

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**“SÍNTESIS Y ANÁLISIS DE RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE
DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-b]QUINOLINA”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. F. B. MARCO ANTONIO LOZA MEJIA



TUTOR: DR. RAFAEL CASTILLO BOCANEGRA

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	DRA. MARTHA EUGENIA ALBORES VELASCO
VOCAL	DRA. MARTHA SONIA MORALES RÍOS
SECRETARIO	DR. ROBERTO MARTÍNEZ
PRIMER SUPLENTE	M. EN C. JOSÉ MANUEL MÉNDEZ STIVALET
SEGUNDO SUPLENTE	DR. ENRIQUE RAMÓN ÁNGELES ANGUIANO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

**LABORATORIO 121, CONJUNTO E, DEPARTAMENTO DE FARMACIA,
FACULTAD DE QUÍMICA, U. N. A. M.**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Castillo Bocanegra por su apoyo, paciencia, liderazgo, por su confianza en mí y mostrarme un estilo diferente de ver y hacer las cosas.

Al M. en C. Alfonso Sebastián Lira Rocha, por su por su invaluable ayuda, apoyo y asesoría durante la realización de este trabajo.

A la M. en C. Rosa Isela del Villar por la realización de los espectros de resonancia magnética nuclear.

A la Q. Maricela Gutiérrez por la realización de los espectros de infrarrojo.

A la Q. Georgina Duarte por la realización de los espectros de masas.

A la Dra. Angelina Quintero y el Q.F.B. José D. Solano por la determinación de la actividad citotóxica.

A los miembros del jurado por sus valiosos comentarios.

***A Yolli
Comme toujours, c'est pour toi, mon ange.***

INDICE	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. CÁNCER	2
2.2. TERAPIA CITOTÓXICA DEL CÁNCER	3
2.3. AGENTES INTERCALANTES	5
2.4. ADN TOPOISOMERASA II	8
2.5. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS INHIBIDORES DE LA ADN TOPOISOMERASA II	10
2.6. DERIVADOS DE ACRIDINA.....	17
2.7. DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-B]QUINOLINA	23
3. OBJETIVOS	28
4. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS	29
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
5.1. PARTE QUÍMICA.....	32
5.1.1. Parte sintética.....	32
5.1.2. Análisis espectroscópico.....	36
5.2. PARTE DE MODELADO MOLECULAR.....	52
5.3. PARTE DE RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD	70
6. PARTE EXPERIMENTAL	90
6.1. REACTIVOS Y EQUIPO	90
6.2. CROMATOGRAFÍA.....	90
6.3. DESCRIPCIÓN DE LAS SÍNTESIS	91
6.3.1. <i>N</i> -((Etoxicarbonil)metil)ditiocarbamato de metilo (XIV).....	91
6.3.2. <i>N</i> -((Etoxicarbonil)metil)iminoditiocarbamato de dimetilo (XV).....	91
6.3.3. 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (XVI).....	92
6.3.4. 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XVII).....	92
6.3.5. Método general para la obtención de derivados de 2-metiltio-9-anilintiazolo[5,4-b]quinolina.....	93
6.3.6. 9-[[[3-cloro]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (I).....	93
6.3.7. 9-[[[3-ciano]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (II).....	93
6.3.8. 9-[[[3-metoxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (III).....	94
6.3.8.3. 9-[[[3-metoxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (III).....	95
6.3.9. 9-[[[3-trifluorometil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (IV).....	95
6.3.10. 9-[[[3-nitro]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (V).....	96
6.3.11. 9-[[[3-hidroxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VI).....	96
6.3.12. 9-[[[3- <i>N</i> -metilamino]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VII).....	97
6.3.12.1. 3-nitroacetanilida (XXII).....	97
6.3.12.2. 3-nitro- <i>N</i> -metilacetanilida (XXIII).....	97
6.3.12.3. 3-nitro- <i>N</i> -metilanilina (XXIV).....	97
6.3.12.4. 3-amino- <i>N</i> -metilanilina (XXV).....	98
6.3.12.5. 9-[[[3- <i>N</i> -metilamino]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VII).....	98
6.3.13. 9-[[[4-cloro]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VIII).....	99
6.3.14. 9-[[[4-metoxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (IX).....	99
6.3.15. 9-[[[4-ciano]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (X).....	100
6.3.16. 9-[[[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (XI).....	100
6.3.16.1. 4-Carboxi-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (XVIII).....	100
6.3.16.2. 5-(Fenilamino)-4-[[[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etil]carbamoil]-2-(metiltio)tiazol (XIX).....	101
6.3.16.3. 9-[[[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (XI).....	101
6.3.17. 9-Cloro-2-[[[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etil]amino]tiazolo [5,4-b]quinolina (XII).....	102
6.3.18. 9-[[[3-[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etil]carbamoil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XIII).....	103
6.3.18.1. Benzoato de metilo (XXVI).....	103
6.3.18.2. 3-nitrobenzoato de metilo (XXVII).....	103

6.3.18.3. <i>Ácido 3-nitrobenzoico (XXVIII)</i>	103
6.3.18.4. <i>3-nitro-N-[2-(N',N'-dietilamino)]etilbenzamida (XXIX)</i>	104
6.3.18.5. <i>3-amino-N-[2-(N',N'-dietilamino)]etilbenzamida (XXX)</i>	104
6.3.18.6. <i>9-[[[3-[2-(N,N-dietilamino)etil]carbamoil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XIII)</i>	105
6.4. ANÁLISIS CONFORMACIONAL Y CÁLCULO DE PROPIEDADES ELECTRÓNICAS.....	106
6.5. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA.....	106
7. CONCLUSIONES	107
8. BIBLIOGRAFÍA	108
9. ESPECTROS	110

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer constituye un problema de salud pública en nuestro país, se encuentra entre las primeras cinco causas de muerte según estadísticas de la Secretaría de Salud ⁽¹⁾. Si bien no existe una definición concreta, J. Ewing lo ha definido como "un desarrollo de tejido hereditariamente alterado, relativamente autónomo" ⁽²⁾.

Gracias a los avances de la quimioterapia en los últimos 30 años se ha podido progresar enormemente en el tratamiento de los pacientes. Desde la década de 1950s, cuando se empezaron a usar, el número de agentes quimioterápicos ha aumentado notablemente. La meta de la quimioterapia es eliminar a todas las células cancerosas hasta lograr la remisión de la enfermedad o hasta un punto en que se detiene su avance.

Sin embargo, la quimioterapia tiene sus inconvenientes:

- 1) La efectividad del quimioterápico dependerá de la naturaleza del cáncer, ya que no existe un agente para todos los tipos.
- 2) Resistencia de las células cancerosas a los quimioterápicos iniciales o bien éstas llegan a desarrollarla en etapas posteriores del tratamiento.
- 3) Los quimioterápicos no son selectivos y afectan también a células sanas. A pesar de que las células neoplásicas difieren de las células normales en sus requerimientos nutritivos, desafortunadamente no difieren lo suficiente en el aspecto biológico y bioquímico. Las células más afectadas son las que también se dividen rápidamente como las del folículo piloso, el tracto gastrointestinal y la médula ósea, ocasionando efectos secundarios al paciente. El tipo y la intensidad de los efectos secundarios dependerán del fármaco y del paciente.

Esto se ve reflejado en una baja eficacia del tratamiento y una pobre calidad de vida con beneficios mínimos para los pacientes.

Para solucionar estos problemas, la investigación en quimioterapia se enfoca a descubrir y diseñar sustancias que incrementen el número de fármacos para combatir la enfermedad, que tengan mayor selectividad sobre células tumorales, reduciendo con ello el número de efectos secundarios en el paciente y mejorando las probabilidades de remisión. Una de las formas de obtención de nuevos fármacos es la modificación estructural de una molécula patrón que muestra actividad antitumoral.

2. ANTECEDENTES

2.1. Cáncer

Aún cuando el cáncer está asociado a un incremento en el número de células y a alteraciones en los mecanismos que regulan el nacimiento de nuevas células y su proliferación, hoy se sabe que alteraciones en los mecanismos de apoptosis también son importantes en ciertos tipos de cáncer. El cáncer se distingue de otros procesos formadores de tumores por su capacidad de invadir otros tejidos.⁽³⁾

El proceso por el cual se inicia la formación de tumores o tumorigénesis, no está totalmente comprendido. Sin embargo se sabe que la acumulación de mutaciones en genes clave puede desencadenar el proceso, ya que, desde el punto de vista evolutivo, estas mutaciones favorecen el crecimiento de las células mutantes sobre sus vecinas.⁽⁴⁾ Las formas aberrantes de estos genes son denominadas oncogenes y contribuyen a los procesos de transformación aumentando la división celular o disminuyendo la sensibilidad celular a la muerte. Se ha demostrado que una sola mutación no es capaz de desencadenar el proceso, sino que se requieren al menos de dos oncogenes activados para dar células con un diferente fenotipo.⁽⁵⁾ Esto llevo a postular que la tumorigénesis es un proceso de varios pasos intermedios antes de llegar a neoplasmas letales.

La carcinogénesis es el proceso que lleva a mutaciones genéticas inducidas por factores químicos o físicos. Conceptualmente este proceso puede dividirse en iniciación, promoción y progresión.^(3,6) La iniciación involucra un cambio genético irreversible, la promoción a un aumento en la proliferación de las células y la progresión a la acumulación de mutaciones que llevan a la adquisición de un fenotipo maligno o invasivo.

En el modelo de tumorigénesis en piel de ratón se han logrado identificar estas etapas. La etapa de iniciación se da cuando un compuesto o su metabolito forman un aducto con el ADN, lo que ocasiona una inserción o delección de bases, translocación cromosomal o amplificaciones. Si el daño en el ADN no es reparado y las células iniciadas proliferan puede resultaran en alteraciones permanentes y mutaciones en el genoma que pueden conducir a la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores.

La etapa de promoción es un proceso reversible en el cual un agente químico estimula la proliferación de las células iniciadas. En el caso del modelo de tumorigénesis en piel de ratón, las células iniciadas no generan tumores sino después de dosis repetidas de ésteres de forbol.⁽⁶⁾ Finalmente en la etapa de progresión se ha observado que varios agentes iniciadores también pueden llevar a la progresión del tumor.

Las células tumorales tienen ciertas diferencias respecto a las células normales. Esto es importante para el establecimiento de blancos para tratar la enfermedad. Algunas de estas diferencias son:

- Menor dependencia de factores de crecimiento para la proliferación celular
- Alteraciones en la adhesión intercelular
- Alteraciones en los mecanismos de control del ciclo celular
- Menor sensibilidad a la apoptosis
- Angiogénesis
- Inestabilidad genética

La etiología del cáncer no es del todo clara, sin embargo se sabe que existen varios factores que pueden disparar el padecimiento:

- Predisposición genética

- Agentes químicos
- Agentes físicos
- Radiaciones
- Virus

El tratamiento del cáncer incluye la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia.^(3,7,8) Esta última se basa en la actividad citotóxica de algunos compuestos buscando que posean cierta selectividad sobre las células tumorales.

2.2. Terapia citotóxica del cáncer

Aunque los agentes citotóxicos para el tratamiento del cáncer, tradicionalmente se han clasificado por su mecanismo de acción, también pueden ser agrupados por el sitio al cual van dirigidos. De manera general se pueden agrupar en cuatro categorías: enzimas específicas, microtúbulos, receptores de hormonas y factores de crecimiento y ácidos nucleicos.⁽⁸⁾

- Enzimas específicas. Un ejemplo de fármacos que actúan sobre enzimas son los antimetabolitos. Éstos son sustancias que compiten con metabolitos normales por determinados sistemas enzimáticos o bien contribuyen a formar metabolitos anormales que luego interrumpen el ciclo metabólico normal. Dentro de estos se incluyen análogos de la glutamina, de las purinas y pirimidinas y del ácido fólico.^(7,8)

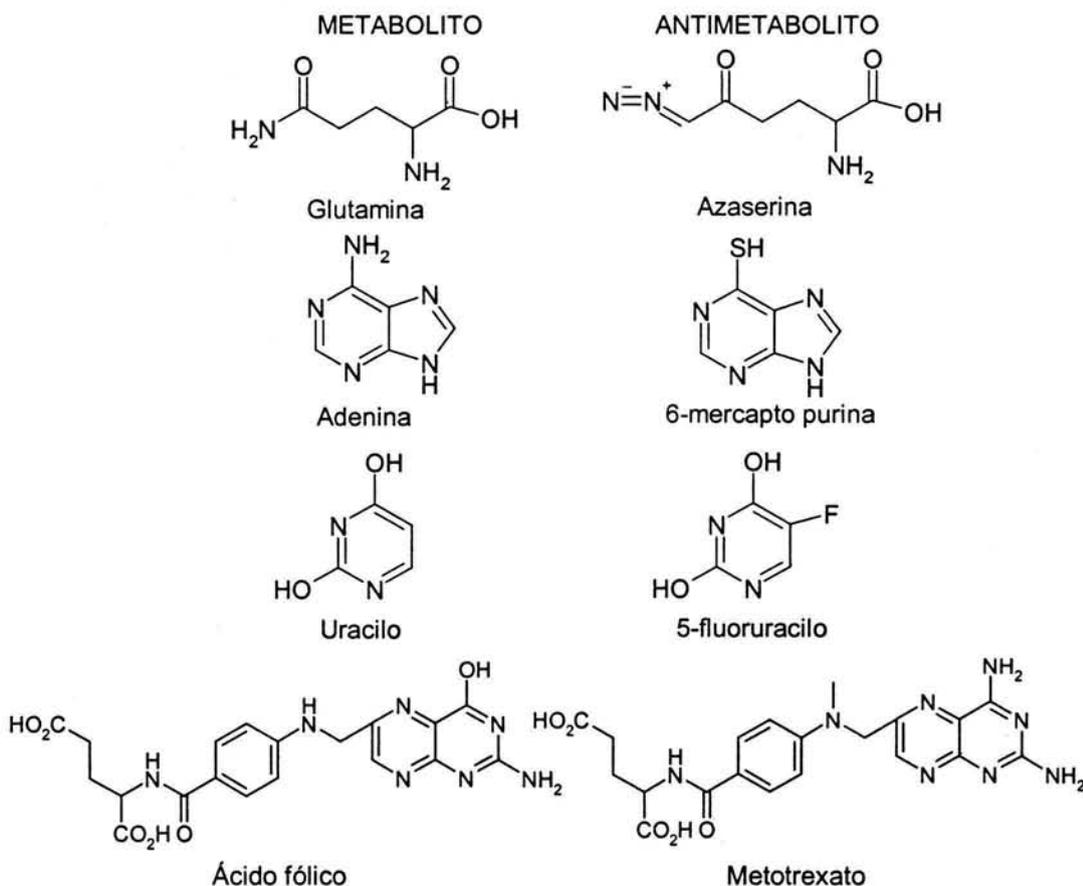


Figura 1. Antimetabolitos

Existen varios tipos de enzimas que también son blanco de otro tipo de inhibidores enzimáticos que se encuentran en investigación o en fases clínicas como las CDK (quinasas dependientes de ciclinas), las HDAC (deacetilasas de las histonas), la telomerasa y la ADN topoisomerasa.^(9, 10) Estas enzimas participan en la regulación del ciclo celular, en la expresión de

algunos genes y en la síntesis y reparación del ADN. La expresión de estas enzimas está incrementada en las células tumorales.

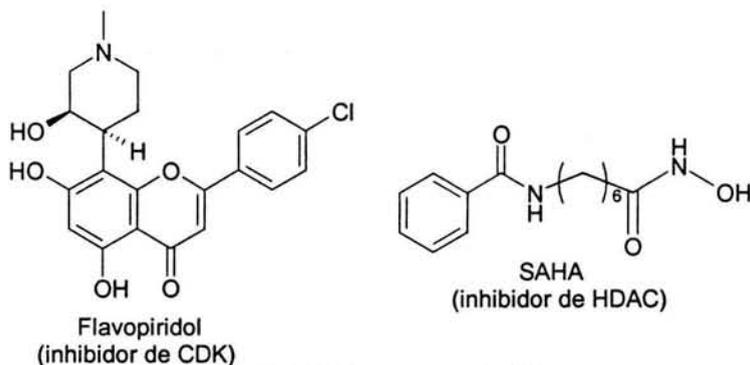


Figura 2. Inhibidores enzimáticos

- **Microtúbulos.** Los inhibidores mitóticos interfieren en la formación del huso acromático, produciendo la detención de la metafase. Su actividad se explica por unirse específicamente a la tubulina y bloquear la habilidad de la proteína para polimerizarse en microtúbulos. ^(7,8)

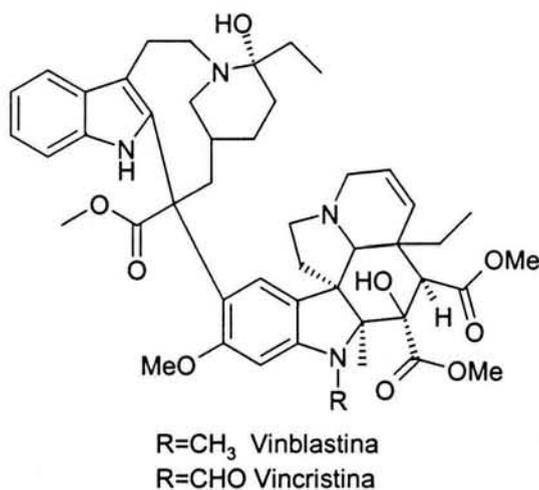


Figura 3. Alcaloides de la vinca (*Catharanthus roseus*). Inhibidores mitóticos

- **Receptores de hormonas y factores de crecimiento.** Este nuevo tipo de blancos ha surgido a partir de la observación de que el empleo de antiandrógenos es efectivo en el tratamiento de cáncer de mama que contiene el receptor de estrógenos y en el cáncer de próstata. ⁽¹¹⁾

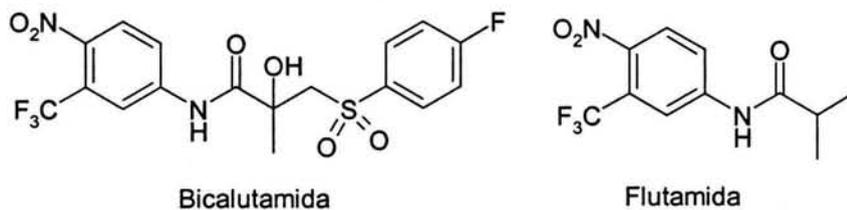


Figura 4. Antiandrógenos no esteroideos

- Ácidos nucleicos. Dentro de esta categoría cabe mencionar a los agentes alquilantes y los agentes intercalantes.
 - Agentes alquilantes. Los radicales alquílicos cedidos por compuestos de este tipo se unen con el nitrógeno en posición 7 de las moléculas de guanina del ADN, de esta forma producen su desorganización estructural e incluso la formación de puentes entre cadenas próximas de dichas moléculas (*cross linking*).^(7,8)

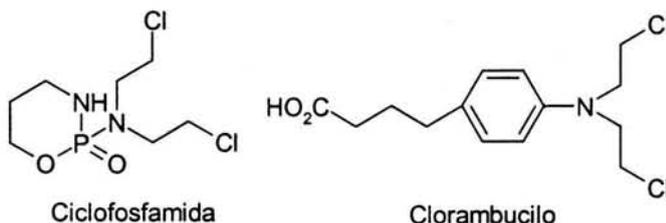


Figura 5. Agentes alquilantes

- Agentes intercalantes. Son una clase de compuestos con muchas semejanzas y que pueden interactuar con el ADN, uniéndose con sus cadenas cromofóricas en el surco mayor, menor o incluso en ambos.^(7,8)

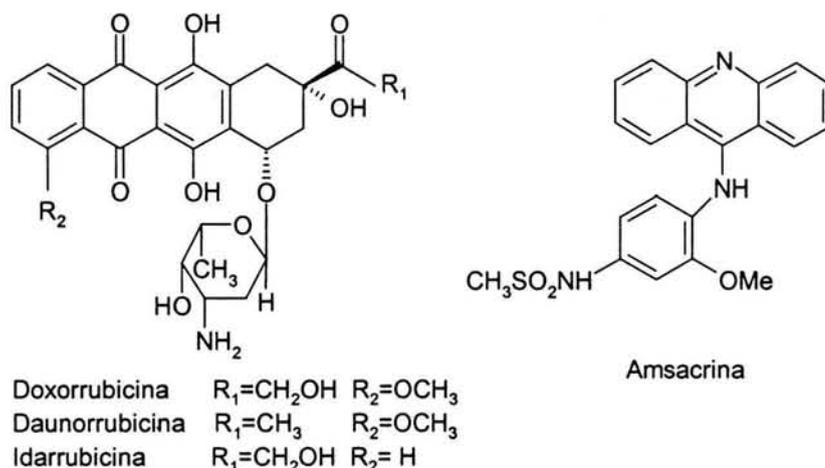


Figura 6. Agentes intercalantes

Este tipo de agentes también pueden ubicarse dentro de la categoría de inhibidores enzimáticos dado que es importante la inhibición de la ADN topoisomerasa II para explicar su mecanismo de acción. Esto se describe con mayor detalle a continuación.

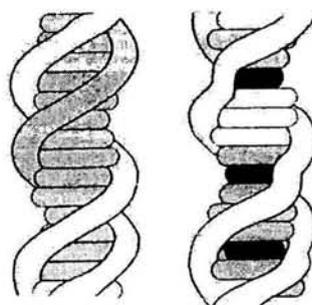
2.3. Agentes intercalantes

Las interacciones de ciertos ligandos con los ácidos nucleicos han sido el objeto de intensas investigaciones durante los últimos 50 años. El descubrimiento del ácido desoxirribonucleico (ADN) y de sus propiedades estructurales que le permiten funcionar como centro de la información genética, permite suponer a esta macromolécula como diana para el desarrollo de compuestos con actividad biológica

El arreglo secuencial de bases a lo largo de una cadena de azúcar-fosfato, lleva la información genética de la célula y es altamente conservado durante la replicación y transcripción en parte gracias a la complementariedad de las bases nitrogenadas en la estructura de doble

hélice. Los cambios en esta secuencia pueden resultar en alteraciones en la información genética que pueden ser letales (conducir a apoptosis) o no letales (mutagénesis).^(12,13)

En 1947, Micaelis hizo notar la posible utilidad de los ligandos al ADN como posibles quimioterápicos y más adelante Kirk, Rauen y Goldberg examinando la estructura y las interacciones de la actinomicina D con los ácidos nucleicos visualizaron el potencial del ADN como un posible objetivo para detener el metabolismo celular al interrumpir la replicación y/o la transcripción.⁽¹²⁾ Las propiedades citotóxicas observadas para los agentes que se unen al ADN llevaron al uso extensivo de estos compuestos como agentes quimioterápicos en el tratamiento de muchos padecimientos incluyendo el cáncer. Entre los más empleados se encuentran los agentes intercalantes. Estos agentes normalmente involucran la inserción de un cromóforo policíclico planar entre pares de bases adyacentes. Entre las propiedades estructurales que ejercen cierta influencia en este fenómeno está la presencia de sustituyentes en el sistema policíclico, que afecta la geometría del complejo resultante, además de que se ha observado cierta selectividad de algunos agentes por algunas secuencias de bases.⁽¹³⁾

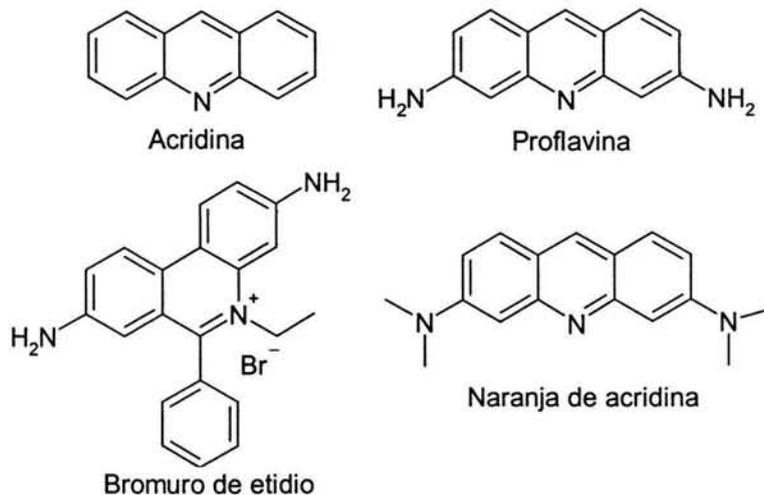


(A)

(B)

Figura 7. Modelo de inserción
(A) ADN. (B) ADN con el intercalador

Los primeros agentes intercalantes en ser estudiados fueron el bromuro de etidio, la proflavina, la acridina o el naranja de acridina (figura 8) fueron de los primeros en ser estudiados, Lerman observó que la adición de alguno de estos compuestos a una solución de ADN cambiaba significativamente la viscosidad y coeficiente de sedimentación del ADN, lo que lo llevó a proponer que un cierto cambio estructural en el ADN era promovido por este tipo de sustancias a través del mecanismo de intercalación formándose un complejo entre el ligando y el ADN.⁽¹⁴⁾ La primera caracterización de este tipo de complejo fue presentada por Waring usando espectroscopía ultravioleta al observar que la adición de bromuro de etidio a una solución de ADN alteraba el espectro de absorción del ADN (figura 9). Otros compuestos con actividad biológica como la actinomicina D y las antraciclinas mostraron un comportamiento similar.⁽¹⁵⁾



Acridina

Proflavina

Bromuro de etidio

Naranja de acridina

Figura 8. Intercalantes clásicos

El proceso de intercalación inicia con la transferencia del ligando de un ambiente acuoso a una zona hidrofóbica en los surcos del ADN, este proceso puede ser considerado como favorable debido a la naturaleza no polar del ligando; luego, el ADN sufre un reacomodo pasando a un estado de transición donde las bases del ADN se separan 3.4 Å, para formar la cavidad donde se intercalará el ligando y fuerzas no covalentes (complejo de transferencia de carga, interacciones de van der Waals y formación de puentes de hidrógeno) se encargan de mantener el complejo. ^(13, 16, 17)

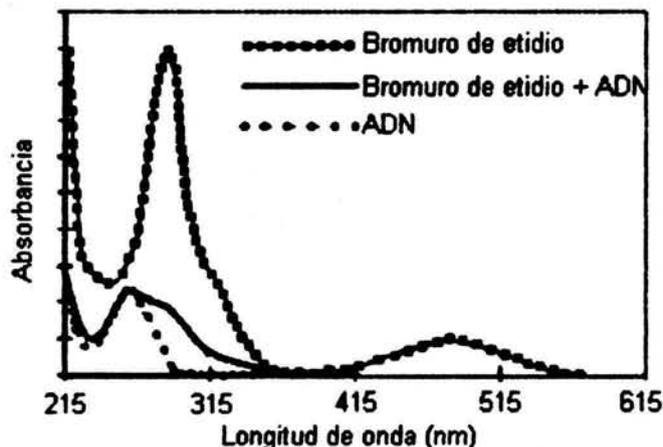


Figura 9. Gráfica de absorptividad molar contra longitud de onda de bromuro de etidio, ADN y juntos.

En general, los compuestos intercalantes del ADN que se usan como quimioterápicos tienen estructuras más complejas que el bromuro de etidio o la acridina. Además del cromóforo policíclico, la incorporación de sustituyentes al núcleo aromático tiene influencia en la geometría del complejo resultante, en la selectividad del ligando, estos grupos pueden ser tan simples como un grupo metilo o metoxilo o complejos como secuencias de aminoácidos o azúcares, los cuales son importantes para la actividad biológica. ^(13, 17, 18)

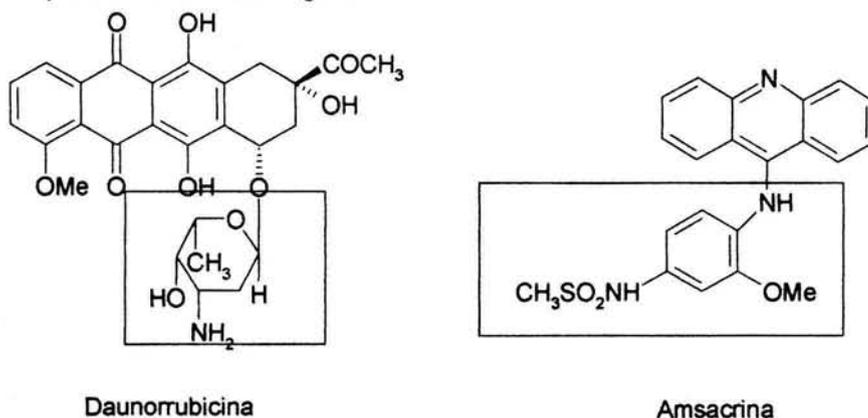


Figura 10. Agentes intercalantes con actividad biológica

Sin embargo la actividad antineoplásica de los intercalantes del ADN no reside únicamente en su capacidad de intercalarse entre las bases. Esto queda ejemplificado al comparar la actividad de la amsacrina o *m*-AMSA con su isómero de posición *o*-AMSA. Éste último tiene una afinidad 10 veces mayor por el ADN en comparación a la amsacrina, sin embargo ésta tiene mayor actividad citotóxica que *o*-AMSA. ⁽¹³⁾ La diferencia estriba en que la amsacrina es capaz de afectar la actividad de la enzima ADN topoisomerasa II. ^(13, 18)

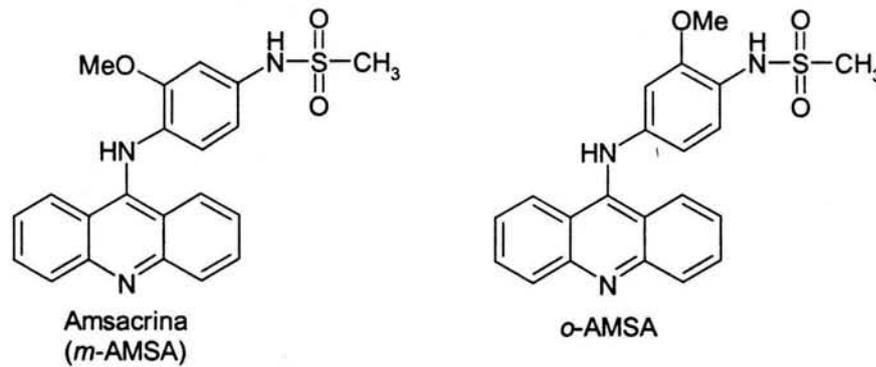


Figura 11. Amsacrina y su isómero de posición o-AMSA

2.4. ADN topoisomerasa II

La gran cantidad de información genética representa un gran reto para las células en términos de organización, accesibilidad y segregación del genoma. Al romper de manera transitoria las hebras del ADN, las ADN topoisomerasas ayudan a resolver los problemas de enrollamiento que se presentan durante la replicación, transcripción y reparación del ADN.^(19, 20) Todos los tipos de ADN topoisomerasa presentan dos características, la primera es la capacidad de romper y unir la cadena de fosfatos del ADN a través de la formación de un enlace covalente entre un residuo de tirosina y un grupo fosfato del ADN y la segunda es que permite el paso de una hebra o un dúplex de ADN a través de la apertura formada por la ruptura del ADN.^(19, 21)

Se han descrito tres familias de ADN topoisomerasas dependiendo del modo en que realizan su actividad catalítica:⁽²¹⁾

- Tipo I-5'. Rompen una hebra del ADN a través de la formación de un enlace covalente de 5'-fosfotirosina
- Tipo I-3'. Primero se unen al dúplex de ADN y después rompen una hebra a través de la formación de un enlace covalente de 3'-fosfotirosina
- Tipo II. Rompen ambas hebras del ADN a través de la formación de un par de enlaces covalentes de 5'-fosfotirosina y son dependientes de ATP. Estas enzimas son esenciales y están altamente conservadas en las especies

Las enzimas de tipo II están constituidas por dos homodímeros que, en las células eucariotas, pesan entre 160 y 180 kDa en los que se reconocen tres dominios, en el primero se encuentra una región de unión al ATP, en el segundo se localiza el residuo activo de tirosina y el tercero es una región variable entre las diferentes especies que tienen esta enzima y cuya función no ha sido esclarecida.⁽²²⁾

En el ser humano existen dos isoformas denominadas α y β ^(21,22); se sabe que la concentración de la isoforma β es constante a lo largo del ciclo celular, mientras que la concentración de la isoforma α se incrementa durante las fases G₂ y M del ciclo celular.

El ciclo catalítico de la enzima puede ser descrito en seis pasos⁽¹⁸⁻²²⁾ (figura 12):

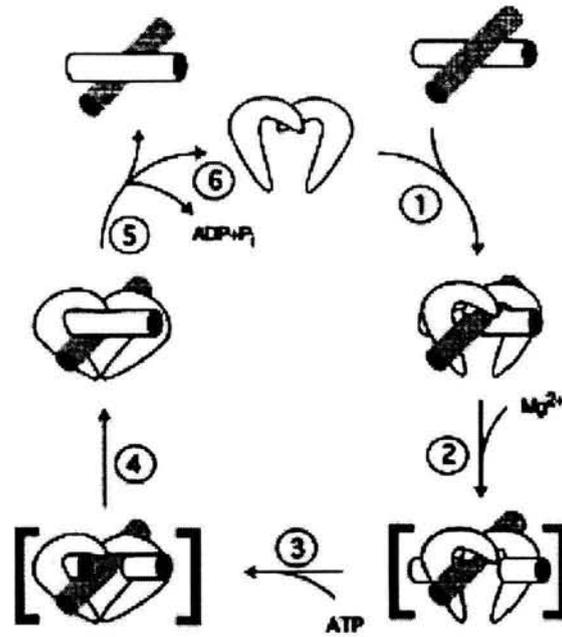


Figura 12. Ciclo catalítico de la enzima ADN topoisomerasa II. ⁽¹⁸⁾

1. Unión al ADN. Esta unión no requiere la presencia de cofactores. La especificidad de la enzima por el ADN está dada principalmente por la secuencia primaria del sustrato y ésta varía entre especies ⁽²³⁾ (tabla 1), aunque hay cierta preferencia por regiones donde haya secuencias alternadas de bases púricas y pirimidínicas. Sin embargo, la afinidad y la actividad catalítica de la enzima está dada por el estado topológico del ADN, ya que la enzima reconoce preferentemente regiones enrolladas y no regiones donde el ADN se encuentra relajado. ^(22, 23)

Tabla 1.
Secuencias de nucleótidos preferidas por las ADN topoisomerasas II en ausencia de fármacos. ⁽²³⁾
 Dirección 3'→5'

Especie	-5	-4	-3	-2	-1	SITIO DE RUPTURA DEL ADN									
						+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	
Humano isoforma α	No A	No T	A, no C	*	C, no A	*	*	*	*	No T	*	T, no G	C, no A	*	
Humano isoforma β	*	*	No C	G	*	T	*	*	*	No T	*	T, no G	C	*	
Ratón	C	G	No G	No T	No A	A	*	*	*	No T	T	A	C	*	
<i>Drosophila</i>	T	*	A, T	A	C, T	A	T	T	*	A	T	*	*	G	

* Indica que no hay preferencia

2. Ruptura de las hebras de ADN y formación de complejo previo a la traslocación. En presencia de un ion divalente, la enzima corta ambas hebras del ADN estableciendo enlaces covalentes entre los residuos activos de tirosina y los nuevos grupos fosfato terminales 5'. Cabe señalar que en este paso se establece un equilibrio ruptura-unión de las hebras.

3. Traslocación. En este paso se incorpora ATP lo cual dispara la traslocación. Aunque no se conocen los detalles de este cambio conformacional, se supone que la enzima en algún momento adopta una forma de pinza lo cual ha sido confirmado por estudios cristalográficos. Mediante estos estudios se ha postulado un modelo de "dos puertas" el cual se ilustra en la figura 13. En este modelo la enzima se une a dos dúplex de ADN denominados G y T [*gap* (G) y *transport* (T), pasos 1 y 2], cuando se une el ATP se induce un cambio conformacional en la enzima pasando de una forma de "pinza abierta" a una de "pinza cerrada" y al mismo tiempo se da la unión covalente de la enzima con el segmento G a través del residuo activo de tirosina con un grupo fosfato 5' (paso 3), ocurriendo el paso del segmento T a través del espacio formado entre los segmentos G rotos (paso 4), saliendo de la "pinza" y volviendo a unirse el segmento G (paso 5).^(19, 23, 24)

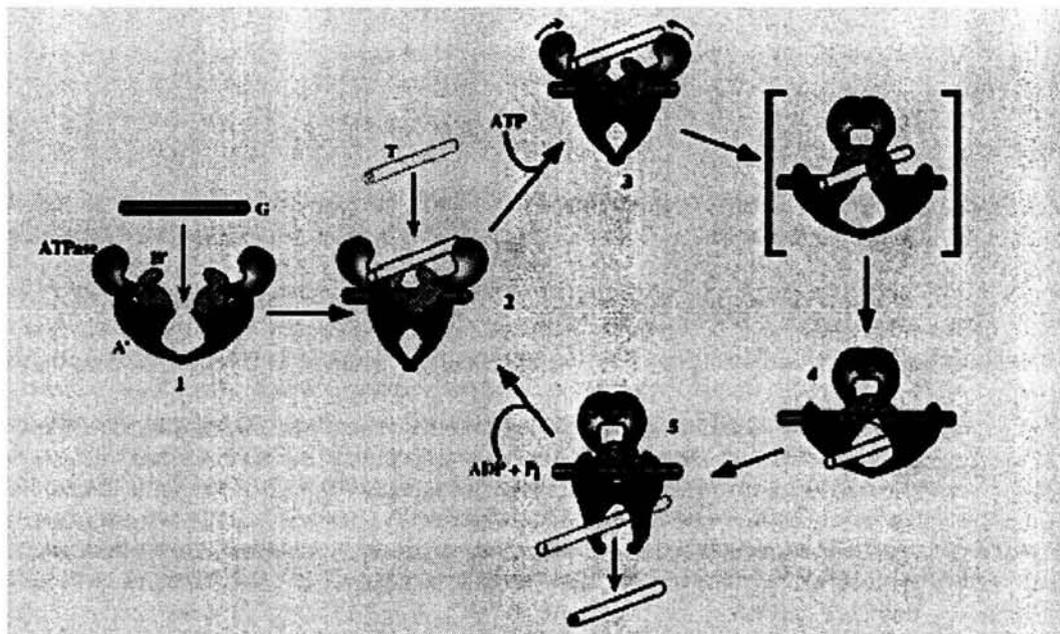


Figura 13. Modelo de "dos puertas" para la traslocación.⁽²⁴⁾

4. Complejo post-traslocación. En este paso se establece un equilibrio ruptura-unión de las hebras similar al del paso 2.

5. Hidrólisis del ATP. La hidrólisis del ATP permite la liberación del ácido nucleico, mediante el cambio conformacional de "pinza cerrada" a "pinza abierta".

6. Reciclaje de la enzima.

El complejo ADN-enzima formado en el paso 2, donde se rompen las hebras de ADN, es una especie de toxina celular, ya que mientras las hebras permanezcan rotas se pueden dar fenómenos como inserciones o deleciones de bases.^(18, 20, 22, 23) En condiciones normales la ruptura es transitoria, puesto se establece un equilibrio unión-ruptura de las hebras, por lo que la concentración de complejo con las hebras rotas es baja y la probabilidad de que ocurran los fenómenos antes mencionados es escasa.

2.5. Mecanismo de acción de los inhibidores de la ADN topoisomerasa II

La ADN topoisomerasa II es diana de algunos fármacos usados en el tratamiento del cáncer. Actualmente seis fármacos de este tipo han sido aprobados por la FDA (tabla 2).⁽²⁵⁾ Otros compuestos que inhiben a la ADN topoisomerasa II han mostrado actividad antitumoral, y se encuentran en investigación o han entrado a fases clínicas (tabla 3).⁽²⁵⁾

Tabla 2
Fármacos inhibidores de la ADN topoisomerasa II aprobados por la FDA. ⁽²⁵⁾

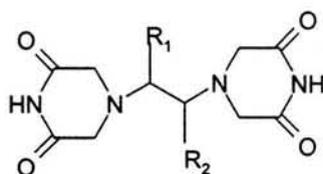
Fármaco	Tipo	Año de aprobación	Indicación terapéutica
Doxorrubicina	Antraciclina	1974	Linfomas (*) Cáncer de mama (*) Sarcomas (*) Sarcoma de Kaposi Leucemia
Daunorrubicina	Antraciclina	1979	Leucemia linfocítica aguda (*)
Idarrubicina	Antraciclina	1990	Leucemia mielógena aguda
Mitoxantrona	Antraquinona	1987	Leucemia aguda Cáncer de mama Linfomas
Etopósido	Podofilotoxina	1984	Cáncer testicular (*) Cáncer de pulmón (*) Linfomas Sarcoma de Ewing Sarcoma de Kaposi Cáncer de ovario
Tenipósido	Podofilotoxina	1992	Leucemia linfoblástica aguda (*)

(*) Tratamiento de primera elección

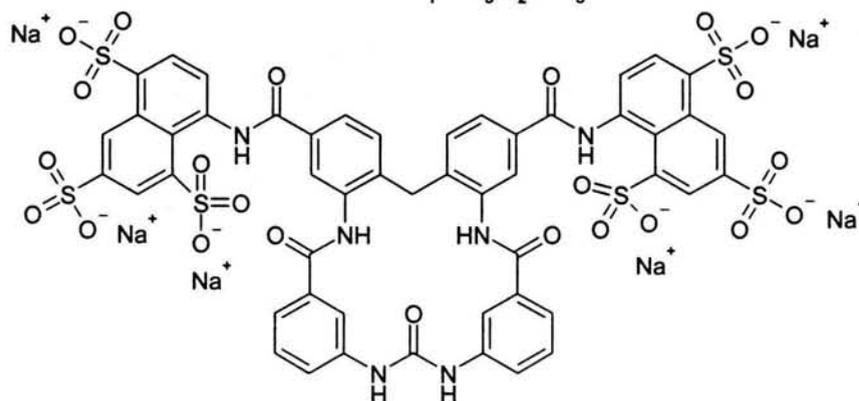
Tabla 3
Algunos fármacos en investigación que inhiben a la ADN topoisomerasa II. ⁽²⁵⁾

Amonifide	Genisteína
Amsacrina	Intoplicina
Antrapirazoles	Makaluvaminas
Aza IQD	Merbarone
Bulgareína	Menogaril
Distamicina	Naftoquinonas
Elipticina	Nitroimidazoles
Epirubicina	Saintopina
Estreptonigrina	Suramina

Dentro de los inhibidores de la ADN topoisomerasa II existen dos tipos, los inhibidores catalíticos y los estabilizadores del complejo ADN-enzima. ^(24, 26) Los primeros (figura 14) actúan inhibiendo algún paso del ciclo catalítico de la enzima, por ejemplo las *bis*-dioxopiperazinas actúan inhibiendo el paso 5 al unirse a la región de unión al ATP. ⁽²⁶⁾



Bis-dioxopiperazinas

ICRF-154: $R_1=H$ $R_2=H$ ICRF-159: $R_1=CH_3$ $R_2=H$ ICRF-193: $R_1=CH_3$ $R_2=CH_3$ 

Suramina

Figura 14. Inhibidores catalíticos de la ADN topoisomerasa II

A diferencia de los inhibidores catalíticos los fármacos estabilizadores del complejo ADN-enzima (figura 15), actúan estabilizando el complejo tóxico en el cual las hebras de ADN permanecen rotas. Al estar rotas las hebras la respuesta celular comprende: ^(27, 28)

- Activación de las rutas de reparación. Durante el proceso de reparación del ADN es posible que haya inserciones o deleciones de bases, las cuales pueden darse en genes vitales para el desarrollo celular
- Alteraciones en el ciclo celular. En células que tienen copias funcionales de p53, el producto del gen supresor de tumores p53, se ha observado interrupción del ciclo celular en las fases G₁ y G₂ después del tratamiento con estabilizadores del complejo ADN-topoisomerasa II. Sin embargo, se ha demostrado que el etopósido y la doxorubicina son capaces de inducir apoptosis independientemente del status de p53, por lo que no está claro que tipo de mecanismos intervienen en la interrupción del ciclo celular.
- Activación de otras vías de señalización. El daño inducido puede activar otra serie de fenómenos como la elevación de la concentración de ceramidas lo cual puede conducir a apoptosis, activación de fosfatasa y cinasas, sin embargo aún no está claro el modo en que pudieran influir en la actividad citotóxica.

Los fenómenos anteriores conducen al inicio de la muerte celular. Los aspectos morfológicos y bioquímicos de las células afectadas por este tipo de compuestos son similares a los observados en la apoptosis. Si bien los fármacos que actúan por esta vía afectan a las células que expresan ADN topoisomerasa, aquellas que se encuentran en proliferación o transformación son más sensibles, debido a que los requerimientos de esta enzima son mayores por lo que estos fármacos tienen buena respuesta clínica en aquellos tipos de cáncer más agresivos. ^(18, 22, 27)

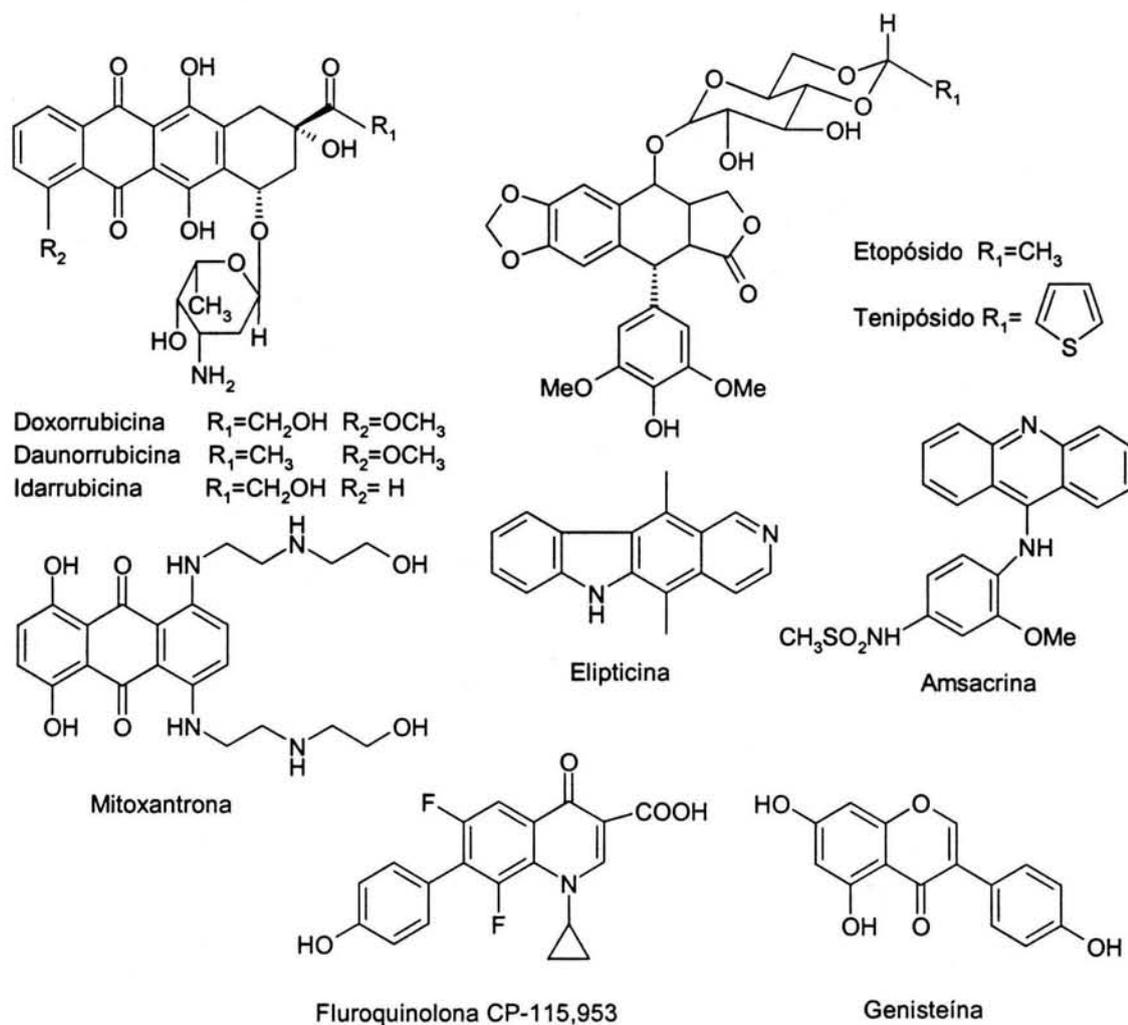


Figura 15. Estabilizadores del complejo ADN-enzima

Se ha postulado que el mecanismo de acción de estos fármacos ocurre mediante la formación de un complejo ternario enzima-ADN-fármaco en el que se altera el equilibrio ruptura-unión de las hebras del ADN, favoreciéndose el estado en el cual las hebras permanecen rotas, esto se ha observado en el caso del etopósido y la amsacrina.^(18, 28) Una vez formado el complejo ternario, la acción de polimerasas y helicasas provoca la ruptura de las hebras de ADN y éste puede desencadenar la apoptosis.⁽²⁰⁾

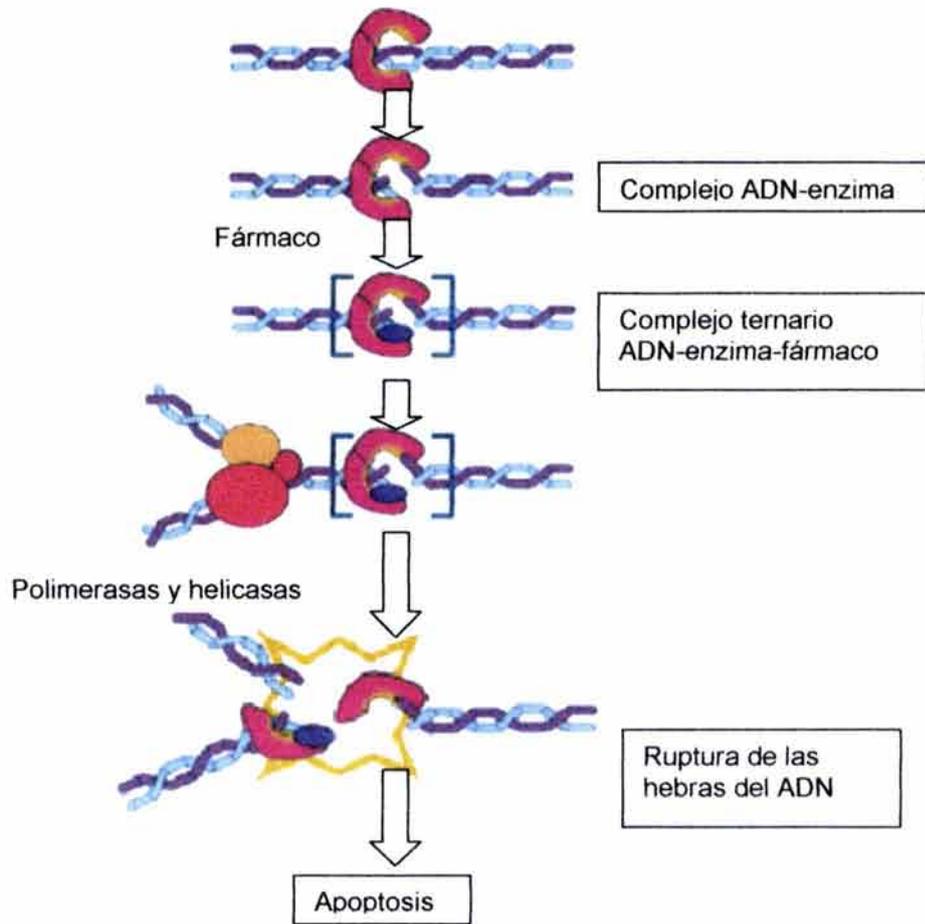


Figura 16. Mecanismo de acción de los inhibidores de la ADN topoisomerasa II que estabilizan el complejo ADN-enzima. ⁽²⁰⁾

La secuencia mediante la cual se genera el complejo ternario puede ocurrir en tres formas según se muestra en la figura 17. ⁽¹⁸⁾

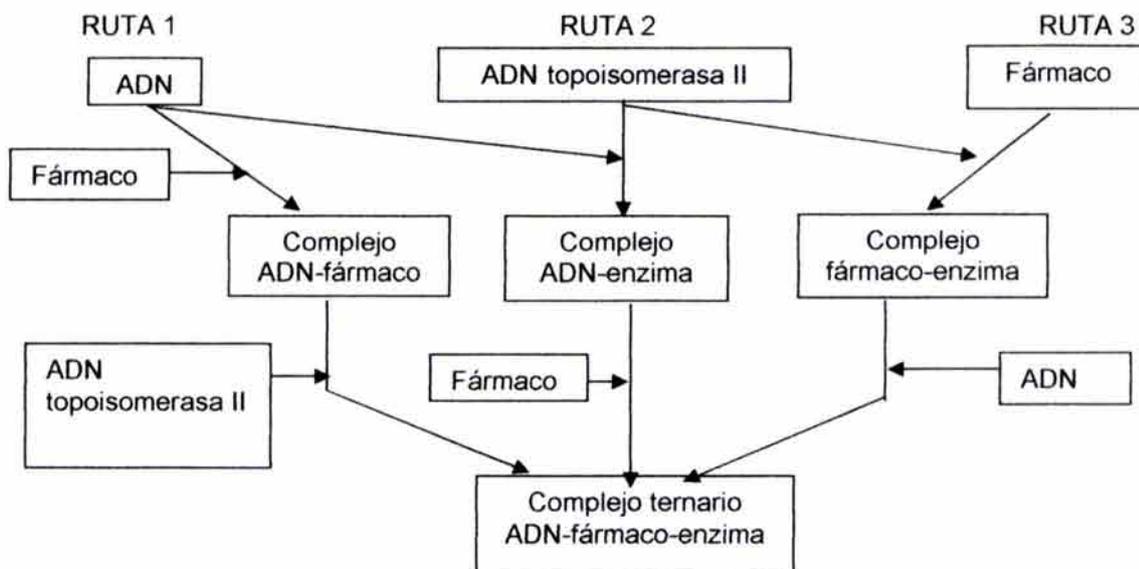


Figura 17. Rutas mediante las cuales podría formarse el complejo ternario ADN-fármaco-enzima. ⁽¹⁸⁾

La ruta 1 se ha demostrado en el caso de los fármacos que tienen gran afinidad por el ADN, como es el caso de los agentes intercalantes, la evidencia para la ruta 2 la aportan las quinolonas las cuales tienen poca afinidad por la enzima o por el ADN por separado, mientras que la ruta 3 se da para el etopósido y la elipticina según se ha demostrado por estudios cinéticos.⁽¹⁸⁾

De acuerdo al modelo de posición del agente intercalante (*positional poison model*), la unión de este tipo de compuestos al ADN aumenta la probabilidad de que la alteración topológica, provocada por la intercalación, sea reconocida por la ADN topoisomerasa II y se forme el complejo ternario, lo que estimula la ruptura de las hebras del ADN. Esto llevó al estudio del modo de unión al ADN de los fármacos, según se muestra en la tabla 4.⁽²³⁾

Tabla 4.
Modo de unión de algunos agentes intercalantes al ADN.⁽²³⁾

Tipo de enzima a la que inhiben	Intercalador puro	Unión a surco menor	Mixtos
Topoisomerasa I		Terbenzimidazoles	Indolocarbazoles
Topoisomerasa II	Elipticina	Estreptonigrina	Antraciclinas Amsacrina Bisantreno Mitoxantrona
Ambas	Saintopina		Actinomicina D

Cabe señalar que anteriormente se pensaba que algunos agentes mixtos tenían solamente propiedades intercalantes, sin embargo se ha observado que la interacción con el surco menor es importante para su actividad citotóxica.^(13, 18-20, 22, 23)

También se ha estudiado la selectividad de los agentes intercalantes por determinadas secuencias de bases. Estos estudios han mostrado que existe cierta preferencia de los agentes intercalantes por algunas secuencias de bases del ADN que se encuentran en la región donde ocurre la ruptura de las hebras catalizada por la ADN topoisomerasa II. Esto llevó a proponer una clasificación de los agentes intercalantes basada en la región donde estimulan la ruptura de las hebras (tabla 5).⁽²³⁾ Por ejemplo la doxorubicina corresponde al tipo -1 porque preferentemente estimulará la ruptura de las hebras si existe una base adenina una posición antes (en dirección 3' → 5') del sitio de ruptura, mientras que la amsacrina lo hará si existe una base adenina una posición después del sitio de ruptura, por lo que se le clasifica de tipo +1.

Tabla 5
Clasificación basada en las regiones donde estimulan la ruptura de las hebras.⁽²³⁾

Tipo -1		Tipo +1		Tipo +2	
Fármaco	Base	Fármaco	Base	Fármaco	Base
Doxorubicina	A	Amsacrina	A	Estreptonigrina	T
Etopósido	C	Bisantreno	A		
Mitoxantrona	C/T				
Elipticina	T				

Al comparar las estructuras de mínima energía de algunos de los agentes mixtos obtenidas por modelaje molecular, se sugirió que aquellos fármacos con afinidad por secuencias de ADN similares compartían un farmacóforo.⁽²⁹⁾ La estructura del farmacóforo para los agentes intercalantes estabilizadores del complejo ADN-enzima puede considerarse de la siguiente forma (figura 18):^(18,23)

- Un sistema anular planar que se intercala en el ADN.
- Una cadena lateral que interactúa con la enzima y con el surco menor.



Figura 18. Farmacóforo postulado para los agentes intercalantes estabilizadores del complejo ADN-topoisomerasa II

Más aún, se demostró que la posición de estos dominios es importante para definir la preferencia por alguna secuencia de ADN.⁽²⁹⁾ Por ejemplo al comparar la amsacrina (tipo +1) con la daunorrubicina (tipo -1) se observó que no era posible hacer coincidir la cadena lateral si se superponía el sistema planar (figura 19), en cambio al comparar la amsacrina con el bisantreno (ambos de tipo +1) sí había esta coincidencia, aunque la segunda cadena lateral del bisantreno no tiene coincidencia en la amsacrina (figura 20). En el caso de isómeros estructurales del bisantreno y la amsacrina se observó que tenían los mismos dominios, sin embargo la alteración del arreglo espacial y de la densidad electrónica afectaban la interacción con el ADN.⁽³⁰⁾

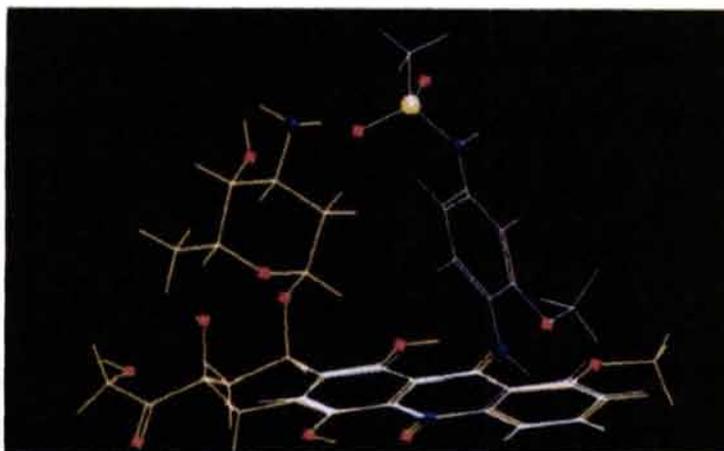


Figura 19. Amsacrina con daunorrubicina.⁽²⁹⁾

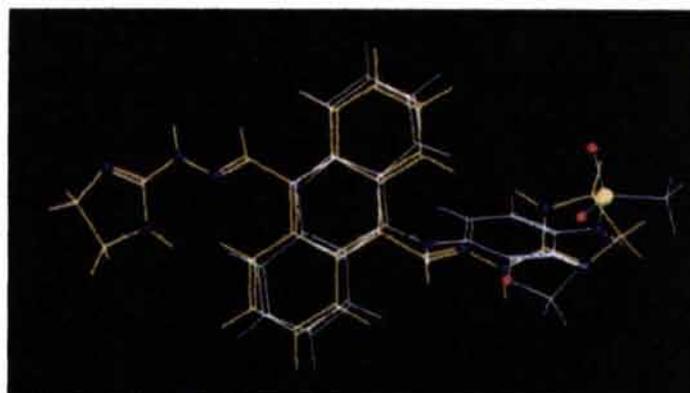


Figura 20. Amsacrina con bisantreno.⁽²⁹⁾

Cabe señalar que se han realizado estudios sobre los aminoácidos de la enzima con los cuales pudieran interaccionar los fármacos. En un estudio con mutantes resistentes a fármacos inhibidores de la ADN topoisomerasa II α se demostró que el cambio de un residuo de lisina en la posición 798 por un residuo de leucina, prolina, cisteína o asparagina confería resistencia a los fármacos, sin que esto afectara la actividad catalítica de la enzima.⁽³¹⁾ Este residuo se encuentra situado en la región donde ocurre la traslocación y se sugirió que este residuo es importante en la unión de los fármacos con la enzima para formar el complejo ternario. Otros mutantes hallados en muestras clínicas son resistentes por una disminución en la actividad catalítica o de la concentración celular de la enzima.⁽³²⁾

Dentro de los fármacos que alteran la actividad de la ADN topoisomerasa II destacan los derivados de la acridina como es el caso de la amsacrina, el AHMA y el DACA (figura 21). Este tipo de compuestos se describe con mayor detalle más adelante.

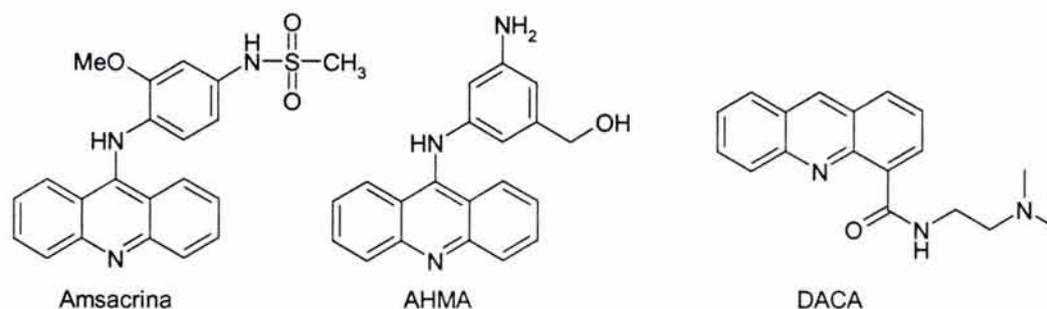


Figura 22. Derivados de acridina con actividad antitumoral

2.6. Derivados de acridina

Los derivados de acridina fueron usados inicialmente como pigmentos en el siglo XIX y fue hasta 1920 cuando se consideró su actividad terapéutica. Si bien las acridinas poseen diferentes características químicas y biológicas, comparten en común su capacidad intercalante al ADN por lo cual se les empezó a considerar en el tratamiento del cáncer.

En los años 1960s Cain y colaboradores estudiaron las sales bis-cuaternarias de algunos heterociclos que mostraron efectividad experimental en leucemia. Buscando hallar las características estructurales responsables de la actividad y basándose en compuestos del tipo ftalanilidas (figura 23), sintetizaron sales bis-cuaternarias como la de la figura 24 y plantearon que los requisitos estructurales incluían la existencia de 3 anillos coplanares y una total planaridad.⁽³³⁾

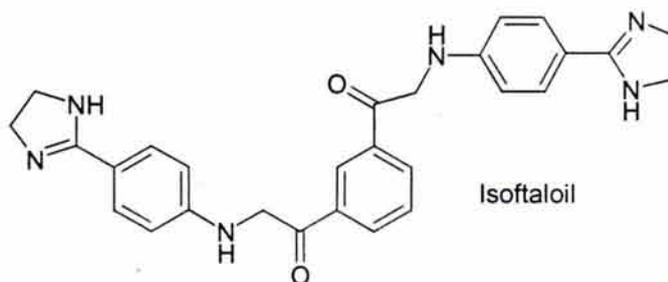


Figura 23. Ftalanilida

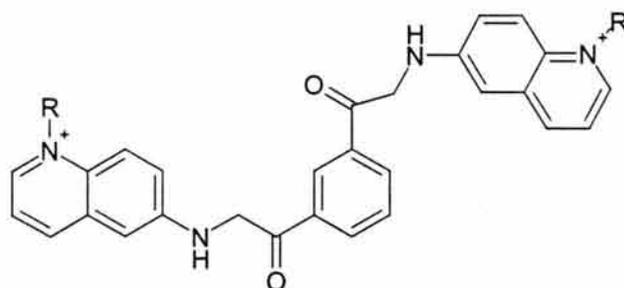


Figura 24. Sal *bis*-cuaternaria

Los resultados obtenidos sugirieron que este tipo de compuestos probablemente actuaban sobre la hélice del ADN. Otra observación fue que existía una correlación lipofilia-actividad,⁽³³⁾ sin embargo no se pudo establecer un patrón que pudiera orientar hacia el desarrollo de nuevos compuestos. Hacia 1970 Cain y sus colaboradores observaron que un factor limitante en la penetración de los fármacos era la concentración de especies neutras y que las sales cuaternarias poseían una naturaleza hidrofílica, por lo que prepararon el compuesto de la figura 25. La simplificación de este compuesto dio origen a la 9-(4'-aminoanilino)acridina (figura 26), el cual mostró una mayor actividad que el compuesto de la figura 25.⁽³⁴⁾

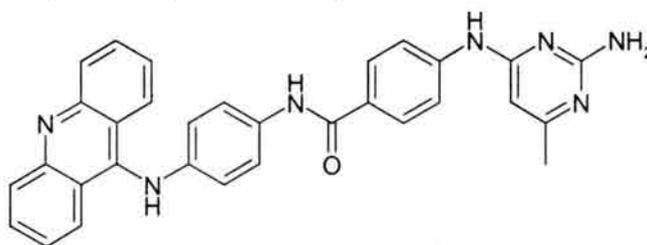


Figura 25.

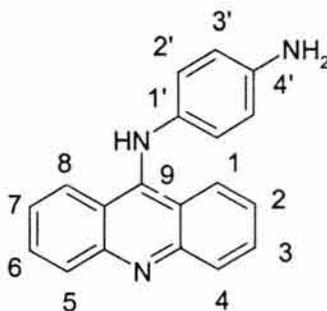


Figura 26. 9-(4-aminoanilino) acridina

A partir de la 9-(4-aminoanilino)acridina se realizaron estudios para demostrar los requerimientos estructurales asociados a la actividad de este tipo de compuestos. La eliminación de un anillo bencénico dio derivados de quinolina inactivos, con lo que se demostró la importancia del sistema tricíclico.⁽³⁵⁾ Las variaciones en los sustituyentes del anillo de anilina llevaron a la conclusión de que la presencia de grupos electrodonadores mejoraba la actividad. Con los resultados de estos estudios se obtuvieron derivados diaminados (los cuales resultaron ser algo inestables) y con grupos sulfonamida en la posición 4' (figura 27) los cuales resultaron activos al ser evaluados en líneas celulares de leucemia.

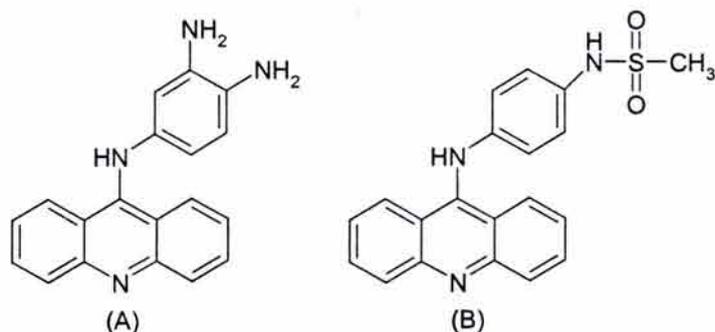


Figura 27.

(A) Derivado diaminado (B) 9-(4-metanosulfoanilida-amino)acridina (AMSA)

Dado el buen resultado que se obtuvo con el derivado de metanosulfonamida, se continuó con su estudio. Al añadir un grupo metoxi en la posición 2' (amsacrina, m-AMSA, figura 28) se observó un incremento en la actividad de 6.7 veces con respecto a AMSA. Esta diferencia se explicó al demostrar que la actividad *in vivo* de AMSA decaía rápidamente debido a la reacción con los tioles del hospedero, mientras que en la amsacrina el grupo metoxi disminuía esta reacción por inhibición estérica.⁽³⁶⁾

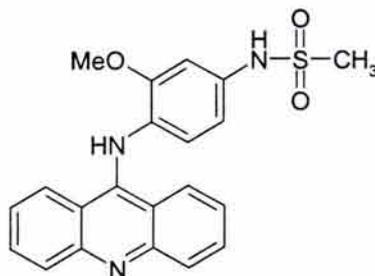


Figura 28. Amsacrina (m-AMSA)

En uno de los estudios de relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) más grandes que se hayan realizado sobre alguna clase de compuestos, Denny y colaboradores estudiaron el efecto de factores estéricos, hidrofóbicos y electrónicos de diversos sustituyentes en el anillo de anilino sobre la actividad citotóxica.⁽³⁷⁾ Estos estudios fueron complementados posteriormente por Gao y colaboradores.⁽³⁸⁾

De estos estudios se desprendieron tres conclusiones importantes:

- La importancia de la presencia de grupos electrodonadores en el anillo de anilina. Esto puede asociarse a las interacciones que ocurren en el sitio de acción ya sea mediante la unión del núcleo de acridina al ADN (a través de la modificación del pKa del nitrógeno de la acridina) o de la unión anillo de anilino a la enzima (a través de patrones específicos de densidad electrónica). Se observó que la presencia de grupos electroattractores disminuía la actividad citotóxica.
- La falta de importancia de un factor hidrofóbico al ser evaluados *in vitro* e *in vivo*. Esto sugiere que el sitio de acción no es hidrofóbico y que no hay una barrera hidrofóbica importante entre el punto de entrada de los compuestos y su sitio de acción. Esto último llama la atención, puesto que en la mayoría de los modelos QSAR en sistemas biológicos es importante el factor hidrofóbico
- Efecto estérico negativo sobre la actividad. Esto puede relacionarse con el sitio de acción de este tipo de compuestos, sugiriendo que está implicado un receptor de naturaleza proteica.

Cabe señalar que se observó consistencia en la influencia de los factores antes mencionados al evaluar la actividad citotóxica tanto *in vitro* como *in vivo*, así como en su afinidad al ADN.

A partir de la amsacrina se se han diseñado nuevos derivados de las 9-anilinoacridinas como el *m*-AMCA y la asulacrina (figura 29), ésta última se encuentra en estudios de fase I/II. Estos dos compuestos han mostrado una mejor selectividad hacia células en proliferación en comparación a la amsacrina.⁽³⁹⁾

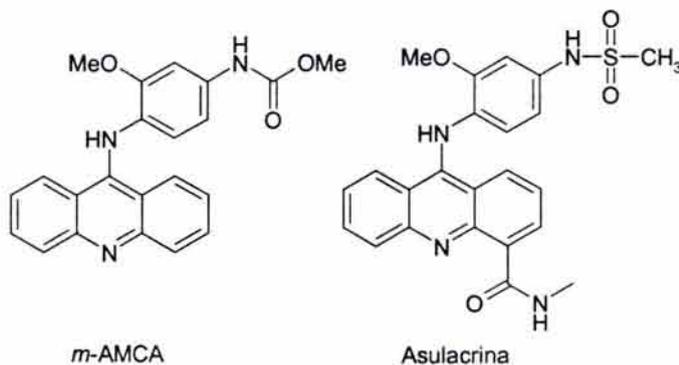


Figura 29. Derivados de la amsacrina con actividad citotóxica

Estudios preclínicos establecieron que una ruta importante para el metabolismo de este tipo de compuestos es la oxidación del anillo de anilina a la correspondiente diiminoquinona, la cual puede reaccionar después con tioles de bajo peso molecular por una adición 1,4 (figura 30). No se ha establecido con certeza si el metabolismo por esta vía es o no importante para la actividad.⁽⁴⁰⁾

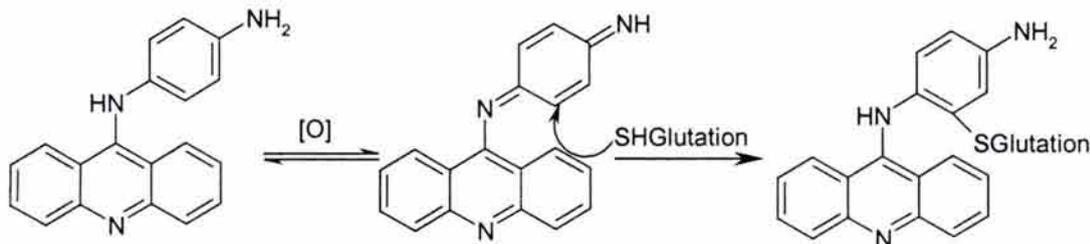
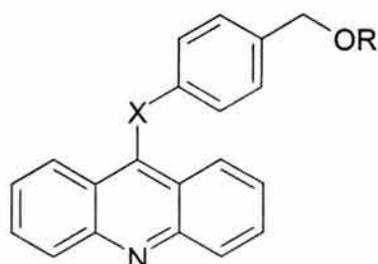


Figura 30. Ruta metabólica de las 9-(4'-aminoanilino)acridinas.⁽⁴⁰⁾

A fin de prolongar la vida media de este tipo de compuestos, Su y colaboradores⁽⁴¹⁾ diseñaron y sintetizaron derivados de 9-fenoxiacridinas y de 9-feniltioacridinas, incapaces de ser oxidadas hacia derivados tipo diimino quinona, sin embargo no se apreció un aumento de la citotoxicidad con respecto a amsacrina (tabla 6). Cabe mencionar que estudios recientes han mostrado que las fenoxiacridinas son potenciales antiinflamatorios.⁽⁴²⁾

Tabla 6. Comparación del efecto citotóxico de *m*-AMSA, 9-fenoxiacridinas y 9-feniltioacridinas⁽⁴¹⁾



X	R	Cl ₅₀ inhibición de crecimiento celular en HL-60 (mM)
O	H	12.85
O	CONHMe	0.68
O	CONH- <i>i</i> -Pr	1.49
S	H	3.33
S	CONHMe	1.96
S	CONH- <i>i</i> -Pr	2.83
m-AMSA		0.021

Otro compuesto interesante desarrollado por Su y colaboradores fue la 3-[(9-acridinil)amino]-5-(hidroximetil)anilina (AHMA, figura 31) en el que los sustituyentes amino están en relación meta y no pueden por tanto formar la diiminoquinona. Este compuesto tuvo una vida media larga en plasma humano y tuvo actividad antitumoral tanto *in vitro* como *in vivo*. Dentro de este mismo estudio se demostró que la adición de sustituyentes en el grupo amino o hidroximetilo no incrementa en modo apreciable la actividad. Así mismo se demostró que AHMA y sus derivados son potentes inhibidores de la ADN topoisomerasa II.⁽⁴¹⁾

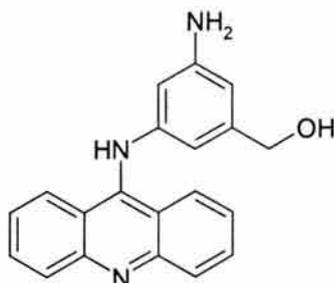


Figura 31.
3-[(9-acridinil)amino]-5-(hidroximetil) anilina (AHMA)

En un estudio posterior, Scarborough y colaboradores⁽⁴³⁾ realizaron la síntesis y evaluación biológica de O-acilderivados y carboxamidas de AHMA. Los resultados obtenidos de este estudio mostraron un efecto estérico negativo y la importancia de la presencia de los grupos amino e hidroximetilo para la actividad citotóxica. Además se sugirió que el cambio en el perfil citotóxico por la presencia de sustituyentes en el anillo de anilino podría ser atribuido a factores estéricos, lipofílicos y electrónicos que afectan la interacción de esta parte de la molécula con el ADN o la ADN topoisomerasa

Hacia 1987 surgió una nueva serie de derivados, las 4-carboxamidoacridinas (figura 32).⁽³⁹⁾ Uno de estos compuestos, DACA, se encuentra en estudios clínicos. Este tipo de compuestos resulta interesante ya que poseen actividad inhibitoria de las ADN topoisomerasa tipo I y tipo II.⁽⁴⁴⁾ Una serie de modificaciones estructurales han llevado a la observación de que es posible modular la selectividad hacia uno u otro tipo de topoisomerasa. Por ejemplo el derivado clorado en la posición 7 tiene mayor efecto sobre la ADN topoisomerasa I, mientras que DACA lo tiene sobre el tipo II.⁽⁴⁵⁾

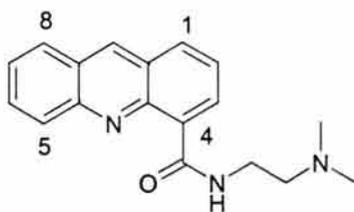


Figura 32.
N-[2-(dimetilamino)etil]-acridina-4-carboxamida (DACA)

Los buenos resultados obtenidos con DACA y el derivado clorado en la posición 7, llevaron a realizar estudios más profundos de relación estructura-actividad.⁽⁴⁵⁾ Estos estudios mostraron que las propiedades electrónicas de los sustituyentes no influyen marcadamente en la actividad citotóxica de los análogos de DACA, en cambio la presencia de grupos voluminosos provocaba la disminución de la actividad.

Dentro de este mismo estudio se evaluó la actividad citotóxica de los análogos de DACA en 3 líneas células de leucemia humana (Jurkat), JL_C (línea sensible-ADN topoisomerasa II normal), JL_A (línea resistente a amsacrina-ADN topoisomerasa II mutada) y JL_D (línea resistente a doxorubicina-ADN topoisomerasa II mutada), con el fin de determinar si el mecanismo de acción

es mediado por la ADN topoisomerasa II. Si los valores de la relación de $CI_{50}JL_A/CI_{50}JL_C$ y $CI_{50}JL_D/CI_{50}JL_C$ son menores a 2, indica que el mecanismo de acción para la actividad citotóxica del compuesto no involucra a la ADN topoisomerasa II.

Los resultados de estudio mostraron que la presencia de sustituyentes en la posición 5 mejora la actividad citotóxica, aunque existe un límite estérico, por otra parte la presencia de sustituyentes en las posiciones 6, 7 y 8 provoca que el mecanismo de acción para la actividad citotóxica no involucre a la ADN topoisomerasa II

Tabla 7. Actividad citotóxica de análogos de DACA.⁽⁴⁵⁾

R	$CI_{50}JL_C$ (nM)	$CI_{50}JL_A/CI_{50}JL_C$	$CI_{50}JL_D/CI_{50}JL_C$
H	580	1.9	2.3
5-Me	46	4.6	4.8
5-Et	137	4.1	4.4
5-Ph*	1665	1.55	1.4
5-F	103	4.5	5.6
5-Cl	4.2	4.4	---
5-Br	26	3.8	4.9
5-NMe ₂ *	5710	0.85	0.9
5-CF ₃	75	4.4	5.0
6-Me*	625	1.3	1.5
6-F*	455	1.5	1.9
6-Cl*	397	1.1	1.3
6-Br*	446	0.9	1.1
6-NMe ₂ *	212	0.6	0.85
6-CF ₃ *	1350	0.9	1.0
7-Me*	1350	1.0	1.1
7-F	424	1.8	2.1
7-Cl*	753	0.8	1.0
7-Br*	756	0.8	1.0
7-NMe ₂ *	2480	1.8	1.8
8-Me*	1060	0.95	1.05
8-Cl*	919	1.25	1.3
9-NH ₂	27	4.6	6.1
9-Me*	436	0.85	1.0

*Actividad citotóxica independiente de ADN topoisomerasa II

Estudios cristalográficos realizados sobre el complejo DACA-ADN [se utilizó una secuencia d(CGTACG)₂] mostraron las siguientes características:⁽⁴⁶⁾

1. El carbonilo de la amida se encuentra coplanar al átomo de nitrógeno protonado de la acridina, formando un puente de hidrógeno intramolecular (figura 33).

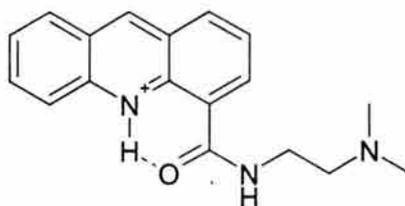


Figura 33.

Formación del puente de hidrógeno intramolecular en DACA

2. La unión al ADN ocurre a través de la formación de un puente de hidrógeno entre la cadena protonada de *N,N*-dimetilamonio con la guanina 2 en los átomos de oxígeno y nitrógeno en la posición 6 y 7, respectivamente; además de la interacción del grupo

fosfato de la guanina 2 con el amino de la amida a través del enlace con una molécula de agua.

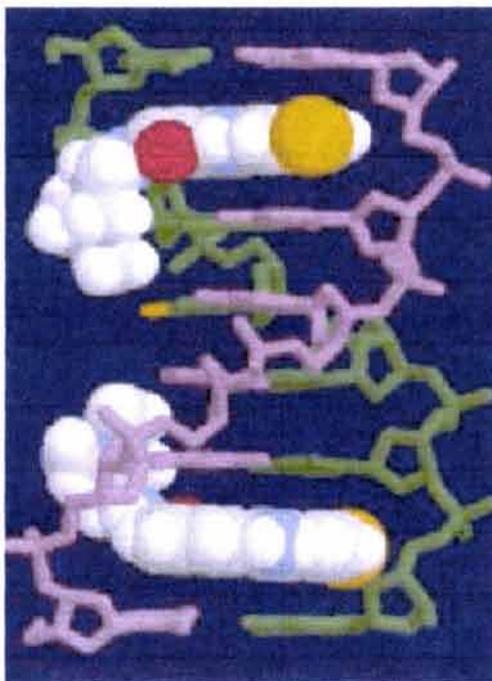


Figura 34.
Modelo de intercalación de DACA en el ADN⁽⁴⁶⁾

La evaluación de otros compuestos, tanto de origen natural como sintético, que contienen el núcleo de acridina, ha mostrado que poseen actividad citotóxica, aunque no se ha demostrado su mecanismo de acción. Algunos compuestos de este tipo son acridonas como la acronicina, piridoacridinas como la amfimedina y la ciclodercitina y las pirazoloacridinas como NSC366140 (figura 35).⁽³⁹⁾ Además dada la afinidad que tiene el núcleo de acridina por el ADN se le ha usado como vector para agentes alquilantes e incluso se le ha ligado a oligonucleótidos en terapias antisentido tratando de mejorar la penetración al interior de la célula.⁽³⁹⁾

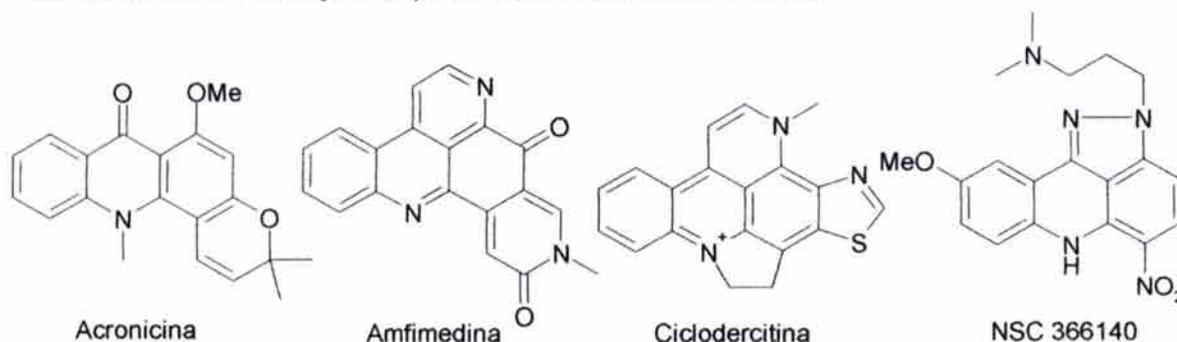


Figura 35. Compuestos con actividad citotóxica que contienen el núcleo de acridina

2.7. Derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina

Álvarez-Ibarra y colaboradores⁽⁴⁷⁾ sintetizaron y evaluaron la actividad antitumoral de derivados de tiazolo [5,4-b] quinolinas. Estos compuestos habían sido reportados como potenciales

antiespasmódicos, antiinflamatorios y colorantes. Estos compuestos son isómeros de los derivados de acridina en los cuales un anillo bencénico es sustituido por un anillo de tiazol (figura 36).

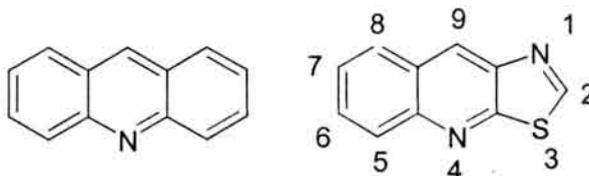
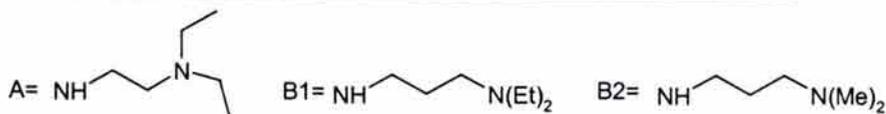


Figura 36.
Semejanza estructural entre el núcleo de acridina
y el de tiazolo[5,4-b]quinolina

Los compuestos sintetizados por Álvarez-Ibarra y colaboradores fueron derivados sustituidos en la posición 2 o en la posición 9 con un sustituyente alquildiamino. Algunos de estos derivados mostraron tener actividad citotóxica en las líneas celulares P-388 (neoplasma linfático murino), A-549 (carcinoma de pulmón humano) y HT-29 (tumor de colon humano) (tabla 8). De estas observaciones se desprendió que es importante para la actividad de este tipo de compuesto: una densidad de carga positiva en la posición 7, una cadena lateral flexible en la posición 2 ó 9 con dos nitrógenos básicos con un pKa de 7.5 a 10

Tabla 8.
Comparación de la actividad citotóxica *in vitro*
de tiazolo[5,4-b] quinolinas sustituidas⁽⁴⁷⁾

			CI ₅₀ de inhibición de crecimiento celular (μ M) (<i>in vitro</i>)		
C-2	C-7	C-9	P-388	A-549	HT-29
SCH ₃	H	OH	>70.2	>70.2	>70.2
SCH ₃	CH ₃	OH	>66.9	>66.9	>66.9
SCH ₃	F	OH	>66.1	>66.1	>66.1
A	H	OH	5.76	7.22	7.22
A	CH ₃	OH	3.3	5.6	3.3
A	F	OH	1.65	2.9	5.0
SCH ₃	H	B1	6.0	6.0	6.0
SCH ₃	CH ₃	B1	5.4	5.4	5.4
SCH ₃	H	B2	12.1	12.1	12.1



Recientemente se propuso la síntesis de derivados "híbridos" de las tiazolo[5,4-b]quinolinas y las 9-anilinoacridinas como potenciales antitumorales.^(48,49) Esto se basó en el análisis de los gráficos de isopotencial del potencial molecular electrostático (PME) de moléculas con capacidad intercalante con y sin actividad citotóxica, encontrándose que para la actividad citotóxica era necesaria la presencia de regiones adicionales de isopotencial comparadas con las moléculas que carecían de esta actividad (figura 37 y 37a).⁽⁴⁸⁾

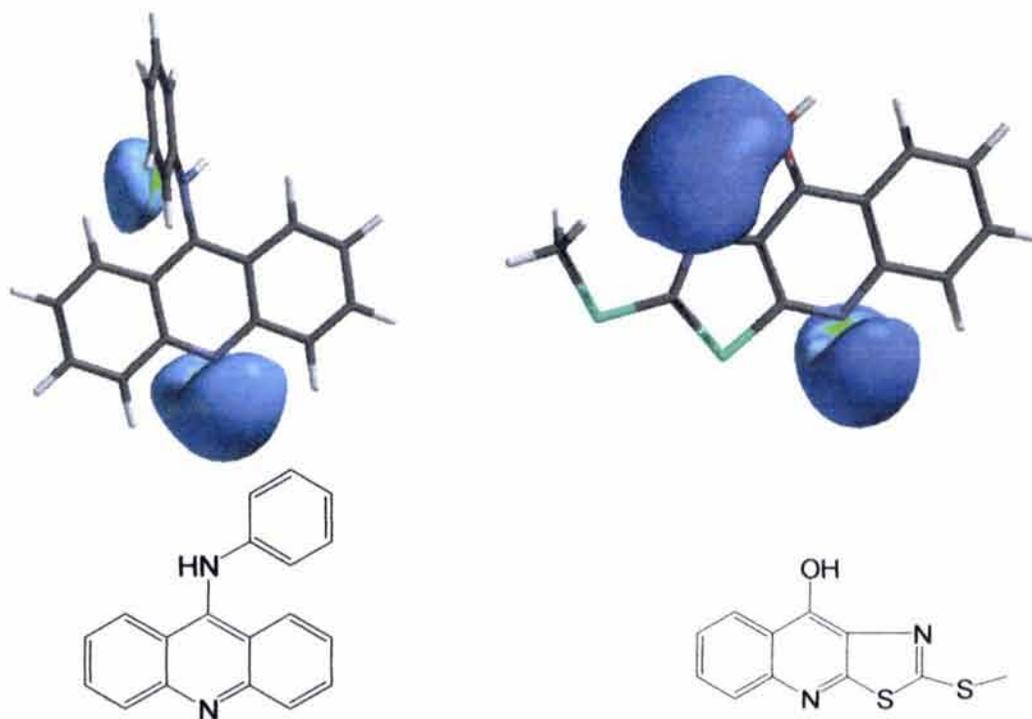


Figura 37. Gráficos de isopotencial de potencial molecular electrostático (PME) de compuestos intercalantes sin actividad biológica.⁽⁴⁸⁾

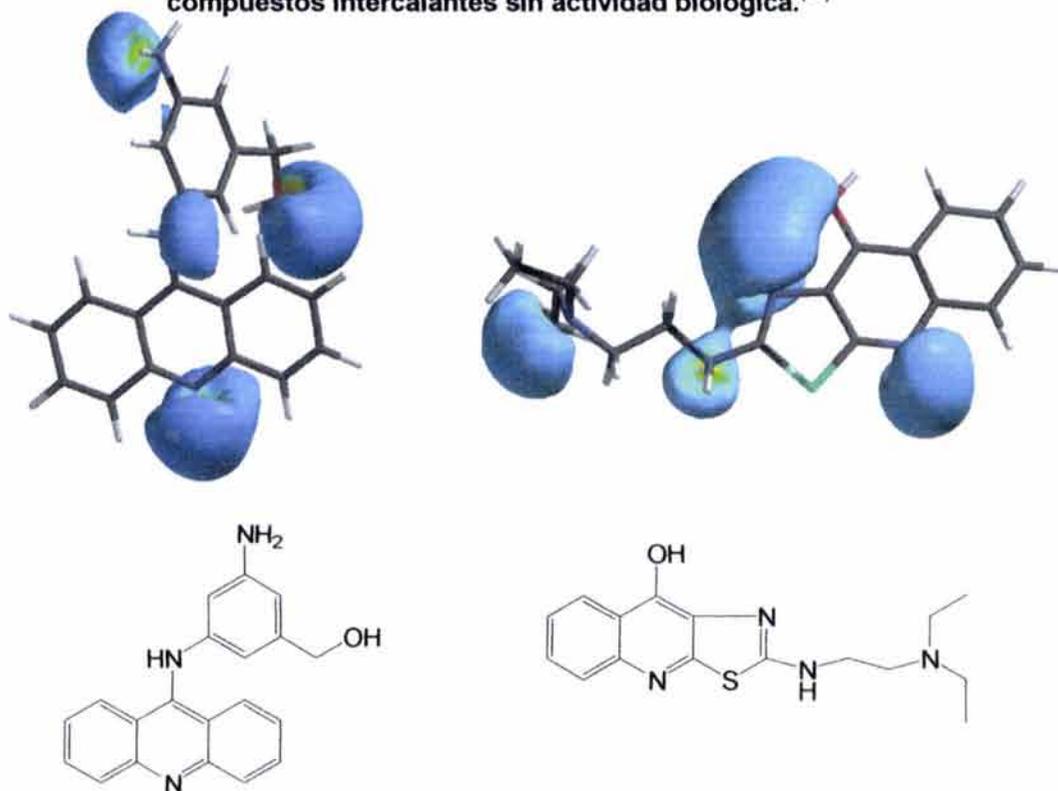


Figura 37a. Gráficos de isopotencial de PME de compuestos con actividad biológica.⁽⁴⁸⁾

Con estos datos se diseñaron compuestos que permitieran comprobar lo anterior, estos compuestos se ilustran en la figura 38

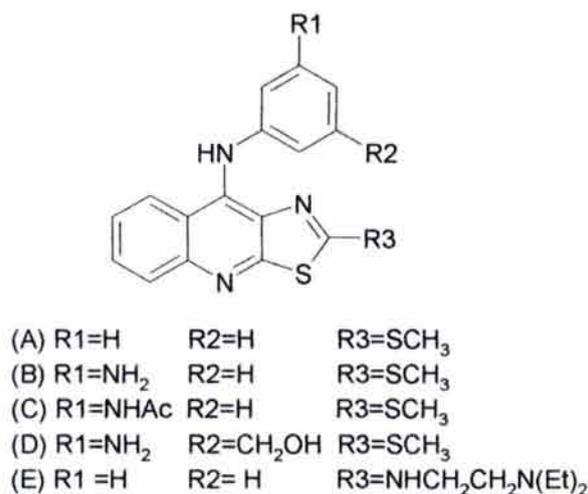


Figura 38. Derivados híbridos

Los compuestos D y E poseen regiones adicionales (figura 39) a las de los compuestos inactivos, por lo cual se esperaba que tendrían una buena actividad citotóxica.⁽⁴⁸⁾

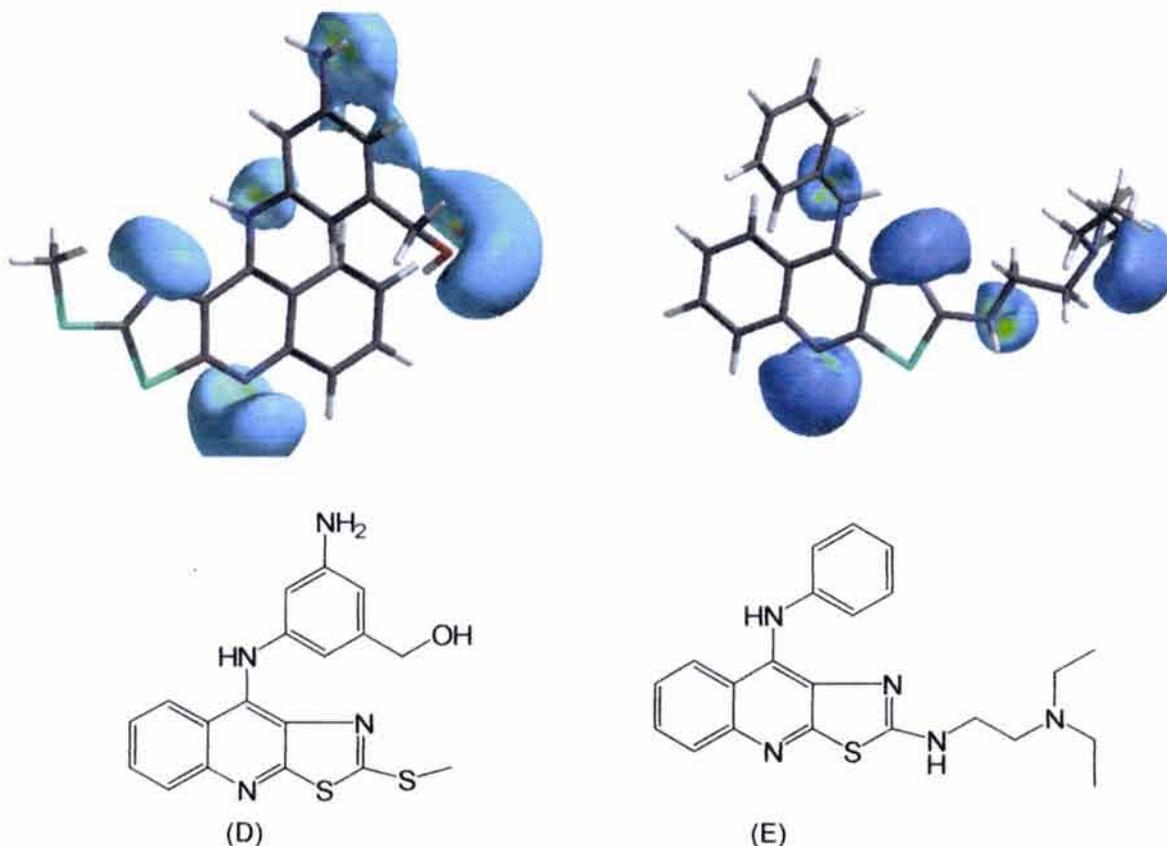


Figura 39. Gráficos de isotopencial de PME de los compuestos D y E.⁽⁴⁸⁾

Se evaluó la actividad citotóxica en diferentes líneas celulares (2 líneas celulares de cáncer colorectal humano SW480 y SW620; 3 líneas celulares cervicales HeLa, C-33 y Calo; una línea celular de cáncer de mama MCF-7; una línea celular de ovario CHO y una línea celular de leucemia mielógena humana K-562) y la unión al ADN de estos compuestos mediante desplazamiento de bromuro de etidio, los resultados se muestran en la tabla 9.⁽⁴⁹⁾

Tabla 9.
Comparación de la actividad citotóxica *in vitro* y capacidad de unión al ADN de los derivados híbridos.⁽⁴⁹⁾

	CI ₅₀ de inhibición de crecimiento celular (μM) (<i>in vitro</i>)								Q ^a	Qmax ^b
	MCF-7	HeLa	Calo	C-33	SW480	SW620	CHO	K-562		
A	>200	>200	198.3	153.7	>200	>200	>200	>200	13.62	0.2987
B	74.3	176.5	128.1	138.8	>200	>200	136.8	143.4	6.96	0.5861
C	132.3	>200	>200	>200	>200	153.9	58.8	85.3	18.44	1.0781
D	138.5	>200	106.4	>200	>200	183.9	111.4	143.4	22.64	1.2804
E	16.6	15.96	29.9	22.4	37.7	21.6	30.6	16.8	52.46	1.7428
m-AMSA	7.41	9.5	18.3	8.8	27.7	16.7	9.3	19.9	n.d.	n.d.

^a Unión al ADN por desplazamiento del bromuro de etidio del ADN. Concentración (nM) para disminuir un 50% la fluorescencia debida al complejo ADN-bromuro de etidio
^b Unión máxima al ADN (nM). Representa los subsitios a los cuales se une el compuesto en el ADN
n.d. No determinada

De estos resultados se observó que la introducción de una cadena de alquildiamino (compuesto E) mejoró notablemente la actividad citotóxica. Por otra parte la presencia de un grupo amino en el anillo de anilino mejora también la actividad.

Se observó que todos los compuestos fueron capaces de desplazar al bromuro de etidio del ADN, estos resultados sugirieron que el compuesto B no sólo es el que mejor se unió al ADN (valor de Q= 6.96, el menor de todos), sino que lo hizo de un modo más selectivo (Qmax= 0.5861). El compuesto acetilado C tuvo una menor afinidad por el ADN por lo que se presumió que el grupo amino es importante para la unión al ADN.

La baja actividad de estos compuestos comparada con la de los derivados de acridina, de los cuales son isómeros, hizo pensar en que otro de tipo de factores pudieran estar involucrados, razón por la cual resulta conveniente explorar si la incorporación de otro tipo de sustituyentes en el anillo de anilino reditúa en una mejora en la actividad citotóxica. Además por el tipo de sustituyentes a incorporar se puede determinar si son los factores electrónicos, estéricos e hidrofóbicos, en su conjunto o de manera aislada, los que afectan la actividad biológica. También es de considerar si la ubicación de los sustituyentes afecta la actividad biológica. Esto resulta de gran importancia para el caso de los grupos alquilamino que como se indicó anteriormente, parece que confieren una mejor actividad al núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la influencia de la posición y parámetros estéricos, hidrofóbicos y electrónicos de los sustituyentes en la actividad citotóxica de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina.

Objetivos particulares

1. Sintetizar derivados de tiazolo[5,4-b]quinolinas con distintos sustituyentes en diferentes posiciones.
2. Caracterizar los derivados obtenidos mediante parámetros físicos, espectroscópicos y espectrométricos.
3. Realizar estudios de modelado molecular de los derivados propuestos los cuales incluyen: obtención del conformero más estable, propiedades electrostáticas, descriptores QSAR y superficies de propiedades electrónicas.
4. Determinar la actividad citotóxica de los derivados propuestos en diversas líneas celulares.
5. Una vez obtenidos los datos de actividad citotóxica de estos derivados, establecer una relación estructura-actividad para este tipo de compuestos.

4. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

Los estudios de QSAR realizados sobre la actividad citotóxica de las 9-anilinoacridinas muestran que la presencia de grupos electrodonadores en el anillo de anilino es importante en la actividad. Denny, Baguley y Atwell establecieron la siguiente ecuación para explicar la citotoxicidad de 9-anilinoacridinas en la línea celular L1210:⁽³⁷⁾

$$\log 1/C = -0.85(\pm 0.27)\sigma + 0.60(\pm 0.19)MR + 5.07(\pm 0.29)$$

$$n=20; r^2=0.852; s=0.388; q^2 =0.807;$$

Importancia de los parámetros: $\sigma > MR$

Log 1/C: logaritmo del inverso de la CI_{50}

σ = Valor del parámetro de Hammet para los sustituyentes en el anillo de anilina

MR= Valor del parámetro de refractividad molar para los sustituyentes en el anillo de anilina

Basado en lo anterior, la propuesta de incorporar grupos electrodonadores en el anillo de anilina de derivados de 9-anilino-2-metilthiotiazolo[5,4-b]quinolinas con el fin de mejorar la actividad citotóxica resultaba aceptable. Además la similitud observada entre los gráficos de isopotencial del potencial molecular electrostático (PME) de derivados de acridina bioactivos y los de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina llevó a la propuesta de que ambos tipos de compuestos tendrían una actividad citotóxica similar. Sin embargo los resultados de la actividad citotóxica de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina no reflejan el comportamiento esperado. Esto sugiere que debido a la presencia del anillo de tiazol, los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolinas pueden interactuar con el ADN o la ADN topoisomerasa II de modo distinto al que lo hacen los derivados de acridina.

Por otra parte, estudios anteriores han puesto de manifiesto que el perfil citotóxico de los derivados de 9-anilinoacridina está influenciado por la presencia de sustituyentes en el anillo de anilino y esto puede ser atribuido a factores estéricos, hidrofóbicos y electrónicos que afectan la interacción de esta parte de la molécula con el ADN o la ADN topoisomerasa. Todos estos estudios señalan la importancia de la presencia de grupos electrodonadores en el anillo de anilina.^(33-37, 43)

Considerando lo anterior se decidió estudiar la influencia del efecto electrónico, estérico e hidrofóbico de diferentes sustituyentes en el anillo de anilino de las 9-anilino-2-metilthiotiazolo[5,4-b]quinolinas sobre la actividad citotóxica de éstas, siendo posible que la presencia de otros grupos, no necesariamente electrodonadores, mejorara la actividad citotóxica. Los sustituyentes elegidos para este estudio se ilustran en la tabla 10.

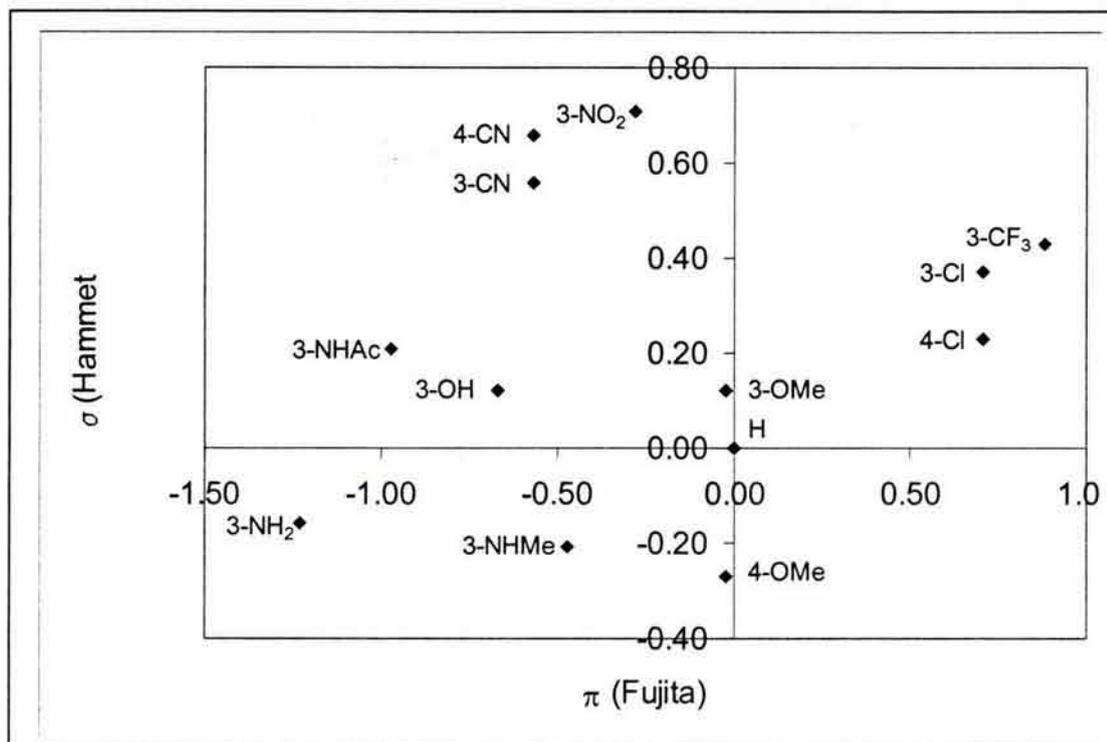
Tabla 10.

Sustituyentes elegidos para el estudio del efecto de diversos sustituyentes en el anillo de anilina de derivados de 9-anilino-2-metilthiotiazolo[5,4-b]quinolina.

Sustituyente	π (Fujita)	σ (Hammet)	Es (Taft)	MR (refractividad molar)
-H	0	0	0	0.10
3-NH ₂	-1.23	-0.16	-0.61	0.54
3-NHAc	-0.97	0.21	-4.00	1.49
3-CN	-0.57	0.56	-0.51	0.63
3-OH	-0.67	0.12	-0.55	0.28
3-OMe	-0.02	0.12	-0.55	0.79
3-NO ₂	-0.28	0.71	-2.52	0.74
3-Cl	0.71	0.37	-0.97	0.60
3-CF ₃	0.88	0.43	-2.40	0.50
3-NHMe	-0.47	-0.21	NR	1.03
4-OMe	-0.02	-0.27	-0.55	0.79
4-CN	-0.57	0.66	-0.51	0.63
4-Cl	0.71	0.23	-0.97	0.60

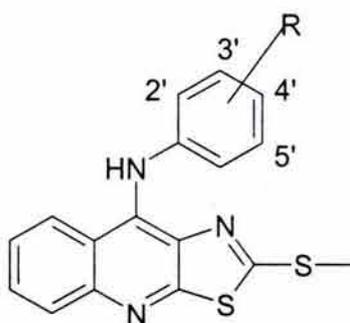
Valores tomados de la referencia (36). NR no reportado

Se eligieron los sustituyentes principalmente en la posición 3 del anillo de anillo para evitar el metabolismo a derivados de tipo iminoquinona descritos previamente.⁽⁴⁰⁾ La gráfica de Craig indica que se cubre una buena gama de valores.



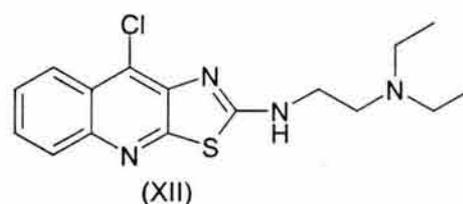
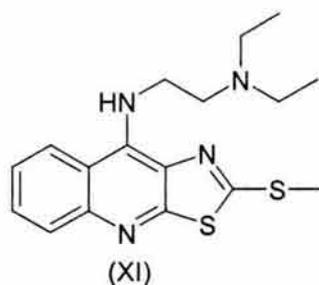
Gráfica 1. Gráfica de Craig de los sustituyentes elegidos para el estudio.

Considerando que ya se han sintetizado y evaluado compuestos con los tres primeros sustituyentes propuestos, se propuso la síntesis de los siguientes derivados novedosos:

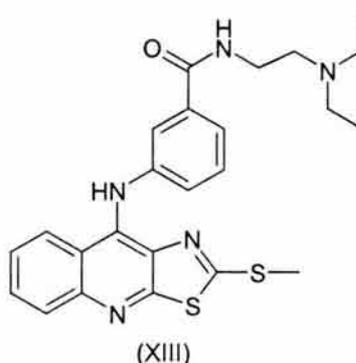


- R
- 3'-Cl (I)
 - 3'-CN (II)
 - 3'-OMe (III)
 - 3'-CF₃ (IV)
 - 3'-NO₂ (V)
 - 3'-OH (VI)
 - 3'-NHMe (VII)
 - 4'-Cl (VIII)
 - 4'-OMe (IX)
 - 4'-CN (X)

Por otra parte se ha observado que la presencia de una cadena de alquilamino es importante para la actividad, se ha propuesto que los compuestos sustituidos en la posición 2 con esta cadena son ligeramente más activos que aquellos que lo están en la posición 9⁽⁴⁷⁾, sin embargo en este estudio la longitud de la cadena no era constante, por lo que se propone la síntesis de 2 derivados con la misma longitud de la cadena de alquilamino, a fin de verificar si el cambio de posición influye en la actividad citotóxica.



Se ha establecido que el anillo de anilino en las 9-anilinoacridinas pudiera estar implicado en las interacciones con la enzima o el ADN. Considerando este hecho y dado que el residuo de alquilamino provee sitios adicionales de interacción, ya sea con el ADN o la ADN topoisomerasa II,⁽⁵⁰⁾ se propone la síntesis de un compuesto que posea un residuo de alquilamino unido al anillo de anilina, esperando que esto favorezca las interacciones de este compuesto con el ADN o la enzima y se refleje en la actividad citotóxica.



Dado que se ha observado que en ocasiones el modelo de Hansch no explica en algunas relaciones encontradas o podía llevar a conclusiones equivocadas, se han elegido diversos parámetros cuánticos para usarlos en el establecimiento de relaciones estructura-actividad.^(51, 52) Estos parámetros tienen como ventaja que ofrecen información sobre el volumen (como el caso de la refractividad) o de la reactividad de los compuestos (carga, LUMO, HOMO).⁽⁵²⁾ Por esta razón se propone la realización de estudios de modelaje molecular los cuales comprenden la obtención del conformero más estable, cálculo de propiedades electrostáticas y otros descriptores QSAR.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1. Parte química

5.1.1. Parte sintética

La formación del sistema tricíclico puede racionalizarse de cuatro formas, las cuales se ilustran en la figura 40. La ruta D en la cual se usa como precursor al 4-(etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol es la propuesta por Álvarez-Ibarra⁽⁴⁷⁾ y fue la utilizada en esta tesis, tal como se describe en la figura 41.

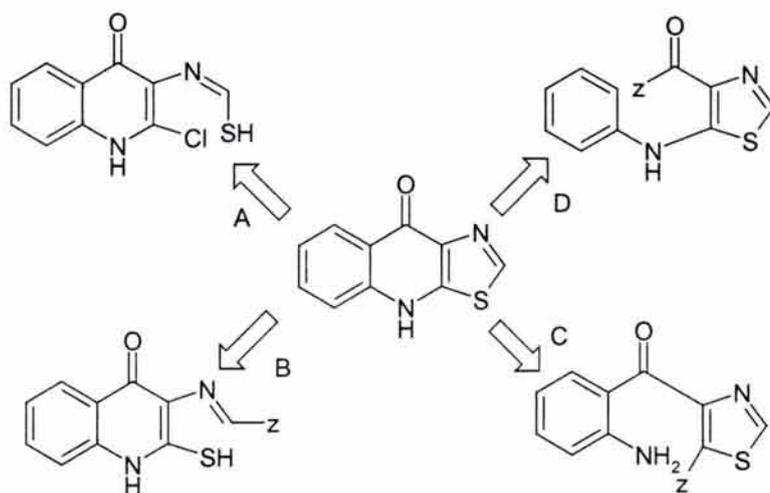
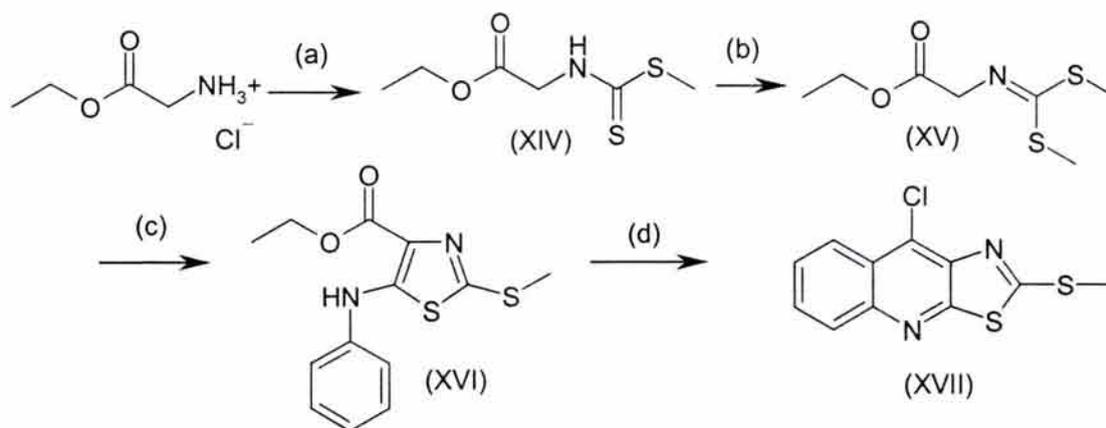


Figura 40. Análisis retrosintético de la formación del núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina⁽⁴⁷⁾

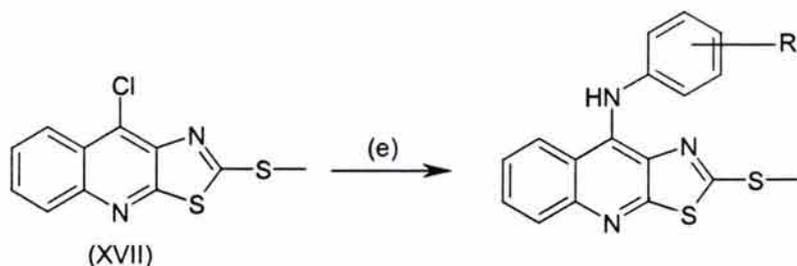


- (a) 1. CS₂/NaOH 2. CH₃I.⁽⁵³⁾ (b) CH₃I/K₂CO₃.⁽⁵⁴⁾
 (c) 1. tBuO⁻K⁺/THF anh./ -75°C 2. PhNCS. 16hrs.⁽⁵⁵⁾
 (d) PPA/POCl₃/130-135°C/4hr.^(48,49)

Figura 41. Ruta sintética para la formación del núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina

5.1.1.1.9-anilintiazolo[5,4-b]quinolinas

Para el caso de las 9-anilintiazolo[5,4-b]quinolinas, una vez formado el sistema tricíclico, se incorporó el anillo de anilina, apropiadamente sustituido, mediante una reacción de sustitución nucleofílica aromática.



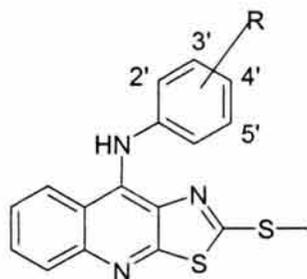
(e) R-C₆H₄-NH₂/ MeOH

Figura 42. Reacción para la preparación de las 9-anilintiazolo[5,4-b]quinolinas

Para este tipo de reacciones existía el antecedente de la formación de 9-anilinoacridinas a partir de la reacción entre la 9-cloroacridina y la anilina en metanol a reflujo, empleando trietilamina para neutralizar el ácido clorhídrico formado. Se adaptó esta técnica para la obtención de las 9-anilintiazolo[5,4-b]quinolinas, empleando 9-cloro-2-(metililito)tiazolo[5,4-b]quinolina (compuesto XVII), lográndose obtener el producto deseado después de dos días de reacción. Se modificaron las condiciones de reacción, de básicas a ácidas, sustituyendo la trietilamina por ácido clorhídrico en cantidades catalíticas, con la intención de que, al protonarse el átomo de nitrógeno de la quinolina, fuera más fácil la incorporación de la anilina en la posición 9, esto dio resultado, puesto que se obtuvieron los productos deseados, con una disminución del tiempo de reacción.

Es interesante hacer notar que los tiempos de reacción variaban dependiendo de la anilina empleada tal como se ilustra en la tabla 11. De manera general, el tiempo de reacción para todos los compuestos es de alrededor de 6 horas. Sin embargo en el caso de los compuestos con sustituyentes amino, hidroxilo y nitro, el tiempo de reacción aumenta a 9 horas. En el caso del grupo nitro puede especularse que el efecto electroattractor sea más fuerte y que por ende el tiempo de reacción es mayor. Empero, esto contrasta con el caso de los grupos amino e hidroxilo donde podría esperarse que el efecto electrodonador de estos grupos funcionales disminuyera el tiempo de reacción. Es posible que este mismo efecto haga que el grupo amino se encuentre mayor tiempo protonado debido a la mayor basicidad en comparación a los grupos electroattractores, lo cual disminuye su capacidad nucleofílica y aumenta el tiempo de reacción.

Tabla 11. Tiempos de reacción para la obtención de 9-anilintiazolo[5,4-b]quinolina



R	Tiempo de reacción (hr)
3'-Cl	5
3'-CN	5
3'-OMe	6
3'-CF ₃	6
3'-NO ₂	8
3'-OH	8
3'-NHMe	9
4'-Cl	6
4'-OMe	6
4'-CN	6
3'-(CO)NHCH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	4
3'-NH ₂	9*

*Tomado de las referencias.^(48, 49)

En la preparación de estos compuestos se obtuvieron rendimientos entre el 67 y 75% después de lavados con acetona fría, excepto en el caso del compuesto XIII, cuya purificación se realizó por recristalización de etanol-agua y el rendimiento fue del 51%. En todos los casos, los puntos de fusión de estos compuestos fueron superiores a 160° C y se reportan en la tabla 12. Cabe destacar la diferencia de 50° C en los puntos de fusión de los compuestos VI y III, en los que la diferencia es que el primero posee un grupo hidroxilo y el segundo un grupo metoxilo. Es posible que el protón del grupo hidroxilo participe en la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares y esto repercuta en un incremento del punto de fusión.

Tabla 12. Punto de fusión y Rf de las 9-anilinothiazolo[5,4-b]quinolinas sintetizadas.

Compuesto	Sustituyente	p.f. (°C)	Rf (1)	% Rendimiento
I	3'-Cl	185-187	0.64	74.5
II	3'-CN	210-212 (d)	0.37	72
III	3'-OMe	175-179	0.51	75
IV	3'-CF ₃	168-170	0.56	67
V	3'-NO ₂	201-204	0.44	76
VI	3'-OH	227-230 (d)	0.29	73
VII	3'-NHMe	173-175 (d)	0.41	74.5
VIII	4'-Cl	186-187	0.34	70
IX	4'-OMe	205-207	0.55	68
X	4'-CN	178-180 (d)	0.37	68
XIII	3'-(CO)NHCH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	160-162	0.32 (2)	51

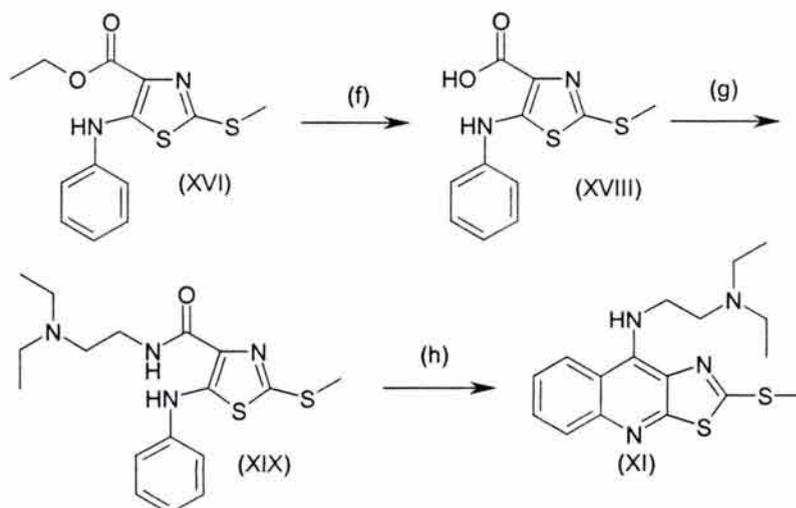
(d) funde con descomposición

(1) Sistema de elución hexano-acetato de etilo (7:3) excepto en

(2) Sistema de elución diclorometano-metanol-hidróxido de amonio (9:1:0.01)

5.1.1.2.2-*alquilamino y 9-*alquilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas**

En la síntesis del compuesto XI se empleó la metodología propuesta por Álvarez-Ibarra para la síntesis de las 9-*alquilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas*, como se ilustra en la figura 43.⁽⁴⁷⁾



(f) KOH/EtOH, reflujo 30min. ^(48,49)

(g) 1,1,1'-carbonildimidazol/CH₂Cl₂, reflujo, 1hr 2,N,N-dietiltilendiamina/CH₂Cl₂, reflujo, 3hr

(h) POCl₃/PPA/120°C/ 20min

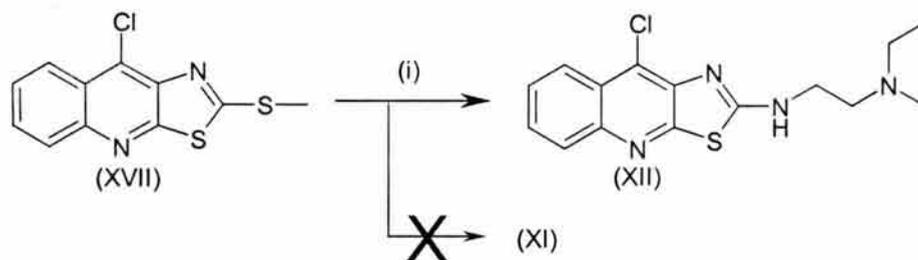
Figura 43. Ruta sintética para la obtención del compuesto XI

En esta síntesis se utilizó un método alternativo para la preparación de uno de los intermediarios (compuesto XIX). La preparación de estas amidas es posible llevarla a cabo a partir de la formación del cloruro de ácido con cloruro de tionilo/piridina y posterior reacción con la amina para la formación de la amida, dicho procedimiento ya ha sido descrito previamente.^(47,48,49) En este trabajo se utilizó el 1,1'-carbonildimidazol, un agente acoplante utilizado en la síntesis de péptidos.⁽⁵⁶⁾ Este agente ofrece la ventaja de que las condiciones de reacción son más suaves en comparación con las usadas con el cloruro de tionilo, además de fácil purificación y buen rendimiento (75%). Si bien el 1,1'-carbonildimidazol es un reactivo más costoso que el cloruro de tionilo, la escala a la cual se prepararon estos compuestos permitió explorar la utilización del primero.

La reacción de ciclación del compuesto XIX para obtener el compuesto XI es una reacción de bajo rendimiento (29%) probablemente debido a la formación de varios subproductos. Es posible que por las condiciones ácidas a las que se lleva a cabo la reacción, una parte de la amida se hidrolice y posteriormente se dé la reacción de ciclación.

La metodología para la obtención de los derivados 2-alkilaminicos se encuentra reportada en la literatura a partir de la oxidación del grupo tiometilo de la posición 2 con permanganato de potasio/ácido acético⁽⁴⁶⁾ o peróxido de hidrógeno/ácido acético⁽⁴⁷⁾ y posteriormente se incorpora la alquilamina por calentamiento a 120° C.

En el presente trabajo se desarrolló un nuevo método para la obtención del compuesto XII. En un intento por incorporar el residuo de alquilamina en la posición 9, se adaptaron las condiciones de reacción descritas para la obtención de los derivados de 9-anilino[5,4-b]quinolina (metanol/ácido clorhídrico a reflujo). Después de 48 horas de reacción, se obtuvo un producto mayoritario con la formación de varios subproductos minoritarios que dificultaron la separación por cromatografía en columna de gel de sílice. Se realizó un segundo intento en el cual se mezclaron el compuesto XVII y la 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina en condiciones anhidras y bajo atmósfera de nitrógeno. Al observar el desarrollo de la reacción por cromatografía en capa fina, se detectó la formación de un producto con un R_f igual al producto mayoritario de la reacción en metanol, y el desprendimiento de un olor desagradable distinto al de la etilamina. El producto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con buen rendimiento (75%). Sin embargo la evidencia espectroscópica (ver análisis espectroscópico) indicó la ausencia del tioéter y en cambio la presencia del átomo de cloro, con lo que se concluyó que no se trataba del compuesto XI, sino del compuesto XII.



(i) 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina / temperatura ambiente, 48 horas.

Figura 44. Reacción para la obtención del compuesto XII

De esto, resulta de interés el observar que las aminas aromáticas siempre se incorporaron en la posición 9, sin embargo la amina alifática se incorporó en la posición 2. Una posible explicación a este hecho es que las aminas aromáticas no se incorporen en la posición 2 debido al impedimento estérico que existiría entre el átomo de azufre del tioéter y el anillo aromático en un hipotético intermediario como se muestra en la figura 45, situación que no se daría en las aminas alifáticas.

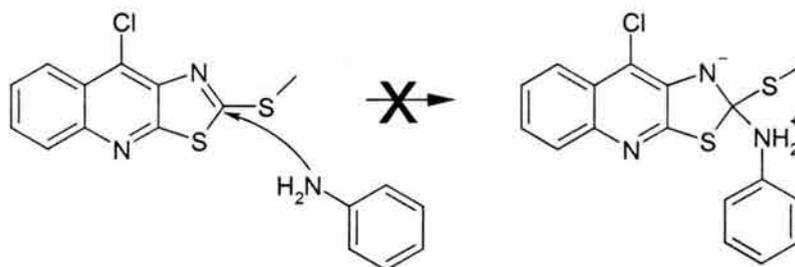


Figura 45. Intermediario hipotético en la formación de 2-arilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas

Una segunda explicación a este hecho puede hallarse al describir la dureza de los reactantes. De acuerdo a la teoría de ácidos y bases duros y blandos (HSAB, por sus siglas en inglés), una base dura reacciona con un ácido duro y una base blanda lo hará con un ácido blando. Bajo la teoría HSAB, mientras que las aminas alifáticas son bases duras, las aminas aromáticas son bases blandas; en el compuesto XVII pueden localizarse zonas que pueden comportarse como ácidos duros o blandos como se ilustra en la figura 46, la zona blanda se localizaría en el anillo central y la zona dura en el anillo de tiazol, debido a que la deslocalización de la carga es mayor en el primer caso. Siendo así las aminas aromáticas se adicionarán con la parte blanda y las aminas alifáticas en la zona dura en la posición 2 del anillo de tiazol.



Figura 46. Explicación de acuerdo a la teoría HSAB.

Los puntos de fusión de estos compuestos son menores a los de los derivados 9-anilino sustituidos, esto puede explicarse en razón de la presencia de las cadenas de alquilamino que se encuentran menos restringidas y tienen mayor movimiento, por lo que las interacciones intermoleculares son menores.

Tabla 13. Punto de fusión y Rf de los derivados 2-alquilamino y 9-alquilaminotiazolo[5,4-b]quinolina

Compuesto	Sustituyente		p.f. (° C)	Rf (1)
	Posición 2	Posición 9		
XI	-SMe	-NHCH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	94-98	0.54
XII	-NHCH ₂ CH ₂ N(Et) ₂	-Cl	81-84	0.27

(1) Sistema de elución diclorometano-metanol-hidróxido de amonio (9:1:0.01)

5.1.2. Análisis espectroscópico

La elucidación estructural de todos los compuestos se realizó por el análisis de sus espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear de protones (RMN-¹H) y de ¹³C (RMN-¹³C) y de espectrometría de masas (EM). En estos espectros se observó la presencia de patrones característicos que permitieron la identificación de los compuestos y asignación de las señales encontradas.

Los espectros realizados se encuentran en el anexo al final de la tesis, bajo la siguiente numeración:

Compuesto	Espectro (número)
I	IR (1), RMN- ¹ H (2), NOESY (3), RMN- ¹³ C (4), HETCOR (5), EM (6)
II	IR (7), RMN- ¹ H (8), NOESY (9), RMN- ¹³ C (10), HETCOR (11), EM (12)
III	IR (13), RMN- ¹ H (14), RMN- ¹³ C (15), EM (16)
IV	IR (17), RMN- ¹ H (18), RMN- ¹³ C (19), EM (20)
V	IR (21), RMN- ¹ H (22), RMN- ¹³ C (23), EM (24)
VI	IR (25), RMN- ¹ H (26), RMN- ¹³ C (27), HETCOR (28), EM (29)
VII	IR (30), RMN- ¹ H (31), RMN- ¹³ C (32), EM (33)
VIII	IR (34), RMN- ¹ H (35), RMN- ¹³ C (36), EM (37)
IX	IR (38), RMN- ¹ H (39), RMN- ¹³ C (40), EM (41)
X	IR (42), RMN- ¹ H (43), RMN- ¹³ C (44), EM (45)
XI	IR (46), RMN- ¹ H (47), RMN- ¹³ C (48), EM (49)
XII	IR (50), RMN- ¹ H (51), RMN- ¹³ C (52), EM (53)
XIII	IR (54), RMN- ¹ H (55), RMN- ¹³ C (56), HETCOR (57), EM (58)

La numeración empleada en las asignaciones es la descrita en la figura 47.

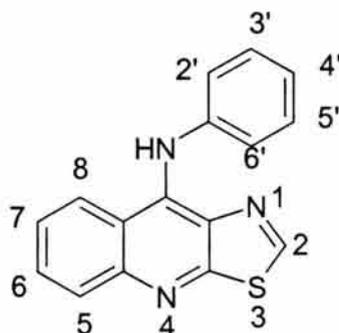


Figura 47. Numeración empleada

En los espectros de IR de estos compuestos se observaron varias bandas que fueron útiles para confirmar la adición de la anilina correspondiente en el caso de las 9-anilinothiazolo[5,4-b]quinolinas, y de las aminas alifáticas en el caso de las alquilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas. En el caso de las primeras se observa una banda alrededor de 3100 cm^{-1} , en las segundas se observan bandas intensas alrededor de $3000\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ indicando la presencia de la cadena alifática. En espectros de los compuestos sintetizados se hallaron bandas cuya presencia fue constante. Estas bandas pueden asociarse al núcleo de thiazolo[5,4-b]quinolina, las cuales se localizan entre 1600 y 1400 cm^{-1} (aromáticos) y cinco bandas alrededor de 1050 , 990 , 860 , 760 y 690 cm^{-1} . En algunos casos también fue posible observar una banda alrededor de 1285 cm^{-1} que indicaba la presencia del tioéter.

En la tabla 14 se resumen las bandas más importantes de los espectros de IR de cada uno de los compuestos.

Tabla 14.
Bandas más significativas en los espectros de IR de los compuesto sintetizados
(en pastilla de KBr, unidades en cm^{-1})

Compuesto	I	II	III	IV	V	VI	VII
Sustituyente	3'-Cl	3'-CN	3'-OMe	3'-CF ₃	3'-NO ₂	3'-OH	3'-NHMe
N-H	3108	3245	3120	3124	3000	3147	3414
C-H	3050		3053 2966	3054	2990		2921
Aromaticidad (C=C)	1572 1548 1516 1477 1430	1573 1550 1498 1473 1433	1595 1571 1543 1503 1476	1598 1522 1503 1472 1451	1596 1576 1547	1607 1573 1549 1497 1453	1588 1549 1494 1464
C-S	1266	1286	1300	1290	1275	1268	1298
Otras bandas	1043 994 751 681	1049 1014 759 689	1040 996 859 756 692	1048 807 750 697	1046 997 887 755 674	1043 997 860 751 687	1041 949 758 687
Grupo funcional		2231 (CN)	2850 (O-CH) 1266 (Ar-O)	1327 (C-F) 1161 (Ar-CF ₃) 1116 (Ar-CF ₃)	1625 (C-N) 1518 (NO ₂) 1348 (NO ₂)	2775 (O-CH) 1222 (Ar-O)	

Compuesto	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Sustituyente	4'-Cl	4'-OMe	4'-CN	9E	2E	3'- (CO)EDA
N-H	3196	3200	3200	3206	3202	3250
C-H	3104 2989 2912 2778	3062 3028	3000	2960 2923 2803	2968 2931 2815	3057 2964 2926 2812
Aromaticidad (C=C)	1627 1573 1540 1486 1467	1608 1573 1546 1510 1475	1603 1573 1532 1497 1474	1584 1551 1532 1470	1604 1551 1489 1461	1581 1550 1521 1467
C-S	1295	1295	1274	1282	---	1288
Otras bandas	1054 1003 813 760 679	990 838 752	1042 990 840 755 629	1037 968 852 793 626	1065 948 830 755 622	1043 996 927 761 680
Grupo funcional	1087 (Ar-Cl)	2835 (OCH ₃)	2222 (CN)			3425 (CONH) 1632 (C=O)

La asignación de las señales de los espectros de RMN-¹H, se realizó en base a su desplazamiento químico, a la obtención de las constantes de acoplamiento y a la comparación con reportes previos.⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ En el caso de las 9-anilino-2-metilthiazolo[5,4-b]quinolinas se pudo establecer el siguiente patrón de señales:

- Señal simple entre 2.30 y 2.60 ppm que corresponde al grupo metilo del tioéter.
- Las señales de los protones del anillo de anilina tienen desplazamiento variable debido a la presencia de los diferentes sustituyentes en él.
- Las señales de los protones del sistema de tiazolo[5,4-b]quinolina aparecen en el siguiente orden de campo alto a campo bajo:
 - o H-7, señal doble de doble de doble (J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz)
 - o H-6, señal doble de doble de doble (J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz)
 - o H-5, señal doble de doble (J= 8.4, 1.2 Hz)
 - o H-8, señal doble de doble (J= 8.4, 1.2 Hz)
- La señal del grupo amino que une al anillo de anilino con el sistema tricíclico se observa como una señal simple ancha, su desplazamiento químico está muy influenciada por el tipo de disolvente en el cual se haya realizado el espectro. La mayoría de los espectros se realizaron en dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d₆) y en este disolvente, la señal aparece alrededor de 10.5 ppm

A pesar de la existencia en la literatura sobre este tipo de compuestos, existía ambigüedad en la asignación de las señales de los protones del sistema tricíclico. Para ello se realizaron experimentos NOESY de los compuestos I y II, a fin de observar la posible interacción a través del espacio del protón del grupo amino con la del protón H-8, como se muestra en la figura 48

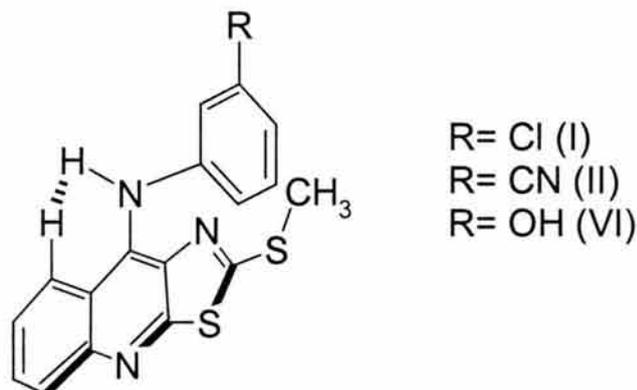


Figura 48. Interacción en el espacio esperada entre el protón del grupo amino y H-8

Las figuras 49 a 51 muestran la ampliación de los espectros NOESY en las regiones donde se ubican las señales del sistema tricíclico en los compuestos I, II y VI

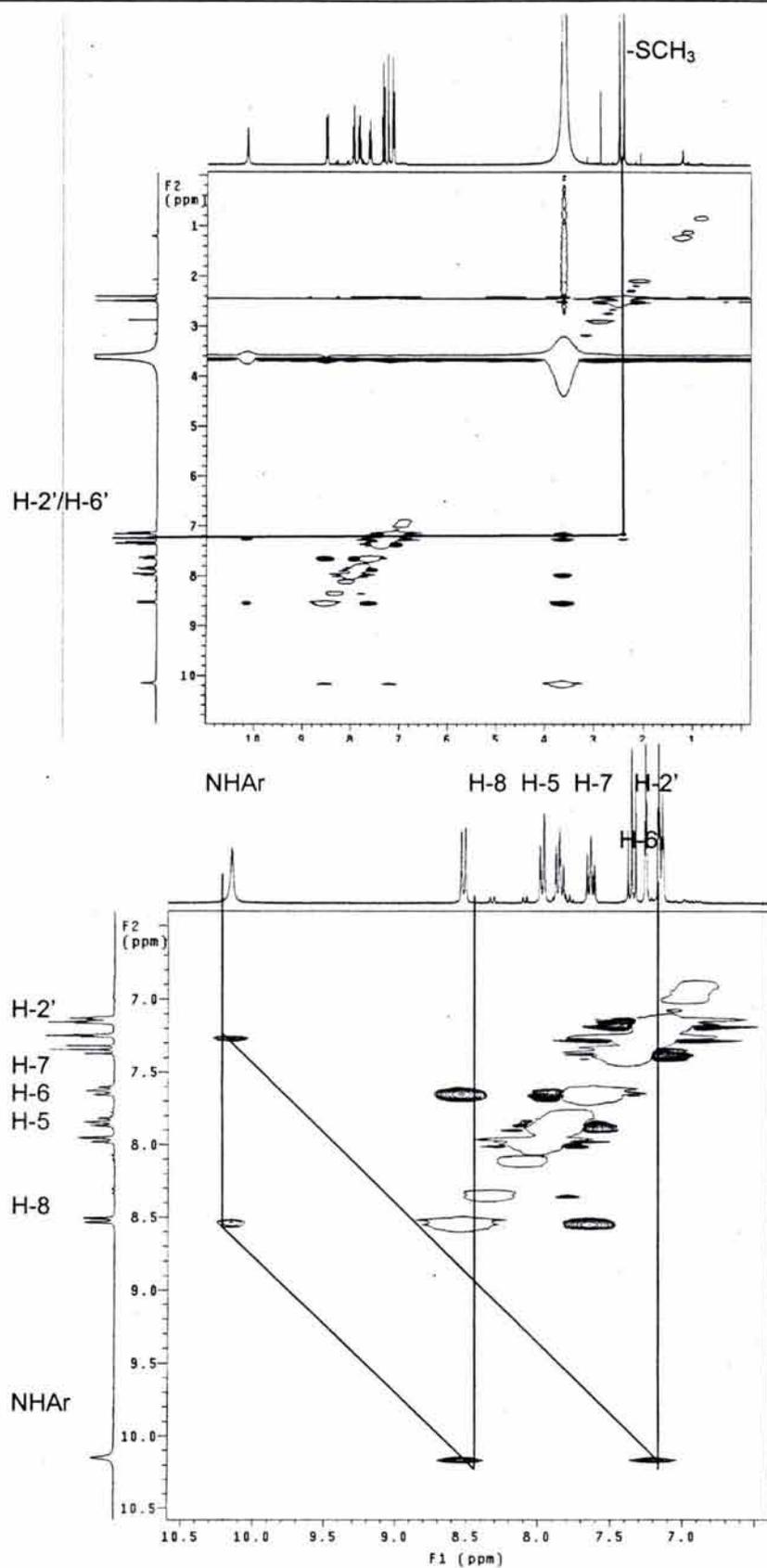


Figura 49. Ampliación del espectro NOESY en la región donde se localizan las señales del sistema tricíclico en el compuesto I

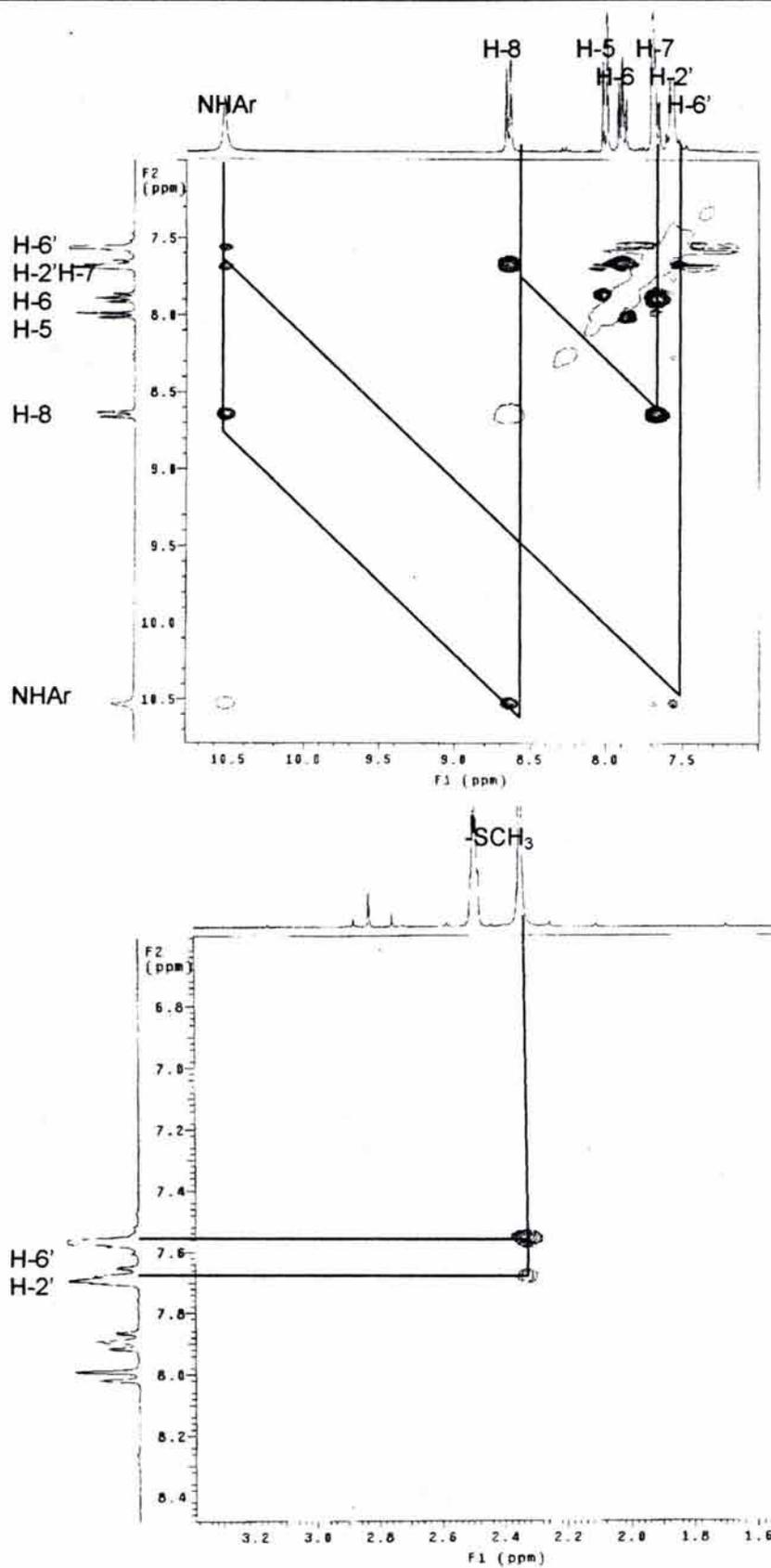


Figura 50. Ampliación del espectro NOESY en la región donde se localizan las señales del sistema tricíclico en el compuesto II

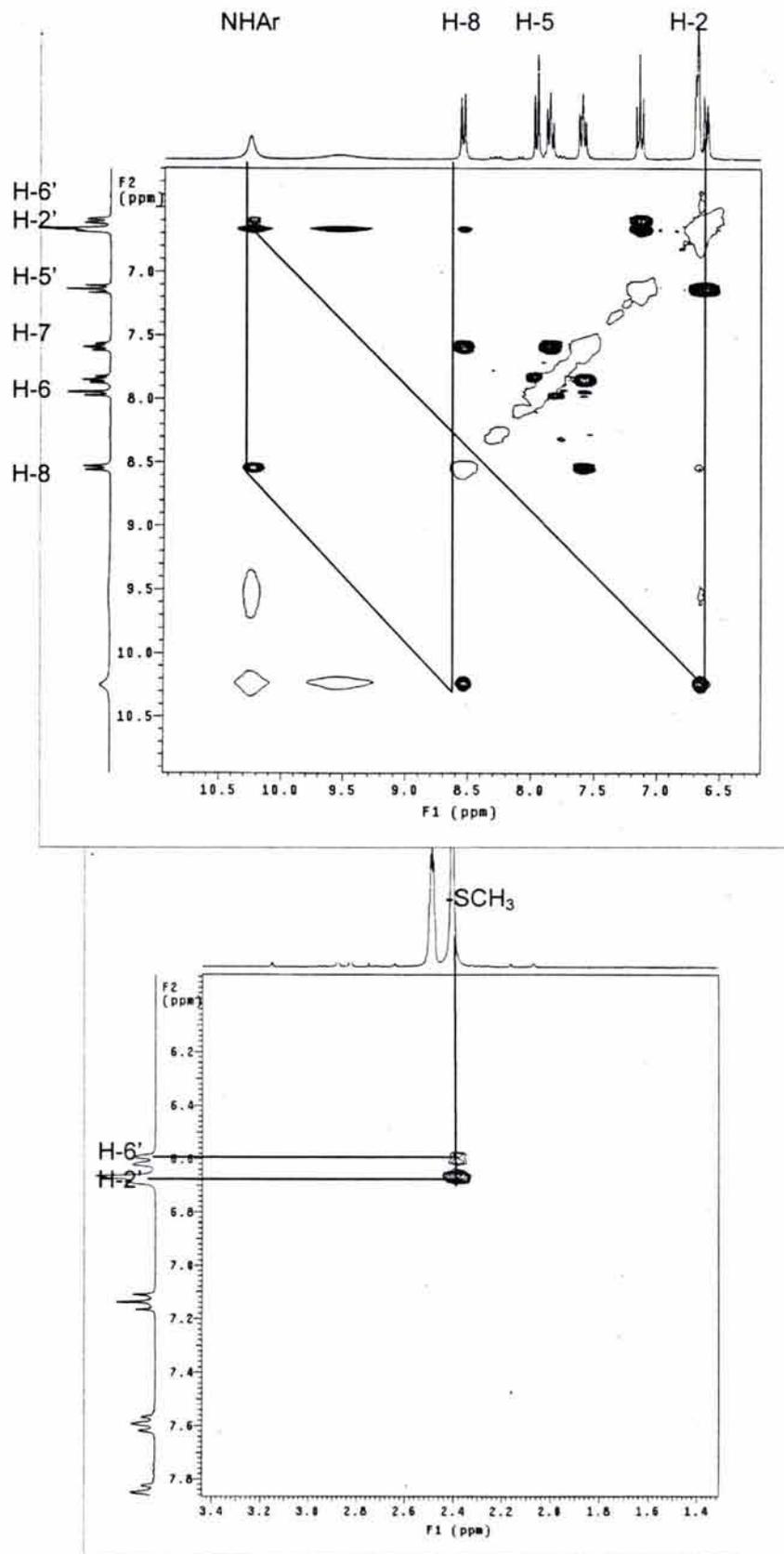


Figura 51. Ampliación del espectro NOESY en la región donde se localizan las señales del sistema tricíclico en el compuesto VI

Como se puede apreciar en las figuras 49 a 51, se observa una interacción entre H-8 y el protón del anillo de anilina en todos los compuestos. Esto permitió asignar de manera inequívoca las señales del sistema tricíclico.

Es importante señalar que se observa una interacción entre los protones H-2' y H-6' y los protones del grupo tiometilo. Esto sugiere que el anillo de anilina no guarda una relación completamente ortogonal con respecto al núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina, sino que se encuentra oblicuo, lo que explica la interacción de los protones H-2' y H-6' con el grupo tiometilo.

Por otra parte se observa una interacción del protón del grupo amino del anillo de anilina con el protón H-2' en los tres compuestos, sin embargo sólo en el compuesto II se observa una interacción con el protón H-6', mientras que en los compuestos I y VI no se observa o es muy débil. Esto sugiere que existe una rotación restringida del grupo anilino en el caso de los compuestos I y VI la cual puede ser originada por algún efecto de tipo estérico o electrónico y es posible que esto cause que en los compuestos I y VI exista una conformación preferencial, situación que no se da en el compuesto II. Las posibles conformaciones se muestran en la figura 52. La línea punteada indica la interacción en el espacio que puede ser observada en los espectros NOESY.

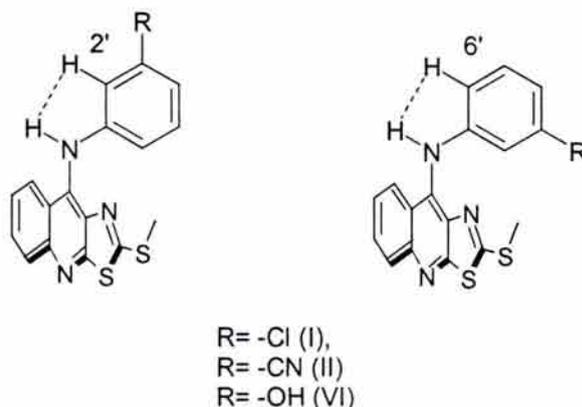
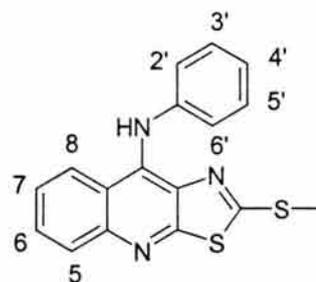


Figura 52. Posibles conformaciones que pueden presentarse.

La asignación de las señales para los compuestos XI y XII se realizó siguiendo el patrón sugerido en las asignaciones de las 9-anilino tiazolo[5,4-b]quinolinas, así como datos de la literatura. En el caso del compuesto XII cabe señalar que la ausencia de la señal del grupo tiometilo fue la primera evidencia que se tuvo de la formación de este compuesto y al observarse todas las señales correspondientes a la cadena de alquilamino, quedaba como duda en que posición se había unido al sistema tricíclico o si se mantenía la integridad del núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina. La información proporcionada por los espectros de RMN-¹³C a través del desplazamiento de las señales de los átomos de carbono y de EM al establecer el peso molecular y la presencia del átomo de cloro, permitió resolver esta cuestión como se verá más adelante.

La tabla 15 muestra las asignaciones de las señales para todos los compuestos sintetizados.

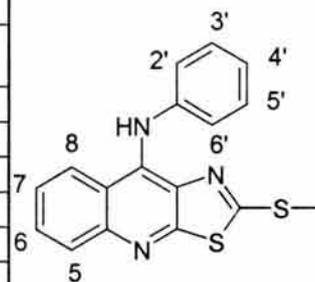
Tabla 15. Señales en RMN-¹H de los compuestos sintetizados (desplazamiento químico en ppm, entre paréntesis tipo de la señal y constantes de acoplamiento en Hertz)



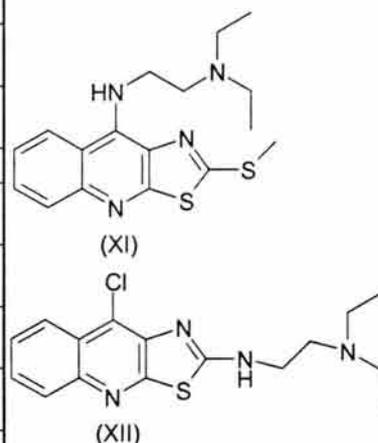
Compuesto				
	I	II	III	IV
	3'-Cl	3'-CN	3'-OMe	3'-CF ₃
SMe	2.42 (s)	2.30 (s)	2.38 (s)	2.33 (s)
H-5	7.94 (dd J= 8.4, 0.9)	8.00 (dd J= 8.7, 0.9)	7.97 (dd J= 8.7, 0.9)	8.00 (dd, J= 8.1, 0.9)
H-6	7.79 (ddd J= 8.1, 6.6, 1.2)	7.89 (ddd J= 8.4, 6.9, 1.2)	7.84 (dd, J= 8.7, 6.6, 0.9)	7.87 (ddd, J= 8.1, 6.9, 0.9)
H-7	7.58 (ddd J= 8.4, 6.6, 1.2)	7.68 (ddd J= 8.4, 6.9, 1.2)	7.60 (ddd, J= 8.4, 6.6, 1.2)	7.65 (ddd, J= 8.4, 6.9, 0.9)
H-8	8.45 (d J= 8.4)	8.64 (d J= 8.4)	8.53 (d, J= 8.4)	8.61 (dd, J= 8.1, 0.9)
H-2'	7.18 (t J= 2.1)	7.68 (m)	6.74 (m)	7.55 (t, J= 2.1)
H-3'	-----	-----	-----	-----
H-4'	7.09 m	7.56 (m)	6.74 (m)	7.51 (dd, J= 8.4, 2.1)
H-5'	7.30 (t, J= 8.1)	7.56 (m)	7.25 (t, J= 8.7)	7.58 (t, J= 7.8)
H-6'	7.06 (m)	7.56 (m)	6.74 (m)	7.43 (d= 7.8)
NHAr	9.87 (sa)	10.5 (s)	10.2 (sa)	3.61 (sa)
Otras			OMe 3.71 ppm (s)	

	V	VI	VII	VIII
	3'-NO ₂	3'-OH	3'-NHMe	4'-Cl
SMe	2.36 (s)	2.38 (s)	2.52 (s)	2.32 (s)
H-5	7.97 (d, J= 8.1)	7.97 (dd J= 8.4, 1.2)	7.89 (dd, J= 8.4, 1.2)	7.94 (d, J= 8.4)
H-6	7.84 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2)	7.90 (ddd, J= 8.7, 6.9, 0.9)	7.70 (ddd, J= 8.1, 6.9, 1.2)	7.91 ("t", J= 7.6)
H-7	7.65 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2)	7.63 (ddd J= 8.4, 6.6, 1.2)	7.47 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2)	7.67 ("t" J= 7.6)
H-8	8.47 (d, J= 8.1)	8.59 (d J= 8.4)	8.28 (dd, J= 8.7, 0.9)	8.68 (d, J= 8.4)
H-2'	7.96 (t, J= 2.1)	6.71 (da J= 1.2)	6.37 (m)	7.31 (d, J= 8.4)
H-3'	-----	-----	-----	7.43 (d, J= 8.8)
H-4'	7.88 (ddd, J= 8.1, 2.1, 2.1)	6.67 (ddd J= 8.1, 1.5)	6.32 (d J= 8.4)	-----
H-5'	7.58 (t, J= 8.1)	7.17 (t, J= 8.1)	7.02 (t, J= 8.4)	7.43 (d, J= 8.8)
H-6'	7.53 (ddd, J= 8.1, 2.1, 2.1)	6.72 m	6.37 (m)	7.31 (d, J= 8.4)
NHAr	10.23 (sa)	10.5 (sa)	9.22 (s)	10.66 (sa)
Otras		OH 9.59 ppm (s)	CH ₃ 2.62 ppm (s) NHMe 3.39 ppm (sa)	

	IX	X	XIII
	4'-OMe	4'-CN	3'-(CO)EDA
SMe	2.28 (s)	2.44 (s)	2.68 (s)
H-5	7.95 (d, J= 8.4)	8.01 (d, J= 8.4)	7.81 (dd J=8.4, 0.9)
H-6	7.90 (t, J= 8.0)	7.84 (t, J= 7.2)	7.62 (ddd J= 8.7, 6.6, 1.2)
H-7	7.64 (t, J= 8.0)	7.64 (t, J= 7.2)	7.29 (ddd J= 8.7, 6.9, 1.2)
H-8	8.66 (d, J= 8.4)	8.50 (d, J= 8.4)	7.99 (dd J= 8.4, 0.9)
H-2'	7.28 (d, J= 8.4)	7.21 (d, J= 8.4)	7.707 (t J= 1.8)
H-3'	6.98 (d, J= 8.4)	7.70 (d, J= 8.8)	-----
H-4'	-----	-----	7.64 (dd J= 7.2, 1.8)
H-5'	6.98 (d, J= 8.4)	7.70 (d, J= 8.8)	7.313 (t J= 7.8)
H-6'	7.28 (d, J= 8.4)	7.21 (d, J= 8.4)	7.07 (dd J=7.8, 2.1)
NHAr	10.68 (sa)	10.40 (sa)	5.20 (sa)
Otras	OMe 3.77 ppm (s)		CONH 8.068 ppm ("t") NHCH ₂ 3.69 ppm, ("q" J=5.7, 5.1) CH ₂ N 2.970 ppm (t, J= 5.1) NCH ₂ 2.88 ppm (q, J=7.2) CH ₃ 1.21 ppm (t, J=7.2)



	XI	XII
SMe	2.77 (s)	-----
H-5	7.73 (dd, J= 8.4, 1.2)	8.00 (dd J=8.1, 1.5)
H-6	7.61 (ddd J=8.4, 6.9, 1.2)	7.63 (ddd J=8.1, 6.9, 1.8)
H-7	7.41 (ddd J=8.4, 6.9, 1.2)	7.58 (ddd J=7.8, 6.6, 1.5)
H-8	8.26 (dd J= 8.4, 0.9)	8.25 (dd J= 8.1, 1.2)
Otras	NH 7.51 ppm (t, J=6.3)	NH 6.78 ppm (sa)
	NHCH ₂ 4.52 ppm (dt, J=7.2)	NHCH ₂ 3.58 ppm (ta)
	CH ₂ N 2.52 ppm (t=7.2)	CH ₂ N 2.78 ppm (t, J=6.0)
	NCH ₂ 2.50 ppm (q=7.2)	NCH ₂ 2.61 ppm (q, J=7.2)
	CH ₃ 0.92 ppm (t, J=7.2)	CH ₃ 1.07 ppm (t, J=7.2)



Todos los espectros se realizaron en DMSO-d₆, excepto IV que se realizó en DMSO-acetona y XI, XII y XIII en CDCl₃

En el caso de las 9-anilinothiazolo[5,4-b]quinolinas puede observarse que la señal del grupo tiometilo se encuentra desplazada a campo más bajo en los compuestos I (3'-Cl, 2.42 ppm), VII (3'-NHMe, 2.52 ppm) y XIII (3'-(CO)EDA, 2.68 ppm) en comparación con el resto de los compuestos

3'-sustituidos, en los cuales esta señal se encuentra alrededor de 2.35 ppm. Reportes previos^(47, 48) también mencionan que en otros compuestos sustituidos con un grupo amino en la posición 3', la señal del grupo tiometilo también se encuentra alrededor de 2.60 ppm. Una posible explicación a este hecho es que el grupo tiometilo puede caer dentro de la zona de desprotección generada por el anillo aromático en el caso de los compuestos I y VII y del grupo carbonilo en el caso del compuesto XIII.

La asignación de las señales de RMN-¹³C se realizó en base a datos encontrados en la literatura. En estos reportes la asignación de los carbonos protonados se hizo a través de espectros HETCOR^(46,47) y de los carbonos cuaternarios se hizo siguiendo los siguientes criterios:⁽⁴⁶⁾

- Los carbonos más desprotegidos son los carbonos C-2 y C-9 y sus señales son las que se encontrarán a campo más bajo.
- El desplazamiento químico del C-2 debe variar en los compuestos donde C-2 esté unido a un átomo de azufre respecto a los compuestos donde está unido a un átomo de nitrógeno
- El C-3a debe estar más desprotegido que el C-9a debido a que el primero está unido a dos heteroátomos, mientras que el segundo lo está a solo un heteroátomo. Más aún, el cálculo de las cargas electrostáticas mostró que la densidad de carga es mayor en el C-9a, por lo tanto éste debe estar a campo más alto que C-3a.

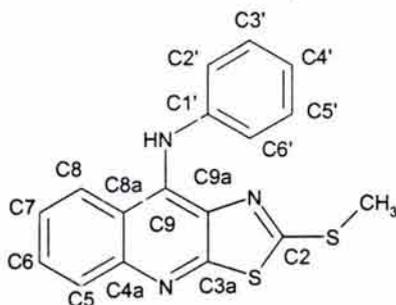
A fin de establecer un patrón que permitiera la asignación de las señales en los demás compuestos, se realizaron espectros HETCOR (para la asignación de los carbonos protonados) del compuesto I

Tabla 16.
Resultados de los experimentos HETCOR del compuesto I

Señal	HETCOR
14.5	SMe
119	
119.9	H-2'
121.1	H-4'
122.3	H-6'
123.9	H-8
124.8	H-7
125.9	H-5
129.5	H-5'
130.2	H-6
131.7	
132.4	
138.4	
143.5	
144	
159.5	
162.9	

Estos datos permiten dar la asignación que se muestra en la tabla 17. Se muestra una comparación con un compuesto similar cuyas señales en RMN-¹³C ya están asignadas⁽⁴⁷⁾ y puede observarse similitud.

Tabla 17.
Asignación de las señales en RMN-¹³C para el compuesto I



No. C	(48)	
No. C	Desplazamiento químico en ppm	
C-2	162	162.9
C-3a	138.6	138.4
C-4a	142.3	143.5
C-5	127.1	125.9
C-6	129.6	130.2
C-7	124.3	124.8
C-8	124	123.9
C-8a	119	119
C-9	160.9	159.5
C-9a	131.4	131.7
C-1'	145.3	144
C-2'	121.8	119.9
C-3'	128.2	132.4
C-4'	122.7	121.1
C-5'	128.2	129.5
C-6'	121.8	122.3
-SCH ₃	14.5	14.5

En base a estos datos se hicieron las asignaciones del resto de los compuestos y éstas se muestran en la tabla 18.

Tabla 18. Señales en RMN-¹³C de los compuestos sintetizados
(desplazamiento químico en ppm)

No. C	I	II	III	IV	V	VI
SMe	14.5	14.6	14.5	14.3	14.6	14.8
C-2	162.9	163.8	162.5	163.2	163.8	161.6
C-3a	138.4	138.6	137.5	140.7	143	141.3
C-4a	143.5	142.7	144.0	141.0	143.2	142.0
C-5	125.9	125.4	128.1	129.2	127.6	123.1
C-6	130.2	130.6	129.1	131.4	130.7	131.4
C-7	124.8	125.1	124.1	125.3	125.3	124.9
C-8	123.9	124.0	123.9	124.5	124.1	124.5
C-8a	119	119.0	119.6	118.5	119.1	117.6
C-9	159.5	159.0	161.6	142.2	158.8	157.5
C-9a	131.7	131.7	132.1	131.5	131.9	130.9
C-1'	144	143.4	146.4	141.7	147.7	150.1
C-2'	119.9	124.7	106.5	119.4	115.5	111.9
C-3'	132.4	110.9	159.3	129.4 Q, J _(C-F) = 31.8	138.5	156.4
C-4'	121.1	126.2	107.6	120.1	117.1	114.6
C-5'	129.5	129.4	128.8	126.7	129.2	128.9
C-6'	122.3	126.3	113.2	123.6	115.5	110.8
Otros		CN, 118.8	OMe, 54.9	CF ₃ 124.3 Q, J _(C-F) = 270.8		

No. C	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
SMe	14.6	14.6	15.3	14.8	15.4	----	15.2
C-2	162.1	162	161.3	165	162.8	166	167.2
C-3a	143.3	134.9	133.7	137.6	140.8	142.8	137
C-4a	146	142.5	139.7	143.5	146.5	144.8	143.3
C-5	127.5	126.1	127.8	130.7	128.1	127.7	124.5
C-6	129.4	132.1	133.1	132	129.2	128.1	129.1
C-7	124.2	125.4	125.9	125.5	124.4	126.4	124.1
C-8	124	124.5	125.1	124.4	122.3	123.7	128.8
C-8a	119.2	122	117.1	120	117.2	125.4	118.9
C-9	161	155.4	158.3	159	160.9	158.7	166.4
C-9a	132	130.6	130.2	133.5	146.5	125.4	134.8
C-1'	149	139.6	145	146.7	----	----	147.2
C-2'	106	117.4	121.8	120.3	----	----	119.4
C-3'	138.6	128.1	114.4	132.4	----	----	135
C-4'	110.6	129.1	155	103	----	----	121.5
C-5'	128.7	128.1	114.4	132.4	----	----	129
C-6'	107.6	117.4	121.8	120.3	----	----	123
Otros	NHCH ₃ , 30.4		OCH ₃ , 56.1	CN, 119.6	NHCH ₂ , 41.2	NHCH ₂ , 41.3	C=O, 161.1
					CH ₂ N, 55.0	CH ₂ N, 51.1	-CH ₂ N, 52.3
					NCH ₂ , 49.3	NCH ₂ , 46.8	-NCH ₂ , 47.7
					CH ₃ , 9.24	CH ₃ , 10.7	-NHCH ₂ , 36.2
							-CH ₃ 10.0

Todos los espectros se realizaron en DMSO- d_6 , excepto IV que se realizó en DMSO-acetona y XI, XII y XIII en $CDCl_3$

El espectro de RMN- ^{13}C del compuesto XII permitió establecer que el sistema tricíclico se mantuvo durante la síntesis del mismo, puesto todas las señales aparecieron en los desplazamiento químicos característicos, quedando sólo como duda si el átomo de cloro permanecía o no dentro de la estructura de este compuesto, esto fue aclarado por el espectro de espectrometría de masas.

En los derivados de 9-anilino-2-metiltiozolo[5,4-b]quinolina se observan dos patrones de fragmentación importantes, ambos en el anillo de tiazol. En el caso de los derivados sustituidos en la posición 3' se observan picos de m/z correspondientes a $M^+ - 15$ y $M^+ - 33$, siendo ésta última pérdida más predominante que la primera. Esto ya había sido descrito con anterioridad.⁽⁴⁶⁾ En el caso de los compuestos sustituidos en la posición 4' se observa más la pérdida $M^+ - 15$. Prácticamente no se observan fragmentaciones en el anillo de anilina o tienen poca abundancia relativa. El posible patrón de fragmentación se describe en la figura 53.

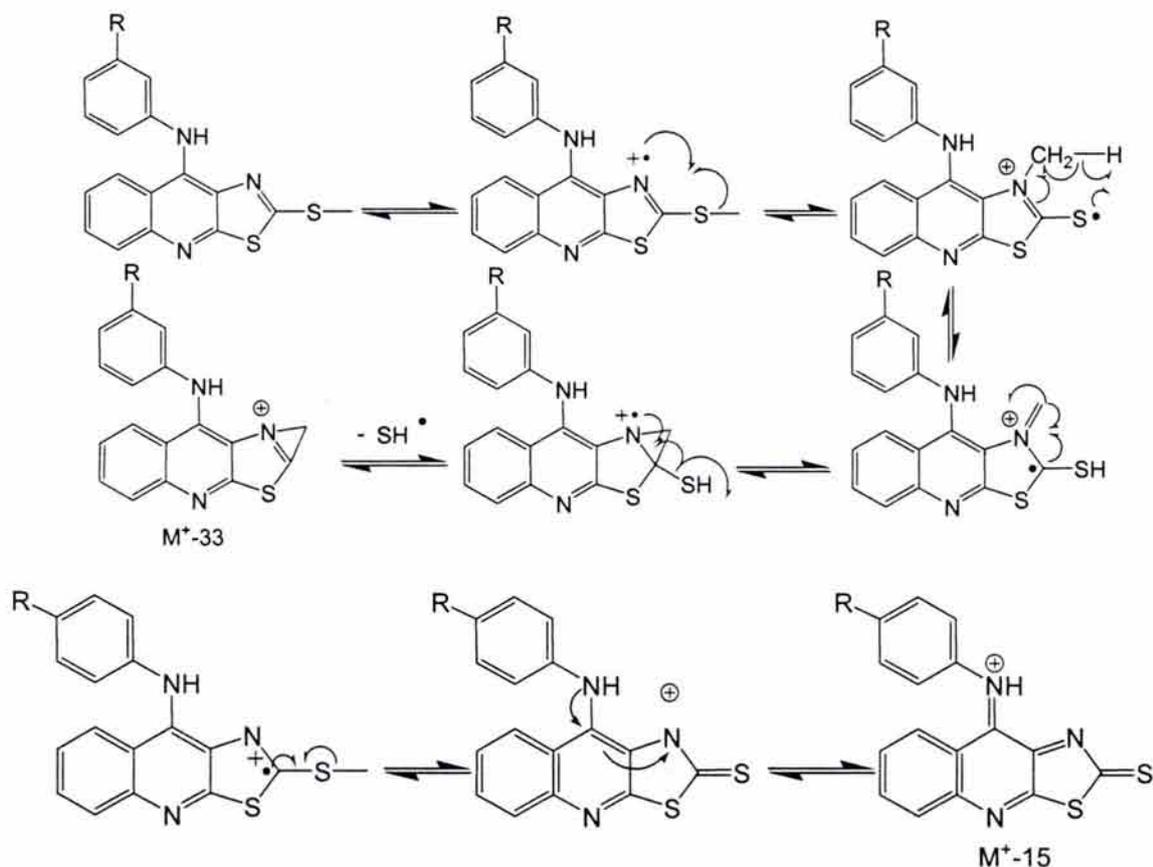


Figura 53. Posible patrón de fragmentación de las 9-anilino-2-metiltiozolo[5,4-b]quinolinas

En el caso de los compuestos que contienen las cadena de alquilamino se observó que la pérdida más importante fueron $M^+ - 72$ y el pico base se encontró en m/z 86, éstos pueden explicarse de la siguiente forma:

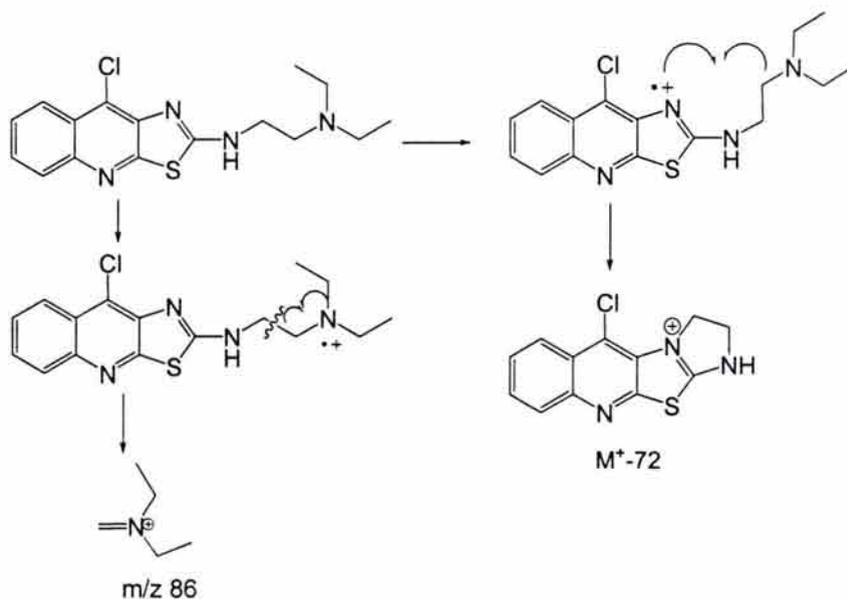


Figura 54. Posible patrón de fragmentación de la cadena alquilamínica

La tabla 19 muestra los picos principales observados en EM. En todos los casos el ion molecular coincidió con el peso molecular de la estructura propuesta.

Tabla 19.
Espectrometría de masas de los compuestos sintetizados
 (se indica m/z y entre paréntesis su respectiva abundancia relativa al pico base)

Compuesto	I	II	III	IV	V
Método de ionización	FAB	FAB	IE	FAB	IE
M+1	358 (100%)	349 (100%)	354 (23%)	392 (100%)	369 (23%)
M ⁺ (Ion molecular)	357 (25%)	348 (55%)	353 (100%)	391 (15%)	368 (100%)
Pérdidas importantes	M-33 324 (2%)	M-33 315 (6%)	M-1 352 (11%) M-15 338 (6%) M-33 320 (21%) M-91 262 (6%)	M-15 376 (2%) M-33 358 (3%) M-45 346 (3%)	M-15 353 (3%) M-30 338 (9%) M-33 335 (8%) M-62 306 (13%)

Compuesto	VI	VII	VIII	IX	X
Método de ionización	IE	FAB	FAB	FAB	FAB
M+1	340 (23%)	353 (100%)	358 (100%)	355 (100%)	349 (100%)
M ⁺ (Ion molecular)	339 (100%)	352 (61%)	357 (16%)	354 (64%)	348 (72%)
Pérdidas importantes	M-1 338 (11%) M-15 324 (5%) M-33 306 (32%)	M-1 351 (13%)	M-15 343 (8%)	M-15 338 (12%)	M-15 315 (4%)

Compuesto	XI	XII	XIII
Método de ionización	IQ	FAB	IE
M+1	347 M+1 (39%)	335 M+1 (100%)	466 M+1 (3%)
M ⁺ (Ion molecular)	346 M+ (24.5%)	334 M+ (60%)	465 M+ (8%)
Pérdidas importantes	274 M-72 (5%) 100 M-247 (10%) 86 M-261 (100%)	333 M-1 (23%) 264 M-72+2 (17%) 262 M-72 (44%) 100 M-234 (34%) 86 M-248 (67%)	450 M-15 (4%) 393 M-72 (9%) 366 M-99 (23%) 350 M-115 (10%) 100 M-365 (10%) 86 M-379 (100%)

Finalmente la EM del compuesto XII permitió confirmar la presencia del átomo de cloro, al observarse la contribución isotópica en M⁺+2. De esta manera se concluyó que la cadena de alquilamino se incorporó en la posición 2 y no en la posición 9, lo que derivó en un nuevo método para la obtención de derivados de 2-alquilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas. La tabla 20 muestra una comparación de esta técnica contra otras previamente reportadas. El modo de obtención de los derivados 2-alquildiamínicos de las tiazolo[5,4-b]quinolinas propuesto en este trabajo permite disminuir el número de pasos, otras rutas previamente reportadas involucran la oxidación del tioéter con KMnO₄/AcOH⁽⁴⁶⁾ o H₂O₂/AcOH⁽⁴⁷⁾ a la correspondiente sulfona y la posterior incorporación de la 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina. Si bien ambos métodos dan buenos rendimientos, las condiciones de oxidación impiden que haya otros grupos funcionales o bien que éstos se encuentren protegidos y consecuentemente se incrementen la manipulación y los pasos de la síntesis.

Tabla 20. Comparación de otras técnicas para la obtención de 2-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]tiazolo[5,4-b]quinolinas

	Condiciones de reacción	Rendimiento
	1) KMnO ₄ /AcOH 2) 2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etilamina / 140°C	1) 90% 2) 85% Global 76.5% ⁽⁴⁷⁾
	1) H ₂ O ₂ /AcOH, 12 hrs 2) 2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etilamina / 140°C	1) 82.2% 2) 51.1% Global 42.0% ⁽⁴⁹⁾
	1) 2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etilamina / Temperatura ambiente / 48 hrs	75.4%

5.2. Parte de modelado molecular

En los estudios de QSAR, para obtener una correlación significativa es crucial la elección de descriptores adecuados. Gracias a los avances en química computacional, se pueden calcular propiedades cuánticas en un tiempo computacional relativamente corto, proporcionando nuevos descriptores moleculares que, en principio, expresan propiedades electrónicas y geométricas de la molécula y sus interacciones. Dentro de los descriptores de este tipo usados en QSAR se encuentran las cargas atómicas, las energías del HOMO y el LUMO, el momento dipolar, la polarizabilidad, etc, existiendo varios ejemplos al respecto.⁽⁵²⁾

De ahí que se haya decidido realizar estudios de modelado molecular de los derivados sintetizados a fin de contar con un mayor número de descriptores disponibles. A fin de contar con un mayor número de datos, se incluyeron en este estudio derivados de 9-anilino-tiazolo[5,4-b]quinolinas cuya actividad citotóxica estuviera reportada.⁽⁴⁸⁾

Para la construcción de las moléculas se tenía incertidumbre en la elección de la geometría del átomo de nitrógeno que une al anillo de anilina con el sistema tricíclico. Existen reportes cristalográficos sobre la amsacrina^(57,58) en donde se indica que la geometría de este átomo es más cercana a la trigonal, por ello se eligió la geometría trigonal para la construcción de los esqueletos de los compuestos.

A continuación se realizó el análisis conformacional de todos los derivados por el protocolo de búsqueda sistemática y usando el campo de fuerza de Tripos. Inicialmente se encontró que el grupo tiometilo se mantenía paralelo al anillo de tiazol en las conformaciones de menor energía, por lo que se decidió mantenerlo fijo en esta posición y rotar los enlaces que se indican en la figura 55. El ángulo τ_1 describe el ángulo dihedro C8a-C9-N-C1', mientras que el τ_2 describe al dihedro C9-N-C1'-C2'. Cada uno de éstos se rotó 30° , por lo que la búsqueda siempre incluyó un mínimo de 144 conforméromos. La geometría inicial se obtuvo por minimización de la estructura después de su construcción.

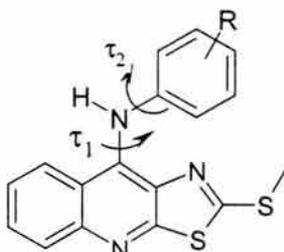


Figura 55. Ángulos de torsión elegidos para el análisis conformacional

En el caso de que los sustituyentes pudieran contribuir a la presencia de diferentes conforméromos también se tomó esto en consideración y se incluyeron dentro del análisis conformacional. En el caso de las cadenas de alquilamino cada uno de los enlaces se rotó 60° .

La tabla 21 muestra los ángulos dihedros τ_1 y τ_2 de los conforméromos más abundantes para cada uno de los compuestos. Cabe aclarar que a diferencia de los derivados de acridina, los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina presentan caras heterotópicas, por lo cual era importante observar si el anillo de anilino se encontraba orientado de manera preferencial hacia alguna de las caras denominadas Re y Si⁽⁵⁸⁾ como se ilustra en la figura 56. Se observó que se obtenía el conforméromo de menor energía con el anillo de anilino orientado hacia la cara donde estaba en la geometría inicial, esto es, si la geometría inicial el anillo de anilino estaba orientado hacia la cara Re, el conforméromo de menor energía se orientaría también hacia la cara Re. Por tanto se realizaron análisis conformacionales con el anillo de anilino orientado inicialmente hacia la cara Re y hacia la cara Si, obteniéndose siempre el mismo ángulo dihedro con la misma distribución de Boltzmann (abundancia relativa de los conforméromos)

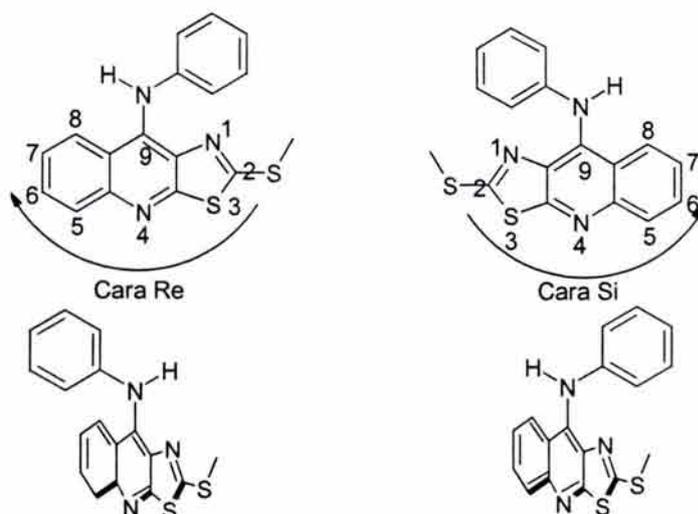
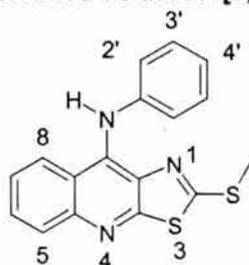


Figura 56. Caras heterotópicas en el sistema de tiazolo[5,4-b]quinolina. Las flechas indican el sentido de la numeración.

Tabla 21. Ángulos dihedros obtenidos en el análisis conformacional de varios derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina



Compuesto	2	9	3'	4'	5'	τ_1 (°)	τ_2 (°)
I	-SMe	-NHAr	-Cl	-H	-H	-156	40
II	-SMe	-NHAr	-CN	-H	-H	-156	40
III	-SMe	-NHAr	-OMe	-H	-H	-155	38
IV	-SMe	-NHAr	-CF ₃	-H	-H	-136	-11
V	-SMe	-NHAr	-NO ₂	-H	-H	-154	39
VI	-SMe	-NHAr	-OH	-H	-H	-153	35
VII	-SMe	-NHAr	-NHMe	-H	-H	-118	40
VIII	-SMe	-NHAr	-H	-Cl	-H	-141	33
IX	-SMe	-NHAr	-H	-OMe	-H	-123	15
X	-SMe	-NHAr	-H	-CN	-H	-149	32
XI	-SMe	-EDA	-----	-----	-----	N/A	N/A
XII	-EDA	-Cl	-----	-----	-----	N/A	N/A
XIII	-SMe	-NHAr	-(CO)EDA	-H	-H	-126	-164
XXXI	-SMe	-NHAr	-H	-H	-H	-145	40
XXXII	-EDA	-NHAr	-H	-H	-H	-155	40
XXXIII	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	-H	-156	39
XXXIV	-SMe	-NHAr	-NHAc	-H	-H	-159	38
XXXV	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	-CH ₂ OH	-167	51
XXXVI	-SMe	-NHPy	-N	-H	-H	-123	-173

EDA= -NH(CH₂)₂N(Et)₂ NHAr= Anilino sustituido NHPy=3-aminopiridina N/A: No aplica

Las figura 57 y 58 muestran al compuesto I y al compuesto VIII describiendo estos ángulos, cabe señalar que los ángulos se muestran cuando el anillo de anilino está orientado hacia la cara Si, pero también puede estar orientado hacia la cara Re.

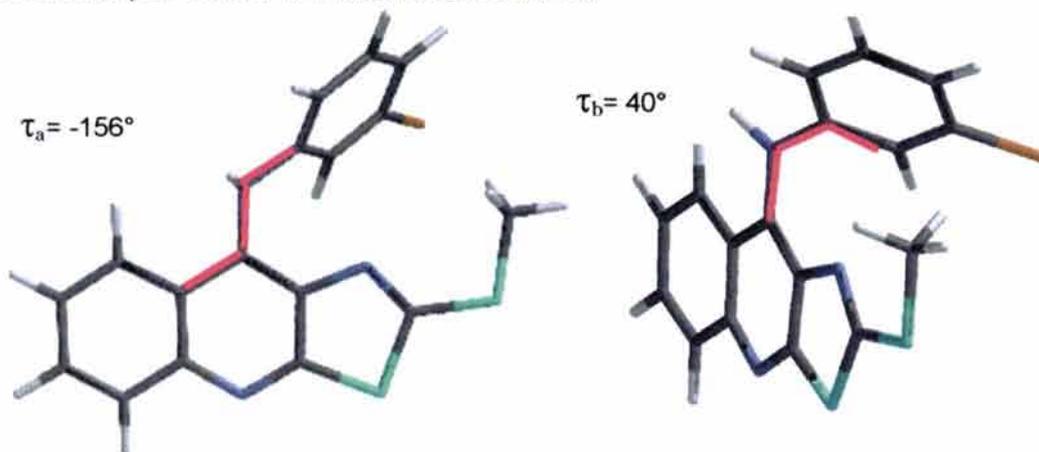


Figura 57. Confórmero de menor energía del compuesto I

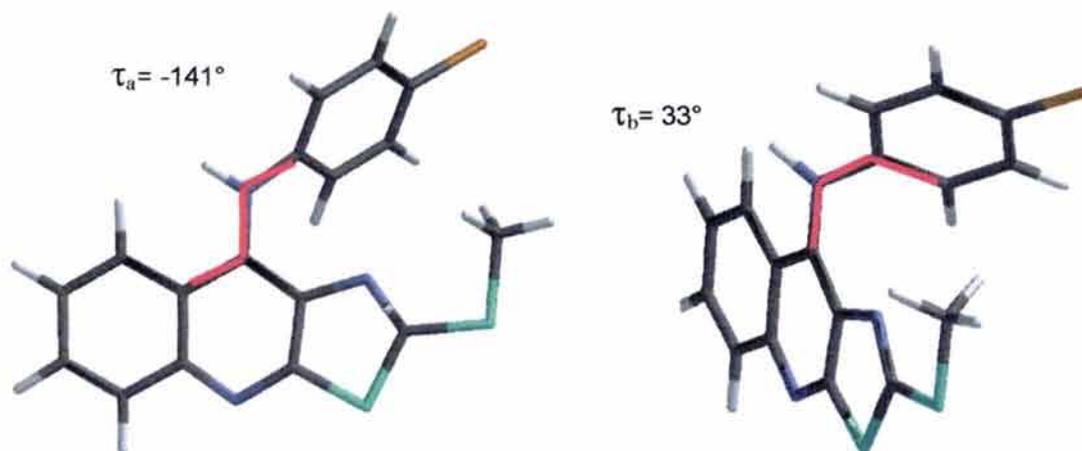


Figura 58. Confórmeros de menor energía del compuesto VIII

En el caso de los derivados 3'-anilinosustituídos el ángulo dihedro τ_1 se ubica alrededor de los -155° . Esto concuerda con lo observado en los experimentos NOESY de los compuestos I y II donde se podía observar que el anillo de anilina no se encuentra ortogonal al sistema tricíclico. En el caso de los derivados 4'-sustituídos la desviación es menor, ubicándose el ángulo dihedro τ_1 entre -123 y -149° , esto sugiere que hay cierta repulsión ya sea de tipo electrónico o estérico entre el sustituyente en la posición 3' con el anillo de tiazol, situación que no ocurre cuando el sustituyente se encuentra en la posición 4'.

En el caso del ángulo τ_2 se debe mencionar que no se encuentra ortogonal al sistema tricíclico sino que se encuentra también desviado, alrededor de 35° . Otro punto importante es que en el caso de los derivados 3'-anilinosustituídos, el confórmero de menor energía es aquel en el que el sustituyente en 3' se orienta hacia el sistema tricíclico, como se observa en la figura 57. En todos los análisis conformacionales efectuados, el siguiente confórmero en abundancia relativa, es aquel con el mismo valor para el ángulo τ_1 pero con el sustituyente apuntando en dirección opuesta al sistema tricíclico, excepto en el compuesto XIII donde en el confórmero de menor energía donde ocurre a la inversa, esto probablemente debido a razones de impedimento electrónico y estérico del sustituyente voluminoso con el sistema tricíclico. Esto contrasta con lo observado en los espectros NOESY (figuras 49 a 51), donde el sustituyente se orienta alejado del

sistema tricíclico en los compuestos I y VI, aunque en el compuesto II si se observan ambos conforméromos. Cabe aclarar que las condiciones en las cuales se hacen los estudios de modelado molecular, no son iguales a las condiciones donde se realizaron los espectros NOESY, lo cual puede justificar esta diferencia.

Para la optimización de la geometría y cálculo de las propiedades electrónicas se empleó el método semiempírico PM3. Los datos sobre los ángulos dihedros se muestran en la tabla 22.

Tabla 22. Ángulos dihedros obtenidos después de la optimización de la geometría por PM3 de derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina

Compuesto	2	9	3'	4'	5'	τ_a (°)	τ_b (°)
I	-SMe	-NHAr	-Cl	-H	-H	-73.80	9.40
II	-SMe	-NHAr	-CN	-H	-H	-77.03	11.08
III	-SMe	-NHAr	-OMe	-H	-H	-72.36	7.56
IV	-SMe	-NHAr	-CF ₃	-H	-H	-79.06	17.80
V	-SMe	-NHAr	-NO ₂	-H	-H	-83.07	24.81
VI	-SMe	-NHAr	-OH	-H	-H	-73.56	9.83
VII	-SMe	-NHAr	-NHMe	-H	-H	-67.90	-3.50
VIII	-SMe	-NHAr	-H	-Cl	-H	-72.50	6.30
IX	-SMe	-NHAr	-H	-OMe	-H	-61.02	-22.39
X	-SMe	-NHAr	-H	-CN	-H	-78.88	17.71
XI	-SMe	-EDA	----	----	----	N/A	N/A
XII	-EDA	-Cl	----	----	----	N/A	N/A
XIII	-SMe	-NHAr	-(CO)EDA	-H	-H	-70.95	2.00
XXXI	-SMe	-NHAr	-H	-H	-H	-68.83	-0.71
XXXII	-EDA	-NHAr	-H	-H	-H	-73.69	7.70
XXXIII	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	-H	-69.70	2.41
XXXIV	-SMe	-NHAr	-NHAc	-H	-H	-67.95	-3.09
XXXV	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	-CH ₂ OH	142.17	128.15
XXXVI	-SMe	-NHPy	-N	-H	-H	-76.82	11.91

EDA= -NH(CH₂)₂N(Et)₂ NHAr= Anilino sustituido NHPy=3-aminopiridina N/A: No aplica

En el caso de las cadenas de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina se observó que la amina secundaria permanece en el mismo plano del sistema tricíclico, mientras que el resto de la cadena guarda una relación ortogonal (tipo sobre) respecto al núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina, además la cadena presenta una conformación alternada. En la figura 59 se muestra el compuesto XII como ejemplo de lo anterior.



Figura 59. Confórmero de menor energía del compuesto XII

En el caso de las 9-anilino-2-metiltiozolo[5,4-b]quinolinas se trató de encontrar una explicación los distintos ángulos obtenidos, se compararon los ángulos dihedros contra los parámetros de Taft (Es), de Hammet (σ) y refractividad molecular (MR) y se encontró una buena correlación con el parámetro de Hammet como se observa en la tabla 23. Al hacer el análisis de regresión lineal sobre este parámetro se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\tau_1 = -16.3974 \sigma - 69.2492; r^2 = 0.8158$$

$$\tau_2 = 31.4898 \sigma - 0.7702; r^2 = 0.7220$$

Una posible explicación es que aquellos grupos con átomos muy electronegativos generan una zona de alta densidad de carga provocando una repulsión entre este sitio y la densidad electrónica del átomo de nitrógeno del anillo de tiazol, obligando al anillo de anilina a mantenerse distante de esta región

Considerando que también pudiera existir contribución del efecto estérico para explicar este fenómeno, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple, tomando como variables los parámetros de Hammet y el de refractividad molar (MR), las ecuaciones obtenidas fueron las siguientes:

$$\tau_1 = -16.2265 \sigma + 3.3605 MR - 71.5398; r^2 = 0.8532$$

$$\tau_2 = 31.0844 \sigma - 7.9727 MR + 4.6639; r^2 = 0.7725$$

Como se puede observar, aunque hay una mejora en el análisis de regresión, es claro que el parámetro que tiene mayor influencia es el parámetro electrónico.

Tabla 23. Correlación entre los ángulos dihedros y diversos parámetros

Sustituyente	τ_1 (°)	τ_2 (°)	π (Fujita)	σ (Hammet)	Es (Taft)	MR (refractividad molar)
-H	-68.83	-0.7065	0.00	0.00	0.00	0.10
3-CF ₃	-79.06	17.8	0.88	0.43	-2.40	0.50
3-Cl	-73.8	9.4	0.71	0.37	-0.97	0.60
3-CN	-77.03	11.08	-0.57	0.56	-0.51	0.63
3-NHAc	-67.95	-3.088	-0.97	0.21	-4.00	1.49
3-NH ₂	-69.7	2.411	-1.23	-0.16	-0.61	0.54
3-NHMe	-67.9	-3.497	-0.47	-0.21		1.03
3-NO ₂	-83.07	24.8109	-0.28	0.71	-2.52	0.74
3-OH	-73.558	9.8336	-0.67	0.12	-0.55	0.28
3-OMe	-72.36	7.5555	-0.02	0.12	-0.55	0.79
4-Cl	-72.498	6.2957	0.71	0.23	-0.97	0.60
4-CN	-78.884	17.7058	-0.57	0.66	-0.51	0.63
4-OMe	-61.0214	-22.3877	-0.02	-0.27	-0.55	0.79
	r con τ_1		-0.1661	-0.9032	0.1873	0.2371
	r con τ_2		0.1452	0.8497	-0.1684	-0.2658
	r ² con τ_1		0.0275	0.8158	0.0350	0.0562
	r ² con τ_2		0.0211	0.7220	0.0283	0.0706

Las figuras 60 y 61 muestran las geometrías optimizadas de los compuestos I y II, en este caso se observa que el anillo de anilina y el sistema tricíclico prácticamente se encuentran ortogonales aunque sigue existiendo una ligera desviación. En estas figuras se observa que un acoplamiento a larga distancia de los protones del anillo de anilina con los del grupo tiometilo sería

difícil, por lo que puede proponerse que el anillo de anilina tiene libertad de movimiento, aunque un tanto restringida por la repulsión que podría darse entre los sustituyentes y el átomo de nitrógeno de tiazol como se comentó anteriormente



Figura 60. Geometrías optimizadas del compuesto I

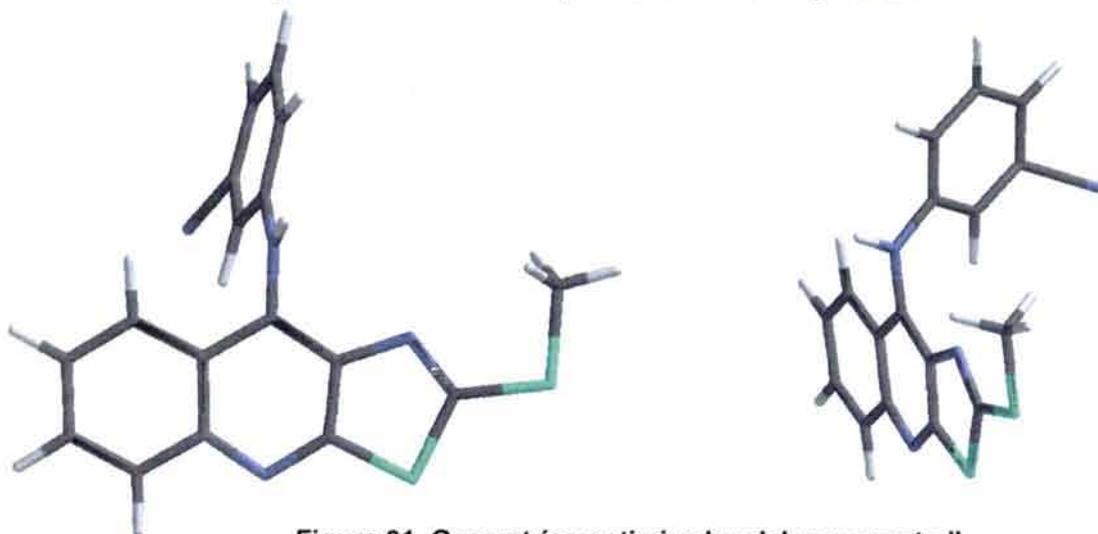


Figura 61. Geometrías optimizadas del compuesto II

En cuanto a las propiedades electrostáticas se calcularon los siguientes parámetros:

1. Energías del HOMO y LUMO
2. Dipolo
3. Área superficial y volumen
4. LogP (Villar, Ghose-Crippen, Dixon)
5. Electronegatividad
6. Dureza
7. Ovalidad
8. Cargas electrostáticas de cada átomo
9. Gráficos de isotencial del potencial molecular electrostático (PME)

En la tabla 24 se muestran los parámetros 1 a 7 para cada compuesto.

Tabla 24. Parámetros calculados para cada compuesto

Compuesto	2	9	3'	4'	5'	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Dipolo (Debye)	Dureza
I	-SMe	-NHAr	-Cl	-H	-H	-8.6269	-1.4634	3.2519	3.58
II	-SMe	-NHAr	-CN	-H	-H	-8.7943	-1.5784	4.7095	3.61
III	-SMe	-NHAr	-OMe	-H	-H	-8.5132	-1.3694	4.2717	3.57
IV	-SMe	-NHAr	-CF ₃	-H	-H	-8.8215	-1.5828	4.1788	3.62
V	-SMe	-NHAr	-NO ₂	-H	-H	-8.9391	-1.6447	5.8785	3.65
VI	-SMe	-NHAr	-OH	-H	-H	-8.5419	-1.3882	4.2182	3.58
VII	-SMe	-NHAr	-NHMe	-H	-H	-8.4467	-1.3666	3.9320	3.54
VIII	-SMe	-NHAr	-H	-Cl	-H	-8.5727	-1.4752	2.4673	3.55
IX	-SMe	-NHAr	-H	-OMe	-H	-8.4069	-1.2951	5.0025	3.56
X	-SMe	-NHAr	-H	-CN	-H	-8.8368	-1.6390	2.8083	3.60
XI	-SMe	-EDA	-----	-----	-----	-8.2831	-1.1168	5.5396	3.58
XII	EDA	-Cl	-----	-----	-----	-8.3410	-1.1327	2.5509	3.71
XIII	-SMe	-NHAr	(CO)EDA	-H	-H	-8.6759	-1.5141	1.9465	3.58
XXXI	-SMe	-NHAr	-H	-H	-H	-8.5153	-1.3774	3.4892	3.56
XXXII	EDA	-NHAr	-H	-H	-H	-8.4014	-1.1664	1.8883	3.62
XXXIII	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	-H	-8.4487	-1.3750	3.4153	3.54
XXXIV	-SMe	-NHAr	-NHAc	-H	-H	-8.5198	-1.4433	1.0450	3.54
XXXV	-SMe	-NHAr	-NH ₂	-H	CH ₂ OH	-8.4069	-1.1691	5.0351	3.54
XXXVI	-SMe	-NHPy	-H	-H	-H	-8.7318	-1.5466	1.3975	3.59

Compuesto	Área sup. (Å ²)	Volumen (Å ³)	Electroneg	Ovalidad	LogP (Ghose)	LogP (Dixon)	logP (Villar)
I	362.270	359.381	5.05	1.574	5.73	4.92	4.51
II	369.510	365.741	5.19	1.586	5.21	4.16	3.71
III	376.483	372.708	4.94	1.601	5.05	3.87	3.30
IV	386.064	381.776	5.20	1.617	6.10	5.11	4.56
V	376.119	372.092	5.29	1.600	5.21	4.74	4.10
VI	355.321	352.022	4.96	1.566	4.79	3.66	2.89
VII	379.743	376.493	4.91	1.603	4.67	3.81	3.33
VIII	362.348	359.388	5.02	1.574	5.73	4.94	4.64
IX	377.559	372.892	4.85	1.607	5.05	4.26	3.25
X	369.664	365.781	5.24	1.587	5.21	3.93	4.13
XI	398.614	389.976	4.70	1.658	4.40	3.75	2.37
XII	374.936	365.316	4.85	1.628	4.71	3.30	2.69
XIII	524.336	518.256	5.09	1.804	4.99	4.83	4.05
XXXI	322.670	283.140	4.95	1.547	5.18	4.31	3.70
XXXII	452.719	450.031	4.78	1.716	4.91	4.48	3.41
XXXIII	360.087	356.344	4.91	1.576	4.37	3.61	3.33
XXXIV	405.770	401.406	4.98	1.643	4.08	3.77	3.85
XXXV	395.835	387.902	4.76	1.644	3.80	3.41	2.77
XXXVI	340.312	337.497	5.14	1.541	3.84	3.30	3.03

EDA= -NH(CH₂)₂N(Et)₂ NHAr= Anilino sustituido NHPy=3-aminopiridina

Puede observarse que los valores del HOMO y el LUMO no muestran una gran desviación. Cuando se analizaron los gráficos del HOMO y el LUMO de estos compuestos, se observó que no había marcada diferencia en cuanto al sistema tricíclico, como ejemplo se muestran los gráficos del HOMO y el LUMO de los compuestos I, II, III y VII (figura 62). Esto resultaba importante de considerar porque podía ofrecer una relación entre este parámetro y la afinidad de los compuestos por el ADN. Sin embargo al no observarse diferencia significativa, se deben considerar otros factores para establecer una relación con la afinidad al ADN o la actividad citotóxica.

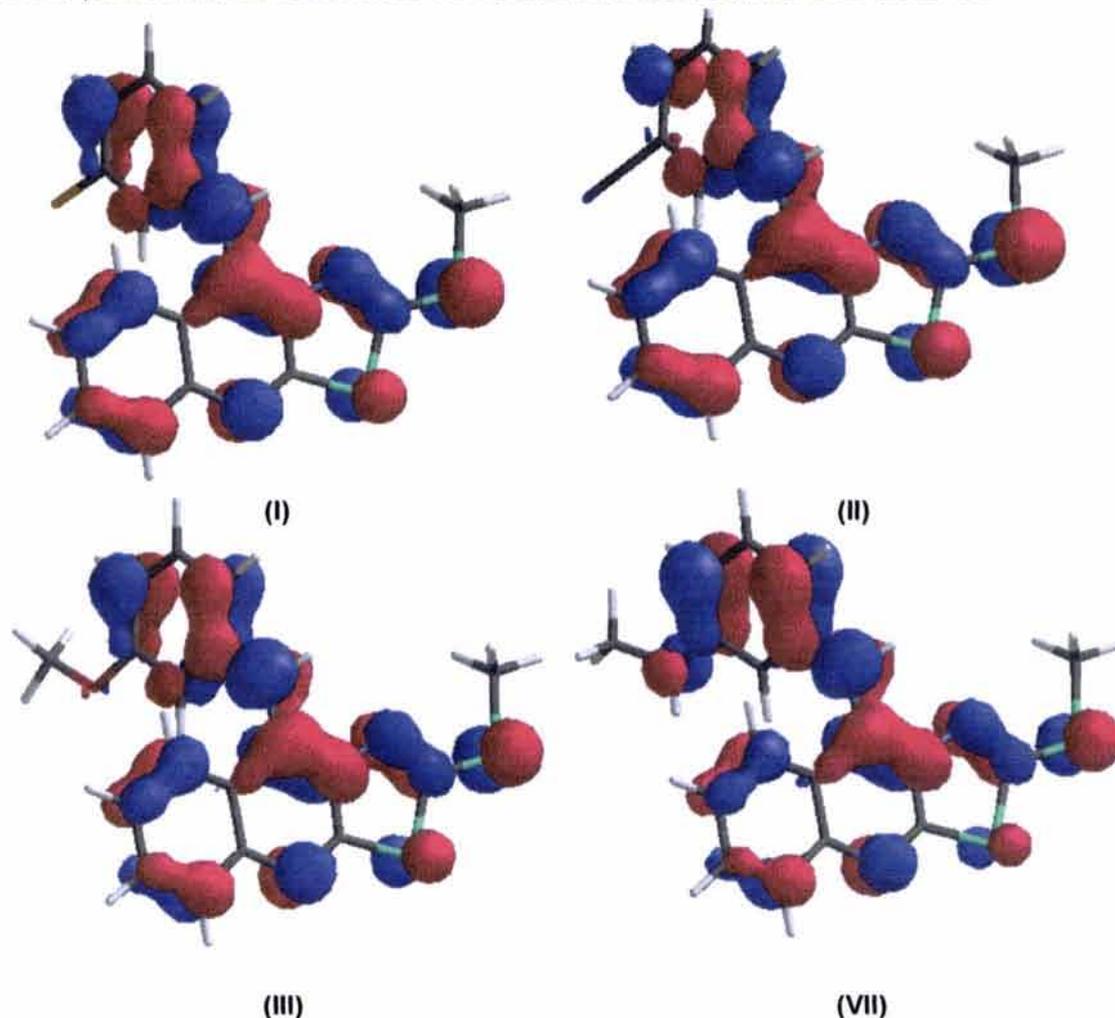


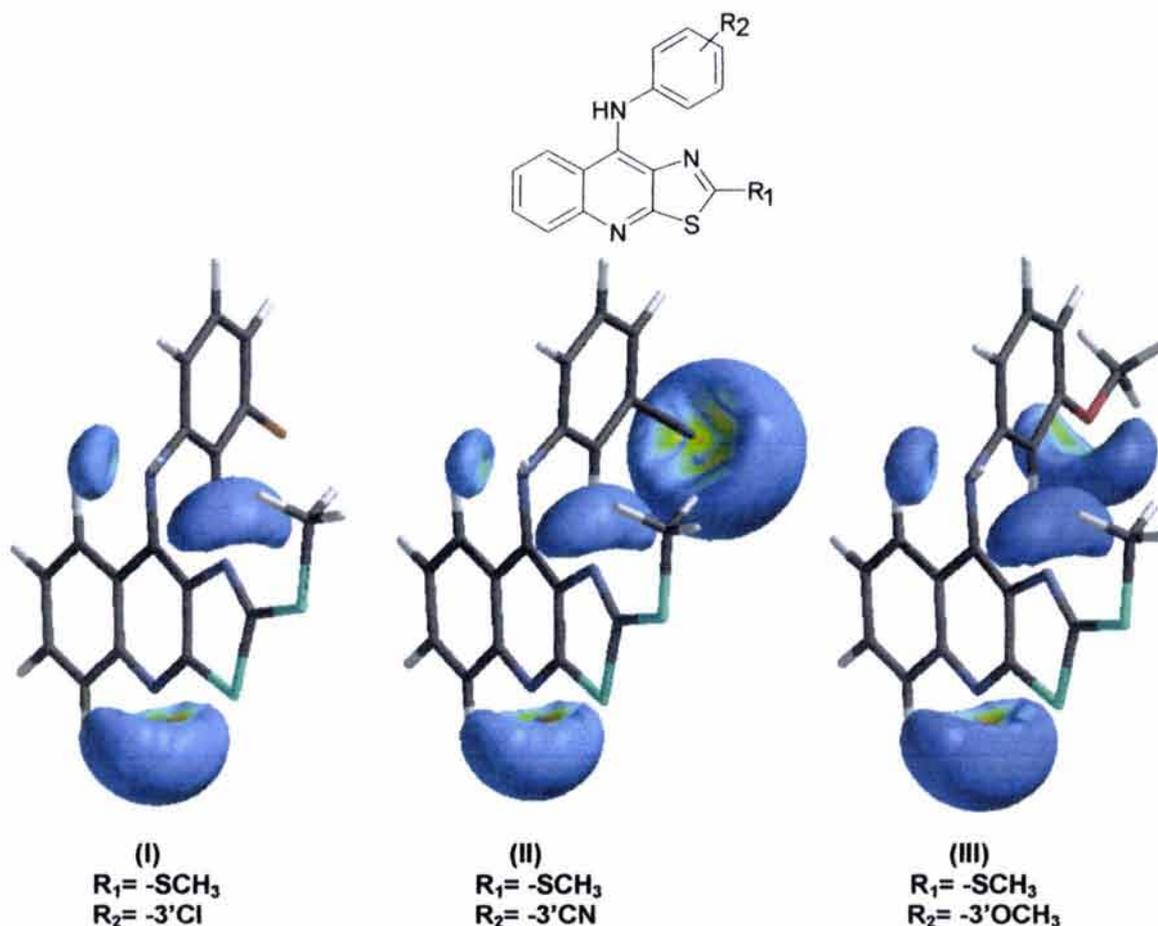
Figura 62. Gráficos del HOMO de los compuestos I, II, III y VII

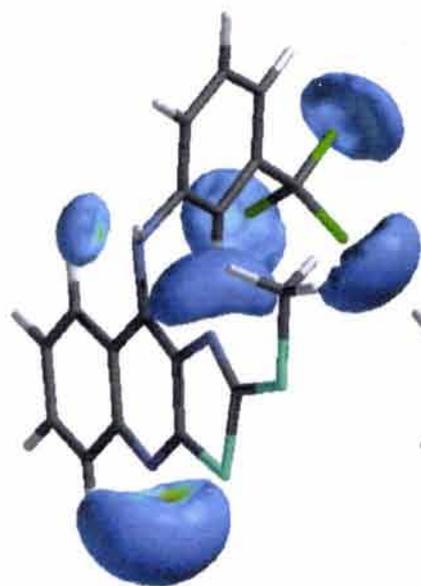
El estudio de las cargas electrostáticas es importante porque permite establecer regiones que pueden actuar comoceptoras o donadoras de carga. En el caso de las tiazolo[5,4-b]quinolinas se encuentran dos zonas con alta densidad de carga, una en el átomo de nitrógeno del anillo de tiazol y otra más en el átomo de nitrógeno del anillo central. Dependiendo de la naturaleza del sustituyente se encuentran regiones adicionales y en el caso de las 9-anilino[5,4-b]quinolinas, se encuentra una región adicional en el átomo de nitrógeno que une al sistema tricíclico y el anillo de anilina. Los valores de las cargas electrostáticas para cada átomo se muestran en la tabla 25, la cual se encuentra al final de este apartado

Se ha comentado en el caso de las acridinas que es posible que haya influencia de los sustituyentes en el anillo de anilina sobre el pKa del átomo de nitrógeno del sistema de acridina⁽³⁶⁾ y esto se pudiera ver reflejado en las propiedades intercalantes del compuesto. En el caso de las tiazolo[5,4-b]quinolinas, se ha establecido que son buenos intercalantes,⁽⁴⁷⁾ pero sólo se han determinado las propiedades intercalantes de algunos compuestos; al tratar de encontrar alguna

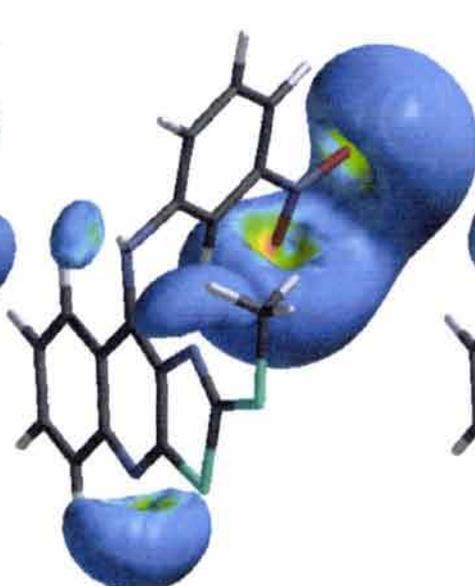
relación de alguno de los parámetros obtenidos con la carga en los átomos de nitrógeno del sistema de tiazolo[5,4-b]quinolina (considerando que estos pudieran interactuar con el ADN de modo análogo al átomo de nitrógeno de la acridina), no se encontró que alguno correlacionara adecuadamente. De tenerse mayor información sobre la afinidad al ADN de estos compuestos podría tratarse de establecer si existe relación entre la carga y la afinidad al ADN, aunque se ha establecido que no existe relación directa entre la afinidad y la actividad citotóxica de estos compuestos.⁽⁴⁷⁾

En la figura 63 se muestran las geometrías optimizadas de las 9-anilino[5,4-b]quinolinas analizadas, así como el gráfico del isotopotencial del PME, es importante notar la presencia de dos lóbulos constantes en el sistema tricíclico (alrededor de los átomos de nitrógeno del anillo de tiazol y del anillo central) y un tercer lóbulo en el caso de las 9-anilino[5,4-b]quinolinas localizado alrededor del átomo de nitrógeno que une al anillo de anilina con el sistema tricíclico. La presencia de regiones adicionales depende de la naturaleza de los sustituyentes.

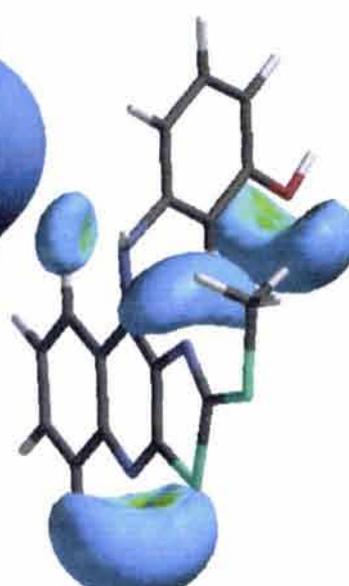




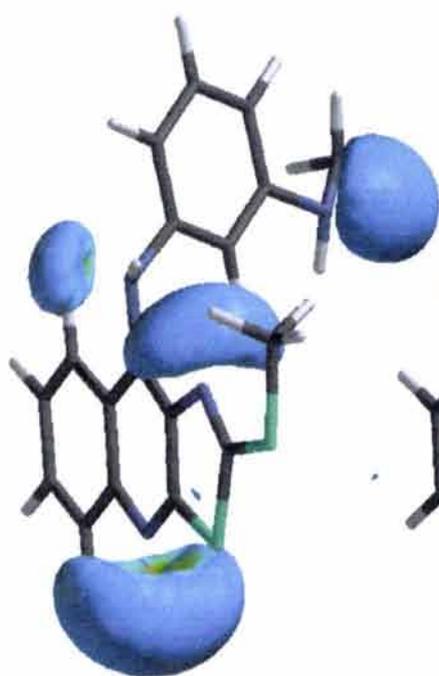
(IV)
R₁= -SCH₃
R₂= -3'CF₃



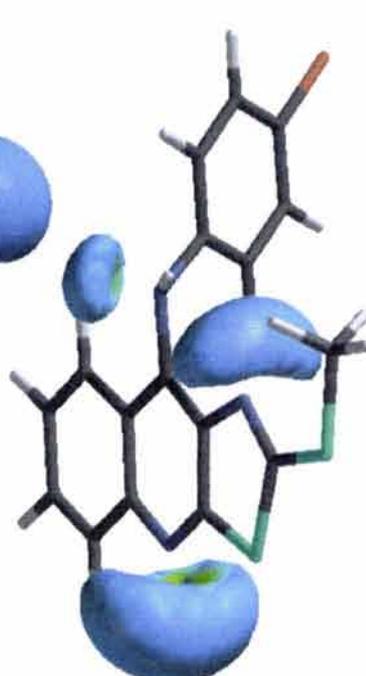
(V)
R₁= -SCH₃
R₂= -3'NO₂



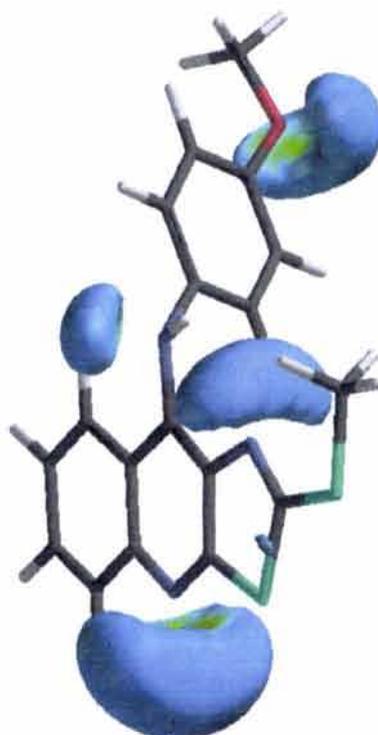
(VI)
R₁= -SCH₃
R₂= -3'OH



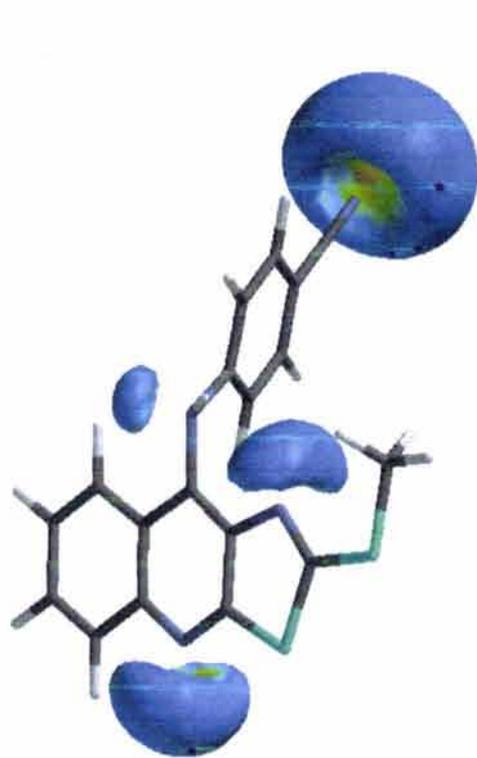
(VII)
R₁= -SCH₃
R₂= -3'NHCH₃



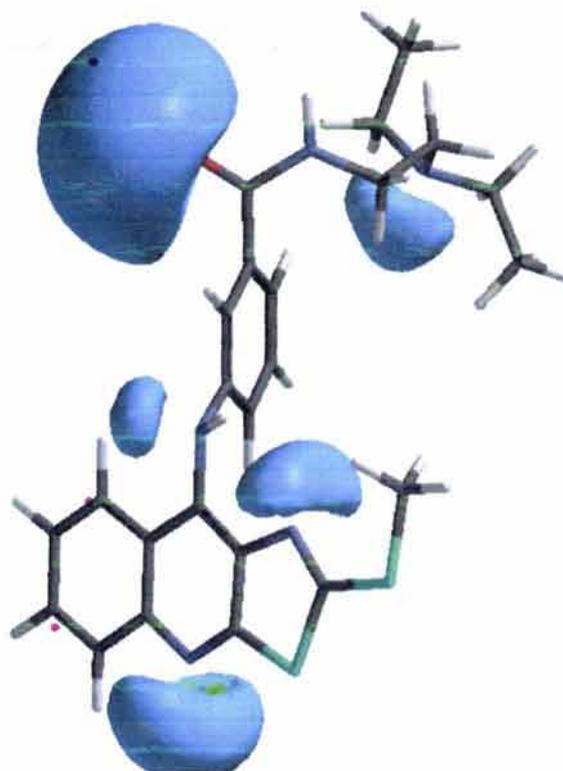
(VIII)
R₁= -SCH₃
R₂= -4'Cl



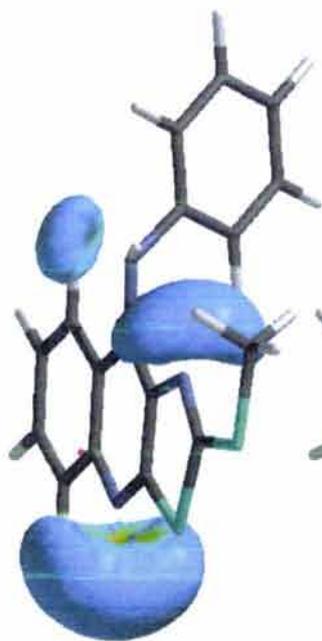
(IX)
R₁= -SCH₃
R₂= -4'OCH₃



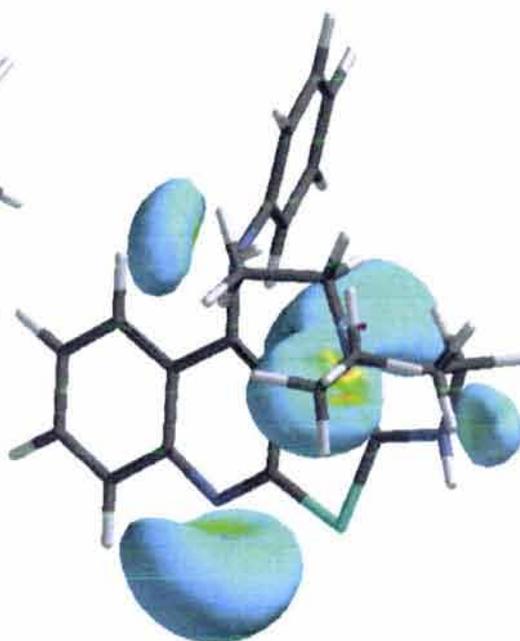
(X)
 $R_1 = -SCH_3$
 $R_2 = -4'CN$



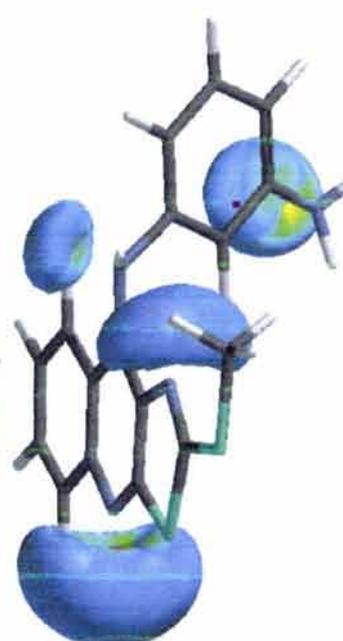
(XIII)
 $R_1 = -SCH_3$
 $R_2 = -3'(CO)EDA$



(XXXI)
 $R_1 = -SCH_3$
 $R_2 = -3'H$



(XXXII)
 $R_1 = -EDA$
 $R_2 = -3'H$



(XXXIII)
 $R_1 = -SCH_3$
 $R_2 = -3'NH_2$

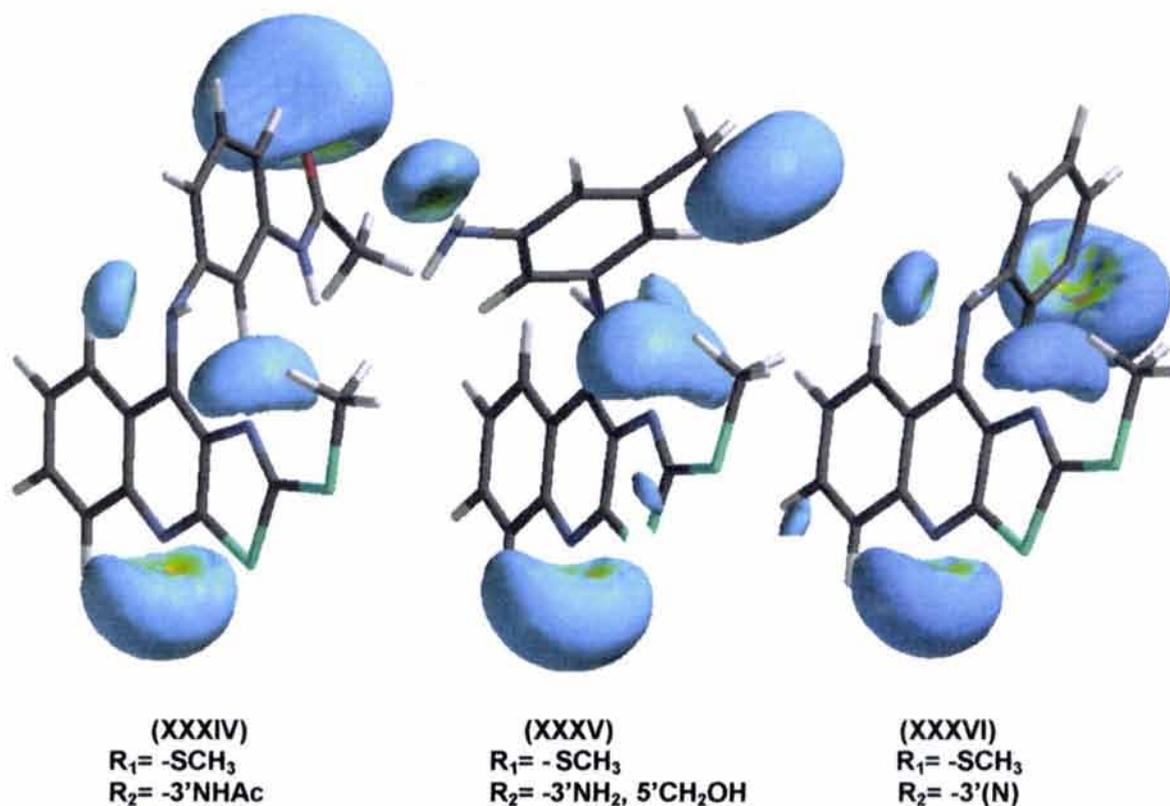


Figura 63. Geometrías optimizadas y gráficos de PME de las 9-anilinothiazolo[5,4-b]quinolinas analizadas

En el caso de las 2- y 9-alkilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas analizadas, se encuentran dos lóbulos sobre los átomos de nitrógeno del anillo de tiazol y del anillo central y dos más en los átomos de nitrógeno secundario y terciario de la cadena de alquilamino como se muestra en la figura 64. El estudio de estos gráficos radica en que se puede establecer que regiones de la molécula pueden participar en posibles interacciones "a larga distancia" con ciertas regiones de un potencial sitio receptor. En estos casos fue posible observar regiones comunes como se ha mencionado anteriormente, sin embargo no fue posible establecer diferencias significativas que pudieran explicar la afinidad o la actividad citotóxica, si bien las regiones adicionales en los gráficos de PME en el sistema tricíclico pudieran ejercer cierto efecto en la selectividad de la secuencia de bases del ADN al momento de intercalarse y que esto se viera reflejado en una diferente selectividad por regiones del ADN por parte de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolinas respecto a los derivados de acridina.

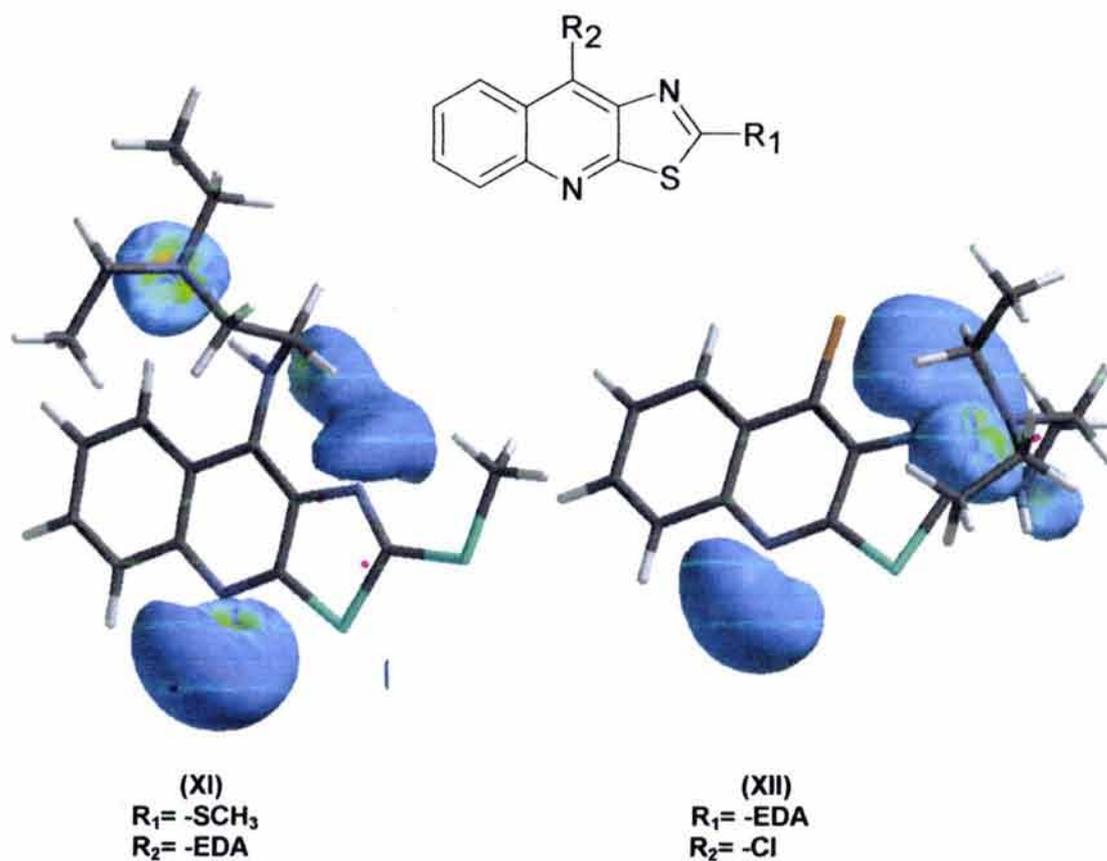


Figura 64. Geometrías optimizadas y gráficos de PME de las 2-alkil y 9-alkilaminotiazolo[5,4-b]quinolinas analizadas

Tabla 25. Cargas electrostáticas

Átomo	I	II	III	IV	V
N1	-0.368126	-0.381789	-0.378686	-0.380975	-0.371591
C2	0.353913	0.3618	0.358986	0.370071	0.363432
S3	-0.171531	-0.160642	-0.163607	-0.164451	-0.176501
C3a	0.41289	0.380084	0.380848	0.402995	0.424837
N4	-0.515337	-0.497569	-0.508995	-0.518723	-0.51449
C4a	0.4649	0.447195	0.464154	0.506434	0.504631
C5	-0.237439	-0.221951	-0.233219	-0.268911	-0.277342
H5	0.114126	0.11011	0.110903	0.124824	0.123035
C6	0.034197	0.036617	0.046333	0.065213	0.093165
H6	0.076952	0.076492	0.067828	0.067061	0.063256
C7	-0.203822	-0.209145	-0.215713	-0.207988	-0.228323
H7	0.107474	0.111097	0.109641	0.106763	0.113448
C8	0.093544	0.098219	0.129189	0.119918	0.123032
H8	0.06853	0.060735	0.052112	0.055662	0.056954
C8a	-0.365433	-0.344534	-0.407308	-0.413091	-0.407918
C9	0.363688	0.315453	0.400305	0.37352	0.353982
C9a	-0.074417	-0.023408	-0.051135	-0.066033	-0.069698
ArNH	-0.518904	-0.508487	-0.531121	-0.529147	-0.511058
ArNH	0.244913	0.241354	0.234684	0.243886	0.244613
C1'	0.396194	0.377548	0.521013	0.414861	0.347833
C2'	-0.241622	-0.154778	-0.495632	-0.183125	-0.146198
H2'	0.141755	0.126156	0.195037	0.142145	0.150487
C3'	0.018154	-0.291122	0.411058	-0.326425	-0.384142
H3'	-----	-----	-----	-----	-----
C4'	-0.129515	-0.027779	-0.294662	-0.059789	-0.02692
H4'	0.098753	0.081109	0.122908	0.101023	0.101864
C5'	0.006362	-0.036572	0.019059	-0.006627	-0.046958
H5'	0.07596	0.081751	0.087839	0.077952	0.090238
C6'	-0.303289	-0.227527	-0.381309	-0.252859	-0.189782
H6'	0.136402	0.118197	0.142433	0.123036	0.113032
-SCH3	-0.245445	-0.255345	-0.254453	-0.254949	-0.235098
SCH3	0.11681	0.135599	0.109545	0.147046	0.091142
-SCH3 (1)	0.020457	0.012974	0.017264	0.005332	0.024475
-SCH3 (2)	0.062002	0.060374	0.065221	0.056731	0.069975
-SCH3 (3)	0.005919	0.002695	0.012808	0.003941	0.013774
Otros					
	-0.039019 (Cl)	0.616919 (CN)	-0.363722 (OCH ₃)	1.061711 (CF ₃)	1.585899 (NO ₂)
		-0.511833 (CN)	0.227765 (OCH ₃)	-0.313796 (CF ₃)	-0.733046 (NO ₂)
			-0.009059 (OCH ₃)	-0.310258 (CF ₃)	-0.734042 (NO ₂)
			0.009343 (OCH ₃)	-0.312977 (CF ₃)	
			-0.007657 (OCH ₃)		

(tabla 25, continuación)

Átomo	VI	VII	VIII	IX	X
N1	-0.372083	-0.360155	-0.390862	-0.356068	-0.361141
C2	0.369029	0.350779	0.373506	0.324259	0.349769
S3	-0.172471	-0.16015	-0.170125	-0.162137	-0.162971
C3a	0.398101	0.392073	0.385771	0.376432	0.407622
N4	-0.514354	-0.52424	-0.507033	-0.510051	-0.510935
C4a	0.455914	0.484213	0.438464	0.435291	0.454003
C5	-0.229079	-0.272656	-0.209562	-0.222033	-0.244562
H5	0.114285	0.124178	0.109702	0.114783	0.121596
C6	0.036775	0.065548	0.012523	0.0194	0.051171
H6	0.072008	0.066408	0.082335	0.072528	0.07007
C7	-0.212202	-0.233419	-0.20496	-0.172956	-0.212435
H7	0.110397	0.10879	0.108414	0.102987	0.111342
C8	0.103741	0.124035	0.103697	0.016108	0.093324
H8	0.065089	0.061026	0.06329	0.096461	0.064017
C8a	-0.369257	-0.388621	-0.352014	-0.31078	-0.344736
C9	0.361353	0.369986	0.346443	0.311552	0.347308
C9a	-0.05992	-0.072357	-0.034346	-0.038399	-0.067473
ArNH	-0.513808	-0.516993	-0.520849	-0.450725	-0.521014
ArNH	0.24454	0.234207	0.245431	0.224563	0.237093
C1'	0.459148	0.511325	0.417339	0.260094	0.500405
C2'	-0.439603	-0.480853	-0.294617	-0.073258	-0.350546
H2'	0.192826	0.174284	0.143264	0.110784	0.14603
C3'	0.401474	0.510715	0.027017	-0.27631	0.156623
H3'	-----	-----	0.083702	0.140025	0.060341
C4'	-0.319625	-0.486044	-0.127185	0.301289	-0.48672
H4'	0.123037	0.213578	-----	-----	-----
C5'	0.032642	0.126034	0.054413	-0.139572	0.178664
H5'	0.08278	0.063483	0.074386	0.107365	0.056462
C6'	-0.352998	-0.428693	-0.319448	-0.253634	-0.361129
H6'	0.134647	0.155642	0.13888	0.13224	0.130861
-SCH3	-0.256101	-0.269192	-0.259105	-0.250144	-0.248384
SCH3	0.106019	0.17965	0.132984	0.120126	0.137056
-SCH3 (1)	0.017559	-0.004265	0.015613	0.012633	0.011415
-SCH3 (2)	0.067945	0.045674	0.060394	0.059067	0.059796
-SCH3 (3)	0.010389	-0.002876	0.003936	0.011865	0.004397
Otros					
	-0.48223 (OH)	-0.673262 (NHCH ₃)	-0.031396 (Cl)	-0.351114 (OCH ₃)	0.645845 (CN)
	0.334031 (OH)	0.467644 (NHCH ₃)		0.221721 (OCH ₃)	-0.523163 (CN)
		0.266604 (NHCH ₃)		-0.005386 (OCH ₃)	
		-0.059024 (NHCH ₃)		-0.013053 (OCH ₃)	
		-0.068347 (NHCH ₃)		0.014041 (OCH ₃)	
		-0.094731 (NHCH ₃)			

(tabla 25, continuación)

Átomo	XI	XII	XIII	XXXI	XXXII
N1	-0.232526	-0.56664	-0.351642	-0.372567	-0.540523
C2	0.283928	0.583197	0.360373	0.361127	0.577582
S3	-0.18088	-0.263008	-0.174123	-0.171070	-0.231483
C3a	0.51315	0.41075	0.413696	0.402720	0.371686
N4	-0.586164	-0.473359	-0.509203	-0.521689	-0.493624
C4a	0.537264	0.331714	0.438800	0.447220	0.464419
C5	-0.284	-0.186685	-0.207174	-0.214287	-0.232566
H5	0.124164	0.114212	0.110036	0.110762	0.112008
C6	0.05814	-0.035609	0.016392	0.002430	0.025364
H6	0.069872	0.085396	0.074468	0.083867	0.074951
C7	-0.227486	-0.102627	-0.185623	-0.186695	-0.217977
H7	0.108467	0.088513	0.105558	0.101523	0.104674
C8	0.089901	-0.087864	0.091869	0.083143	0.171443
H8	0.057519	0.111147	0.066342	0.066443	0.037019
C8a	-0.405813	-0.093378	-0.378177	-0.339822	-0.4436
C9	0.45153	-0.0027	0.382379	0.349842	0.40309
C9a	-0.281362	0.091859	-0.097338	-0.057495	-0.020127
ArNH	----	----	-0.485362	-0.523357	-0.572221
ArNH	----	----	0.215873	0.243095	0.267249
C1'	----	----	0.407634	0.411846	0.516655
C2'	----	----	-0.263197	-0.289923	-0.34623
H2'	----	----	0.12262	0.096903	0.15418
C3'	----	----	-0.080178	-0.020314	0.00349
H3'	----	----	-----	0.081424	0.080941
C4'	----	----	-0.155341	-0.156620	-0.18022
H4'	----	----	0.110581	0.084667	0.091286
C5'	----	----	0.009554	-0.020314	0.041948
H5'	----	----	0.077293	0.127113	0.071444
C6'	----	----	-0.289868	-0.258975	-0.381842
H6'	----	----	0.146965	0.130795	0.14292
-SCH3	-0.250497	-----	-0.25875	-0.262784	-----
SCH3	0.10337	-----	0.143315	0.139155	-----
-SCH3 (1)	0.023426	-----	-0.005617	0.010687	-----
-SCH3 (2)	0.058414	-----	0.0596	0.059942	-----
-SCH3 (3)	0.005254	-----	0.004548	-0.000097	-----
Otros					
	-0.461715 (NHCH ₂ CH ₂)	0.004449 (Cl)	0.658294 (CONH)		-0.592326 (NHCH ₂ CH ₂)
	0.237378 (NHCH ₂ CH ₂)	-0.472338 (NHCH ₂)	-0.554322 (CONH)		0.264759 (NHCH ₂ CH ₂)
	-0.031579 (NHCH ₂ CH ₂)	0.248084 (NHCH ₂)	-0.448303 (CONH)		0.243121 (NHCH ₂ CH ₂)
	0.081815 (NHCH ₂ CH ₂)	0.086049 (NHCH ₂)	0.193412 (CONH)		0.010407 (NHCH ₂ CH ₂)
	0.014655 (NHCH ₂ CH ₂)	0.014572 (NHCH ₂)	0.400063 (CONHCH ₂ CH ₂)		0.008445 (NHCH ₂ CH ₂)

(tabla 25, continuación)

	XI	XII	XIII	XXXI	XXXII
	0.404514 (NHCH ₂ CH ₂)	0.063311 (NHCH ₂)	-0.038263 (CONHCH ₂ CH ₂)		0.27734 (NHCH ₂ CH ₂)
	-0.018484 (NHCH ₂ CH ₂)	0.217041 (NHCH ₂ CH ₂)	-0.0497 (CONHCH ₂ CH ₂)		-0.011159 (NHCH ₂ CH ₂)
	-0.055708 (NHCH ₂ CH ₂)	0.024295 (NHCH ₂ CH ₂)	-0.011743 (CONHCH ₂ CH ₂)		-0.005472 (NHCH ₂ CH ₂)
	-0.507958 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.019488 (NHCH ₂ CH ₂)	0.023606 (CONHCH ₂ CH ₂)		-0.669884 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.165945 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.513777 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.040654 (CONHCH ₂ CH ₂)		0.235508 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.004929 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.211419 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.495123 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.007774 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.011726 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.020119 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.128065 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.00385 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.111165 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.032969 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.015212 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		0.284035 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.010881 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.095854 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.031983 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.021856 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.006756 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.013174 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.228159 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.027769 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.175751 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.03204 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.009923 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.082862 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.028378 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.141825 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.001168 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		0.034294 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.047912 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.02413 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.106379 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.006159 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.076947 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.021444 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.044706 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		0.042842 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	0.133494 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.062204 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.030801 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.076092 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.047575 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.088261 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.016556 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		0.018922 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.015821 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.009542 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	-0.199376 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		-0.003447 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
	-0.034207 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.029768 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.049846 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		0.037041 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]
		0.058388 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]	0.085056 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		
			0.031736 [N(CH ₂ CH ₃) ₂]		

(tabla 25, continuación)

Átomo	XXXIII	XXXIV	XXXV	XXXVI
N1	-0.356712	-0.356554	-0.288072	-0.346629
C2	0.353165	0.324277	0.355070	0.353789
S3	-0.184619	-0.166413	-0.203424	-0.169696
C3a	0.445382	0.399455	0.495588	0.41973
N4	-0.534943	-0.522293	-0.563857	-0.520868
C4a	0.50646	0.471051	0.489187	0.487662
C5	-0.255529	-0.249389	-0.257726	-0.248535
H5	0.112698	0.117174	0.122332	0.116545
C6	0.048892	0.054469	0.073210	0.049276
H6	0.075354	0.069994	0.066081	0.071503
C7	-0.225259	-0.246825	0.272200	-0.206459
H7	0.105807	0.12028	0.123393	0.107816
C8	0.16092	0.131341	0.126698	0.08484
H8	0.044812	0.053679	0.035272	0.073068
C8a	-0.469513	-0.383222	-0.399091	-0.393623
C9	0.45219	0.342005	0.442383	0.423622
C9a	-0.132621	-0.04389	-0.232247	-0.116922
ArNH	-0.512404	-0.478394	-0.506952	-0.498429
ArNH	0.239129	0.227236	0.290765	0.240633
C1'	0.48351	0.406286	0.296472	-0.001596
C2'	-0.509294	-0.379902	0.488357	0.364386
H2'	0.171159	0.155159	0.150346	0.014238
C3'	0.545307	0.213371	-0.185688	-0.632051(N3')
H3'	-----	-----	-----	-----
C4'	-0.404432	-0.221919	-0.208263	0.479916
H4'	0.136061	0.160407	0.091458	-0.019829
C5'	0.088148	-0.017627	-0.175937	-0.420348
H5'	0.078171	0.086859	-----	0.139089
C6'	-0.407076	-0.293867	-0.413789	0.119641
H6'	0.146833	0.1282	0.149665	0.070542
-SCH3	-0.25652	-0.234631	-0.256052	-0.255693
SCH3	0.15389	0.07875	0.022873	0.148994
-SCH3 (1)	0.003032	0.025215	0.045536	0.007001
-SCH3 (2)	0.055288	0.071741	0.084186	0.055898
-SCH3 (3)	-0.004666	0.020463	0.032973	0.00249
Otros				
	-0.734786 (NH ₂)	-0.229717 (NHCOCH ₃)	-0.722932 (NH ₂)	
	0.286296 (NH ₂)	0.147734 (NHCOCH ₃)	0.281064 (NH ₂)	
	0.295873 (NH ₂)	0.537619 (NHCOCH ₃)	0.300782 (NH ₂)	
		-0.544757 (NHCOCH ₃)	0.514816 (CH ₂ OH)	
		-0.078592 (NHCOCH ₃)	-0.072567 (CH ₂ OH)	
		0.02806 (NHCOCH ₃)	-0.047397 (CH ₂ OH)	
		0.028849 (NHCOCH ₃)	-0.554090 (CH ₂ OH)	
		0.048318 (NHCOCH ₃)	0.301777 (CH ₂ OH)	

5.3. Relaciones estructura-actividad

Los datos de la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados, fueron obtenidos en las siguientes líneas celulares: dos de cérvix (HeLa y C-33), dos líneas de colon (SW480 y SW620) y una línea de leucemia mielógena (K-562). Se obtuvieron los valores de la concentración que inhibe el 50% de proliferación celular por ensayos de MTT.⁽⁶⁰⁾ Los resultados obtenidos se ilustran en la tabla 26. Los datos de los compuestos con mayor actividad citotóxica se pueden apreciar en el gráfico 2.

Tabla 26.
Datos de actividad citotóxica de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina sintetizados
Concentración que inhibe el 50% de proliferación celular (CI₅₀, μM)
(desviación estándar entre paréntesis)

Compuesto	Sustituyente	HeLa	C-33	SW480	SW620	K-562
I	3'-Cl	69.37 (±20.92)	129.33 (±16.59)	110.69 (±14.64)	129.73 (±24.04)	80.26 (±8.36)
II	3'-CN	7.75 (±1.13)	15.08 (±10.36)	28.68 (±16.88)	43.75 (±15.47)	8.01 (±0.65)
III	3'-OMe	25.34 (±10.86)	75.41 (±2.30)	66.65 (±19.93)	26.58 (±1.60)	22.17 (±11.33)
IV	3'-CF ₃	43.34 (±11.80)	59.73 (±3.46)	65.13 (±5.29)	62.28 (±5.43)	67.06 (±22.08)
V	3'-NO ₂	152.21 (±29.77)	>200	>200	160.82 (±1.02)	>200
VI	3'-OH	>200	146.12 (±10.35)	146.95 (±59.51)	146.34 (±5.17)	173.34 (±3.98)
VII	3'-NHMe	46.22 (±11.55)	133.98 (±56.67)	101.38 (±0.04)	118.69 (±25.70)	46.85 (±16.93)
VIII	4'-Cl	123.86 (±78.19)	>200	>200	145.95 (±14.07)	79.45 (±4.10)
IX	4'-OMe	>200	>200	>200	110.8 (±15.51)	77.2 (±25.16)
X	4'-CN	140.02 (±51.82)	>200	>200	>200	120.01 (±28.70)
XI	9-EDA	12.97 (±3.83)	9.06 (±1.86)	27.97 (±9.22)	16.87 (±2.19)	7.85 (±1.85)
XII	2-EDA	12.86 (±2.34)	9.35 (±1.96)	19.48 (±9.81)	15.22 (±2.34)	9.28 (±0.65)
XIII	3'-EDA	21.69 (±3.35)	19.95 (±5.59)	13.6 (±3.44)	19.72 (±0.48)	12.54 (±3.03)
XXXI*	3'-H	>200	153.7 (±7.70)	>200	>200	>200
XXXII*	2-EDA, 3'-H	15.9 (±0.30)	22.4 (±4.20)	37.7 (±0.80)	21.6 (±1.80)	16.8 (±0.50)
XXXIII*	3'-NH ₂	176.5 (±30.30)	138.8 (±23.90)	>200	>200	143.4 (±11.50)
XXXIV*	3'-NHAc	>200	>200	>200	153.9 (±28.60)	85.3 (±10.20)
XXXV*	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	>200	>200	>200	183.9 (±69.90)	143.4 (±6.90)
XXXVI	9-NHPy	82.38 (±11.32)	95.32 (±32.07)	88.38 (±53.15)	104.26 (±40.43)	93.78 (±25.51)
Referencia*	mAMSA	9.50 (±0.60)	8.80 (±0.50)	27.70 (±2.00)	16.70 (±2.80)	19.90 (±0.80)

EDA= -NH(CH₂)₂N(Et)₂ NHPy=3-aminopiridina

*Tomados de la referencia (49)

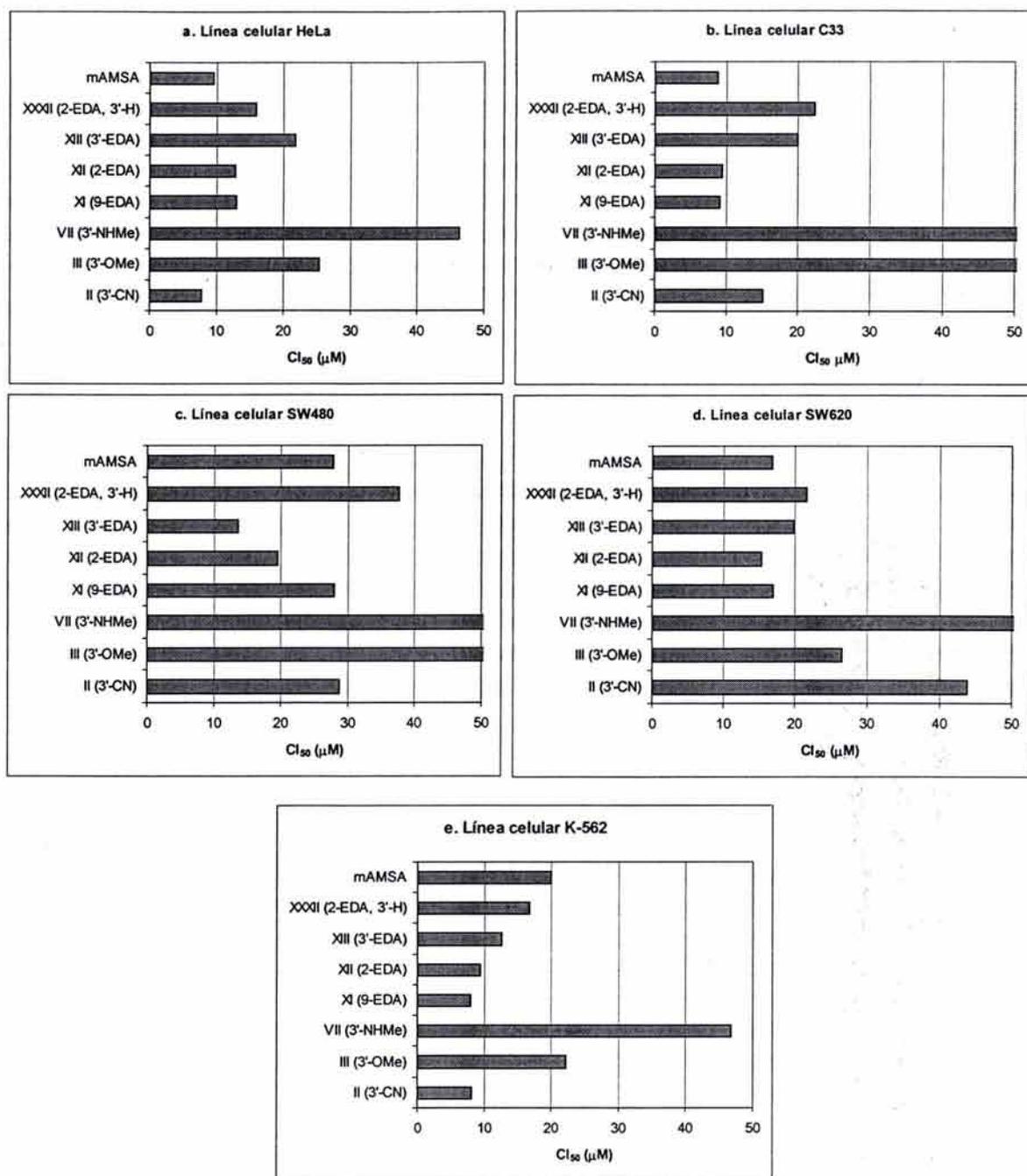


Gráfico 2. Compuestos con mayor actividad citotóxica (m-AMSA como referencia)

Como puede observarse en la tabla 26 y los gráficos 2a-2e, los compuestos con mayor actividad citotóxica son II (3'-CN), XI (9-EDA), XII (2-EDA) y XIII (3'-EDA), siendo esto constante en todas las líneas celulares, teniendo una actividad comparable e incluso mayor a la del compuesto de referencia (amsacrina) como fue en el caso de las líneas celulares HeLa, SW480 y K-562

De manera cualitativa puede establecerse que la presencia de una cadena de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina favorece la actividad citotóxica. Esto se observa al comparar la actividad de los compuestos XI, XII, XIII y XXXII, con la del compuesto de referencia (amsacrina, mAMSA). Además resulta interesante observar que el cambio de la posición de la cadena de alquilamino en estos compuestos, no tiene un efecto significativo sobre la actividad citotóxica, lo cual hace

válida si consideramos que el compuesto XXXII tiene una buena actividad, pero cuando se determinaron sus propiedades intercalantes se observó que su afinidad era menor a la del compuesto XXXIII siendo este compuesto menos citotóxico.⁽⁴⁹⁾

Por otra parte, al comparar los conforméromos de los compuestos 2-EDA sustituidos (compuestos XII y XXXII) con el conforméromos del compuesto 9-EDA sustituido (compuesto XI) se observa, que la orientación de la cadena, en especial del átomo de nitrógeno terciario, se ubica en una zona común, de tal forma que esto permite que interactuen con su sitio de unión de la misma manera independientemente de la posición que ocupe la cadena (ver figura 61). Más aún en el compuesto XIII (con la cadena de alquilamino ubicada en la posición 3' del anillo de anilina), en algunos conforméromos con una importante contribución a la distribución de Boltzmann, la cadena de alquilamino guarda la misma relación espacial que en los compuestos XII, XIII y XXXII. Esto explicaría que no se encuentre diferencia significativa en las actividades citotóxicas de estos compuestos.

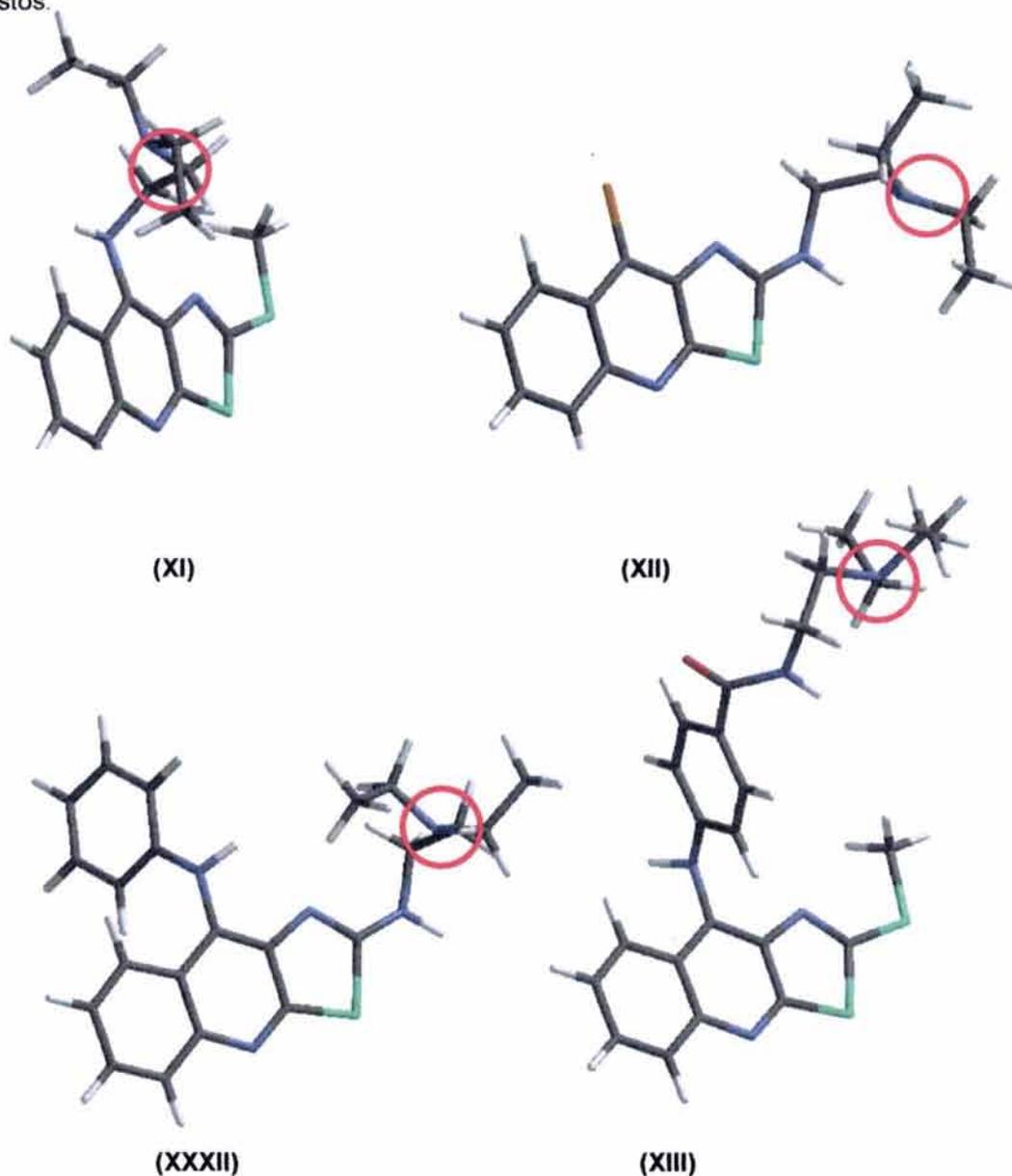


Figura 64. Semejanza estructural entre los derivados (*N,N*-dietilamino)etilamina sustituidos. Se indica la posición del átomo de nitrógeno terciario

En el caso de los compuestos sustituidos en el anillo de anilina, se observa que la presencia de grupos electroattractores, de manera general, favorece la actividad biológica. Esto contrasta con los derivados de 9-anilinoacridina, en los que la presencia de grupos electrodonadores es la que favorece la actividad. La única excepción es el compuesto V (sustituido en 3' con un grupo nitro), sin embargo este compuesto tuvo problemas de solubilidad lo cual puede explicar en parte la baja actividad biológica. De este modo puede suponerse que el sitio de unión de los compuestos de 9-anilino[5,4-b]quinolina difiere del de las 9-anilinoacridinas, puesto los requerimientos estructurales para la actividad citotóxica en el anillo de anilina son diferentes.

Otro punto interesante a destacar es que los compuestos más activos poseen grupos que son aceptores en la formación de puentes de hidrógeno como es el caso del compuesto II (3'-CN), III (3'-OMe) y XIII (3'-EDA, con el grupo carbonilo). En este caso la excepción es el compuesto XXXVI (3'-NHAc) ya que el grupo acetamida puede participar como aceptor y donador en la formación de puentes de hidrógeno.

También resulta importante destacar que el patrón de sustitución en el anillo de anilina es crítico para la actividad, puesto los compuestos sustituidos en la posición 4' no fueron tan activos como sus contrapartes sustituidos en la posición 3'. Así tenemos que los compuestos I (3'-Cl), II (3'-CN) y III (3'-OMe) fueron mucho más activos que los compuestos VIII (4'-Cl), IX (4'-OMe) y X (4'-CN).

Finalmente, también de manera cualitativa, puede observarse que los compuestos III (3'-OMe) y VII (3'-NHMe) fueron más activos que sus contrapartes sin metilar (compuestos VI y XXXIII, respectivamente). En el caso del compuesto III su mayor actividad puede explicarse en el sentido de que este grupo funcione como aceptor en la formación de puentes de hidrógeno, como se mencionó anteriormente, mientras que el compuesto no metilado (compuesto VI, 3'-OH) actúa como donador en la formación de puentes de hidrógeno. En el caso del compuesto VII esta situación no es tan fácil de explicar puesto que también funciona como donador en la formación de puentes de hidrógeno. Es posible que el grupo metilo participe de ciertas interacciones en el sitio de unión del anillo de anilina, de ahí que el compuesto III sea también más activo que el compuesto VII puesto cumple con los requisitos de la formación de puentes de hidrógeno y la presencia del grupo metilo, mientras que el VII sólo cumple con este último aspecto

En resumen se estableció de forma preliminar lo siguiente

- La actividad citotóxica se favorece por la presencia de una cadena de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina
- La presencia de grupos electroattractores en el anillo de anilina, de manera general, favorece la actividad biológica respecto a los grupos electrodonadores
- Es importante para la actividad la presencia de un grupo aceptor en la formación de puentes de hidrógeno.
- El patrón de sustitución es crítico para la actividad citotóxica, siendo la posición 3' la más favorecida

Con la intención de establecer una relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) se analizaron los parámetros obtenidos en los estudios de modelado molecular mediante el programa BuildQSAR⁽⁶¹⁾, creándose dos conjuntos de trabajo, uno que incluía a todos los compuestos y otro que no incluía a los derivados que poseían el residuo de alquilamino unido al núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina. (Cabe mencionar que debido a problemas de solubilidad durante la realización de las pruebas biológicas, se excluyó al compuesto V del estudio. Además dado que algunos datos de Cl_{50} no fueron determinados, el valor de este análisis QSAR, si bien carece de valor predictivo, si ofrece información pertinente sobre los parámetros estructurales necesarios para la actividad citotóxica)

Primero se analizaron todos los parámetros obtenidos en función de la actividad citotóxica expresada en $\log(1/Cl_{50})$, sin embargo en ningún caso se encontró alguna relación satisfactoria. Se plantearon las posibles ecuaciones mediante el protocolo de búsqueda sistemática, con las

condiciones de uno, dos o tres parámetros para formular las ecuaciones, de una correlación entre variables que fuera menor a 0.30 y un coeficiente de correlación (r^2) mayor a 0.70. Sin embargo en ninguno de los conjuntos se encontró alguna ecuación que satisficiera ambos requisitos, por lo que fue necesario establecer nuevos parámetros.

Dado que se observó que la presencia de grupos aceptores en la formación de puentes de hidrógeno favorece la actividad, se intentó incluir este parámetro dentro del análisis QSAR. Para las 9-anilino[5,4-b]quinolinas, se estableció la distancia que existe entre los átomos de carbono C-3' y C-4' del anillo de anilina (dependiendo del patrón de sustitución) con el átomo con el cual podría formarse el puente de hidrógeno. Estos valores se ilustran en la tabla 27.

Tabla 27.
Distancia del átomo C-3' (o C-4') al átomo del sustituyente con el que podría formarse el puente de hidrógeno

Compuesto	Sustituyente	Distancia (Å)
I	3'-Cl	1.6858
II	3'-CN	2.5855
III	3'-OMe	1.3802
IV	3'-CF ₃	2.4413
V	3'-NO ₂	2.3494
VI	3'-OH	1.8892
VII	3'-NHMe	2.0252
VIII	4'-Cl	1.6858
IX	4'-OMe	1.3802
X	4'-CN	2.5855
XIII	3'-EDA	2.4067
XXXI (1)	3'-H	1.0078
XXXIII	3'-NH ₂	2.0229
XXXIV	3'-NHAc	2.0910
XXXV (2)	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	3.1727
XXXVI (3)	9-NHPy	1.0078

- (1) Se tomó la distancia de C-3' a H-3'
- (2) Se tomó la distancia de C-5' al átomo de hidrógeno del grupo hidroximetilo
- (3) Se consideró la distancia de un enlace N-H, ya que es probable que el átomo de nitrógeno del anillo de piridina se encuentre protonado

Este parámetro por sí sólo no correlacionó bien con la actividad biológica, por lo que se decidió establecer un nuevo parámetro con el siguiente producto matricial:

Fd (factor distancia) = |distancia C-3'| |AD Me Pos|, donde:

- AD = es la característica de aceptor o donador en la formación de puentes de hidrógeno. Se le dio un valor arbitrario de +1 si se trataba de un grupo aceptor-electroatractor en la posición 3', de 0 si se trataba de un grupo aceptor-electrodonador, de -1 si se trataba de un grupo donador en la misma posición y de -2 si no tenía ningún tipo de sustituyente en el anillo de anilina
- Me = para el caso de los compuestos metilados se considero un valor de +1 y de 0 si no lo estaban
- Pos= Se estableció un valor de -2 si los compuestos estaban sustituidos en la posición 4'

De esta forma se calculó el valor del parámetro Fd y los valores se ilustran en la tabla 28.

Tabla 28. Cálculo del parámetro Fd

Compuesto	Sustituyente	Distancia (A)	AD	Me	Pos	Fd
I	3'-Cl	1.6858	-1	0	0	-1.6858
II	3'-CN	2.5855	1	0	0	2.5855
III	3'-OMe	1.3802	0	1	0	1.3802
IV	3'-CF ₃	2.4413	1	0	0	2.4413
V	3'-NO ₂	2.3494	1	0	0	2.3494
VI	3'-OH	1.8892	-1	0	0	-1.8892
VII	3'-NHMe	2.0252	-1	1	0	0
VIII	4'-Cl	1.6858	0	0	-2	-3.3716
IX	4'-OMe	1.3802	0	0	-2	-2.7604
X	4'-CN	2.5855	0	0	-2	-5.171
XIII	3'-EDA	2.4067	1	0	0	2.4067
XXXI	3'-H	1.0078	-2	0	0	-2.0156
XXXIII	3'-NH ₂	2.0229	-1	0	0	-2.0229
XXXIV	3'-NHAc	2.0910	-1	0	0	-2.091
XXXV	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	3.1727	-1	0	0	-3.1727
XXXVI	9-NHPy	1.0078	-1	0	0	-1.0078

Los parámetros Fd y distancia se introdujeron en los análisis de QSAR realizados, encontrándose las siguientes correlaciones para la actividad de este tipo de compuestos, cabe señalar que se excluyó del estudio al compuesto V (3'-NO₂) por los problemas de solubilidad antes mencionados.

Con esta nueva variable se obtuvieron las siguientes posibles ecuaciones para cada línea celular, con los requisitos mínimos de $r^2=0.75$ y un coeficiente de correlación entre parámetros de 0.20

▪ Línea celular Hela

	Var-01	Var-02		n	r	s	F
1	Electroneg	Fd		15	0.876	0.230	19.817
2	HOMO	Fd		15	0.875	0.231	19.614
3	LUMO	Fd		15	0.875	0.231	19.529
	Var-01	Var-02	Var-03	n	r	s	F
1	Volumen	Electroneg	Fd	15	0.884	0.233	13.155
2	Electroneg	distancia	Fd	15	0.883	0.234	13.016
3	LUMO	distancia	Fd	15	0.883	0.234	12.963
4	HOMO	Volumen	Fd	15	0.883	0.234	12.949
5	LUMO	Volumen	Fd	15	0.882	0.235	12.821
6	Area sup	Electroneg	Fd	15	0.880	0.237	12.601
7	HOMO	distancia	Fd	15	0.880	0.237	12.585
8	HOMO	Area sup	Fd	15	0.879	0.238	12.417

9	Electroneg	ovalidad	Fd	15	0.878	0.238	12.360
10	LUMO	Area sup	Fd	15	0.878	0.239	12.329
11	Electroneg	logP dixon	Fd	15	0.877	0.239	12.230
12	HOMO	ovalidad	Fd	15	0.877	0.240	12.170
13	LUMO	ovalidad	Fd	15	0.876	0.240	12.133
14	dipolo	distancia	Fd	15	0.876	0.240	12.131
15	Electroneg	logP GC	Fd	15	0.876	0.240	12.116
16	LUMO	logP dixon	Fd	15	0.876	0.241	12.066
17	HOMO	logP dixon	Fd	15	0.876	0.241	12.055
18	HOMO	logP Villar	Fd	15	0.875	0.241	12.015
19	HOMO	logP GC	Fd	15	0.875	0.241	11.987
20	LUMO	logP GC	Fd	15	0.875	0.242	11.936
21	dipolo	Volumen	Fd	15	0.871	0.245	11.520

La inclusión de una tercera variable no mejora en gran medida los parámetros estadísticos, por lo que se eligió trabajar con las ecuaciones que contienen únicamente dos parámetros, sin embargo solamente el parámetro Fd tiene importancia estadística como puede observarse:

$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = -0.79037(\pm 0.93893) \text{HOMO} + 0.13983(\pm 0.05866) \text{Fd} - 8.55038(\pm 8.086640)$
($n=015$; $r=0.875$; $s=0.231$; $F=19.614$).... (Ec.1)

$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = -0.93245(\pm 1.11640) \text{LUMO} + 0.14306(\pm 0.05771) \text{Fd} - 3.09883(\pm 1.628045)$
($n=015$; $r=0.875$; $s=0.231$; $F=19.529$).... (Ec. 2)

$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = +0.86195(\pm 1.00574) \text{Electroneg} + 0.14061(\pm 0.05808) \text{Fd} - 6.08041(\pm 5.061536)$
($n=015$; $r=0.876$; $s=0.230$; $F=19.817$)....(Ec.3)

De ahí que la mejor ecuación (Ec. 4) encontrada contenga solo al término Fd.

- **Línea celular HeLa: $0.1589 (\pm 0.0273)\text{Fd} - 1.7384 (\pm 0.0691)$ (Ec. 4)**

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.8498
Coeficiente de determinación r^2	0.7222
r^2 ajustado	0.7008
Error típico	0.2416
Observaciones	15
F	33.8058

Compuesto	Sustituyente	Actividad observada	Pronóstico	Residuos
I	3'-Cl	-1.8412	-2.0063	0.1652
II	3'-CN	-0.8893	-1.3277	0.4384
III	3'-OMe	-1.4038	-1.5192	0.1154
IV	3'-CF ₃	-1.6369	-1.3506	-0.2863
VI	3'-OH	-2.3010	-2.0387	-0.2624
VII	3'-NHMe	-1.6648	-1.7385	0.0737
VIII	4'-Cl	-2.0929	-2.2742	0.1813
IX	4'-OMe	-2.3010	-2.1771	-0.1239
X	4'-CN	-2.1462	-2.5601	0.4139
XIII	3'-EDA	-1.3363	-1.3561	0.0198
XXXI	3'-H	-2.3010	-2.0587	-0.2423
XXXIII	3'-NH ₂	-2.2467	-2.0599	-0.1868
XXXIV	3'-NHAc	-2.3010	-2.0707	-0.2303
XXXV	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	-2.3010	-2.2426	-0.0584
XXXVI	9-NHPy	-1.9158	-1.8986	-0.0172

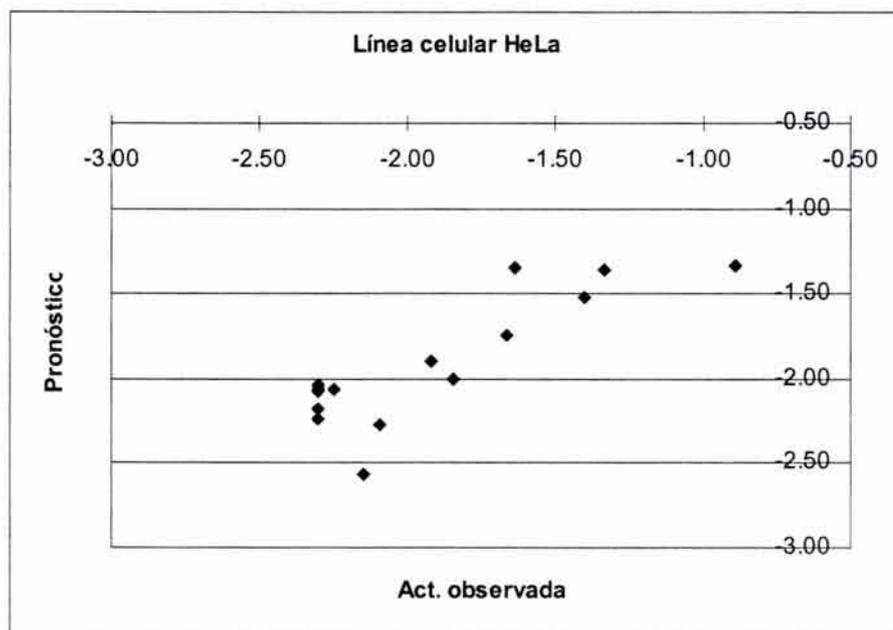


Gráfico 3. Actividad observada contra actividad pronosticada en la línea celular HeLa

▪ **Línea celular C-33:**

	Var-01			n	r	s	F
1	fd			15	0.867	0.185	39.189
	Var-01	Var-02		n	r	s	F
1	homo	Fd		15	0.909	0.161	28.377
2	Electroneg	Fd		15	0.905	0.164	27.024
3	lumo	Fd		15	0.902	0.167	26.035
4	dipolo	Fd		15	0.896	0.171	24.432
5	dureza	Fd		15	0.892	0.174	23.413

6	Volumen	Fd		15	0.890	0.176	22.769
7	Area sup	Fd		15	0.887	0.178	22.230
8	distancia	Fd		15	0.886	0.179	21.912
9	ovalidad	Fd		15	0.882	0.182	20.981
10	logP Villar	Fd		15	0.870	0.190	18.655
11	logP GC	Fd		15	0.867	0.192	18.112
12	logP dixon	Fd		15	0.867	0.192	18.109
	Var-01	Var-02	Var-03	n	r	s	F
1	homo	Area sup	Fd	15	0.930	0.148	23.558
2	homo	Volumen	fd	15	0.930	0.148	23.489
3	homo	ovalidad	fd	15	0.928	0.150	22.812
4	Area sup	Electroneg	fd	15	0.927	0.151	22.492
5	Volumen	Electroneg	fd	15	0.927	0.151	22.409
6	Electroneg	ovalidad	fd	15	0.926	0.152	21.991
7	dipolo	distancia	fd	15	0.923	0.155	20.974
8	lumo	Area sup	fd	15	0.923	0.156	20.957
9	dipolo	Volumen	fd	15	0.922	0.156	20.914
10	lumo	Volumen	fd	15	0.922	0.156	20.899
11	Area sup	dureza	fd	15	0.922	0.156	20.811
12	dipolo	Area sup	fd	15	0.922	0.156	20.755
13	Volumen	dureza	fd	15	0.922	0.156	20.707
14	lumo	ovalidad	fd	15	0.921	0.157	20.595
15	dipolo	ovalidad	fd	15	0.920	0.158	20.178
16	homo	distancia	fd	15	0.919	0.159	20.000
17	Electroneg	distancia	fd	15	0.919	0.159	19.925
18	dureza	ovalidad	fd	15	0.918	0.160	19.711
19	lumo	distancia	fd	15	0.918	0.160	19.513
20	homo	logP GC	fd	15	0.917	0.160	19.466
21	Electroneg	logP GC	fd	15	0.914	0.163	18.685
22	homo	logP dixon	fd	15	0.911	0.166	17.821
23	dureza	distancia	fd	15	0.910	0.167	17.675
24	Electroneg	logP dixon	fd	15	0.907	0.170	17.038
25	lumo	Electroneg	fd	15	0.906	0.171	16.713
26	dipolo	logP GC	fd	15	0.904	0.172	16.421
27	lumo	logP dixon	fd	15	0.904	0.172	16.413
28	lumo	dureza	fd	15	0.902	0.174	16.081
29	dureza	logP GC	fd	15	0.901	0.175	15.753
30	dipolo	logP dixon	fd	15	0.900	0.176	15.664
31	dipolo	logP Villar	fd	15	0.898	0.177	15.319
32	Volumen	distancia	fd	15	0.894	0.181	14.563
33	dureza	logP dixon	fd	15	0.893	0.181	14.434
34	Area sup	distancia	fd	15	0.893	0.182	14.384
35	dureza	logP Villar	fd	15	0.892	0.182	14.309
36	Volumen	logP Villar	fd	15	0.891	0.183	14.108
37	Volumen	logP dixon	fd	15	0.890	0.184	13.943
38	Volumen	logP GC	fd	15	0.890	0.184	13.930
39	ovalidad	distancia	fd	15	0.889	0.184	13.843
40	Area sup	logP Villar	fd	15	0.889	0.185	13.774
41	logP Villar	distancia	fd	15	0.888	0.185	13.654
42	Area sup	logP dixon	fd	15	0.888	0.186	13.627

43	Area sup	logP GC	fd	15	0.887	0.186	13.597
44	logP dixon	distancia	fd	15	0.886	0.187	13.432
45	logP GC	distancia	fd	15	0.886	0.187	13.407
46	ovalidad	logP Villar	fd	15	0.884	0.189	13.071
47	ovalidad	logP dixon	fd	15	0.882	0.190	12.840
48	ovalidad	logP GC	fd	15	0.882	0.190	12.830

De lo anterior se observa que el parámetro de mayor importancia sigue siendo Fd, con una pequeña contribución de parámetros electrónicos y estéricos, aunque éstos últimos no son estadísticamente significativos como se observa en las siguientes ecuaciones

$$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = +0.12962(\pm 0.04441) \text{Fd} - 1.88298(\pm 0.113181)$$

n=015; r=0.867; s=0.185; F=39.189..... (ec. 5)

$$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = -0.68675(\pm 0.65518) \text{HOMO} + 0.11648(\pm 0.04093) \text{Fd} - 7.79676(\pm 5.642806)$$

n=015; r=0.909; s=0.161; F=28.377..... (ec. 6)

$$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = -0.70211(\pm 0.60670) \text{HOMO} + 0.00169(\pm 0.00204) \text{Asup} + 0.10510(\pm 0.04030) \text{Fd} - 8.58061(\pm 5.307944)$$

n=015; r=0.930; s=0.148; F=23.558..... (ec. 7)

▪ **Mejor ecuación :**

$$\text{Log}(1/\text{Cl}_{50}) = -0.68675(\pm 0.65518) \text{HOMO} + 0.11648(\pm 0.04093) \text{Fd} - 7.79676(\pm 5.642806)$$

n=015; r=0.909; s=0.161; F=28.377..... (ec. 6)

Estadísticas de la regresión	
Coeficiente de correlación múltiple	0.9092
Coeficiente de determinación r^2	0.8267
r^2 ajustado	0.7979
Error típico	0.1605
Observaciones	15
F	28.377

Compuesto	Sustituyente	Actividad observada	Pronóstico	Residuos
I	3'-Cl	-2.1117	-2.0690	-0.0427
II	3'-CN	-1.1784	-1.4519	0.2735
III	3'-OMe	-1.8774	-1.7835	-0.0939
IV	3'-CF ₃	-1.7762	-1.4506	-0.3256
VI	3'-OH	-2.1647	-2.1502	-0.0145
VII	3'-NHMe	-2.1270	-1.9913	-0.1358
VIII	4'-Cl	-2.3010	-2.3045	0.0035
IX	4'-OMe	-2.3010	-2.3440	0.0430
X	4'-CN	-2.3010	-2.3392	0.0381
XIII	3'-EDA	-1.2999	-1.5527	0.2528
XXXI*	3'-H	-2.1867	-2.1831	-0.0036
XXXIII*	3'-NH ₂	-2.1424	-2.2288	0.0864
XXXIV*	3'-NHAc	-2.3010	-2.1890	-0.1121
XXXV*	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	-2.3010	-2.3927	0.0917
XXXVI	9-NHPy	-1.9792	-1.9183	-0.0609

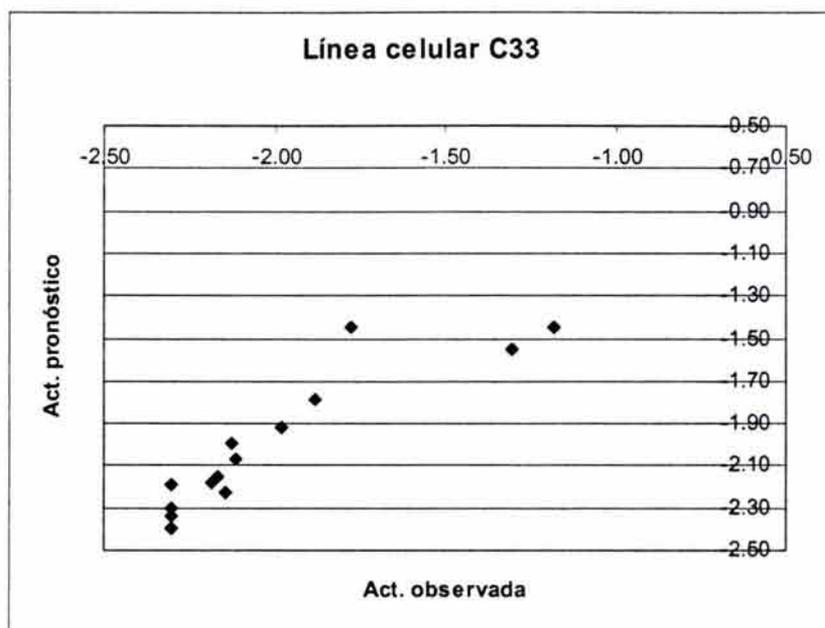


Gráfico 4. Actividad observada contra actividad pronosticada en la línea celular C-33

▪ **Línea celular SW480:**

	Var-01	Var-02		n	r	s	F
1	Volumen	Fd		15	0.933	0.138	40.073
2	Area sup	Fd		15	0.928	0.143	36.987
3	ovalidad	Fd		15	0.914	0.155	30.514
4	HOMO	Fd		15	0.886	0.178	21.904
5	dipolo	Fd		15	0.884	0.179	21.485
6	Electroneg	Fd		15	0.883	0.180	21.319
7	LUMO	Fd		15	0.883	0.180	21.136
8	distancia	Fd		15	0.870	0.189	18.681
9	dureza	Fd		15	0.870	0.189	18.601
10	logP Villar	Fd		15	0.860	0.195	17.077
	Var-01	Var-02	Var-03	n	r	s	F
1	HOMO	Volumen	Fd	15	0.960	0.112	43.229
2	Volumen	Electroneg	Fd	15	0.959	0.113	41.968
3	HOMO	Area sup	Fd	15	0.959	0.114	41.786
4	dipolo	ovalidad	Fd	15	0.958	0.114	41.358
5	Area sup	Electroneg	Fd	15	0.958	0.115	40.745
6	LUMO	Volumen	Fd	15	0.956	0.118	38.619
7	Volumen	dureza	Fd	15	0.956	0.118	38.572
8	Area sup	dureza	Fd	15	0.955	0.119	37.574
9	LUMO	Area sup	Fd	15	0.954	0.119	37.536
10	Electroneg	ovalidad	Fd	15	0.951	0.123	34.921
11	HOMO	ovalidad	Fd	15	0.951	0.123	34.883
12	LUMO	ovalidad	Fd	15	0.948	0.127	32.857
13	dureza	ovalidad	Fd	15	0.944	0.132	30.181
14	Volumen	distancia	Fd	15	0.935	0.142	25.309
15	Volumen	logP Villar	Fd	15	0.934	0.143	24.852

16	Volumen	logP GC	Fd	15	0.933	0.144	24.625
17	Volumen	logP dixon	Fd	15	0.933	0.144	24.490
18	Area sup	logP Villar	Fd	15	0.928	0.149	22.913
19	Area sup	distancia	Fd	15	0.928	0.149	22.909
20	Area sup	logP GC	Fd	15	0.928	0.149	22.704
21	Area sup	logP dixon	Fd	15	0.928	0.149	22.622
22	ovalidad	logP Villar	Fd	15	0.916	0.161	19.093
23	ovalidad	logP GC	Fd	15	0.914	0.162	18.724
24	ovalidad	distancia	Fd	15	0.914	0.162	18.701
25	ovalidad	logP dixon	Fd	15	0.914	0.162	18.647
26	dipolo	distancia	Fd	15	0.905	0.170	16.642
27	LUMO	distancia	Fd	15	0.895	0.179	14.726
28	HOMO	logP GC	Fd	15	0.895	0.179	14.712
29	Electroneg	distancia	Fd	15	0.895	0.179	14.679
30	HOMO	distancia	Fd	15	0.894	0.179	14.654
31	dipolo	logP GC	Fd	15	0.894	0.179	14.641
32	Electroneg	logP GC	Fd	15	0.893	0.180	14.435
33	LUMO	logP GC	Fd	15	0.892	0.181	14.248
34	HOMO	logP dixon	Fd	15	0.886	0.186	13.387
35	dipolo	logP Villar	Fd	15	0.885	0.186	13.255
36	dipolo	logP dixon	Fd	15	0.885	0.186	13.228
37	Electroneg	logP dixon	Fd	15	0.883	0.187	13.034
38	dureza	distancia	Fd	15	0.883	0.187	13.032
39	LUMO	logP dixon	Fd	15	0.883	0.188	12.925
40	dipolo	Area sup	logP Villar	15	0.880	0.190	12.600
41	dipolo	ovalidad	logP Villar	15	0.879	0.191	12.454
42	dureza	logP GC	Fd	15	0.877	0.193	12.167
43	logP Villar	distancia	Fd	15	0.873	0.195	11.795
44	logP dixon	distancia	Fd	15	0.873	0.195	11.697
45	dureza	logP Villar	Fd	15	0.871	0.197	11.477
46	logP GC	distancia	Fd	15	0.870	0.197	11.417
47	dureza	logP dixon	Fd	15	0.870	0.197	11.398
48	dipolo	Volumen	logP Villar	15	0.866	0.200	11.046

En esta línea celular nuevamente el parámetro Fd es la mayor importancia pero se observa más claramente el efecto electrónico y estérico como se observa en las siguientes ecuaciones obtenidas:

$$\text{Log}(1/C_{150}) = +0.00288(\pm 0.00174) \text{ Volumen} + 0.10816(\pm 0.03531) \text{ Fd} - 2.99086(\pm 0.667667)$$

n=015; r=0.933; s=0.138; F=40.073.....(ec. 8)

$$\text{Log}(1/C_{150}) = -0.56969(\pm 0.45878) \text{ HOMO} + 0.00287(\pm 0.00142) \text{ Volumen} + 0.09737(\pm 0.03011) \text{ Fd} - 7.89032(\pm 3.983108)$$

n=015; r=0.960; s=0.112; F=43.229.....(ec.9)

▪ **Mejor ecuación:**

$$\text{Log}(1/C_{150}) = -0.56969(\pm 0.45878) \text{ HOMO} + 0.00287(\pm 0.00142) \text{ Volumen} + 0.09737(\pm 0.03011) \text{ Fd} - 7.89032(\pm 3.983108)$$

n=015; r=0.960; s=0.112; F=43.229.....(ec.9)

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0.9596
Coefficiente de determinación R ²	0.8996
R ² ajustado	0.8722
Error típico	0.1267
Observaciones	15
F	43.2290

Compuesto	Sustituyente	Actividad observada	Pronóstico	Residuos
I	3'-Cl	-2.0441	-2.1044	0.0603
II	3'-CN	-1.4576	-1.5720	0.1144
III	3'-OMe	-1.8238	-1.8341	0.0103
IV	3'-CF ₃	-1.8138	-1.5305	-0.2832
VI	3'-OH	-2.1672	-2.1914	0.0243
VII	3'-NHMe	-2.0060	-1.9987	-0.0072
VIII	4'-Cl	-2.3010	-2.3014	0.0004
IX	4'-OMe	-2.3010	-2.3023	0.0013
X	4'-CN	-2.3010	-2.3115	0.0104
XIII	3'-EDA	-1.1335	-1.2758	0.1423
XXXI*	3'-H	-2.3010	-2.3914	0.0904
XXXIII*	3'-NH ₂	-2.3010	-2.2471	-0.0538
XXXIV*	3'-NHAc	-2.3010	-2.1004	-0.2005
XXXV*	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	-2.3010	-2.3054	0.0043
XXXVI	9-NHPy	-1.9464	-2.0323	0.0859

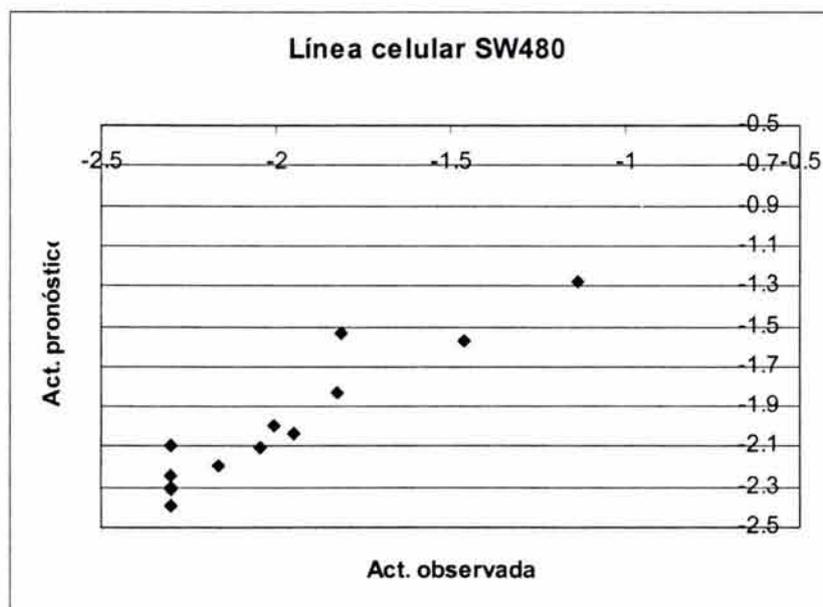


Gráfico 5. Actividad observada contra actividad pronosticada en la línea celular SW480

▪ **Línea celular SW620:**

	Var-01	Var-02		N	R	S	F
1	Volumen	Fd		15	0.904	0.149	26.776
2	Area sup	Fd		15	0.895	0.155	24.146
3	ovalidad	Fd		15	0.885	0.162	21.666
	Var-01	Var-02	Var-03	N	R	S	F
1	Volumen	distancia	Fd	15	0.925	0.138	21.769
2	Volumen	dureza	Fd	15	0.911	0.150	17.850
3	Area sup	distancia	Fd	15	0.911	0.150	17.795
4	Area sup	ovalidad	Fd	15	0.909	0.151	17.524
5	Volumen	ovalidad	Fd	15	0.909	0.151	17.434
6	Area sup	Volumen	Fd	15	0.907	0.153	17.079
7	Volumen	logP GC	Fd	15	0.907	0.153	16.988
8	Volumen	Electroneg	Fd	15	0.906	0.154	16.830
9	HOMO	Volumen	Fd	15	0.906	0.154	16.809
10	LUMO	Volumen	Fd	15	0.906	0.154	16.756
11	dipolo	Volumen	Fd	15	0.906	0.154	16.702
12	Area sup	dureza	Fd	15	0.904	0.155	16.369
13	Volumen	logP dixon	Fd	15	0.904	0.155	16.366
14	Volumen	logP Villar	Fd	15	0.904	0.155	16.364
15	Area sup	Electroneg	Fd	15	0.898	0.159	15.356
16	ovalidad	distancia	Fd	15	0.898	0.160	15.334
17	HOMO	Area sup	Fd	15	0.898	0.160	15.325
18	LUMO	Area sup	Fd	15	0.898	0.160	15.297
19	Area sup	logP GC	Fd	15	0.898	0.160	15.236
20	dipolo	Area sup	Fd	15	0.897	0.160	15.153
21	dureza	ovalidad	Fd	15	0.896	0.161	14.885
22	Area sup	logP Villar	Fd	15	0.895	0.162	14.757
23	Area sup	logP dixon	Fd	15	0.895	0.162	14.756
24	Electroneg	ovalidad	Fd	15	0.891	0.165	14.106
25	LUMO	ovalidad	Fd	15	0.891	0.165	14.098
26	HOMO	ovalidad	Fd	15	0.890	0.165	14.006
27	dipolo	ovalidad	Fd	15	0.889	0.166	13.849
27	ovalidad	logP GC	Fd	15	0.888	0.167	13.670
29	ovalidad	logP Villar	Fd	15	0.885	0.169	13.253
28	ovalidad	logP dixon	Fd	15	0.885	0.169	13.245

En esta línea celular hay una mayor influencia del parámetro estérico que el electrónico, pues ninguna de las ecuaciones consideradas, incluye parámetros de este tipo como se aprecia:

$$\text{Log}(1/Cl_{50}) = +0.00259(\pm 0.00188) \text{ Volumen} + 0.09434(\pm 0.03800) \text{ Fd} - 2.86885(\pm 0.718472)$$

$$n=015; r=0.904; s=0.149; F=26.776$$

$$\text{Log}(1/Cl_{50}) = +0.00354(\pm 0.00213) \text{ Volumen} - 0.11498(\pm 0.14540) \text{ Distancia} + 0.08649(\pm 0.03689) \text{ Fd} - 2.99909(\pm 0.691663)$$

$$n=015; r=0.925; s=0.138; F=21.769$$

▪ **Mejor ecuación:**

$$\text{Log}(1/Cl_{50}) = +0.00259(\pm 0.00188) \text{ Volumen} + 0.09434(\pm 0.03800) \text{ Fd} - 2.86885(\pm 0.718472)$$

$$n=015; r=0.904; s=0.149; F=26.776$$

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.9040
Coefficiente de determinación R ²	0.8116
R ² ajustado	0.7776
Error típico	0.1518
Observaciones	15
F	26.776

Compuesto	Sustituyente	Actividad observada	Pronóstico	Residuos
I	3'-Cl	-2.1130	-2.0932	-0.0199
II	3'-CN	-1.6410	-1.6628	0.0218
III	3'-OMe	-1.4246	-1.7650	0.3404
IV	3'-CF ₃	-1.7943	-1.6416	-0.1527
VI	3'-OH	-2.1654	-2.1292	-0.0362
VII	3'-NHMe	-2.0744	-1.8912	-0.1832
VIII	4'-Cl	-2.1642	-2.2575	0.0933
IX	4'-OMe	-2.0445	-2.1683	0.1237
X	4'-CN	-2.3010	-2.4189	0.1179
XIII	3'-EDA	-1.2949	-1.3453	0.0504
XXXI*	3'-H	-2.3010	-2.2927	-0.0083
XXXIII*	3'-NH ₂	-2.3010	-2.1327	-0.1683
XXXIV*	3'-NHAc	-2.1872	-2.0404	-0.1468
XXXV*	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	-2.2646	-2.1755	-0.0891
XXXVI	9-NHPy	-2.0181	-2.0751	0.0570

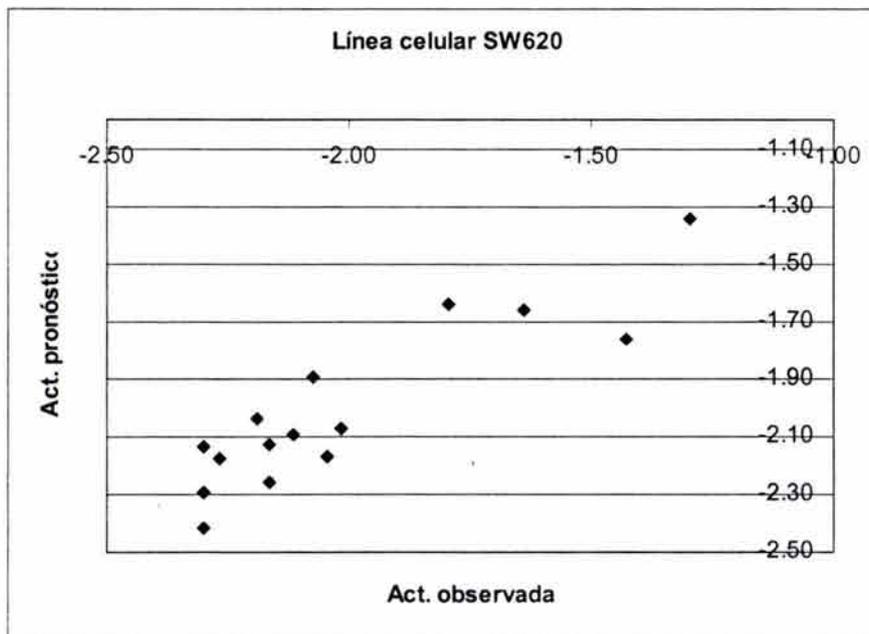


Gráfico 6. Actividad observada contra actividad pronosticada en la línea celular SW620

▪ Línea celular K-562

En este caso no pudo encontrarse una ecuación que satisficiera los criterios establecidos en la búsqueda

Como es posible observar el papel de la formación de puentes de hidrógeno resulta crítico en todas las ecuaciones desarrolladas para las líneas celulares. También se incluyen parámetros estéricos y electrónicos como los segundos de mayor importancia, sin embargo para las 9-anilino[5,4-b]quinolinas resulta importante la presencia de un grupo funcional en la posición 3' que sea aceptor en la formación de puentes de hidrógeno y la actividad se verá aún más favorecida si es un grupo electroattractor.

Por otra parte también resulta de interés explorar en el caso del compuesto XIII si la actividad se debe a la presencia de la cadena de alquilamino en la amida, al cumplimiento de las características de formación de puentes de hidrógeno como aceptor y grupo electroattractor o bien a ambas. Asimismo, en el diseño de nuevos compuestos se propone explorar otros grupos funcionales que cumplan con las características anteriores como los que se ilustran en la figura 65, a fin de corroborar los planteamientos sugeridos en esta parte del trabajo.

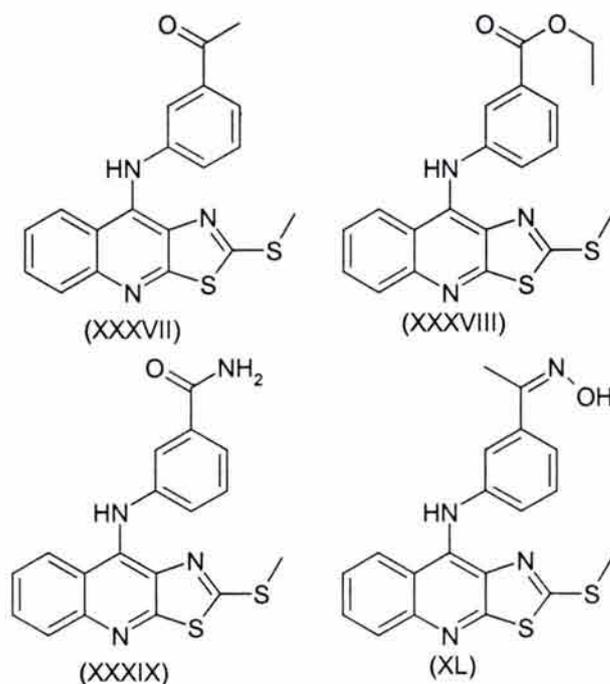


Figura 65. Nuevos compuesto sugeridos

Otro parámetro que se observó que pudiera tener injerencia es el momento dipolar. Se pensó que podría descomponerse el vector dipolo en sus componentes a fin de tener una idea de que dirección podría tener. Sin embargo los conformeros estudiados no permitían del todo el observar la influencia de los grupos funcionales en el dipolo por razones que se explican más adelante.

De tal forma que se eligió considerar otros conformeros que pudieran estar presentes, en particular para el caso de los derivados sustituidos en la posición 3' del anillo de anilina puesto que uno de los parámetros que más iba a variar era el dipolo, en particular este nuevo análisis iba a permitir establecer con mayor claridad la contribución que hace al dipolo la presencia de los distintos grupos (ver figura 66), puesto que podría verse "la competencia" entre la contribución al dipolo el núcleo tricíclico y el anillo de anilina. Como el valor absoluto del dipolo no ayuda a

establecer lo anterior, se eligió tomar las componentes vectoriales del dipolo. La posición en coordenadas cartesianas se consideró como se ilustra en la figura 67.

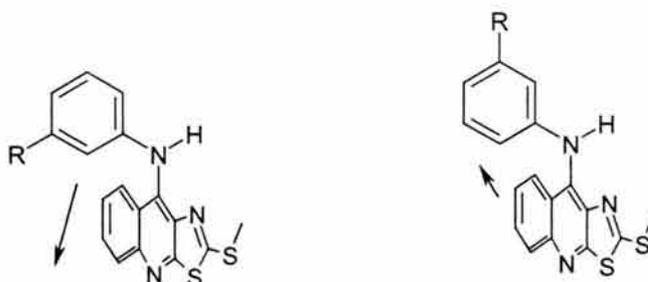


Figura 66. Consideración establecida para determinar la influencia de los sustituyentes en el anillo de anilino

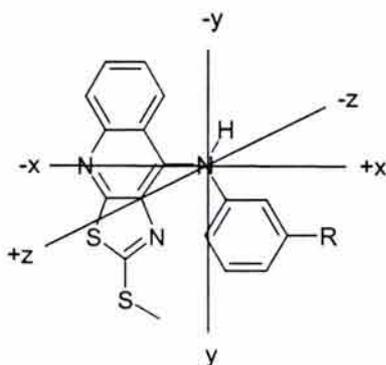


Figura 67. Coordenadas cartesianas consideradas

Las componentes vectoriales del dipolo de cada uno de los compuestos se ilustra en la tabla 29.

Tabla 29. Componentes dipolares

Compuesto	Sustituyente	x	y	z
I	3'-Cl	-4.2851	-0.2770	-3.4468
II	3'-CN	-0.9711	-0.3756	-2.8076
III	3'-OMe	-4.6986	1.5497	-6.2192
IV	3'-CF ₃	-1.7022	-0.2638	-3.1983
V	3'-NO ₂	-1.9084	-0.1294	-1.2399
VI	3'-OH	-4.5515	-0.5129	-5.2545
VII	3'-NHMe	-4.4404	-1.0647	-7.7526
VIII	4'-Cl	-4.0216	0.6925	-4.0770
IX	4'-OMe	-4.3523	-2.1909	-8.3790
X	4'-CN	-2.2238	2.8099	-2.0715
XI	9-EDA	-5.5486	4.3162	-5.5184
XII	2-EDA	-5.7744	-2.4145	-2.1564
XIII	3'-(CO)EDA	-1.3650	-2.5544	-1.9962
XXXI*	3'-H	-4.7187	-0.5491	-2.8166
XXXII*	2-EDA, 3'-H	-4.7292	-0.1955	-4.9301
XXXIII*	3'-NH ₂	-4.2888	2.0279	-6.2339
XXXIV*	3'-NHAc	-4.6129	1.5649	-7.3360
XXXV*	3'-NH ₂ , 5'-CH ₂ OH	-4.6239	-1.5953	-7.0711
XXXVI	9-NHPy	-1.5778	-1.8270	-3.4373

La gráfica de estos nuevos parámetros obtenidos contra el $\log(1/CI_{50})$ en la línea celular HeLa (gráfico 7) indicó que para la componente del dipolo en el eje x (ver figura 67), existen dos regiones, una donde se encuentran los compuestos sustituidos con grupos electroattractores y otra región donde se encuentran los grupos electrodonadores, así como los compuestos con el residuo de alquilamino incorporado al núcleo tricíclico.

Es de destacar que se observa una buena correlación entre la actividad citotóxica y la componente en x en las diferentes regiones, en el caso de los compuestos con grupos electroattractores se observa que mientras menor sea la componente del dipolo en x mayor es la actividad citotóxica, mientras que en los compuestos con grupos electrodonadores, por el contrario si el valor de la componente en x es mayor, la actividad citotóxica se incrementa.

Esto sugiere al menos dos comportamientos diferentes uno donde el momento dipolar no esté orientado hacia el nitrógeno del anillo de quinolina, y ello favorece la actividad citotóxica y otro donde la actividad se favorece por un mayor momento dipolar en dicha dirección. Esto complementa a los postulados establecidos anteriormente, ya que siguen siendo factores importantes para la actividad citotóxica el patrón de sustitución y la presencia de grupos aceptores en la formación de puentes de hidrógeno.

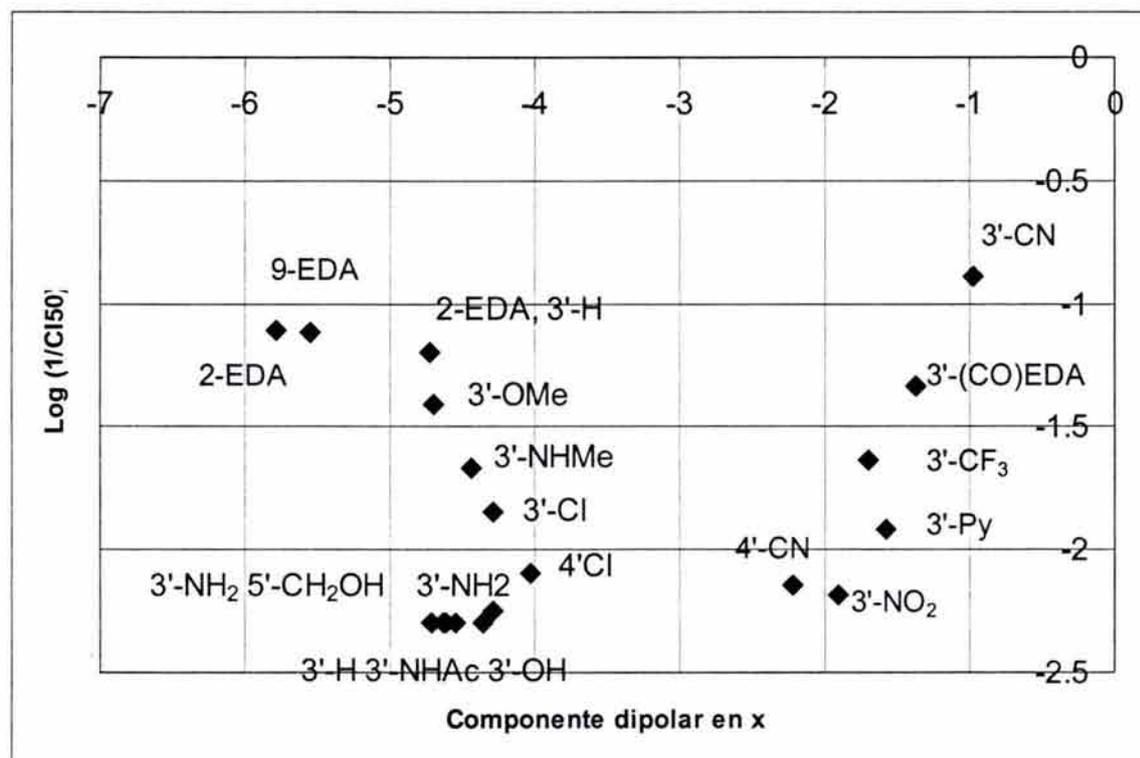


Gráfico 7. Gráfico del $\log(1/CI_{50})$ en la línea celular HeLa contra la componente del dipolo en el eje x

En particular llamó la atención que los compuestos con grupos electrodonadores (en particular grupos amino) estuvieran en la misma "región" que los compuestos que poseen la cadena de alquilamino. Alvarez-Ibarra *et al* habían establecido que era necesaria para la actividad citotóxica la presencia de dos centros básicos y que estuvieran dentro de una cadena flexible.⁽⁴⁷⁾ De esto surgió la observación de que los anillos de 3-aminoanilina de alguna manera cumplen con ese requisito, puesto poseen dos centros básicos, aunque carecen de la libertad conformacional de las cadenas alifáticas del alquilamino (figura 68). Sin embargo al comparar las geometrías optimizadas de los confómeros de menor energía de los compuestos que contienen el residuo de

alquilamino con los que poseen el anillo de 3-aminoanilina, se observa que el átomo de nitrógeno terciario de los primeros está prácticamente en la misma relación espacial respecto al anillo tricíclico, que el átomo de nitrógeno ubicado en la posición 3' del anillo de anilina respecto al núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina en los segundos (figura 69).

Al analizar las cargas electrostáticas, obtenidas de los estudios de modelado molecular (se ilustran en la figura 68) es posible notar que en los compuestos que tienen el anillo de 3-aminoanilina el valor de las cargas es más negativo en los átomos de nitrógeno, comparado con los de las cadenas de alquilamino. También es de notar que la carga del átomo de nitrógeno ubicado en la posición 3' es menor en el compuesto VII (3'-NHMe) que en el compuesto XXXIII (3'-NH₂) y el primero posee mejor actividad citotóxica que el segundo. De tal manera que podría especularse que la adición de un segundo grupo metilo (compuesto XLI, 3'-NMe₂) pudiera favorecer la actividad puesto que el valor de las cargas electrostáticas en los átomos de nitrógeno en el anillo de *N,N*-dimetilanilina, es muy similar a los átomos de nitrógeno de la cadena de alquilamino.

Puede especularse sobre el papel que podrían tener los átomos de nitrógeno terciarios y los átomos de nitrógeno del grupo amino en el anillo de 3-aminoanilina. Por una parte considerando que a pH fisiológico estos átomos estuvieran protonados o tuvieran una menor densidad de carga, es posible que éstos se asociaran a los grupos fosfatos que se encuentran cargados negativamente y esto repercuta en un incremento en la afinidad con el ADN. Esto concuerda con la observación de la gran afinidad que posee el compuesto XXXIII (3'-NH₂) por el ADN.⁽⁴⁷⁾ También puede especularse que estos residuos se unen a la enzima ADN topoisomerasa II en una región donde existen residuos de aminoácidos con carga negativa y que además exista cierto requerimiento estérico positivo, lo cual explicaría la mayor actividad del compuesto VII comparada con el compuesto XXXIII

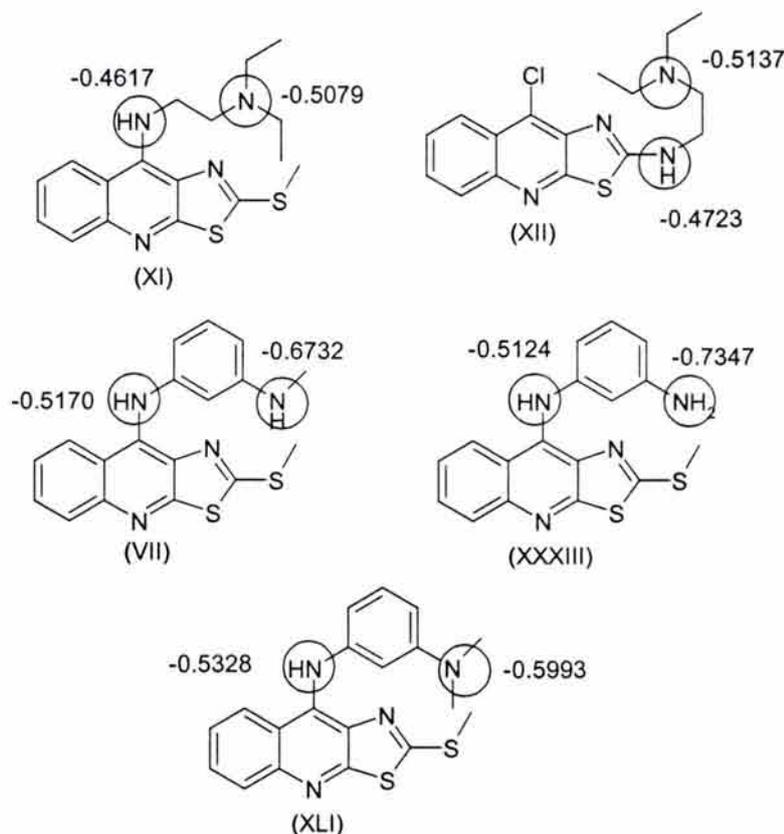


Figura 68. Comparación de las cargas en los átomos de nitrógeno de los compuestos con residuo de alquilamino y 9-(3-aminoanilina)

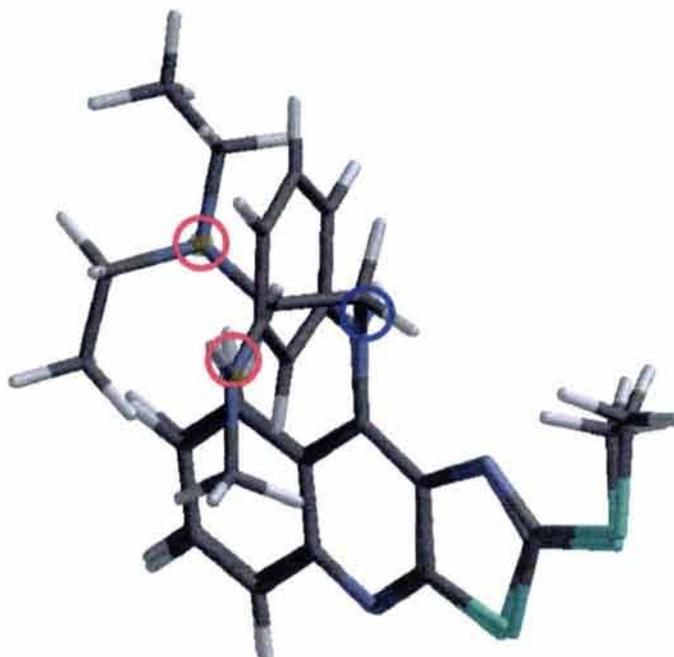


Figura 69. Traslapo entre las geometrías optimizadas del compuesto VII y el compuesto XI. Se indica la posición de los átomos de nitrógeno secundarios (azul) y terciarios (rojo)

De manera general puede comentarse que el método empleado para la síntesis de estos compuestos resulta adecuada para la escala a la cual se prepararon. Por otra parte, durante los estudios de modelaje molecular se obtuvieron algunas tendencias, aunque no se encontró relación con los datos de actividad citotóxica.

Resultó de interés el observar que la modificación del patrón de sustitución en el anillo de anilina si afecta de modo significativo la actividad biológica, además la incorporación de una cadena del alquilamino mejora también sustancialmente la actividad citotóxica. Una de las perspectivas a futuro de este trabajo sería la síntesis y evaluación de la actividad citotóxica de compuestos que combinen un patrón de sustitución adecuado en el anillo de anilina y la presencia de una cadena de alquilamino en el núcleo tricíclico (figura 70), esperando que la actividad citotóxica se incremente.

Otra perspectiva incluiría el estudio de la afinidad y selectividad de estos compuestos por secuencias de ADN ya que se ha observado que cambios en el patrón de sustitución en el anillo de anilina repercuten en la unión al ADN,⁽⁴⁷⁾ con la finalidad de encontrar si estos compuestos poseen afinidad por algunas secuencias de bases, como se ha determinado para otro tipo de agentes intercalantes.^(18-20,23)

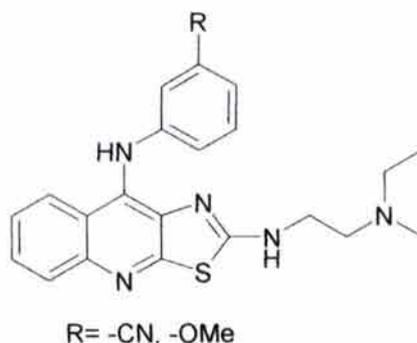


Figura 70. 9-anilino-2-[2-(N,N-diethylamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolinas

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Reactivos y equipo

Todas las materias primas utilizadas en la síntesis se adquirieron comercialmente en grado reactivo.

Para la evaporación de los disolventes se empleó un evaporador rotatorio marca Büchi modelo RE 111. Para la destilación a presión reducida se ocupó una bomba para vacío marca FELISA modelo FE-1405 con capacidad máxima de 0.1 mmHg.

Para la hidrogenación catalítica se utilizó un hidrogenador marca Parr modelo 3916EG a 60 psi y 80° C como capacidad máxima y un frasco reactor de 500 ml utilizando hidrógeno marca INFRA.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de infrarrojo se determinaron en un aparato Nicolet FT5SX en pastilla de KBr a menos que se indique otra cosa. Las unidades se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se realizaron en un aparato Varian VxR-300S (300 MHz) y Varian 300S (75 MHz), respectivamente. Los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de señales se expresa como s= señal simple, d= señal doble, t= señal triple, c= señal cuádruple, sa= señal simple ancha, ta= señal triple ancha, dd= señal doble de doble, ddd= señal doble de doble de doble, dt= señal doble de triple, m= señal múltiple. Se utilizó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolventes dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) y cloroformo deuterado (CDCl_3).

Los espectros de masas se determinaron por IE en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA, y por IQ y FAB en un espectrómetro de masas JEOL Sx102, empleando en FAB alcohol 3-nitro bencílico como matriz. El ion molecular se indica como M^+ . La nomenclatura se indica como m/z= masa/carga con su respectiva abundancia relativa.

6.2. Cromatografía

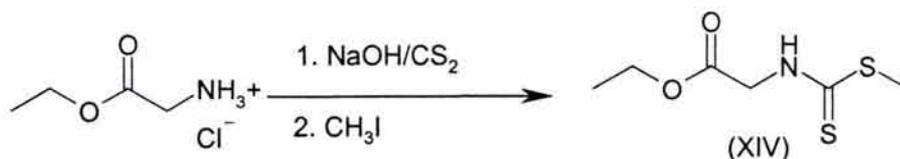
Para las cromatografías en columna se empleó gel de sílice Merck 60 malla 70-230. Los análisis cromatográficos se efectuaron en capa fina analítica siguiendo técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice Merck 60 F_{254} con un espesor de 0.2mm. Para la visualización de las placas se empleó una lámpara de luz UV y exposición a vapores de yodo.

Tabla 30. Sistemas de elución empleados.

Sistema	Mezcla de disolventes	Proporción
I	Hexano/Acetato de etilo	8:2
II	Hexano/Acetato de etilo	7:3
III	Diclorometano/Metanol	9:1
IV	Diclorometano/Metanol/ NH_4OH	9:1:0.1
V	Tolueno-Tetrahidrofurano-Ácido acético	30:3:1

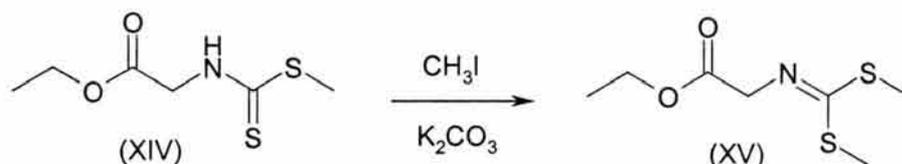
6.3.Descripción de las síntesis

6.3.1.N-((Etoxicarbonil)metil)ditiocarbamato de metilo (XIV)⁽⁵⁴⁾

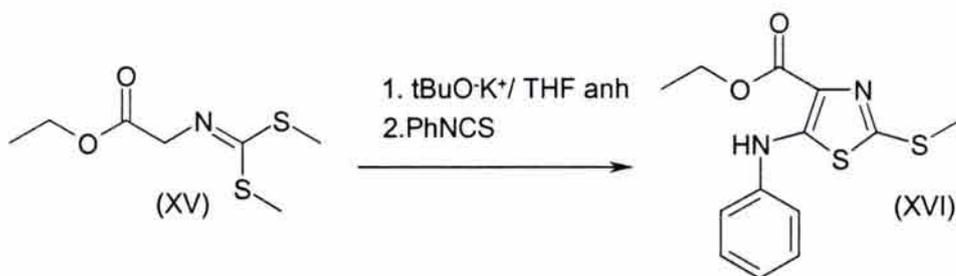


En un matraz de fondo redondo de tres bocas acondicionado con termómetro, agitación mecánica y embudo de adición, se mezclaron 300 ml de dimetilsulfóxido y 83.76 g del diclorhidrato de glicinato de etilo (0.6 moles). La suspensión se agitó vigorosamente a temperatura ambiente hasta disolución total. A esta solución se le adicionaron lentamente 36 ml de solución 20 M de hidróxido de sodio, manteniendo la temperatura a 20° C. Terminada la adición se agregaron lentamente 48 ml de disulfuro de carbono (0.78 moles), manteniendo la temperatura entre 15 y 20° C. Se mantuvo en agitación durante 40 minutos a temperatura ambiente. La solución naranja se enfrió a 0° C y se adicionaron lentamente 48 ml de yoduro de metilo (0.78 moles), manteniendo la temperatura de reacción a 0° C. Terminada la adición se retiró el sistema de enfriamiento y se dejó agitando por 3 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se vertió sobre 3000 ml de una mezcla de hielo-agua con agitación constante. El precipitado formado se aisló y secó por filtración. Se obtuvieron 50.25 g (43.38%) de un precipitado ligeramente amarillo (Lit. 51%⁽⁵⁴⁾) con un Rf de 0.30 (sistema I)

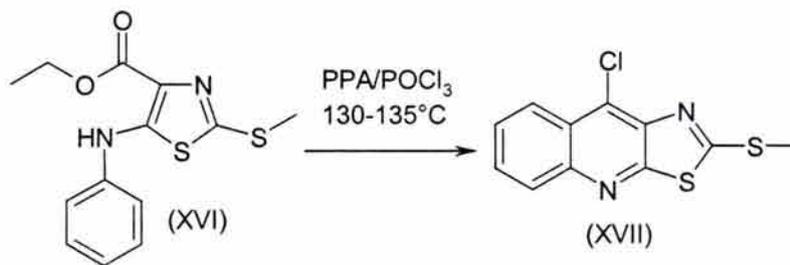
6.3.2.N-((Etoxicarbonil)metil)iminoditiocarbamato de dimetilo (XV)⁽⁵⁵⁾



En un matraz de fondo redondo de tres bocas acondicionado con termómetro, agitación mecánica y embudo de adición se mezclaron 43 g del crudo del compuesto XIV (aproximadamente 0.224 moles), en 120 ml de dimetilsulfóxido, a la solución amarilla resultante se le agregó lentamente, una solución de 48 g de carbonato de potasio en 38 ml de agua, manteniendo la temperatura en 20° C, formándose una suspensión color rojo pardo. Terminada la adición la suspensión se enfrió a 0° C y se adicionaron lentamente 20 ml de yoduro de metilo (0.32 moles), manteniendo la temperatura en 0° C y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió lentamente sobre 1000 ml de agua con agitación. La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo (4 x 400 ml). Los extractos orgánicos se trataron con sulfato de sodio anhidro y se eliminó por evaporación el acetato de etilo obteniéndose un aceite oscuro. Este aceite se purificó por destilación a presión reducida, colectando la fracción que destiló entre 145-160° C. Se obtuvieron 41.93 g (90.43%) de un aceite incoloro que se torna amarillo con la exposición a la luz (Lit. 98%⁽⁵⁵⁾) con un Rf de 0.4 (sistema II)

6.3.3.4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (XVI) ^(48,55)

En un matraz de tres bocas, tipo europeo, acondicionado con termómetro para bajas temperaturas, embudo de adición, condiciones anhidras y atmósfera de argón, se mezclaron 6.34 g de *tert*-butóxido de potasio (56.60 mmoles) en 200 ml de tetrahidrofurano anhidro. La suspensión formada se enfrió a -75°C mediante un baño de hielo seco-acetona. Al embudo de adición se transfirió mediante una cánula una solución de 8 g del compuesto XV (38.64 mmoles) en 15 ml de tetrahidrofurano anhidro, la cual se adicionó por goteo a la suspensión de *tert*-butóxido de potasio, manteniendo la temperatura en -75°C . Terminada la adición, la solución amarillo-naranja resultante se dejó agitar durante 90 minutos a la misma la temperatura. A continuación se transfirió al embudo de adición una solución de 4.8 ml de isotiocianato de fenilo (38.64 mmoles) en 15 ml de tetrahidrofurano anhidro y se adicionó por goteo, cuidando que la temperatura se mantuviera en -75°C . Se dejó agitar durante 45 minutos más y se retiró el sistema de enfriamiento. Cuando la temperatura se acercó a -10°C se formó un precipitado amarillo. La suspensión formada se dejó en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo la suspensión amarilla se vertió lentamente en 1600 ml de agua con agitación constante, formándose un precipitado blanco el cual se separó y secó por filtración al vacío. Se obtuvieron 10.4 g (91.5 %) del compuesto III (Lit. 90% ^(48,55)) con un punto de fusión de 80°C (Lit. $79-80^\circ \text{C}$ ^(48,55)) y un Rf de 0.57 (sistema I)

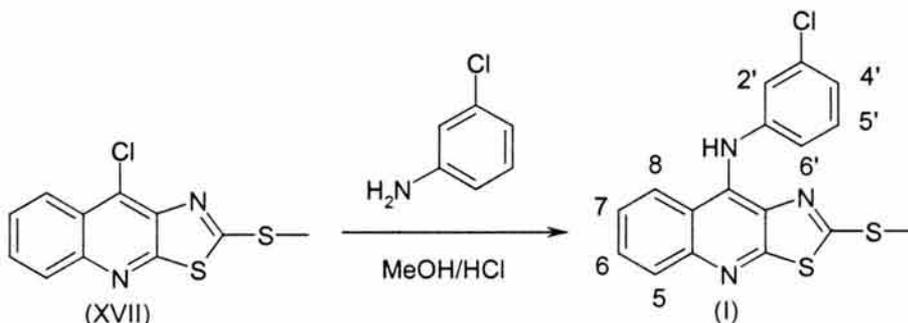
6.3.4.9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XVII) ⁽⁴⁸⁾

En un matraz de fondo redondo de 1 boca se colocaron 2.94 g (10 mmol) del compuesto XVI, se adicionaron 710 mg de ácido polifosfórico y 3 ml de oxiclورو de fósforo (11.7 mmol). La mezcla de reacción se calentó, con agitación constante a $130-135^\circ \text{C}$ por 4 horas. Terminado este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron lentamente 5 ml de etanol frío, formándose un aceite color café. Al disolverse el aceite precipitó un sólido color naranja. La suspensión se vertió sobre 20 ml de agua y se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio. El precipitado amarillo-café se separó por filtración al vacío y secó por succión. El crudo se suspendió en metanol, se calentó ligeramente con agitación durante 5 minutos y se filtró para obtener 1.66 g (62.4%) del compuesto VII (Lit 60.3% ⁽⁴⁸⁾) con un punto de fusión de 160°C (Lit. 160°C ^(48,49)) y un Rf de 0.65 (sistema I)

6.3.5. Método general para la obtención de derivados de 2-metiltio-9-anilino-tiazolo[5,4-b]quinolina

En un matraz de fondo redondo de una boca acondicionado con refrigerante se suspendieron 133 mg (0.5 mmol) del compuesto XVII en 5 ml de metanol y se añadieron 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se dejó agitar por 10 minutos. Terminado este tiempo se agregaron 0.7 mmol de la anilina con el patrón de sustitución deseado, y se calentó la mezcla a reflujo durante 6-8 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se eliminó el metanol a presión reducida. El residuo se suspendió en 10 ml de agua y se ajustó a pH= 8 con carbonato de sodio al 10% precipitando un sólido que se filtró al vacío, se lavó con agua destilada y posteriormente con acetona fría y se secó por succión.

6.3.6.9-[[3-cloro]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (I)



Rendimiento: 133 mg (74.50%)

Rf : 0.64 (sistema II)

Punto de fusión: 185-187° C

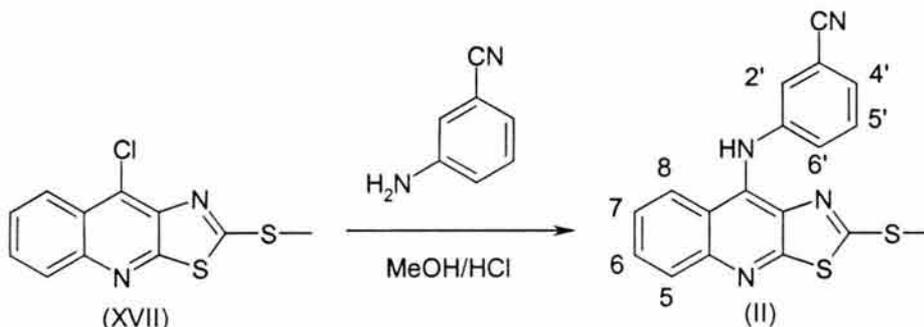
IR (pastilla, espectro 1): 3108 (NH), 3050 (C-H), 1572, 1548, 1516, 1477, 1430, (aromático), 1266 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 2): 2.42 (s, 3H) SCH₃; 7.06 (m, 1H), H-6'; 7.09 (m, 1H), H-4'; 7.18 (t, J= 2.1 Hz, 1H) H-2'; 7.30 (t, J=8.1 Hz, 1H) H-5'; 7.58 (ddd J= 8.1, 6.6, 2.1 Hz, 1H) H-7, 7.79 (ddd, J= 8.1, 6.6, 1.2 Hz, 1H) H-6; 7.94 (dd, J= 8.4, 0.9 Hz 1H) H-5; 8.45 (d, J= 8.4 Hz, 1H) H-8; 9.87 (sa, intercambia con D₂O), NHAr

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 4): 14.5, 119, 119.9, 121.1, 122.3, 123.9, 124.8, 125.9, 129.5, 130.2, 131.7, 132.4, 138.4, 143.5, 144, 159.5, 162.9

EM (FAB, espectro 6): 360 (M⁺+3, 43.5%), 358 (M⁺+1, 100%), 357(M⁺, 25%), 324 (M⁺-33, 2.8%)

6.3.7.9-[[3-ciano]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (II)



Rendimiento: 139 mg (72%)

Rf: 0.37 (sistema II)

Punto de fusión de 210-212° C (con descomposición)

IR (pastilla, espectro 7): 3245 (NH), 2231 (CN), 1624, 1573, 1550, 1498, 1473, 1433 (aromático), 1286 (C-S)

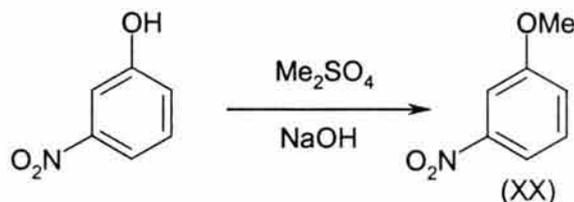
RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 8): 2.30 (s, 3H) SCH₃; 7.56 (m, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.68 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz) H-7; 7.86 (t, J= 1.5 Hz) H-2'; 7.89 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz) H-6; 8.00 (dd, J=8.7, 0.9 Hz) H-5; 8.64 (d, J= 8.4 Hz) H-8; 10.5 (sa, intercambia con D₂O) NHAr

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 10): 14.6, 110.9, 118.8, 119.0, 124.0, 124.6, 125.1, 125.4, 126.2, 126.3, 129.4, 130.6, 131.7, 138.5, 142.7, 143.3, 159.0, 163.3

EM (FAB, espectro 12): 349 (M⁺+1, 100%), 348 (M⁺, 55%), 315 (M-33, 5.8%)

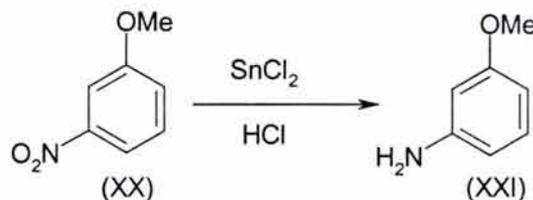
6.3.8.9-[[3-metoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (III)

6.3.8.1.3-nitroanisol (XX)



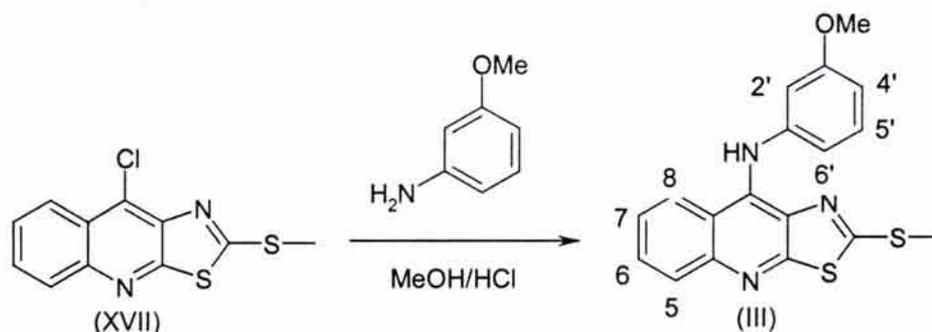
En un matraz de fondo redondo de una boca y con agitación magnética, se colocaron 10 g (0.072 moles) de 3-nitrofenol y se añadieron 30 ml de una solución de NaOH al 15% (0.1125 moles). La mezcla se agitó vigorosamente y se formó una solución de color rojo pardo. La solución se enfrió a 10° C y se añadieron por goteo 7.2 ml (0.076 moles) de sulfato de dimetilo cuidando que la temperatura se mantuviera en 10° C, terminada la adición se dejó agitando a temperatura ambiente por 10 minutos, se adaptó un refrigerante y se calentó a reflujo por 2 horas, durante los primeros 10 minutos la solución se fue aclarando hasta quedar de color café claro. Terminado el tiempo de reflujo se extrajo con acetato de etilo (4 x 20 ml), las fases orgánicas se juntaron y se lavaron con NaOH al 5% (4 x 10 ml) y agua destilada (3 x 15 ml). La fase orgánica se trató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida, quedando un residuo color café que se recristalizó de hexano, obteniéndose 5.90 g (54%) de agujas blancas de 3-nitroanisol con un punto de fusión de 38°C (Lit 38-39° C ⁽⁶³⁾) y un Rf de 0.46 (sistema II)

6.3.8.2.3-aminoanisol (XXI) ⁽⁶²⁾



En un vaso de precipitados con agitación magnética puesto en un baño de hielo-agua, se colocaron 30 ml de HCl concentrado y se añadieron lentamente 7.2 g (30 mmol) de cloruro estano. A la suspensión blanca formada, se le añadió lentamente 1.00 g (7.2 mmol) de 3-nitroanisol, terminada la adición se dejó en agitación por 10 minutos, se retiró el sistema de enfriamiento y se dejó agitando por 1 hora a temperatura ambiente. La suspensión ligeramente amarilla se ajustó a pH= 14 con una solución de NaOH al 50% quedando una solución blanca que se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml), las fases orgánicas se juntaron y se lavaron con agua destilada, hasta que las aguas de lavado fueran neutras. La fase orgánica se trató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida, quedando 700 mg (87%) de un aceite amarillo que mostró una sola mancha en cromatografía de capa fina con un Rf de 0.30 (sistema II). (Técnica adaptada de la referencia ⁽⁶²⁾)

6.3.8.3.9-[[[3-metoxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (III)



Rendimiento: 132 mg (75%)

Rf: 0.48 (sistema II)

Punto de fusión: 175-179° C

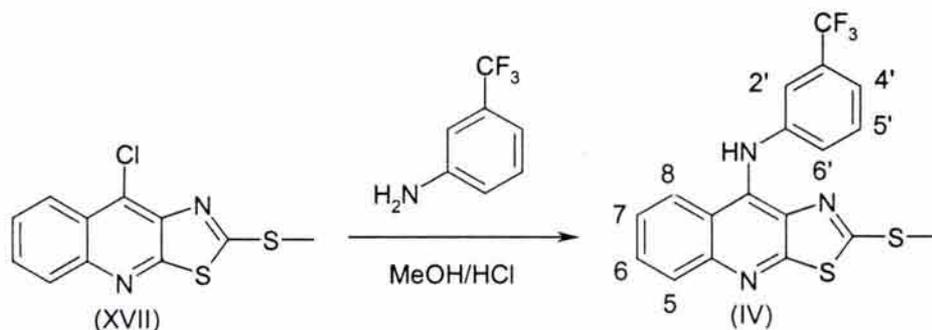
IR (pastilla, espectro 13): 3120 (NH), 3053, 2966 (CH), 2850 (C-H unido a O), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476, (aromático), 1300 (C-S), 1266 (ArO)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 14): 2.38 (s, 3H) SCH₃; 3.71 (s, 3H) OCH₃; 6.74 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 7.25 (t, J= 8.7 Hz) H-5'; 7.60 (ddd, J= 8.4, 6.6, 1.2 Hz) H-7; 7.84 (ddd, J= 8.7, 6.6, 1.2 Hz) H-6; 7.97 (dd, J=8.7, 0.9 Hz) H-5; 8.53 (d, J= 8.4 Hz) H-8; 10.2 (sa, intercambia con D₂O) NHAr

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 15): 14.5, 54.9, 106.5, 107.6, 113.2, 119.6, 123.9, 124.1, 128.1, 128.8, 129.1, 132.1, 137.5, 144.0, 146.4, 159.3, 161.6, 162.5

EM (IE, espectro 16): 354 (M⁺+1, 23%), 353 (M⁺, 100%), 352 (M⁺-1, 11%), 338 (M⁺-15, 6%), 320 (M⁺-33, 21%)

6.3.9.9-[[[3-trifluorometil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (IV)



Rendimiento: 130 mg (67%)

Rf: 0.56 (sistema II)

Punto de fusión: 168-170° C

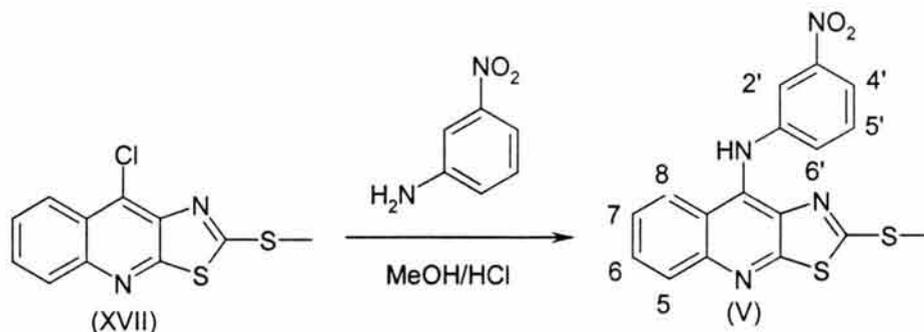
IR (pastilla, espectro 17): 3124 (NH), 3054 (C-H), 1598, 1522, 1503, 1472, 1451, (aromático), 1290 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆ + 1 gota acetona, espectro 18): 2.33 (s, 3H) SCH₃; 3.61 (sa, intercambia con D₂O), NHAr; 7.43 (d J= 7.8 Hz, 1H), H-6'; 7.51 (dd J=8.4, 2.1 Hz, 1H), H-4'; 7.55 (dd, J= 2.1, 2.1 Hz, 1H) H-2'; 7.58 (t, J= 7.8 Hz, 1H) H-5'; 7.65 (ddd J= 8.4, 6.9, 0.9 Hz, 1H) H-7, 7.87 (ddd, J= 8.1, 6.9, 0.9 Hz, 1H) H-6; 8.00 (dd, J= 8.1, 0.9 Hz, 1H) H-5; 8.61 (dd, J= 8.1, 0.9 Hz, 1H) H-8

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 19): 14.3, 118.5, 119.4, 120.1, 123.6, 124.6 (q, J_(C-F)= 270.8 Hz), 124.5, 125.3, 126.7, 129.2, 129.4 (q, J_(C-F)= 31.8 Hz), 131.4, 131.5, 140.7, 141.7, 142.2, 144, 163.2

EM (FAB, espectro 20): 392 (M⁺+1, 100%), 391 (M⁺, 15%), 376 (M⁺-15, 2%), 358 (M⁺-33, 2%)

6.3.10.9-[[[3-nitro)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (V)



Rendimiento: 140 mg (76%)

Rf: 0.44 (sistema II)

Punto de fusión: 201-204° C

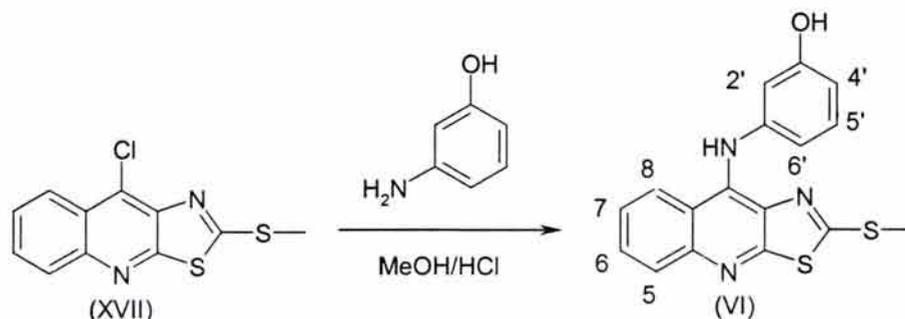
IR (pastilla, espectro 21): 3000 (NH), 2990 (C-H), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476, (aromático), 1518 (NO₂), 1348 (N-O), 1300 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 22): 2.36 (s, 3H) SCH₃; 7.53 (ddd, J= 8.1, 2.1, 2.1 Hz, 1H), H-6'; 7.58 (t, J= 8.1 Hz, 1H), H-5'; 7.65 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz, 1H) H-7; 7.84 (ddd, J=8.4, 6.9, 1.2 Hz, 1H) H-6; 7.88 (ddd J= 8.1, 2.1, 2.1 Hz, 1H) H-4'; 7.96 (t J= 2.1 Hz, 1H) H-4'; 7.97 (d, J= 8.1 Hz, 1H) H-5; 8.47 (d, J= 8.1 Hz, 1H) H-8; 10.23 (sa, intercambia con D₂O), NHAr

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 23): 14.6, 115.5, 117.1, 119.1, 124.1, 125.3, 127.6, 129.2, 130.7, 131.9, 138.5, 143, 143.2, 147.7, 158.8, 163.8

EM (IE, espectro 24): 369 (M⁺+1, 23%), 368 (M⁺, 100%), 367(M⁺-1, 2.5%), 353 (M⁺-15, 2.8%), 338 (M⁺-30, 32%), 335 (M⁺-33, 7.5%)

6.3.11.9-[[[3-hidroxi)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VI)



Rendimiento: 124 mg (73%)

Rf: 0.29 (sistema II)

Punto de fusión: 227-230° C (con descomposición)

IR (pastilla, espectro 25): 3147 (NH), 2775 (C-H unido a O), 1607 (C=N), 1573, 1549, 1497, 1453, (aromático), 1268 (C-S), 1222 (ArO)

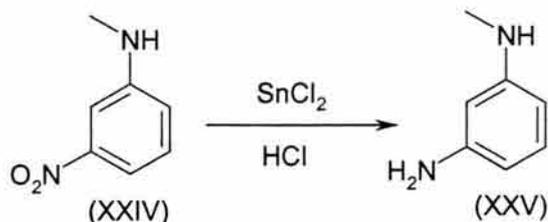
RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 26): 2.38 (s, 3H) SCH₃; 6.67 (ddd, J= 8.1, 1.5, 1.5 Hz, 1H), H-4'; 6.71 (t, J= 1.2 Hz, 1H), H-2'; 6.72 (m, 1H) H-6'; 7.17 (t, J= 8.7 Hz) H-5'; 7.63 (ddd, J= 8.4, 6.6, 1.2 Hz) H-7; 7.90 (ddd, J= 8.7, 6.9, 0.9 Hz) H-6; 7.97 (dd, J=8.4, 1.2 Hz) H-5; 8.59 (d, J= 8.4 Hz) H-8; 9.59 (s, intercambia D₂O) OH; 10.2 (sa, intercambia con D₂O) NHAr

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 27): 14.8, 110.8, 111.9, 114.6, 117.6, 123.1, 124.5, 124.9, 128.9, 130.8, 131.4, 141.3, 142.0, 150.1, 156.4, 157.5, 161.7

EM (IE, espectro 29): 340 (M⁺+1, 23%), 339 (M⁺, 100%), 338 (M⁺-1, 11%), 338 (M⁺-15, 5%), 320 (M⁺-33, 32%)

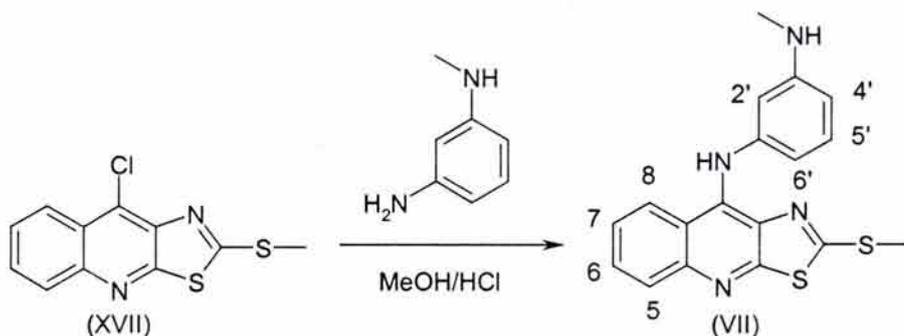
solución oscura que se calentó a reflujo durante 25 minutos. Terminado el tiempo de reflujo se vertió en 50 ml de agua fría y se ajustó a pH= 9 con una solución de Na₂CO₃ al 10%, precipitando un sólido naranja que se filtró al vacío. Este sólido se recrystalizó de hexano para dar 2.03 g (93%) de hojuelas naranjas de 3-nitro-*N*-metilanilina con un punto de fusión de 56-57° C y un Rf de 0.5 (sistema II)

6.3.12.4.3-amino-*N*-metilanilina (XXV)⁽⁶²⁾



En un vaso de precipitados con agitación magnética y en baño de hielo, se colocaron 30 ml de HCl concentrado y lentamente se añadieron 7.2 g (30 mmol) de cloruro estanoso formándose una suspensión blanca. A esta suspensión se le añadió lentamente 1.00g (6.5 mmoles) de 3-nitro-*N*-metilanilina, terminada la adición se dejó en agitación por 10 minutos, se retiró el sistema de enfriamiento y se calentó a 35° C por 40 minutos, formándose una solución ligeramente café. Esta solución se ajustó a pH= 14 con una solución de NaOH al 50% quedando una solución blanca que se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml), las fases orgánicas se juntaron y se lavaron con agua destilada, hasta que las aguas de lavado fueran neutras. La fase orgánica se trató con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida, quedando 720 mg (90%) de un aceite amarillo que mostró una sola mancha en cromatografía de capa fina con un Rf de 0.20 (sistema III). (Técnica adaptada de la referencia ⁽⁶²⁾)

6.3.12.5.9-[[3-*N*-metilamino)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (VII)



Rendimiento: 131 mg (74.5%)

Rf: 0.41 (sistema II)

Punto de fusión: de 173-175° C (con descomposición)

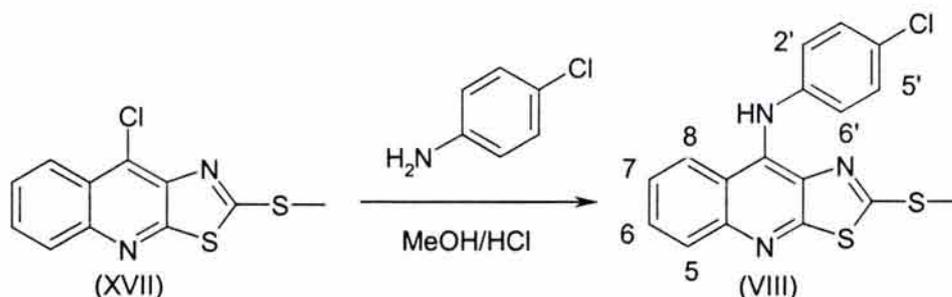
IR (pastilla, espectro 30): 3414 (NH), 2921 (C-H), 1588, 1549, 1494, 1464 (aromático), 1298 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 31): 2.52 (s, 3H) SCH₃; 2.62 (s, 3H) NHCH₃; 6.32 (d, J= 8.4 Hz) H-4'; 6.37 (m, 2H) H-2', H-6'; 7.02 (t, J= 8.4 Hz, 1H) H-5'; 7.47 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.2 Hz) H-7; 7.70 (ddd, J= 8.1, 6.9, 1.2 Hz) H-6; 7.89 (dd, J=8.4, 1.2 Hz) H-5; 8.28 (dd, J= 8.7, 0.9 Hz) H-8; 9.22 (s, intercambia D₂O) NH

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 32): 14.6, 30.4, 106, 107.6, 110.6, 119.2, 124, 124.2, 127.5, 128.7, 129.4, 132, 138.6, 143.3, 146, 149, 161, 161.2

EM (FAB, espectro 33): 353 (M⁺+1, 100%), 352 (M⁺, 61%), 351 (M⁺-1, 12.8%), 337 (M⁺-33, 2%), 319 (M⁺-33, 2%)

6.3.13.9-[[[4-cloro]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (VIII)



Rendimiento: 125 mg (70%)

Rf: 0.51 (sistema II)

Punto de fusión: 186-187° C

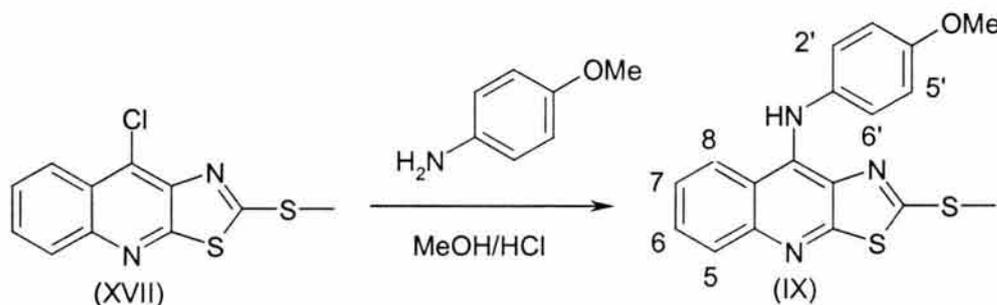
IR (pastilla, espectro 34): 3196 (NH), 3104, 2989 (C-H), 1627, 1573, 1540, 1486, 1467 (aromáticos) 1295 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 35): 2.32 (s, 3H) SCH₃; 7.31 (d, J= 8.4 Hz, 2H) H-2', H-6'; 7.43 (d, J= 8.8 Hz, 2H) H-3', H-5'; 7.67 (t, J= 7.6 Hz, 1H) H-7; 7.91 (t, J= 7.6 Hz, 1H) H-6; 7.94 (d, J= 8.4, 1H) H-5; 8.68 (d, J= 8.4 Hz, 1H) H-8; 10.66 (s, 1H) NH

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 36): 14.6, 117.4, 122.0, 124.5, 125.4, 126.1, 128.1, 129, 130.6, 132.1, 139.6, 142.5, 155.4, 162.0

EM (FAB, espectro 37): 360 (M⁺+3, 43.5 %), 358 ((M⁺+1, 100 %), 357 (M⁺, 25%), 342 (M⁺-15, 5%), 324 (M⁺-33, 2%)

6.3.14.9-[[[4-metoxi]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (IX)



Rendimiento: 120 mg (68%)

Rf: 0.51 (sistema II)

Punto de fusión de 205-207° C

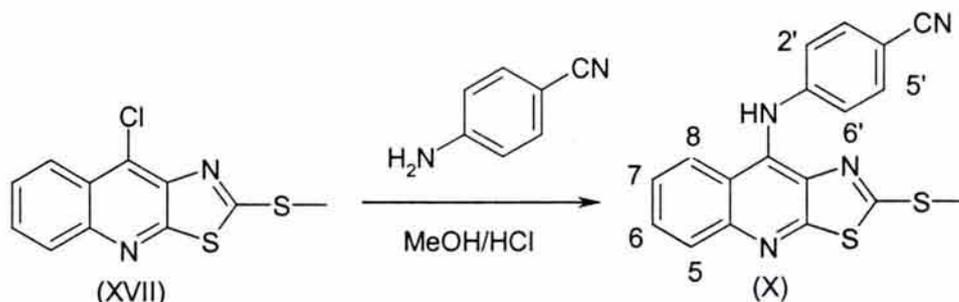
IR (pastilla, espectro 38): 3200 (NH), 3062, 3028 (C-H), 2835 (C-H unido a O), 1608, 1573, 1546, 1510, 1475 (aromáticos), 1295 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 39): 2.28 (s, 3H) SCH₃; 3.77 (s, 3H) OCH₃; 6.98 (d, J= 8.4 Hz, 2H) H-3', H-5'; 7.28 (d, J= 8.4 Hz, 2H) H-2', H-6'; 7.64 (t, J= 7.6 Hz, 1H) H-7; 7.90 (t, J= 7.6 Hz, 1H) H-6; 7.95 (d, J= 8.4, 1H) H-5; 8.66 (d, J= 8.4 Hz, 1H) H-8; 10.68 (s, 1H) NH

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 40): 15.3, 56.1, 114.4, 117.1, 121.8, 125.1, 125.9, 127.8, 130.2, 133.1, 133.7, 139.7, 145.0, 155.0, 158.3, 161.3

EM (FAB, espectro 41): 355 (M⁺+2, 32%), 354 (M⁺+1, 100%), 353 (M⁺, 23%), 338 (M⁺-15, 7%)

6.3.15.9-[[[4-ciano)fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (X)



Rendimiento: 118 mg (68%)

Rf: 0.37 (sistema II)

Punto de fusión: 178-180° C (con descomposición)

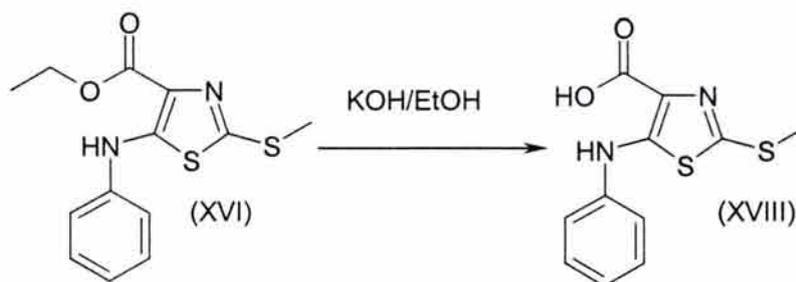
IR (pastilla, espectro 42): 3423 (NH), 2222 (CN), 1622 (C=N), 1573, 1532, 1497, 1424 (aromáticos), 1274 (C-S)

RMN-¹H (DMSO-d₆, espectro 43): 2.44 (s, 3H), SCH₃; 7.21 (d, J= 8.8 Hz, 2H) H-2', H-6'; 7.64 (t, J= 7.2 Hz, 1H) H-7; 7.70 (d, J= 8.8 Hz, 2H) H-3', H-5'; 7.84 (t, J=7.2 Hz, 1H) H-6; 8.01 (d, J= 8.4 Hz, 1H) H-5; 8.50 (d, J= 8.4 Hz, 1H) H-8; 10.41 (sa, 1H) NH

RMN-¹³C (DMSO-d₆, espectro 44): 14.87, 103, 119.6, 120, 120.3, 124.4, 125.5, 130.7, 132.4, 133.5, 137.6, 143.5, 146.7, 159, 165

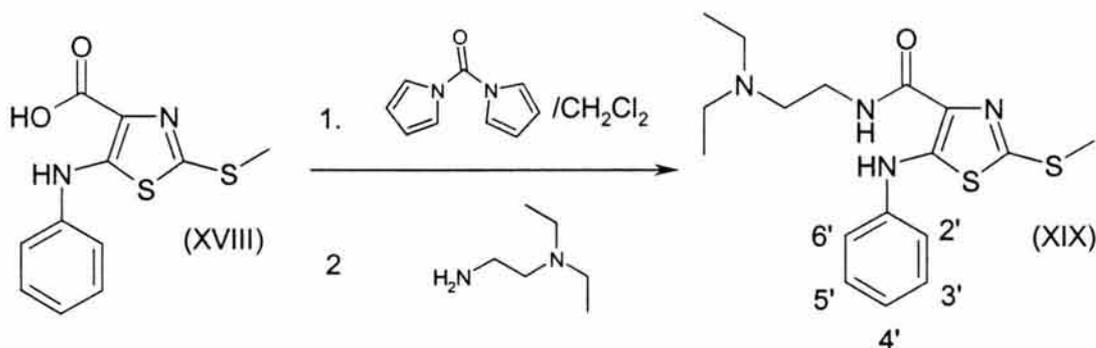
EM (FAB, espectro 45): 349 (M⁺+1, 100%), 348 (M⁺, 72%)

6.3.16.9-[[2-(N,N-dietilamino)etil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (XI)

6.3.16.1.4-Carboxi-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (XVIII) ⁽⁴⁸⁾

En un matraz de fondo redondo de dos bocas, acondicionado con termómetro y agitación magnética, se disolvieron 4.00 g del compuesto XVI (13.6 mmoles) por agitación en 40 ml de etanol absoluto. A la solución se le agregó una solución de 2.45 g de hidróxido de potasio en 3.5 ml de agua y se calentó a reflujo durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió y se vertió sobre 500 ml de agua-hielo. Se acidificó con ácido clorhídrico al 10% hasta pH aproximadamente 5. El precipitado blanco formado se separó por filtración al vacío y se dejó secando por succión. El producto crudo se recrystalizó de etanol para dar 3.28 g (90.66%) de cristales ligeramente rosas del compuesto XVIII, con un punto de fusión de 141-143° C (Lit.⁽⁴⁸⁾ 142-144° C) y un Rf de 0.29 (sistema III)

6.3.16.2.5-(Fenilamino)-4-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]carbamoil]-2-(metiltio)tiazol
(XIX)



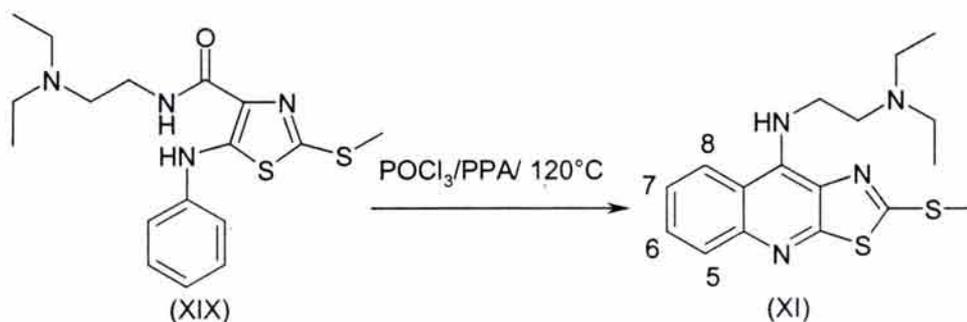
En un matraz acondicionado con refrigerante, condiciones anhidras y trampa de cloruro de calcio, se colocaron 456 mg de 1,1'-carbonyldiimidazol (2.80 mmol) y se suspendieron en 5 ml de diclorometano. La suspensión blanca se enfrió en baño de hielo-agua a 5° C y se agregaron 500 mg del compuesto XVIII (1.873 mmol). Se observó la formación de una solución ámbar y la evolución de dióxido de carbono. Se retiró el sistema de enfriamiento, se cambió por un baño María, se calentó a reflujo por 45 minutos (se verificó la formación del intermediario imidazólido por cromatografía en capa fina, empleando el sistema III como eluyente) y se añadió una solución de 0.2 ml (3 mmol) de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina en 2 ml de diclorometano y se continuó calentando a reflujo durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se agregaron 25 ml de diclorometano y la solución orgánica se lavó con bicarbonato de sodio al 10% (3 x 10 ml), agua destilada (3 x 10 ml) y solución saturada de cloruro de amonio (3 x 10 ml) y se trató con sulfato de sodio anhidro. Se eliminó el diclorometano a presión reducida obteniéndose un aceite color ámbar, el cual se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando una mezcla de diclorometano-metanol (99:1) como eluyente obteniéndose 515 mg (75.50%) de un aceite incoloro que se torna ligeramente amarillo con la exposición al medio ambiente, con un Rf de 0.50 (sistema III), sus constantes espectroscópicas son:

IR (pastilla,espectro 59) 3401(N-H), 2966, 2926, 2811 (CH₂, CH₃), 1633 (C=O), 1589, 1533, 1526, 1496 (aromáticos)

RMN ¹H (CDCl₃, espectro 60): 1.07 (t, J=7.1, 6H) 2CH₃; 2.60 (t, J=7.2, 4H), 2CH₂; 2.63 (s, 3H) SCH₃; 2.70 (c, J=7.2, 2H) CH₂; 3.5 (dt, 2H) CH₂; 7.1 (dd, J=7.2, 1.2, 1H) H-4'; 7.32 (ddd, J= 8.7, 7.5, 1.8, 2H) H-3', H-5'; 7.15 (dd, J=8.7, 1.2, 2H) H-2', H-6'; 7.45 (t, 1H, intercambia lentamente D₂O) CONH; 10.29 (s, 1H, intercambia lentamente con D₂O) N-H

EM (FAB, espectro 61) 365 (M⁺+1, 100%), 364 (M⁺ 47.5%), 292 (M⁺-72, 35%), 249 (M-115, 22.5%)

6.3.16.3.9-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (XI)

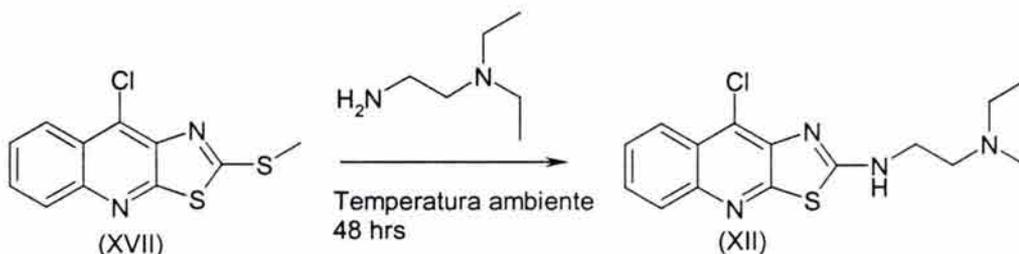


En un matraz de una boca acondicionado con refrigerante y trampa de cloruro de calcio, se colocaron 300 mg (0.824 mmol) del compuesto XIX y 100 mg de ácido polifosfórico (0.85 mmol) y

se añadió 1 ml de oxiclورو de fósforo (3.9 mmol). La mezcla se calentó en baño de aceite a 120° C durante 30 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. A continuación se enfrió en baño de hielo agua y se agregaron lentamente 10 ml de agua fría. La reacción fue altamente exotérmica y con desprendimiento de vapores, esta solución se ajustó a pH 8 con una solución de carbonato de sodio al 10% y se extrajo con diclorometano (3 x 10 ml), las fases orgánicas se juntaron y se lavaron con solución saturada de cloruro de amonio (3 x 5 ml) y con agua destilada (3 x 5 ml) y se trataron con sulfato de sodio. Se eliminó el diclorometano a presión reducida obteniéndose un aceite color ámbar que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice empleando una mezcla de diclorometano-metanol-hidróxido de amonio (98:2:0.05) como eluyente. Las fracciones de composición semejante se juntaron y se concentraron a presión reducida obteniéndose un sólido amarillo que se trató con hexano para dar 85 mg de agujas blancas de 9-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (29.81%), con un *R_f* de 0.54 (sistema IV) y un punto de fusión de 94-98° C, al que se determinaron sus constantes espectroscópicas

IR (pastilla, espectro 46) 3308(N-H), 2970(C-H), 1554, 1531, 1497, 1470(aromático), 1267
 RMN ¹H (DMSO-d₆, espectro 47): 0.92 (t, J=7.2, 6H) 2CH₃; 2.50 (c, 4H) 2CH₂; 2.52 (t, J= 7.2, 2H) CH₂; 2.77 (s, 3H) SCH₃; 2.70 (t, J= 7.2, 2H) CH₂; 4.58 (dt, t con D₂O, 2H) CH₂; 7.51 (t, J= 6.3, 1H, intercambia con D₂O) NH; 7.41 (ddd, J= 8.4, 6.9, 1.5, 1H) H-7; 7.61 (ddd J= 6.9, 6.0, 1.5, 1H); H-6 7.73 (dd, J= 8.4, 0.9 Hz, 1H) H-5; 8.26 (dd, J= 8.7, 0.6, 1H) H-8
 RMN ¹³C (CDCl₃, espectro 48): 9.24, 15.4, 41.2, 49.3, 55.0, 117.2, 122.4, 124.4, 128.1, 129.3, 140.8, 146.5, 160.9, 162.8
 EM (IQ, espectro 49): 347 (M⁺+1, 39%), 346 (M⁺, 24.5%) 274 (M⁺-72, 4.5%), 260 (M⁺-86, 4.5%), 100 (M⁺-247, 10%), 86 (M⁺-261, 100%)

6.3.17.9-Cloro-2-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]tiazolo [5,4-*b*]quinolina (XII)



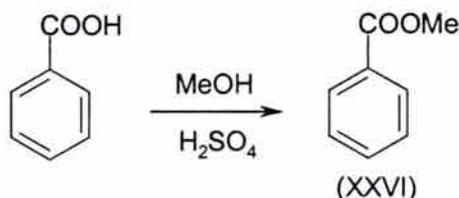
En un matraz de fondo redondo de una boca, acondicionado con refrigerante de aire y bajo atmósfera de argón, se colocaron 500 mg del compuesto XVII (1.88 mmol) y 0.3 ml (4.5 mmol) de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 48 horas. Durante el transcurso de la reacción se observó el desprendimiento de un olor desagradable. A la solución café resultante se agregaron 30 ml de diclorometano (3 x 10ml). La solución orgánica se lavó con agua destilada (3 x 5 ml) y solución saturada de cloruro de amonio (3 x 5 ml) y se trató con sulfato de sodio anhidro. Se eliminó el diclorometano a presión reducida, obteniéndose un aceite color café que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice empleando una mezcla de diclorometano-metanol-hidróxido de amonio (98:2:0.05) como eluyente. Las fracciones de composición semejante se juntaron y se concentraron quedando un aceite amarillo que cristalizó obteniéndose 475 mg (75.42%) de agujas ligeramente amarillas de 9-cloro-2-[[2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino]tiazolo [5,4-*b*]quinolina con un punto de fusión de 81-84° C y un *R_f* de 0.27 (sistema IV) determinándose sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 50) 3202(N-H), 2968, 2968, 2815(CH₂, CH₃),
 RMN ¹H (CDCl₃, espectro 51): 1.07 (t, J= 7.2, 6H) 2CH₃; 2.61 (c, J= 7.2, 4H) 2CH₂; 2.78 (t, J= 6.0, 2H) CH₂; 3.58 (ta, se afina con D₂O, 2H) CH₂; 6.78 (sa, 1H, intercambia con D₂O) NH; 7.63 (ddd, J= 8.1, 6.9, 1.8, 1H) H-6; 7.58 (ddd J= 7.8, 6.6, 1.5, 1H, H-7); 8.00 (dd, J= 8.1, 1.5, 1H, H-5); 8.25 (dd, J= 8.1, 1.2, 1H) H-8
 RMN ¹³C (CDCl₃, espectro 52): 10.74, 41.25, 46.78, 51.10, 123.75, 125.40, 125.44, 126.42, 127.66, 128.10, 142.8, 144.64, 158.72, 165.95

EM (FAB, espectro 53): 337($M^+ + 3$, 35%), 335 ($M^+ + 1$, 100%), 333 ($M^+ - 1$, 24%), 262 ($M^+ - 72$, 44%), 100 ($M^+ - 234$, 33.5%), 86 ($M^+ - 248$, 67%)

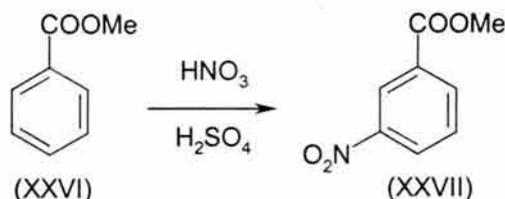
6.3.18.9-[[[3-[2-(*N,N*-dietilamino)etil]carbamoil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-b]quinolina (XIII)

6.3.18.1. Benzoato de metilo (XXVI)⁽⁶²⁾



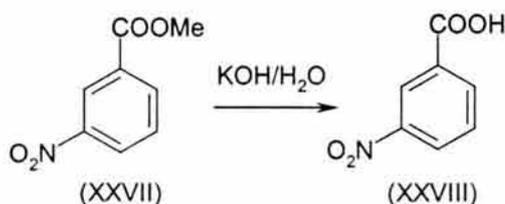
En un matraz de fondo redondo acondicionado con refrigerante, agitación magnética y trampa de humedad, se colocaron 7.5 g de ácido benzoico (61 mmoles), 27 ml de metanol y 1 ml de ácido sulfúrico, se formó una solución transparente que se calentó a reflujo por 4.5 horas. Al término del tiempo de reflujo, la mezcla de reacción se vertió en 70 ml de agua, separándose una fase oleosa. Se extrajo con diclorometano (3 x 25 ml), las fases orgánicas se juntaron y se lavaron con solución de bicarbonato de sodio al 10% (3 x 15 ml) y con agua destilada (3 x 15 ml). A la fase orgánica se agregaron 2.0 g de sulfato de magnesio anhidro y se agitó por 15 minutos. Se filtró por gravedad, el filtrado se concentró a presión reducida quedando 7.71 g (91%) de un aceite incoloro de olor agradable que mostró una sola mancha por análisis en cromatografía en capa fina con un R_f de 0.44 (sistema I) (Técnica adaptada de la referencia⁽⁶²⁾)

6.3.18.2.3-nitrobenzoato de metilo (XXVII)⁽⁶²⁾



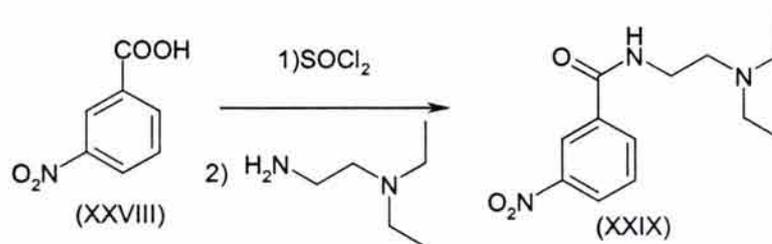
En un vaso de precipitados, se colocaron 6.0 ml de ácido sulfúrico y 6.0 ml de ácido nítrico, la mezcla se enfrió a 0° C en un baño de hielo-sal. Se agregaron por goteo y con agitación vigorosa 5.0 g (36 mmoles) de benzoato de metilo, cuidando que la temperatura no excediera los 10° C. Terminada la adición se continuó agitando por 15 minutos más. La mezcla de reacción se vertió sobre 75 g de hielo precipitando un sólido color crema, se dejó reposar durante 10 minutos y se filtró al vacío. El residuo se suspendió en 20 ml de metanol frío y se filtró al vacío quedando un sólido blanco que se dejó secar por succión, obteniéndose 5.16 g (78%) de 3-nitrobenzoato de metilo con un punto de fusión de 72-74° C (Lit.⁽⁵⁷⁾ 75-76° C) y un R_f de 0.28 (sistema I). (Técnica adaptada de la referencia⁽⁶²⁾)

6.3.18.3. Ácido 3-nitrobenzoico (XXVIII)⁽⁶²⁾



En un matraz de fondo redondo acondicionado con refrigerante, se colocaron 2.16 g (54 mmol) de hidróxido de potasio y 6.2 ml de agua. A la solución formada se le agregaron 3.5 g (20 mmoles) de 3-nitrobenzoato de metilo, se formó una suspensión blanca que se calentó a reflujo por 15 minutos, observándose disolución total de la materia prima, se dejó agitar por 5 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en 10 ml de una solución de ácido sulfúrico al 25%, precipitando un sólido color crema que se filtró al vacío, se lavó con agua destilada hasta que las aguas de lavado fueran neutras y se dejó secar por succión. Se obtuvieron 3.05 g (95%) de ácido 3-nitrobenzoico con un punto de fusión de 140° C (Lit.⁽⁵⁷⁾ 140-141°C) y un Rf de 0.48 (sistema V) (Técnica adaptada de la referencia ⁽⁶²⁾)

6.3.18.4.3-nitro-*N*-[2-(*N,N'*-dietilamino)]etilbenzamida (XXIX)



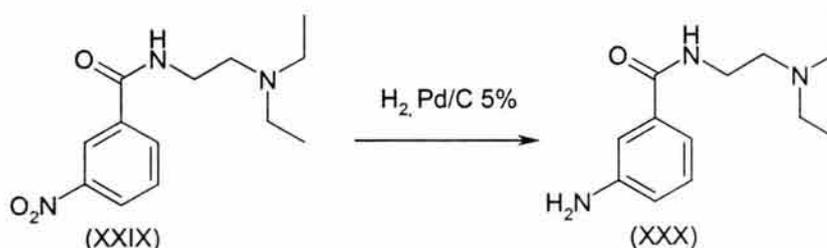
En un matraz de fondo redondo en condiciones anhidras, acondicionado con agitación magnética, refrigerante y trampa de humedad, se colocaron 1.67 g de ácido 3-nitrobenzoico (10 mmoles), 15 ml de benceno anhidro y 1.5 ml (15 mmoles) de cloruro de tionilo, la mezcla de reacción se calentó a reflujo por 1 hora. Se dejó enfriar y se adaptó un equipo para destilación a presión reducida y se destilaron el cloruro de tionilo y el benceno, quedando un residuo color amarillo. A este residuo se le agregaron 5 ml de benceno anhidro y se agregó una solución de 1.30 g (11 mol) de 2-(*N,N*-dietilamino)]etilamina en 3 ml de benceno anhidro. La reacción fue exotérmica. Se adaptó nuevamente el refrigerante y la trampa de humedad y se calentó a reflujo por 20 minutos. Al término del reflujo, la mezcla de reacción se vertió en 25 ml de agua fría quedando una solución amarilla, esta solución se ajustó a pH= 8 con solución de carbonato de sodio al 10%, precipitando un sólido blanco que se filtró al vacío y se secó por succión. Este sólido se recrystalizó de hexano para obtener 2.00 g (75 %) de agujas blancas de 3-nitro-*N*-[2-(*N,N*-dietilamino)]etilbenzamida con un punto de fusión de 45-47° C y un Rf de 0.20 (sistema III), al que se le determinaron sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 62): 3276 (NH), 3089, 2975, 2937, 2838 (CH), 1648 (C=O), 1530 (NO₂), 1474 (aromático), 1351 (N-O)

RMN-¹H (CDCl₃, espectro 63): 1.3 (t, J= 7.2 Hz, 6H) CH₃; 2.9 (c, J=7.2 Hz, 4H) -NCH₂-; 3.1 (t, J= 5.1 Hz, 2H) -CH₂N-; 3.7 (td, J= 5.7, 5.1 Hz, 2H) NHCH₂-; 7.66 (t, J=8.1 Hz, 1H) H-5; 8.35 (ddd, J=8.4, 2.1, 1.2, 1H) H-6; 8.37 (dt, J=8.4, 1.8 Hz, 1H) H-4; 8.81 (t, J=1.8 Hz, 1H) H-2

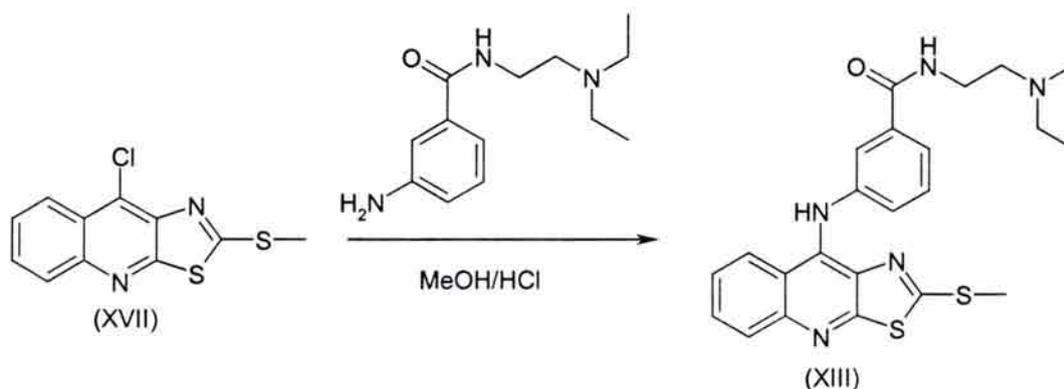
EM (IE, espectro 64): 266 (M⁺, 1%), 264 (M⁺-2, 1%), 193 (M⁺-73, 34 %), 150 (M⁺-116, 27 %), 147 (M⁺-119, 11%) 86 (M⁺-61, 100%)

6.3.18.5.3-amino-*N*-[2-(*N,N'*-dietilamino)]etilbenzamida (XXX)



En una botella de hidrogenación de 500 ml se suspendieron 1.50 g de 3-nitro acetanilida (5.6 mmol) y 50 mg de Pd/C al 5% en 50 ml de etanol bajo atmósfera inerte. Posteriormente, la botella se adaptó al hidrogenador y a un sistema de calentamiento. Se eliminó el aire presente en la botella mediante inyección/expulsión de 30 psi de hidrógeno 3 veces. Después se cargó con hidrógeno hasta llegar a una presión de 40 psi, y se dejó en agitación a una temperatura de 60° C hasta que dejó de consumirse hidrógeno (1.5 horas). La mezcla de reacción se filtró al vacío sobre celita para eliminar el catalizador. El análisis por cromatografía en capa fina mostró una sola mancha, se eliminó el etanol a presión reducida, obteniéndose un aceite ámbar que oscurece por exposición al medio ambiente. Se obtuvieron 1.10g de 3-amino-*N*-[2-(*N,N*-dietilamino)] etilbenzamida (78 %) con un Rf de 0.24 (sistema IV)

6.3.18.6.9-[[[3-[2-(*N,N*-dietilamino)etil]carbamoil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (XIII)



En un matraz de fondo redondo de una boca acondicionado con refrigerante se suspendieron 133 mg (0.5 mmol) del compuesto XVII en 5 ml de metanol y se añadieron 4 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se dejó agitar por 10 minutos. Terminado este tiempo se agregaron 164 mg (0.7 mmol) de 3-amino-*N*-[2-(*N,N*-dietilamino)] etilbenzamida y se calentó la mezcla a reflujo durante 4 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se eliminó el metanol a presión reducida, quedando un aceite oscuro. El residuo se suspendió en 15 ml de agua y se llevó a pH= 8 con carbonato de sodio al 10 % precipitando un sólido pastoso de color amarillo verdoso que se filtró al vacío, se lavó con agua destilada. Este sólido se recrystalizó de etanol-agua quedando un sólido ligeramente amarillo. Se obtuvieron 120 mg (51%) de 9-[[[3-[2-(*N,N*-dietilamino)etil]carbamoil]fenil]amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina, con un punto de fusión de 160-162° C y un Rf de 0.32 (sistema IV) determinándose sus constantes espectroscópicas:

IR (pastilla, espectro 54): 3250 (NH), 3057, 2964, 2926, 2812 (C-H), 1581 (C=N), 1550, 1521, 1467 (aromáticos), 1288 (C-S)

RMN-¹H (CDCl₃, espectro 55): 1.21 (t, J= 7.2 Hz, 6H) CH₃; 2.68 (s, 3H), SCH₃, 2.88 (c, J=7.2 Hz, 4H) -NCH₂-; 2.97 (t, J= 5.1 Hz, 2H) -CH₂N-; 3.69 (td, J= 5.7, 5.1 Hz, 2H) NHCH₂-; 5.20 (sa, intercambia D₂O, 1H), NH; 7.07 (dd, J= 7.8, 2.1 Hz, 1H) H-6'; 7.29 (ddd, 8.7, 6.9, 1.2 Hz, 1 H) H-7; 7.31 (t, J= 7.8 Hz, 1H) H-5'; 7.62 (ddd, J= 8.7, 6.6, 1.2 Hz, 1H) H-6; 7.64 (dd, J= 7.2, 1.8 Hz), H-4'; 7.70 (t, J= 1.8 Hz) H-2'; 7.81 (dd, J= 8.4, 0.9 Hz) H-5; 7.99 (dd, J= 8.4, 0.9 Hz, 1H) H-8; 8.07 (ta, intercambia D₂O, 1H) CONH

RMN-¹³C (DMSO-*d*₆, espectro 56): 10.0, 15.2, 36.2, 47.7, 52.3, 118.9, 119.4, 121.5, 123, 124.1, 124.5, 128.8, 129, 129.1, 134.8, 135, 137, 143.3, 147.2, 161.1, 166.4, 167.2

EM (IE, espectro 58): 466 (M⁺+1, 3%), 465 (M⁺, 8%), 450 (M⁺-15, 4%), 393 (M⁺-72, 9%), 366 (M⁺-99, 23%), 350 (M⁺-115, 10%), 100 (M⁺-365, 10%), 86 (M⁺-379, 100%)

6.4. Análisis conformacional y cálculo de propiedades electrónicas.

Los estudios de modelaje molecular se realizaron en una estación de trabajo Silicon Graphics R4600 con 96 Mb de memoria en RAM, utilizando el programa Spartan 5.3.⁽⁶⁴⁾ Las moléculas se construyeron a partir de fragmentos convencionales y se preoptimizó su geometría. Las moléculas se consideraron en su forma neutra.

El análisis conformacional se realizó utilizando Tripos como campo de fuerza y el protocolo de Búsqueda Sistemática. La geometría del conformero más estable se optimizó usando el método semiempírico PM3. La distribución electrónica calculada se usó para generar las correspondientes superficies de energía potencial electrostática.

6.5. Evaluación de la actividad citotóxica

La evaluación de la actividad citotóxica de estos compuestos fuera realizada por la Dra. Angelina Quintero y sus colaboradores. Los ensayos fueron realizados de acuerdo al protocolo de microcultivo MTT. Las células se pasaron a placas de 24 micropozos ($4.5-5.0 \times 10^4$ células/ml/pozo) y se inocularon con los compuestos, los cuales se disolvieron en DMSO y se añadieron en un volumen máximo de 2 μ l/ml/pozo. Después de 72 horas de incubación, se añadieron 100 μ g/ml de MTT disueltos en PBS (pH 7.2). Añadiendo 1 ml de DMSO a cada pozo se solubilizó el azul de formazán. Después de centrifugar, el coeficiente de extinción se midió a 540 nm usando un fotómetro Beckman modelo DU^R-64. Las determinaciones se realizaron en 3 experimentos independientes y por cuadruplicado. El porcentaje de inhibición celular se determinó por la fórmula %IC= $100 \times [1 - (\text{absorbancia de células tratadas} / \text{absorbancia de células control})]$.

7. CONCLUSIONES

Se obtuvieron 13 derivados de tiazolo[5,4-b]quinolinas los cuales fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas y se determinó su actividad citotóxica en algunas líneas celulares.

Se observó que la posición 2 del núcleo de tiazolo[5,4-b]quinolina en este tipo de compuestos es susceptible al ataque de las aminas alifáticas, mientras que la posición 9 lo es al ataque de aminas aromáticas. Este comportamiento parece estar mediado por la dureza del nucleófilo.

En los estudios de modelado molecular, se apreció que en el caso de las 9-anilino tiazolo[5,4-b]quinolinas, el anillo de anilina guarda una relación prácticamente ortogonal respecto al núcleo triciclo, la desviación puede explicarse por la interacción del átomo de nitrógeno en el anillo de tiazol con el anillo de anilina y/o los sustituyentes presentes, estas interacciones pueden ser de naturaleza electrónica o estérica. Asimismo se obtuvieron varios descriptores para ser utilizados en análisis QSAR.

No se encontró alguna relación matemática satisfactoria de la actividad citotóxica con los parámetros de Hansch, Fujita, Taft o de refractividad molar de los sustituyentes empleados, ni con alguno de los descriptores obtenidos en los estudios de modelado molecular. Sin embargo se pudieron establecer los siguientes requerimientos estructurales para mejorar la actividad citotóxica de estos compuestos:

- La actividad citotóxica se favorece por la presencia de una cadena de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina
- La presencia de grupos electroattractores en el anillo de anilina, de manera general, favorece la actividad biológica respecto a los grupos electrodonadores
- Es importante para la actividad la presencia de un grupo aceptor en la formación de puentes de hidrógeno en el anillo de anilina
- El patrón de sustitución en el anillo de anilina es crítico para la actividad citotóxica, siendo la posición 3' la más favorecida

Algunos de estos requerimientos difieren de los establecidos para los derivados de acridina por lo que puede especularse que las tiazolo[5,4-b]quinolinas poseen un sitio de acción distinto al de aquellos.

Las perspectivas a futuro de este trabajo incluirían la síntesis de nuevos derivados que permitieran confirmar los requerimientos estructurales sugeridos, el estudio de la afinidad y selectividad a secuencias de ADN y del mecanismo de acción citotóxica de estos compuestos.

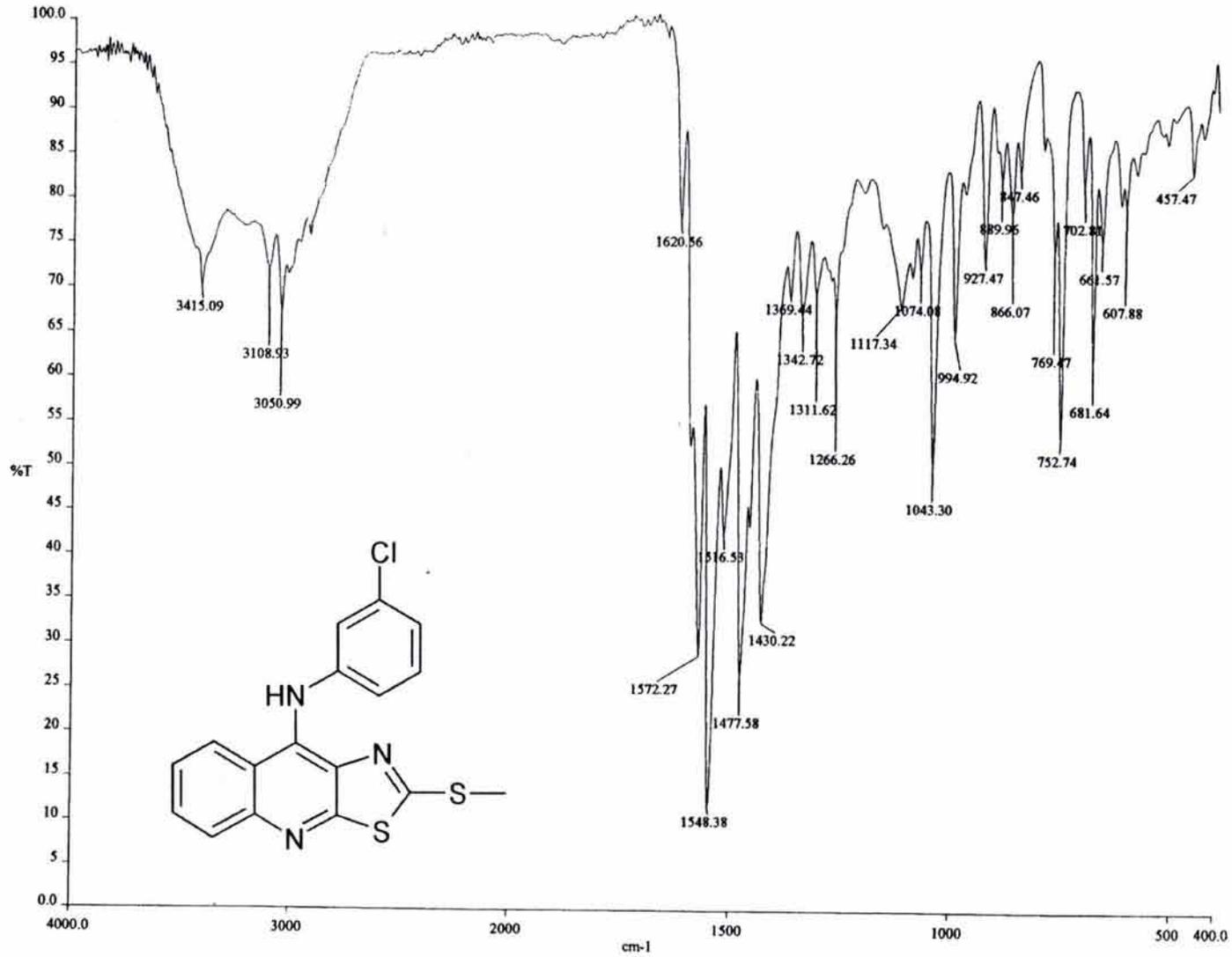
8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Datos del Sistema Nacional de Información en Salud. Secretaría de Salud. México.. <http://sinais.salud.gob.mx>
- (2) La Fond, R.; Cancer: The outlaw cell; American Chemical Society, Estados Unidos de América; 1988
- (3) Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. Chemoterapeutic Agentes Vol. 5 6a. Ed.
- (4) Stehelin, D., Varmus, H., Bishop, J., Vogt, P.K., *Nature*, **1976**, *260*, 170-173
- (5) Land, H., Parada, L.F., Weinberg, R.A., *Nature*, **1983**, *304*, 596-602
- (6) Hennings, H., Glick, A., Greenhalgh, D., Yuspa, S., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1993**, *202*, 1-8
- (7) Goodman y Gilman. Las Bases farmacológicas de la Terapéutica. 8ª edición México. 1996
- (8) Holland, J.F., Frei, E. Cancer medicine. 5a. Edición. BC Becker. Canadá. 2000
- (9) McLaughlin, F., Finn, P., La Thangue, N. *Drug Discovery Today*. **2003**, *8*, 793-802
- (10) Rezler, E., Bearss, D., Hurley, H. *Current Opinion in Pharmacology* **2002**, *2*, 415-423
- (11) Schellhammer, P.F., *Urology*, **1996**, *47*, 622-628
- (12) Kirk, J. M. *Biochim. Biophys. Acta*, **1960**, *42*, 167-169.
- (13) Wadkins, R.M., Graves, D.E., *Biochemistry*, **1991**, *30*, 4277-4283
- (14) Lerman, L. S. *J. Mol. Biol.*, **1961**, *3*, 18-30.
- (15) Gellert, M., Smith, C. E., Neville, D., Felsenfeld, G. *J. Mol. Biol.*, **1965**, *11*, 445-457.
- (16) Hansch, C Comprehensive Medicinal Chemistry Pergamon Press; 1990, vol. 2
- (17) Pommier, Y., Mattern, M. R., Schwartz, R. E., Zwelling, L. A., Kohn, K. W. *Biochemistry*, **1984**, *23*, 2927-2932
- (18) Osheroff, N. Burden, B.A. *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 139-154
- (19) Berger, J.M., *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 3-18
- (20) Froelich, S., Osheroff, N., *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 21429-32
- (21) J. Roca, *Trends Biochem. Sci.* **1995**, *20*, 156-160.
- (22) Holden, J.A., *Curr. Med. Chem-Anti Cancer Agents.*, **2001**, *1*, 1-25
- (23) Capranico, G., Binaschi, M. *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 185-194
- (24) Andch, T., Ishida, R., *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 155-171
- (25) Hande, K.R., *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 173-184
- (26) Roca, J. Ishida, R. Berger, J.M., Wang, J.C., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1994**, *91*, 1781-85
- (27) Kaufmann, S.H. *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 195-211
- (28) Kingma, P.S., Osheroff, N. *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 223-232
- (29) Caparinico, G., Palumbo, M., Tinelli, S., Mabilia, M., Pozzan, A. Zunno, F. *J. Mol. Biol.*, **1994**, *235*, 1218-1230
- (30) Capranico, G., Guano, F., Moro, S., Zagotto, G., Sissi, C., Gatto, B., Zunno, F. Palumbo, M. *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 12732-37
- (31) Okada, Y., Tosaka, A., Kikuchi, A., Yoshida, S., Susudi, M., *Gene*, **2001**, *272*, 141-48
- (32) Dingemans, A., Pinedo, H.M., Ginccone, G. *Biochim. Biophys Acta*, **1997**, *1400*, 275-88
- (33) Cain, B.F. Atwell, G.J. Seelye, R.N. *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 199-206
- (34) Cain, B.F. Atwell, G.J. Seelye, R.N. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 611
- (35) Cain, B.F. Atwell, G.J. Seelye, R.N. *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 922
- (36) Cain, B.F. Atwell, G.J. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 1124
- (37) Hansch, C. Leo, A., Exploring QSAR. Hydrofobic, electronic and steric constants. ACS Professional Reference Book. American Chemical Society. Estados Unidos de América. 1995
- (38) Gao, H. Denny, W., Gary, K., Hansch, C. *Chemico-Biological Interactions*, **1998**, *116*, 157-180
- (39) Demecunynck, H., Charmantray, F., Martelli, A., *Curr. Pharm. Design*, **2001**, *7*, 1703-1724
- (40) Shoemaker, D.D. Cysik, R.L.; Gormiey, D.E., De Souza, *J. Cancer Res.* **1984**, *44*, 1939
- (41) Su, T.L., Chou, T.C., Kim, J.Y. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3226-3235
- (42) Chang, J.Y., Lin, C.F., Pan W.Y., Chou, T., Chen, C., Deng, H., Cheng, S., Tasi, T., Lin, Y.W., *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11*, 4959-69
- (43) Scarborough, A., Su, T.L., Pommier, Y., Chou, T.C., *Bioorg. Med. Chem.*, **1996**, *24*, 229-241
- (44) Spicer, J.A., Gamge, S., Atwell, G., *J. Med. Chem.*, **1997**, *40*, 1919-1929
- (45) Todd, A.K., Adams, A., Thorpe, J.H., *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 536-540
- (46) Adams, A., Guss, J.M., Collyer, C.A., Denny, W.A., Prakash, A.S., Wakelin, L.P.G., *Mol. Pharm.*, **2000**, *88*, 649-658

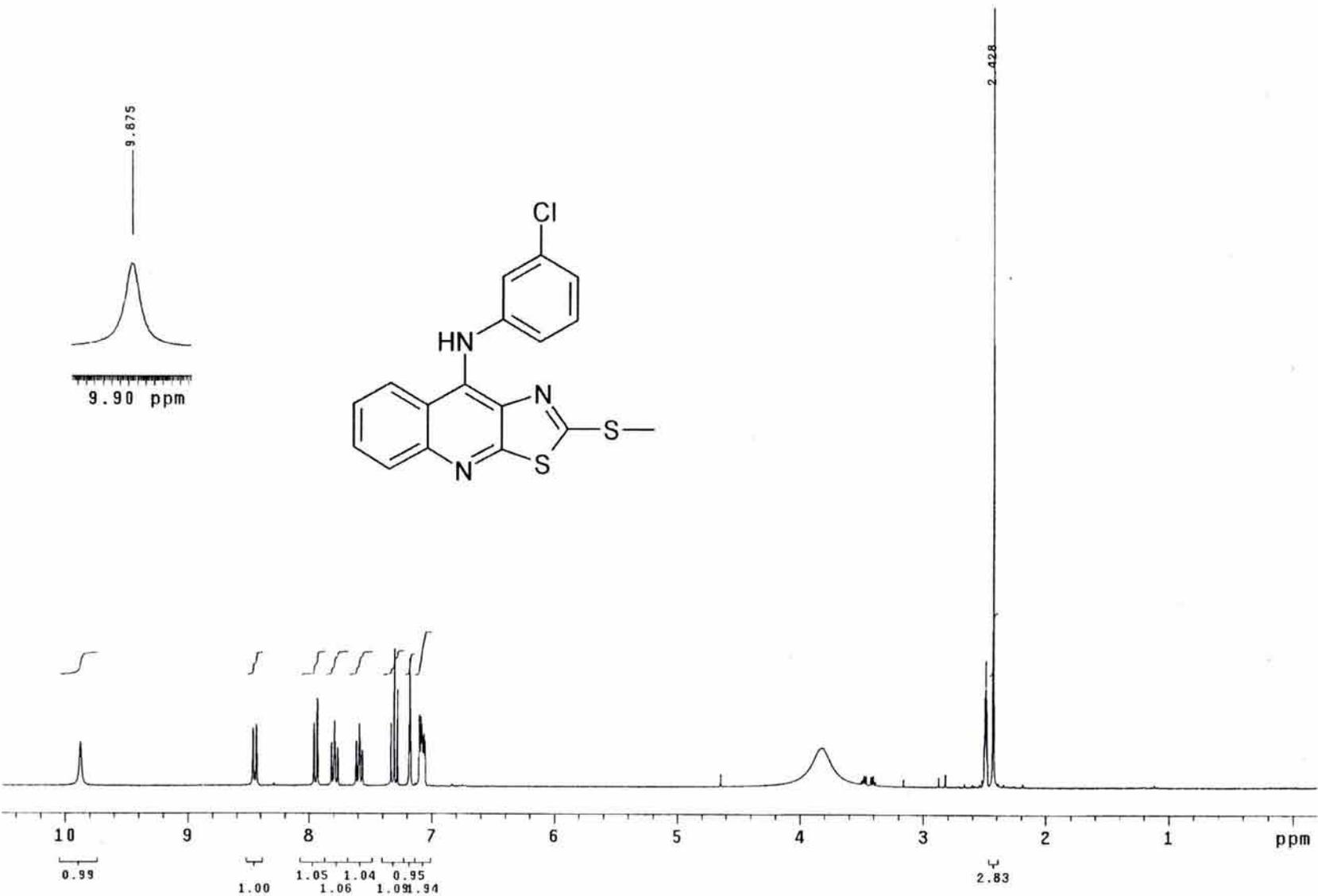
-
-
- (47) Alvarez-Ibarra, C. Fernández-Granda, R. Cárdenas, F., Giralt, E. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 668-676
- (48) Rodríguez Loaiza, M. Síntesis de derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina como potenciales intercaladores del DNA. Tesis de Maestría. UNAM, México, 2000.
- (49) Rodríguez, P., Quintero, A., Rodríguez, R., Solano, J.D., Lira, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 5-10
- (50) Mikata, Y., Yokoyama, M., Yano, S., *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 1243-1248
- (51) Cammarata, A. *J. Pharm. Sci.* **1970**, *59*, 1496-1498
- (52) Karelson, M. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1027-1043
- (53) Garin, J., Martínez, V., Mayoral, J., Meléndez, E., Merchan, F. *Synthesis*, **1981**, 961
- (54) Alvarez-Ibarra, C., Cereceda, J.A., Ortiz, P., Vicente, A., Quiroga, M.L., *Tetrahedron Letters*, **1985**, *26*, 243
- (55) Alvarez-Ibarra, C., Gil, M. Ortiz, P., Quiroga, M.L. *Heterocycles*, **1988**, *27*, 2175
- (56) Pettit, G.R., Van Tamelen, E.E., *Org. Reactions*, **1962**, *12*, 356
- (57) Buckleton, J.S., Clark G.R., *Acta Cryst. C*, **1992**, *48*, 1085-1088
- (58) Karle, J.M., Cysyk, R.L., Karle, I.L., *Acta Cryst. B*, **1980**, *36*, 3012-3016
- (59) Eliel, E.L., Wilen, S.H., "Heterotopic ligand and faces" en Stereochemistry of organic compounds. Eliel, E.L. (Ed.) John Wiley & Sons. Estados Unidos de América. 1994
- (60) Quintero, A., Pelcastre, A., Dolores, J., Guzmán, A., Díaz, E., *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **1999**, *2*, 108-112
- (61) De Oliveira, D.B.; Gaudio, A.C. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **2000**, *19*, 599-601
- (62) Vogel, A., Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 4a. edición, Estados Unidos de América. 1978
- (63) Windholz, M. (Ed.) The Merck Index 10a. edición. Estados Unidos de América. 1983
- (64) Wavefunction, Inc., Irvine, CA, USA

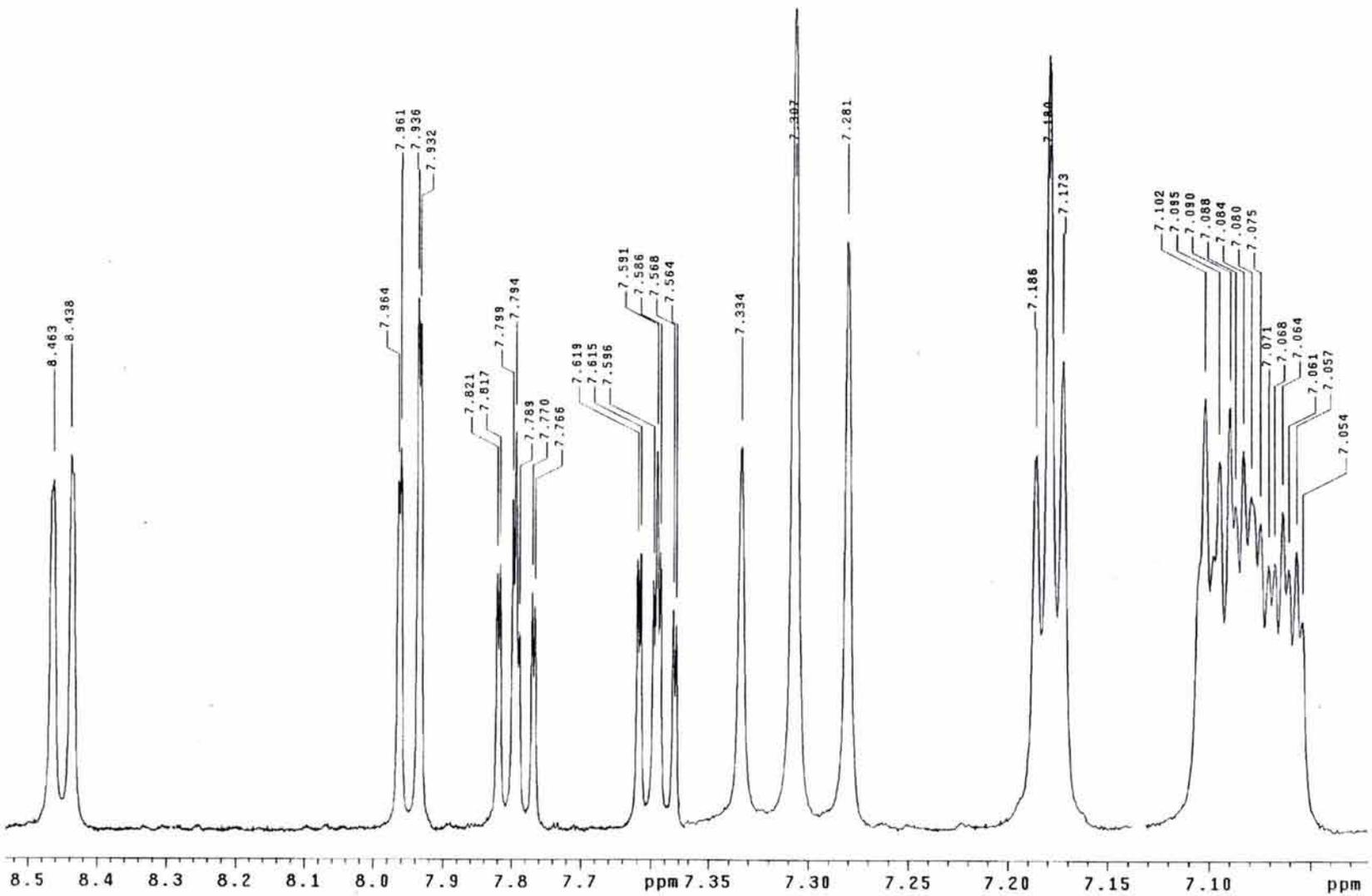
9. ESPECTROS

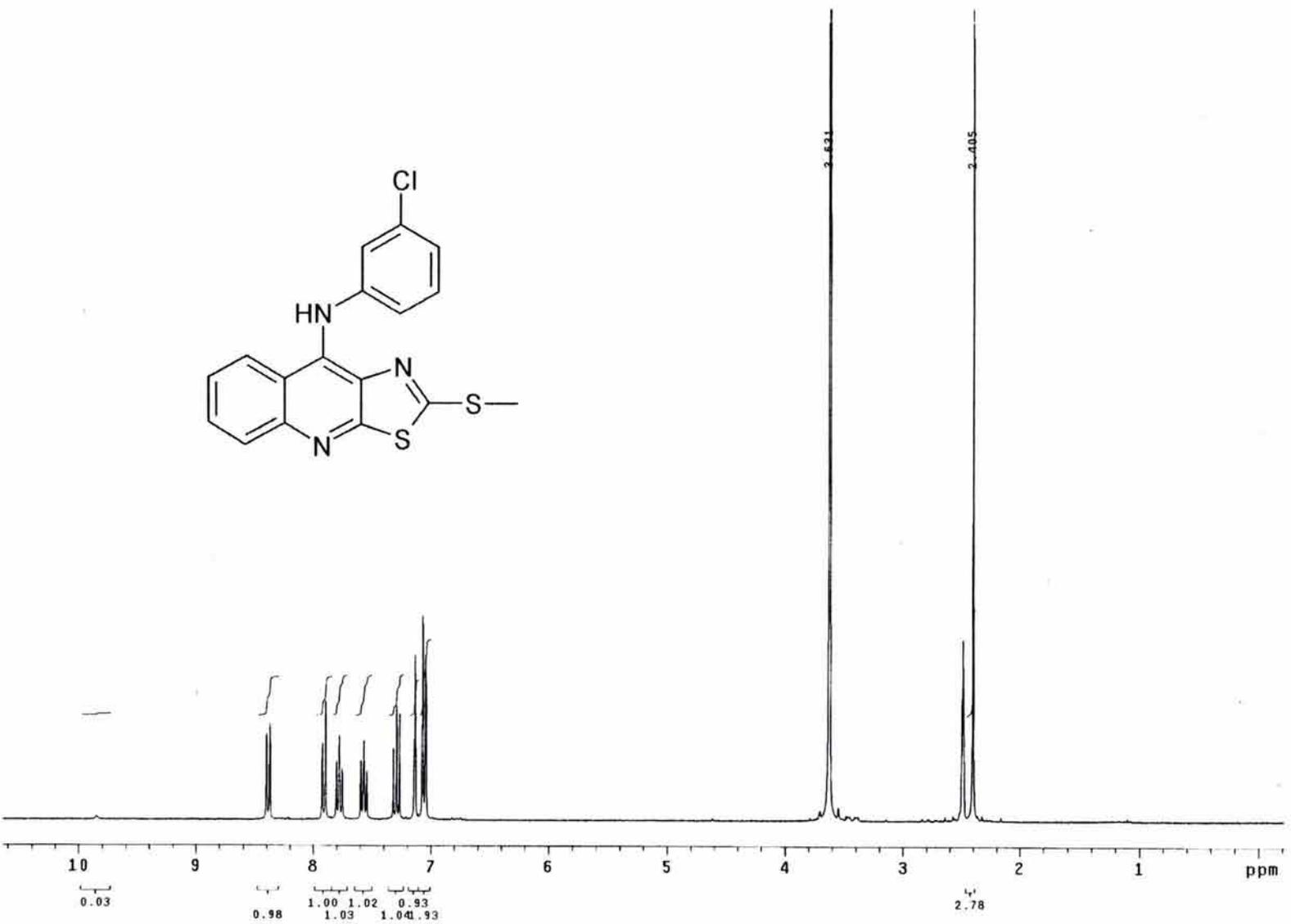
ESPECTRO NO. 1. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO I



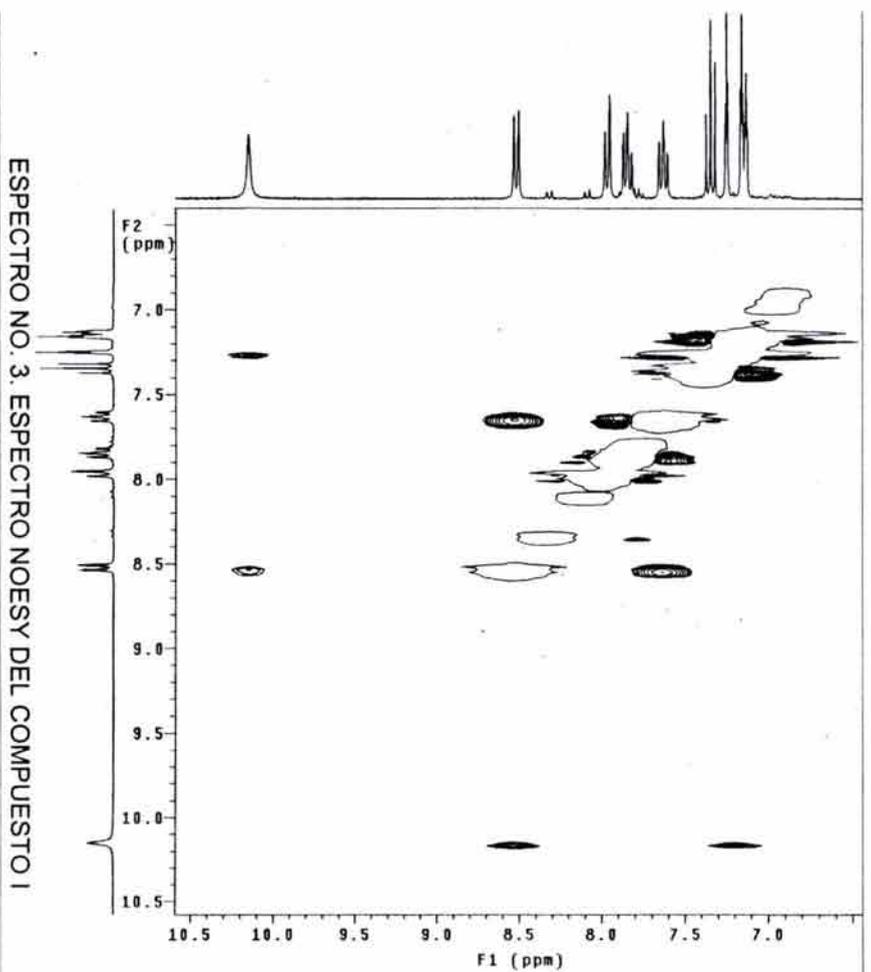
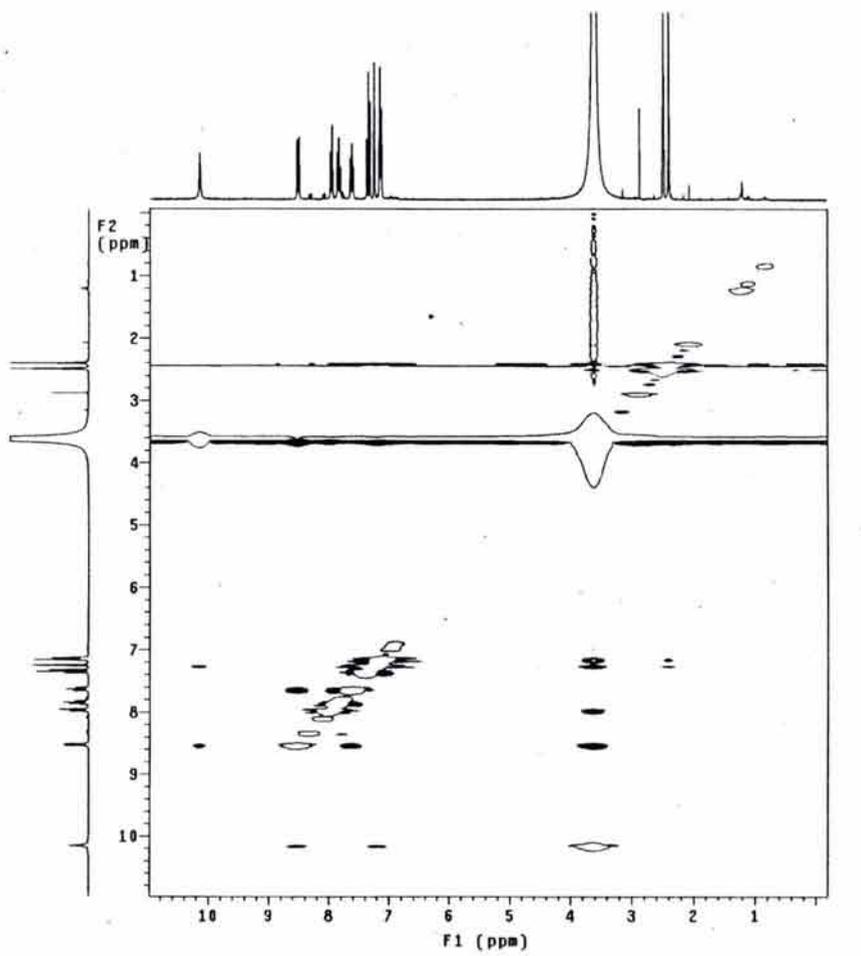
e111504 en - IISAI Facultad de Química UNAM



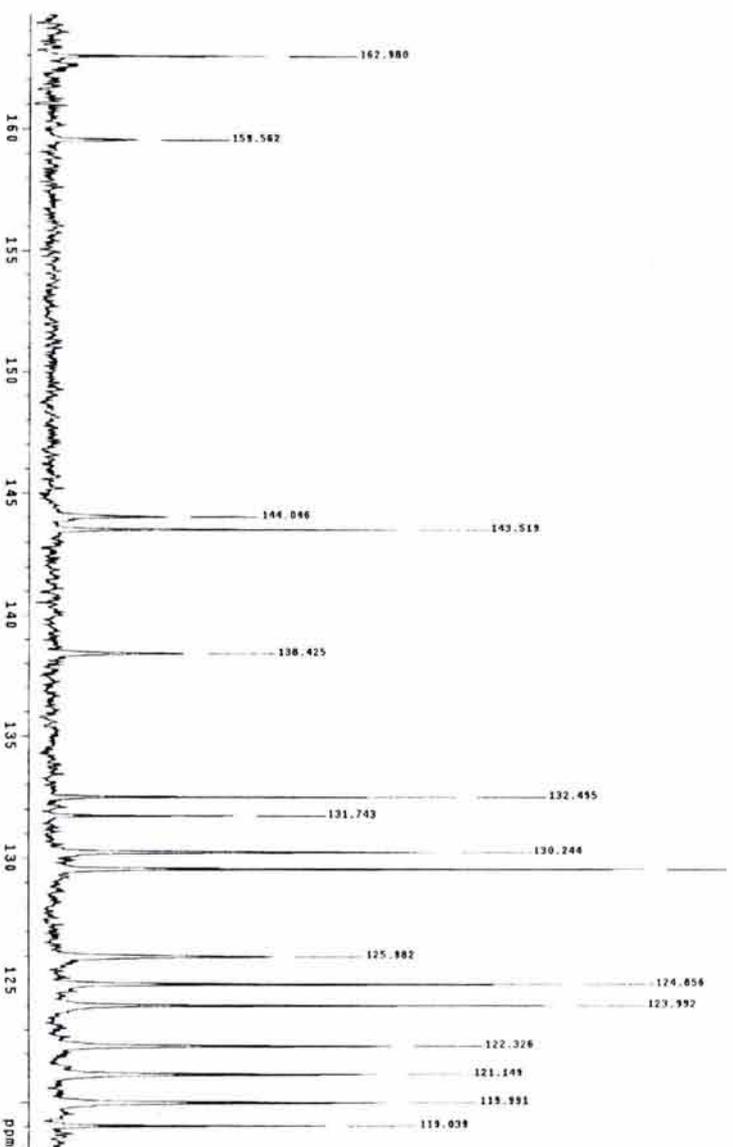
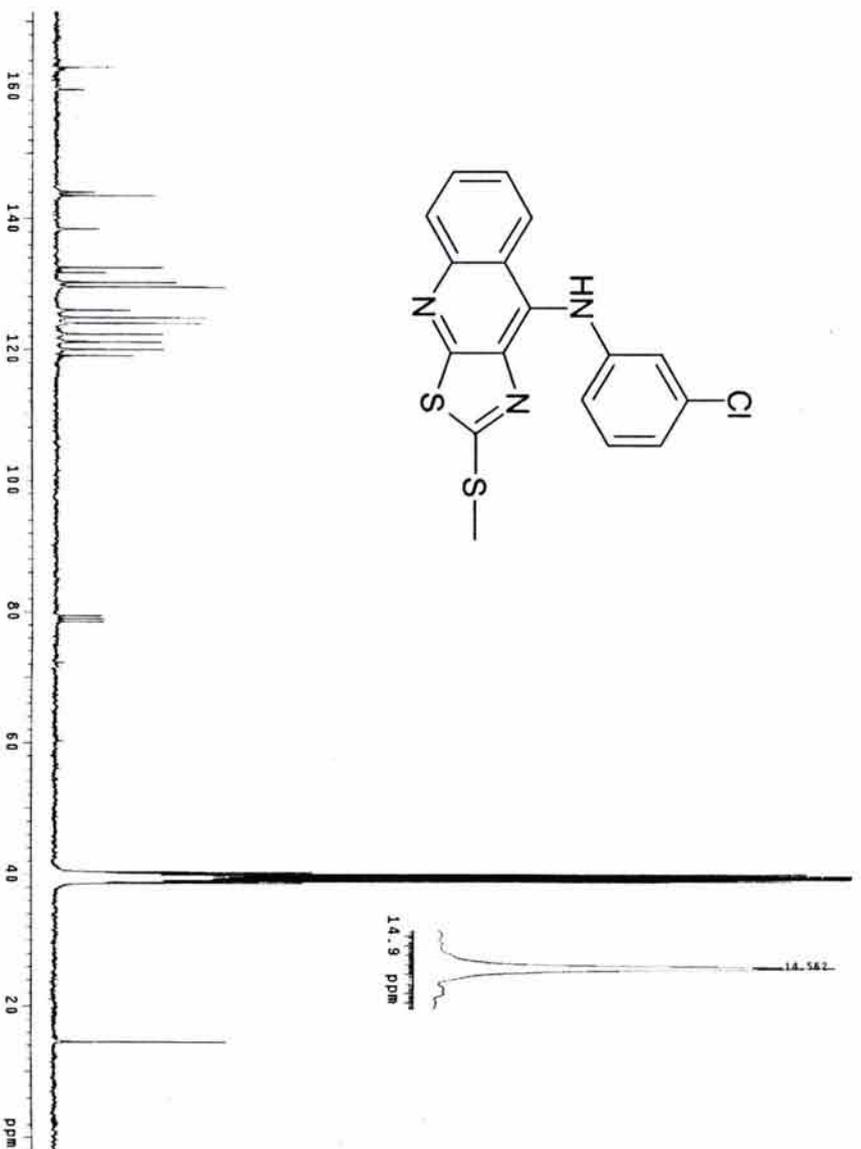
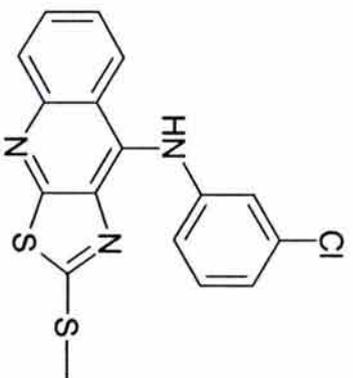




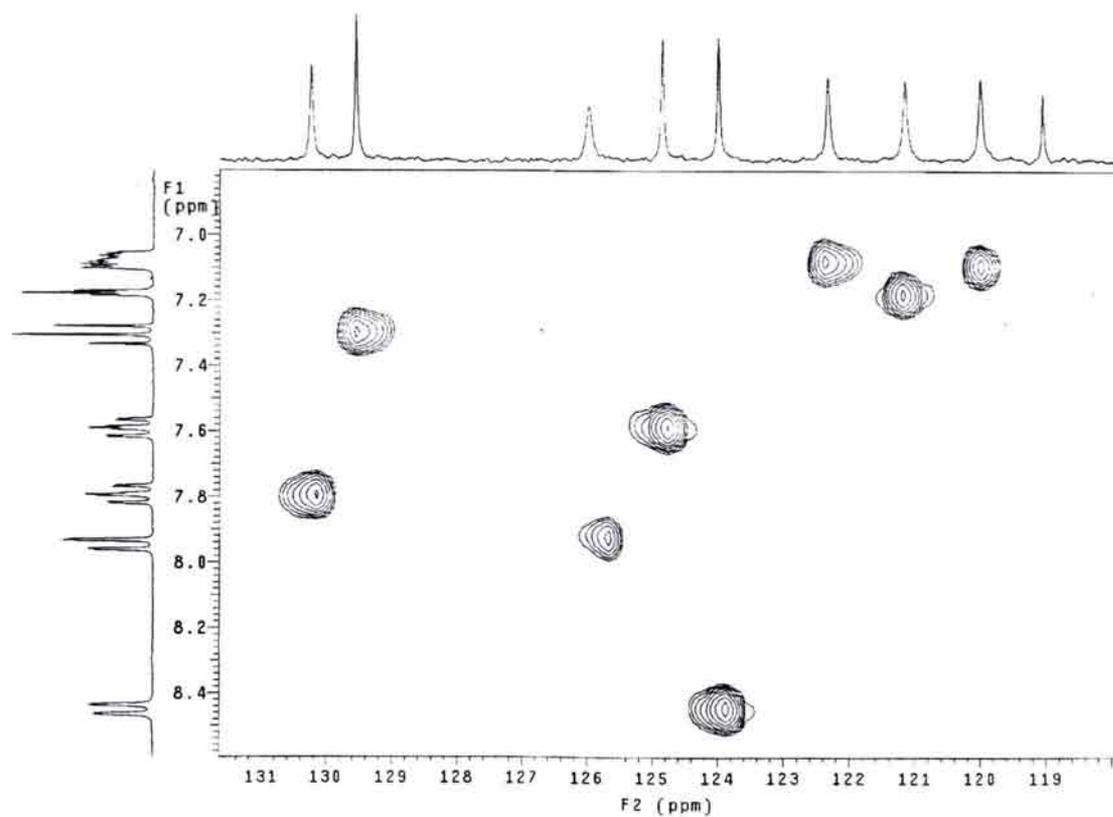
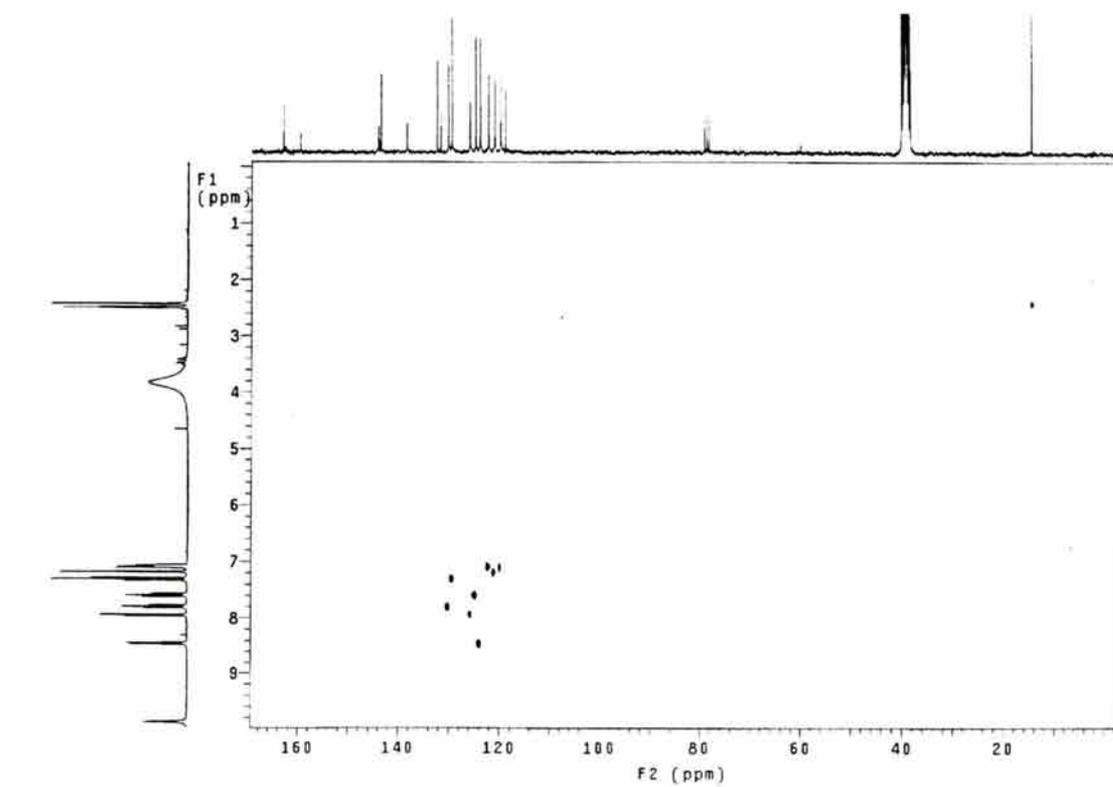
ESPECTRO NO. 2. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO 1 (DMSO-d₆)
INTERCAMBIO CON D₂O.

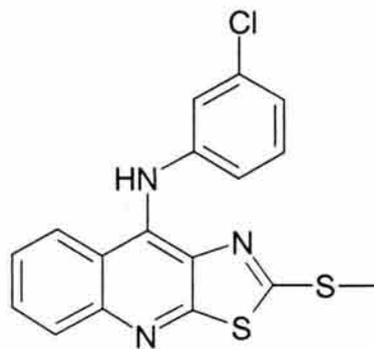
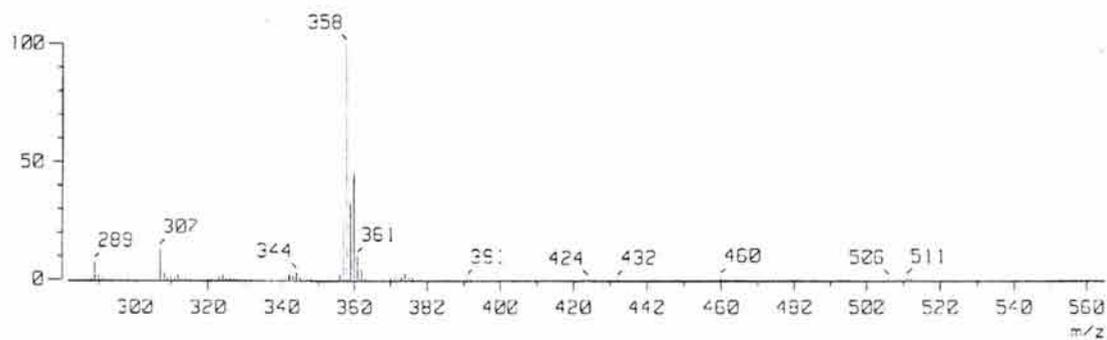
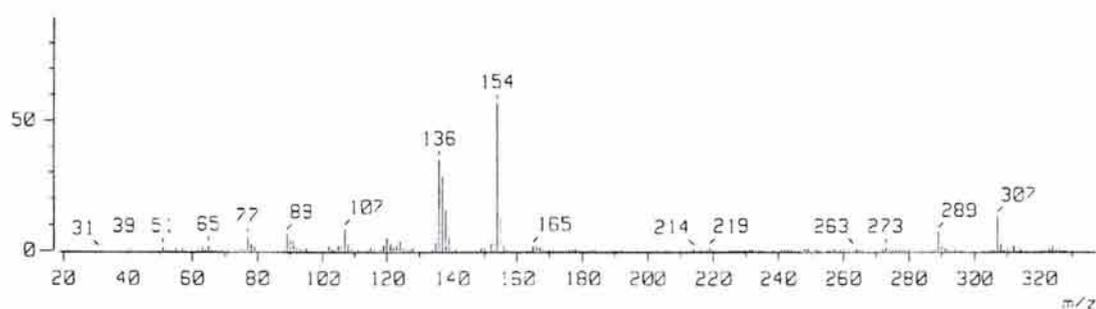
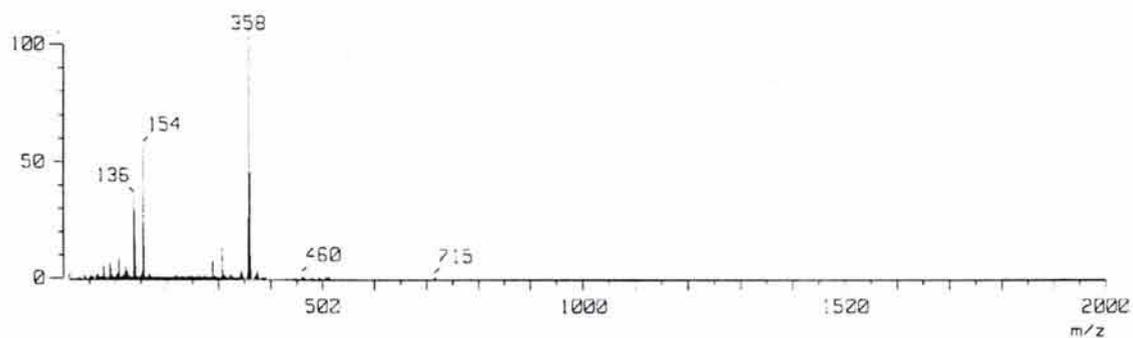


ESPECTRO NO. 3. ESPECTRO NOESY DEL COMPUESTO I



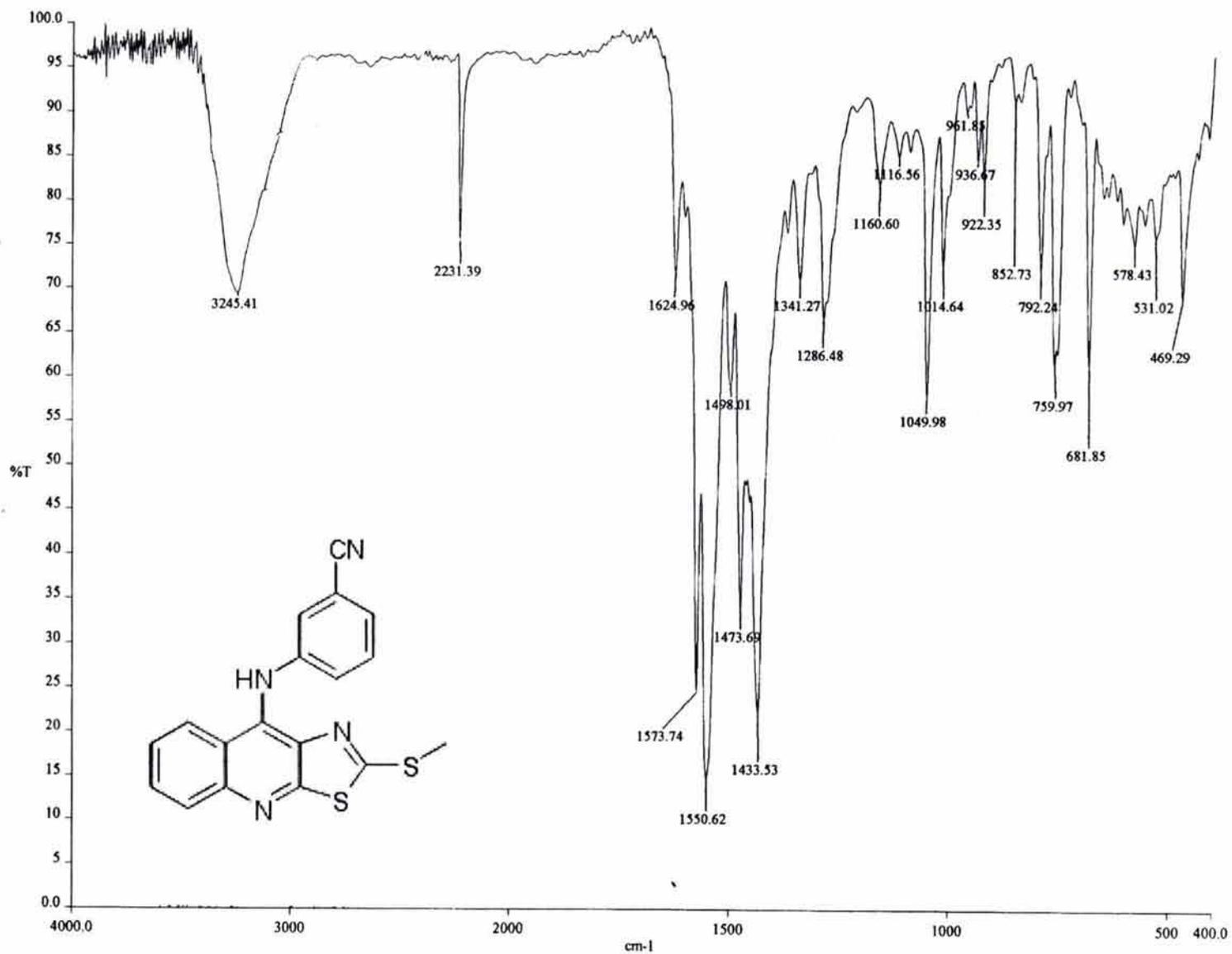
ESPECTRO NO. 4. ESPECTRO RMN- ^{13}C DEL COMPUESTO I (DMSO- d_6)

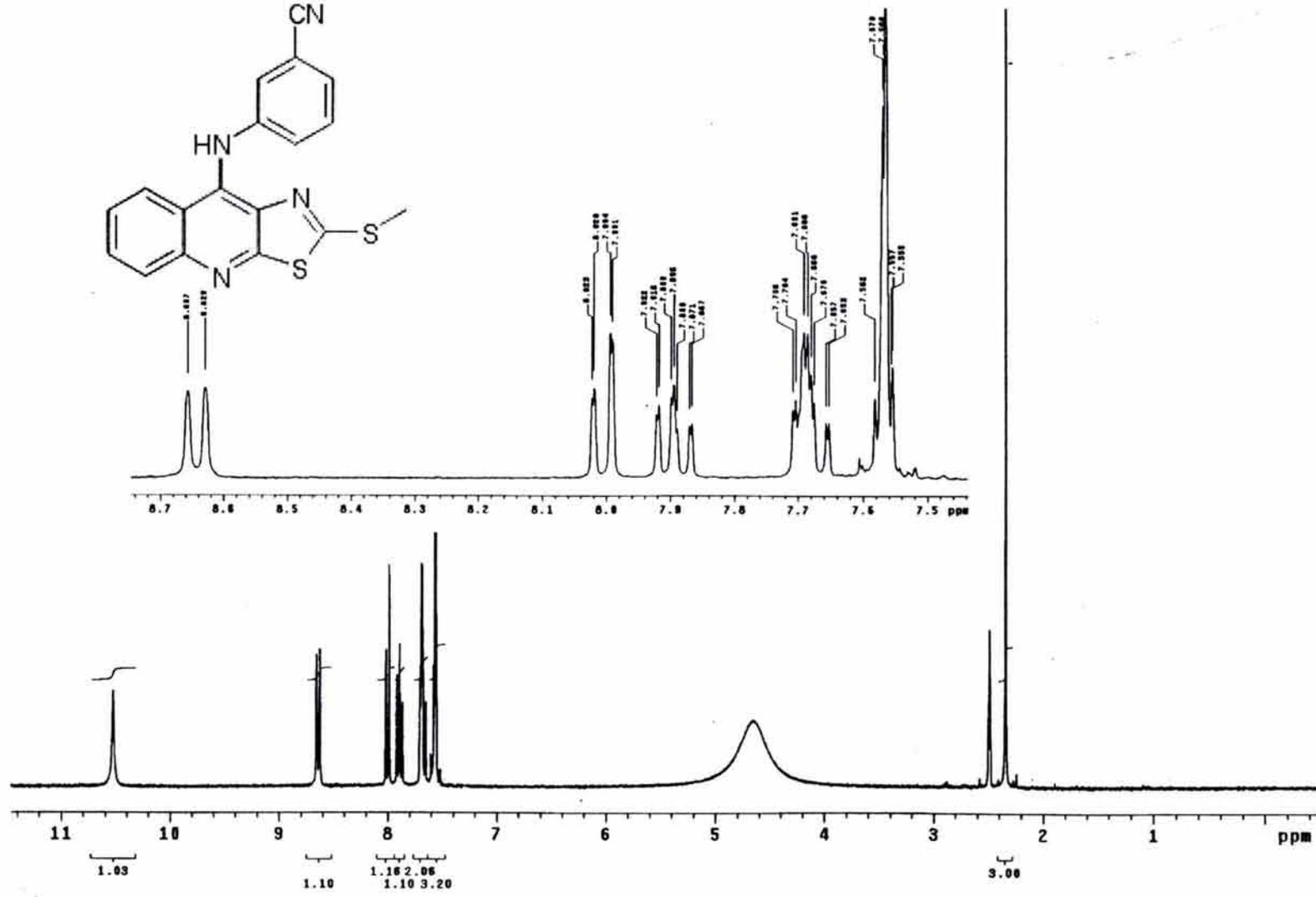
ESPECTRO NO. 5. ESPECTRO HETCOR DEL COMPUESTO I (DMSO- d_6)



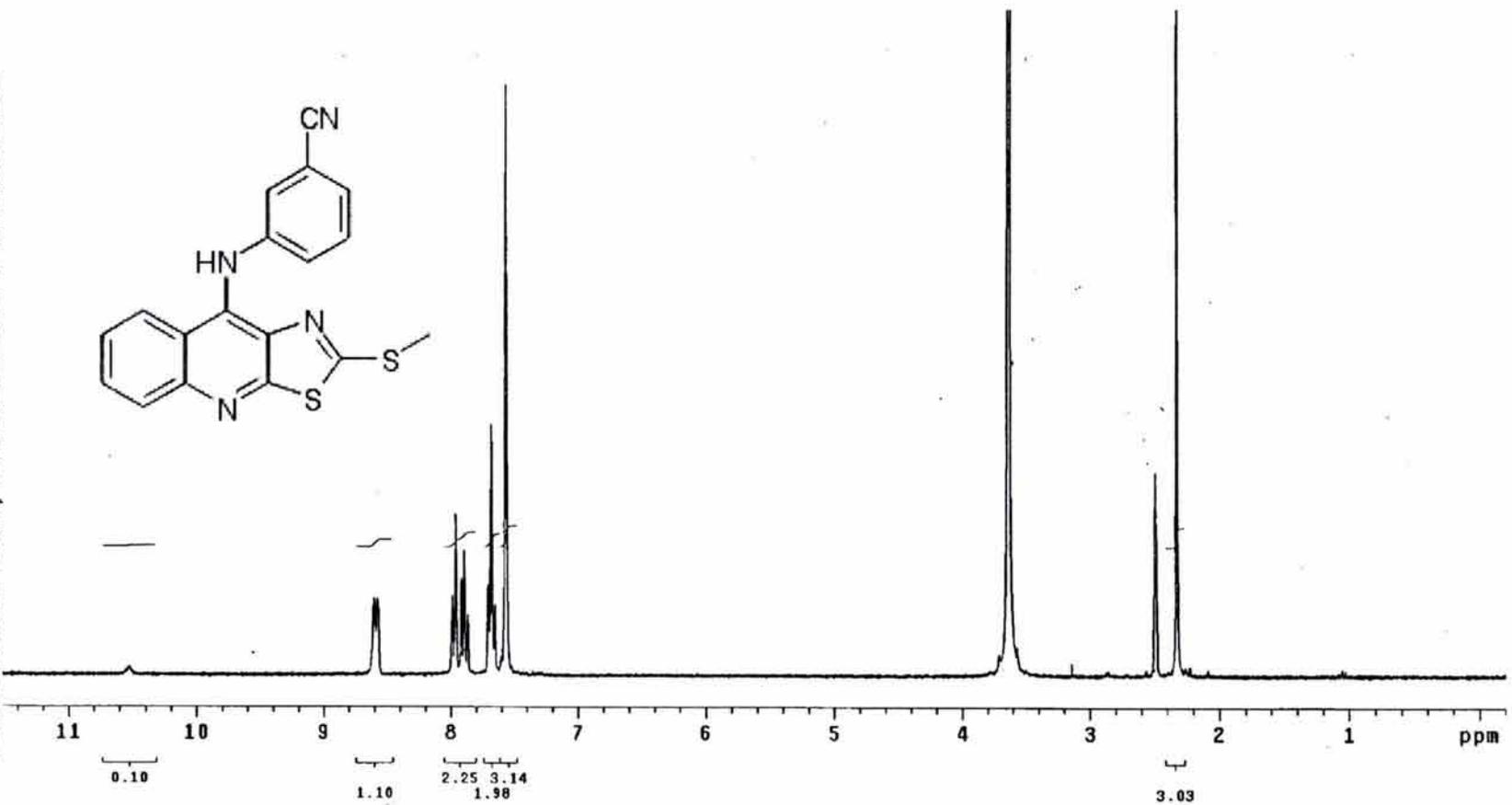
ESPECTRO NO. 6. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO I (FAB)

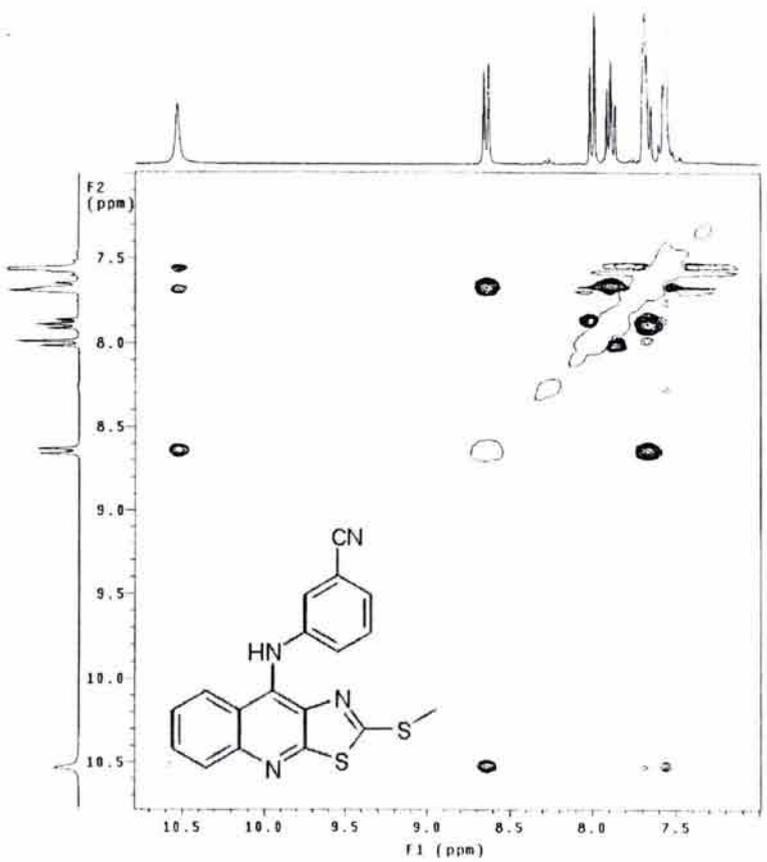
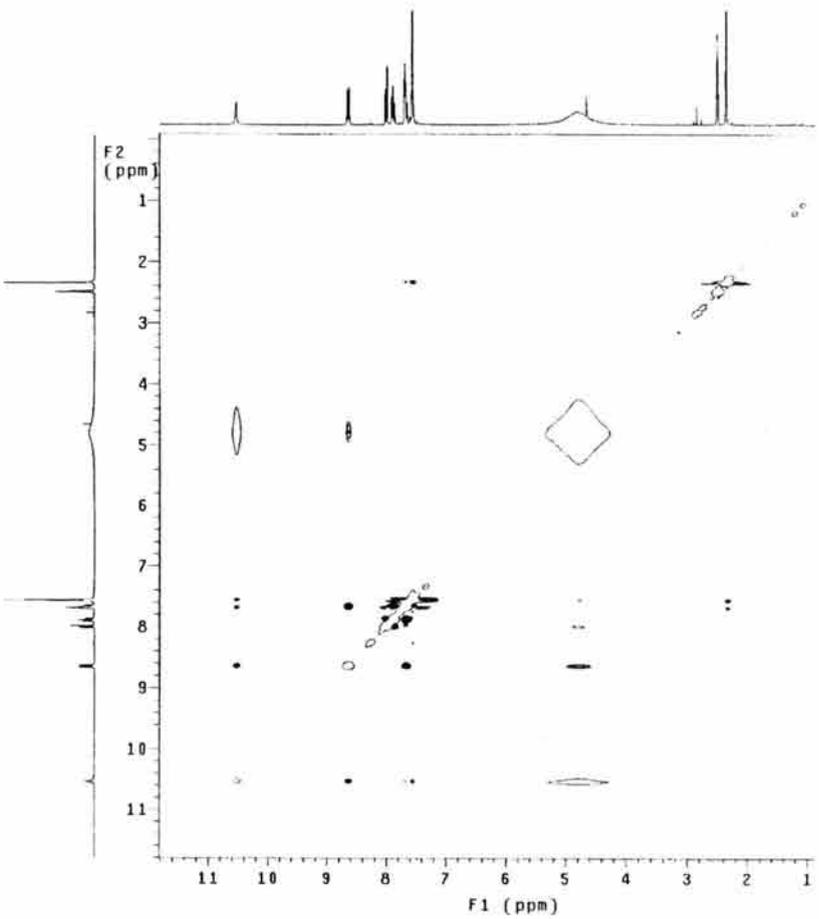
ESPECTRO NO. 7. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO II



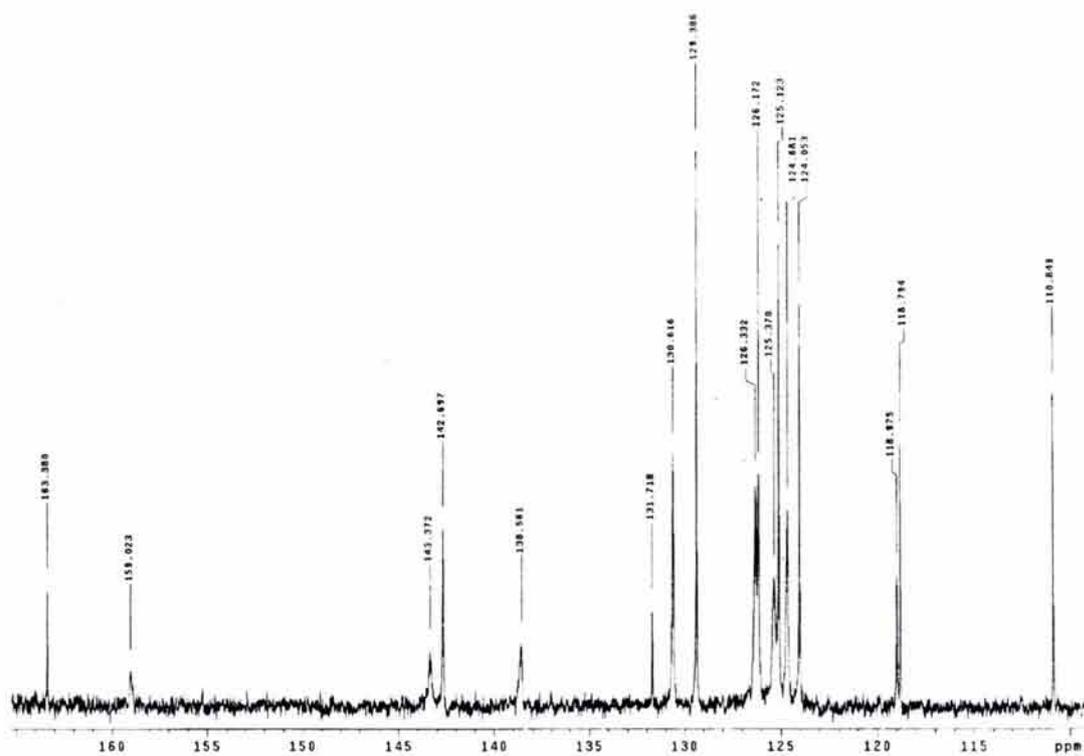
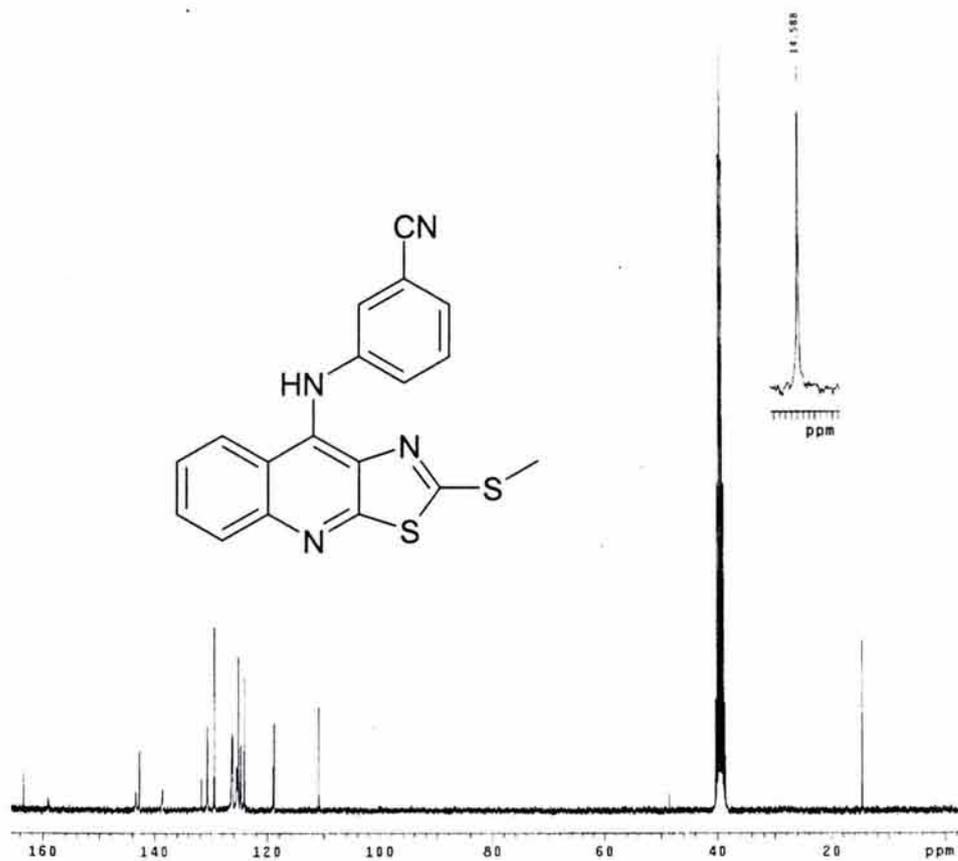


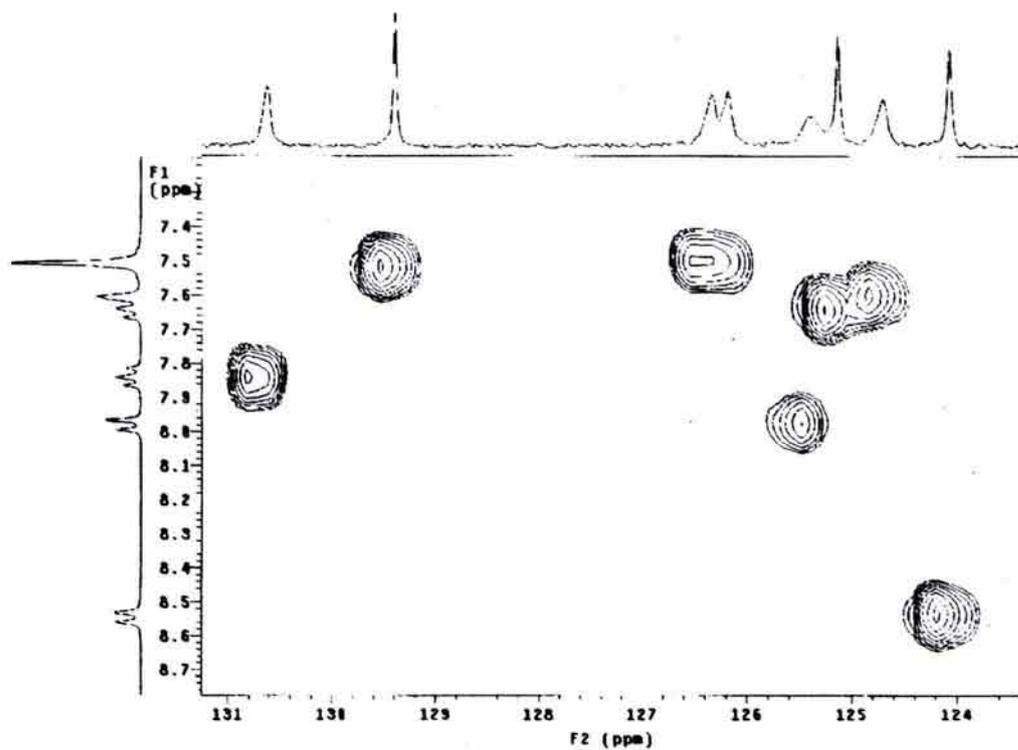
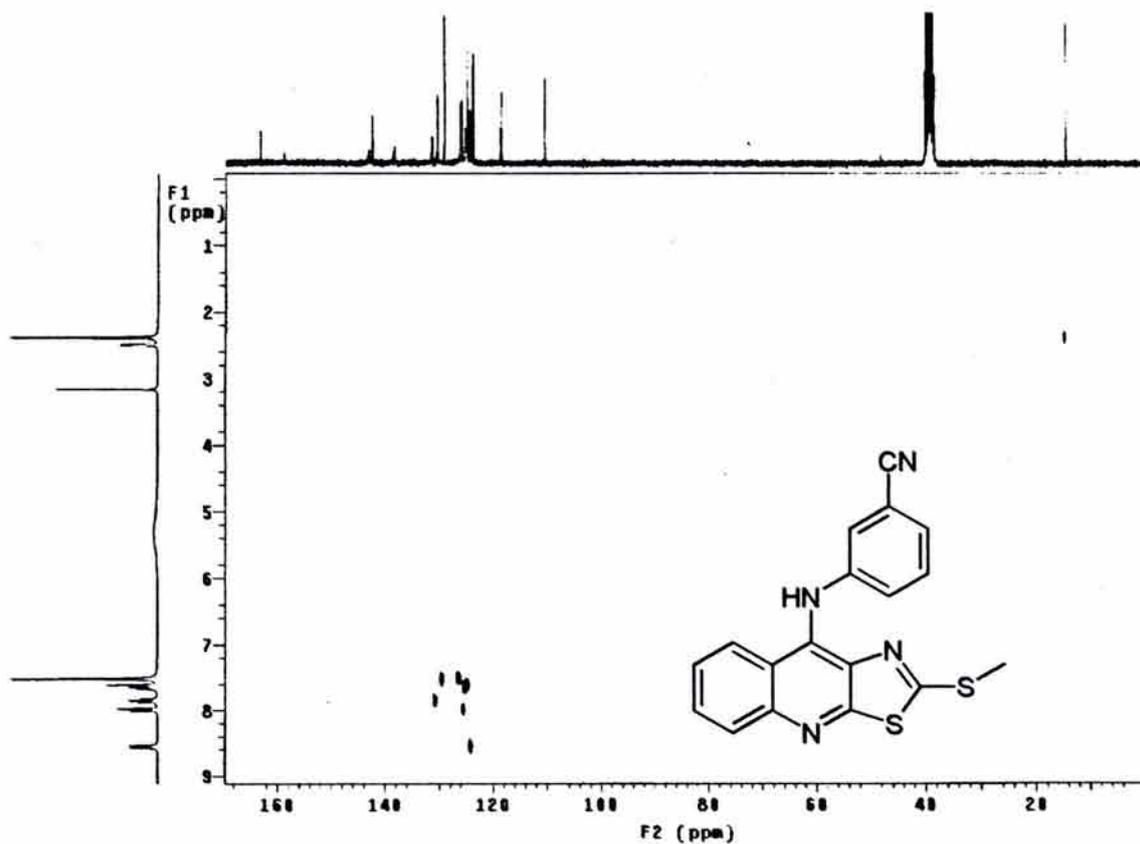
ESPECTRO NO. 8. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO II (DMSO-d₆)

ESPECTRO NO. 8. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO II
INTERCAMBIO CON D₂O.

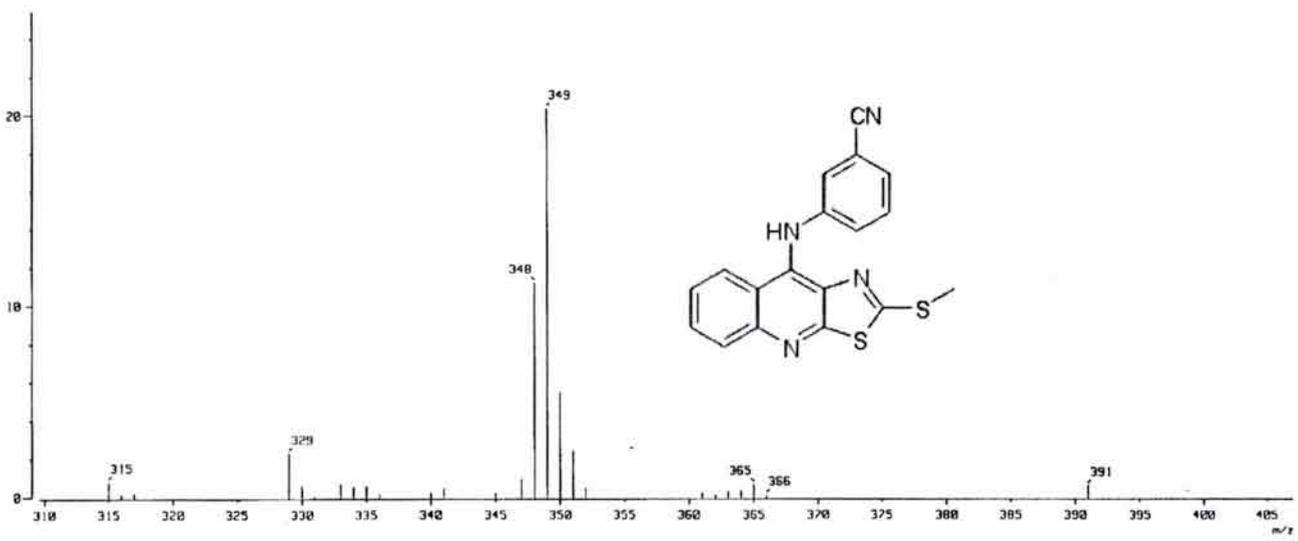
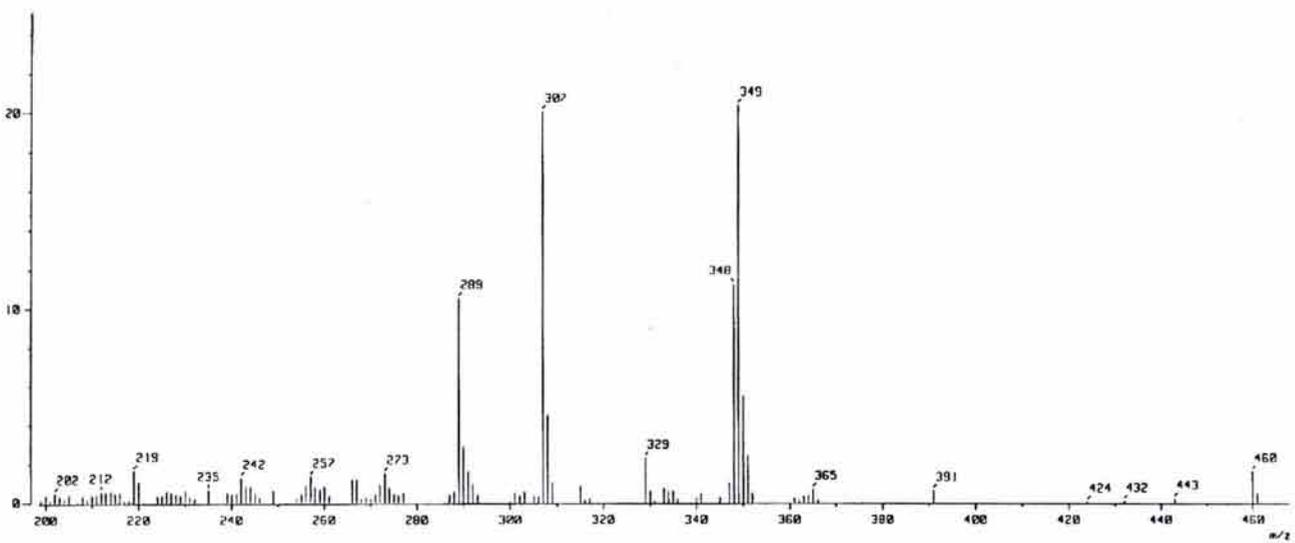


ESPECTRO NO. 9 ESPECTRO NOESY DEL COMPUESTO II

ESPECTRO NO. 10. ESPECTRO RMN- ^{13}C DEL COMPUESTO II (DMSO- d_6)

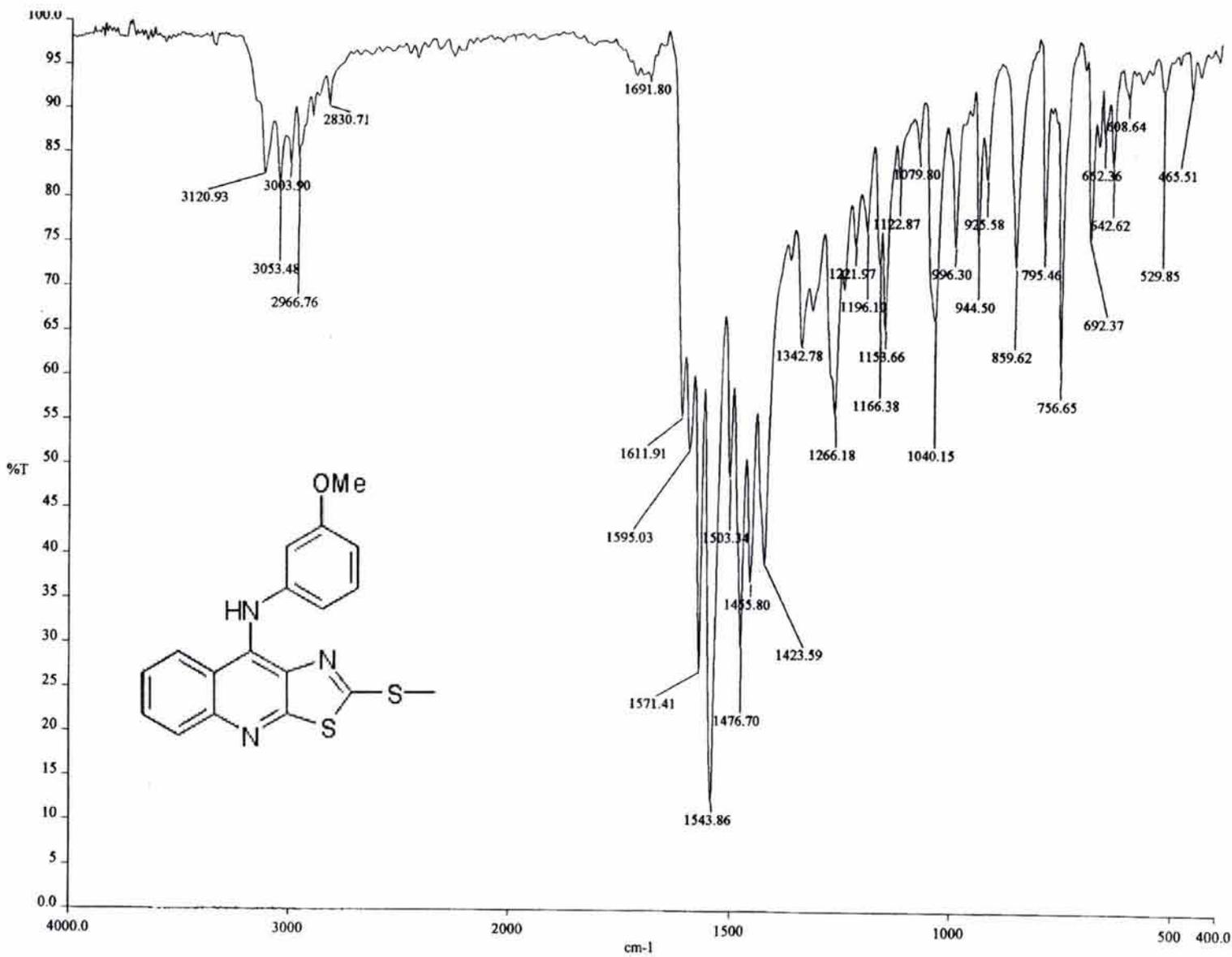


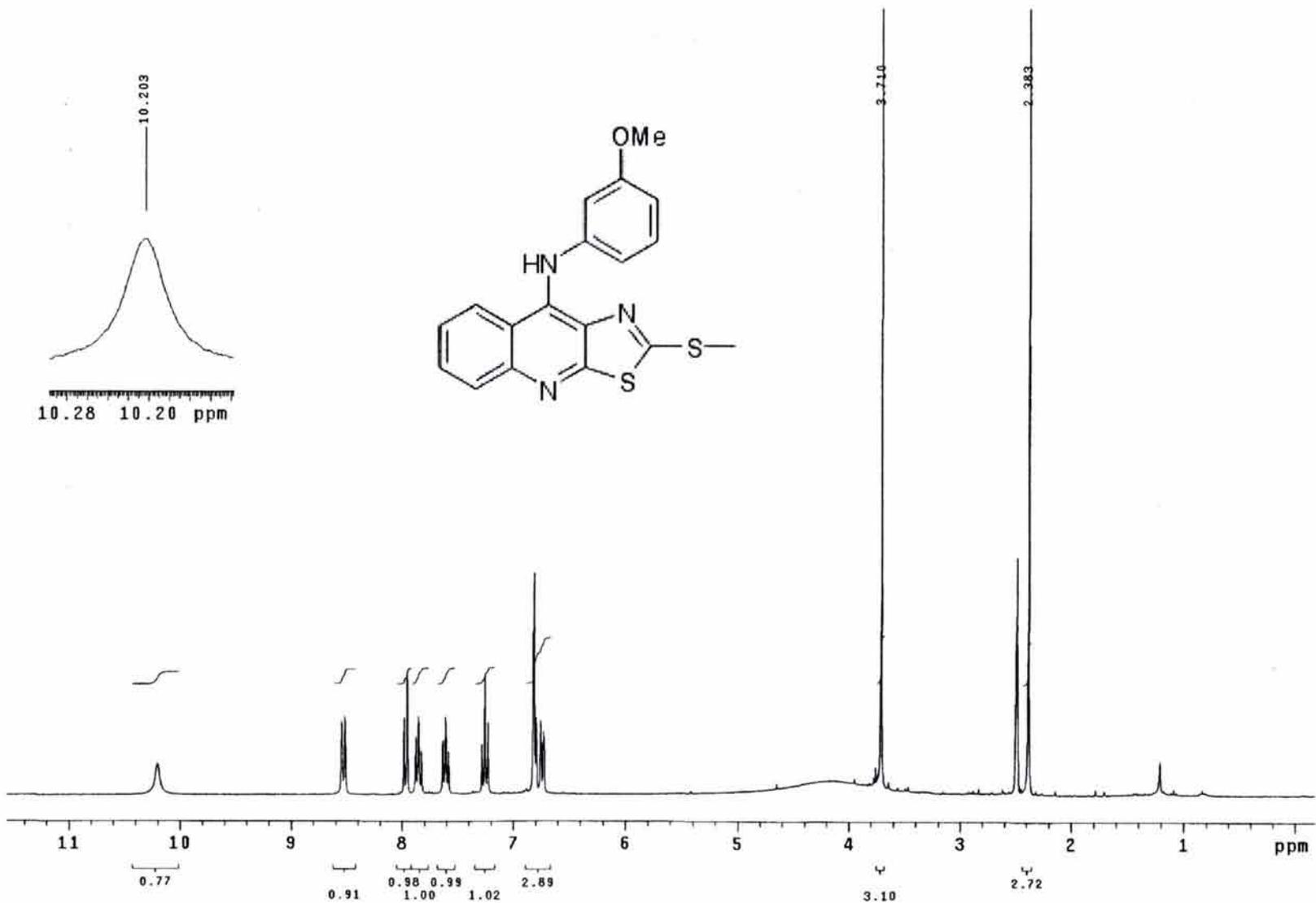
ESPECTRO NO. 11. ESPECTRO HETCOR DEL COMPUESTO II (DMSO-d₆)



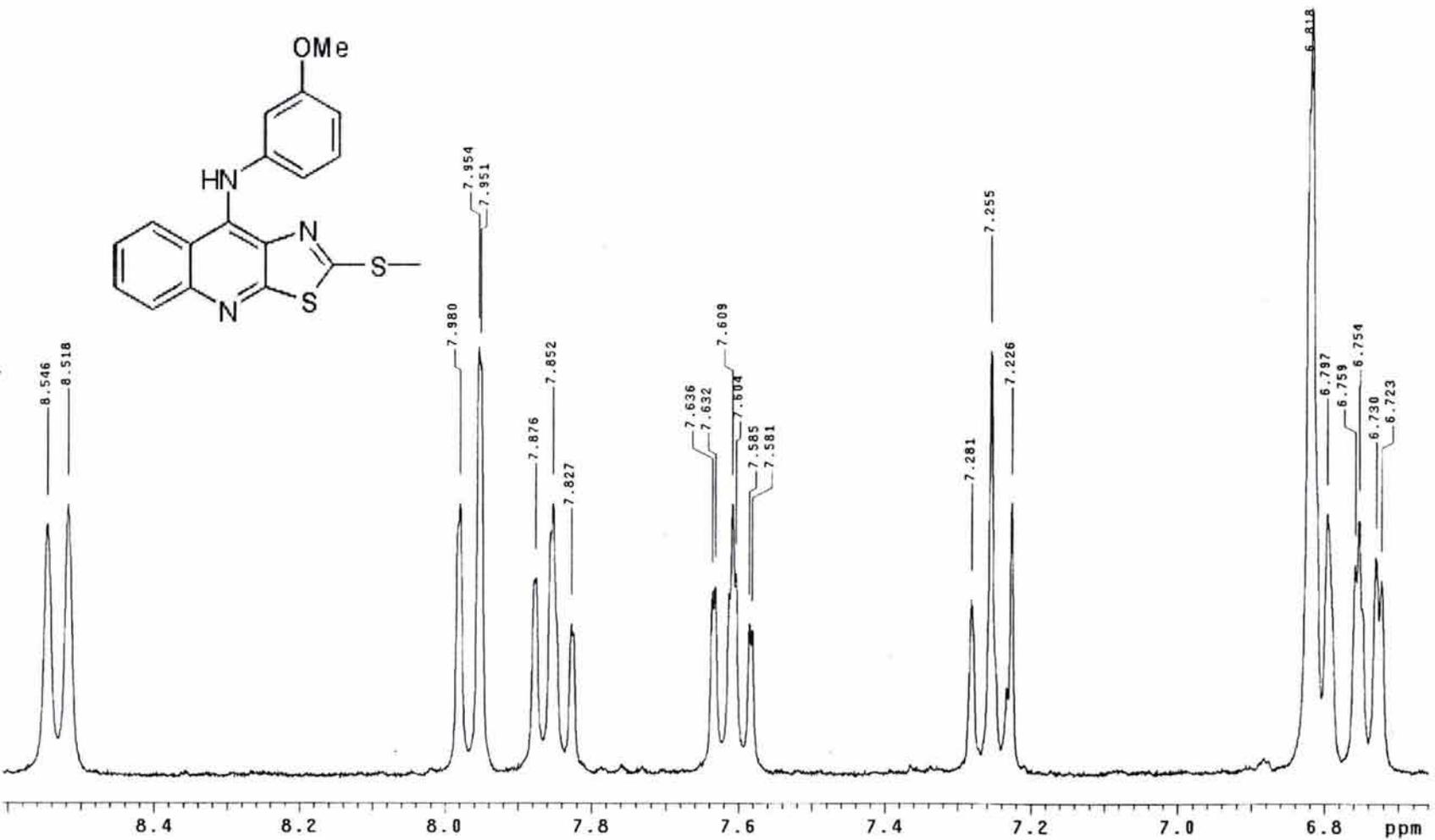
ESPECTRO NO. 12. ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO II (FAB)

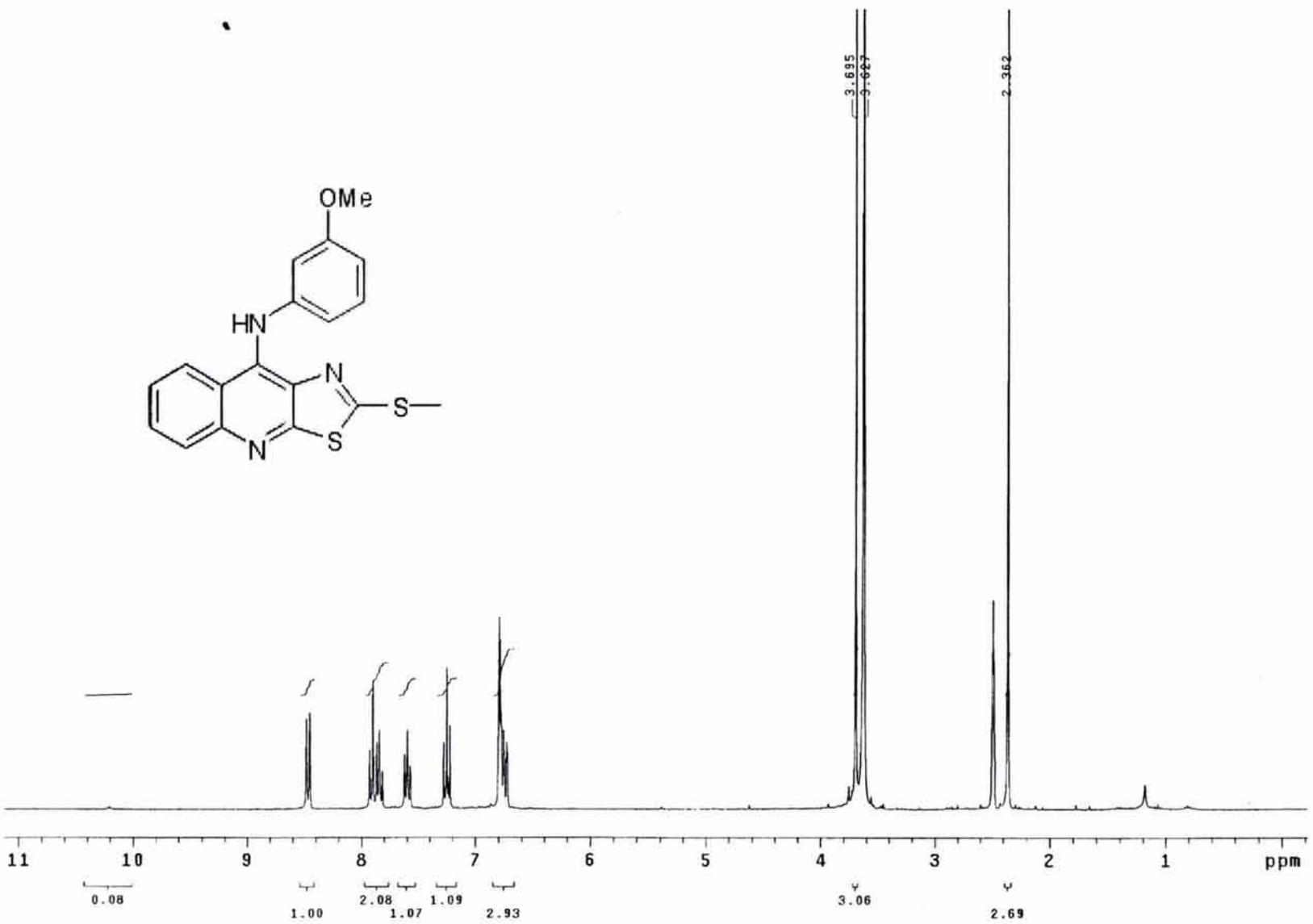
ESPECTRO NO. 13: ESPECTRO IR DEL COMPUESTO III



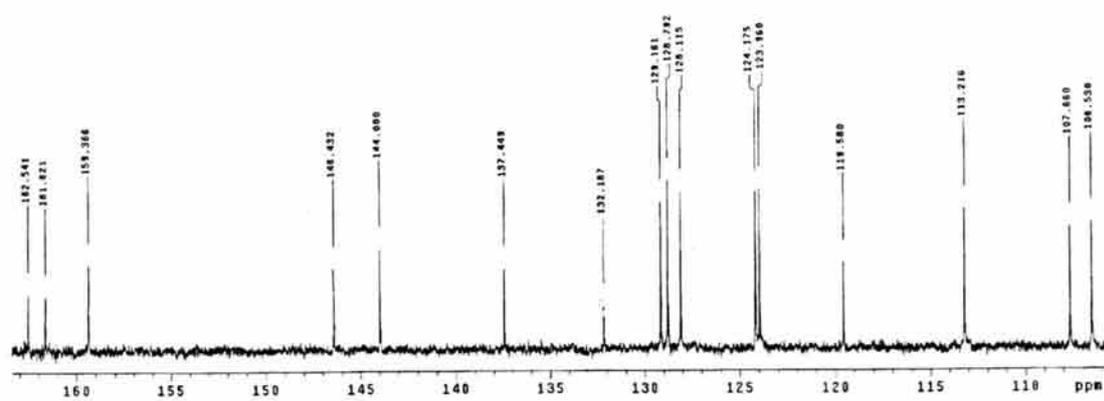
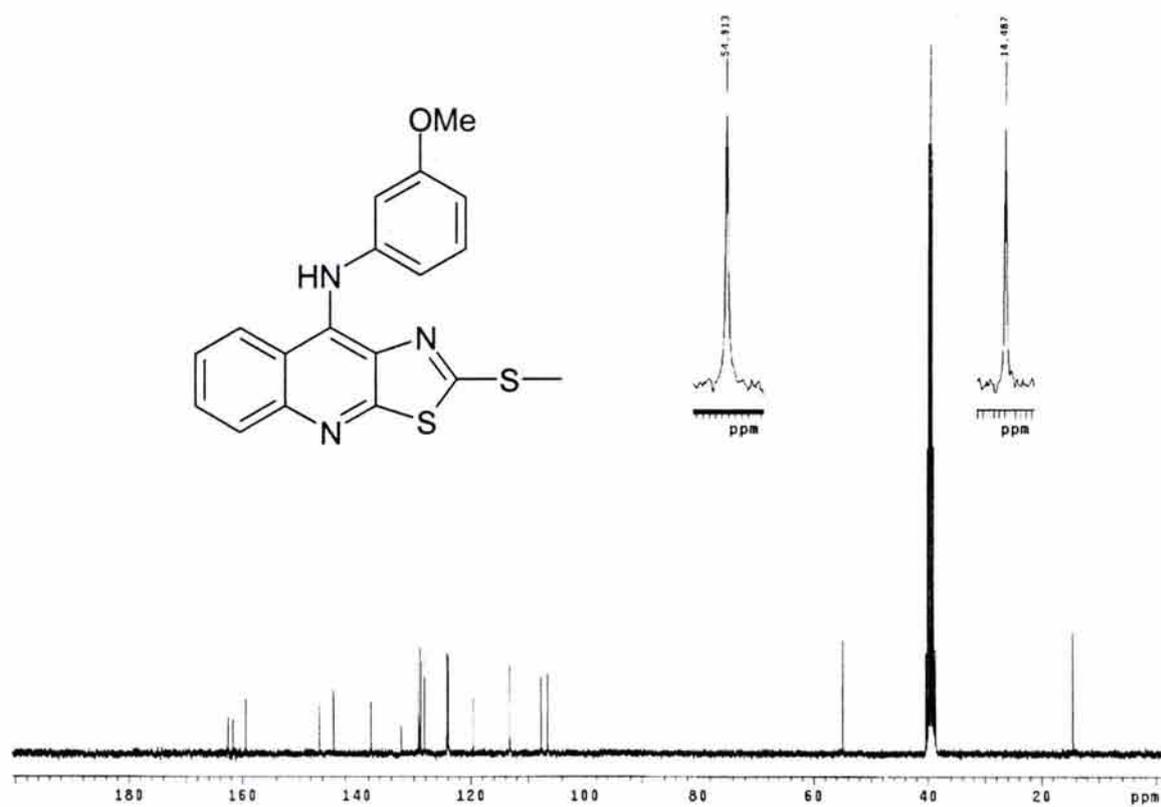


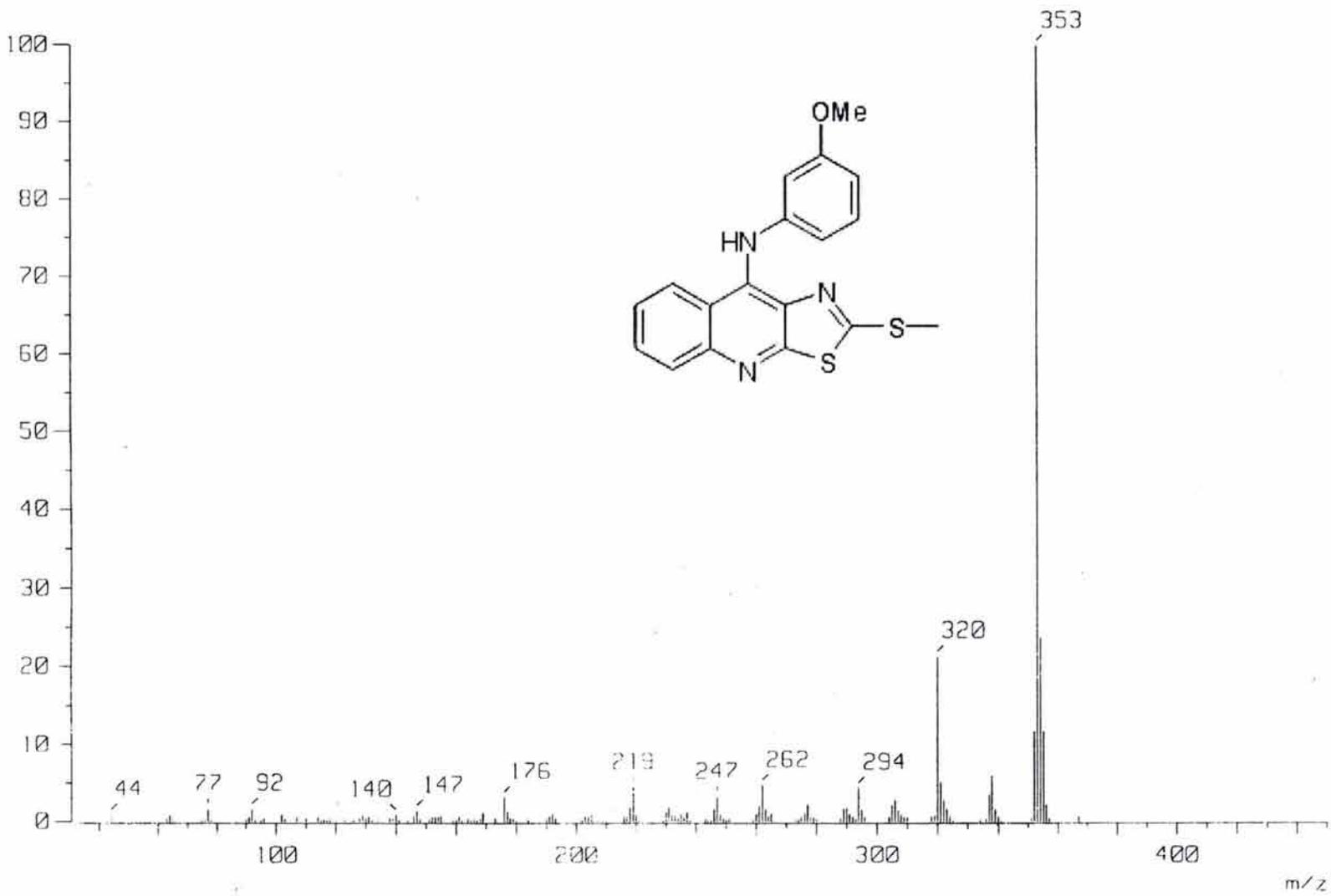
ESPECTRO NO. 14. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO III (DMSO-d₆)

ESPECTRO NO. 14. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO III (DMSO-d₆). AMPLIACION.



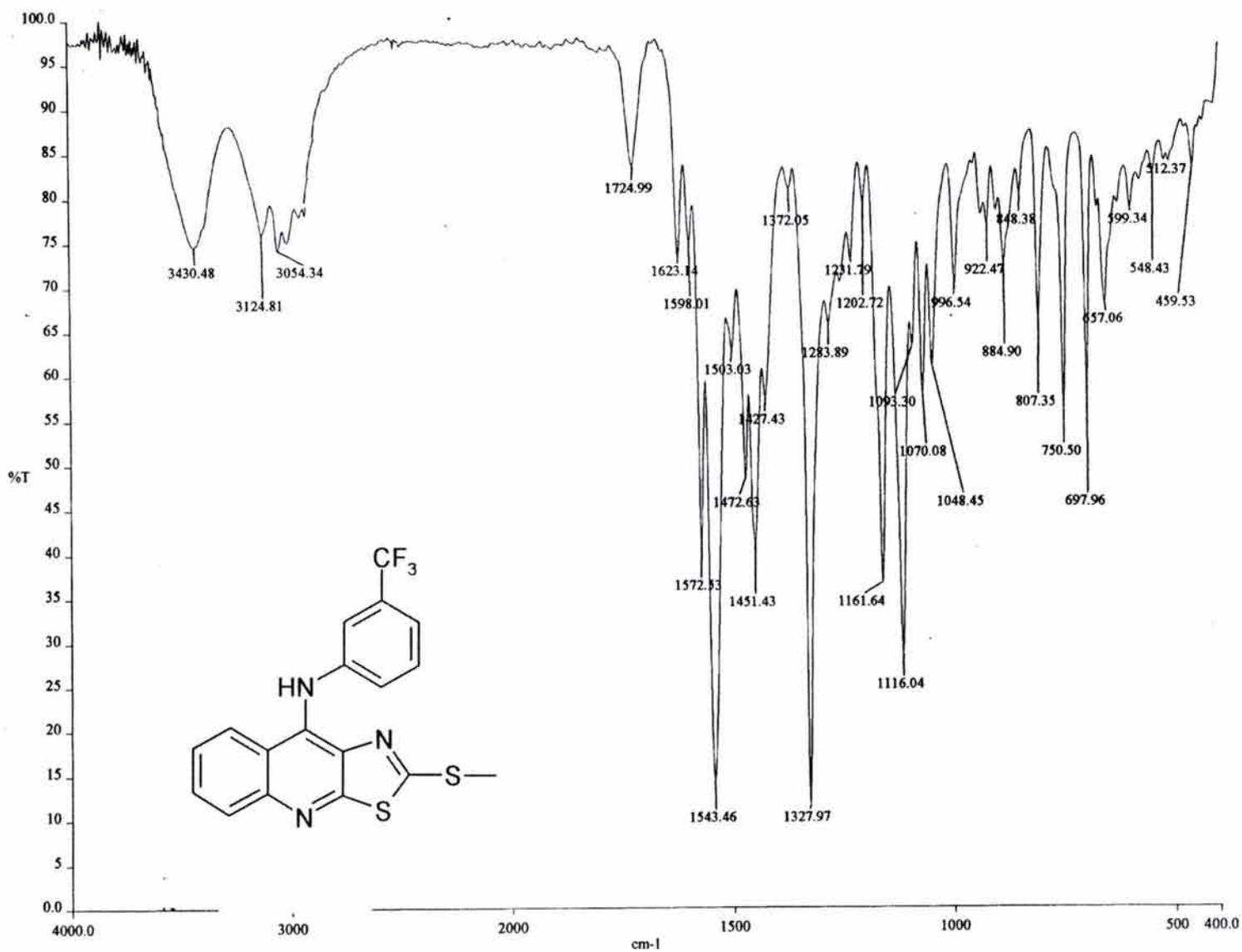
ESPECTRO NO. 14. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO III (DMSO- d_6)
INTERCAMBIO CON D_2O .

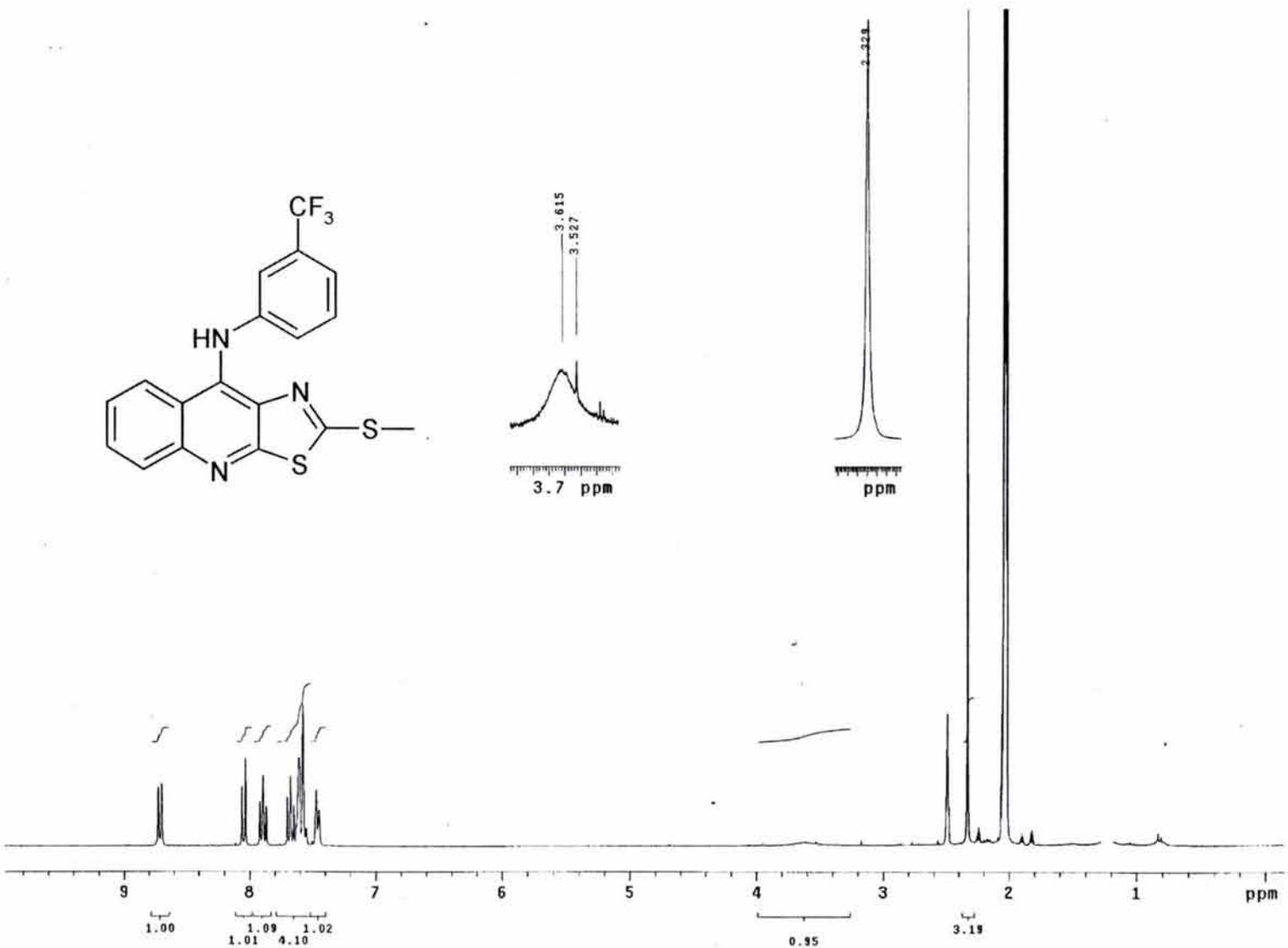
ESPECTRO NO. 15. ESPECTRO RMN- ^{13}C DEL COMPUESTO III (DMSO- d_6)



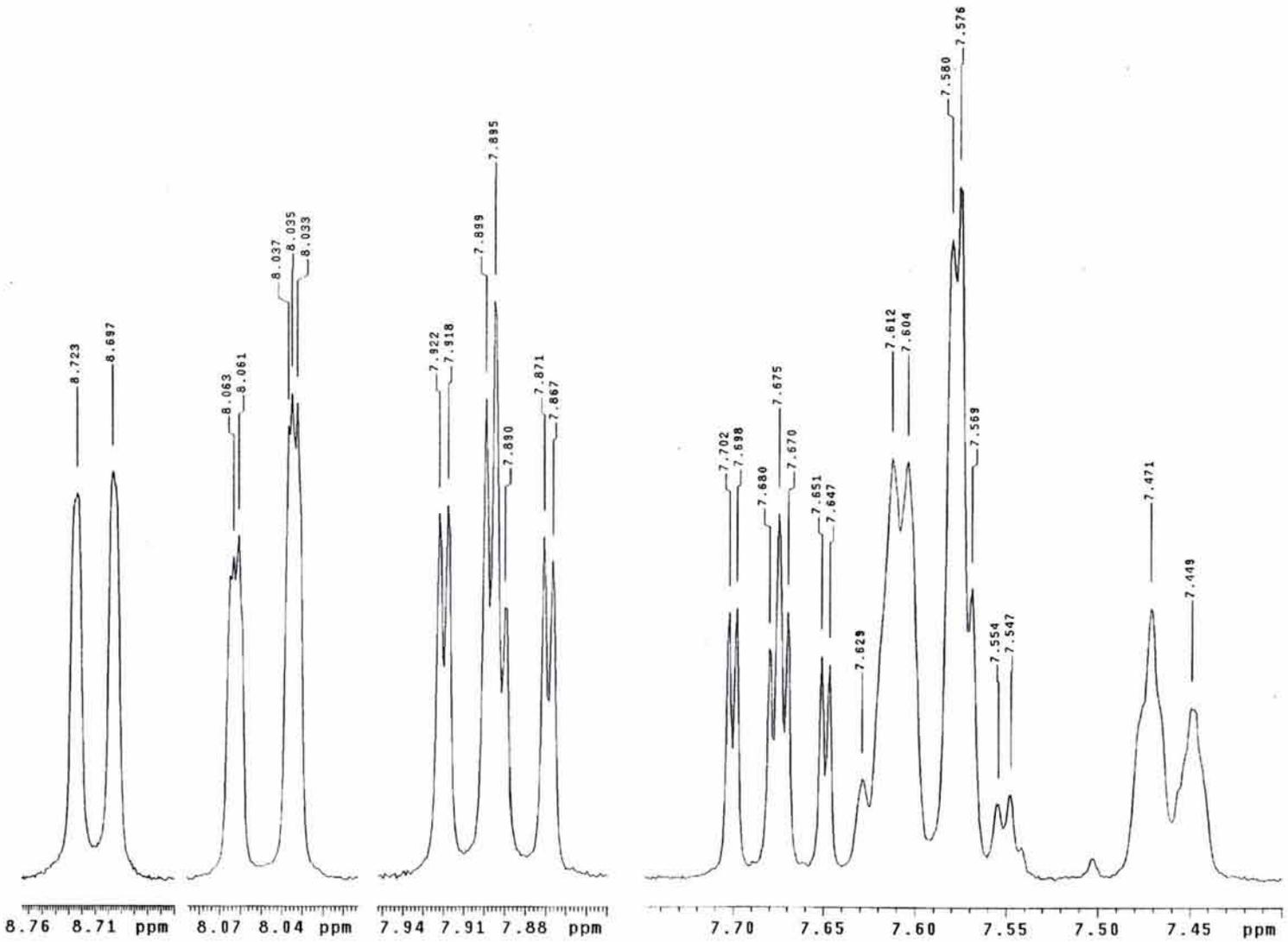
ESPECTRO NO. 16. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO III (IE)

ESPECTRO NO. 17. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO IV

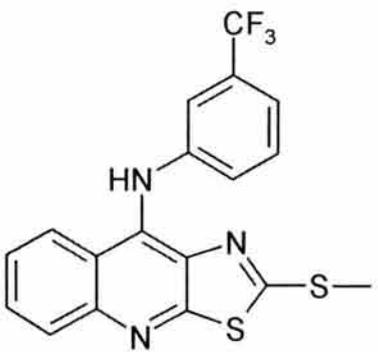
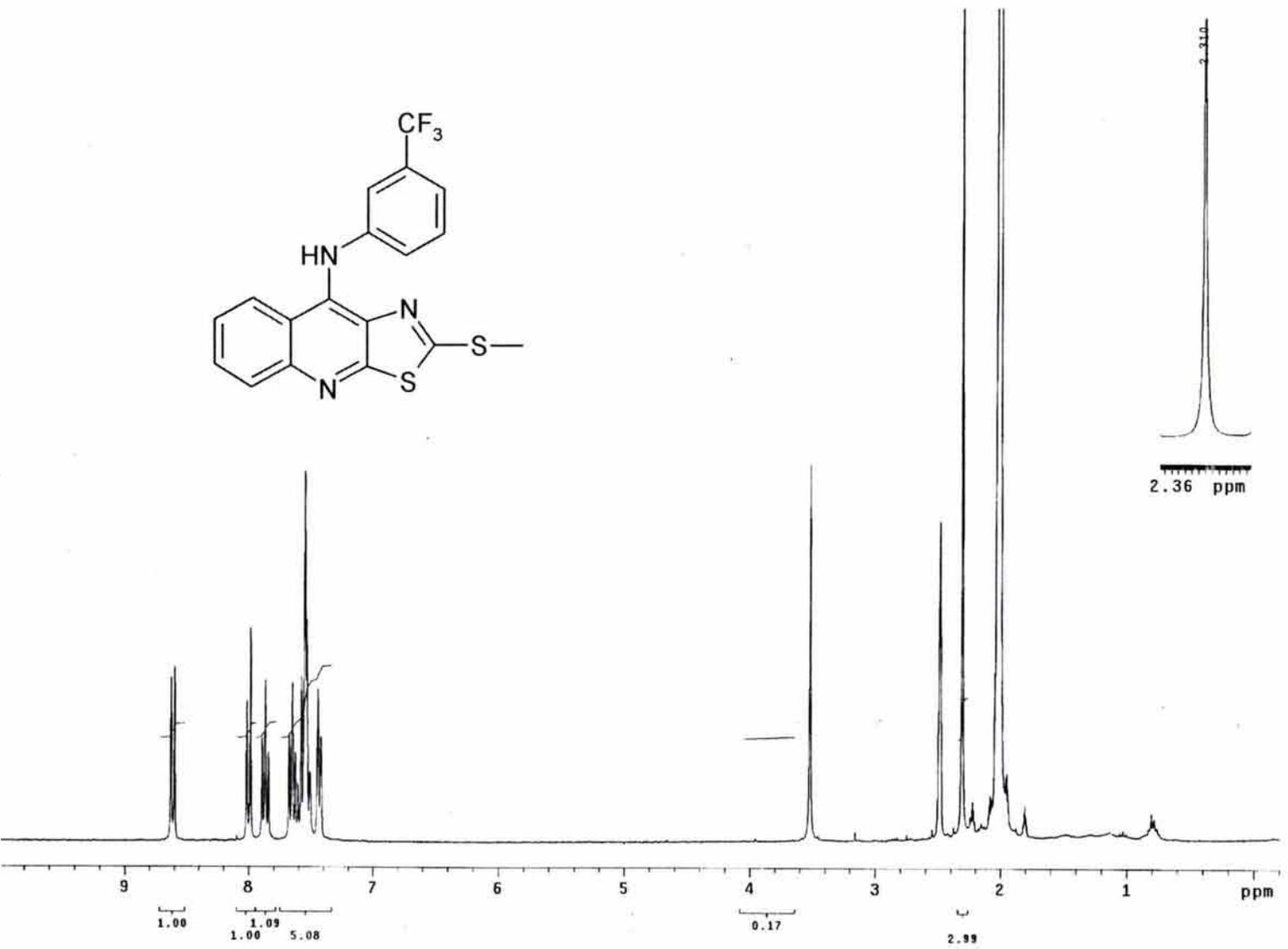




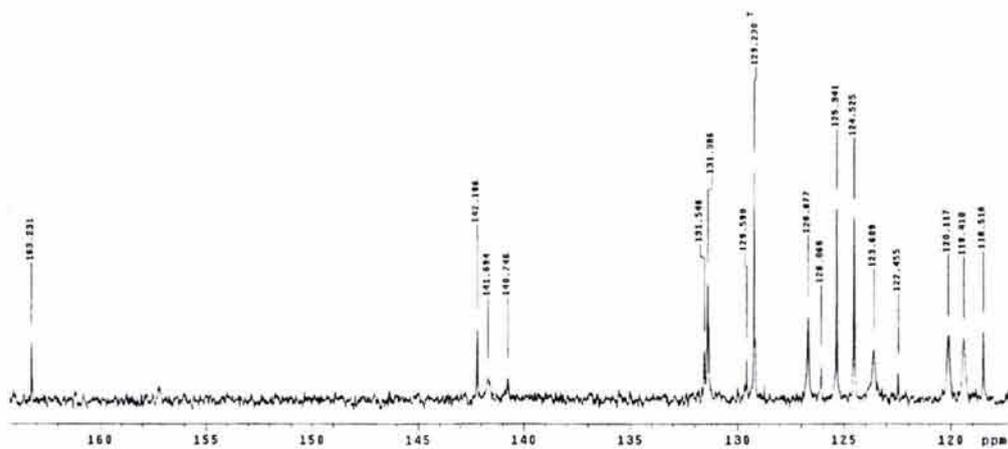
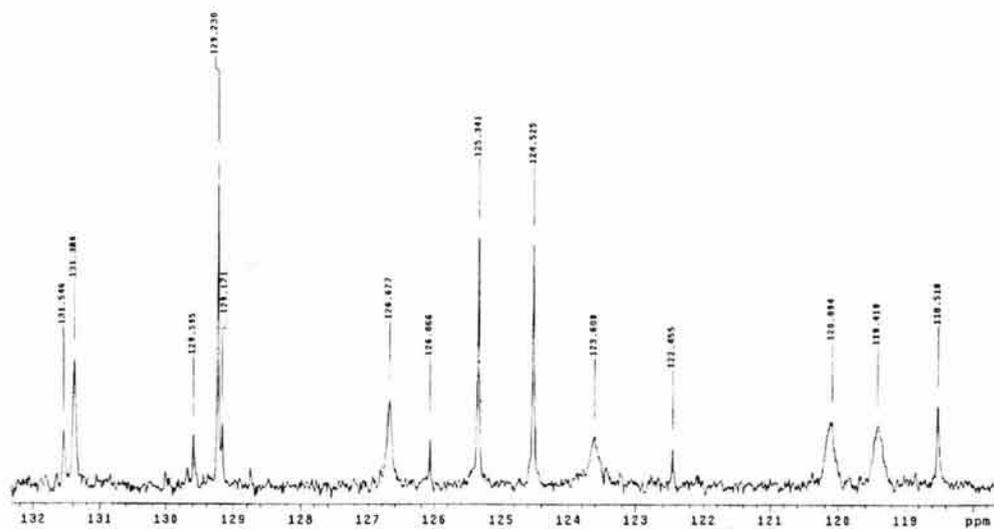
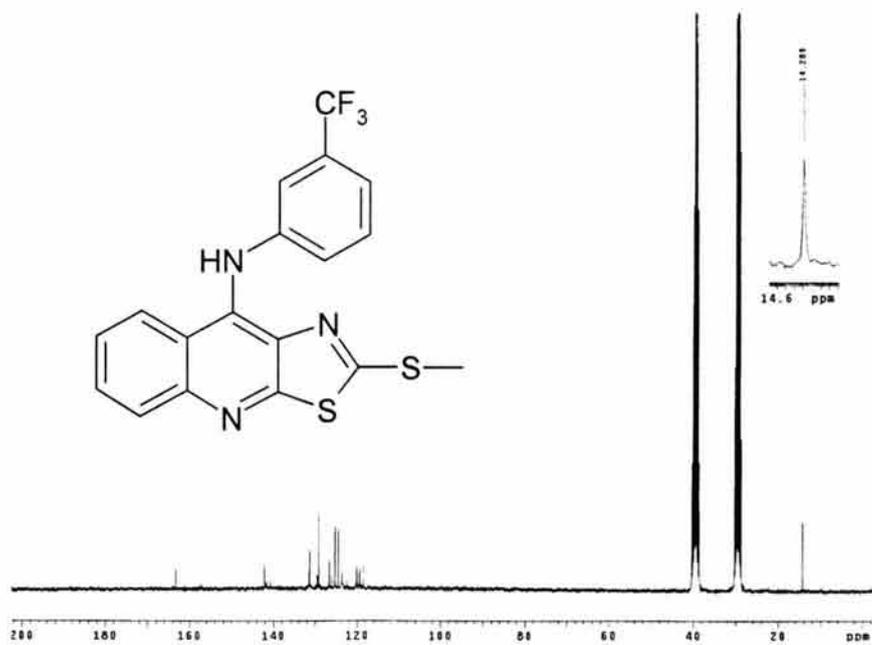
ESPECTRO NO. 18. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO IV (DMSO-d₆+acetona)



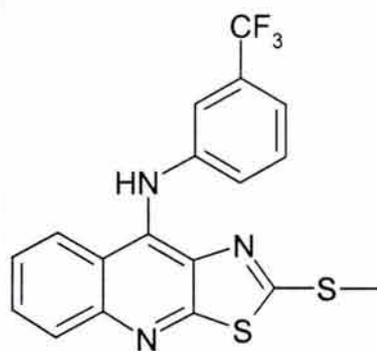
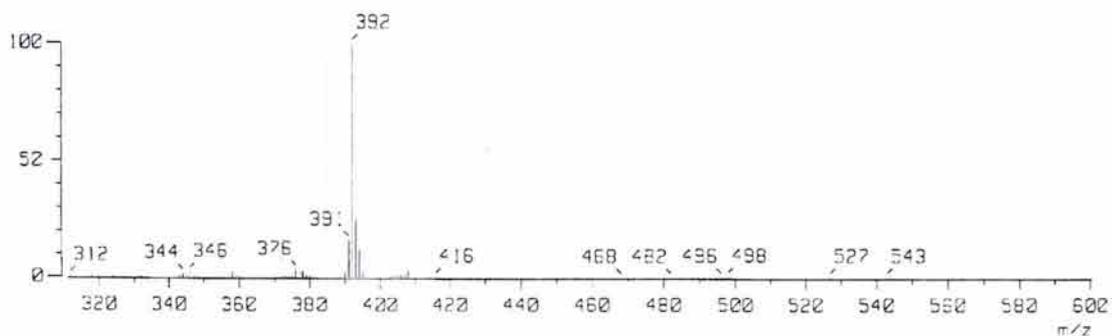
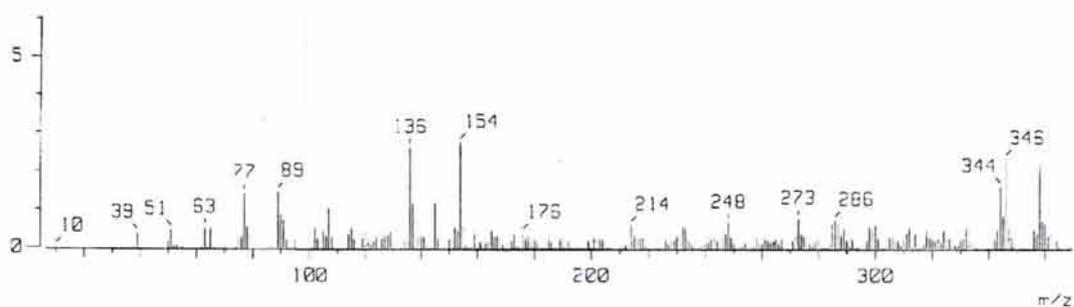
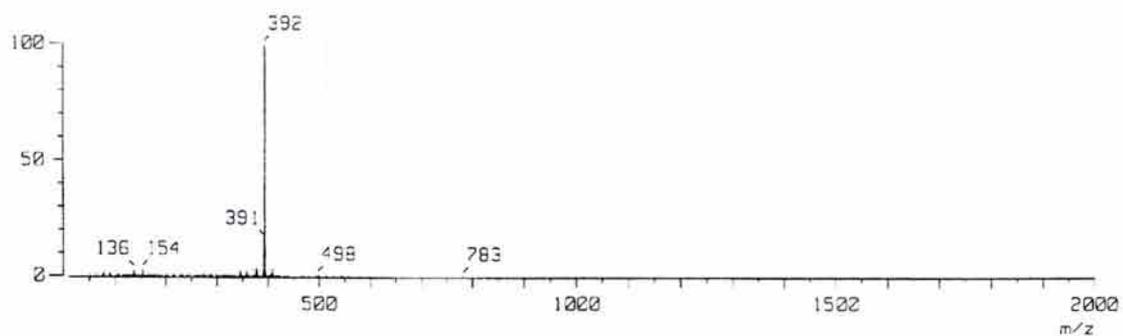
ESPECTRO NO. 18. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO IV (DMSO-d₆)
AMPLIACIÓN



ESPECTRO NO. 18. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO IV (DMSO-d₆+acetona)
INTERCAMBIO CON D₂O.

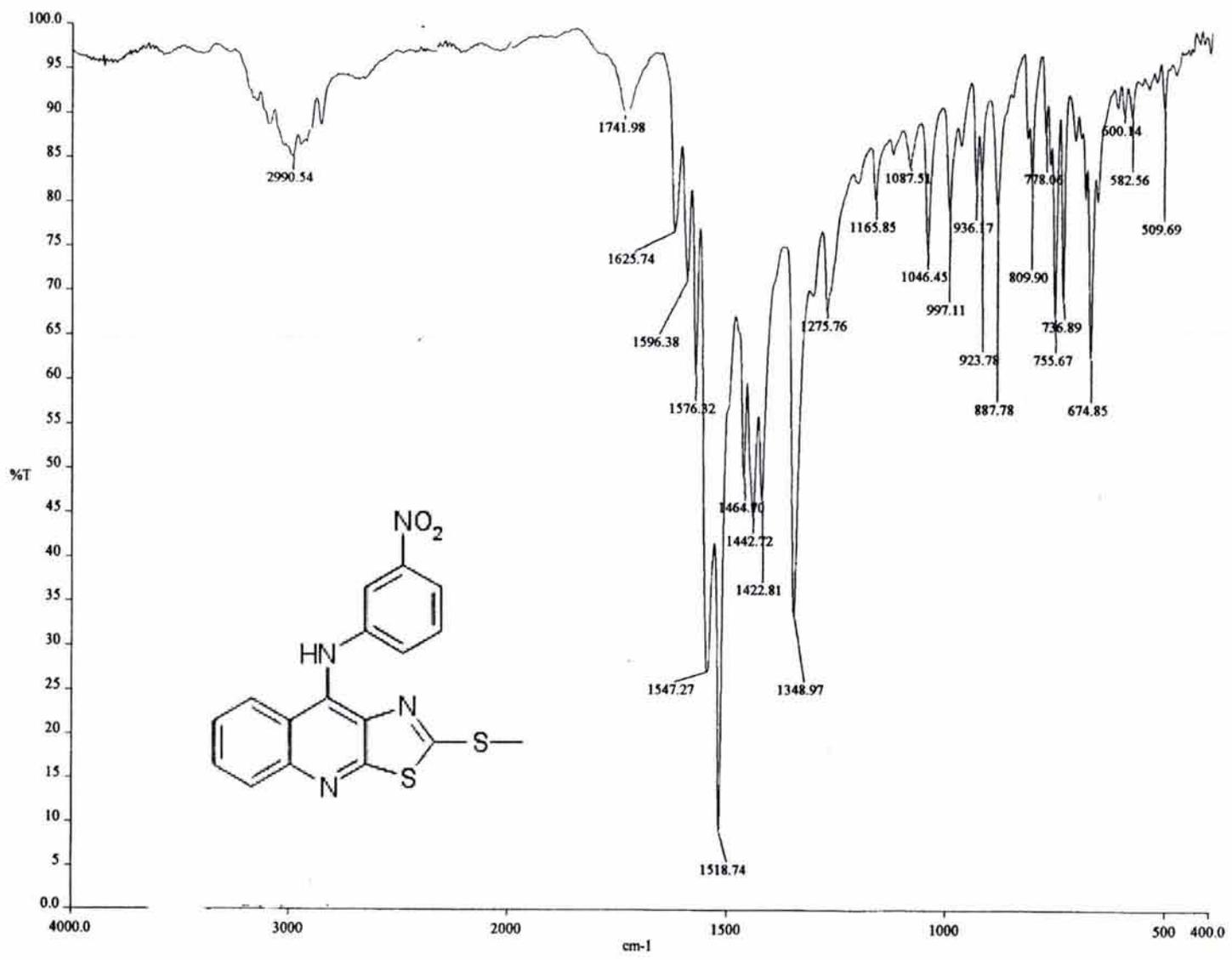


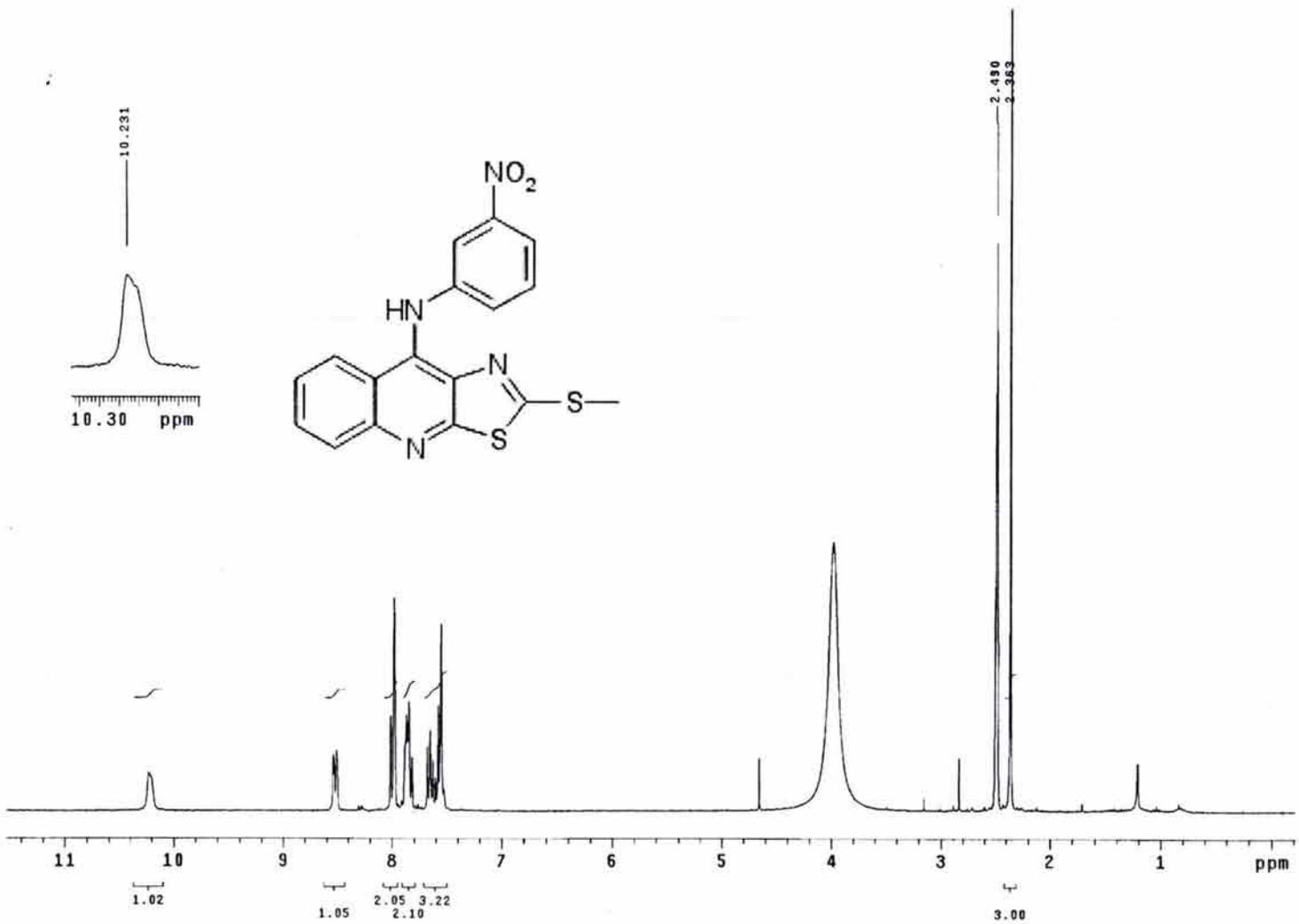
ESPECTRO NO. 19. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO IV (DMSO-d₆+acetona)



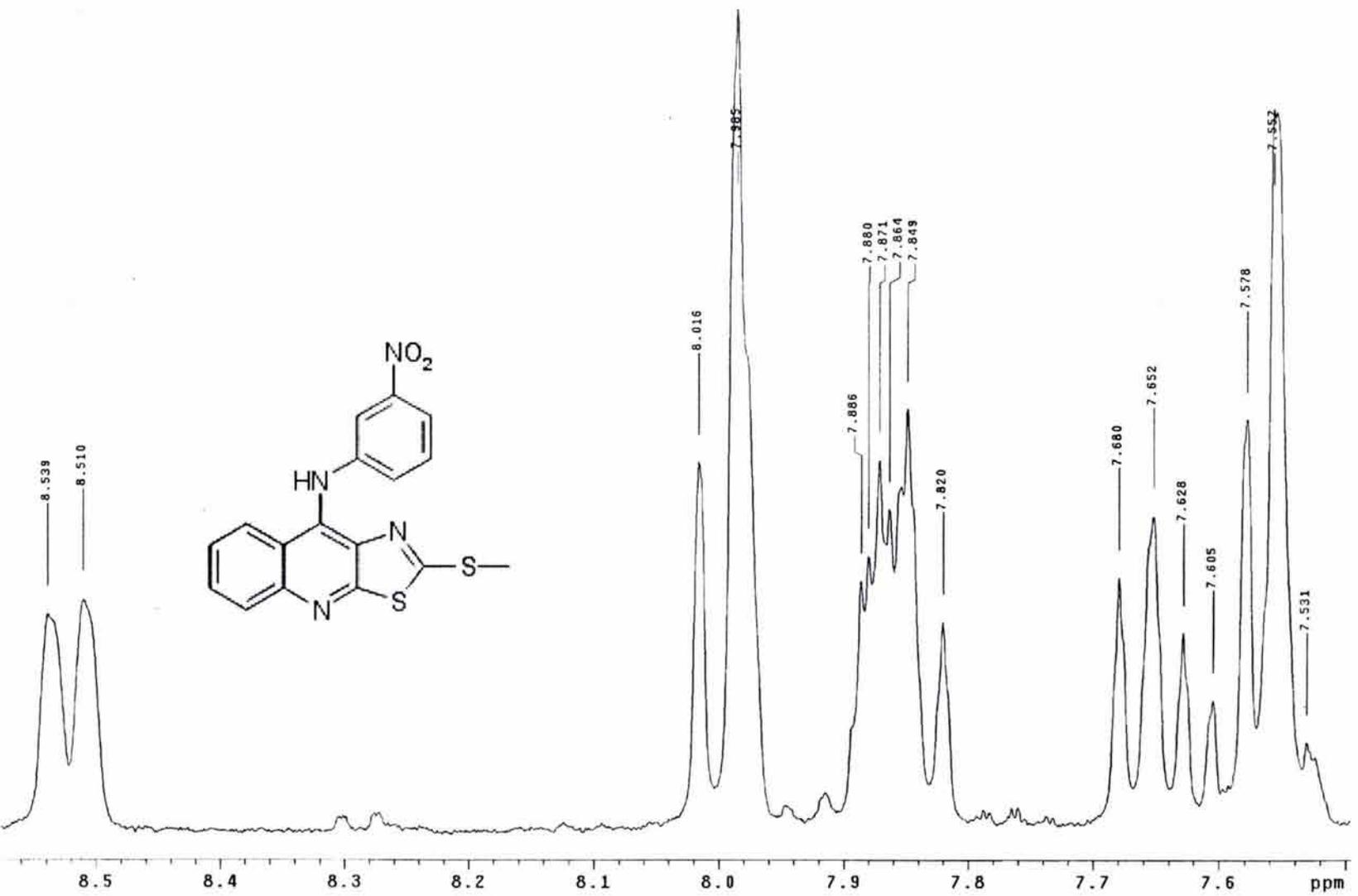
ESPECTRO NO. 20. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO IV (FAB)

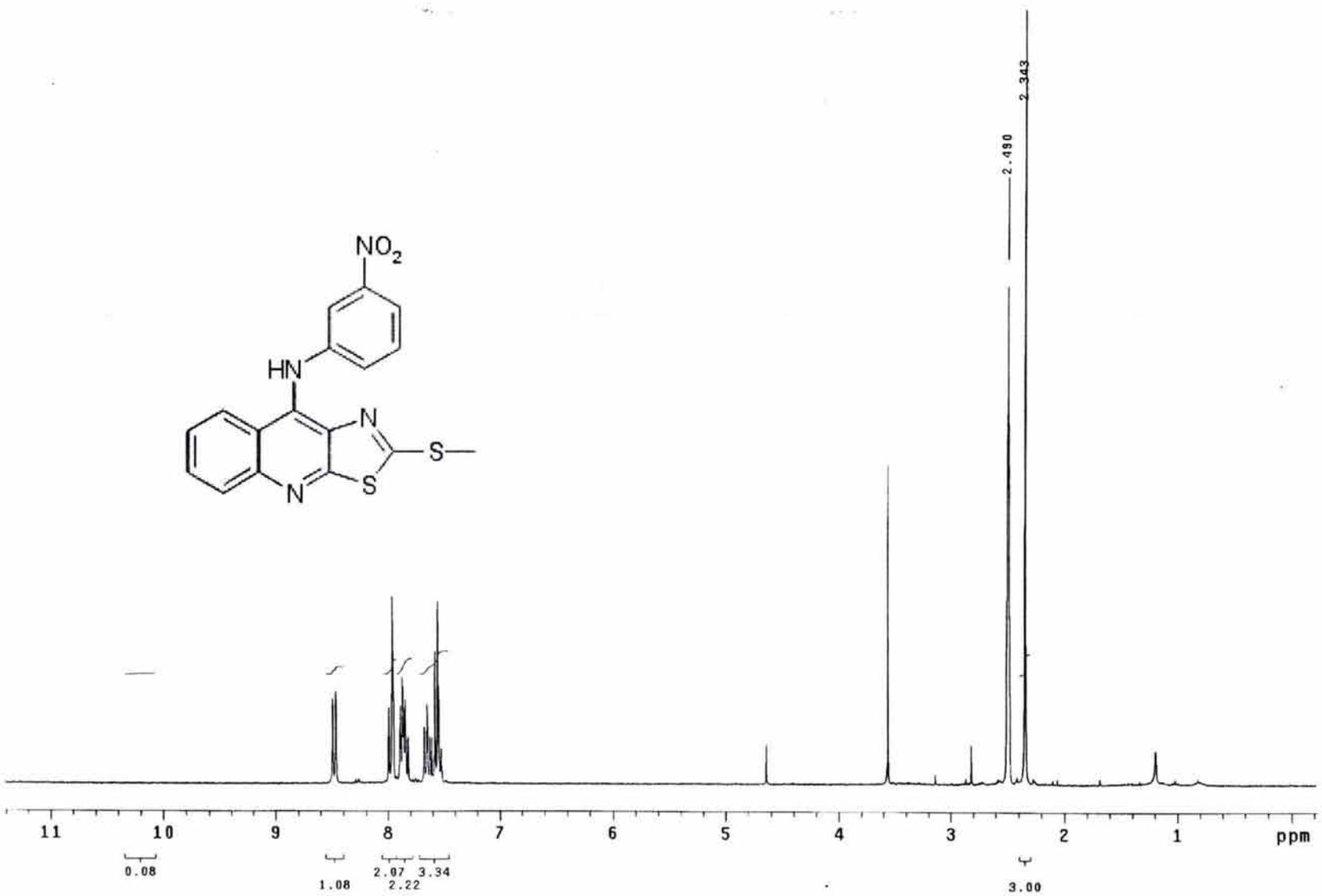
ESPECTRO NO. 21. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO V



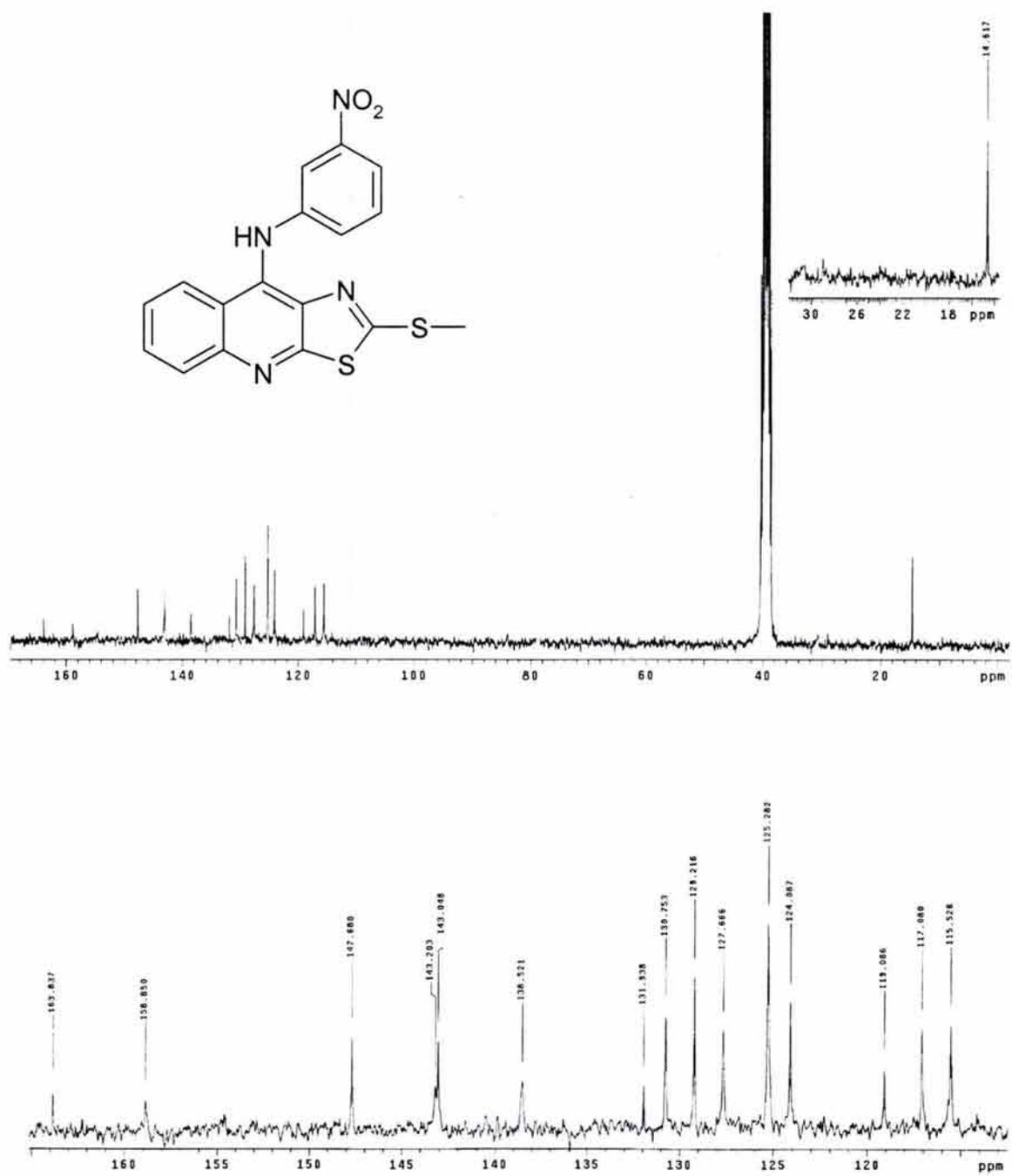


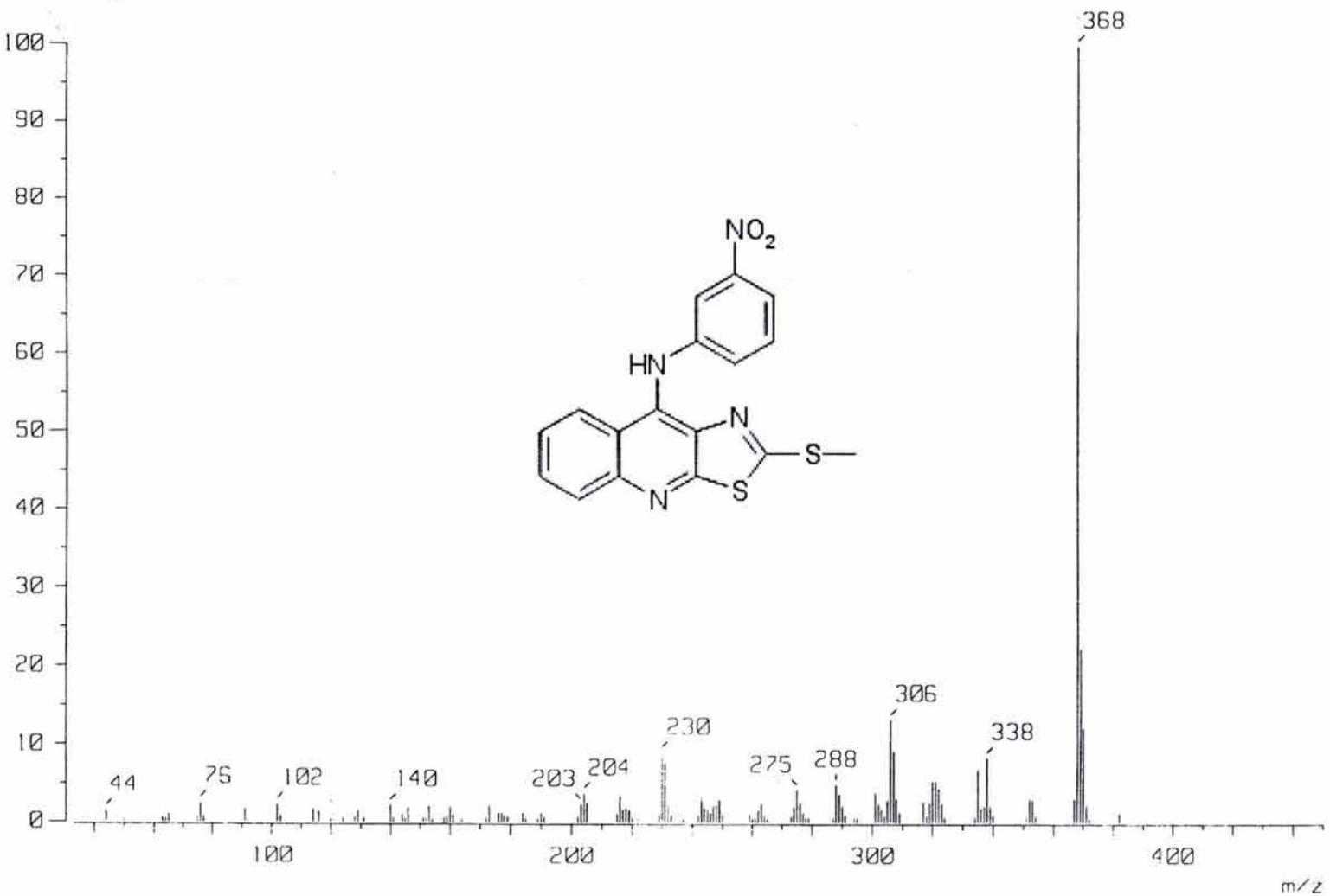
ESPECTRO NO. 22. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO V (DMSO-d₆)





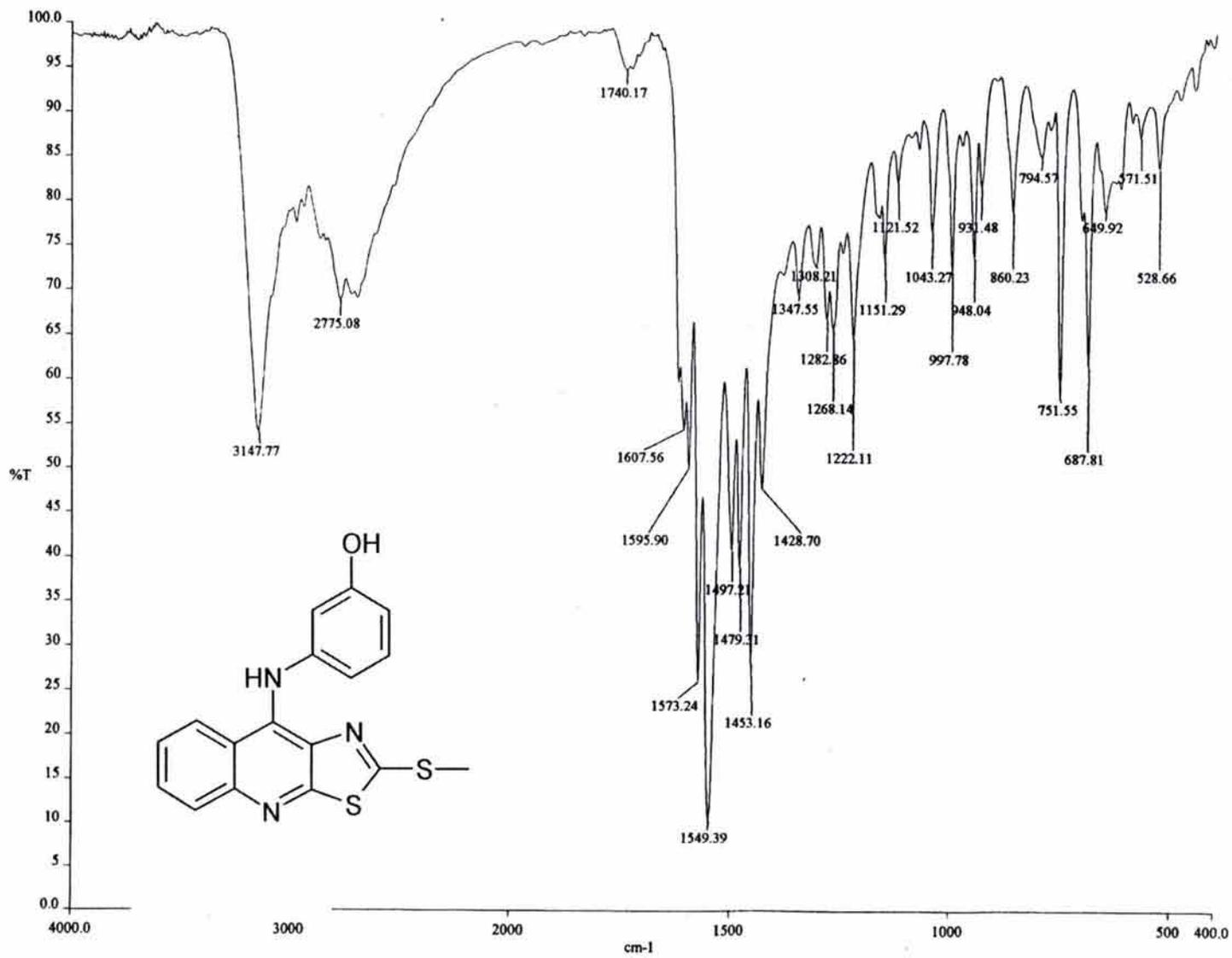
ESPECTRO NO. 22. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO V (DMSO-d_6)
INTERCAMBIO CON D_2O .

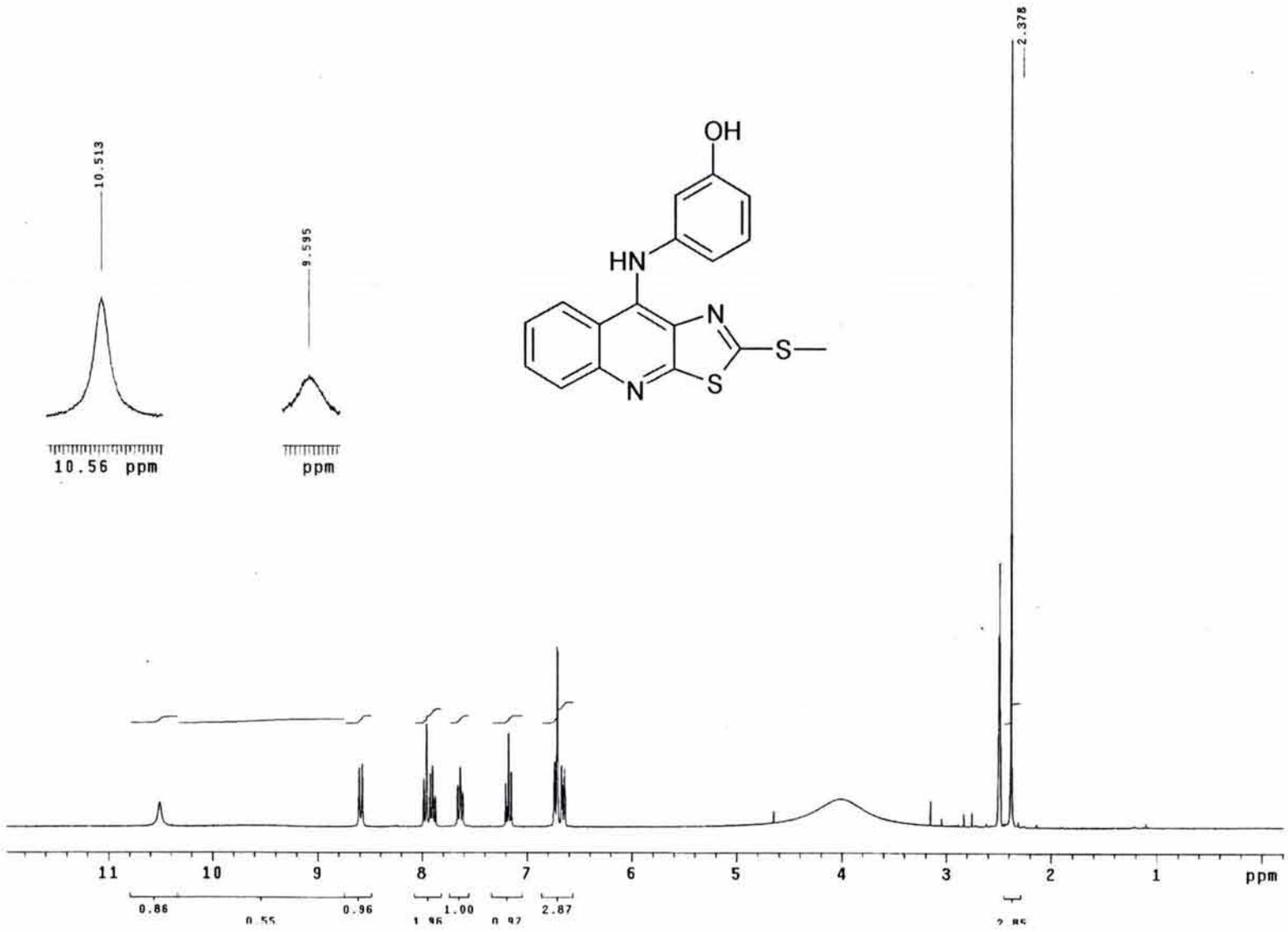
ESPECTRO NO. 23. ESPECTRO RMN- ^{13}C DEL COMPUESTO V (DMSO- d_6)

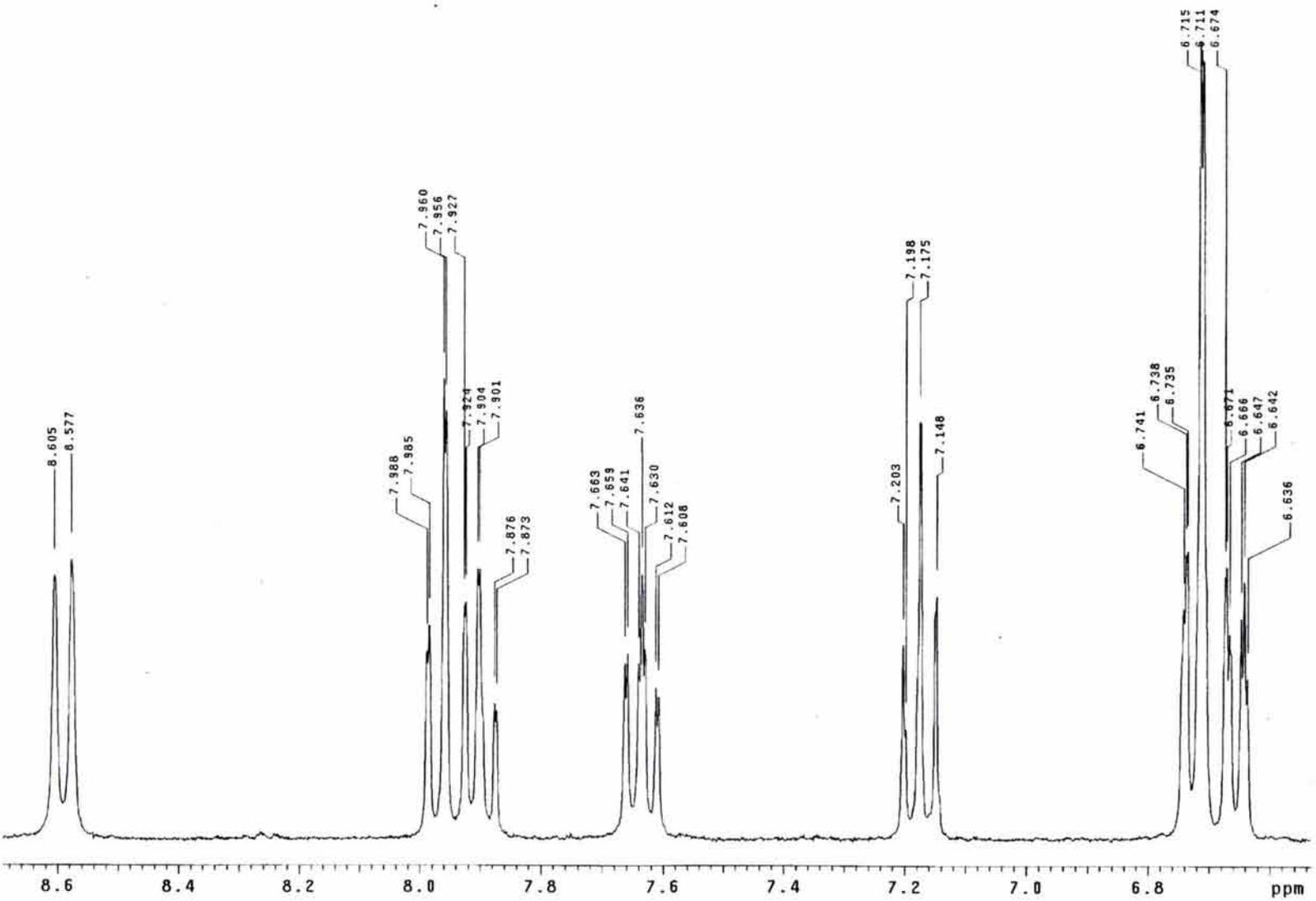


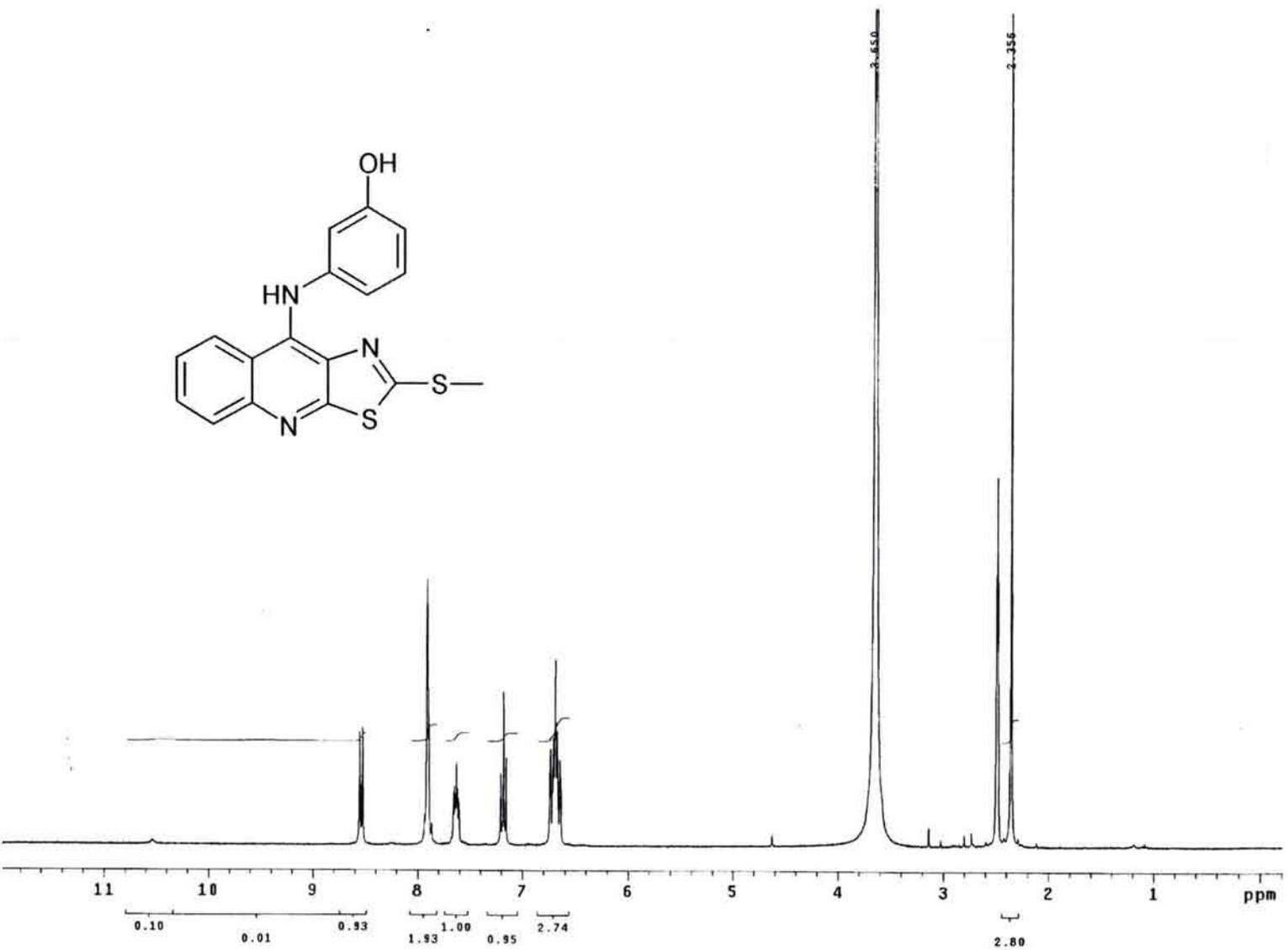
ESPECTRO NO. 24. ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO V (FAB)

ESPECTRO NO. 25. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO VI



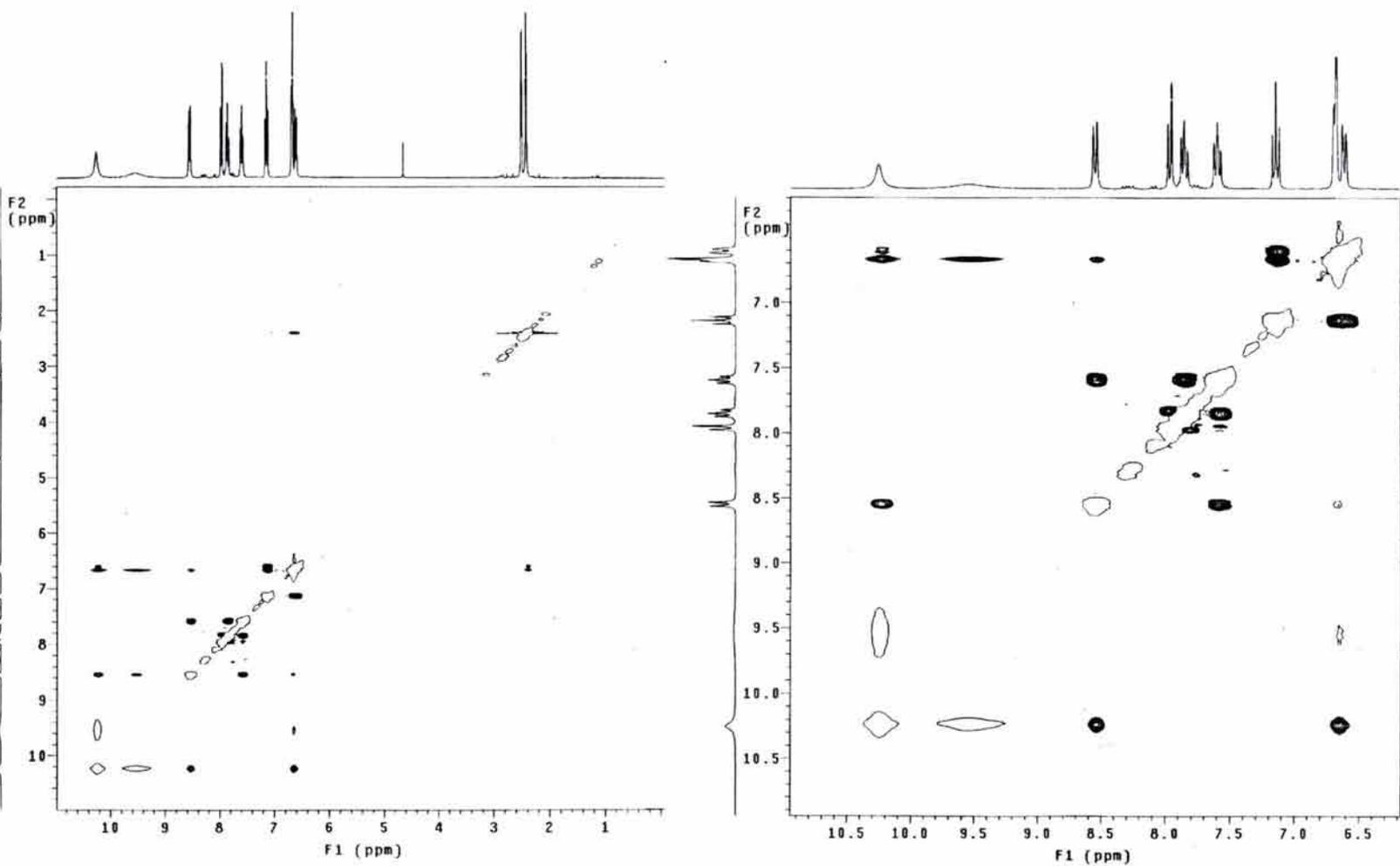


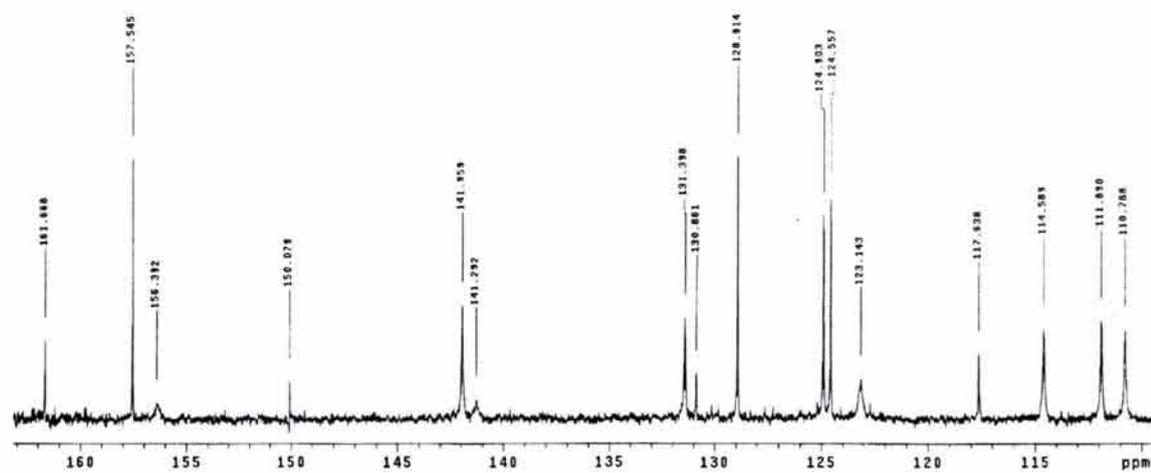
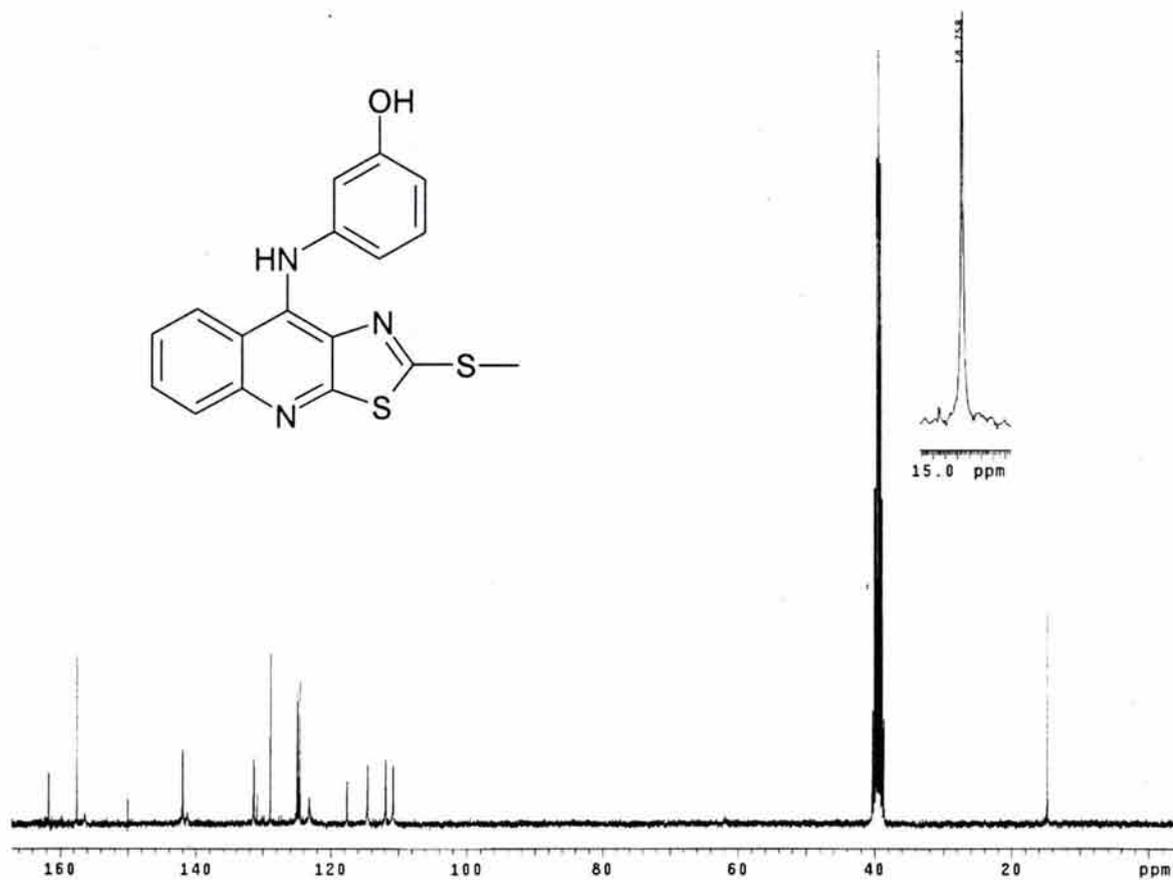




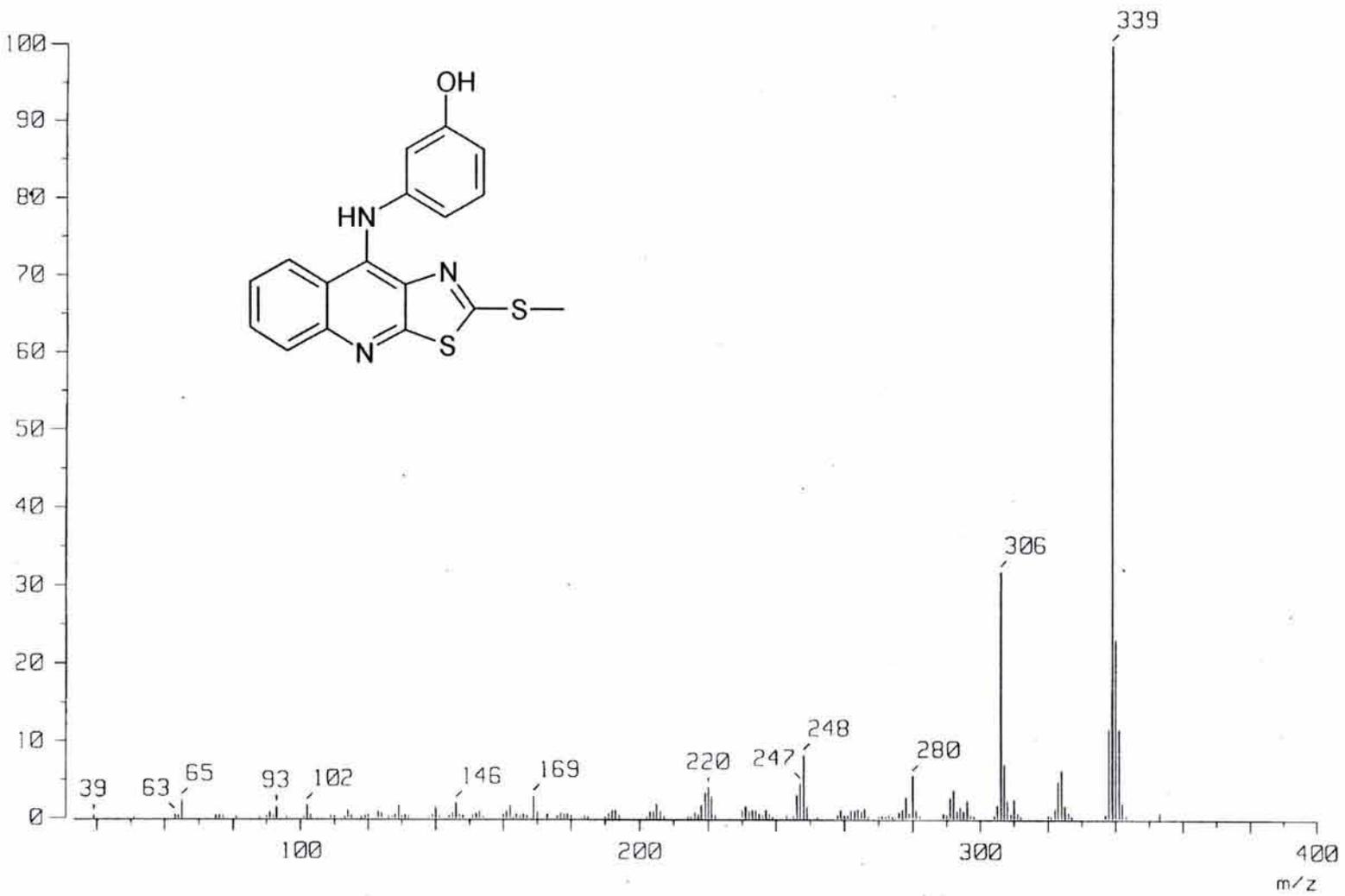
ESPECTRO NO. 26. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO VI (DMSO-d_6)
INTERCAMBIO CON D_2O .

ESPECTRO NO. 27. ESPECTRO NOESY DEL COMPUESTO VI (DMSO-d₆)



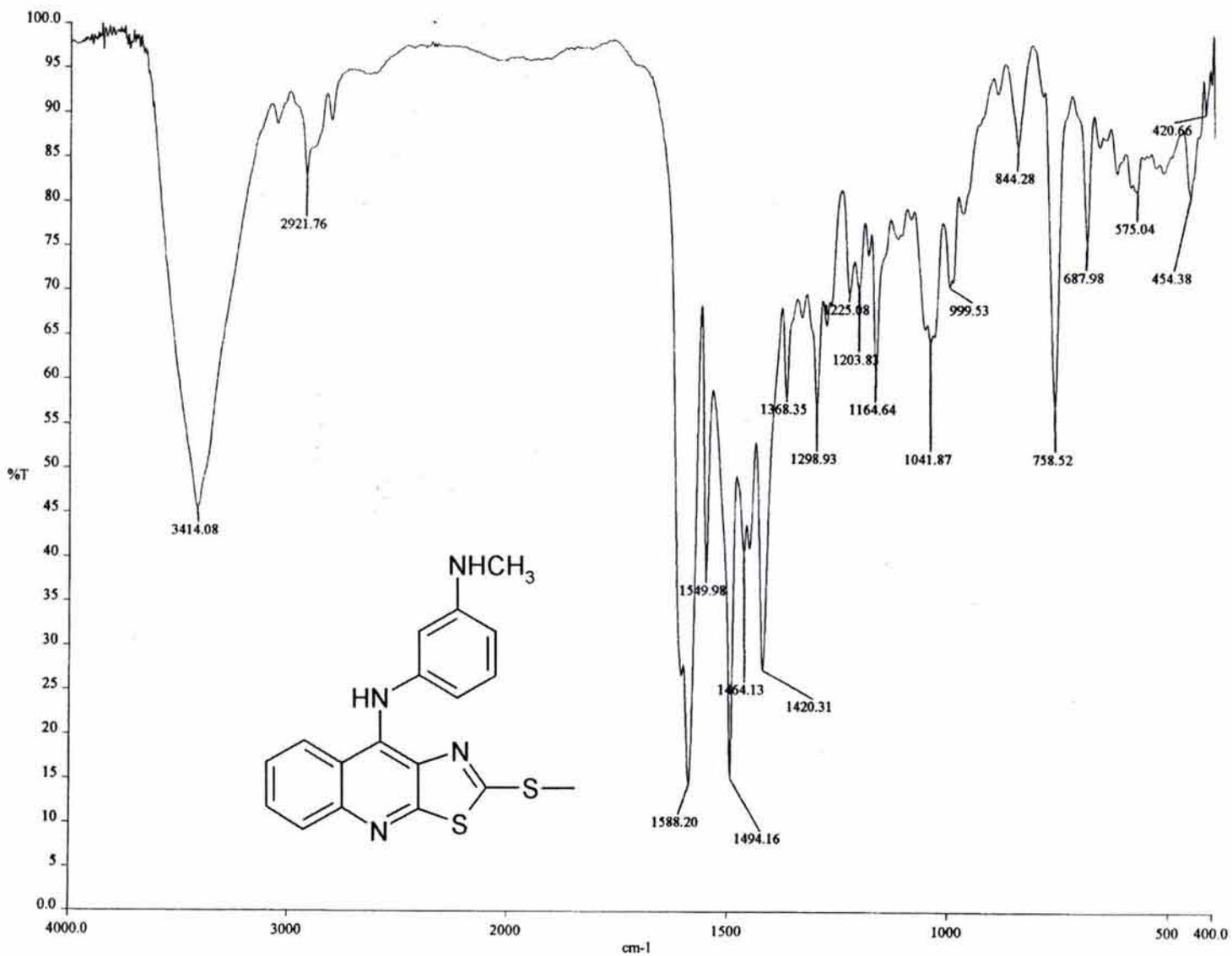


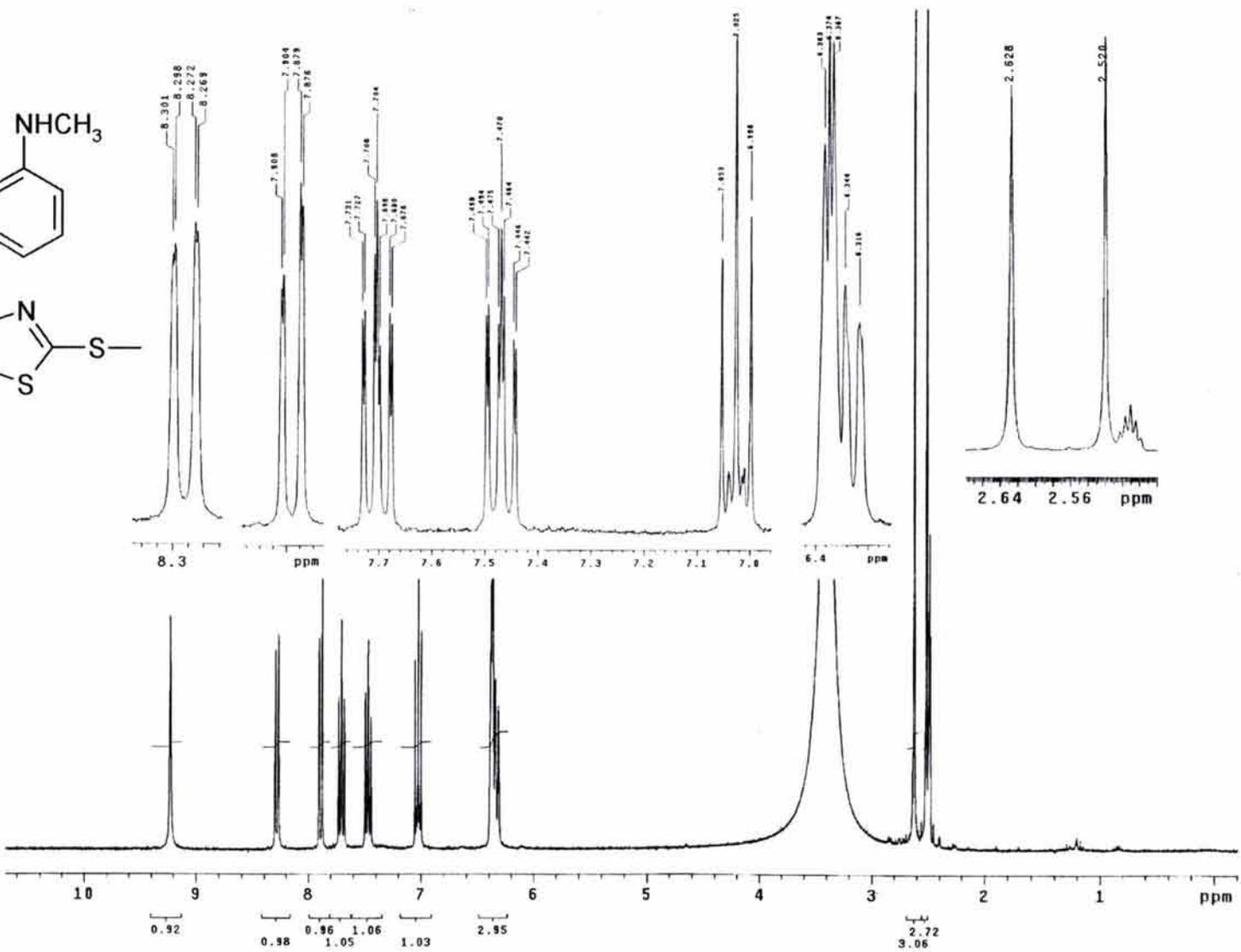
ESPECTRO NO. 28. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO VI (DMSO-d₆)



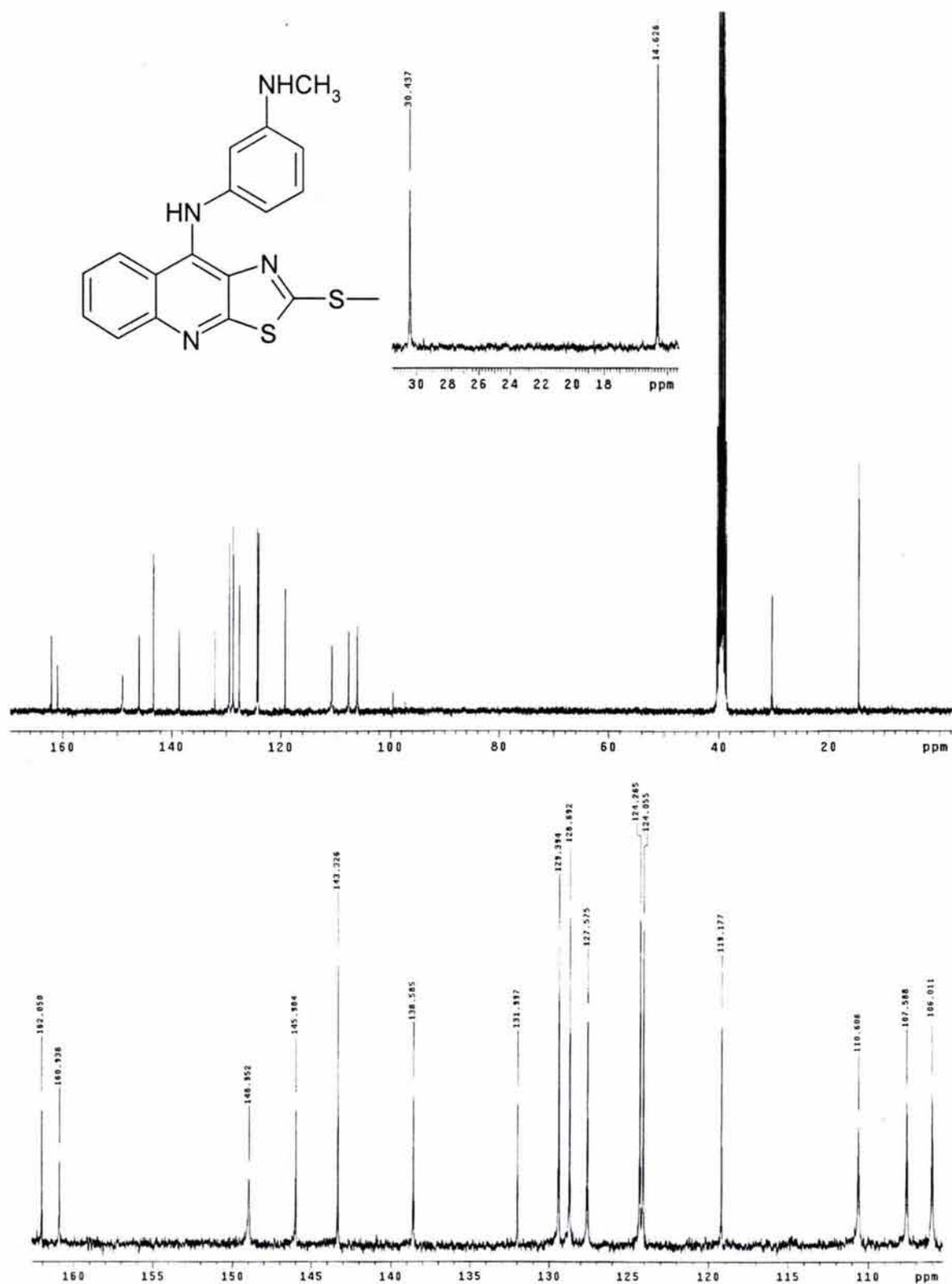
ESPECTRO NO. 29. ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO VI (IE)

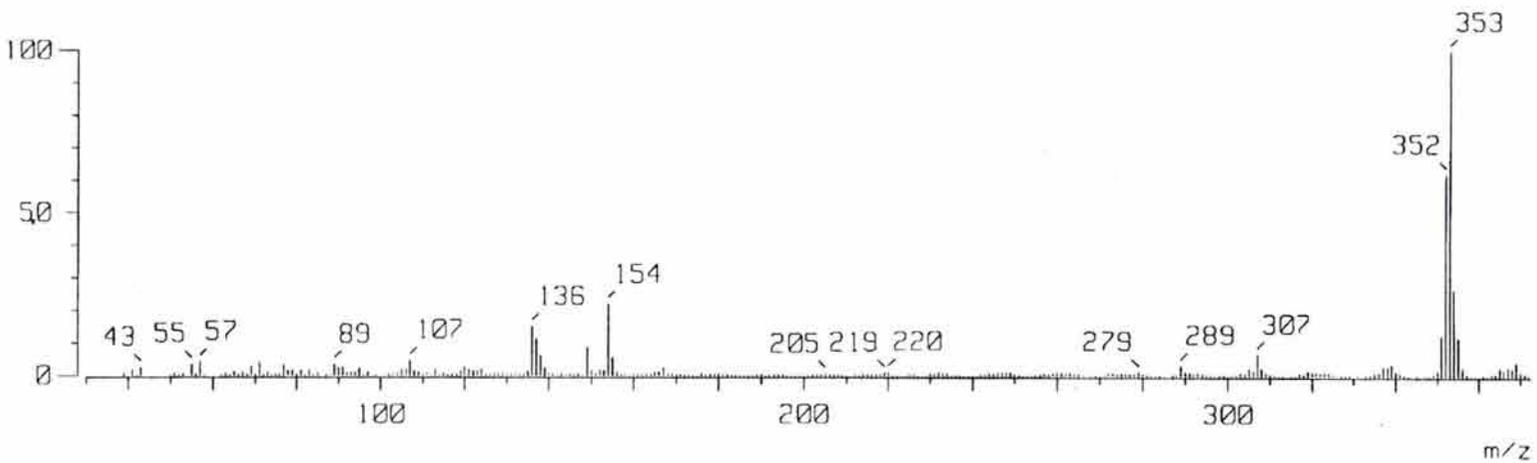
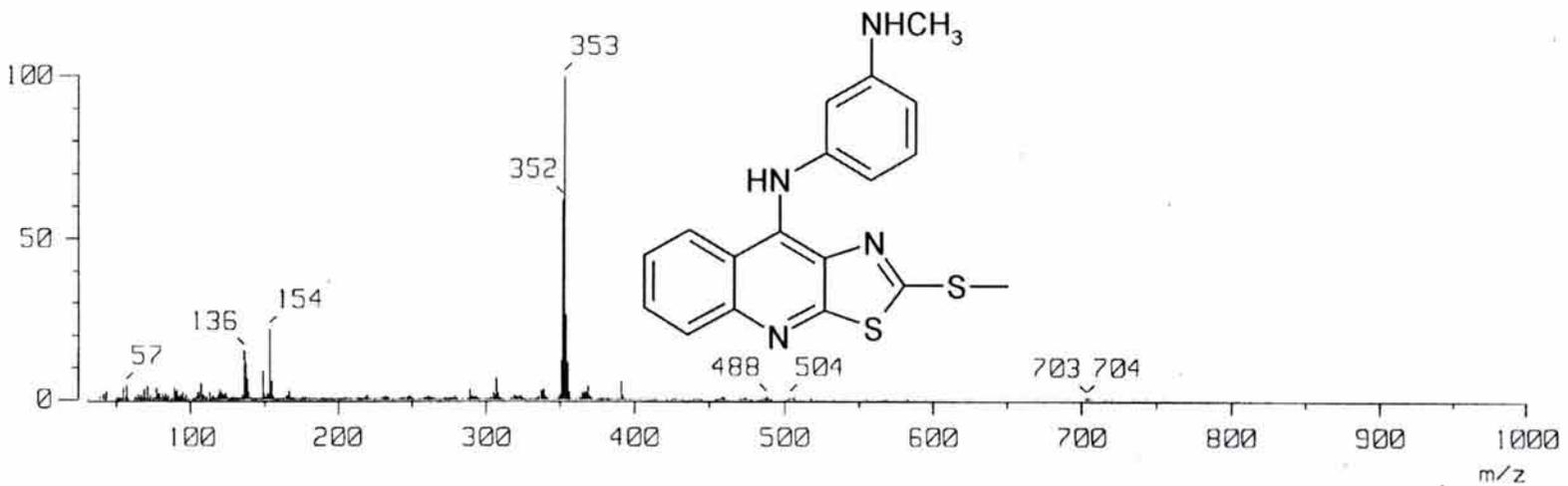
ESPECTRO NO. 30. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO VII





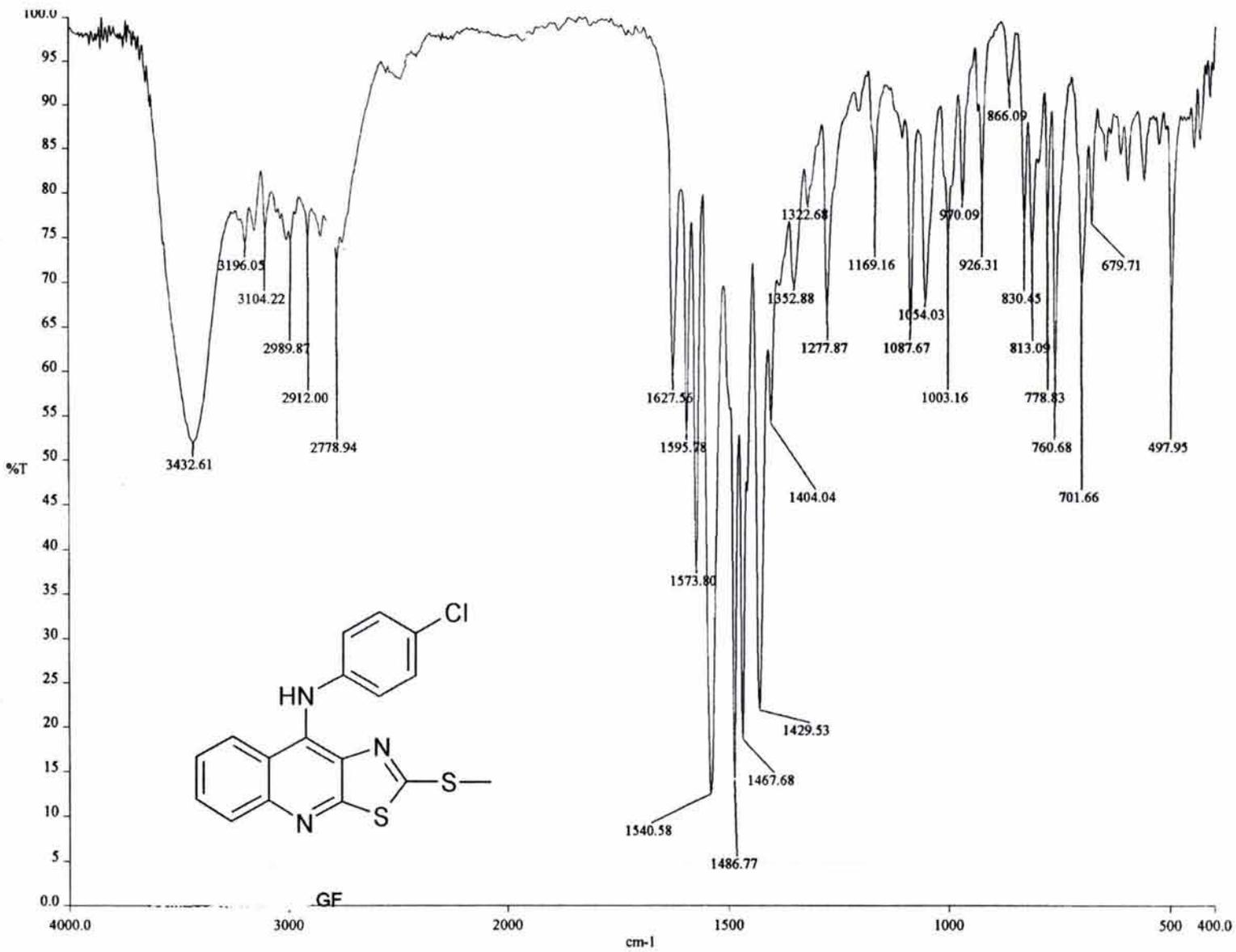
ESPECTRO NO. 31. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO VII (DMSO-d₆)

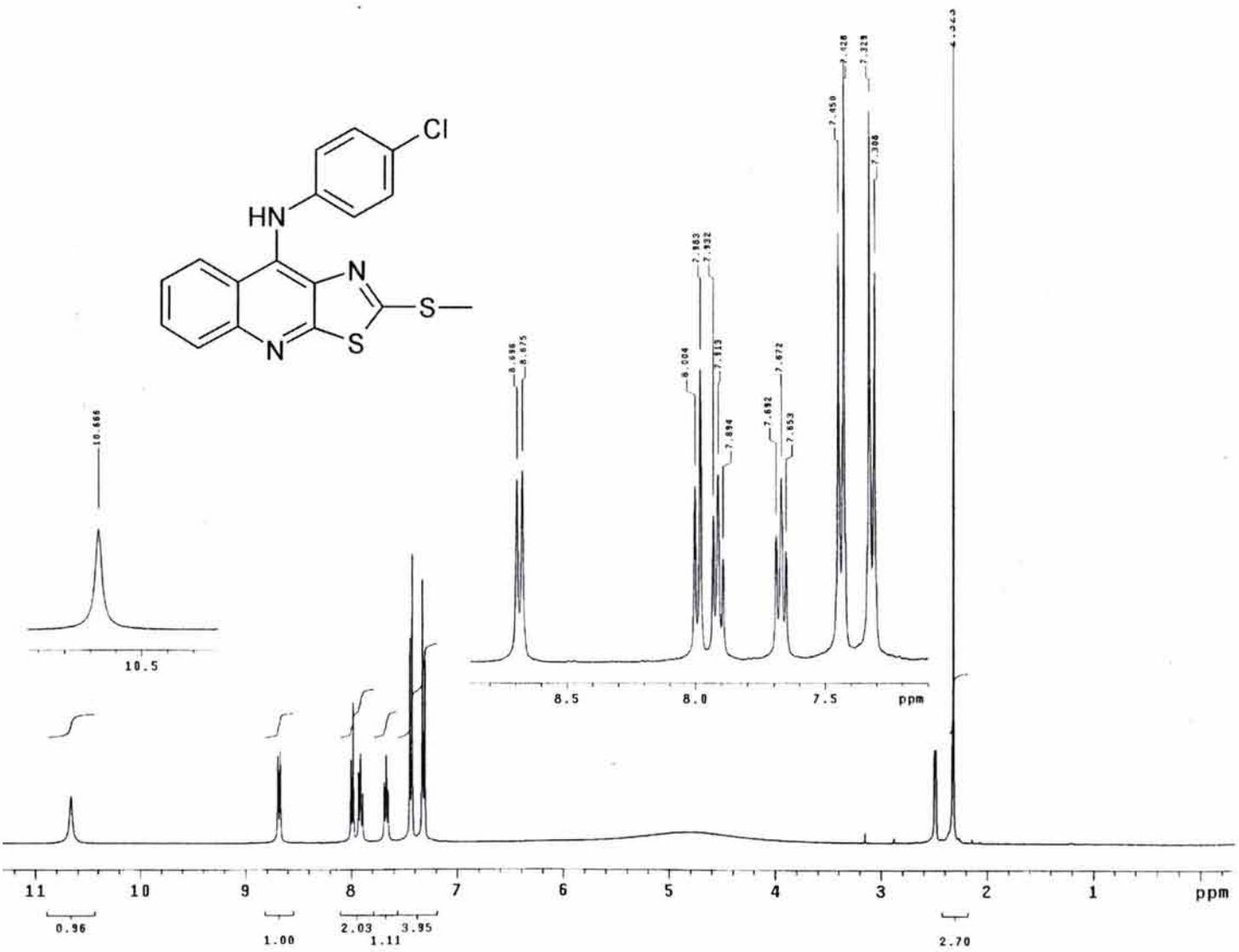
ESPECTRO NO. 32. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO VII (DMSO-d₆)



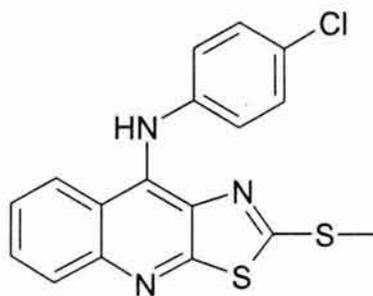
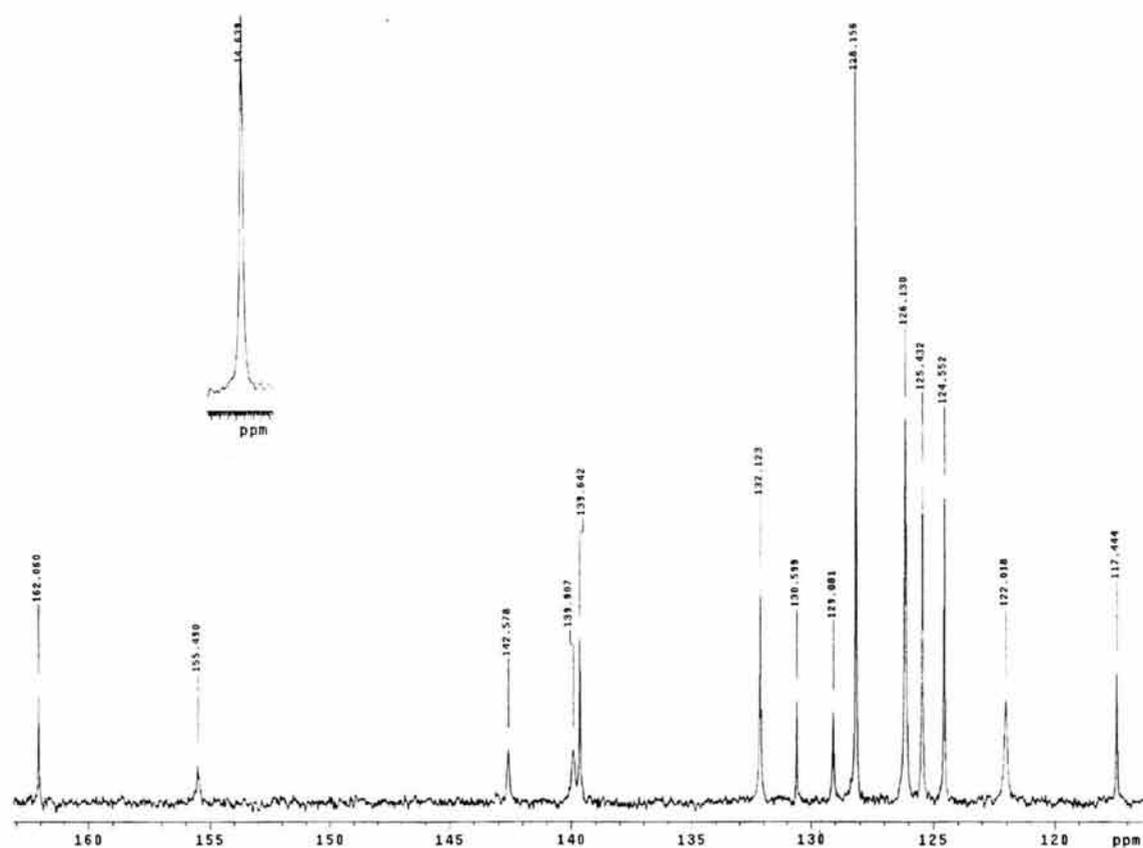
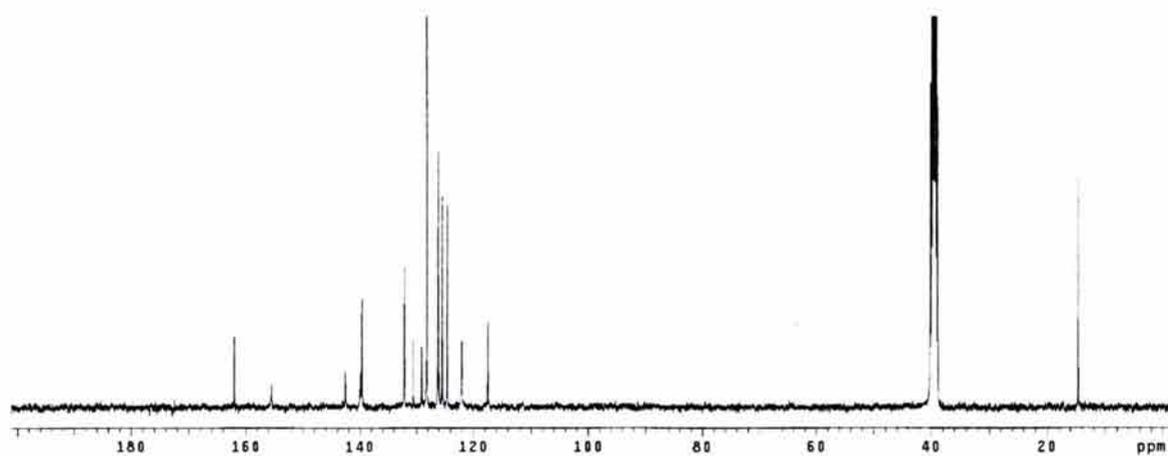
ESPECTRO NO. 33. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO VII (FAB)

ESPECTRO NO. 34. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO VIII

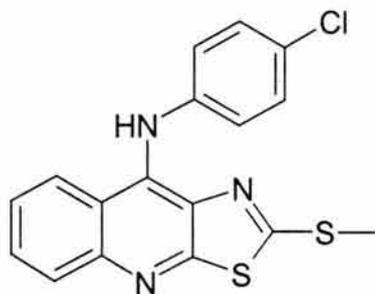
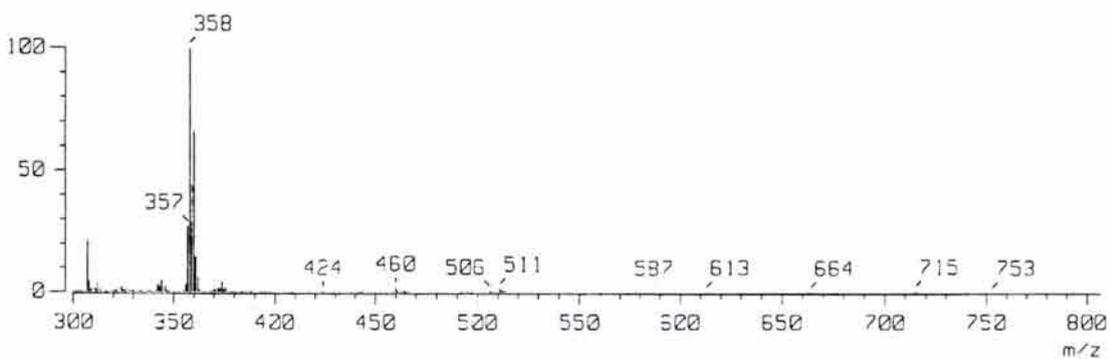
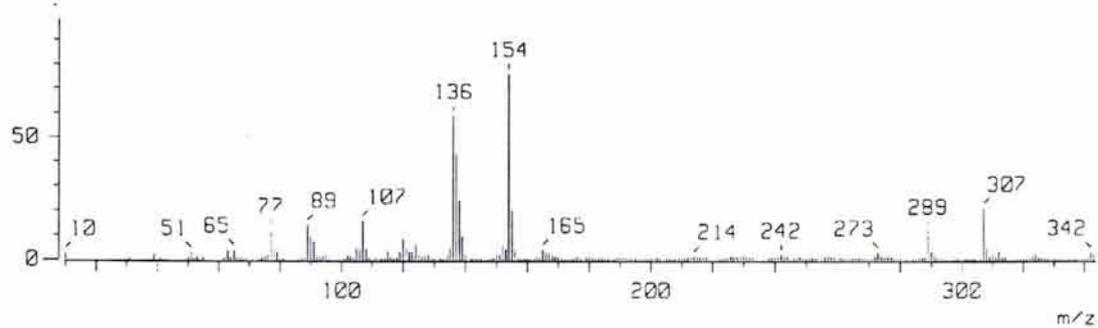
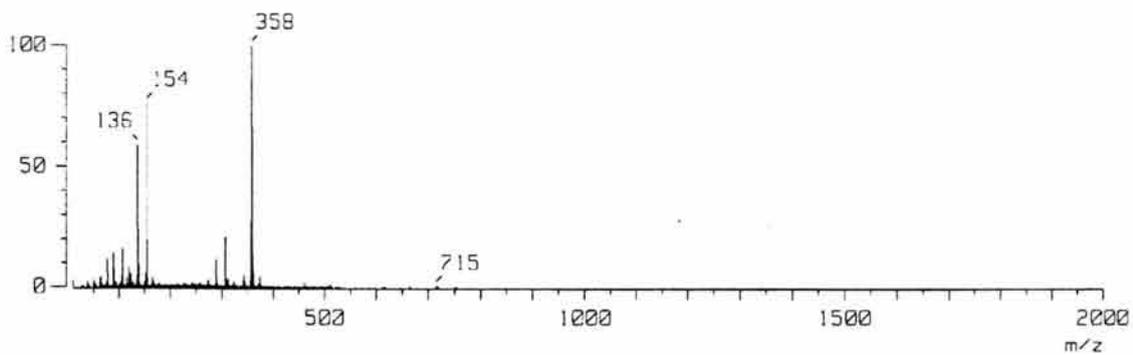




ESPECTRO NO. 35. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO VIII (DMSO-d₆)

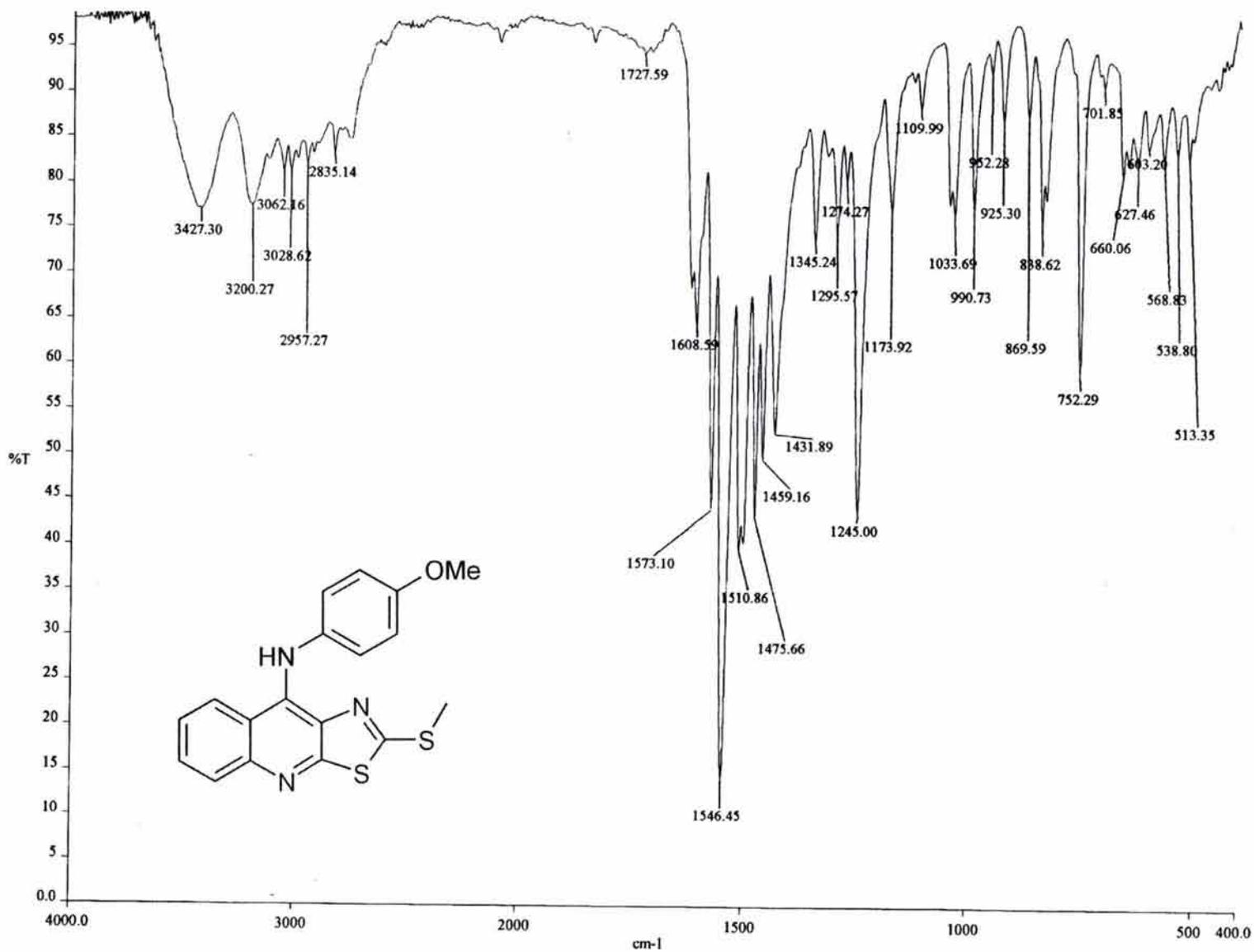


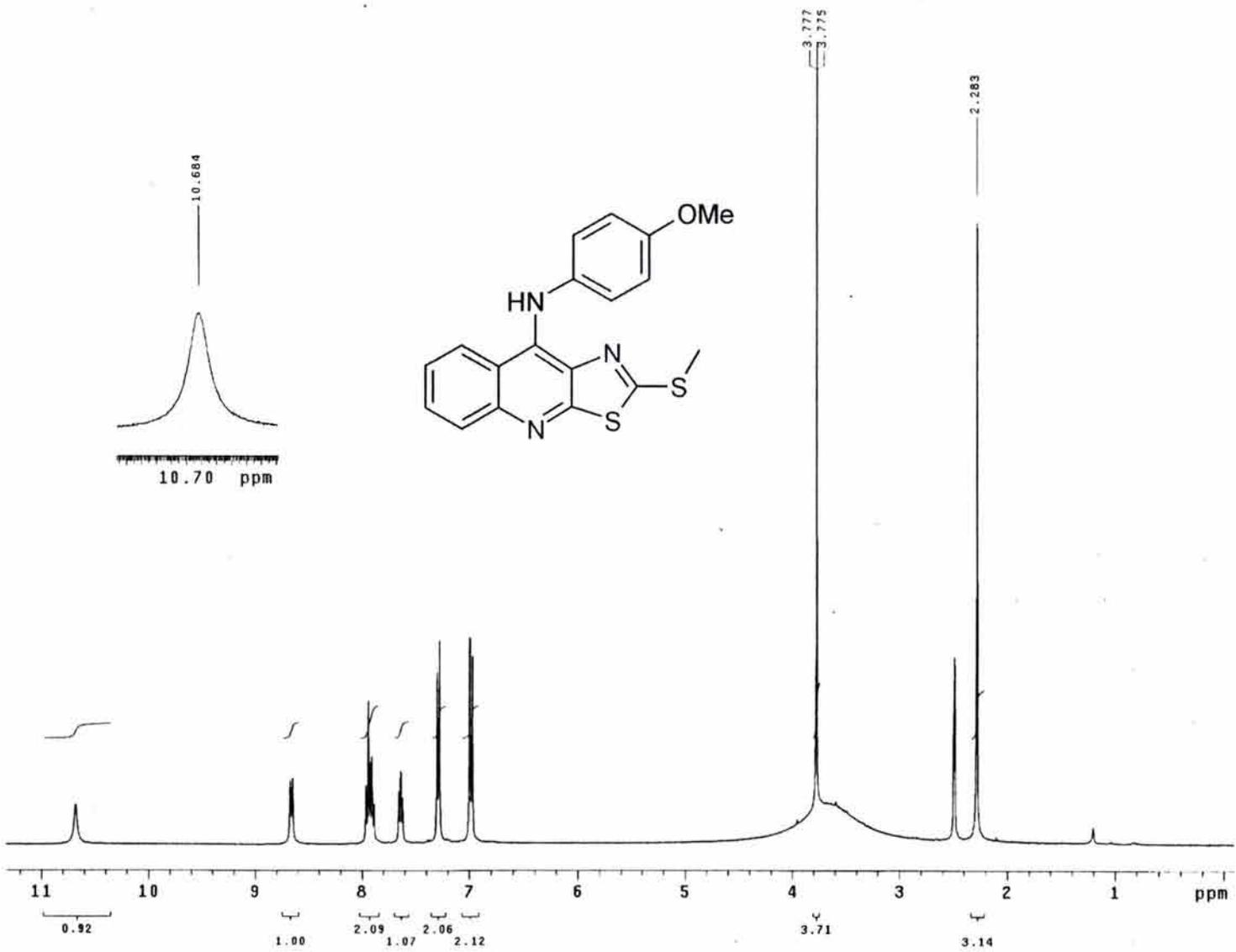
ESPECTRO NO. 36. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO VIII (DMSO-d₆)

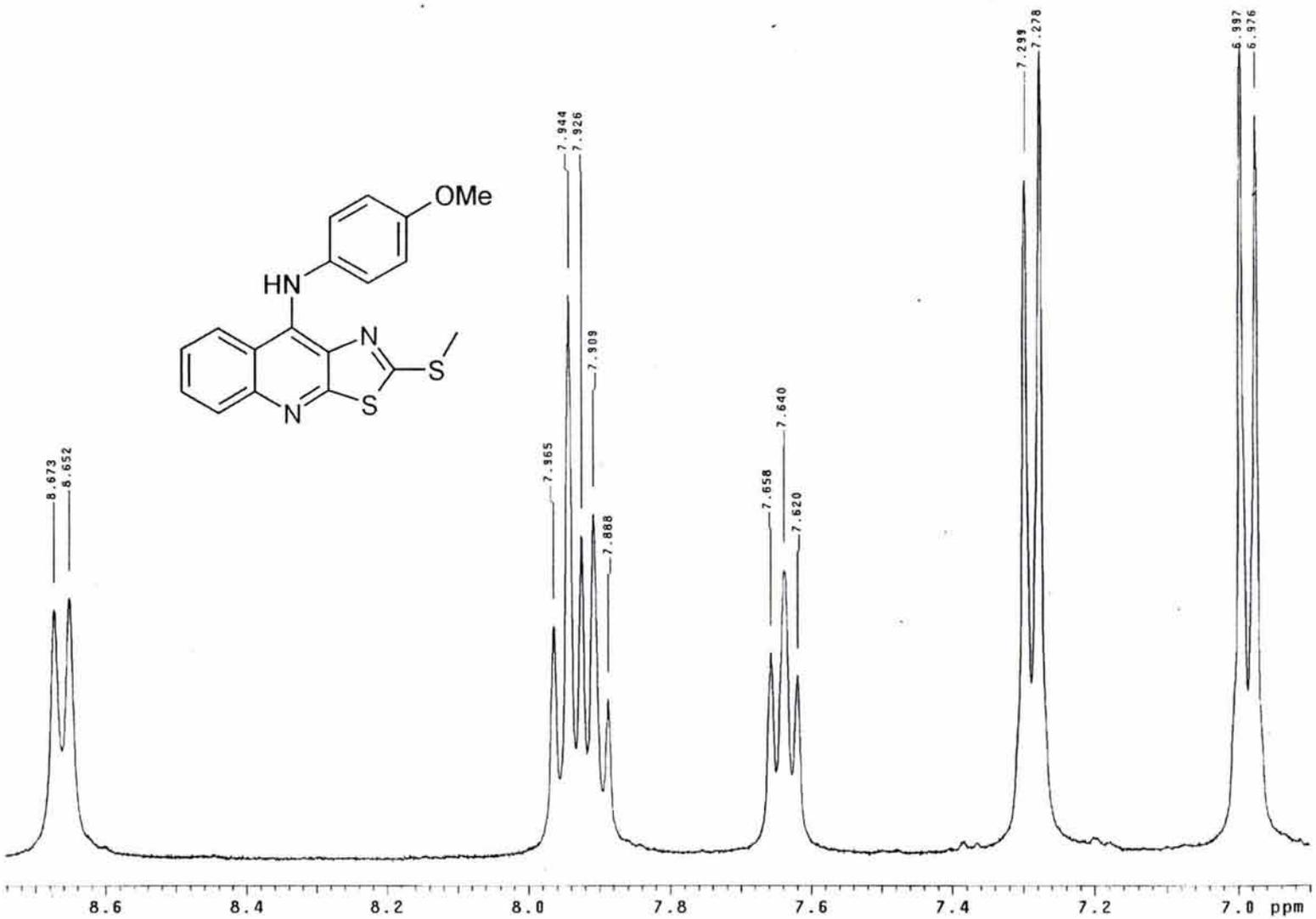


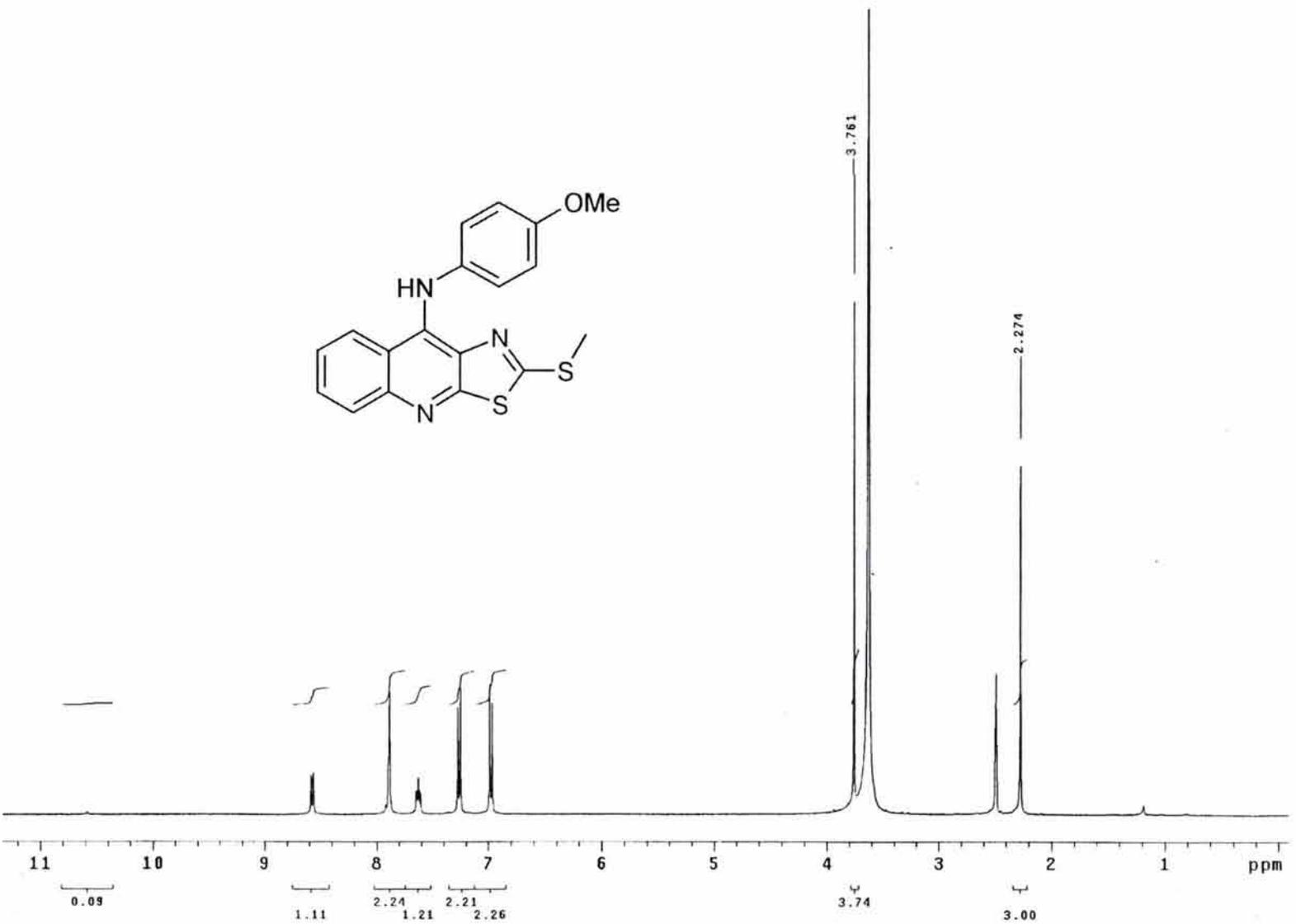
ESPECTRO NO. 37. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO VIII (FAB)

ESPECTRO NO. 38. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO IX

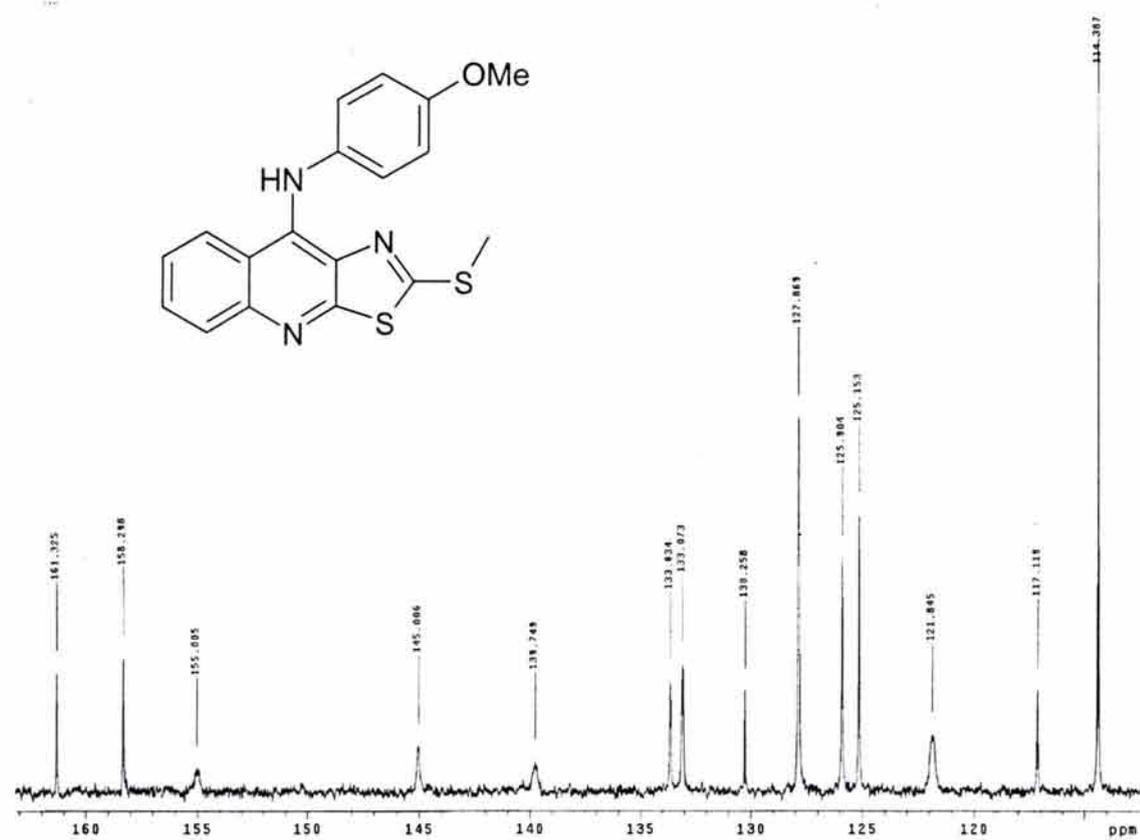
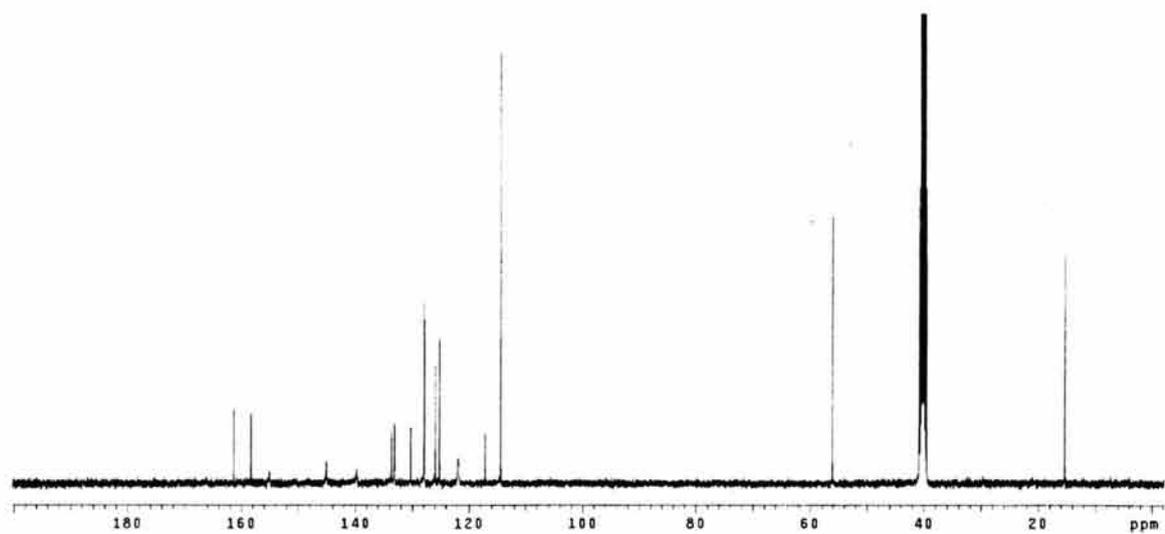


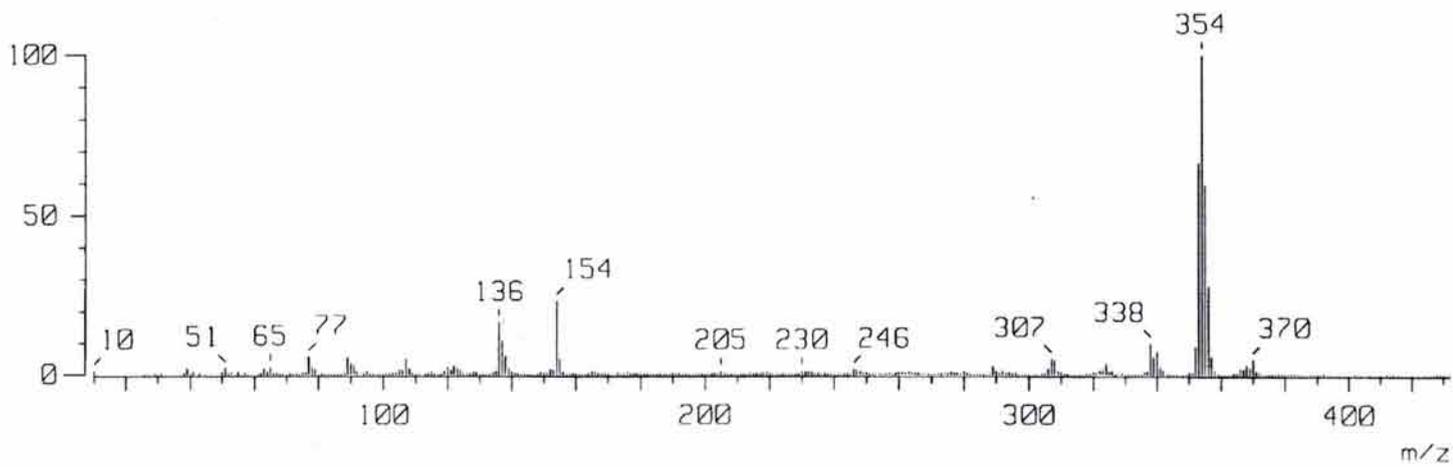
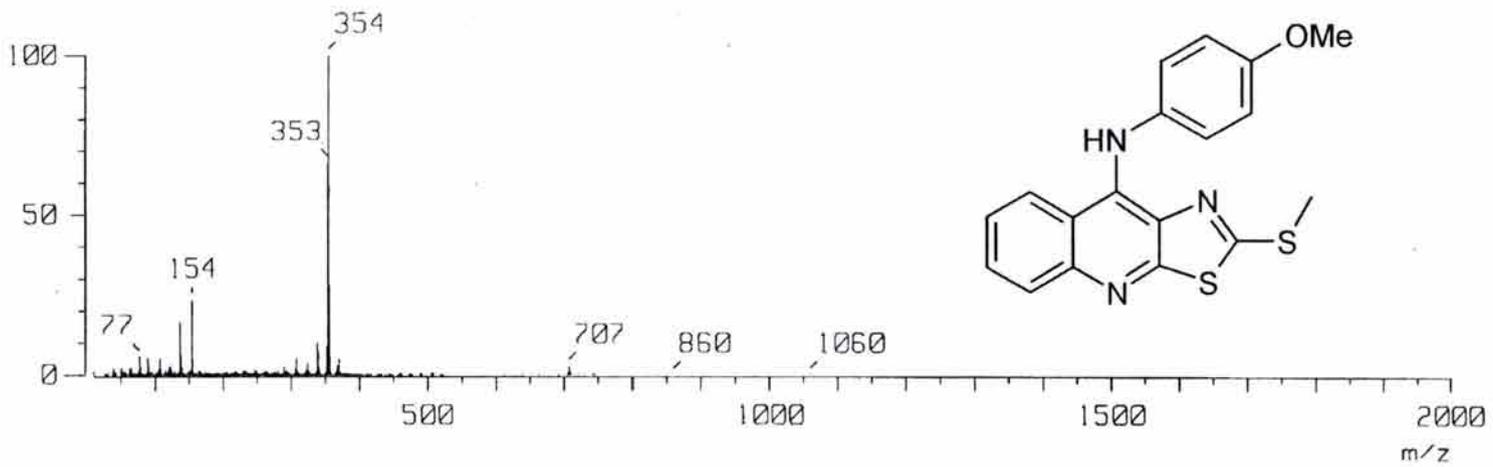
ESPECTRO NO. 39. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO IX (DMSO-d₆)

ESPECTRO NO. 39. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO IX (DMSO-d_6). AMPLIACION.



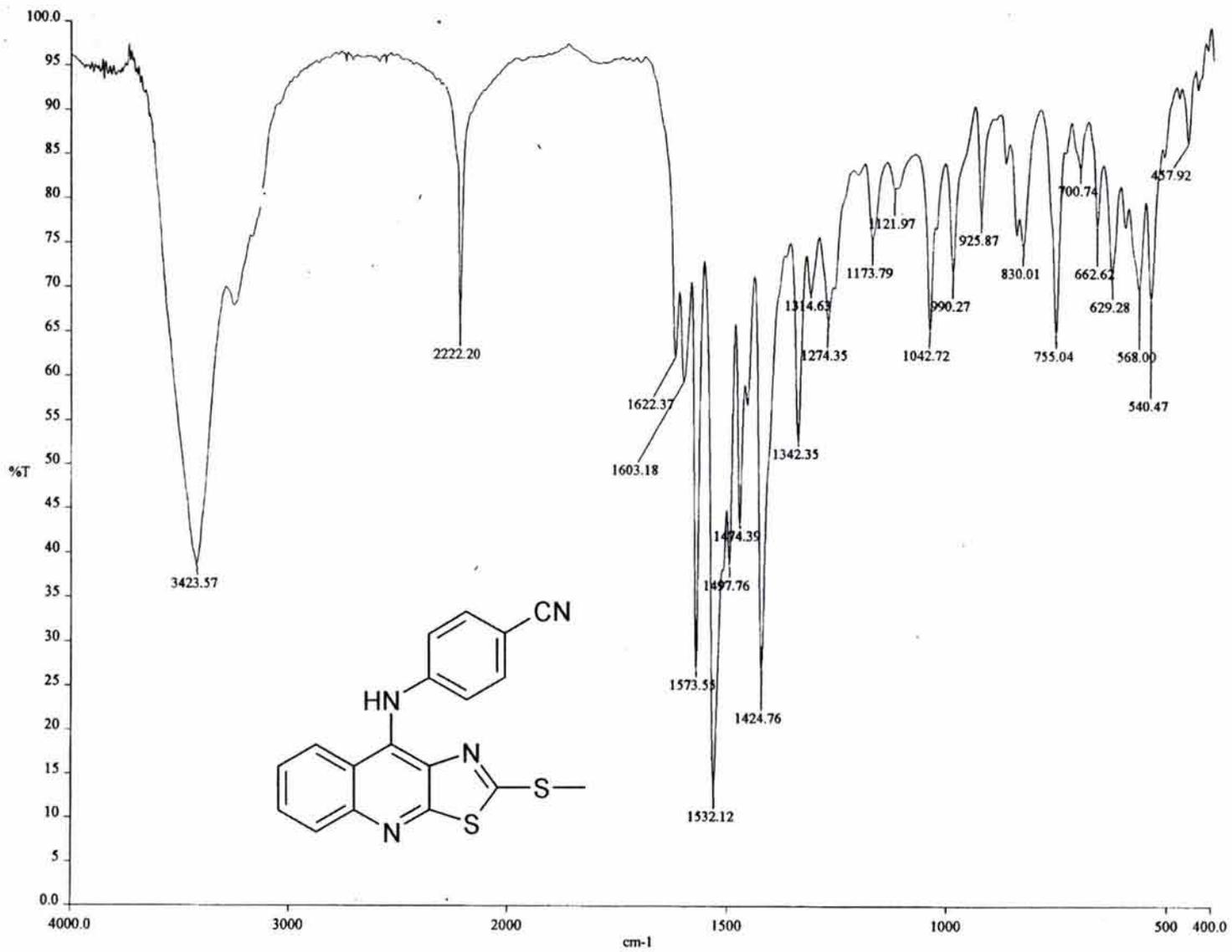
ESPECTRO NO. 39. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO IX (DMSO- d_6)
INTERCAMBIO CON D_2O .

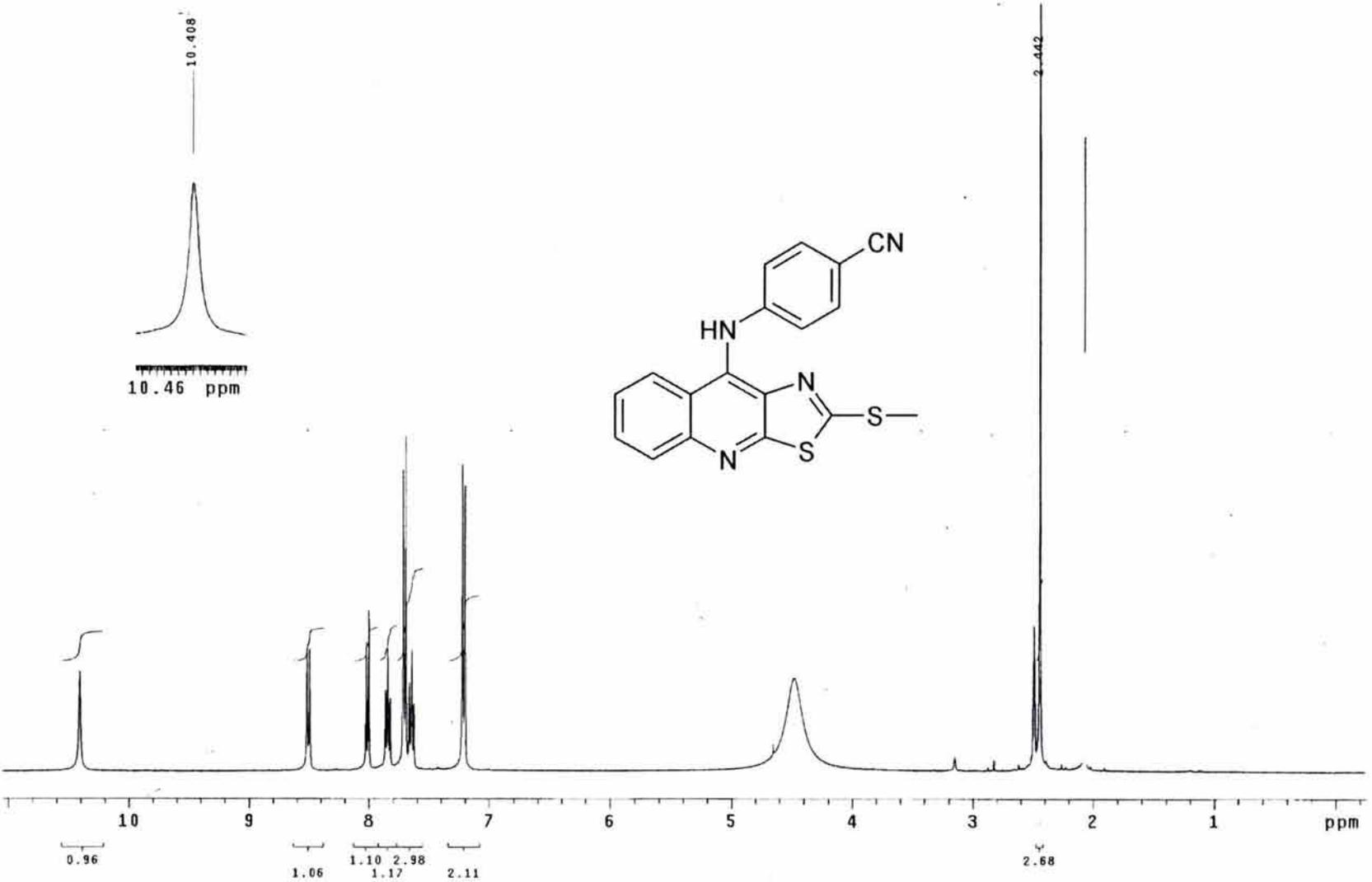
ESPECTRO NO. 40. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO IX (DMSO-d₆)

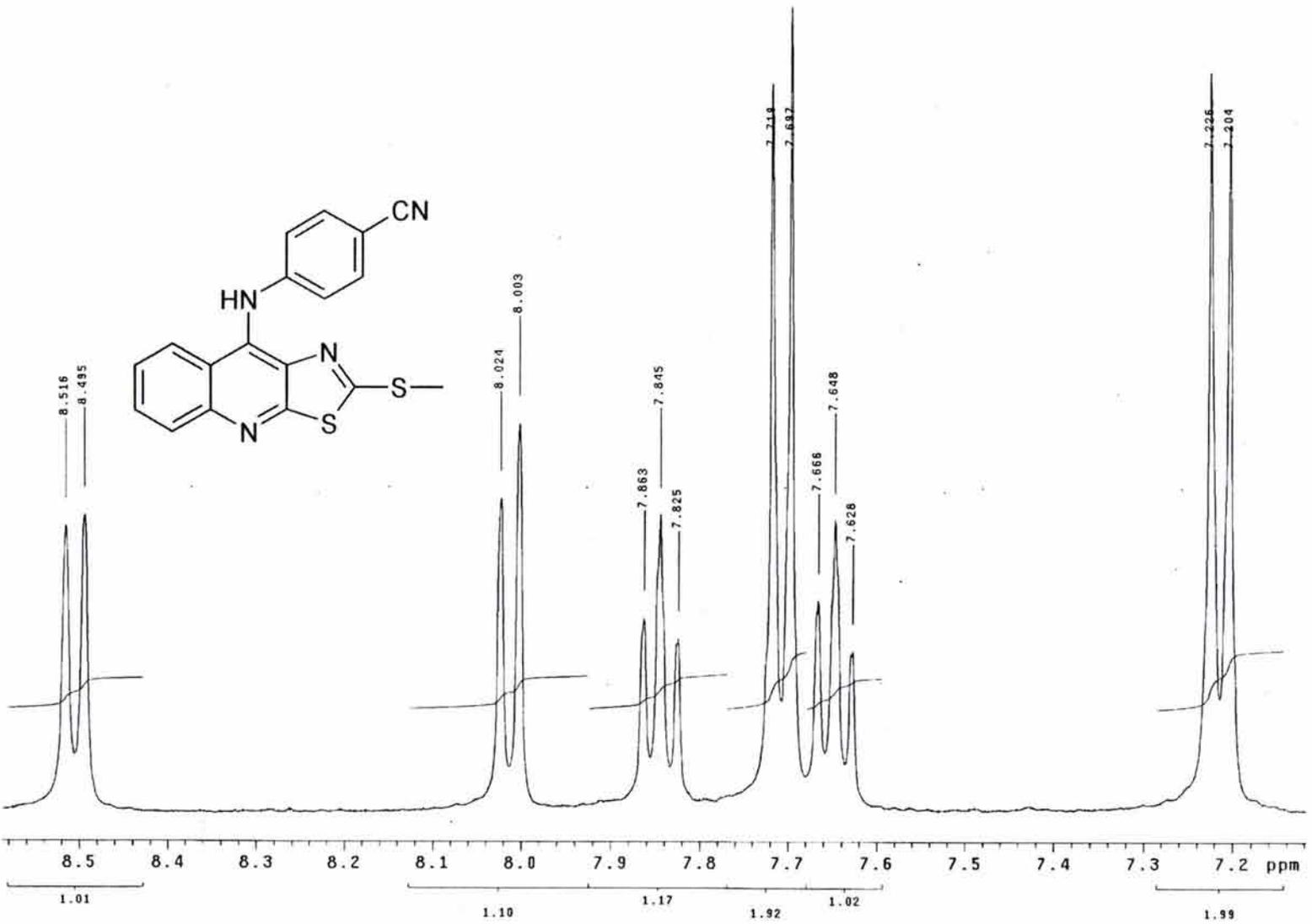


ESPECTRO NO. 41. ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO IX (FAB)

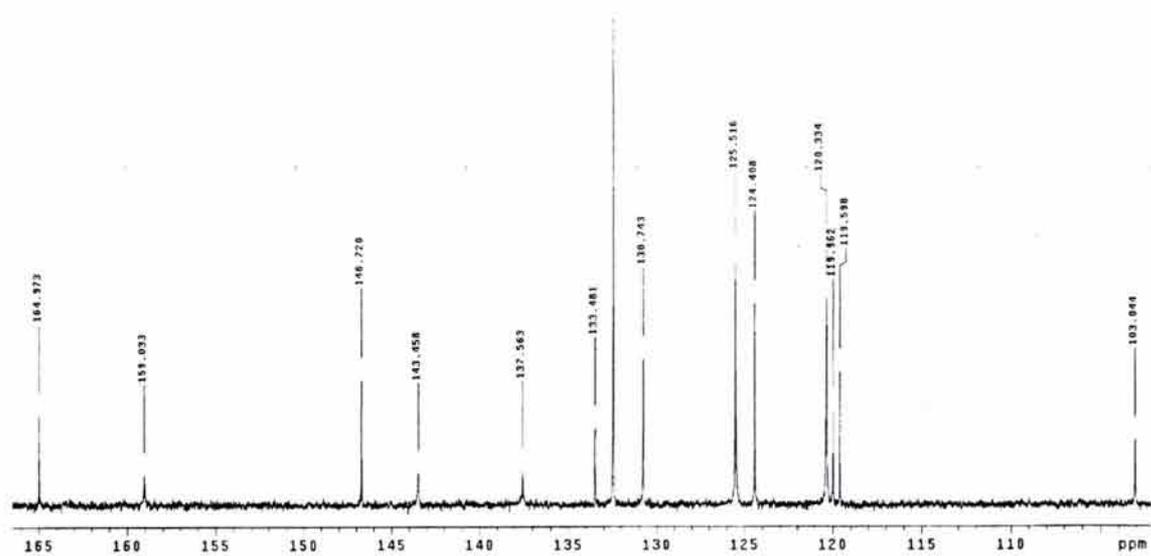
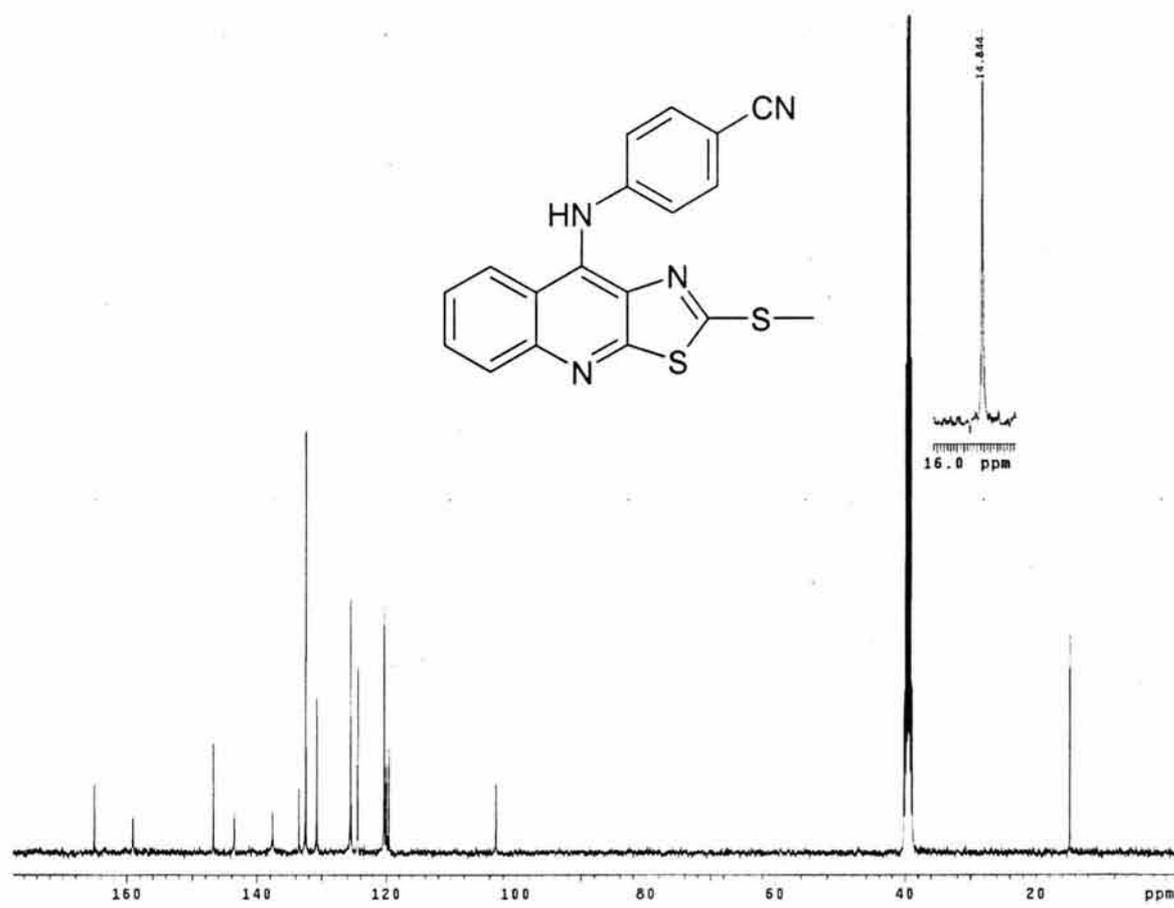
ESPECTRO NO. 42. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO X

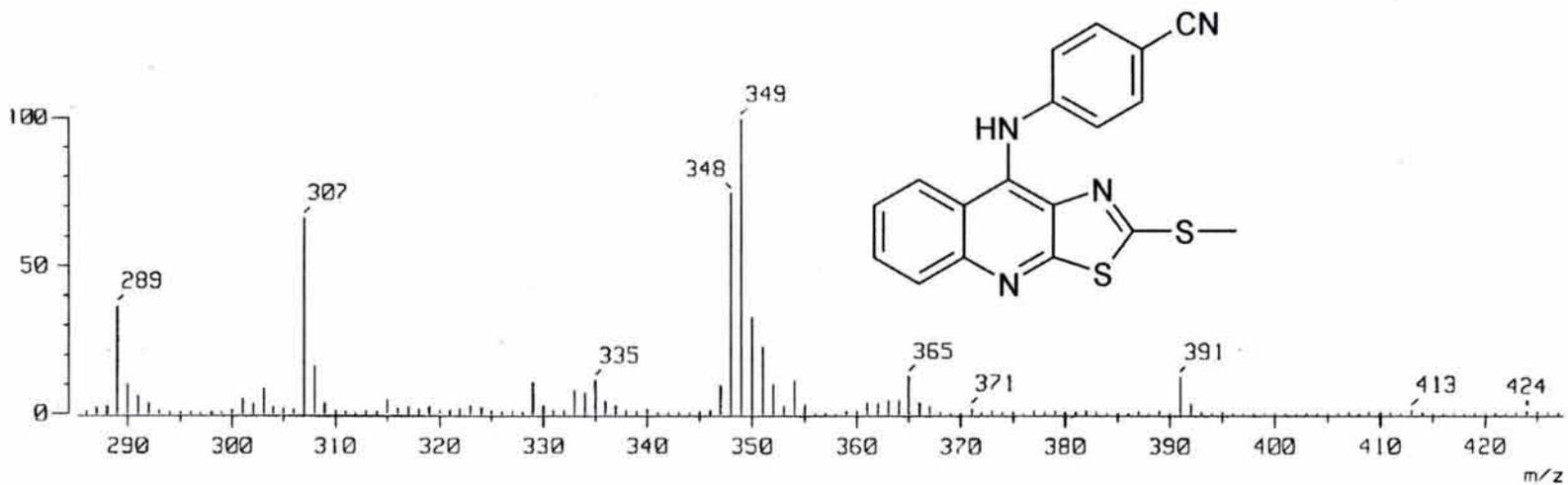
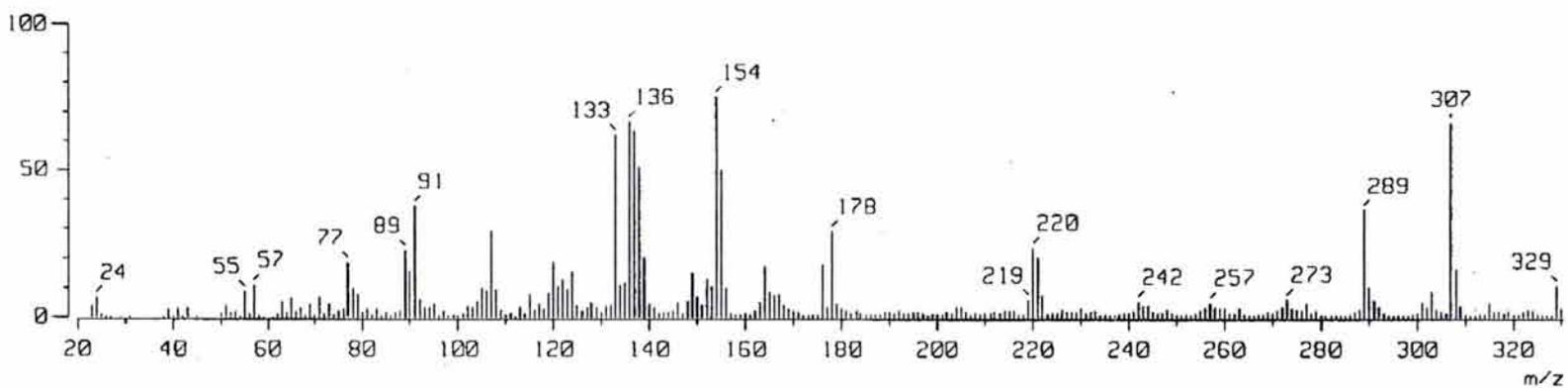






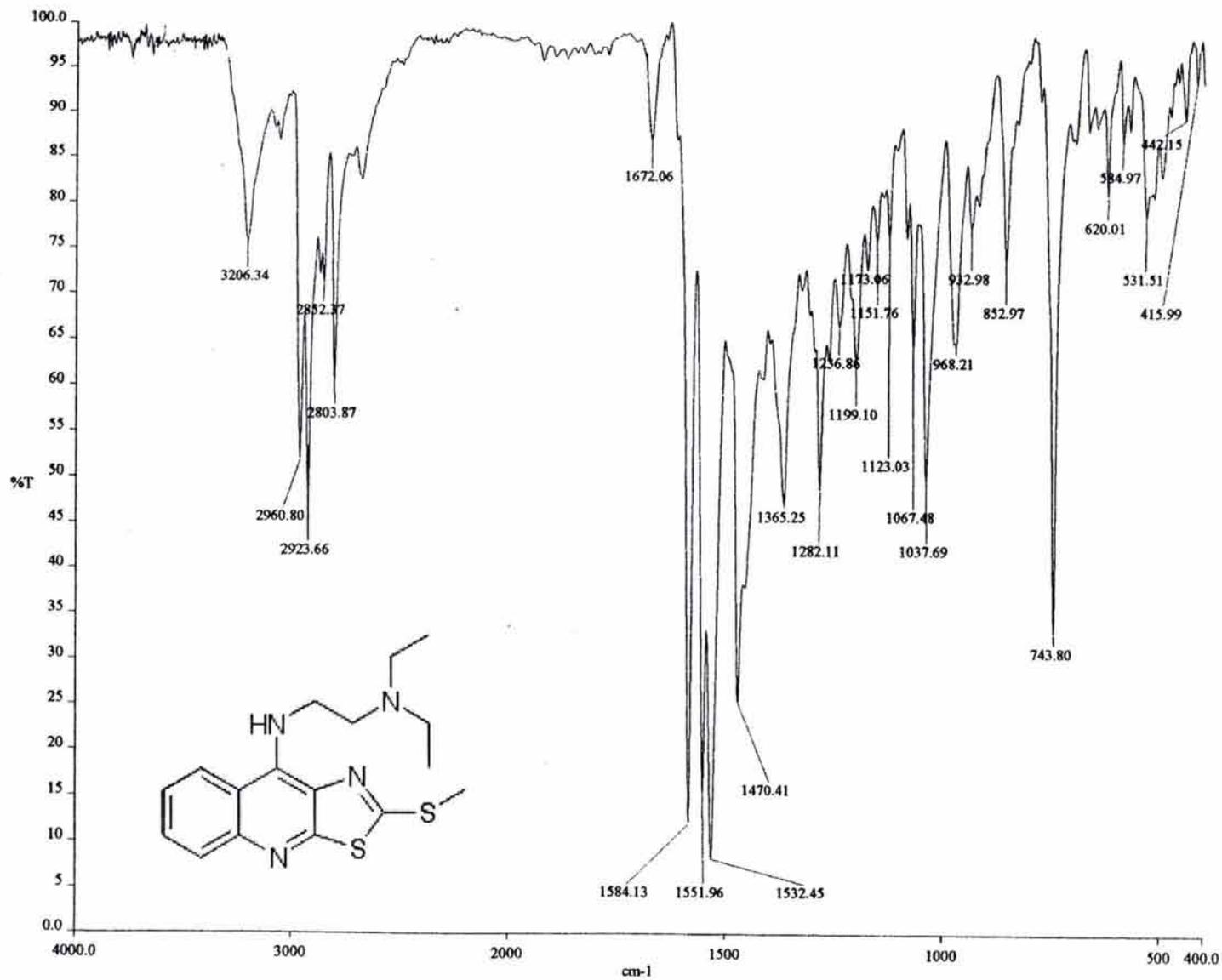
ESPECTRO NO. 43. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO X (DMSO-d_6)
AMPLIACIÓN

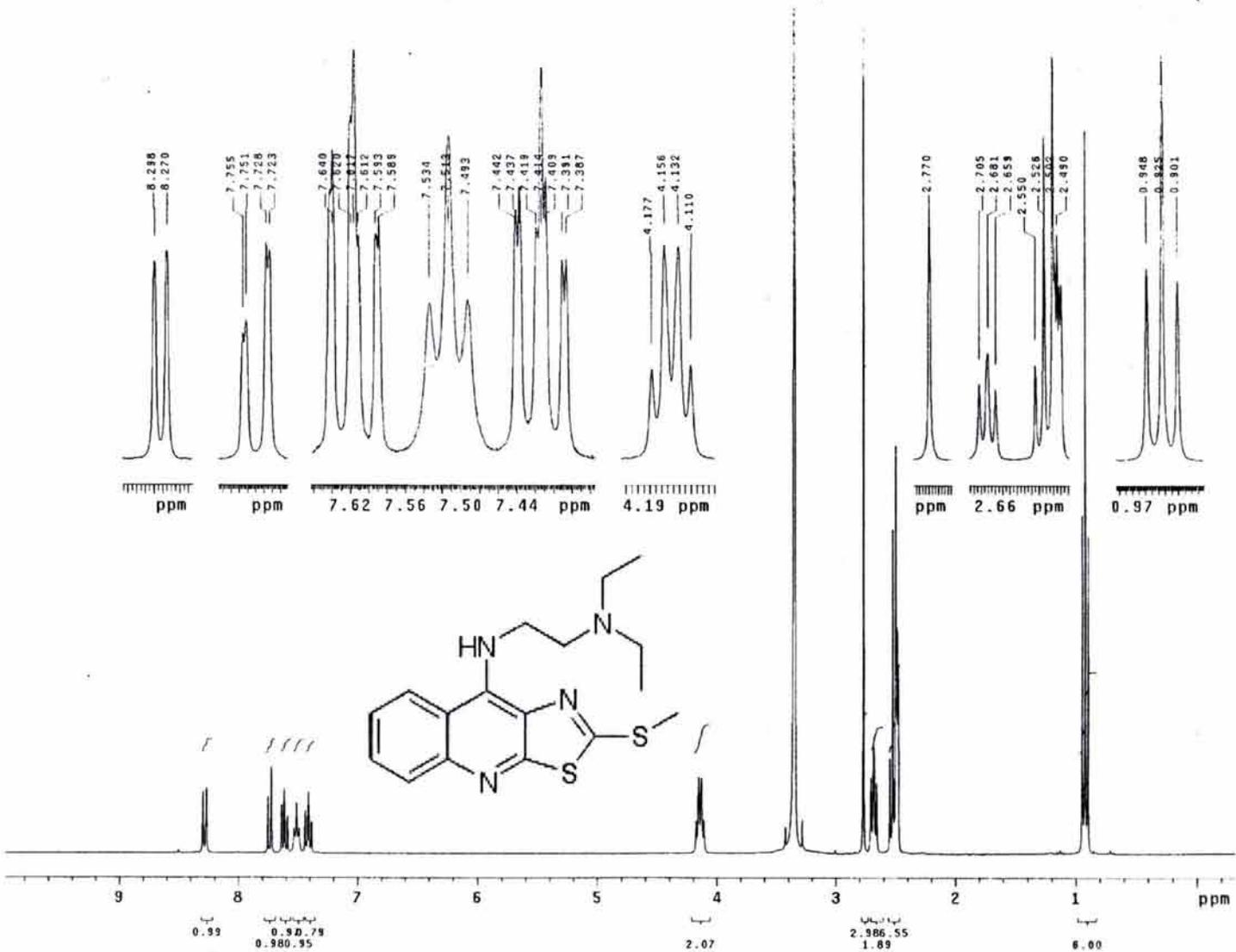
ESPECTRO NO. 44. ESPECTRO RMN- ^{13}C DEL COMPUESTO X (DMSO- d_6)



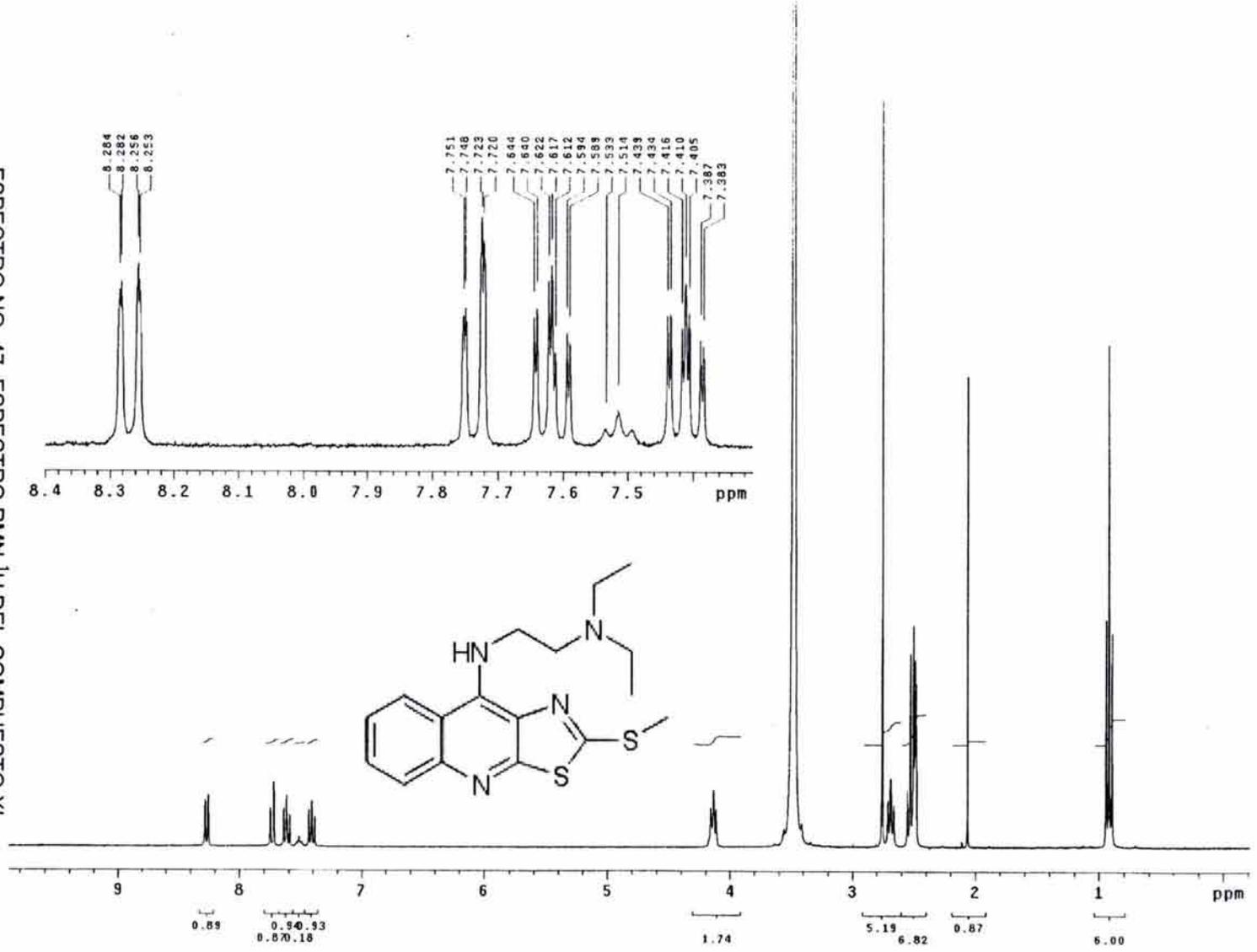
ESPECTRO NO. 45. ESPECTROMETRIA DE MASAS DEL COMPUESTO X (FAB)

ESPECTRO NO. 46. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO XI

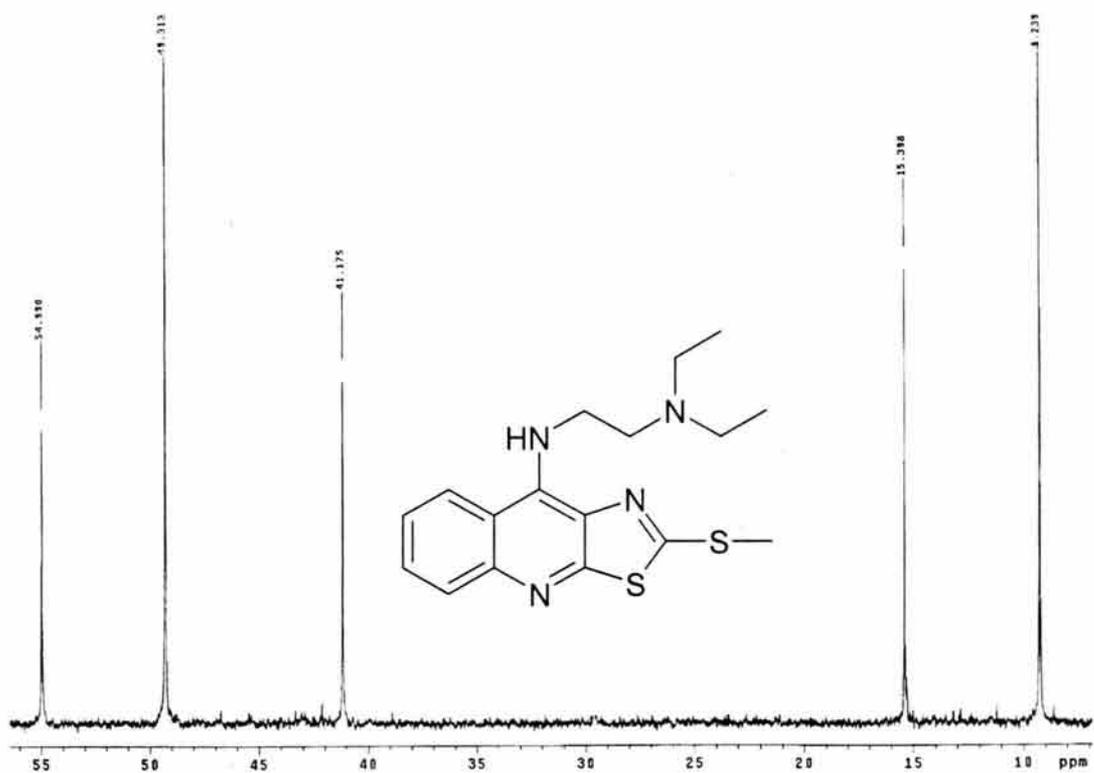
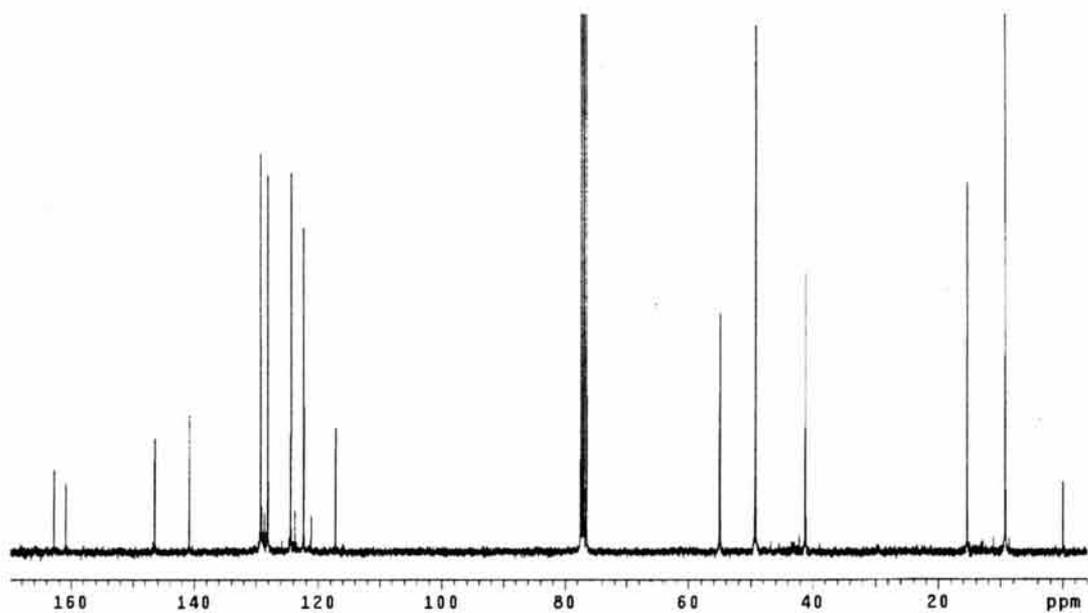


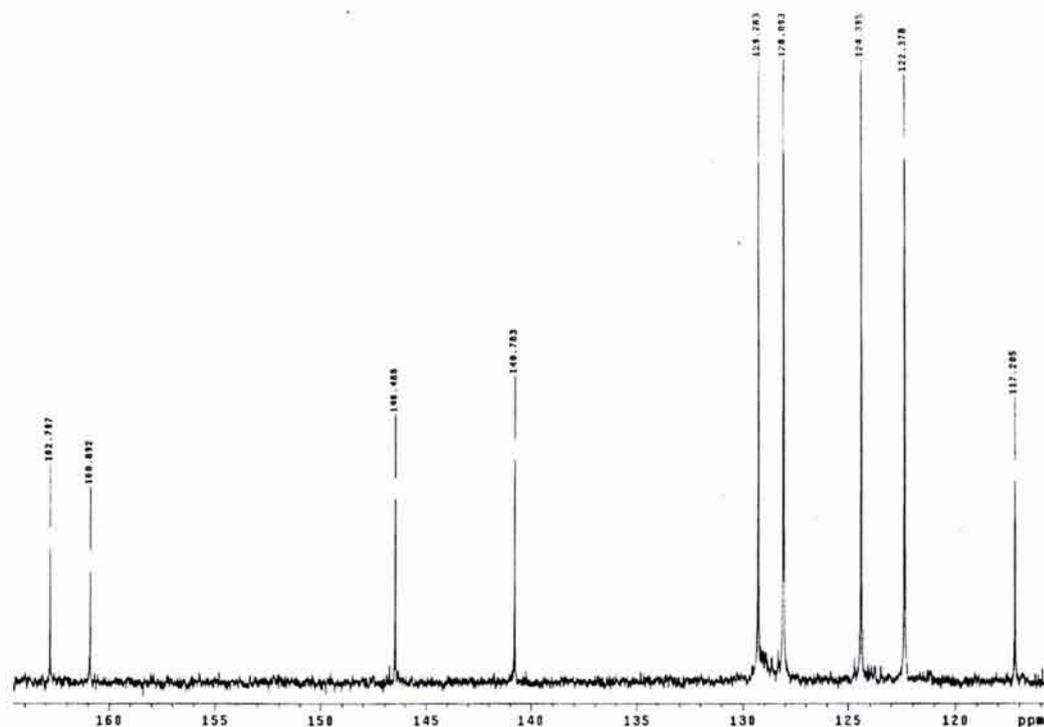


ESPECTRO NO. 47. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO XI (CDCl₃)

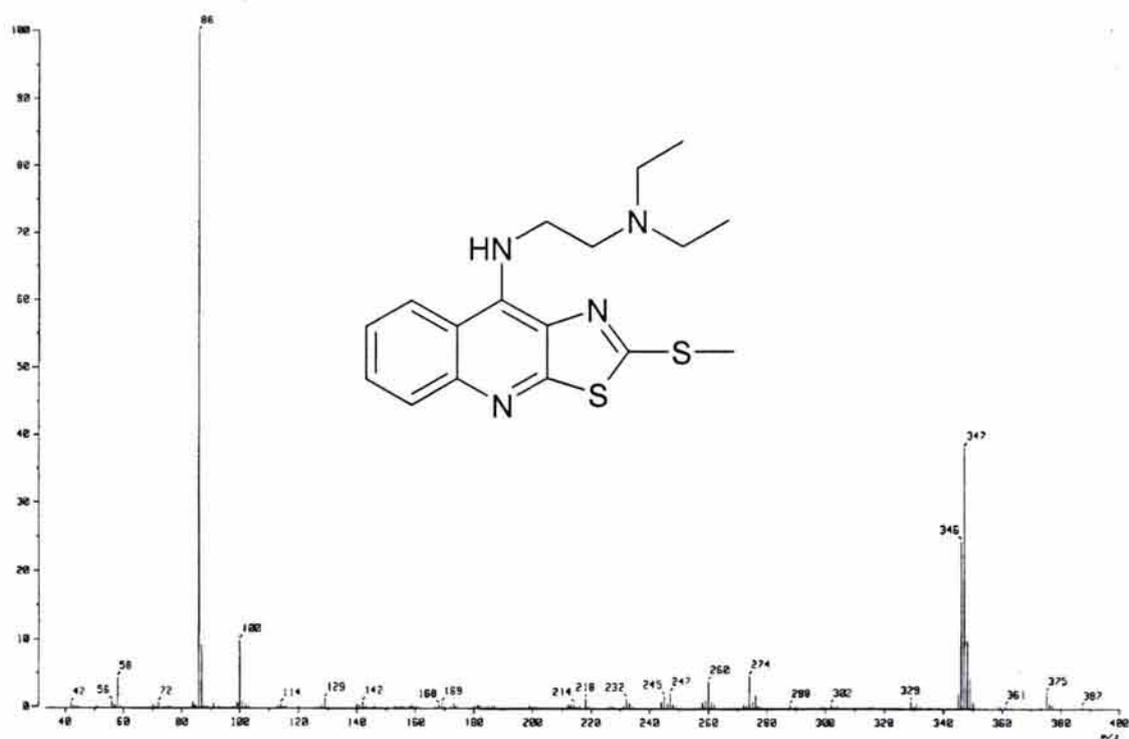


ESPECTRO NO. 47. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO XI INTERCAMBIO CON D₂O.

ESPECTRO NO. 48. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO XI (CDCl₃)

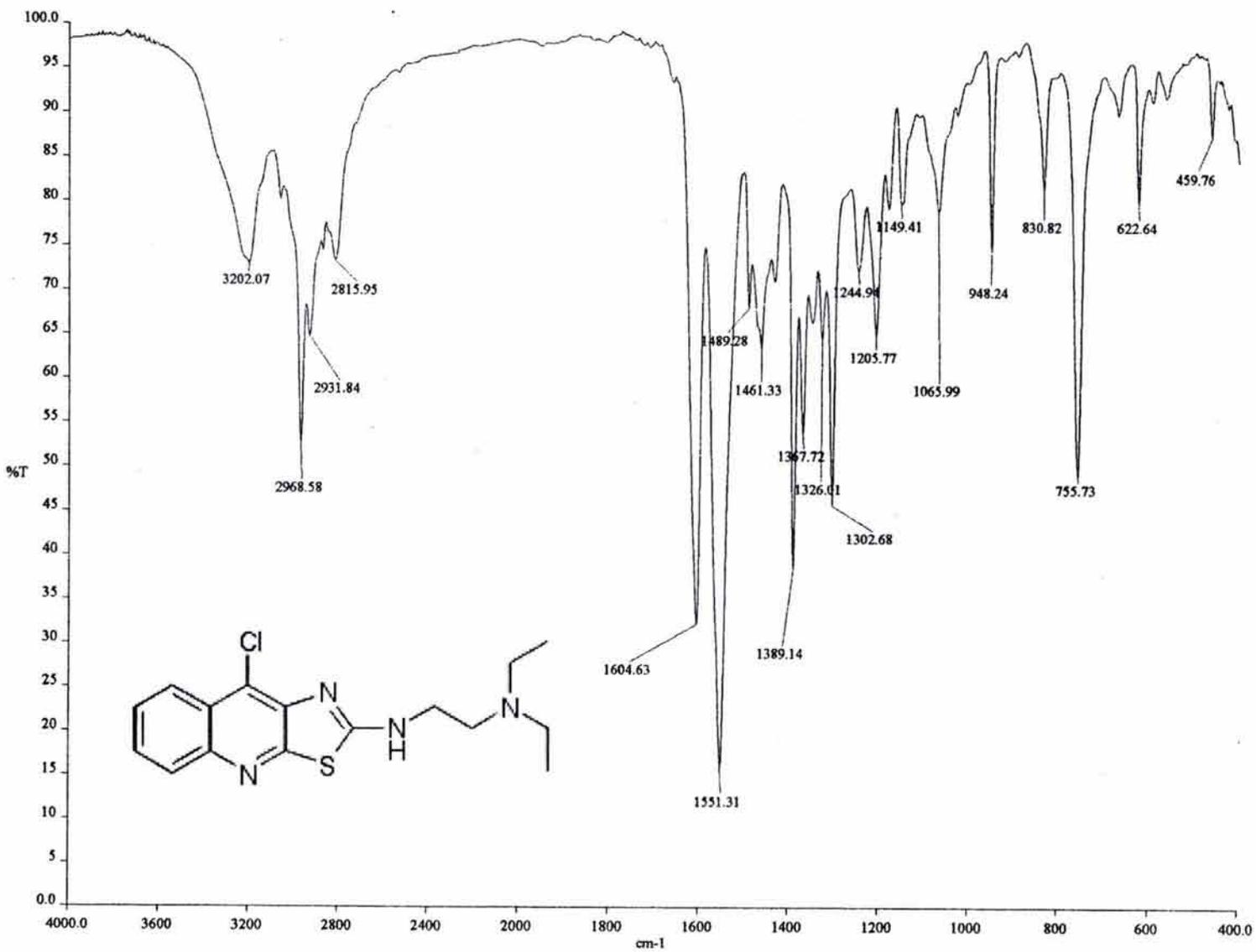


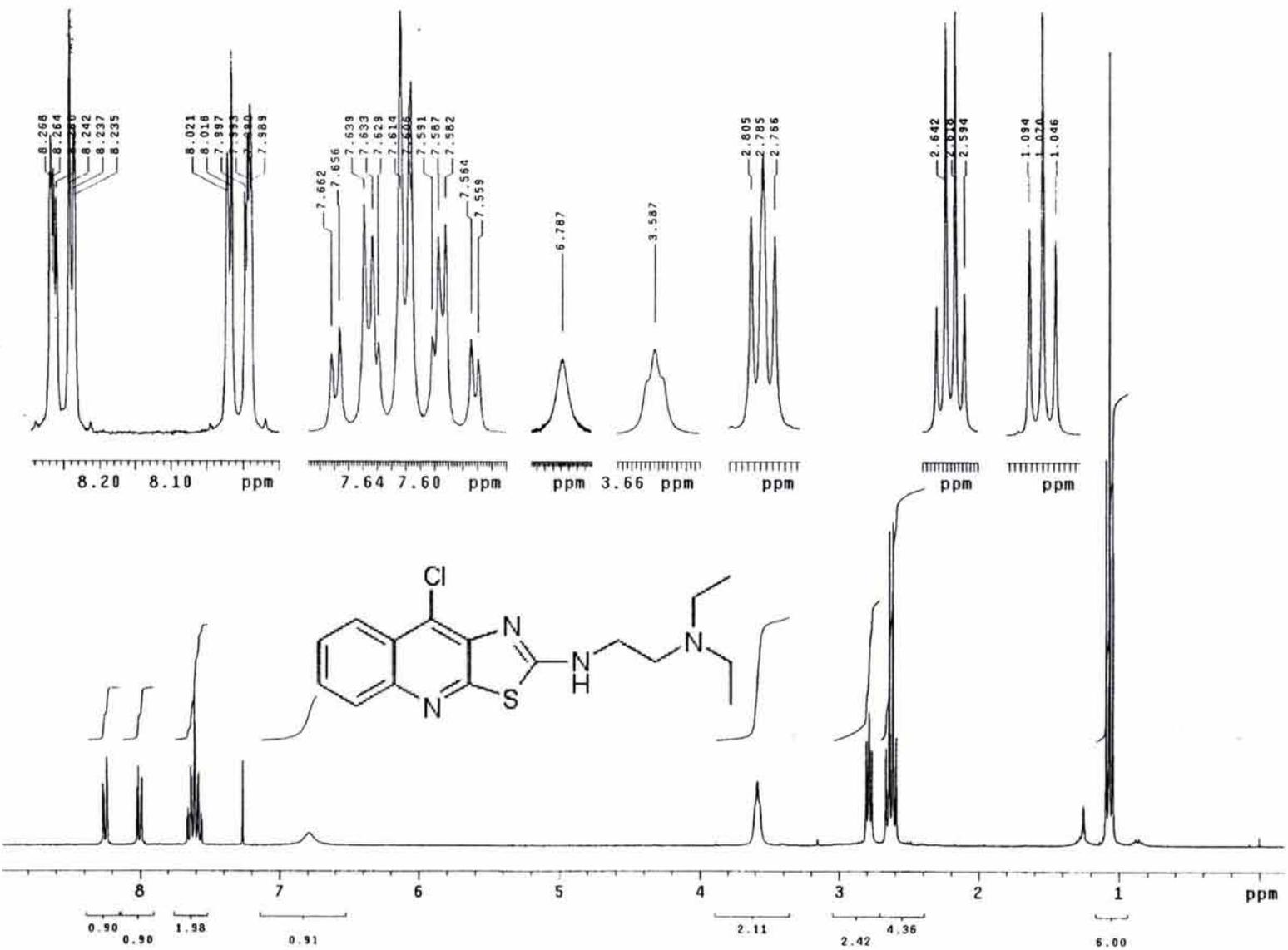
ESPECTRO NO. 48. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO XI (CDCl₃)



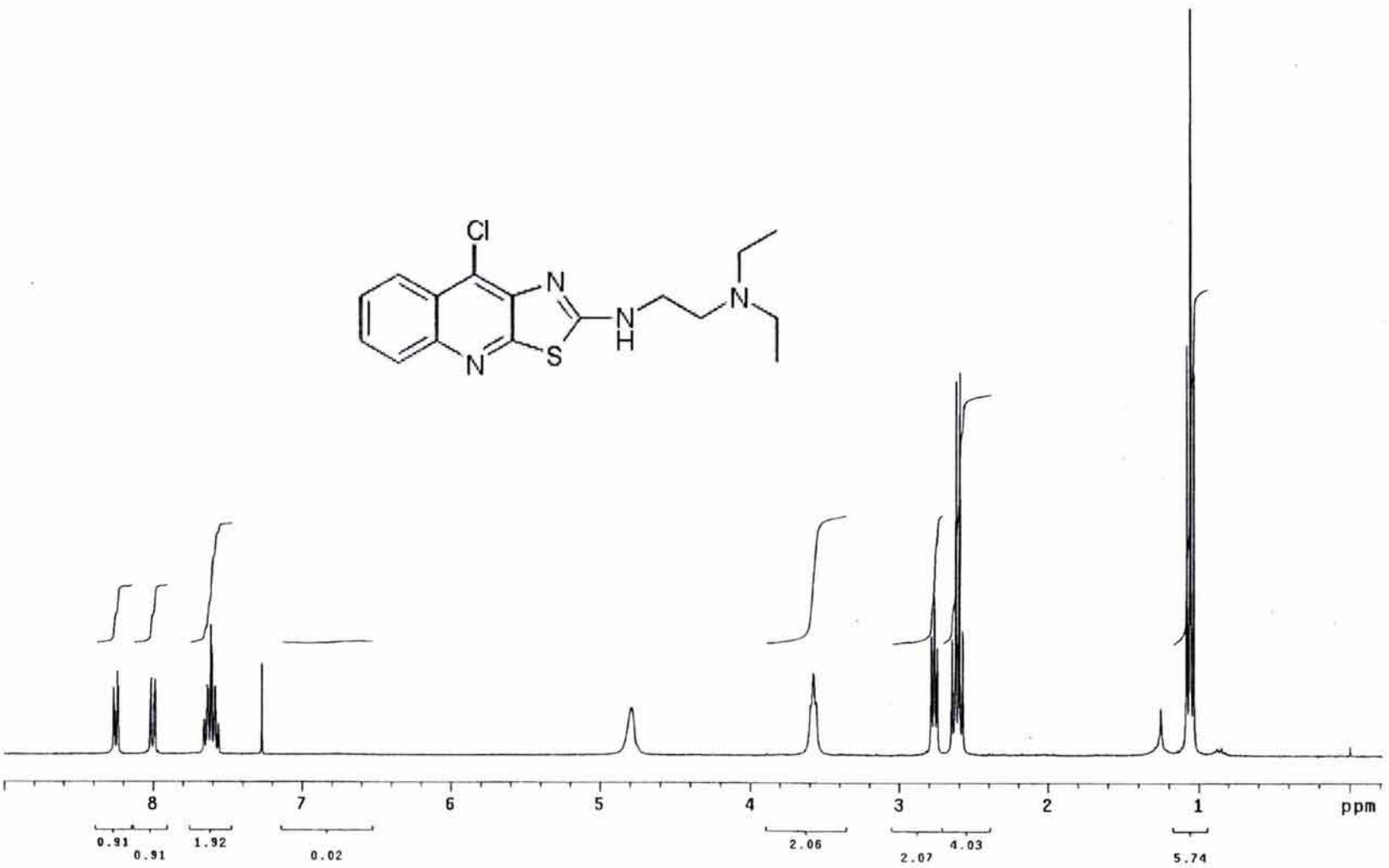
ESPECTRO NO. 49. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO XI (IQ)

ESPECTRO NO. 50: ESPECTRO IR DEL COMPUESTO XII

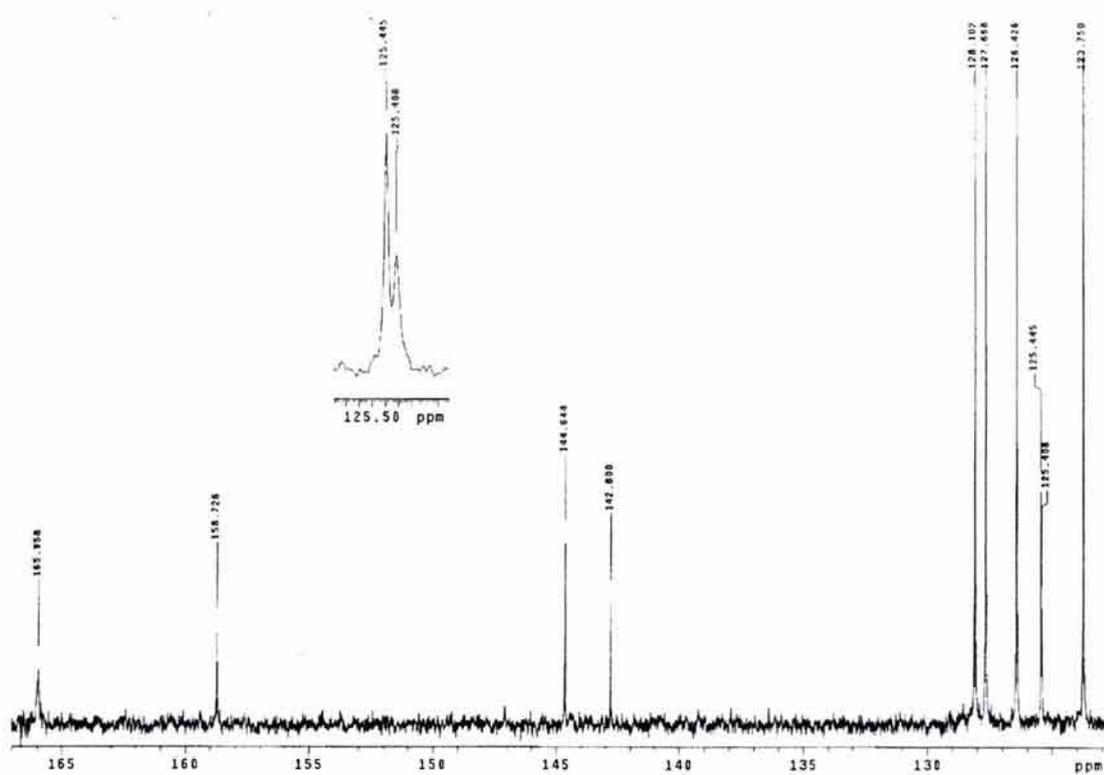
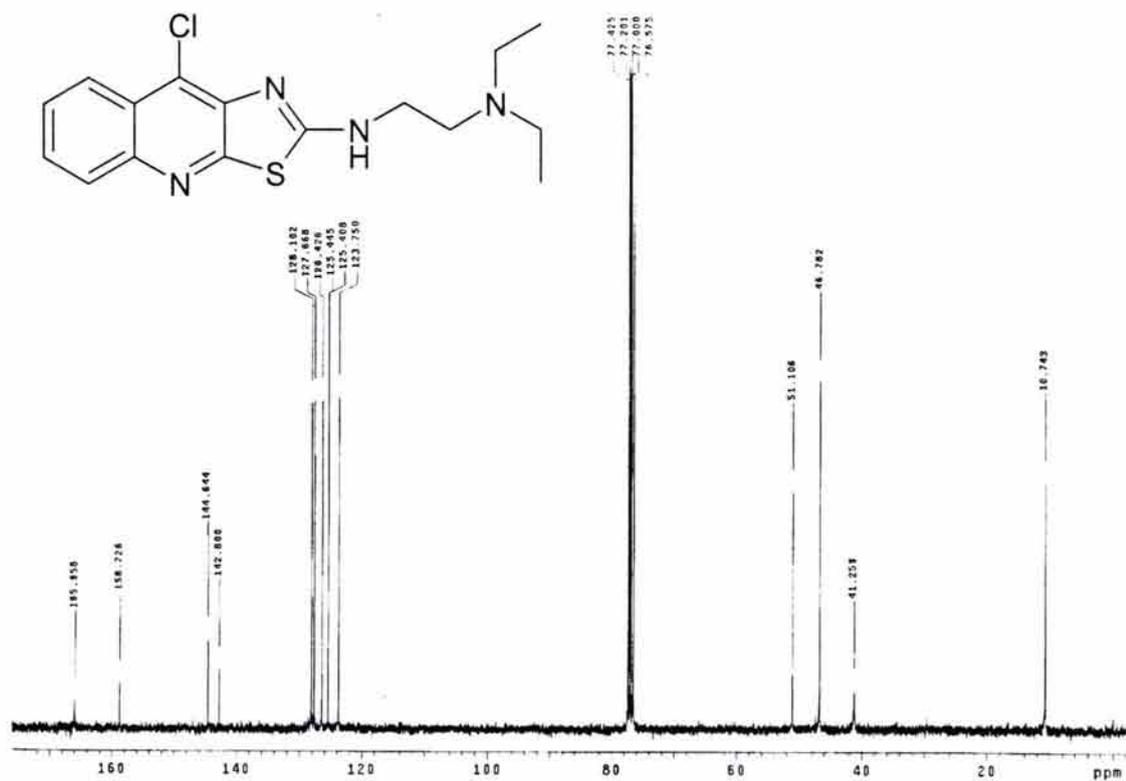




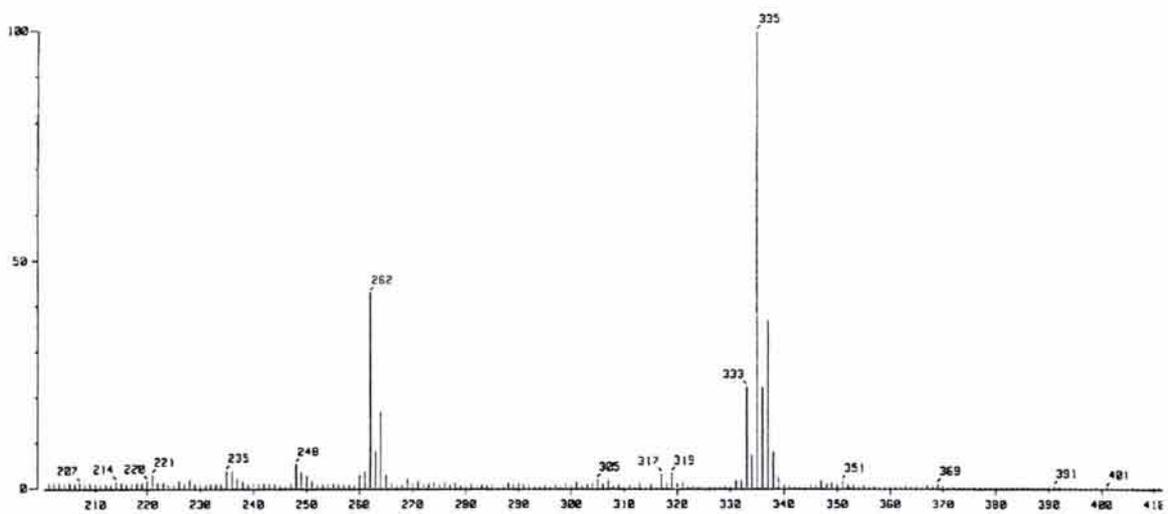
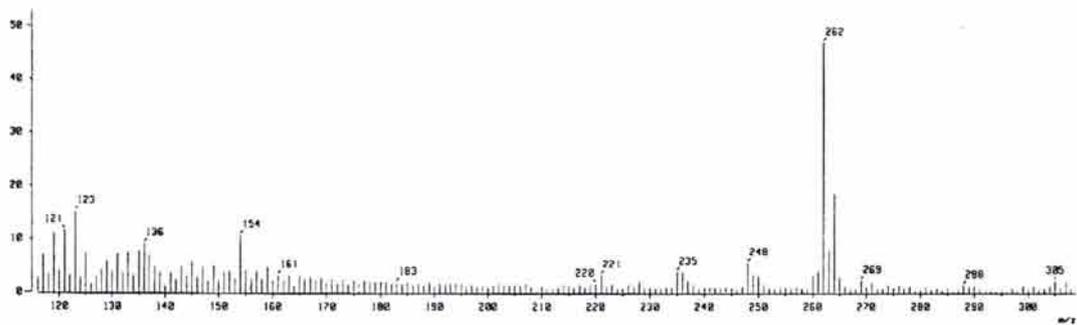
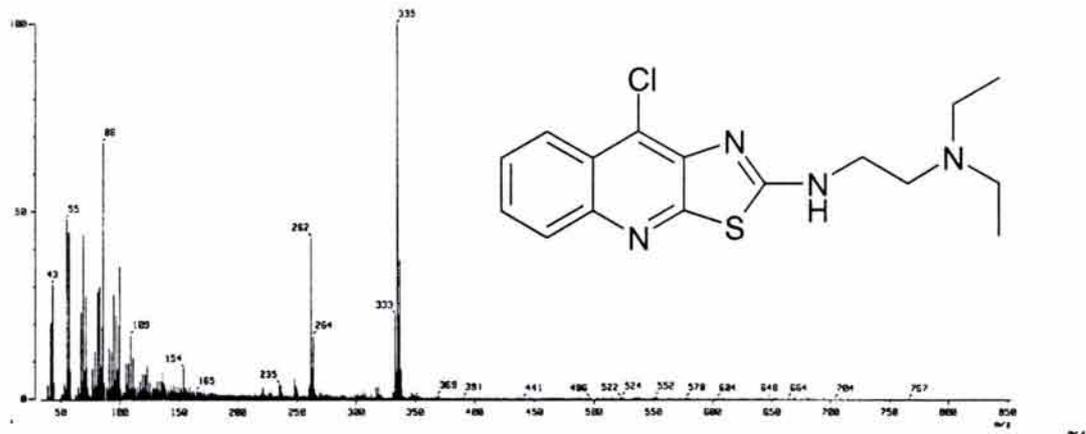
ESPECTRO NO. 51. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO XII (CDCl₃)



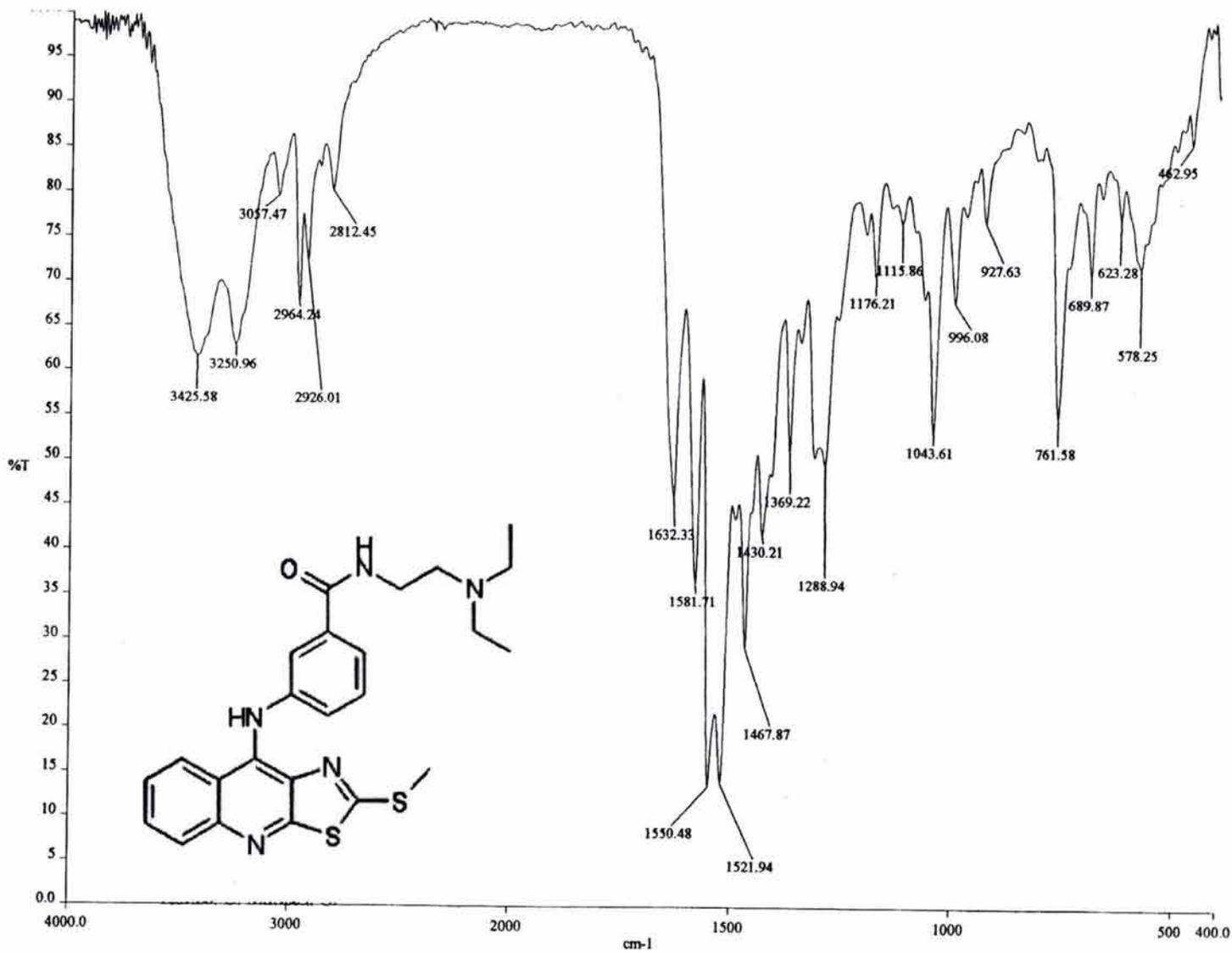
ESPECTRO NO. 51. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO XII
INTERCAMBIO CON D_2O .



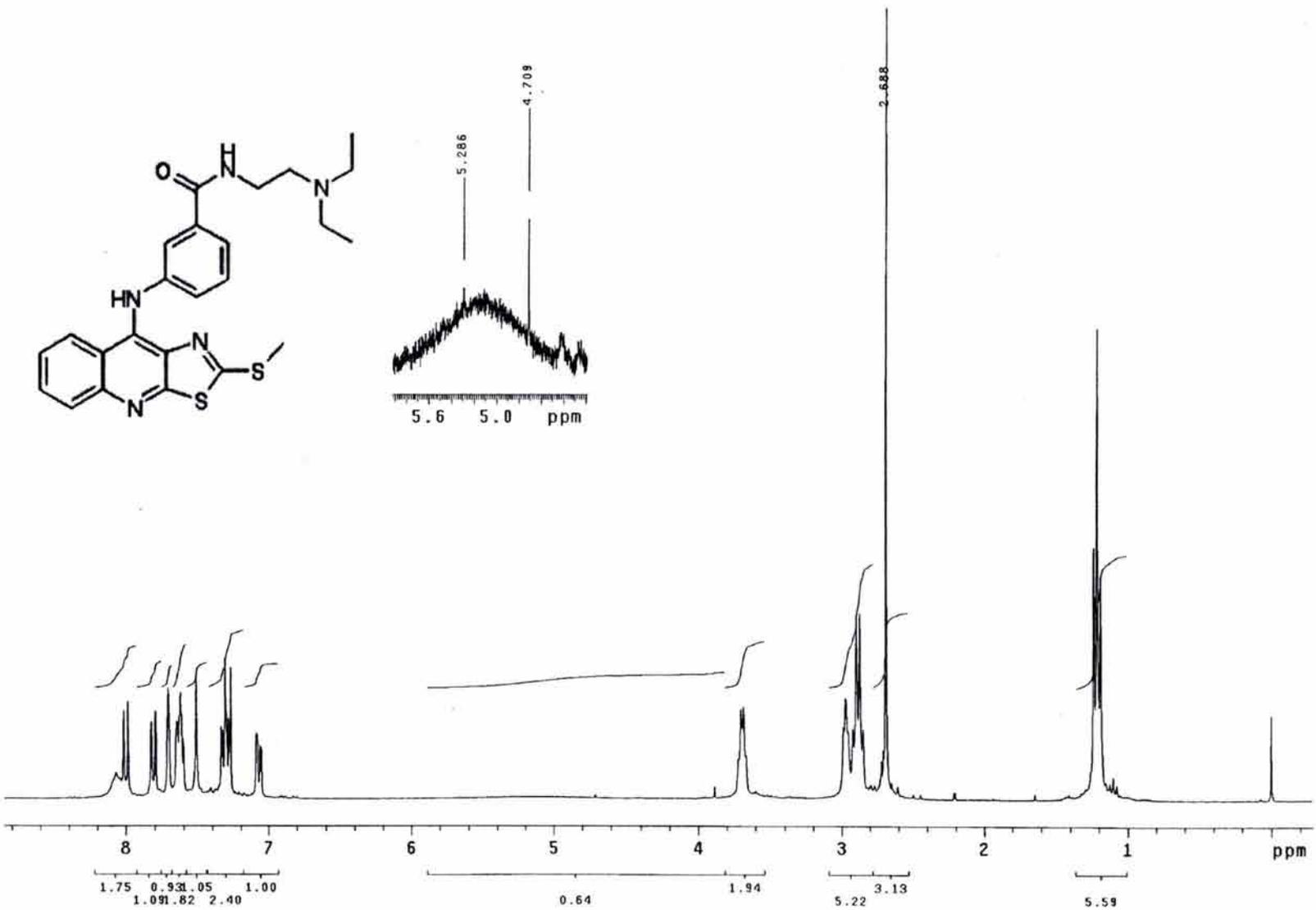
ESPECTRO NO. 52. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO XII (CDCl₃)

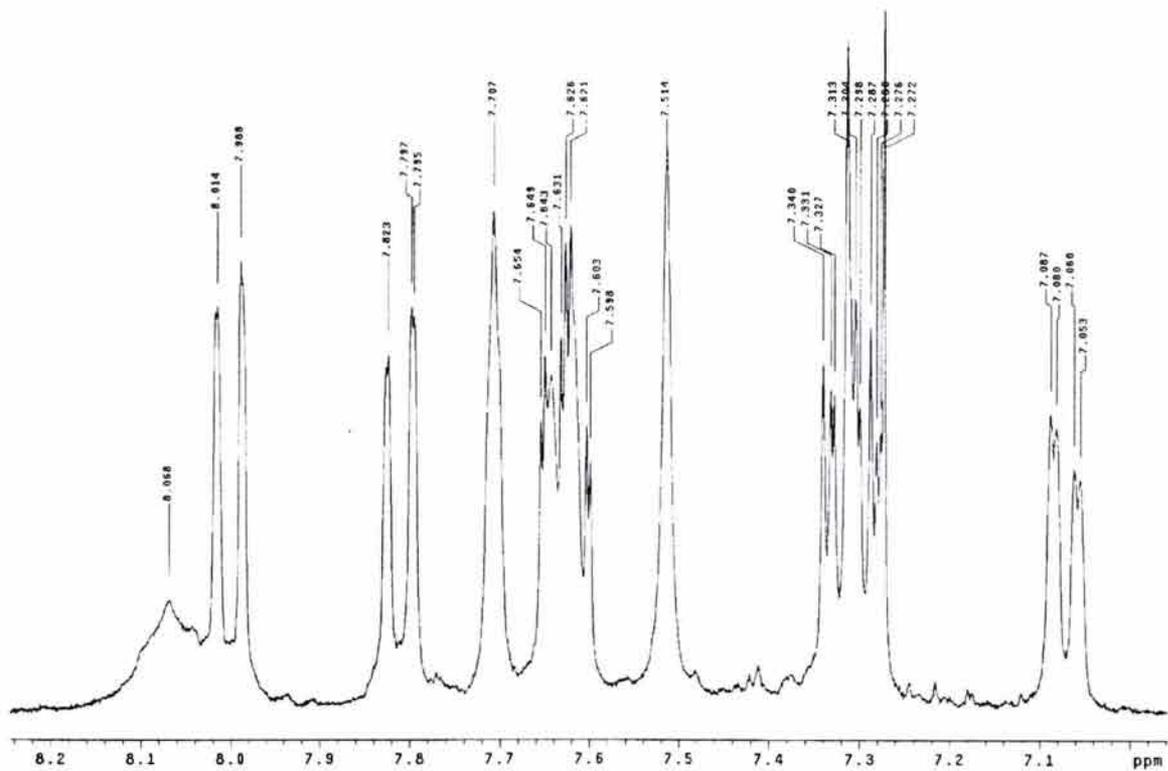
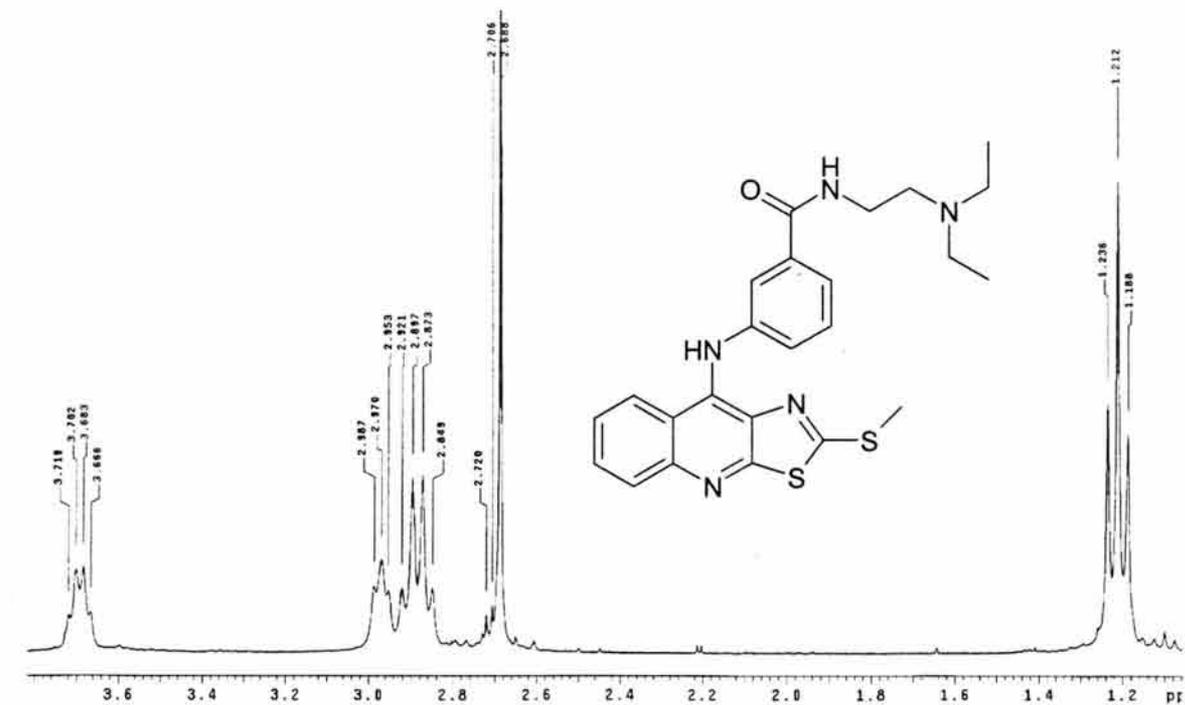


ESPECTRO NO. 53. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO XII (FAB)

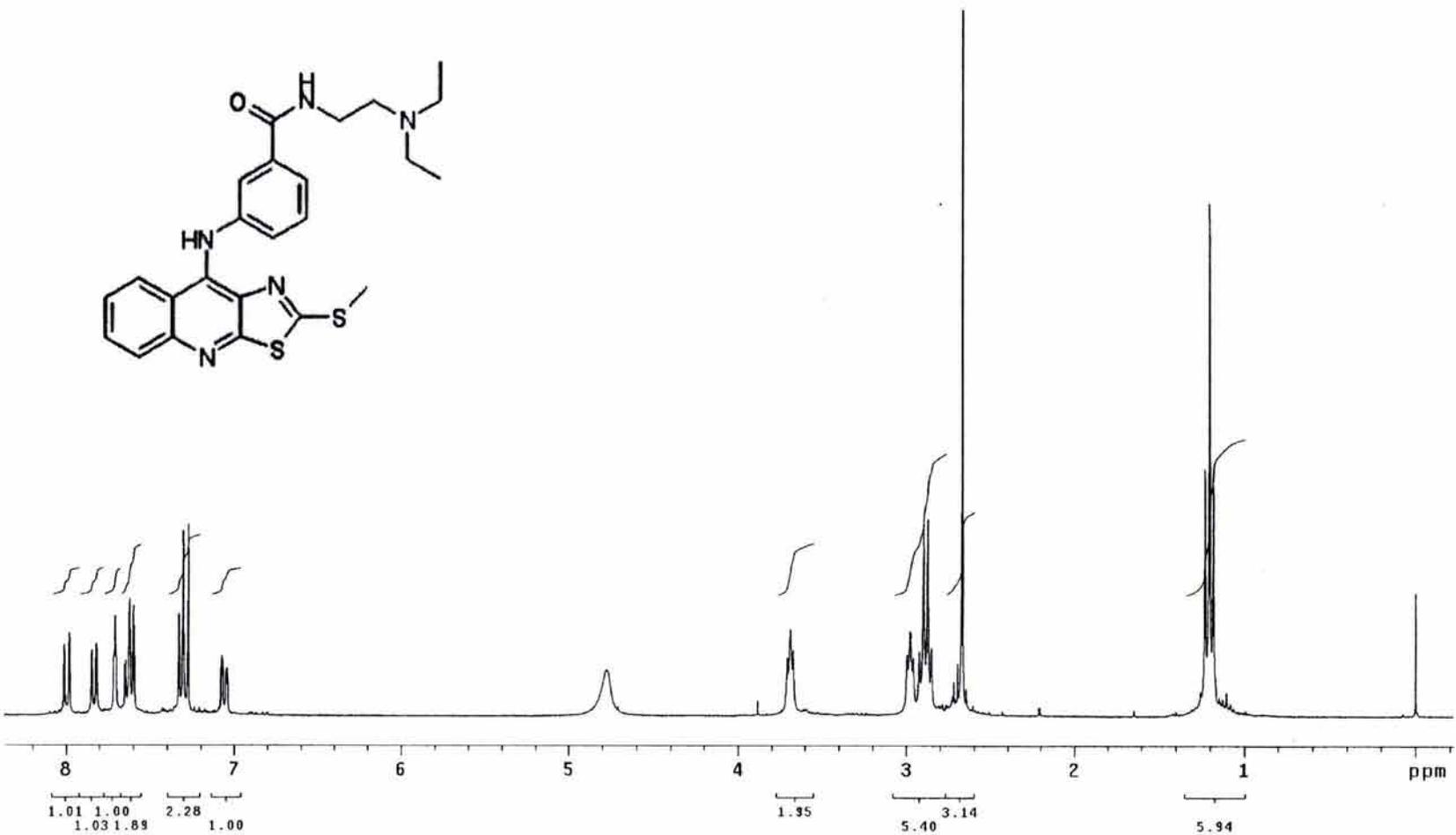


ESPECTRO NO. 55. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO XIII (CDCl₃)

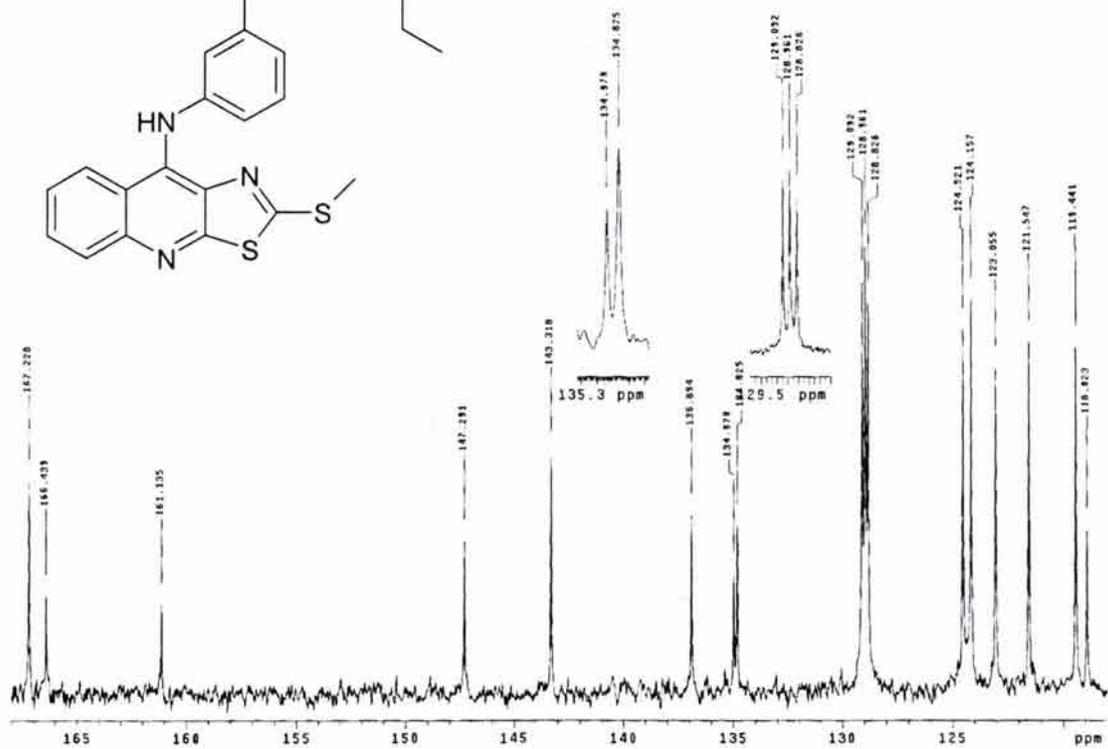
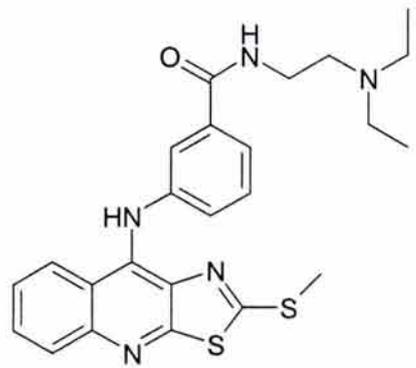
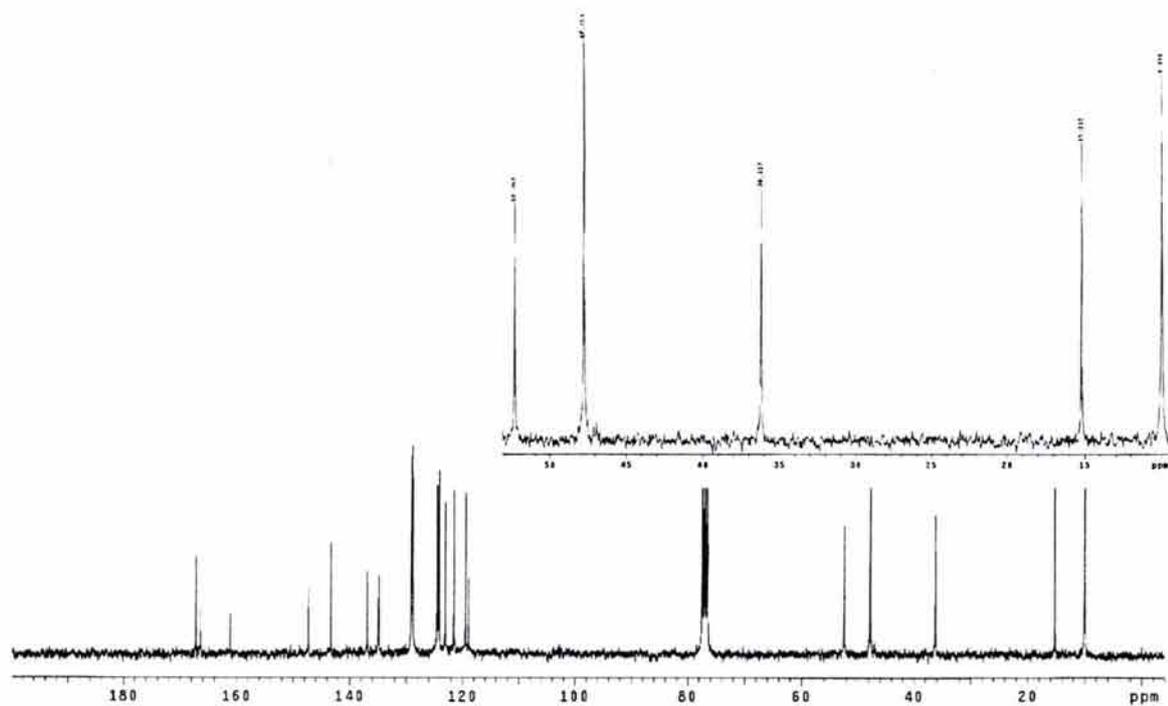




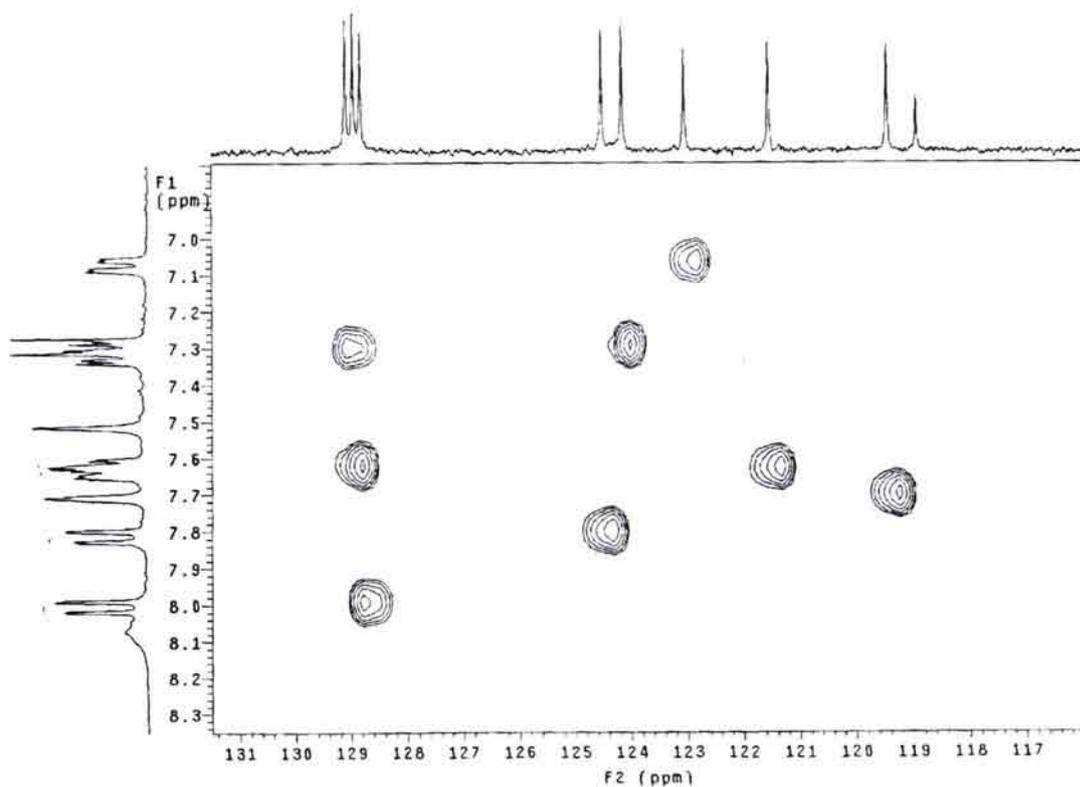
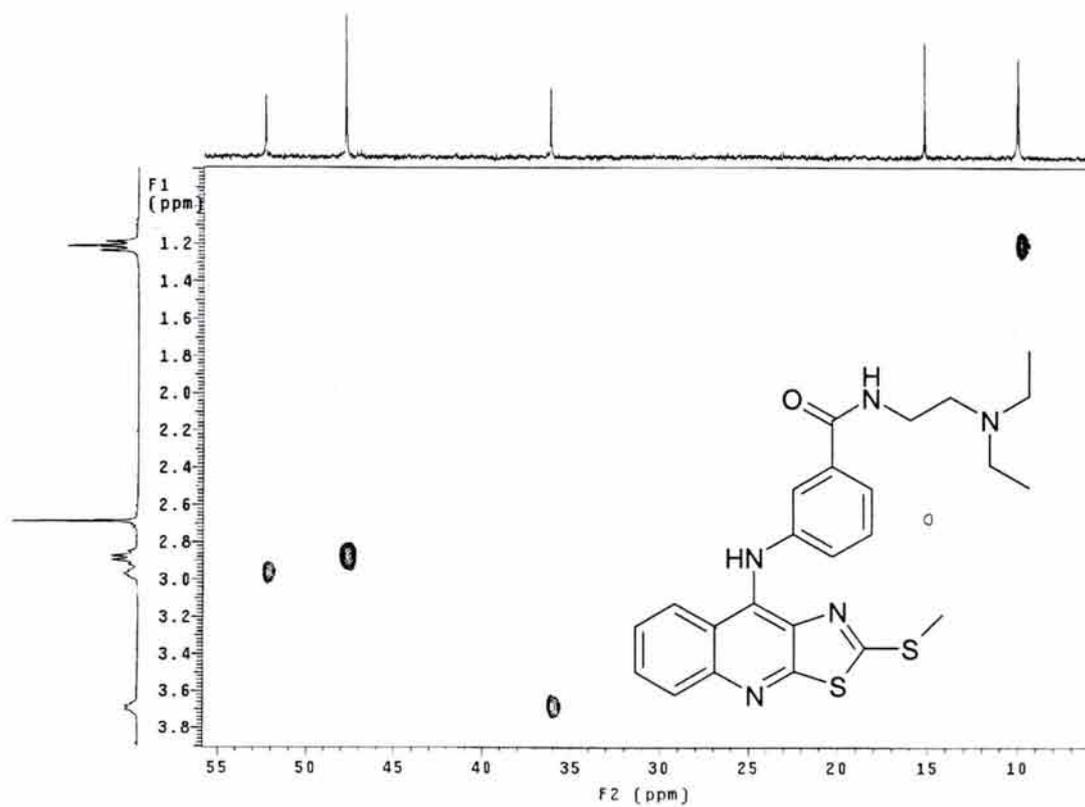
ESPECTRO NO. 55. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO XIII
AMPLIACIONES



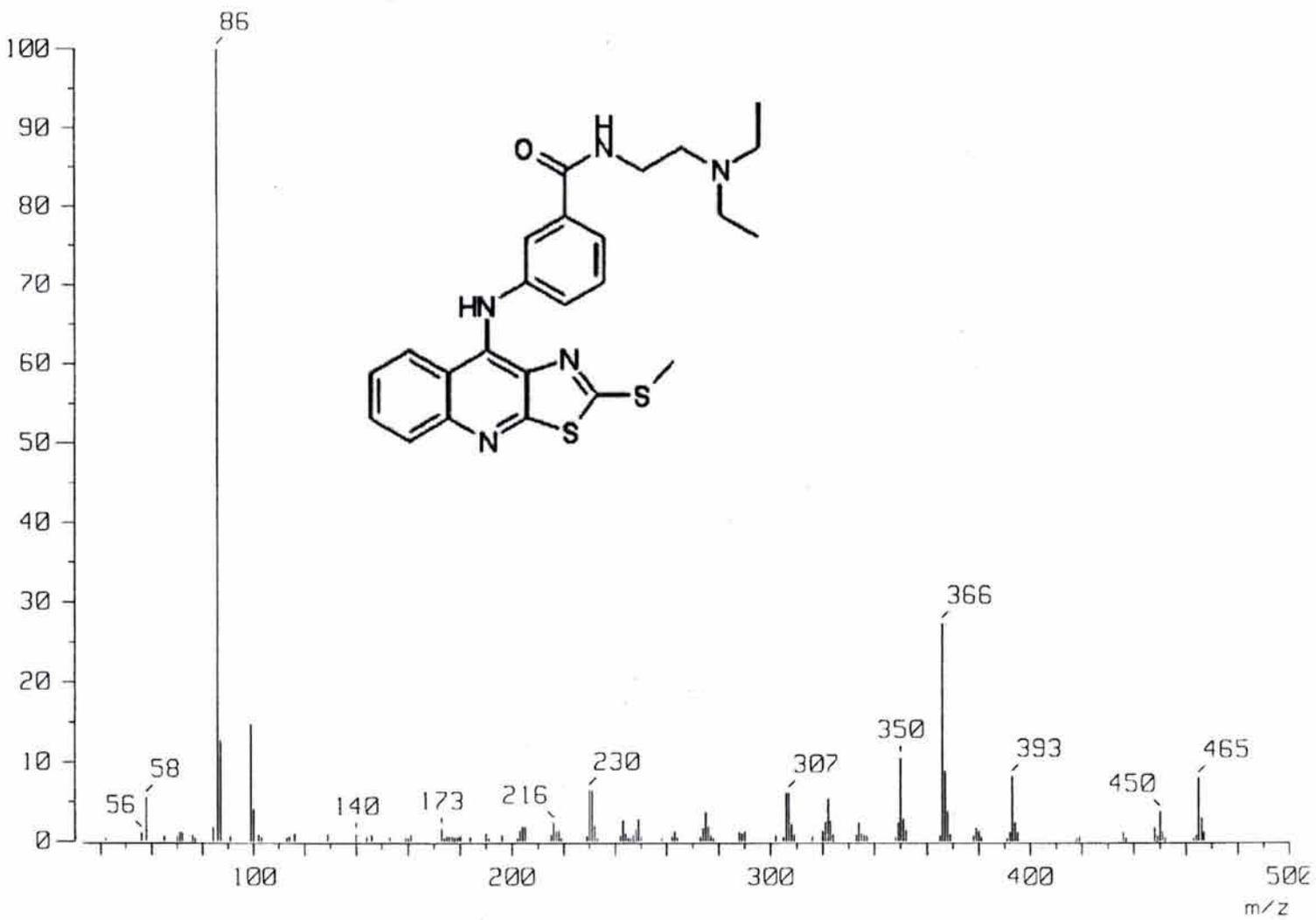
ESPECTRO NO. 55. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO XIII
INTERCAMBIO CON D_2O .



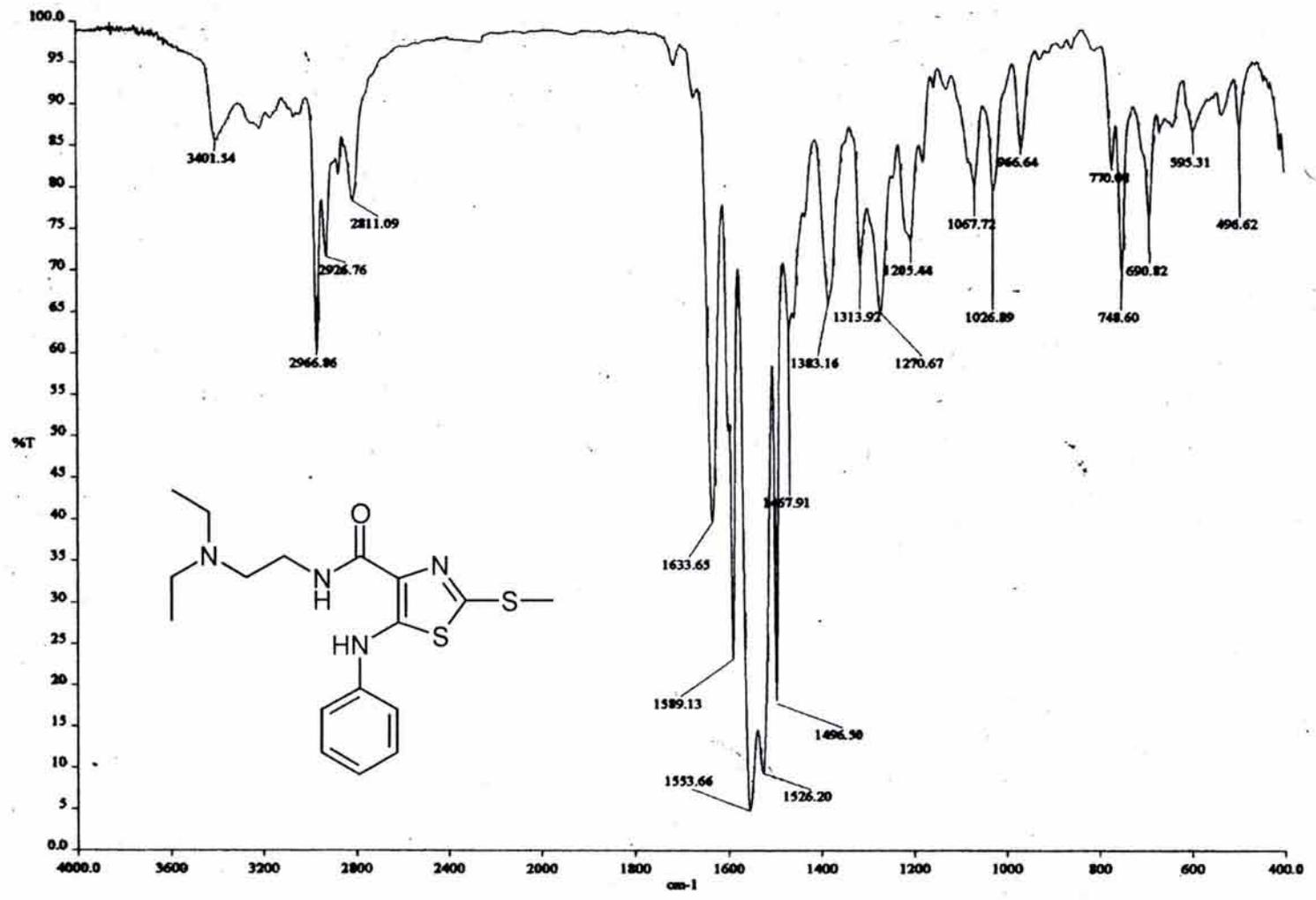
ESPECTRO NO. 56. ESPECTRO RMN-¹³C DEL COMPUESTO XIII (CDCl₃)



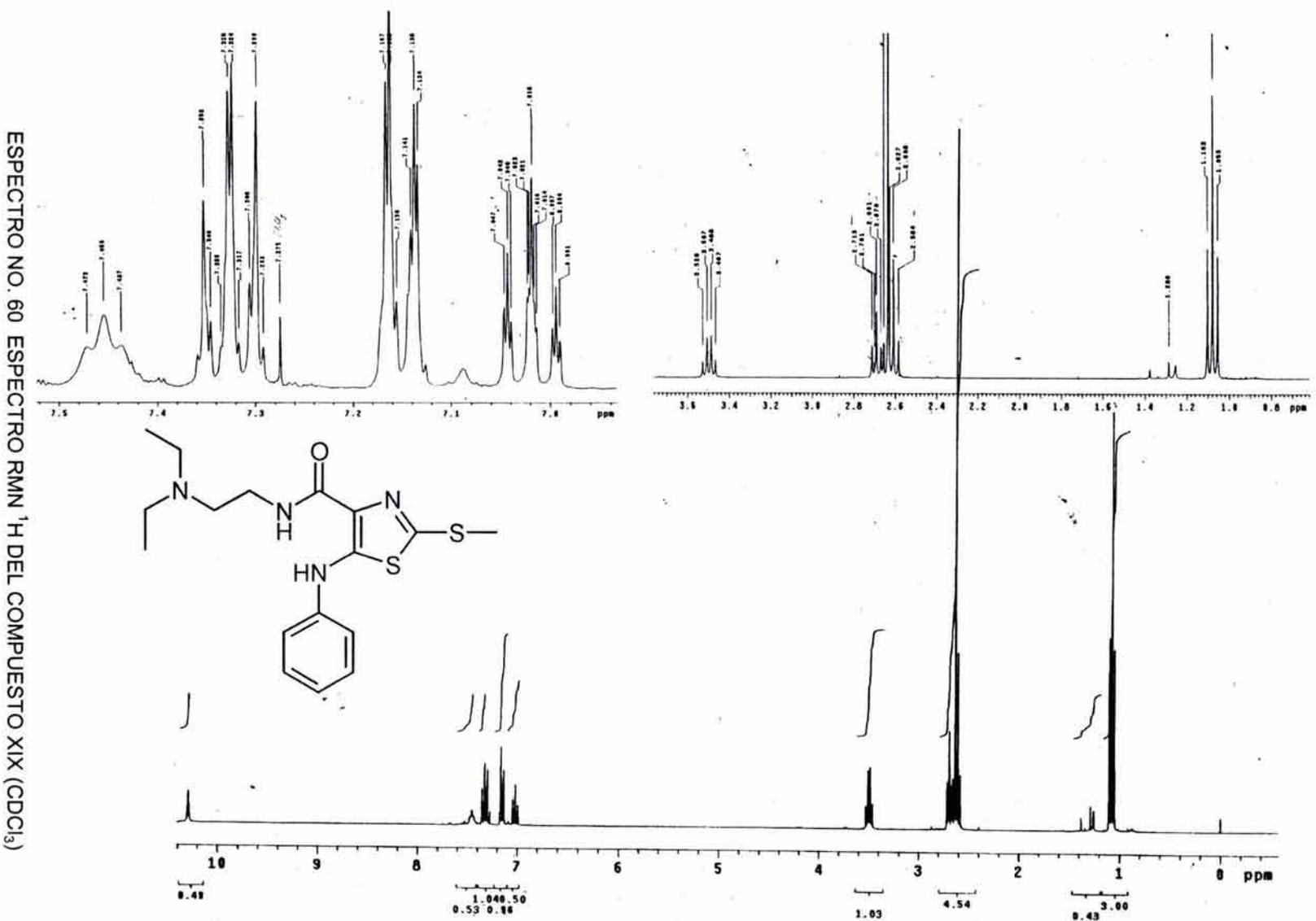
ESPECTRO NO. 57. ESPECTRO HETCOR DEL COMPUESTO XIII

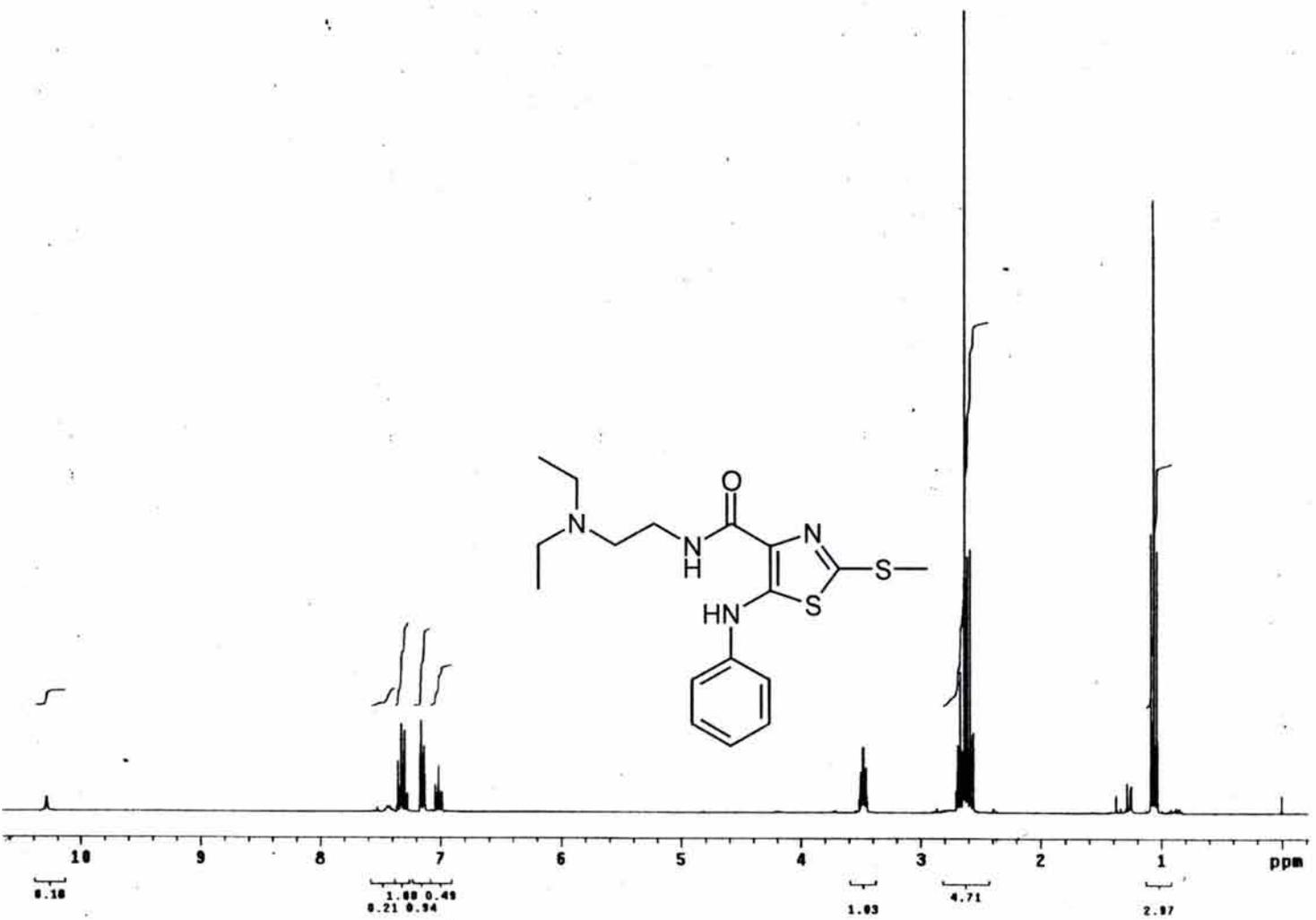


ESPECTRO NO. 58. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO XIII (IE)

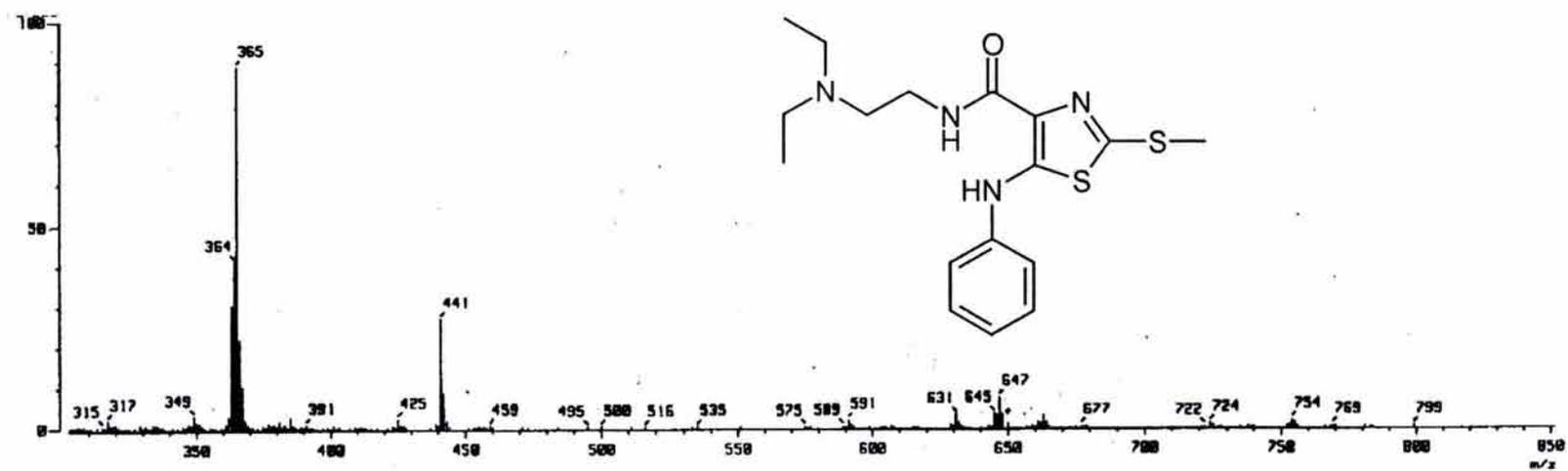
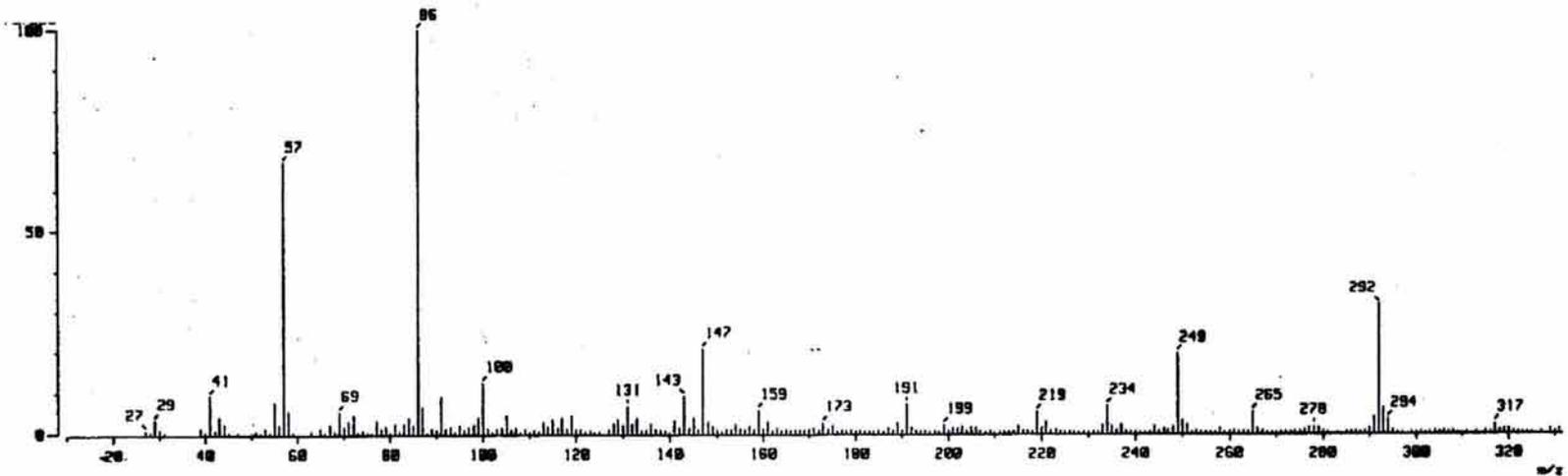


ESPECTRO NO. 59 ESPECTRO IR DEL COMPUESTO XIX



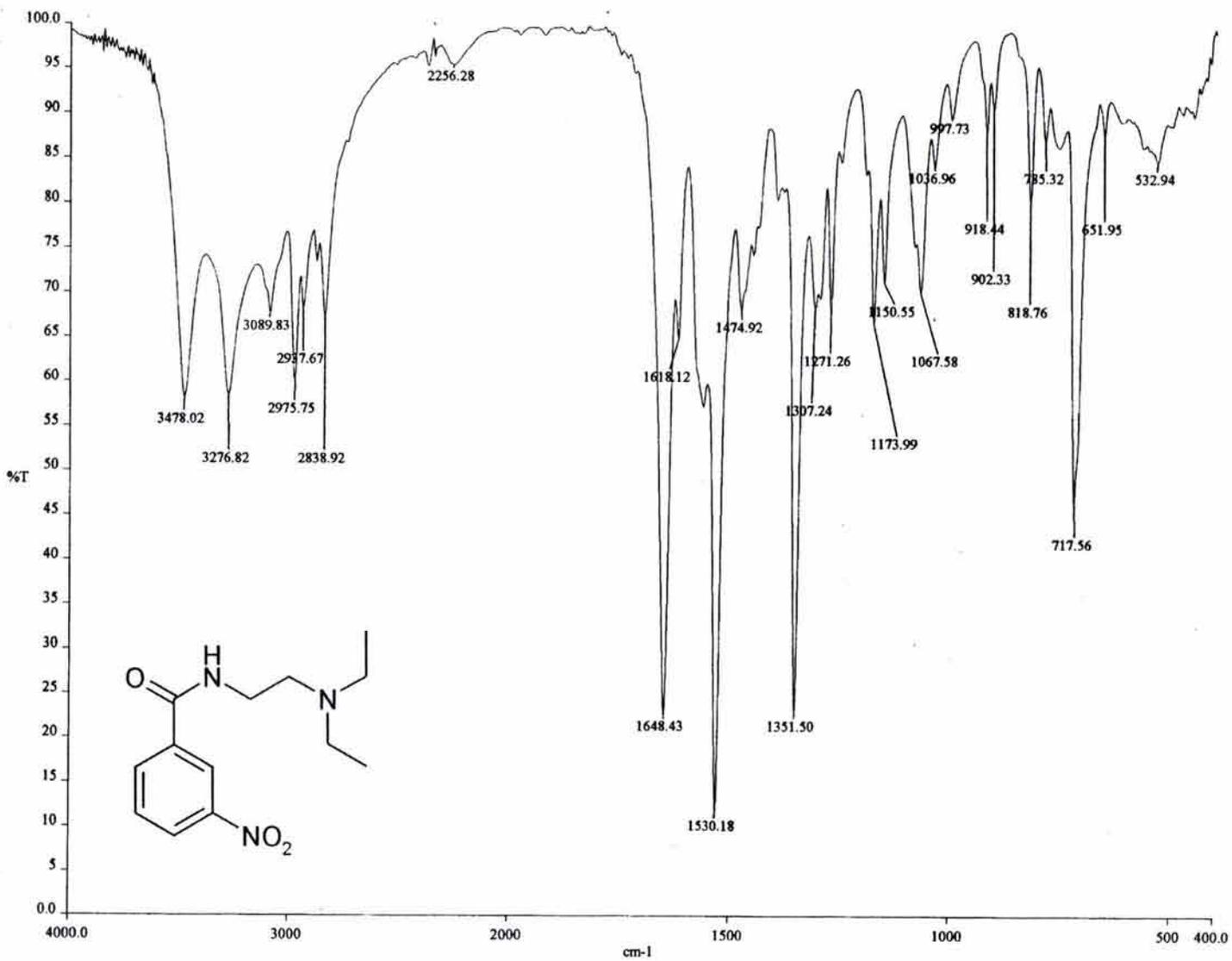


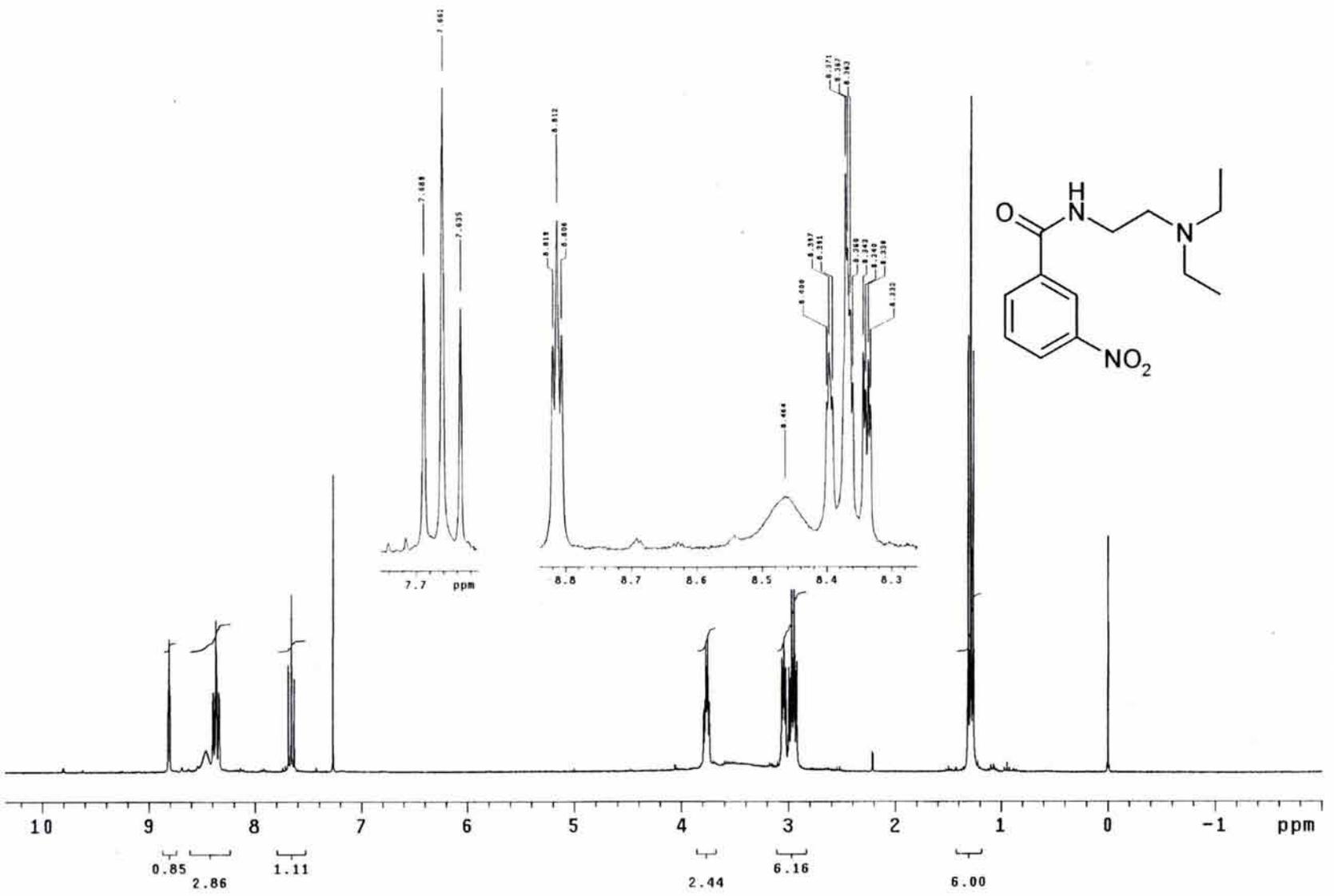
ESPECTRO NO. 60 ESPECTRO RMN ¹H DEL COMPUESTO XIX.
INTERCAMBIO CON D₂O



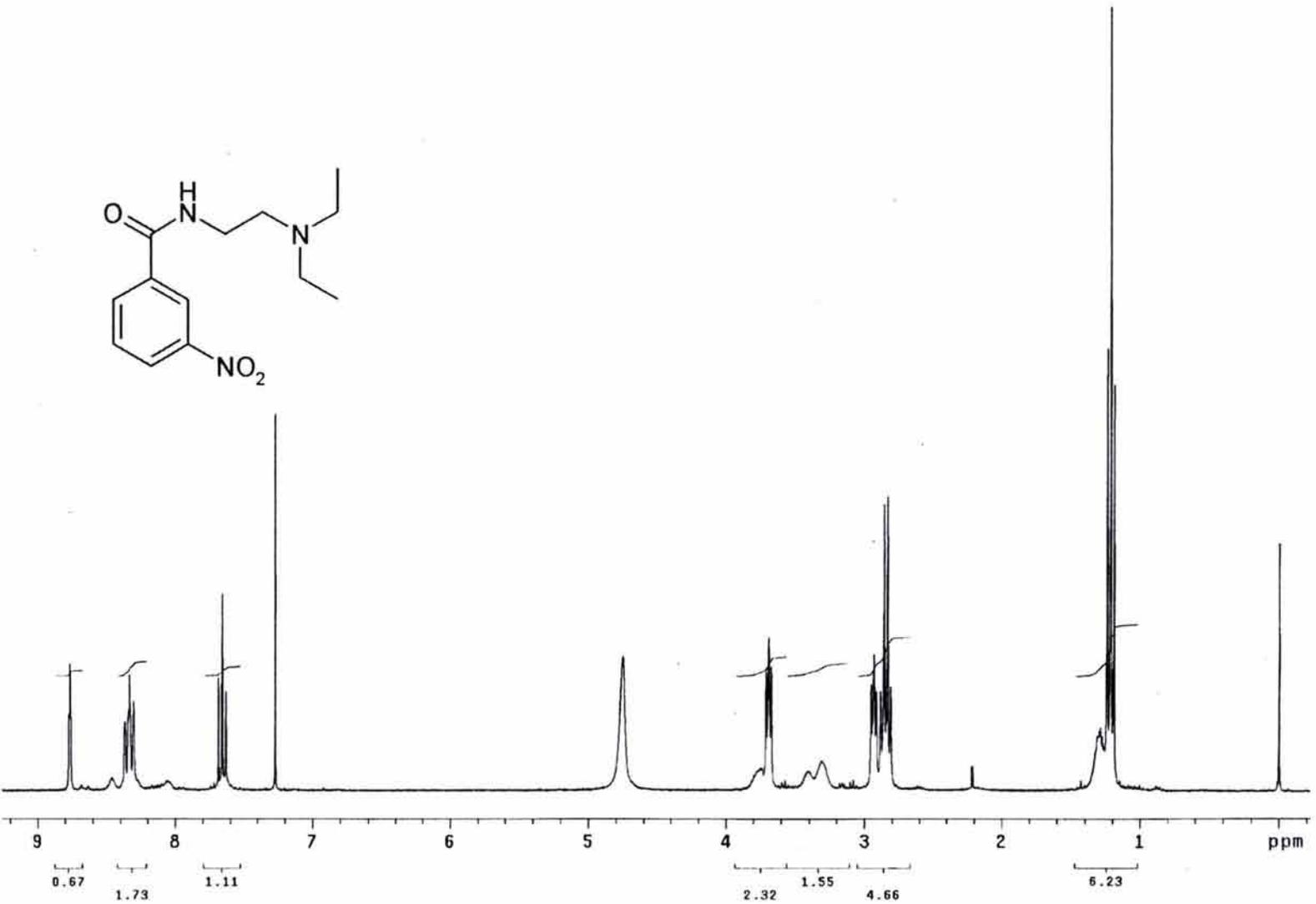
ESPECTRO NO. 61 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO XIX (FAB)

ESPECTRO NO. 62. ESPECTRO IR DEL COMPUESTO XXIX

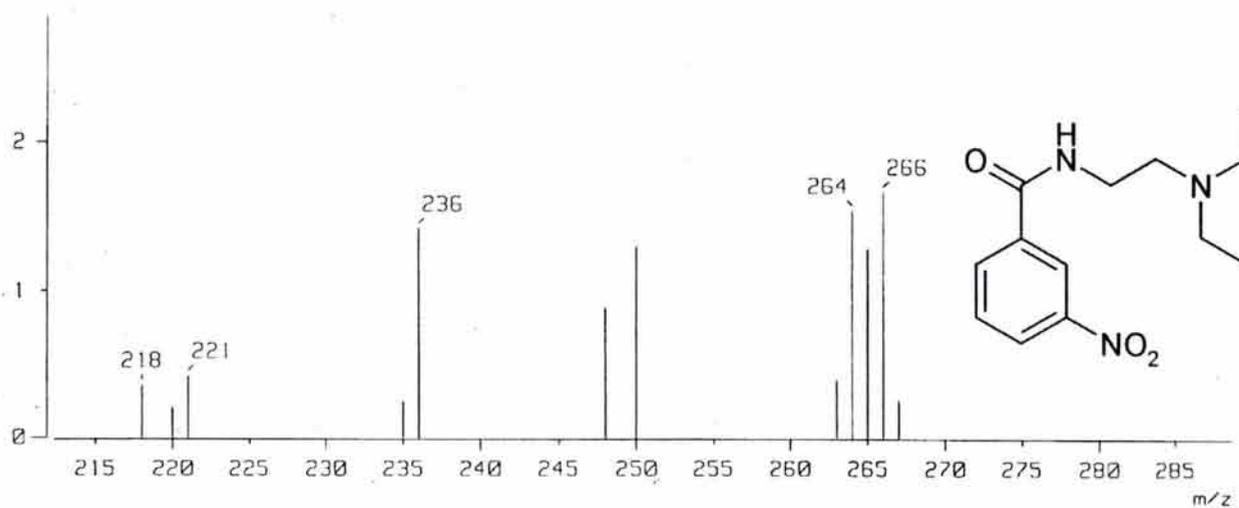
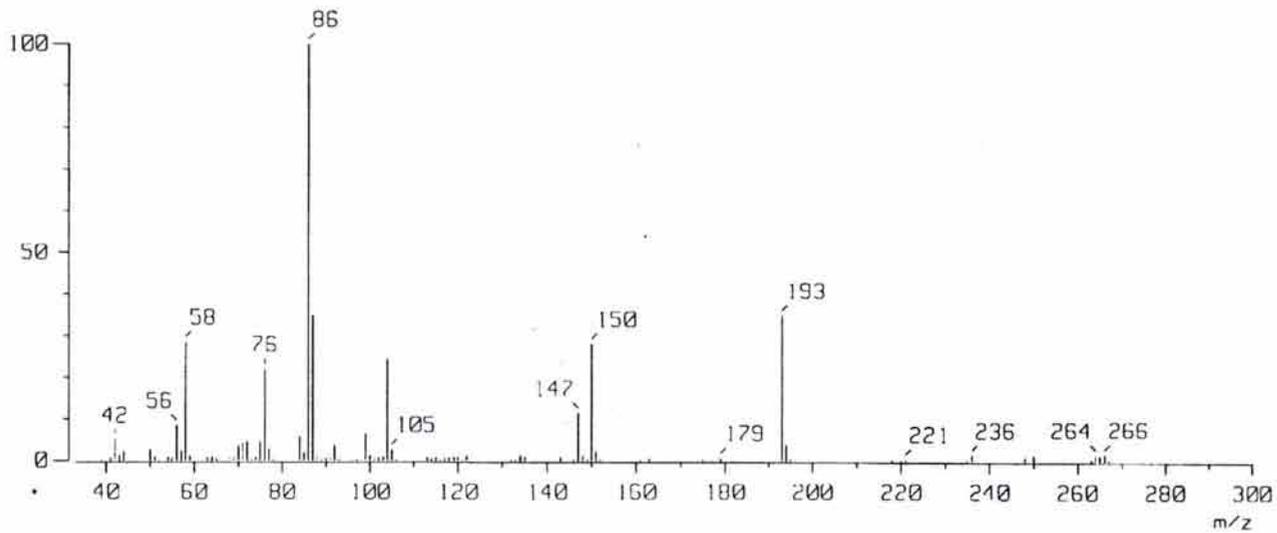




ESPECTRO NO. 63. ESPECTRO RMN-¹H DEL COMPUESTO XXIX (CDCl₃)



ESPECTRO NO. 63. ESPECTRO RMN- ^1H DEL COMPUESTO XXIX
INTERCAMBIO CON D_2O .



ESPECTRO NO. 64. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DEL COMPUESTO XXIX (IE)