



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**PIRIMIDINAS FERROCENILICAS FUNCIONALIZADAS:
SÍNTESIS, ESTRUCTURAS Y PROPIEDADES BIOLÓGICAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTA**

VICTOR HUGO SOTELO DOMINGUEZ



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	Dra.	YOLANDA CABALLERO ARROYO	_____
VOCAL:	M. en C.	JOSE MANUEL MENDEZ STIVALET	_____
SECRETARIO:	Dra.	ELENA IVANOVNA KLIMOVA	_____
1er. SUPLENTE:	Dr.	EDUARDO ARTURO VAZQUEZ LOPEZ	_____
2° SUPLENTE:	M. en C.	JESSICA JAZMIN SANCHEZ GARCIA	_____

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE QUIMICA

ELENA IVANOVNA KLIMOVA

ASESOR DEL TEMA

VICTOR HUGO SOTELO DOMINGUEZ

SUSTENTANTE

CONTENIDO

	PAGINA
ABREVIATURAS	1
INTRODUCCIÓN	2
I. ANTECEDENTES	3
1.1 Ferrocenos perspectiva histórica	3
1.2 Pirimidinas	5
1.2.1 Propiedades de las pirimidinas	5
1.2.2 Síntesis de pirimidinas	6
1.2.2a Síntesis de Brederick	6
1.2.2b Síntesis de Pinner	7
1.2.2c Variaciones de la síntesis de Pinner	7
1.2.2d Sistemas α , β -insaturados	8
1.2.2e Síntesis de Remfry-Hull	8
1.2.2f Síntesis de Shaw	9
1.2.2g Reacción aza-Wittig	9
1.2.3 Derivados importantes de pirimidinas	10
1.2.4 Aplicaciones de las pirimidinas	10
1.3 Heterociclos de seis miembros ferrocenílicos	11
1.4 Reacción de Inserción 1,2	14
1.5 Productos iniciales para la síntesis de heterociclos azoicos	15
1.5.1 Condensación Aldólica	15
1.5.2 Condensación de Knoevenagel	17
1.6 Actividad biológica y aplicaciones de los compuestos ferrocenílicos	18
1.7 Estudio de actividad biológica	19
1.7.1 Inflamación	19
1.7.1a Inflamación tipo Aguda	20
1.7.1b Inflamación tipo Crónica	20
1.7.2 Terapéutica de la inflamación	21
1.7.3 Ensayos <i>in vivo</i>	22
1.7.3a Modelo de edema inducido por TPA	22
1.7.4 Ensayos <i>in Vitro</i>	23
1.7.4a Ensayo de citotoxicidad <i>in Vitro</i>	24
II. OBJETIVOS	25
III. HIPOTESIS	26
IV. DISCUSION DE RESULTADOS	27
4.1 Síntesis de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo	27
4.2 Interacciones de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo con 1,1-dimetilguanidina	27

4.3 ESTUDIO DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA	40
4.3.1 Modelo de edema inducido por TPA	40
4.3.2 Citotoxicidad en líneas celulares	41
V. SECCION EXPERIMENTAL	42
5.1. Obtención de materias primas	42
5.1.1 Reacción de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo	42
5.1.2 Reacción de ferrocenilcarbaldehído con benzoilacetato de etilo	43
5.1.3 Condensación de ferrocenilcarbaldehído con <i>p</i> -nitroenzoilacetato de etilo	44
5.2 Síntesis de 2-dimetilamino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo	44
5.2.1 Procedimiento general	44
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4a)	45
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4b)	46
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil)-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4c).	47
3-(2-Acetil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropionato de etilo (4d).	47
3-(2-benzoil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropionato de etilo (4e)	48
3-[1,1-Dimetil-2-(<i>p</i> -nitrobenzoil)guanidina]-3-ferrocenilpropionato de etilo (4f)	49
5.3 Síntesis de 2-amino-6-ferrocenilpirimidil-5-carboxilatos de etilo con diacetoxiyodobenceno	50
5.3.1 Procedimiento General	50
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metilpirimidil-5-carboxilato de etilo (5a)	50
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidil-5-carboxilato de etilo (5b)	51
2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil) pirimidil-5-carboxilato de etilo (5c)	52
VI. ACTIVIDAD BIOLÓGICA	53
6.1 Método <i>in vivo</i> : Modelo de edema inducido por TPA	53
6.1.1 Condiciones generales	53
6.1.2 Procedimiento	53
6.2 Método <i>in vitro</i> : Ensayo de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano	54

6.2.1 Condiciones generales	54
6.2.2 Procedimiento	54
VII. CONCLUSIONES	58
VIII. BIBLIOGRAFIA	60
IX. ANEXO: ESPECTROS	65

ABREVIATURAS

Å	Angstrom
°C	Grados Centígrado
CDCl ₃	Cloroformo Deuterado
Fc	Ferroceno
Hz	Hertz
J	Constante de Acoplamiento
M ⁺	Ion molecular
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitro
mmol	Milimol
m/z	Masa por unidad de carga
nm	Nanómetro
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
ppm	Partes por millón
UV	Ultravioleta visible
δ	Desplazamiento químico en ppm
λ	Longitud de Onda en nm
h	Hora
Me	Metilo
FNT-α	Factor de Necrosis Tumoral
IL	Inter Leucina
COX	Ciclooxigenasa
NOS	(NO-sintetasa)
AINES	Antiinflamatorio no esteroidal
LPMN	Leucocito polimorfonuclear
ATP	Adenosintrifosfato
ATPasa	Enzima reductora de ATP

INTRODUCCIÓN

La química de los compuestos ferrocenílicos comenzó a desarrollarse en los años 50. El interés en el estudio de estos compuestos se basa principalmente en su gran reactividad y gran energía, además del estudio desde un punto de vista teórico así como también sus aplicaciones prácticas posibles. Es por esta razón que estamos impulsando el conocimiento en esta área, en especial en el área de compuestos heterocíclicos funcionalizados con sustituyentes ferrocenílicos.

La pirimidina y sus derivados constituyen importantes compuestos heterocíclicos, la importancia de estos radica en que sus estructuras están presentes en los ácidos nucleicos vitales para cada organismo timina, citosina, uracilo, se encuentra también en muchos otros compuestos con propiedades valiosas, por ejemplo, ácidos barbitúrico y orótico. La vitamina B1 es un derivado de la pirimidina, es un constituyente de la carboxilasa, la enzima que cataliza el metabolismo de carbohidratos, también en varios antibióticos, se emplean en terapias antitumorales, anti epilépticos y otros, material fotográfico, etc.

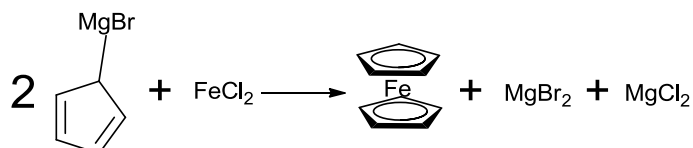
El enfoque más general para la síntesis de derivados de la pirimidina es el acoplamiento de compuestos 1,3-dicarbonílicos con gem-diamino (o gem-amino-imino) compuestos tales como urea, guanidinas o amidinas. Las primeras pirimidinas sustituidas con ferroceno han sido preparadas mediante el acoplamiento de ferrocenil- α,β -enonas con urea. Sin embargo, las ferrocenilpirimidinas corresponden a compuestos poco estudiados.

La presencia de uno o varios sustituyentes ferrocenílicos en heterociclos, especialmente en aquellos que contienen enlaces múltiples conjugados, se sabe que confieren, además de actividad biológica, ciertas propiedades útiles, como el comportamiento magnético, conductividad eléctrica (incluso superconductividad) y efectos ópticos no lineales. Este hecho aumentó el interés en la introducción de ferroceno en diversos compuestos orgánicos encaminados a preparar cadenas largas de sistemas conjugados (lineal, carbo- y hetero-cíclicos) como una categoría importante de materiales.

I. ANTECEDENTES

1.1 Ferrocenos perspectiva histórica

El bis(ciclopentadienil)- hierro (II) o ferroceno, fue sintetizado por primera vez por Kealy y Pauson [1-2] en 1951 mediante reacciones de bromuro de ciclopentadienil magnesio y cloruro ferroso siendo uno de los primeros compuestos órgano-férricos. (Esquema 1).



Esquema 1

Más adelante en 1952, Miller [3] reportó otra metodología que consistió en hacer reaccionar vapores de ciclopentadieno con hierro metálico a una temperatura de 300°C, obteniendo como productos al ferroceno e hidrógeno.

Posteriormente Rosenblum, Whiting y Woodward [4] demuestran claramente en base a técnicas espectroscópicas y reacciones de sustitución electrófila, el carácter aromático del ferroceno y le dan el nombre con el que ahora lo conocemos.

Durante el mismo año de su descubrimiento, se reportaron las síntesis de los primeros heterociclos ferrocenílicos [5]. Tales compuestos llamaron inmediatamente la atención de muchos investigadores y, en los siguientes años, se obtuvieron derivados en donde se encontraban heterociclos unidos directamente al ferroceno o separado de él por una cadena de átomos de carbono.

Una de las propiedades que hace que el ferroceno sea un compuesto interesante y útil en síntesis orgánica, es su capacidad electro-donadora característica que es común entre los compuestos de tipo aromático, pero en el caso del ferroceno se disponen de dos anillos de tipo aromático. Esto quedó de manifiesto con una serie de experimentos publicados en 1977 [6], donde se genera una serie de carbocationes ferrocenílicos, los cuales son estabilizados con un “súper ácido”

como lo es el ácido tri-fluoroacético F_3CCOOH y se observa si hay reacciones de transposición en el carbocatión

Los compuestos orgánicos con sustituyentes ferrocenilicos en la molécula se usan ampliamente [7-16] como aditivos de combustibles, en la industria farmacéutica y en química de materiales, entre otras aplicaciones. La aplicación práctica de los compuestos ferrocenilicos y sus derivados empezó en los años sesenta del siglo pasado. Las primeras investigaciones fueron dedicadas al estudio de la actividad antidetonante de los ferrocenos, después fue estudiada la influencia del ferroceno sobre los procesos de combustión. Posteriormente fueron obtenidos polímeros con base en los compuestos ferrocenilicos, así fue estudiada la influencia que tienen los derivados del ferroceno sobre las propiedades de materiales poliméricos y en los procesos de polimerización [7-15]

Actualmente se tiene un gran número de publicaciones relacionadas con diferentes aplicaciones de compuestos ferrocenilicos (más de 1500), entre ellos hay muchas patentes. Este gran número y variedad de las investigaciones de las propiedades aplicadas de los compuestos ferrocenilicos se debe a las propiedades físicas y químicas de estos compuestos y sus capacidades (habilidades) de formar reversiblemente compuestos con diferentes estados de oxidación de hierro manteniendo al mismo tiempo la estructura molecular, y de formar compuestos organometalicos con quiralidades planar y central.

Sin embargo, hay pocos datos sobre el uso de los derivados ferrocenilicos en la química orgánica sintética, en práctica de laboratorio, en biología y medicina.

Hoy en día la química de ferroceno se encuentra en su segunda etapa del desarrollo de manera muy activa. Este hecho se debe a la aparición de nuevas posibilidades para el uso de derivados ferrocenilicos, en primer lugar, en las investigaciones básicas y aplicadas, tales como, catálisis y síntesis asimétrica, procesos industriales químicos catalizados por compuestos del ferroceno, en química analítica y fisicoquímica, biología y farmacología, además de la industria militar.

Es conocido, que la presencia de un grupo orgánometálico en una molécula frecuentemente conlleva a la aparición de particularidades que son muy débiles o pueden que no se encuentren en los compuestos aromáticos o alifáticos. Podemos poner, por ejemplo, el aumento en estabilidad de los iones ferrocenilicos [16-17] o la facilidad de fragmentación de una serie de derivados del ferroceno por acción de ácidos fuertes, carbocationes [18-19], ácidos de Lewis [20-21] y otros.

Además, el valor práctico de los compuestos obtenidos a partir de los derivados insaturados del ferroceno [21-24], que representan interés como catalizadores de combustión de combustibles sólidos para cohetes y en procesos de polimerización. Los derivados ferrocenilicos que son los sistemas de gran capacidad energética representan interés también en la farmacología.

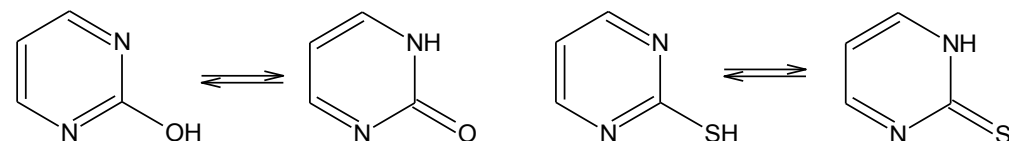
1.2 PIRIMIDINAS

1.2.1 Propiedades de las Pirimidinas

La pirimidina es el compuesto 1,3-diazina (o meta diazina), este es un heterociclo de gran importancia por que muchos de sus derivados participan en varios procesos en los sistemas vivos. Las pirimidinas biológicas tienen puntos de fusión mucho mas elevados, debido a que forman puentes de hidrógenos intermoleculares [25].

Las propiedades físicas generales del anillo son considerablemente modificadas por la presencia y orientación de los sustituyentes, en general las pirimidinas que tienen sustituyentes alquilo, arilo, alcoxi o halógenos son líquidos o sólidos con puntos de fusión bajos y son más solubles en disolventes orgánicos que en acuosos. La introducción de grupo polares causa un marcado incremento en el punto de fusión y disminuye la solubilidad en disolventes orgánicos. Con grupos como amino, hidroxilo, mercapto, inicialmente incrementa la solubilidad en agua, pero la polisustitución de ellos provoca que disminuya la solubilidad en todos los disolventes. Existen tres derivados de la pirimidina de considerable importancia biológica debido a su relación con los ácidos nucleicos; estos son la citosina, la timina y el uracilo [25].

Las posiciones 2-, 4- y 6- del anillo de pirimidina tienen una marcada deficiencia de electrones π provocada por los átomos de nitrógeno [25] en las posiciones 1,3- del anillo. La introducción de sustituyentes electro donadores (hidroxi, amino mercapto, etc.) disminuyen la deficiencia de electrones π del anillo de pirimidina por lo cual se aproxima mas al comportamiento de un anillo aromático, se facilita la sustitución electrofílica en las posiciones 2-, 4- y 6- y se desactivan hacia un ataque nucleofílico. A menudo ocurre tautomerismo con los grupos hidroxilo y mercapto situados *orto* a los nitrógenos (es decir, en las posiciones 2-, 4- y 6-), normalmente se encuentran en equilibrio con su forma ceto, donde el tautomero predominante son las formas oxo y tiona respectivamente. (Esquema 2)



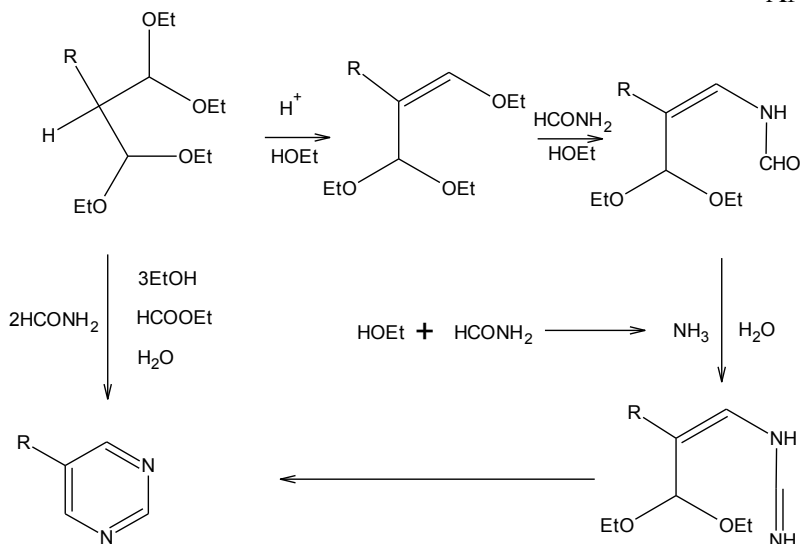
Esquema 2

1.2.2 SINTESIS DE PIRIMIDINAS

Existen varios métodos clásicos de síntesis de las pirimidinas:

1.2.2a Síntesis de Bredereck [26]

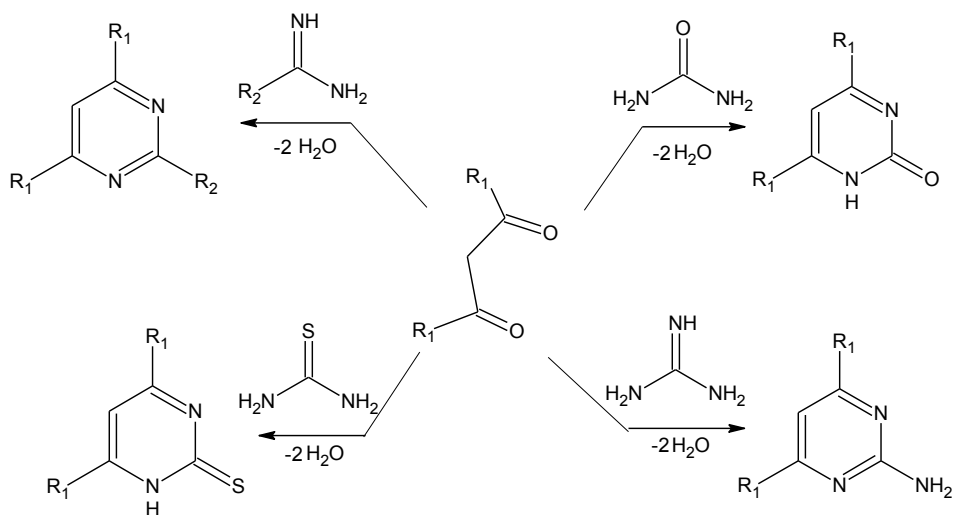
La condensación de 1,1,3,3-tetraetoxipropano con formamida en fase gaseosa a 210 °C produce derivados de pirimidinas. (Esquema 3)



Esquema 3

1.2.2b Síntesis de Pinner [27]

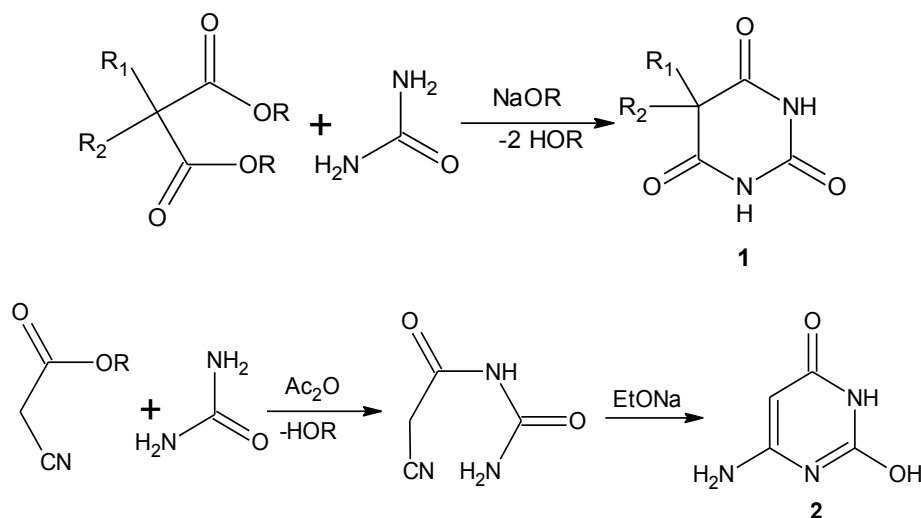
La ciclo condensación de las 1,3-dicetonas con amidinas, urea, tioureas y guanidinas, ha dado pirimidinas mono sustituidas, di sustituidas, tri sustituidas, etc. (Esquema 4)



Esquema 4

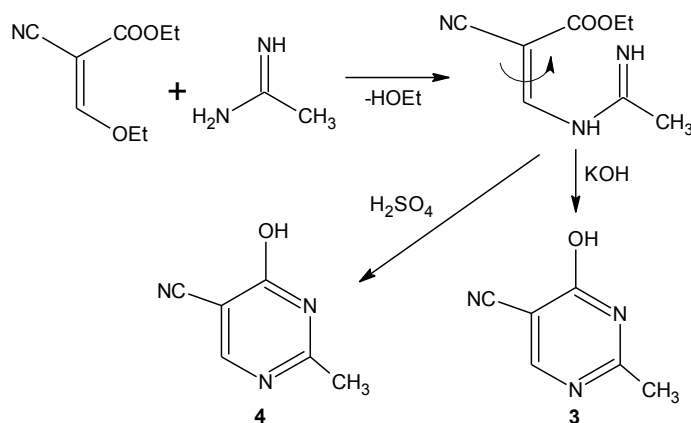
1.2.2c Variaciones de la síntesis de Pinner [27]: Existen variaciones importantes de la síntesis de pirimidinas con catálisis básica: son las condensaciones de esterres malonicos con reactivos que contienen en sus moléculas N-C-N como

fragmentos nucleofílicos. De esta manera fueron obtenidos ácidos barbitúricos **1** y amino-hidroxipirimidin-4(3*H*)-onas **2** (Esquema 5)



Esquema 5

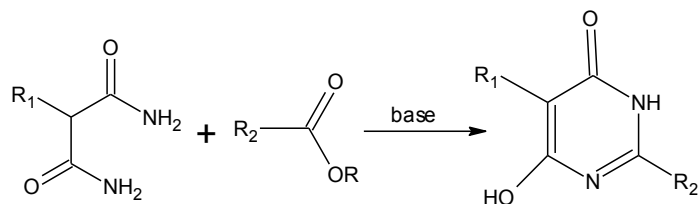
1.2.2d Sistemas α,β -insaturados: Estos pueden ser utilizados como electrófilos en la condensación de Pinner, por ejemplo el 2-ciano-3-etoxipropenoato de etilo reacciona con acetamida en medio básico con obtención de la pirimidina **3**, o en medio ácido con obtención de la pirimidina **4**. El mecanismo de condensación se presenta en el Esquema 6



Esquema 6

1.2.2e Síntesis de Remfry-Hull [25]

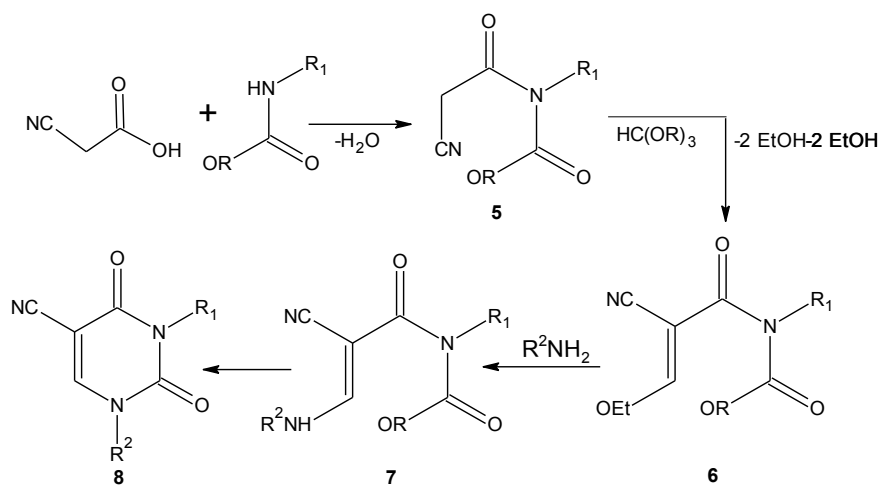
Mediante esta síntesis las pirimidinas son obtenidas por condensación de las amidas malónicas. La malonamidas o 1,3-propilendiaminas reaccionan con ester de ácidos carboxílicos en presencia de bases como catalizadores. (Esquema 7)



Esquema 7

1.2.2f Síntesis de Shaw [25]

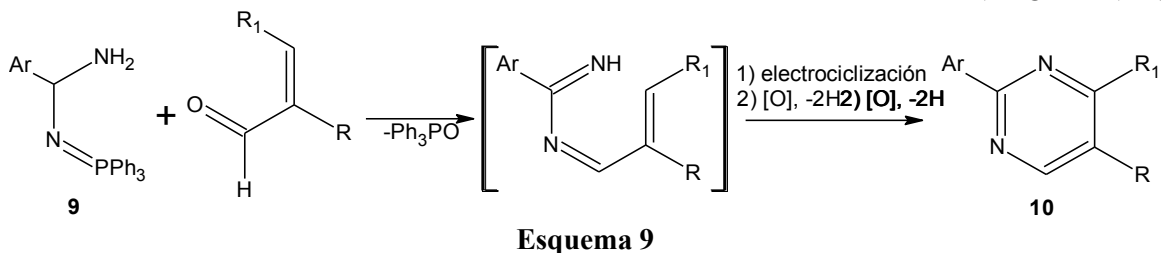
De acuerdo con el método de Shaw, los derivados de uracilo y timina se obtienen a partir de ácido cianoacético y *N*-alquiluretanos. Primero se forma una amida **5**, que se condensa con ester ortofórmico para dar el enol **6**; la aminólisis de **6** hace que se convierta en la enamina **7**, la cual se ciclocondensa en los derivados pirimidínicos **8** (Esquema 8)



Esquema 8

1.2.2g Reacción aza-WITTIG [28]

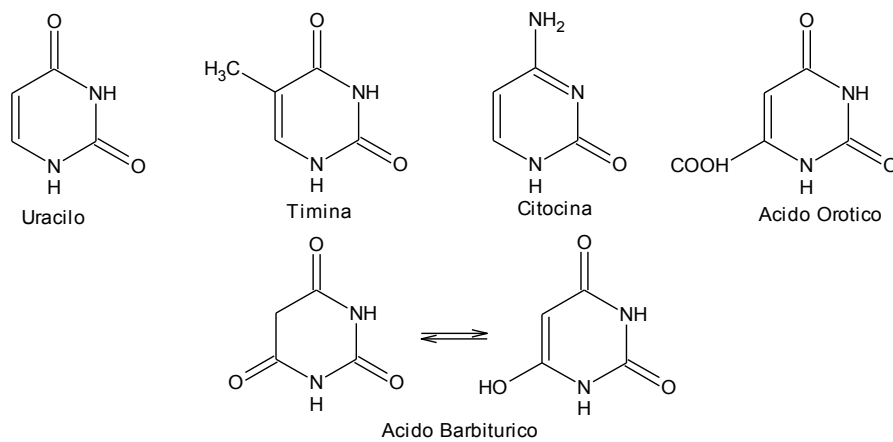
Esta es una nueva preparación de pirimidinas **10** a partir de aldehídos α , β -insaturados por interacción con amidina **9** (Esquema 9)



1.2.3 DERIVADOS IMPORTANTES DE LAS PIRIMIDINAS

La pirimidina y sus derivados son compuestos heterocíclicos importantes, que son determinados por la presencia de las pirimidinas en los ácidos nucleicos, vital para todos los organismos, así como, sus componentes esenciales (timina, citosina y uracilo). La vitamina B1, un derivado de piridina, es un constituyente de la carboxilasa, la enzima que cataliza el metabolismo de los hidratos de carbono [29]

En el siguiente esquema se muestran algunos ejemplos de derivados de pirimidina (Esquema 10)



1.2.4 APLICACIONES DE LAS PIRIMIDINAS

Se han usado muchos compuestos análogos como moléculas que interfieren con la síntesis y funcionamiento de los ácidos nucleicos, un ejemplo es el fluorouracilo (5-fluoro-2,4(1*H*, 3*H*)-pirimidindiona) que es un antimetabolito con actividad antitumoral [30], considerado como una nueva droga especialmente para el tratamiento de tumores en senos, colon, recto y regiones genitales, actúa como

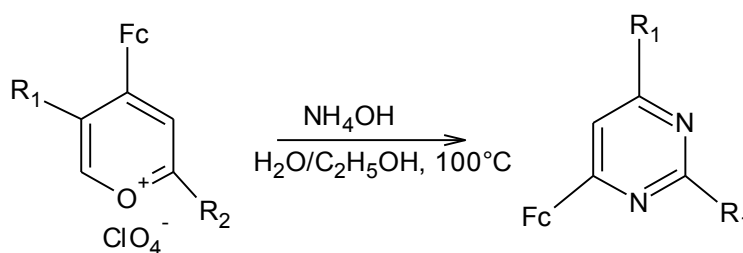
inhibidor de la síntesis de DNA. Esto se lleva a cabo por que este compuesto es estructuralmente similar a las bases del DNA lo que le permite actuar como antibiótico.

Otro grupo importante de pirimidinas que tienen usos terapéuticos son los barbitúricos [31], estos compuestos fueron durante mucho tiempo el grupo principal de fármacos sedantes/hipnóticos, pero por problemas de toxicidad, dependencia y abuso, está siendo reemplazado por otros fármacos.

1.3 HETEROCICLOS DE SEIS MIEMBROS FERROCENILICOS.

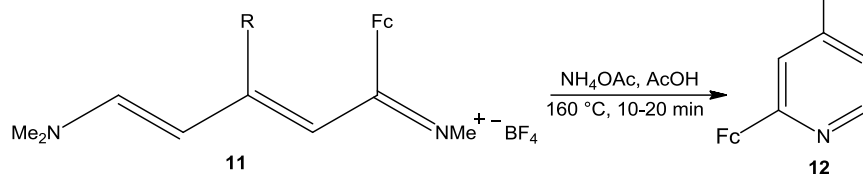
Actualmente se ha descrito en la literatura la síntesis de muchos heterociclos nitrogenados con sustituyentes ferrocenilicos, como triazoles, benzimidazoles, pirazoles, pirimidinas, derivados de tetrahidropiridazina, piridazinas, 1,2,3-triazinas, 1,2,4-triazinas, oxazinas, etc. [32], además que se refieren a compuestos biológicamente activos [33-40]. De ahí el interés en los nuevos métodos sintéticos de obtención de heterociclos azoicos.

Las pirimidinas 6-ferrocenil-2,4-dimetil y 2,4-difenilpirimidina fueron sintetizadas a partir de las sales 4-ferrocenil-2,5-dimetil pirimidina con amoniaco acuoso o alcohólico (Esquema 11) con rendimientos del 45% - 63% [41].



Esquema 11

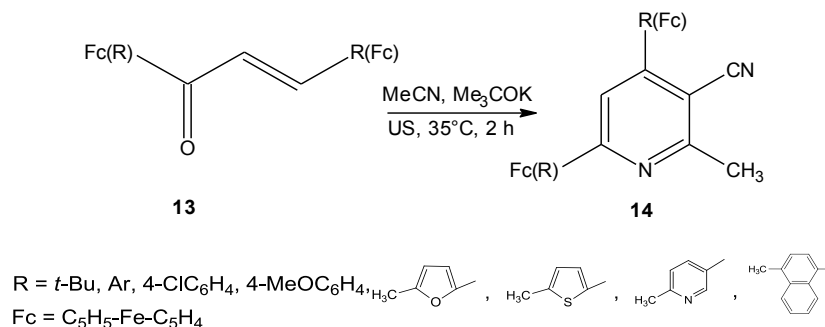
Derivados de 2-ferrocenilpiridinas fueron obtenidos por la reacción de la sal **11** con acetato de amonio en ácido acuoso con un rendimiento del 57% (Esquema 12) [42]



Esquema 12

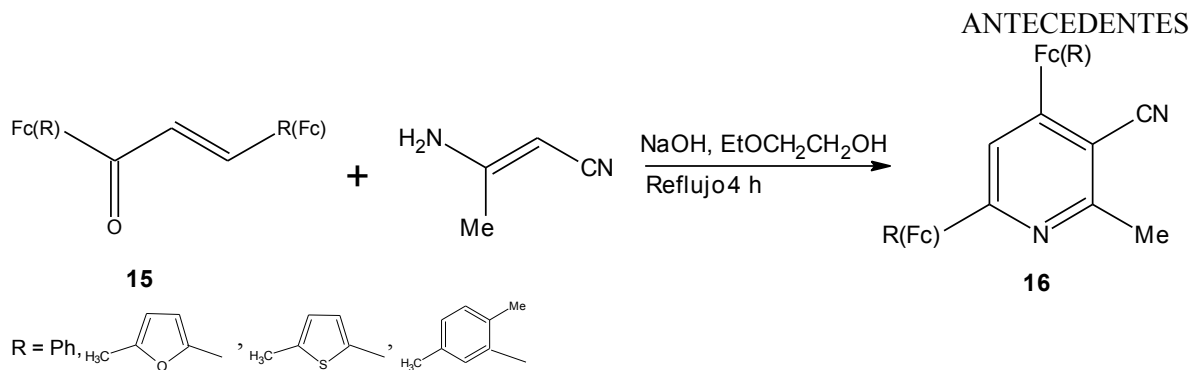
La 3,5-diciano-4-ferrocenil-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridina se forma como resultado de la condensación de FcCHO con diacetonitrilo (a reflujo por 1 h en ácido acético) se convierte en 3,5-diciano-4-ferrocenil-2,6-dimetilpiridina en oxidación con cloranil. [43]

Ha sido demostrado por investigadores japoneses [44] el efecto acelerado del ultrasonido en reacciones químicas. Se demostró que la sonólisis de sustituyentes ferrocenílicos insaturados como la cetona **13** en acetonitrilo a 35°C por 2 h produce los derivados de piridinas **14** con un rendimiento del 60% - 85%. Los autores K Shibata, I Katsuyama [45] proponen que el diacetonitrilo fue generado a partir de acetonitrilo bajo esas condiciones de reacción y que participa en la formación de las piridinas (Esquema 13).



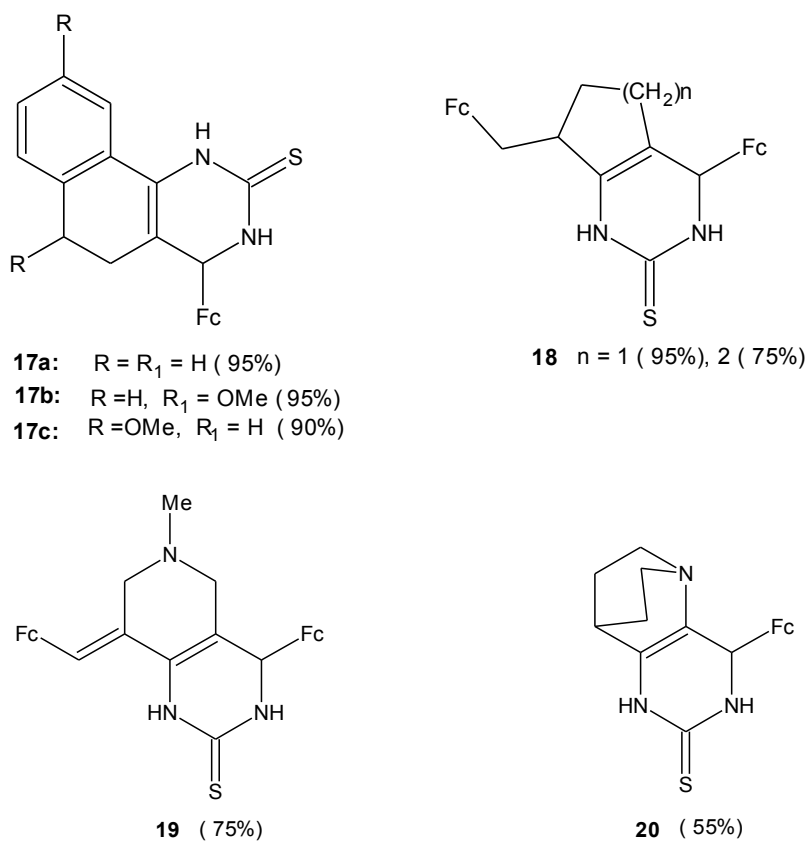
Esquema 13

En presencia de bases, las cetonas insaturadas **15** reaccionan con 3-aminocrotononitrilo. Si la reacción es llevada a cabo en 2-etoxietanol, [46], entonces el producto es piridina sustituida **16** (Esquema 14)



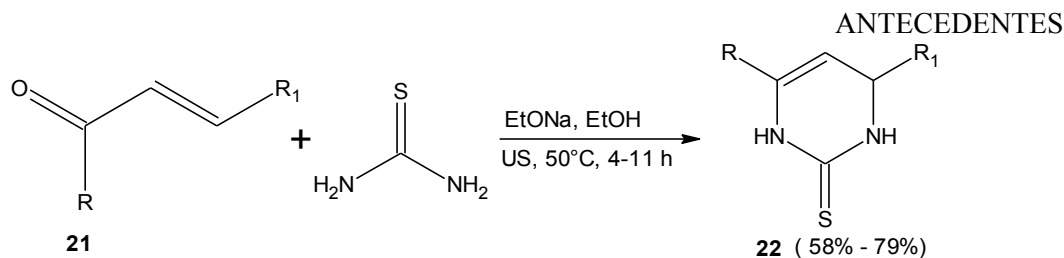
Esquema 14

Los derivados de la dihidropirimidina-2-tiona **17-20** se han sintetizado por condensación 2-ferrocenilmetiliden-cicloalcanonas con tiourea en presencia de un álcali en etanol. (Esquema 15) [47].



Esquema 15

Una serie de compuestos ferrocénicos **22** se han sintetizado a partir de las cetonas **21** y tiourea con irradiación por ultrasonido (US) (Esquema 16) [48].

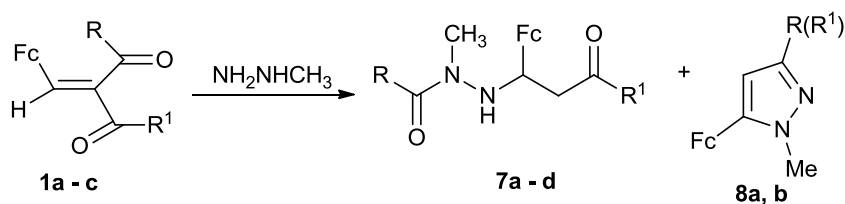


R = Fc: R₁ = Ar, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄, 4-ClC₆H₄, 3, 4-(OCH₂O)C₆H₃
R = 4-MeOC₆H₄, R₁ = Fc

Esquema 16

1.4 REACCION DE INSERCIÓN 1,2

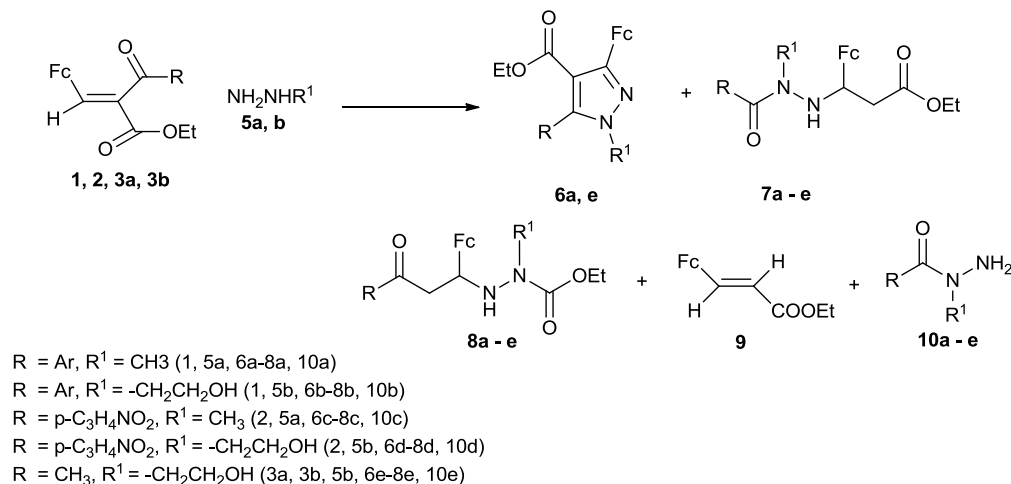
En la bibliografía prácticamente no hay información sobre otras nuevas rutas de síntesis de compuestos ferrocenilheterociclicos funcionalizados, por ejemplo, a partir de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de alquilos, 2-acil-3-ferrocenilpropenonas, etc. Por primera vez la 2-acil-3-ferrocenilpropenonas (**1a – c**) fueron utilizadas en reacciones con metilhidrazina. Como resultado se encontro que la reacción de las 2-ferrocenilmetilideno-1,3-dicetonas (**1a – c**) con metilhidrazina produce principalmente por inserción 1,2, 1-(*N'*-acil-*N'*-metilhidrazino)-1-ferrocenil-2-aciletanos (**7a – d**), junto con cantidades menores de los pirazoles (**8a, b**) [49] (Esquema 17)



Fc = C₅H₅FeC₅H₄
R = R¹ = Ar (a); Me (b)
R = Ph, R¹ = Me (c)

Esquema 17

Esta es una reacción de inserción 1,2 con reactivos bisnucleofílicos en moléculas de sustratos con tres centros electrofílicos Z. Posteriormente fue descrito un segundo ejemplo de reacción de inserción 1,2. La Metil y 2-hidroxietilhidrazina reaccionan con 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo (**1, 2, 3a, 3b**) con obtención de dos tipos de productos por inserción 1,2 (**7a – c**) y (**8a – e**) respectivamente, y los productos laterales (**6a – e, 9, 10a – e**) [50] (Esquema 18)



Esquema 18

Sin embargo, las reacciones de inserción todavía pertenecen a reacciones casi desconocidas, tampoco está estudiada la competencia entre las reacciones de obtención de productos heterocíclicos y productos de destrucción de 2-acil-3-ferrocenil-acrilatos de etilo.

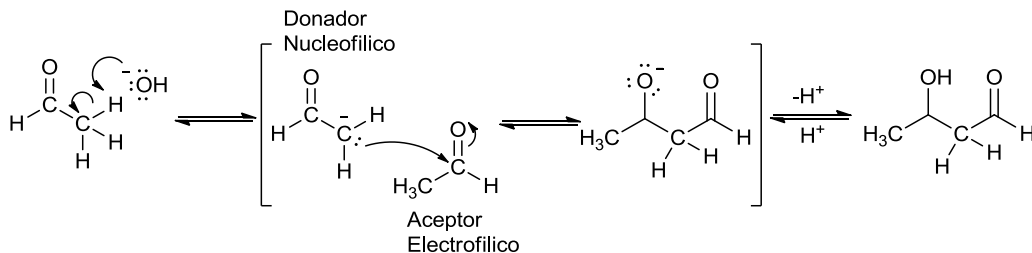
1.5 PRODUCTOS INICIALES PARA LA SINTESIS DE HETEROCICLOS AZOICOS.

Principalmente los compuestos de partida para la preparación de heterociclos azoicos son cetonas α , β -insaturados, que se obtienen por reacciones de condensación aldólica de Claisen-Schmidt.

1.5.1 CONDENSACIÓN ALDÓLICA

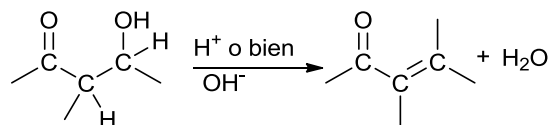
La reacción de condensación aldólica está entre las reacciones más útiles para generar enlaces C-C en química orgánica, en este tipo de reacciones se combinan dos moléculas de un aldehído o una cetona catalizada por una base o un ácido diluido para formar un β -hidroxi aldehído o una β -hidroxi cetona, pero si la cetona o el aldehído carece de átomos de hidrógeno α , no puede ocurrir la reacción.

En la reacción de condensación aldólica un reactivo actúa como donador de electrones (nucleófilo) experimentando una adición nucleofílica, el grupo carbonilo de otra molécula que actúa como aceptor de electrones (electrófilo) experimentando una adición electrofílica (Esquema 19)



Esquema 19

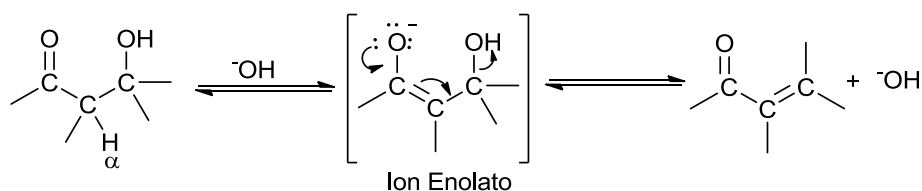
Las β -hidroxi cetonas y los β -hidroxi aldehídos que se forman en las reacciones aldólicas pueden deshidratarse fácilmente para producir enonas conjugadas, esta pérdida de agua es lo que da el nombre a la condensación aldólica, puesto que el agua se condensa y sale del seno de la reacción cuando se forma la enona como producto final (Esquema 20).



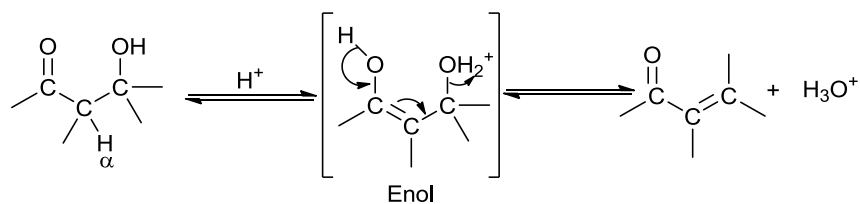
Esquema 20

En condiciones básicas se sustrae un hidrogeno alfa ácido, produciendo un ion enolato del cual se expulsa el ion hidróxido como grupo saliente; en condiciones ácidas se forma un enol, se protona el grupo hidroxilo y se expulsa agua [51]. Las condiciones requeridas para efectuar reacciones de deshidratación aldólica a menudo son solo un poco más vigorosas [52], por ejemplo, temperatura un poco mayor que la necesaria para que se lleve a cabo la reacción de condensación aldólica y no suelen aislarse los intermediarios β -hidroxi carbonílicos (Esquema 21).

Catalizada por base:



Catalizada por ácido:

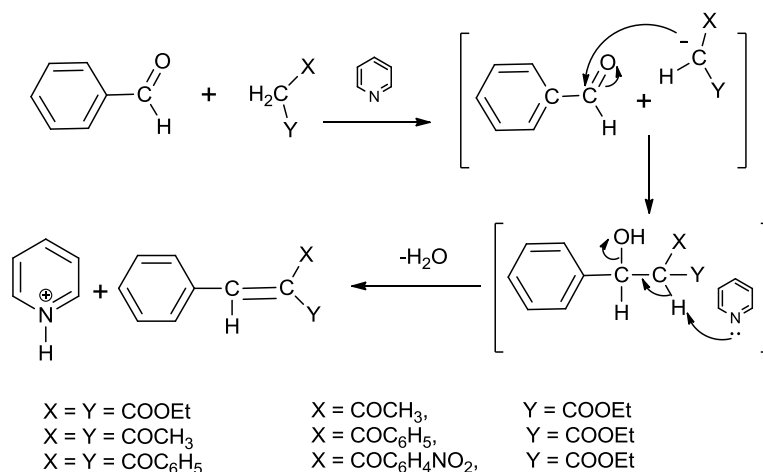


Esquema 21

La importancia de la deshidratación aldólica radica en el hecho de que la eliminación del agua de la mezcla de reacción desplaza el equilibrio hacia los productos lo que permite que se obtengan buenos rendimientos.

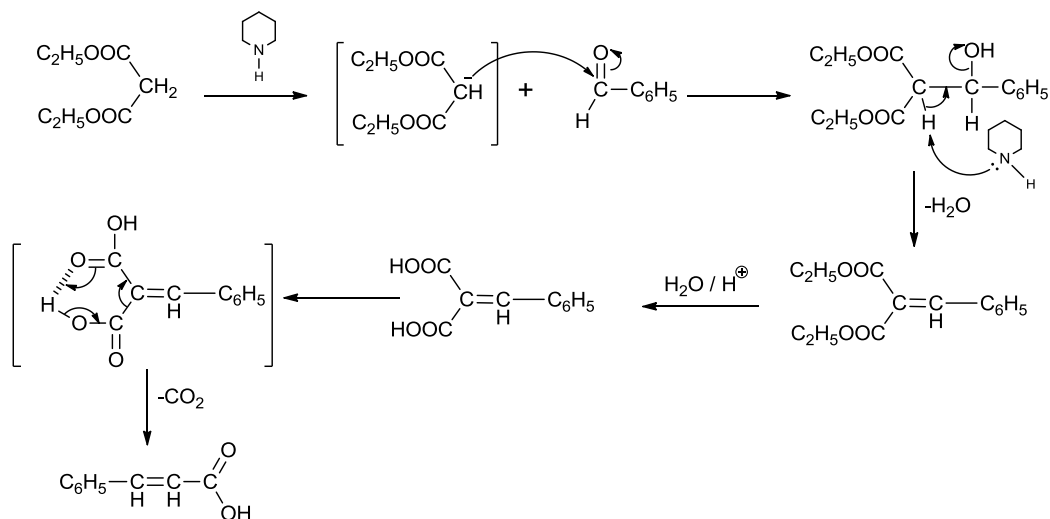
1.5.2 CONDENSACIÓN DE KNOEVENAGEL

La reacción de Knoevenagel es un tipo de variedad de condensación aldólica, en la que intervienen aldehídos y cetonas por una parte, y por la otra, compuestos metilénicos activos tal como: ésteres malónicos, β -dicetonas, β -cetoésteres, etc., en presencia de bases débiles. (Esquema 22).



Esquema 22

Los productos de condensación de Knoevenagel se usan ampliamente en la síntesis orgánica para obtener diferentes compuestos orgánicos funcionalizados [53]: ácidos y ésteres α , β -insaturados (Esquema 23), cetonas, compuestos heterocíclicos, etc.



Esquema

23

1.6 ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y APLICACIONES DE LOS COMPUESTOS FERROCENILICOS.

Debido a la semejanza del ferroceno con el benceno, la sustitución de un fenilo por un ferroceno en un compuesto biológicamente activo, afecta sus propiedades, como la distribución de la carga, la solubilidad y la hidrofobia, además de que la estabilidad y la no toxicidad del grupo ferrocenilico en un medio acuoso y aerobio, lo convierte en el candidato ideal para el diseño de nuevos fármacos [54]

Se ha encontrado que muchos heterociclos ferrocenílicos poseen actividad biológica. Los derivados ferrocenílicos de los ácidos 6-aminopenicilánicos ó 7 aminocefalosporánicos han sido recomendados como antibióticos e inhibidores efectivos de la A-lactamasa [55-56]. Los tetrafluoroboratos y percloratos de los derivados del benzotiazolio inhiben el crecimiento de los estreptococos y estafilococos, así como también de hongos del género Candida [57]. Los derivados que contienen ferroceno de los dietil ésteres de los ácidos fosfórico y fosfonotioico [58] ó 1,3,4-triazol,[59] así como también tiofeno y anillos de 1,3-tiazolidin-2-ona [60] en la molécula exhiben actividad antimicrobial contra microorganismos Gram.-positivos y Gram.-negativos.

El 3-ferrocenil-1-(2-furil)ciclopent-1-eno ha sido patentado como agente en el tratamiento de la deficiencia de hierro producido por la anemia en el

organismo.[61] Los productos de reacción entre el ferrocenilcarbaldehído y los derivados del benzotiazol se han recomendado como componentes en soluciones foto sensitivas que no contienen plata.[62]

Los heterociclos ferrocenílicos se han empleado como agentes modificantes que mejoran las características operacionales de los combustibles y de los explosivos. La *N*-ferrocenil metil pirrolidina ha sido usada como aditivo que aumenta las características balísticas y mecánicas en los combustibles de los cohetes.[63-64] La 1,4 bis(*N*-ferrocenil) piperazina y varios compuestos análogos [65] y el 2-ferroceniltetrahidrofurano [66] se pueden usar en combustibles basados en NH_4ClO_4 para regular el ritmo al que los cohetes queman el combustible.

El 2-ferrocenil-2-(hidroxipropil) tetrahidrofurano se ha propuesto como catalizador en combustibles [67] y el 2-ferroceniltetrahidrofurano incrementa el ritmo de combustión en los cohetes, así como su eficiencia [68].

A los éteres ferrocenílicos se le han dado usos prácticos [69]. Los derivados del isoxazol que poseen fragmentos ferrocenil alquílico en posición 3, exhiben actividad pesticida, herbicida y fungicida y son reguladores del crecimiento de las plantas. [70] Se ha reportado que el derivado de 4,5-difeniloxazol que contiene el grupo $\text{NHN}=\text{CHFc}$ en posición 2, puede ser usado para combatir ciertos virus en las plantas. [71]

1.7 ESTUDIO DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

1.7.1 INFLAMACIÓN

La inflamación se desarrolla como parte de los mecanismos de defensa del organismo en respuesta a estímulos de naturaleza diversa. Estos pueden ser externos, como traumatismos mecánicos y productos químicos; o internos, como lesiones provocadas por procesos isquémicos, patogénicos (virus, parásitos y bacterias) y autoinmunes.

La inflamación se localiza generalmente en el tejido conectivo, en donde ocurre la degeneración de las paredes de los vasos sanguíneos y se produce un incremento en la permeabilidad. Estos eventos conducen a una extensa salida de plasma y

células, que luego penetran en el espacio intersticial y emigran hacia la zona dañada.

A nivel macroscópico, el proceso se manifiesta por la presencia de eritema, edema, calor y dolor. Estas expresiones clínicas fueron distinguidas por Celso (siglo I d. C) como signos cardinales de la inflamación. Virchow (siglo XIX d. C) sumó un signo más, refiriendo la pérdida de la función tisular [72]

El proceso de inflamación puede ser de tipo agudo o crónico.

1.7.1a INFLAMACIÓN TIPO AGUDA

Es inmediata, de corta duración y los signos clínicos son sustanciales. Contribuye con la eliminación de células muertas, la neutralización de infecciones locales y la promoción de la acción del sistema inmune.

La respuesta aguda se controla por mediadores celulares y moleculares. Los componentes celulares incluyen células endoteliales, eosinófilos, neutrófilos, monocitos-macrófagos, mastocitos-basófilos, linfocitos y plaquetas. En tanto, los mediadores de la inflamación comprenden las proteasas plasmáticas, incluidas dentro de los sistemas de complemento, de cininas y de coagulación; los mediadores lipídicos, como las prostaglandinas, los leucotrienos y el factor activador de plaquetas; los neuropéptidos y las aminas vasoactivas; las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y las citocina [73]

1.7.1b INFLAMACIÓN TIPO CRONICA

La inflamación crónica es una respuesta prolongada con evidentes signos de inflamación activa y notable destrucción tisular. De manera simultanea y descontrolada funcionan los mecanismos de aislamiento, destrucción y eliminación del xenobiótico y de reparación del tejido dañado.

La inflamación crónica puede ser consecuencia de una respuesta aguda, por la permanencia del xenobiótico, la disfuncionalidad de alguno de los medios

antiinflamatorios endógenos. Otras causas pueden ser las infecciones persistentes, la exposición constante a agentes tóxicos y la autoinmunidad.

La evolución persistente e incontrolada de la inflamación constituye el origen de una variedad de enfermedades, como el reumatismo, el asma, la esclerosis múltiple, la aterosclerosis, la osteoporosis, el cáncer y otras enfermedades. Por lo tanto, la regulación de los mecanismos celulares y moleculares de la inflamación resulta de gran interés terapéutico [72]

Por otro lado, se ha reconocido la relación que existe entre los procesos de inflamación crónica y el desarrollo de cáncer. Se ha mencionado que los mediadores de la inflamación, los cuales cubren una función específica dentro del proceso fisiológico, pueden actuar de manera descontrolada y con ello progresar hacia una fase procarcinogénica. [73] Por lo que muchos agentes que previenen la inflamación también previenen el cáncer.

1.7.2 TERAPEUTICA DE LA INFLAMACIÓN

Las estrategias terapéuticas de la inflamación se han abordado considerando la diversidad de mediadores celulares y moleculares. Desde hace algunos años se tenía la esperanza en la manipulación farmacológica de las citocinas proinflamatorias, como FNT- α ; la interleucinas IL-1, IL-6, IL-8, quimicinas y otras. Sin embargo, la modulación de estas moléculas no ha solucionado el problema.

El descubrimiento de ciertas citocinas de acción antiinflamatoria (IL-4 y IL-10) ha permitido conocer los mecanismos de acción de algunos fármacos antiinflamatorios. También se ha dirigido la atención hacia las enzimas fosfolipasa A₂, ciclooxigenasa y sintasa de óxido nítrico de participación activa en la inflamación. Los estudios acerca de las isoformas inducibles de la COX y la NOS han ampliado las expectativas de encontrar fármacos antiinflamatorios eficaces.

Aunque el control terapéutico de la inflamación no se ha logrado por completo y aún es un reto por conquistar, hoy en día en la clínica se utilizan principalmente los fármacos antiinflamatorios esferoidales y no esferoidales (AINES) [74].

1.7.3 ENSAYO *in VIVO*:

Actualmente existe una diversidad de modelos experimentales aplicables al estudio de fármacos y principios activos anti inflamatorios. Entre ellos, los métodos *in vivo* constituyen una herramienta de uso frecuente, en especial por que los experimentos son sencillos y reproducibles, de corta duración, no precisan instrumental costoso o sofisticado y, además se realizan en animales disponibles habitualmente, como la rata y el ratón. Por lo anterior, forman parte del grupo de ensayos de cribado.

Los estudios *in vivo* valoran los principales signos de la inflamación, como el tumor (edema subplantar, pulmonar y auricular), el color (intensidad de eritemas cutáneo), el dolor (contracciones abdominales, respuesta a la aplicación de presión), el calor (piresis), el aumento de la permeabilidad capilar (extravasación de colorantes), la formación de exudado (pleuritis), la migración leucocitaria (pleuritis, fagocitosis) y la proliferación celular (fibroma, granuloma) [75]. Para fines de la presente tesis, se utilizó el modelo de edema.

Los ensayos de edema se caracterizan por inducir una respuesta local y, la inhibición del edema es un indicativo del efecto antiinflamatorio de la sustancia que se evalúa. Dentro de las sustancias que promueven el edema se mencionan a los ésteres de forbol (por ejemplo, el acetato de tetradecanoilforbol, TPA), la carragenina tipo kappa, el propiolato de etilfenilo, el ácido araquidónico y la fosfolipasa, entre otras. Por último, los mecanismos por los cuales estas sustancias promueven el edema son muy diversos [75].

1.7.3a MODELO DE EDEMA INDUCIDO POR TPA

El modelo de edema agudo inducido por TPA (Figura 1) en la oreja del ratón [76] 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 degranulación de mastocitos. Por lo tanto, las sustancias que inhiben la biosíntesis de prostaglandinas y de leucotrienos producen resultados considerables en este estudio.

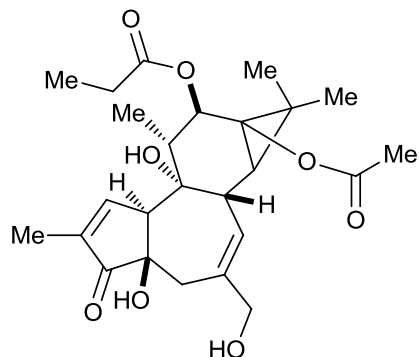


Figura 1: Estructura de TPA (13-acetato de 12-tetradecanoilforbol)

Los ésteres de forbol son diterpenos aislados de especies de la familia *Euphorbiaceae*, de acción procarcinogénica [77]. 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 cascada 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 celular [78].

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 citocinas [79]. Existen evidencias de la participación del factor activador de plaquetas (PAF) [80] y de radicales libres [81] en la respuesta de TPA.

1.7.4 ENSAYO *in VITRO*.

Los adelantos tecnológicos de nuestros días y la tendencia para reducir, mejorar o reemplazar los experimentos con animales han favorecido el desarrollo de una variedad de ensayos *in Vitro*. Mediante estos métodos es posible determinar los modos de acción de las sustancias.

1.7.4a ENSAYO DE CITOTOXICIDAD *in VITRO*

Los ensayos de citotoxicidad *in Vitro* establecen el índice de proliferación o viabilidad celular mediante el conteo de células vivas, los datos de inhibición indican la capacidad citotóxica de la sustancia evaluada.

El ensayo consiste en la incubación de cultivos celulares de líneas tumorales en presencia o ausencia de sustancias de prueba; posteriormente, las células se fijan y el efecto de viabilidad se determina mediante el ensayo colorimétrico de sulforrodamina B (SRB) [82]. El método se fundamenta en la tinción de proteínas celulares totales con el colorante SRB, el cual es un aminoxenteno que contiene dos sustituyentes sulfónicos y en condiciones ligeramente ácidas, el carácter aniónico de la SRB forma enlaces electrostáticos exclusivamente con aminoácidos básicos (histidina, lisina, arginina) de células vivas. El método es simple, seguro y genera resultados reproducibles [82-83].

II OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Investigar detalladamente las interacciones de 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo con 1,1-dimetilguanidina como método de síntesis de ferrocenil pirimidinas, como producto principal a investigar.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- ❖ Síntesis de ferrocenilpirimidinas
- ❖ Síntesis de ferrocenildihidropirimidinas
- ❖ Estudiar la actividad biológica de las ferrocenilpirimidinas y ferrocenildihidropirimidinas obtenidas.

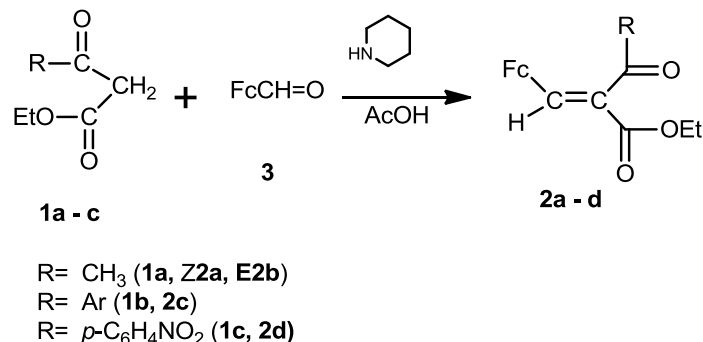
III HIPÓTESIS

1. La 2-Acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo deben actuar como sustratos polielectrofilicos en reacciones con reagentes bisnucleofilicos produciendo compuestos de condensación (heterociclos).
2. Los ferrocenilheterociclos funcionalizados con fragmentos $-NH_2$, $-NR_2$, $-COOR$, $Ac-$, etc., en sus moléculas, deben presentar propiedades en actividad biológica.

IV DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 SINTESIS DE 2-ACIL-3-FERROCENILACRILATOS DE ETILO

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

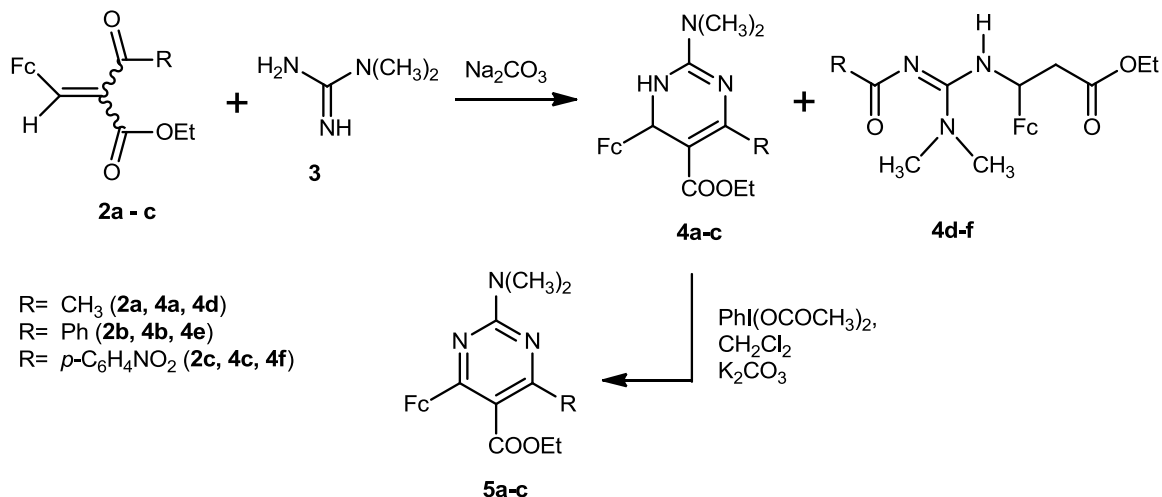


Esquema 24. Estructuras de los compuestos de partida

Las características fisicoquímicas de los compuestos preparados **2a - d** son consistentes con los datos en la literatura. [18, 19].

4.2 INTERACCIONES DE LOS 2-ACIL-3-FERROCENILACRILATOS DE ETILO CON 1,1-DIMETILGUANIDINA

Se encontró que la reacción de los 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo **2a - d** con sulfato de 1,1-dimetil guanidina (**3**) en etanol acuoso en presencia de K₂CO₃ a 80-90 °C, produce *N,N*-dimetilamino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilatos de etilo (**4a - c**) (rendimiento 35-42%) junto con productos de inserción (**4d - f**) (rendimiento 30-40%) (Esquema 25).



Esquema 25. Preparación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilatos de etilo y 2-amino-6-ferrocenilpirimidina-5-carboxilatos de etilo.

Las ferrocenildihidropirimidinas y los productos de inserción fueron aislados por columna cromatográfica en alúmina como sustancias de color naranja estables al guardarse en estado sólido. Las estructuras de los compuestos **4a – c** y **4d – f** se establecieron en base a los datos de espectroscopia de IR, espectrometría de masas, de RMN de ¹H y ¹³C, y análisis elemental.

Así, los espectros de RMN de ¹H de las dihidropirimidinas contienen singuletes correspondientes a los protones de metilo para el fragmento Fc-CH y singuletes ensanchados para los protones de NH. Los protones para el anillo de ciclopentadienilo sustituido del ferroceno aparecen como cuatro multipletes localizados hacia campo alto en comparación con el anillo de ciclopentadienilo no sustituido. En los espectros de RMN de ¹H de los compuestos **4a – c** también se observan señales para los sustituyentes metil, aril, amino y etoxicarbonilo.

Los espectros de RMN de ¹³C de estos compuestos corroboran completamente la estructura de 1,6-dihidropirimidina. En estos se observa que contienen señales de C_{ipso}Fc del ferrocenil a δ. 90-94; las cuatro señales para los átomos de carbono del anillo de C₅H₄ aparecen hacia campo alto en comparación a la señal que corresponde al anillo de C₅H₅. La señal de los átomos de carbono de metileno en el sustituyente –COEt aparecen en la región de δ. 59 – 62

Se encontró que los productos de inserción **4d – 4f** tienen estructuras que actualmente son objeto de investigación. Las estructuras de estos compuestos

fueron determinadas con base en los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C y masas, además de análisis elemental.

Por lo tanto, en los espectros de RMN de ^1H de estos compuestos, se observa las señales características de los protones de un sistema AB-X de los fragmentos – CH_2CH –, singuletes y tripletes para los protones de los grupos CH_3 , así como señales para los protones de NH, protones del grupo ferrocenil y los del aril sustituyente.

El análisis de difracción de Rayos-X del compuesto **4f** obtenido por la cristalización con CH_2Cl_2 se llevo a cabo para confirmar la estructura de **4d** – **4f**. La estructura general de la molécula **4f** se muestra en la figura **2a**, el carácter del embalaje de la molécula se muestra en la figura **2b**.

a)

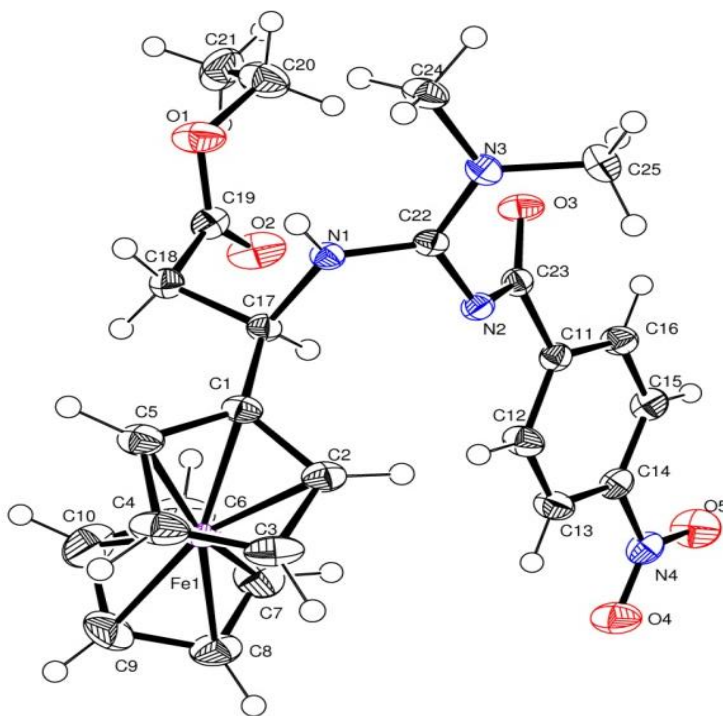


Figura 2a. Estructura cristalina de **4f**

b)

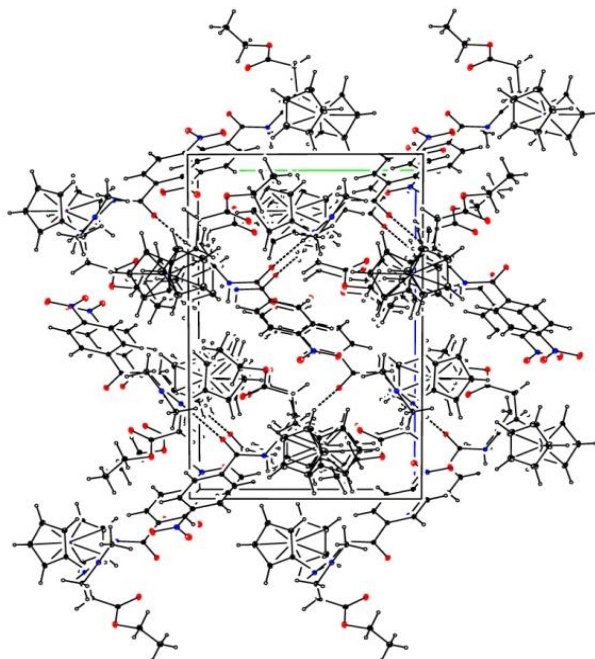


Figura 2b. Estructura molecular de **4f**

Los datos de difracción de Rayos-X mostraron que el compuesto **4f** es 3-[1,1-dimetil-2-(p-nitrobenzoil)guanidina]-3-ferrocenilpropionato de etilo. Las longitudes de los enlaces del átomo del carbono central con los tres átomos de nitrógeno son iguales, $r = 1.3336 (18)$, $1.3356 (19)$ y $1.3553 (18)$ Å. (Tabla 1)

Tabla 1: Datos de cristografía y estructura para el compuesto **4f**

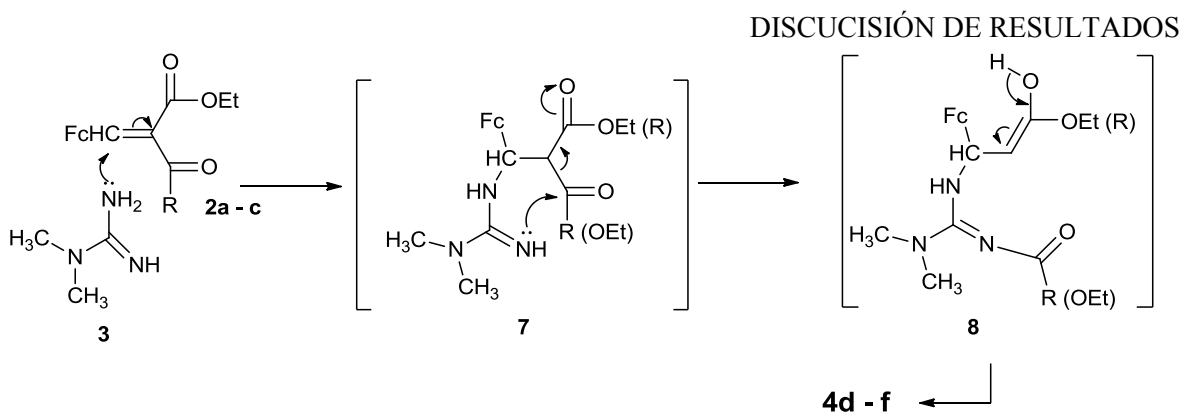
Datos	4f
Formula molecular	$C_{25}H_{28}FeN_4O_5$
Peso Molecular	$520.36 \text{ g mol}^{-1}$
Tipo de Cristal	monoclinico
Color	Cristales amarillos
a (Å)	11.6735 (6)
b (Å)	11.3670 (5)
c (Å)	18.0982 (8)
α (°)	90°
β (°)	95.946 (4)°
γ (°)	90°
V (Å ³)	2388.58 (19)
Temperatura, K	130 (2) K
Z	4

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

D_{calc} (gcm^{-3})	1.447 mg/m^3
Longitud de onda	1.54184
F (000)	1088
Coefficiente de absorcion	0.676 mm^{-1}
Tamaño de cristal	0.5816 x 0.2352 x 0.2074 mm^3
Intervalo de indice	$-14 \leq h \leq 14, -14 \leq k \leq 13, -22 \leq l \leq 21$
Intervalo de exploración	$3.50 \leq \Theta \leq 26.07^\circ$
Reflexion independiente	4703
R_{int}	0.0190
Reflexion Total	Matriz completa de minimos cuadrados en F^2
Parametro refinables	288
Reflexion con $_I > 2 \sigma (I)$	0.0282
wR_2	0.0754
Indice R_1	0.0346
wR_2	0.0769
Ajuste en F^2	1.101
Densidad residual electronica	0.561 / -0.280 $\text{e}\text{\AA}^{-3}$

En los espectros de RMN ^{13}C de los compuestos **4d – f** se observan las señales de los átomos de carbono de los fragmentos C=O y COOEt, una señal del C_{ipsoFc} del ferrocenil sustituido, así como la cantidad adecuada de señales para los átomos de carbono correspondientes a CH_3 , CH_2 , CH y el grupo fenilo.

El mecanismo de formación de los compuestos **4d – 4f** se muestra en el esquema 26. La reacción comienza a partir de la adición del grupo amino libre al doble enlace del $\text{FcCH}=\text{CH}$ del compuesto β -dicarbonílico **2a – c** (adición de Michael) resultando como intermediario el producto **7**. Posteriormente ocurre un ataque nucleofílico del fragmento =NH de la guanidina al carbonilo del grupo acilo, acompañado de la fragmentación del intermediario **7** y la formación de los productos de inserción **4d – 4f** vía enólica.



Esquema 26: Mecanismo para la formación de los productos de inserción.

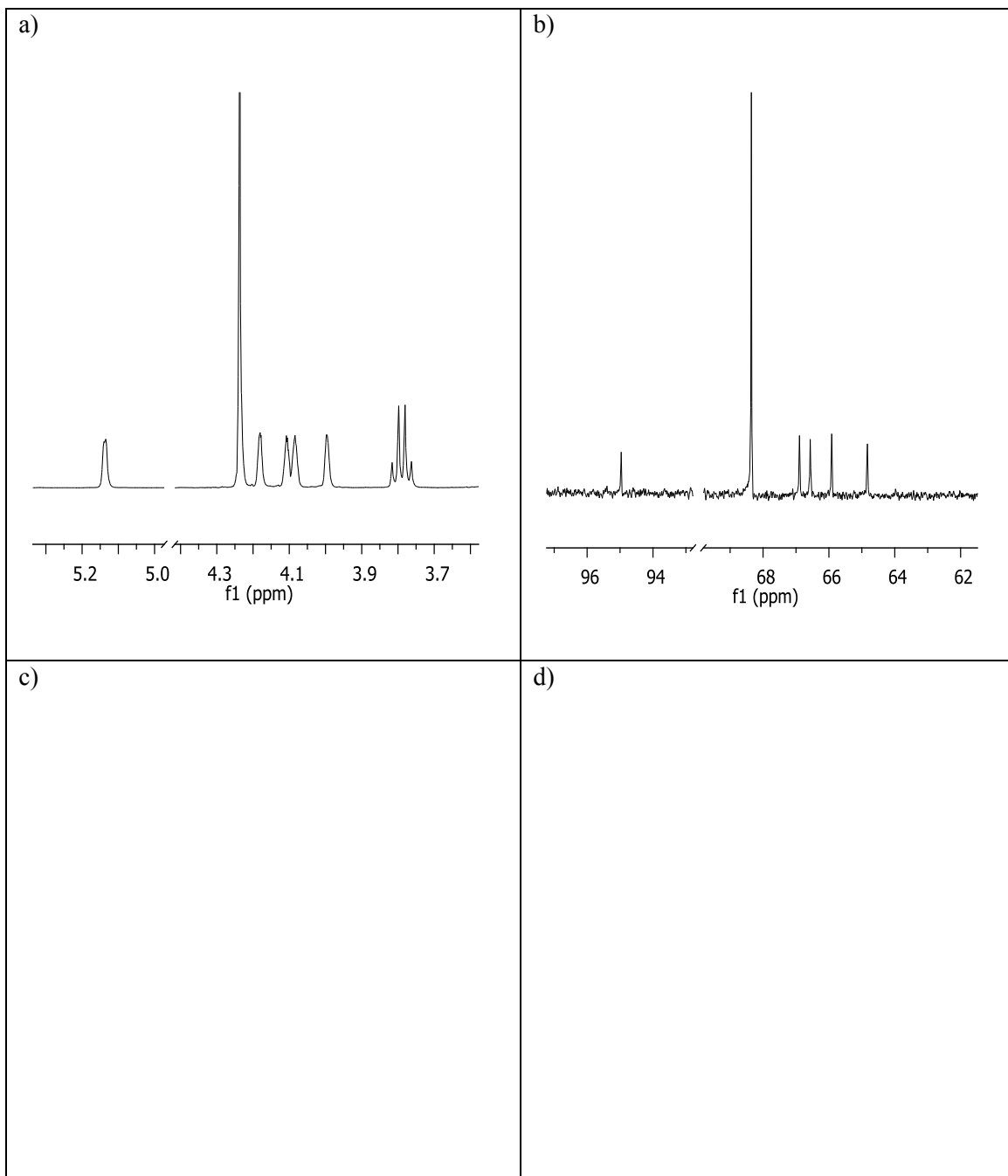
Es notable la alta selectividad de formación de los grupos de inserción. Además se encontró que las ferrocenildihidropirimidinas **4a – c** experimentan deshidrogenación oxidativa suave con diacetoxiyodobenceno en diclorometano en presencia de K_2CO_3 (ca. 20-30 min (**4a – c**) a temperatura ambiente) para producir las pirimidinas correspondiente **5a – c** con rendimientos de aproximadamente 65-75% (véase Esquema 25).

Las 2-amino-6-ferrocenilpirimidina-5-carboxilatos de etilo (**5a – c**) aislados por columna cromatográfica en alúmina, son sustancias sólidas representativas de color rojo estables tanto almacenadas en estado sólido como si se encontraran en solución (por ejemplo, en diclorometano, etanol ó acetona).

Las estructuras de estos productos se establecieron en base a los datos de espectroscopia de IR, espectrometría de RMN de 1H y ^{13}C , de masas y análisis elemental. Las características espectrales de RMN principales de las pirimidinas **5a – c** son las siguientes. Las señales de los cuatro protones del anillo de C_5H_4 de ferroceno aparecen como dos multipletes localizados más hacia campo bajo (entre 3.9 – 4.3 ppm) comparados con el singulete del fragmento del anillo ciclopentadienilo no sustituido. Los espectros de RMN de ^{13}C contienen dos singuletes para cuatro átomos de carbono en el fragmento de ciclopentadienilo sustituido de ferroceno, uno a campo bajo y el otro a campo alto en comparación con la posición del singulete para cinco átomos de carbono del fragmento de ciclopentadienilo no sustituido de ferroceno. Las señales de los sustituyentes

C_{ipsoFc} , CH_3 y etoxicarbonilo se encuentran más hacia campo bajo comparados con las correspondientes señales en las amino(ferrocenil)dihidropirimidinas **4a – f**.

El análisis comparativo sistemático de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de las dihidropirimidinas y pirimidinas **4a – c** y **5a – c** revela el efecto de la aromatización. Las diferencias distintivas de RMN características hacen posible su uso para identificar este tipo de compuestos a partir de sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C (Figura 5).



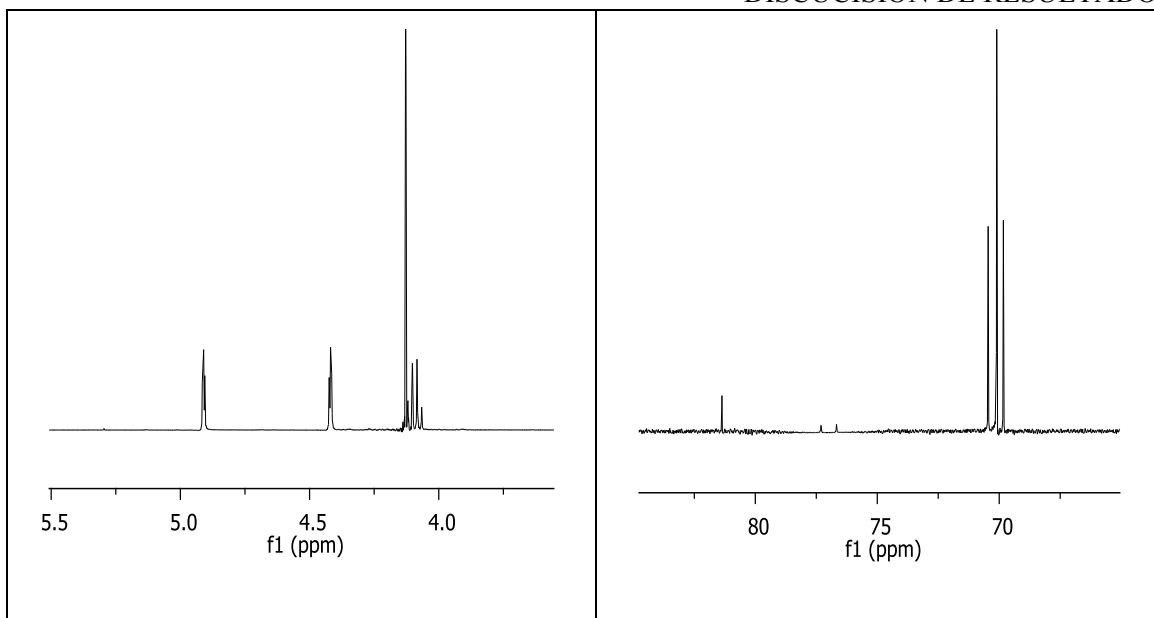


Figura 5. Espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de las estructuras **4c** (dihidropirimidinas) y **5c** (pirimidina)

Las estructuras espaciales de los compuestos **4b**, y **5b** fueron determinadas por medio de difracción de Rayos – X de monocristal.

La vista general de las moléculas **4b**, y **5b** se muestran en las Figuras 3a, 3b, 4a y 4b respectivamente, los parámetros geométricos principales se enlistan en la Tabla 2. Los datos del análisis de difracción de Rayos – X confirman la estructura de dihidropirimidina en el compuesto **4b** y una estructura aromática para el compuesto **5b**.

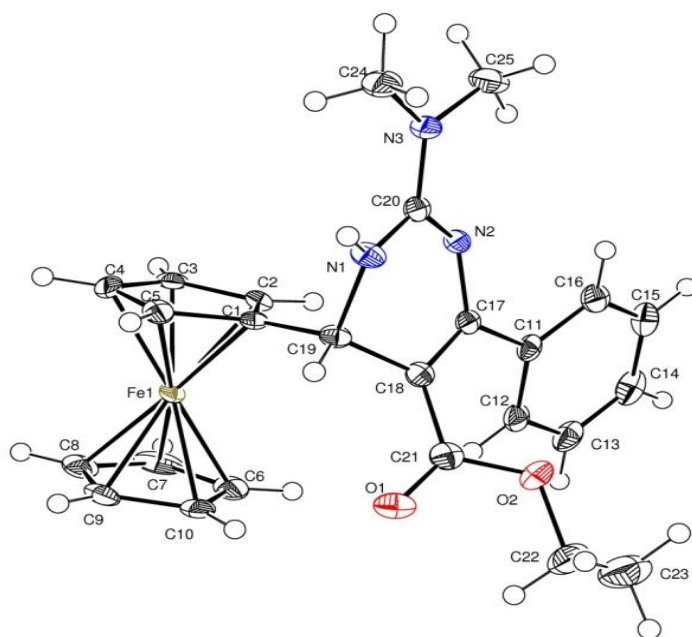


Figura 3a. Estructura molecular de Rayos-X de **4b**.

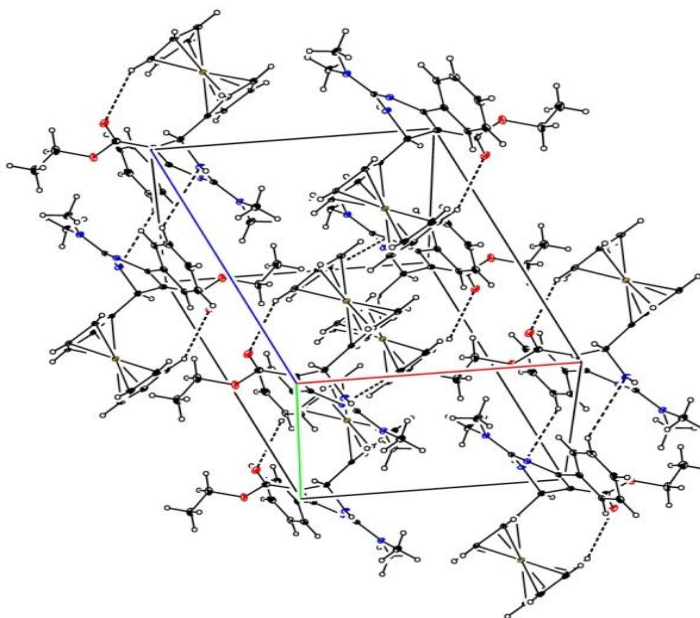


Figura 3b. Estructura cristalina de Rayos-X de **4b**.

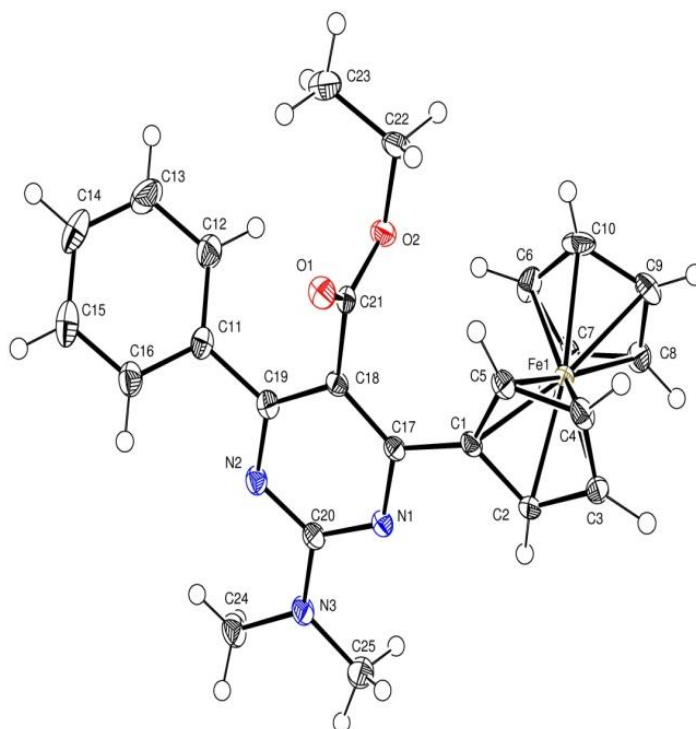


Figura 4a. Estructura molecular de Rayos-X de **5b**.

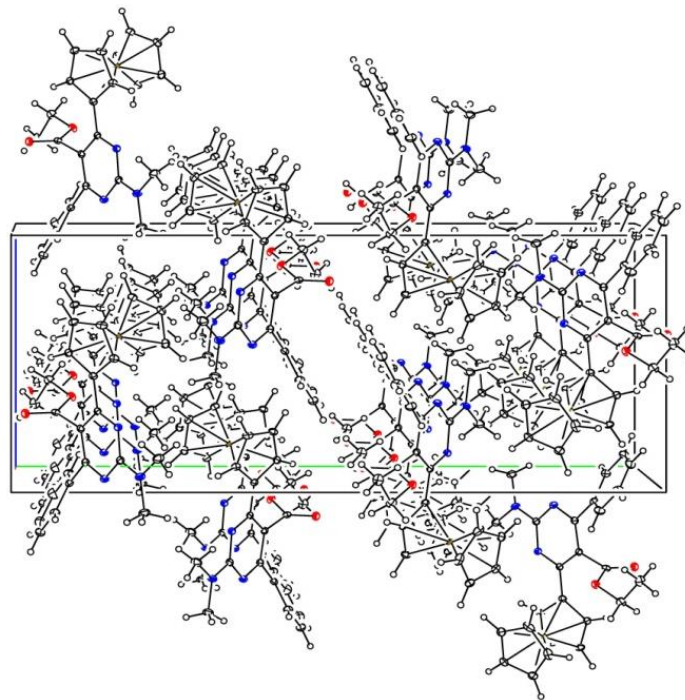


Figura 4b. Estructura cristalina de Rayos-X de **5b**.

Tabla 2: Longitudes de enlace seleccionado y ángulos para compuestos **4b** y **5b**

4b	Longitud de enlace [Å]		Longitud de enlace [Å]
N(1)-C(11)	1.463(2)	N(1)-C(18)-N(2)	123.04(17)
N(1)-C(18)	1.348(2)	C(18)-N(2)- C(13)	117.07 (16)
N(2)-C(18)	1.332(3)	N(2)-C(13)- C(12)	122.92(18)
C(12)- C(13)	1.370(3)	C(13)-C(12)- C(11)	117.89(17)
C(12)- C(11)	1.525(3)	C(12)-C(11)- N(1)	107.27(15)
N(2)-C(13)	1.376(3)	C(11)-N(1)- C(18)	119.45(16)
N(3)-C(18)	1.336(3)	N(1)-C(18)-N(3)	117.98(18)
5b			
N(1)-C(20)	1.346(2)	C(18)-C(17)- N(1)	121.29(15)
N(1)-C(17)	1.343(2)	C(17)-C(18)- C(19)	116.59 (15)
N(2)-C(20)	1.347(2)	N(1)-C(20)-N(2)	125.84(15)
N(2)-C(19)	1.336(2)	C(19)-N(2)- C(20)	116.46(14)
N(3)-C(20)	1.354(2)	N(2)-C(19)- C(18)	122.56(15)
C(17)- C(18)	1.408(2)	N(3)-C(20)- N(1)	116.66(15)
C(18)- C(19)	1.399(2)	N(2)-C(20)-N(3)	117.50(15)

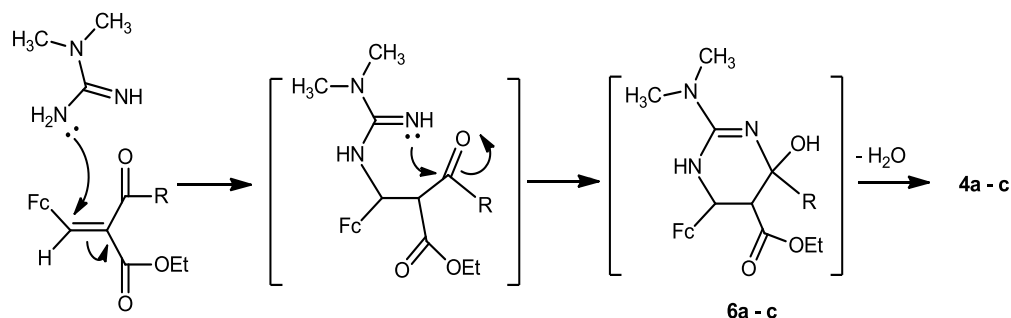
La estructura central de la molécula **5b** es un anillo de seis miembros con dos átomos de nitrógeno. Los datos del análisis de Rayos – X muestran que el enlace C(17)-C(18) en el anillo de pirimidina es un poco más largo [$d=1.408(2)$ Å] que el valor estándar de 1.39 Å (Tabla 3). Las distancias de los enlaces C-Fe y C-C en el sustituyente ferrocenílico así como los parámetros geométricos del metaloceno están cercanas a los valores estándares.

Tabla 3: Datos de cristología y estructura para los compuestos **4b** y **5b**

Datos	4b	5b
Fórmula molecular	C ₂₅ H ₂₇ FeN ₃ O ₂	C ₂₅ H ₂₅ FeN ₃ O ₂
Peso Molecular	457.35 g mol ⁻¹	455.33 g mol ⁻¹
Tipo de Cristal	triclínico	monoclínico
Color	Cristales Naranja	Cristales Rojos
a (Å)	10.3102 (7)	7.3017 (2)
b (Å)	10.7919 (7)	26.4303 (6)
c (Å)	11.6861 (8)	10.8992 (2)
α (°)	115.227 (6)	90
β (°)	111.697 (6)	97.251 (2)
γ (°)	92.325 (5)	90
V (Å ³)	1062.13 (15)	2086.57 (8)
Temperatura, K	130 (2) K	293 (2) K
Z	2	4
D _{calc} (gcm ⁻³)	1.430 mg/m ³	1.449 mg/m ³
Longitud de onda	1.54184	0.71073
F (000)	480	925
Coefficiente de absorcion	5.911 mm ⁻¹	0.751 mm ⁻¹
Tamaño de cristal	0.5588 x 0.4191 x 0.23915 mm ³	0.3057 x 0.2094 x 0.1459 mm ³
Intervalo de indice	-12 ≤ h ≤ 12, -8 ≤ k ≤ 12, -14 ≤ l ≤ 13	-9 ≤ h ≤ 7, -29 ≤ k ≤ 32, -13 ≤ l ≤ 12
Intervalo de exploración	4.63 ≤ Θ ≤ 67.82°	3.54 ≤ Θ ≤ 26.06°
Reflexion independiente	3833	4110
R _{int}	0.0328	0.0244
Reflexión Total	6432	14970
Parámetro refinables	288	283
Reflexión con $I > 2\sigma$		
(I)	0.04	0.0286
wR ₂	0.1106	0.0691
Índice R ₁	0.044	0.0345
wR ₂	0.1127	0.0708
Ajuste en F ²	1.076	1.027
Densidad residual electrónica	0.788/-0.347 eÅ ⁻³	0.353/-0.311 eÅ ⁻³

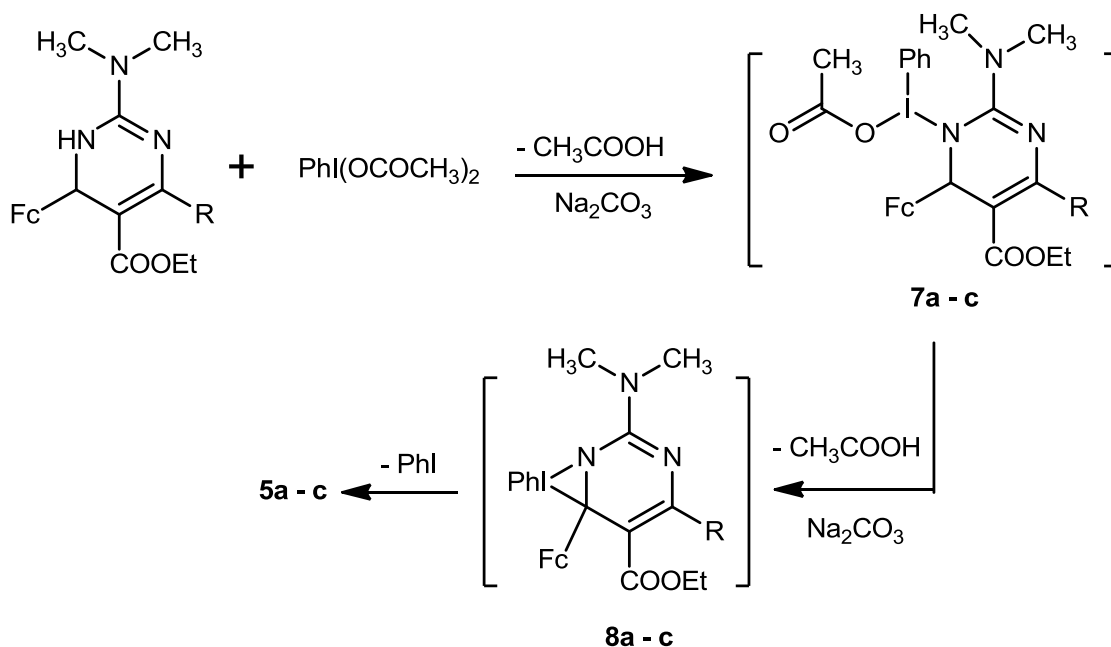
El siguiente esquema de reacción propuesto razona la manera en que se forman las 1,6-dihidropirimidinas **4a – c** (Esquema 27). Los dos sitios nucleofílicos de la dimetilguanidina, atacan secuencialmente ó simultáneamente al átomo de carbono

en posición 3 de los 2-acil-3-ferrocenilacrilatos **2a – d** y al átomo de carbono del grupo carbonilo en el sustituyente acilo, seguido de una deshidratación de los intermediarios **6a – c**.



Esquema 27: Mecanismo para la formación de 2-amino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo **4a – c**

El mecanismo de deshidrogenación oxidativa con el sistema $\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{K}_2\text{CO}_3$ propuesto por Richardson *et. al.*, parece ser aplicable a los compuesto **4a – c** (Esquema 28).



Esquema 28: Mecanismo para la formación de 2-amino-6-ferrocenilpirimidina-5-carboxilato de etilo **5a-c**

Inicialmente, el $\text{Ph}(\text{OAc})_2$ reacciona con las dihidropirimidinas para formar los derivados *N*(1)-[acetoxi(fenil)- λ^3 -yodo] **7a – c**. Su transformación en las pirimidinas deseadas **5a – c** ocurre presumiblemente a través de los intermediarios **8a – c** con eliminación de PhI. La deshidrogenación oxidativa de las dihidropirimidinas **4a – c**

procede de manera rápida y virtualmente sin formación de productos colaterales. Sin embargo, 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) presumiblemente debido a la implicación del grupo amino libre en la oxidación (la formación de nitrenos y sus transformaciones subsecuentes).

4.3 ESTUDIO DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La presente tesis contribuye con los primeros estudios preclínicos de las propiedades antiinflamatorias y antitumoral de los compuestos dihidropirimidinas y pirimidinas funcionalizadas.

4.3.1 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 pirimidínicos sintetizados en este trabajo de tesis.

Los resultados de la actividad de los compuestos **4a**, **4b**, **4c** (dihidropirimidinas) y **5a**, **5b**, **5c** (pirimidinas), obtenidos en el modelo de edema inducido por TPA en oreja de ratón (Tabla 4 véase sección experimental) sustentan que tienen una actividad efectiva, esto en comparación con el compuesto de referencia (Indometacina). El compuesto **4a** fue el que presentó mayor actividad inhibitoria con un 97%, presentando aun mayor efectividad que el compuesto de referencia (Indometacina con 84%).

Aunque el compuesto **5c** presentó un 74.9% de inhibición, en promedio los compuestos de dihidropirimidinas presentan una mayor actividad antiinflamatoria con respecto a las pirimidinas.

4.3.2 CITOTOXICIDAD EN LINEAS CELULARES

Se determinaron los efectos citotóxicos de los compuestos **4a**, **4b**, **4c** (dihidropirimidinas) y **5a**, **5b**, **5c** (pirimidinas), en seis líneas celulares de cáncer humano que fueron U251 (SNC), PC-3 (Próstata), K562 (Leucemia), HCT-15 (Colon), MCF-7 (Mama) y SKLU-1 (Pulmón), los resultados son presentados en la Tabla 4.

El compuesto **4c** presenta mayor actividad en las líneas celulares U251 (57.8 ± 6.6 %) y en HCT-15 (62.0 ± 10.1 %), **4a** presenta mayor actividad en PC-3 (89.7 ± 10.2 %), en K562 (91.3 ± 8.7 %) y en MCF-7 (78.9 ± 7.6 %); el compuesto **4b** presenta mayor actividad en las líneas celulares SKLU-1 (44.8 ± 4.1 %).

Se realizó una prueba de citotoxicidad en macrófagos de ratones (células sanas) en la cual se observa que el compuesto **5c** es el que presenta la menor toxicidad (26.2 ± 1.3 %) en comparación con los demás compuestos, casi al nivel del compuesto de referencia que es cisplatino (22.9 %)

En general, las dihidropirimidinas presentan mayor actividad citotóxica que las pirimidinas, además de que se observó que presentaban mayor actividad biológica en las líneas celulares PC-3 y K562 por lo que se procedió a un estudio de IC_{50} , los resultados se muestran en la Tabla 5 (véase sección experimental).

El compuesto que presenta mayor actividad citotóxica, es el **4a** y presenta mayor actividad en la línea celular K562 ($IC_{50} 21.0 \pm 1.2$).

V SECCIÓN EXPERIMENTAL

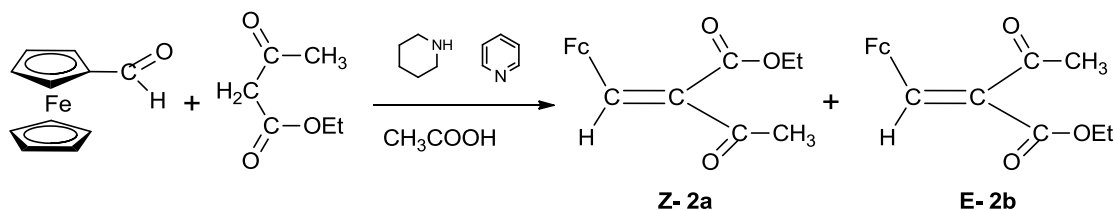
En el presente trabajo fue utilizada la reacción de condensación aldólica (específicamente la reacción de Knoevenagel) para sintetizar 2-acil-3-ferrocenilacrilatos de etilo como materias primas.

En la presente tesis, se logró la síntesis de ferrocenildihidropirimidinas funcionalizadas y ferrocenilpirimidinas por el acoplamiento de 1,1-dimetilguanidina con 2-acil-3-ferrocenilacrilato de etilo. Hasta ahora no se ha documentado el uso de acilacrilatos para la preparación de derivados de pirimidina.

Los espectros ^1H y ^{13}C de RMN fueron obtenidos en un espectrómetro de unidad Inova Varian 300 (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 referencia interna. Los espectros IR se realizaron con un espectrofotómetro de detección directa marca Perkin. Los espectros UV fueron grabados en un espectrofotómetro Specord UV-VIS. La espectrometría de masas se realizó en un instrumento Varian MAT CH-6 MS IE (70-eV). Se empleó un equipo Elementar Analysen systeme LECO CHNS-900 fue utilizado para el análisis elemental. Los reactivos siguientes fueron comprados en Aldrich: ferrocenecarbaldehído, 99%; acetoacetato de etilo, 99%; benzoilacetato de etilo, 90%; 4-nitrobenzoilacetato de etilo; sulfato de 1,1-dimetilguanidina, 97%.

5.1 OBTENCIÓN DE MATERIAS PRIMAS:

5.1.1 Reacción de ferrocenilcarbaldehído con acetoacetato de etilo.



La 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) fue calentada a reflujo durante 12 hrs. Las aminas fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica fue concentrada al vacío. El residuo obtenido fue

cromatografiado en Al_2O_3 (III actividad por Brockmann), utilizando como eluente 4:1 hexano-diclorometano [18], obteniéndose 2.5 g de *Z*-2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo **2a** (rendimiento de 45%, p.f. 75-77°C) y 2.1 g de *E*-2-acetil-3-ferrocenilacrilato de etilo **2b** (rendimiento de 32%, liquido rojo)

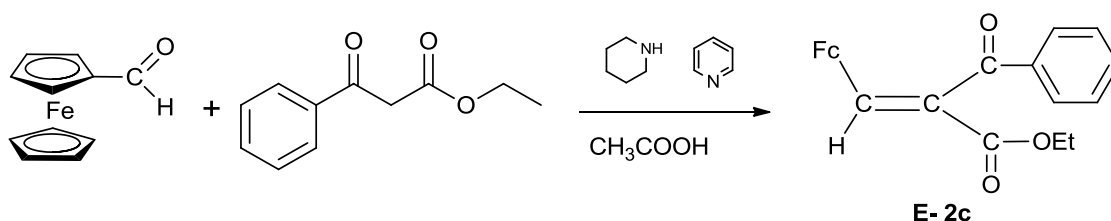
^1H NMR de **2a** (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.36 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.32 (s, 3 H, CH_3), 4.19 (s, 5 H, C_5H_5), 4.35 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.46 (m, 2 H, C_5H_4), 4.49 (m, 2 H, C_5H_4), 7.44 (s, 1 H, $\text{CH}=\text{C}$)

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, $\text{CH}=\text{C}$).

MS: m/z 326 (M^+)

5.1.2 Reacción de ferrocenilcarbaldehído con benzoilacetato de etilo.



La mezcla de ferrocenilcarbaldehído (10 mmol), benzoilacetato de etilo (15 mmol), piperidina (5.0 mL), piridina (5.0 mL) y CH_3COOH glacial (10.0 mL) y benceno (100 mL) fue calentada a reflujo durante 12 hrs. Las aminas fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica fue concentrada al vacío. El residuo obtenido fue cromatografiado en Al_2O_3 (III actividad por Brockmann) utilizando como eluente hexano-diclorometano 3:1. Obteniendo como producto *E*-2-benzoil-3-ferrocenil-2-acrilato de etilo **2c**, 2.8 g (rendimiento de 72%) p.f. 137-139 °C, cristales rojos.

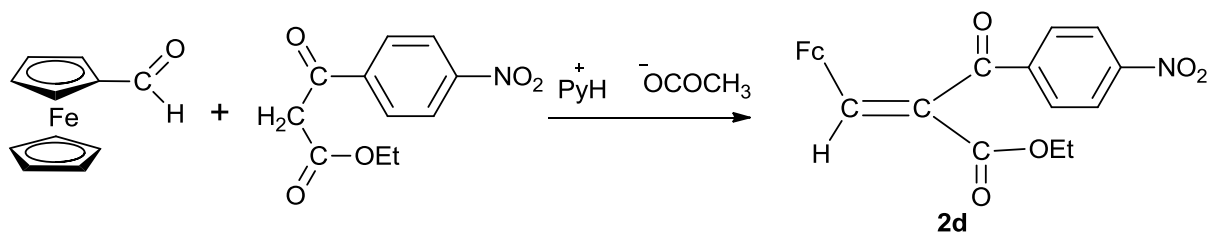
UV: Max: 207.24; 0.86977 Min: 236.64; 0.46119

^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, HC=), 7.47 (t, 2 H, $J = 9.0$ Hz, C₆H₅), 7.58 (t, 2 H, $J = 9.0$ Hz, C₆H₅), 7.97 (d, 1 H, $J = 9.0$ Hz, C₆H₅).

MS: m/z 388 (M⁺)

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



La 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) fue calentada a reflujo durante 12 hrs. Las aminas residuales fueron lavadas con HCl al 5% y la fase orgánica fue concentrada al vacío. El residuo obtenido fue recristalizado por adición de etanol (150 mL) [68]. Se obtuvo 3-ferrocenil-2-*p*-nitrobenzoil-acrilato de etilo **2d**. Después de filtrar al vacío fue obtenido 2.7 g de **2d** (rendimiento de 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, HC=), 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⁺)

5.2 Síntesis de 2-dimetilamino-6-ferrocenil-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etilo.

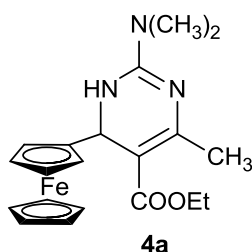
5.2.1 Procedimiento general

Se prepara una mezcla de los compuestos **2a**, **2b**, **2c** ó **2d** (10 mmol), dimetil guanidina sulfato **3a** (7,5 mmol), etanol (60 mL), H₂O (10 mL) y Na₂CO₃ (2,0 g) y se agitó durante 8 h a 80 °C. Posteriormente los disolventes se evaporaron al

vacío y el residuo se disuelve en diclorometano (50 mL). La solución se mezcla con Al_2O_3 (actividad III) (20 g) y el disolvente se evapora al aire. Después este absorbente se aplica a la columna con Al_2O_3 (la altura de la alúmina es aproximadamente de 20 cm) y los productos de la reacción fueron separados por cromatografía, usando como eluentes: primero hexano-éter 2:1 y luego, hexano-diclorometano 2:1

Se obtuvieron los compuestos **4a-c** así como los productos de inserción correspondientes **4d**, **4e** y **4f**.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4a)



Cristales naranjas, rendimiento: 0.87 g (45 %), 0.81 g (41 %, de **2b**), pf. 145-146 °C.

IR (KBr): 495, 796, 826, 947, 1000, 1068, 1098, 1120, 1183, 1208, 1231, 1245, 1337, 1373, 1477, 1563, 1640, 1724, 2903, 2938, 2976, 3077, 3091, 3333 cm^{-1} .

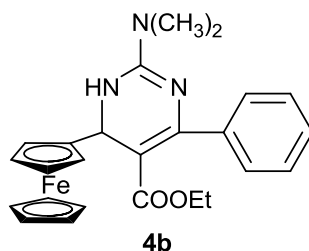
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.30 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.28 (s, 3 H, CH_3), 3.15 (s, 6 H, 2 CH_3), 4.17 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.13 (s, 5 H, C_5H_5), 3.94 (m, 1 H, C_5H_4), 4.01 (m, 1 H, C_5H_4), 4.08 (m, 1 H, C_5H_4), 4.26 (m, 1 H, C_5H_4), 5.21 (s, 1 H, CH), 5.38 (bs, 1 H, NH).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 14.66, 24.25, 36.96 (4 CH_3), 49.32 (CH), 59.12 (CH_2), 68.26 (C_5H_5), 64.95, 67.26, 67.34, 67.67 (C_5H_4), 94.41 (C_{ipso}Fc), 99.92, 154.32, 158.43, 167.46 (4 C).

Análisis Elemental calculado para: $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{FeN}_3\text{O}_2$: C, 60.77; H, 6.38; Fe, 14.13; N, 10.63. Cantidad Encontrada: C, 60.61; H, 6.49; Fe, 14.25; N, 10.58.

MS: m/z 395 [M]⁺.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4b)



Cristales naranjas, rendimiento: 0.92 g (40%), pf. 159 – 160 °C.

IR (KBr): 491, 699, 778, 808, 816, 999, 1001, 1021, 1037, 1055, 1089, 1152, 1217, 1282, 1325, 1344, 1522, 1571, 1620, 1687, 1737, 2933, 2975, 3074, 3303 cm⁻¹.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 0.9 (t, 3 H, CH₃, J = 6.9 Hz), 3.11 (s, 6 H, 2 CH₃), 3.91 (q, 2 H, CH₂, J = 6.9 Hz), 4.19 (s, 5 H, C₅H₅), 4.06 (m, 2 H, C₅H₄), 4.14 (m, 1 H, C₅H₄), 4.38 (m, 1 H, C₅H₄), 5.32 (s, 1 H, CH), 5.54 (s, 1 H, NH), 7.30 (m, 3 H, C₆H₅), 7.39(m, 2 H, C₆H₅).

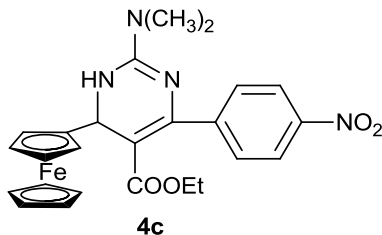
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ = 13.98, 37.30 (3 CH₃), 50.17 (CH), 59.28 (CH₂), 68.49 (C₅H₅), 65.32, 67.50, 67.66, 68.04 (C₅H₄), 93.84 (C_{ipso}Fc), 127.24, 127.96, 128.92 (C₆H₅), 100.03, 129.06, 142.13, 154.42, 167.64 (5 C).

Análisis Elemental Calculado para C₂₅H₂₇FeN₃O₂: C, 65.66; H, 5.95; Fe, 12.21; N, 9.18.

Cantidad Encontrada: C, 65.53; H, 6.07; Fe, 12.30; N, 9.06

MS: m/z 457 [M]⁺.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil)-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4c)



Cristales naranjas, rendimiento: 0.88 g (35%), pf. 158-159 °C.

IR (KBr): 486, 530, 708, 757, 812, 861, 965, 1002, 1021, 1033, 1083, 1105, 1152, 1226, 1287, 1335, 1363, 1387, 1470, 1515, 1570, 1658, 1718, 2940, 3096, 3225 cm^{-1} .

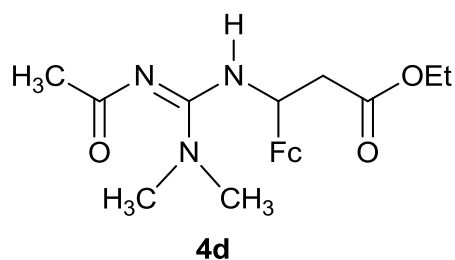
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 0.93 (t, 3 H, CH_3 , J = 6.9 Hz), 3.16 (s, 6 H, 2 CH_3), 3.92 (q, 2 H, CH_2 , J = 6.9 Hz), 4.19 (s, 5 H, C_5H_5), 4.05 (m, 1 H, C_5H_4), 4.10 (m, 1 H, C_5H_4), 4.17 (m, 1 H, C_5H_4), 4.37 (m, 1 H, C_5H_4), 5.33 (s, 1 H, CH), 5.48 (bs, 1 H, NH), 7.49 (d, 2 H, C_6H_4 , J = 8.7 Hz), 8.15 (d, 2 H, C_6H_4 , J = 8.7 Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 14.09, 37.26 (3 CH_3), 50.03 (CH), 59.56 (CH_2), 68.51 (C_5H_5), 67.51, 67.84, 68.23, 68.92 (C_5H_4), 93.58 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 122.65, 129.75 (C_6H_4), 100.57, 127.09, 147.29, 149.45, 154.51, 166.68 (6 C).

Análisis Elemental Calculado para: $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{FeN}_4\text{O}_4$: C, 59.77; H, 5.22; Fe, 11.12; N, 11.15 Cantidad Encontrada: C, 59.65; H, 5.27; Fe, 11.08; N, 11.20.

MS: m/z 502 $[\text{M}]^+$.

3-(2-Acetil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropanoato de etilo (4d)



Cristales amarillos, rendimiento de 0.6 g (29%), pf. 196-198 °C

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 1.25 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.36 (dd, 1 H, J = 7.8, 15.16 Hz, CH_2), 2.67 (dd, 1 H, CH_2 , J = 6.0, 15.6 Hz), 3.14 (s, 6 H, 2CH_3), 4.07 (q, 2 H, J = 7.2 Hz CH_2), 4.21 (s, 5 H, C_5H_5), 3.92 (m, 1 H, C_5H_4), 4.09 (m, 1 H, C_5H_4), 4.15 (m, 1 H, C_5H_4), 4.18 (m, 1 H, C_5H_4), 4.49 (dd, 1 H, J = 6.0, 7.8 Hz CH), 5.08 (bs, 1 H, NH).

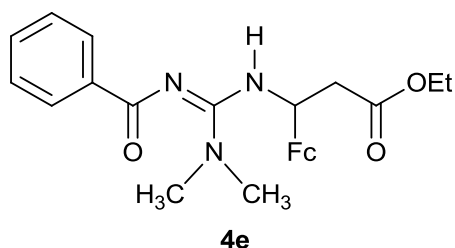
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ = 14.51, 22.39, 37.63 (4 CH_3), 47.63 (CH), 44.52, 60.01 (2CH_2), 68.44 (C_5H_5), 64.77, 65.72, 66.73, 67.14 (C_5H_4), 89.19 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}$), 155.19, 158.12, 165.92 (3 C).

Análisis Elemental Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{FeN}_3\text{O}_3$ (%): C, 58.12; H, 6.59; Fe, 13.51; N, 10.16

Cantidad Encontrada: C, 58.21; H, 6.63; Fe, 13.39; N, 10.22

MS: m/z 413 $[\text{M}]^+$.

3-(2-Benzoil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropanoato de etilo (4e)



Cristales amarillo, rendimiento de 0.83 g (35%), pf. 202-203 °C

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.23 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.88 (dd, 1 H, J = 4.8, 16.1 Hz, CH_2), 2.97 (dd, 1 H, CH_2 , J = 5.7, 16.1 Hz), 3.07 (s, 6 H, 2CH_3), 4.10 (q, 2 H, J = 7.2 Hz CH_2), 4.14 (s, 5 H, C_5H_5), 4.07 (m, 1 H, C_5H_4), 4.11 (m, 1 H, C_5H_4), 4.17 (m, 1 H, C_5H_4), 4.19 (m, 1 H, C_6H_5), 5.08 (dd, 2 H, J = 4.8, 5.7 Hz C_6H_5), 5.47 (bs, 1 H, NH), 7.41 (m, 3H, C_6H_5), 8.23 (d, 2H, J = 9.2 Hz, C_6H_5).

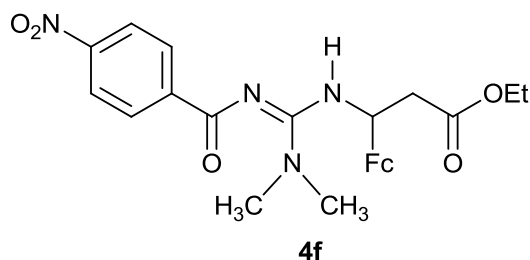
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 14.20, 36.79, (3\text{CH}_3), 48.59 (\text{CH}), 39.92, 61.08 (2\text{CH}_2), 68.76 (\text{C}_5\text{H}_5), 66.17, 67.34, 68.07, 68.31 (\text{C}_5\text{H}_4), 88.87 (\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}), 123.04, 129.78 (\text{C}_6\text{H}_4), 144.38, 149.11, 162.72, 172.21 (4 \text{ C}).$

Análisis Elemental calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FeN}_3\text{O}_3$ (%): C, 63.17; H, 6.15; Fe, 11.75; N, 8.83

Cantidad Encontrada: C, 63.12; H, 6.23; Fe, 11.68; N, 8.71.

MS: m/z 475 $[\text{M}]^+$.

3-[1,1-Dimetil-2-(*p*-nitrobenzoil)guanidina]-3-ferrocenilpropanoato de etilo (4f)



Cristales amarillo, rendimiento de 1.09 g (42%), pf. 206-207 °C

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.23$ (t, 3 H, CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 2.09 (dd, 1 H, $J = 4.5, 16.1$ Hz, CH_2), 2.99 (dd, 1 H, CH_2 , $J = 5.7, 16.1$ Hz), 3.17 (s, 6 H, 2CH_3), 4.13 (q, 2 H, $J = 7.2$ Hz CH_2), 4.15 (s, 5 H, C_5H_5), 4.09 (m, 1 H, C_5H_4), 4.11 (m, 1 H, C_5H_4), 4.16 (m, 1 H, C_5H_4), 4.18 (m, 1 H, C_6H_5), 5.09 (dd, 2 H, $J = 4.5, 5.1$ Hz CH), 5.77 (bs, 1 H, NH), 8.24 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz C_6H_4), 8.36 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, C_6H_4).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 14.22, 38.73, (3\text{CH}_3), 49.60 (\text{CH}), 40.02, 61.15 (2\text{CH}_2), 68.93 (\text{C}_5\text{H}_5), 66.27, 67.43, 68.15, 68.44 (\text{C}_5\text{H}_4), 88.95 (\text{C}_{\text{ipso}}\text{Fc}), 123.12, 129.97 (\text{C}_6\text{H}_4), 144.56, 149.21, 162.88, 167.36, 172.39 (5 \text{ C}).$

Análisis Elemental calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FeN}_4\text{O}_5$ (%): C, 57.71; H, 5.42; Fe, 10.73; N, 10.76

Cantidad Encontrada: C, 57.49; H, 5.34; Fe, 10.59; N, 10.63

MS: m/z 520 $[\text{M}]^+$.

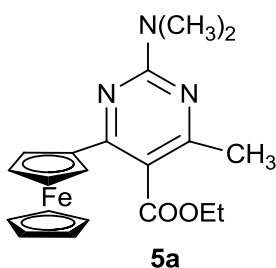
5.3 Síntesis de 2-amino-6-ferrocenilpirimidil-5-carboxilatos de etilo con diacetoxiyodobenceno

5.3.1 Procedimiento General

La mezcla de compuestos **4a**, **4b** o **4c** (3 mmol), diacetoxiyodobenceno (1.3 g, 4 mmol), diclorometano (60 mL) y 1.5 g K_2CO_3 , se agitó durante 1 h a 20 °C. El disolvente fue evaporado al vacío, el residuo se mezcló con Al_2O_3 (actividad III) (10 g) y el sorbente fue aplicado a la columna con Al_2O_3 (la altura de alúmina es aprox. 20 cm). Los productos de la reacción fueron eluidos con hexano-éter 2:1.

Se obtuvieron los compuestos **5a-5c** (rendimiento aproximado de 70%-80%), respectivamente.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metilpirimidil-5-carboxilato de etilo (**5a**)



Cristales rojos, rendimiento: 1.4 g (70 %), pf. 55-56 °C.

IR (KBr): 482, 503, 596, 647, 730, 797, 812, 893, 1021, 1044, 1085, 1104, 1167, 1200, 1222, 1286, 1329, 1368, 1413, 1439, 1525, 1571, 1704, 2897, 2928, 2979, 3085 cm^{-1} .

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.29 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 2.36 (s, 3 H, CH_3), 3.24 (s, 6 H, 2 CH_3), 4.30 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.08 (s, 5 H, C_5H_5), 4.35 (m, 2 H, C_5H_4), 4.80 (m, 2 H, C_5H_4).

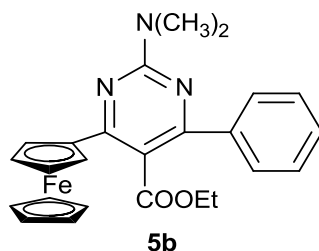
^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.01, 22.67, 36.76 (4 CH_3), 61.13 (CH_2), 70.01 (C_5H_5), 69.41, 69.93 (C_5H_4), 82.09 ($C_{ipso}Fc$), 113.16, 160.85, 164.11, 164.46, 170.26 (5 C).

Análisis Elemental calculado para: $C_{20}H_{23}FeN_3O_2$: C, 61.10; H, 5.89; Fe, 14.20; N, 10.68.

Cantidad Encontrada: C, 60.97; H, 5.94; Fe, 14.14; N, 10.73.

MS: m/z 393 $[M]^+$.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidil-5-carboxilato de etilo (5b)



Cristales Rojos, rendimiento: 1.55 g (68%), pf. 114-116 °C (diclorometano).

IR (KBr): 476, 497, 529, 641, 699, 761, 810, 821, 999, 1024, 1037, 1041, 1070, 1127, 1168, 1199, 1217, 1293, 1354, 1383, 1404, 1441, 1492, 1518, 1549, 1582, 1710, 2864, 2927, 2958, 3074, 3002 cm^{-1} .

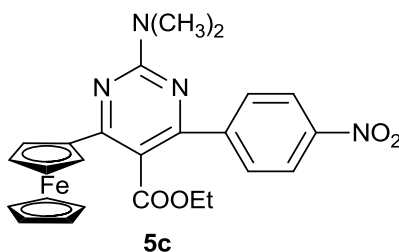
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 0.99 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 3.29 (s, 6 H, 2 CH_3), 4.08 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.13 (s, 5 H, C_5H_5), 4.38 (m, 2 H, C_5H_4), 4.93 (m, 2 H, C_5H_4), 7.41 (m, 3 H, C_6H_5), 7.63 (m, 2 H, C_6H_5).

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 13.60, 36.86 (3 CH_3), 61.20 (CH_2), 70.402 (C_5H_5), 69.85, 70.16 (C_5H_4), 81.92 ($C_{ipso}Fc$), 128.11, 128.17, 129.13 (C_6H_5), 112.96, 139.48, 160.89, 164.74, 164.85, 170.15 (6 C).

Análisis Elemental calculado para: $C_{25}H_{25}FeN_3O_2$: C, 65.95; H, 5.53; Fe, 12.27; N, 9.22.

Cantidad Encontrada: C, 70.06; H, 5.61; Fe, 12.34; N, 9.16.

MS: m/z 455 $[M]^+$.

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil) pirimidil-5-carboxilato de etilo (5c)

Cristales Rojos, rendimiento: 1.8 g (72%), pf. 156-157 °C.

IR (KBr): 482, 503, 596, 730, 797, 812, 893, 1021, 1044, 1085, 1103, 1167, 1200, 1222, 1286, 1368, 1410, 1439, 1525, 1570, 1704, 2897, 2927, 2979, 3085 cm^{-1} .

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.04 (t, 3 H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 3.29 (s, 6 H, 2 CH_3), 4.10 (q, 2 H, CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.13 (s, 5 H, C_5H_5), 4.42 (m, 2 H, C_5H_4), 4.91 (m, 2 H, C_5H_4), 7.79 (d, 2 H, C_6H_4 , J = 8.4 Hz), 8.27 (d, 2 H, C_6H_4 , J = 8.4 Hz).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ = 13.68, 36.86 (3 CH_3), 61.48 (CH_2), 70.10 (C_5H_5), 69.83, 70.45 (C_5H_4), 81.37 (C_{ipsoFc}), 123.31, 129.30 (C_6H_4), 112.75, 145.67, 148.14, 160.72, 162.41, 165.82, 169.54 (7 C).

Análisis Elemental calculado para: $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{FeN}_4\text{O}_4$: C, 60.02; H, 4.83; Fe, 11.16; N, 11.20.

Cantidad Encontrada: C, 59.96; H, 4.76; Fe, 11.24; N, 11.11.

MS: m/z 500 $[\text{M}]^+$.

VI ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En esta tesis se empleo experimentación animal:

- El modelo de edema inducido por TPA en la oreja de ratón y dos experimentos *in Vitro*
- Producción de NO en macrófagos peritoneales de ratón
- Citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano.

El ensayo fue realizado por la Dra. Teresa Ramírez Apan en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

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.

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

6.1.1 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): control (recibieron TPA más el vehículo), de prueba (recibieron TPA más las sustancias problemas) y de referencia (recibieron TPA más indometacina).

6.1.2 Procedimiento

El ensayo se efectuó conforme con la técnica establecida por De Young [77]. A continuación se describe el procedimiento realizado.

Los ratones se anestesiaron con 0.25 mL de pentobarbital (Sedalforte, 0.063 g/mL) por vía *ip*. Posteriormente, se administro 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 de 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. En donde A corresponde al valor promedio del edema en el grupo control y B al valor promedio del edema en el grupo de prueba o de referencia.

$$\% IE = 100 - [B / A \times 100]$$

Ecuación# 1

Se construyó una curva dosis-respuesta para cada sustancia, siendo las variables «x» y «y» los valores de las dosis y los % *IE* respectivamente. La dosis efectiva 50 (DE₅₀) no se llevó a cabo. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1

6.2 Método *in Vitro* Ensayos de citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano

6.2.1 Condiciones generales

La citotoxicidad en líneas tumorales se determinó de acuerdo con los protocolos establecidos por el Instituto Nacional de Cáncer (INC) de Estados Unidos [83]. Se evaluaron los compuestos obtenidos en la síntesis, tanto la dihidropirimidinas como las pirimidinas.

6.2.2 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 estreptomina, 0.25 µg/mL de anfotericina B (GIBCO) y 2 mM de L-glutamina (GIBCO). Se conservaron a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %.

La prueba se realizó in Vitro frente a 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 colon humano) y SKLU-1 (adenocarcinoma de pulmón humano), las líneas celulares fueron suministradas por el National Cancer Institute (EE. UU.). A continuación, 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 dihidropirimidinas y **5a**, **5b**, **5c** para las pirimidinas). 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 absorbancias 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 # 2. En donde A corresponde al valor de las células sin tratar; y B, al valor de las células tratadas con las sustancias de prueba o de referencia.

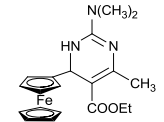
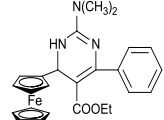
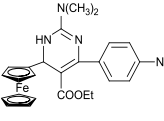
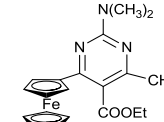
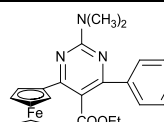
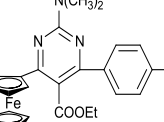
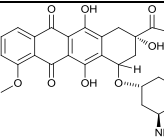
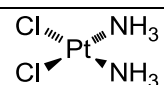
$$\% \text{ IC} = 100 - [B / A \times 100]$$

Ecuación # 2

La dosis efectiva 50 (DE₅₀) no se llevo a cabo. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4

Screening Primario

Tabla 4: Los resultados expresan el valor medio \pm error estándar obtenidos a partir de tres experimentos independientes realizados a las 48 h. NA = No Activo

Muestra	Estructura	U251 (SNC)	PC-3 (Prostata)	K562 (Leucemia)	HCT-15 (Colon)	MCF-7 (Mama)	SKLU-1 (Pulmón)	Cito-toxicidad en Macrófagos de Ratón	% Inhibición de edema de oreja de Ratón
4a		51.8 \pm 5.7	89.7 \pm 10.2	91.3 \pm 8.7	30.2 \pm 4.4	78.9 \pm 7.6	40.5 \pm 3.6	71.5 \pm 2.9	93
4b		42.1 \pm 6.5	71.9 \pm 10.3	53.85 \pm 2.1	35.4 \pm 11.8	42.9 \pm 12.0	44.8 \pm 4.1	69.5 \pm 4.2	_____
4c		57.8 \pm 6.6	71.8 \pm 28.2	69.3 \pm 6.1	62.0 \pm 10.1	63.4 \pm 6.6	36.6 \pm 15.4	31.5 \pm 0.3	65.47
5a		43.8 \pm 8.0	52.3 \pm 6.9	72.4 \pm 4.6	44.6 \pm 4.3	56.1 \pm 12.5	43.6 \pm 4.2	34.1 \pm 5.3	44.43
5b		15.5 \pm 0.5	37.4 \pm 2.3	15.65 \pm 0.8	29.5 \pm 1.2	42.2 \pm 4.0	38.4 \pm 7.6	31.3 \pm 4.3	_____
5c		11.0 \pm 1.9	32.4 \pm 0.1	12.1 \pm 4.7	14.8 \pm 2.7	34.0 \pm 2.9	25.3 \pm 3.2	26.2 \pm 1.3	74.9
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	32.48	_____
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	22.9 \pm 5.9	_____

Las líneas celulares que presentaron mayor sensibilidad fueron PC-3 (Próstata) y K562 (Leucemia) por lo cual se determino IC₅₀ (μ M). Tabla 5.

Tabla 5: Los resultados expresan la media $IC_{50} \pm$ error estándar (SEM) obtenidos a partir de tres experimentos independientes realizados a las 48 h. NA = No Activo

Muestra	% de Inhibición del Crecimiento por la línea celular		
	Estructura	PC-3	K562
4a		27.3±2.4	21.0±1.2
4b		48.2±3.7	55.5±5.3
4c		43.8±4.0	21.6±2.0
5a		31.2±2.1	31.0±1.5
5b		> 100	> 100
5c		> 100	> 100
Cisplatino		15.9±1.2	15.2±1.4

VII CONCLUSIONES

a) Se logró la síntesis de las siguientes dihidropirimidinas nuevas funcionalizadas:

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4a)

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenil-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4b)

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil)-1,6-dihidropirimidil-5-carboxilato de etilo (4c)

a) Se obtuvieron nuevos compuestos inserción 1,2:

3-(2-Acetil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropionato de etilo (4d)

3-(2-benzoil-1,1-dimetilguanidina)-3-ferrocenilpropionato de etilo (4e)

3-[1,1-Dimetil-2-(p-nitrobenzoil)guanidina]-3-ferrocenilpropionato de etilo (4f)

b) Se obtuvieron las siguientes pirimidinas nuevas funcionalizadas:

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-metilpirimidil-5-carboxilato de etilo (5a)

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-fenilpirimidil-5-carboxilato de etilo (5b)

2-Dimetilamino-6-ferrocenil-4-(4-nitrofenil) pirimidil-5-carboxilato de etilo (5c)

c) Se observó que tanto las dihidropirimidinas como las pirimidinas presentan actividad biológica como antiinflamatorios y actividad citotóxica, además de que las dihidropirimidinas presentan una mayor actividad.

d) Con los resultados obtenidos se preparó el artículo de autores: Elena Klimova, V. H. Sotelo Domínguez, J. J. Sánchez García, Tatiana Klimova, Leon V. Backinowsky, Marcos Flores-Álamo, Marcos Martínez García, y con título: "New 1,2-insertion reactions into 2-ferrocenylmethylidene-1,3-dicarbonyl compounds" que fue aceptado en la revista Mendeleev Communications. También fue preparado el artículo de autores Elena I. Klimova, Víctor H. Sotelo Domínguez, Jessica J. Sánchez García, Tatiana Klimova, Teresa Ramírez Apan, Eduardo A. Vázquez López, Marcos

Flores-Álamo, Marcos Martínez García, y con título: "Synthesis and biological evaluation of novel ethyl 2-amino-6-ferrocenyl-1,6-dihydropyrimidine-5-carboxylates and ethyl 2-amino-6-ferrocenylpyrimidine-5-carboxylates" el cual está en espera de su aceptación para su publicación.

VIII BIBLIOGRAFIA

1. Hunt. C. B., *Educ. Chem.* **1977**, 14, 110.
2. Kealy, T. J. and Pauson, *Nature*, **1951**, 168, 1039
3. S.A. Miller, J.A Tebboth, J.F. Tremain, *J. Chem. Soc.*, **1952**, 632.
4. Woodward, R. B.; Rosenblum, M; Whiting, M. C., *J. Chem., Soc.* **1952**, 74, 3458
5. J.W. Huffman, D.J. Rabb, *J. Org. Chem.*, **1951**, 26, 3588.
6. Abram, Trevor; Turbitt, T. Derrick; Watts, William. E.; *J. Chem. Soc. Perkin Transl., I*, **1977**, 13, 1536
7. Pittman C.U., *J. Paint Technol.*, **1967**, v. 39 v.585
8. Neuse E. W., *Adv. Macromol., J. Chem.*, **1968**, v.1, p.1
9. Harwood J. H., *Indus. Chem.*, **1960**, v. 36, p 176
- 10.Reduneau H., *Rev. Prod. Chem.*, **1964**, v. 67, p 572
- 11.Johnson J.C., *Metallocene Technology, Park Ridge. N.Y.* **1973**, p 222
- 12.Pittman C.U., *J. Paint Technol.*, **1971**, v. 43, p 29
- 13.Marr G., Rockett B. W., *Educ. Chem.*, **1972**, v. 9, p. 134.1
- 14.Nesmeyanov A.N., Kochetkova N.S., *Uspeki Khim*, **1974**, v. 43, p. 1513
- 15.Perevalova E. G., Reschetova M. D., Grangberg K. I., *Ferroceno, Moscu, Nauka*,**1984**, p. 433
- 16.Watts W. E., *J. Organomet. Chem. Libr.*, **1979**, v.7, p. 399
- 17.Postnov V. N., Klimova E. I., Meleshonkova N. N., *Zh. Obsch. Khim.*, **1992**, v. 62, p. 2057
- 18.Postnov V. N., Polivin Yu. N., Sazonova V. A., *Dokl. Akad. Nauk*, **1983**, v.271, p.113
- 19.Postnov V. N., Polivin Yu. N., Sazonova V. A., *Dokl. Akad. Nauk*, **1983**, v.271, p.1399
- 20.Ponomarenko V. I., Postnov V. N., Klimova E. I., *Zach. Metal.*, **1989** v.25 p. 141
- 21.Ponomarenko V. I., Postnov V. N., Klimova E. I., *Patente URSS* **1989** No 1529696
- 22.Postnov V. N., Klimova E. I., Sazonova V. A., *Zaks A.S. Patente URSS* **1987** No 1307

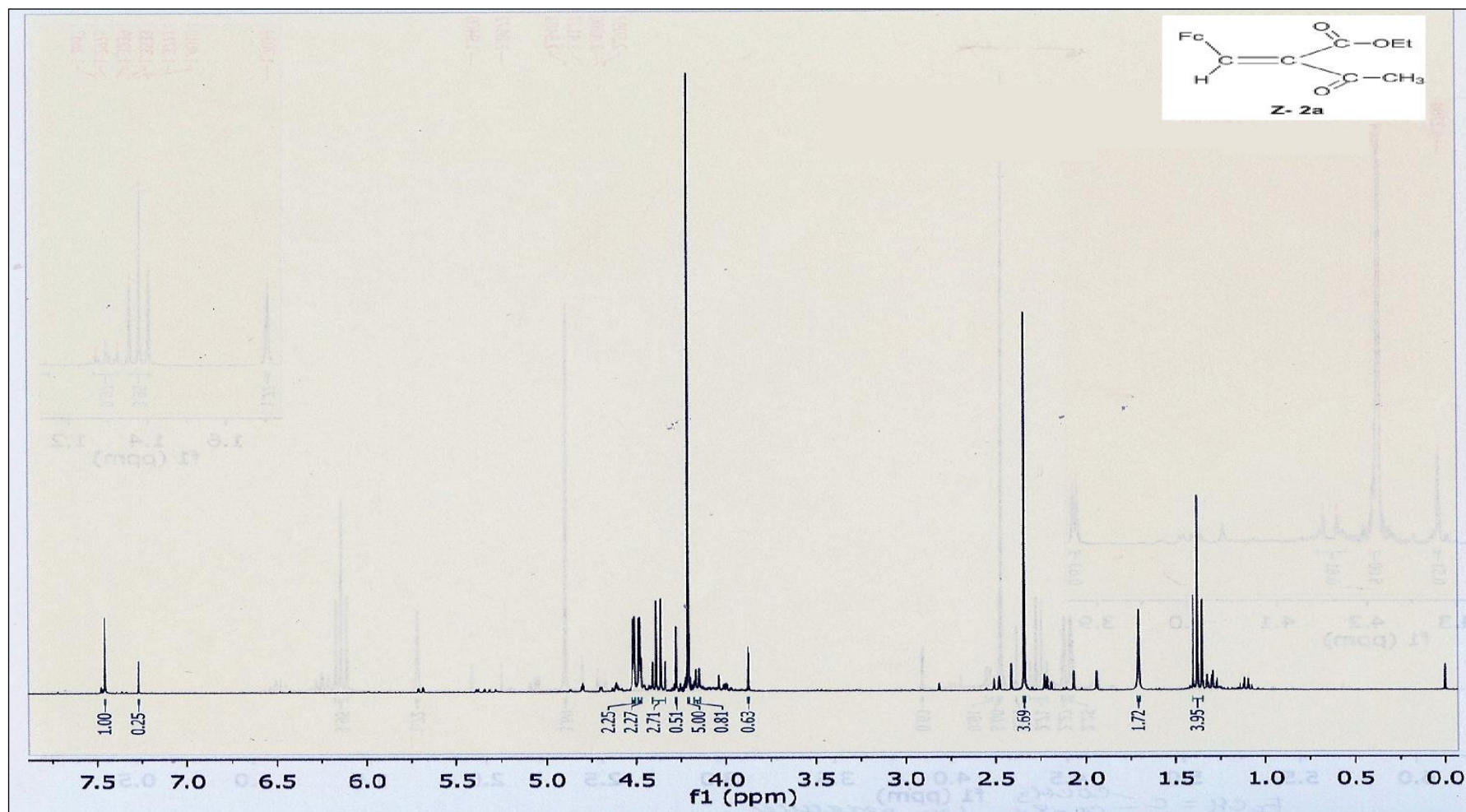
23. Klimova E. I., L. Ruiz Ramírez, R. Moreno Esparza, Klimova Berestneva T., M. Martínez García, *J. Organomet. Chem.*, **1998**, v. 559, p 1
24. Klimova E. I., M. Martínez García, Klimova T., L. Ruiz Ramírez, *Mendeleev Commun.*, **1999**, p. 234
25. The Chemistry of Heterocycles, Structures, Reactions, Synthesis and applications. Second Completely Revised and Enlarged Edition. Editorial WILEY-VCH; Authors Theophil Eicher, Siegfried Hauptman; p. 398-404.
26. H. Brederick, R. Gompper, H. Herlinger, *Chem. Ber.*, **1958**, 91, 2832.
27. A. M. Mannig et al., *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 3995.
28. E. Rossi, G. Abbiatti, E. Pini, *Synlett* **1999**, 6, 756.
29. E. I. Klimova, E. A. Vazquez, M. F. Alamo, V. H. Sotelo, Published online Enero 2011, *Wiley Online Library* (wileyonlinelibrary.com).
30. J. A. Montgomery, K. Hewson, *Chem. Commun.*, **1957**, 79, 4559.
31. R. R. Hunt, J. F. W. McOmie, E. R. Sayer, *J. Chem. Soc.*, **1959**, 525.
32. V. V. Kraniskov, G. N. Dorofeenko, K. Geterotsikl., *Soedin.*, 1376 (**1981**)
33. M. G. Schvenkhgeimerk, *Russ. Chem. Rev.*, **1996**, 65, 80.
34. Klimova E. I., L. Ruiz Ramirez, M. Martínez García, Meleshonkova, N. N., *Russ. Chem. Bull.*, **1996**, v.45, p. 2743.
35. Youssef, M. S. K., *Rev. Roum. Chem.*, **1981**, v. 26, p. 1005.
36. Snegur, L. V.; Boev, V. I.; Nekrasov, Yu. S.; Ilyin, M. M.; Davankov, V. A.; Starikova, Z. A.; Yanovsky, A. I.; Kolomiest, A. F.; Babin, V. N.; *J. Organomet. Chem.*, **1999**, v. 26, p. 580.
37. Klimova E.; Klimova T.; Ramírez Apan, T.; Nieto Camacho, A.; Moreno Esparza, R.; Damian Zea, C.; Martínez García, M.; *Heterocycles*, **2004**, v. 63, p. 1045.
38. Vázquez López, E. A.; Klimova, E.; Klimova, T.; Álvarez Toledano, C.; Ruiz Ramírez, L.; Toscano, R. A.; Martínez García M.; *Synthesis*, **2004**, 2471.
39. Klimova, E. I.; Vázquez López, E. A.; Klimova, T.; Álvarez Toledano, C.; Ruiz Ramírez, L.; Toscano, R. A.; Martínez García M.; *Heterocyclic Chem.*, **2005**, v.42, p.265.
40. Martínez Mendoza, J. M.; Vázquez López, E. A.; Moreno Esparza, R.; Flores Alamo, M.; Klimova, E. I.; *J. Heterocyclic Chem.*, **2006**, v. 1, p. 43.

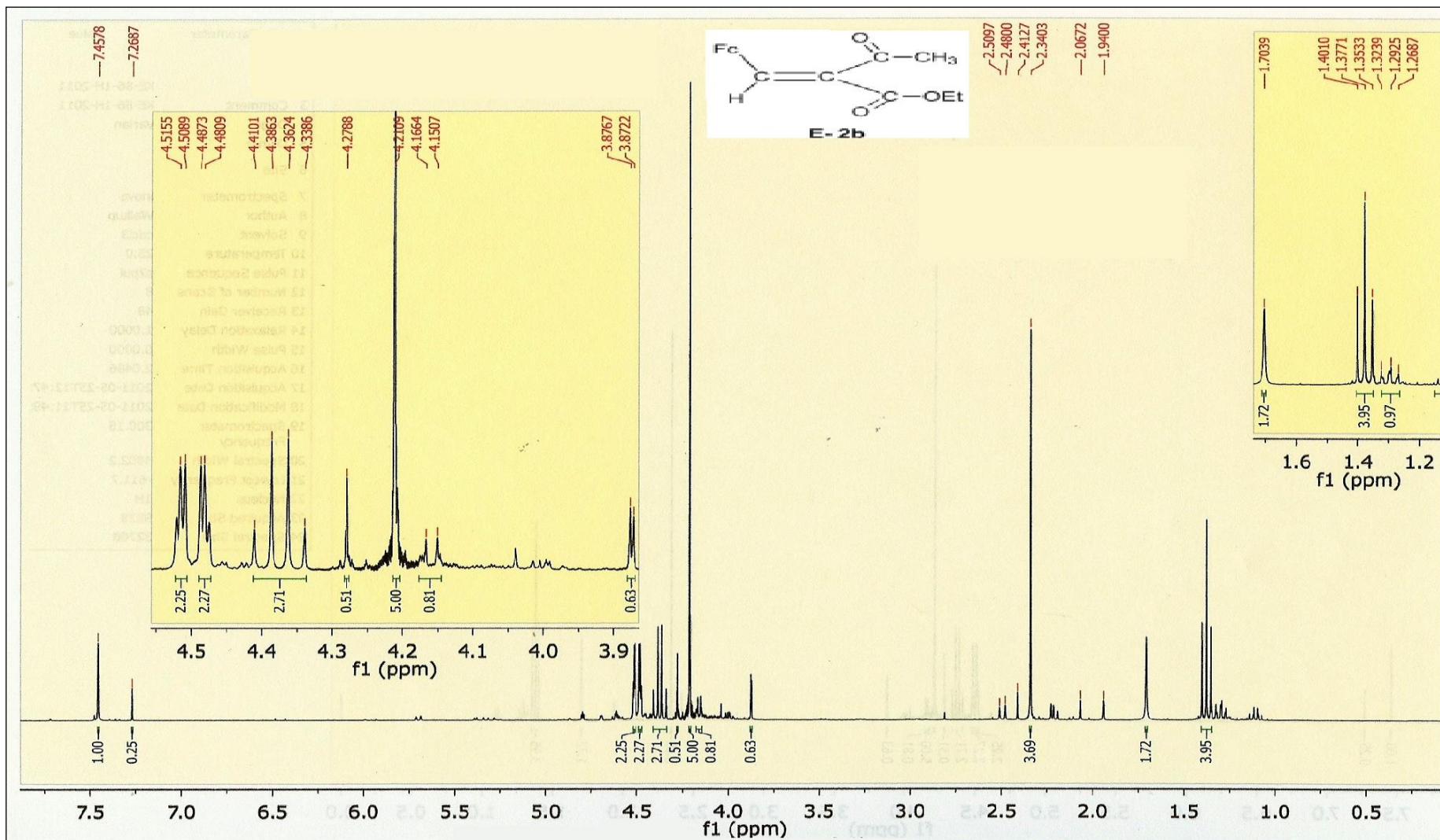
41. V. I. Boev, A. V. Dombrovskii, *Zh. Obshch., Khim.* **50** 563 (1980).
42. V. V. Kraniskov, Yu P. Andreichikov, N. V. Kholodova, G. N. Dorofeenko *Zh., Org. Khim.*, **13** 1566 (1979).
43. Ch. Just, R-M Wagner, A. Kraatz, H-G Zobering Liebigs, *Ann. Chem.* 874 (1975).
44. Y. Omote, T. Komatsu, R. Kobayashi, N. Sugiyama, *Tetrahedron Lett.*, **13** 93 (1972).
45. K. Shibata, I. Katsuyama, M. Matsui, H. Muramutsu, *Bull. Chem., Soc. Jpn.* **63** 3710 (1990).
46. K. Shibata, I. Katsuyama, M. Matsui, H. Muramutsu, *J. Heterocycl. Chem.*, **30** 277 (1993).
47. V. N. Postnov, A. V. Goncharov, I. Khokke, D. P. Krut'ko *Vestn., Mosk. Univ., Ser. 2: Khim.* 34 497 (1993).
48. S. Foma, M. Putala, M. Salisova *Collect. Czech. Chem. Commun.* 52 395 (1987).
49. Klimova, E. I.; Vázquez López, E. A.; Martínez Mendoza, J. M.; Ruiz, R. L.; Flores, A. M.; Backinowsky, L. V.; *Heterocycl. Chem.*, **2009**, v. 46, p. 484.
50. Klimova, E. I., Klimova, T., Flores, A. M., Méndez, S. J., Ruiz, R. L., *J. Heterocycl. Chem.*, **2011**, v. 48, p. 441.
51. V. I. Zvolinskii, Candidate Thesis in Chemical Sciences, *Moscow Textile Institute, Moscow*, **1984**.
52. G. Schuster, *Z. Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz*, **1985**, 92, 27.
53. D. S. Noyce, L. R. Zinder, *J. Amer. Chem., Soc.*, **1959**, 81, 620.
54. G. S. Rashinkar, S. B. Pore, K. B. Mote, *Ind. Jour. Chem.* Vol. 48B, pp 606-610, April **2009**.
55. E. I. Edwards, R. Epton, G. Marr., *J. Organomet. Chem.*, **1976**, 122, C49.
56. E. I. Edwards, R. Epton, G. Marr., *J. Organomet. Chem.*, **1979**, 168, 259.
57. V. I. Boev, A. L. Park, M. P. Perepichko, Yu. L. Volyanskii, *Khim. Farm. Zh.*, **1983**, 17, 1197.
58. V. I. Boev, A. V. Drombovskii, *Zh. Obshch. Khim.*, **1977**, 47, 2215.
59. L. Volyanskii, V. I. Boev, *Khim. Farm. Zh.*, 1979, 13, 68.
60. M.S.K. Youssef, *Rev. Roum. Chim.*, **1981**, 25, 1005.

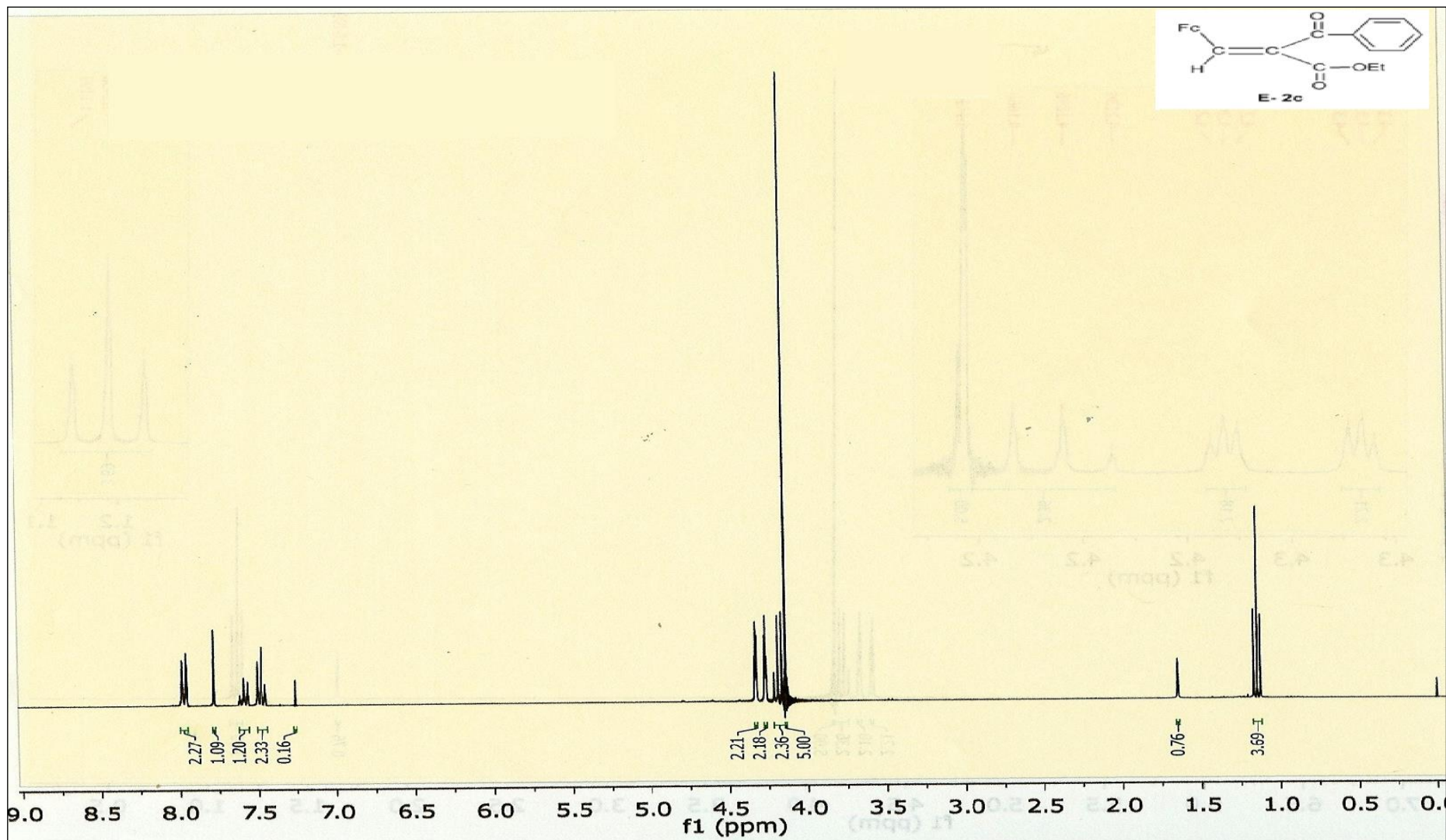
61. BRD P. 2453977; Chem. Abstr., **1975**, 83, 114 640.
62. US P. 3 577 238; Chem. Abstr., **1071**, 75, 50 436.
63. US P. 3 925 410; Chem. Abstr., **1976**, 84, 59 752.
64. US P. 3 765 965; Chem. Abstr., **1974**, 80, 61 709.
65. US P. 4 397 700; Re. Zh. Khim., **1984**, 12N 223P.
66. US P. 3 951 703; Chem. Abstr., **1977**, 86, 45 340.
67. US P. 3 968 126; Chem. Abstr., **1978**, 84, 124 161.
68. US P. 3 745 177; Chem. Abstr., **1973**, 79, 94 199.
69. P.D. Beer, H. Sikanyika, Ch. Blackburn, J.M. McAleer, M.G.B. Drew, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1985**, 297, 313.
70. Postnov, V. N.; Klimova, E. I.; Pushin, A. N.; Meleshonkova, N. N.; *Metalloorg. Khim. Chem.*, **1992**, 5, 564.
71. Richardson, R. D.; Desaize, M.; Wirth, T.; *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13, 6745.
72. Nathan, C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002; **420**: 846-852.
73. Coussens, L. M. y Werb, z. Inflammation and cancer. *Nature*. **2002**; 420: 860-867.
74. Espinós, D.; López, A.; Calvo, E.; Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación. En: Monografía XV, Nuevos avances en medicamentos. Eds. Avendaño, C y Tamargo, J. Real academia Nacional de Farmacia España. **2004**; 237-286.
75. Thannickal, V. J. and Fanburg, B. L. Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* **2000**: 279: L1005-L1028.
76. De Young, I. M.; Kheifets, J. B.; Ballaron, S. L.; Young, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and actions*. **1989** 26: 335-341.
77. Hecker, E. Cocarcinogenic principles from the seed oil of *Croton tiglium* and from other Euphorbiaceae. *Cancer Research*. **1968** 28: 2338-2349.
78. Tardón-García, A. biología molecular y celular del cáncer. En: astures: Boletín informativo de la sociedad Asturiana de medicina y seguridad en el trabajo. Asturias, Oviedo, España. **2001**; 11: 3-6.

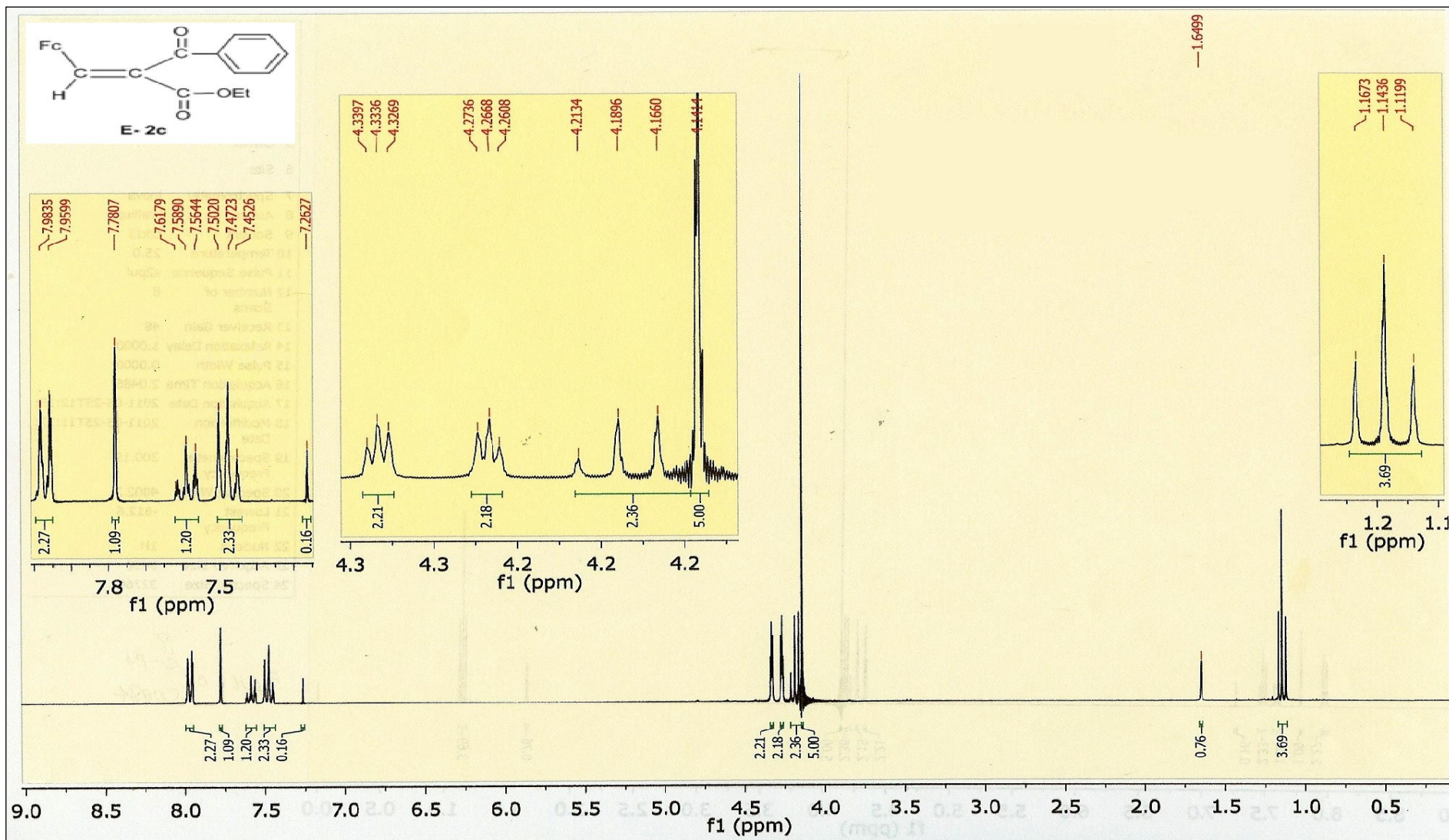
79. Ricupero, D.; Taylor, L.; Tlucko, A.; Navarro, J.; Polgar, P.; Mechanisms in bradykinin stimulates arachidonate release and synthesis of prostaglandin and platelet activating factor. *Mediators of inflammation* **1992**; 1: 133-140.
80. Thannickal, V. J. and Fanburg, B. L. Reactive oxygen species in cell signaling. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology* **2000**: 279: L1005-L1028.
81. Furstenberger, G.; Berry, D. L.; Sorg, B.; Marks, F.; Skin tumor promotion by phorbol esters is a two-stage process. *Proceedings of the National Academy of science of the U.S.A.* **1981** 78: 7722-7726.
82. Skehan, P.; Storeng, R.; Scudiero, D.; Monks, A.; McMahon, J.; Vistica, D.; Warren, J. T.; Bokesch, H.; Kenney, S.; Boyd, M. R.; New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of National Cancer Institute* **1990**; 82: 1107-1112.
83. Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paul, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Intitute.* **1991**; 38: 757-766.
84. Coussens, L. M. and Werb, Z.; Inflammation and cancer. *Nature.* **2002**; 420: 860-867.
85. Espinós, D.; López, A.; Calvo, E.; Bases farmacológicas y tratamiento de la inflamación. en: Monografía XV, Nuevos avances en medicamentos. Eds. Avendaño, C y Tamargo, J. Real academia Nacional de Farmacia España. **2004**; 237-286.

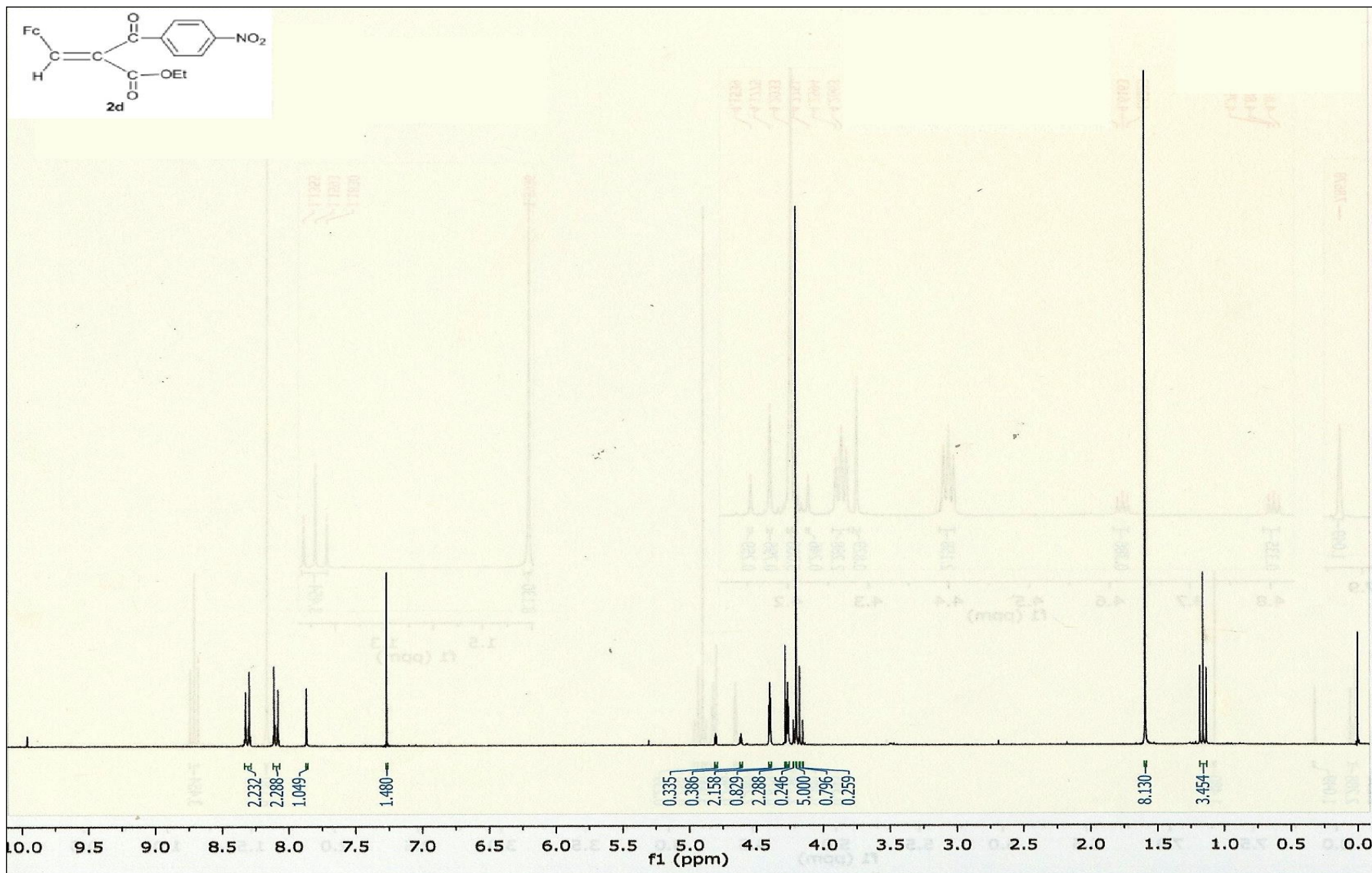
IX ESPECTROS

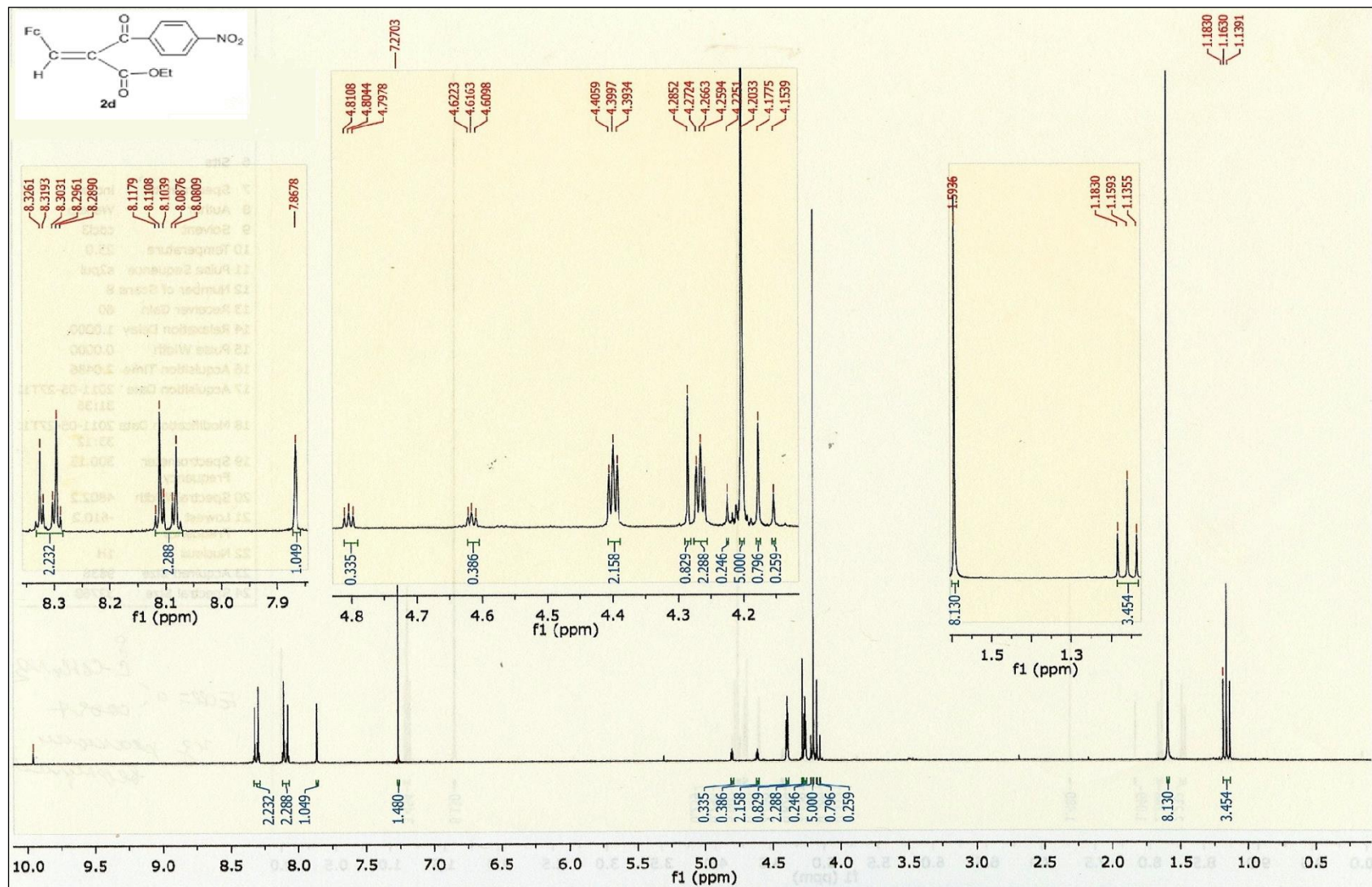
Materia Prima:





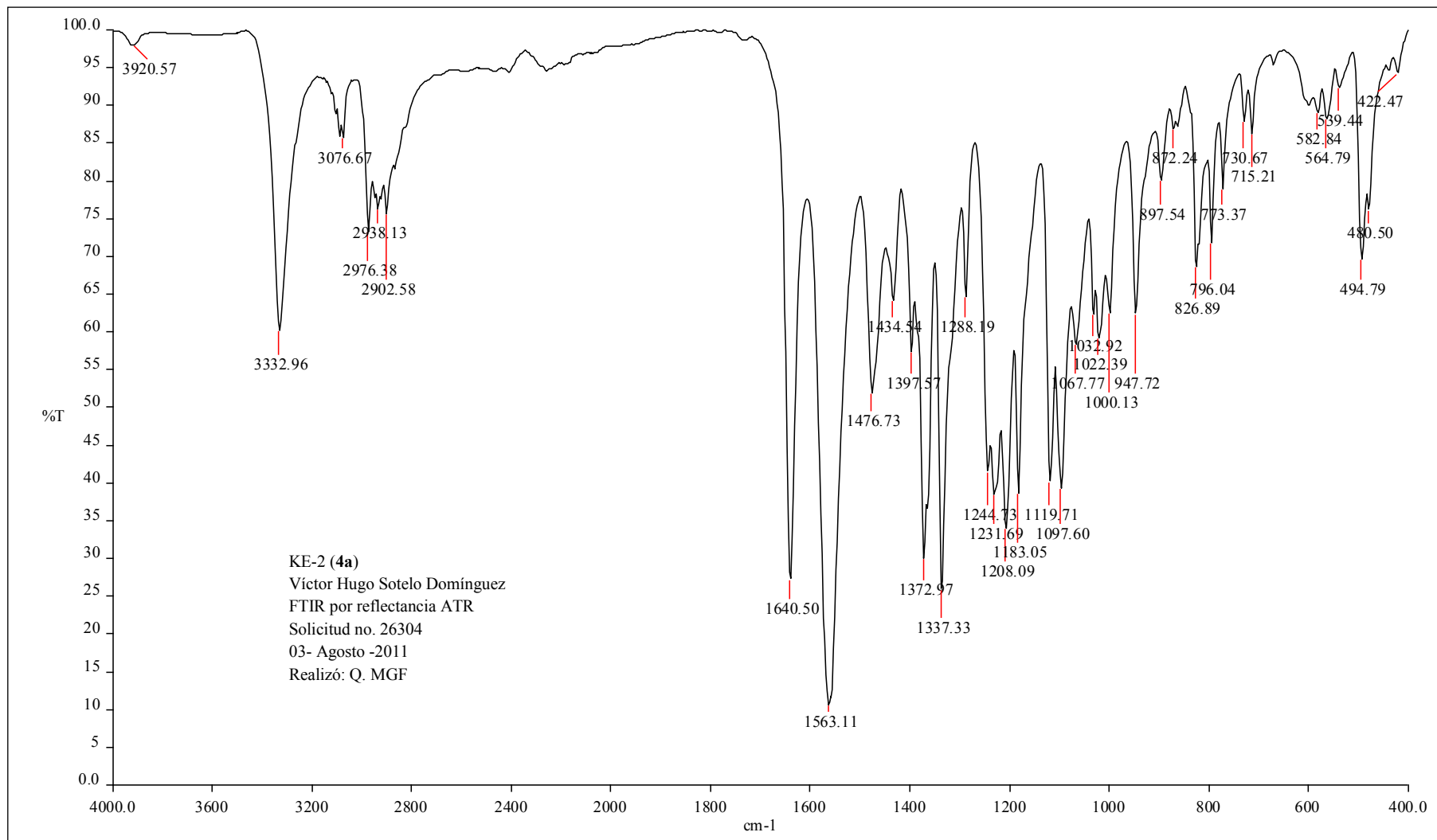


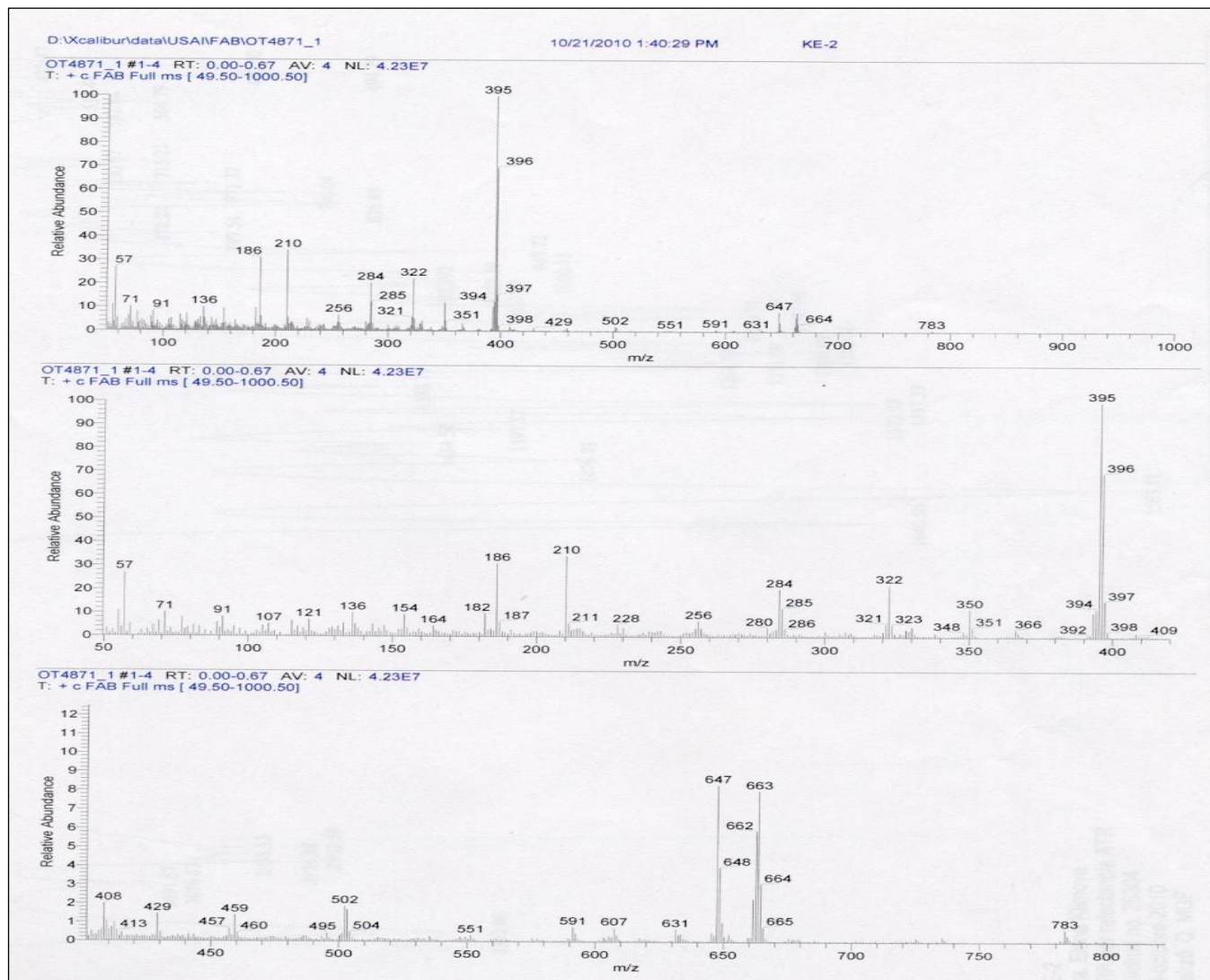


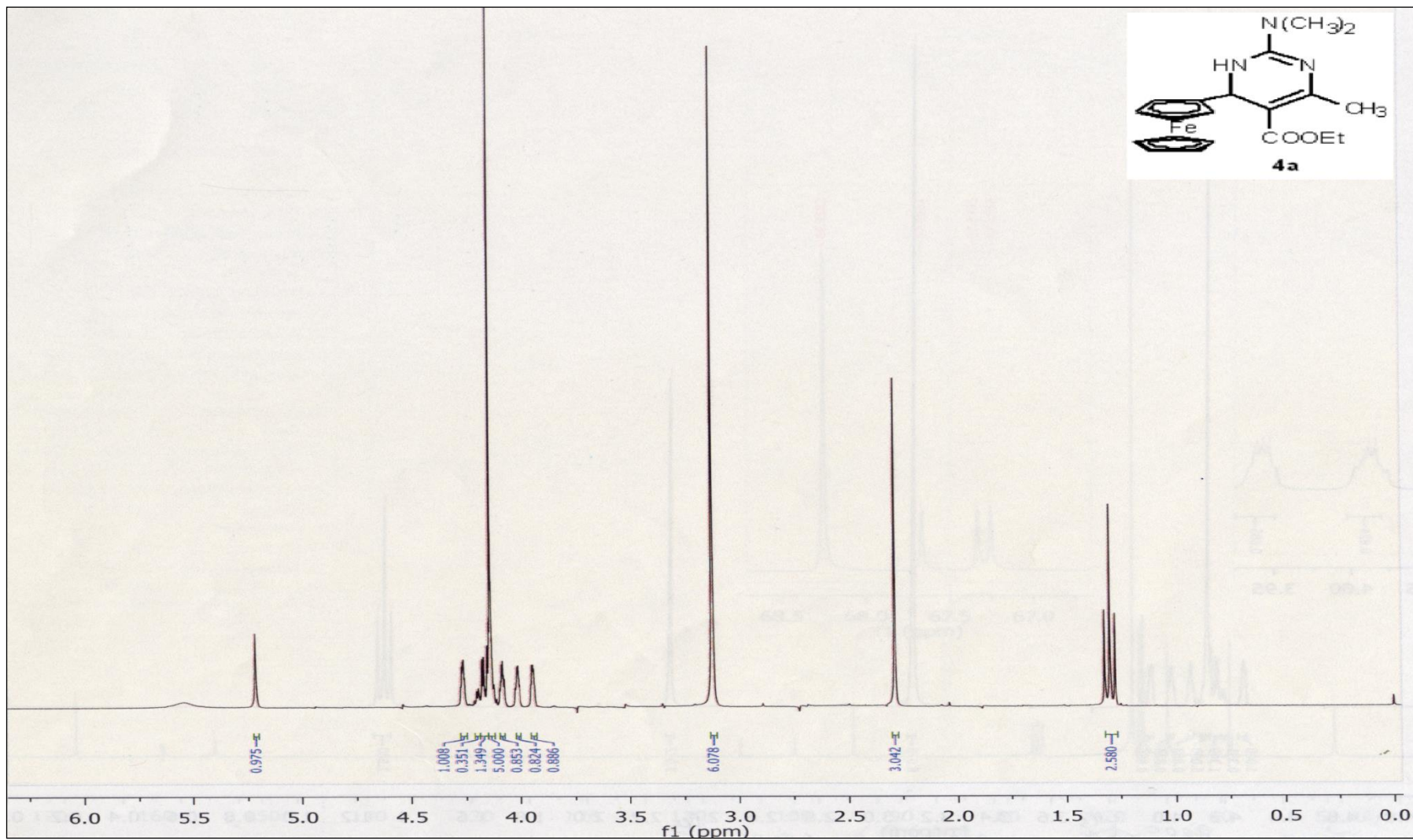


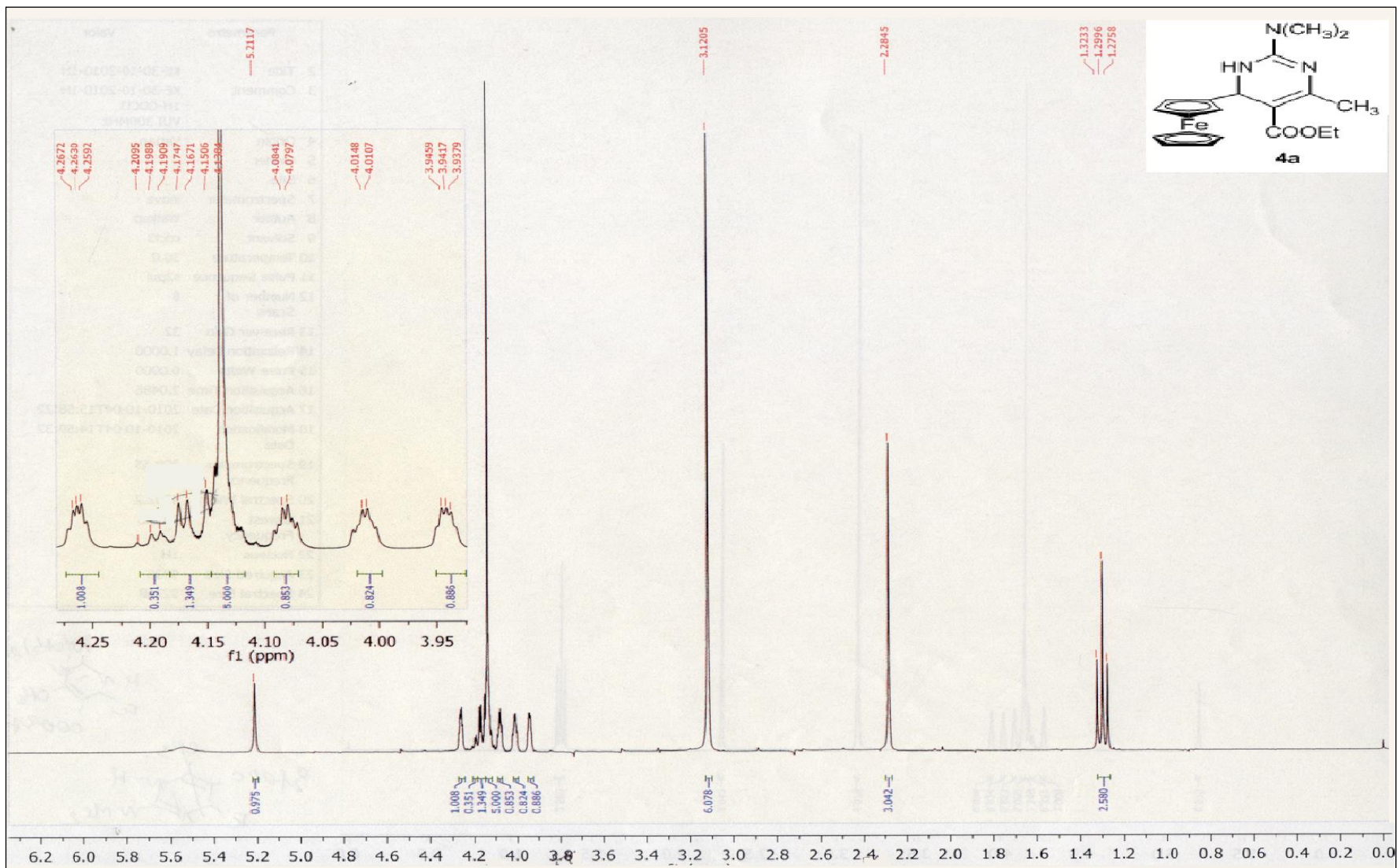
Productos

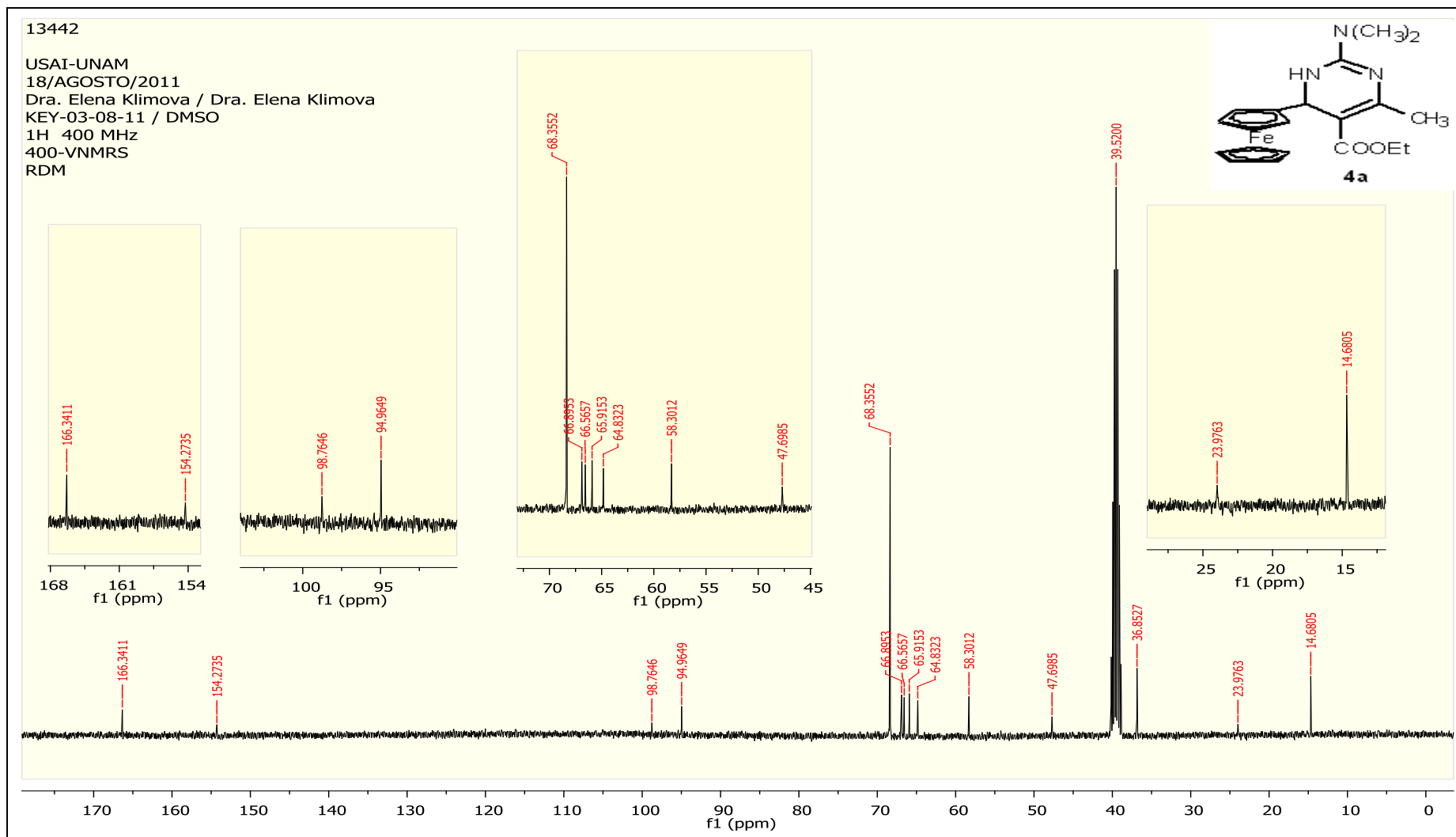
DIHIDROPIRIMIDINAS

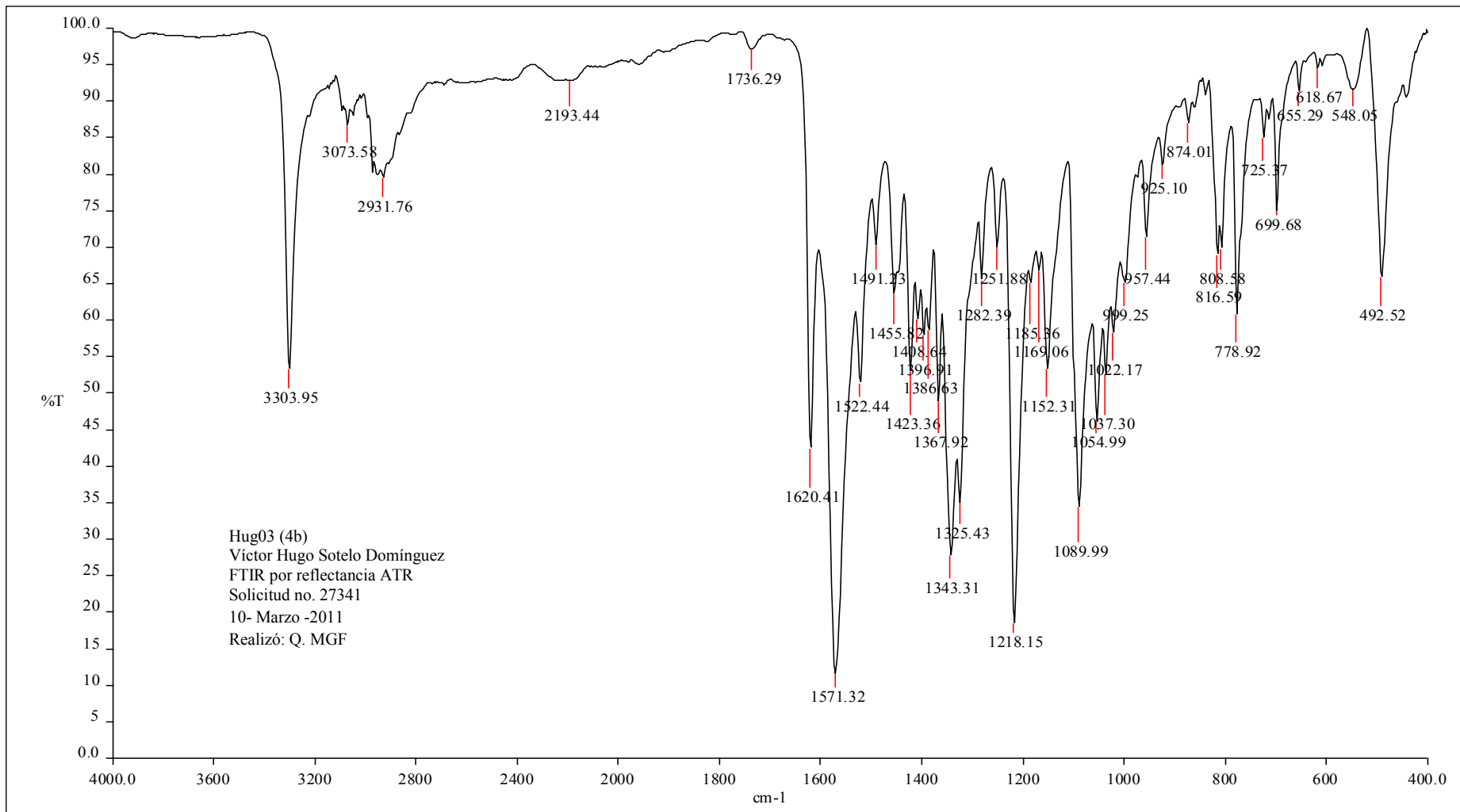


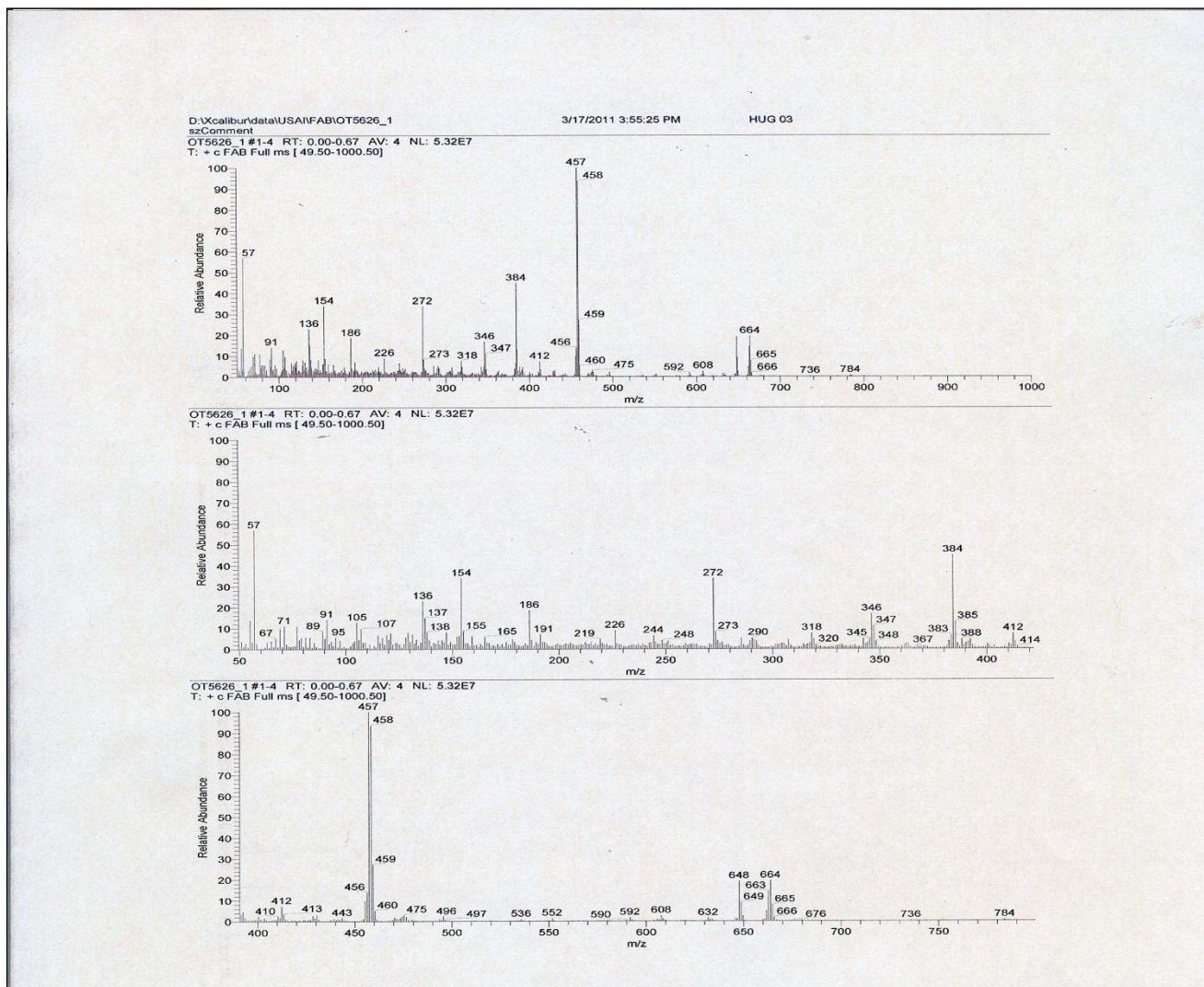


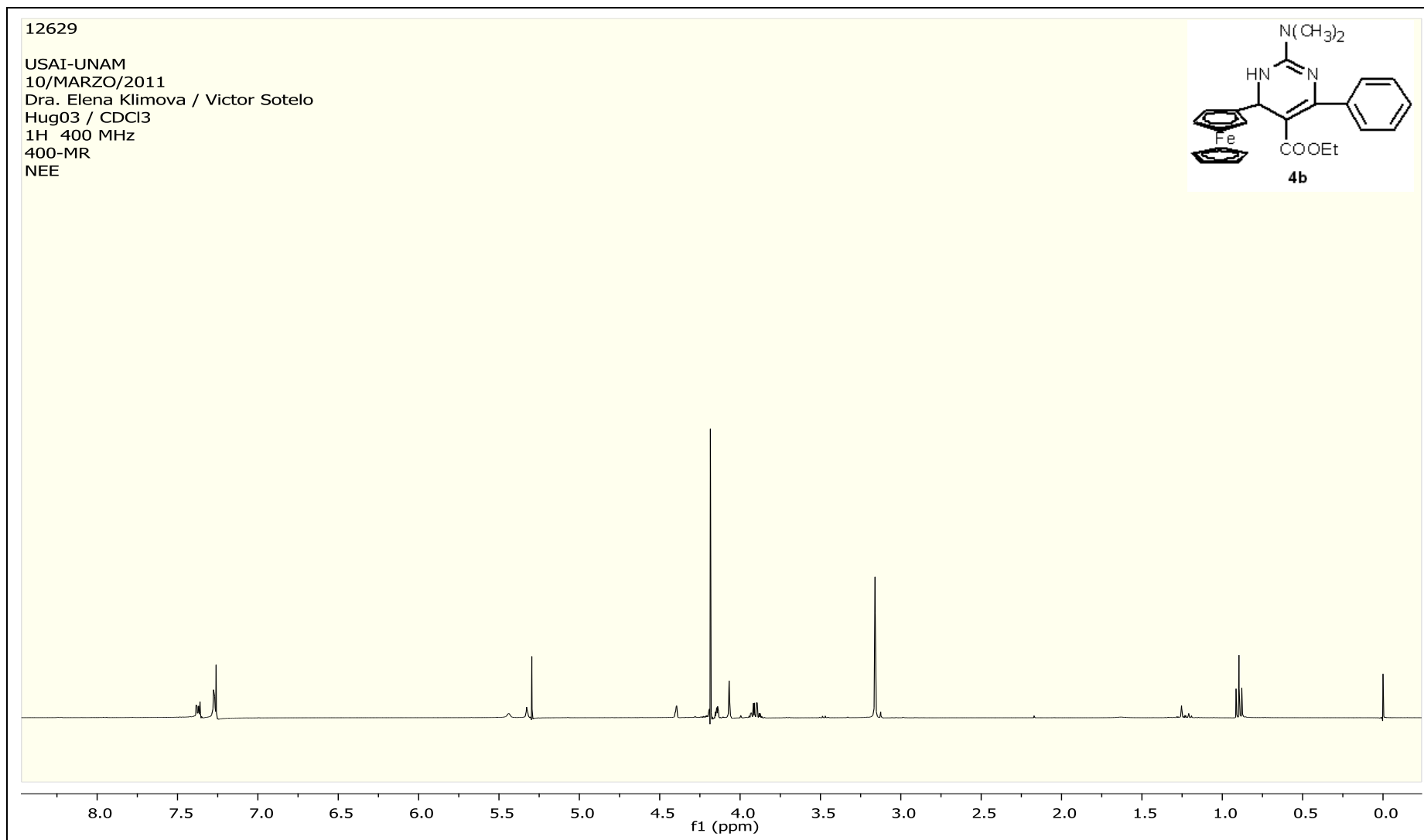


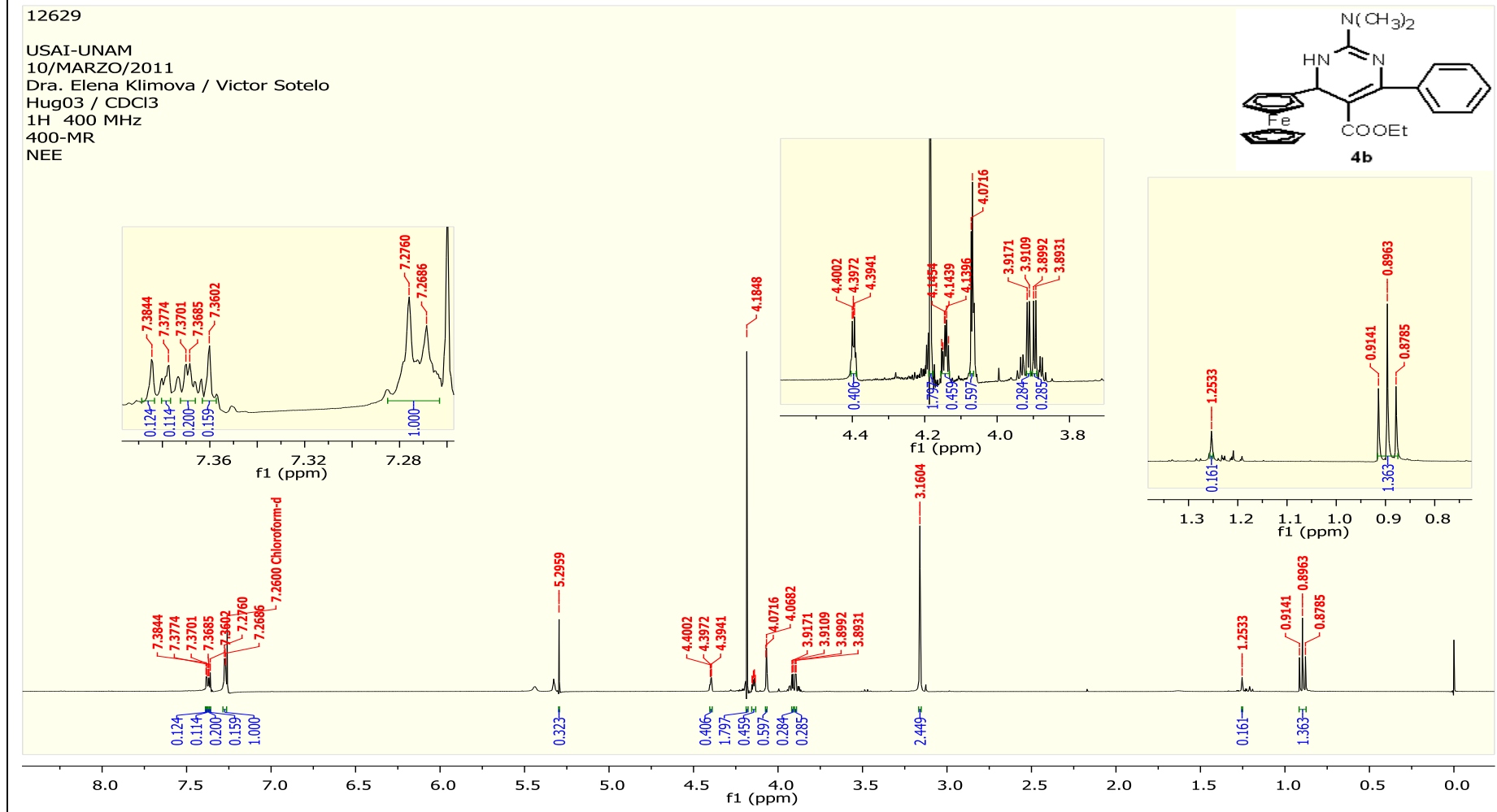


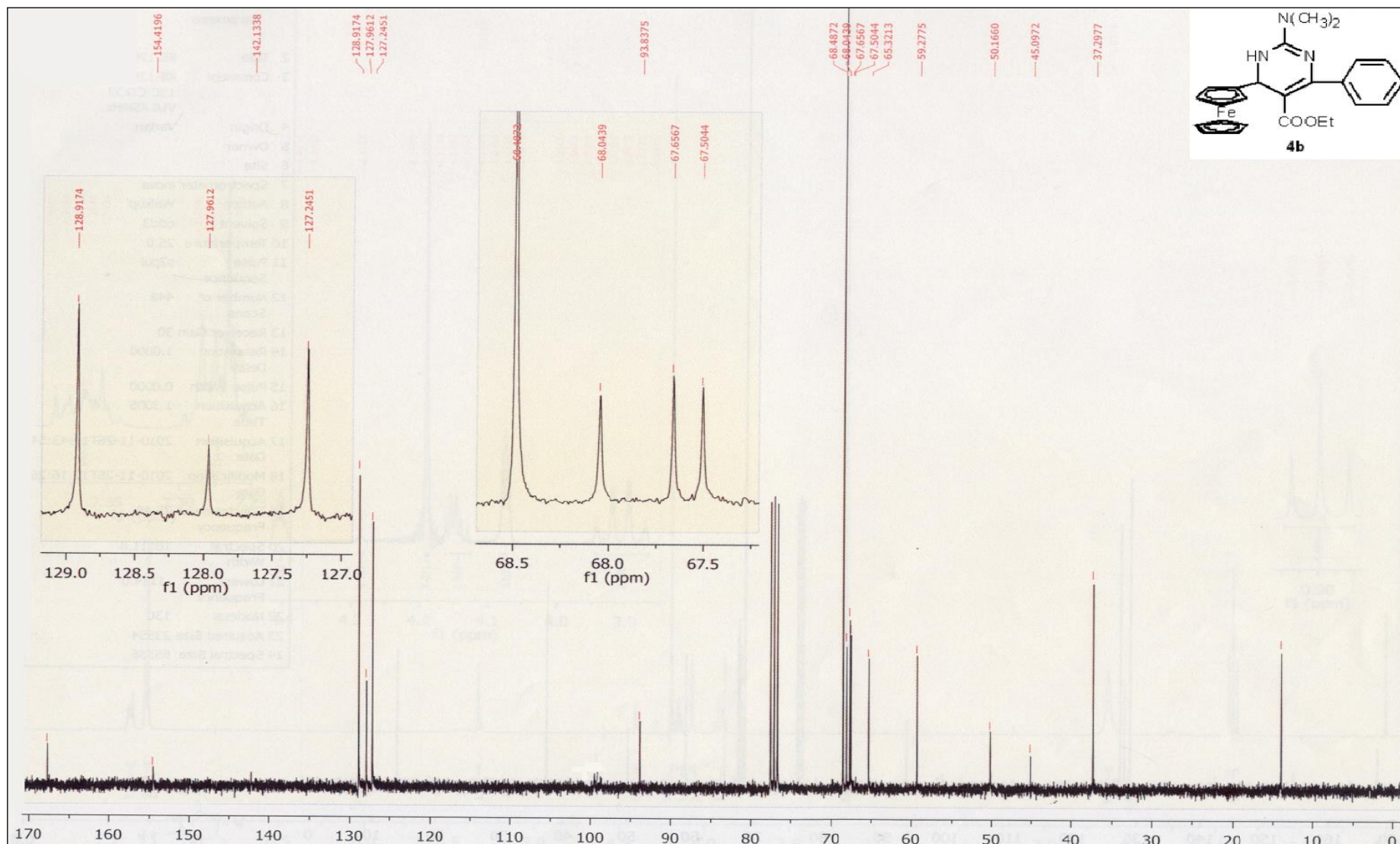


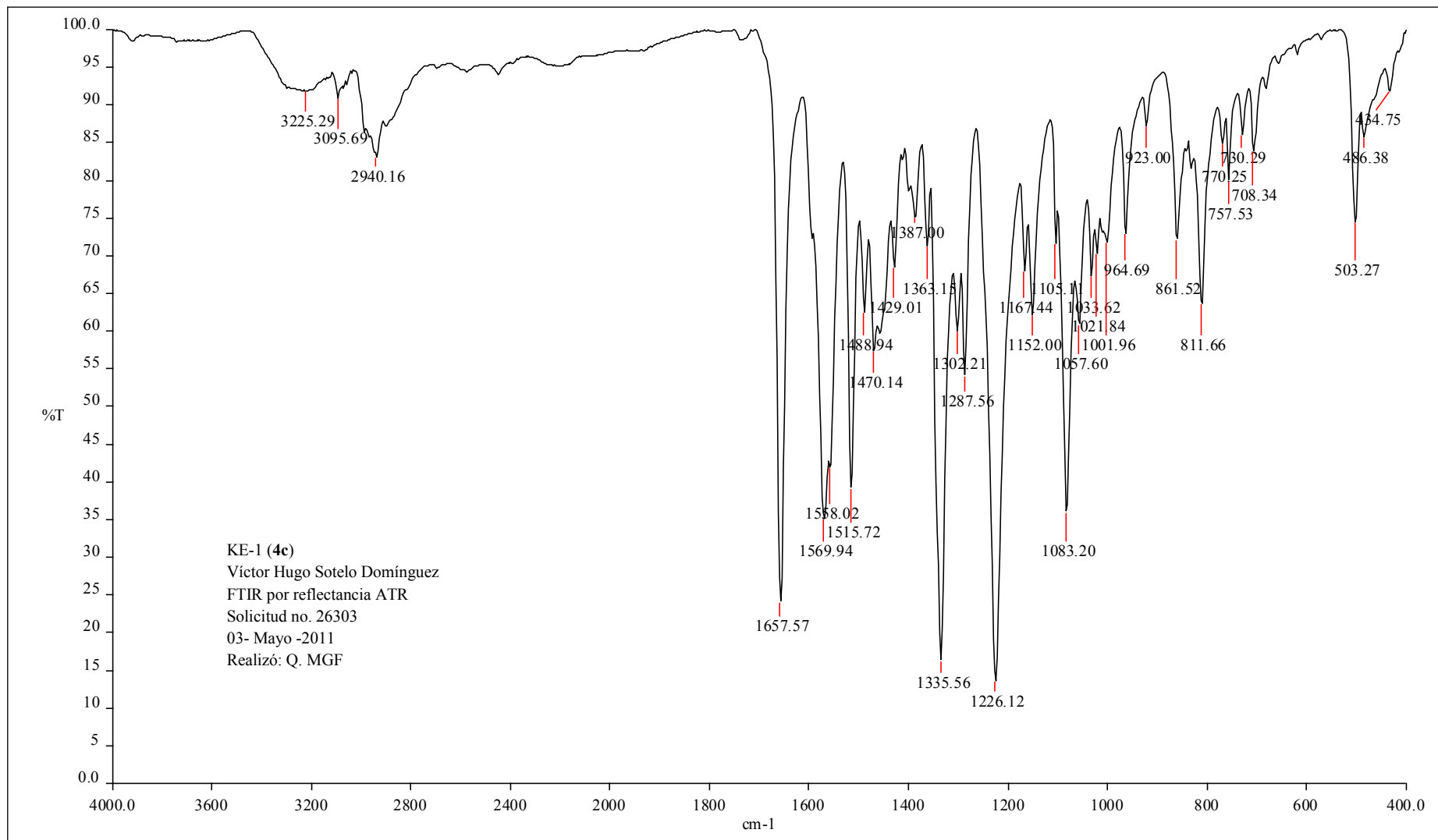


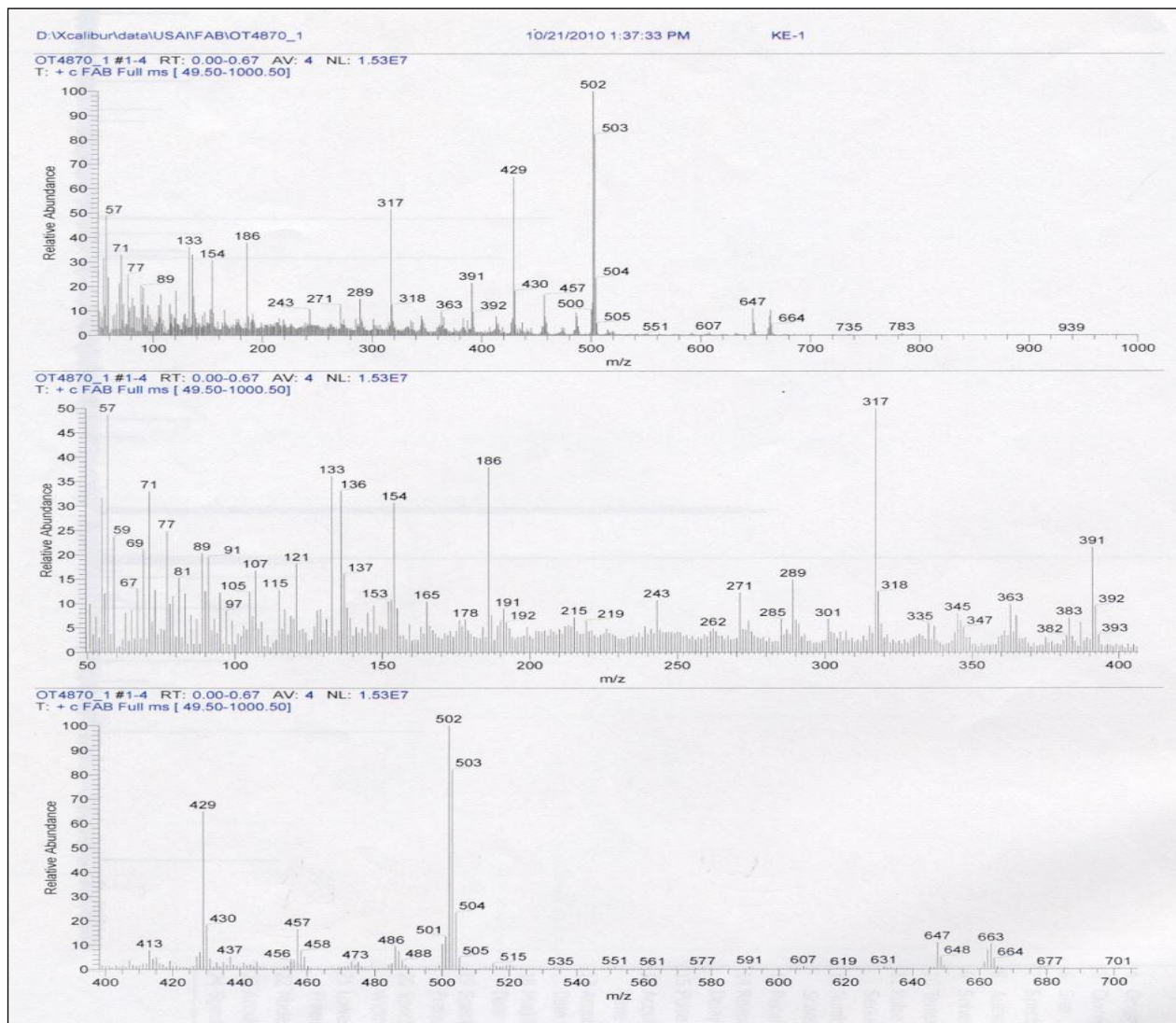


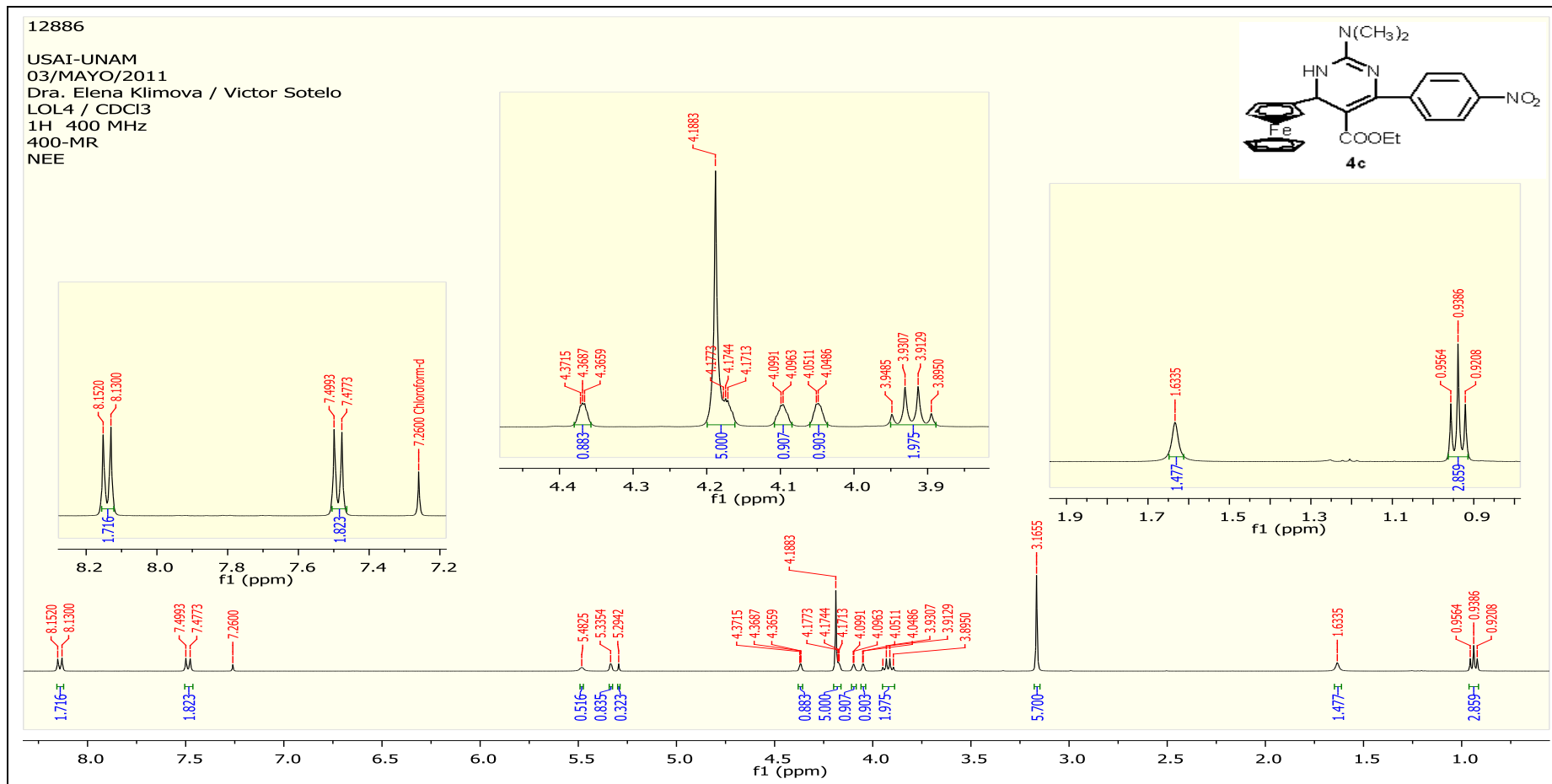




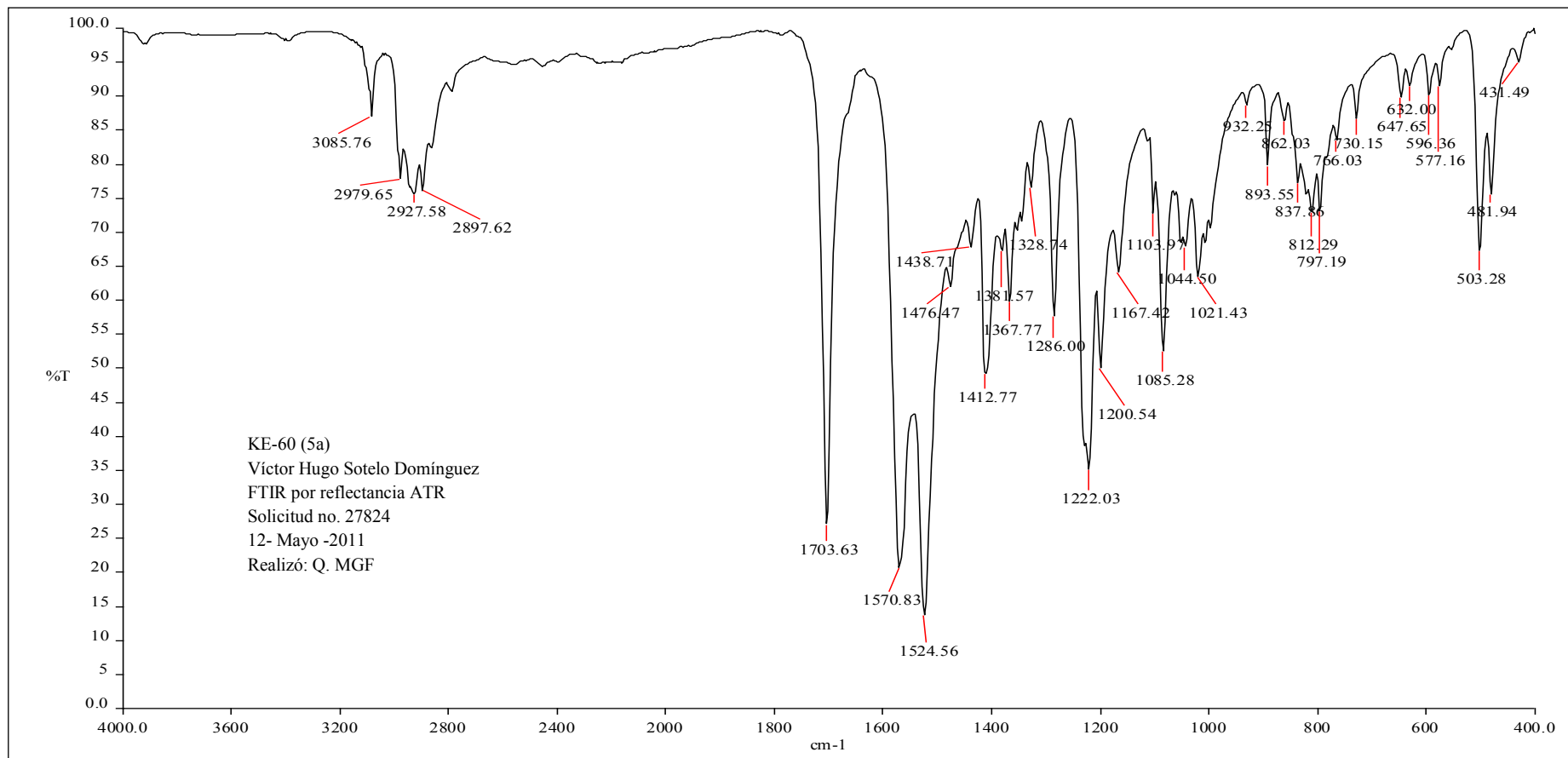


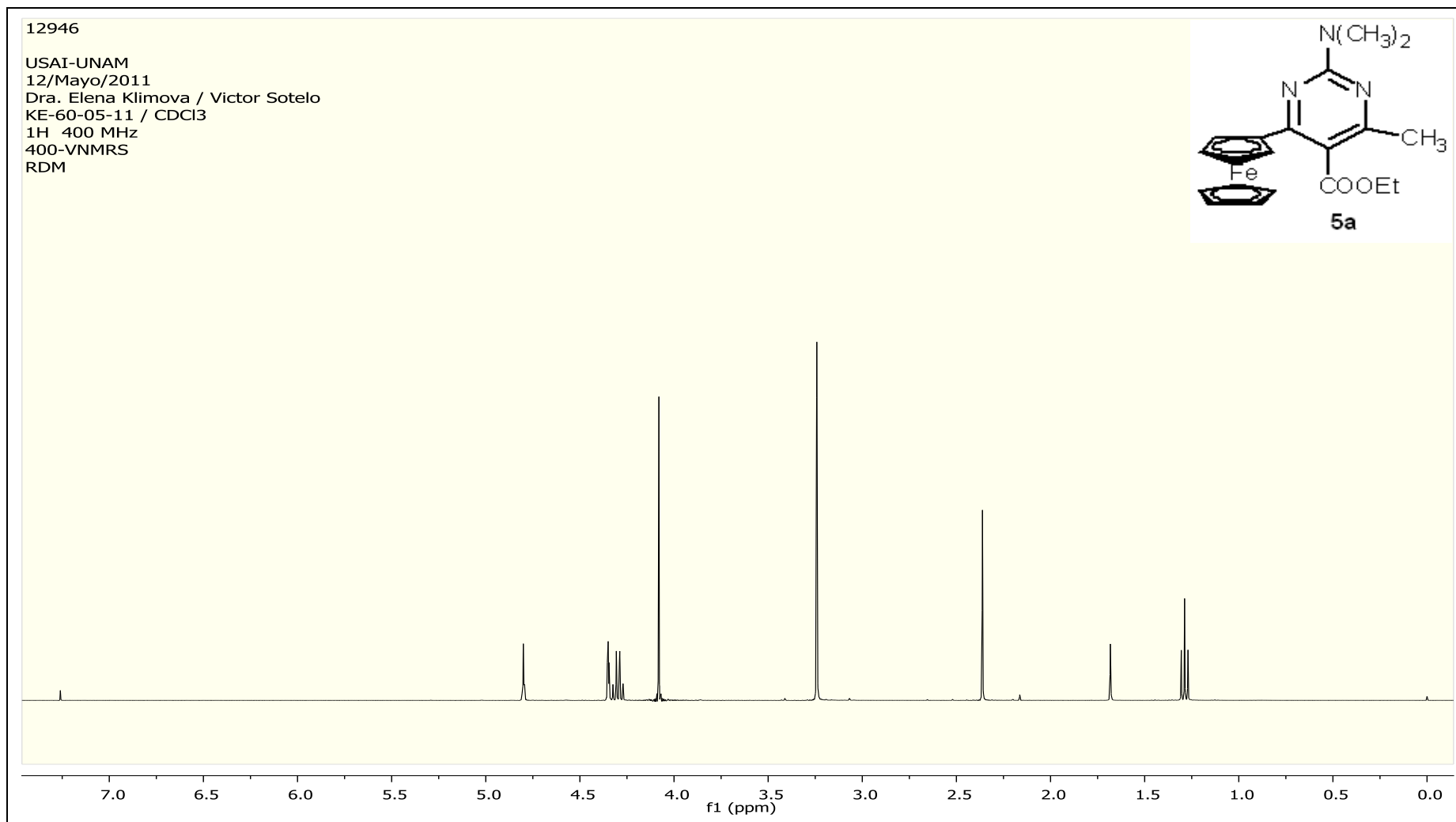


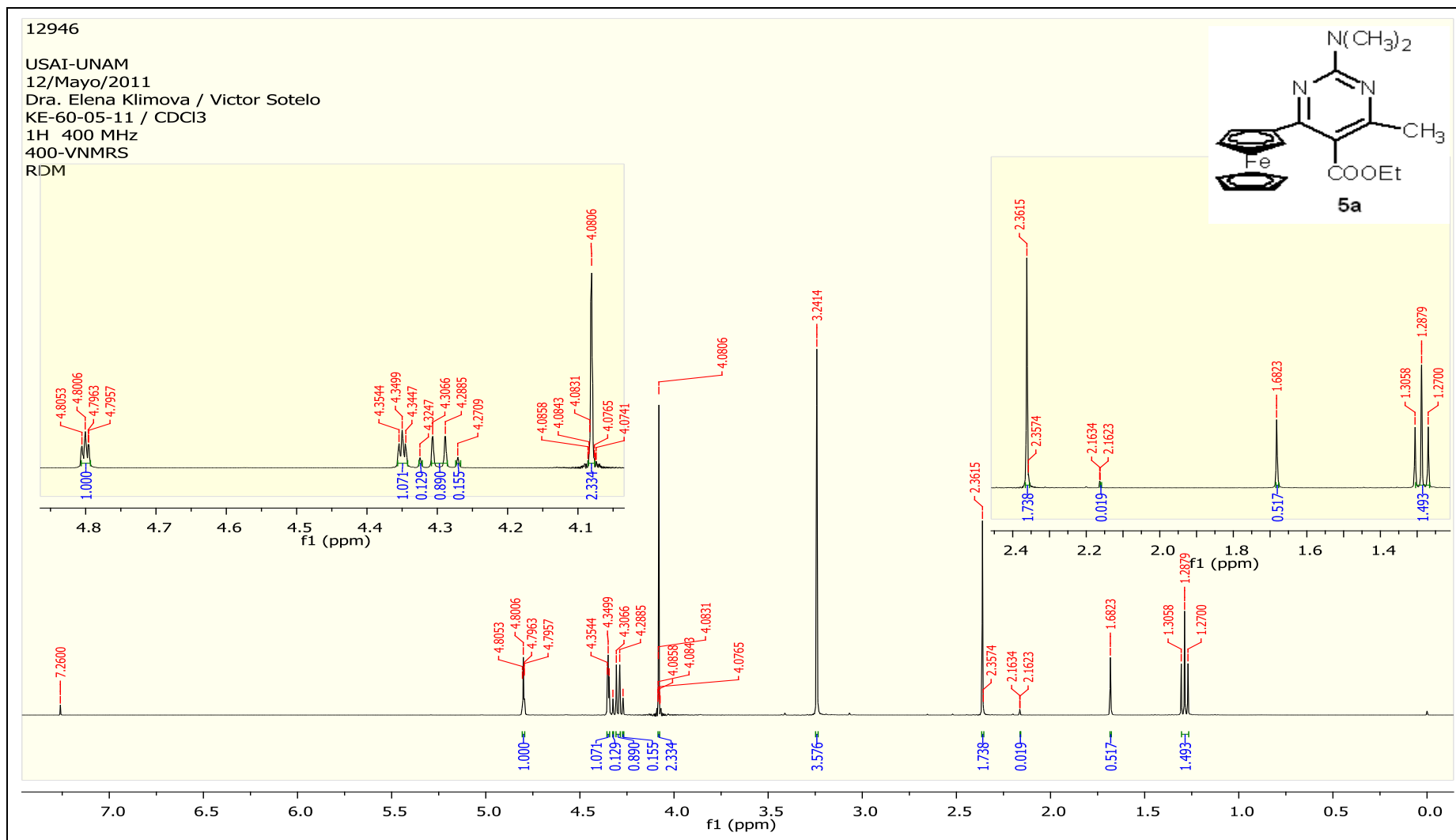


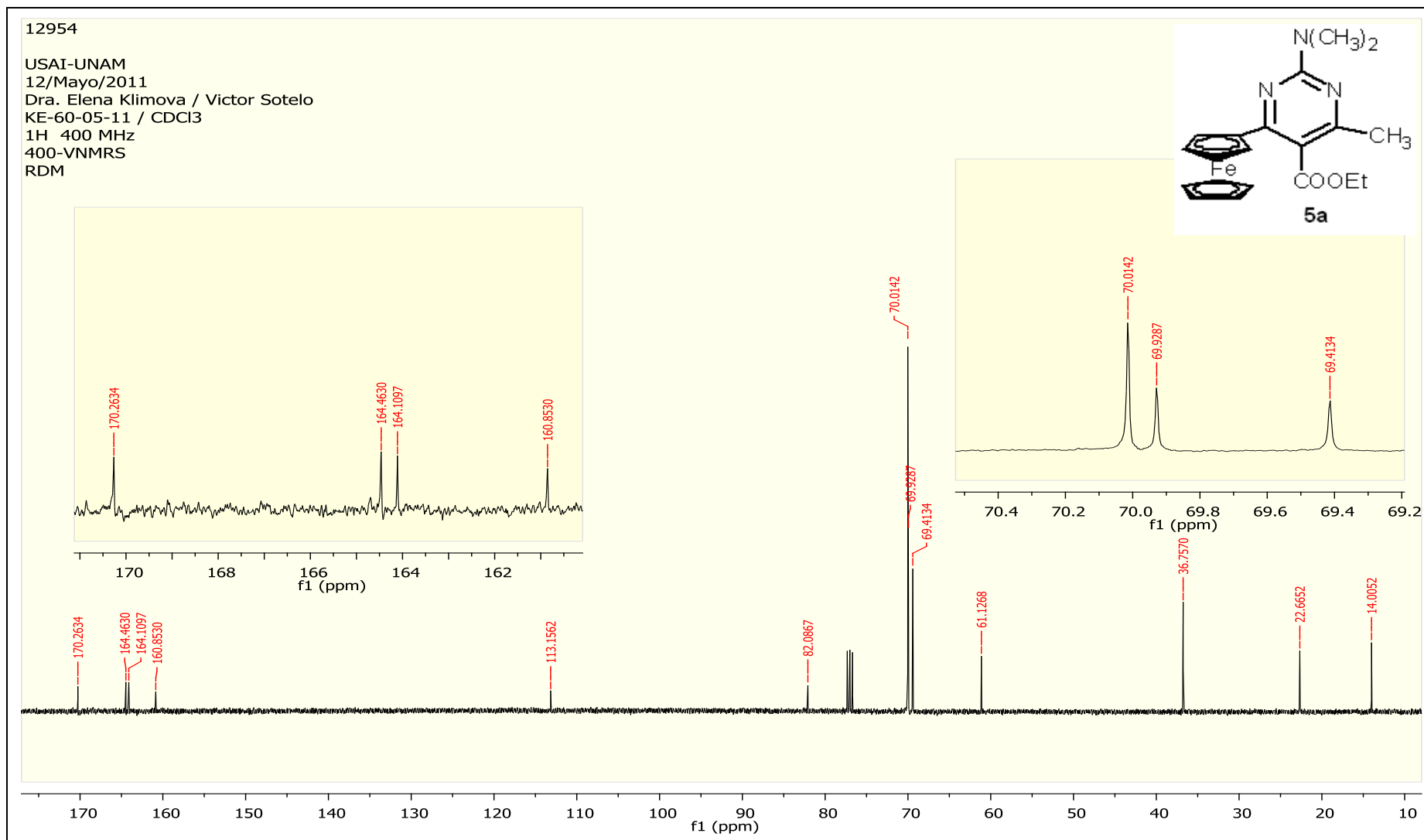


Pirimidinas

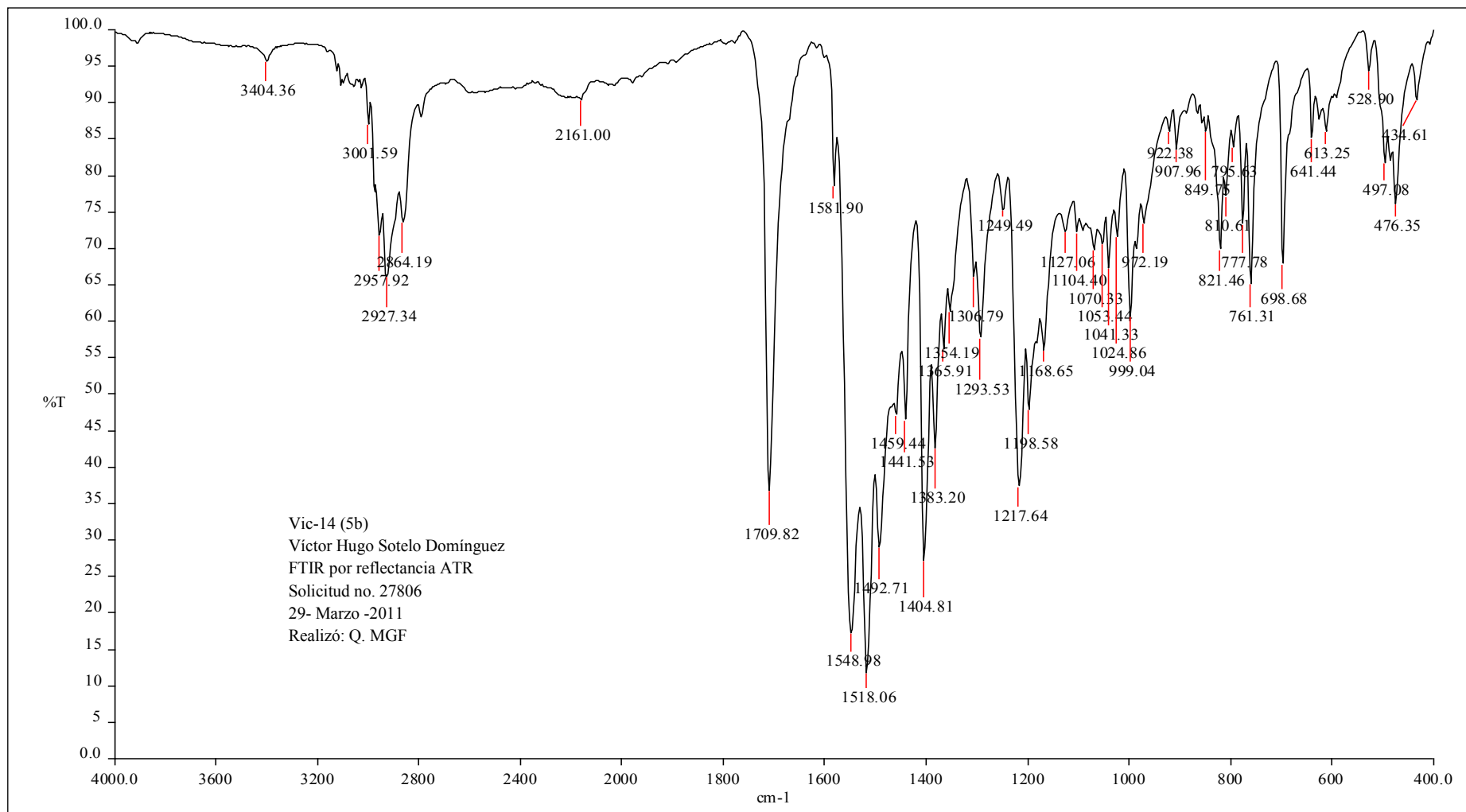


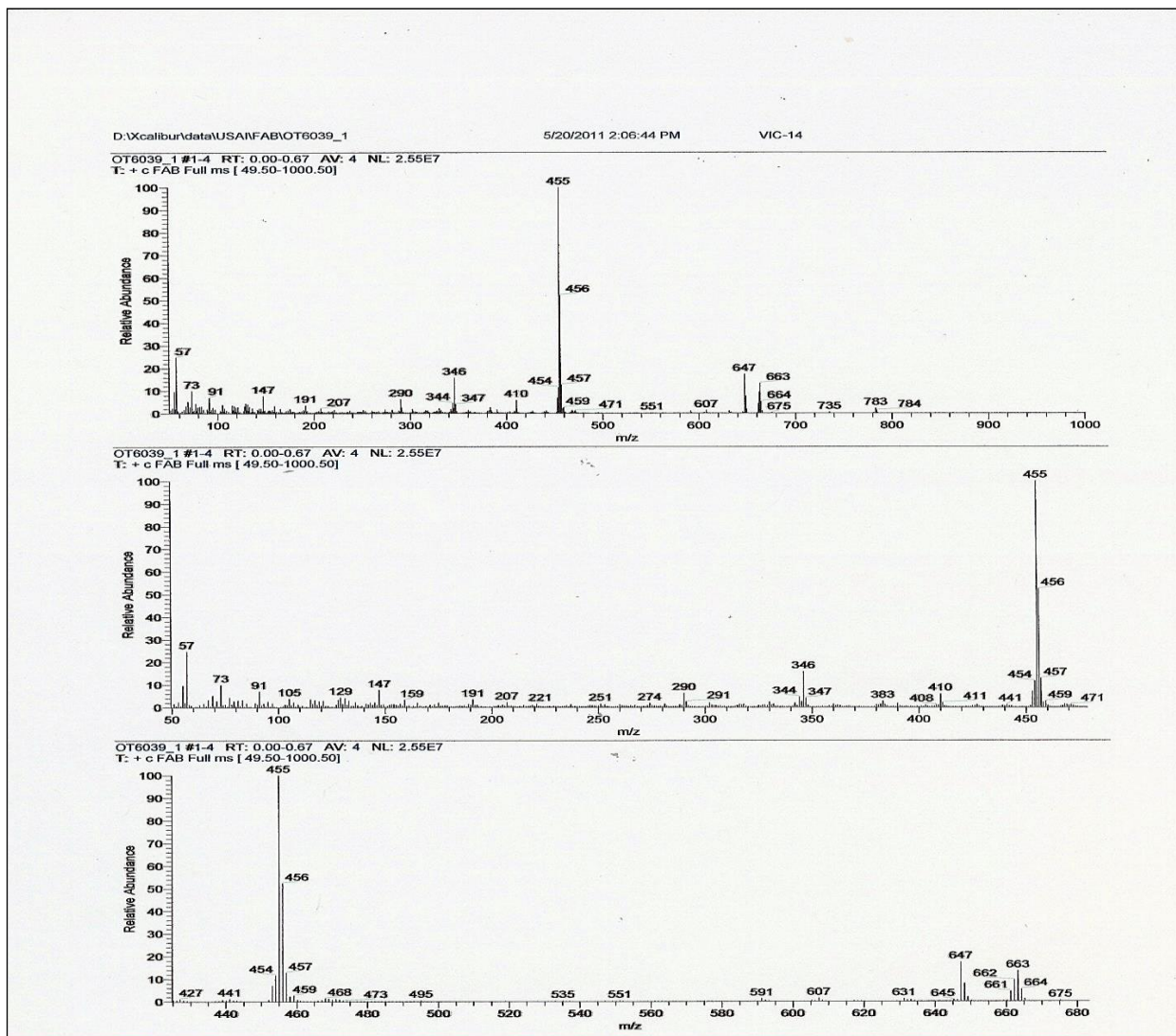


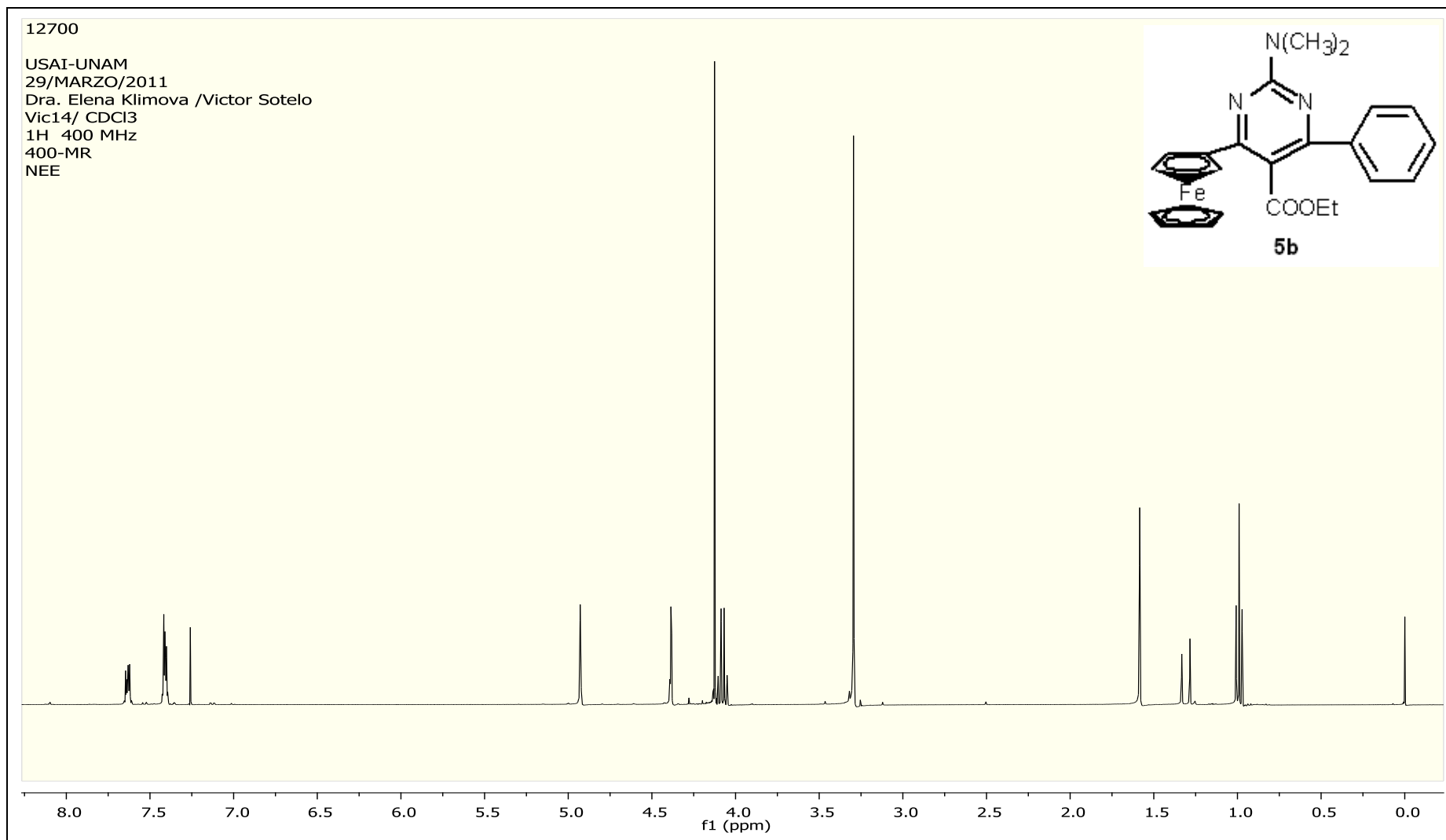


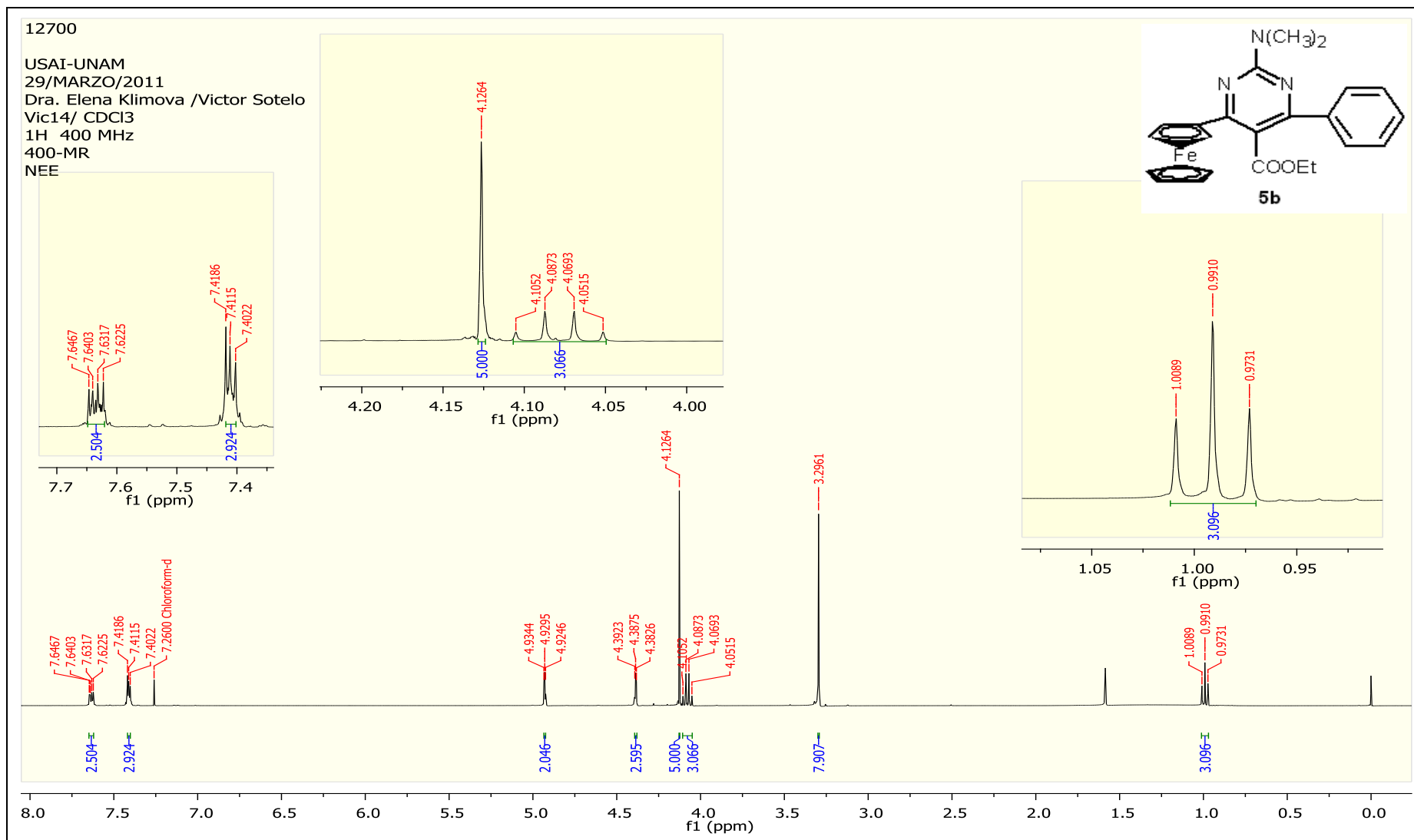


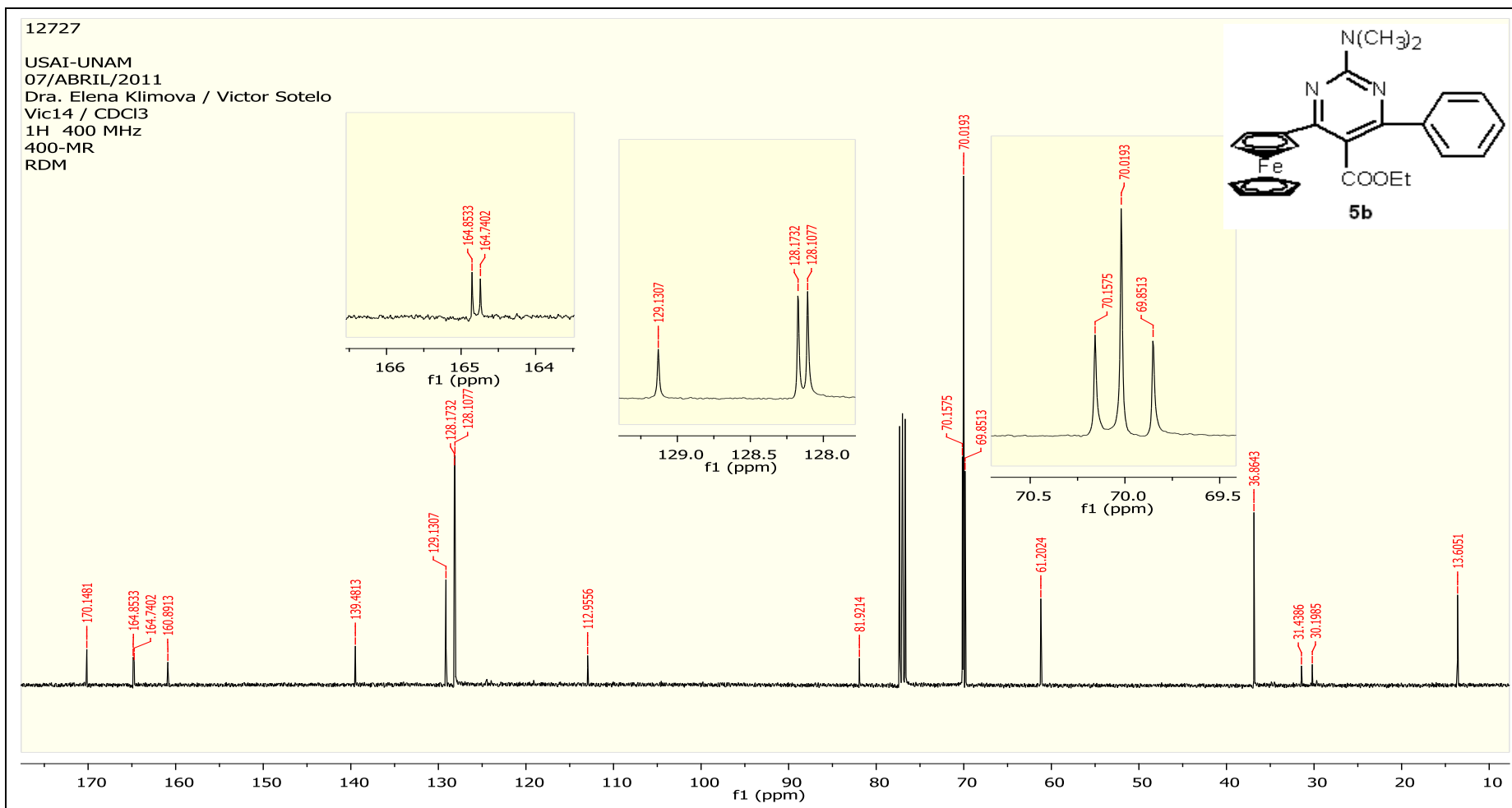
5b











5c

