



**UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS.

**“SÍNTESIS DE NUEVAS PIRROLIL QUINONAS Y ESTUDIO DE SU INTERACCIÓN
FRENTE A FLUORURO Y
ADN.”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO
DE MAESTRO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

PRESENTA:

Q.F.B. SALVADOR GALLARDO

ALFONZO

ASESOR DE TESIS

D.C. LUIS CHACÓN GARCÍA

MORELIA, MICHOCÁN. DICIEMBRE 2015.



El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Diseño Molecular del instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, contando con el financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por medio de la Beca de Maestría con registro No. **295485** y extensión a beca mixta para estancia el extranjero en el Instituto de Síntesis Orgánica de la Universidad de Alicante en España y junto con el apoyo financiero otorgado por Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Proyecto 2.18 “Síntesis de 1-adamantil-(N-*meso*-dipirrolilmetilen)-carboxamida funcionalizados con intercaladores del DNA”. También se agradece el apoyo económico proporcionado por el Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación de Michoacán para el proyecto “Síntesis de sensores químicos derivados de pirrolil quinonas” con el que se realizó la compra de los reactivos necesarios para el desarrollo del proyecto.

Este trabajo fue presentado en:

“Síntesis de nuevos receptores de fluoruro derivados de pirrolilquinonas.”

Salvador Gallardo Alfonso, Luis Chacón García.

10ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, que se llevó a cabo en San Luis Potosí del 5 al 9 de mayo de 2014.

“Síntesis de un nuevo sensor óptico: Adamantil dipirrolil quinona.”

Salvador Gallardo Alfonso, Luis Chacón García.

11ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, que se llevó a cabo en Chihuahua, Chihuahua, del marzo de 2015.

Agradecimientos.

A mis padres;

Salvador Gallardo Ortiz y Reyna Fabiola Alfonzo González, que siempre me han brindado un gran apoyo y confianza además de que han sido el mejor ejemplo a seguir, ambos han hecho un excelente trabajo como pilar de la familia invirtiendo tiempo, dinero y esfuerzo en la educación de mis hermanos y la mía, que una vez más se ve reflejada al concluir un capítulo más en mi vida.

A mis hermanos:

Andrea Gallardo Alfonzo y Arturo Gallardo Alfonzo, por los buenos momentos que hemos pasado juntos y que se seguirá habiendo porque siempre estaremos juntos para apoyarnos en cualquier circunstancia. Nuevamente espero seguir mostrándoles que el camino del éxito es duro y largo pero está al alcance con el esfuerzo suficiente.

A mi abuela:

Alicia González Acuña, que considero una de las personas que más ha marcado mi vida ya que siempre se preocupó por inculcarme el gusto por el estudio y que aunque ya no está conmigo hoy la idea que sembró en mí se sigue realizando y sé que estaría orgullosa.

A mi asesor de tesis

Dr. Luis Chacón García, por el que siempre he sentido una gran admiración como persona y como investigador, aprecio de gran manera su amistad y siempre estaré agradecido porque hace algunos años me introdujo al campo de la síntesis orgánica y con paciencia me ha guiado a lo largo de este proyecto además de ayudarme a forjar un criterio científico.

A mis revisores de tesis:

Dra. Claudia A. Contreras, por el gran apoyo que me ha proporcionado todo este tiempo y por la que siento una gran amistad y admiración, agradezco sus importantes comentarios hacia mi proyecto y toda la ayuda que me proporcionó cuando, además de la ayuda para realización de la estancia de investigación en España.

A la Dra. J. Betzabe González Campos, al Dr. Eduardo González Zamora y al Dr. Mario A. Gómez Hurtado, que aceptaron ser mis revisores de tesis aportando ideas en cada seminario, empleando parte de su valioso tiempo para mejorar este trabajo de investigación.

A mi tutor en España:

El Dr. Francisco Alonso Valdés, quien me aceptó para realizar una estancia de investigación en el Instituto de Síntesis Orgánica de la Universidad de Alicante en España, por el que siento un gran aprecio y admiración, además de que siempre estuvo en la mejor disposición de ayudarme y aportar ideas al trabajo.

A los servicios técnicos:

Al QFB José Manuel Zaragoza y a la Mtra. Concepción Armenta por su valiosa ayuda en la obtención de los datos espectroscópicos de Resonancia Magnética Nuclear.

A mis amigos:

A Ana Isabel Flores Vega, que desde que nos conocemos me ha brindado su apoyo incondicional además de una grata compañía ganándose todo mi cariño y afecto, estoy seguro que será una persona con la que siempre podré contar.

A Ana Silvia Camacho Rivera, que siempre ha sido una gran compañera de laboratorio aportando siempre su ayuda y que además confío en que siempre contaré con su valiosa amistad.

Del laboratorio de Diseño Molecular, Meli, Gaby, Mario, Abel, Melchor, Erik, Itzel y Fátima, con quienes siento una profunda amistad ya que hemos compartido y disfrutado de grandes experiencias a lo largo de mi estancia en el laboratorio, aprendiendo de cada uno de ellos lo que hizo muy agradable el ambiente de trabajo. También a los chicharitos Karina Alemán, Karina Morfin, Lizza, Juan, Israel y Josué, que aunque llevamos poco tiempo trabajando juntos hicieron agradable la estancia y también siento una agradable amistad.

De generación Cecy, Juan Carlos, Héctor, Mayra y Antonio por su gran amistad y los buenos momentos que pasamos juntos a lo largo de nuestra estancia en la maestría así como las noches de desvelos realizando tareas o estudiando.

Del ISO de la Universidad de Alicante, España, María José, Melania, Cintia, Manu, Susana, Juani, Xavi, Sandy, Emilio, Diana, y Jesús, que siempre estuvieron en la mejor disposición de ayudarme además de hacerme sentir como en casa a pesar de que nos encontrábamos en otro país, a todos los tengo muy presentes en mis recuerdos.

Finalmente, agradecer a todas las personas que en algún momento han estado a mi lado y que han dejado buenas experiencias y grandes amistades en el transcurso de mi vida entre los que destacan Wendy Robles, César Pintor, Claudia, Andrea, y que aunque nuestros caminos quizá se hayan separado siempre estarán en mis recuerdos.

Índice general.

Contenido

Índice general.....	VII
Índice de figuras.....	X
Índice de Esquemas.....	XIII
Índice de tablas.....	XIV
Resumen.....	XV
Abstract.....	XVI
Lista de abreviaturas.....	XVII
Lista de compuestos.....	XIX
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	9
2.1. El grupo adamantilo y su uso en la química farmacéutica.....	10
2.2 Benzoquinonas.....	13
2.3 Pirrolilquinonas.....	23
3. Justificación.....	25
4. Hipótesis.....	25
5. Objetivos.....	26
5.1 Objetivo general.....	26
5.2 Objetivos específicos.....	26
6. Resultados y discusión.....	28
6.1 Síntesis de la pirrolil quinona 35.....	28
6.2 Síntesis de la nitropirrolil quinona 36.....	31
6.3 Síntesis de la aminoacetal pirrolil quinona 43.....	35
6.4 Síntesis de la amino antracen-pirrolil quinona 46.....	37
6.5 Síntesis de la adamantil dipirrolil quinona 48.....	40
6.6 Síntesis del compuesto 49.....	42
6.7 Síntesis del compuesto 61.....	47
6.8 Síntesis de la tripirrolil quinona 70.....	52

6.8.1 Síntesis del compuesto 67.....	53
6.8.2 Síntesis de la boroxina 69.....	54
6.8.3 Síntesis de ácido p-aminofenil borónico 64.....	55
6.8.4 Síntesis de la tripirrolil quinona 70.....	56
6.9 Síntesis del nuevo sistema 1-azatriciclo[5.2.2.0 ^{1,5}]undec-2,4-diene-7,10-dione.	59
6.10 Pruebas de reconocimiento de aniones.....	74
6.10.1 Titulaciones en RMN.	75
6.10.2 Titulaciones en UV-Vis	82
6.11 Estudio de anclaje molecular (Docking).....	87
6.12 Estudios de reconocimiento de ADN en UV-Visible.	95
7. Conclusiones.	102
8. Materiales y Métodos.	103
8.1 Síntesis de la pirrolil quinona 35.	103
8.2 Síntesis de la nitropirrolil quinona 36.....	104
8.3 Síntesis de la aminoacetal pirrolil quinona 43.....	104
8.4 Síntesis de la amino antracen-pirrolil quinona 46.....	105
8.5 Síntesis de la adamantil dipirrolil quinona 48.....	105
8.6 Síntesis del compuesto 49.	106
8.7 Síntesis de la 9-cianoacridina 51.	106
8.8 Síntesis del ácido 9-acridinóico 52.	107
8.9 síntesis del cloruro de acridinoilo 53.....	107
8.10 Síntesis de la aminoetil 9-acridincarboxamida 50.	108
8.11 Síntesis del compuesto 56.	108
8.12 Síntesis del compuesto 61.....	109
8.13 Síntesis del compuesto 67.	109
8.14 Síntesis de la boroxina 69.....	110
8.15 Síntesis del ácido p-aminofenil borónico 64.....	110
8.16 Síntesis de la tripirrolil quinona 70.....	111
8.17 Síntesis del compuesto 81.....	112
8.18 Síntesis del azatriciclo 80.....	112
8.19 Cinéticas de reacción para el azatriciclo 80.....	112
8.20 Titulación con anión fluoruro en RMN de los compuestos 35 y 36.	113

8.21 Titulación con anión fluoruro en UV-Visible de los compuestos 35, 36, 43 y 48...	113
8.22 Titulaciones de compuestos con ADN.	113
8.23 Estudio de anclaje molecular (Docking).....	113

Índice de figuras.

Contenido.

Figura 1. Evolución de los tumores.....	2
Figura 2 Mecanismo de acción de un agente alquilante de ADN.	4
Figura 3. Representación 3D de un agente reconocedor de surco (verde) y un intercalador de ADN (Rojo).....	5
Figura 4. Intercaladores típicos en la derecha y atípicos en la izquierda	6
Figura 5. Estructura base de la pirrolil quinona.	10
Figura 6. Estructura química del adamantano 7	10
Figura 7. a) Docking de compuesto 13 en el sitio activo de la enzima. b) comparación con un ligando reportado. c) Puentes de hidrógeno entre el compuesto 13 y los residuos Ser 170 y Tyr 183.....	12
Figura 8. Estructura cristalográfica por difracción de rayos X del compuesto 13	13
Figura 9. Equilibrio entre 14 y 16	14
Figura 10. Oxidación de hidroquinona a benzoquinona catalizada con cobre.	17
Figura 11. Forma en la que un derivado de 26 se intercala entre los pares de bases del DNA.	20
Figura 12. Derivados de 26 sustituido en a) posición 9. b) posición 4.....	21
Figura 13. Ejemplos reportados de pirrolilquinonas.....	23
Figura 14. Propuesta de derivados de pirrolil quinonas.....	24
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H para el compuesto 35 en CDCl ₃ a 400 MHz.....	30
Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C para el compuesto 35 en CDCl ₃ a 100 MHz.	30
Figura 17. Espectro de RMN ¹ H para el compuesto 36 en CDCl ₃ a 400 MHz.	33
Figura 18. Espectro de RMN ¹³ C para el compuesto 36 en CDCl ₃ a 100 MHz.....	33
Figura 19. Espectro de RMN ¹ H donde se muestran las señales para el compuesto 43 en CDCl ₃ a 400 MHz.	37
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H para el compuesto 46 en CDCl ₃ a 400 MHz.....	39
Figura 21. Espectro de RMN ¹ H de la pirrolilbenzoquinona 48 en CDCl ₃	41
Figura 22. Espectro de RMN ¹ H para el compuesto 50 en CD ₃ OD a 300 MHz.....	45
Figura 23. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 49 en CDCl ₃ a 300 MHz.....	46
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 56 en CDCl ₃ a 300MHz.	48
Figura 25. Espectro de RMN ¹ H en CDCl ₃ a 300 MHz para el compuesto 61	50
Figura 26. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 61 en CDCl ₃ a 75 MHz.....	51

Figura 27. Experimento DEPT en CDCl_3 a 75 MHz para el compuesto 61 .	51
Figura 28. Espectro de RMN ^1H del compuesto 67 en CDCl_3 a 300 MHz	54
Figura 29. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 64 en CD_3CN a 300 MHz	56
Figura 30. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 70 en CDCl_3 a 300 MHz	58
Figura 31. Cambio de coloración apreciable a simple vista del compuesto impregnado en papel filtro con diferentes sales inorgánicas.	61
Figura 32. Espectro de RMN ^1H del compuesto 81 en CDCl_3 a 400 MHz	65
Figura 33. ORTEP del compuesto 81 .	66
Figura 34. Espectro de RMN ^1H obtenido en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto 80 .	67
Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C adquirido en CDCl_3 a 100 MHz del compuesto 80 .	67
Figura 36. Espectro NOESY del compuesto 80 .	68
Figura 37. Espectro TOCSY del compuesto 80 .	69
Figura 38. Resultado del modelado en 3D en métodos semiempírico AM1 del compuesto 80 .	70
Figura 39. Ángulos diedros del metileno con respecto al carbonilo vecino en a) C-8 b) C-11.	70
Figura 40. Cinética de reacción seguida por RMN para la obtención de 80 .	71
Figura 41. Comparación de las regresiones lineales de la cinética en UV-Visible a diferentes concentraciones de 82 ; Anaranjado) 0eq. Azul) 0.1 eq. Verde) 0.25	73
Figura 42. Cambio de color selectivo hacia fluoruro.	75
Figura 43. Titulación del compuesto 35 con FTBA a 500 MHz en CD_3CN .	76
Figura 44. Titulación del compuesto 36 con FTBA a 500 MHz en CD_3CN .	78
Figura 45. Representación del momento cuadrupolar para a) Hexafluorobenceno, b) Benceno	79
Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C de 36 saturado con FTBA a 125 MHz en CD_3CN .	80
Figura 47. Comparación entre los espectros de RMN ^{19}F de a) FTBA, b) del compuesto 35 +FTBA y c) 36 + FTBA a 470 MHz en CD_3CN .	81
Figura 48. Titulación en UV-Vis del compuesto 35 .	82
Figura 49. Titulación en UV-Vis del compuesto 36 .	83
Figura 50. Titulación en UV-Vis para el compuesto 48 .	84
Figura 51. Análisis de los puntos isobésticos a diferentes concentraciones de anión fluoruro: a) 3 eq, b) 8 eq.	85
Figura 52. Titulación del compuesto 43 con 0-30 eq de FTBA.	85

Figura 53 a) Esquema en la que se produce un reconocimiento π -anión entre triazina y F^- b) Interacción π -anión entre el hexafluorobenceno y F^-	86
Figura 54. Comparación estructural a) elipticina b) pirrolil quinona.....	87
Figura 55. Estructuras para Docking de compuestos sintetizados.	88
Figura 56. Estructuras para Docking de compuestos no sintetizados.	89
Figura 57. Interacción entre ligando receptor. a) 35 , b) 36 , c) 43 , d) 46 , e) 48	91
Figura 58. Interacción entre ligando y receptor. a) 49 b) 86 c) 87 c) 88	92
Figura 59. Resultado de todos los compuestos sintetizados.....	93
Figura 60. Compuestos titulados.	95
Figura 61. Titulación de ADN con una solución de 35 en DMSO:Búffer 2:1	96
Figura 62. Titulación de ADN con una solución de 36 en DMSO:Búffer 2:1	97
Figura 63. Titulación de ADN con una solución de 43 en DMSO:Búffer 2:1	98
Figura 64. Titulación de ADN con una solución de 48 en DMSO:Búffer 2:1	99
Figura 65. Titulación de ADN con una solución de 46 en DMSO:Búffer 2:1	100

Índice de Esquemas.

Esquema 1. Síntesis del compuesto 35	28
Esquema 2. Síntesis del compuesto 36	31
Esquema 3. a) metodología de Lozada. b) metodología de Cameron.	36
Esquema 4. Síntesis del compuesto 43	36
Esquema 5. Propuesta de síntesis del compuesto 45	38
Esquema 6. Síntesis del compuesto 46	38
Esquema 7. Mecanismo propuesto para la obtención de 46 vía iminas.....	40
Esquema 8. Síntesis del derivado 48	40
Esquema 9. Propuesta para la síntesis de 49	42
Esquema 10. Síntesis del compuesto 52	43
Esquema 11. Síntesis del cloruro acridinónico 53	43
Esquema 12. Obtención del compuesto 50	44
Esquema 13. Formación del dímero de acridina.	44
Esquema 14. Propuesta para la obtención de 58	47
Esquema 15. Síntesis del compuesto 56	47
Esquema 16. Propuesta de mecanismo para la obtención de 61	49
Esquema 17. Análisis retrosintético para el derivado 62	52
Esquema 18. Síntesis del compuesto 67	53
Esquema 19. Obtención de la boroxina 69	55
Esquema 20. Síntesis del compuesto 64	55
Esquema 21. Síntesis del compuesto 63	57
Esquema 22. Síntesis de la pirrolil perezona.....	61
Esquema 23. Productos naturales que contienen el esqueleto 72 en su estructura.	62
Esquema 24. Análisis retrosintético del compuesto 80	64
Esquema 25. Síntesis del compuesto 81	64
Esquema 26. Formación del triciclo.....	66
Esquema 27. Reacción entre un radical y TEMPO.	72
Esquema 28. Mecanismo propuesto para la formación de 80	73

Índice de tablas.

Tabla 1. Comparación del rendimiento al aumentar los equivalentes de pirrol.....	29
Tabla 2. Comparación de rendimiento obtenido	34
Tabla 3. Comparación de rendimiento con diferentes condiciones de reacción	34
Tabla 4. Comparación de los rendimientos entre la metodología de Lozada y Cameron..	46
Tabla 5. Equivalentes de FTBA respecto al volumen adicionado a 35	75
Tabla 6. Equivalentes de FTBA respecto al volumen adicionado a 36	77
Tabla 7. Resultados obtenidos en Autodock4 rojos no sintetizados y negros sintetizados.	90
Tabla 8. Energías de unión obtenidas en Autodock4.....	101

Resumen

Palabras clave: Pirrolil quinonas, ADN, intercalación, Interacción.

Actualmente el cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, ya que es una enfermedad que se caracteriza por el crecimiento rápido y descontrolado de células anormales las cuales producen daños en los órganos o tejidos. Entre los principales tratamientos quimioterapéuticos se encuentran los intercaladores de ADN. Hoy en día se ha estudiado ampliamente las propiedades de intercaladores típicos (compuestos con sistemas aromáticos fusionados) y atípicos (compuestos con sistemas aromáticos no fusionados).

En el presente trabajo de investigación se reporta la síntesis de pirrolil quinonas diseñados para la interacción supramolecular con el ADN por medio de una intercalación atípica ya que estos presentan como principal característica dos anillos no fusionados con sistemas π conjugados que pueden funcionar como región intercaladora atípica, así como la incorporación de grupos funcionales de interés que modifiquen sus propiedades químicas. Los derivados obtenidos sugieren una importante interacción intercaladora de ADN, la cual fue medida por varios experimentos haciéndolas candidatas promisorias para el tratamiento del cáncer.

Abstract.

Keywords: Pirrolyl quinones, DNA, intercalation, Interacción.

At present, cancer is one of the major causes of death around the world because this disease is characterized by rapid and uncontrolled growth of abnormal cells which produce damage in tissues and organs. One of the most important chemotherapeutics treatments are the DNA intercalators. Nowadays, typical (compounds with fused aromatic rings) and atypical (not fused aromatic rings) DNA intercalators have been studied, which we are focused.

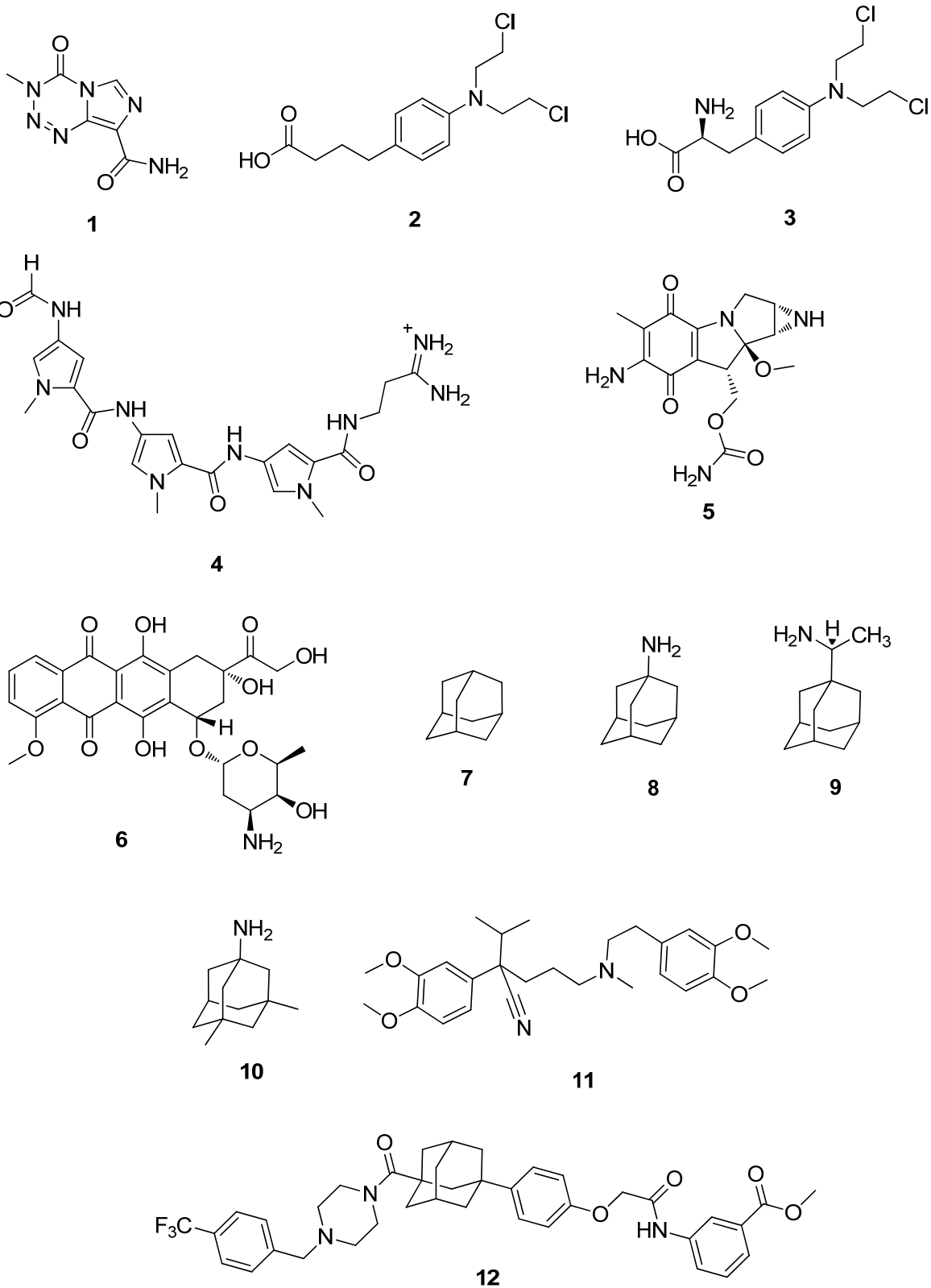
This research project reports the synthesis of novel pirrolyl quinones designed for DNA supramolecular interactions as atypical intercalators. New pirrolyl quinones were described in this work. They have as the main feature two not fused rings with conjugated π systems as atypical intercalative region, as well as the incorporation of interesting functional groups in order of modify chemical properties. These compounds have shown an important supramolecular interaction as atypical DNA intercalators. That property was measured by different experiments making them promising candidates for the cancer treatments.

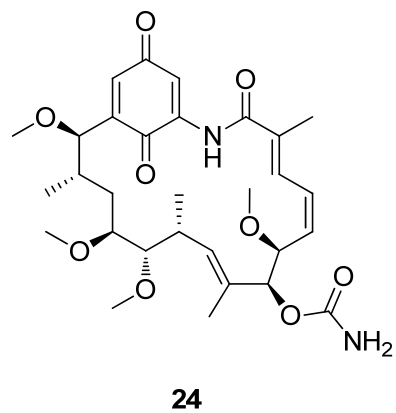
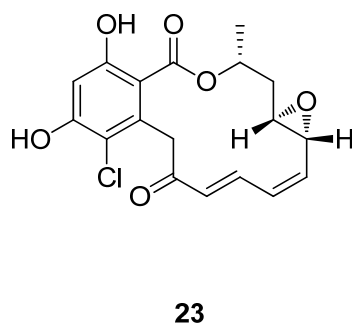
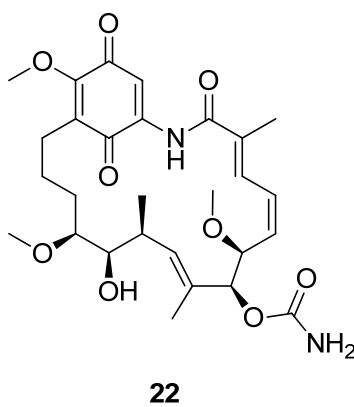
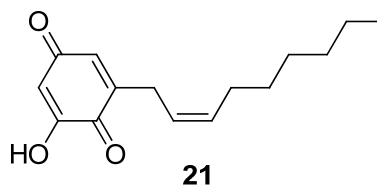
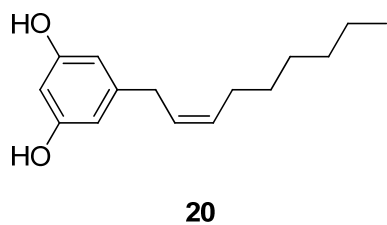
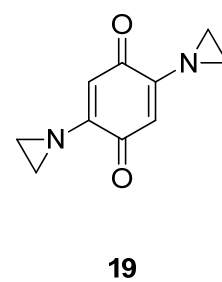
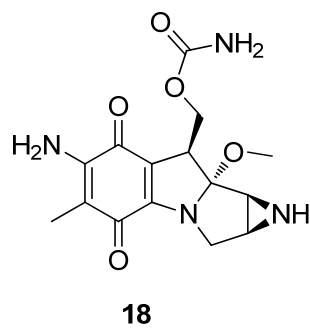
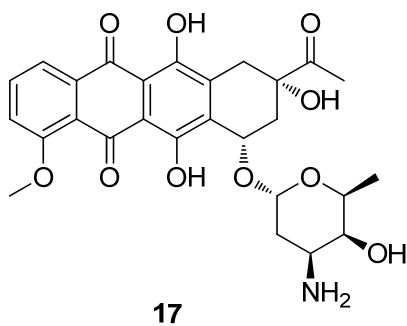
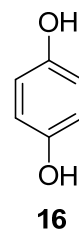
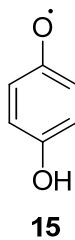
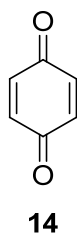
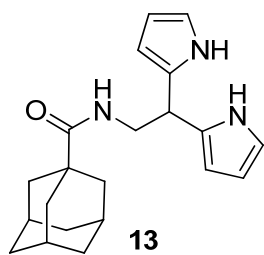
Lista de abreviaturas.

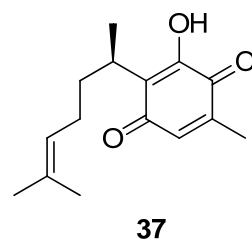
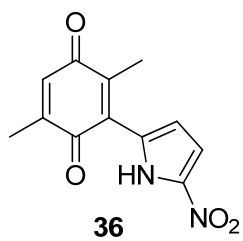
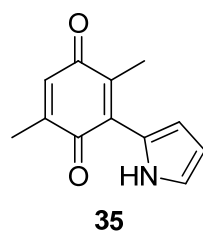
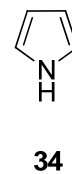
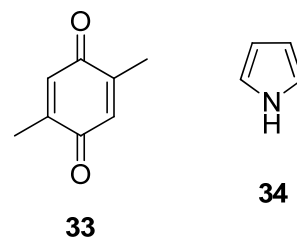
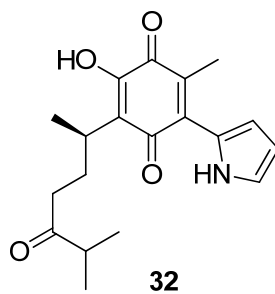
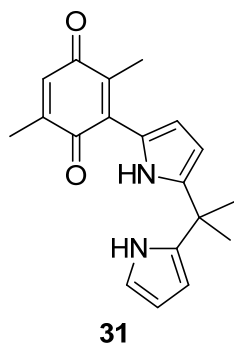
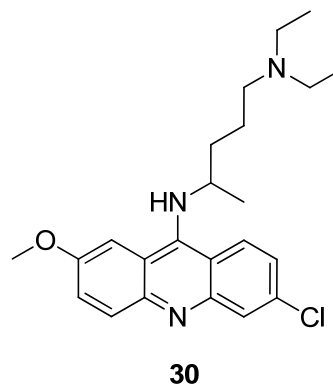
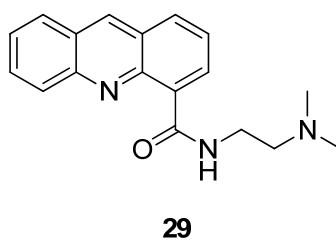
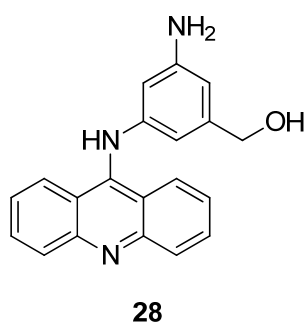
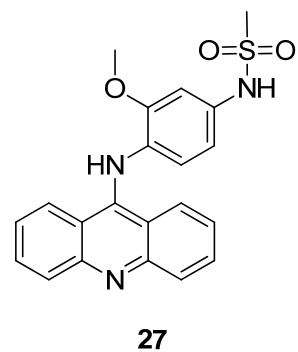
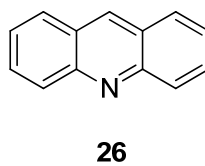
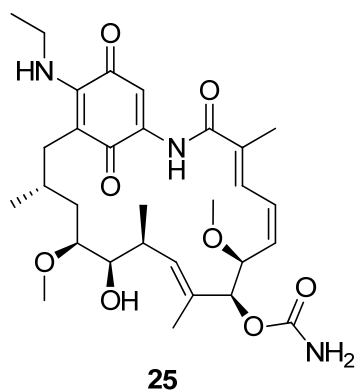
°C	Grados centígrados
μL	Microlitros
5-LO	Lipooxigenasa-5
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AHMA	<i>N</i> -(9)-metil-3-(9-acridinilamino)-5-hidroximetilanilina
AMSA	<i>m</i> -Amascrina
ATF	Ácido trifluoroacético
ATP	Adenosín trifosfato
DACA	N-[2-(dimetilamino)etil]acridin]-4-carboxamida
eq	Equivalentes
EtOH	Etanol
FTBA	Fluoruro de tetrabutil amonio.
g	Gramos
h	Horas
HSP	Proteína de choque térmico
MDR	Resistencia a múltiples drogas
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mmol	Milimoles
nm	Nanómetros
ppm	Partes por millón
Qzz	Momento cuadrupolar

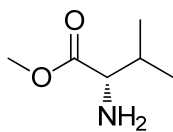
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹⁹F	Resonancia Magnética Nuclear de Flúor 19
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
Ser 170	Serina 170
TEMPO	2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-1-yl)oxyl
TLC	Cromatografía en capa fina
Tyr 183	Tirosina 183
UV-Vis	Ultravioleta-Visible

Lista de compuestos.

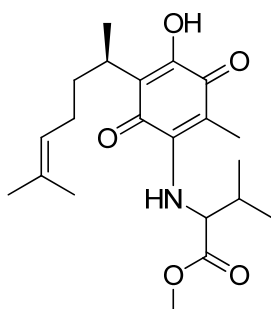




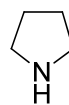




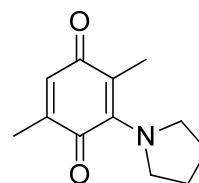
38



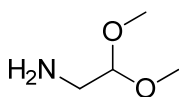
39



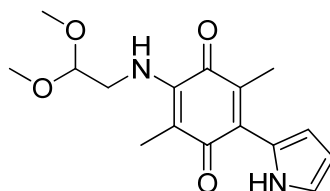
40



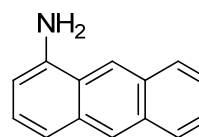
41



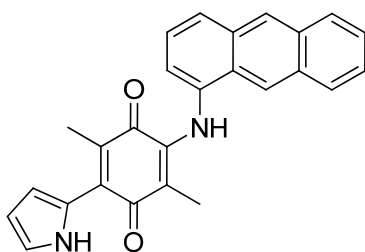
42



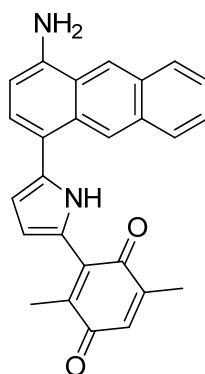
43



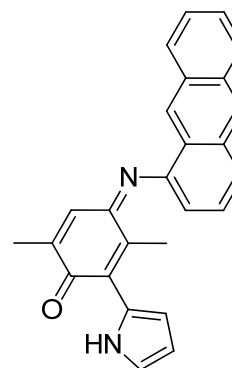
44



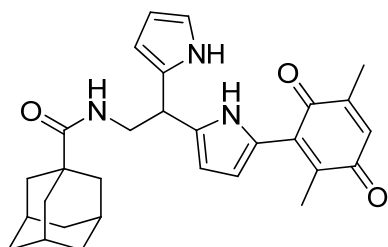
45



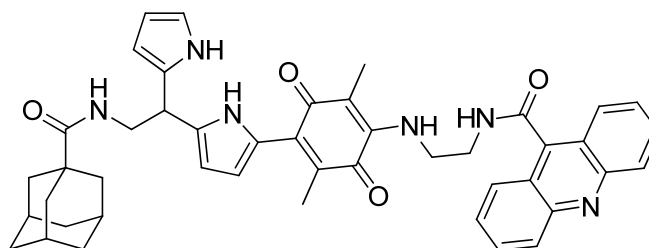
46



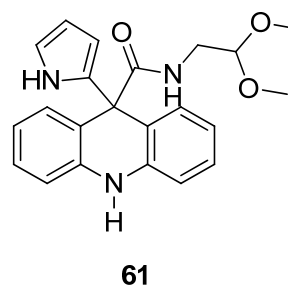
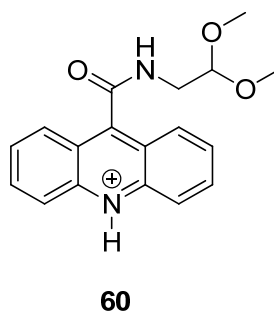
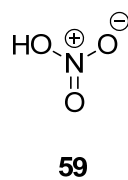
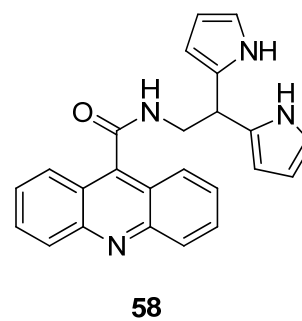
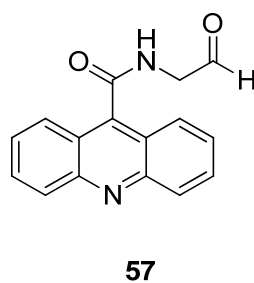
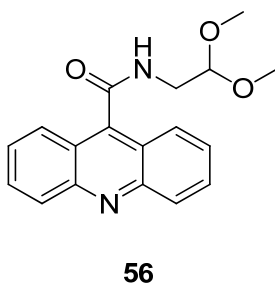
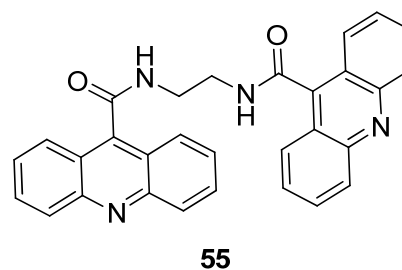
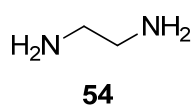
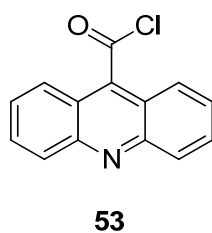
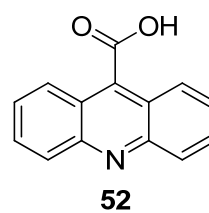
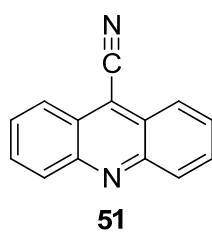
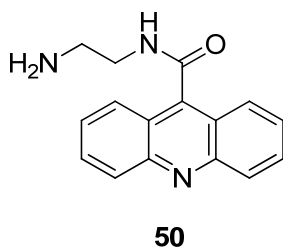
47

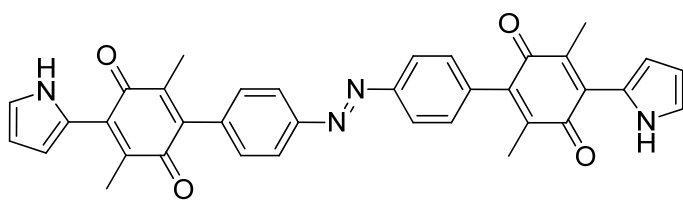


48

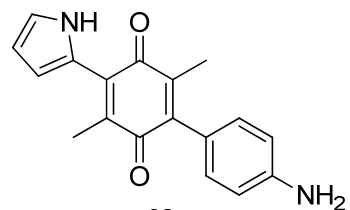


49

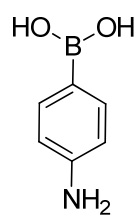




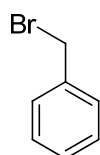
62



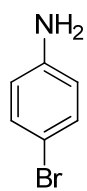
63



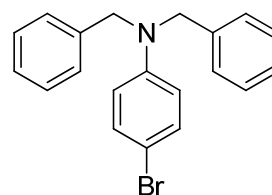
64



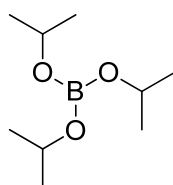
65



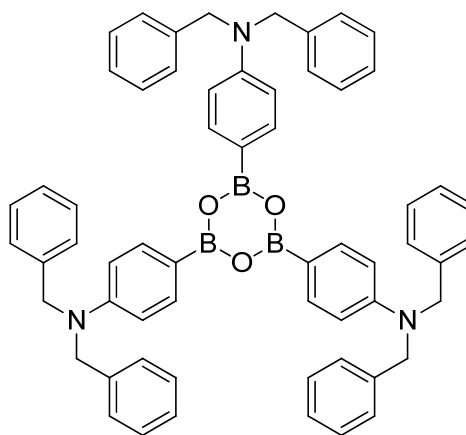
66



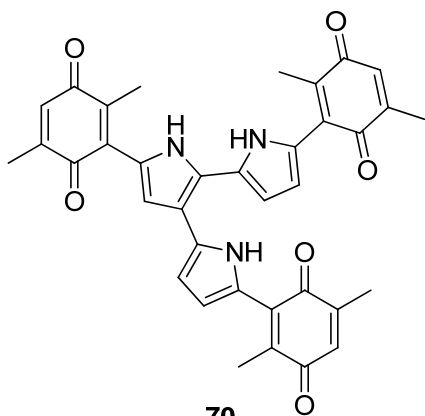
67



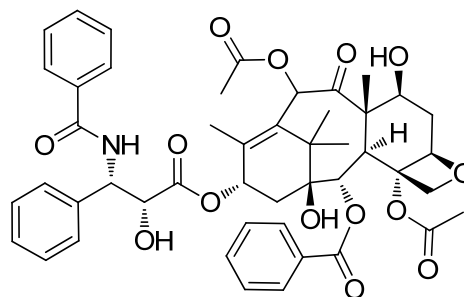
68



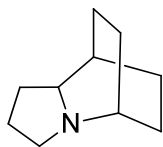
69



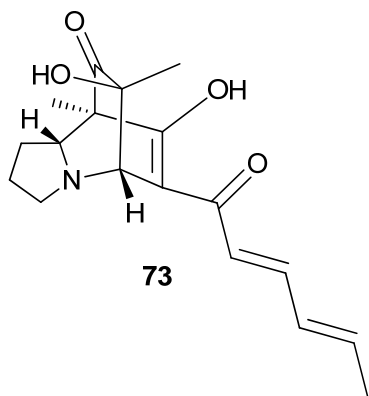
70



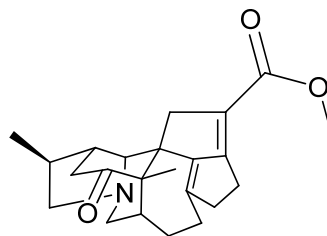
71



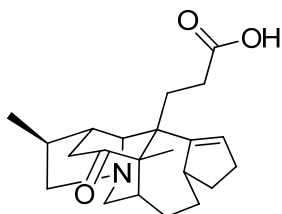
72



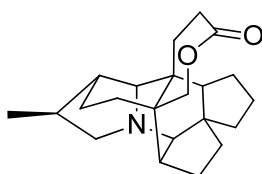
73



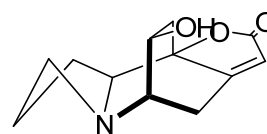
74



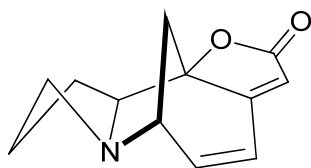
75



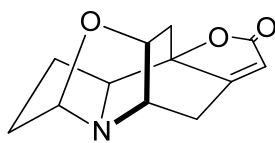
76



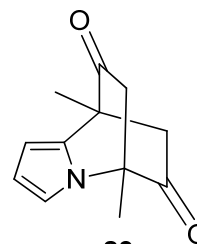
77



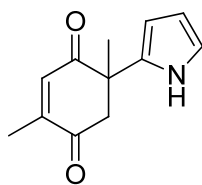
78



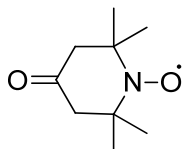
79



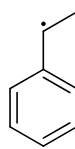
80



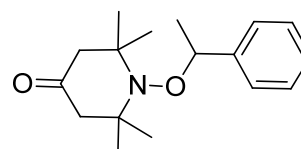
81



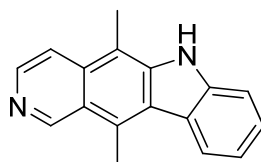
82



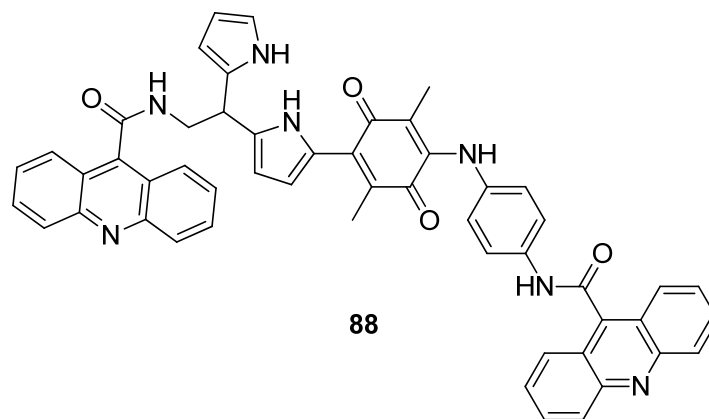
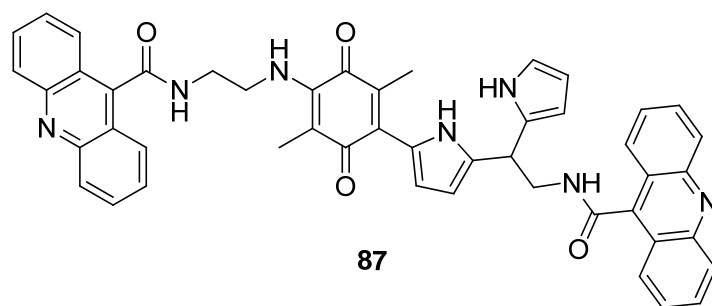
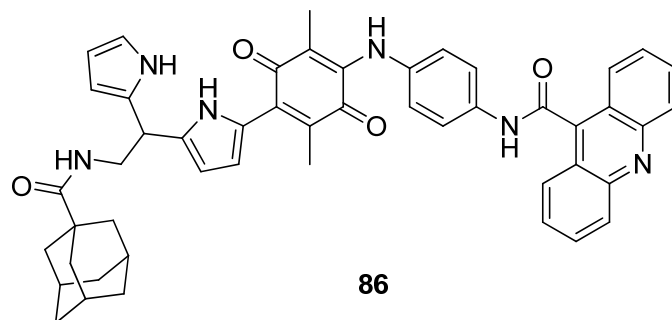
83



84



85



1. Introducción.

El término “Cáncer” proviene del latín que significa “cangrejo” y es como se conoce comúnmente a un conjunto de enfermedades caracterizadas por un crecimiento incontrolado de células. Es posible que se le diera este término debido a la manera en que un cáncer se adhiere de forma obstinada (como un cangrejo) a los tejidos o bien porque en los primeros diagnósticos hechos en cáncer de mama este tomaba forma de cangrejo. Por otra parte, el término médico para el cáncer es la neoplasia, que deriva del griego y significa “tejido de nueva formación”.¹

El cáncer es una enfermedad que resulta de una mutación en el ADN cromosómico de una célula normal, puede ser activado tanto por factores externos como el tabaco, alcohol, productos químicos, agentes infecciosos o la radiación, así como factores internos como hormonas, condiciones inmunes, mutaciones heredadas o las mutaciones que ocurren en metabolismo.² Se caracteriza por la proliferación no controlada, rápida, y patológica de células anormales (tumor) que tienden a invadir los tejidos circundantes y en casos más severos produciendo metástasis a otros tejidos y órganos (figura 1). Actualmente se ha convertido en la principal causa de muerte en humanos, después de las enfermedades cardiovasculares.³

¹ Kumar R., Sharma A., Sharma S., Silakari O., Singh M., Kaur M., *Arabian J. Chem.* **2013**, doi:10.1016/j.arabjc.2012.12.035.

² Zong A., Cao H., Wang F. *Carbohydrate Polymers.* **2012**, 90, 1395-1410.

³ Fadeyi O., Adamson S., Myles L., Okoro C. *Bioor. Med. Lett.* **2008**, 18, 4172-4176.

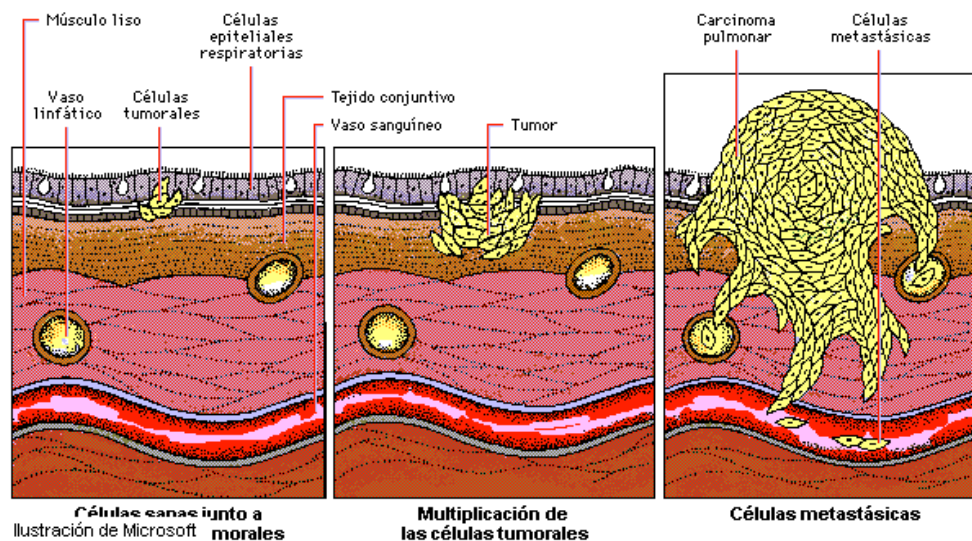


Figura 1. Evolución de los tumores.

Los tumores malignos son de las amenazas más graves para la salud humana a nivel mundial debido a que el nuevo tejido que se genera posee propiedades virulentas o adversas y que a través de la expresión de estas propiedades, puede causar la destrucción de los órganos principales, y en algunos casos, alteraciones en la función del cuerpo potencialmente mortales.

Actualmente existe un gran número de tratamientos, entre los cuales el inicial para varios tipos de cáncer implica la estadificación quirúrgica o la resonancia magnética nuclear para determinar la extensión de la enfermedad y posteriormente la necesidad de tratamiento adyuvante.⁴ A pesar de que la radiación y el tratamiento quirúrgico son ampliamente empleados contra cáncer, la quimioterapia desempeña un papel importante en el tratamiento de pacientes con enfermedad en estado avanzado.⁵

Hasta la fecha no se ha descubierto un medicamento contra el cáncer para un tratamiento completo, el fracaso del tratamiento del cáncer se puede atribuir a que las células tumorales pueden generar resistencia a múltiples fármacos quimioterapéuticos (MDR). A pesar de que se han reportado diversos mecanismos, la MDR se debe principalmente a la sobreexpresión de ATP-binding cassette (ABC), los cuales se encargan de transportar al interior de la célula un gran número de agentes contra el

⁴ Lange S., Horan T., Kim K., Singh A., Vorsa N., Brard L., Moore R. and Singh R. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, 79, 92–103.

⁵ Bandyopadhyay D., Mukherjee S., Granados J., Short J., Banik B., *Euro. J. Med. Chem.* **2012**, 50, 209-215.

cáncer. Este fenómeno de resistencia es de gran importancia económica y con frecuencia tiene consecuencias graves para la salud.^{6,7}

En este contexto, la búsqueda de nuevos agentes quimioterapéuticos es un campo interesante y en constante evolución de la investigación del cáncer, por lo tanto se han dirigido grandes esfuerzos para el desarrollo de nuevos fármacos con propiedades anticancerígenas.⁸

Por su parte, existen un amplio número de agentes antineoplásicos clínicamente exitosos que producen efectos contra el cáncer al causar daños en el ADN y apoptosis, aumentado así significativamente la tasa de supervivencia de pacientes con dicha enfermedad. Actualmente la síntesis de nuevos fármacos para el tratamiento del cáncer busca definir compuestos candidatos que interaccionen únicamente con las dianas moleculares de las células tumorales, para poder marcar la diferencia entre la actividad o toxicidad de los fármacos.⁹

Entre los principales tipos de fármacos para el tratamiento del cáncer se encuentran los agentes que tienen capacidad de formar enlaces covalentes con las bases del ADN conocidos como agentes alquilantes de ADN (Figura 2), estos compuestos siguen siendo algunos de los medicamentos más comunes a pesar de presentar una toxicidad alta debida a su limitada selectividad en secuencias de ADN, por lo que se limita la dosificación de estos compuestos.¹⁰ Sin embargo, se han realizado grandes esfuerzos por sintetizar una amplia gama de agentes alquilantes en un intento por controlar su reactividad química para así hacerlos más específicos, un ejemplo de ellos es la temozolomida **1**, el cual es un fármaco de monoalquilación específico para la metilación de residuos de guanina en el ADN. Además se han encontrado otros compuestos capaces de entrecruzar las dos hebras del ADN haciéndolos más potentes y eficaces como el clorambucil **2** y el mephalan **3**.¹¹

⁶ MinK., Xia Y., Kim E., Jin E., Kaur N., Kim E., Kim D., Jung H., Choi Y., Park M., Min Y., Lee K., Lee K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5376–5379.

⁷ Naik R., Jeon C., Min H., Choi H., Min K., Lee K., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 4444–4446.

⁸ Lang X., Li L., Chen Y., Sun Q., Wua Q., Liu F., Tan C., Liu H., Gao C., Jiang Y., *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4170–4177.

⁹ Tudor G., Gutierrez P., Gutierrez A., Sausville E., *Biochem. Pharm.*, **2003**, *65*, 1061–1075.

¹⁰ Jespersen C., Soragni E., Chou J., Arora P., Dervan P., Gottesfeld J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 4068–4071.

¹¹ Hurley L., *Macmillan Mag. Ltd. Nat. Rev., Cancer*, **2002**, *2*, 188–200.

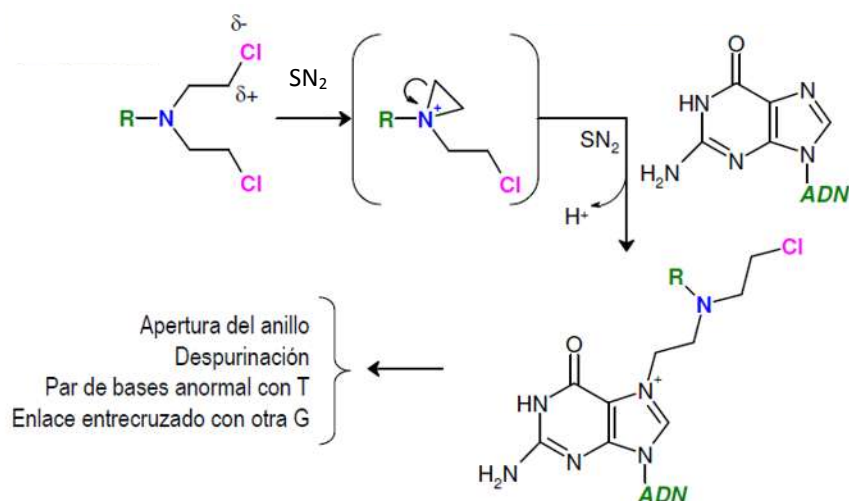
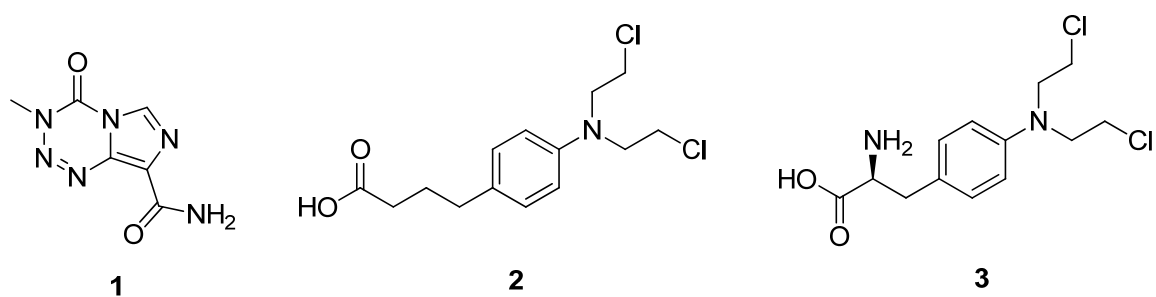


Figura 2 Mecanismo de acción de un agente alquilante de ADN.



Por su parte, los fármacos que forman interacciones reversibles supramoleculares con el ADN se pueden clasificar en dos grandes categorías, la intercalación y de unión al surco (Figura 3).

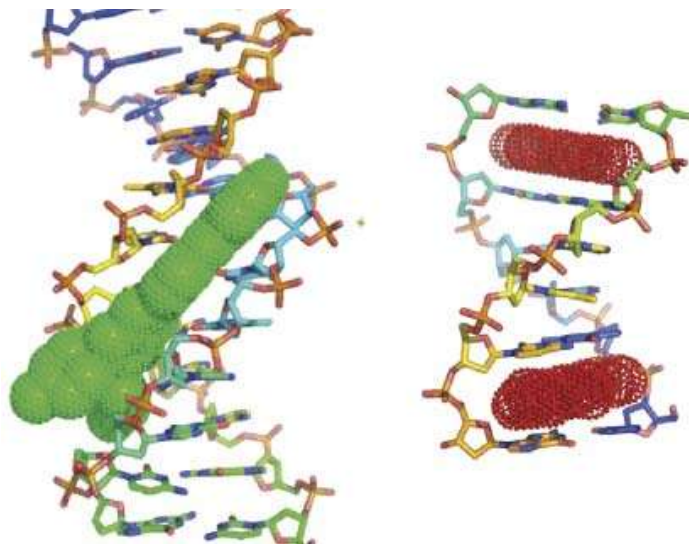


Figura 3. Representación 3D de un agente reconocedor de surco (verde) y un intercalador de ADN (Rojo)

El fenómeno de intercalación implica la inserción de una molécula plana entre pares de bases de ADN, lo que resulta en una disminución en el giro helicoidal del material genético y el estiramiento del ADN con un cambio conformacional de la doble hélice.

Para que un compuesto sea intercalador de ADN debe cumplir características estructurales como planaridad y electrónicas como deficiencia electrónica que le permitan establecer insertarse entre los pares de bases mediante una interacción que resulte más estable como supramolécula. Aunque, por las características descritas, los intercaladores se han asociado tradicionalmente como moléculas que contienen estructuras de anillos tricíclicos fusionados, también existen reportes de intercaladores atípicos con sistemas de anillos no fusionados (Figura 4).¹² En este contexto es importante resaltar, por dos motivos, que la prodigiosina contiene anillos de pirrol no fusionados a otro sistema aromático. Primeramente por que este dato también escapa de la óptica clásica del modelo de intercalación pues en principio la aromaticidad juega un papel importante en las interacciones π - π entre el intercalador y las bases púricas y pirimídicas y el pirrol aunque es considerado aromático no lo es tanto como el benceno u otros sistemas convencionalmente encontrados en intercaladores. En segundo lugar porque el proyecto

¹² Palchaudhuri R., Hergenrother P., *Curr. Opin. Biotechno.* **2007**, 18, 497–503.

de este trabajo considera compuestos pirrólicos no fusionados para ser explorados como intercaladores del ADN.

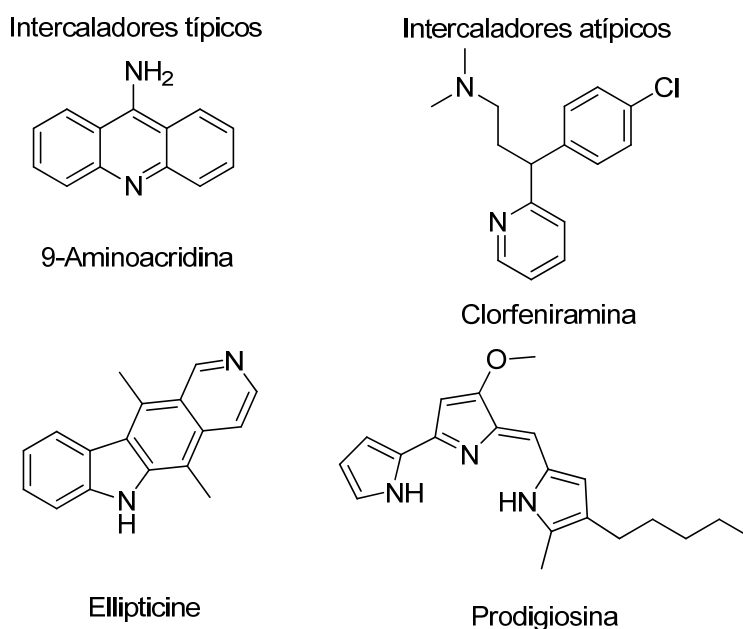


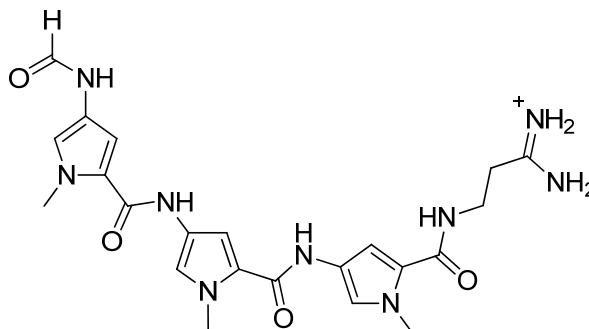
Figura 4. Intercaladores típicos en la derecha y atípicos en la izquierda

Los intercaladores de ADN se han empleado ampliamente como agentes antitumorales, antineoplásicos, antimaláricos, antibióticos, y antifúngicos. Se sabe también que no todos son genotóxicos, ya que muchas veces es necesaria la presencia de una base, grupos funcionales catiónicos o electrófilos para generar la genotoxicidad. Por otra parte, los compuestos que se unen al ADN por intercalación, además del interés como agentes terapéuticos potenciales, se pueden emplear como sondas en el estudio de las interacciones ligando-ADN y en la investigación de la estructura del ácido nucleico.¹³

Otro tipo de compuestos que forman interacciones de interés farmacológico con el ADN son los reconocedores de surco que a diferencia de la intercalación, no provoca grandes cambios conformacionales en el ADN y puede considerarse similar a los modelos de “cerradura y llave” estándar para el reconocimiento supramolecular (típico de las enzimas). Generalmente son moléculas en forma de media luna que se unen al surco menor del ADN y que se estabilizan por interacciones intermoleculares. Un ejemplo típico es la distamicina **4**. Este grupo de compuestos poseen constantes de asociación más

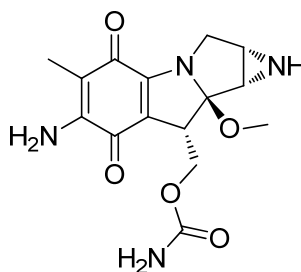
¹³ Searcey M., Martin N., Howarth N., Madden B., Wakelin L., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1831-1836.

grandes que los intercaladores.¹⁴ El descubrimiento de moléculas reconocedoras de surco menor, abrió el camino para considerar el diseño y síntesis de moléculas capaces de reconocer secuencias más específicas de ADN.



4

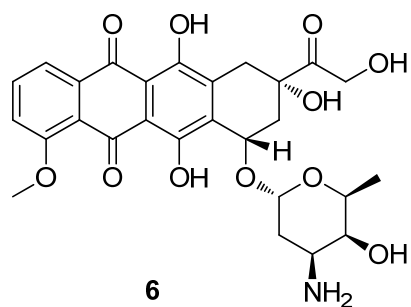
Así mismo, se ha demostrado que los reconocedores de surco poseen utilidad clínica como agentes anticancerígenos y antibacterianos, como se ejemplifica por la mitomicina C **5**.



5

Tanto de la intercalación como del reconocimiento de surco se puede tomar ventaja en una sola molécula y generar reconocimiento aditivo. Como ejemplos interesantes se encuentran las antraciclinas como la doxorrubicina **6** que también son una clase de compuestos clínicamente importantes con propiedades antineoplásicas y antibacterianos, se aprovechan de los dos tipos de unión, ya que poseen una unidad de intercalante, así como una cadena lateral de unión al surco.¹²

¹⁴ Tevis D., Kumar A., Stephens C., Boykin D., Wilson D., *Nucleic Acids Res*, **2009**, 37, 5550–5558.



En el presente trabajo se describe la síntesis de compuestos de tipo pirrolilquinona que por sus características estructurales les hace ser candidatos a ser evaluados como agentes reconocedores de ADN principalmente como intercaladores.

2. Antecedentes

En la actualidad, resulta de suma importancia el diseño y síntesis de nuevos derivados de compuestos con actividad citotóxica buscando la disminución de la toxicidad o la resistencia por parte de las células sanas, lo cual ha resultado bastante complicado debido a que el metabolismo tanto de una célula tumoral como la que no lo es tienen diferencias despreciables para ser controladas, al menos con los conocimientos que se tienen hasta hoy. Sin embargo, la química farmacéutica no olvida otras demandas en la búsqueda de nuevos fármacos como la biodisponibilidad, que se refleja en la capacidad de que un fármaco llegue a torrente sanguíneo, o bien la búsqueda de compuestos que puedan atravesar membrana celular, ambos factores importantes para obtener eficiencia de un compuesto biológicamente activo. Una de las estrategias empleadas es incorporar farmacóforos que hagan a los compuestos más específicos o que penetren más fácilmente la membrana celular debido a sus propiedades fisicoquímicas. Uno de los compuestos que ha tenido más demanda en este sentido es el grupo adamantilo.

Una vez alcanzado el sitio de acción se deben considerar los factores termodinámicos que permitan la estabilización del complejo fármaco-receptor mediante interacciones estabilizantes como son los puentes de hidrógeno, fuerzas de Van Der Waals, interacciones de tipo dipolo-dipolo etc. En lo que respecta a los intercaladores del ADN además de estas interacciones, las fuerzas de atracción estabilizantes de tipo π - π deben estar presentes. Está bien documentado que entre más sean las fuerzas de interacción más selectivo puede ser el fármaco. Así por ejemplo, la afinidad por el ADN de un bis-intercalador se incrementa a más del doble que lo que sería la interacción de dos intercaladores, esto debido a efectos entrópicos. De igual manera un reconocedor de surco tiene más afinidad si la interacción es asistida por un intercalador unido a él.

Sin embargo, aunque la biodisponibilidad y la estabilización del complejo fármaco receptor pueden ser controlados, estos no son del todo suficientes para garantizar la actividad biológica, la cual depende también del farmacóforo que es el grupo o región responsable de la actividad. Dado que en el presente trabajo se describe la síntesis de pirrolilquinonas como intercaladores atípicos del ADN (figura 5) y que se pretende que estas posean altas posibilidades de éxito, se consideró la incorporación de: adamantilo (solubilidad y permeabilidad), acridina (incremento en la interacción con el ADN) y grupos

funcionales que modifiquen la demanda electrónica de la quinona. Por este motivo resulta importante mencionar los antecedentes más relevantes de cada una de estas consideraciones estructurales.

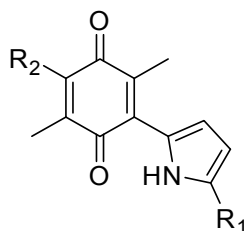


Figura 5. Estructura base de la pirrolil quinona.

2.1. El grupo adamantilo y su uso en la química farmacéutica.

El tríciclo[3.3.1.1]decano es comúnmente conocido como adamantano **7**, fue descubierto y aislado originalmente del petróleo en 1933.¹⁵ Es un compuesto termodinámicamente estable, de una gran simetría y voluminoso con una estructura similar al diamante, de donde deriva su nombre común; consta de tres estructuras unidas en conformación de silla partiendo de un anillo de ciclohexano lo cual asimila una red cristalina de diamante (Figura 6).¹⁶ El adamantano es el más simple de los diamantoides policíclicos con una gran rigidez estructural. Debido a la estructura y propiedades físicas y químicas, tienen una gran importancia en la construcción molecular en nanotecnología.¹⁷

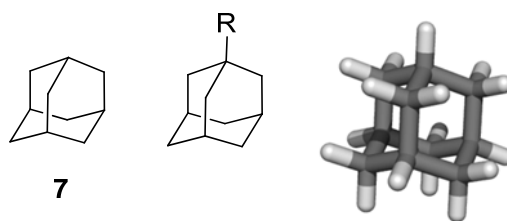


Figura 6. Estructura química del adamantano 7.

La actividad farmacológica de los derivados de adamantano está ampliamente documentada y surge principalmente de su gran capacidad para penetrar las capas de las membranas lipídicas y de interactuar con los sitios hidrofóbicos de las proteínas debido a

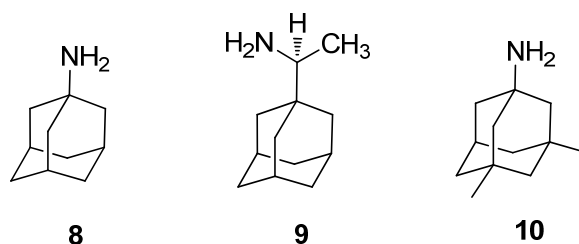
¹⁵ Marsusi, F., Mirabbaszadeh, K., & Ali Mansoori, G. *Phys. E: Low-dim. Sys. Nan.* **2009**, *41*, 1151-1156.

¹⁶ Kanehashi, S., Konishi, S., Takeo, K., Owa, K., Kawakita, H., Sato, S., Nagai, K. *J. Membrane Sci.* **2013**, *427*, 176–185.

¹⁷ Hamadani, M., Khoshnevisan, B., & Fotooh, F. K. *J. Molec. Struct.: Theochem.* **2010**, *961*, 48-54.

la presencia de su estructura rígida lipofílica. A los derivados amínicos de adamantano se les han encontrado un gran número de aplicaciones médicas.¹⁸

Algunos derivados del adamantano **7**, como la amantadina **8**, rimantadina **9**, memantina **10** entre otros, son ampliamente empleados como medicamentos antivirales o neurológicos.

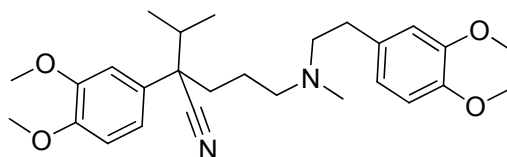


Por su parte, la incorporación de grupos adamantilo en moléculas ya existentes, ha proporcionado un incremento en la lipofilia de dichas moléculas, que a su vez puede modificar su disponibilidad biológica.¹⁹

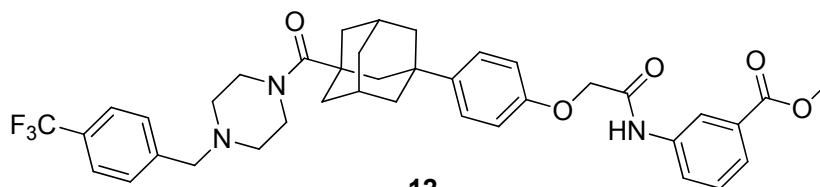
Por otro lado, se ha desarrollado un gran número de compuestos de reversión de la MDR. El verapamilo **11**, por ejemplo, es un inhibidor de la glicoproteína-P que se encarga de regular la entrada o salida de algunos fármacos en la célula. En el 2011 Naik y colaboradores reportaron la síntesis del compuesto **12**, el cual presenta una mejor actividad de la reversión de la MDR sin una citotoxicidad intrínseca considerable.⁷

¹⁸ Abel A., Averin A., Maloshitskaya O., Savelyev E., Orlinson B., Novakov I., Beletskaya I. *Molecules*, **2013**, 18, 2096-2109.

¹⁹ El-Emam, A. A., Alrashood, K. A., Al-Omar, M. A., & Al-Tamimi, A. M. S. *Molecules*, **2012**, 17, 3475-3483.

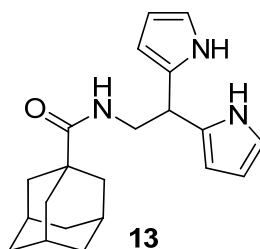


11



12

Un ejemplo adicional de interés es la síntesis del derivado dipirrometano **13** recientemente descrito por nuestro grupo de trabajo, al que se le realizó un estudio Docking que sugiere la posibilidad que actúe como un tratamiento para el síndrome metabólico debido a que los resultados indican que interacciona en el sitio activo de la enzima 11 β -Hidroxiesteroide deshidrogenasa la cual se encarga de catalizar la biotransformación de cortisona a cortisol activo (figura 7).²⁰



13

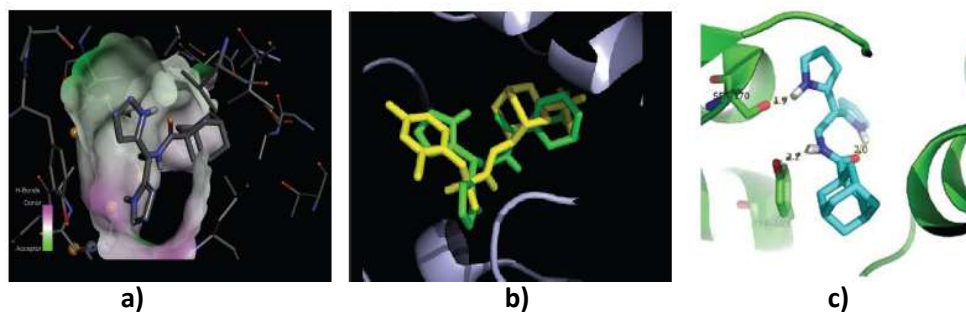


Figura 7. a) Docking de compuesto 13 en el sitio activo de la enzima. b) comparación con un ligando reportado. c) Puentes de hidrógeno entre el compuesto 13 y los residuos Ser 170 y Tyr 183.

²⁰ Gallardo-Alfonzo S., Ocampo-Néstor A., Contreras-Celedón C., Chacón-García L., *J. Chem.* **2014**, 2014, 1-5.

La caracterización inequívoca del compuesto se logró gracias a la obtención de su estructura cristalográfica obtenida por difracción de rayos X (figura 8).

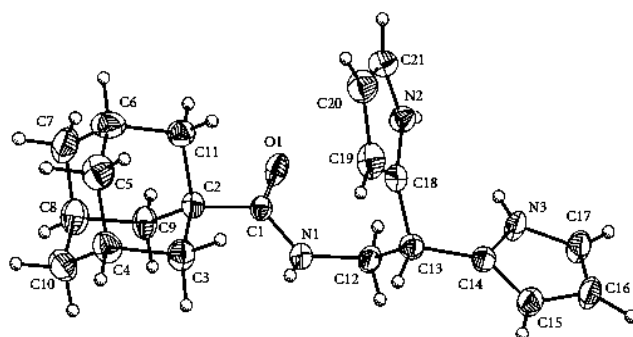
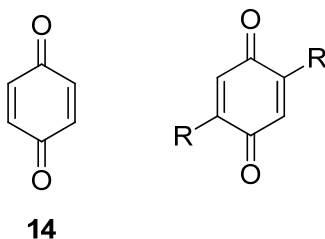


Figura 8. Estructura cristalográfica por difracción de rayos X del compuesto 13.

2.2 Benzoquinonas.

Las benzoquinonas son una amplia familia de compuestos que poseen de propiedades químicas interesantes sobre todo por su capacidad óxido-reductora y reactividad química. La estructura básica de éste tipo de compuestos quinoides es la 1,4-benzoquinona o *p*-benzoquinona **14**.²¹



El sistema quinona **14** hidroquinona **16** es uno de los ejemplos de sistemas REDOX orgánicos y la investigación sobre el comportamiento electroquímico de estos compuestos ha sido muy activa a partir de principios del siglo XX.²² El proceso de oxidación completa de **14** a **16** se inicia por la transferencia de un electrón y el mecanismo finaliza con la ganancia de dos electrones; estas propiedades REDOX se han asociado a su actividad pro-oxidante, la cual, puede acelerar el daño oxidativo al ADN o proteínas y

²¹ Abraham i., Joshi R., Pardasani P., Pardasani R., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2011**, 22, 385-421.

²² Guin P., Das S., Mandal P., *Inter. J. Electrochem.* **2011**, ID 816202, 1-22.

hidratos de carbono en células. Así mismo, se ha encontrado que también presentan propiedades antiproliferativas y citotóxicas en varias líneas de células tumorales, a través de la formación del radical semiquinona **15** (figura 9).²³

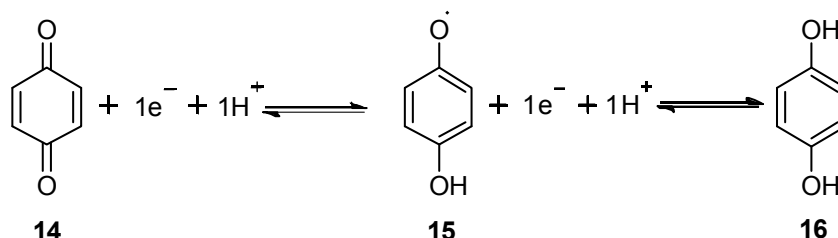


Figura 9. Equilibrio entre 14 y 16

Por su parte, las quinonas tanto naturales como sintéticos se han usado ampliamente en la medicina como agentes antimicrobianos y anticancerígenos, funcionando ya sea como inhibidores de las vías esenciales REDOX o como profármacos. En este último caso, el compuesto debe someterse a la activación por reductasas de quinona antes de mediar sus efectos citotóxicos.²⁴

El comportamiento electroquímico asociado con el equilibrio de transferencia de electrones-protones y la cinética proporciona información sobre la estructura molecular y el ambiente en el que se lleva a cabo el proceso. Para averiguar su modo de acción, la evaluación de mecanismo de reacción y la determinación de los parámetros fisicoquímicos se han llevado a cabo estudios sobre la reducción de estas moléculas en diferentes condiciones.²²

También se les ha dado un amplio uso en el campo de la química orgánica y química de coordinación. Debido a su naturaleza, los compuestos quinoides han sido estudiados en un amplio espectro de temas, tales como la síntesis, fotoquímica, radiólisis de pulso, química computacional, etc.²¹

Además de los aspectos químicos, las quinonas desempeñan papeles importantes en la bioquímica de las células vivas.²² Por ejemplo, funciona en la respiración celular, la fotosíntesis, la coagulación de la sangre, fosforilación oxidativa y en la transferencia de

²³ Soto J., Bahamonde V., Araya R., Weiss B., *Comp. Theo. Chem.* **2013**, 1013, 97–101.

²⁴ Hall B., Meredith E., Wilkinson S., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56, 5821–5830.

electrones. Su acción biológica es a menudo vinculada a las tasas de transferencia de electrones y potenciales redox.²⁵

Por su parte, un gran número de productos químicos que contienen como subunidad básica la 1,4-benzoquinonas tienen aplicaciones farmacológicas prominentes tales como antibióticos, antitumorales, antipalúdicos, antineoplásicos, anticoagulantes, antioxidantes, etc.²⁶

En la célula, la benzoquinona **14** se puede reducir a la hidroquinona **16** debido a la capacidad reductora del medio intracelular (por ejemplo, presencia de glutatión en el intervalo milimolar). Dichos derivados de **14** así como otros polifenoles se han usado para reducir el hierro en el sitio activo de la lipooxigenasa 5 (5-LO), inhibiendo de este modo la actividad de 5-LO principalmente debido a las propiedades antioxidantes.

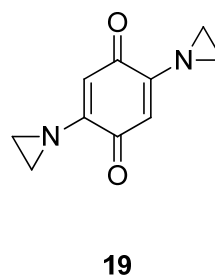
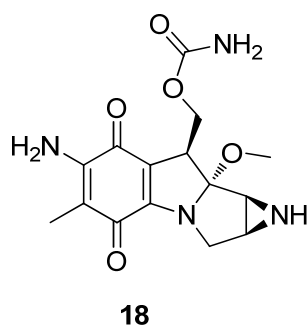
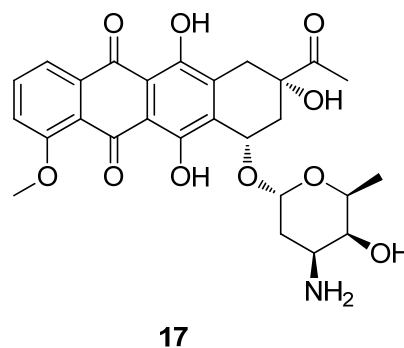
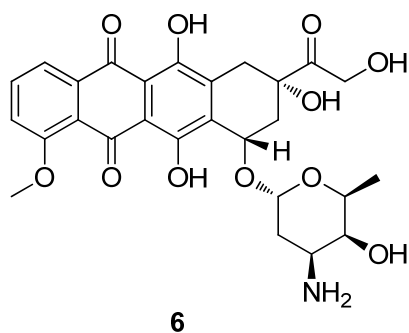
El grupo quinona se encuentra presente en la estructura de muchos agentes antitumorales incluyendo doxorubicina **6**, daunorubicina **17**, mitomicina C **18**, aziridinilbenzoquinona **19**, etc, y aunque es solo una parte de la estructura de estos compuestos, la quinona es fundamental para llevar a cabo la actividad citotóxica.²⁷ La citotoxicidad de las quinonas se ha atribuido a la generación de radicales libres y especies de oxígeno activo tales como semiquinonas, radicales superóxido, peróxido de hidrógeno, y los radicales hidroxilo formados por reacciones de oxidación-reducción de la quinona. Por su parte, se ha sugerido que la actividad de los agentes antitumorales que se unen al ADN por intercalación o por alquilación puede mejorarse al añadir el grupo quinona.²⁸

²⁵ Heffner J., Raber J, Moe O., Wigal C., *J. Chem. Ed.* **1998**, 75, 365-367.

²⁶ Filosa R., Peduto A., Aparoy P., Schaible A., Luderer S., Krauth V., Petronzi C., Massa A., Rosa M., Reddanna P., Werz O., *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 269-279.

²⁷ Begleiter A., Blair G., *Cancer Res.* **1984**, 44, 78-82.

²⁸ Tudor G., Gutierrez P., Gutierrez A., Sausville E., *Biochem. Pharmacol.*, **2003**, 65, 1061–1075.

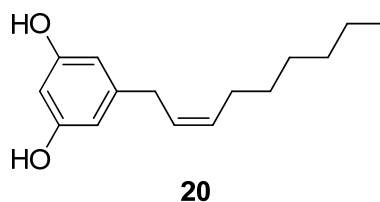


Otros ejemplos de quinonas de interés son los compuestos **18** y **19** que contienen grupos alquilantes en su estructura. Se ha sugerido que el grupo quinona puede desempeñar un papel en la actividad citotóxica de estos agentes y algunos estudios han demostrado que la actividad de alquilación de **18** es dependiente de la reducción del grupo quinona, por lo que esta puede influir en la actividad de alquilación.

Begleiter y colaboradores demostraron que la presencia de quinonas da como resultado rupturas en la cadena de ADN. La observación de una correlación entre la inducción de las roturas de la cadena y la citotoxicidad producida por la mostaza benzoquinona hidrolizado fue consistente con la participación de quinona-inducida por escisiones de la cadena de ADN en la actividad de los agentes de quinona.²⁹

Por otra parte, el climacostol **20** es una toxina fisiológicamente producida por los *Climacostomum virens*, protozoo ciliado que usa como defensa química contra los depredadores unicelulares y multicelulares.

²⁹ Begleiter A., Leith M., *Cancer Res*, **1990**, 50, 2872-2876.



Los compuestos de este grupo han atraído la atención para su posible uso en la terapia y/o prevención de clases específicas de enfermedades debido a su actividad antimicrobiana, citotóxica, así como actividad genotóxica.

Quassinti y colaboradores llegaron a la conclusión de que **20** puede producir daños en el ADN en presencia de Cu (II), además de una actividad antimicrobiana, antiproliferativa y sus propiedades inductoras de apoptosis se puede explicar debido a su reducción inducida por metales para la obtención de **21** (figura 10), que a su vez, produce especies reactivas del oxígeno; estas cualidades pueden hacer que sea un recurso potencial para uso quimioterapéutico.³⁰

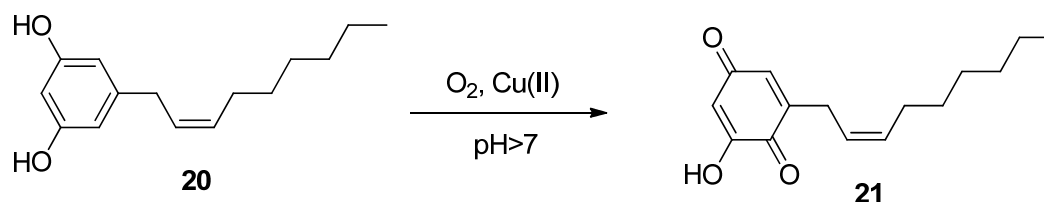


Figura 10. Oxidación de hidroquinona a benzoquinona catalizada con cobre.

Otra diana interesante para el tratamiento del cáncer son las proteínas de choque térmico (HSP), las cuales son un conjunto de proteínas que se activan en respuesta al calor, la privación de nutrientes, condiciones oxidativas, y otros factores de estrés que pueden amenazar la supervivencia de las células.³¹ Particularmente la HSP90 es una chaperona molecular que asegura el correcto plegamiento y función de numerosas proteínas, incluyendo el receptor de andrógenos y cinasas oncogénicas.³²

³⁰ Quassinti L., Ortenzi F., Marcantoni E., Ricciutelli M., Lupidi G., Ortenzi C., Buonanno F., Bramucci M., *Chem. Biol. Interact.* **2013**, 206, 109–116.

³¹ Johnson V., Singh E., Nazarova L., Alexander L., McAlpine S., *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, 10, 1380-1402.

³² Pacey S., Wilson R., Walton M., Eatock M., Hardcastle A., Zetterlund A., Arkenau H., Moreno J., Banerji U., Roels B., Peachey H., Aherne W., Bono J., Raynaud F., Workman P., Judson I., *Clin. Cancer Res.* **2011**, 17, 1561-1570.

Durante la última década estas proteínas se han vuelto un objetivo atractivo para la terapia contra el cáncer, ya que juega un papel importante en el crecimiento celular ayudando a la estabilización de muchas proteínas oncogénicas, dicha hipótesis está apoyada ya que la HSP90 representa el 1-2% de las proteínas en una célula normal no sometida a estrés, mientras que en las células tumorales se encuentran niveles más altos, que pueden comprender tanto como el 4-6% de las proteínas.³³

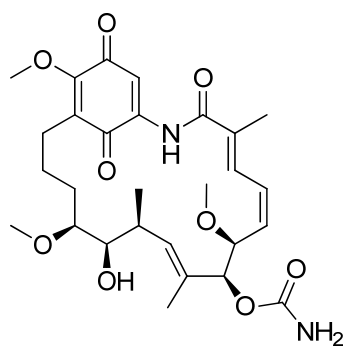
La geldanamicina **22** es un compuesto de origen natural con actividad como antibiótico y antitumoral que contiene en su esqueleto un núcleo de benzoquinona y sus análogos pertenecen a una nueva y potente clase de agentes anticancerosos que inhiben dicha chaperona molecular.³⁴ Este tipo de derivados se unen al sitio activo de ATP de la HSP90, alterando la conformación del complejo de multichaperonas y en consecuencia, el plegamiento y maduración de proteínas HSP90 dependientes son inhibidos, por lo que dichas proteínas son degradadas. En las células cancerosas, los inhibidores de HSP90 como **22**, radicicol **23**, herbimicina A **24**, y 17-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17-AAG) **25**, promueven la degradación de oncoproteínas HSP90-dependiente, llevando eventualmente a la detención del ciclo celular y produciendo muerte celular.³⁵

Por su parte **22** ha mostrado una potente actividad, lograr una inhibición del 50% del crecimiento (IC50) a concentraciones tan bajas como 13 nmol contra las líneas celulares sensibles, también se ha mostrado activa en modelos de tumores de ratón y se ha seleccionado para el desarrollo preclínico como un agente antitumoral.

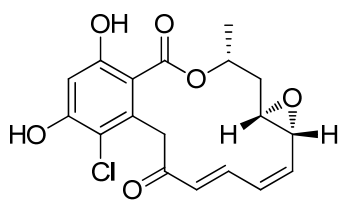
³³ Peng B., Xu L., Cao F., Wei T., Yang C., Uzan G., Zhang D., *Mol. Cancer*. **2010**, 9, 79-92.

³⁴ Stebbins C., Russo A., Schneider C., Rosen N., Hartl U., Pavletich N., *Cell*, **1997**, 89, 239–250.

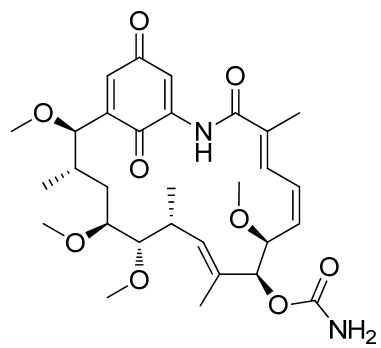
³⁵ Miekus K., Kijowski J., Sekula M., Majka M., *Oncol. Reports*, **2012**, 28, 1903-1909.



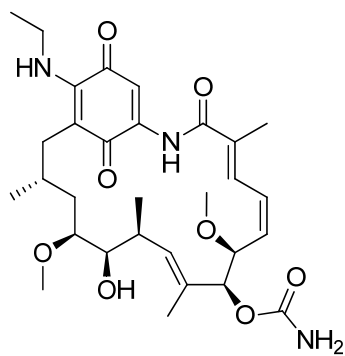
22



23



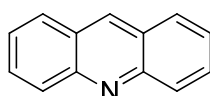
24



25

2.3 La acridina como agente intercalador de ADN.

Se ha demostrado en varios reportes que un farmacóforo plano, tal como un anillo tricíclico o tetracíclico, es un elemento estructural fundamental para la intercalación de ADN.⁹ La acridina **26** es un potente farmacóforo fluorescente de intercalación que interacciona entre pares de bases de ADN debido a la planaridad de su estructura. Su importancia se debe a que comúnmente se emplean en las síntesis de fármacos antitumorales que tienen como objetivo el ADN. Por otra parte algunos derivados de **26** son capaces de inhibir las enzimas topoisomerasa I y II, hacer un daño en el ADN, alterar la reparación del ADN y la replicación, e inducir la muerte celular.³⁶



26

La actividad de **26** contra el cáncer se debe a su capacidad para intercalarse en el ADN entre los pares de bases vecinos (figura 11), normalmente en un plano perpendicular al eje de la hélice y perturbar los procesos celulares. También se ha reportado su actividad como antipalúdico, antiviral, antibacteriano, antitumoral, antiprotozoario y agentes antituberculosos.^{37,38}

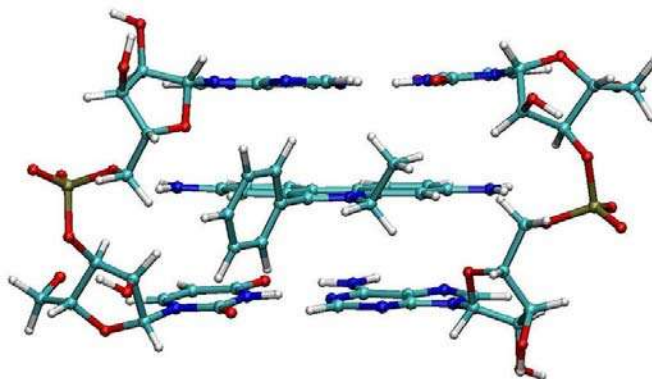


Figura 11. Forma en la que un derivado de 26 se intercala entre los pares de bases del DNA.

³⁶ Janovec L., Kozurkova M., Sabolova D., Ungvarsky J., Paulikova H, Plšikova J., Vantova Z., Imrich J., *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 1790–1801.

³⁷ Rogness, D., Larock, R., *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2289-2295.

³⁸ Lerman, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1963**, *49*, 94–102.

Se ha sintetizado una gran variedad de derivados de **26** principalmente sustituidos en posición 4 y 9 (figura 12). Actualmente son de los compuestos quimioterapéuticos intercaladores de ADN más estudiados por su actividad antitumoral y que se comercializan desde hace mucho tiempo.⁸

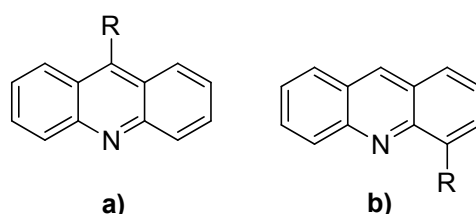
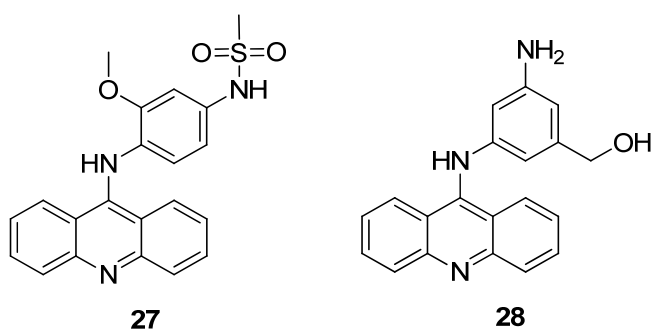


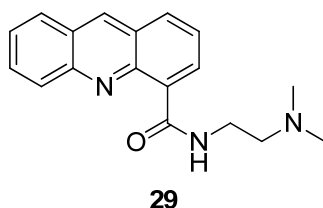
Figura 12. Derivados de 26 sustituido en a) posición 9. b) posición 4.

En particular, la primera droga sintética aprobada para su uso clínico en 1976 para el tratamiento de la leucemia aguda fue la 9-anilinoacridina derivada de la *m*-Amascrina **27** también conocida como *m*-AMSA.⁸ Debido a que posee una vida media corta en sangre fresca de ratón a 37 °C se diseñaron diversos análogos, tales como *N*-(9)-metil-3-(9-acridinilamino)-5-hidroximetilanilina (AHMA) **28**, para probar su actividad contra el cáncer y hasta el momento, la mayor parte de los derivados de **27** son 9-anilinoacridinas.⁹

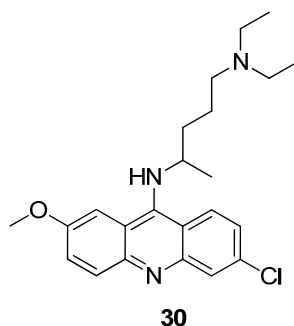


Por otra parte, existe una serie de derivados de acridina que carecen del grupo anilino de la cadena lateral de **27**, pero que contiene una cadena lateral en la posición 4 y que han presentado una excelente actividad contra el carcinoma pulmonar de Lewis. Uno de estos compuestos, *N*-[2-(dimetilamino)etil]acridin]-4-carboxamida (DACA) **29** es activo frente a un amplio número de tumores sólidos en animales; también cuenta con actividad

inhibidora contra las enzimas topoisomerasa I y II y es relativamente poco afectada por la MDR mediada por P-glicoproteína.^{39, 40}



Por su parte, la quinacrina **30** es un ejemplo de fármacos que eran usados con un fin farmacológico diferente, ya que originalmente se empleaba para el tratamiento de la malaria y actualmente se encuentra en ensayos clínicos para el tratamiento de la enfermedad de Creutzfeldt -Jakob, cáncer de próstata y el carcinoma avanzado de células renales.¹



³⁹ Finlay, G., Riou, J., & Baguley, B. *Eur. J. Cancer*, **1996**, 32(4), 708-714.

⁴⁰ Gamage S., Spicer A., Rewcastle G., Denny W., *Tetrahedron lett.* **1997**, 38, 699-702.

2.3 Pirrolilquinonas.

Las pirrolilquinonas representan un novedoso grupo de compuestos sintetizados por nuestro grupo de trabajo y diseñados como sensores ópticos (figura 13).^{41,42}

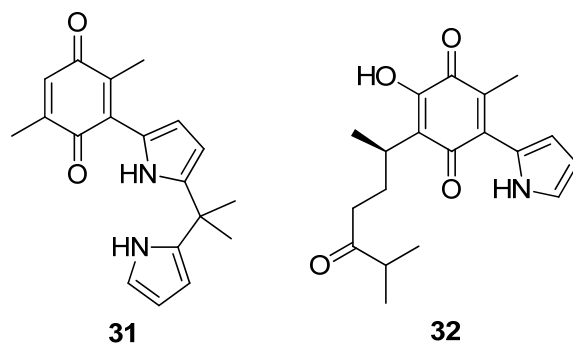


Figura 13. Ejemplos reportados de pirrolilquinonas.

La síntesis de estos compuestos se lleva a cabo mediante la adición de pirrol a la correspondiente quinona (p-benzoquinona o el producto natural perezona) utilizando SiO_2 como soporte. Su alta capacidad reconocedora de aniones llevó a pensar en la deficiencia electrónica del sistema π y se visualizó su capacidad de interactuar con el ADN pues estos compuestos tienen características estructurales para comportarse como intercaladores de ADN atípicos, los cuales han mostrado actividad similar o incluso, en algunos casos, mejor a los intercaladores típicos.^{12,43} Entre las principales características de los intercaladores atípicos se encuentran la presencia de grupos aromáticos o enlaces π , capaces de interactuar y estabilizar los pares de bases de ADN por medio de interacciones π - π .⁴⁴

Tomando en cuenta las características estructurales y fisicoquímicas de las pirrolilquinonas y que la incorporación de acridina y adamantilo, así como grupos que influyan fuertemente en la demanda electrónica del sistema π pueden favorecer la interacción con el ADN, se propone en este trabajo de tesis la síntesis de derivados de

⁴¹ Tapia-Juárez M., González-Campos J., Contreras-Celedón C., Corona D., Cuevas-Yañez E., Chacón-García L., *RSC Adv.*, **2014**, 4, 5660-5665.

⁴² Chacón-García L., Valle-Sánchez M., Contreras-Celedón C., *Lett. Org. Chem.* **2013**, 10, 632-636.

⁴³ Snyder R., *Mut Res.* **2007**, 623, 72-82.

⁴⁴ Fekry M., Szekely J., Dutta S., Breydo L., Zang H., Gates K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 17641-17651.

pirrolilquinonas buscando un intercalador atípico con amplias posibilidades de éxito en el reconocimiento al ADN (figura 14).

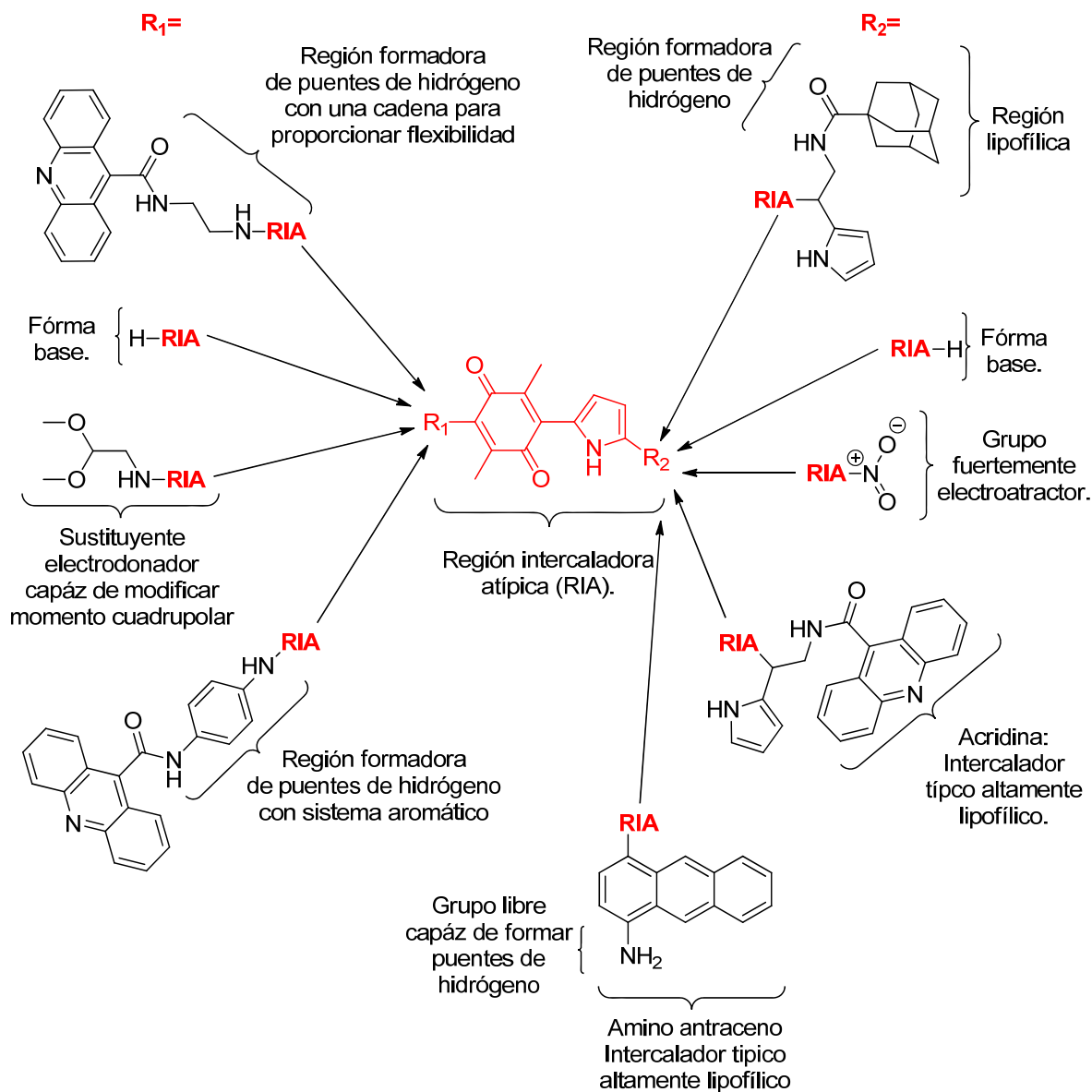


Figura 14. Propuesta de derivados de pirrolil quinonas.

3. Justificación

Debido a que recientemente la neoplasia maligna se ha convertido en una de las principales causas de muerte en el mundo al incrementar el número de incidencia y la resistencia de las células cancerosas a los fármacos, existe una necesidad importante de producir fármacos activos contra el cáncer, los cuales deben de ser más específicos hacia células cancerígenas evitando así efectos secundarios agresivos en los pacientes.

Algunos derivados que contienen en su esqueleto anillos de benzoquinonas se han identificados como potentes inhibidores de la enzima HSP90, la cual se encuentra muy activa en células cancerígenas. Por otra parte, estas células no suelen presentar resistencia hacia los derivados de acridina y considerando que dichos compuestos presentan una buena actividad como intercaladores de DNA, los hace candidatos para la síntesis de nuevos compuestos con actividad citotóxica. Finalmente, debido a las características hidrofóbicas del grupo adamantilo lo hace un buen candidato para facilitar la penetración de la membrana celular, disminuyendo la generación de resistencia.

Lo anterior motivó al planteamiento de la síntesis de nuevos derivados de pirrolil quinona incorporando dichos grupos funcionales a la estructura, facilitando la penetración de la membrana celular y la llegada al sitio de acción, con lo que se espera lograr una potente actividad anticancerígena.

4. Hipótesis.

Los derivados que contengan en su estructura el sistema pirrolil quinona posiblemente serán capaces de formar interacciones supramoleculares por medio de intercalación atípica con el ADN, a su vez, la pirrolil quinona será la estructura principal para la síntesis de novedosos compuestos dicha actividad.

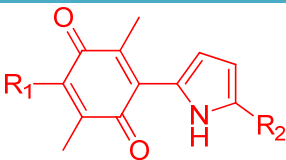
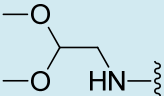
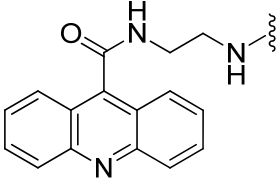
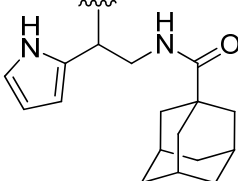
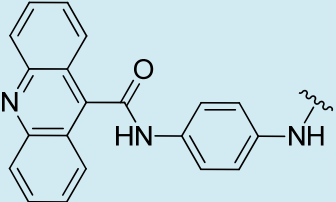
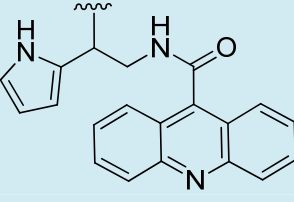
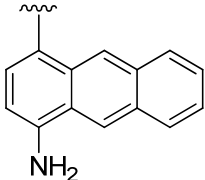
5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Sintetizar compuestos con capacidad intercaladora atípica del DNA derivados de pirrolil quinona.

5.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar nuevos derivados de pirrolil quinonas para su uso como intercaladores atípicos de ADN.

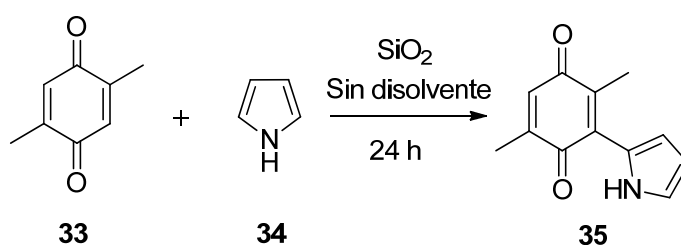
	
$R_1 =$	$R_2 =$
H	H
	NO ₂
	
	
	

2. Realizar un estudio computacional de anclaje molecular (Docking) para evaluar las posibles interacciones de los nuevos derivados con la cadena de ADN.
3. Evaluar la capacidad de reconocimiento del ADN de los compuestos sintetizados mediante espectroscopia de UV-Visible.

6. Resultados y discusión.

6.1 Síntesis de la pirrolil quinona 35.

La pirrolil quinona **35** representa el bloque central de los compuestos a sintetizar, Su obtención ha sido descrita por Chacón y sus colaboradores (esquema 1) y se realiza mediante la reacción de la 3,5-dimetil-1,4-benzoquinona y pirrol en ausencia de disolvente empleando sílica gel como soporte.⁴¹



Esquema 1. Síntesis del compuesto **35**.

La reacción, como inicialmente fue reportada, se lleva a cabo de forma lenta por lo que se inició por modificar algunas de las condiciones con el fin de optimizar rendimiento. Así, se observó que al aumentar tiempo de reacción el rendimiento mejoró aunque no lo suficiente para ser considerado un factor relevante. En ocasiones, las reacciones en estado sólido se pueden ver desfavorecidas por la ausencia de disolvente en el medio disminuyendo la probabilidad de contacto entre reactivos. Dicho fenómeno se puede corregir aumentando los equivalentes de alguno de los reactivos, incrementando así la probabilidad de que los reactivos se encuentren en las condiciones necesarias para formar el enlace. Tomando esta premisa en consideración, como segunda opción se decidió aumentar la cantidad de equivalentes molares de pirrol con el fin de tener un exceso que favoreciera la formación de producto (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación del rendimiento al aumentar los equivalentes de pirrol.

Benzoquinona	Eq de Pirrol	Sílice	Producto	Rendimiento
0.3 g	1	1g	15 mg	3.3%
0.3 g	2	1g	38 mg	8.3%
0.3 g	5	1.5g	70 mg	15.4%
0.3 g	10	1.5g	78 mg	17.1%

Un incremento de 3 a 17 % de rendimiento es considerable pese a que continúa siendo bajo, pero permitiendo que la cantidad de producto obtenida fuera suficiente para la caracterización de dicho compuesto. Cabe señalar que no es raro que en reacciones que involucran derivados de benzoquinonas los rendimientos no superen el 50% debido a que el equilibrio benzoquinona-hidroquinona se lleva a cabo de forma natural en estos compuestos y que la adición de nucleófilos involucra el estado de oxido reducción.

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas para el compuesto **35** de acuerdo a los reportados (figura 15 y 16), apreciándose claramente la señal correspondiente al hidrógeno de la benzoquinona en 6.6 ppm y el sistema ABX correspondiente a los hidrógenos del pirrol monosustituido en posición alfa, por su parte las dos señales correspondientes a los metilos de la benzoquinona y el NH del pirrol a 10.7 ppm.

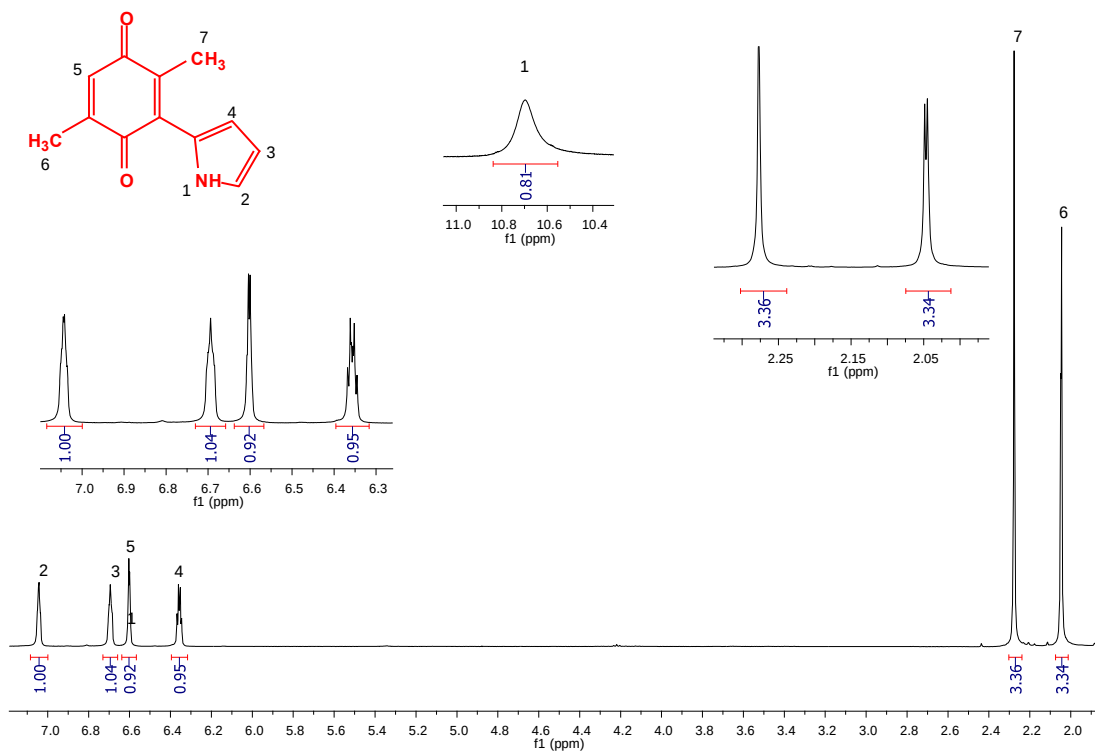


Figura 15. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 35 en CDCl_3 a 400 MHz.

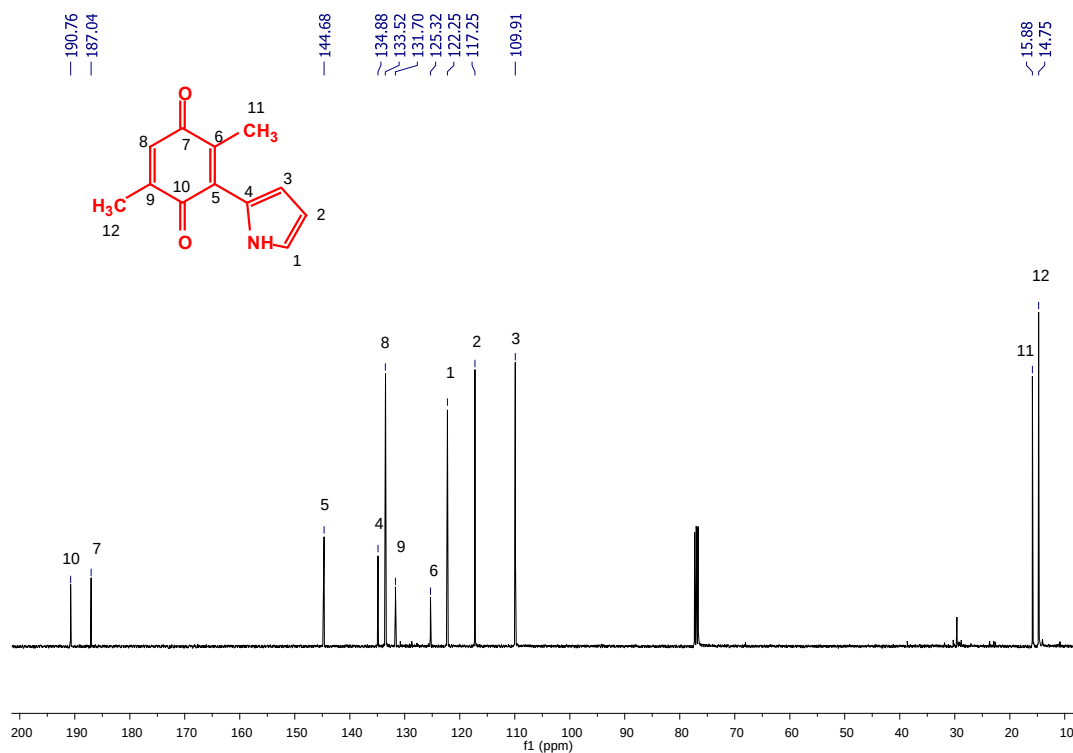
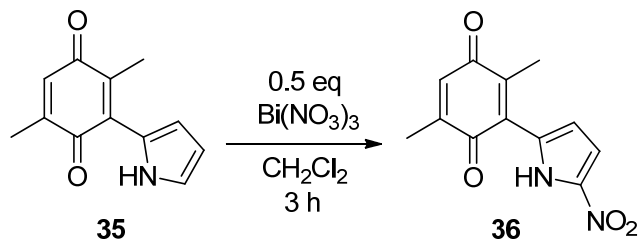


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C para el compuesto 35 en CDCl_3 a 100 MHz.

6.2 Síntesis de la nitropirrolil quinona 36.



Esquema 2. Síntesis del compuesto 36.

Uno de los compuestos de interés para los fines de este trabajo es la incorporación de grupos que afecten la demanda electrónica del sistema pirrolil quinona (esquema 2). Cuando se piensa en un grupo, por ejemplo electroatractor, se viene a la mente de manera inmediata el grupo nitro.

La nitración, como la mayoría de las reacciones de sustitución electrofílica aromática, en heterociclos aromáticos es una metodología ampliamente descrita aunque generalmente en condiciones de reacción fuertes, tales como el uso de HNO₃ fumante, reacciones soportadas en sílica gel, montmorillonita, “fly ash”, además de una fuente de energía como el microondas.^{45,46,47} haciéndolas metodologías poco viables para compuestos lábiles a dichas condiciones.

Dos aspectos importantes saltan a la vista en el compuesto **36**: la reactividad del pirrol que en medios altamente oxidantes llevan a la formación de polímeros y otros productos y la capacidad oxidante de la quinona que puede favorecer la salida del heterociclo. Por estos motivos la nitración se vuelve no tan evidente y se debe cuidar el método a usar si se desea llegar al derivado nitrado en buenos rendimientos. Un método relativamente amigable es el uso de Bi(NO₃)₃ como agente nitrante a temperatura ambiente. El uso de Bi(NO₃)₃ como agente nitrante ha sido empleado en sistemas altamente activados como son los fenoles.⁴⁸ Considerando que en el compuesto **35** está presente el efecto electroatractor de la benzoquinona, se esperaría también la nitración en condiciones suaves con la sal de bismuto en la posición 2 del pirrol.

⁴⁵ Shi M. and Cui S., *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 1197–1202.

⁴⁶ Bose A., Sanjoto W., Villarreal S., Aguilar H., Banik B., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 3945–3947.

⁴⁷ Badgujar D., Talawar M., Asthana S., Mahulikar P., *J. Sci. Ind. Res.* **2008**, 67, 54–57.

⁴⁸ Sun H., Hua R., Yin Y., *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9071–9073.

El mecanismo de esta reacción se puede explicar por la presencia de HNO_3 generado a partir del $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ⁴⁹ y debido al medio oxidante que genera la benzoquinona se produce el ión nitronio, por su parte, se sabe que estos cationes son altamente inestables y por lo tanto sumamente reactivos, lo que explica la rapidez con la que se lleva a cabo la reacción.

Así, la reacción de **35** en presencia de nitrato de bismuto llevó a la formación del derivado nitrado en la posición 2. Se obtuvieron cristales amorfos de color amarillo muy intenso y en el espectro de RMN ^1H se apreció la desaparición del protón correspondiente a la posición alfa al nitrógeno del pirrol y la formación de un sistema AB para los dos hidrógenos restantes, además de un desplazamiento a campo bajo de la señal correspondiente al NH del pirrol (figura 17). La presencia de una estructura dimérica fue descartada por el resultado de la espectrometría de masas de un ión molecular de 246 m/z, que corresponde al compuesto **36** y de un patrón de fragmentación característico para compuestos nitrados, perdiendo muy posiblemente en primera instancia un OH y dejando un ión de 229, seguido de la pérdida de el segundo OH con una masa de 212, acompañado de la subsecuente pérdida del N dejando un ión con masa de 200. El espectro de RMN ^{13}C también mostró las señales correspondientes para el compuesto esperado (figura 18).

⁴⁹ Chacón-García L., Contreras-Celedón C., Tapia-Juárez M. *Catalysts*. **2013**, 3, 588-598.

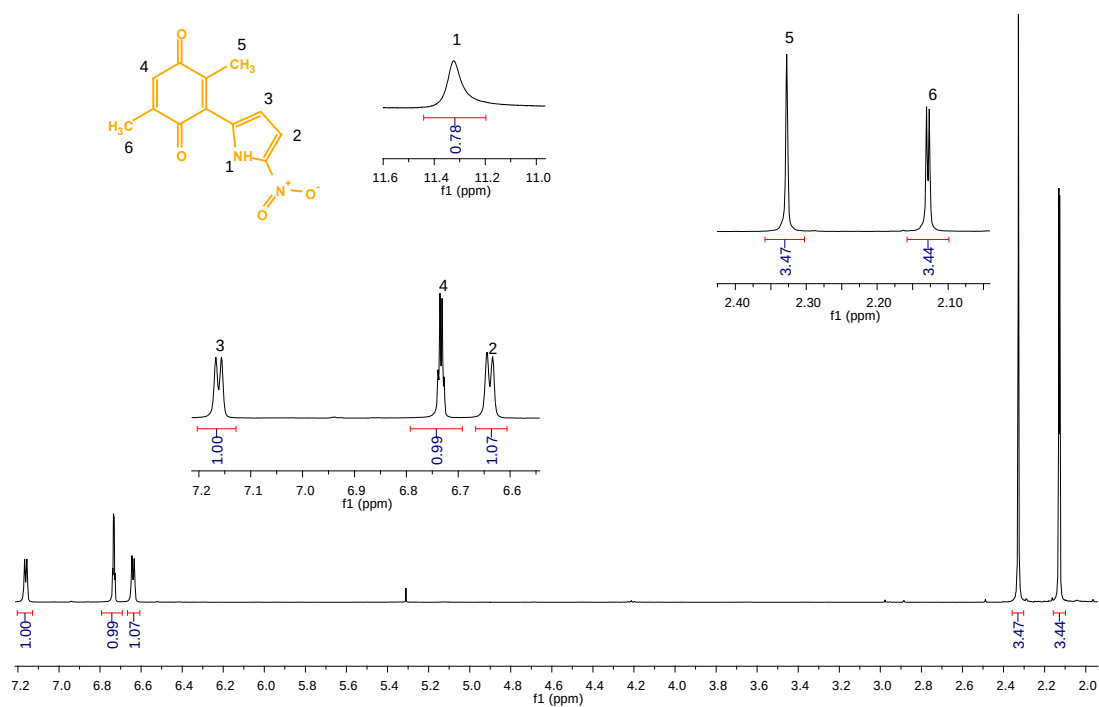


Figura 17. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 36 en CDCl_3 a 400 MHz.

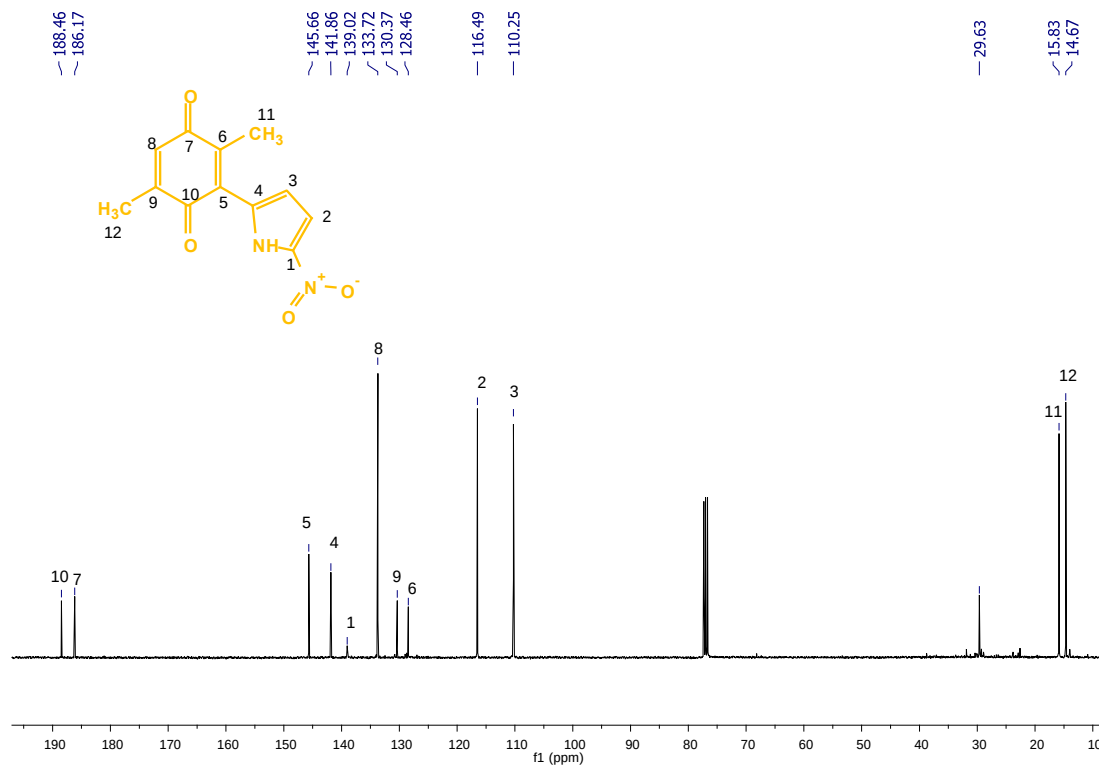


Figura 18. Espectro de RMN ^{13}C para el compuesto 36 en CDCl_3 a 100 MHz.

Se sabe que los carbonos base de grupo nitrilo en el 2-nitropirrol suelen aparecer en 137 ppm como una señal apenas perceptible,⁵⁰ por lo que en nuestro compuesto, se asignó a la señal que aparece en 139 ppm.

El incremento en la cantidad de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ en el medio de reacción no llevó a un aumento en el rendimiento de producto (tabla 2) Aunque ciertamente con 0.25 eq se recuperó materia prima, mientras que con 0.5 eq no lo hacía; el hecho de que no se obtenga más producto se puede explicar debido al equilibrio benzoquinona-hidroquinona y que en el medio de reacción se generan las condiciones necesarias para que la materia prima se transforme en hidroquinona.

Tabla 2. Comparación de rendimiento obtenido

Eq $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$	Disolvente	Temperatura	Rendimiento
0.25	CH_2Cl_2	25°C	43%
0.5	CH_2Cl_2	25°C	44%

En base a esto, se decidió realizar otro experimento, adicionando ahora DDQ al medio de reacción ya que al ser un agente oxidante más fuerte derivado de las benzoquinonas promovería la formación de su correspondiente hidroquinona y no de la de el compuesto de interés, además también se realizó una comparación empleando la 3,5-dimetil-1,4-benzoquinona **33** en lugar de DDQ para fines de comparación. Se solubilizó el compuesto **33** o DDQ con el $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ en varias proporciones y en agitación se adicionó **35** (tabla 3).

Tabla 3. Comparación de rendimiento con diferentes condiciones de reacción

Eq DDQ	Eq 31	Eq $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$	Rendimiento
0	0	0.5	41%
0	0.25	0.5	47%
0.25	0	0.5	52%
1	0	0.5	19%

⁵⁰ E. Lippma and M. Magi, *Org. Magn. Resonance*. **1972**, 4, 153-160.

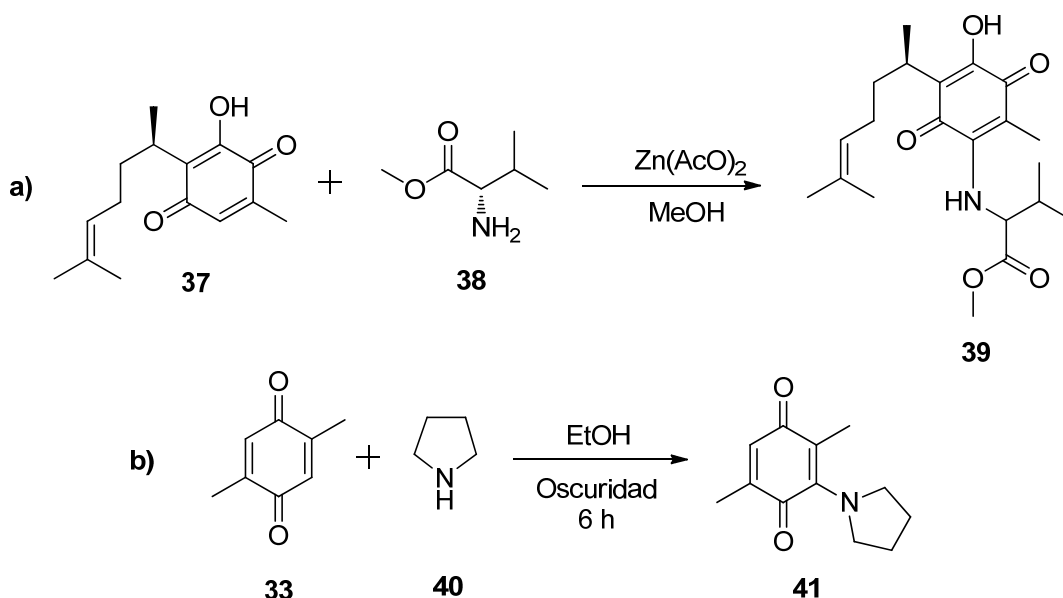
De acuerdo a los resultados obtenidos se puede apreciar que el rendimiento aumenta al adicionar otra benzoquinona al medio de reacción, y que el uso de DDQ beneficia aún más la formación del producto con respecto a la BQ **33** muy posiblemente debido a la diferencia de capacidad oxidante entre ambos. Por su parte, al emplear un equivalente de DDQ el rendimiento disminuye considerablemente generando una mezcla de subproductos de purificación compleja.

6.3 Síntesis de la aminoacetal pirrolil quinona **43**.

Debido a que se conoce que la capacidad reconocedora de aniones de la benzoquinona se atribuye a una interacción de tipo π -anión, la cual se genera por el momento cuadrupolar confiriéndole una densidad de carga positiva en el anillo por la resonancia del sistema α,β -insaturado, y en la búsqueda por modificar dicha propiedad, se decidió adicionar una amina al derivado **35** para poder tener de este modo un grupo electrodonador compensando la deficiencia de electrones en el carbono β del sistema y así poder hacer una comparación entre una benzoquinona libre, una sustituida con un grupo fuertemente electroattractor en el pirrol y una sustituida en la quinona con un grupo electrodonador. Para la obtención de la aminobenzoquinona se llevaron a cabo las metodologías descritas por Lozada y sus colaboradores y por Cameron y colaboradores para sintetizar derivados de la perezona **39** funcionalizados con grupos amino en el anillo de la benzoquinona natural perezona **37** (esquema 3).^{51,52}

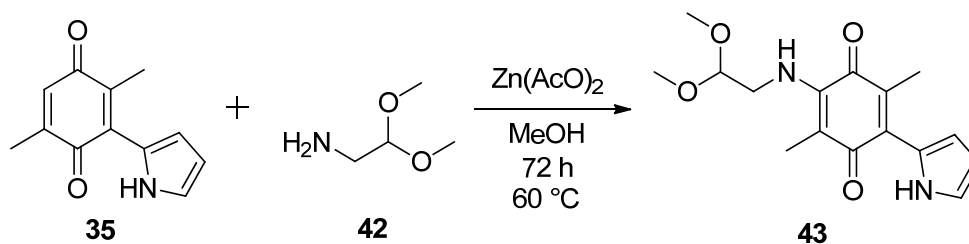
⁵¹ Lozada M., Soria O., Ramírez T., Nieto A., Enríquez R., Izquierdo T., Jiménez A., *Bioor. Med. Chem.* **2012**, 20, 5077-5084.

⁵² Cameron D. W., Giles G. F., *J. Chem. Soc.* **1968**, 1461-1464.



Esquema 3. a) metodología de Lozada. b) metodología de Cameron.

Se sometió entonces a reaccionar **35** con el dimetil acetal del 2-aminoacetaldehído **43** (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis del compuesto 43.

Se decidió iniciar con las condiciones reportadas por Lozada, empleando como catalizador Zn(AcO)_2 , el cual al ser un agente oxidante debería de favorecer el rendimiento de la reacción. Al seguir la reacción por medio de cromatografía en capa fina se puede apreciar la aparición de una banda de color verde más polar que la materia prima, sin embargo, el rendimiento fue de 8%.

Debido al bajo rendimiento logrado decidió optar por experimentar la metodología descrita por el grupo de trabajo de Cameron. Así, en ausencia de luz y empleando etanol como disolvente, se obtuvo un rendimiento del 47% mostrando un incremento

considerable comparado con la metodología anterior. Una vez purificado, el espectro de RMN ^1H mostró las señales esperadas para el compuesto **43** (Figura 19).

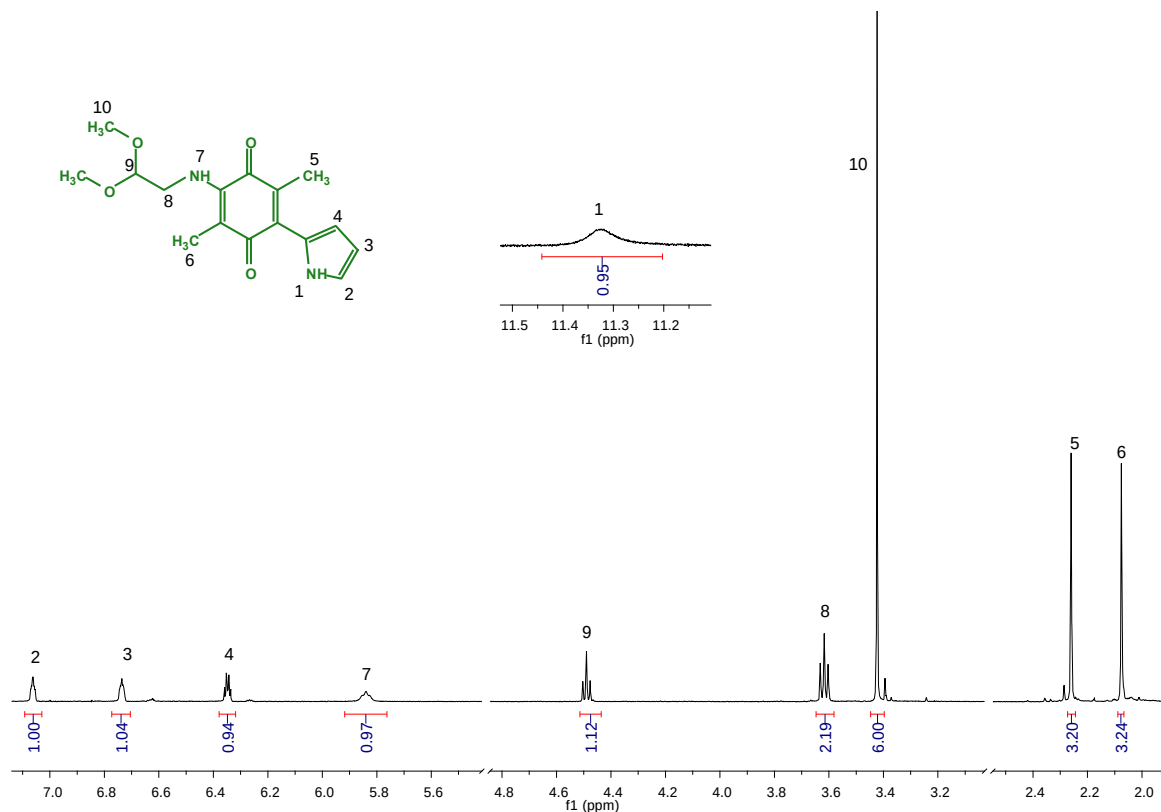
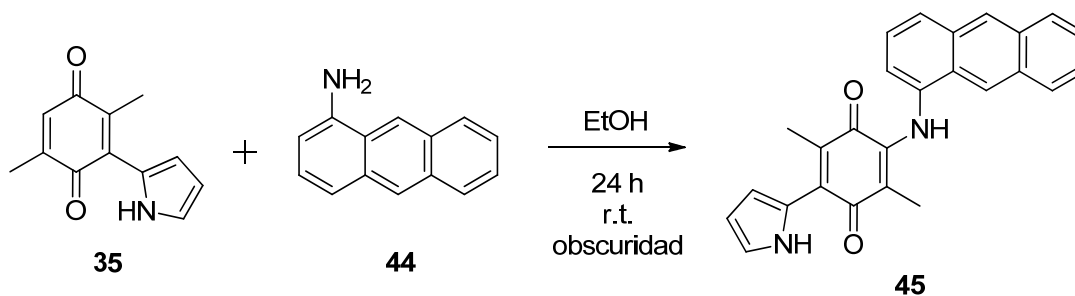


Figura 19. Espectro de RMN ^1H donde se muestran las señales para el compuesto **43 en CDCl_3 a 400 MHz.**

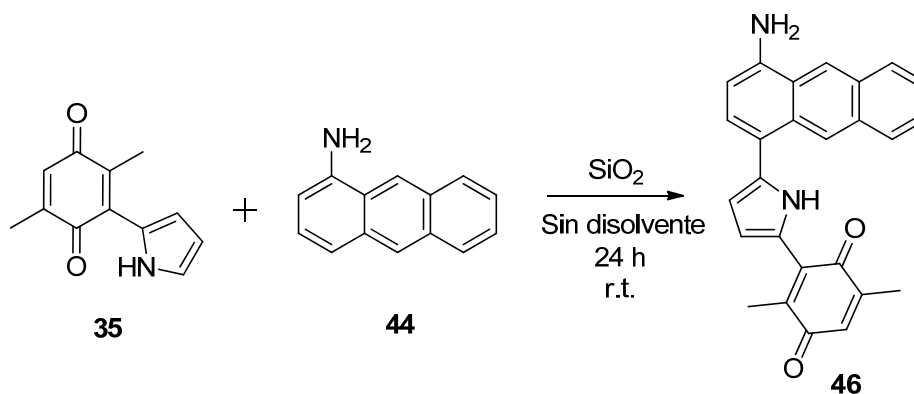
6.4 Síntesis de la amino antracen-pirrolil quinona **46**.

La síntesis de dicho derivado se comenzó siguiendo las condiciones de Cameron con el objetivo de obtener el derivado **46** por medio de una reacción tipo aza-Michael generando un enlace C-N y dejando el antraceno completamente disponible para una posible intercalación en el ADN (esquema 5). El principal producto de reacción fue de trazas de un compuesto que, por TLC, se apreciaba como una banda de color azul-verde intenso más polar que ambas materias primas. Bajo estas condiciones, el bajo rendimiento impidió el aislamiento y la caracterización de dicho derivado.



Esquema 5. Propuesta de síntesis del compuesto 45.

Se optó entonces por cambiar las condiciones de reacción empleando SiO_2 como ácido de Lewis, esperando que este interaccionara con los oxígenos de los carbonilos de la benzoquinona favoreciendo el ataque por parte del NH del amino antraceno. Al seguir por TLC la reacción se apreció nuevamente la banda de color azul-verde intenso con el mismo RF que en la metodología anterior y en una mayor proporción, sin embargo, inesperadamente, el espectro de RMN ^1H mostró las señales correspondientes del producto de adición del pirrol al aminoantraceno, compuesto **46** (esquema 6). En la figura 20 se puede apreciar la señal correspondiente al protón de la benzoquinona en 6.6 ppm, sugiriendo que la adición no se llevó en esa posición; además se observa una señal doble de dobles para el sistema AB del pirrol en 6.7 y 6.9 ppm y dos dobles en 6.8 y 7.4 ppm característico para el sistema aromáticos p-sustituídos, por su parte una señal ancha por 4.5 ppm característica de NH libres que además integra para 2 protones.



Esquema 6. Síntesis del compuesto 46.

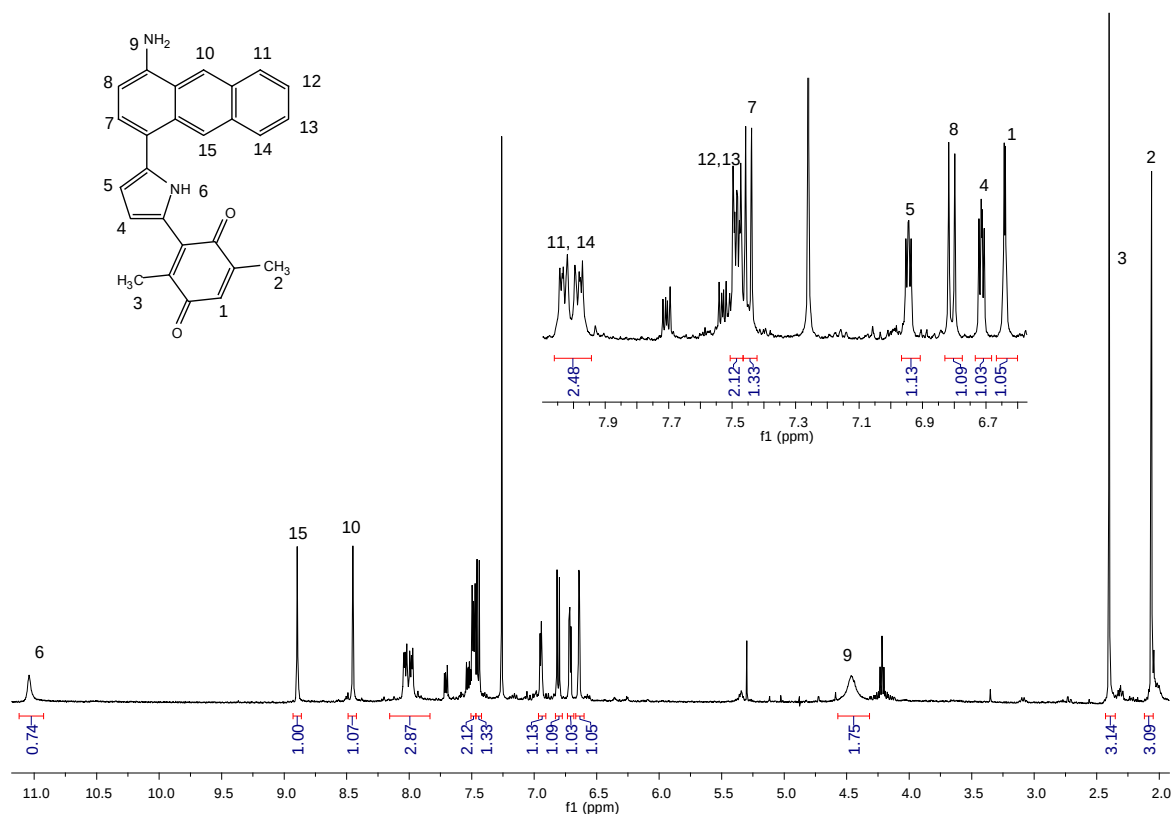
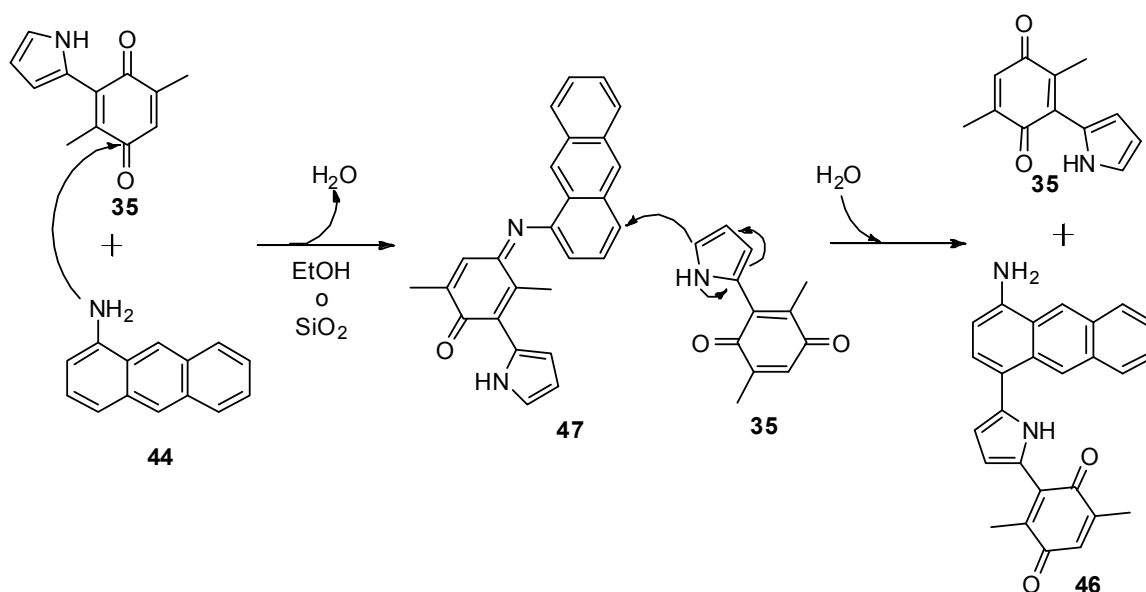


Figura 20. Espectro de RMN ¹H para el compuesto 46 en CDCl₃ a 400 MHz.

Una propuesta mecanística para explicar la formación de este producto es la generación de un intermediario N-antracénil 4-imino-1,4-quinona **47** que se forma como primer paso y está descrita en etanol catalizada por ácidos próticos. Se sabe que este tipo de iminas son especies electrofílicas.⁵³ El efecto electroattractor del grupo imino quinona dejaría entonces la posición 4' del antraceno susceptible a un ataque electrofílico del pirrol para finalmente ser hidrolizada la imina y liberar la pirrolil quinona (esquema 7).

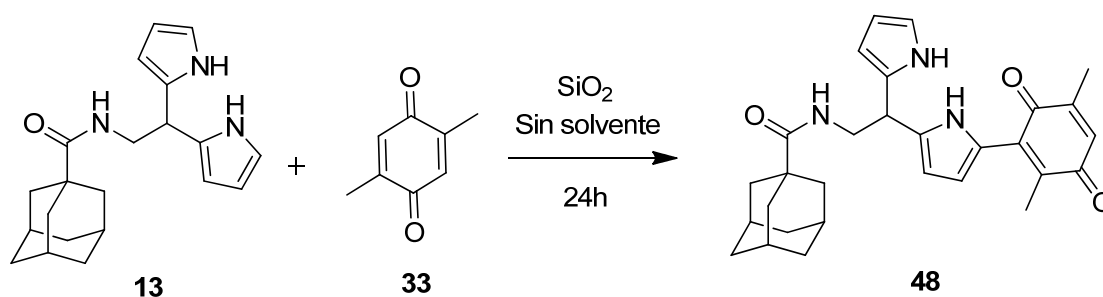
⁵³ Porubek D., Rundgren M., Larsson R., Albano E., Ross D., Nelson S., Moldéus P., Biological Reactive Intermediates III, Volume 197 of the series Advances in Experimental Medicine and Biology, 631-644.



Esquema 7. Mecanismo propuesto para la obtención de 46 vía iminas.

6.5 Síntesis de la adamantil dipirrolil quinona 48.

El compuesto **48** resulta de gran interés por la presencia del grupo adamantilo en su estructura, mismo que le confiere propiedades de liposolubilidad y por consiguiente la capacidad de atravesar barreras lipofílicas en sistemas vivos. La síntesis del compuesto **48** implica la adición del compuesto **13** a la 2,5-dimetil-1,4-benzoquinona **33** mediante la misma metodología usando SiO_2 en fase sólida. A su vez el compuesto se obtuvo mediante la metodología previamente descrita por nuestro grupo de trabajo (esquema 8).



Esquema 8. Síntesis del derivado 48.

La purificación del producto de reacción fue complicada, ya que al emplear cromatografía en columna usando como fase estacionaria sílica gel y con un sistema móvil de Hex:AcOEt 7:3 se observó por RMN ^1H que el producto aparentemente puro era en realidad una mezcla de **13** y **48**, obteniendo el mismo resultado con diferentes

sistemas de elución. Es probable que la mezcla corresponda a una interacción supramolecular entre ambos compuestos. Pensando en lo anterior, se considero que un solvente polar en el sistema de eluyente, rompería tal interacción y permitiría la purificación de ambos. Así, utilizando CHCl_3 como disolvente apolar en lugar de hexano; en cromatografía en capa fina con una proporción 7:3 CHCl_3 :AcOEt se apreció la separación de las bandas correspondientes a la materia prima y producto. Sin embargo, al intentar purificar en columna cromatográfica se apreció descomposición considerable de producto por lo que se intento y logró entonces la purificación por placa preparativa. El espectro de RMN ^1H mostró las señales esperadas para el compuesto **48** (figura 21). Se puede apreciar el conjunto de señales típicas para los derivados de dipirrolilbenzoquinonas, además de las señales correspondientes a las demás señales de la estructura, cabe mencionar que se aprecia el desplazamiento hacia campo bajo de una señal correspondiente al NH del pirrol unido a la benzoquinona, ya que puede formar un puente de hidrógeno intramolecular con un oxígeno de la benzoquinona.

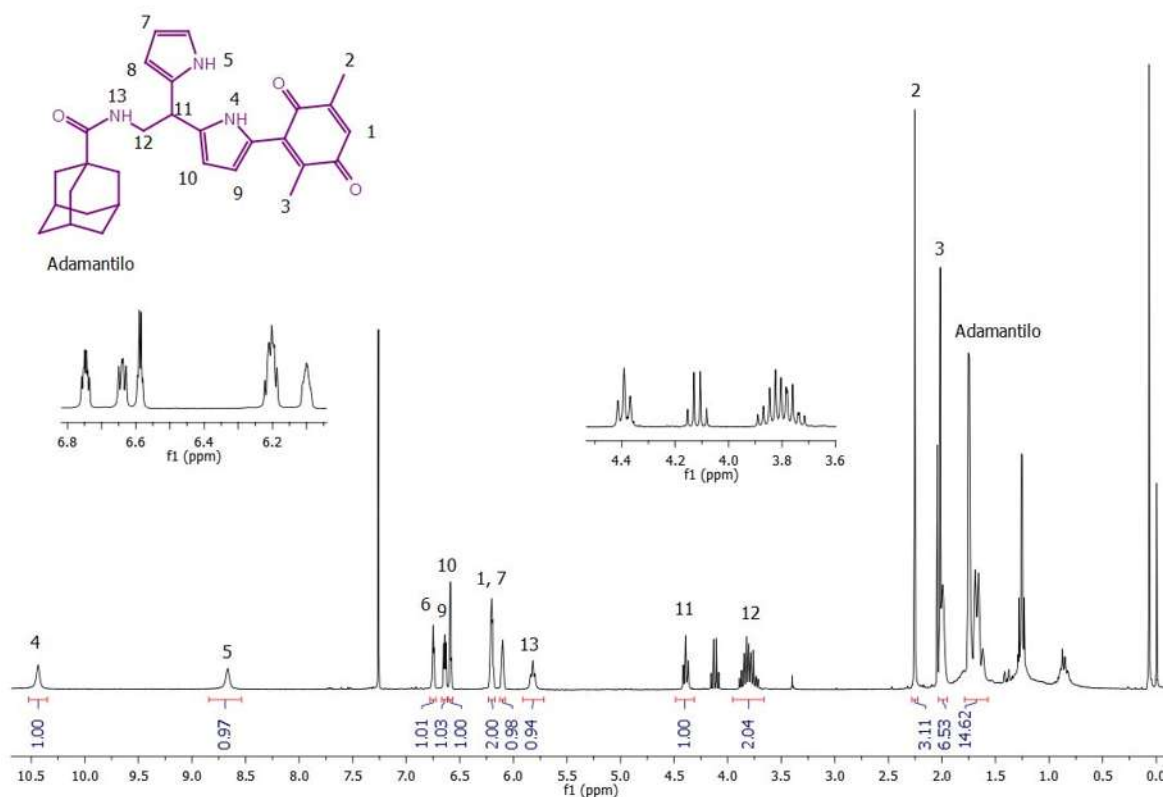
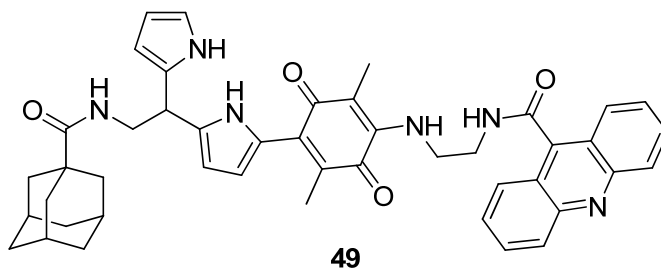
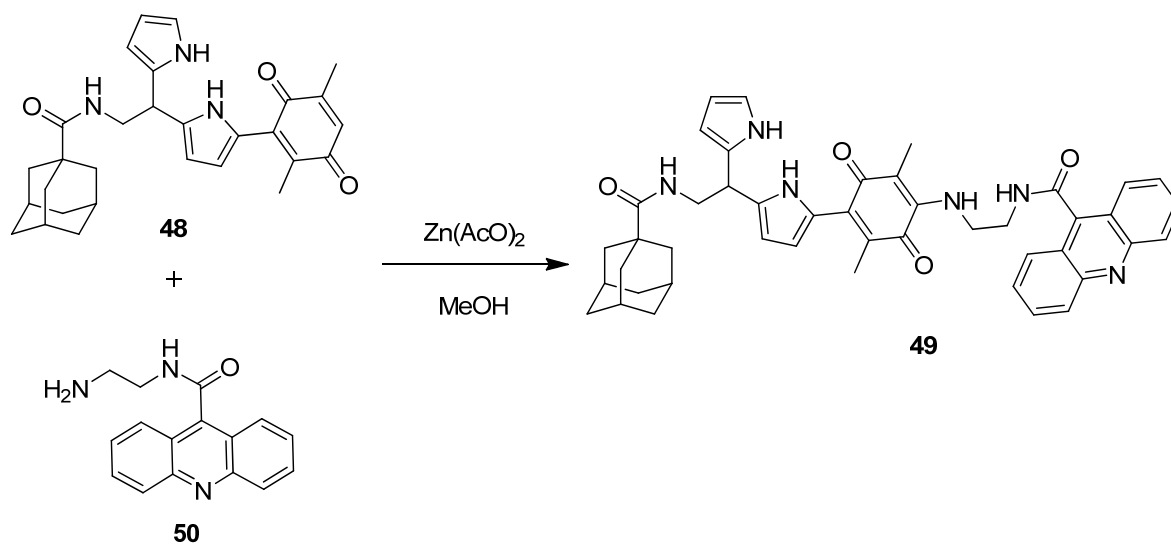


Figura 21. Espectro de RMN ^1H de la pirrolilbenzoquinona **48** en CDCl_3 .

6.6 Síntesis del compuesto 49.



La obtención del compuesto **49**, implica un número mayor de pasos sintéticos y la estrategia se ilustra en el esquema 9.

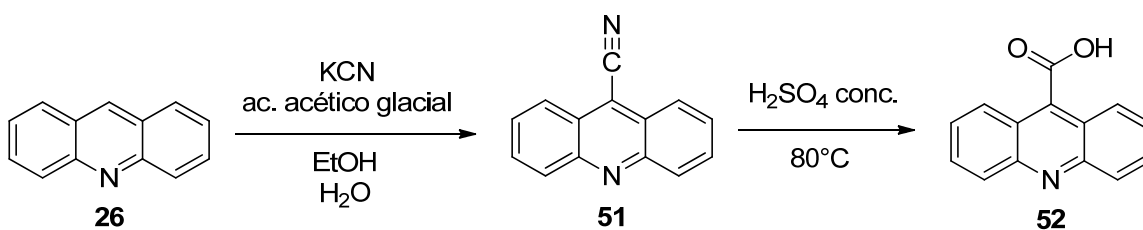


Esquema 9. Propuesta para la síntesis de 49.

Primeramente se llevó a cabo la síntesis del compuesto **52** empleando una metodología descrita por Chiachi y sus colaboradores⁵⁴ en donde el primer paso es una reacción de sustitución nucleofílica aromática empleando como nucleófilo el KCN. Se sabe que en sistemas aromáticos policíclicos, los anillos que se encuentran en el centro del sistema tienen a ser relativamente menos aromáticos a los anillos del extremo del sistema, lo que los hace más susceptibles al ataque por parte de un nucleófilo y en este caso la reacción procede sin ninguna complicación. Una vez obtenido el compuesto **51**, se procedió a una hidrólisis de nitrilo en medio ácido para la obtención de un ácido carboxílico (esquema 10), dicha metodología ha sido ampliamente estudiada y es una

⁵⁴ Chaichi M. J., Hosseini M., Hosseinkhani S., Shampsipur M., *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* **2011**, 30, 89-96.

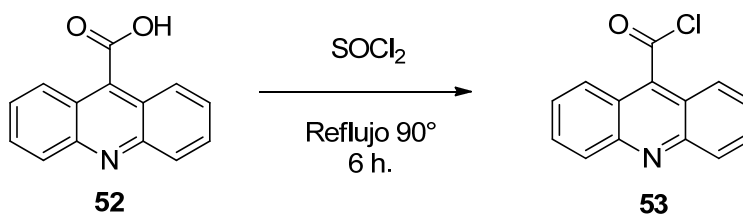
forma relativamente sencilla de obtener ácidos carboxílicos cuando no se tienen grupos lábiles en medios fuertemente ácidos.



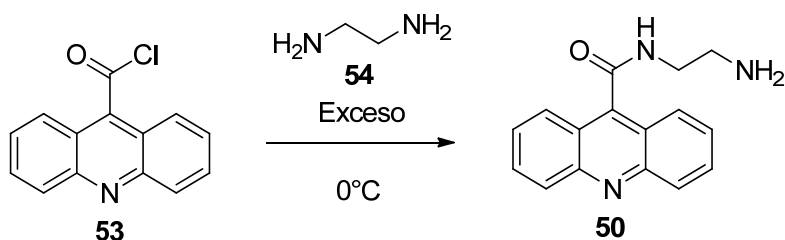
Esquema 10. Síntesis del compuesto **52**.

Para los productos obtenidos no fue necesario ningún tipo de purificación adicional, debido a que el rendimiento para estas reacciones fue bastante alto (50% para **51** y 80% para **52**) y además en los lavados con medio ácido y alcalino retiran las materias primas. No se realizó la caracterización espectroscópica ya que se contaba con compuesto **52** de la presentación comercial, por lo que únicamente se comparó el R_f en TLC.

Una vez contando con el correspondiente ácido carboxílico, se requirió su activación. Una opción sintética, que suele ser la de elección cuando se cuenta con los reactivos apropiados, es la obtención del cloruro de acilo. Los dos reactivos más empleados para esta transformación son el SOCl₂ y el (COCl)₂ (esquema 11), la síntesis del compuesto **53** se llevó a cabo empleando el SOCl₂ y se evitó la purificación de este compuesto por su consabida reactividad particularmente frente a la humedad del medio ambiente.

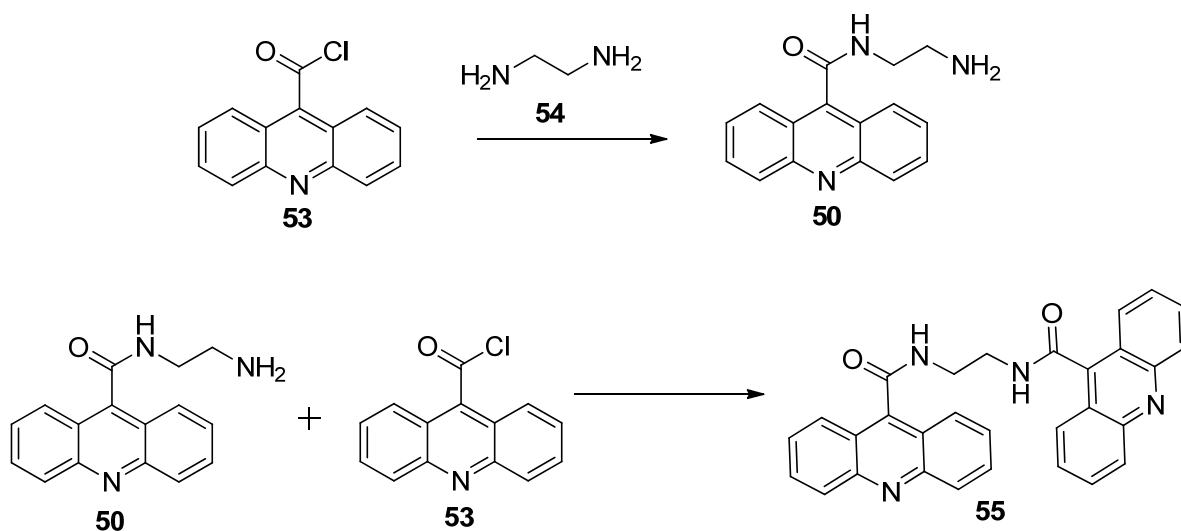


Esquema 11. Síntesis del cloruro acridinóico **53**.



Esquema 12. Obtención del compuesto 50.

La síntesis del compuesto **50** se llevó a cabo mediante una sustitución nucleofílica en el grupo acilo típica reportada por Agiamarnioti y colaboradores (esquema 12)⁵⁵ aprovechando la alta reactividad del cloruro de ácido. Por su parte el rendimiento de esta reacción fue del 55%, esto debido a que ésta reacción puede generar dos tipos de productos (Esquema 13) que son las estructuras dimérica y monomérica, siendo esta última de nuestro interés, pudiéndose dirigir el curso de la reacción mediante un control de la proporción de nucleófilo empleado. Así, un exceso de etilendiamina en el medio, una adición lenta y en pequeñas porciones el cloruro de ácido favorecieron el rendimiento de **50**.



Esquema 13. Formación del dímero de acridina.

El espectro de RMN ¹H mostró la señales correspondientes a **50** (Figura 22) En donde se descarta la estructura dimérica por la presencia de dos metilenos química y magnéticamente no equivalentes en 3 y 3.7 ppm.

⁵⁵ Agiamarnioti K., Triantis T., Dimotikali D., Papadopoulos K. J. *Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2005**, 172, 215-221.

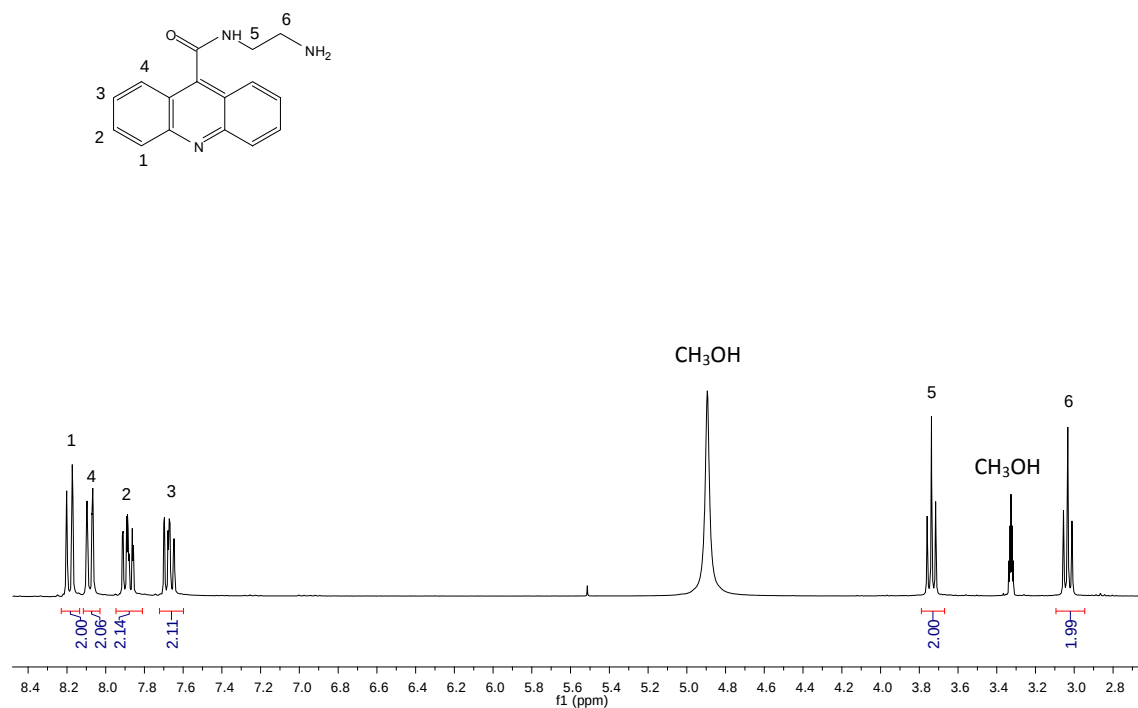
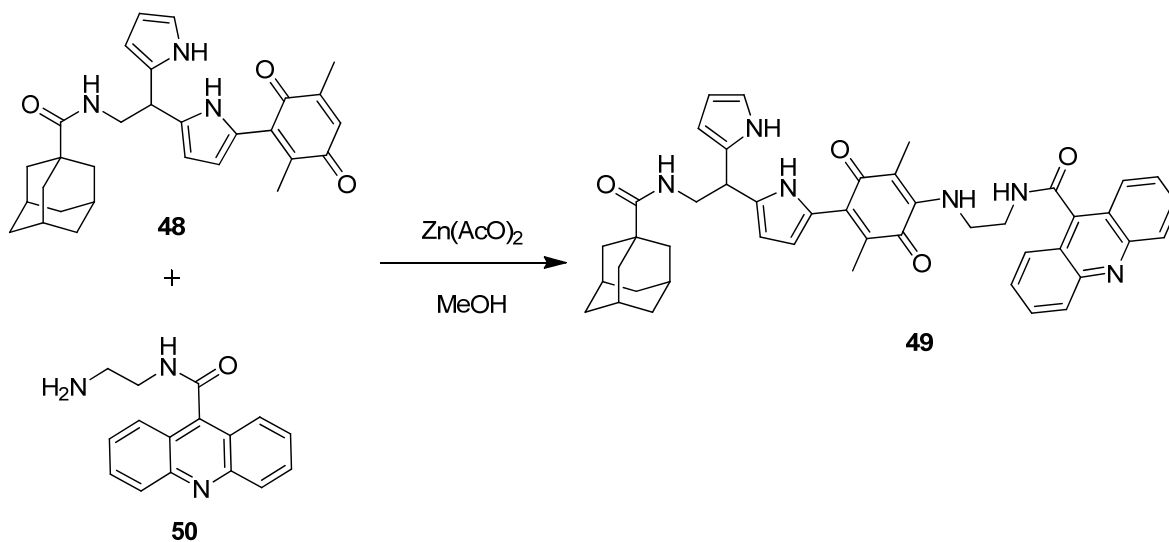


Figura 22. Espectro de RMN ¹H para el compuesto 50 en CD₃OD a 300 MHz

Finalmente, en lo que respecta a la obtención de **49**, restaría someter a reaccionar la quinona **48** con la amina primaria **50** (esquema 9).



Esquema 9. Propuesta para la síntesis de **49**.

La reacción, en principio, no implicaría mayor desafío sintético, sin embargo a pesar de varios intentos siguiendo la metodología descrita por Lozada y Cameron^{51,52} (tabla 4) para adicionar aminas a quinonas, el rendimiento era demasiado bajo por lo que no fue posible la caracterización total el producto deseado, sumando además que resultó ser bastante lábil complicando su purificación aun por cromatografía en placa preparativa. El espectro de RMN ¹H se muestra en la figura 23.

Tabla 4. Comparación de los rendimientos entre la metodología de Lozada y Cameron.

Entrada	Disolvente	Zn(AcO) ₂	Temperatura °C	Tiempo (h)	Rendimiento
1	MeOH	1 eq	40	72	5%
2	MeOH	1 eq	60	72	5%
3	EtOH	0 eq	25	24	10%
4	EtOH	0 eq	0	24	5%

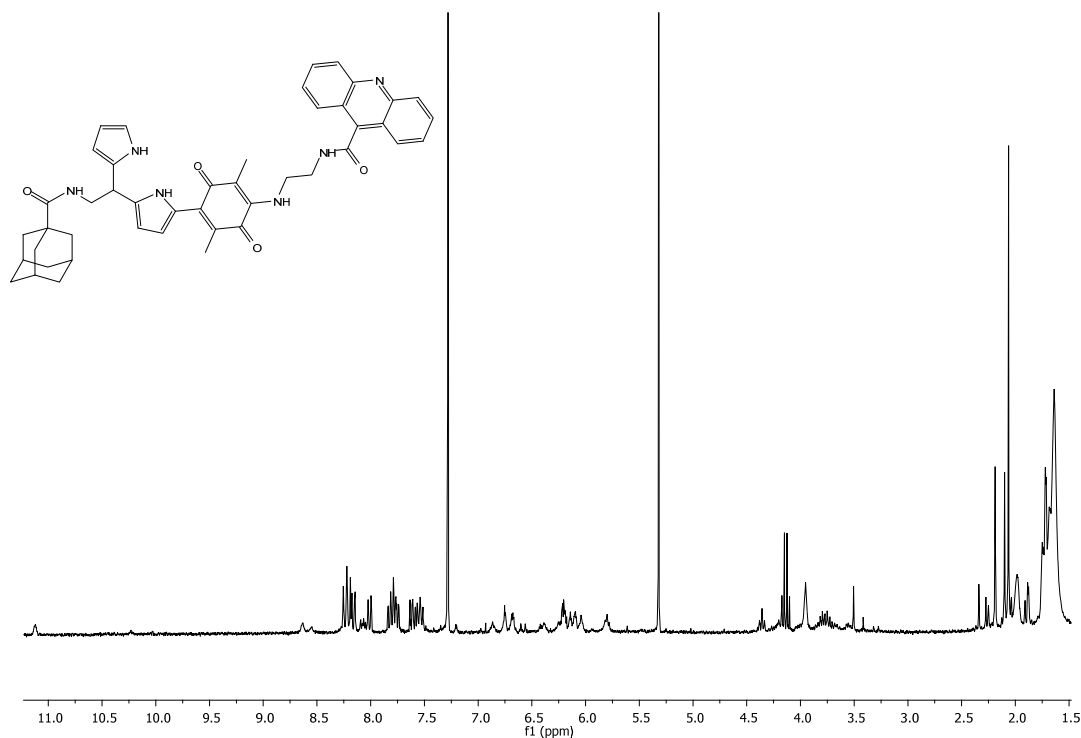
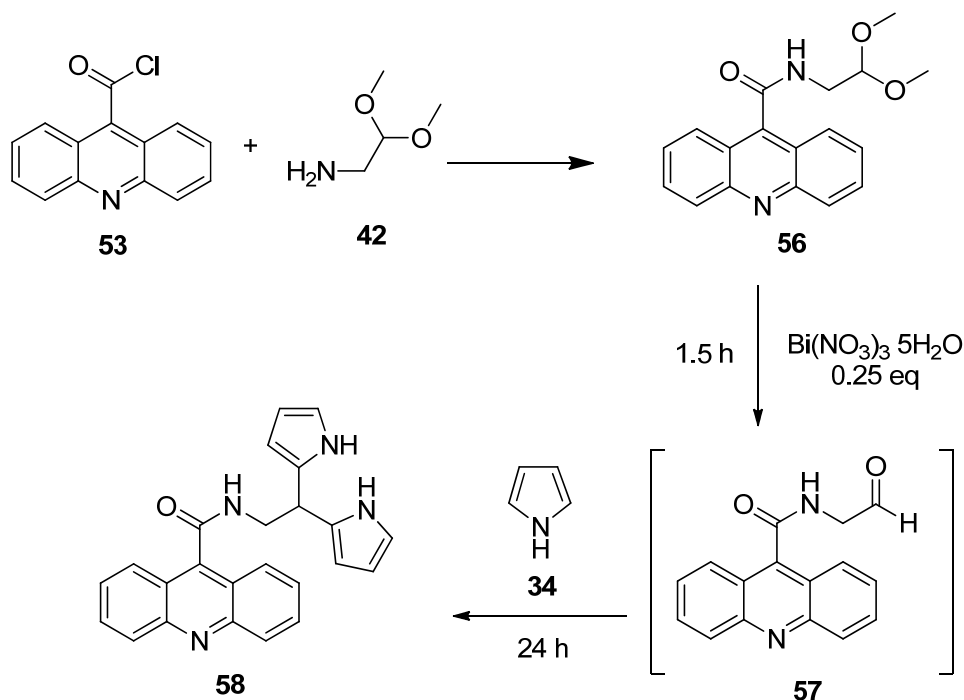


Figura 23. Espectro de RMN ¹H del compuesto 49 en CDCl₃ a 300 MHz

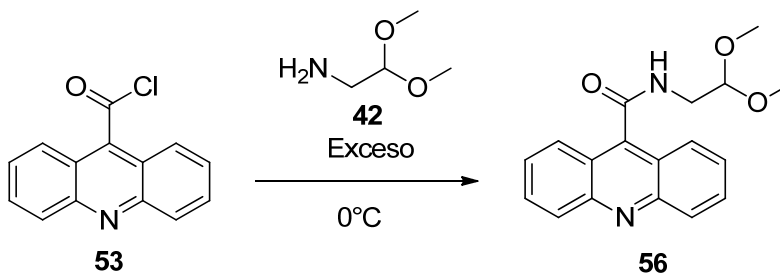
6.7 Síntesis del compuesto 61.

La síntesis del compuesto **58** se planteó bajo la misma estrategia sintética descrita por nuestro grupo de trabajo para la obtención del compuesto **13**.²⁰ Esto es utilizando el 2-aminoacetaldehido dimetil acetal como sintón clave para la formación tanto de la carboxamida como del *meso*-dipirrometano (esquema 14).



Esquema 14. Propuesta para la obtención de 58.

Para la obtención del primer intermediario sintético se llevó a cabo la reacción de condensación del cloruro de ácido de la acridina **53** con el aminoacetal bajo las mismas condiciones utilizadas para obtener **56**.



Esquema 15. Síntesis del compuesto 56.

El compuesto carboxamida **56** se obtuvo con un rendimiento del 70% (esquema 15) y la reacción procede sin ninguna complicación. En el espectro de RMN ^1H (figura 24) se pueden apreciar las señales para el sistema de la acridina, además de una señal triple ancha correspondiente al NH de la carboxamida, una señal triple en 4.7 ppm para el hidrógeno 7, otra señal doble de dobles para el hidrógeno 6 por 3.9 ppm y una señal simple por 3.5 ppm correspondiente a los metoxilos.

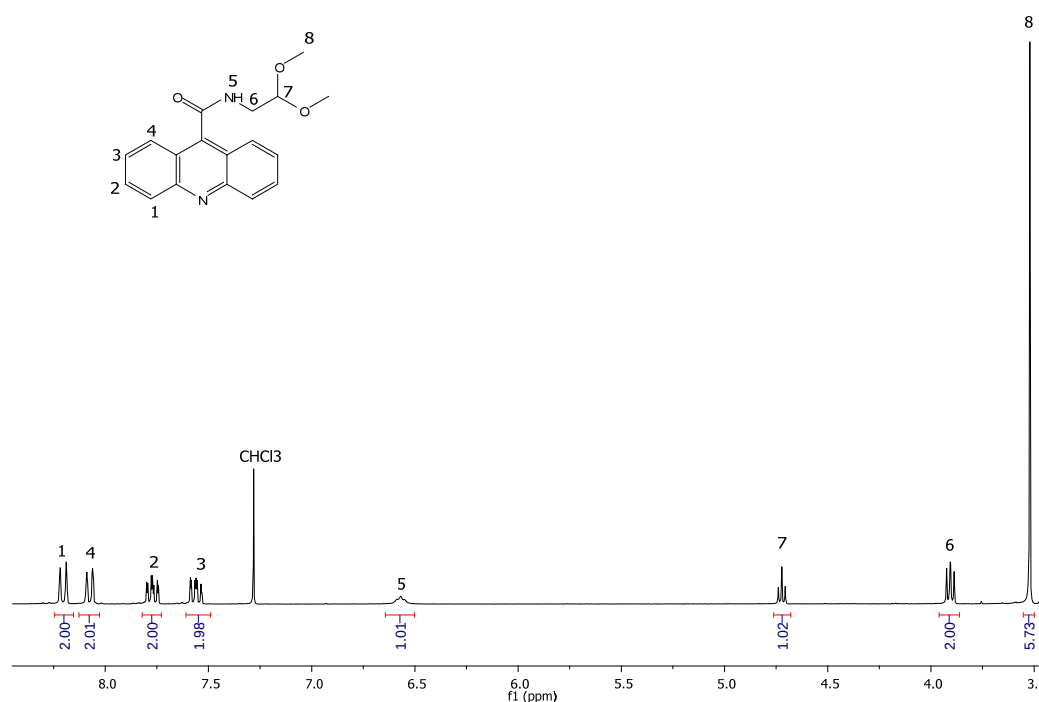


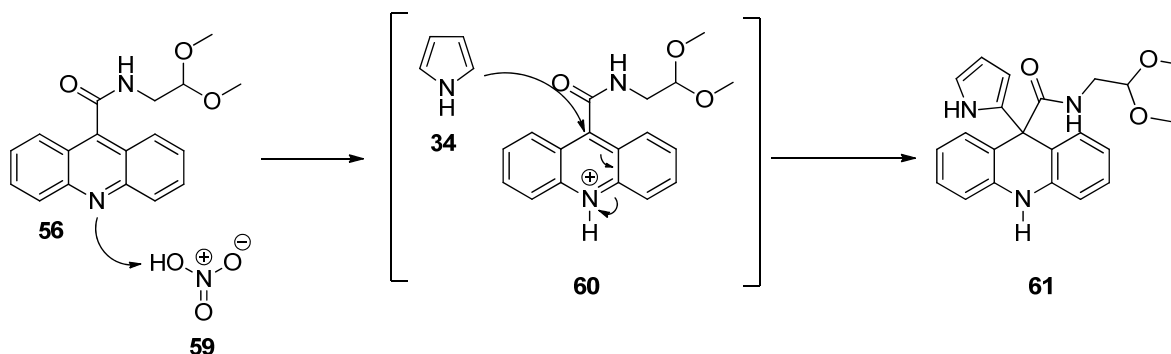
Figura 24. Espectro de RMN ^1H del compuesto **56** en CDCl_3 a 300MHz.

Tomando en cuenta la experiencia adquirida en nuestro grupo de trabajo para obtener dipirrometanos y otros derivados de aldehído a partir del dimetilacetil carboxamida, se consideró llevar a cabo la reacción tratando de aislar el correspondiente aldehído y llevando a cabo la siguiente transformación *in situ*. El inconveniente relativo es que el tiempo de reacción necesario para la desprotección del dimetil acetal por nitrato de bismuto (que es la mejor metodología encontrada experimentalmente para tal fin) es dependiente del tipo de sustituyente de la amida del que forma parte. Por ejemplo, para la

obtención de **13** se determinó que este es de 1.5 h de reacción y para casos como fluoroquinolonas cambia a 20 min de reacción. Para determinar el comportamiento de la carboxamida de la acridina se procedió a monitorear la reacción por TLC empleando como revelador anisaldehído.

El primer intento de aislar el aldehído fracasó como en otros casos; sin embargo, la transformación inmediata una vez aparecido el producto carbonílico, adicionando pirrol, si fue evidente aunque el producto que se obtuvo no fue la adición al aldehído sino la adición al carbono *ipso* de la carboxamida dando lugar al compuesto **61**.

La formación de la pirrolil dihidroacridincarboxamida **61** se puede explicar por el mecanismo propuesto en el esquema 15, en donde como primera instancia se lleva a cabo una reacción ácido base entre el nitrógeno de la acridina y el HNO₃, (liberado por el nitrato de bismuto) dejando susceptible el carbono en la posición 9 para un ataque nucleofílico por parte del pirrol (esquema 16).



Esquema 16. Propuesta de mecanismo para la obtención de 61.

La evidencia espectroscópica fue la que sugirió una sustitución en la posición 9 de la acridina (figura 25) debido a que se puede apreciar el sistema de señales ABX típico para un pirrol sustituido en posición la posición 2, además de que las señales de los

anillos A y C del sistema de la acridina se siguen conservando, (una señal doble de dobles y una doble de triples) desplazadas a campo alto.

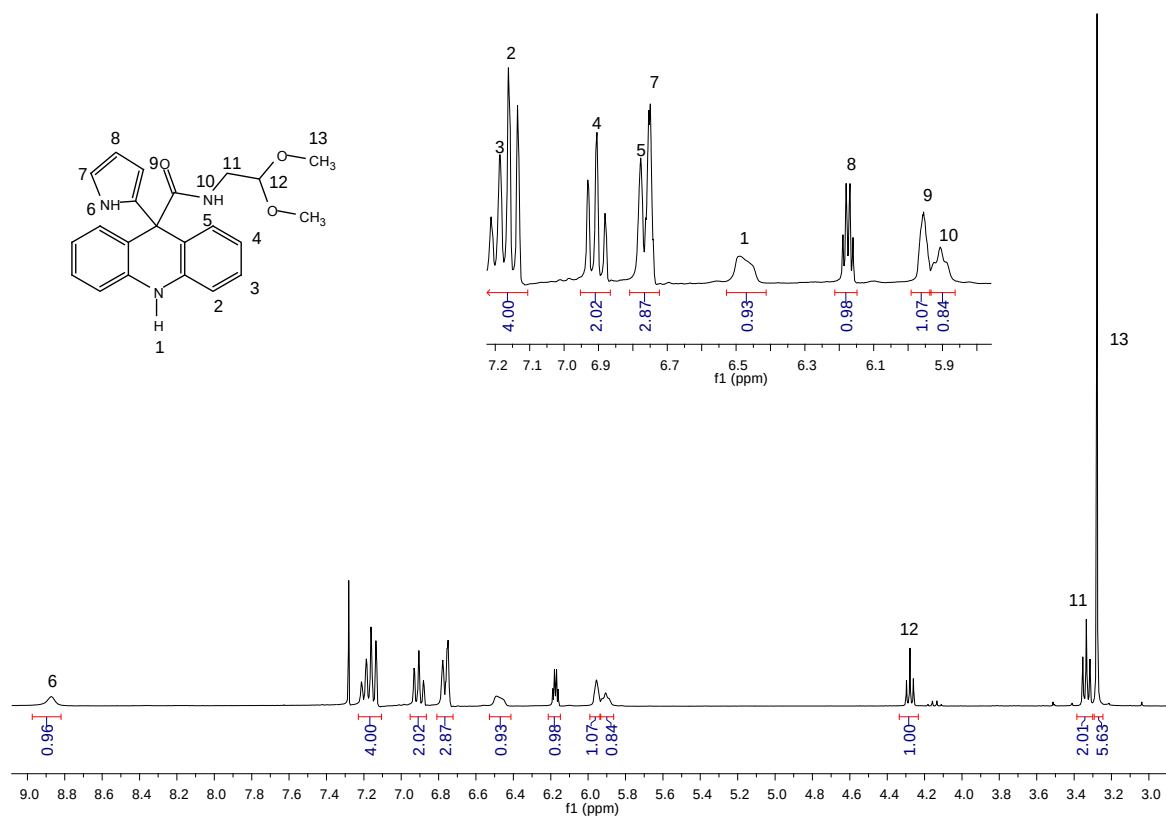


Figura 25. Espectro de RMN ^1H en CDCl_3 a 300 MHz para el compuesto 61.

Por su parte, el espectro de RMN ^{13}C (Figura 26) presenta las señales los bencenos y también las señales correspondientes al sistema del aminoacetaldehído. La señal que corresponde al carbono ipso se encuentra en 77.36 ppm lo cual se confirmó por medio del experimento DEPT (figura 27).

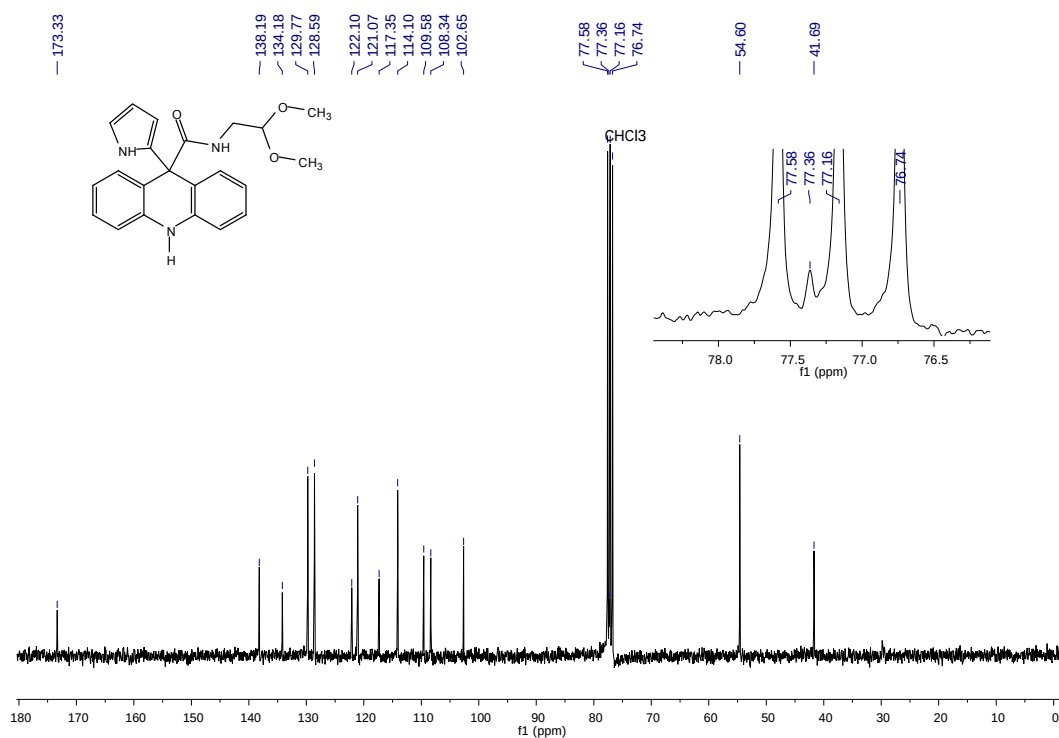


Figura 26. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 61 en CDCl₃ a 75 MHz

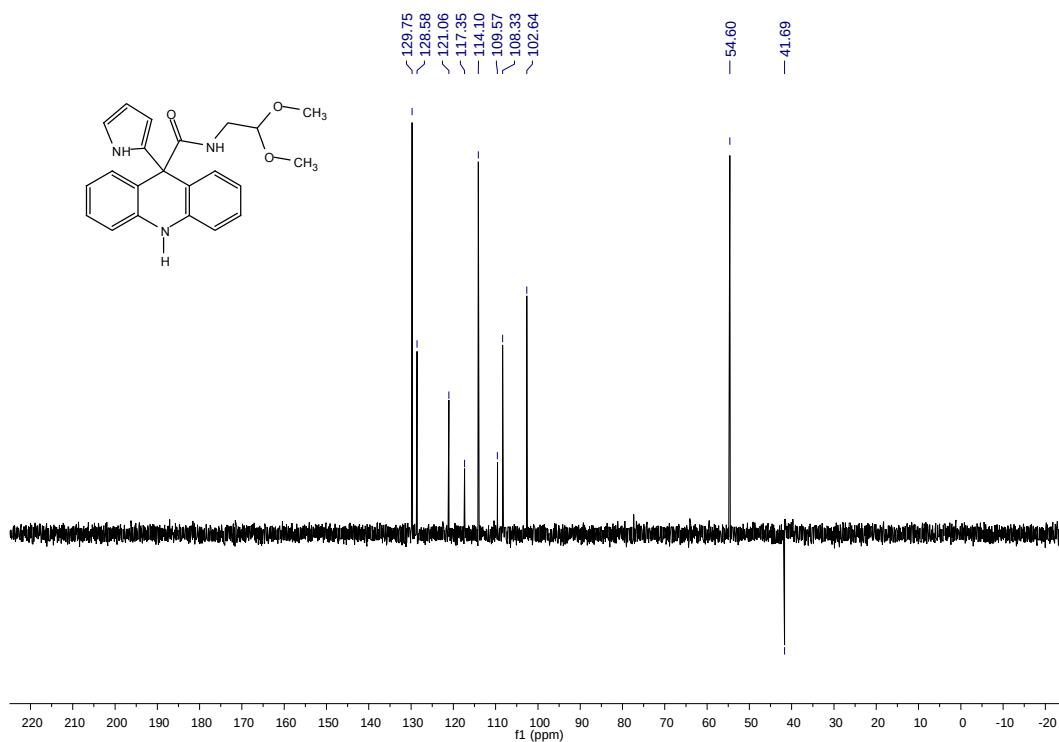
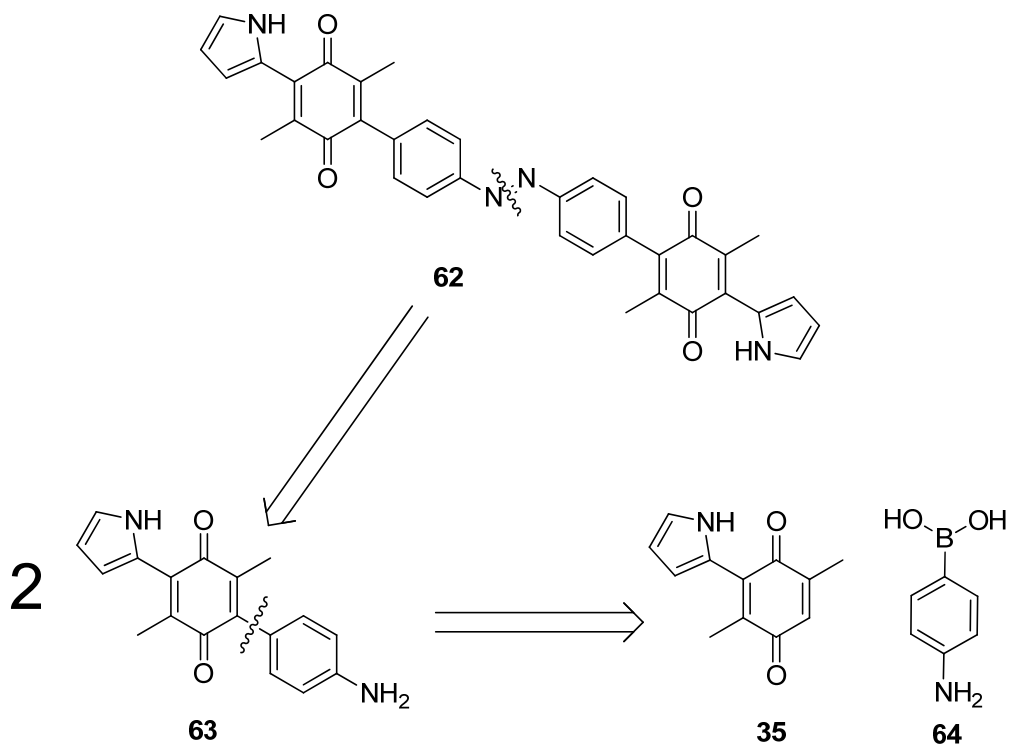


Figura 27. Experimento DEPT en CDCl₃ a 75 MHz para el compuesto 61.

6.8 Síntesis de la tripirrolil quinona 70.

Otro de los compuestos, derivados de pirrolil quinonas, que por poseer tres anillos conjugados no fusionados podría reconocer el ADN es el compuesto **70**. La síntesis de este además puede servir como síntón para la obtención de compuestos de mayor complejidad y útiles en la química de los sensores como sería **62** (esquema 17).

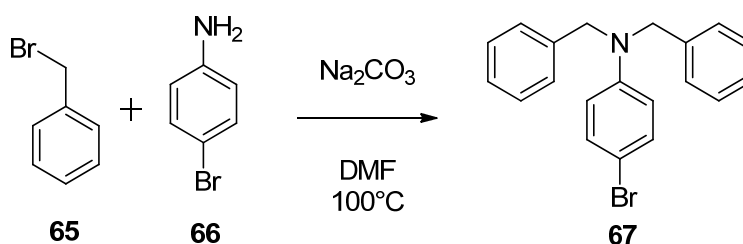
Aunque el compuesto **62** es de relativa simplicidad, la incorporación del grupo fenilo no es del todo obvia si se considera los métodos descritos involucran reacciones de acoplamiento carbono-carbono utilizando ácidos fenil borónicos. El ácido *p*-amino fenil borónico es de entre esta serie de compuestos, complicado en su reactividad por la consabida interacción del boro con las aminas aromáticas. Sin embargo, se planteó como la estrategia más viable y los resultados se describen a continuación.



Esquema 17. Análisis retrosintético para el derivado 62.

Así, el primer paso fue la obtención del ácido *p*-amino fenil borónico que por su costo y en ese momento por no encontrarse en el mercado fue necesaria su síntesis. Como se mencionó, los ácidos borónicos y los grupos amino no son compatibles debido a que pueden reaccionar y formar productos de acoplamiento o complejos de boro con amina,^{56,57} motivo por el que fue importante realizar la protección del grupo amino y una estrategia sencilla para lograrlo es a través de la protección de la amina con bromuro de bencilo. La obtención de la N,N-dibencil-N-*p*-bromofenil amina **67** (esquema 18) se llevó a cabo mediante una reacción de sustitución nucleofílica entre *p*-bromoanilina y bromuro de bencilo en presencia de base mediante el método ya descrito por Sibel y colaboradores.⁵⁸

6.8.1 Síntesis del compuesto 67.



Esquema 18. Síntesis del compuesto 67.

⁵⁶ Antilla J. C., Buchwald S. L., *Org. Lett.* **2001**, 3, 2077-2079.

⁵⁷ James T. D., Sandanayake K. R. A. S., Iguchi R., Shinkai S., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 8982-8987.

⁵⁸ Sibel E. D., Arzu E., Deniz H., Rüstem K., Ridvan S., *Mater. Sci. Eng. C.* **2013**, 33, 824-830.

El espectro de RMN ^1H correspondió al descrito en la literatura y se muestra en la Figura 28.

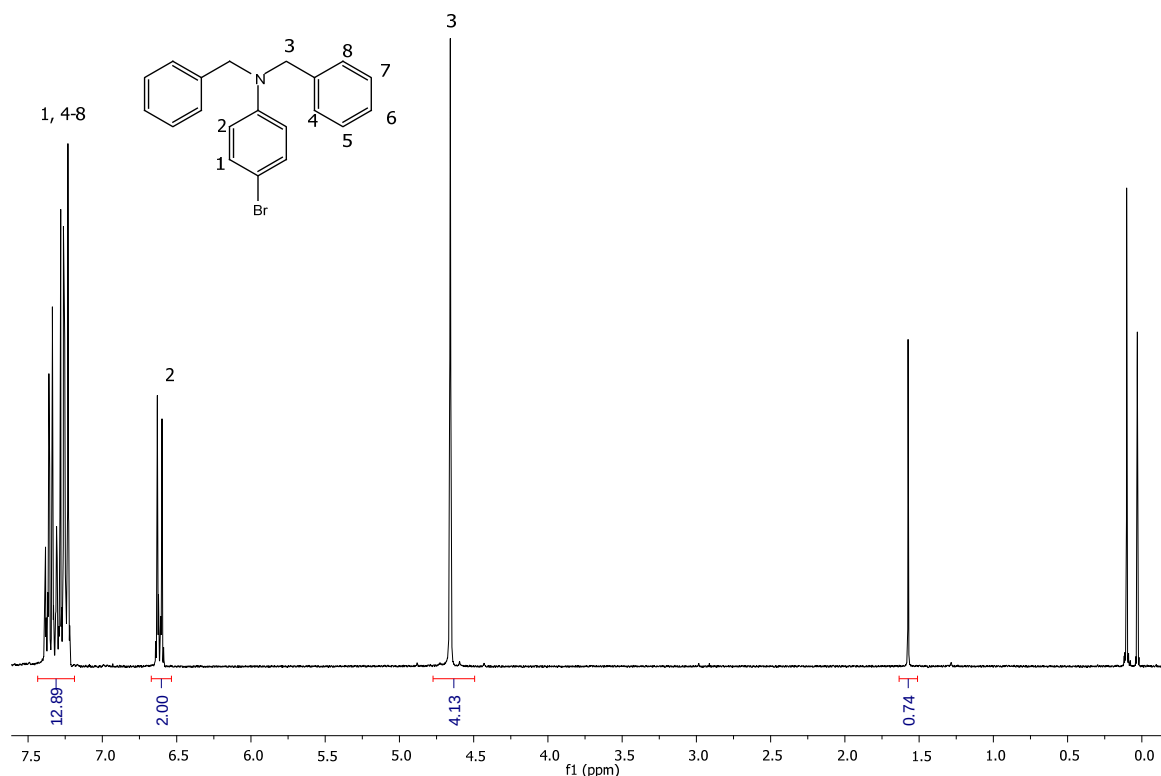
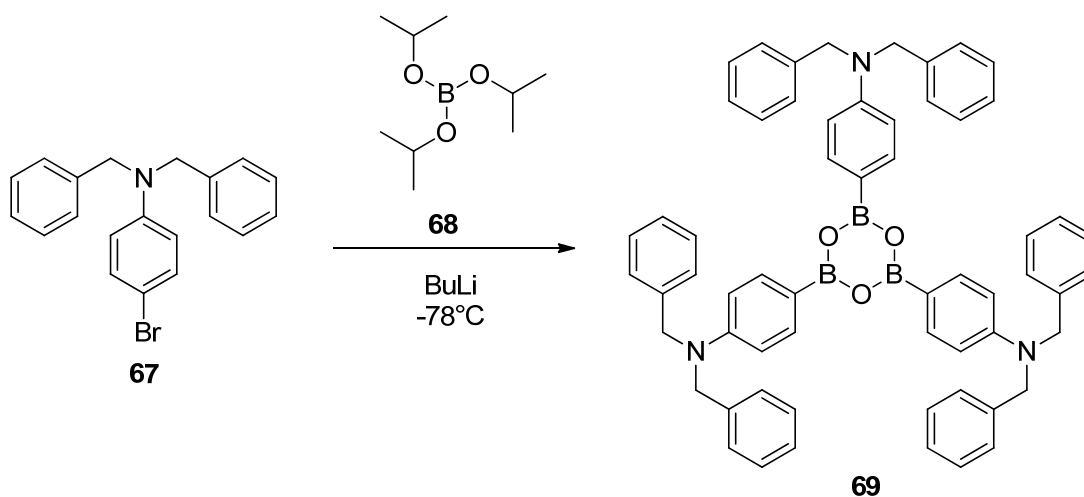


Figura 28. Espectro de RMN ^1H del compuesto 67 en CDCl_3 a 300 MHz

6.8.2 Síntesis de la boroxina 69.

Una vez contando con la 4-bromo anilina protegida se sintetizó el correspondiente ácido borónico. Se han descrito numerosas metodologías para la obtención de estos compuesto, aunque la forma más común es la reacción de compuestos organometálicos conformados por litio o magnesio con esteres de boro.⁵⁹ En este caso se realiza la síntesis generando primeramente el derivado organolítico por medio de un intercambio Br-Li usando Butil litio, seguido por la adición del triisopropil borato para la formación de la boroxina **69** (esquema 19). Debido a la poca solubilidad que presenta fue complicado obtener espectroscopia de RMN.

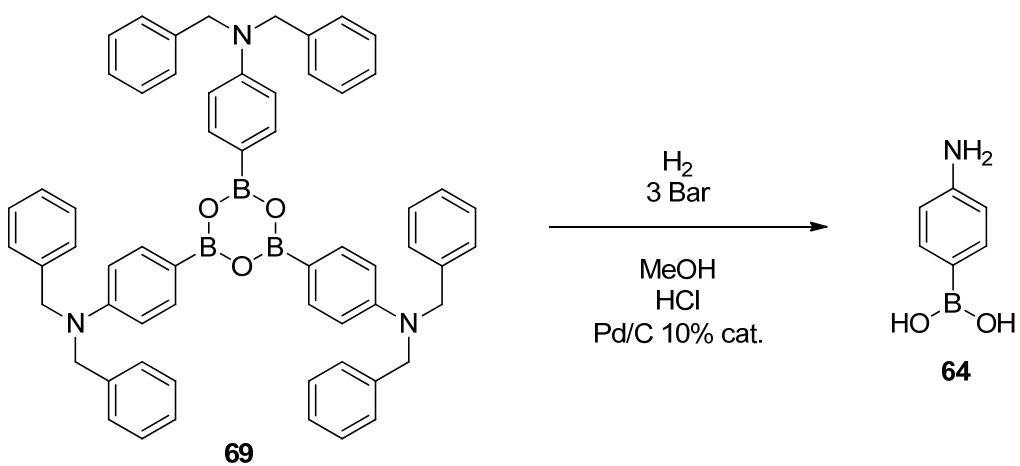
⁵⁹ Kristensen J. L., Lysén M., Vedso P., Begtrup M., *Org. lett.*, **2001**, 3, 1435-1437.



Esquema 19. Obtención de la boroxina 69.

6.8.3 Síntesis de ácido p-aminofenil borónico 64

El paso final fue la hidrólisis de la boroxina⁶⁰ para la liberación del ácido borónico y desprotección de la amina mediante hidrogenación catalítica (esquema 20).



Esquema 20. Síntesis del compuesto 64.

⁶⁰ Wahsbum R. M., Levens E., Albrigh C. F., Bilig F. A., *Org. Synth.* **1963**, 4, 68.

En el espectro de RMN ^1H se puede apreciar las señales dobles de dobles típicas para un sistema aromático *para*-sustituido, además de una señal simple por 5.7 ppm correspondiente a los hidrógenos del ácido borónico así como una señal ancha por 4.3 ppm correspondiente al NH_2 (figura 29).

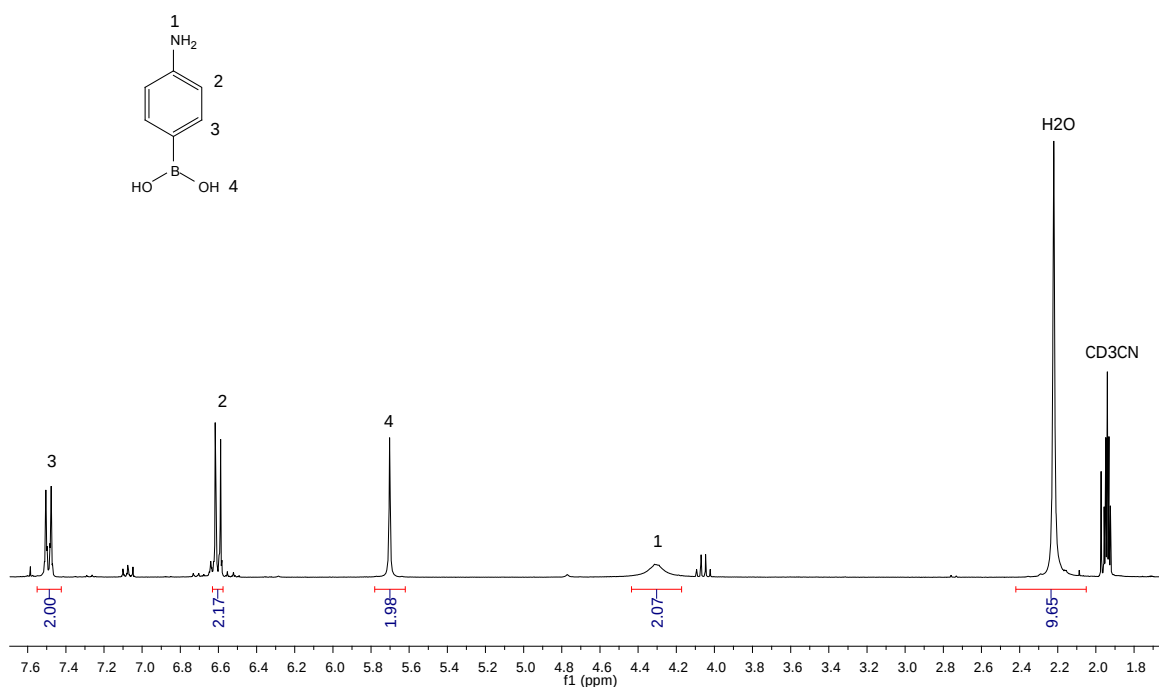
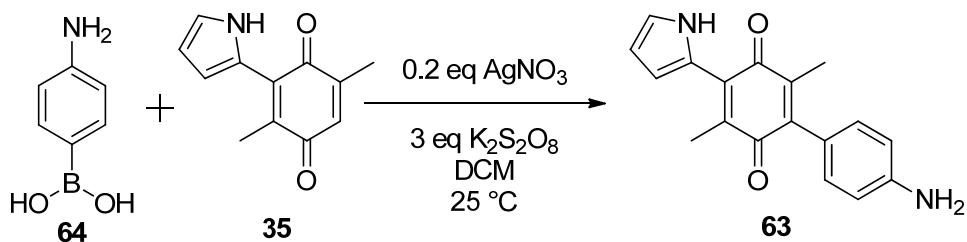


Figura 29. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 64 en CD_3CN a 300 MHz

6.8.4 Síntesis de la tripirrolil quinona 70.

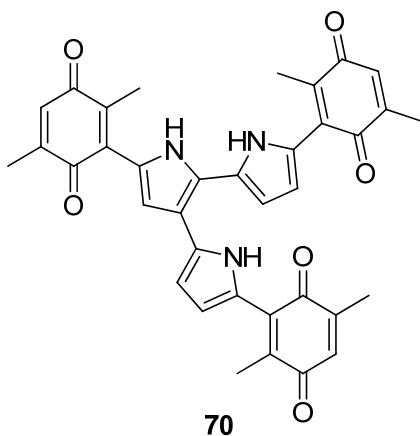
El acoplamiento entre la pirrolilbenzoquinona **35** y el ácido borónico **64** se intentó llevar a cabo mediante la metodología descrita por Yuta y sus colaboradores (esquema 21).⁶¹

⁶¹ Yuta F., Victoriano D., Ian B. S., Ryan G., Matthew D. B., Phil S. B., *J. Am. Soc.* **2011**, 133, 3292-3295.



Esquema 21. Síntesis del compuesto 63.

Desafortunadamente, de la mezcla compleja de productos obtenidos se logró aislar únicamente un compuesto de color azul-morado muy intenso, polar, que resultó ser un compuesto tripirrólico correspondiente a **70** (figura 30).



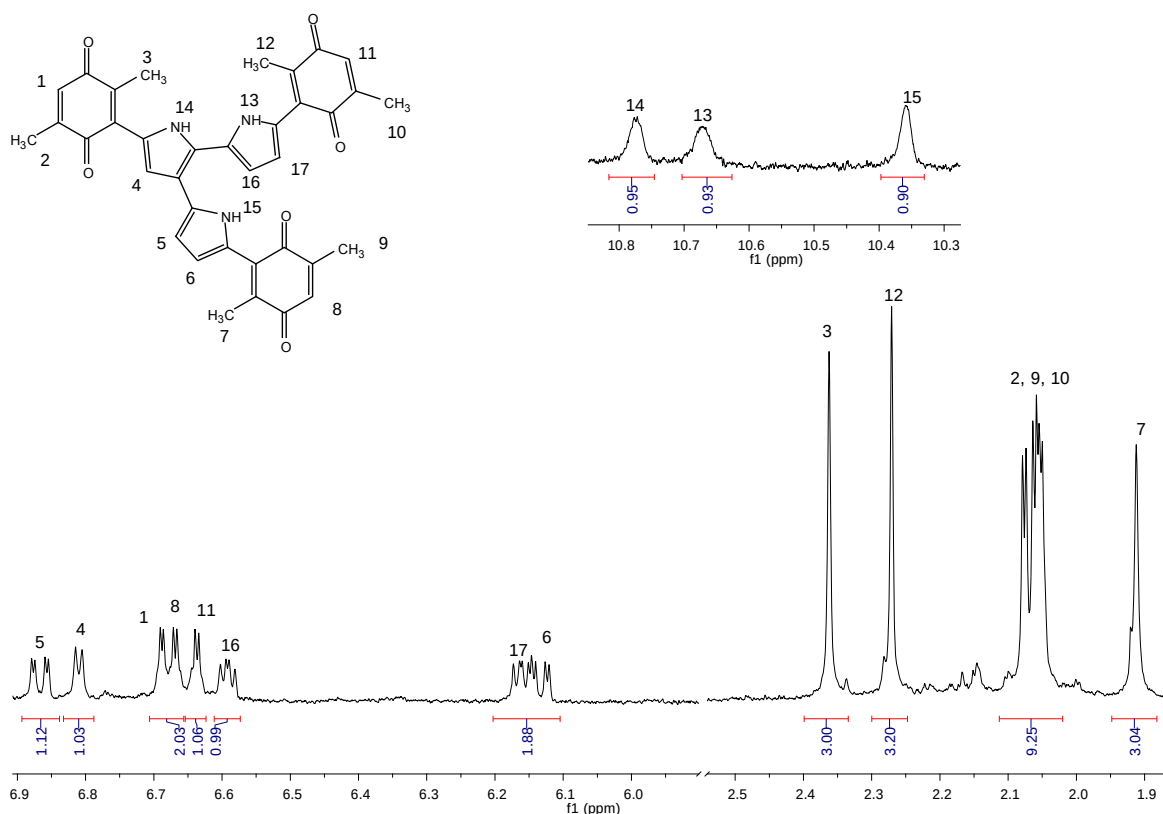


Figura 30. Espectro de RMN ^1H para el compuesto 70 en CDCl_3 a 300 MHz

Aunque el compuesto obtenido no es el esperado, si es de gran interés para nuestro grupo de trabajo pues abre la posibilidad de obtener estructuras de mayor complejidad como serían compuestos de tipo dendrímeros o nanoesponjas.

Este compuesto tripirrólico surge de la reacción de trimerización promovida por los agentes oxidantes como ha sido descrito para la obtención de polipirroles. El mecanismo es por la vía de radicales libres.

6.9 Síntesis del nuevo sistema 1-azatriciclo[5.2.2.0^{1,5}]undec-2,4-diene-7,10-dione.

La obtención de productos naturales así como la síntesis de estos pueden ser dos disciplinas a menudo dependientes entre sí. En muchos sentidos, estas dos áreas trabajan conjuntando esfuerzos para la comprensión de la esencia de la naturaleza, así como su constitución, material y las propiedades de sus componentes como moléculas individuales y combinaciones de los mismos.⁶²

Debido a que la investigación de productos naturales sigue bastante activa, cada año se describen un gran número de nuevos productos naturales con importantes actividades biológicas pero normalmente se encuentran en muy bajos rendimientos y en cantidades en el orden de miligramos, lo que desde el punto de vista farmacéutico es muy poco rentable. Sin embargo, la importancia de la síntesis de dichos productos evita la sobreexplotación de organismos vivos que en muchos casos se necesita una enorme cantidad de litros de extractos.

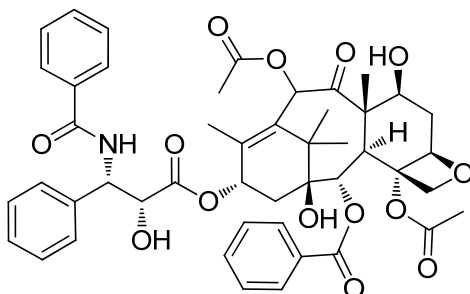
Entre los ejemplos más destacables se encuentra el Taxol **71** el cual es un potente agente citotóxico que se obtiene de la planta *Taxus brevifolia*, la cual presenta una importante actividad como inhibidor de la mitosis al promover la polimerización y estabilización de la tubulina evitando que los microtúbulos puedan desintegrarse y por lo tanto impedir la reproducción celular.⁶³ Puesto que son necesarias grandes cantidades de la planta para la obtención del Taxol, resultó importante la búsqueda de una estrategia sintética evitando así el desgaste del recurso natural. En 1994 Nicolaou y colaboradores describieron la primer síntesis total,⁶⁴ este es quizá el ejemplo más representativo de la

⁶² Nicolaou K., Hale C., Nilewski C., Ioannidou H., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 5185-5238.

⁶³ Schiff P., Fant J., Horwitz J., *Nature*, **1979**, 277, 665-667.

⁶⁴ Nicolaou K., Yang Z., Liu J., Ueno H., Nantermet P., Guy R., Claiborne C., Renaud J., Couladouros E., Paulvannan K., Sorensen E., *Nature*, **1994**, 367, 630-634.

importancia de la síntesis de productos que aun pudiendo ser extraídos de fuentes naturales se vuelve relevante su obtención en el laboratorio.

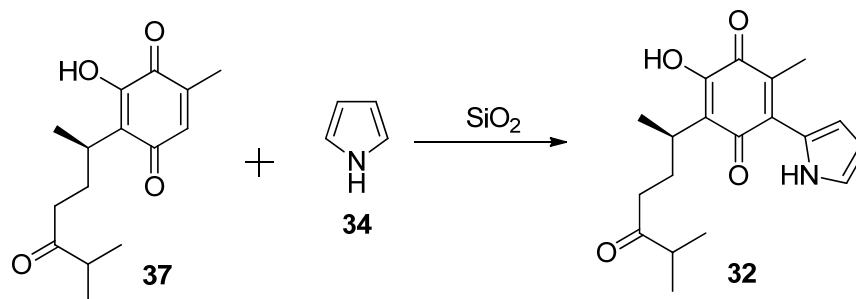


71

A su vez, la necesidad de obtener compuesto análogos a los ya descritos hace que no solo sea importante la síntesis de productos naturales sino además de los esqueletos base que los conforman. Esto suele representar un verdadero reto debido a que normalmente se encuentran polifuncionalizados y/o con múltiples centros quirales, que a nivel biológico se obtienen por vías metabólicas bastante complejas pero que en un laboratorio y involucran varios pasos de síntesis.

Aunque suele relacionarse a la actividad biológica como el único objetivo en la investigación de los productos naturales la realidad va más allá. Actualmente se cuentan con un gran número de productos naturales o semisintéticos (obtenidos por transformación de los productos naturales, con aplicaciones en materiales, sensores, y colorantes entre otros.

Como fue mencionado anteriormente, en el 2013 Chacón y colaboradores describieron la obtención del compuesto **32** el cual emplea como material de partida el producto natural perezona (esquema 22). La incorporación del anillo de pirrol le proporcionó a la quinona propiedades químicas para el reconocimiento de diferentes tipos de aniones y cationes y, adicionalmente, acompañado de un cambio de coloración específico para las sales a las que se enfrentó, lo que lo hace un sensor óptico para la determinación de metales (figura 31).⁴²



Esquema 22. Síntesis de la pirrolil perezona.

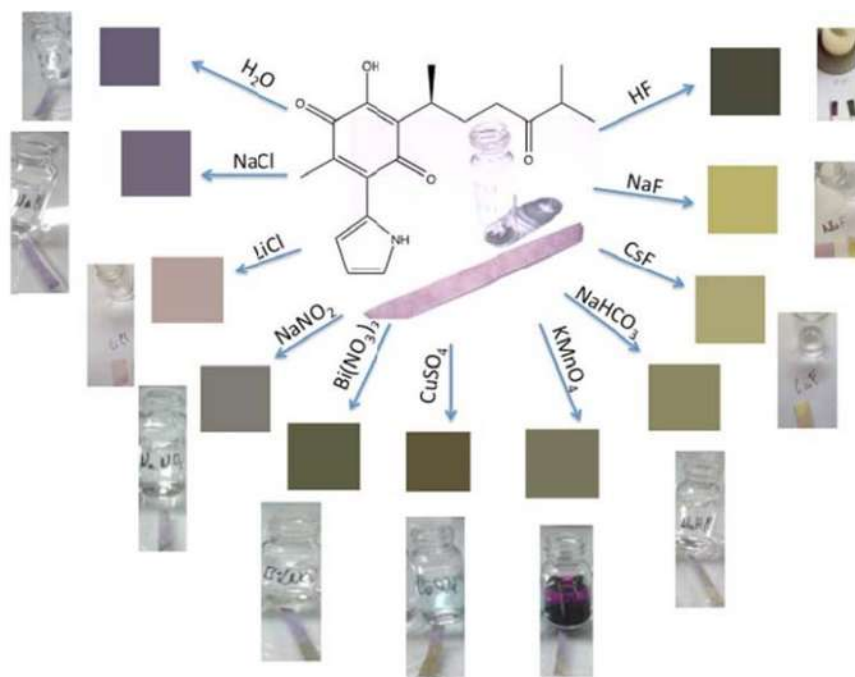
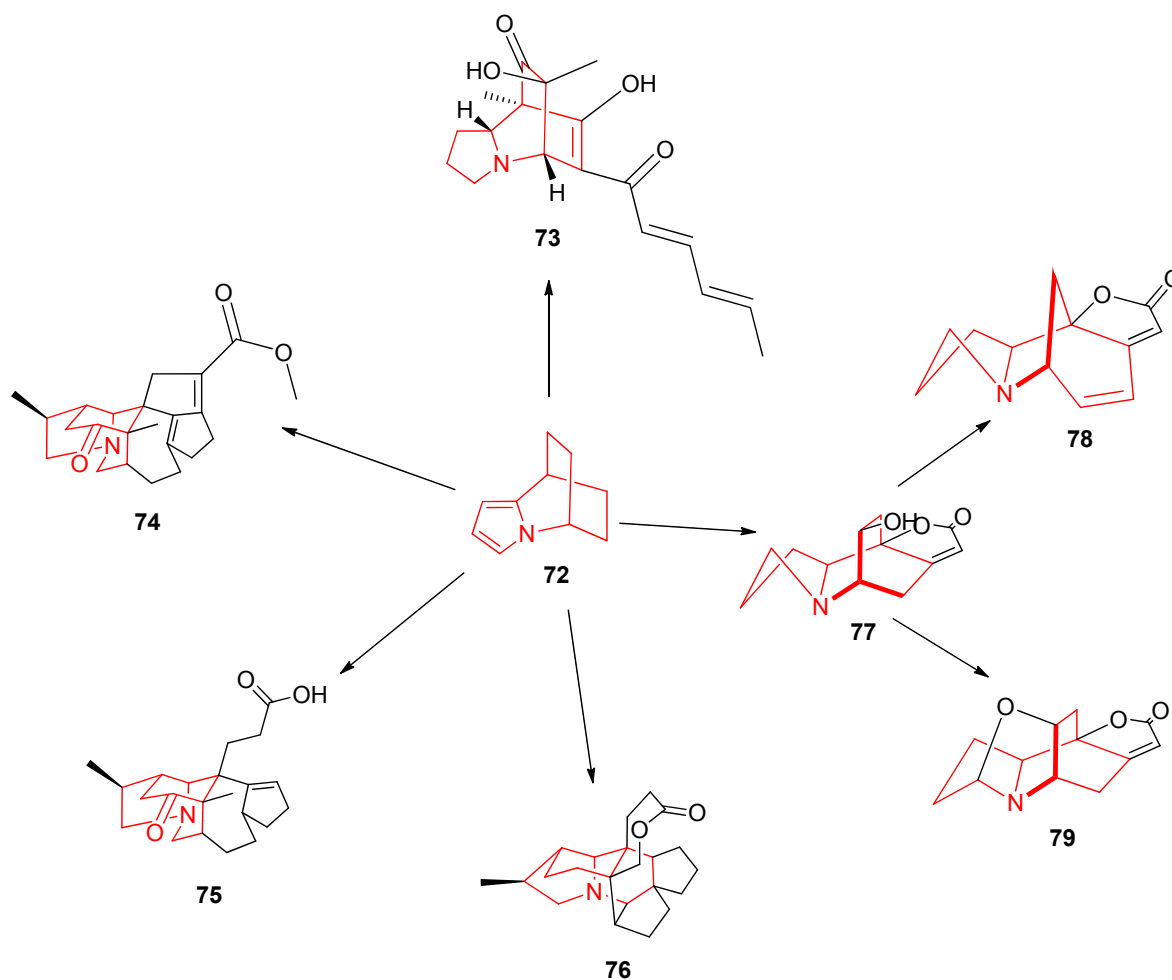


Figura 31. Cambio de coloración apreciable a simple vista del compuesto impregnado en papel filtro con diferentes sales inorgánicas.

En los últimos años, se han aislado de diferentes organismos un gran número de alcaloides de origen natural pero muy pocos que poseen en su estructura el sistema 1-azatriciclo[5.2.2.0^{1,5}]undecano **72**. Algunos ejemplos son la Cadalfridina A **74**,

Cadalfnidina C **75**, Bukittinggina **76**, Nirurina **78**, norsecurina **79** y sorbicilamina A **73** (esquema 23) y que poseen diferentes tipos de actividades biológicas de interés.^{65,66,67,68}



Esquema 23. Productos naturales que contienen el esqueleto 72 en su estructura.

Algunos de estos compuestos han sido obtenidos de manera sintética en los que el paso clave es la formación ciclo en donde la cabeza de puente es el nitrógeno.

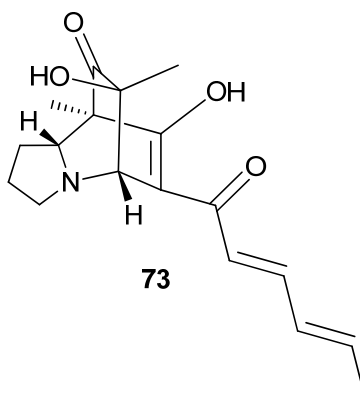
⁶⁵ Mag P., Rodriguez J., Mulholland K., Matthewst I., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 382-383.

⁶⁶ Heathcock C., Stafford J., Clark D., *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2575-2585.

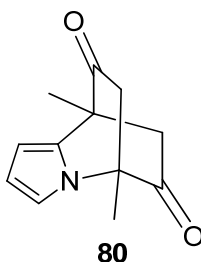
⁶⁷ Zhan Z., Zhang C., Yue J., *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 11038-11045.

⁶⁸ YuLi Z., Peng S., Fang L., Yang Y., Guo Y., *Chem Biodivers.* **2009**, *6*, 105-110.

Recientemente, Guo y colaboradores (2013) aislaron la sorbicilamina A del hongo *Penicillium sp. F23-2*, el cual presenta una actividad citotóxica de $IC_{50} > 10 \mu M$ y aunque aún no se conoce el mecanismo exacto de la actividad es de esperar que el diseño de análogos estructurales podrían contribuir a estudios de relación estructura actividad. Para la obtención de este compuesto, originalmente, fue necesario el tratamiento de 60L de fermento del cual se obtienen 18 mg del compuesto **73**.⁶⁹ Esto habla de la importancia que tendría una propuesta sintética de este sistema heterocíclico mediante una estrategia, preferentemente accesible, que hasta el momento no ha sido descrita.



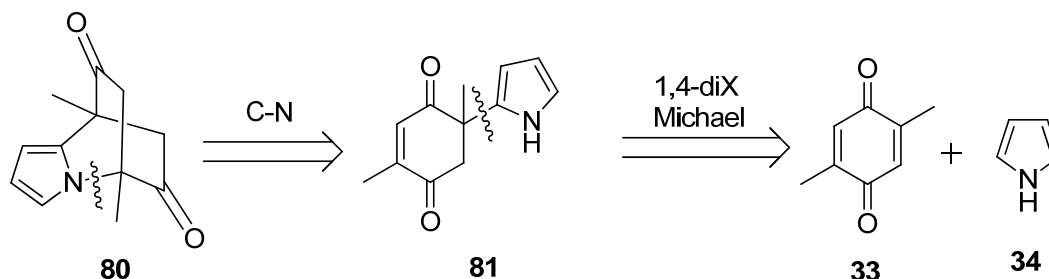
Tomando ventaja de la experiencia en síntesis de pirrolil quinonas y su reactividad que en nuestro grupo de trabajo se ha llevado a cabo, en este proyecto se planteó la obtención de **80** mediante dos pasos a partir de una quinona y pirrol.



La propuesta de análisis retrosintético para el compuesto **80** se resume en el esquema 24 en donde se aprecia que la formación del triciclo requiere de dos conexiones, una C-C y otra N-C, pudiendo ambas provenir de una adición de tipo Michael. Lo cual puede no ser problema para C-2 del pirrol pero si para el heteroátomo pues para llevarse a cabo una reacción de tipo aza-Michael se requiere de un nitrógeno “blando” en los términos de ácidos y bases de Pearson, cosa que el nitrógeno del pirrol carece y más aun

⁶⁹ Guo W., Peng J., Zhu T., Gu Q., Keyzers R., Li D., *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 2106–2112.

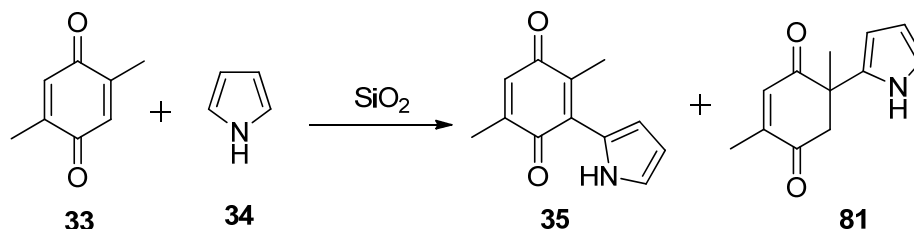
si se habla del anión amiduro. Sin embargo, tomando la premisa de que una reacción puede ser inducida si la geometría del sistema lo permite, se espera entonces que la reacción se lleve a cabo, con el respectivo riesgo de que el centro nucleofílico sea el del C-3 en lugar de N-1.



Esquema 24. Análisis retrosintético del compuesto 80.

Un dato importante que se omitió, metodológicamente hablando, en relación a la adición de pirrol a quinona fue que en el desarrollo de este proyecto se aisló el compuesto **81** como un subproducto de la adición de pirrol a la 2,5-dimetil-1,4-quinona. Puesto que no se conoce el mecanismo de adición del pirrol a la quinona catalizada por SiO_2 , este compuesto fue útil para demostrar que la reacción procede por una vía de Michael pero además fue un intermediario clave para obtener el azatriciclo **80**.

Así una vez planteada la estrategia de síntesis se procedió a optimizar el rendimiento y a caracterizar completamente la 3,6-dimetil-6-pirrolil-ciclohex-2-en-1,4-diona **81** (esquema 25).⁴¹



Esquema 25. Síntesis del compuesto 81.

El rendimiento de esta reacción es bajo (17%) debido precisamente por la ausencia de regioselectividad. El espectro de RMN ^1H del compuesto **81** muestra como señales más importantes el sistema AB que se ubica entre 3 y 3.5 ppm con una J de acoplamiento de apariencia y magnitud los suficientemente grande como para ser

considerada geminal correspondiente al metileno en C5. El sistema ABX del pirrol, entre 6 y 6.7 ppm, es indicativo de que este se encuentra monosustituido (Figura 32).

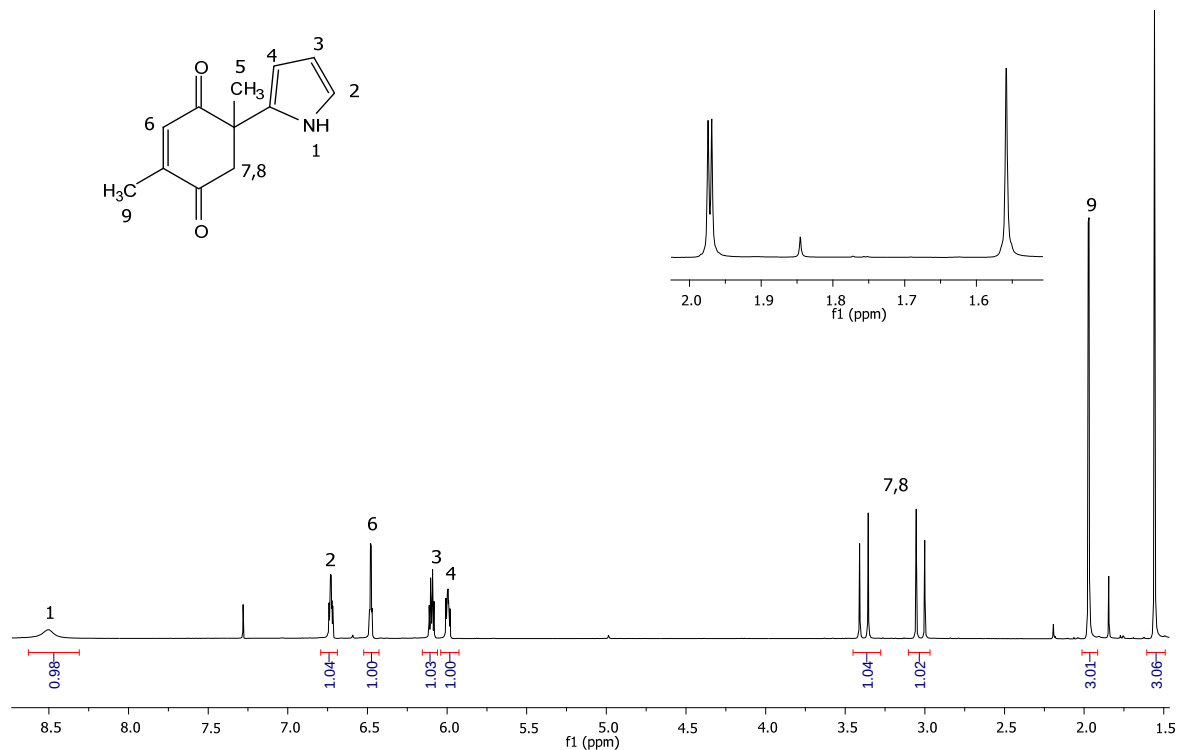


Figura 32. Espectro de RMN ^1H del compuesto 81 en CDCl_3 a 400 MHz

La confirmación inequívoca de la estructura se llevó a cabo por espectrometría de masas de alta resolución pero además por difracción de rayos X de monocristales obtenidos por recristalización en un sistema Hex:AcOEt 9:1 (figura 33).

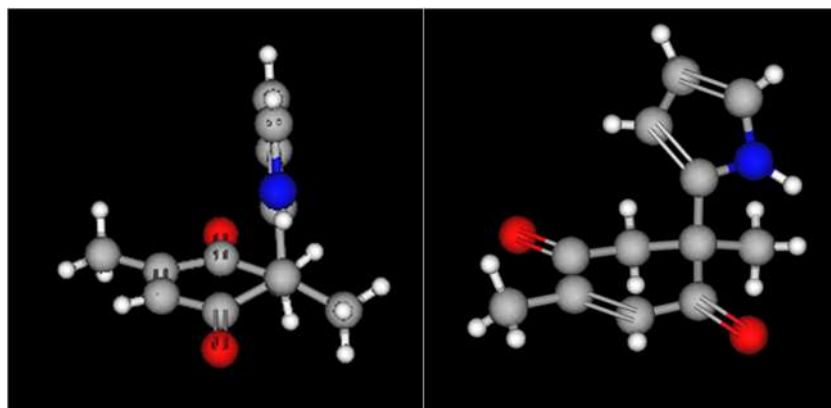
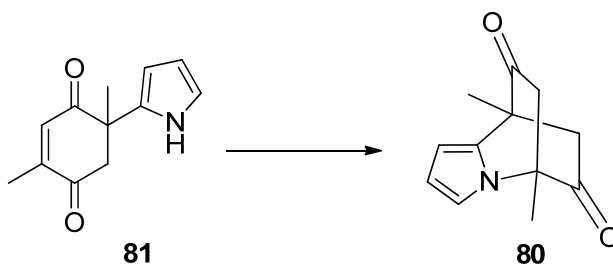


Figura 33. ORTEP del compuesto 81.

El análisis de la estructura de rayos X reveló que el anillo de pirrol se encuentra posicionado a 90° con respecto a la ciclohexendiona lo que nos hace pensar en la posibilidad de contar con una geometría adecuada para generar el ataque hacia la posición α , mas sustituida, de la endiona.

Así, el siguiente paso de la reacción fue la segunda reacción fue la ciclación producida por el ataque del NH del pirrol en una clásica reacción azaMichael (Esquema 26).

**Esquema 26. Formación del triciclo.**

Como se mencionó, bajo condiciones normales, el nitrógeno del pirrol no suele ser un buen nucleófilo debido a que las posiciones que se ven favorecidas por la resonancia para producir un ataque nucleofílico son las 2 y 5 del anillo, sin embargo, se ha reportado este tipo de reacción cuando se emplean bases muy fuertes como el NaH.⁷⁰ Experimentalmente el uso de base, no llevó a cabo la reacción esperada encontrando que no había reacción o bien que se formaban otros productos no identificados por su bajo rendimiento. Sin embargo, sorpresivamente, al agregar FTBA al compuesto disuelto en CH₂Cl₂ la solución pasaba de color amarillo a incoloro, además de que en TLC aparecía una banda con R_f diferente al original. Después de la purificación, tanto la espectrometría de masas como la de RMN ¹H y ¹³C confirmaron la estructura de **80** (figura 34 y 35). En el espectro de RMN ¹H se puede apreciar, que no aparece señal de NH del pirrol y sí se mantiene el sistema ABX por lo que se corroboró que el compuesto obtenido había sido producto de la adición de N y no de C3.

⁷⁰ Black D., Kumar N., Mitchell P., *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2464-2473.

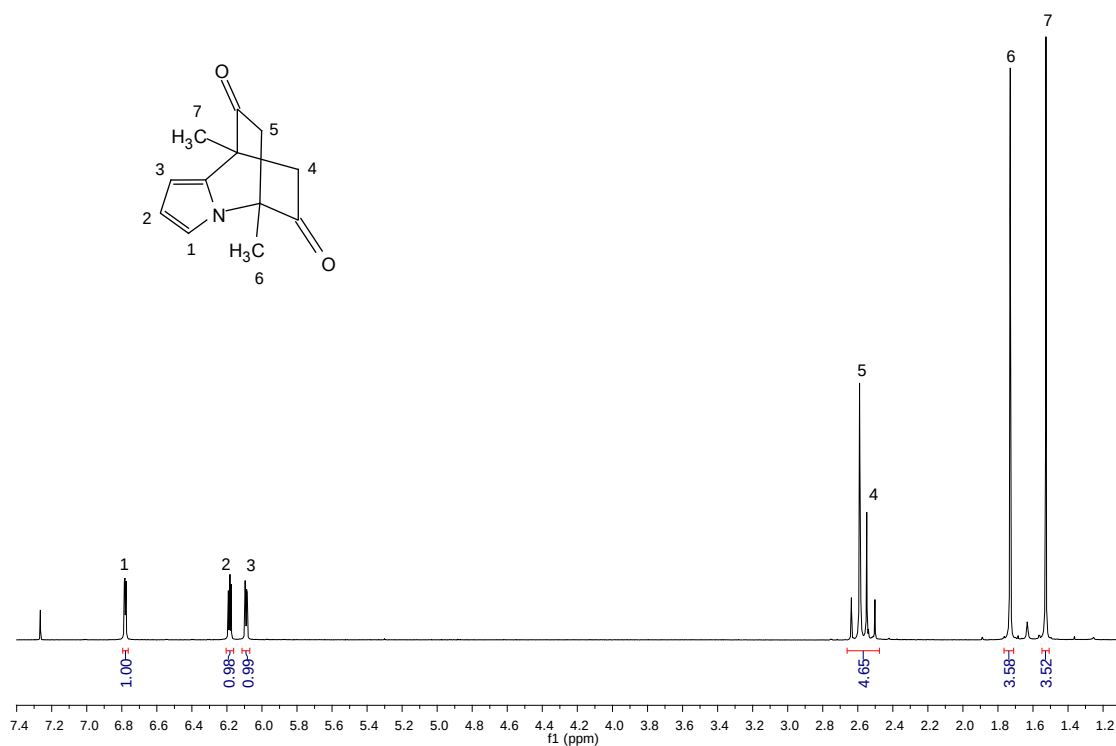


Figura 34. Espectro de RMN ^1H obtenido en CDCl_3 a 400 MHz del compuesto 80.

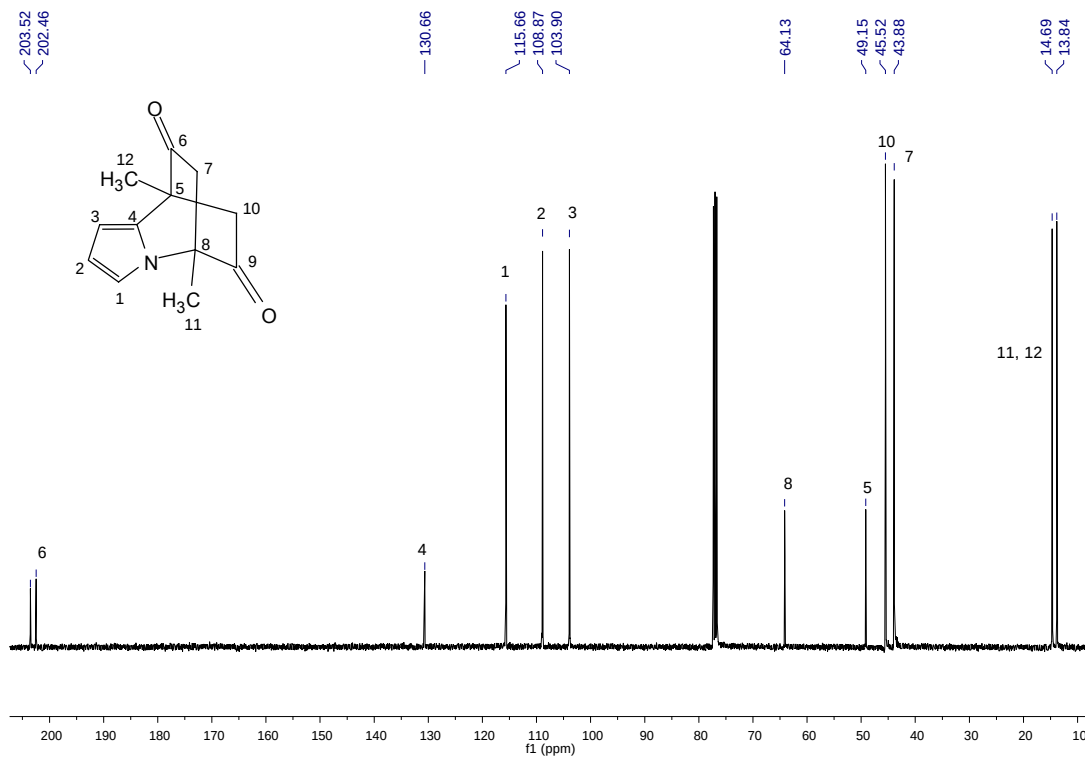


Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C adquirido en CDCl_3 a 100 MHz del compuesto 80.

En un principio resultó complicada la asignación de las señales de los dos metilenos, pues, a primera vista, no se presentaban como dos señales dobles; sin embargo, el análisis de los espectros obtenidos de los experimentos NOESY y TOCSY (figura 36 y 37) fue de gran ayuda.

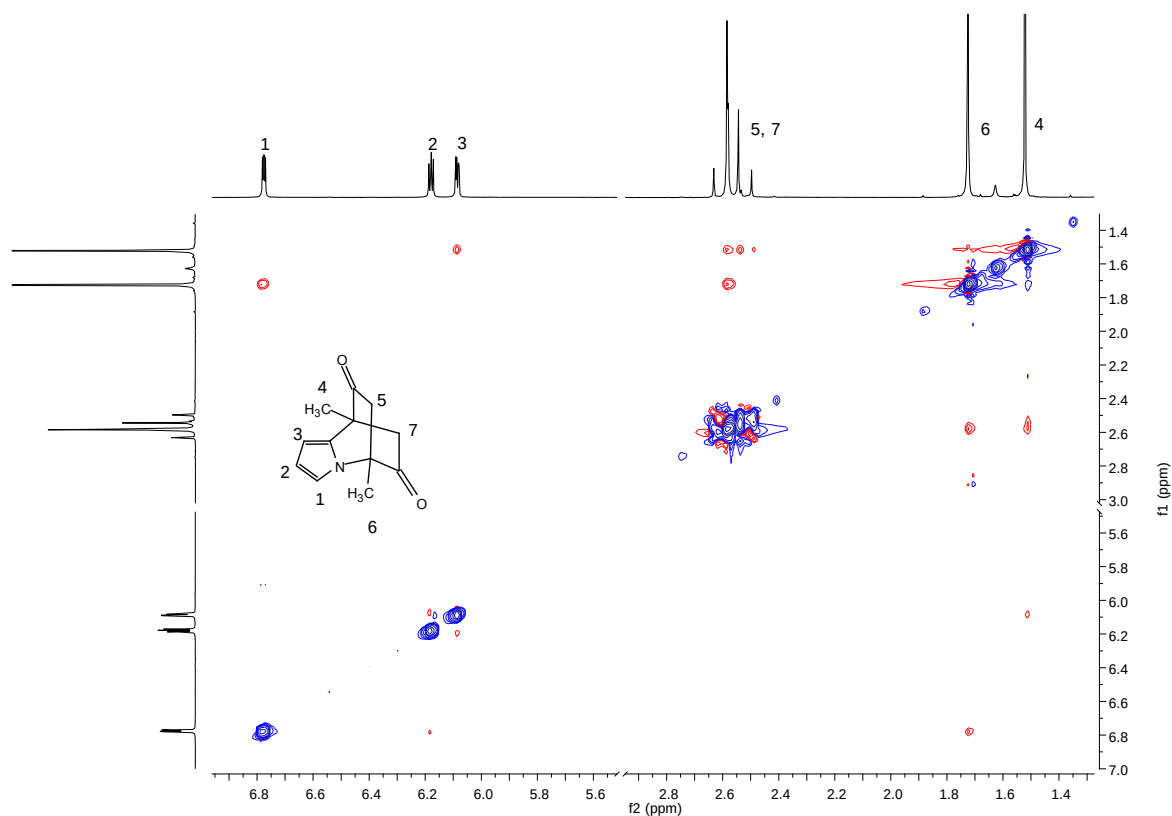


Figura 36. Espectro NOESY del compuesto 80.

En el espectro NOESY se pueden apreciar las interacciones a través del espacio entre el H 1 del pirrol y los H del metilo 6 que a su vez interacciona con los H del metileno en C-5, así mismo, el H-3 del pirrol con el metilo 4 que también interacciona con los H del metileno en C-7.

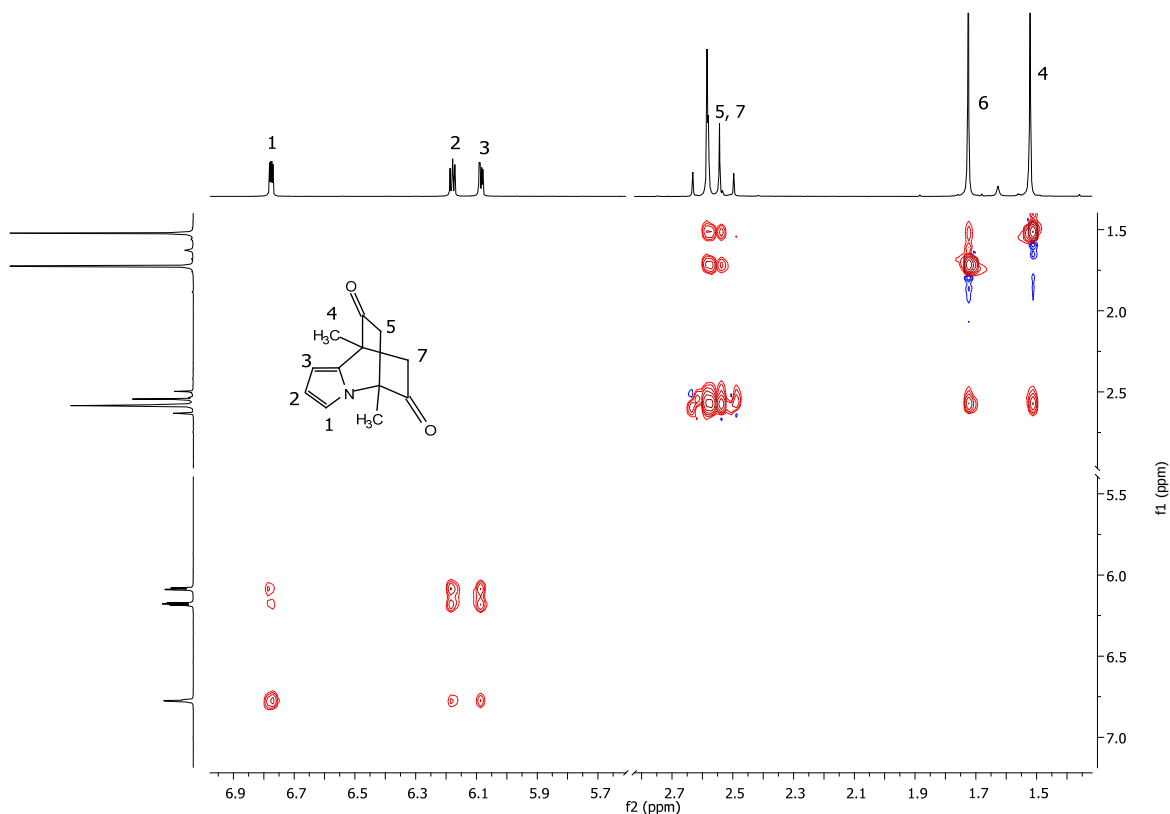


Figura 37. Espectro TOCSY del compuesto 80.

El espectro TOCSY también proporcionó datos importantes sobre el acoplamiento a cuatro y cinco enlaces para la asignación de la estructura. Los H del metilo 4 presentan acoplamiento en W a cuatro enlaces con los protones del metileno en C-7. De igual forma, los protones del metilo en C-6 tienen el acoplamiento en W con los protones del metileno en C-5.

Hoy en día, los cálculos computacionales son una valiosa herramienta de apoyo para la determinación de las estructuras cuando existen dudas o discrepancias con la espectroscopia. Se consideró entonces que el apoyo computacional podría ser de gran valor para explicar la aparente equivalencia magnética de los protones del metileno que aparece mas como singulete que como sistema AB. La optimización geométrica empleando método semiempírico AM1 en el programa Gauss 03 se muestra en la figura 38.

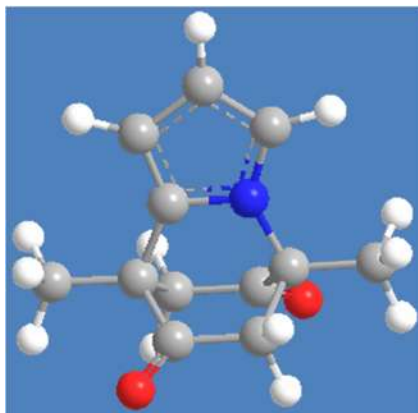


Figura 38. Resultado del modelado en 3D en métodos semiempírico AM1 del compuesto 80.

Un análisis detallado de los ángulos diedros de los protones del metileno en C-8 con respecto al carbonilo permite apreciar que se encuentran prácticamente al mismo ángulo -59° grados y 60° grados con lo cual se explica la similitud en términos de equivalencia magnética y por ello aparecen como una señal con apariencia de singulete en RMN ^1H (figura 39).

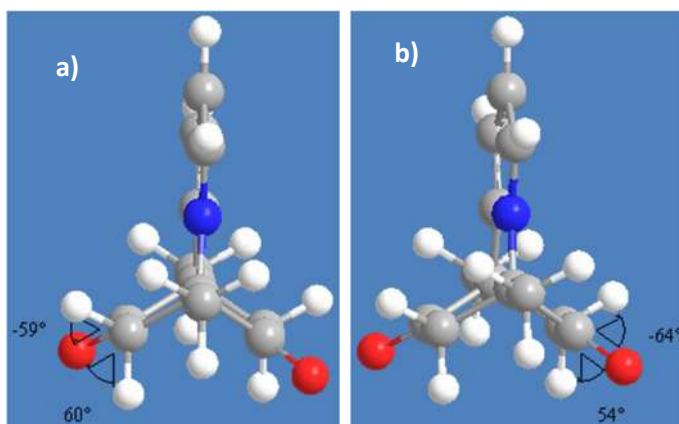


Figura 39. Ángulos diedros del metileno con respecto al carbonilo vecino en a) C-8 b) C-11.

Por su parte, los protones del metileno en C-11 sí presentan una diferencia bastante significativa en los ángulos con valores de -64° y 54° lo que los hace magnéticamente diferentes y por consecuencia que en el espectro aparezcan como un sistema AB.

Una vez confirmada la estructura del compuesto **80**, se intentó aclarar la cual sería el papel catalítico del FTBA en la reacción. Pensando en que la reacción se llevara a cabo por activación del nitrógeno por un reconocimiento supramolecular como primera instancia, se dio seguimiento a la reacción por RMN ^1H , adicionando FTBA y evaluando el proceso de la transformación (figura 40).

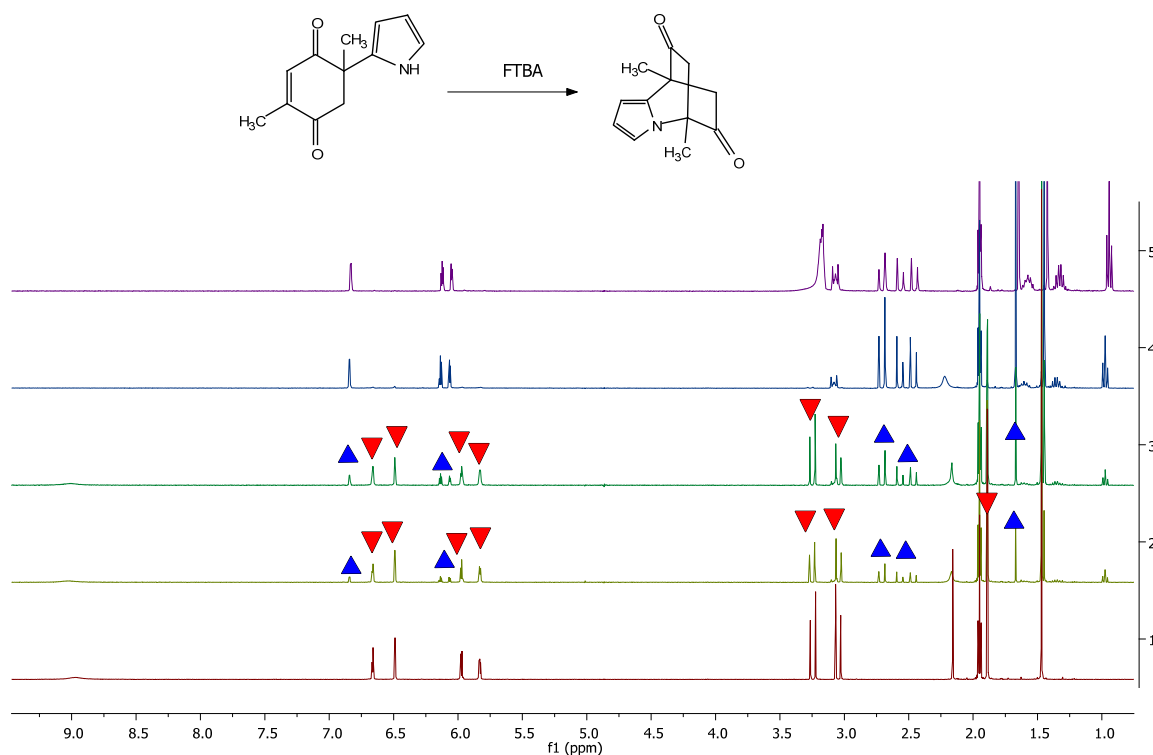


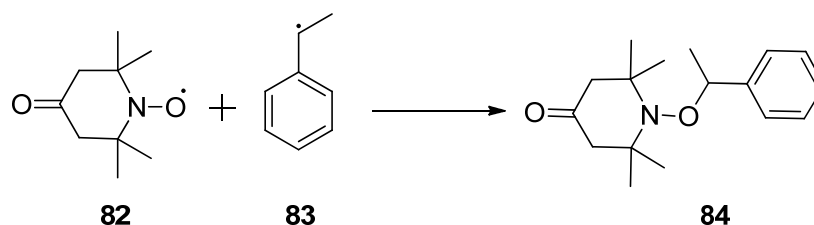
Figura 40. Cinética de reacción seguida por RMN para la obtención de 80.

Contra lo esperado, no hubo indicios de un reconocimiento por el fluoruro mediante un cambio de desplazamiento de la señal NH, al menos en el tiempo de detección de la RMN. Lo que si se pudo apreciar fue la aparición de las señales correspondientes al producto **80** y desaparición completa de las señales de la materia prima. La adición de D_2O (línea morada) a la solución posterior al experimento, descartó una interacción supramolecular con la sal, sin observar materia prima lo cual indica la irreversibilidad de la reacción en agua y la confirmación del papel del FTBA como catalizador.

Ahora bien, podría pensarse que el mecanismo de la reacción procediera por vía iónica en donde, como es bien sabido, el pirrol puede formar puentes de hidrógeno con el anión fluoruro,^{71,72} y se generaría el anión amiduro. Esta propuesta tiene dos puntos débiles: la basicidad del fluoruro es más baja que las bases que se probaron sin éxito de reacción y un supuesto amiduro sería entonces una base fuerte y nucleófilo duro que deslocalizaría la carga principalmente sobre el C-3 del pirrol (blando) dando lugar a la C-adición más que a la aza-Michael.

En contraparte, el FTBA en su forma anhidra es muy propenso a la formación de radicales libres⁷³ y por lo tanto se puede pensar en un mecanismo radicalario. En este caso el nitrógeno si tiene más tendencia a reaccionar por esta vía.

La confirmación o descarte del mecanismo por vía de radicales pensó llevar a cabo incorporando al medio de reacción (2,2,6,6-tetramethyl-piperidin-1-yl)oxyl (TEMPO **82**) que se caracteriza por reaccionar con radicales libres (esquema 27).⁷⁴ Así un retardo en la velocidad de la reacción en presencia de este TEMPO confirmaría la presencia de estas especies reactivas como parte del mecanismo.



Esquema 27. Reacción entre un radical y TEMPO.

Los resultados de la adición de 0, 0.1, y 0.25 equivalentes molares de TEMPO a una solución de 1 equivalente molar de la pirrolil-ciclohexendiona y 0.25 equivalentes molares de FTBA en una celda, siguiendo la absorbancia de 390 nm correspondiente a λ_{max} de la materia prima se ilustran en la Figura 41.

⁷¹ Bedolla-Medrano M., Chacón-García L., Contreras-Celedón C., Campos-García J., *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52,136-138.

⁷² Tapia-Juárez M., González-Campos J., Contreras-Celedón C., Corona D., Cuevas-Yañez E., Chacón-García L., *RSC Adv.*, **2014**, 4, 5660-5665.

⁷³ Guha S., Goodson F., Corson J., Saha S., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 13679–13691.

⁷⁴ Chateaneuf J., Luszyk J., Ingold K., *J. Org. Chem.* **1988**, 53,1629-1632.

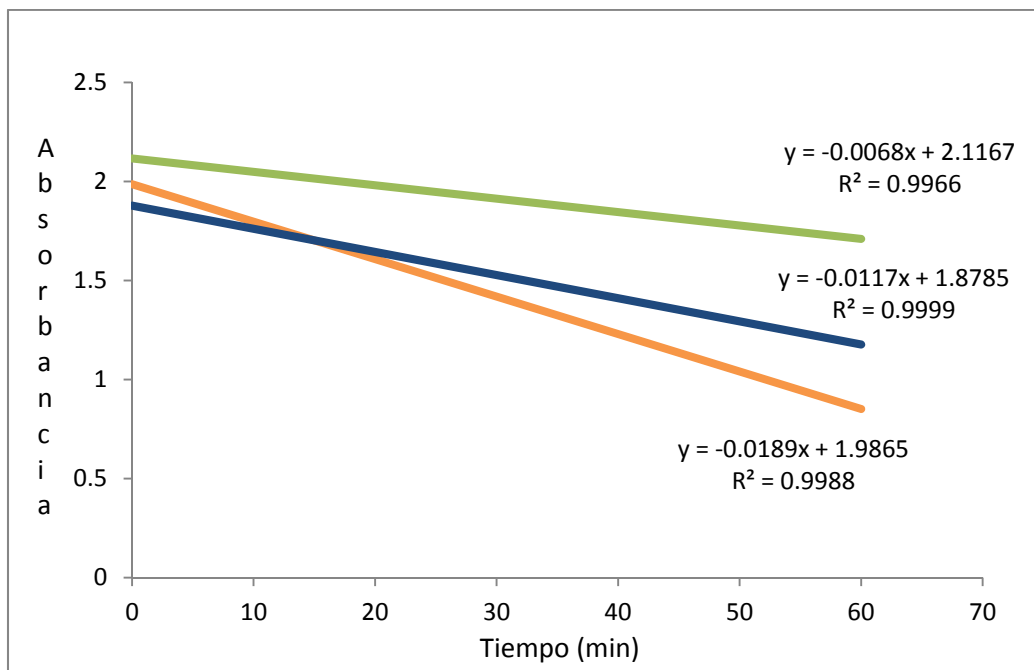
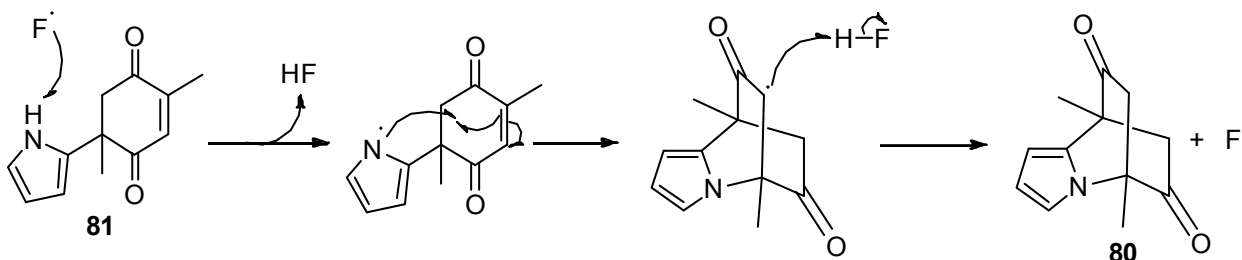


Figura 41. Comparación de las regresiones lineales de la cinética en UV-Visible a diferentes concentraciones de 82; Anaranjado) 0eq. Azul) 0.1 eq. Verde) 0.25

Ante la evidencia de que el avance de la reacción se vuelve más lenta conforme se incrementa la cantidad de TEMPO, deja claro que el mecanismo es definitivamente por vía de radicales libres, generados a su vez por la presencia de fluoruro de TBA.

El mecanismo propuesto se ilustra en el esquema 28, en donde primeramente se genera un radical en el oxígeno del carbonilo en C-4 cambiando la reactividad en la ciclohexendiona y permitiendo el ataque del nitrógeno del pirrol. Esta propuesta será necesario sustentarla con estudios teóricos que compiten a otra área.

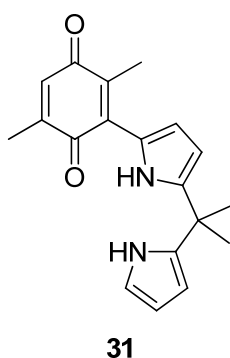


Esquema 28. Mecanismo propuesto para la formación de 80.

6.10 Pruebas de reconocimiento de aniones.

La química supramolecular es la ciencia que se encarga del estudio de las interacciones específicas entre dos o más moléculas mediante fuerzas no covalentes formando complejos de tipo anfitrión-huésped.⁷⁵ Actualmente se sabe que el reconocimiento molecular es un proceso fundamental en la biología el cual es resultado de interacciones débiles no covalentes, tales como electrostáticas, puentes de hidrógeno, CH- π y catión- π , así como efectos hidrofóbicos.⁷⁶ Una de las múltiples aplicaciones prácticas de dichas interacciones se encuentra en los sensores químicos, los cuales son moléculas capaces de interaccionar selectiva y reversiblemente con un sustrato específico (ión o molécula) con los cambios correspondientes en una o más de las características del sistema. En este sentido la síntesis de quimiosensores usados en la determinación de cationes, aniones y moléculas, tanto fluorescentes como compuestos fotointerruptores selectivos ha sido ampliamente estudiada en la literatura.⁷⁷

En el 2014 Chacón y colaboradores describieron la síntesis de la dipirrolilbenzoquinona **31**, la cual presenta una coloración morada intensa muy característica y que es capaz de reconocer al fluoruro cambiando su coloración (figura 42); además, pudieron determinar el número y tipo de interacciones entre el compuesto y el fluoruro por medio de la interpretación de los puntos isobéuticos resultantes de la titulación en UV-Vis así como el comportamiento que se presenta en titulaciones seguidas por RMN ^1H , ^{13}C y ^{19}F .⁴¹



⁷⁵ Houk K., Leach A., Kim S., Zhang X., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 4872-4897.

⁷⁶ Coquière, D., de la Lande, A., Martí, S., Parisel, O., Prangé, T., & Reinaud, O. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2009**, 106, 10449-10454.

⁷⁷ Tsukanov A., Dubonosov A., Bren V., Minkin V., *Chem. Heterocycl. Compd.* **2008**, 44, 899-923.



Figura 42. Cambio de color selectivo hacia fluoruro.

Con base en todo lo anterior y debido a la amplia experiencia en este tipo de experimentos en nuestro grupo de trabajo se decidió evaluar las propiedades reconocedoras de los aniones de los compuestos sintetizados en este trabajo, que cumplieran con las características de reconocimiento iónico, por medio de titulaciones en UV-Vis y RMN.⁷⁸

6.10.1 Titulaciones en RMN.

Primeramente se llevó a cabo la titulación seguida por RMN ^1H del compuesto **35**, en una solución 0.01 M en 0.6 mL de acetonitrilo deuterado. Se preparó una solución 2.5×10^{-3} M de FTBA en 1 mL de acetonitrilo deuterado para realizar la titulación, a cada uno se fueron adicionando diferentes volúmenes de la solución de FTBA (μL) (tabla 5) y se adquirió el espectro de RMN ^1H entre cada adición.

Tabla 5. Equivalentes de FTBA respecto al volumen adicionado a 35.

Volumen de sol. FTBA.	Equivalentes de FTBA.
0	0
10 μL	0.012
20 μL	0.024
30 μL	0.034
40 μL	0.048

⁷⁸ Bedolla-Medrano M., Chacón-García L., Contreras-Celedón C., Campos-García J., *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52,136-138.

En la figura 43 se ilustran los espectros resultantes de cada adición de anión y se puede apreciar que al adicionar los primero 0.012 eq de FTBA la señal correspondiente al hidrógeno vinílico de la benzoquinona se deja de observar así como las señales correspondientes a los dos metilos, lo que indica que el reconocimiento se lleva a cabo primeramente por la interacción de la benzoquinona con el fluoruro correspondiente a la interacción π -anión, y al continuar con la titulación, las señales correspondientes a los hidrógenos 2 y 3 del pirrol comienzan a disminuir su intensidad, y que cuando se llega a la adición de 0.048 eq de FTBA dichas señales no se observan en el espectro. Por su parte, la señal del NH del pirrol tuvo un desplazamiento hacia campo bajo poco representativo, a diferencia de lo que se esperaba debido a que los derivados de pirrol tienen la característica de formar puentes de hidrógeno con el anión fluoruro.

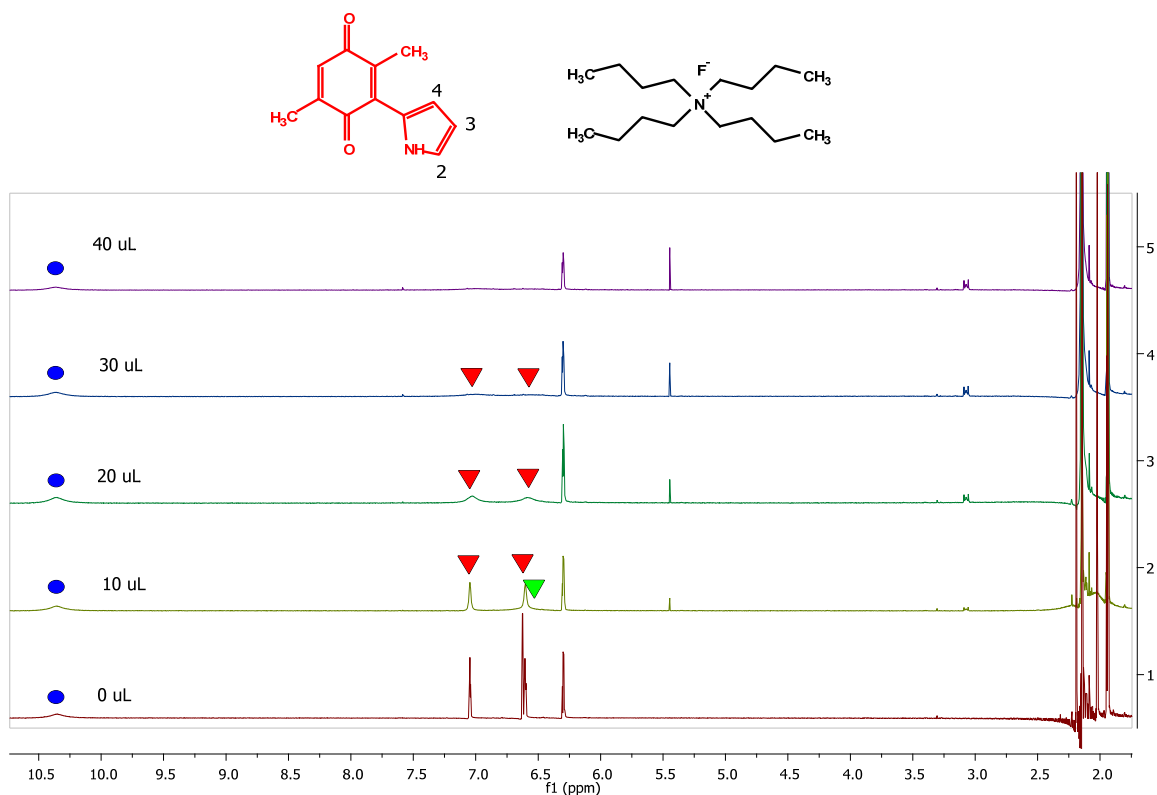


Figura 43. Titulación del compuesto 35 con FTBA a 500 MHz en CD_3CN .

Se procedió entonces a obtener la titulación del compuesto **36**, que a diferencia del compuesto **35** este presenta un grupo nitro en la posición 5 del pirrol. La adición de diferentes concentraciones de FTBA (Tabla 6) llevó a la serie de espectros apilados en la figura 44.

A primera vista se observa un comportamiento diferente a **35**, ya que las señales correspondientes al hidrógeno de la benzoquinona y a los del pirrol se ven afectados simultáneamente, sin embargo, al adicionar 0.096 eq de FTBA se deja de apreciar completamente la señal correspondiente al hidrogeno de la benzoquinona. Mientras que las del pirrol continúan hasta 0.216 eq, cabe mencionar que debido a que el grupo nitro es fuertemente electroattractor y aunque el ambiente químico de todo el sistema se ve afectado se esperaría un efecto directo sobre el pirrol más que sobre la quinona, pero el hecho de que primero desapareciera las señal del protón de la benzoquinona, sugiere que la interacción π -anión presente en la región de la benzoquinona está influido por el efecto del pirrol, y en este caso acentuado por la presencia del grupo nitro.

Tabla 6. Equivalentes de FTBA respecto al volumen adicionado a 36.

Solución de FTBA	Equivalentes de FTBA
2 μ L	0.002
4 μ L	0.004
6 μ L	0.006
10 μ L	0.012
15 μ L	0.018
20 μ L	0.024
30 μ L	0.036
40 μ L	0.048
80 μ L	0.096
130 μ L	0.156
180 μ L	0.216
280 μ L	0.336
520 μ L	0.624

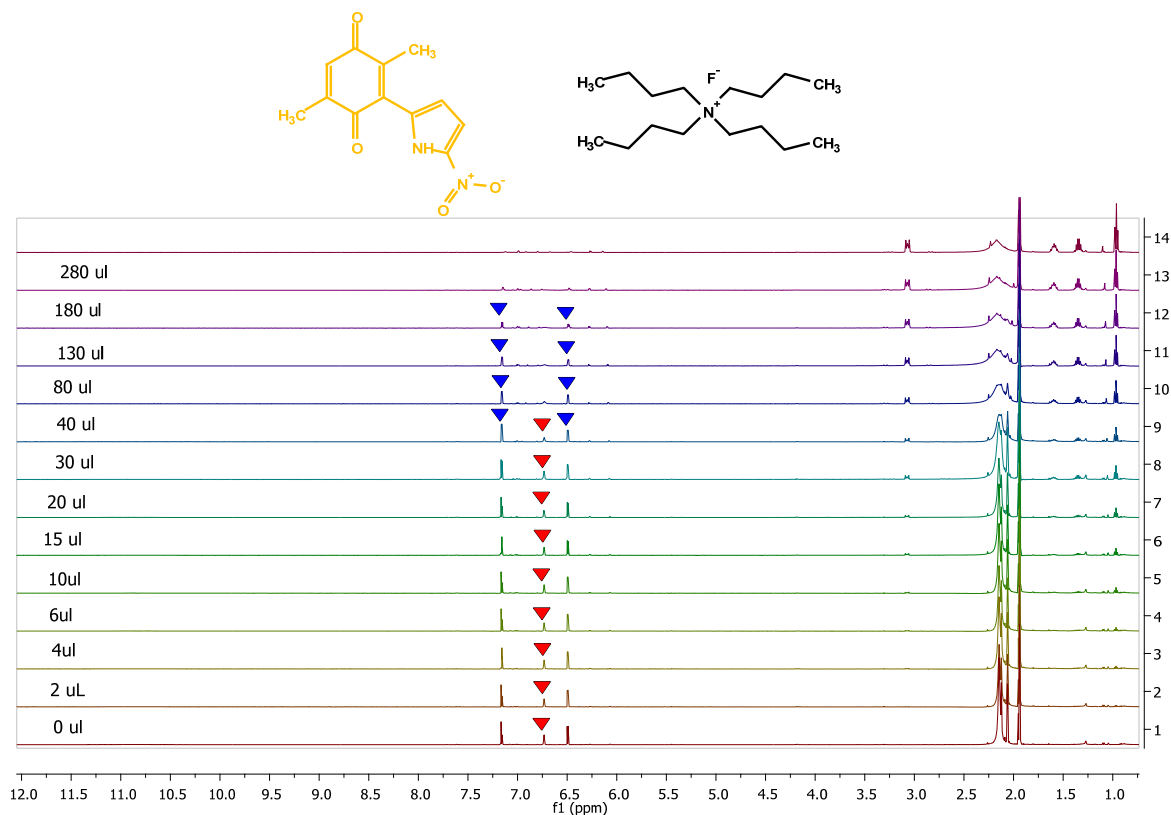


Figura 44. Titulación del compuesto 36 con FTBA a 500 MHz en CD_3CN .

Este comportamiento espectroscópico de reconocimiento anión- π ha sido muy poco descrito. En 1992 Schneider y colaboradores emplearon por primera vez el término “interacción anión- π ”,⁷⁹ originalmente fueron descritos en estado sólido e implicaba la transferencia de densidad electrónica entre sistemas deficientes y sistemas ricos en electrones⁸⁰ y actualmente se definen como interacciones no covalentes entre un sistema aromático deficiente de electrones y un anión.⁸¹ Se ha descrito que la naturaleza física de las interacciones de tipo π -anión se lleva a cabo por fuerzas electrostáticas y de polarización inducida en sistemas π deficientes de electrones con un momento cuadrupolar (Q_{zz}) positivo fuerte, que se define como la medida de distribución de carga en una molécula con respecto a su eje.

⁷⁹ Schneider H., Schiestel T., Zimmermann P., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7698-7703

⁸⁰ Mulliken R., *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 811-824.

⁸¹ Quiñonero D., Garau C., Rotger C., Fornera A., Ballester P., Costa P., *Angew Chem Int Ed*, **2002**, *41*, 3389.

Los ejemplos claros de dicho comportamiento son el benceno, el cual posee un momento cuadrupolar negativo con un valor de Q_{zz} es de -8.45 B ($\text{B}=\text{Buckingham}$), y por lo tanto presenta la capacidad de interactuar con una carga positiva como un catión, generando una interacción de tipo π -catión; por su parte, en el caso del hexafluorobenceno, al tener como sustituyente grupos electroattractores, Q_{zz} se vuelve positivo con un valor de $+9.50 \text{ B}$ y debido a esta propiedad puede interactuar de forma favorable con especies ricas en electrones, tales como aniones (figura 45).⁸²

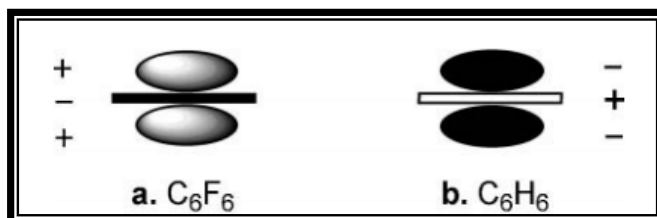


Figura 45. Representación del momento cuadrupolar para a) Hexafluorobenceno, b) Benceno

Uno de los pocos trabajos que describen esta interacción en solución fue el de Guha y sus colaboradores tanto en espectros de RMN ^1H y ^{19}F .⁸³ Como se discutirá adelante, el efecto en RMN de ^{19}F , es también bastante visible pero aun más, el de ^{13}C es contundente pues las señales no son visibles en presencia de fluoruro y únicamente aparecen las correspondientes al FTBA (Figura 46).

⁸² Brandi L. Schottel, Helen T. Chifotides and Kim R. Dunbar, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 68–83.

⁸³ Guha S., Sasha S., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17674-17677.

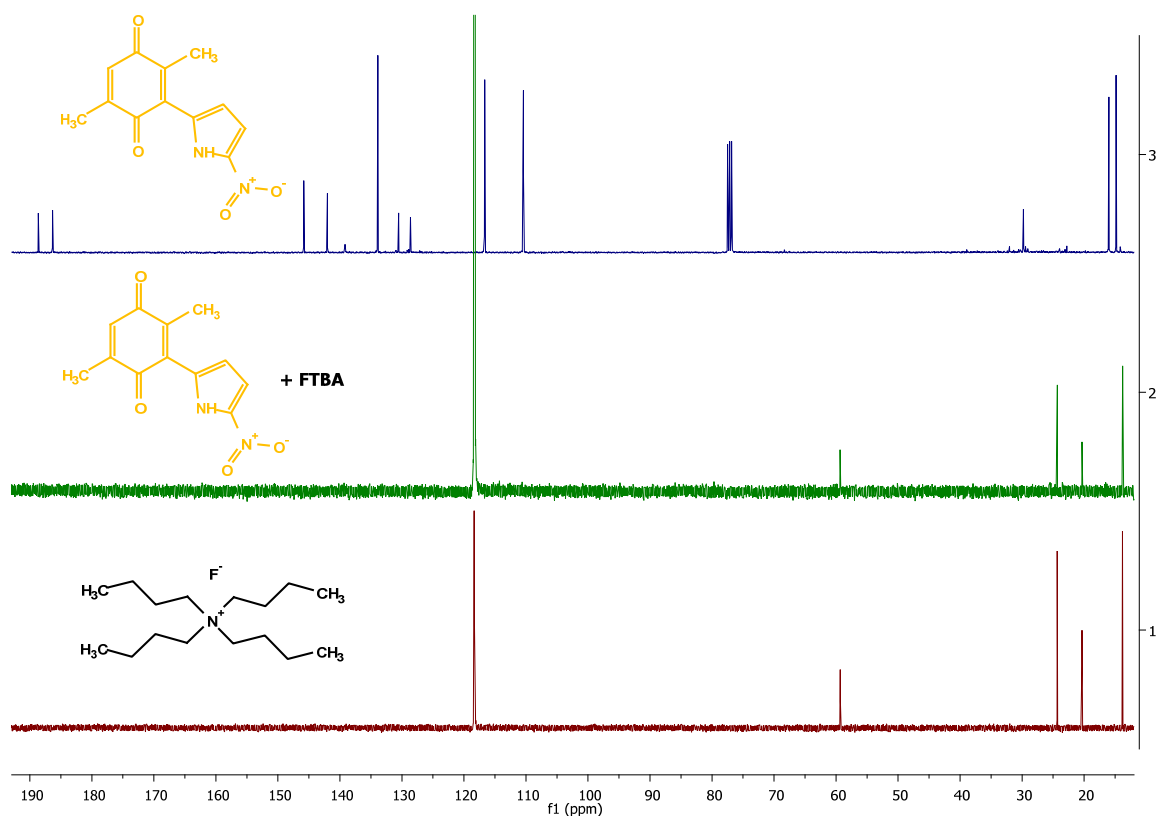


Figura 46. Espectro de RMN ^{13}C de **36 saturado con FTBA a 125 MHz en CD_3CN .**

Los espectros de RMN ^{19}F , empleando como referencia externa ATF se ilustran en la figura 31 donde se puede apreciar que en el espectro del FTBA (Figura 47a) aparece una señal en -116 ppm; para el compuesto **35** en presencia de FTBA (Figura 47b) se observan dos señales con desplazamientos químicos de -75 ppm y otra de -138 ppm y finalmente para el compuesto **36**, también en presencia de FTBA, (Figura 47c) se aprecia solo una señal en -127 ppm.

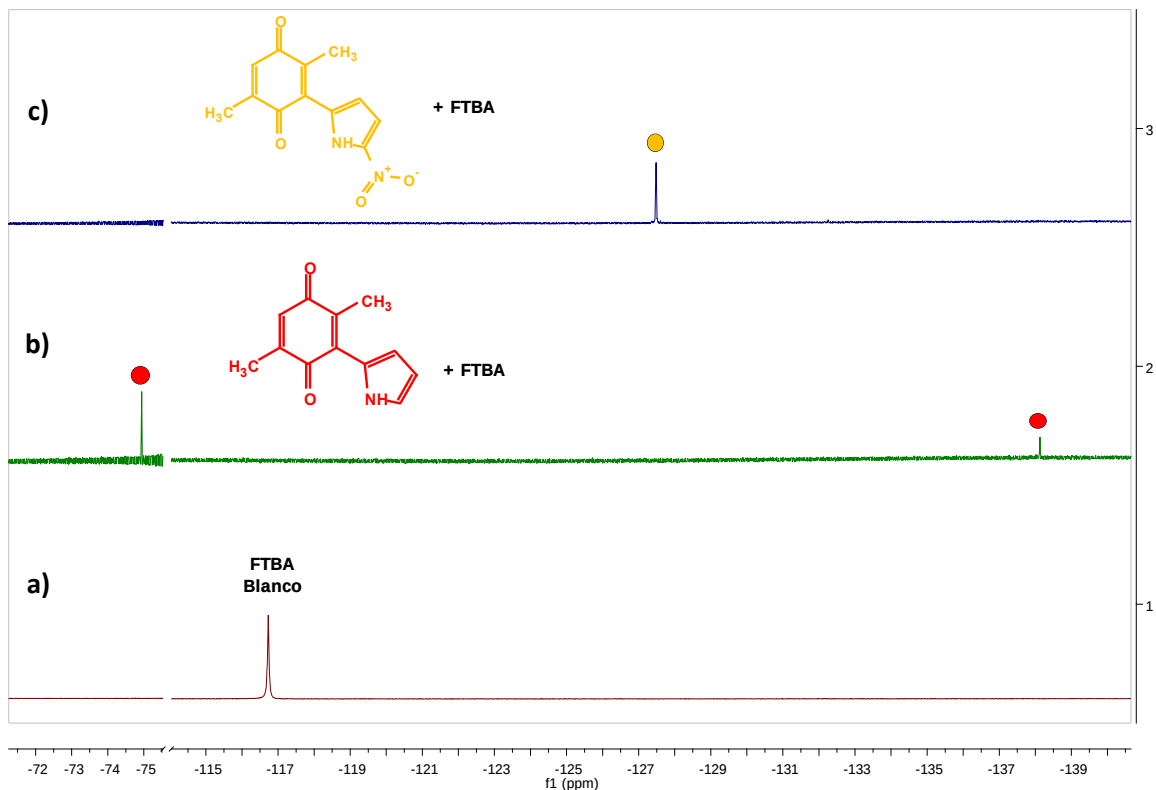


Figura 47. Comparación entre los espectros de RMN ^{19}F de a) FTBA, b) del compuesto 35+FTBA y c) 36+ FTBA a 470 MHz en CD_3CN .

Los resultados indican que el compuesto **35** interactúa con dos átomos de flúor, uno con el pirrol mediante puente de hidrógeno y otro con el sistema π -deficiente, a -76 ppm la señal correspondiente al puente de hidrógeno y a -138 ppm la señal correspondiente a la interacción tipo π -anión, mientras que para el compuesto **36** solo se observa una señal en -128 ppm debida a la única interacción que es la π -anión.

6.10.2 Titulaciones en UV-Vis

Xu y colaboradores (2011) reportaron la medición de interacciones de tipo anión- π realizando titulaciones en UV-Visible.⁸⁴ Debido a que resulta bastante interesante el estudio colorimétrico de los derivados de pirrolil quinona, se decidió realizar las titulaciones siguiendo la misma metodología utilizada por nuestro grupo de trabajo.⁴¹

El compuesto **35** presenta con una banda centrada en 500 nm. En la figura 48 se observa, que tras la adición del fluoruro (0-30 eq), un efecto batocrómico que termina en absorción máxima a 390 nm, pasando por dos puntos isobécticos uno por 450 nm y otro de menor proporción por 610 nm, indicando la formación de dos especies en el equilibrio. Es notorio que el compuesto pasa de color rojo a amarillo.

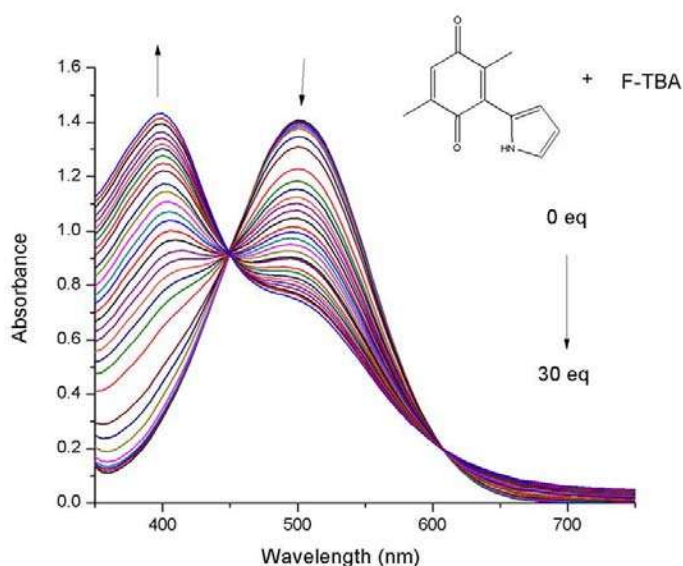


Figura 48. Titulación en UV-Vis del compuesto 35.

En concordancia con los datos obtenidos por RMN ^1H y ^{19}F donde se generan dos señales, los dos puntos isobécticos en UV-Vis, confirman dos tipos de interacciones, primeramente y de manera rápida la interacción de tipo π -anión entre el fluoruro y el anillo de la benzoquinona, y en segunda instancia y con menos fuerza un puente de hidrógeno entre en NH del pirrol y otro anión fluoruro.

⁸⁴ Xu Z., Singh N., Kim N., Spring D., Kim K., Yoon J., *Chem Eur J.* **2011**, 17, 1163-1170.

En contraparte, la presencia del nitro, fuertemente electroatractor, que le atribuye al compuesto **36** una coloración amarilla intensa, cambia su coloración a morado al interactuar con fluoruro. La banda de absorción con λ_{max} 340 nm, presenta un efecto hipsocrómico después de la saturación con fluoruro (0-30 eq) a λ_{max} 390 nm, además de otra absorción importante en 530 nm, presentando un solo punto isobéptico que indica la formación de una especie de interacción con el anión fluoruro (figura 49).

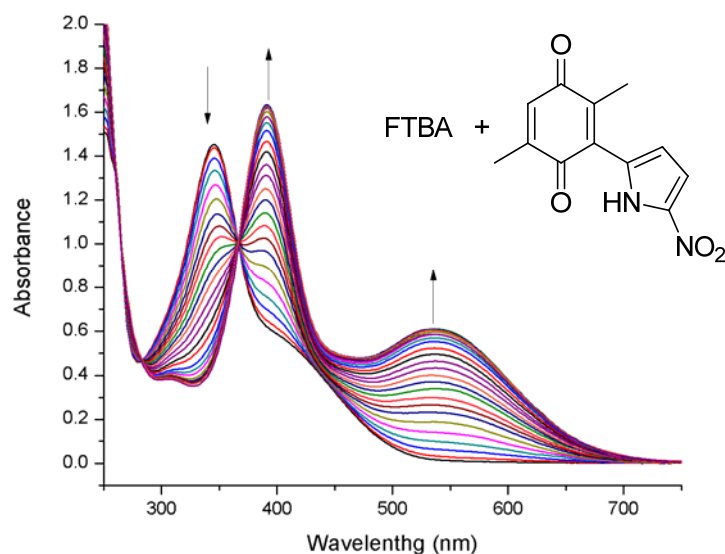
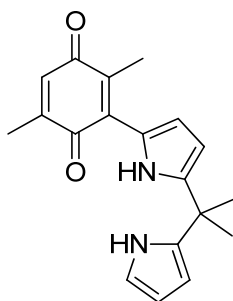


Figura 49. Titulación en UV-Vis del compuesto 36.

Por extrapolación con otras pirrolilquinonas y por los datos espectroscópicos tanto de UV/visible como de RMN y particularmente el hecho de encontrar únicamente una señal para flúor en el espectro de RMN ^{19}F se puede pensar que la interacción es de tipo π -anión.

El compuesto **48**, se puede manejar como un caso diferente a las pirrolil quinonas **35** y **36** pues esta contiene en su estructura una función amida que puede influir sobre la región reconocedora de la dipirrolil quinona en cambios conformacionales, efecto electrónico remoto y como un grupo adicional con capacidad de interactuar con el FTBA. Sin embargo al parecer su comportamiento es más bien parecido al compuesto análogo **31** previamente descrito por nuestro grupo de trabajo pues se observó un comportamiento espectroscópico similar en la titulación por UV-Visible.



31

Inicialmente, el compuesto de color morado intenso presentó una λ_{max} 535 nm y al entrar en contacto con el FTBA sufre un comportamiento batocrómico dando lugar a λ_{max} 435 nm (Figura 50) pasando por puntos isobésticos (Figura 51) que sugieren la interacción del fluoruro con el sistema π y con los pirroles mediante puentes de hidrógeno. Los datos aquí obtenidos son insuficientes para determinar si hay interacción de la carboxamida con el anión pero si resulta interesante que de ser un comportamiento análogo a la dipirrolil quinona ahora se cuenta con un compuesto similar que contiene un grupo lipofílico en su estructura.

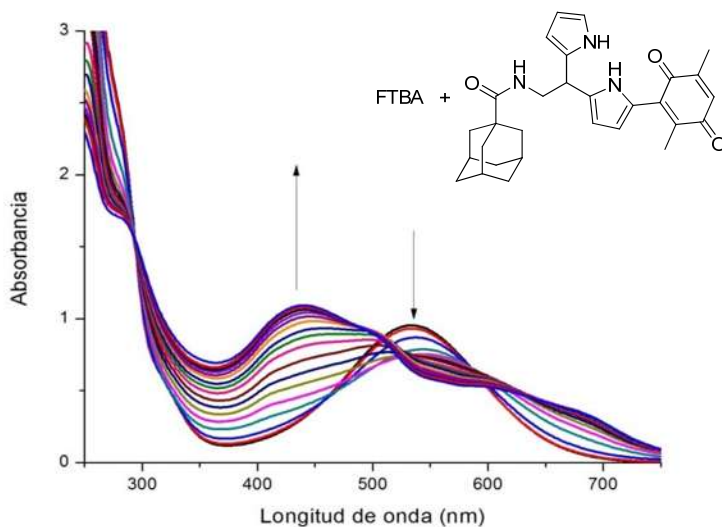


Figura 50. Titulación en UV-Vis para el compuesto 48.

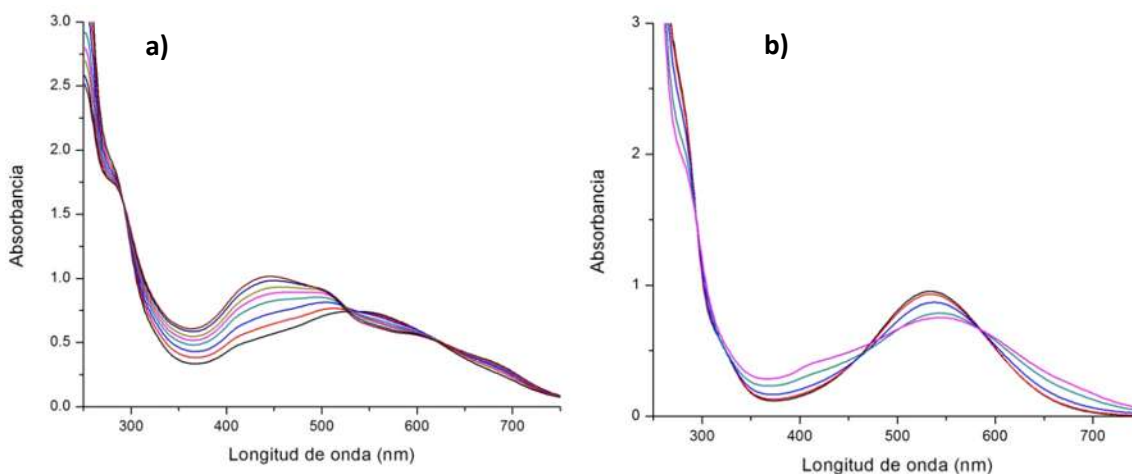


Figura 51. Análisis de los puntos isobésticos a diferentes concentraciones de anión fluoruro: a) 3 eq, b) 8 eq.

Finalmente, se tituló el derivado **43** (figura 52), importante desde el punto de vista estructural pues en su estructura se encuentra incorporada una amina primaria enlazada a la quinona, misma que puede modificar el momento cuadrupolar del sistema π y desfavorecer la interacción anión- π .

El compuesto presenta λ_{max} 254 nm y una segunda absorbancia en 410 nm.

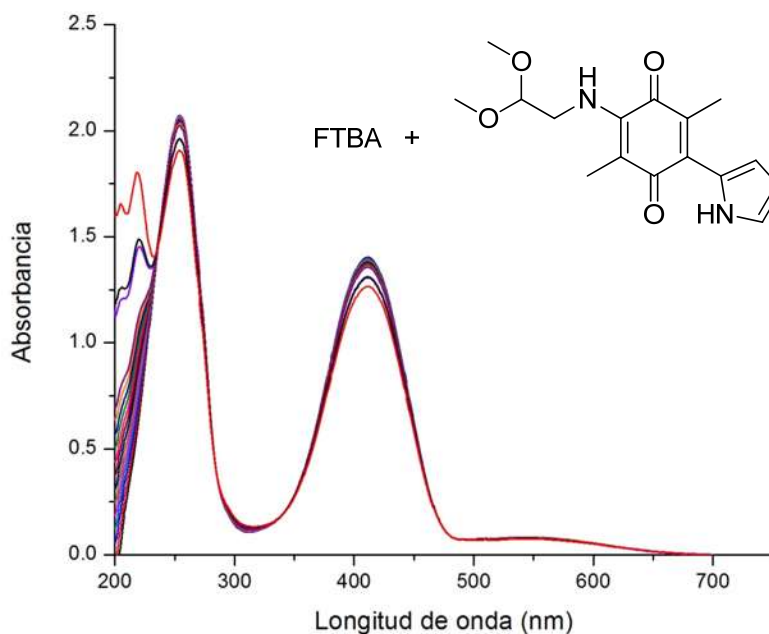


Figura 52. Titulación del compuesto 43 con 0-30 eq de FTBA.

La adición de FTBA a la solución presenta un efecto ligeramente hipocrómico el cual puede deberse a efecto de concentración por el cambio de volumen de la solución agregada de FTBA.

Aunque no hay aparente interacción, esta información es de gran interés para este estudio apoya la importancia de la deficiencia electrónica de los anillos aromáticos para que pueda producir la interacción π -anión (figura 53),⁸⁵ se puede pensar que el pirrol, no afecta de manera negativa e incluso puede influir positivamente en el momento cuadrupolar de la benzoquinona, en contraste, el derivado **43** que posee en su estructura un grupo electrodonador (una amina capaz de inyectar su par de electrones al sistema quinónico) compensa la deficiencia electrónica de la benzoquinona evitando la interacción π -anión, además de evitar el cambio conformacional y al mismo tiempo impidiendo la posibilidad del pirrol para reconocer al fluoruro por formar un puente de hidrógeno muy estable con el oxígeno de la quinona.

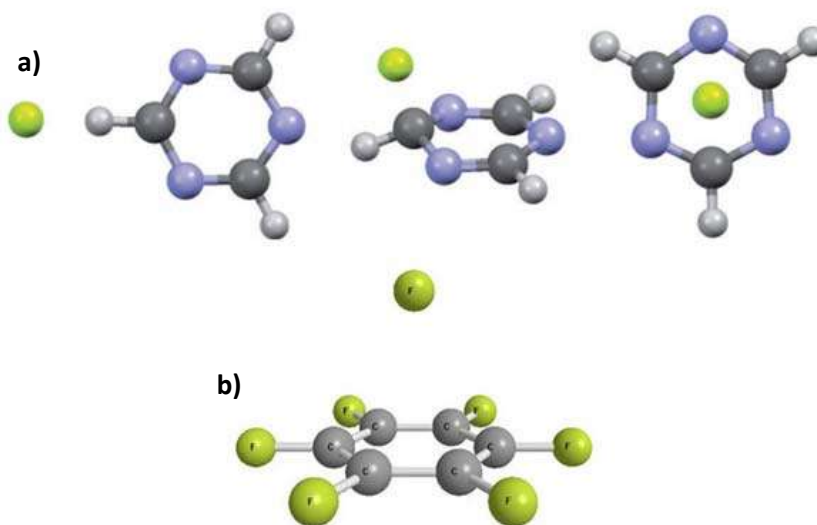


Figura 53 a) Esquema en la que se produce un reconocimiento π -anión entre triazina y F^- b) Interacción π -anión entre el hexafluorobenceno y F^-

⁸⁵ Frontera A., Gamez P., Mascal M., Mooibroek T., and Reedijk J., *Angew. Chem. Int.* **2011**, 50, 9564 – 9583.

6.11 Estudio de anclaje molecular (Docking).

Para la química orgánica, los métodos computacionales, en la actualidad, son una herramienta sumamente confiable, cuando son utilizados adecuadamente, para predecir reactividad, comportamiento espectroscópico y reconocimiento supramolecular entre otros. Una de las grandes utilidades es explorar la interacción entre compuestos orgánicos pequeños y sus blancos moleculares biológicos cuando estos existen.

Uno de los objetivos de este trabajo es la síntesis de compuestos con capacidad reconocedora de ADN mediante mecanismo de intercalación no típico. En este sentido el estudio de anclaje molecular o docking representa un apoyo importante que permite evaluar la energía de interacción entre fármaco-receptor que, pese a ser un proceso teórico computacional si muy cercana a los resultados experimentales. Por este motivo, se planteó como uno de los objetivos evaluar el comportamiento de los compuestos planteados como intercaladores **35**, **36**, **43**, **46**, **48**, **49**, **86**, **87** y **88** frente al material genético con código PDB 1Z3F.⁸⁶ Si bien es cierto que algunos de ellos no se obtuvieron por los motivos experimentales ya abordados en la discusión, el resultado que se obtenga aquí puede ser útil para que en un momento dado, de ser potencialmente reconocedor de ADN, sea abordado nuevamente mediante otra estrategia sintética o definitivamente pensar en modificar la estructura. Ambas serán aportaciones relevantes a la línea de investigación.

A manera de hacer el estudio más confiable, se realizó el estudio de manera paralela con la elipticina **85** al que se le ha demostrado experimentalmente interacción con el ADN y que además es un intercalador de ADN que cuentan con pirrol en su estructura (figura 54).

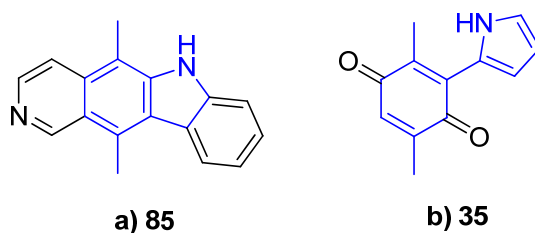


Figura 54. Comparación estructural a) elipticina b) pirrolil quinona.

⁸⁶ Canals, A., Purciolas, M., Aymami, J., Coll, M. *Acta Cryst.* **2005**, 61, 1009-1012.

Después de optimizar los ligandos y preparar el receptor, se realizó el estudio de anclaje molecular empleando el programa Autodock tools. Obteniendo un RMSD de 2.7217 el cual es un resultado aceptable para considerar confiable el estudio.

Con la finalidad de facilitar el manejo de los datos los compuestos a evaluarse agruparon en los sintetizados (Figura 55) y los no sintetizados (figura 56).

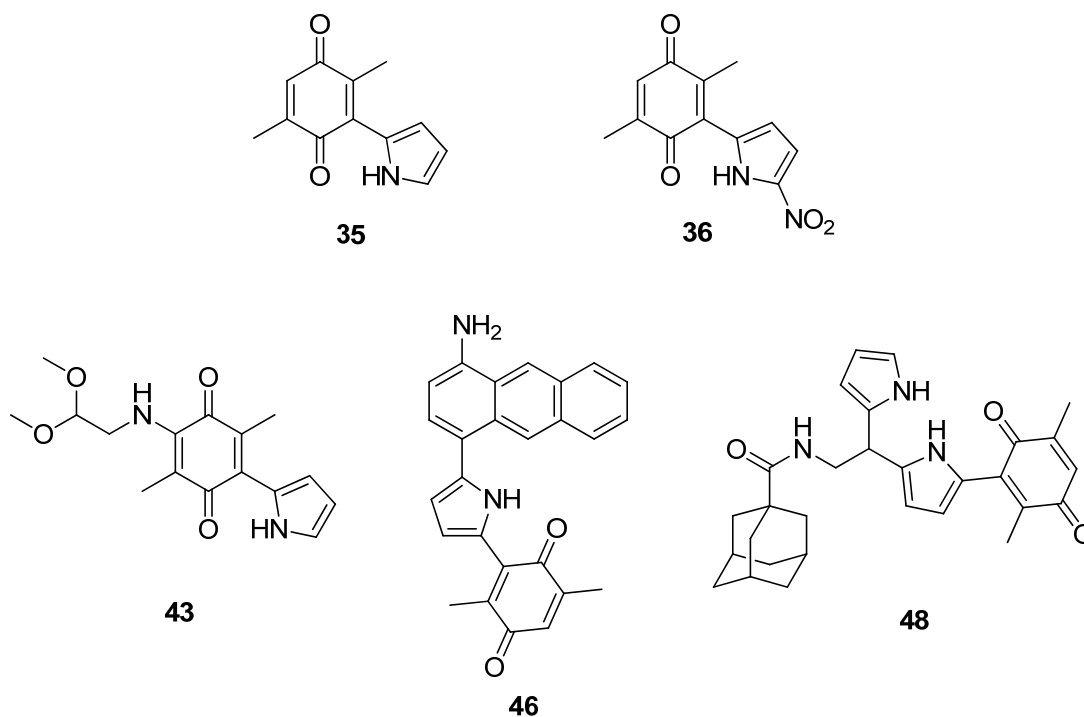


Figura 55. Estructuras para Docking de compuestos sintetizados.

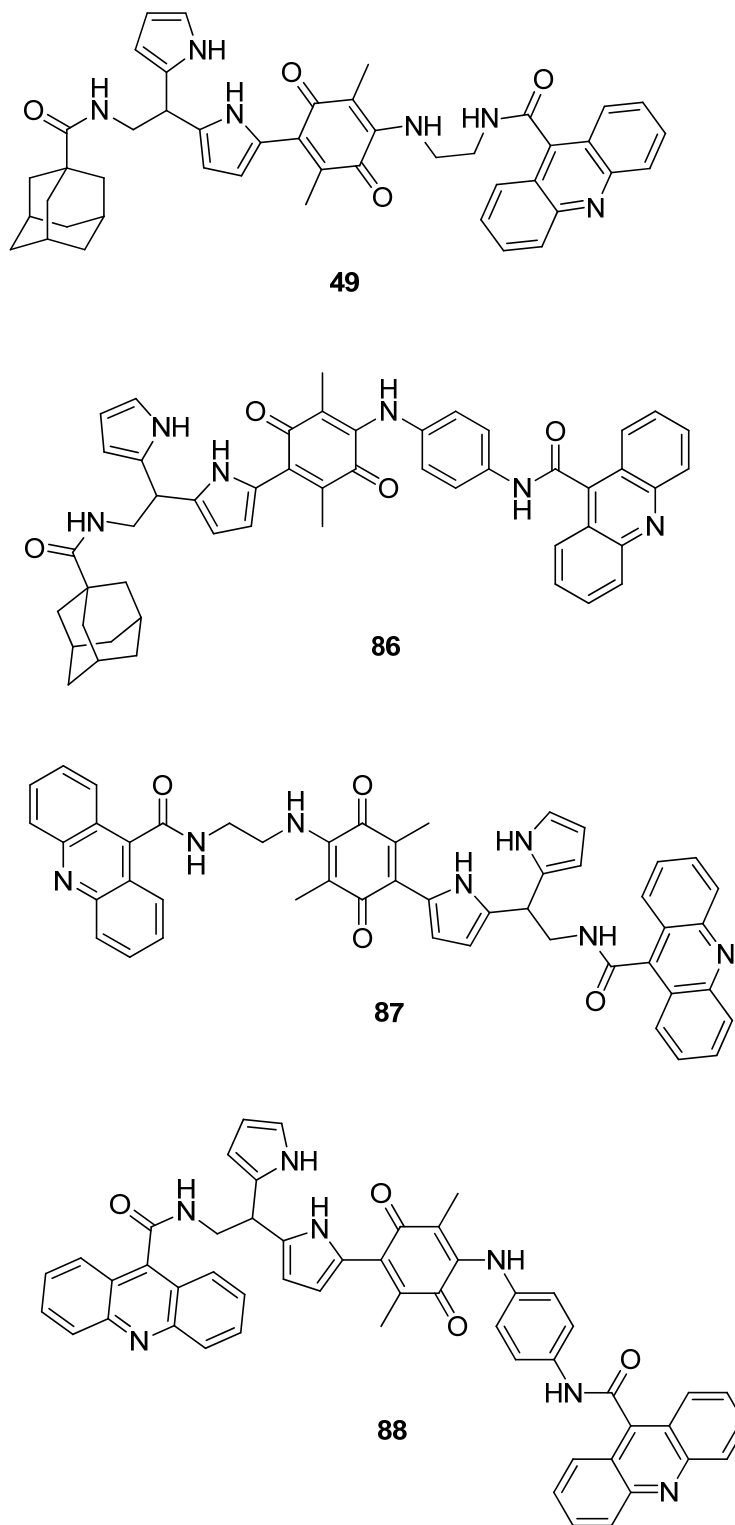


Figura 56. Estructuras para Docking de compuestos no sintetizados.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 7, en donde se presentan los datos de KI y energía de unión (ΔG) en Kcal/mol.

Tabla 7. Resultados obtenidos en Autodock4 rojos no sintetizados y negros sintetizados.

Molécula	KI	Energía de unión (autodock ΔG°)
Elíptica	771.26 nM	-8.34
35	44.85 μ M	-5.93
36	17.29 μ M	-6.5
43	24.46 μ M	-6.29
46	30.3 nM	-10.26
48	124.17 nM	-9.42
49	7.97 nM	-14.33
86	24.01 nM	-10.39
87	11.01 nM	-14.14
88	851.7 μ M	-15.36

Puesto que ΔG° es un indicativo de la energía de interacción con respecto a la energía de los sistemas aislados, y el proceso es exotérmico (de ahí los valores negativos) entre mayor (numéricamente hablando) sea esta energía más fuerte será la interacción. Así, se aprecia que los compuestos **46** y **48** presentan mayor interacción con el ADN que la elíptica misma y aunque **35**, **36** y **43** no manifiestan la misma energía de interacción si se encuentran en valores muy cercanos a la referencia.

Para el caso de **46** la interacción está más bien dada por la región del antraceno que se sabe que es un intercalador. Sin embargo llama la atención el resultado de **48** pues comparándolo con el resto de las pirrolil quinonas, sugiere que la interacción es favorecida teniendo dipirrometano en la estructura, lo cual es razonable pues se incrementa la superficie de interacción con los pares de bases.

El análisis de las estructuras resultante indica que los compuestos interactúan por medio de intercalación, lo que fortalece la hipótesis original de intercalación atípica de estos compuestos (figura 57).

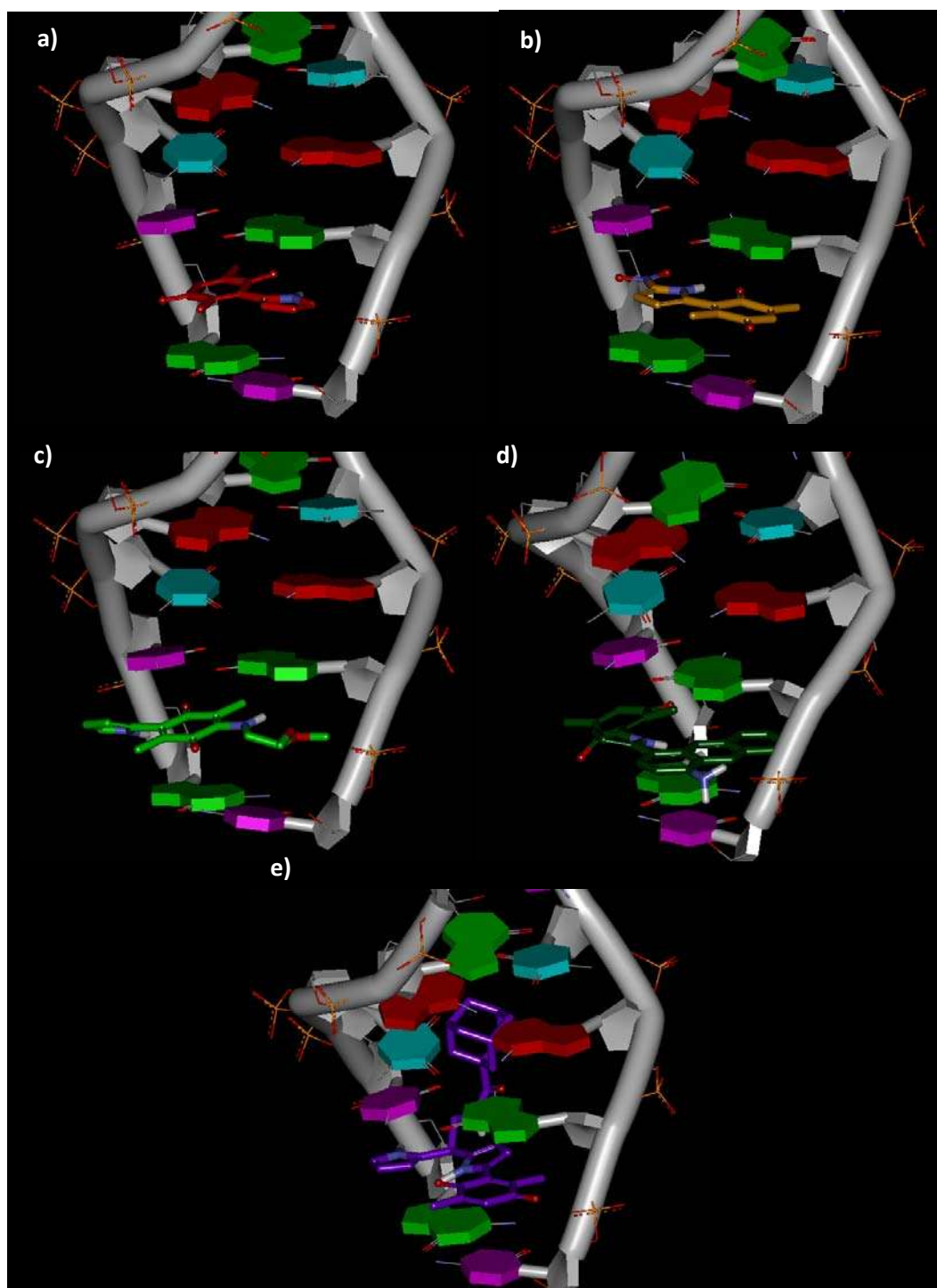


Figura 57. Interacción entre ligando receptor. a) 35, b) 36, c) 43, d) 46, e) 48.

Por su parte, el segundo grupo de compuestos presenta interacción importante que supera por mucho la energía de unión del valor de referencia. Sin embargo, llama más la atención que el mecanismo de interacción parece ser mas de reconocedor de surco que de intercalador (figura 58).

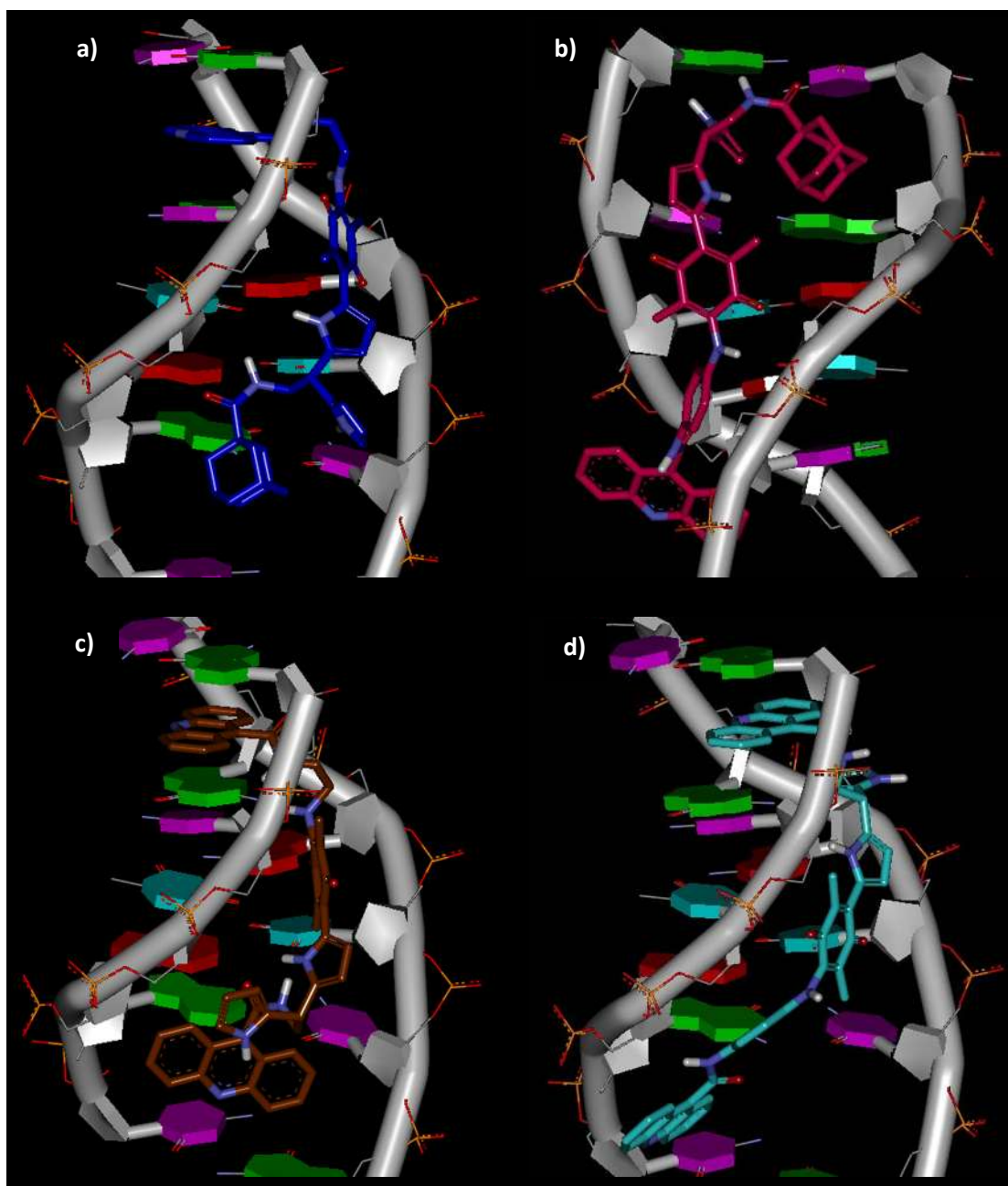


Figura 58. Interacción entre ligando y receptor. a) 49 b) 86 c) 87 c) 88.

Por su parte, en el análisis de los resultados 3D para los compuestos sintetizados se puede observar como todos los compuestos presentan interacciones intercalantes (figura 59).

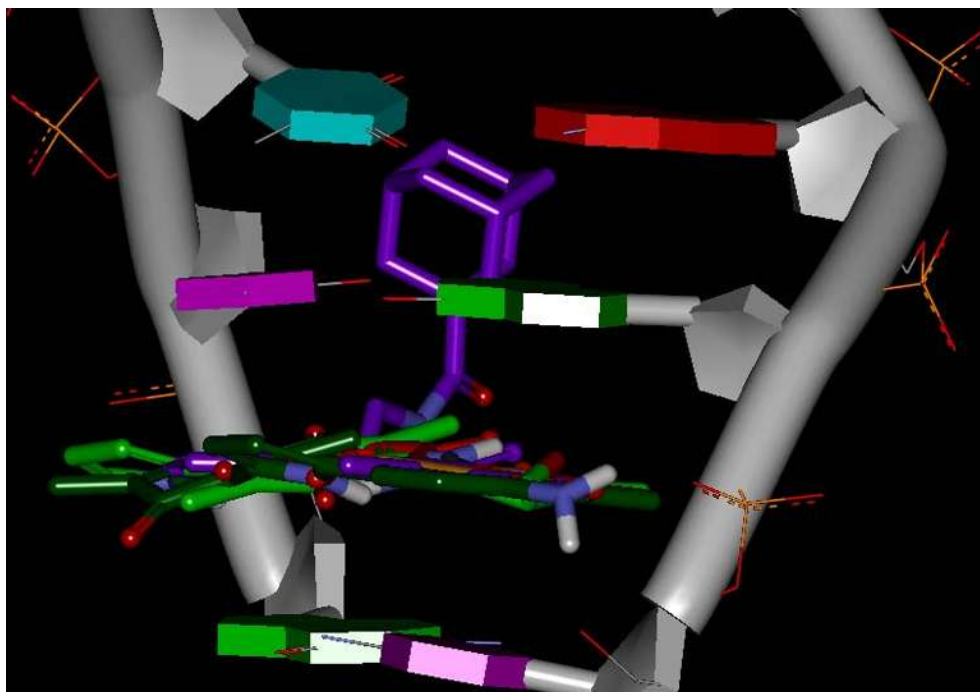
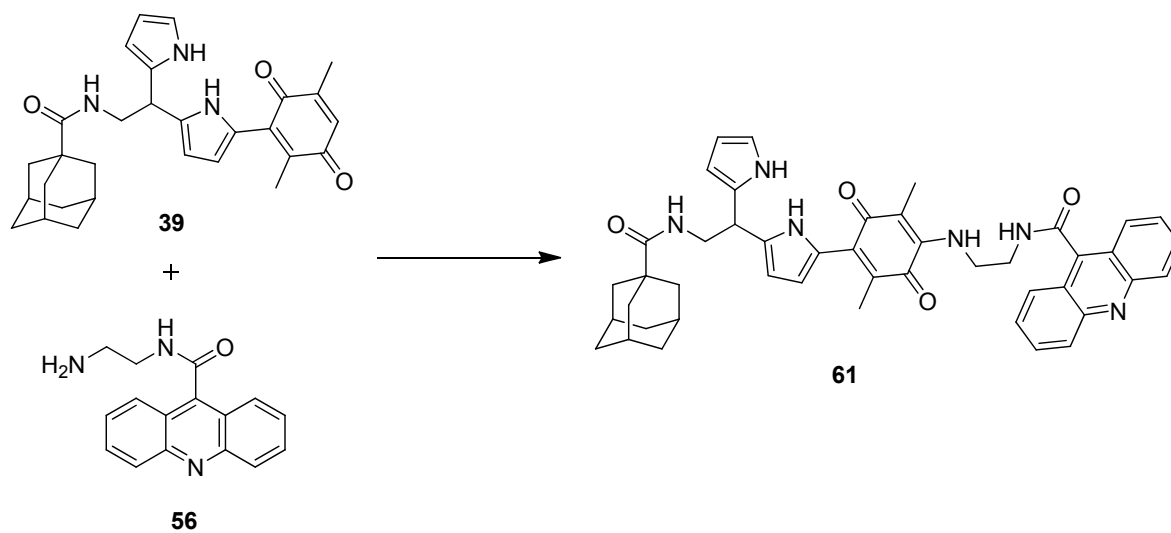


Figura 59. Resultado de todos los compuestos sintetizados.

En resumen el resultado del cálculo de las pirrolilquinonas indica que el sistema es capaz de comportarse como un agente intercalador atípico, siendo, el compuesto **48** probablemente el más relevante de la serie sintetizada tanto por manifestar una energía de interacción más elevada como por la presencia del grupo adamantilo que lo hace más susceptible a atravesar barreras lipofílicas por lo que tiene probabilidades de éxito como agente citotóxico. Así mismo, este compuesto es un intermediario clave para la obtención del compuesto **49** que es el segundo compuesto que teóricamente presenta la mejor interacción de toda la serie. De hecho, la síntesis de la región de la acridina no representa mayor problema experimental ya que aparentemente se logró las síntesis como se discutió anteriormente pero el reto será la incorporación de este fragmento por la región de la amina alifática a la quinona de **48** con un incremento en el rendimiento (esquema 9).



Esquema 9. Síntesis del compuesto 61.

6.12 Estudios de reconocimiento de ADN en UV-Visible.

El estudio *in silico* reveló que los compuestos sintetizados **35**, **36**, **43**, **46** y **48** tienen una amplia posibilidad de ser agentes intercaladores de ADN, por lo que se procedió a evaluar la actividad *in vitro* de dichos compuestos con la finalidad de complementar la parte teórica.

En los últimos años, se han descrito varias metodologías para la determinación de interacciones entre un compuesto y el ADN tales como la espectroscopia UV-Visible,⁸⁷ emisión de fluorescencia⁸⁸ y voltamperometría cíclica⁸⁹ por mencionar algunos. Por su parte, la espectroscopia UV-Visible es un método ampliamente usado en la exploración de las interacciones ADN-ligando, ya que permite evaluar la existencia de interacciones, así como también discriminar entre la intercalación o el reconocimiento de surco dependiendo del comportamiento que se aprecia en la diferencia de absorción en el espectro.^{90,91} Debido a esto, se decidió realizar la titulación de los derivados obtenidos (figura 60). Se preparó una solución de ADN en una mezcla DMSO:Buffer de fosfatos pH 7.0 en una proporción 2:1 y se adicionó el compuesto en pequeñas proporciones disueltos de igual forma.

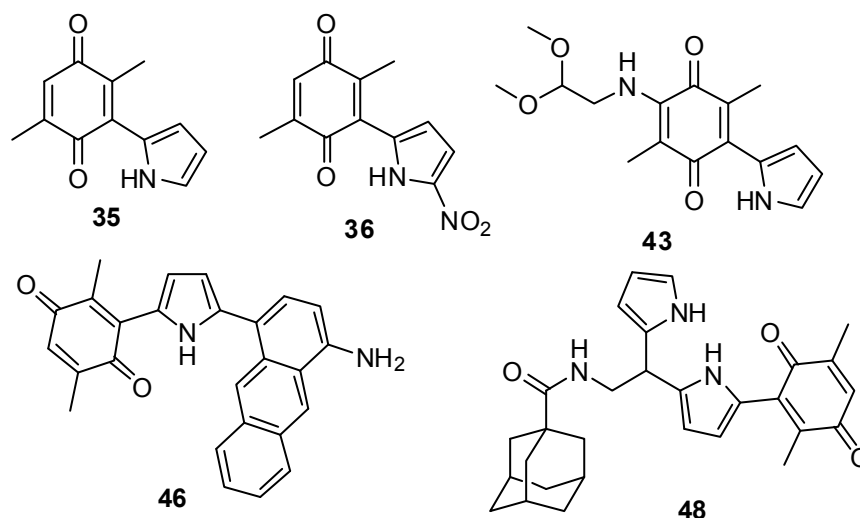


Figura 60. Compuestos titulados.

⁸⁷ Sun H., Xiang J., Liu Y., Li L., Li Q., Xu G., Tang Y., *Biochimie*, **2011**, 93, 1351–1356.

⁸⁸ Jaumot J., Gargallo R., *Curr. Pharmaceut. Des.* **2012**, 18, 1900–1916.

⁸⁹ Carter M., Bard A., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7528–7530.

⁹⁰ Sirajuddin M., Ali S., Badshah A., *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2013**, 124, 1–19.

⁹¹ Martínez R., Chacón-García L. *Curr Med Chem.* **2005**, 12, 127–151.

Desafortunadamente, los compuestos sintetizados poseen una λ_{max} de absorción en 270 nm que se traslapa con la absorbancia del ADN por lo que se dificulta la interpretación. Sin embargo, en el caso del compuesto **35** se puede apreciar un notable desplazamiento batocrómico en la región entre 300 y 350 nm, sugiriendo la existencia de una interacción (figura 61).

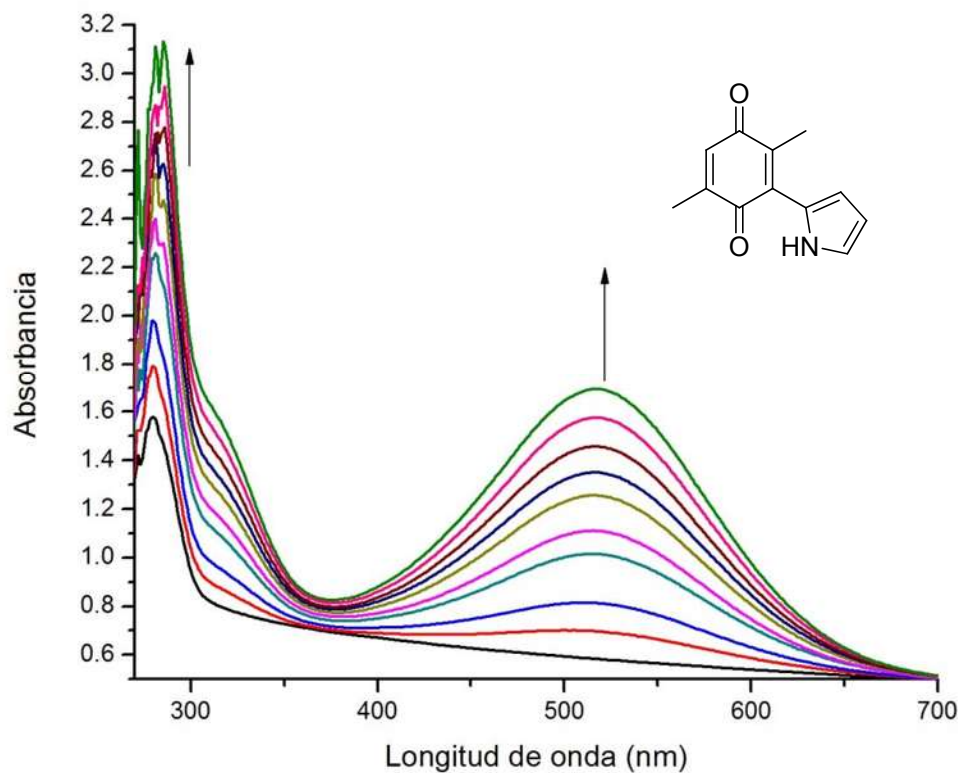


Figura 61. Titulación de ADN con una solución de 35 en DMSO:Búffer 2:1

En el caso del compuesto **36**, se aprecia una situación similar al ejemplo anterior, pero en este caso el desplazamiento hipercrómico y batocrómico se ve más claramente, lo que nos sugiere que la interacción es más rápida (figura 62).

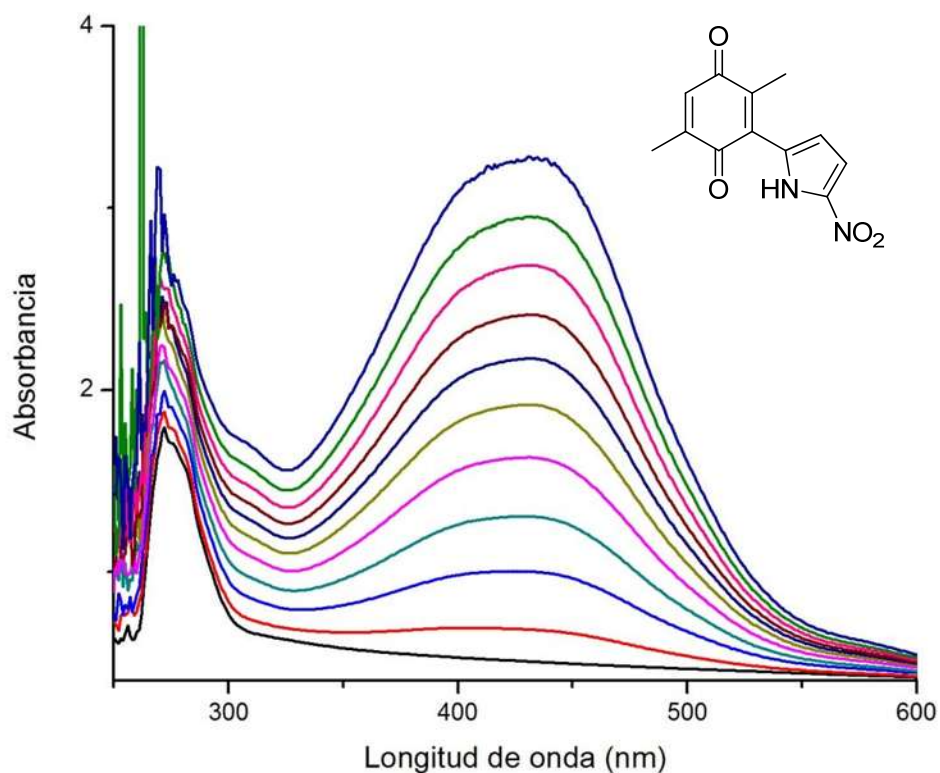


Figura 62. Titulación de ADN con una solución de **36** en DMSO:Búffer 2:1

En el caso de la titulación del compuesto **43** el apilamiento de espectros proporcionó información importante al momento de realizar la interpretación de los resultados ya que únicamente muestra un ligero desplazamiento hipercrómico en la región de 300 a 350 nm que indica que la interacción con el ADN no es lo suficientemente importante muy probablemente debido a que el aminoacetal al ser una molécula con libre giro disminuye la capacidad intercaladora del sistema pirrolil quinona (figura 63).

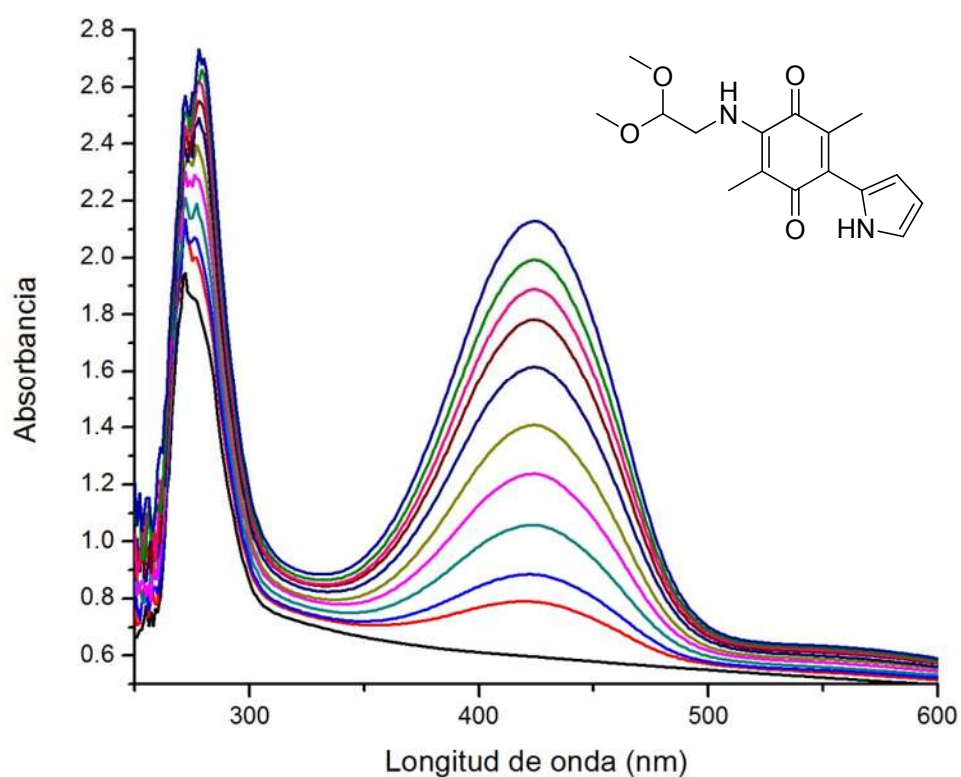


Figura 63. Titulación de ADN con una solución de 43 en DMSO:Búffer 2:1

A su vez este ejemplo corrobora que el desplazamiento hipercrómico y batocrómico que presentan los otros compuestos no se debe a efectos de concentración, sino a una interacción supramolecular con el ADN.

Por su parte, la titulación del compuesto **48** presenta los desplazamientos hipercrómico y batocrómico como los demás en la región de 300 a 350 nm (figura 64), aunque adicionalmente también aparece un desplazamiento batocrómico en la banda de 260 nm correspondiente al ADN y que llega a 290 nm, efecto que no se había observado en las titulaciones anteriores y que nos habla muy probablemente de una interacción más fuerte.

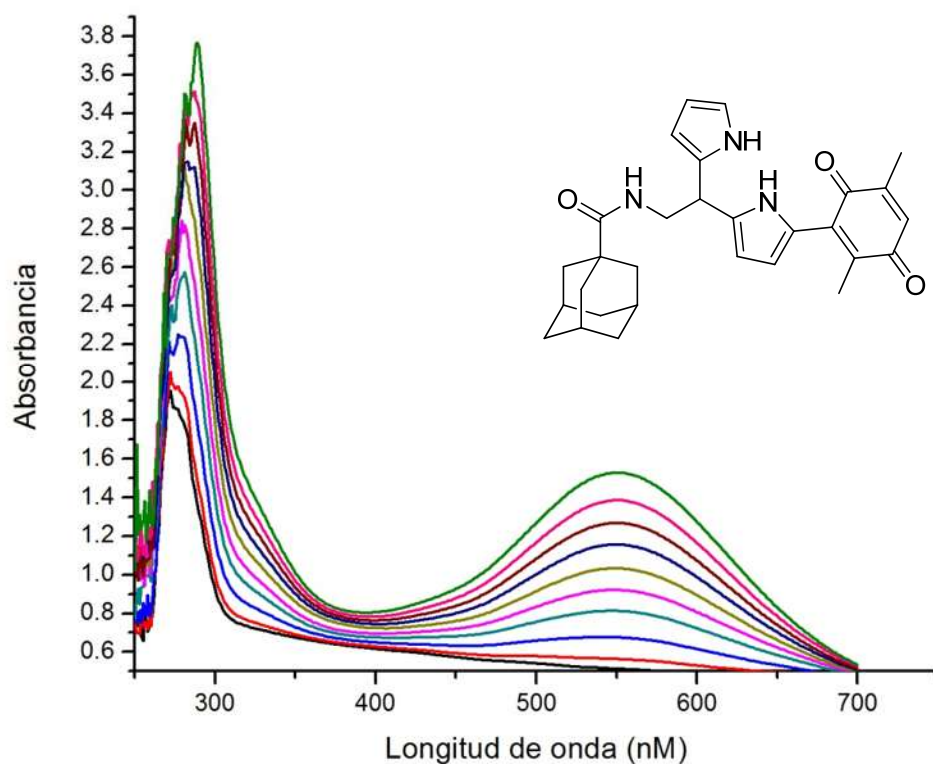


Figura 64. Titulación de ADN con una solución de 48 en DMSO:Búffer 2:1

Es muy posible que en este caso en particular los grupos carboxamida y pirrol libres cuenten con la capacidad suficiente para formar puentes de hidrógeno los cuales generan interacciones adicionales a los compuestos monopirrólicos.

Finalmente, el compuesto **46** fue el que presentó la interacción más importante dando lugar a un desplazamiento tanto hipercrómico como batocrómico muy marcado en la región de 260 (que corresponde a la banda del ADN) a 350 nm (figura 65).

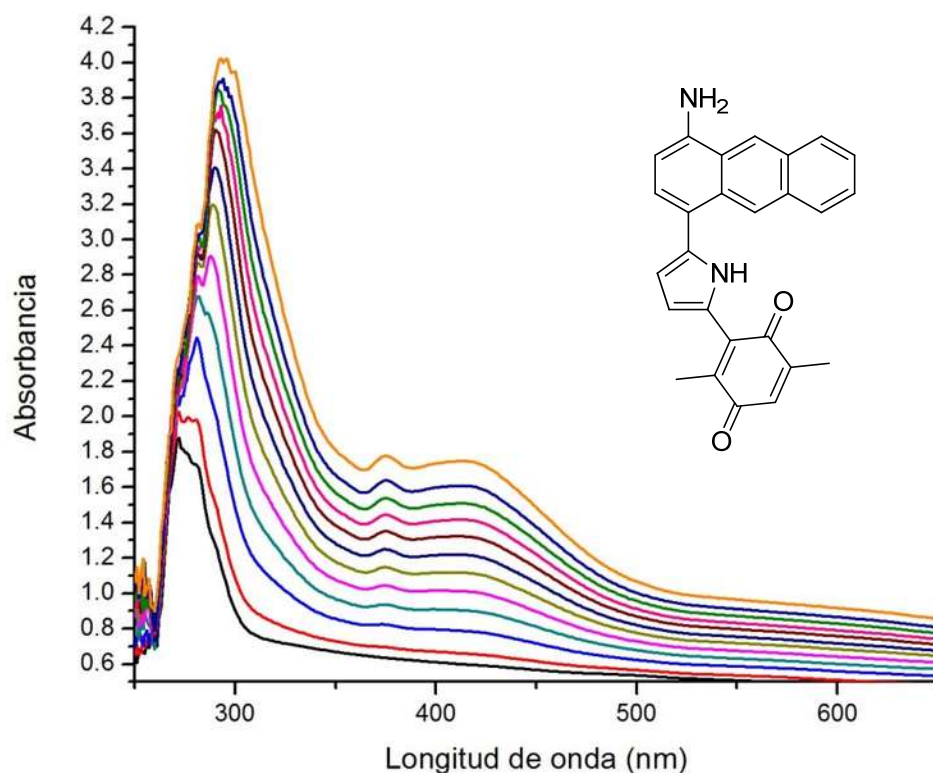


Figura 65. Titulación de ADN con una solución de 46 en DMSO:Búffer 2:1

Es muy probable que el efecto batocrómico tan marcado de este compuesto se deba a que además de la región intercaladora atípica de pirrolil quinona, posee una región intercaladora típica de antraceno, la cual favorece considerablemente la interacción con el ADN.

Los resultados obtenidos en las titulaciones de los compuestos nos muestran una importante correlación con los obtenidos en las pruebas de anclaje molecular, en la tabla 8 se muestran las energías de unión obtenidas del estudio Docking de los compuestos intercalados.

Tabla 8. Energías de unión obtenidas en Autodock4

Molécula	KI	Energía de unión (autodock ΔG°)
46	30.3 nM	-10.26
48	124.17nM	-9.42
36	17.29 μ M	-6.5
43	24.46 μ M	-6.29
35	44.85 μ M	-5.93

Se ha reportado que los compuestos que se unen por intercalación con el ADN usualmente resulta un desplazamiento hipocrómico y batocrómico, debido a que el apilamiento entre un cromóforo aromático y el par de bases de ADN,⁹² genera una cercanía suficiente para que llevar a cabo transferencia electrónica entre el sistema π de las quinonas como de las bases púricas y pirimídicas y en consecuencia, la energía de transición para pasar de un estado π a π^* disminuye, lo que se traduce en un desplazamiento batocrómico.⁹³

Con todo lo anterior podemos decir que los compuestos que presentan una interacción considerable con el ADN son los compuestos **46**, **48** y **36** mientras que el compuesto **35** presenta una interacción más débil y finalmente el compuesto **43** no presenta una interacción apreciable e UV-Visible, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el Docking.

⁹² Liu J., Zhang T., Lu T., Qu L., Zhou H., Zhang Q., Ji L., *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91*, 269–276.

⁹³ Sirajuddin M., Ali S., Haider A., Shah N., Shah A., Khan M., *Polyhedron.*, **2012**, *40*, 19–31.

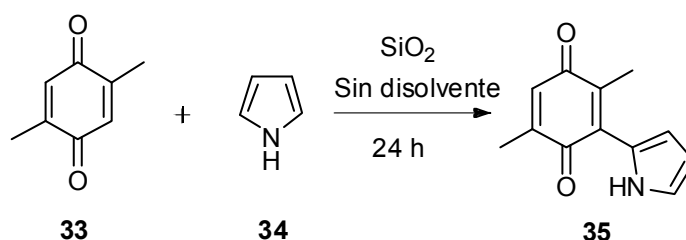
7. Conclusiones.

- a) El núcleo pirrolil quinona presenta actividad frente al ADN posiblemente por medio de intercalación.
- b) De acuerdo a los resultados obtenidos experimental y computacionalmente, los compuestos **48**, **45** y **36** poseen una actividad intercaladora prometedora, mientras que el **35** una actividad media y el **43** una actividad muy pobre.
- c) Los resultados computacionales para los compuestos **49**, **86**, **87** y **88** presentan ΔG° mucho menor al de referencia, por lo cual son buenos candidatos para su síntesis.
- d) Los compuestos **35**, **36**, **48** y **43** fueron buenos reconocedores de anión fluoruro por medio de interacciones π -anión y puentes de hidrógeno.
- e) La versatilidad en la reacción de benzoquinonas permite llegar a la obtención de productos de interés, como en el caso del triciclo **80** el cual posee analogía con algunos productos naturales que presentan actividades biológicas interesantes.

8. Materiales y Métodos.

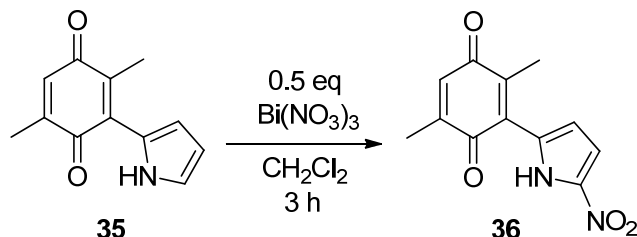
La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de protón (RMN ^1H) se obtuvo con un equipo Varian Mercury Plus de 300 MHz, 400 MHz y/o 500 MHz empleando como referencia TMS y como disolvente cloroformo (CDCl_3), cloruro de metileno (CD_2Cl_2), acetonitrilo (CD_3CN), metanol (CD_3OD) o dimetil sulfóxido (DMSO-D_6) deuterado, para las titulaciones con fluoruro se realizaron en CD_3CN y las titulaciones en UV-Visible se realizaron en disolventes grado HPLC. Los espectros de masas se obtuvieron en un equipo Hewlett Packard modelo 5989B, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 serie 2 plus. Todos los reactivos fueron de origen comercial de la empresa Aldrich. El pirrol se destiló antes de hacer las reacciones.

8.1 Síntesis de la pirrolil quinona **35**.



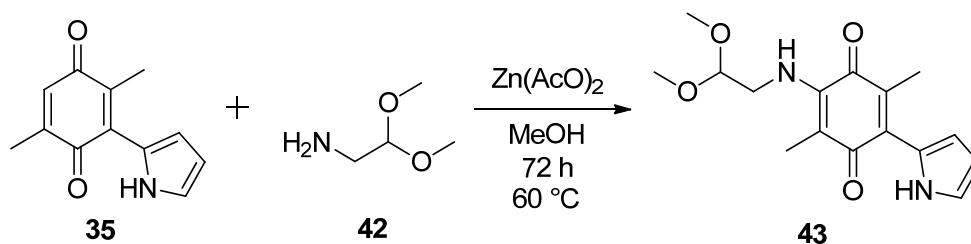
En un matraz de bola de 10 mL se pusieron a reaccionar 2.205 mmol de la dimetil benzoquinona **33** con 5 eq de pirrol, primeramente se disolvió la benzoquinona en CH_2Cl_2 y se agregó el pirrol, se homogenizó la solución y se agregó 1.5 g de SiO_2 a la mezcla, se evaporó el disolvente y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 72 horas, al pasar el tiempo de reacción se aprecia un color oscuro intenso en la sílice. La purificación se realizó por cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluyente un sistema Hex:AcOEt 98:2 el compuesto obtenido fueron cristales en forma de aguja de color rojo muy intenso y los espectros de RMN ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas y una absorción máxima en UV-Vis de 500 nm, el rendimiento calculado fue de 17%.

8.2 Síntesis de la nitropirrolil quinona **36**.



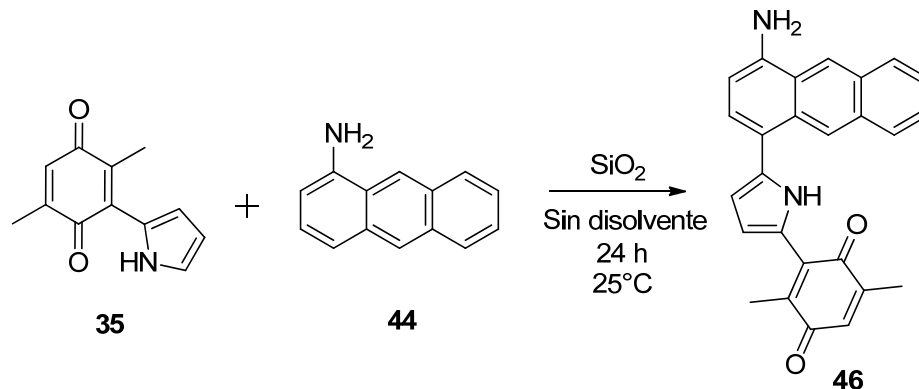
En un matraz de bola de 10 mL se pusieron a reaccionar 0.1492 mmol del compuesto **35** con 0.5 eq de $\text{Bi(NO}_3)_3$, primeramente se disolvió la pirrolilbenzoquinona en CH_2Cl_2 y se agregó el $\text{Bi(NO}_3)_3$, la reacción se puso en agitación a temperatura ambiente por 3 horas, al concluir el tiempo el medio de reacción se aprecia de color café, se evaporó el solvente y se purificó por medio de cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluyente un sistema de Hex:AcOEt 7:3, se obtuvo un sólido de color amarillo muy intenso y los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas para el compuesto, un ión molecular de 246 m/z correspondiente al compuesto **36** además de una absorción máxima de 350 nm en UV-Vis. El rendimiento calculado para este compuesto fue del 44%.

8.3 Síntesis de la aminoacetal pirrolil quinona **43**.



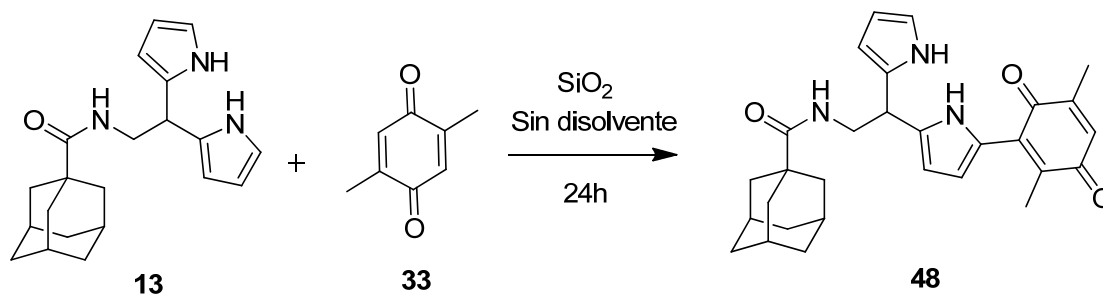
En un matraz de bola de 10 mL se disolvió el compuesto **35** en disueltos en EtOH, posteriormente se adicionó 0.18 mmol de 1-aminoacetaldehído dimetil acetal **42** gota a gota, se puso en agitación a temperatura ambiente por 24 horas en ausencia de luz, al concluir el tiempo el medio de reacción se aprecia de color café, se evaporó el disolvente y se purificó por medio de cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluyente un sistema de Hex:AcOEt 7:3, se obtuvo un sólido de color verde muy intenso y el espectro de RMN de ^1H mostró las señales esperadas para el compuesto **43**, el rendimiento calculado para este compuesto fue del 47%.

8.4 Síntesis de la amino antracen-pirrolil quinona **46**.



En un matraz de bola de 10 mL se pusieron a reaccionar 1 mmol de la pirrolil quinona **35** con 2 mmol de **44**, primeramente se disolvió **35** en CH_2Cl_2 y se agregó **44**, se homogenizó la solución y se agregó 1.5 g de SiO_2 a la mezcla, se evaporó el disolvente y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 24 horas, al pasar el tiempo de reacción se aprecia un color oscuro intenso en la sílice. La purificación se realizó por cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh empleando como eluyente un sistema Hex:AcOEt 8:2 el compuesto obtenido fue un sólido de color verde-azul muy intenso y el espectro de RMN ^1H mostró las señales esperadas, además de una absorción máxima en UV-Vis de 430 nm, el rendimiento calculado fue de 40%.

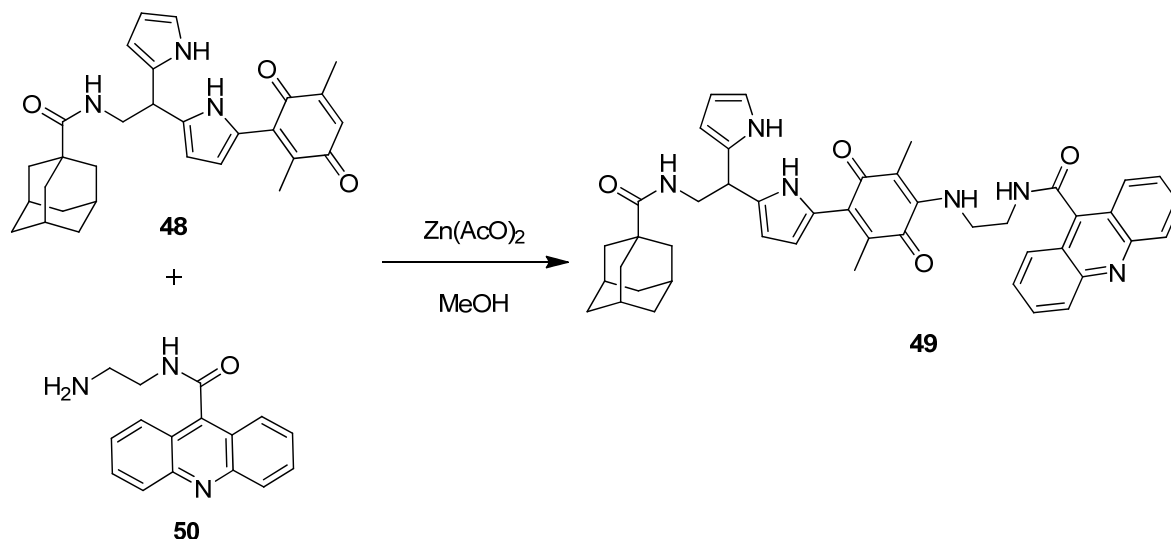
8.5 Síntesis de la adamantil dipirrolil quinona **48**.



En un matraz de bola de 10 mL se puso a reaccionar 0.15 mmol del compuesto **13** con 1 eq de compuesto **33**, primeramente se disolvió el dipirrol en CHCl_3 y se adicionó la benzoquinona **33**, se homogenizó la solución y se agregó 1 g de SiO_2 a la mezcla, posteriormente se dejó evaporar el disolvente y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 24 horas, al pasar el tiempo, se aprecia un color oscuro intenso en la sílice. Se purificó por medio de cromatografía en placa preparativa, empleando como fase sólida sílica gel y como eluyente una mezcla CHCl_3 :AcOEt 9:1 con 1% de TEA eluyendo 3 veces,

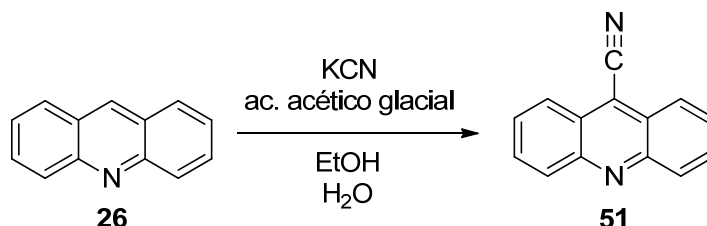
el espectro de RMN ^1H muestra las señales esperadas para el compuesto **48** además de una banda de absorción máxima en 550 nm.

8.6 Síntesis del compuesto 49.



En un matraz de 10 mL se pusieron a reaccionar 0.060 mmol del compuesto **48** con 0.060 mmol de Zn(AcO)_2 en agitación a temperatura ambiente por una hora; posteriormente se adicionó disuelto en MeOH 0.063 mmol de **50** y se dejó en agitación a 40°C por 3 días. El rendimiento para el producto **49** fue del 5% dificultando su caracterización completa.

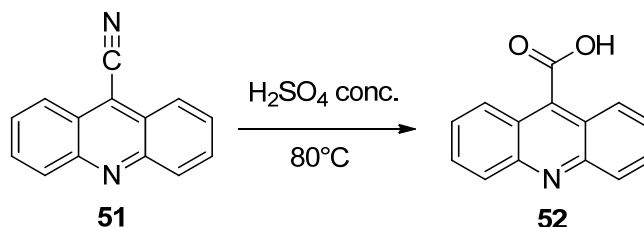
8.7 Síntesis de la 9-cianoacridina 51.



En un matraz balón de 50 mL se disolvieron 5.5 mmol de acridina **26** en 4.5 mL de metanol y se adicionó 0.32 mL de ácido acético glacial, posteriormente se agregan 0.269 mmol de KCN en agua apreciándose la formación de un precipitado; se calentó a reflujo por una hora observándose al final un sólido de color café oscuro. Se filtró y el sólido se lavó con una solución de NaOH 0.2M (2x5 mL) y con agua destilada (3X10 mL), posteriormente se recristaliza en n-propanol, obteniéndose agujas finas de color amarillo

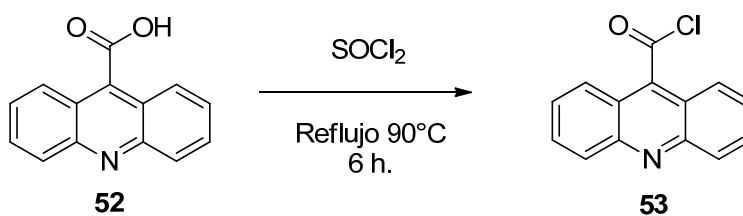
claro, el espectro de masas dio un ión molecular de 204 m/z correspondiente al compuesto **51**. El rendimiento calculado fue del 50%.

8.8 Síntesis del ácido 9-acridinóico **52**.



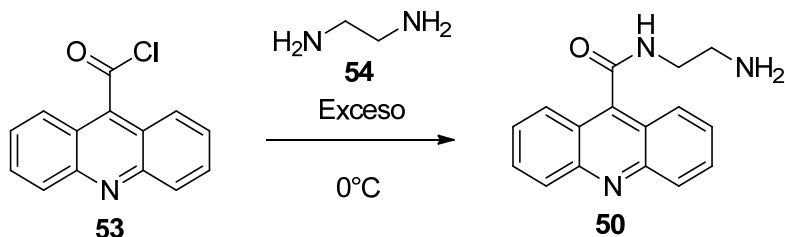
En un matraz balón de 50 mL se disolvieron 3.48 mmol de 9-cianoacridina **52** en 8 mL de H_2SO_4 concentrado y se calentó a 80°C por 2.5 h, posteriormente se enfrió a 0°C y se agregaron lentamente 36 mmol de NaNO_2 , se calentó cuidadosamente hasta no observar vapores color café; nuevamente se calentó por 2 h a 100°C , una vez frío se adicionó agua a 0°C lentamente generándose un precipitado de color amarillo, se filtró y se lavó con agua destilada (3X10 mL), se disolvió en la mínima cantidad de una solución de NaOH 2M, se filtró y la solución de color rojo oscuro se le agregó HCl concentrado gota a gota hasta la formación de un precipitado amarillo, se filtró nuevamente, se lavó con agua y se secó a vacío adicionando metanol. El rendimiento calculado fue del 80%.

8.9 síntesis del cloruro de acridinoilo **53**.



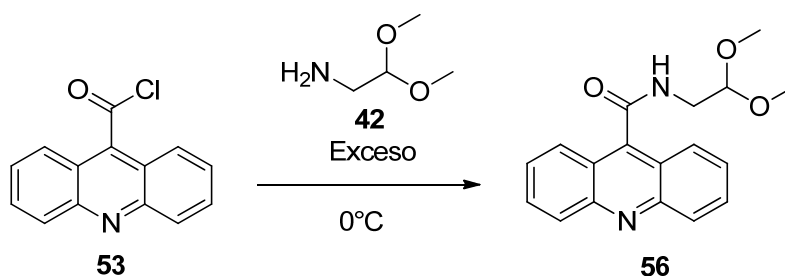
En un matraz balón de 10 mL se pusieron a reaccionar 0.448 mmol de **52**, con 2 mL de SOCl_2 a reflujo de 90°C por 6 horas, posteriormente se evaporó el exceso de SOCl_2 en vacío y el sólido amarillo resultante **53** se usó sin realizar ningún tipo de purificación.

8.10 Síntesis de la aminoetil 9-acridincarboxamida **50**.



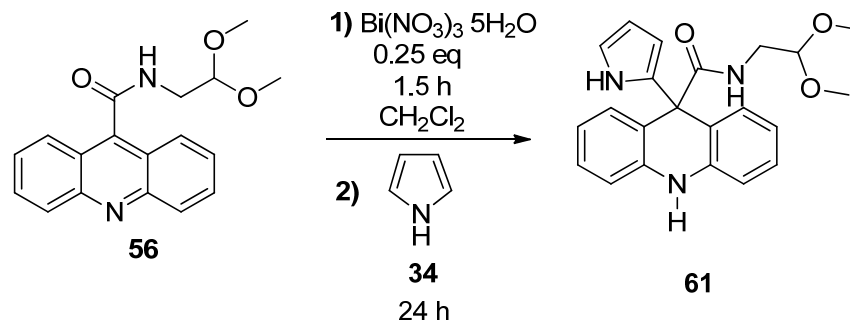
En un matraz balón de 10 mL se realizó una mezcla de 1.6 mL de etilendiamina **54** y 0.350 mL de TEA, se colocó en agitación en baño de hielo y se fue adicionando 0.414 mmol de **53** muy lentamente y en pequeñas porciones, la solución se tornó de color rojo intenso. Al terminar la adición del cloruro de ácido, se agregaron 6 mL de solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con CHCl_3 (3X10 mL), se secó con MgSO_4 , se filtró y se evaporó el disolvente. Finalmente se purificó por medio de cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluente un sistema de $\text{AcOEt}:\text{MeOH}$ 7:3 con 1% de TEA, se obtuvo un sólido de color amarillo y los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas para el compuesto, además de el ión molecular de 265 m/z correspondiente al compuesto **50**. El rendimiento calculado para éste compuesto fue del 55%.

8.11 Síntesis del compuesto **56**.



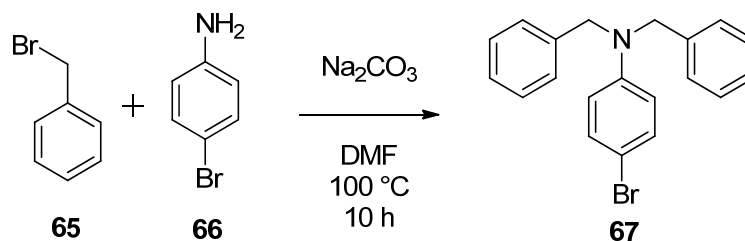
Se preparó una mezcla de 1.5 mL de aminoacetaldehído **42** con 0.3 mL de TEA, se puso en agitación en baño de hielo y se adicionó 0.414 mmol de **53** muy lentamente, al terminar la adición se agregaron 6 mL de solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con CHCl_3 (3X10 mL). La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluente un sistema de Hex: AcOEt 3:7, se obtuvo un sólido de color amarillo y los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas para el compuesto, un ión molecular de 310 m/z correspondiente al compuesto **56**, el rendimiento calculado para éste compuesto fue del 70%.

8.12 Síntesis del compuesto 61.



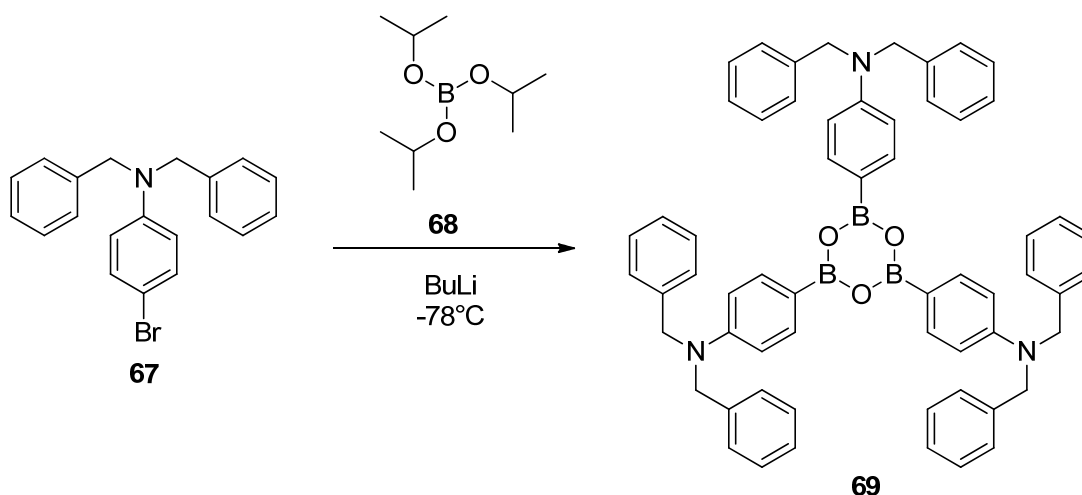
En un matraz de 10 mL se disolvió 0.20 mmol de **56**, una vez en agitación se adicionó 0.047 mmol de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ a temperatura ambiente por 1.5 h, posteriormente se adicionaron 0.132 ml de **34** y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 24 horas, el compuesto se purificó por medio de cromatografía en columna con sílica gel 70-230 mesh y empleando como eluyente un sistema de Hex:AcOEt 7:3, se obtuvo un sólido de color amarillo y los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas para el compuesto, el rendimiento calculado para éste compuesto fue del 42%.

8.13 Síntesis del compuesto 67.

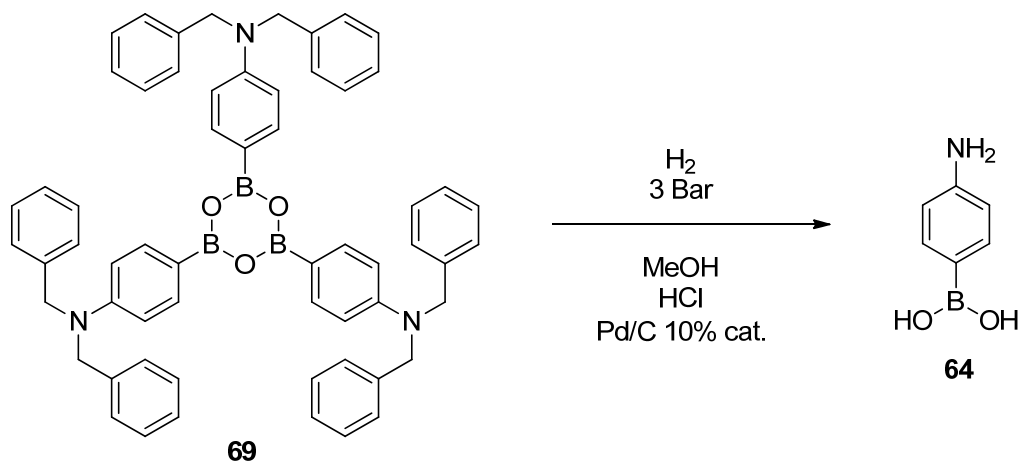


En un matraz de 150 mL se disolvió 29.23 mmol y 60 mmol de **65** y **66** respectivamente en DMF, posteriormente se adicionó el Na_2CO_3 obteniéndose una suspensión, la cual se dejó en agitación por 10 h entre 100-110 °C. Al terminar el tiempo de reacción se vertió en agua con hielos, el precipitado formado se filtró y se lavó con agua y MeOH frío. No fue necesario ningún tipo de purificación y el espectro de RMN ^1H mostró las señales correspondientes al compuesto **67**, el rendimiento calculado para este compuesto fue del 95%

8.14 Síntesis de la boroxina 69.

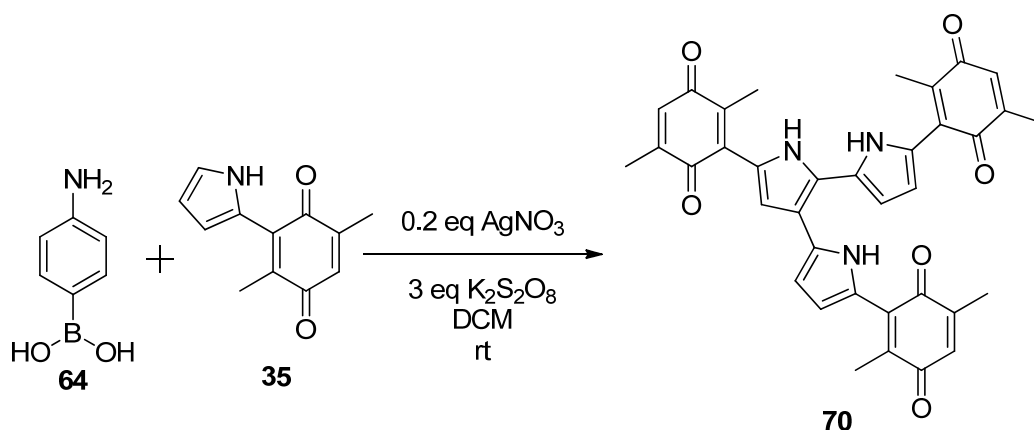


En un matraz de 25 mL se pesó 2.84 mmol de compuesto **67**, se disolvió en THF anhidro bajo atmósfera de Ar y se enfrió a -78°C , posteriormente se adicionó gota a gota 1.38 mL de *n*-BuLi 1.56 M en hexano, al finalizar se adicionó gota a gota 1.31 mL de triisopropil borato **68**, la solución comenzó a tornarse turbia de color blanco, se dejó en agitación por 1 hora a -78°C y posteriormente 30 min a temperatura ambiente, se evaporó el disolvente, el sólido blanco ligeramente amarillo obtenido se disolvió en AcOEt y se lavó con agua (3X10 mL), la fase orgánica se secó con MgSO_4 y se evaporó el disolvente dejando un líquido de color amarillo, se adicionó hexano y se dejó reposar por 12 horas, el sólido blanco resultante se filtró y se lavó con hexano. No fue necesario purificar y el espectro de RMN ^1H muestra las señales correspondientes al compuesto **69**, el rendimiento calculado para este compuesto fue del 55%.

8.15 Síntesis del ácido *p*-aminofenil borónico 64.

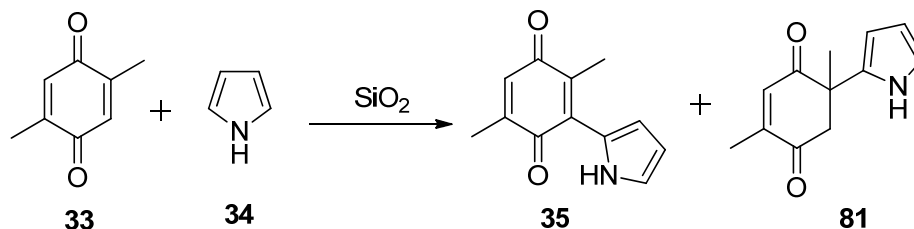
En un matraz de hidrogenación se disolvió 0.111 mmol de boroxina **69** con 0.002 g de catalizador Pd/C 10% en 4 mL de MeOH acidificado con HCl conc. (Suficiente para solubilizar todo el compuesto), se colocó en el equipo de hidrogenación y se aplicaron 3 bar de presión de H₂, dejándose en agitación por 3 horas, posteriormente se filtró el catalizador, se evaporó el disolvente y se agregó agua para después neutralizar con una solución NaOH 0.2 M, una vez neutralizado se extrajo con AcOEt (3x10 mL), se secó la fase orgánica con MgSO₄, se filtró y se evaporó el disolvente, dejando un sólido de color ligeramente café. El espectro de RMN ¹H mostró las señales esperadas para el compuesto **64**. No es necesario realizar purificación adicional y el rendimiento calculado fue del 45%.

8.16 Síntesis de la tripirrolil quinona **70**.



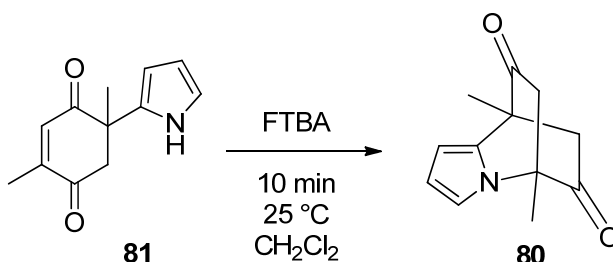
En un matraz balón de 25 mL se disolvieron 0.218 mmol del compuesto **35** en 5 mL de DCM, se agregaron 1.5 eq de **64** disuelto en 3 mL de DCM, una vez en agitación se adicionaron 0.2 eq de una solución 0.1M de AgNO₃, también se agregaron 3 eq de K₂S₂O₈ y se dejó en agitación por 24 horas, al transcurrir el tiempo fue necesaria la adición de la misma cantidad de AgNO₃ y K₂S₂O₈ dejándose en agitación por 24 horas más. Se obtuvo un sólido de color azul-morado intenso y el espectro de RMN ¹H mostró las señales para el compuesto **70** con un rendimiento calculado del 15%.

8.17 Síntesis del compuesto 81.



Se obtiene como subproducto de la síntesis del compuesto **35**. Se obtiene al aumentar la polaridad del eluyente usando una proporción Hex:AcOEt 7:3. Es un sólido de color amarillo cristalino, los espectros de RMN ^1H y ^{13}C mostraron las señales esperadas, en el espectro de masas se obtuvo ión molecular de 203 m/z correspondiente para el compuesto **81** y una absorción máxima en UV-Vis de 390 nm, el rendimiento calculado fue de 17%. La obtención del monocristal fue por recristalización en Hex:AcOEt 9:1.

8.18 Síntesis del azatriciclo 80.



En un matraz balón de 10 mL se disolvieron 0.49 mmol del compuesto **81** en 3 mL de DCM, se adicionaron 1.5 eq de FTBA disuelto en 2 mL de DCM y se dejó en agitación por 10 min a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente y se extrajo con éter etílico (3x3 mL), se obtuvo un sólido cristalino incoloro y tanto los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , NOESY y TOCSY mostraron las señales esperadas, el espectro de masas mostró un ion molecular de 203 m/z correspondiente para el compuesto **80**.

8.19 Cinéticas de reacción para el azatriciclo 80.

Se realizaron tres soluciones de 2 mL 0.007 M del compuesto **81**, una solución 0.1 M de FTBA y otra 0.1 M de TEMPO en DCM. En todos los casos la línea base se realizó con disolvente y la cantidad correspondiente de TEMPO, el blanco se obtuvo de la solución 0.007 M de **81** y se adicionó la cantidad correspondiente de TEMPO.

Posteriormente a cada caso se agregó 0.25 eq de FTBA en solución y se obtuvieron las absorbancias a 390 nm cada minuto por 1 h.

8.20 Titulación con anión fluoruro en RMN de los compuestos 35 y 36.

Se realizó una solución 0.01 M de los compuestos **35** y **36**, también se hizo una solución de FTBA; posteriormente se fueron adicionando diferentes cantidades de la solución de FTBA, adquiriendo espectros de RMH ^1H entre cada adición, cuando se saturó el compuesto, se obtuvieron los espectros de RMN ^{19}F para ambos compuestos y el de ^{13}C para **36**.

8.21 Titulación con anión fluoruro en UV-Visible de los compuestos 35, 36, 43 y 48.

Se realizó una solución 0.1 M para **35**, **36**, **43** y **48**, además de una solución 0.01 M de FTBA en 4 y 3 mL de acetonitrilo HPLC respectivamente. Se procedió a ir agregando la solución de FTBA en alícuotas de 10 μL hasta no observar cambios en el espectro obteniendo espectros entre cada adición. El espectro se obtuvo por barrido desde 250 nm hasta 750 nm.

8.22 Titulaciones de compuestos con ADN.

Se prepararon 60 mL de una mezcla DMSO:Búffer de fosfatos pH 7 2:1 y se dejó estabilizar por 24 horas. Se preparó una solución de ADN (5mg/mL) suficiente para los experimentos, disolviendo el ADN en el sistema y dejando reposar por 24 h a 4°C . También se prepararon soluciones 0.1 M de los compuestos a titular agitando lo suficiente para disolver completamente y en algunos casos calentando la solución. Los espectros se obtuvieron por barrido desde 250 nm hasta 750 nm empleando como blanco el ADN solo y agregando alícuotas de 10 μL de las soluciones de los compuestos hasta llegar a un volumen de 100 μL .

8.23 Estudio de anclaje molecular (Docking).

Los cálculos de Docking se realizaron en AutoDock4.0, cada compuesto fue dockeado con el algoritmo lamarckiano que implementa el programa. El número de generaciones fue de 100, el tamaño de población de 1000 con un número máximo de evaluaciones de 10,000,000, y un número máximo de generaciones de 27,000; la tasa de entrecruzamiento se aumentó a 1.0 y el número individual de cada población a 100. El

RMSD se calculó en Discovery studio y en el mismo se hicieron los análisis de los resultados.