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.39 (s, 3 H, CH_3), 4.26 (s, 5 H, C_5H_5), 4.35 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.59 (m, 2 H, C_5H_4), 4.78 (m, 2 H, C_5H_4), 7.46 (s, 1 H, CH=). MS: m/z 326 (M^+)



7.3 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con benzoilacetato de etilo.



Esquema 31.

Una mezcla de ferrocenilcarbaldehído (20 mmol), benzoilacetato de etilo (15 mmol), piperidina (5.0 mL), piridina (5.0 mL) y CH_3COOH glacial (10.0 mL) en benceno (100 mL) se calentó a reflujo durante 12 hrs. Las aminas fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica se evaporó al vacío. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de Al_2O_3 (Brockmann Actividad III) utilizando como eluyente hexano-diclorometano 3:1. Obteniéndose 2.8 g de *E*-2-benzoyl-3-ferrocenil-2-acrilato de etilo **2c**, (72% p.f. 137-139 °C, cristales rojos).

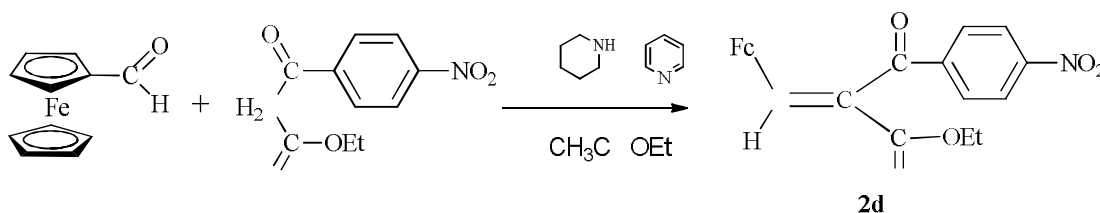
UV: Max: 207.24 ; 0.86977 Min: 236.64 ; 0.46119

^1H NMR de **2d** (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.14 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 4.17 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.14 (s, 5 H, C_5H_5), 4.26 (m, 2 H, C_5H_4), 4.33 (m, 2 H, C_5H_4), 7.78 (s, 1 H, C=), 7.47 (t, 2 H, J = 9.0 Hz, C_6H_4), 7.58 (t, 2 H, J = 9.0 Hz, C_6H_4), 7.97 (d, 1 H, J = 9.0 Hz, C_6H_4).

MS: m/z 388 (M^+)



7.4 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con *p*-nitrobenzoilacetato de etilo.



Esquema 32.

Una mezcla de ferrocenilcarbaldehído (10 mmol), *p*-nitrobenzoilacetato de etilo (15 mmol), piperidina (5.0 mL), piridina (5.0 mL) y CH₃COOH glacial (10.0 mL) y benceno (100 mL) se calentó a reflujo durante 12 hrs. Las aminas residuales fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica se evaporó al vacío. fue recristalizado a partir de etanol (150 mL), al final fue filtrado al vacío. Obteniéndose 2.7 g de 3-ferrocenil-2-*p*-nitrobenzoil-acrilato de etilo **2d**. (62%, p.f. 142-145 °C, cristales violetas).

¹H NMR de **2d** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.16 (t, 3 H, CH₃, *J* = 7.2 Hz), 4.17 (q, 2 H, CH₂, *J* = 7.2 Hz), 4.20 (s, 5 H, C₅H₅), 4.25 (m, 2 H, C₅H₄), 4.39 (m, 2 H, C₅H₄), 7.78 (s, 1 H, C=), 8.10 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz, C₆H₄), 8.31 (d, 2 H, *J* = 9.0 Hz, C₆H₄).

MS: *m/z* 433 (M⁺)



SÌNTESES DE FERROCENILDIHIDROPIRIMIDINAS

7.5 Reacciones de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo 2a-d con sulfato de guanidina (3)

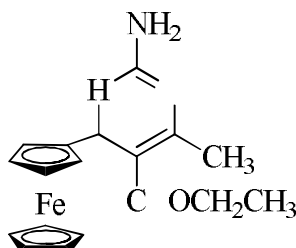
PROCEDIMIENTO GENERAL:

Los compuestos (**2 a-d**) (10 mmol) respectivamente se mezclaron con sulfato de guanidina **3** (7.5 mmol), etanol (60 mL), H₂O (10 mL) y Na₂CO₃ (2.0 g) se agitaron durante 8 h a 80 °C. Posteriormente los disolventes se evaporaron al vacío y el residuo se disolvió en diclorometano (50 mL). La solución se mezcló con Al₂O₃ (20 g) y el disolvente se evaporó al aire. Después este absorbente fue purificado en columna de cromatografía de Al₂O₃ como fase estacionaria y los productos de la reacción fueron separados por cromatografía usando como fase móvil primero éter, luego una mezcla de disolventes como 1:2 diclorometano-éter, 1:10 metanol-diclorometano.

Mediante este procedimiento se obtuvieron los compuestos **4a-c**.



7.6 Caracterización de 2-Amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo **4a**.



4a

Figura 13

Se obtuvieron 0.74 g de **4a** (40 % a partir del **2a**) y 0.81 g de **4a** (41 % a partir del **2b**). En forma de cristales de color amarillo.

p.f. 126-128 °C.

IR (KBr): ν 486, 502, 607, 771, 803, 821, 953, 1004, 1020, 1052, 1077, 1104, 1152, 1198, 1219, 1306, 1338, 1371, 1480, 1571, 1667, 1721, 2252, 2767, 2900, 2980, 3324 cm^{-1} .

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1.32 (3H, t, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 2.32 (3H, s, CH_3), 4.20 (2H, q, CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 4.28 (5H, s, C_5H_5), 4.01 (1H, m, C_5H_4), 4.11 (1H, m, C_5H_4), 4.13 (1H, m, C_5H_4), 4.22 (1H, m, C_5H_4), 5.20 (1H, s, CH), 5.33 (1H, bs, NH), 7.16 (2H, bs, NH_2).

^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6): δ 14.32, 21.79 (2 CH_3), 47.57 (CH), 59.49 (CH_2), 68.62 (C_5H_5), 64.66, 66.09, 67.26, 67.51 (C_5H_4), 92.21 (C_{ipso}Fc), 102.60, 153.14, 162.12, 165.17 (4C).

Análisis Elemental calculado para: $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FeN}_3\text{O}_2$: C, 58.87; H, 5.76; Fe, 15.21; N, 11.44.

Cantidad Encontrada: : C, 58.72; H, 5.83; Fe, 15.34; N, 11.29%.

MS: m/z 367 $[\text{M}]^+$.



7.7 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-fenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo **4b**

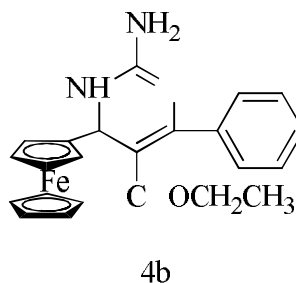


Figura 14

Se obtuvieron 0.95 g de **4b** (40%) en forma de cristales color amarillo.

p.f. 198-199 °C.

IR (KBr): ν 483, 511, 621, 780, 812, 821, 973, 1001, 1019, 1042, 1083, 1101, 1161, 1200, 1223, 1314, 1337, 1392, 1475, 1548, 1573, 1682, 1716, 2259, 2781, 2910, 3004, 3341 cm^{-1} .

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.83 (3H, t, CH_3 , $J = 6.9$ Hz), 3.76 (2H, q, CH_2 , $J = 6.9$ Hz), 4.23 (5H, s, C_5H_5), 3.99 (1H, m, C_5H_4), 4.06 (1H, m, C_5H_4), 4.09 (1H, m, C_5H_4), 4.18 (1H, m, C_5H_4), 5.12 (1H, s, CH), 6.42 (1H, bs, NH), 7.10 (2H, bs, NH_2), 7.16 (2H, m, C_6H_5), 7.22 (3H, m, C_6H_5).

^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.89 (CH_3), 47.82 (CH), 56.46 (CH_2), 69.04 (C_5H_5), 66.01, 66.66, 67.93, 68.29 (C_5H_4), 89.18 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 121.05, 126.99, 128.72 (C_6H_5), 99.13, 134.87, 147.42, 157.84, 160.11 (5C).

Análisis Elemental Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{FeN}_3\text{O}_2$: C, 64.35; H, 5.40; Fe, 13.01; N, 9.79 %

Cantidad Encontrada: C, 64.48; H, 5.29; Fe, 13.12; N, 9.82%

MS: m/z 429 $[\text{M}]^+$.



7.8 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo **4c**.

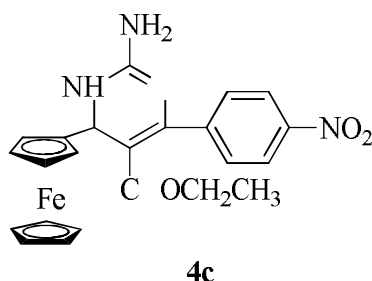


Figura 15

Se obtuvieron 0.95 g de **4c** (40%) en forma de cristales color naranja.

p.f. 195-196 °C.

IR (KBr): ν 486, 503, 609, 784, 806, 821, 969, 1002, 1021, 1039, 1080, 1105, 1152, 1202, 1217, 1315, 1337, 1389, 1479, 1547, 1570, 1678, 1712, 2264, 2779, 2908, 3006, 3325 cm^{-1} .

^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.85 (3H, t, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 3.80 (2H, q, CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 4.23 (5H, s, C_5H_5), 3.99 (1H, m, C_5H_4), 4.07 (1H, m, C_5H_4), 4.09 (1H, m, C_5H_4), 4.19 (1H, m, C_5H_4), 5.14 (1H, s, CH), 6.56 (1H, bs, NH), 7.20 (2H, bs, NH_2), 7.38 (2H, d, C_6H_4 , $J = 8.7$ Hz), 8.13 (2H, d, C_6H_4 , $J = 8.7$ Hz).

^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.83 (CH_3), 48.01 (CH), 58.54 (CH_2), 68.45 (C_5H_5), 65.02, 65.83, 67.45, 67.57 (C_5H_4), 94.28 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 122.65, 129.75 (C_6H_4), 99.46, 146.29, 149.75, 156.03, 158.04, 165.68 (6C).

Análisis Elemental Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{FeN}_4\text{O}_4$: C, 58.25; H, 4.68; Fe, 11.77; N, 11.80 %.

Cantidad Encontrada: C, 58.34; H, 4.57; Fe, 11.87; N, 11.69%.

MS: m/z 474 $[\text{M}]^+$.

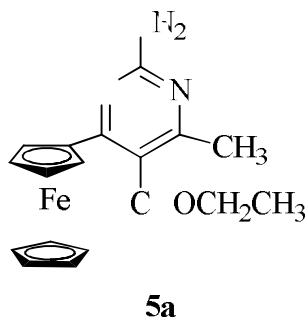


7.9 SÍNTESIS DE FERROCENILPIRIMIDINAS

Reacciones de 2-amino-6-ferrocenildihidropirimidinas-5-carboxilatos de etilo con diacetoxi yodobenceno

PROCEDIMIENTO GENERAL

La mezcla de compuestos **4a**, **4b** o **4c** (3 mmol), con diacetoxiyodobenceno (1,3 g, 4 mmol), diclorometano (60 mL) y 1,5 g Na_2CO_3 , se agitó durante 1 h a 20 °C. El disolvente fue evaporado al vacío, el residuo se mezcló con Al_2O_3 (Brockman actividad III) (10 g) y el absorbente se aplicó a la columna con Al_2O_3 como fase estacionaria. La fase móvil primero es de hexano y posteriormente una mezcla de disolventes de 2:1 de hexano-éter.

**7.10 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo****5a.****Figura 16**

Se obtuvieron 1.4 g de **7a** (70 %) en forma de cristales color rojo.

p.f. 120-121 °C.

IR (KBr): ν 491, 793, 820, 923, 1002, 1061, 1086, 1120, 1181, 1200, 1233, 1232, 1331, 1368, 1472, 1565, 1642, 1719, 2931, 2934, 2971, 3065, 3018, 332 cm^{-1} .

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1.34 (3H, t, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 2.34 (3H, s, CH_3), 4.36 (2H, q, CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 4.11 (5H, s, C_5H_5), 4.40 (2H, m, C_5H_4), 4.80 (2H, m, C_5H_4), 5.32 (2H, bs, NH_2).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3): δ 13.99, 22.18 (2 CH_3), 61.47 (CH_2), 70.11 (C_5H_5), 69.29, 70.55 (C_5H_4), 80.38 (C_{ipsoFc}), 115.94, 161.52, 164.95, 165.28, 169.62 (5C).

Análisis Elemental calculado para: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{FeN}_3\text{O}_2$: C, 59.20; H, 5.24; Fe, 15.30; N, 11.50.

Cantidad Encontrada: C, 59.27; H, 5.16; Fe, 15.43; N, 11.39%.

MS: m/z 365 $[\text{M}]^+$



7.11 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidina-5-carboxilato de etilo 5b

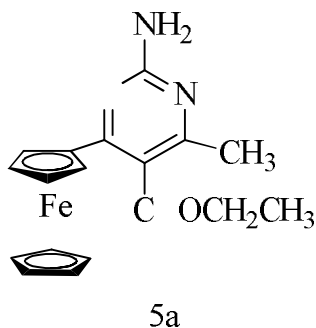


Figura 17

Se obtuvieron 1.8 g de 7b (72%) en forma de cristales color rojo.

P.f. 149-150 °C

IR (KBr): ν 482, 531, 706, 760, 811, 858, 962, 1001, 1018, 1032, 1080, 1105, 1147, 1223, 1281, 1335, 1362, 1374, 1449, 1499, 1664, 1715, 2924, 3066, 3231 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0.99 (3H, t, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 4.10 (2H, q, CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 4.14 (5H, s, C_5H_5), 4.44 (2H, m, C_5H_4), 4.91 (2H, m, C_5H_4), 5.23 (2H, bs, NH_2), 7.43 (3H, m, C_6H_5), 7.58 (2H, m, C_6H_5).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 13.79 (CH_3), 61.23 (CH_2), 69.67 (C_5H_5), 69.34, 70.35 (C_5H_4), 81.14 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 128.17, 128.37, 129.15 (C_6H_5), 104.91, 139.64, 161.73, 165.43, 166.29, 169.81 (6C).

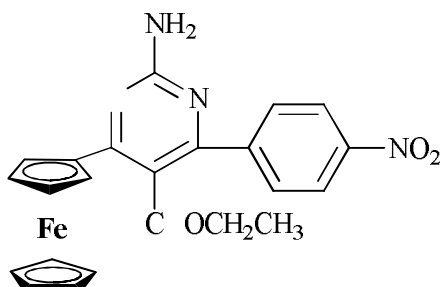
Análisis Elemental calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{FeN}_3\text{O}_2$: C, 64.65; H, 4.56; Fe, 13.07; N, 9.83

Cantidad Encontrada: C, 64.73; H, 4.47; Fe, 13.12; N, 9.71%.

MS: m/z 427 $[\text{M}]^+$.



7.12 Caracterización de 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)pirimidina-5-carboxilato de etilo 5c.



5c

Figura 18

Se obtuvieron 1.8 g de 7c (72%) en forma de cristales color rojo.

p.f. 163-164 °C.

IR (KBr): ν 477, 534, 711, 762, 812, 852, 960, 1002, 1021, 1038, 1079, 1100, 1148, 1229, 1291, 1339, 1363, 1395, 1472, 1523, 1568, 1661, 1718, 2942, 3096, 3229 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 1.06 (3H, t, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 4.13 (2H, q, CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 4.15 (5H, s, C_5H_5), 4.48 (2H, m, C_5H_4), 4.91 (2H, m, C_5H_4), 5.18 (2H, bs, NH_2), 7.74 (2H, d, C_6H_4 , $J = 8.4$ Hz), 8.30 (2H, d, C_6H_4 , $J = 8.4$ Hz).

^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3): δ 13.82 (CH_3), 61.92 (CH_2), 70.40 (C_5H_5), 69.88, 71.26 (C_5H_4), 79.96 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 123.64, 129.35 (C_6H_4), 115.65, 137.60, 147.23, 154.87, 161.75, 163.15, 168.97 (7C).

Análisis Elemental calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{FeN}_4\text{O}_4$: C, 58.49; H, 4.27; Fe, 11.82; N, 11.86

Cantidad Encontrada C, 58.57; H, 4.19; Fe, 11.74; N, 11.75%.

MS: m/z 472 $[\text{M}]^+$.



7.13 ACTIVIDAD BIOLOGICA

Se realizaron pruebas *in vitro* e *in vivo* para determinar la actividad biológica de las ferrocenil dihidropirimidinas y ferrocenilpirimidias obtenidas, los estudios fueron realizados en el Instituto de Química de la UNAM, en el departamento de pruebas biológicas, las pruebas realizadas fueron las siguientes:

- Modelo de Edema inducido por TPA en la oreja de ratón.
- Viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón.
- Citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano.

Los animales utilizados en los ensayos se adquirieron en el bioterio del instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Se manipularon de acuerdo con las condiciones establecidas por el “Comité de usos y cuidados de animales de experimentación”, en el proyecto de la Ley General de Salud (PROY-NOM 087-ECOL-SSA1-2000). Dentro de esa norma se establece su colocación dentro de cajas de polipropileno translúcidas, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h, y en condiciones ambientales controladas (20 – 22 °C de temperatura y 50 – 60 % de humedad). Los animales recibieron agua y una dieta estándar de laboratorio.

7.14 Método *in vivo*: Modelo de Edema inducido por TPA

Condiciones generales

Se utilizaron ratones machos de la cepa NIH con un peso comprendido entre 25 y 30 g. Los animales se dividieron al azar en los siguientes grupos (n=4–9), el grupo control (recibió TPA más el vehículo), el grupo de prueba (recibió TPA más las sustancias problemas) y de referencia (recibieron TPA más indometacina).

Procedimiento

Los ratones se anestesiaron con 0.25 mL de Fenobarbital (Sedalforte, 0.063 g/mL) por vía intraperitoneal. Posteriormente, se administró una disolución etanólica de 2.5 µg/10 µL de TPA en el pabellón de la oreja derecha de todos los animales (5 µL de cada lado). Las sustancias de prueba y los fármacos de referencia se aplicaron 10 min después (10 µL en cada lado). La oreja izquierda sirvió como control negativo; primero se administraron 10 µL de etanol, y luego 20 µL del vehículo correspondiente. Después de 4 h, los animales se



sacrificaron por dislocación cervical y de ambas orejas se obtuvieron las biopsias con ayuda de un sacabocados circular de 9 mm de diámetro.

El edema se determinó por la diferencia de pesos (en mg) del tejido tratado (oreja derecha), respecto del tejido no tratado (oreja izquierda). Los porcentajes de inhibición del edema (% IE) se calcularon de acuerdo con la ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición Edema (IE)} = 100 - \left[\left(\frac{B}{A} \right) \times 100 \right] \dots\dots\dots \text{Ecuación 1.}$$

Dónde: “A” valor promedio del edema en el grupo control, “B” valor promedio del edema en el grupo de prueba o grupo de referencia.

El modelo de Edema inducido por TPA se realizó a las pirimidinas ferrocenilicas obtenidas, estos resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7: Porcentaje de inhibición de edema en oreja de ratón a concentración del compuesto 5a-c de 50 μ M.

Compuesto	Estructura	% Inhibición de edema de oreja de Ratón
5a		56.47
5b		78.32
5c		40.12
Indometacina (control) 1 μ mol/ml		84.00



7.14 Ensayo de viabilidad celular en macrófagos peritoneales de ratón

Las células se obtuvieron de la cavidad peritoneal de ratones Swiss Y CD-1, hembras de 25-30 g (n=3-5). El lipopolisacárido (LPS) provenía de *Escherichia coli* serotipo 055:B5 (Sigma).

Para evaluar los compuestos **4a-c** y **5a-c**, estos se disolvieron en etanol, la concentración final de etanol en los cultivos celulares fue menor al 0.1% y se evaluó un extracto acuoso del fármaco de referencia (Adriamicina) a 100 μ M.

El procedimiento se realizó de acuerdo a las especificaciones establecidas.⁹⁹

Aislamiento y cultivo primario de macrófagos.

En el peritoneo de los ratones se aplicó 1 mL de medio de tioglicolario Brewer (BD Bioxon, Becton Dickinson de México) al 3% p/v. Después de 72 h, se sacrificaron por inhalación con CO₂. En la pared abdominal se administraron 10 ml de medio de cultivo modificado Dulbeccos (DMEM) (GIBCO, Gran Isla, Nueva York, USA), suplementado con penicilina (50 μ g/ml), estreptomicina (50 UI/ml) y suero bovino fetal (SBF, GIBCO) al 5%. Se realizó un masaje abdominal vigoroso y se extrajo el líquido peritoneal. A continuación se colocó el líquido peritoneal obtenido, en tubos de polipropileno y se centrifugó durante 6 min (3400 rpm, 20 °C). Los eritrocitos contaminantes en la muestra obtenida se destruyeron con agua desionizada. El extracto celular final se suspendió en DMEM, y se depositó en platos de cultivo de 24 pozos (Becton Dickinson, Oxnard, California, USA) a una concentración de 1×10^6 células/ml. Las placas se colocaron en una incubadora de CO₂ al 5% durante 2 h, 37 °C. Posteriormente, se lavaron en medio fresco adicionado con SBF al 10%.

⁹⁹ Fushiya S., Kabe Y., Ilegaya Y., Takano F., *Planta Medica.*, 64 (1998) 598.



Viabilidad celular.

Los efectos de los compuestos de dinidropirimidinas **4a-c** y pirimidinas ferrocenilicas **5a-c**, se evaluaron para conocer su viabilidad celular por medio del método colorimétrico MTT. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 8.

Procedimiento.

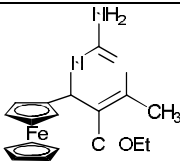
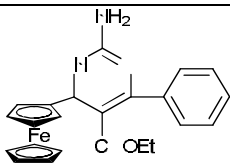
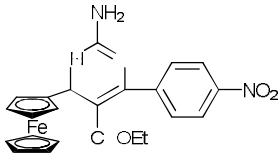
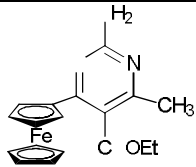
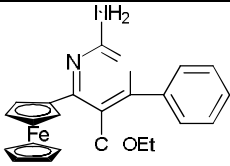
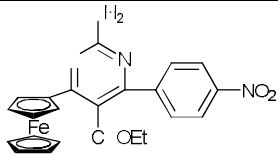
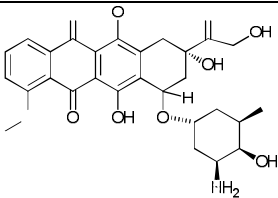
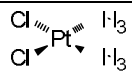
Se preparó una disolución de MTT (Sigma) en amortiguador de fosfatos (Sigma) a una concentración final de 5 mg/mL, en seguida se adicionó a la placa con células tratadas (10 µL/pozo). Posteriormente, la placa se incubó durante 4h a 37°C, en atmósfera de CO₂ al 5%. Los cristales de formazan generados en cada pozo se disolvieron con DMSO (100 µL). La placa se mantuvo en agitación durante 10 min, posteriormente se midieron las absorbancias a 515 nm y 690 nm de referencia.

Los resultados se expresan como porcentaje (%) de células vivas, según la ecuación 2.

$$\% \text{ Viabilidad celular} = 100 \times \left(\frac{\text{Densidad óptica de células tratadas}}{\text{Densidad óptica de células de controles}} \right) \dots\dots\dots \text{Ecuación 2.}$$



Tabla 8: Resultados de viabilidad celular realizados en macrófagos peritoneales (MØ) a concentración de 50 µM en DMSO.

compuesto	Estructura	Viabilidad celular (MØ)
4a		35.6±4.7
4b		34.0±2.8
4c		72.5±3.1
5a		36.6±3.4
5b		31.3±4.3
5c		42.9±1.6
Adriamicina		32.48±2.8
Cisplatino		22.9±5.9

Los resultados expresan ± error estándar (SEM) obtenido de forma independiente en 3 experimentos realizados a las 48 horas.



7.15 Ensayo de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano.

Condiciones generales

La citotoxicidad en líneas tumorales se determinó de acuerdo con los protocolos establecidos por el Instituto Nacional de Cáncer (INC) USA. Se evaluaron los compuestos de ferrocenildihidropirimidinas **4a-c** y de ferrocenilpirimidinas **5a-c**.

PROCEDIMIENTO

Las líneas celulares se cultivaron en el medio RPMI-1640 suplementado con 10% de SBF (Suero Fetal Bovino) inactivado, 100 UI/mL de penicilina G, 100 µg/mL de sulfato de estreptomicina, 0.25 µg/mL de anfotericina B (GIBCO) y 2 mM de L-glutamina (GIBCO). Se conservaron a 37 °C en una atmosfera de CO₂ al 5 %.

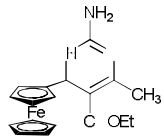
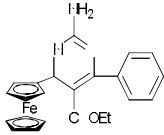
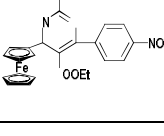
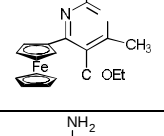
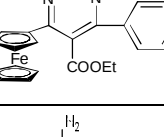
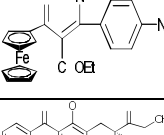
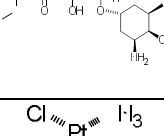
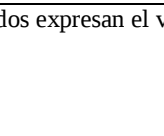
La prueba se realizó *in vitro* frente a seis líneas celulares de cáncer humano K-562 (leucemia mieloide crónica humana), MCF-7 (adenocarcinoma mamario humano), U-251 (glioblastoma humano), PC-3 (Prostático humano), HCT-15 (adenocarcinoma de colón humano) y SKLU-1 (adenocarcinoma de pulmón humano). Las líneas celulares fueron suministradas por el National Cancer Institute (USA). La placa se incubó durante 24 h a 37 °C en CO₂ al 5%. Posteriormente, se adicionaron 100 µL de las sustancias de referencia y de prueba **4a, 4b, 4c** para las ferrocenildihidropirimidinas y **5a, 5b, 5c** para las ferrocenilpirimidinas. La placa se incubó por 48 h en las mismas condiciones. Los grupos testigo contenían solo un volumen equivalente de cada línea celular. Después, las células se fijaron con disolución acuosa de ácido tricloroacético al 50 % p/v (50 µL/pozo). La placa se incubó durante 60 min a 4 °C. El sobrenadante se desechó, la placa se lavó 3 veces con agua destilada desionizada y se dejó secar al aire. Las células se trataron con 100 µL de sulforrodamina B (SRB, sigma) al 0.4 % durante 30 min, a temperatura ambiente. Posteriormente, la placa se lavó tres veces con una disolución de ácido acético al 1 %. El colorante se extrajo con una disolución de 10 mM de base Tris (sigma) no amortiguada. Las absorbencias se determinaron en un lector de placa a una λ de 515 nm. La intensidad del color es directamente proporcional al número de células vivas, por lo tanto, a mayor coloración menor porcentaje de inhibición del crecimiento celular. La citotoxicidad se calculó conforme con la ecuación 3.

$$\% \text{ Citotoxicidad celular} = 100 - \left[\left(\frac{B}{A} \right) \times 100 \right] \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$



En donde **A** corresponde al valor de las células sin tratar, **B** es el valor de las células tratadas con las sustancias de prueba o de referencia. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Inhibición del crecimiento en células de cáncer humano (monitoreo primario) para los compuestos **4a-c** y **5a-c** a una concentración de 50 μ M en DMSO.

compuesto	Estructura	U251 (SNC)	PC-3 (Próstata)	K562 (Leucemia)	HCT-15 (Colon)	MCF-7 (Mama)	SKLU-1 (Pulmón)
4 a		65.4 $\pm$ 4.6	75.3 $\pm$ 1.1	94.6$\pm$5.4	68.9 $\pm$ 15.0	77.7 $\pm$ 6.7	59.6 $\pm$ 4.4
4b		100	100	100	100	100	100
4c		100	100	100	100	100	100
5 a		31.6 $\pm$ 3.5	81.1$\pm$18.9	64.3$\pm$9.3	77.9 $\pm$ 17.9	74.3 $\pm$ 9.2	38.9 $\pm$ 3.6
5b		37.7 $\pm$ 5.0	63.9$\pm$13.0	64.1$\pm$10.5	54.98 $\pm$ 9.7	40.98 $\pm$ 4.7	46.74 $\pm$ 4.3
5c		65.3 $\pm$ 1.7	65.0$\pm$12.2	56.6$\pm$2.1	67.3 $\pm$ 0.2	39.8 $\pm$ 0.05	50.5 $\pm$ 1.3
Adriamicina		84.8 $\pm$ 8.1	44.9 $\pm$ 4.7	86.3 $\pm$ 7.0	81.4 $\pm$ 9.3	76.2 $\pm$ 12.6	82.0 $\pm$ 8.0
Cisplatino		89.9 $\pm$ 8.1	86.7$\pm$4.1	74.4$\pm$2.1	81.8 $\pm$ 7.1	77.9 $\pm$ 2.5	95.8 $\pm$ 2.1

Los resultados expresan el valor medio $\pm$ error estándar (SEM) obtenidos a partir de tres experimentos independientes realizados a las 48 h.



7.16 Determinación de la Concentración inhibitoria media máxima IC_{50}

La IC_{50} es la concentración inhibitoria media máxima que es una medida de la eficacia de un compuesto en función de la inhibición celular biológica o bioquímica, esta medida cuantitativa indica la cantidad de un fármaco en particular u otra sustancia (inhibidor) que se necesita para inhibir un proceso biológico dado. Es determinada mediante la construcción de una curva dosis-respuesta y examina el efecto a diferentes concentraciones del antagonista en la actividad agonista. Los valores de IC_{50} se pueden calcular para un antagonista por la determinación de la concentración necesaria para inhibir la mitad máxima de la respuesta del agonista.

Los valores de IC_{50} son muy dependientes de las condiciones en que se miden, en general cuando mayor sea la concentración del inhibidor, la actividad agonista más se reducirá. El valor de IC_{50} aumenta a medida de que aumenta la concentración del agonista.¹⁰⁰

Las líneas celulares que presentaron mayor sensibilidad en el screening primario fueron PC-3 (Próstata) y K562 (Leucemia) por lo cual se determinó IC_{50} (μM) estos resultados se muestran en la Tabla 10.

¹⁰⁰ a) Marechal E., Roy S., Lafanechere L., *Chemohenomics and Chemical Genetics.*, Ed. Springer, New York, USA (2011) 60.

b) Kerry S., Campbell, Marco Colona, *Natural Killer Cell Protocols, Celular and Protocols, Cellular and Molecular Methods.*, USA. Ed. Humana Press, Totowa, New Jersey, (2005) 317.



Tabla 10: Determinación de la concentración inhibitoria media máxima IC_{50} (μM)% obtenida para las líneas celulares de PC-3 and K562 de los compuestos **4 a-c** y **5 a-c** en DMSO.

Muestra	Estructura	IC_{50} (μM)%	
		PC-3	K562
4a		12.7±1.1	38.3±1.6
4b		8.7±0.7	7.4±0.1
4c		6.6±0.5	8.5±0.2
5 a		64.9±5.9	34.0±0.5
5b		49.4±1.4	24.5±2.3
5c		17.1±1.5	18.0±0.9
Cisplatino		15.9±1.2	15.2±1.4

Los resultados expresan la media $IC_{50} \pm$ error estándar (SEM) obtenidos a partir de tres experimentos independientes realizados a las 48 h.



8. CONCLUSIONES

- * Al condensar compuestos ferrocenales β -dicarbonílicos polinucleofílicos con polielectrófilos en condiciones suaves de reacción se obtienen derivados ferrocenílicos: las amino(ferrocenil) dihidropirimidinas y amino(ferrocenil) pirimidinas aromáticas.
- * Se realizó la síntesis y la caracterización por técnicas espectroscópicas convencionales para tres nuevas dihidropirimidinas ferrocenílicas y tres nuevas pirimidinas aromáticas ferrocenílicas.
- * Se comprobó el potencial citotóxico de las dihidropirimidinas ferrocenílicas y de las pirimidinas ferrocenílicas sintetizadas al mostrar una actividad biológica significativa en las seis líneas celulares de cáncer humano en las que fueron probadas.
- * Se encontró que dos compuestos de ferrocenil dihidropirimidinas **4b** y **4c** tienen una mejor actividad citotóxica en contra de las seis líneas celulares de cáncer y una mejor actividad en el estudio de la IC₅₀.
- * La actividad citotóxica se encuentra en función de los factores moleculares de los compuestos probados que incluyen los sustituyentes en el anillo pirimidínico, los protones de las dihidropirimidinas y la actividad redox del grupo ferrocenílico.

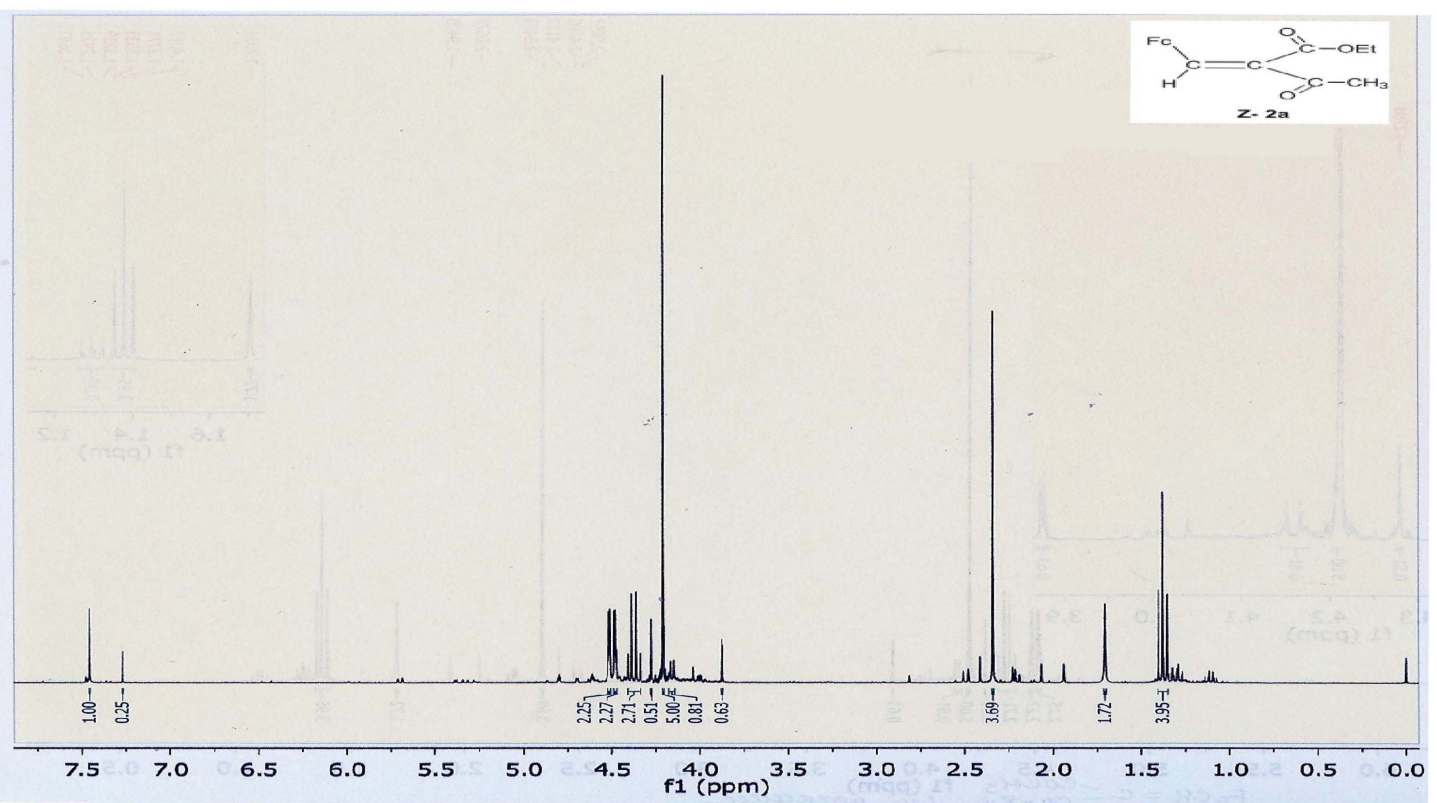


ANEXOS

ESPECTROS DE RMN

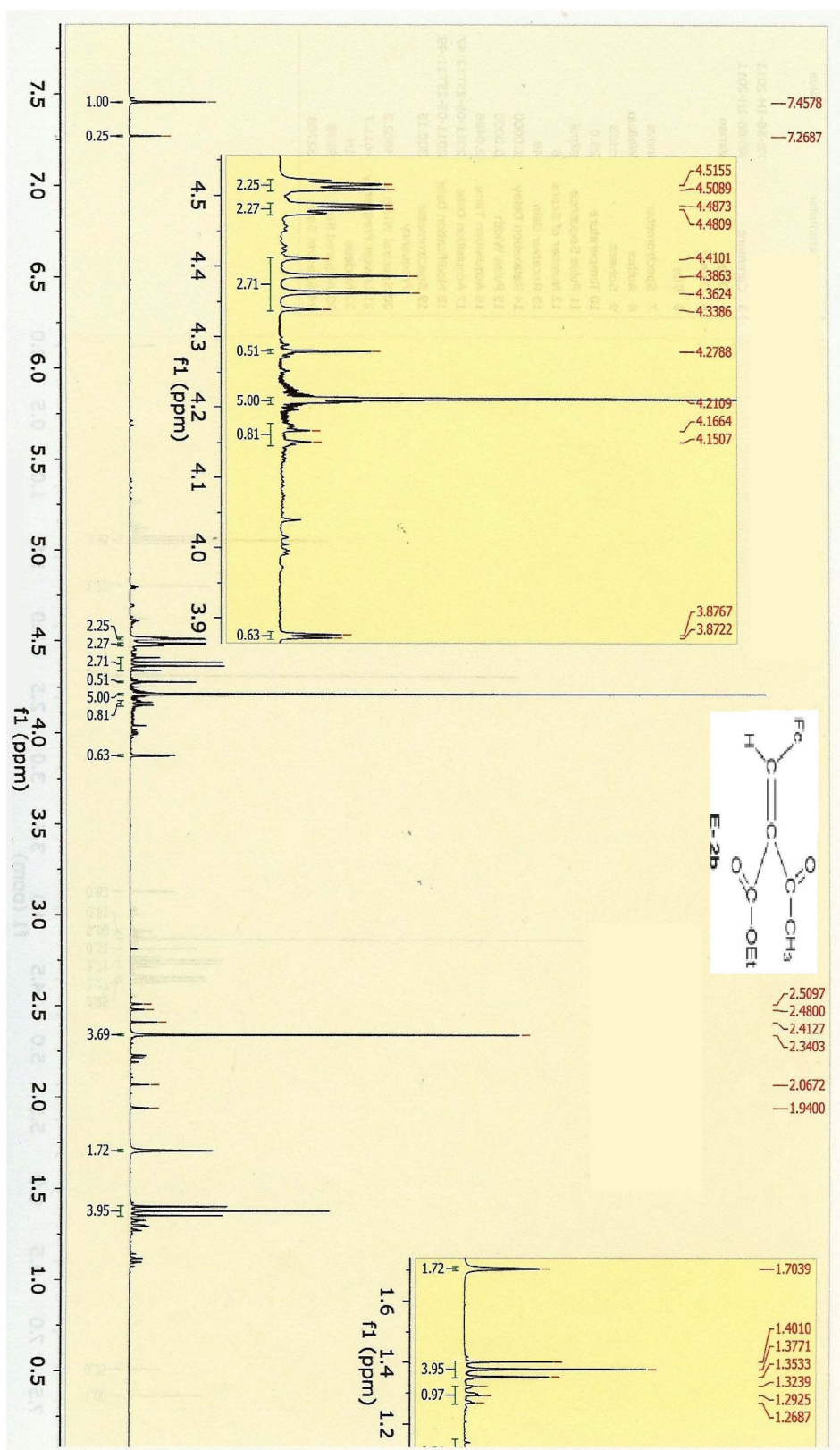


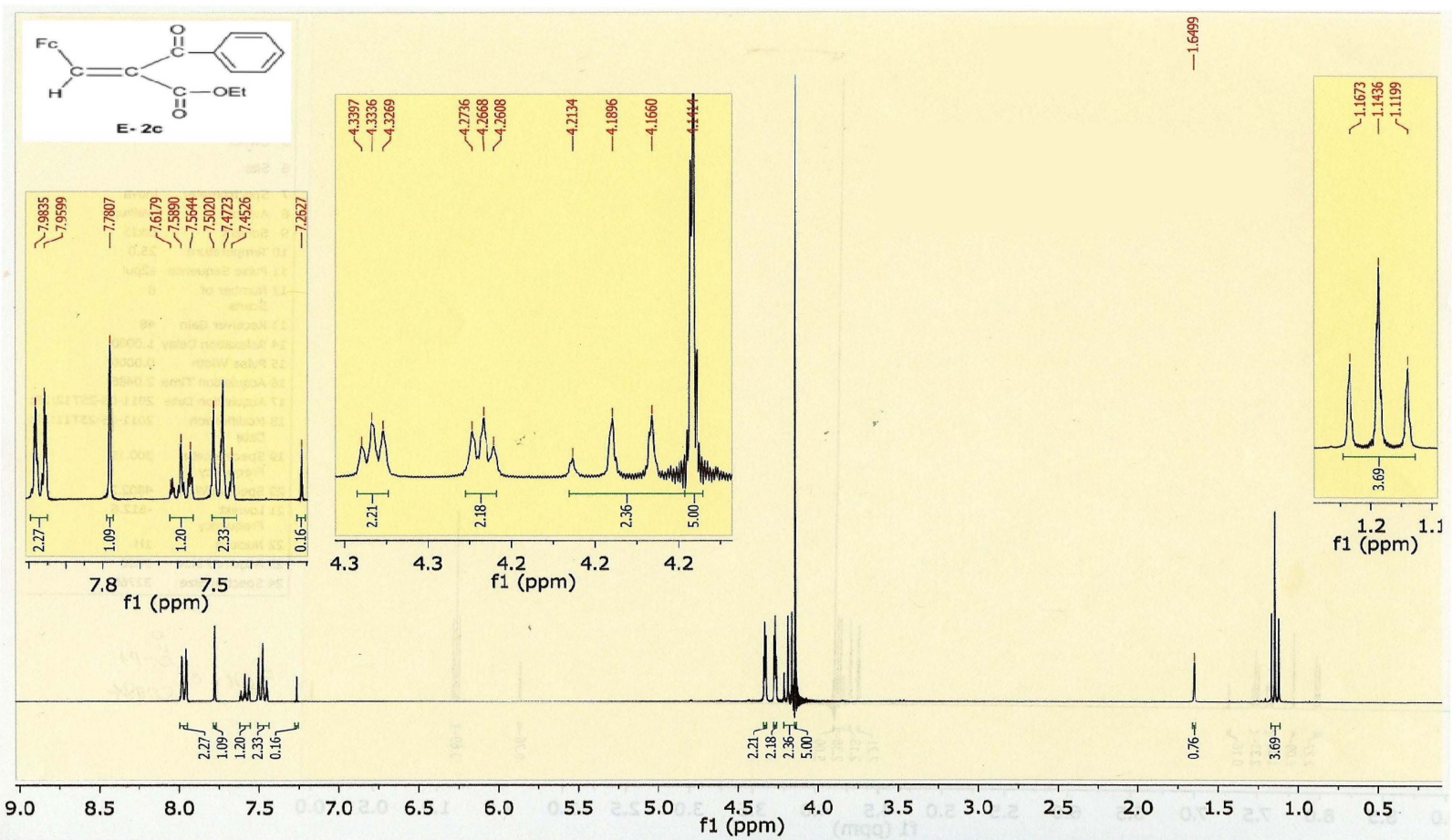
Espectros para los compuestos 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo



Espectro 1. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) Compuesto (**2 a**) Z-2-acetil-3-ferrocenilacrilatos de etilo.

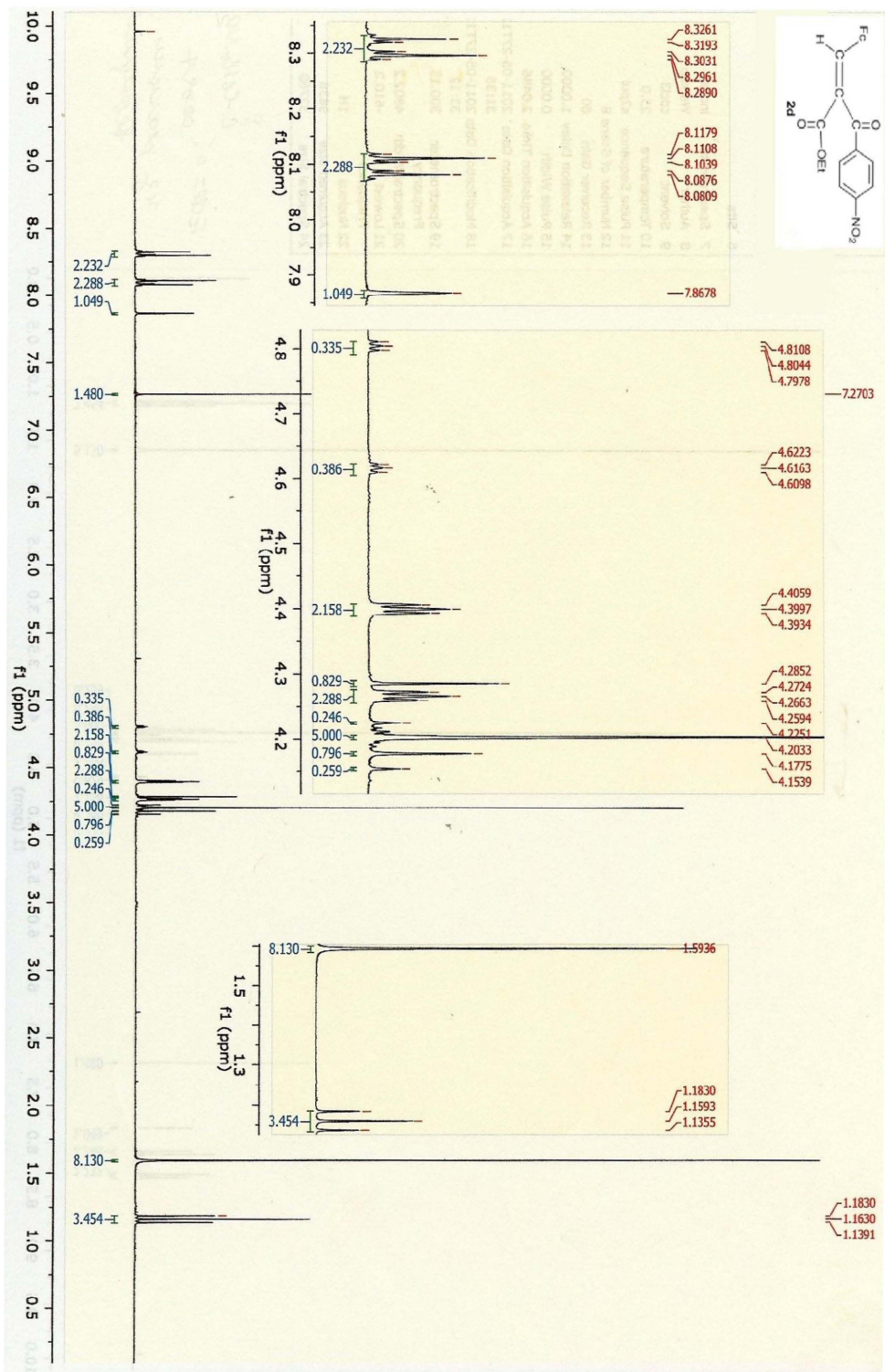
Espectro 2. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) Compuesto (2b) *E*-2-acetil-3-ferrocenilacrilatos de etilo





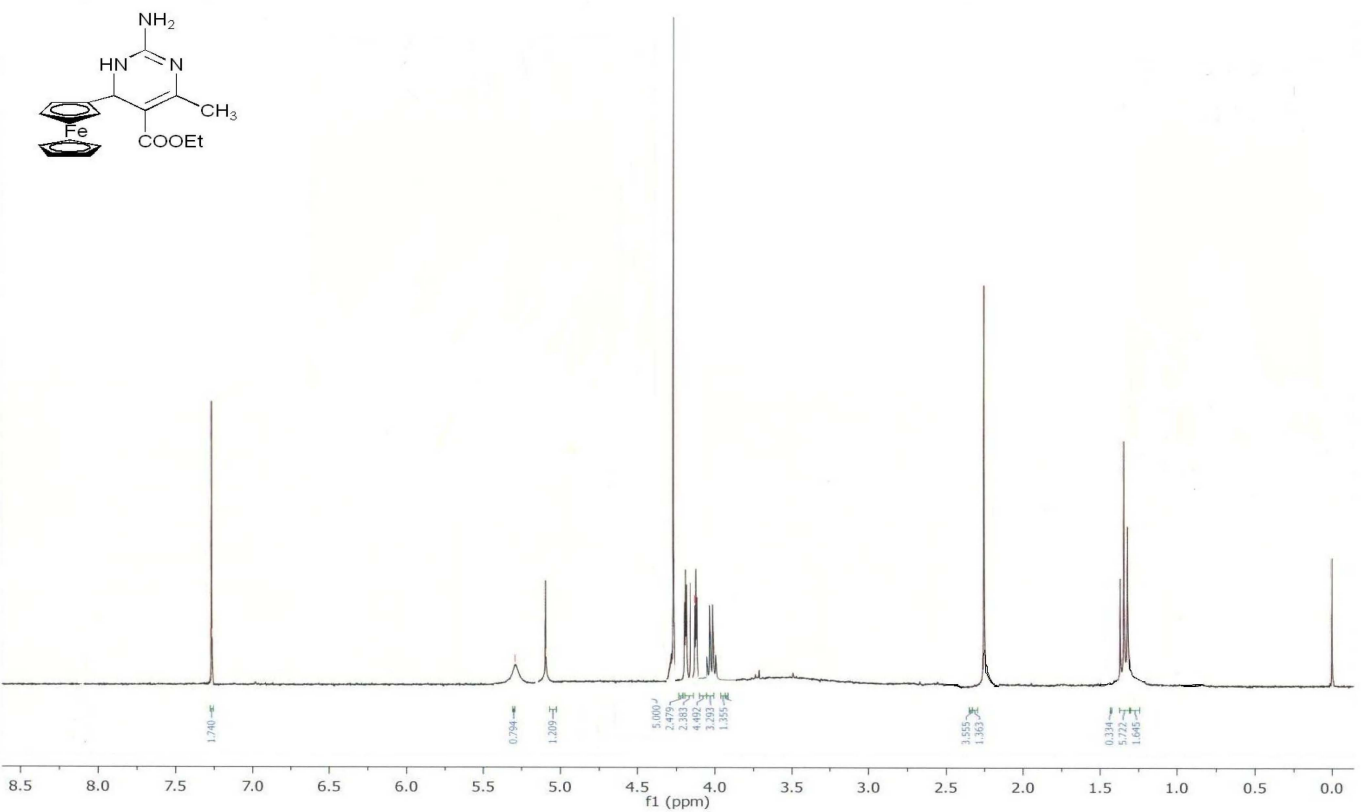
Espectro 3. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) Compuesto (2c) *E*-2-fenil-3-ferrocenilacrilato de etilo

Espectro 4. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) Compuesto (2d) *E*-2-(*p*-nitrobenzoyl)-3-ferrocenil-2-acrilato de etilo.

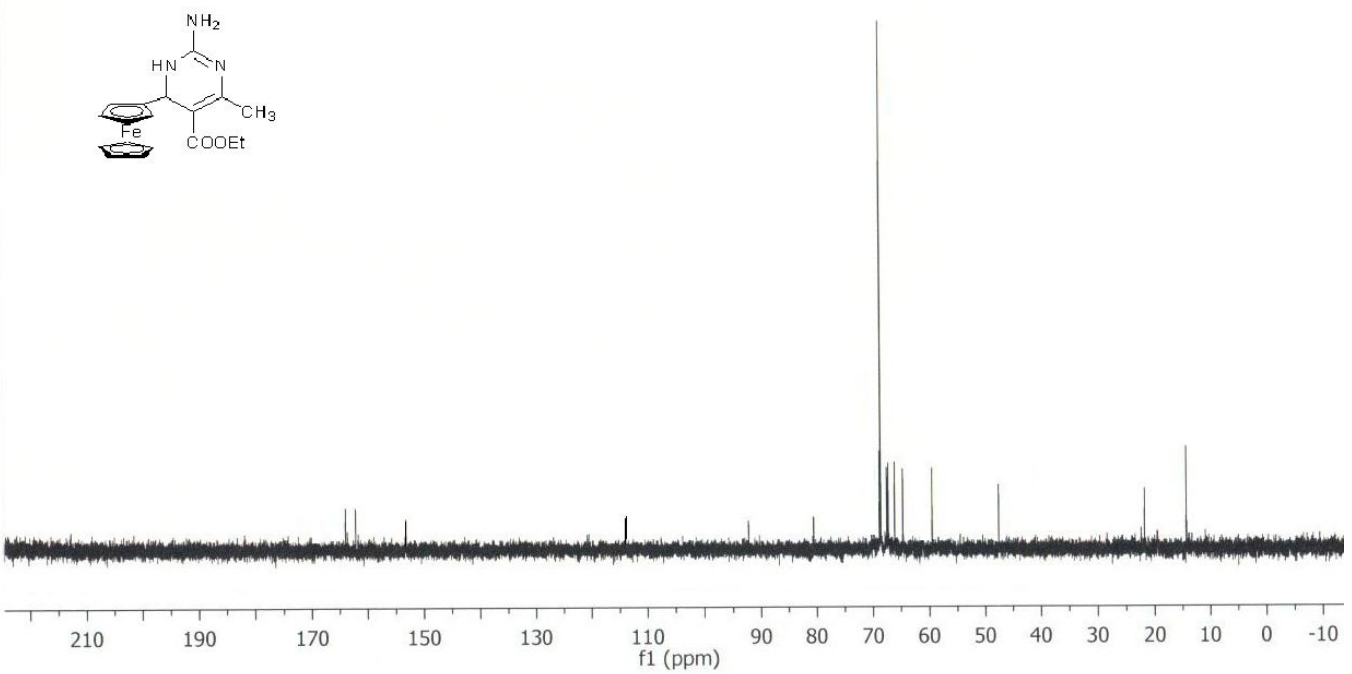




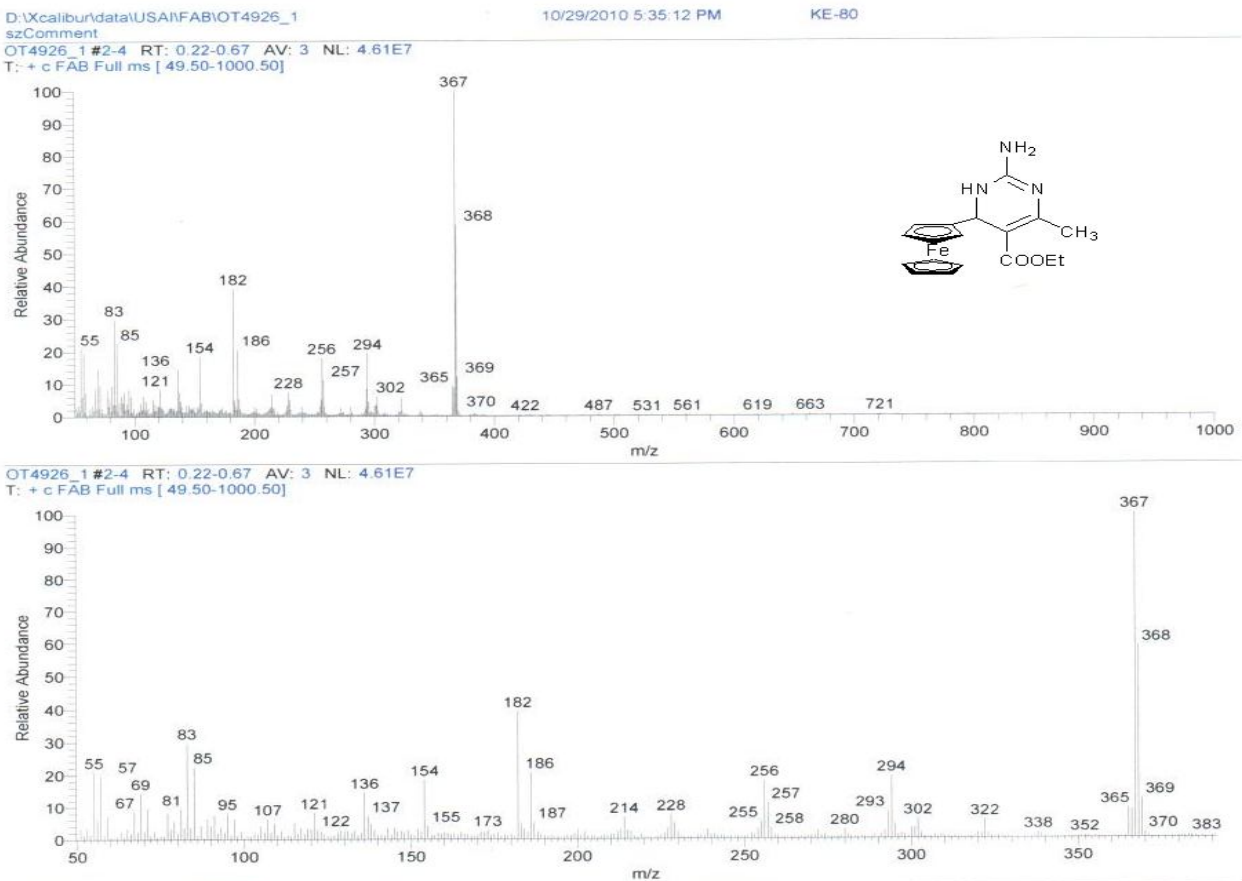
Espectros para los compuestos ferrocenildihidropirimidinas.



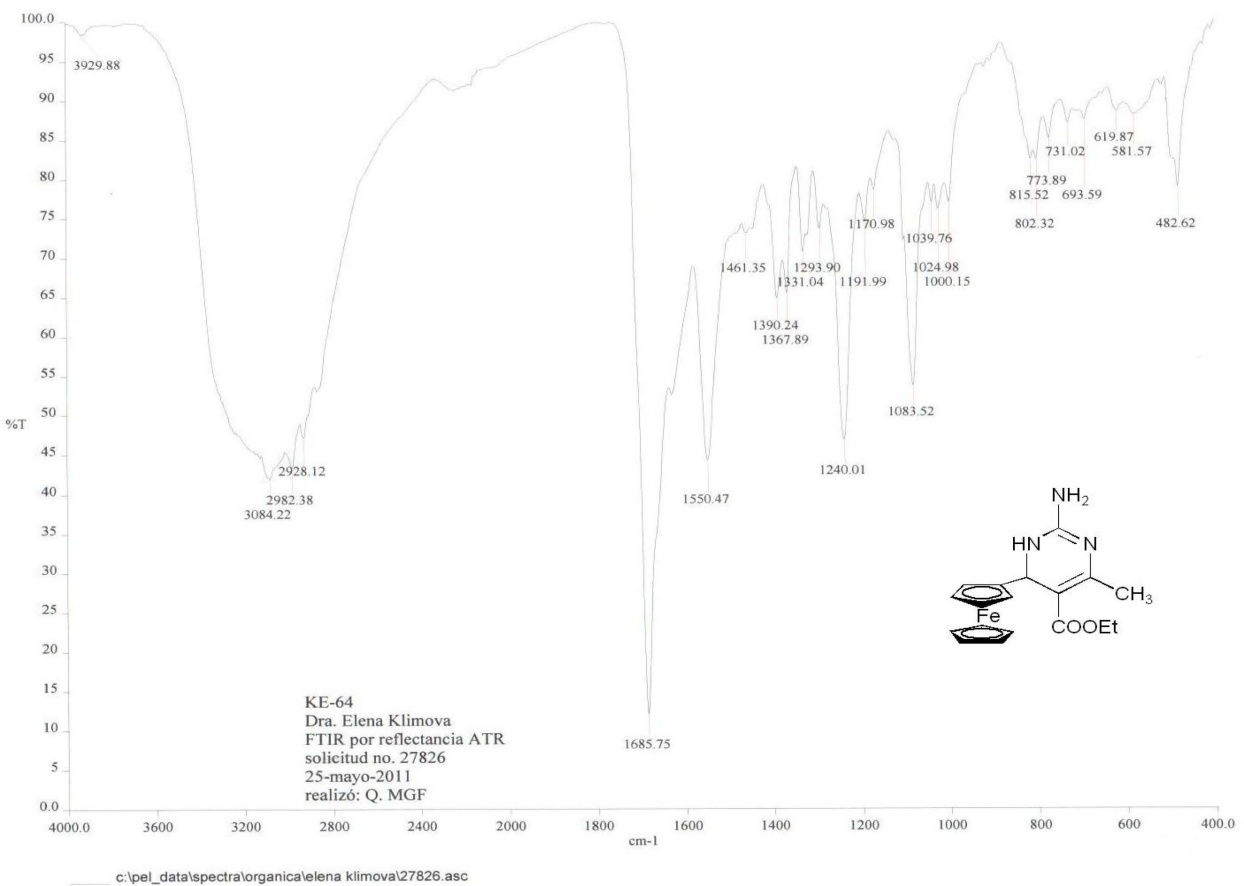
Espectro 5. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) Compuesto (**4 a**) 2-amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo



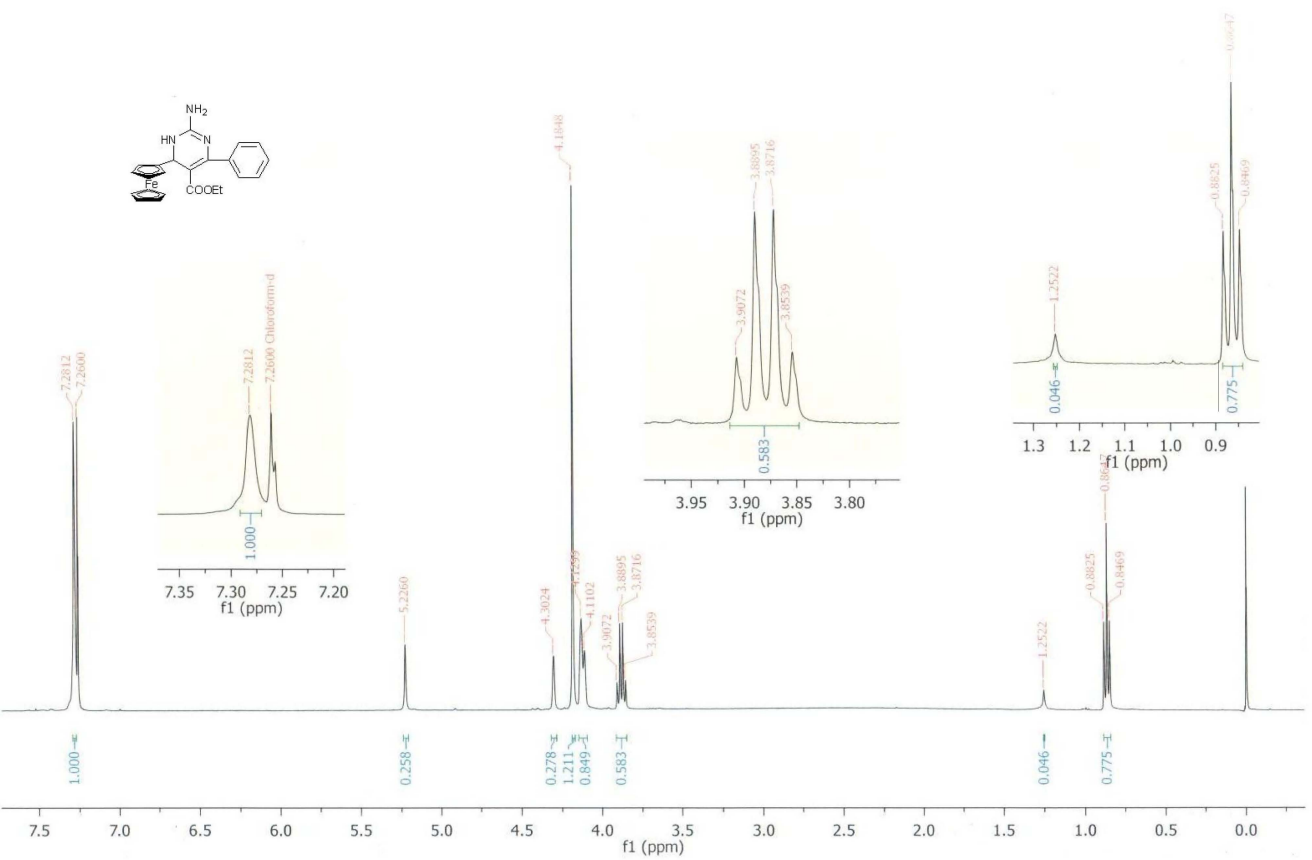
Espectro 6. RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) Compuesto (4 a) 2-amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo.



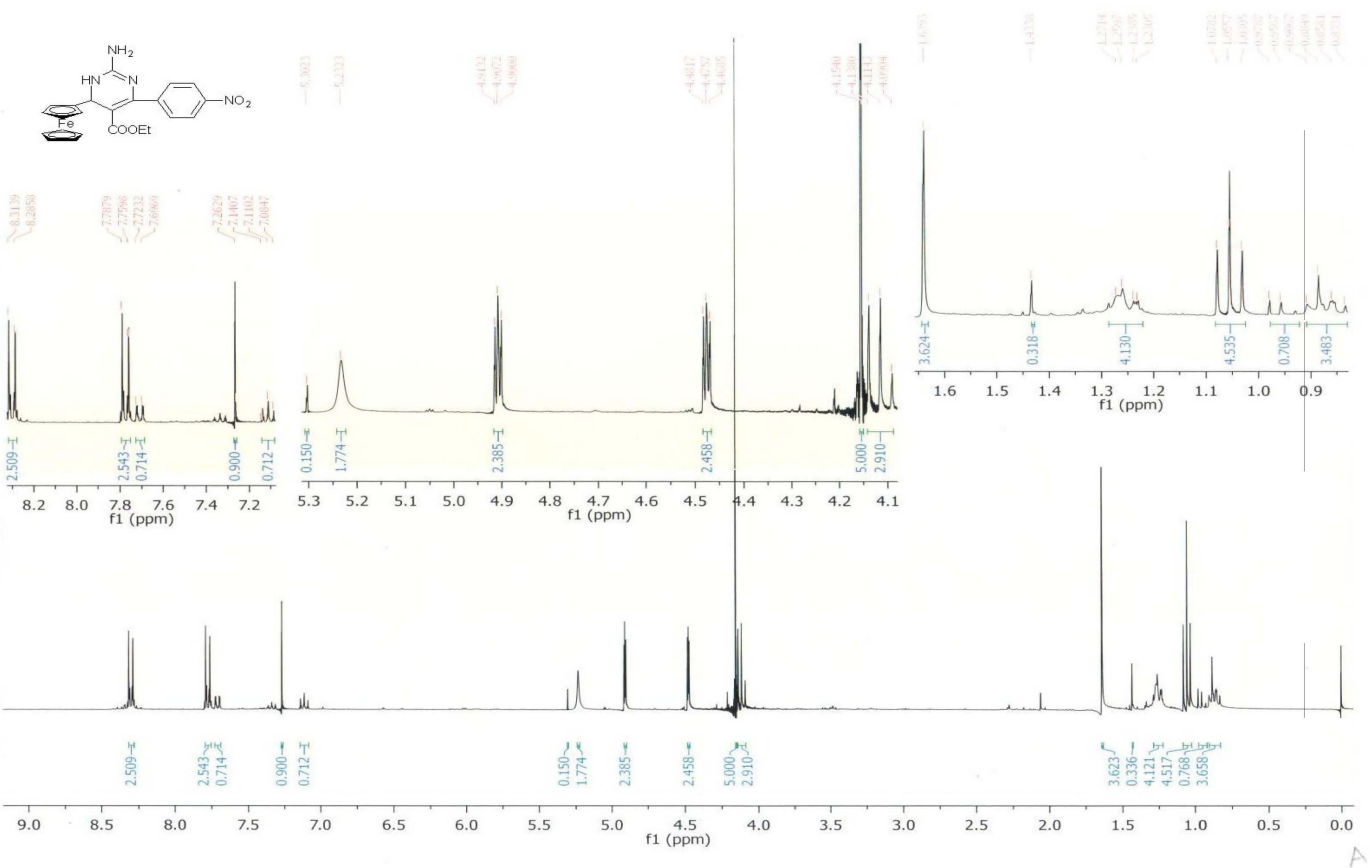
Espectro 7. Espectro de masas del compuesto (**4 a**) 2-amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo



Espectro 8. Espectro de IR del compuesto (4 a) 2-amino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo.

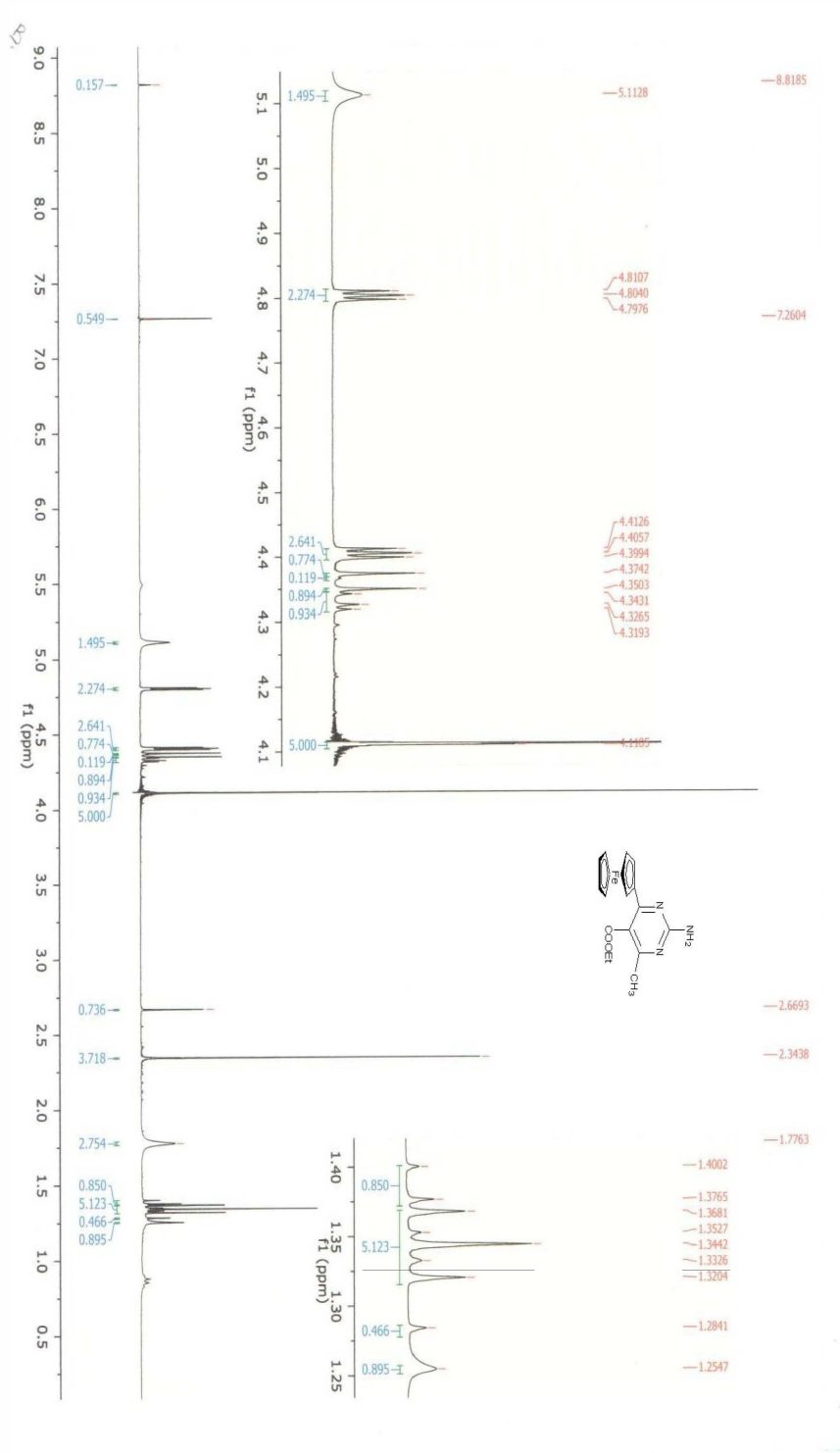


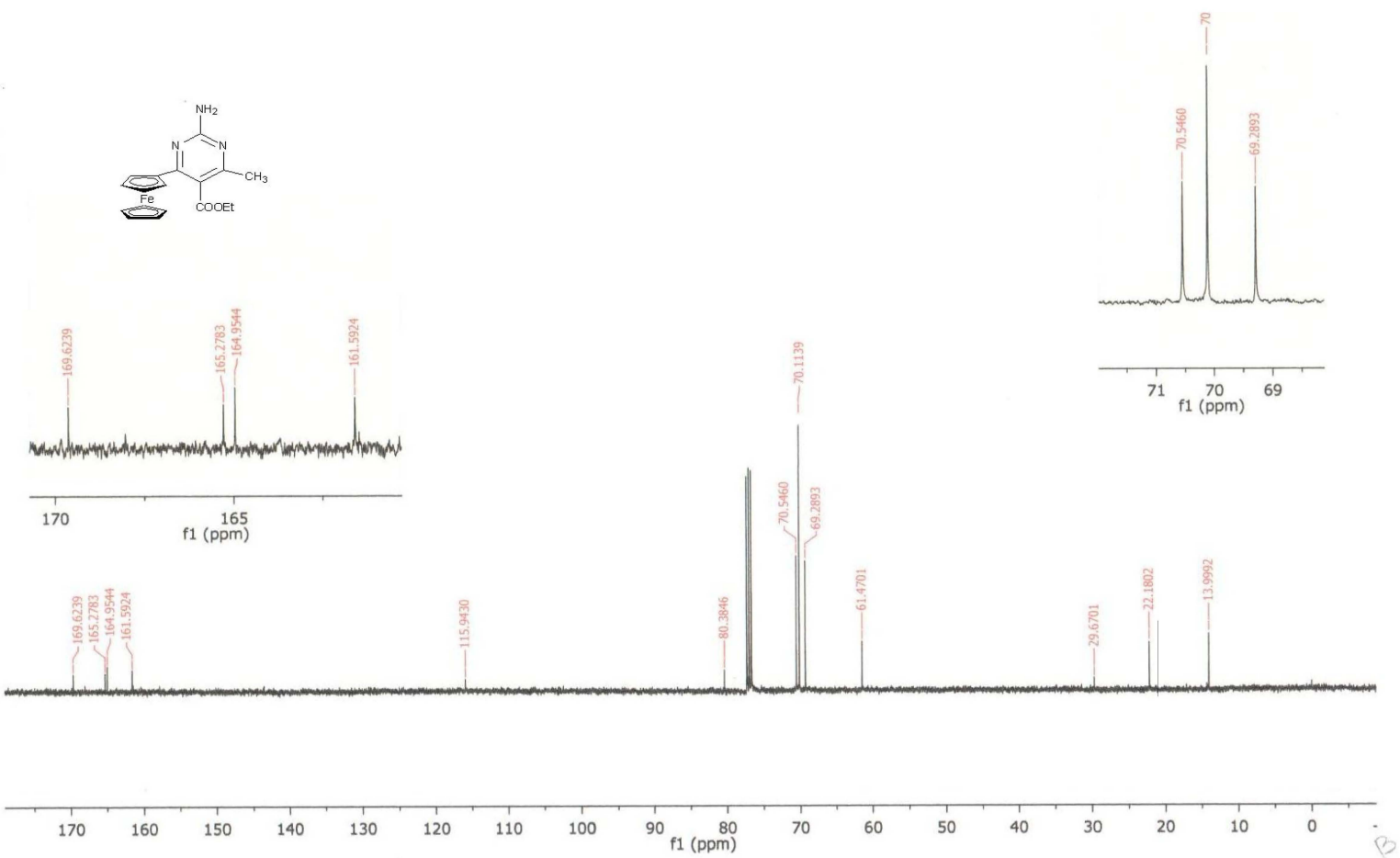
Espectro 9. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) Compuesto (**4b**) 2-amino-6-ferrocenil-4-benzoil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo



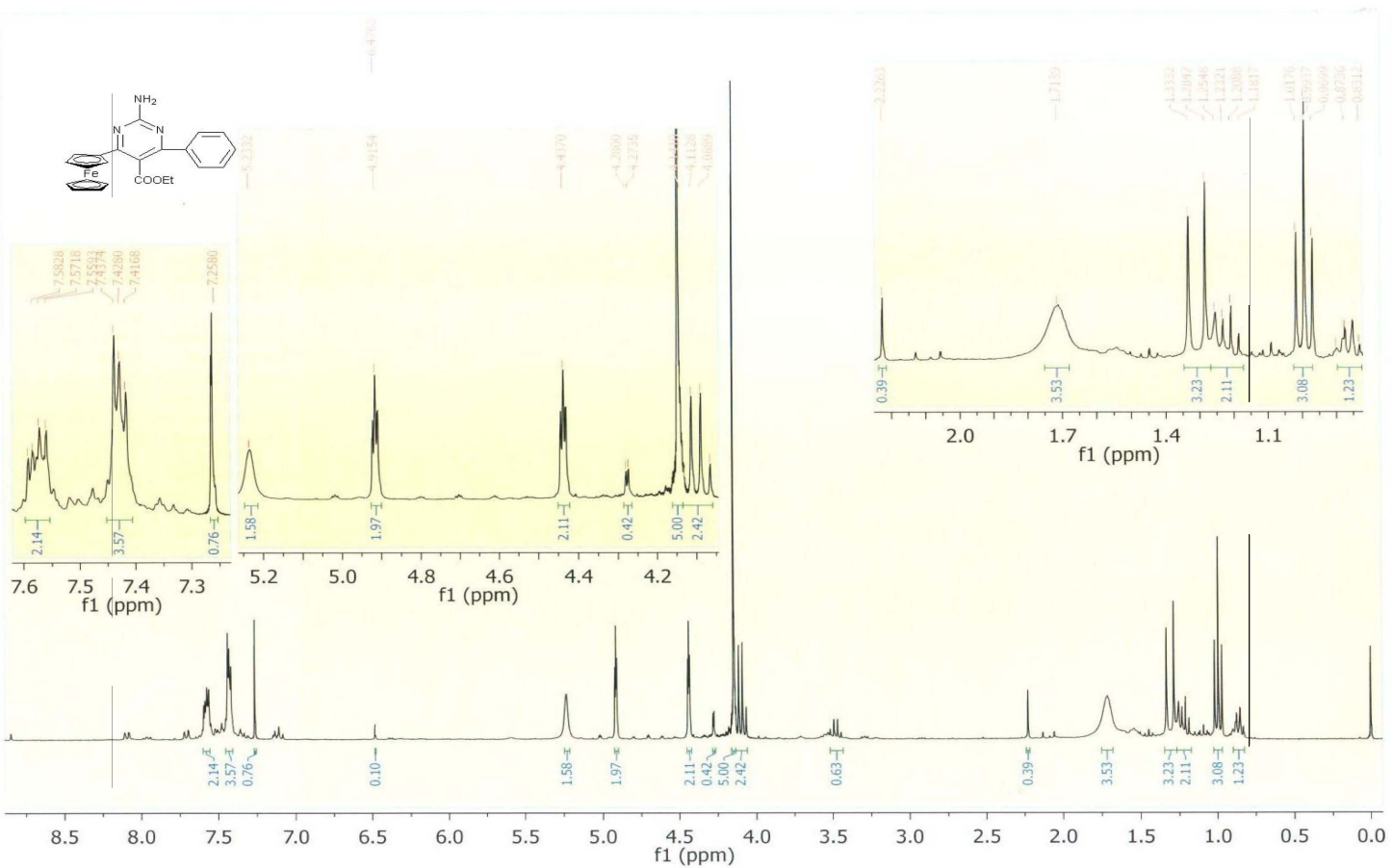
Espectro 10. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) Compuesto (4 c) 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoil)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo

Espectro 11. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) Compuesto (7 a) 2-amino-6-ferrocenil-4-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo

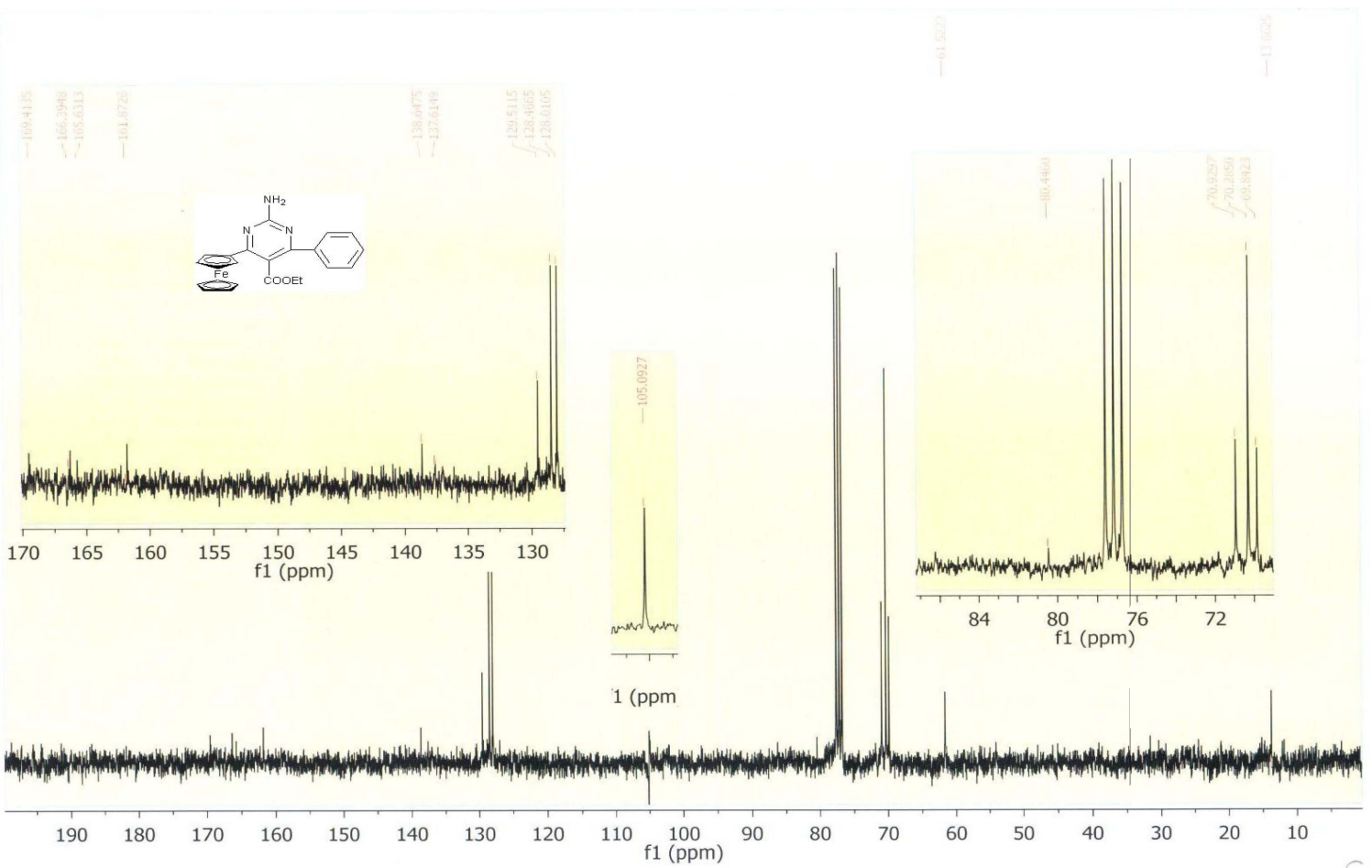




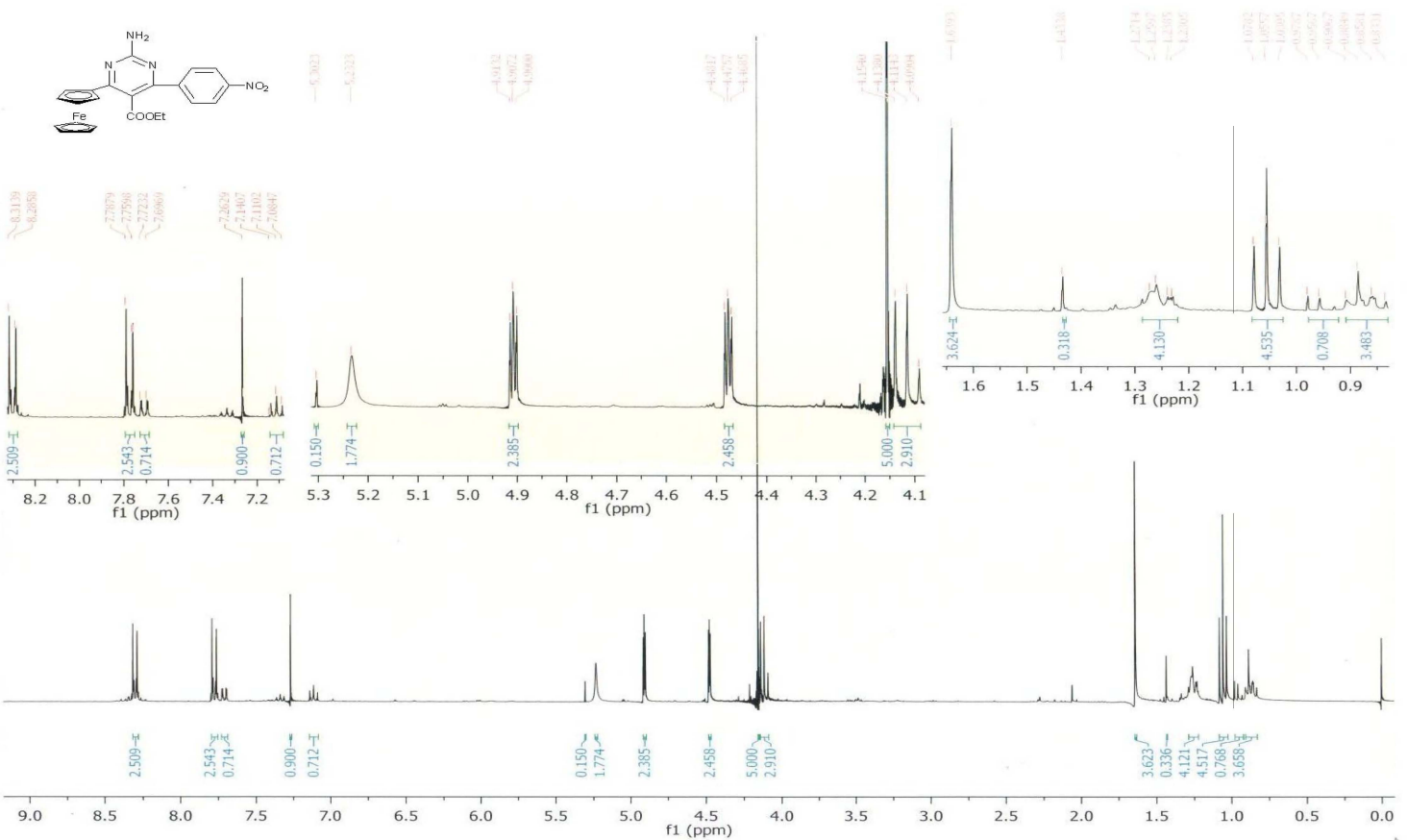
Espectro 12. ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) Compuesto (7 a) 2-amino-6-ferrocenil-4-metilpirimidina-5-carboxilato de etilo



13. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) Compuesto (7b) 2-amino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidina-5-carboxilato de etilo.



Espectro 14. ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) Compuesto (7 b) 2-amino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidina-5-carboxilato de etilo.



Espectro 15. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) Compuesto (7c) 2-amino-6-ferrocenil-4-(4-nitrobenzoi) pirimidina-5-carboxilato de etilo.