

147



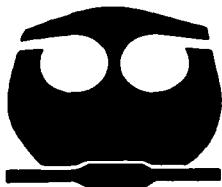
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**Síntesis y evaluación citotóxica de las  
[2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzo  
C<sub>4</sub>X-5-ilidenmetil]ureas (X=NAr, O,S)**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A  
ARACELI SALAZAR PEREYRA



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**Paginación**


**Discontinua**

**JURADO ASIGNADO:**

Presidente	<b>Yolanda Caballero Arroyo</b>
Vocal	<b>Rafael Castillo Bocanegra</b>
Secretario	<b>Roberto Martínez</b>
1er. Suplente	<b>María de Lourdes García Peña</b>
2do. Suplente	<b>Federico Gómez Garibay</b>

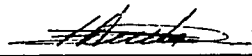
Este trabajo se desarrolló en el laboratorio 2-11  
del Instituto de Química, UNAM

**Dr. Roberto Martínez**  
Asesor



---

**Dr. José Gustavo Ávila Zárraga**  
Supervisor Técnico



---

**Araceli Salazar Pereyra**  
Sustentante



---

**Este trabajo se realizó en el Laboratorio 2-11**  
**del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección**  
**del Dr. Roberto Martínez y del Dr. José Gustavo Ávila Zárraga,**  
**con el apoyo económico de los proyectos de investigación**  
**CONACYT 32633-E y DGAPA IN-206598.**

## DEDICATORIA

A mis padres:

*Paula Pereyra Meléndez*  
*Isidro Teófilo Salazar Vergel*

por su gran amor, apoyo y confianza  
a lo largo de estos años.

A mis hermanos:

*Liduvina, Jaime, Martín y Juan*

A mis sobrinos:

*Juan Carlos, Daniel y Jonathian*

## **GRACIAS A:**

❖ **Al Dr. Roberto Martínez**  
por el apoyo otorgado para realizar esta tesis.

❖ **Al Dr. José Gustavo Ávila Zárraga**  
por su paciencia y enseñanza.

❖ **A mis compañeros del laboratorio 2-11**  
**Luis Chacón, Víctor, Ma. Esther, Marco Martín,**  
**Ma. Elena, Martha, Irma, Araceli, Angeles y Norma .**

❖ **A mis amigos y profesores que han**  
**estado a lo largo de toda mi vida académica:**  
**Lizbeth, Carlos, Juan Carlos, Rosa, Heriberto,**  
**Alicia, Yeriley, Carlos Rea, Rocio y René.**

❖ **A todo el personal del Instituto de Química.**

## AGRADECIMIENTOS :

- ❖ Q.F.B. María del Rocío Patiño del Laboratorio de Espectroscopia IR (Instituto de Química de la UNAM).
- ❖ M.C. Héctor Ríos Olivares y Q. María de los Ángeles Peña González del laboratorio de Espectroscopia de RMN (Instituto de Química de la UNAM).
- ❖ M.C. Javier Pérez Flores y Ing. Luis Velasco Ibarra del laboratorio de Espectroscopia de Masas (Instituto de Química de la UNAM).
- ❖ M.C. María Teresa Ramírez Apan del laboratorio de Pruebas Biológicas (Instituto de Química de la UNAM).



## ABREVIATURAS

APF	Ácido polifosfórico
ATA	Ácido tricloroacético
U251	Células tumorales glia del sistema nervioso central
cm	Centímetros
IC <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
J	Constante de acoplamiento
δ	Desplazamiento químico
LDA	Diisopropilamido de litio
DMSO	Dimetilsulfóxido
DME	Dimetoxietano
d	Doblete
EM	Espectrometría de masas
°C	Grados Celsius
g	Gramo
Hz	Hertz
h	Hora
IE	Impacto electrónico
IR	Infrarrojo
M:	Ion molecular
HeLa	Línea de células de cáncer cérvico uterino
HCT-15	Línea de células de cáncer de colon
MCF-7	Línea de células de cáncer de mama
PC-3	Línea de células de cáncer de próstata
K562	Línea de células de leucemia
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mmol	Milimol
ppm	Partes por millón
PPMA	Pentóxido de fosforo-ácido metanosulfónico
pf	Punto de fusión
m/z	Relación masa/carga
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia magnética de protón
s	Singlete
SRB	Sulforhodamina B
S <sub>N</sub> 2	Sustitución nucleofílica bimolecular
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano

---

---

## ÍNDICE

	PÁGINA
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	
2.1 Cáncer	2
2.2 Agentes anticancerígenos.	3
2.3 Actividad antineoplásica de compuestos N-C-N.	5
2.3.1.- Hidroxiurea.	5
2.3.2.- Tiosemicarbazonas (N-N-C-N).	8
2.4 Métodos generales de síntesis.	
2.4.1.- C-alkilación.	10
2.4.2.- Síntesis de las tetrahydroindol-4-onas.	11
2.4.3.- Síntesis de las tetrahydrobenzofuran-4-onas.	12
2.4.4.- Síntesis de las tetrahydrobenzotiofen-4-onas.	13
2.4.5.- $\alpha$ -formilación de cetonas.	14
2.4.5.1.- Tautomería en $\alpha$ -formilcetonas.	15
2.4.5.2.- Importancia de las $\alpha$ -formilcetonas.	15
2.4.6.- Reacción de aminas del tipo Z-NH <sub>2</sub> con grupos carbonilo (Z=NH <sub>2</sub> , OH, H <sub>2</sub> N-CO-, H <sub>2</sub> N-CS-).	16
<b>3. OBJETIVO</b>	<b>19</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	
4.1 Preparación de la 5,5-dimetil-2-(2-oxopropil)ciclohexano-1,3-diona.	21
4.2 Preparación de las N-(4-R-fenil)-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydroindol-4-onas.	22
4.3 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran-4-ona.	25
4.4 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]tiofen-4-ona.	26
4.5 Preparación de las 5-hidroxiacetilén-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydrobenzoC <sub>4</sub> X-4-onas.	27
4.6 Preparación de las [2,6,6-trimetil-4-oxo-4.5.6.7-tetrahydrobenzoC <sub>4</sub> X-5-ilidenmetil]ureas.	32
4.7 Pruebas de citotoxicidad.	37

---

<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>6. PARTE EXPERIMENTAL</b>	
6.1 Datos generales	42
6.2 Preparación de la 5,5-dimetil-2-(2-oxopropil)ciclohexano-1,3-diona.	43
6.3 Preparación de las 1-(4-R-fenil)-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidroindol-4-onas.	43
6.4 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzofuran-4-ona.	44
6.5 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ona.	44
6.6 Preparación de las 5-hidroximetilén-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC <sub>4</sub> X-4-onas.	45
6.7 Preparación de las [2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC <sub>4</sub> X-5-ilidenmetil]ureas.	46
6.8 Pruebas de actividad citotóxica.	47
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>49</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>52</b>

---

---

# 1. INTRODUCCIÓN

---

---

La lucha contra el cáncer lamentablemente no ha terminado. A pesar de que existen diferentes tratamientos: cirugía, radioterapia y quimioterapia, sólo se ha logrado la mejoría de los síntomas y a veces la prolongación de la vida. La quimioterapia, cuyo objetivo consiste en el uso de fármacos contra dicha enfermedad sin dañar al paciente, tiene el grave problema de la poca diferencia metabólica y enzimática entre las células normales y cancerígenas, lo que dificulta el diseño de fármacos que tengan únicamente actividad sobre los tumores sólidos (cáncer) y las neoplasias hematológicas (linfomas y leucemias).

La quimioterapia comprende una gran diversidad de agentes anticancerígenos: agentes alquilantes, análogos de purina, alcaloides de la vinca, agentes intercaladores de ADN, los antibióticos, la hidroxiaurea y los adrenocorticoesteroides, cada uno con un mecanismo de acción diferente.<sup>1</sup> La hidroxiaurea ( $\text{NH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}-\text{OH}$ ) es uno de los agentes anticancerígenos utilizados en la clínica, cuyo sitio de acción es la enzima ribonucleótido reductasa, que proporciona los desoxirribonucleótidos para la síntesis de ADN durante la fase S temprana del ciclo celular,<sup>2</sup> no obstante, por los efectos secundarios de la hidroxiaurea, hay una necesidad por encontrar nuevos inhibidores más eficientes. También existen otros inhibidores como las tiosemicarbonas ( $\text{R}-\text{C}=\text{N}-\text{NH}-\text{C}(\text{S})-\text{NR}_2$ ), que tampoco tienen aplicación como fármacos por sus efectos de toxicidad fuerte.<sup>3</sup> En ambos compuestos se encuentra una relación estructural N-C-N, que puede ser una clave para la investigación de nuevos compuestos con posible actividad anticancerígena.

En el presente trabajo se reporta la síntesis de derivados heterocíclicos de la urea ( $\text{R}-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$ ) a partir de la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona y se muestran los resultados de actividad citotóxica en tres líneas celulares: HeLa, HCT-15 y MCF-7.

---

---

## 2. ANTECEDENTES

---

---

### 2.1 CÁNCER.

La palabra cáncer se utiliza para agrupar una gran variedad de enfermedades que se caracterizan por dos aspectos: el crecimiento celular no regulado por señales externas (es decir, autónomo) y la capacidad de invadir tejidos y originar la metástasis. El primero de estos aspectos, el crecimiento incontrolado de células anormales, es una propiedad de todas las neoplasias o nuevos tumores. Una neoplasia puede ser benigna (no cancerosa, no se propaga) o maligna (existe invasión), por ello, cáncer es sinónimo de neoplasia maligna. Los cánceres de tejidos epiteliales se denominan carcinomas, y los tejidos no epiteliales, sarcomas.<sup>4</sup>

La información más reciente sobre incidencia de cáncer en México corresponde al periodo comprendido entre 1993 y 1996 y fue recopilada por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y la Secretaría de Salud (SS). En este periodo se diagnosticaron 106,086 personas con cáncer, principalmente mujeres (63.7%). Según el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), el cáncer representa la segunda causa de muerte en nuestro país (49,916 defunciones en 1996) por detrás de las enfermedades cardíacas.<sup>5</sup> Las causas del cáncer no se conocen totalmente, en algunos casos se ha encontrado que ciertos factores genéticos y del medio ambiente aumentan la probabilidad de desarrollar esta enfermedad en algún momento de nuestra vida.

En la mujer los tipos de cáncer más frecuentes son el cervico-uterino, el de glándula mamaria y el de ovario, en tanto, para los hombres el de próstata, pulmón, riñón, páncreas y leucemia son los que representan el mayor índice de incidencia y muerte.<sup>6</sup>

## 2. ANTECEDENTES

En la actualidad las técnicas de tratamiento contra el cáncer son: cirugía, radioterapia y quimioterapia, que conducen la curación de más del 50% de los pacientes diagnosticados con cáncer.

- La cirugía es el método eficaz para curar a los pacientes, cuyos tumores se limitan a determinadas localizaciones anatómicas, no es útil cuando se trata de cáncer avanzado (metástasis).
- La radioterapia, como la cirugía, es una modalidad de tratamiento local del cáncer, que consiste en administrar radiación ionizante en forma de rayos X o rayos  $\gamma$  en una localización tumoral que terminan por causar una lesión biológica, siendo el ADN el objetivo primario de la destrucción celular. Idealmente la radioterapia debería destruir el tejido canceroso, pero también llega a lesionar las estructuras normales circundantes.
- La quimioterapia sistémica es el principal tratamiento disponible para tumores malignos diseminados. En la actualidad los fármacos anticancerígenos tienden a utilizarse en una fase más temprana del tratamiento, porque en tumores pequeños donde el crecimiento es más rápido, es más sensible a la quimioterapia. Hay una variedad de compuestos antineoplásicos que son usados en la clínica, por ejemplo agentes alquilantes, antimetabolitos, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, hidroxiurea y enzimas.

### **2.2 AGENTES ANTICANCERÍGENOS.**

Los compuestos antineoplásicos son químicamente diferentes y su mecanismo de acción es diverso, actuando fundamentalmente sobre la biosíntesis de los ácidos nucleicos y en relación con el ciclo celular o mitótico, interfiriendo en algunos de sus pasos metabólicos con los que se produce el daño celular correspondiente.<sup>7</sup>

## 2. ANTECEDENTES

Los mecanismos de acción de dichos fármacos son:

- inactivación del ADN por los agentes alquilantes que fijan grupos alquilo en el mismo, impidiendo su replicación y por lo tanto la mitosis (ciclofosfamida, busulfán, clorambucilo).
- inhibidores de la síntesis del RNA a partir del ADN, por antibióticos antineoplásicos (doxorrubicina, daunorrubicina, dactinomicina).
- inhibidores de la biosíntesis de los ácidos nucleicos por un mecanismo de competición debido a su analogía química, al interferir con las funciones de los metabolitos esenciales, indispensables para la síntesis (metotrexate, mercaptopurina, tioguanina, fluorouracilo, citarabina).
- inhibidores directos de la síntesis del RNA, como sucede con los alcaloides de la vinca (vinblastina y vincristina), pero sobre todo destruyen el huso mitótico bloqueando la mitosis en la metafase.
- inhibidores de la síntesis proteica que en forma indirecta ejerce la enzima asparaginasa.

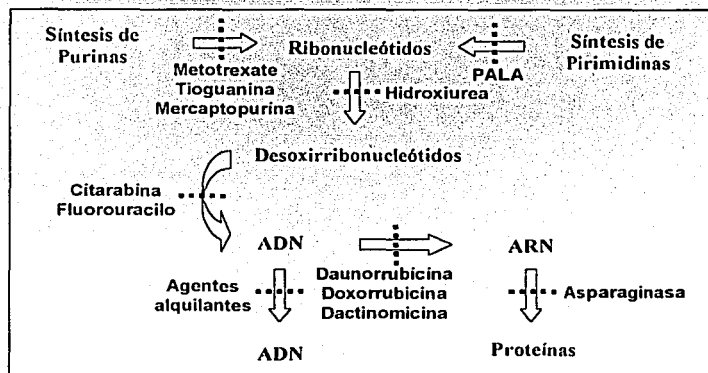
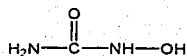


Figura 1. Mecanismo de acción de algunos agentes antineoplásicos

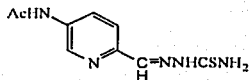
2.3 ACTIVIDAD ANTINEOPLÁSICA DE COMPUESTOS N-C-N.

Los inhibidores de la ribonucleótido reductasa pueden servir como agentes terapéuticos del cáncer e incluyen la hidroxiiurea **1**, las tiosemicarbazonas de N-heterociclo-carboxaldehidos **2**, y análogos de nucleósidos **3**. De estos inhibidores la hidroxiiurea y gemcitabina son los únicos compuestos utilizados a nivel clínico para el tratamiento de cáncer.<sup>8</sup>



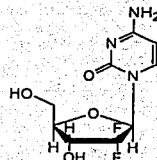
Hidroxiiurea

**1**



tiosemicarbazona del  
5-acetilaminopiridina-2-carboxaldehído  
(5-AAP)

**2**



2,2-difluorodesoxicitidina  
(gemcitabina)

**3**

2.3.1.- HIDROXIUREA.

La hidroxiiurea es el representante de un grupo de compuestos cuyo sitio de acción es la enzima ribonucleótido reductasa. Dicha enzima cataliza la conversión reductiva de ribonucleótidos en desoxirribonucleótido (Fig. 2), es de máxima importancia y quizá constituya el paso cineticolimitante en la biosíntesis de ADN y represente un objetivo lógico para el diseño de agentes quimioterapéuticos.<sup>1,9,10</sup>



## 2. ANTECEDENTES

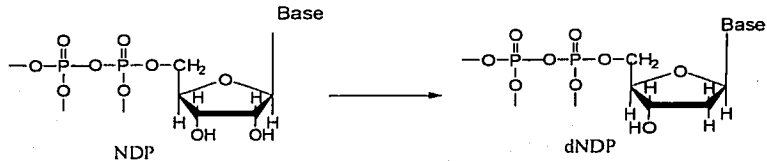


Figura 2.- Acción de la enzima ribonucleótido reductasa.

El mecanismo exacto por el cual la hidroxiurea produce sus efectos citotóxicos aún se desconoce. Varios estudios en cultivos de tejidos, en ratas y en el hombre, apoyan la hipótesis que la hidroxiurea causa inhibición inmediata de la síntesis del ADN (Fig. 3) sin interferir con la síntesis del ácido ribonucleico o la proteína.

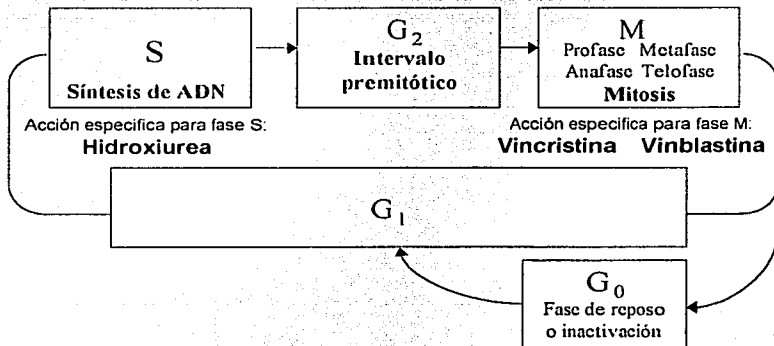
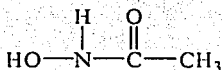


Figura 3.- La hidroxiurea es específica y actúa en la fase S del ciclo celular y ocasiona detención en la interfaz G<sub>1</sub>-S.<sup>1</sup>

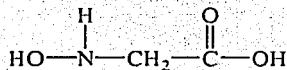
## 2. ANTECEDENTES

Se han postulado tres mecanismos a través de los cuales se explica el incremento de la efectividad de la administración de la hidroxiurea con la irradiación en los carcinomas de células escamosas (epidermoides) de cabeza y cuello. Estudios *in vitro*, que utilizan células de hámsters chinos, indican que la hidroxiurea es letal para las células en fase-S, que normalmente son radiorresistentes, y también conserva otras células del ciclo celular en fase -G1 o estado de presíntesis del ADN, donde son más susceptibles a los efectos de la radiación.

El tercer mecanismo de acción se basa en estudios *in vitro* de células HeLa: parece que la hidroxiurea, por inhibición de la síntesis de ADN, impide el proceso normal de reconstrucción de aquellas células dañadas que no murieron con la radiación, disminuyendo así su tasa de supervivencia; el ARN y la síntesis de proteína no muestran alteración.<sup>11</sup> Esta habilidad para inhibir la síntesis de ADN en la línea celular HeLa, también se corroboró con una serie de compuestos que tenían la fórmula general R-C(O)-NHOH, estableciendo que la potencia inhibitoria esta influenciada por la naturaleza de R; por ejemplo, cuando R es un grupo metilo (ácido acetohidroxámico 4) es 30 veces menos inhibitorio que la hidroxiurea (R=NH<sub>2</sub>). Otro factor importante en todos los compuestos que inhiben la síntesis de ADN en el sistema es la habilidad para formar complejos con iones metálicos, aunque esto no necesariamente significa que todos los quelantes sean activos, por ejemplo, la N-hidroxiglicina 5 es un agente quelante más fuerte que la hidroxiurea, pero es 30 veces menos activo como inhibidor de la síntesis de ADN.<sup>12</sup>



4



5

## 2. ANTECEDENTES

Hoy en día la hidroxurea es considerada como un fármaco excelente para el tratamiento del melanoma, la leucemia mielocítica crónica resistente(LMC) y del carcinoma ovárico recurrente, metastásico o inoperable, pero su principal toxicidad es la supresión de la médula ósea, o bien llamado leucopenia.

### **2.3.2.- TIOSEMICARBAZONAS (N-N-C-N).**

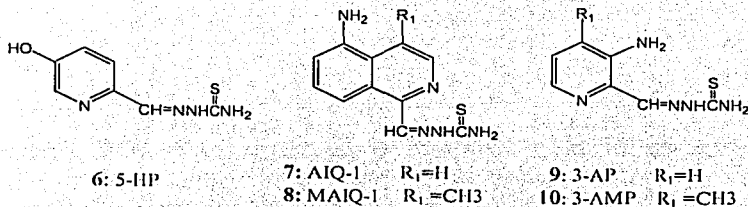
También las tiosemicarbazonas de  $\alpha$ -*N*-heterociclo-carboxaldehídos han demostrado potencial antineoplásico por su acción inhibitoria de la enzima ribonucleótido reductasa, sin embargo por su baja solubilidad y alta toxicidad tienen limitaciones en la aplicación terapéutica.

La tiosemicarbazona de la 5-hidroxi-2-formilpiridina (5-HP, 6) fue seleccionada como uno de los primeros representantes de este tipo de compuestos que presentó una amplia actividad en animales (fase preclínica), pero que desafortunadamente no se corroboró su misma eficacia en pacientes con cáncer (fase clínica I) debido a su: a) rápido metabolismo y excreción como *O*-glucoronido; b) bajo potencial inhibitorio para la enzima, el cual es esencial para su actividad antineoplásica; y c) índice terapéutico bajo.<sup>13</sup>

Esto motivó la síntesis de derivados de tiosemicarbazonas, como la tiosemicarbazona del 5-aminoisoquinolin-1-carboxaldehído (AIQ-1, 7), que no es tan susceptible a la *O*-glucuronidación. Para proteger el 5-NH<sub>2</sub> de la formación de derivados inactivos 5-acetilados, se insertó un grupo CH<sub>3</sub> en la posición 4 del anillo de la isoquinolina (MAIQ-1, 8), lo cual crea un impedimento estérico que minimiza la acetilación enzimática del grupo NH<sub>2</sub>, sin embargo, MAIQ-1 no fue lo suficientemente soluble en agua para permitir una formulación adecuada para uso humano.<sup>3</sup>

## 2. ANTECEDENTES

Posteriormente en 1992 se describió la síntesis y actividad antitumor de la tiosemicarbazona del 5-(acetilamino)piridina-2-carboxaldehído (5-AAP, 2) que presentó una fuerte actividad inhibitoria *in vitro* de la ribonucleótido difosfato reductasa y una actividad anticancerígena significativa *in vivo*. Por analogía a la relación estructural entre AIQ-1 y el derivado 5-acetilado (5-AAP) se postuló la síntesis de nuevos compuestos, de los cuales sólo las tiosemicarbazonas del 3-aminopiridina-2-carboxaldehído (3-AP, 9) y del 3-amino-4-metilpiridina-2-carboxaldehído (3-AMP, 10) mostraron más efectividad que la 5-AAP en ratones con leucemia L1210, M-109 cáncer de pulmón y A2780 cáncer de ovario humano. El sustituyente del anillo se eligió para proveer un balance lipofílico/hidrofílico y un intervalo electrónico adecuado.<sup>14</sup>



Su actividad farmacológica también está relacionada con su capacidad que tiene para quelar iones metálicos que se encontrarían en pequeñas cantidades en el organismo (Fig. 4).<sup>15,16</sup>

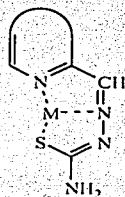


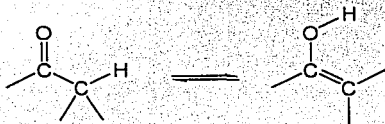
Figura 4.- Formación de quelatos con iones metálicos.

## 2.4 MÉTODOS GENERALES DE SÍNTESIS.

## 2.4.1.- C-ALQUILACIÓN.

La acidez de los hidrógenos unidos al carbono  $\alpha$  a carbonilo se explica por el efecto inductivo del grupo carbonilo a lo largo del enlace carbono-carbono, que incrementa la polaridad del enlace carbono-hidrógeno.

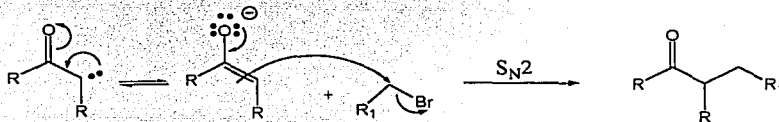
La acidez de este tipo de protones es el responsable de un proceso conocido como enolización o tautomería ceto-enol (Esquema 1), por medio de la cual un átomo de hidrógeno en carbono  $\alpha$  al carbonilo se transfiere al oxígeno del grupo carbonilo.



Esquema 1. Tautomería ceto-enol.

La importancia de los aniones enolatos desde el punto de vista sintético radica en la posibilidad de formar enlaces C-C a través del carbanion  $\alpha$  al carbonilo.

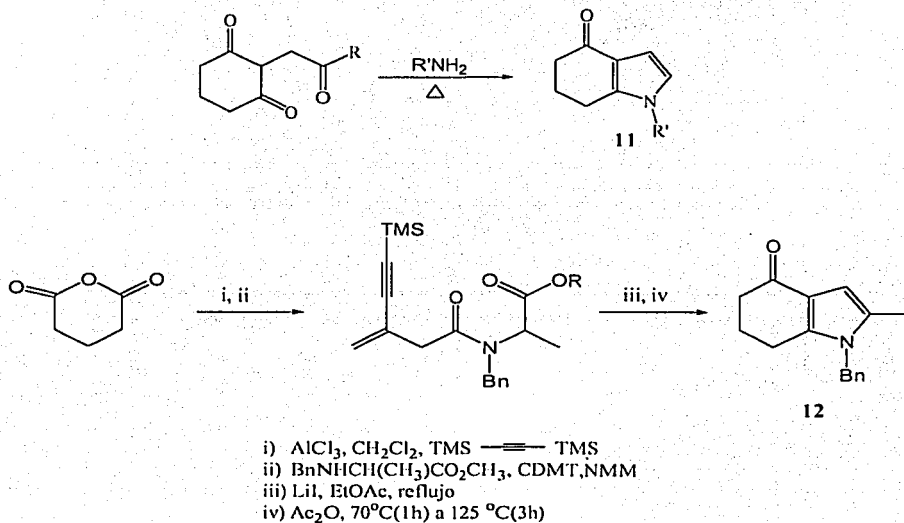
Las reacciones de alquilación de iones enolatos proceden por su tratamiento con un halogenuro de alquilo. El anión enolato actúa como nucleófilo sobre el halogenuro de alquilo, electrófilo, y desplaza al grupo saliente via un mecanismo  $S_N2$  (Esquema 2).<sup>17</sup> La formación de iones enolato es más fácil cuando dos grupos carbonilo adyacentes pueden estabilizar la carga negativa, como en los compuestos 1,3-dicarbonílicos.



Esquema 2. Reacciones de alquilación de carbaniones.

## 2.4.2.- SÍNTESIS DE LAS TETRAHIDROINDOL-4-ONAS.

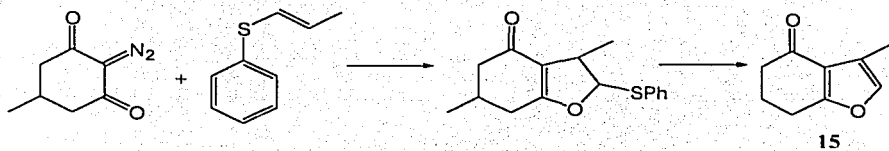
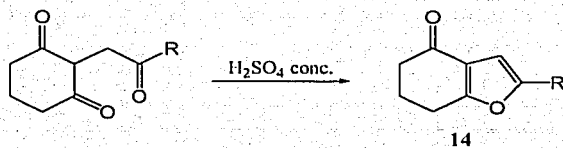
Una de las metodologías generales para la obtención de tetrahidroindol-4-onas **11** es la aplicación del método de Paal-Knorr para sintetizar pirroles, que se lleva a cabo con compuestos 1,4-dicarbonílicos y aminas alifáticas o aromáticas, en medio ácido.<sup>18</sup> Otras síntesis involucran más pasos y por ende bajos rendimientos, por ejemplo la preparación de **12**.<sup>19</sup>



Esquema 3. Síntesis de tetrahidroindolonas.

## 2.4.3.- SÍNTESIS DE LAS 4,5,6,7-TETRAHIDROBENZOFURAN-4-ONAS.

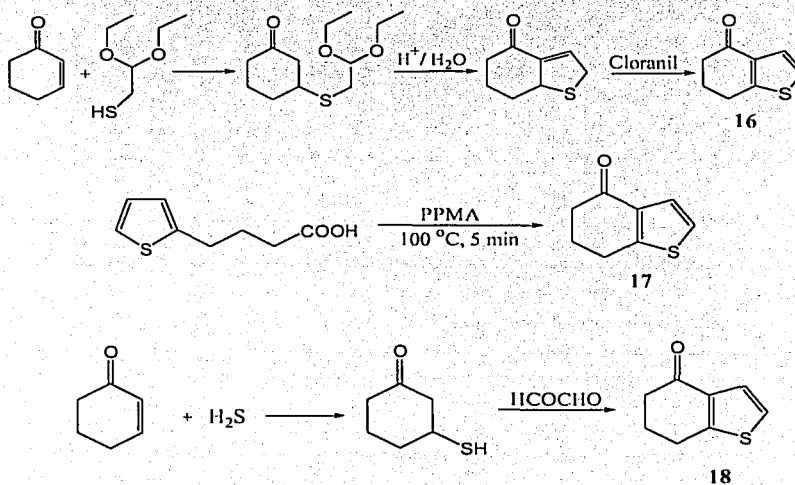
El sistema anular de los benzofuranos forma parte de muchos productos naturales y de productos farmacéuticos sintéticos. En el siguiente esquema se presentan algunos métodos de síntesis de las tetrahidrobenzofuran-4-onas **13**, **14** y **15**, a partir de compuestos di y tricarbónicos.<sup>20,21,22</sup>



Esquema 4. Síntesis de tetrahidrobenzofuranonas.

2.4.4.- SÍNTESIS DE LAS 4,5,6,7-TETRAHIDROBENZOTIOFEN-4-ONAS.

La síntesis de nuevos heterociclos con azufre es importante tanto desde el punto de vista de la química heterocíclica, como de la industria farmacéutica. En el esquema 5 se presentan algunos métodos de síntesis de tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-onas **16**, **17** y **18**.<sup>23,24,25</sup>

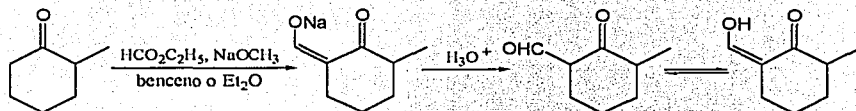


Esquema 5. Síntesis de tetrahidrobenzotiofenonas.



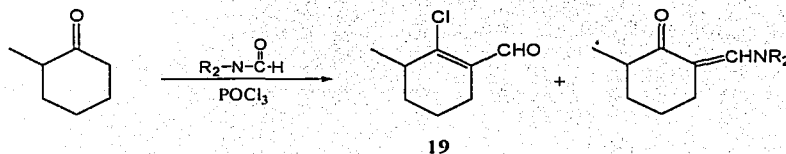
2.4.5.-  $\alpha$ -FORMILACIÓN DE CETONAS.

La reacción de formilación de cetonas con formiato de etilo en presencia de una base como el metóxido o etóxido de sodio<sup>26</sup>, o el hidruro de sodio<sup>27</sup> es un método común, ya que utiliza la facilidad para abstraer los hidrógenos del carbono  $\alpha$  al carbonilo.



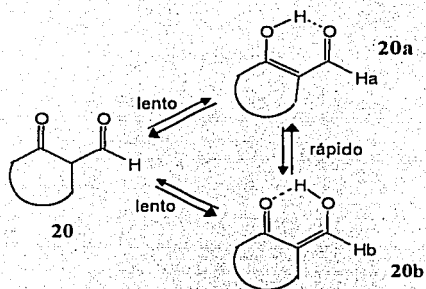
Esquema 6. Obtención de  $\alpha$ -formil-cetona e hidroximetil-cetona

Otro método para introducir un sustituyente formilo es la reacción de Vilsmeier-Haack que usa formamida disustituida y  $\text{POCl}_3$ , sin embargo la reacción da una mezcla, lo que da un rendimiento bajo del producto formilado **19** (21%).<sup>28,29</sup>



2.4.5.1.- TAUTOMERÍA EN  $\alpha$ -FORMILCETONAS.

Las  $\alpha$ -formilcetonas tienen dos formas tautoméricas: la aldo-enólica **20a** y la hidroximetilén-cetónica **20b** donde el desplazamiento químico del protón aldehídico Ha y Hb y la constante de acoplamiento ( $J$ ) entre Ha y Hb y el protón del OH son significativamente diferentes. La medición de estos dos parámetros da una estimación de la proporción de cada una de las formas enólicas obtenidas; los valores límites para estimar la existencia de la forma aldo-enol son  $\delta_{\text{Ha}}$  9.1 ppm y  $J=0$  para **20a**, y con respecto a la forma hidroximetilén-cetónica  $\delta_{\text{Hb}}$  6.71 ppm y  $J=12.5$  Hz para **20b**.<sup>30</sup> En la mayoría de las reacciones de formilación predomina la forma hidroximetilén-cetónica.<sup>31</sup>

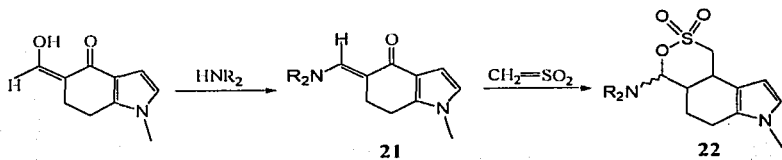


Esquema 7. Formas tautoméricas.

2.4.5.2.- IMPORTANCIA DE LAS  $\alpha$ -FORMILCETONAS.

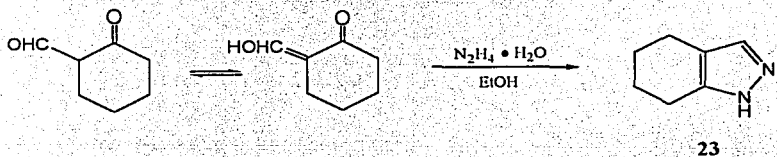
Los derivados  $\alpha$ -formilcetónicos son de interés en la síntesis orgánica ya que permiten introducir diferentes sustituyentes en la posición que ocupa el grupo formilo o bien para formar un anillo adicional heterocíclico.<sup>32,33</sup> Por ejemplo, los derivados oxatinos **22** se obtienen de la reacción entre los  $N,N$ -(*E*)-5-aminometilén disustituídos **21** con sulfeno.<sup>34</sup>

## 2. ANTECEDENTES



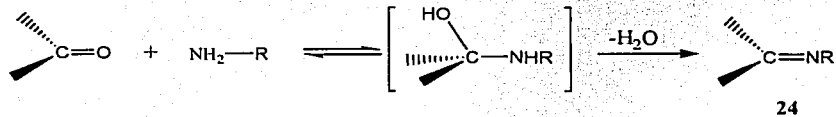
Esquema 8. Obtención de oxatinos.

También, los derivados  $\alpha$ -formilcetónicos pueden ser condensados con una variedad de nucleófilos bifuncionales como la hidrazina para dar el pirazol **23**.<sup>27,35</sup>



### 2.4.6 REACCION DE AMINAS DEL TIPO Z-NH<sub>2</sub> CON GRUPOS CARBONILO (Z=NH<sub>2</sub>, OH, H<sub>2</sub>N-CO-, H<sub>2</sub>N-CS-).

Las aminas y los compuestos que tienen un par electrónico sin compartir sobre el átomo de nitrógeno, actúan como nucleófilos frente al átomo de carbono carbonílico. Por ejemplo las aminas primarias reaccionan de la siguiente forma:

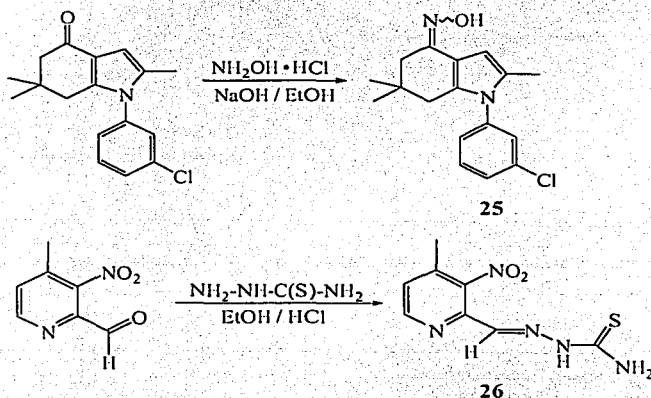


Esquema 9. Adición de nitrógeno como nucleófilo.

## 2. ANTECEDENTES

El producto de adición que se forma al principio es tetraédrico y semejante a un hemiacetal, pero con un grupo NH en lugar de uno de los oxígenos. Estos productos de adición generalmente no son estables, eliminan agua para formar un producto con un doble enlace carbono-nitrógeno. Cuando se han formado a partir de aminas primarias estos productos se llaman iminas **24**.

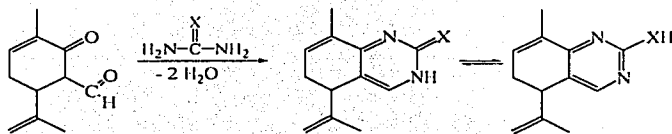
Las reacciones de condensación de cetonas o aldehídos con hidroxilamina forman oximas **25**; y con tiosemicarbazinas forman tiosemicarbazonas **26**.<sup>8,36</sup>



Esquema 10. Reacción de aminas con grupos carbonilo.

También, en la síntesis de compuestos heterocíclicos se involucran interacciones electrófilo-nucleófilo, a partir de compuestos 1,4-dicarbonílicos con reactivos doblemente nucleofílicos como la hidrazina, urea, hidroxilamina, semicarbazidas, etc., por ejemplo, en la síntesis de dihidroquinazolinonas a partir de la condensación del  $\alpha$ -formilciclohexenona alquilada con amonio y formamida, urea, tiourea y guanidina (Esquema 11).<sup>37</sup>

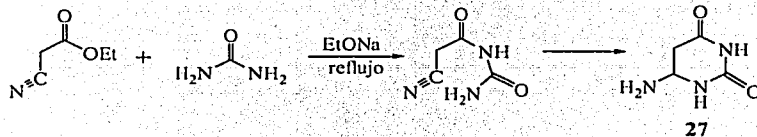
## 2. ANTECEDENTES



X = H<sub>2</sub>, O, S, NH

Esquema 11. Síntesis de dihidroquinazolinas.

La síntesis de las pirimidinas como **27** también involucran la combinación de reactivos que contienen el esqueleto N-C-N como la urea, tiourea y guanidina, con otro que incluye la unidad C-C-C (cuya elección dependerá del sustituyente que se requiera en el producto final).<sup>38,39</sup>



Esquema 12. Obtención de pirimidinas.

---

---

### 3. OBJETIVO

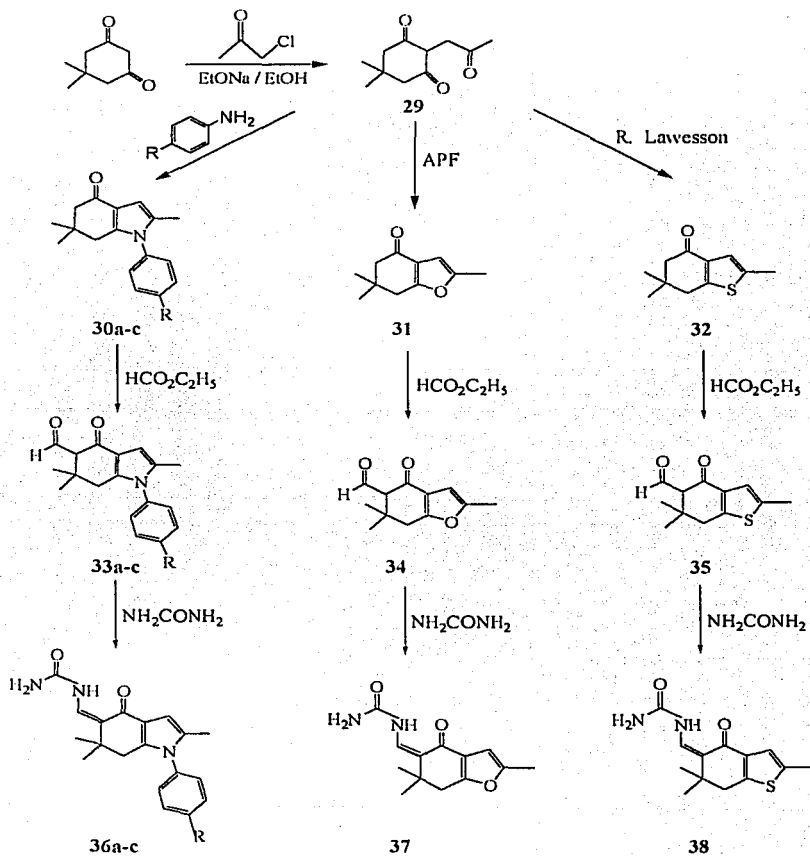
---

---

- Sintetizar los compuestos [2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-5-ilidenmetil]ureas ( X = NAr, O, S ) y evaluar su actividad citotóxica en 3 líneas celulares cancerosas ( HeLa, HCT-15, MCF-7).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

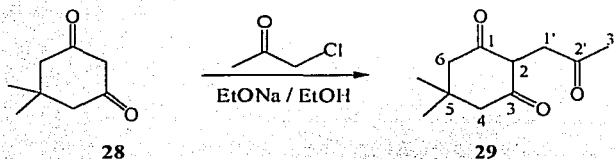
La síntesis de las [2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-5-ilidenmetil]ureas se realizó de acuerdo al siguiente esquema de reacciones:



Esquema 13.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Preparación de la 5,5-dimetil-2-(2-oxopropil)ciclohexano-1,3-diona (29).



El compuesto 1,4 dicarbonílico **29** se formó a partir de la C-alkilación de la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona con cloroacetona. Para generar el anión de la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona se empleó etóxido de sodio como base y etanol anhidro como disolvente. El compuesto **29** se obtuvo con un rendimiento del 65% y tiene un punto de fusión 132-133°C.

La estructura del compuesto **29** se corroboró por espectroscopía de infrarrojo (película), resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y espectrometría de masas. Las señales características del compuesto se muestran en la siguiente tabla.

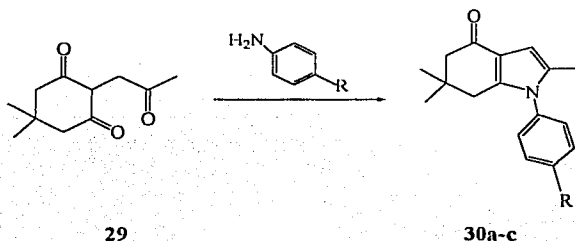
Tabla 1.-Datos espectroscópicos del compuesto **29**.

IR ( $\text{CHCl}_3$ , $\text{cm}^{-1}$ )	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)	EM - IE ( $\text{M}^+$ , m/z)
1707 (C=O)	1.09 (s,6H,CH <sub>3</sub> -C5) 2.25 (s,3H,H-3') 2.96 (d,2H,H-1') 3.52 (s,4H,H-4,-6) 3.85 (t,1H,H-2)	196



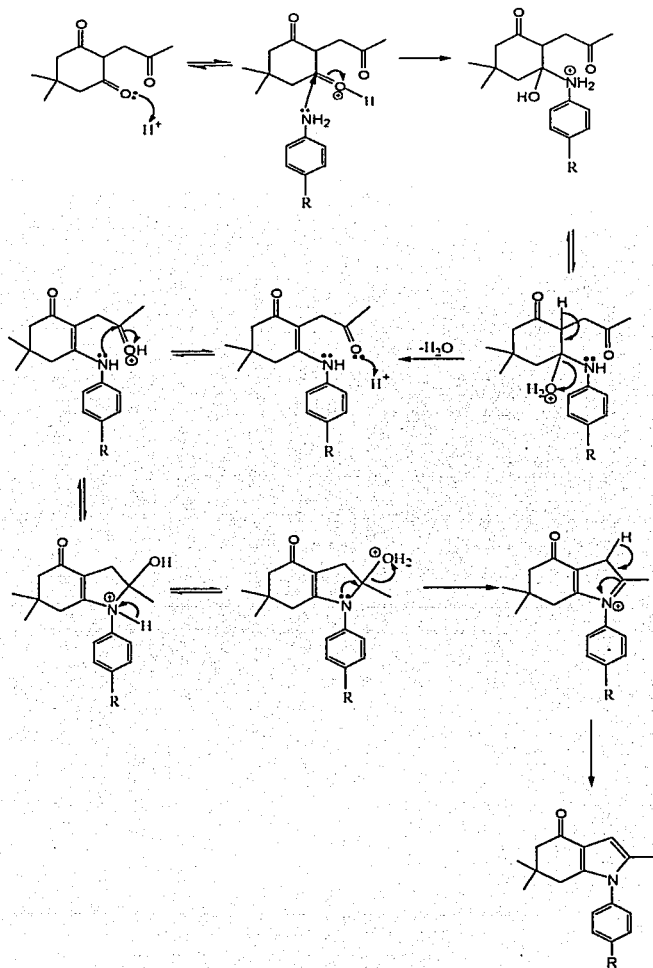
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.2 Preparación de las 1-(4-R-fenil)-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidroindol-4-ona (30a-c).



La formación de los enlaces N-C<sub>1</sub> y N-C<sub>4</sub> se realizó empleando el método de Paal-Knoor.<sup>40</sup> Para esto se usó el compuesto 1,4 dicarbonílico 29 como materia prima con una mol de las anilinas *p*-sustituidas (R=OCH<sub>3</sub>, Br y NO<sub>2</sub>) en ácido acético glacial y una gota de ácido sulfúrico como catalizador. En el esquema 15 se muestra el mecanismo de la reacción. Los rendimientos de los productos dependen del sustituyente del anillo aromático: los mayores rendimientos corresponden a los sustituyentes electrodonadores mientras que los sustituyentes electroattractores lo disminuyen. Las tetrahidroindolonas 30 son sólidos cuyo color varía de acuerdo al sustituyente. La estructura de estos compuestos fue corroborada por las técnicas espectroscópicas de resonancia magnética nuclear de hidrógeno, espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas. En la tabla 2 se muestran las señales características de los compuestos 30.

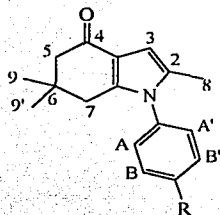
#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Esquema 14. Mecanismo de reacción de las indolonas 30.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TABLA 2.- Datos espectroscópicos de los compuestos 30a, 30b, 30c.



R = OCH<sub>3</sub>, Br, NO<sub>2</sub>

Compuesto	R	IR (KBr, cm <sup>-1</sup> )	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , ppm)	EM - IE (M <sup>+</sup> , m/z)
30a	OCH <sub>3</sub>	1648 (C=O) 1517 (C=C)	1.05 (s,6H,H-9,9') 2.02(s,3H,H-8) 2.34 (s,2H,H-5) 2.37 (s,2H.H-7) 3.87(s,3H,OMe) 6.34 (d,1H,H-3, J=0.9 Hz) 6.98-7.15 (m,6H,H-AA'BB')	283
30b	Br	1650 (C=O) 1520 (C=C)	1.06 (s,6H,H-9,9') 2.04(s,3H,H-8) 2.35 (s,2H,H-5) 2.37 (s,2H.H-7) 6.37 (d,1H,H-3, J=1.0 Hz) 7.08-7.67 (m,6H,H-AA'BB')	331-333
30c	NO <sub>2</sub>	1653 (C=O) 1528 (C=C)	1.07 (s,6H,H-9,9') 2.10(d,3H,H-8, J=0.92 Hz) 2.37 (s,2H,H-5) 2.42 (s,2H.H-7) 6.46 (d,1H,H-3, J=1.0 Hz) 7.39-8.45 (m,6H,H-AA'BB')	298

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.3 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzofuran-4-ona (31).



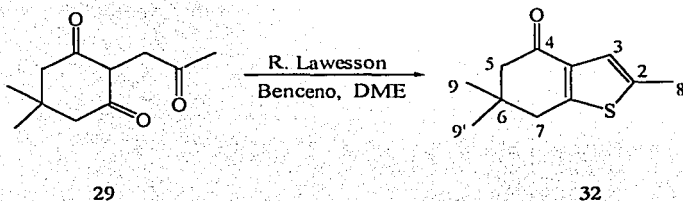
Para la obtención de la 4-benzofuranona **31** se hizo reaccionar el compuesto 1,4-dicarbónico **29** con ácido polifosfórico a 130°C. Se obtuvo un 71% de un sólido con *pf* 69-71°C.<sup>41,42</sup> La estructura del compuesto **31** se corroboró mediante los datos espectroscópicos que se muestran en la siguiente tabla.

**TABLA 3.-** Datos espectroscópicos del compuesto **31**.

IR (CHCl <sub>3</sub> , cm <sup>-1</sup> )	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , ppm)	EM - IE (M <sup>+</sup> , m/z)
1667 (C=O) 1584 (C=C)	1.13 (s,6H,H-9,9') 2.29 (d,3H,H-8, J=0.5 Hz) 2.34 (s,2H,H-5) 2.69 (s,2H,H-7) 6.23 (d,1H,H-3, J=1.0 Hz)	178

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.4 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ona (32).



La benzo[b]tiofen-4-ona 32 se formó haciendo reaccionar el compuesto 1,4-dicarbonílico 29 con el reactivo de Lawesson.<sup>43,44</sup> El compuesto 32 se obtuvo con un rendimiento del 48% y un punto de fusión de 61-62°C. La identidad de 32 se determinó por las señales características que presentó en sus espectros de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de hidrógeno y de masas.

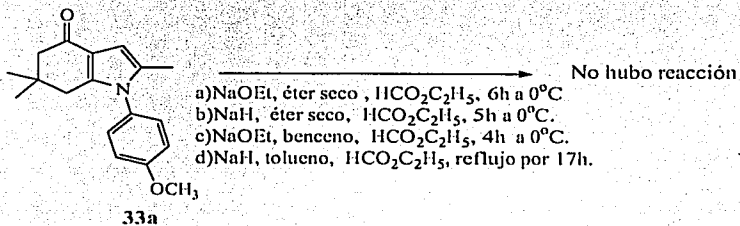
TABLA 4.- Datos espectroscópicos del compuesto 32.

IR (KBr, cm <sup>-1</sup> )	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , ppm)	EM - IE (M <sup>±</sup> , m/z)
1661 (C=O) 1548 (C=C)	1.11 (s,6H,H-9,9') 2.37(d,2H,H-8, J=0.6 Hz) 2.41 (s,3H,H-5) 2.81 (s,2H,H-7) 7.01 (d,1H,H-3, J=1.2 Hz)	194

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.5 Preparación de las 5-hidroxiimilén-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-4-ona (33a-c, 34, 35).

La 4-metoxifenilindolona 30a se utilizó como modelo para explorar la reacción de formilación en la posición 5 de los derivados 33a-c, 34 y 35. De acuerdo a las referencias las condiciones normales para formilar este tipo de compuestos consiste en utilizar bases como el cloruro o el hidruro de sodio, en éter dietílico o benceno anhidro. Después de realizar varios intentos cambiando la base y el disolvente, no se logró obtener el producto deseado.

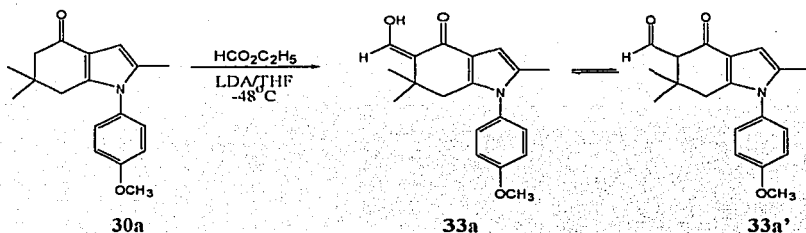


Los resultados anteriores indicaron la necesidad de utilizar una base más fuerte. Se escogió el diisopropilamidiuro de litio (LDA), ya que su pKa es mayor a 25 (el pKa de las cetonas es similar). El LDA se preparó tratando la amina correspondiente con un equivalente de n-butililitio, en un disolvente aprótico como el tetrahidrofurano (THF). La formación del enolato con LDA se llevó a cabo a -78°C en un baño de hielo seco y acetona y una atmósfera inerte de nitrógeno.<sup>45</sup>



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la reacción entre la indolona **30a**, formiato de etilo y LDA, en THF seco se logró la obtención del compuesto formilado.



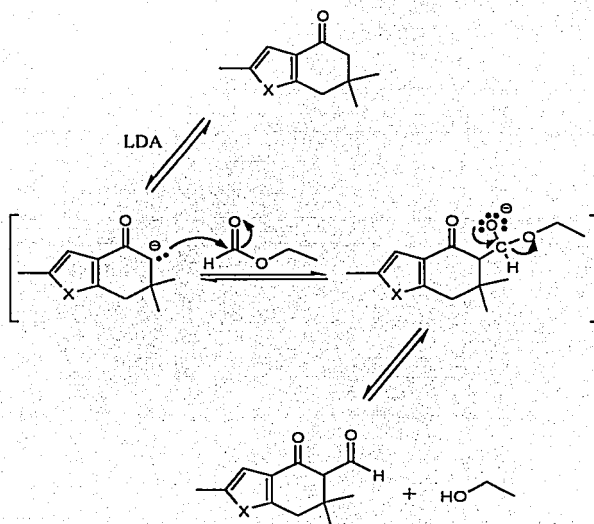
De las dos formas tautoméricas **33a** y **33a'**, la que predomina es la hidroximetilén-cetona **33a**, la cual se detecta por sus datos espectroscópicos de infrarrojo y resonancia magnética nuclear de hidrógeno. En el espectro de infrarrojo se observa una banda fina a  $1622\text{ cm}^{-1}$ , característica de la cetona alifática y en  $3500\text{ cm}^{-1}$  la banda ancha del alcohol. Su espectro de RMN<sup>1</sup>H muestra a campo alto: una señal simple a 1.2 ppm asignada al gem dimetilo unido al C-6; una señal doble a 2.04 ppm con una constante de acoplamiento (*J*) de 1.0 Hz que corresponde a los hidrógenos del metilo unido a C-2, a 2.39 ppm una señal simple asignada a los H-7 y una señal simple a 4.37 ppm, que integra para 3H, corresponde al sustituyente metoxilo del anillo bencénico en posición *p*. A campo bajo se observa: una señal doble a 6.37 ppm con una constante de acoplamiento (*J*) de 1.04 Hz asignada al H-3 del anillo del pirrol; en 6.97-7.13 ppm una señal multiplete que corresponde a los protones del anillo de benceno disustituído; una señal doble a 7.31 ppm con una constante de acoplamiento (*J*) de 10.1 Hz que corresponde al protón de la forma enol (=C H) y a 14.79 ppm una señal doble con una constante de acoplamiento (*J*) de 10.1 Hz que corresponde al protón del hidroxilo de la forma enol (O H), que desaparece con D<sub>2</sub>O. Cabe mencionar que en el espectro también se observa una señal a 9.8 ppm, asignada al protón del aldehído (CHO) de la forma formil-cetona.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La formilación de los compuestos **33b**, **33c**, **34** y **35** se llevo a cabo utilizando condiciones similares para formular a la indolona **30a**. La estructura de los derivados formilados **33b**, **33c**, **34** y **35** fueron congruentes con sus datos espectroscópicos que se muestran en las tablas 5 y 6.

#### MECANISMO DE LA REACCIÓN DE FORMILACIÓN.

La reacción entre los dos compuestos carbonílicos consta de dos pasos: una adición nucleofílica y una eliminación. La 4-indolona actúa como nucleófilo, en forma de enolato, y el formiato de etilo actúa como electrófilo. La eliminación de una molécula de etanol lleva al producto final.<sup>46</sup>

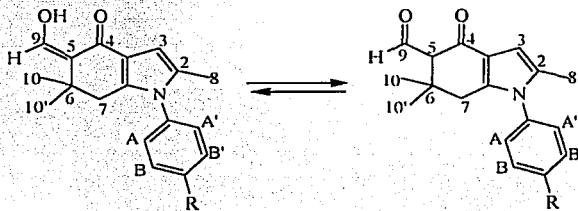


Esquema 15.



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5.-Datos espectroscópicos de los compuestos 33a-c.

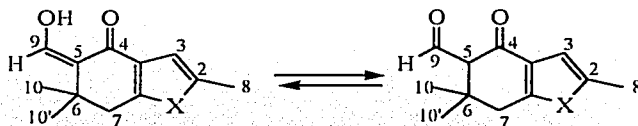


R = OCH<sub>3</sub>, Br, NO<sub>2</sub>

Compuesto	R	IR (KBr, cm <sup>-1</sup> )	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , ppm)	EM - IE (M <sup>+</sup> , m/z)
33a	OCH <sub>3</sub>	1622 (C=O) 1514(C=C)	1.20 (s, H-10,10') 2.04 (d, H-8, J=1.0 Hz) 2.39 (s, H-7) 3.87 (s, OCH <sub>3</sub> ) 6.37 (d, H-3, J=1.04 Hz) 6.97-7.13 (m, H-AA'BB') 7.31 (d, =CH, J=10.1 Hz) 14.79 (d, OH, J=10.1 Hz)	311
33b	Br	1622 (C=O) 1526(C=C)	1.21 (s, H-10,10') 2.06 (d, H-8, J=0.85 Hz) 2.41 (s, H-7) 6.39 (d, H-3, J=1.0 Hz) 7.39-8.43 (m, H-AA'BB') 7.38 (d, =CH) 9.8 (s, H-9)	361-359
33c	NO <sub>2</sub>	1628 (C=O) 1525(C=C)	1.22 (s, H-10,10') 2.12 (s, H-8) 2.45 (s, H-7) 6.45 (d, H-3, J=0.87 Hz) 7.07-7.66 (m, H-AA'BB') 7.26 (d, =CH) 9.82 (s, H-9)	326

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla 6.-**Datos espectroscópicos de los compuestos **34** y **35**.



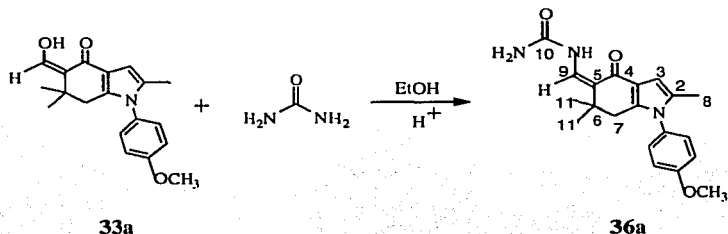
**34** X = O

**35** X = S

Compuesto	IR (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)	EM - IE ( $\text{M}^+$ , m/z)
<b>34</b>	1631 (C=O) 1587(C=C)	1.27 (s, H-10,10') 2.31 (d, H-8, J=0.9 Hz) 2.71 (s, H-7) 6.28 (d, H-3, J=0.9 Hz) 7.32 (d, =CH, J=10.8 Hz) 14.22 (d, OH, J=10.8 Hz)	206
<b>35</b>	1625 (C=O) 1576(C=C)	1.24 (s, H-11,11') 2.43 (d, H-8, J=0.57 Hz) 2.79 (s, H-7) 7.03 (d, H-3, J=1.17 Hz) 7.52 (d, =CH, J= 9.96 Hz) 14.68 (d, OH, J =9.96 Hz)	222

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.6 Preparación de las [2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-5-ilidenmetil]ureas (36a-c, 37 y 38).



El derivado **36a** se formó a partir de una reacción de condensación entre la hidroximetilén-cetona **33a** y la urea (1:1), utilizando como medio de reacción etanol y una gota de HCl concentrado como catalizador. El pH de la solución debe ser ácido, pero si es demasiado ácido se protona la amina (pierde su nucleofilia) y por consiguiente retarda la reacción. En el esquema 18 se muestra el mecanismo de la reacción.

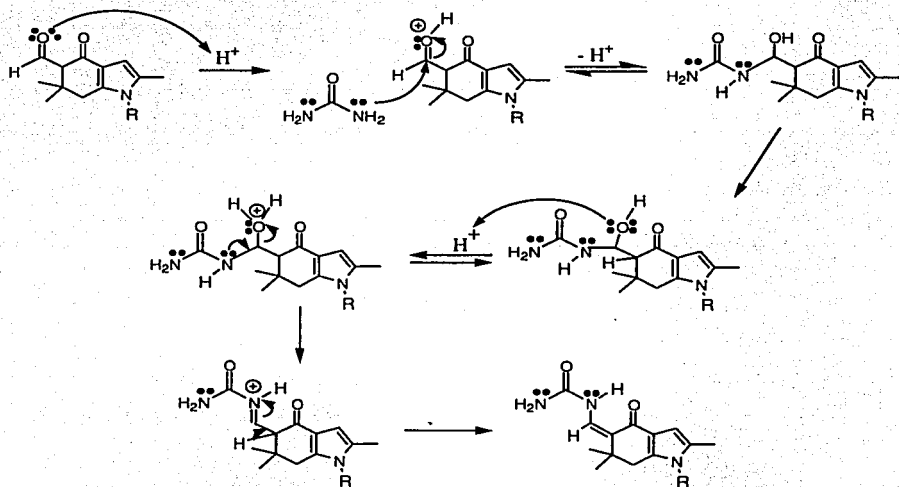
El compuesto **36a** es un sólido y su estructura fue corroborada por sus datos espectroscópicos. Su espectro de infrarrojo muestra las señales para el NH de la urea en  $3402\text{-}3254\text{ cm}^{-1}$ , C=O de la urea en  $1676\text{ cm}^{-1}$  y el C=O de la cetona en  $1707\text{ cm}^{-1}$ . En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  muestra a campo alto señales simples a: 1.24 ppm, que integra para 6H, asignado al gem dimetilo unido al C-6; 2.03 ppm, que integra para 3H, que corresponde a los hidrógenos del metilo unido a C-2; 2.42 ppm una señal simple, que integra para 2H, asignada a los H-7; 3.07 ppm, que integra para 3H, que corresponde al sustituyente *para*-metoxilo del anillo bencénico. A campo bajo se observa: una señal a 6.32 ppm, que integra para un H, asignada al H-3 del anillo del pirrol; en 7.02-7.22 ppm una señal multiplete, que integra para 4H, corresponde a los protones del anillo de benceno; una señal doble a 7.21 ppm, que integra para un H con una constante de acoplamiento (J) de 10.5 Hz y corresponde al H unido a C-9 y a 10.89 ppm una señal doble con una constante de acoplamiento (J) de 10.8 Hz, que corresponde al H enlazado al nitrógeno de la urea (NH).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estructuras de los compuestos **36b**, **36c**, **37** y **38** fueron congruentes con sus datos espectroscópicos que se muestran en las tablas 7 y 8. La estructura del compuesto **38** también fue corroborada por difracción de rayos X de un monocristal del mismo (Fig 5).

#### MECANISMO DE LA REACCIÓN.

El mecanismo de formación de los derivados de urea se inicia con la adición nucleofílica de la amina primaria al grupo carbonilo del aldehído. Posteriormente la carbinolamina reacciona para formar un doble enlace por pérdida de agua, esta deshidratación sigue el mismo mecanismo de deshidratación de un alcohol catalizado por un ácido.<sup>47</sup>



Esquema 16. Mecanismo de formación de los derivados de urea.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

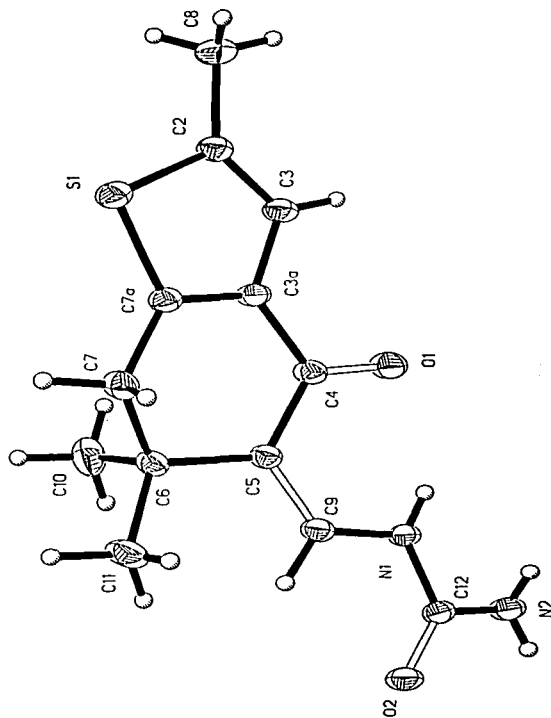
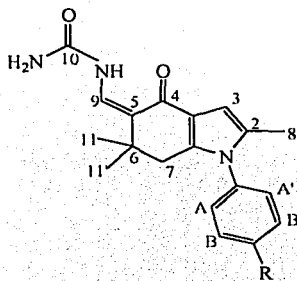


Figura 5. Rayos X del compuesto 38.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 7.-Datos espectroscópicos de los compuestos 36a-c.

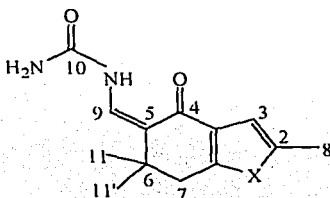


R = OCH<sub>3</sub>, Br, NO<sub>2</sub>

Compuesto	R	IR (Nujol, cm <sup>-1</sup> )	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , ppm)	EM - IE (M <sup>+</sup> , m/z)
36a	OCH <sub>3</sub>	3254, 3319 y 3402 (N-H) 1707 (C=O, cetona) 1676 (C=O, urea)	1.24 (s, 6H, H-11, 11') 2.03 (s, 3H, H-8) 2.42 (s, 2H, H-7) 3.07 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ) 6.32 (s, 1H, H-3) 7.04-7.22 (m, 4H, HAA'BB') 7.21 (d, 1H, H-9, J=10.5 Hz) 10.89 (d, 1H, NH, J=10.8 Hz)	353
36b	Br	3266, 3331 y 3397 (N-H) 1709 (C=O, cetona) 1678 (C=O, urea)	1.18 (s, 6H, H-11, 11') 2.05 (s, 3H, H-8) 2.46 (s, 2H, H-7) 6.25 (d, 1H, H-3, J=1.02 Hz) 7.22 (d, 1H, H-9, J=10.83 Hz) 7.26-7.72 (m, 4H, HAA'BB') 10.87 (d, 1H, NH, J=10.86 Hz)	403-401
36c	NO <sub>2</sub>	3245, 3321 y 3397 (N-H) 1708 (C=O, cetona) 1676 (C=O, urea)	1.20 (s, 6H, H-11, 11') 2.12 (d, 3H, H-8, J=0.75 Hz) 2.52 (s, 2H, H-7) 6.32 (d, 1H, H-3, J=1.05 Hz) 7.26 (d, 1H, H-9, J=10.89 Hz) 7.60-8.42 (m, 4H, HAA'BB') 10.91 (d, 1H, NH, J=10.89 Hz)	368

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 8.-Datos espectroscópicos de los compuestos 37 y 38.



37 X = O

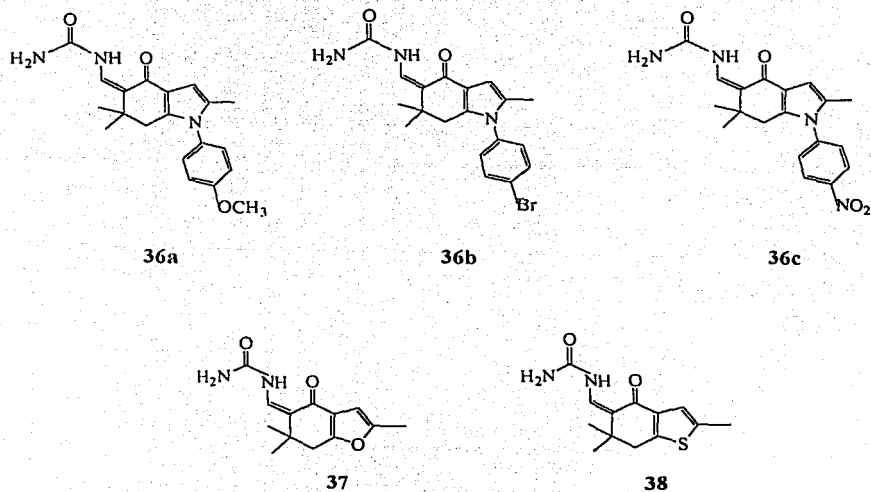
38 X = S

Compuesto	IR (Nujol, $\text{cm}^{-1}$ )	RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)	EM - IE ( $\text{M}^+$ , m/z)
37	3182, 3273 y 3342 (N-H) 1708 (C=O, cetona) 1678 (C=O, urea)	1.29 (s, 6H, H-10, 10') 2.30 (d, 3H, H-8, J=0.9 Hz) 2.72 (s, 2H, H-7) 6.22 (d, 1H, H-3, J=1.2 Hz) 7.39 (d, 1H, H-9, J=11.1 Hz) 11.06 (d, 1H, NH, J=10.5 Hz)	248
38	3244, 3327 y 3407 (N-H) 1711 (C=O, cetona) 1679 (C=O, urea)	1.27 (s, 6H, H-10, 10') 2.43 (d, 3H, H-8, J=0.9 Hz) 2.82 (s, 2H, H-7) 6.98 (d, 1H, H-3, J=1.2 Hz) 7.44 (d, 1H, H-9, J=11.1 Hz) 11.08 (d, 1H, NH, J=11.1 Hz)	264

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.7 Pruebas de actividad citotóxica.

El primer paso para determinar la actividad citotóxica de los derivados de urea sintetizados (esquema 17), consistió en hacer soluciones 100 $\mu$ M en DMSO de cada uno. Después se determinó el % de inhibición de crecimiento ocasionado por los compuestos en cada línea celular, para ello se utilizó un ensayo colorimétrico. Los resultados obtenidos de esta primera evaluación se muestran en la tabla 9.



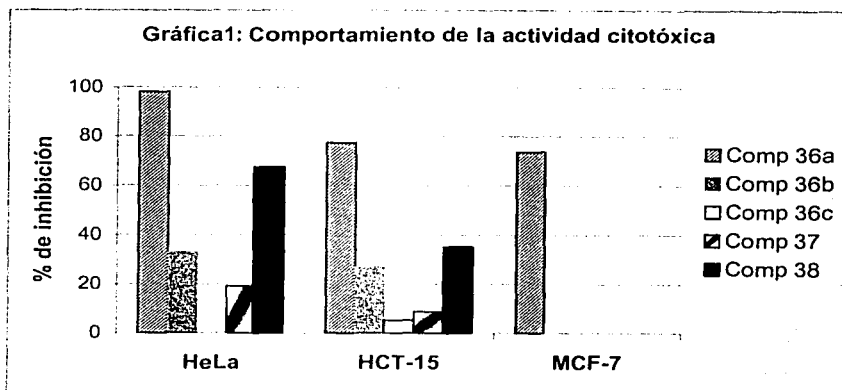
Esquema 17. Compuestos sometidos a pruebas de actividad citotóxica.



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 9.- % Inhibición de crecimiento celular a una concentración 100  $\mu$ M.

COMPUESTO	HeLa	HCT-15	MCF-7
36a	98.18	77.38	73.69
36b	33.06	27.17	0
36c	0	5.26	0
37	19.17	8.76	0
38	67.44	35.23	0



#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostrados en la tabla 9, para la línea celular HeLa muestran que el compuesto **36a** es el más activo, el cual mostró una inhibición celular del 98%. También el compuesto **38** presentó una actividad inhibitoria apreciable (67%), pero no tan efectiva como **36a**. Lo anterior indica que la presencia de N y S en el heterociclo puede ser clave para el diseño de nuevos compuestos con actividad inhibitoria para esta línea celular, al igual que el sustituyente en la posición *para* del fenilo.

Con respecto a las líneas celulares HCT-15 y MCF-7, el compuesto **36a** es el único que presentó actividad citotóxica; aunque sólo son 3 sustituyentes evaluados, parece que hay una influencia electrónica de los sustituyentes en la actividad citotóxica. En la gráfica 1 se muestra de manera visual la influencia de los sustituyentes  $\text{OCH}_3$ , Br y  $\text{NO}_2$  en la posición *para* del anillo aromático sobre el valor de la inhibición celular.

A partir de los resultados obtenidos de las tres líneas celulares, sólo se seleccionó el derivado de urea **36a** para evaluarse en tres líneas adicionales de cáncer humano: U251, PC-3 y K562, en los que también presentó un buen inhibición de crecimiento (Tabla 10).

Tabla 10.- % Inhibición de crecimiento celular a una concentración 100  $\mu\text{M}$  del compuesto **36a**.

Línea Celular	% Inhibición de crecimiento
U251	100.00
PC-3	63.17
K562	78.03

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como el compuesto **36a**, [2,6,6-trimetil-1-(4-metoxifenil)-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidroindol-5-ilidenmetil]urea mostró una actividad citotóxica apreciable a una concentración 100  $\mu\text{M}$ , se procedió a determinar la  $\text{IC}_{50}$  de éste en las líneas celulares: HCT-15, MCF-7, U251, PC-3 y K562; a partir de una curva de dosis- respuesta de %inhibición de crecimiento vs log concentración 3.1, 10, 31 y 100  $\mu\text{M}$  para cada línea celular.

**Tabla 11.-**  $\text{IC}_{50}$  de [2,6,6-trimetil-1-(4-metoxifenil)-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidroindol-5-ilidenmetil]urea

Línea Celular	$\text{IC}_{50}$ [ $\mu\text{M}$ +/- ds ]
HCT-15	4.84 +/- 0.952
MCF-7	9.90 +/- 0.355
U251	11.43 +/- 0.803
PC-3	16.79 +/- 2.013
K562	5.62 +/- 0.2

Las  $\text{IC}_{50}$  se obtuvieron a partir de dos experimentos diferentes por triplicado para cada línea celular.

Los resultados de las concentraciones inhibitorias 50 indican que el compuesto **36a** no es selectivo, pero presenta una actividad citotóxica muy elevada en dos líneas celulares: HCT-15 (colon) y K562 (leucemia) que requieren de menos dosis para inhibir o reducir el 50% de las células neoplásicas en comparación a las demás líneas celulares que requieren más del doble de dosis del derivado de urea.

---

---

## 5. CONCLUSIONES

---

---

- Se logró la síntesis de los nuevos derivados [2,6,6-trimetil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-5-ilidenmetil]ureas, con un rendimiento aceptable. Todos los compuestos fueron caracterizados por las técnicas de espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H, infrarrojo y espectrometría de masas.
- La citotoxicidad de los derivados de urea son altamente dependientes de los sustituyentes del esqueleto, especialmente por el heteroátomo N y el grupo electrodonador en la posición *para* del anillo bencénico.
- El compuesto 36a (R= OCH<sub>3</sub>) tiene una alta actividad citotóxica en las líneas celulares HCT-15 y K562.

---

---

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

---

---

### 6.1 DATOS GENERALES

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Meli-temp II; los resultados se reportan en °C sin corregirlos. Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro Nicolet FT Magna-IR 750.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN <sup>1</sup>H) y Resonancia Magnética de Carbono trece (RMN <sup>13</sup>C) se obtuvieron en los equipos Varian Gemini 200 y UNITY-300. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm) utilizando el parámetro  $\delta$ , y están referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros de RMN <sup>1</sup>H se realizaron utilizando cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) y DMSO deuterado como disolventes.

Los espectros de masas se obtuvieron en el espectrómetro de masas JEOL JMS AX505HA de doble enfoque, empleando la técnica de impacto electrónico IEEM y con una energía de ionización de 70eV.

La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna empleando gel de sílice Merck 60 F-254. El avance de las reacciones se verificó por cromatografía en capa fina de gel sílice F-254 tipo 60 Merck. Para visualizar a los compuestos se empleó una lámpara de luz ultravioleta y yodo.

### 6.2 Preparación de la 5,5-dimetil-2-(2-oxopropil)ciclohexano-1,3-diona (29).

En un matraz redondo, provisto de un refrigerante y agitación magnética se colocó 1.0 g (7.1 mmol) de dimedona disuelta en 10 mL de etanol, posteriormente se adicionó 0.48 g (5.5 mmol) etóxido de sodio y 0.57 mL (7.1 mmol) de cloroacetona recién destilada. La mezcla de reacción se llevó a reflujo por 30 minutos, después de lo cual se filtró y el filtrado se concentró a sequedad. El residuo se disolvió en 10 ml de NaOH al 10%, y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 X 10 mL). La fase acuosa se aciduló con HCl concentrado y se reextrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 X 10 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, filtró y concentró para obtener un sólido, el cual se recristalizó de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -hexano. Se obtuvo 0.9 g (65%) del producto 29 con  $\text{pf}$  132-133°C.

### 6.3 Preparación de las 1-(4-R-fenil)-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidroindol-4-ona(30a-c)

#### Método general (R=Br)

En un matraz bola de 50 mL se disolvieron 0.5 g (2.5 mmol) del compuesto tricarbónico 29 en 5 mL de ácido acético glacial, posteriormente se adicionaron 0.438 g (2.5 mmol) de *p*-bromoanilina y una gota de ácido sulfúrico. La mezcla de reacción se llevó a reflujo durante 2.5 h y después se vertió sobre hielo-agua. Posteriormente se extrajo con diclorometano (3 X 15 mL). La fase orgánica se lavó con una solución de  $\text{NaHCO}_3$  al 5% y se secó con sulfato de sodio anhidro. La eliminación del disolvente produjo un sólido de color café oscuro, que se purificó por cromatografía en columna. Se obtuvo un sólido café claro cuyo punto de fusión fue de 172 -174 °C. En la siguiente tabla se muestra los rendimientos y puntos de fusión obtenidas para cada uno de los compuestos preparados.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

Tabla 12.-Rendimientos de las tetrahidroindolonas 30a-c.

Compuesto	Sustituyente	Fórmula	Punto de fusión	Rendimiento
30a	OCH <sub>3</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>	145-148°C	75%
30b	Br	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> BrNO	172-174 °C	71%
30c	NO <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	183-185°C	61%

### 6.4 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran-4-ona (31).

En un matraz bola de 100 mL se preparó ácido polifósforico *in situ* a partir de 9.0 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 5 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (sobre un baño de hielo durante la adición del segundo reactivo). Después se calentó a una temperatura de 100-110°C y cuando la mezcla se licuó se adicionó 0.5 g (2.5 mmol) del compuesto tricarbonílico 29, manteniendo la agitación durante una hora. Posteriormente se agregó hielo a la mezcla de reacción para inducir la precipitación del producto. Éste se separó por filtración al vacío y lavó con agua fría. El compuesto 31, un sólido de pf 69-71°C, se obtuvo con un rendimiento del 71% (0.32 g).

### 6.5 Preparación de la 2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]tiofen-4-ona (32).

En un matraz bola de 100 mL, equipado con barra de agitación, se adicionaron 30 mL de una mezcla benceno-dimetoxietano (3:1), 1.0 g (5.10 mmol) del compuesto tricarbonílico 29 y 1.29 g (2.55 mmol) del reactivo de Lawesson. La mezcla se llevó a reflujo por 3 horas, después de lo cual se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo que se obtuvo se separó por cromatografía en columna de sílica gel, empleando como eluyente una mezcla hexano-AcOEt (2:1). Las fracciones intermedias dieron el compuesto 32 como un sólido de pf 61-62°C y un rendimiento del 48% (0.47 g). Las fracciones continuas dieron la benzofuran-4-ona 31 con un rendimiento del 18% (0.16 g) y pf 68-70°C.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.6 Preparación de las 5-hidroximetilén-2,6,6-trimetil-4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-4-onas (33a-c, 34 y 35).

#### Método general ( R=OCH<sub>3</sub>)

En un matraz bola de dos bocas, acondicionado con barra de agitación y atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 5 mL de THF anhidro. En seguida se colocó el matraz en un baño de hielo seco-acetona (-78°C) y después de 5 min se adicionaron 0.5 mL (3.53 mmol) de diisopropilamina. Luego de enfriar por 5 min se adicionaron 1.76 mL (3.53 mmol) de *n*-butillitio 2.0 N y se mantuvo la agitación por 10 minutos más. Posteriormente se agregaron 0.5 g (1.76mmol) de la indolona **30a** disueltos en THF anhidro (aproximadamente 5 mL) continuando con la agitación 20 minutos más. Finalmente se adicionaron 0.57 mL (7.06 mmol) de formiato de etilo, gota a gota, y la mezcla de reacción se dejó en agitación por 90 minutos a -78°C. Después se dejó alcanzar la temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió 10 mL de solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 3 X 15 mL ). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se concentró. El residuo se separó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla hexano-AcOEt (2:1). De las fracciones intermedias se obtuvo un sólido de pf 113-114 °C. En la tabla 12 se presenta el punto de fusión y rendimiento de los compuestos sintetizados.

Tabla 13.- Rendimientos de los derivados hidroximetilén-cetonas.

Compuesto	Fórmula	Punto de Fusión	Rendimiento
33a	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	113-114 °C	42%
33b	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> BrNO <sub>2</sub>	120-121 °C	38%
33c	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	139-141 °C	30%
34	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	63-64 °C	46%
35	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> SO <sub>2</sub>	93-95 °C	44%



## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.7 Preparación de las [2,6,6-trimetil-4-oxo -4,5,6,7-tetrahidrobenzoC<sub>4</sub>X-5-ilidemetil]ureas (36a-c, 37 y 38).

Método general (R=OCH<sub>3</sub>)

En un matraz bola de 10 mL, con barra de agitación, se colocaron 0.1 g (0.32 mmol) del compuesto formulado **33a** y 0.02 g (0.32 mmol) de urea en 5 mL de etanol y una gota de ácido clorhídrico. La mezcla de reacción se llevó a reflujo por 6 h y posteriormente se dejó 24 h en el congelador para favorecer la precipitación del compuesto esperado. La mezcla se filtró y el precipitado se lavó con etanol-agua (90:10). El sólido que se obtuvo presentó un *mp* de 268-269 °C, con un rendimiento del 52 % (0.06 g). En la tabla 14 se muestra los puntos de fusión y rendimientos respectivos para cada compuesto.

Tabla 14.- Rendimientos de los derivados de urea.

Compuesto	Fórmula	Punto de Fusión	Rendimiento
<b>36a</b>	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	268-269 °C	52%
<b>36b</b>	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	281-282 °C	55%
<b>36c</b>	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	290-291 °C	71%
<b>37</b>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	245-246 °C	47%
<b>38</b>	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> SO <sub>2</sub>	223-225 °C	46%



## 5. PARTE EXPERIMENTAL

En cada pozo de las placas, se depositaron 100µL de la suspensión de células neoplásicas, se incubó por 24 h a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

Después de este tiempo las células de la placa tiempo cero se fijaron con TCA al 50% y se tiñeron con una solución de SRB para determinar su densidad óptica a una longitud de onda de 515nm usando un lector de microplacas. El promedio de los valores de la densidad óptica para cada línea celular se denominó tiempo cero (T<sub>0</sub>).

Por otra parte, a la placa experimental se le adicionaron 100 µL de la solución de los compuestos a probar en DMSO en las concentraciones 3.1, 10, 31 y 100 µM y se incubaron por 48 h más. Posteriormente las células se fijaron, se tiñeron con SRB y se determinó su densidad óptica.

El porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) para cada línea celular en sus respectivas concentraciones, se obtuvieron a partir de la siguiente ecuación :

$$\% IC = 100 - \left[ \frac{T - T_0}{C - T_0} * 100 \right]$$

en donde:

T = densidad óptica después de 48 h.

T<sub>0</sub> = densidad óptica a tiempo cero.

C = densidad óptica del control

---

---

## 7. BIBLIOGRAFIA

---

---

1. Hardman, J. G; Limbird, L.E; Molinoff, P.B; Ruddon, R.W. & Godman Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª ed., Vol. II , Ed. McGraw-Hill Interamericana, México, D.F. 1996,p-p 1300-1351.
2. Smit, C. M. & Reynard, A. M. Farmacología. Ed. Médica Panamericana., México, D.F. 1997, p-p 887-907.
3. Agrawal, K.C; Mooney, P.D. & Sartorelli, A.C. *J. Med. Chem.*, **19**, 971-977(1976).
4. Fauci, A; Braunwald, E; Isselbacher, K. & Wilson, J. *Principios de Medicina Interna*. Vol. 1, 14ª. ed., Ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid 1998, p-p 575-605.
5. <http://www.cancerstop.net/>
6. <http://www.insp.mx/salud/39/394-4.html>
7. Katzung, Bertram. *Farmacología básica y clínica*. 6ª ed., Ed. El Manual Moderno, México, D.F. 1996, p-p 1005-1028.
8. Li, J; Chen, S.H; Li, X; Niu, C. & Doyle T. W. *Tetrahedron*, **54**, 393-400 (1998)
9. Larsen, I. K; Sjöberg, B.M. & Thelander, L. *Eur. J. Biochem.*, **125**, 75-81 (1982).
10. Reichard, P. *Biochemistry*. **26**, 3245-3248 (1987).
11. Stor, R.E. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 46ª ed., Ed. Ediciones PLM, México, D.F., 2000, p-p 964-965.
12. Young C.W; Schochetman, G; Hodas, S. & Balis, M. E. *Cancer Res*. **27**, 535-540 (1967).
13. Tai, A.W; Lien, E. J; Lai, M.C. & Khwaja, T.A. *J. Med. Chem.*, **27**, 236-238(1984).
14. Liu, M.C; Lin, T.S. & Sartorelli, A.C. *J. Med. Chem.*, **35**, 20, 3672-3677 (1992).
15. French, F.A. & Blanz, E. J. Jr. *J. Med. Chem.*, **9**, 585-589 (1966).
16. French, F.A. & Blanz, E. J. Jr. *J. Med. Chem.*, **17**, 172-181(1974).
17. Carey, Francis A. *Organic Chemistry*. 4ª ed., Ed. Mc Graw-Hill. Boston 2000, p-p 705-726.
18. Mori, M; Vozumi, Y. & Shibasak, M. *Heterocycles*, **33**, 819-830(1992)

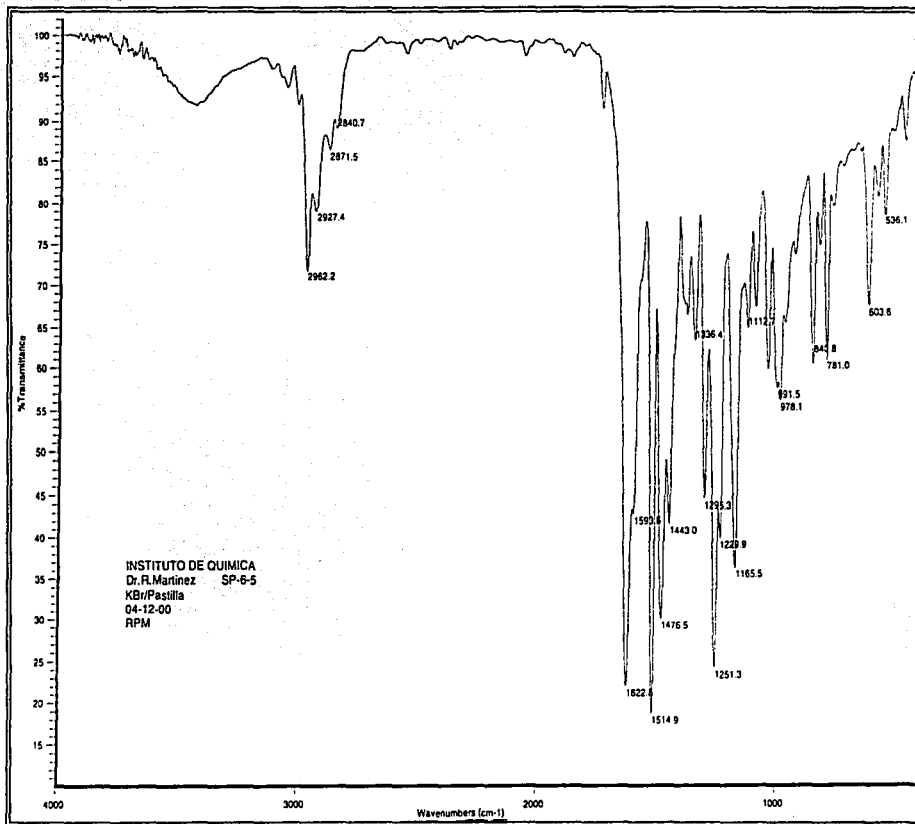
## 7. BIBLIOGRAFIA

19. Darell, H.J; Nayyar, K.N. & Martinelli, M. *Tetrahedron Lett.*, **37**, 28887-2890(1996).
20. Kraus, G. A. & Ridgeway, J. *J. Org. Chem.*, **59**, 4735-4737(1994).
21. Lee, Yong R. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **17**, 579-580(1996)  
Chem. Abstr. 125, 328415t(1996).
22. Houlihan, W. J. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*. Indoles. Ed. Wiley-Interscience, New York, 1972, p-p 515-518.
23. Asprou, C. M; Brunskill, J. S. & Jeffreg, H. *J. Het. Chem.*, **17**, 87-92(1980).
24. Napier, R.P; Kraufman, H.A; Driscull, P.R: Glick, L.A; Chu, C.C. & Foste, M.M. *J. Het. Chem.*, **7**, 393-394(1970).
25. Hidetsura, C. & Shinsuke, M. *Heterocycles*; **43**, 127-131(19969).
26. Trost, B. M. & Fleming, L. *Comprehensive Organic Synthesis*, Ed. Pergamon Press, Oxford, 1991,2, p-p 785-788, 837.
27. Ainsworth C. *Org. Synt; Coll. Vol.*, **4**, 536-539(1963).
28. Drewry, D.T. & Scrowston, R.H. *J. Chem. Soc. (C)*, 2750-2754(1969).
29. Katritzki, A.R; Marson, C.M. & Wang, Z. *J. Org. Chem.*, **52**, 2730-2734(1987).
30. Garbisch, E.W. Jr. *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 1696 (1963).
31. Baker, K.M. & Bartley, J.P. *Tetrahedron*, **24**, 1651-1654 (1968).
32. Remers, W. A; Roth, R. M; Gibs, G. J. & Weiss, M. J. *J. Org. Chem.*, **36**, 1232-1237 (1971).
33. Remers, W. A. & Jones, G. S. *J. Heterocyclic. Chem.*, **12**, 421-422 (1975).
34. Mosti, L; Schenone, P. & Menozzi, G. *J. Heterocyclic. Chem.*, **19**, 913-915 (1982).
35. Rajeshwarsingh, H; Bhagavateeswaran, P. C. J. & Nitya. A. *Indian J. Chem.*, **21B**, 853-856(1982).
36. Martínez, R; Avila, J.G. & López, G. *J. Heterocyclic. Chem.*, **32**, 491-493 (1995).
37. Bahnasawy, A. A. *Rev. Roum. Chim.*, **34**, 103-109 (1989).
38. Sherman, W.R. & Taylor, E.C. *Org. Synt. Coll. Vol.*, **4**, 247-249(1963).
39. Gilchrist, T.L. *Química Heterocíclica*. 2ª ed., Ed. Addison-Wesley Iberoamericana, México, D.F. 1995, p-p 253-261.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

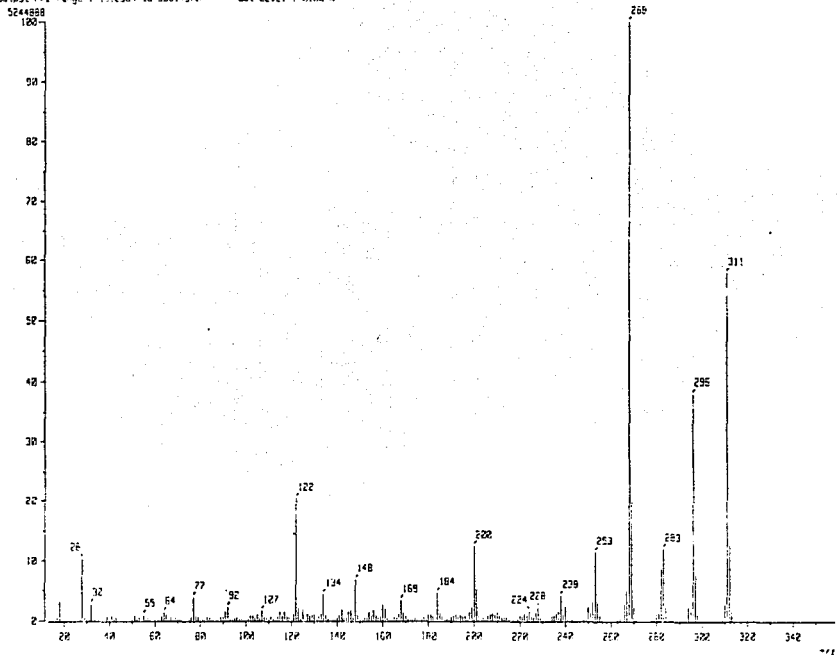
---

40. Stetter, H. & Lauterbach R. *Liebigs Ann. Chem.*, **20**, 655(1962).
41. Schaeffer, H.J. & Vince, R. *J. Org. Chem.*, **27**, 4502-4505(1962).
42. Avila, J.G. Tesis de Maestría "Síntesis de 4-(2-tioacetato de etilo)2,7,7-trimetil-6H-7,8-dihidrofuro[3,2-c]azepina". UNAM (1990).
43. Cava, M.P. & Levinson, M.I. *Tetrahedron*, **41**, 5061-5087 (1985).
44. Takehiko, N; Nori, K.O. & Chojikashima. *J. Heterocyclic. Chem.*, **25**, 1437-1438(1998).
45. Ege, S. *Organic Chemistry. Structure and Reactivity*. 3th ed., Ed. Heath; Lexington 1994, p-p 682-689.
46. Mc Murry, J. *Organic Chemistry*. 4th ed; Ed. Books/Cole Publishing Company, Pacific Grove 1996, p-p 910-919.
47. Wade, L.G. *Química Orgánica*. 2ª ed. Edt. Pearson Educación; México, D.F. 1994, p-p 851-854.



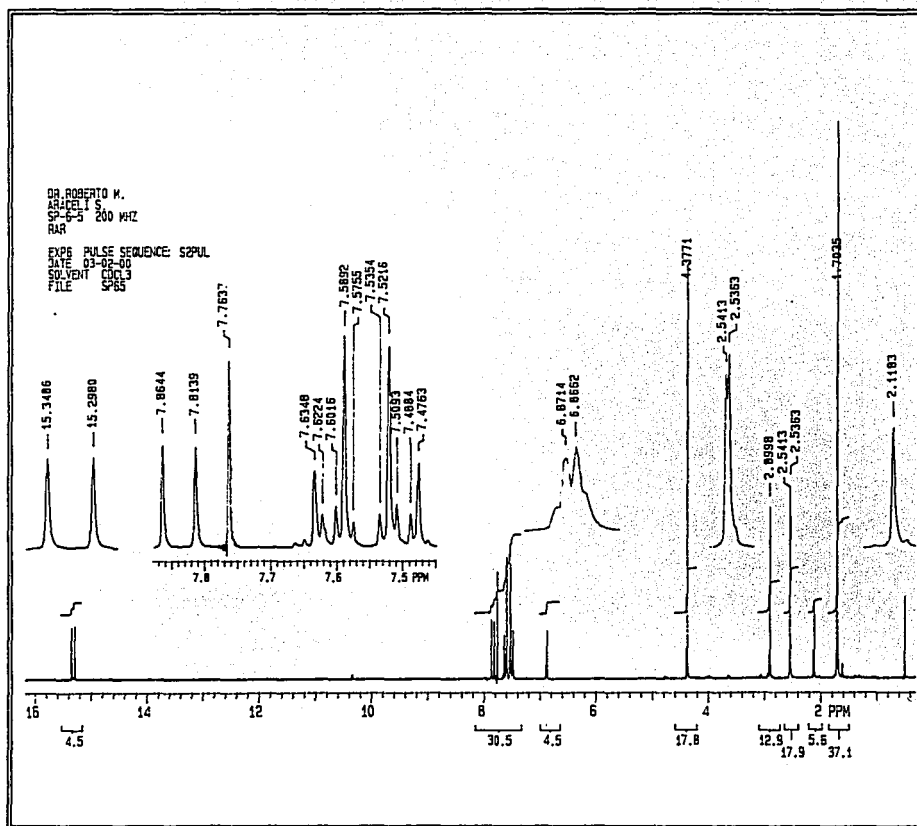
Anexo 1. Espectro de infrarrojo del compuesto 33.

[ Mass Spectrum ]  
 Date : 05-Mar-1998 16:47  
 Sample: SP-6-5  
 Note : -  
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+  
 Spectrum Type : Normal Ion [M+-Linear]  
 AT : 0.78 min Scan : (18,303)-124,381 Temp : 100.6 deg.C  
 SP : max 258,0000 Int. : 522.18  
 Output m/z range : 11.2584 to 358.4570 Cut Level : 0.100 %  
 5244888

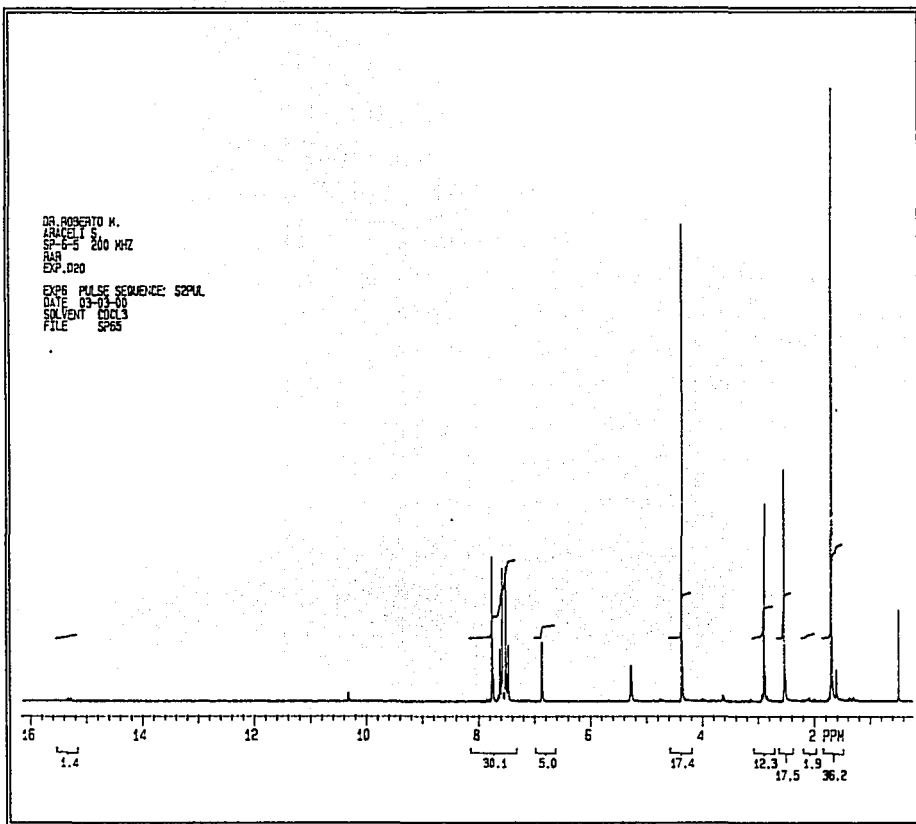


Anexo 2. Espectro de masas del compuesto 33.





Anexo 3. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 33.

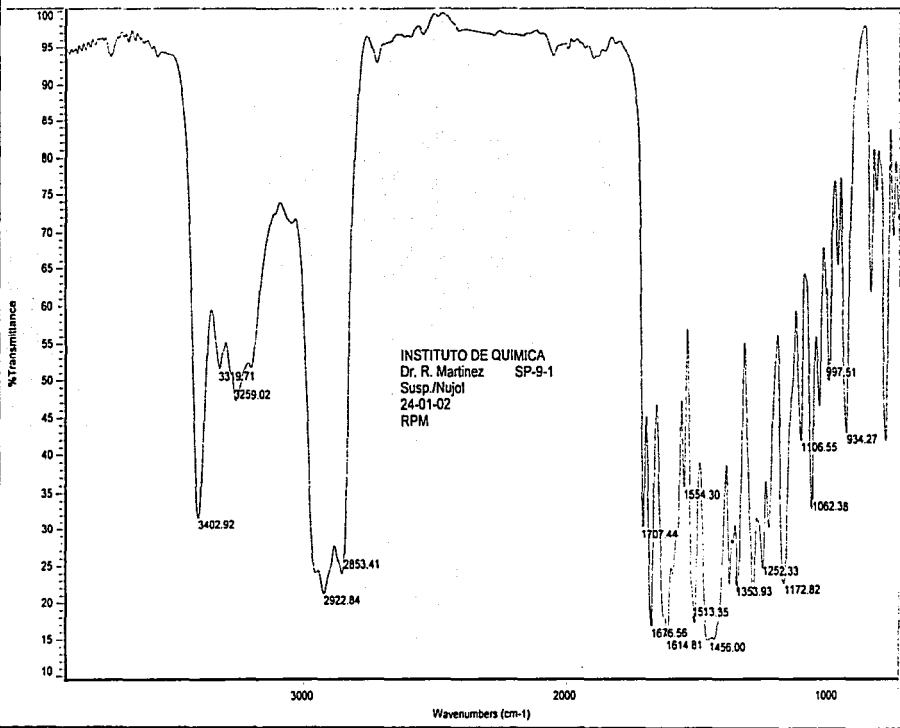


Anexo 4. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 33.

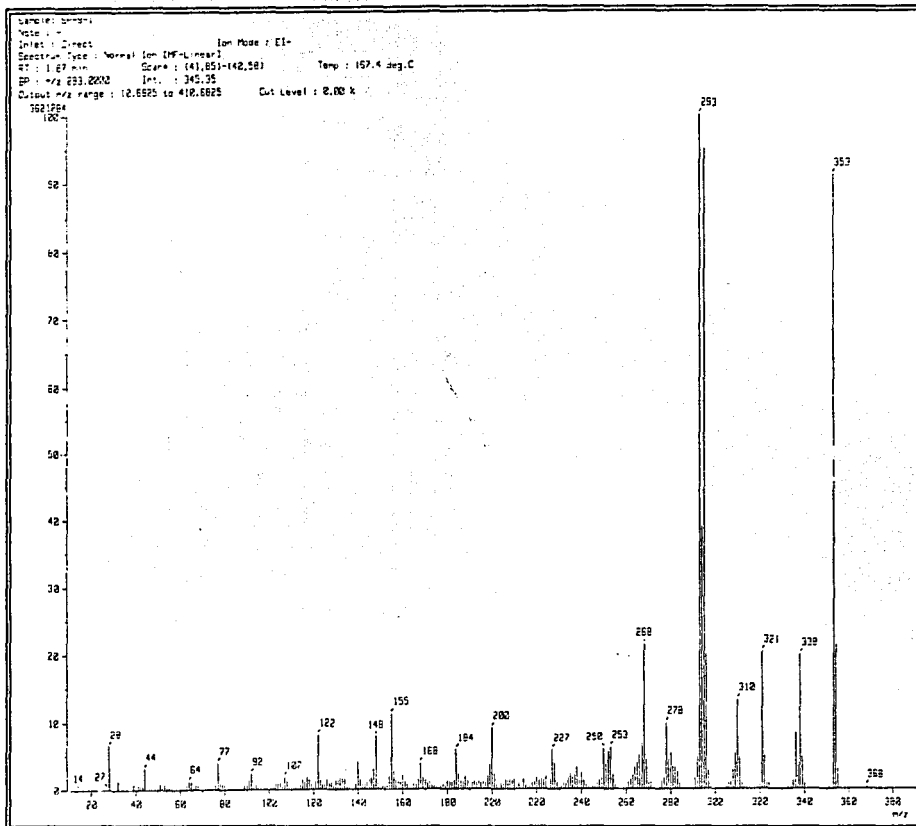


Instituto de Química, UNAM

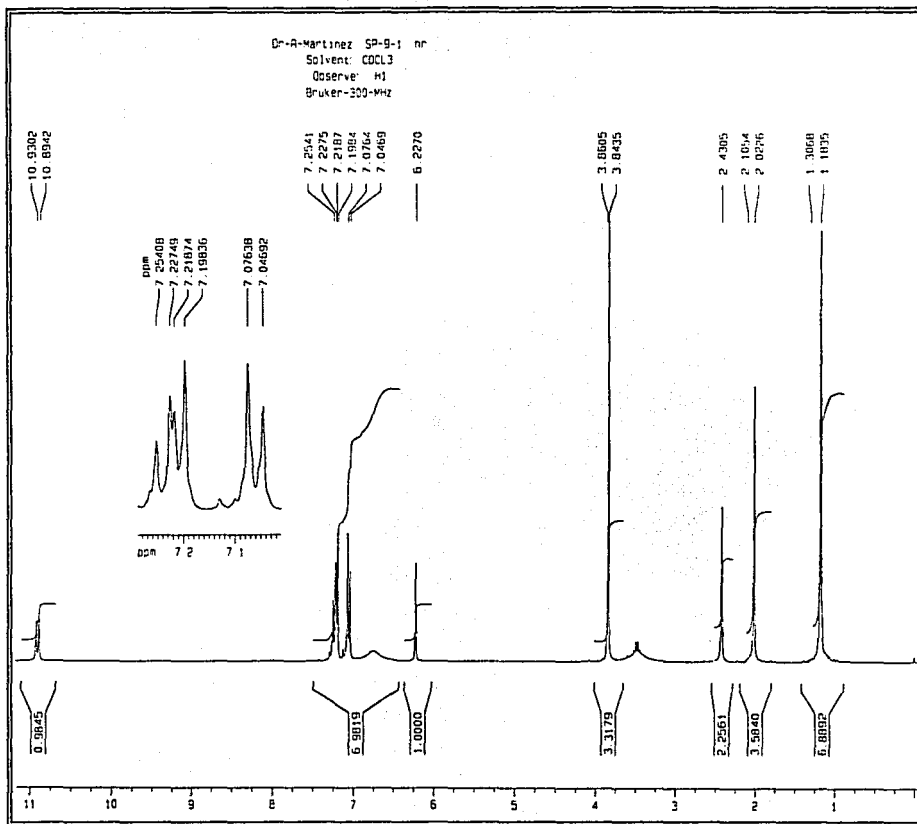
Laboratorio de Infrarrojo



Anexo 5. Espectro de infrarrojo del compuesto 36a.



Anexo 6. Espectro de masas del compuesto 36a.



Anexo 7. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 36a.