



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

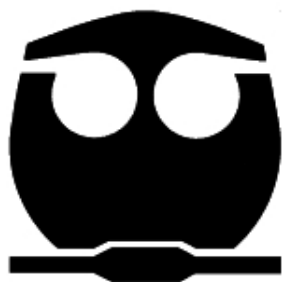
**SÍNTESIS Y EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE LA 7- Y 9-
METOXI-AZETOBENZAZEPINAS**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

ELIZABETH CISNEROS RESENDIZ



MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente Maria Luisa García Padilla

Vocal Maria Reina Gómez Gómez

Secretario Roberto Martínez

1er. Suplente Francisco Hernández Luis

2º. Suplente Héctor García Ortega

Este trabajo se realizó en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la UNAM

Dr. Roberto Martínez

Asesor

Q.F.B. Roberto Carlos Cañas Alonso

Supervisor técnico

Elizabeth Cisneros Resendiz

Sustentante

Este trabajo se realizó en el laboratorio 2-11

del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección

del Dr. Roberto Martínez con el apoyo económico

de el proyecto de investigación

PAPIIT IN 213407

A mi madre

Marcela Resendiz Castillo

Por todo tu cariño, amor, sacrificio
y atención que me diste y
principalmente por darme la vida
eres lo mejor del mundo.

Agradecimientos

A mi familia, por todo el apoyo que me han dado,
comprensión y cariño, por haberme soportado
durante mi trayectoria en la facultad,
ustedes son mi motor para seguir adelante, gracias.

A *Alfredo Aguirre García* por darme todo tu cariño y amor,
por estar conmigo en las buenas y en las malas
gracias por todo.

A mis amigas *Diana Castellanos, Cynthia Trejo,*
Guadalupe Ponce y Pilar Rodríguez,
gracias por brindarme su amistad
y por soportarme tanto tiempo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio:
Norma Esperón, Carlos Villareal,
Lizbeth Triana y Paul Reyes.

A mis compañeros de la Facultad de Química:
Nayeli Domínguez, Cinthia Melendez, Antonio Romano,
Claudia Rangel, Rodrigo Martínez, Zaira García.

Agradecimientos

Al Dr. Roberto Martínez, asesor quién además de instruirme en la formación académica y darme la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación.

A el Q.F.B. Roberto Carlos Cañas Alonso, por su apoyo y consejos durante el trabajo experimental.

A la M.C. Teresa Ramírez Apam, por el trabajo que realizó en la parte de evaluación citotóxica de los compuestos sintetizados en el Instituto de Química de la UNAM.

Q.F.B. María del Rocío Patiño del Laboratorio de Espectroscopia IR del Instituto de Química de la UNAM.

M.C. Héctor Ríos Olivares y Q. María de los Angeles Peña González del Laboratorio de Espectroscopia de RMN en el Instituto de Química en la UNAM.

M.C. Javier Pérez Flores e Ing. Luis Velasco Ibarra del Laboratorio de Espectroscopia de Masas del Instituto de Química, UNAM.

INDICE

1. Introducción	3
2. Antecedentes	5
2.1 Cáncer	5
2.1.1 Quimioterapia	6
2.1.2 Fármacos anticancerosos	6
2.2 Clasificación de los fármacos anticancerígenos	7
2.2.1 Antimetabolitos	7
2.2.2 Agentes Alquilantes	8
2.2.3 Agentes Intercalantes	9
2.2.4 Inhibidores Mitóticos	10
2.2.5 Agentes Hormonales	11
2.3 Azetobenzazepinas	12
2.4 Benzazepinas	15
2.5 Métodos sintéticos	19
2.5.1 Oxima	19
2.5.2 Reordenamiento de Beckmann	20
2.5.3 Reordenamiento de Schmidt	21
2.5.4 Tioamidas	22
2.5.5 S-alkilación	23
2.5.6 Formación de 2-azetidinas (β -lactamas)	25
3. Hipótesis	29
4. Objetivos	30
5. Resultados y discusión	31
5.1 Parte sintética	31
5.1.1 Obtención del anillo de las benzazepinonas 87 y 88	31

5.1.2 Obtención de la 6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-tiona 89 y de la 8-metoxi- 2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-tiona 90	37
5.1.3 Obtención del yoduro de 1-metiltio-6-metoxi-4,5-dihidro-3 <i>H</i> - 2-benzazepinio 91 y de la obtención del yoduro de 1-metiltio- 8-metoxi-4,5-dihidro-3 <i>H</i> -2-benzazepinio 92.	39
5.1.4 Obtención de las azetobenzazepinonas 5 y 6	42
5.2 Pruebas biológicas	47
6. Conclusiones	51
7. Sección experimental	52
7.1 Consideraciones generales	52
7.2 Obtención de las Benzazepinonas 87a y 88a	53
7.3 Formación de las tionas 89 y 90	54
7.4 Reacción de metilación	55
7.5 Formación del anillo 2-azetidinona	56
7.6 Pruebas de citotoxicidad	57
8. Bibliografía	59
9. Anexos	62

ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
AIBN	Azo-bis-isobutironitrilo
APF	Ácido polifosfórico
Ar	Arilo
A-T	Adenina-Timina
BH ₃ -THF	Borano en tetrahidrofurano
Bu ₃ SnH	Hidruro de tributilestaño
CFA	Cloruro de fenoxiacetilo
COSY	Correlación ¹³ C- ¹ H a larga distancia
Cp ₂ TiCl ₂	Dicloro titanoceno
CSA	Ácido canforsulfónico
Cs ₂ CO ₃	Carbonato de cesio
dATP	Desoxiadenosina 5'-trifosfato
DCE	1,2-dicloroetano
DEPT	Distorsión por aumento de polarización
DHFR	Dihidro folato reductasa
DLP	Peróxido de dilauroilo
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
EMIE	Espectroscopia de Masas de Impacto Electrónico
Et ₃ N	Trietilamina
eV	Electrón voltios
FH ₄	Tetrahidrofolato
GTP	Guanosina 5'-trifosfato
h	Hora
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IC ₅₀	Concentración Inhibitoria 50
IR	Infrarrojo
MeCN	Acetonitrilo

μM	Micromolar
mL	Mililitro
mmol	Milimol
<i>m/z</i>	Relación masa carga
$\text{NH}_2\text{-OH}\cdot\text{HCl}$	Hidrocioruro de hidroxilamina
NOESY	Espectroscopia de Efecto Nuclear de Overhauser
OC_6H_5	Fenoxilo
$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Acetato de paladio
$\text{Pd}(\text{dba})_2$	Dibencilidenacetona paladio
RMN ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrogeno
RMN ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RNA	Ácido Ribonucleótido
$\text{S}_{\text{N}}1$	Sustitución Nucleofilica 1
$\text{S}_{\text{N}}2$	Sustitución Nucleofilica 2
t.a	Temperatura ambiente
TBAI	Ioduro de tetrabutilamonio
<i>t</i> -BuONa	<i>ter</i> butóxido de sodio
THF	Tetrahidrofurano

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en México, las enfermedades crónico-degenerativas representan un enorme reto público y social. Una patología que claramente ilustra esta problemática es el cáncer, conjunto de enfermedades neoplásicas de gran complejidad en su tratamiento y pronóstico.¹ En el 2004, los tumores malignos fueron la tercera causa de muerte en nuestro país, 61 248 personas fallecieron a causa de ellos, representando un volumen de 12.9% del total de las defunciones registradas.²

Varios métodos son utilizados para el tratamiento del cáncer y un tercio de los pacientes son curados con tratamientos locales –la cirugía o radioterapia- los cuales son bastante efectivos cuando el tumor no ha presentado metástasis al tiempo de tratamiento. Sin embargo, en los casos restantes que presentan metástasis (en distintos grados) se hace necesario el uso de quimioterapia, inmunoterapia o la combinación de ambas, en conjunto con la cirugía o la radioterapia, para un tratamiento efectivo.

De igual manera, la quimioterapia es de suma importancia en el tratamiento, ya que es el único medio efectivo para alcanzar de manera sistémica los órganos y tejidos afectados por esta enfermedad. Es por ello que la búsqueda por encontrar fármacos con actividad citotóxica selectiva, tanto de origen natural como sintéticos, se ha convertido en el centro de los esfuerzos para el tratamiento del cáncer.³

Como parte de dichos esfuerzos, en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, el grupo de investigación del Doctor Roberto Martínez ha sintetizado una serie de derivados, dentro de los cuales se encuentra la azetobenzazepina **1**, la cual exhibe actividad citotóxica en varias líneas celulares cancerosas.⁴

Tabla 1.- Valores de CI_{50} de los compuestos **1** y **2** para cada línea celular.

Línea celular	Compuesto 1 CI_{50}	Compuesto 2 CI_{50}
K-562	23.0±1.83	22.99±1.7
HCT-15	13.64±1.2	19.08±1.0

Este resultado suscitó las siguientes preguntas: (1) ¿Qué tan importante es la cara del anillo benzazepínico, donde se fusiona el anillo azetidínico, para la actividad citotóxica?, (2) ¿Qué tan importante es la posición en la cual esta unido el grupo metoxilo? Para responder estas preguntas

se necesitaría, inicialmente, la síntesis y la evaluación citotóxica de las series I y II de los compuestos. (Figura 1 y 2)

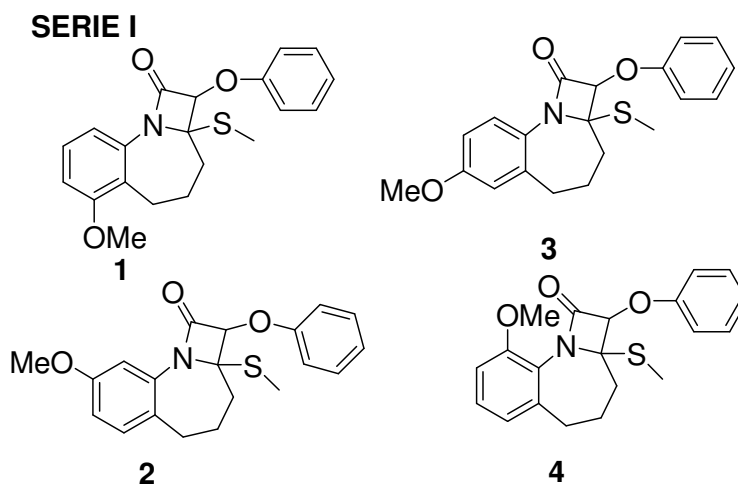


Figura 1.- Serie I de los compuestos azetobenzazepínicos.

Como resultado de esta exploración se encuentra que la azetobenzazepina **2** también es activa.⁵ En el presente trabajo, la exploración de la molécula **1** cambiando la posición del nitrógeno de la benzazepina de 1→2, generando la molécula **5**, y haciendo el mismo cambio en la molécula **2**, generando la molécula **6**, nos permitiría evaluar qué tan importante es la fusión del anillo 2-azetidinona para la actividad citotóxica mostrada por **1** y **2**.

SERIE II

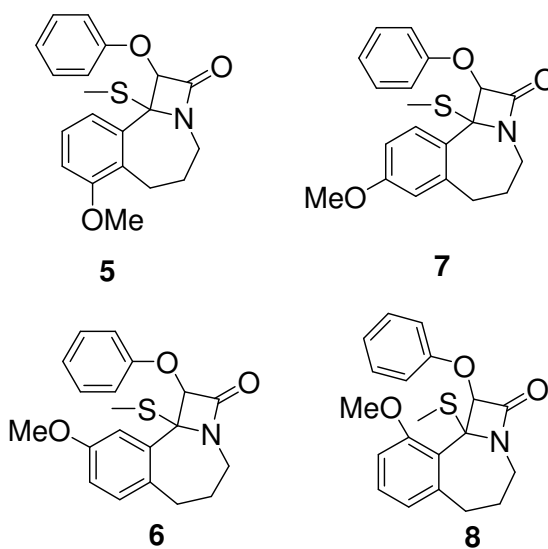


Figura 2.- Serie II de los compuestos azetobenzazepínicos.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- CÁNCER

El cáncer es una enfermedad en la cual los mecanismos de regulación de la proliferación celular están fuera de control, es decir las células presentan un desorden en el control de su crecimiento y diferenciación.⁶ Existen dos tipos de tumores: los tumores benignos que pueden crecer rápidamente pero no son una amenaza para la vida y los tumores malignos que sí amenazan la vida; los tumores malignos son aquellos que tienen la habilidad de invadir tejidos cercanos y finalmente los destruyen.

El desarrollo de este padecimiento comienza con la alteración genética de una célula dentro de un tejido. Esta mutación permite una proliferación acelerada de la célula y forma una hiperplasia o displasia, esta última lleva la formación de un tumor, que puede permanecer localizado en su sitio de origen o invadir tejidos circundantes y formar metástasis. La metástasis es un proceso por medio del cual un tumor primario invade sitios distantes de su punto de origen.⁷

El cáncer surge debido a efectos específicos de factores ambientales tales como el hábito de fumar y la dieta, además de los antecedentes genéticos. En otros cánceres como el cáncer de mama y de próstata se involucra a las hormonas y el factor genético parece ser un factor de riesgo más poderoso que el estilo de vida. Dos clases de genes son los de más ingerencia en el origen del cáncer. Los protooncogenes fomentan el crecimiento tumoral, mientras que los genes supresores tumorales lo inhiben. La acción coordinada de esas dos clases de genes normalmente regula la proliferación de las células; sin embargo, cuando mutan, los oncogenes promueven una división celular excesiva, mientras que los genes supresores tumorales fallan en bloquear el mecanismo de división.⁸

El IMSS, tiene registrado que los tumores malignos en todas las edades figuran como la segunda causa de muerte (47.6 por 100 mil). Durante el 2003 se registraron 15 714 defunciones en el Sistema de Mortalidad Institucional (Sismor), de las cuales el 57.7% ocurrió en mujeres.⁹

Los cuatro principales tipos de tratamientos para el cáncer son: Cirugía, Radioterapia, Quimioterapia y Terapias biológicas.

La cirugía y la radioterapia son valiosos para el tratamiento localizado de cánceres, pero son menos efectivos en la prolongación de vida una vez que el tumor se ha propagado a metástasis.

La exposición de la quimioterapia y radioterapia son las principales opciones para el tratamiento del cáncer. La aplicación de ambas terapias es limitada por severos efectos adversos sobre tejidos normales y el frecuente desarrollo de células resistentes a tumores. Por lo tanto es altamente conveniente mejorar la eficacia de estos tratamientos sin incrementar la parte de los efectos tóxicos y contrarrestar la resistencia de mecanismos que puedan dar tumores insensibles a la terapia.¹⁰

2.1.1.- QUIMIOTERAPIA

La quimioterapia citotóxica tiene su origen en la segunda guerra mundial, cuando una explosión de gas mostaza produjo hipoplasia linfóide y tétanos en marineros expuestos al gas. Este incidente llevó a la utilización de agentes alquilantes (derivados del gas mostaza) en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin y otros linfomas.¹¹

La mayoría de los avances recientes en la quimioterapia del cáncer se deben a la utilización óptima de agentes existentes, la combinación de fármacos y la minimización tóxica.

También, el desarrollo en la biología molecular ha coadyuvado al descubrimiento de nuevos blancos potenciales para la acción del fármaco y por ende al desarrollo de nuevos fármacos.

2.1.2 FÁRMACOS ANTICANCEROSOS.

La selectividad de los fármacos para combatir las células cancerosas con respecto a las de los tejidos normales, es determinada por la velocidad de síntesis de DNA y la división celular. Las células estacionarias, que están en fase G₀, son resistentes a muchos fármacos antineoplásicos. Algunos fármacos antineoplásicos, tales como los antimetabolitos, trabajan efectivamente sólo cuando las células están en la fase apropiada del ciclo celular, al tiempo de tratamiento con el fármaco. Otros fármacos, tal es como los agentes alquilantes, nitrosoureas y cisplatino, tienen acción sobre el DNA, éste no es crítico cuando la célula es expuesta, por que el efecto del fármaco llega a ser evidente cuando las células intentan sufrir división.^{12a} (**figura 3**)

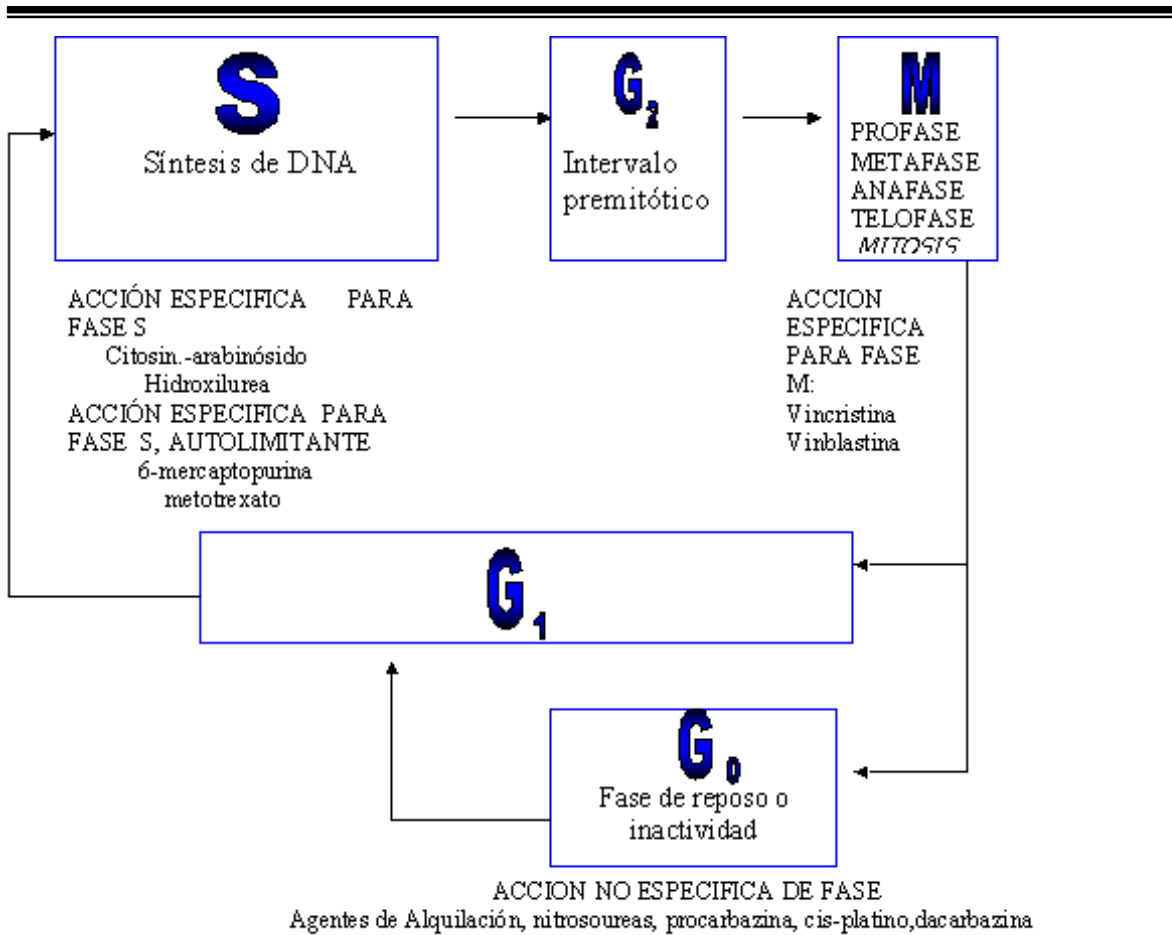


Figura 3.Efecto antitumoral de los fármacos en el ciclo celular.

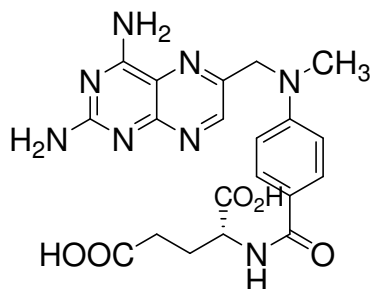
2. 2 CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTICANCERÍGENOS

De acuerdo con su modo de acción, los fármacos que ayudan a curar el cáncer, se pueden clasificar de la siguiente manera:

2.2.1 Antimetabolitos.

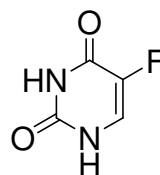
Los antimetabolitos, como su nombre lo indica, son compuestos estructuralmente similares a los metabolitos y por eso las células los procesan de una manera similar a ellos, provocando que los productos no sean los adecuados para que las células crezcan y se reproduzcan. Existen varios blancos celulares para los antimetabolitos, por ejemplo los antifolatos interfieren en varios puntos del metabolismo del ácido fólico, el cual provee la unidad de un carbono requerida para convertir el monofosfato de desoxiuridina a ácido timidílico, posteriormente utilizado para la síntesis de las pirimidinas. Estos fármacos también son intermediarios clave en el bloqueo de la síntesis de purinas,

el metotrexate (**9**) es un ejemplo de antifolato. El 5-fluorouracilo (**10**) y el Citosin-arabinósido (**11**) son análogos de la pirimidina. El 5-fluorouracilo es metabolizado en las células a un compuesto tal que inhibe el funcionamiento de la timidil-sintetasa; el citosin-arabinósido se incorpora a la cadena de ADN, inhibiendo la acción de la ADN polimerasa y de esta manera evita su síntesis.^{12b}



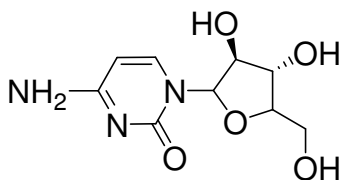
Metotrexate

9



5-Fluorouracilo

10



Citosin Arabinósido

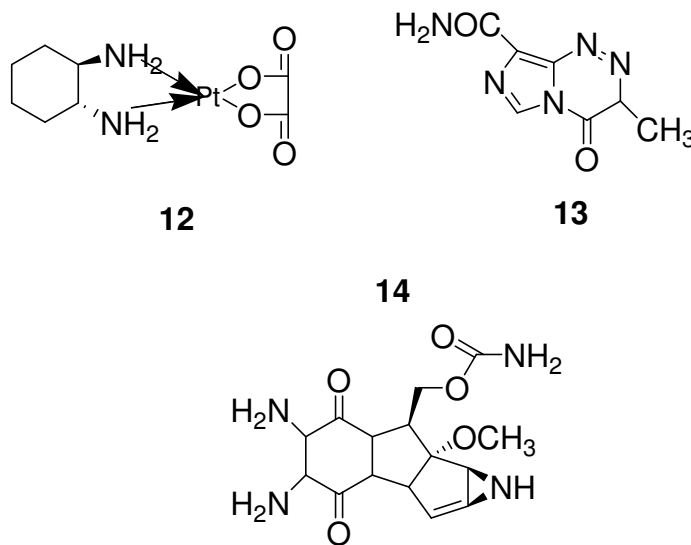
11

2.2.2 Agentes Alquilantes

Los agentes alquilantes son compuestos altamente electrofílicos que reaccionan con nucleófilos en la célula para formar enlaces covalentes, lo que representa un proceso irreversible bajo condiciones fisiológicas. Su modo de acción se basa en una sustitución nucleofílica unimolecular (S_N1) que resulta en la formación de un carbocatión inestable, mismo que rápidamente se colapsará (alquilará) con un centro nucleofílico apropiado, rico en electrones. En particular, los efectos quimioterapéuticos y citotóxicos están directamente relacionados con la alquilación del átomo de nitrógeno 7 de la guanina, aunque otros grupos funcionales también son alquilados.

La formación de un enlace covalente con nucleófilos puede resultar en mutagénesis, pero la formación de dos enlaces a través de entrecruzamiento, puede producir citotoxicidad. Los agentes

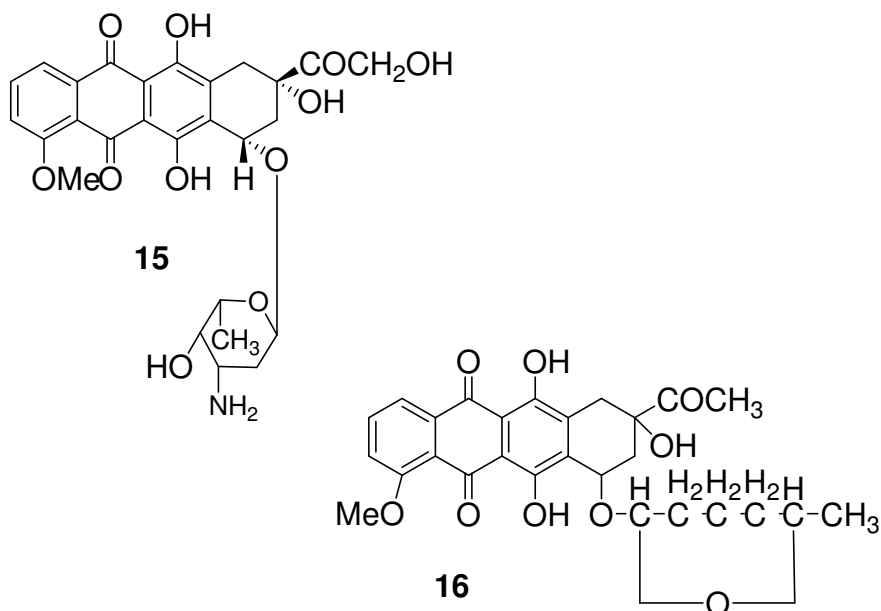
alquilantes bifuncionales (aquellos que contienen dos cadenas laterales reactivas) pueden llevar a cabo una siguiente alquilación de la segunda cadena lateral y formar un nuevo enlace covalente con otro grupo nucleofílico, inhibiendo así la síntesis del ADN. Estos agentes bifuncionales también inhiben el ARN y la síntesis de proteínas, sobretodo en dosis altas.¹³ Los compuestos **12**, **13**, **14** son ejemplo de estos fármacos.



2.2.3 Agentes Intercalantes

Los agentes intercalantes son compuestos capaces de acomplejar el ADN interponiéndose entre las capas de pares de bases de ácidos nucleicos que se encuentran empacadas una encima de otra, interfiriendo así en la forma de la doble hélice por medio de un mecanismo de interposición llamado intercalación. Dicha interferencia previene la replicación y transcripción del ADN. Las drogas que actúan de este modo deben de ser planas para poder deslizarse de una forma horizontal entre los pares de bases y por lo tanto muchas de ellas son de naturaleza aromática o heteroaromática. Las interacciones que se presentan entre las bases púricas y pirimídicas y las porciones planas aromáticas de la molécula intrusa son diversas, presentando interacciones de Van der Waals, puentes de hidrógeno, transferencia de carga, etcétera.

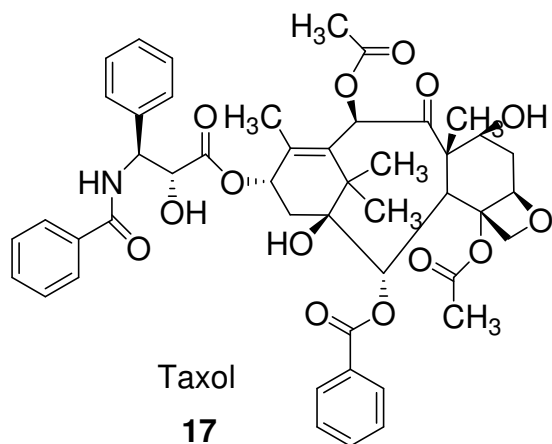
Los derivados de antraciclina como la Doxorubicina **15** y la Daunorrubicina **16** son agentes intercalantes que muestran actividad contra una amplia variedad de neoplasias humanas.¹⁴



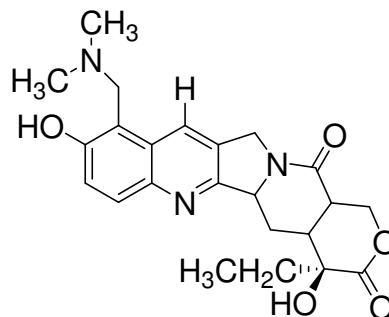
2.2.4 Inhibidores Mitóticos

Existen compuestos que inhiben la fase mitótica del ciclo celular y por esto son de gran utilidad en el tratamiento de cáncer. Durante la mitosis, el ADN de la célula es replicado y luego dividido en dos células nuevas. El proceso de separar los cromosomas, que acaban de ser replicados en dos células hijas, necesita de las fibras de huso. Estas fibras están constituidas de microtúbulos del huso que se unen a los cromosomas replicados y jalan una copia para cada lado de la célula en división. Sin fibras del huso funcionales, la célula no puede dividirse y se muere. Los agentes inhibidores del huso funcionan de una manera dependiente del ciclo celular, parando la división durante la mitosis temprana.

Los microtúbulos que forman las fibras del huso, están constituidos por cadenas largas de subunidades más pequeñas de proteínas llamadas tubulinas. Ciertos inhibidores del huso se unen a los monómeros de tubulina y detienen la formación de los microtúbulos, lo que provoca que los cromosomas no puedan moverse durante la mitosis. Ejemplo de esta clase de compuestos es el taxol **17** y topotecan **18**.



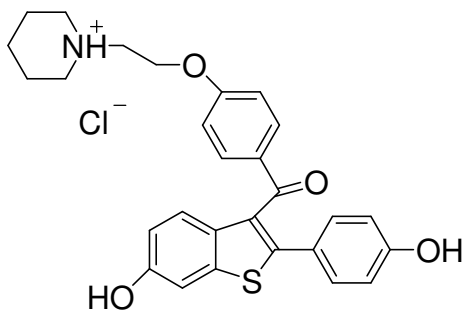
Taxol
17



Topotecan
18

2.2.5 Agentes Hormonales

Todas las células responden a señales enviadas por otras células. Una de las formas principales por la cual las células se comunican a través de las hormonas. Las hormonas pueden ser proteínas pequeñas (por ejemplo, la insulina) o pueden ser derivados de los esteroides (como la androsterona). La célula que envía señales produce las hormonas, las cuales son absorbidas por la célula objetivo, modificando el comportamiento de esta última. Las hormonas pueden hacer que una célula produzca las proteínas previstas o pueden detener la fabricación normal de productos. Las células cancerosas, aunque anormales, retienen la habilidad de responder a las señales hormonales. Un método muy útil de tratamiento consiste en quitarle al proceso maligno la fuente de estas hormonas; por ejemplo la inhibición de la biosíntesis de alguna hormona. Los tratamientos hormonales descritos son varias veces combinados con cirugía, radiación y/o quimioterapia. En estas situaciones, los tratamientos hormonales son referidos como un tratamiento adyuvante.¹⁵ El raloxifen **19** es un ejemplo de un compuesto anticancerígeno hormonal.

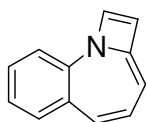


19

2.3. AZETOBENZAZEPINAS

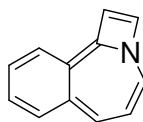
Las azetobenzazepinas son compuestos heterocíclicos conformados por la fusión de un anillo benzazepínico y otro azetidínico. Los posibles isómeros que se generan por efecto de la fusión se muestran a continuación¹⁶: (Esquema 1)

Esquema 1



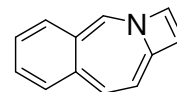
azeto[1,2-a][1]benzazepina

20



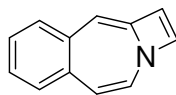
azeto[2,1-a][2]benzazepina

21



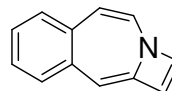
azeto[1,2-b][2]benzazepina

22



azeto[2,1-b][3]benzazepina

23



azeto[1,2-c][3]benzazepina

24

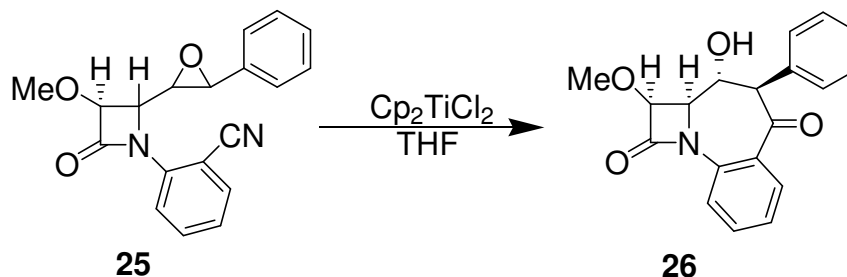
La síntesis informada de estos compuestos es escasa y se puede agrupar en:

1. Síntesis a partir de la azetidina
2. Síntesis a partir de la benzazepina

1. Síntesis a partir de la azetidionona

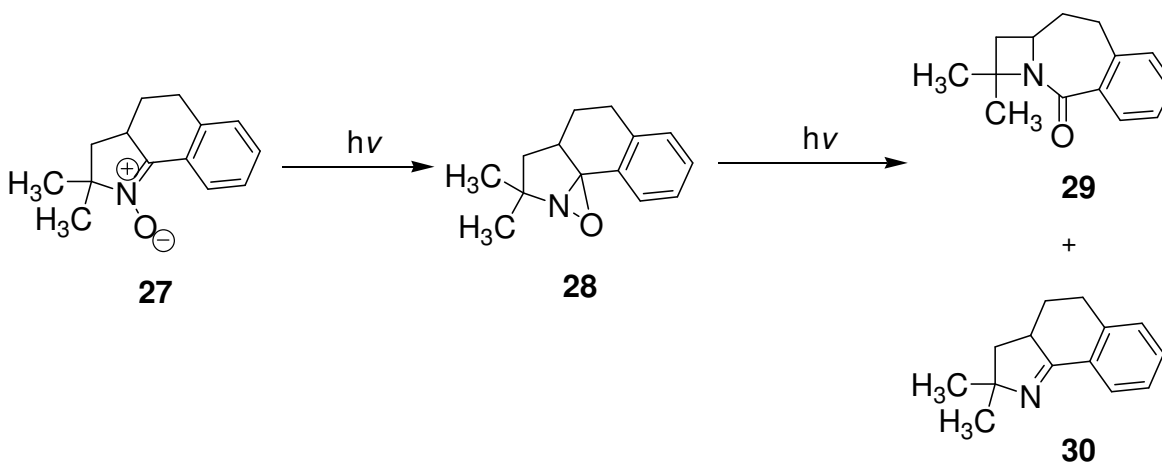
A partir de la epoxilactama (**25**) con monocloruro de titanoceno; en donde el monocloruro es una solución verde en THF el cual es generado *in situ* a partir de Cp_2TiCl_2 y Zn^0 , se adiciona a una solución de THF con el epóxido; procede a dar a la ciclación del producto que es la homobenzocarbazepina (**26**).¹⁷(Esquema 2)

Esquema 2



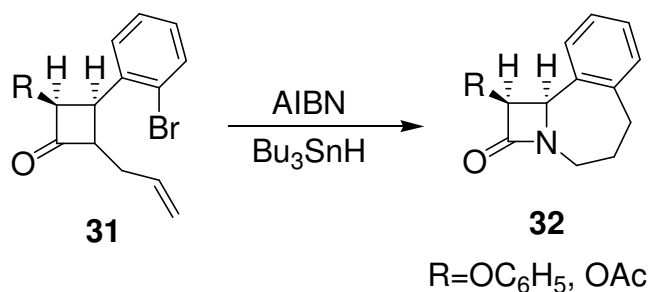
Por otra parte, para la formación de las azetobenzazepinas es utilizada, por ejemplo, la irradiación de la nitrona **27** durante 3h que produce la oxaziridina **28**; si se prolonga la irradiación de dicha nitrona **27** durante 19h se produce una mezcla de la tetrahidro azetobenzazepina **29** y la imina **30**.¹⁸(Esquema 3)

Esquema 3



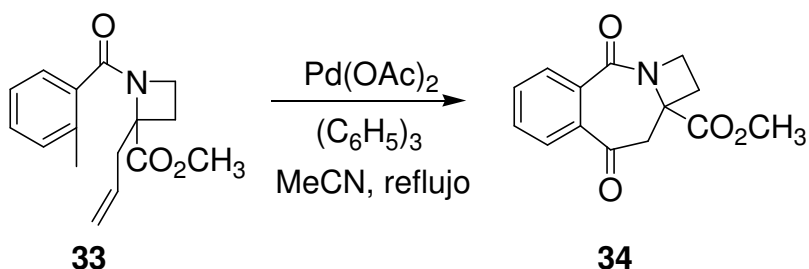
Otro método es la ciclación intramolecular por radicales libres, del sustrato **31** en presencia de AIBN (azo-bis-isobutironitrilo) e hidruro de tributilestaño en benceno como disolvente para dar el compuesto tricíclico **32**.¹⁹ (Esquema 4)

Esquema 4



También para la elaboración de las azetobenzazepinas se ha descrito la reacción de Heck, la cual consiste en que la azetidina **33** es ciclada utilizando acetato de paladio, produciendo el compuesto **34** con rendimientos excelentes.²⁰ (Esquema 5)

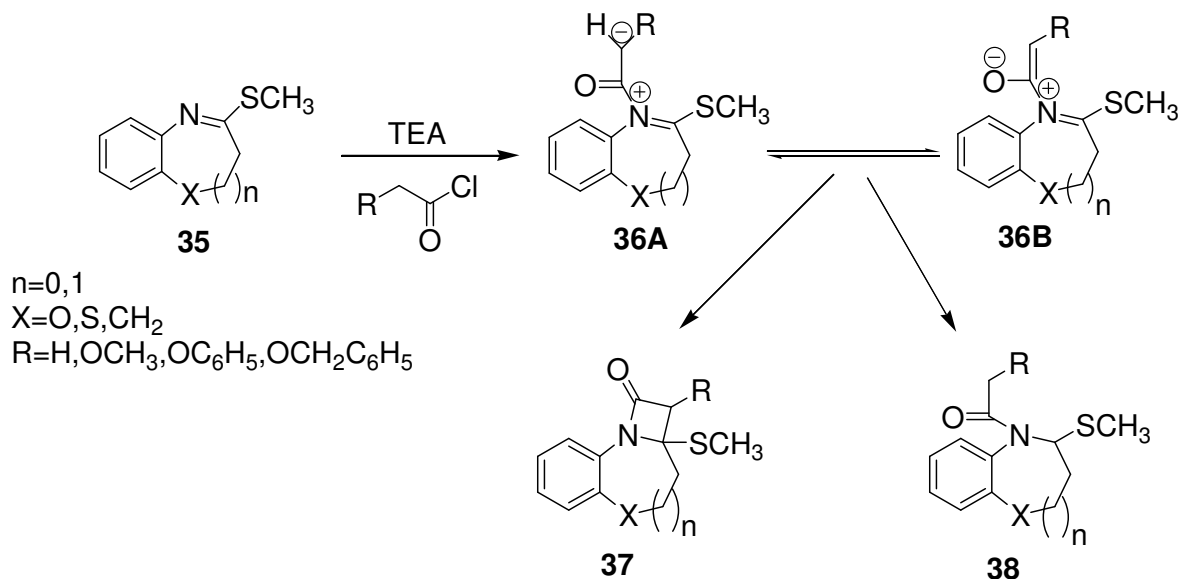
Esquema 5



2. Síntesis a partir de la benzazepina

Las reacciones cetenas-imina de los bicíclicos de los metiltioamidas para formar un triciclo azeto-anelado se pueden realizar por una cicloadición [2+2]. Un ejemplo; es a partir del cloruro de acilo sustituido con aceptores de electrones que se forman varias cetenas *in situ* bajo condiciones básicas, como la trietilamina, la cual se hace reaccionar con metiltioamidas benzoanelados (**35**) para obtener los intermediarios **36A** y **36B**; estos intermediarios son después estabilizados por ciclación para dar lugar a la β -lactama correspondiente a **37** y el derivado N-acilado (**38**).²¹ (Esquema 6)

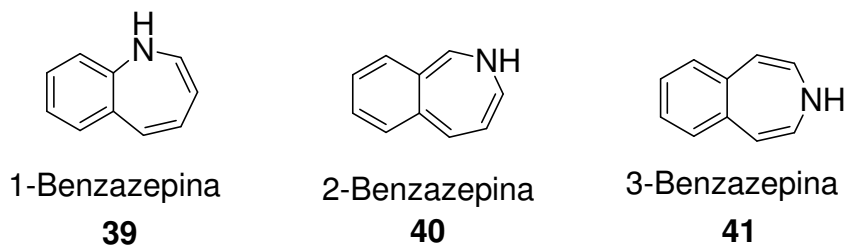
Esquema 6



2.4 Benzazepinas

Las benzazepinas son compuestos heterocíclicos constituidos por la fusión de un anillo azepínico y otro bencénico. La posición relativa del nitrógeno en esta molécula puede generar tres estructuras isoméricas (Esquema 7).²²

Esquema 7

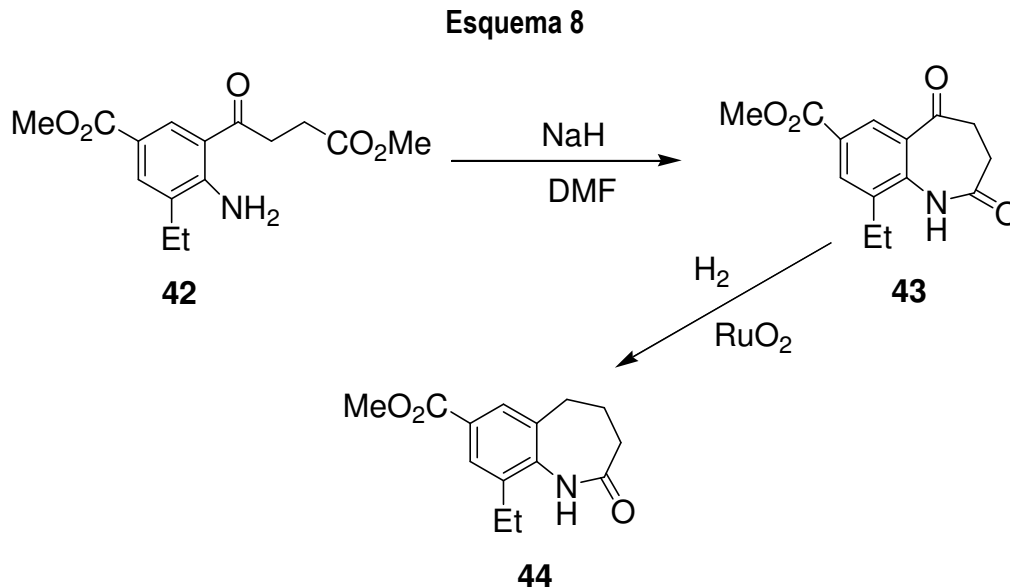


Este tipo de compuestos y sus derivados presentan una gran diversidad de actividades farmacológicas, tales como la analgesia²³, la antidepresión,²⁴ antifibrilante,²⁵ antihipertensiva,²⁶ y antineoplásica²⁷, lo que ha motivado la investigación relacionada con los métodos sintéticos para su obtención. Los principales métodos de obtención de benzazepinas se pueden agrupar en: a) Cierre

de anillo tipo C-N; b) Cierre del anillo tipo C-C; c) Reordenamiento de Beckmann; d) Reordenamiento de Schmidt.

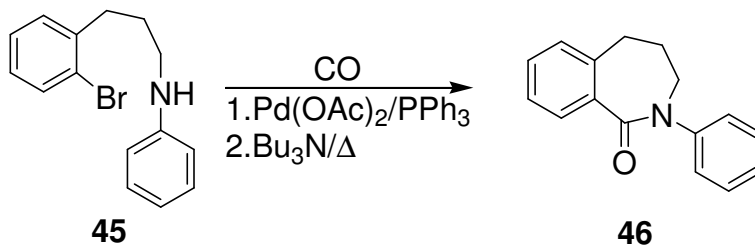
a) Cierre Del Anillo Tipo C-N

El cierre del anillo mediante la formación de un enlace carbono-nitrógeno se lleva a cabo utilizando ácidos carboxílicos, di-carboxílicos, amino carboxílicos, y dinitrilos como materia de partida. Por ejemplo, la ciclación de la anilina 2, 4, 6-trisustituida **42** con hidruro de sodio, en dimetilformamida, produce el compuesto benzazepinona **43**. La posterior hidrogenación de éste con un catalizador de rutenio da la tetrahidro 1-Benzazepinona **44** (Esquema 8).²⁸



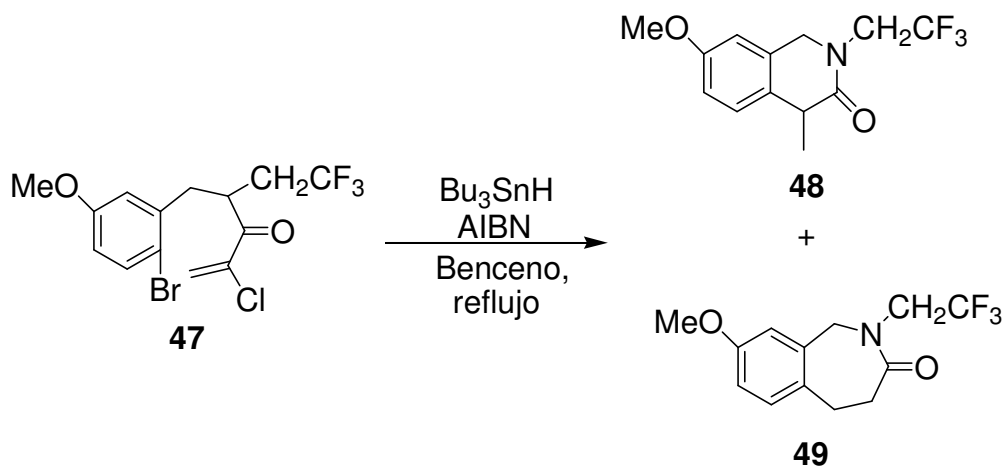
También la amidación de orto-bromoaminoalquil bencenos **45**, catalizada con acetato de paladio y trifenilfosfina, bajo atmósfera de monóxido de carbono y posterior tratamiento con tributilamina, se puede ubicar dentro de la mencionada metodología y sirve para preparar la tetrahidro benzazepinona **46** (Esquema 9).²⁹

Esquema 9



Otra técnica es la ciclación por radicales libres que implica que el compuesto **47** en presencia de Bu_3SnH (Hidruro de tributil estaño) y AIBN (azo-bis-isobutironitrilo) en benceno como disolvente, de una mezcla de compuestos **48** y **49**, en el que la tetrahidro 2-benzazepin-3-ona **49** es el producto mayoritario.³⁰(Esquema 10)

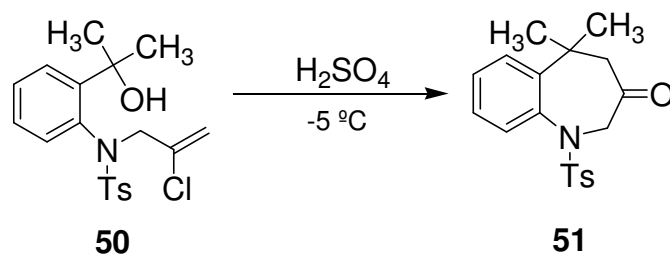
Esquema 10



b) Cierre Del Anillo Tipo C-C

La formación de un enlace carbono-carbono, para la síntesis de anillos de 7 miembros, es otra técnica para la generación de benzazepinas. Por ejemplo la ciclación del alcohol terciario **50**, con ácido sulfúrico, a baja temperatura, produce la tetrahidro 1-benzazepin-3-ona **51** (Esquema 11).³¹

Esquema 11

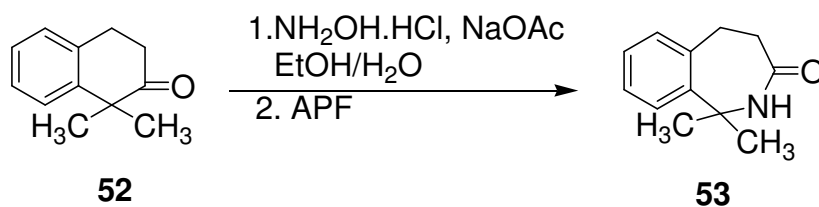


Reordenamientos

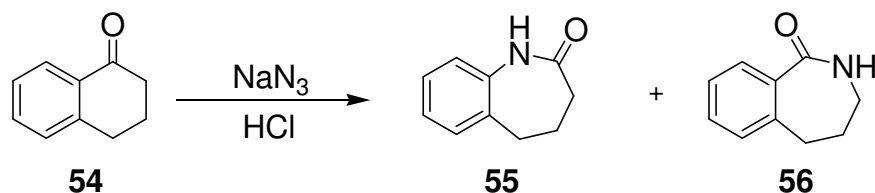
La manera más común y eficiente de sintetizar benzazepinas es utilizar las reacciones de reordenamiento de Beckmann³² y Schmidt,³³ utilizando las tetralonas **52** y **54** como materia prima, generando las tetrahydro benzazepinonas **53**, **55** y **56** (Esquema 12).

Esquema 12

c) Reordenamiento de Beckmann



d) Reordenamiento de Schmidt

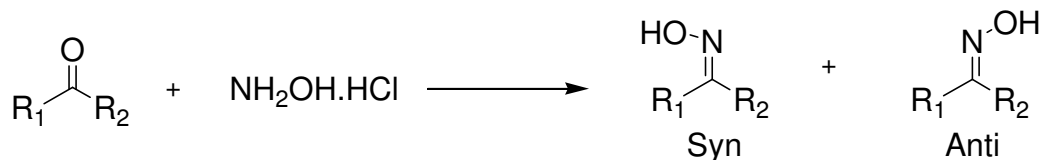


2.5 Métodos Sintéticos

2.5.1 Oximas

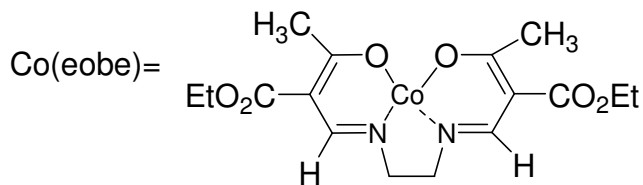
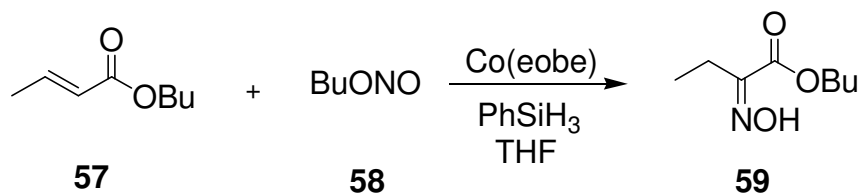
Las oximas son compuestos que presentan el grupo funcional **C=N-OH**, y se sintetizan por la condensación de un aldehído o de una cetona con la hidroxilamina (NH_2OH).³⁴ Estos compuestos son de gran interés en química orgánica debido a que sirven como protectores para grupos carbonilo y como intermediarios para el reordenamiento de Beckmann. Los productos que se forman pueden tener la configuración diastereomérica *syn* o *anti*³⁵. (Esquema 13).

Esquema 13



Otra forma de obtener oximas es utilizar crotonato de butilo **57** con nitrito de butilo **58** y fenilsilano, en presencia de un catalizador como el N,N'-bis(2-etoxicarbonil-3-oxobutilideno)etilendiaminato de cobalto (II) para dar la oxima **59** con buenos rendimientos (Esquema 14).³⁶

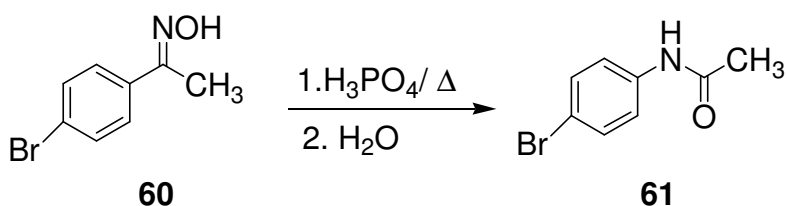
Esquema 14



2.5.2 Reordenamiento de Beckmann

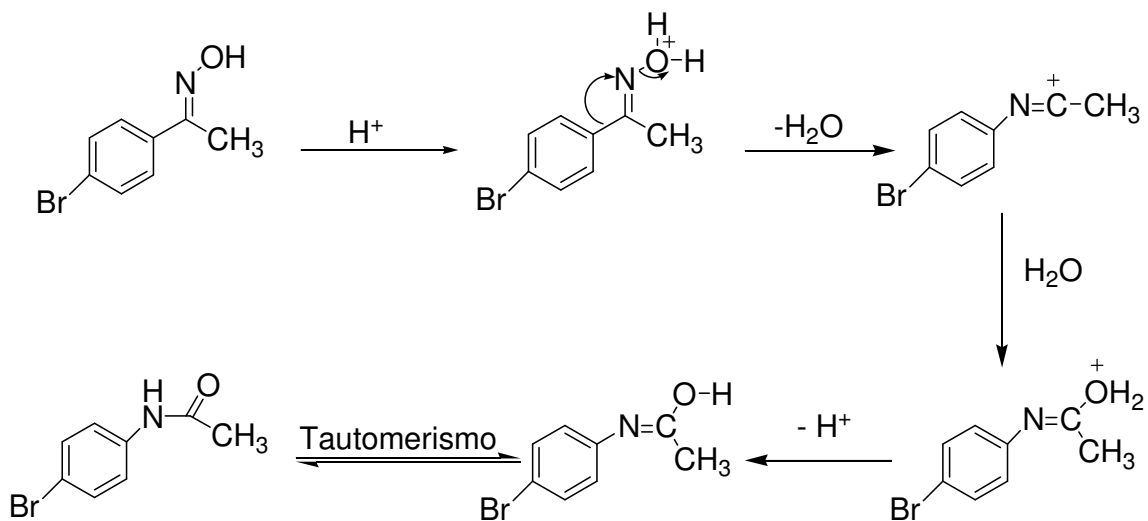
El reordenamiento de oximas a amidas N-sustituidas, bajo la influencia de una variedad de ácidos de Lewis, es conocido como el reordenamiento de Beckmann.³⁷ Los ácidos comúnmente utilizados son: pentacloruro de fósforo, ácido sulfúrico concentrado, ácido fosfórico, ácido fórmico, cloruro de tionilo y sílice. Un ejemplo de esta reacción es la transformación de la 4-bromofenil-metil-cetoxima **60**, en presencia de ácido fosfórico, con la que se obtiene la *p*-bromo-acetanilida **61** (Esquema 15).

Esquema 15



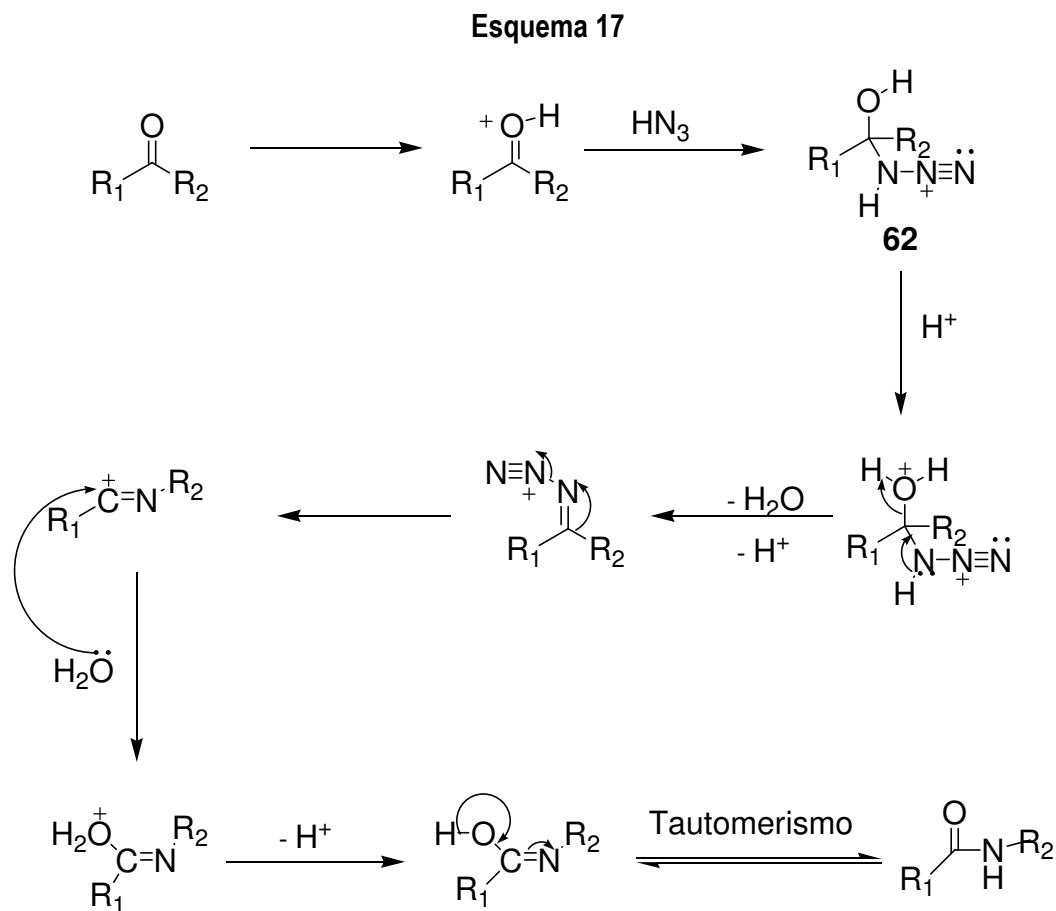
En el reordenamiento de Beckmann el grupo que generalmente migra es el que se encuentra anti al grupo hidroxilo de la oxima. Sin embargo, la isomerización syn-anti bajo las condiciones ácidas del reordenamiento produce la mezcla de amidas isoméricas. Las cetoximas no son buenos sustratos para el reordenamiento de Beckmann y por lo tanto los rendimientos de las amidas formadas son bajos (Esquema 16).³⁸

Esquema 16



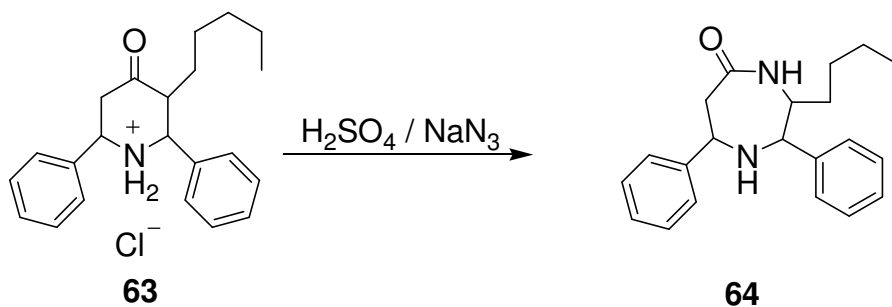
2.5.3 Reordenamiento de Schmidt

La reacción del ácido hidrazoico, generado "in situ" a partir de la azida de sodio y ácido sulfúrico, con aldehídos y cetonas para dar amidas, se conoce con el nombre de reordenamiento de Schmidt. El mecanismo de reacción consiste en la formación del intermediario azido **62**, por la adición del HN_3 al grupo carbonilo y la posterior migración de uno de los sustituyentes unidos a la cetona (Esquema 17).³⁹



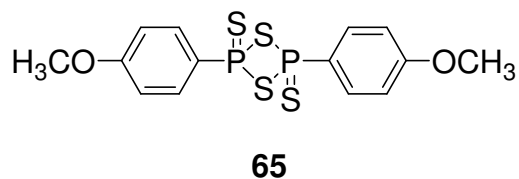
Por ejemplo el reordenamiento de Schmidt del clorhidrato de piperidinona **63**, produce únicamente el isómero **64**. Los rendimientos varían, dependiendo de el orden de adición de los reactivos, la temperatura y el modo de neutralizar la mezcla de reacción.⁴⁰ (Esquema 18)

Esquema 18



2.5.4 TIOAMIDAS

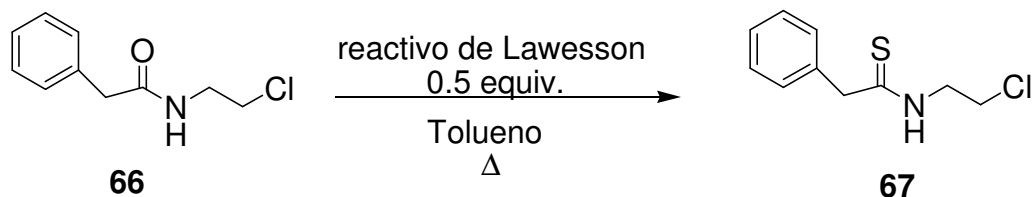
La transformación del grupo carbonilo de una amida a tiocarbonilo se puede llevar a cabo utilizando una gran diversidad de reactivos, entre los que destacan: P_2S_5 ,⁴¹ H_2S ,⁴² $\text{R}_3\text{OBF}_4/\text{NaSH}$,⁴³ R_2PSX ,⁴⁴ $(\text{Et}_2\text{Al})_2\text{S}$.⁴⁵ El principal problema que tiene su uso es que requieren de tiempos largos de reacción y temperaturas altas. Investigaciones recientes han determinado que el reactivo de Lawesson **65** (2,4-bis(p-metoxifenil)-1,3-ditiadifosfoetano-2,4-disulfuro) es un reactivo mejor que los anteriores para la conversión de una gran variedad de compuestos carbonílicos a tiocarbonílicos.



El reactivo de Lawesson es preparado fácilmente por la reacción de P_2S_5 con anisol, a reflujo, ya que reacciona en proporciones equimolares con una amplia gama de compuestos carbonílicos, además de que la purificación de la mezcla de reacción es sencilla.⁴⁶

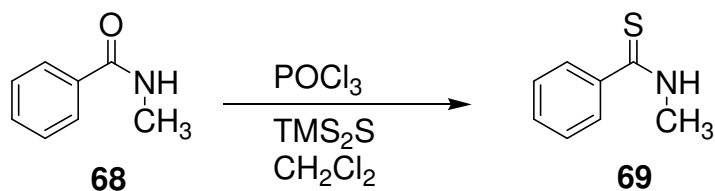
La reacción de las N-(ω -halogenoalquil) amidas, por ejemplo **66**, con el reactivo de Lawesson, da la tioamida **67**, con buen rendimiento⁴⁷ (Esquema 19).

Esquema 19



Otro buen método para la conversión de amidas a tioamidas es utilizar el hexametildisilazano (TMS_2S). El tratamiento del compuesto **68** con este reactivo produjo la tioamida **69**, con excelentes rendimientos.⁴⁸(Esquema 20).

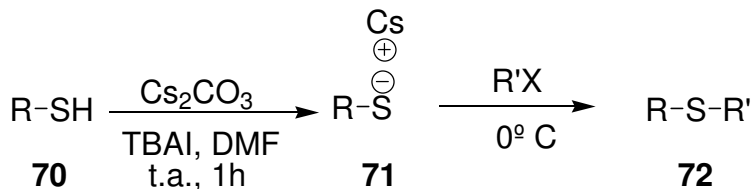
Esquema 20



2.5.5 S-ALQUILACIÓN

Los tioéteres son los análogos azufrados de los éteres. Existen numerosos métodos sintéticos para la preparación de tioéteres; el método clásico es la condensación de una sal alquímica o tiolato de arilo con un halogenuro de alquilo y con una base fuerte. Por ejemplo, la síntesis del tioéter **72** se realiza por la alquilación del anión tiolato **71** generado *in situ*, el cual se prepara a partir del tío **70** con carbonato de cesio (Cs_2CO_3), yoduro de tetrabutilamonio (TBAI) en dimetilformamida (DMF) en la presencia de un halogenuro de alquilo.⁴⁹ (Esquema 21).

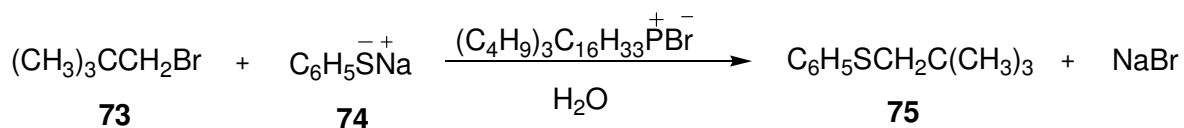
Esquema 21



R=alquilo, arilo, alquilarilo
R'=alquilo

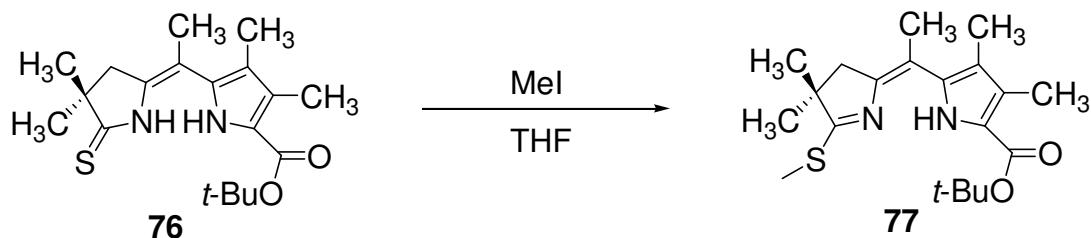
En ocasiones se utilizan catalizadores de transferencia, como en el siguiente ejemplo, para obtener mejor rendimiento .⁵⁰ (Esquema 22)

Esquema 22



La alquilación de tioamidas es otro método para la obtención de tioéteres. Por ejemplo la alquilación de **76** con ioduro de metilo produce el tioimidato **77**. (Esquema 23) ⁵¹

Esquema 23

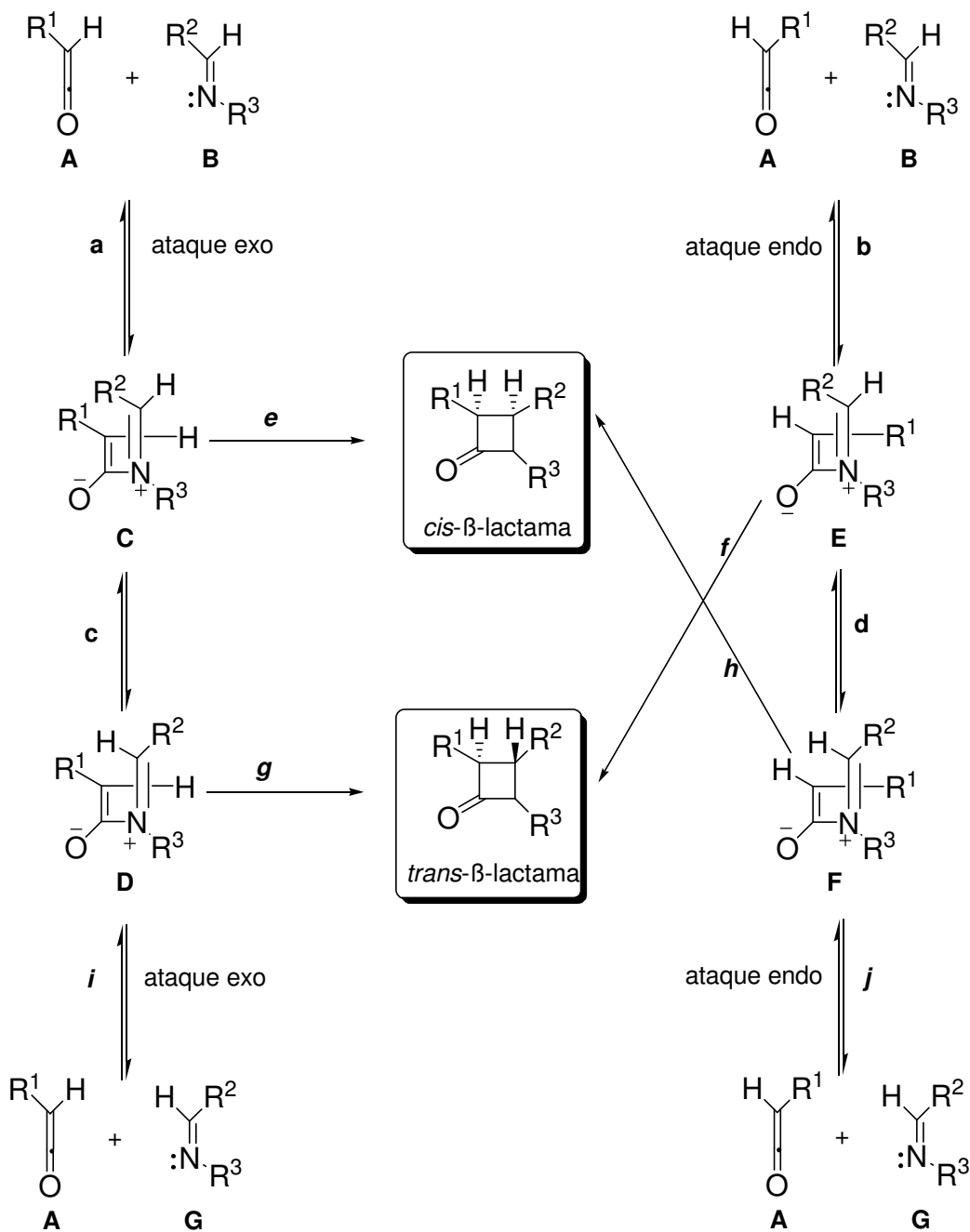


2.5.6 FORMACIÓN DE 2-AZETIDINONAS (β -LACTAMAS)

Desde el descubrimiento de la penicilina, estos tipos de compuestos han tenido como base a la 2-azetidinona las cuales han sido una de las principales clases de fármacos utilizados para el tratamiento de infecciones bacteriales. El núcleo de azetidin-2-ona, amida cíclica de cuatro miembros, ha sido reconocido como la parte central de los antibióticos β -lactámicos. El incremento de resistencia de bacterias por la utilización de antibióticos β -lactámicos y el reciente descubrimiento de algunas azetidin-2-onas, exhiben un amplio rango de actividad enzimática-inhibitoria, así como el hecho de que algunas β -lactamas también han mostrado actividad anticancerosa,⁵² ha propiciado el desarrollo de numerosos métodos para la preparación de β -lactamas, tales como: la cicloadición de una imino-cetena, la condensación de un imino-enolato y un éster organometálico, la cicloadición de un alqueno-isocianato y la cicloadición de una alquino-nitrona.⁵³

Entre estos, la reacción de Staudinger entre iminas y cetenas, ha sido uno de los métodos más utilizados para la síntesis de β -lactamas y otros valiosos compuestos de interés biológico.⁵⁴ La estereoselectividad de la reacción de Staudinger es una de las cuestiones críticas de la misma, ya que puede producir la mezcla de los estereoisómero *cis* y *trans*. (Esquema 24)

Esquema 24

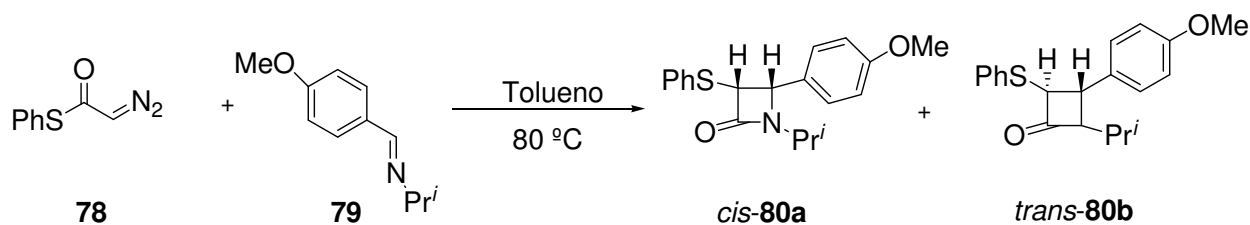


Sin embargo, la ruta para la formación de *cis*- y *trans*- β -lactamas no ha sido bien entendida hasta la fecha. En previas investigaciones se han propuesto muchos procesos estereoquímicos posibles, como se muestra en el Esquema 24, pero cada uno sólo se refiere a la reacción de Staudinger

involucrando una cetena o imina en particular, lo cual falla para proporcionar una explicación universal para poder explicar el resultado estereoquímico observado, el cual es complicado.⁵⁵

La reacción de Staudinger es un paso de reacción que involucra un ataque nucleofílico de una imina a una cetena, dando el intermediario ión dipolar y el subsiguiente cierre del anillo del intermediario ión dipolar, produciendo la β-lactama. Un ejemplo, es la reacción de la *S*-fenil 2-diazo-etanotioato (**78**) con la *N*-isopropilimina (**79**) en presencia de tolueno a 80°C para dar la mezcla de las β-lactamas (**80**). (Esquema 25)

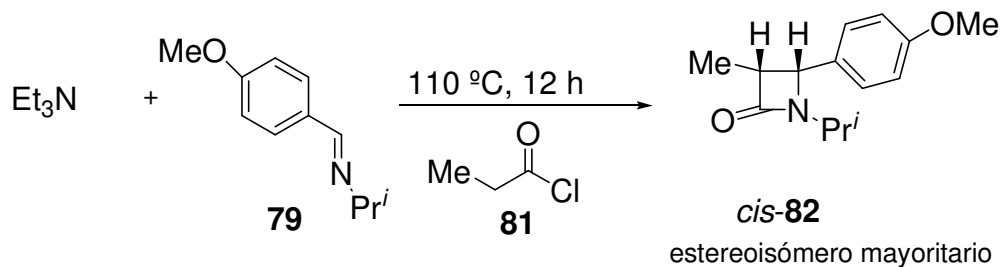
Esquema 25



Muchos experimentos se ha demostrado que un factor determinante en la estereoselectividad de la reacción, es la influencia de los disolventes. Se ha observado que los disolventes no polares no pueden estabilizar al intermediario ión dipolar, facilitando el cierre directo del anillo, formando productos *cis* y que los disolventes polares pueden estabilizar a los intermediarios e incrementar el tiempo de vida media, favoreciendo la isomeración de la imina para generar productos *trans*.

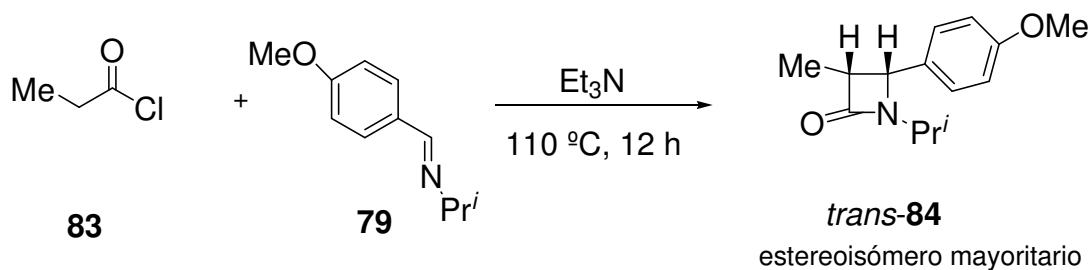
En la literatura, se han informado dos modos diferentes de adición en la reacción de Staudinger entre una imina y un cloruro de acilo (**81**). El primero es cuando el cloruro de acilo es adicionado gota a gota sobre una solución de imina y una amina terciaria, en el cual se obtiene la *cis*-β-lactama (**82**) es el producto mayoritario o exclusivo estereoisómero. (Esquema 26)

Esquema 26



En contraste con el primer modo de adición, la amina terciaria es adicionada gota a gota sobre una mezcla de la imina y el cloruro de acilo, donde el producto mayoritario es la *trans*- β -lactama (**84**) o estereoisómero exclusivo. (Esquema 27)

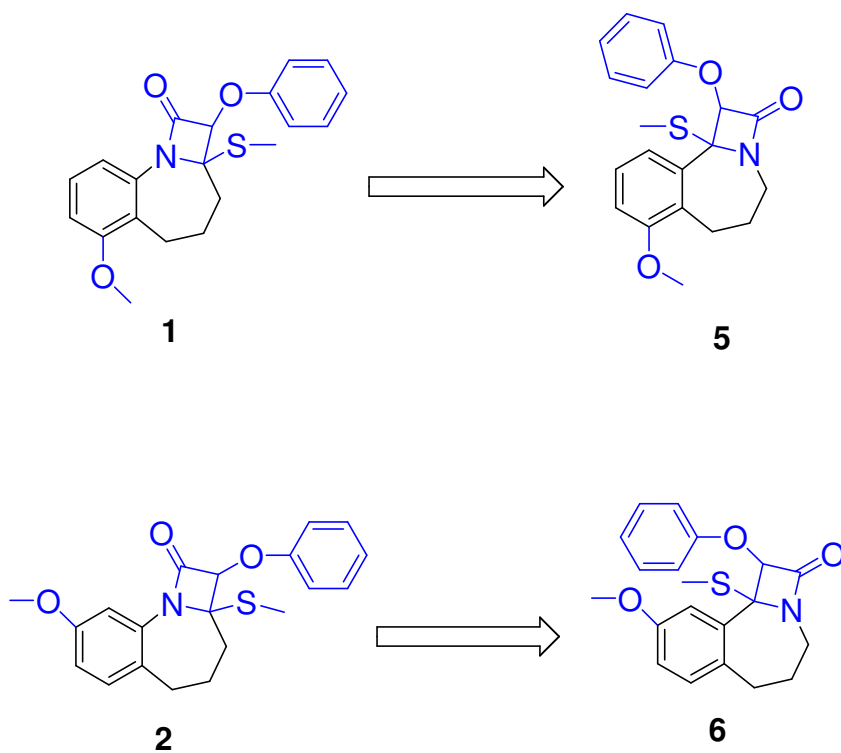
Esquema 27



En resumen, el resultado estereoquímico de la reacción de Staudinger depende de la configuración de la imina, del tipo de disolvente y la secuencia de adición de los reactivos.⁵⁶

3.- HIPÓTESIS

La modificación de la fusión del anillo de azetidiona y la posición del grupo metoxilo de los compuestos **1** y **2**, generando **5** y **6**, alterará su actividad citotóxica.

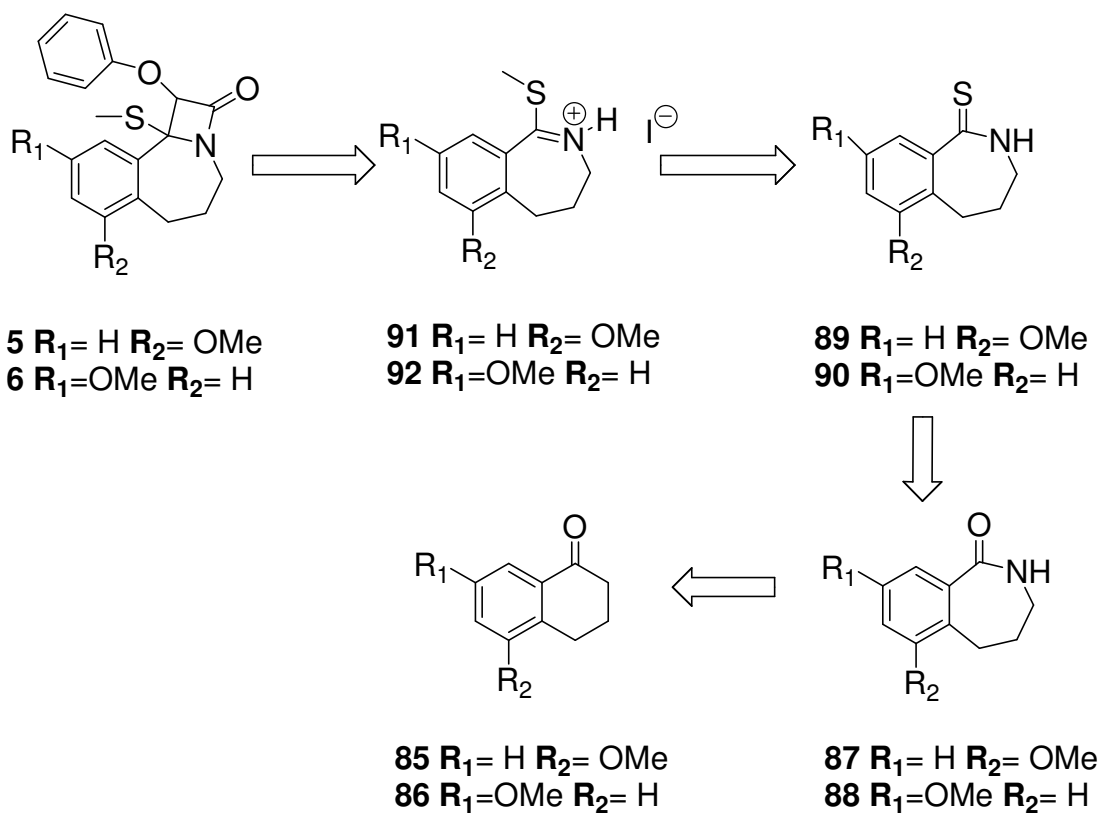


4.-OBJETIVOS:

- Síntesis de los compuestos **5** y **6**, y evaluación de su actividad citotóxica.

OBJETIVOS PARTICULARES:

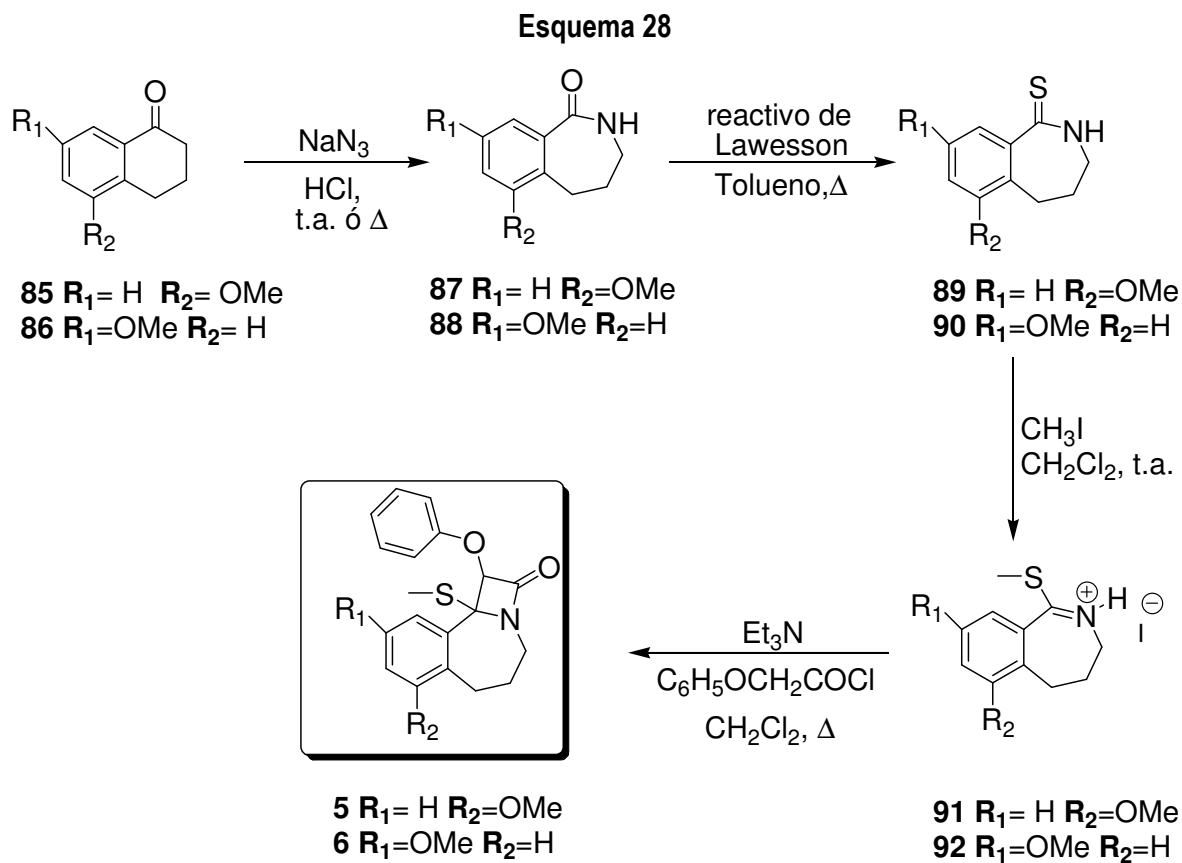
- Preparación de los precursores **91** y **92**, siguiendo la ruta sintética del Esquema 28.
- Caracterización de los intermediarios y productos finales a través de Espectroscopia IR, RMN ^1H y ^{13}C , Difracción de Rayos X y Espectrometría de masas.
- Evaluación citotóxica de **5** y **6**, en las líneas celulares: PC-3 (Cáncer de próstata), U-251 (Glioblastoma: Sistema Nervioso Central), K-562 (Leucemia), HCT-15 (Cáncer de Colón) y MCF-7 (Cáncer de mama).



5.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

5.1.-PARTE SINTÉTICA

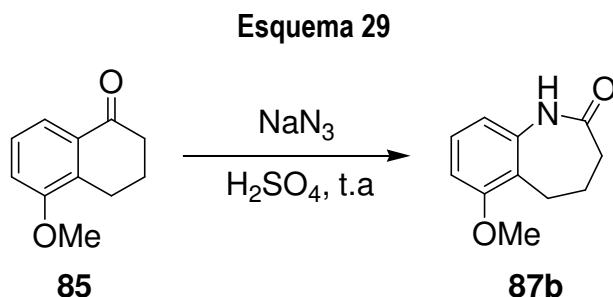
En el esquema 28 se muestra la secuencia de reacciones que se utilizaron para la obtención de las azetobenzazepinonas **5** y **6**.



5.1.1 OBTENCIÓN DEL ANILLO DE LAS BENZAZEPINONAS **87** Y **88**.

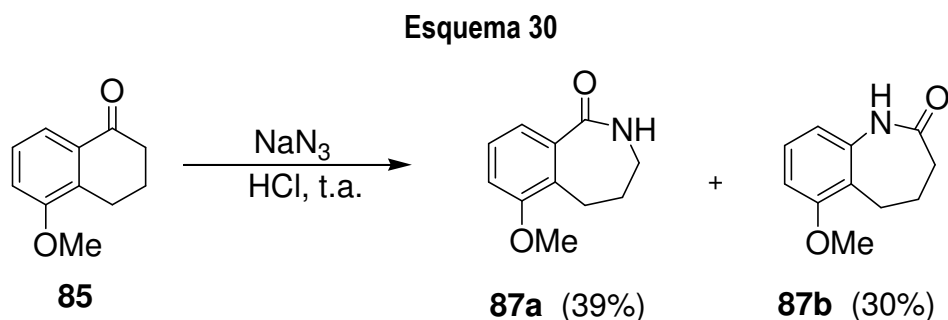
La obtención del anillo de la benzazepinona se llevó a cabo a través del método de expansión de anillo a partir de una tetralona. Inicialmente se intentó la expansión del anillo de la tetralona **85** a través de microondas. Así, la tetralona **85** se mezcló con 2 equivalentes de NaN_3 en presencia de una cantidad catalítica de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{SiO}_2$ y se introdujo en el microondas (300 Watts). Después de 20 segundos, la mezcla de reacción se proyectó totalmente del matraz de reacción. De esta prueba no se pudo obtener algún resultado positivo.

Debido a este resultado, se decidió cambiar la metodología de microondas por las condiciones de la reacción de Schmidt, la cual involucra el uso del ácido hidrazóico, en presencia de ácido sulfúrico concentrado. Así, la tetralona **85** se hizo reaccionar con el ácido hidrazóico, generado *in situ* a partir de ácido sulfúrico y 2 equivalentes de azida de sodio, dando el isómero **87b** como único producto, sin embargo, éste no es el compuesto deseado. (Esquema 29)



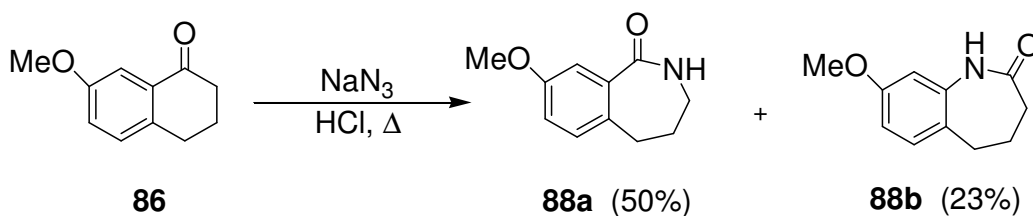
Con base al resultado anterior, se decidió cambiar el ácido sulfúrico por ácido clorhídrico con el propósito de obtener el compuesto **87a** deseado.

De esta manera, la 5-metoxi-1-tetralona (**85**) se hizo reaccionar a temperatura ambiente con ácido hidrazóico formado *in situ* a partir de ácido clorhídrico y 2 equivalentes de azida de sodio, para obtener una mezcla de 1.2:1 de dos isómeros **87a** y **87b** en un 69% de rendimiento total (Esquema 30), correspondiente a las benzazepinonas isoméricas, los cuales se separaron por cromatografía ultrarrápida, donde el producto mayoritario es el **87a** como se muestra en la tabla 1.



Por otra parte, la 7-metoxi-1-tetralona (**86**) se hizo reaccionar con ácido hidrazóico formado *in situ* a partir de ácido clorhídrico con 2 equivalentes de azida de sodio; en donde se obtuvo una mezcla 2:1 de dos compuestos: **88a** y **88b**, que corresponden a los isómeros de las benzazepinonas en un 73 % de rendimiento total (Esquema 31). Al igual que en el caso de la otra benzazepinona, los isómeros se separaron por cromatografía ultrarrápida en columna, en donde el producto mayoritario fue el isómero **88a** como se muestra en la tabla 1.

Esquema 31



La formación de los dos isómeros se puede explicar mediante el mecanismo de reacción que se muestra en el esquema 32

Esquema 32

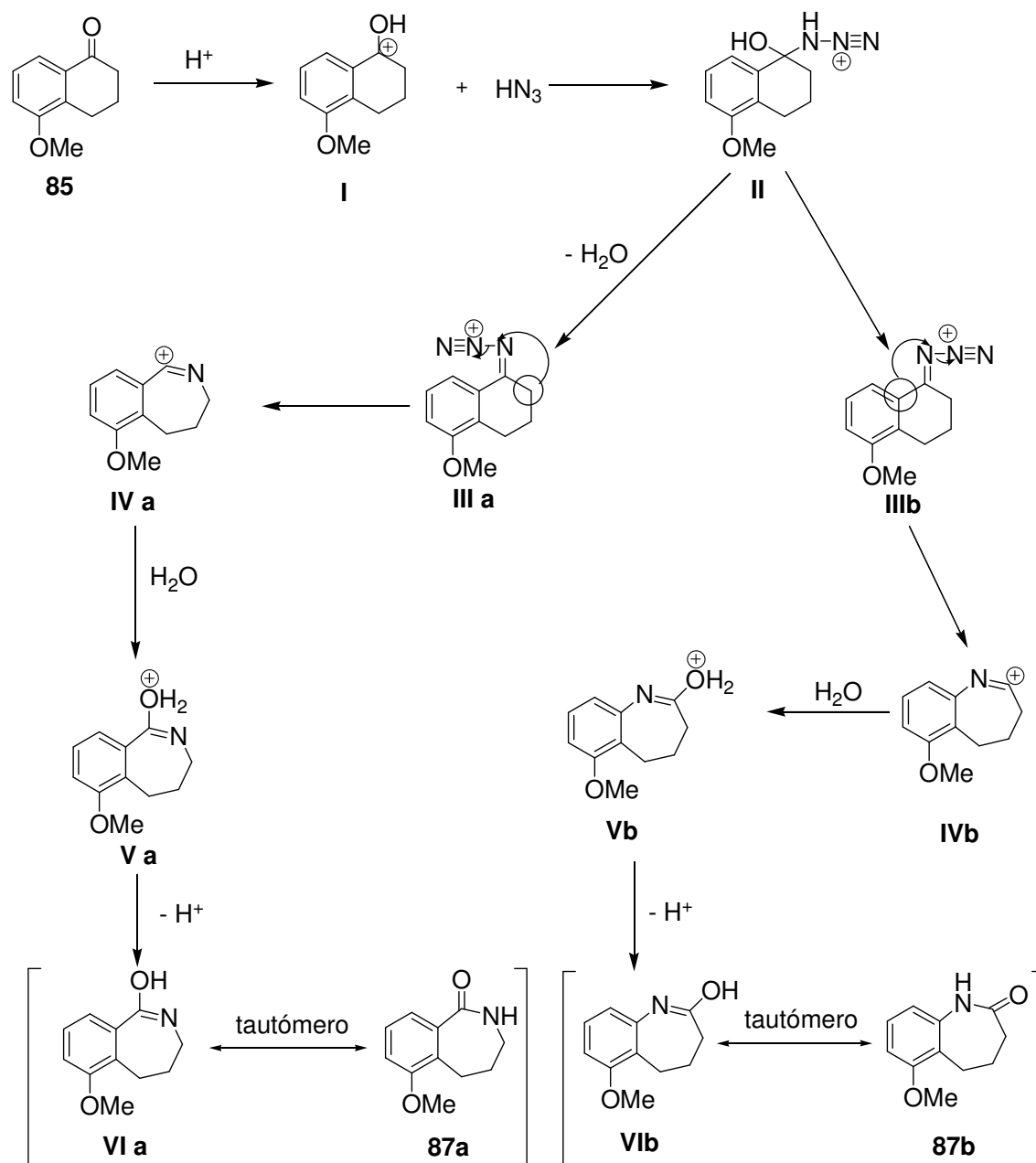
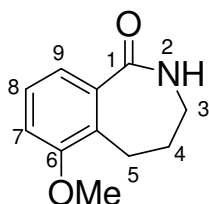


Tabla 1. Formación de las benzazepinonas **87** y **88** mediante la reacción de Schmidt.

Producto	Temperatura de reacción	Rendimiento isómero a	Rendimiento isómero b	Rendimiento total	Estado físico isómero a
87	25° C	39 %	30 %	69 %	Sólido cristalino color crema
88	50° C	50 %	23 %	73 %	Sólido cristalino color beige

Elucidación estructural de la 6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-ona (87a).

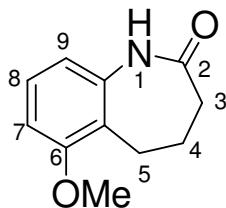


El espectro de IR del compuesto **87a** presenta una banda en 3450 cm⁻¹ debida a la vibración N-H y otra en 1620 cm⁻¹ correspondiente al carbonilo azepínico.

El espectro de RMN ¹H de **87a** muestra las siguientes señales: En 1.95 ppm, un quinteto que integra para 2H y que corresponde al metileno C4; en 2.94 ppm, un triplete que integra para 2H y se asigna al metileno de C5; en 3.09 ppm, un cuarteto que integra para 2H que corresponde al metileno de C3; un singulete en 3.84 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo. La señal múltiple en 6.94-6.99 ppm, que integra para 1H, corresponde al protón de C8 y la señal múltiple en 7.19-7.35 ppm, que integra para 2H, corresponde a los protones unidos a C7 y C9 del anillo aromático. En 7.73 ppm, se observa una señal ancha que corresponde al protón unido al nitrógeno de la amida, que desaparece cuando se corre el espectro en presencia de D₂O.

El espectro de masas de **87a** muestra un ión molecular a m/z 191 que corresponde a su peso molecular.

Elucidación estructural de la 6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1-benzazepin-2-ona (87b).

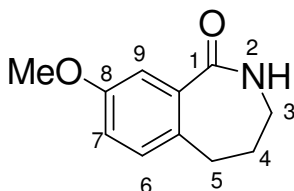


El espectro de IR del compuesto **87b** presenta una banda en 3199 cm^{-1} correspondiente a la vibración N-H y otra en 1646 cm^{-1} debida al carbonilo azepínico.

El espectro de RMN ^1H de **87b** muestra las siguientes señales: un quinteto en 2.2 ppm, asignado a los protones del metileno C4 con una integración de 2H; en 2.9 ppm, un triplete que integra para 2H y que corresponde el metileno de C3; en 2.4 ppm, un triplete que integra para 2H asignado al metileno de C5; en 3.85 ppm, un singulete que integra para 3H y asigna al metilo del metoxilo. La señal múltiple en 6.6-7.52 ppm, que integra para 3H corresponde a los protones aromáticos. Se observa una señal ancha en 7.91 ppm, que corresponde al protón unido al nitrógeno de la amida, que desaparece cuando se corre el espectro en presencia de D_2O .

El espectro de masas de **87b** muestra un ión molecular a m/z 191 que corresponde a su peso molecular.

Elucidación estructural de la 8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-ona (88a).



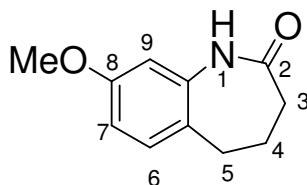
El espectro de IR del compuesto **88a** presenta una banda en 3450 cm^{-1} debida a la vibración N-H y otra en 1620 cm^{-1} debida al carbonilo azepínico.

El espectro de RMN ^1H de **88a** muestra las siguientes señales: en 2.0 ppm, un quinteto que integra para 2H y que corresponde al metileno de C4; en 2.82 ppm, un triplete que integra para 2H y que corresponde al metileno C5; en 3.14 ppm, un cuarteto que integra para 2H y que corresponde el

metileno C3; un singulete en 3.84 ppm, que integra para 3H, que corresponde al metilo del grupo metoxilo. En 6.96 ppm, un doble de dobles que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno de C7 del anillo aromático con una $J_{7-6}=8.1\text{Hz}$ y otra $J_{7-9}=4.2\text{Hz}$ debidas a los acoplamientos con los hidrógenos de C6 y C9; un doblete en 7.11 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno del C6 y con una $J_{6-7}=12.3\text{Hz}$ esto es debido al acoplamiento con el hidrógeno de C7 del anillo aromático; en 7.26 ppm, un singulete que corresponde al C9 del anillo aromático que integra para 1H. Se observa una señal ancha en 6.86 ppm que integra para 1H unido al nitrógeno de la amida, y que desaparece cuando corre el espectro en presencia de D_2O .

El espectro de masas de **88a** muestra un ión molecular a m/z 191 que corresponde a su peso molecular.

Elucidación estructural de la 8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1-benzazepin-2-ona (**88b**).



El espectro de IR del compuesto **88b** presenta una banda en 3199 cm^{-1} correspondiente a la vibración N-H y otra en 1646 cm^{-1} debida al carbonilo.

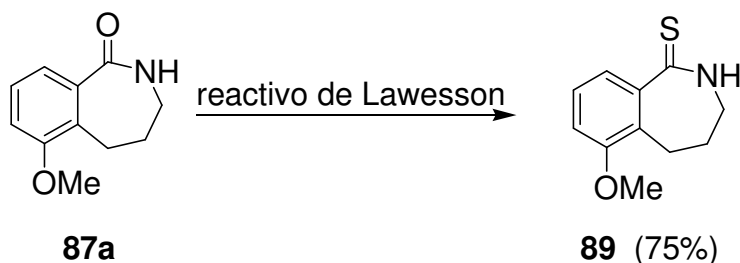
El espectro de RMN ^1H de **88a** muestra las siguientes señales: un quinteto en 2.21 ppm, que integra para 2H y se asigna al C4; en 2.35 ppm, un triplete correspondiente a los protones de C5 que integra para 2H; en 2.73 ppm, un triplete que integra para 2H y se asigna a los protones del metileno C3; un singulete en 3.79 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo. En 7.37 ppm, se observa una señal ancha que corresponde al protón unido al nitrógeno de la amida, y que desaparece cuando se corre el espectro en presencia de D_2O . Las señales que aparecen alrededor de 6.51-7.25 ppm, son correspondientes a los protones aromáticos.

El espectro de masas de **88b** muestra un ión molecular a m/z 191 que corresponde a su peso molecular.

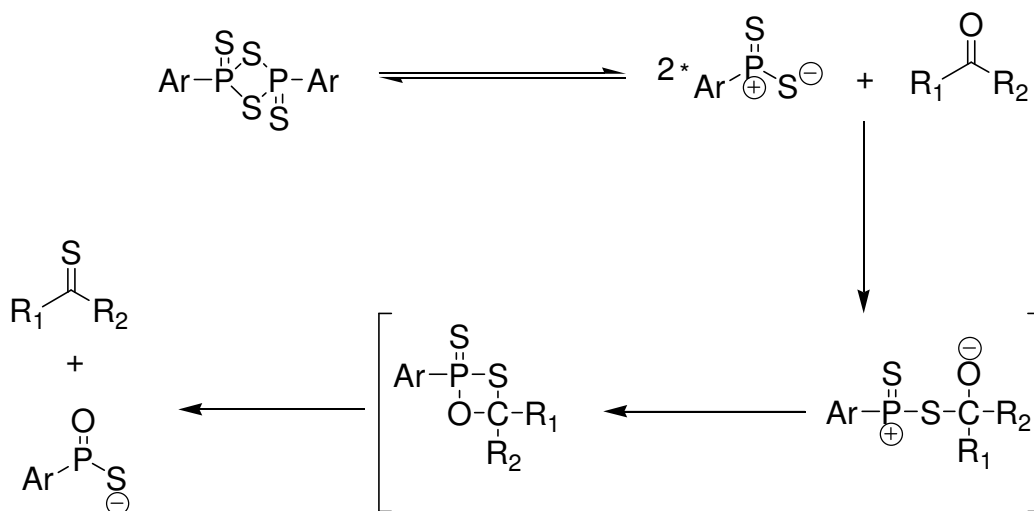
5.1.2 OBTENCIÓN DE LA 6-METOXI-2,3,4,5-TETRAHIDRO-2-BENZAZEPIN-1-TIONA **89** Y DE LA 8-METOXI-2,3,4,5-TETRAHIDRO-2-BENZAZEPIN-1-TIONA **90**.

La formación de la tioamida **89** se llevó a cabo con el reactivo de Lawesson a reflujo suave con tolueno anhidro como disolvente. De esta reacción se obtuvo, en rendimientos moderados, una mezcla de reacción sólida, de color amarillo, de la cual se obtiene **89** por cromatografía en columna (Esquema 33). El mecanismo de reacción consiste en la formación de un intermediario tetracíclico de fósforo, que resulta de la adición de la función mercapto al grupo carbonilo, aunque también debe considerarse la posibilidad alterna de un ataque inicial por parte del oxígeno del carbonilo sobre el fósforo como se muestra en el esquema 34. El movimiento de electrones dentro de esta especie intermediaria da como resultado la formación de la tioamida **89**.

Esquema 33

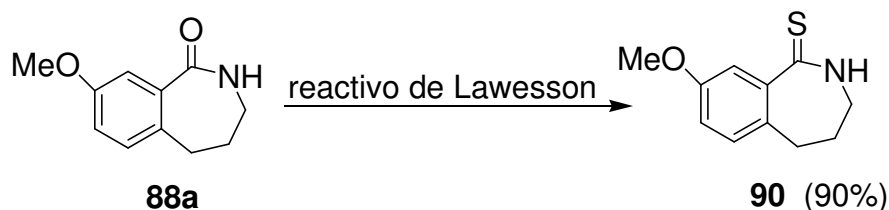


Esquema 34

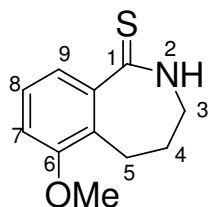


También la benzazepina **88a** se hizo reaccionar con el reactivo de Lawesson, bajo las condiciones mencionadas antes, para dar una mezcla de reacción sólida, de color amarillo, de la cual se obtuvo la tioamida **90** por cromatografía en columna, con un rendimiento del 90 %. (Esquema 35)

Esquema 35

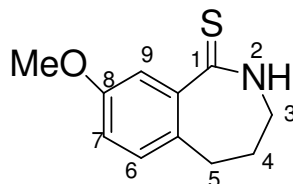


Elucidación estructural de la 6-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-tiona (**89**).



En el espectro de RMN ^1H de **89** muestra las siguientes señales: un quinteto en 2.07 ppm, que integra para 2H y que corresponde al metileno C4; un triplete en 2.87 ppm, que integra para 2H y que corresponde al metileno C5; en 3.2 ppm, un cuarteto que integra para 2H y que corresponde al metileno C3; en 3.83 ppm, un singulete que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; un doblete de dobletes en 6.95 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno C7 del anillo aromático con una $J_{7-8}=7.5\text{Hz}$ y otra $J_{7-9}=0.6\text{Hz}$ debidas a los acoplamientos con los hidrógenos unidos a C8 y C9; el rango de 7.25-7.27 ppm, corresponde a un múltiplete que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno unido a C8; un doblete de dobletes en 7.49 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno unido a C9 con una $J_{9-8}=6.9\text{Hz}$ y otra $J_{9-7}=0.9\text{Hz}$ esto es debido a los acoplamientos con los hidrógenos unidos a C7 y C8. En 9.13 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno que esta unido al nitrógeno de la amida, que desaparece cuando se corre el espectro en presencia de D_2O .

El espectro de masas de **89** muestra que el ión molecular a m/z 207 que corresponde a su peso molecular.

Elucidación estructural de la 8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-2-benzazepin-1-tiona (90).


El espectro de RMN ^1H de **90** muestra las siguientes señales: en 2.1 ppm, un quinteto que integra para 2H y que corresponde al metileno del C4; un triplete en 2.73 ppm, que integra para 2H y que corresponde al metileno de C5; en 3.22 ppm, un cuarteto que integra para 2H y que corresponde al metileno de C3; en 3.84 ppm, un singulete que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; un doblete en 7.04 ppm, que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C6, con una $J_{6-7}=8.4\text{Hz}$ debida al acoplamiento con el hidrógeno aromático unido a C7; un doble de dobles en 6.92 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno aromático de C7, con una constante de acoplamiento $J_{7-6}=5.4\text{Hz}$ y otra $J_{7-9}=3.0\text{Hz}$ debidas a los acoplamientos con los hidrógenos de C6 y C9, respectivamente; un singulete en 7.47 ppm, que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C9. Una señal ancha en 9.05 ppm, que corresponde al protón unido al nitrógeno de la amida, que desaparece cuando se corre el espectro en presencia de D_2O .

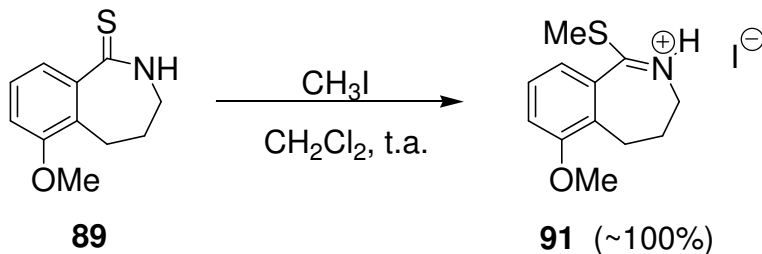
El espectro de masas de **90** muestra que el ión molecular a m/z 207 corresponde a su peso molecular.

5.1.3 OBTENCIÓN DEL YODURO DE 1-METILTIO-6-METOXI-4,5-DIHIDRO-3H-2-BENZAZEPINIO **91** Y LA OBTENCIÓN DEL YODURO DE 1-METILTIO-8-METOXI-4,5-DIHIDRO-3H-2-BENZAZEPINIO **92**.

A continuación, la tioamida **89** fue sometida a una S-alkilación en condiciones suaves con yoduro de metilo como agente alquilante y diclorometano anhidro como disolvente. La reacción implica la deslocalización del par de electrones del nitrógeno propiciando un ataque nucleofílico del azufre sobre el metilo del yoduro de metilo; el resultado es la formación de la sal de tioiminio correspondiente, **91** (Esquema 36). La sal de tioiminio es un sólido de color amarillo claro y de olor

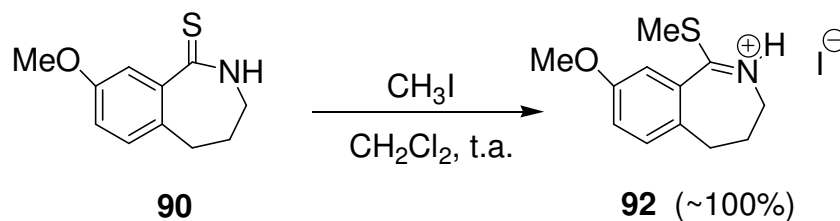
penetrante el cual fue sometido inmediatamente a la siguiente reacción para evitar su descomposición.

Esquema 36

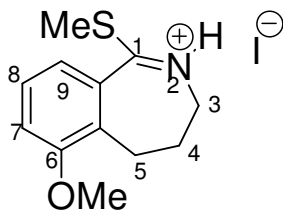


También la tioamida **90** se hizo reaccionar con yoduro de metilo y diclorometano anhidro, bajo las condiciones mencionadas antes, para dar la sal de tioiminio **92** como un sólido de color amarillo claro, con un rendimiento del 100 %.(Esquema 37)

Esquema 37



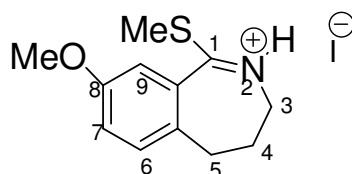
Elucidación estructural del yoduro de 1-metiltio-6-metoxi-4,5-dihidro-3H-2-benzazepinio (91).



En el espectro de RMN de ^1H de **91** muestra las siguientes señales: en 2.47 ppm, un quinteto que integra para 2H, corresponde al metileno de C4; un triplete en 2.89 ppm, que integra para 2H y que corresponde al metileno de C5; un singlete en 3.25 ppm, que integra para 3H, y se asigna al metilo

del grupo SCH₃; en 3.77 ppm, un triplete que integra para 2H y que corresponde al C3; un singlete en 3.90 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; en 7.20 ppm, un doble de dobles que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C7, con una $J_{7-8}=7.5\text{Hz}$ y otra $J_{7-9}=0.9\text{Hz}$ debidas a los acoplamiento con los hidrógenos unidos a C8 y C9; un doble de dobles en 7.28 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno aromático de C9, con una $J_{9-8}=5.7\text{Hz}$ y otra $J_{9-7}=1.2\text{Hz}$ acoplados con los hidrógenos de C8 y C7; en 7.42 ppm, un triplete que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C8, con una $J_{8-9}=8.10\text{Hz}$ y otro $J_{8-7}=8.10\text{Hz}$ debido a los acoplamiento con los hidrógenos de C7 y C8. En 12.19 ppm, una señal pequeña ancha que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno que esta unido al nitrógeno de la metiltioamida.

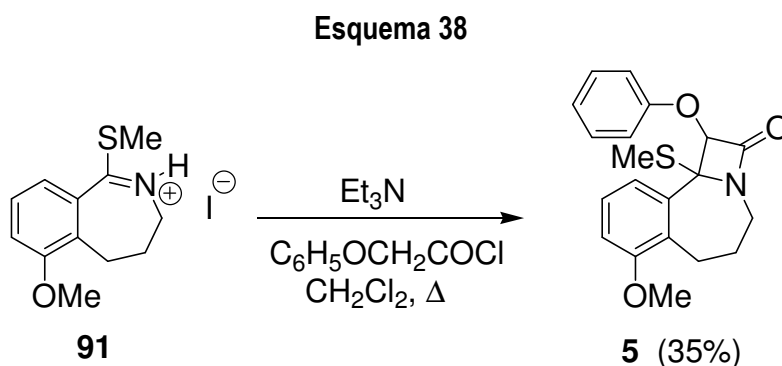
Elucidación estructural del yoduro de 1-metiltio-8-metoxi-4,5-dihidro-3H-2-benzazepinio (92).



El espectro de RMN ¹H de **92** muestra las siguientes señales: un quinteto en 2.49 ppm, que integra para 2H, corresponde al metileno de C4; en 2.78 ppm, un triplete que integra para 2H y que corresponde al metileno de C5, un singlete en 3.27 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo SCH₃; en 3.80 ppm, un triplete que integra para 2H, corresponde al metileno del C3; un singlete en 3.87 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; en 7.17 ppm, un doble de dobles que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno aromático de C7, con una $J_{7-6}=5.7\text{Hz}$ y otra $J_{7-9}=2.7\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con los hidrógenos de C6 y C9; un doblete en 7.23 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno aromático de C9; en 7.32 ppm, un doblete que integra para 1H, corresponde a un hidrógeno aromático de C6 con una $J_{6-7}=8.4\text{Hz}$ debido al acoplamiento con el hidrógeno de C7. En 12.5 ppm, una señal ancha pequeña que integra para 1H, y se asigna al hidrógeno que esta unido al nitrógeno de la metiltioamida.

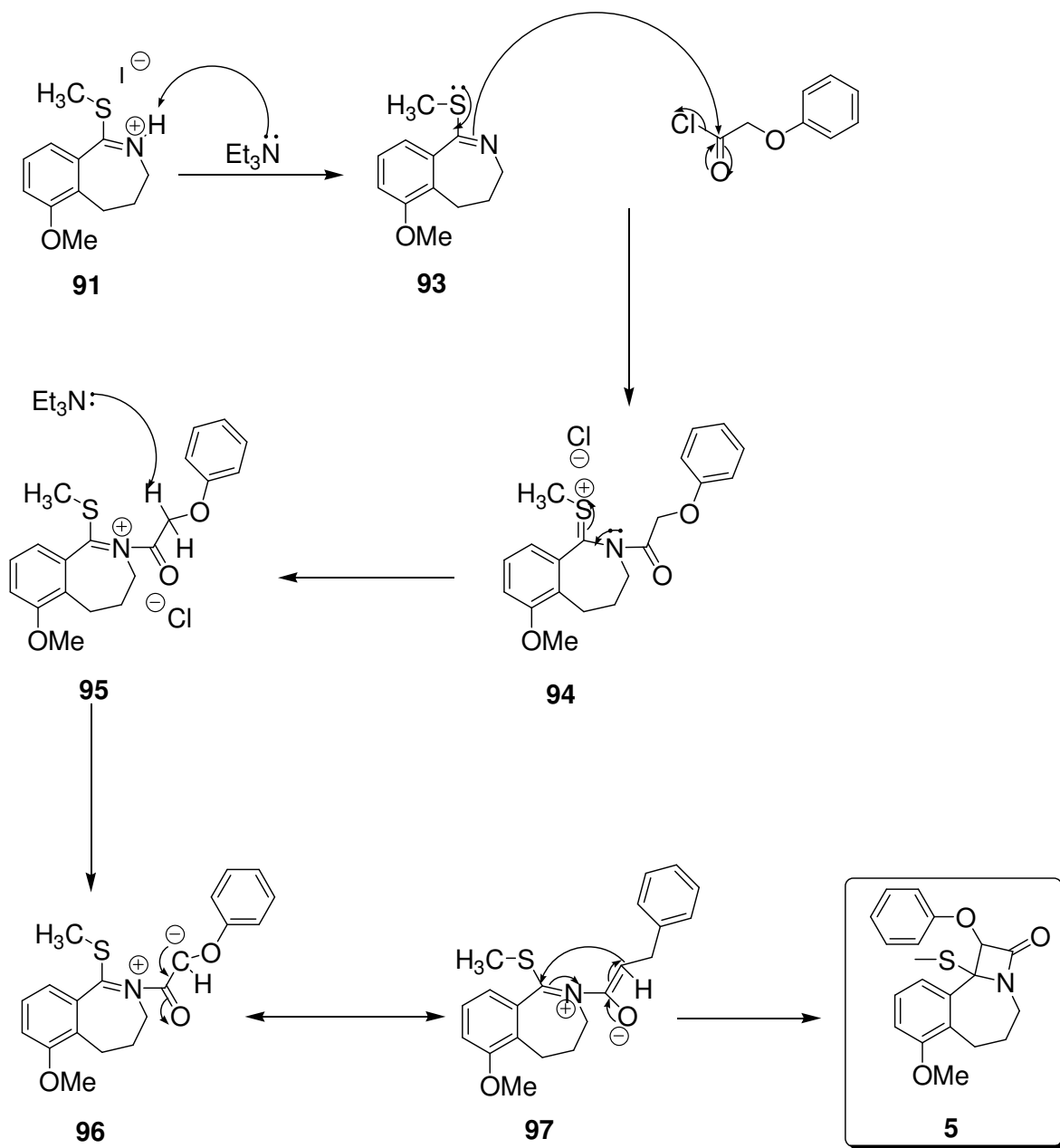
5.1.4 OBTENCIÓN DE LAS AZETOBENZAZEPINONAS 5 Y 6

El producto final se obtuvo utilizando la metodología de la reacción de Staudinger para formar azetidionas utilizando iminas y cloruros de ácido. La reacción de la sal tioiminio **91** con cloruro de fenoxiacetilo y trietilamina, dió como resultado la formación de la azetobenzazepina **5** que se obtuvo como un sólido color blanco en bajo rendimiento. (Esquema 38)



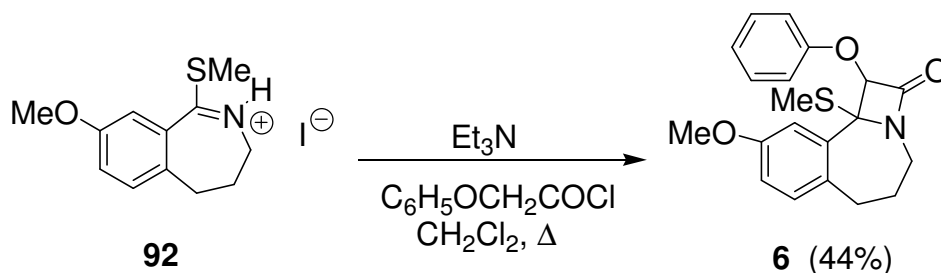
El mecanismo de reacción involucra en un primer paso la abstracción de un protón del intermediario iminio (**91**) por parte de la trietilamina para dar el intermediario tioimino (**93**), posteriormente que el nitrógeno del tioimino ataque al carbonilo del cloruro de fenoxiacetilo para dar el intermediario (**94**) el cual se tautomeriza al tioiminio (**95**). Enseguida un protón α al carbonilo es sustraído por otra molécula de trietilamina para dar el aducto iónico (**96**). Finalmente **97**, el carbono con carga negativa ataca al carbono imínico por una reacción intramolecular que origina el triciclo de la β-lactama **5** (Esquema 39).

Esquema 39



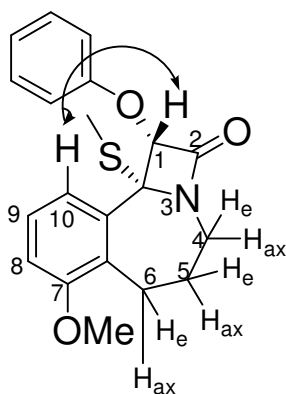
También la sal de tioiminio **92** se hizo reaccionar con trietilamina y cloruro de fenoxiacetilo, bajo las condiciones mencionadas antes, dando como resultado la formación de la azetobenzazepina **6** que se obtuvo como un sólido color blanco en bajo rendimiento. (Esquema 40)

Esquema 40



Elucidación estructural de la azetobenzazepinona 5

NOESY



El espectro de IR del compuesto **5** presenta una banda intensa en 1761 cm^{-1} correspondiente a la presencia de un carbonilo β -lactámico.

El espectro de RMN ^1H de **5** muestra las siguientes señales: la señal múltiple en 1.66-1.74 ppm, que integra para 1H y que corresponde a H_e de C5; una señal múltiple en 2.06-2.16 ppm, que integra para 1H, corresponde al H_{ax} del metileno de C5; en 2.23 ppm, un singulete que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo SCH_3 ; en 3.0 ppm, un doble de dobles que integra para 1H y que corresponde al H_e del metileno de C6, con una $J_{e-ax}=15.6\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con el H_{ax} de C6; una señal múltiple en 3.25-3.34 ppm, que integra para 1H, corresponde al H_e de C4; un doble de dobles en 3.49 ppm, que integra para 1H y que corresponde al H_{ax} de C6, con una $J_{ax-e}=15.6\text{Hz}$ debido a su acoplamiento geminal con H_e de C6; en 3.79 ppm, un singulete que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; un doblete de tripletes en 4.11 ppm, que integra para 1H, corresponde al H_{ax} de C4, con una $J_{ax-e}=13.2 \text{ Hz}$ debido a su acoplamiento geminal con H_e de C4; en 5.51 ppm, un singulete que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno de C1; un doblete en

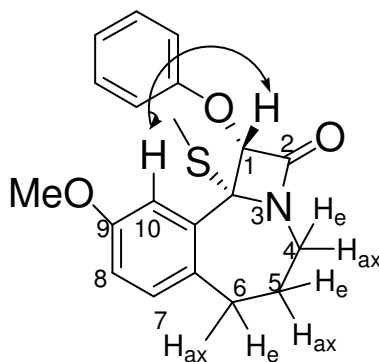
6.74 ppm, que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C10, con una $J_{10-9}=7.8\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con el hidrógeno unido a C9; en 6.78 ppm, un doblete con una $J_{8-9}=7.8\text{Hz}$ que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno aromático unido a C8; de 7.05-7.11 ppm, una señal múltiple que integra para 1H y que corresponde a los hidrógenos aromáticos unido a C9; una señal múltiple en 7.25-7.38 ppm, que integra para 5H y que corresponde a los hidrógenos aromáticos del fenoxilo unido al anillo lactámico.

El espectro de masas de **5** muestra un ión molecular a m/z 355 que corresponde a su peso molecular.

La estereoquímica de la molécula **5** se determinó con base en el análisis del espectro Noesy, el cual indica una interacción sobresaliente entre el protón H1 unido al C1 y el protón aromático H10 lo que indica que están próximos en el espacio. Con base en este resultado se pudo asumir que el protón H1 está hacia arriba y el grupo fenoxilo esta hacia atrás. Así mismo no se observo en el espectro NOESY alguna interacción entre el protón H1 y el metilo unido al azufre lo que indica que el grupo SCH_3 está del lado opuesto a este protón como se indica en la estructura del compuesto **5**.

Elucidación estructural de la azetobenzazepinona **6**

NOESY



El espectro de IR del compuesto **6** presenta una banda intensa en 1756.81 cm^{-1} correspondiente a la presencia de un carbonilo β -lactámico.

En el espectro de RMN ^1H de **6** muestra las siguientes señales: una señal múltiple de 1.67-1.81 ppm, que integra para 1H y que corresponde al H_e de C5; de 2.03-2.11 ppm, una señal múltiple que integra para 1H, corresponde al H_{ax} de C5; un singulete en 2.23 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo SCH_3 ; un doblete de dobletes en 2.88 ppm, que integra para 1H y que

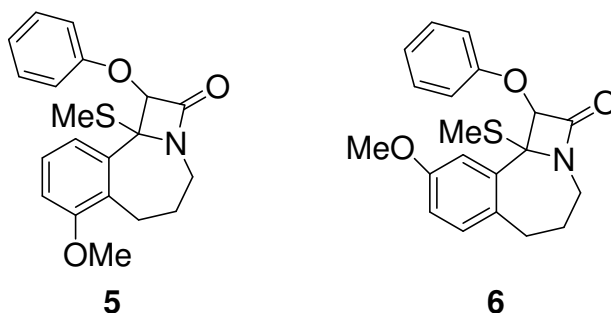
corresponde al H_e de C6, con una $J_{e-ax}=15\text{Hz}$ debido a su acoplamiento geminal con H_{ax} de C6 y otra $J_{e-e}=7.8\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con el H_e de C5; de 3.19-3.30 ppm, una señal múltiple que integra para 2H y que corresponde al H_{ax} de C6 y al H_e de C4; un singulete en 3.59 ppm, que integra para 3H y se asigna al metilo del grupo metoxilo; en 4.15 ppm, un doblete de tripletes que integra para 1H, corresponde al H_e de C4, con una $J_{e-ax}=12.3\text{Hz}$ debido a su acoplamiento geminal con H_{ax} de C4, otra $J_{e-e}=3.0\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con el H_e de C5 y por último otra $J_{e-e}=1.2\text{Hz}$ es debido a su acoplamiento con el H_e de C6; un doblete en 5.53 ppm, que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno de C1, con una $J=0.6\text{Hz}$; en 6.56 ppm, un doblete que integra para 1H, corresponde al hidrógeno aromático de C10, con una $J=2.7\text{Hz}$; un doble de dobles en 6.69 ppm, que integra para 1H y que corresponde al C8, con una $J_{8-7}=8.55\text{Hz}$ y otra $J_{8-10}=2.7\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con los hidrógenos unidos a C7 y C10; en 7.01 ppm, un doblete que integra para 1H y que corresponde al hidrógeno de C7, con una $J_{7-8}=8.4\text{Hz}$ debido a su acoplamiento con el hidrógeno aromático de C8; de 7.06-7.38 ppm, una señal múltiple que integra para 5H y que corresponde a los hidrógenos aromáticos del fenoxilo unido al anillo lactámico.

El espectro de masas de **6** muestra un ión molecular a m/z 355 que corresponde a su peso molecular.

La estereoquímica de la molécula **6** se determinó con base en el análisis del espectro Noesy el cual indica una interacción sobresaliente entre el protón H1 unido al C1 y el protón aromático H10 lo que indica que están próximos en el espacio. En base a este resultado se pudo asumir que el protón H1 está hacia arriba y el grupo fenoxilo esta hacia atrás. Asimismo no se observó en el espectro NOESY alguna interacción entre el protón H1 y el metilo unido al azufre lo que indica que el grupo SCH₃ está del lado opuesto a este protón como se indica en la estructura del compuesto **6**.

5.2 PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD

Los compuestos **5** y **6** se sometieron a las pruebas de citotoxicidad utilizando las líneas celulares: PC-3 (Cáncer de próstata), U-251 (Glioma: Sistema Nervioso Central), K-562 (Leucemia), HCT-15 (Cáncer de Colón) y MCF-7 (Cáncer de mama), de acuerdo con el procedimiento del Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos, utilizando una concentración de 50 μ M/DMSO.

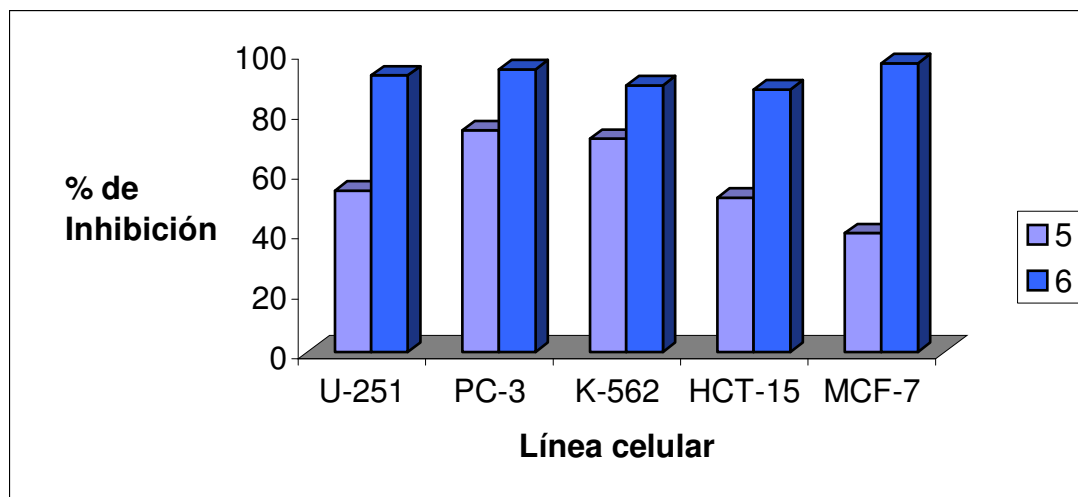


Los datos obtenidos del efecto antiproliferativo de **5** y **6** sobre las líneas celulares se muestran en la **tabla 2**.

Tabla 2 Efecto antiproliferativo (% Inhibición a 50 μ M) de los compuestos **5** y **6** en cada línea celular.

Línea celular	COMPUESTO 5	COMPUESTO 6
U-251	53.68	92.3
PC-3	73.97	94.34
K-562	71.09	88.97
HCT-15	51.48	87.57
MCF-7	39.58	96.23

Gráfica 1. Efecto antiproliferativo de inhibición celular de las azetobenzazepinonas **5** y **6** a una concentración de 50 μ M para cada línea celular.



Los resultados obtenidos se muestran en la **tabla 2** donde se observa que los porcentajes de inhibición en la mayoría de los casos, están por encima del 50 % que es el mínimo requerido para que se considere a un compuesto activo.

La **gráfica 1** muestra que la azetobenzazepinona **6** inhibe el crecimiento celular en todas las líneas celulares, es decir que todas son afectadas. La azetobenzazepina **5** inhibe casi todas las líneas celulares, excepto en MCF-7.

Como siguiente paso, al descubrir que **5** y **6** poseen actividad citotóxica, se procedió a determinar el valor de la concentración inhibitoria cincuenta (CI_{50}) que se refiere a la concentración de compuesto necesaria para reducir el crecimiento poblacional de las células en un 50%, in vitro.

Por otra parte, previamente el equipo de investigación del Doctor Roberto Martínez realizó el estudio citotóxico de **1** y **2** que para efectos de comparación, los valores de CI_{50} de los cuatro compuestos se resumen en la **tabla 3**.

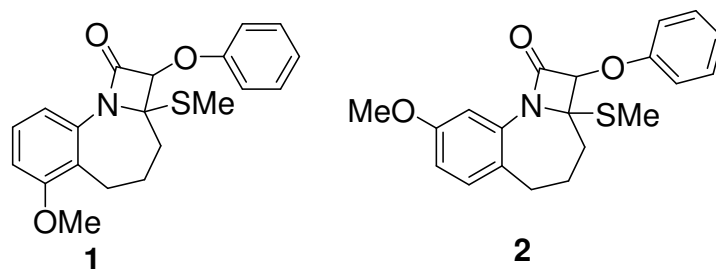


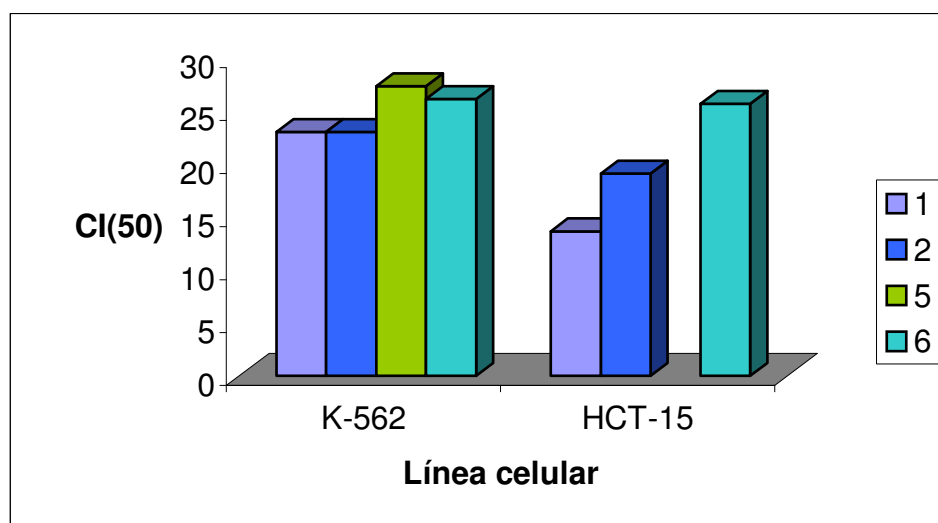
Tabla 3. Valores de CI_{50} de los compuestos 1, 2, 5 y 6 para cada línea celular.

Línea celular	Compuesto 1 CI_{50}	Compuesto 2 CI_{50}	Compuesto 5 CI_{50}	Compuesto 6 CI_{50}
K-562	23.0±1.83	22.99±1.7	27.33±2.3	26.10±1.4
HCT-15	13.64±1.2	19.08±1.0	*	25.68±2.1

*El estudio se encuentra en proceso.

Los datos indican que en la línea celular K-562 los valores de CI_{50} no son marcadamente diferentes entre los compuestos en estudio. En el caso de la línea celular HCT-15 se observa que el compuesto 1 presenta una actividad citotóxica selectiva en comparación de los otros compuestos.

Gráfica 2. Comportamiento del CI_{50} al variar la posición del -OMe y la fusión del anillo de azetidinona



En la **gráfica 2**, la longitud de las barras representa en proporción inversa el grado de toxicidad de los compuestos para cada línea celular.

De esta forma, la **gráfica 2** muestra que el compuesto **1** presenta un incremento en la potencia citotóxica en la línea celular HCT-15 en comparación de los compuestos **2** y **6**. Esto indica que el cambio de posición del grupo $-OCH_3$ y la fusión del anillo de azetidinona probablemente influyen en la respuesta celular.

Por otra parte, en la línea celular de K-562 se observa que la desviación estándar entre los valores de CI_{50} no indica una diferencia apreciable.

6.- CONCLUSIONES

- Se lograron las síntesis de la 1,2,4,5,6,11-hexahidro-7-metoxi-10b-metiltio-1-fenoxi-2-oxo-azeto[2,1-a][2]benzazepina y de la 1,2,4,5,6,11-hexahidro-9-metoxi-10b-metiltio-1-fenoxi-2-oxo-azeto[2,1-a][2] benzazepina (compuestos **5** y **6**), y se determinó su estructura por medio de estudios espectroscópicos y de espectrometría de masas.

- Se evaluó la actividad citotóxica de los compuestos **5** y **6**, en cinco líneas celulares cancerosas [(PC-3 (Cáncer de próstata), K-562 (Leucemia), U-251 (Glio: Sistema Nervioso Central), MCF-7 (Cáncer de mama) y HCT-15 (Cáncer de colon)] en donde la azetobenzazepina **5** inhibió el crecimiento celular de casi todas las líneas, excepto en MCF-7 y en el caso de la azetobenzazepina **6** inhibió el crecimiento de todas las líneas celulares.

- La modificación del cambio de posición del grupo –OMe y la fusión del anillo de azetidina de los compuestos **5** y **6** en comparación con los compuestos **1** y **2** preservan su actividad citotóxica en la línea celular K-562.

- El compuesto **1** presenta un incremento en la potencia citotóxica en la línea celular HCT-15 en comparación con los compuestos **2** y **6** lo que indica que el cambio de posición del –OMe y la fusión del anillo de azetidina probablemente influyen en su actividad citotóxica.

7.- SECCIÓN EXPERIMENTAL

7.1 CONSIDERACIONES GENERALES

El avance de las reacciones se verificó por cromatografía en capa fina utilizando cromatofolios Alugram (sílica gel 60 con indicador fluorescente UV₂₅₄) y usando como revelador luz ultravioleta.

La purificación de los productos se realizó por cromatografía flash en columna utilizando gel de sílice (230-400 mallas), fluorosil (60-100 mallas) y mezcla de disolventes como eluyentes.

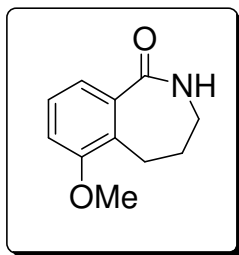
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Melp-temp II y no están corregidos.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Nicolet Ft Magna-IR 750, utilizando la técnica de pastilla en KBr.

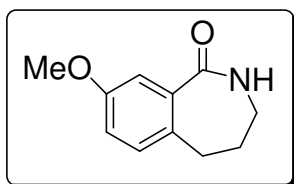
Los espectros de RMN-¹H de 300 MHz se realizaron en un equipo Broker-Avance. El desplazamiento químico (δ) está expresado en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hz. Se empleó el TMS (tetrametilsilano) como referencia interna y se utilizó CDCl₃ como disolvente. La terminología utilizada es la siguiente: s= señal simple, d= señal doble, dd= doble de doble, dt= doble de triple, t= señal triple, c= señal cuádruple, q= señal quintuple y m= señal múltiple.

Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro de masas Jeol-KMS-AX505HA de doble enfoque, utilizando la técnica de impacto electrónico y con una energía de 70 eV.

7.2 OBTENCIÓN DE LAS BENZAZEPINONAS 87a Y 88a.

**6-METOXI-2,3,4,5-TETRAHIDRO-2-BENZAZEPIN-1-ONA (87a)**

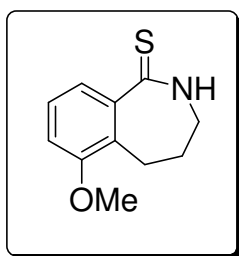
A un matraz bola de 250 mL con agitación magnética y en baño de hielo, se le agregaron 500 mg (2.82mmol) de **85** y 5 mL de HCl. Enseguida, se le agregaron lentamente 366 mg (5.64mmol) de azida de sodio (aproximadamente en 3 fracciones) manteniendo el matraz de reacción en el baño de hielo durante una hora. Transcurrido este tiempo, se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente, la reacción fue seguida por ccf hasta que se completó (23horas). La mezcla de reacción se neutralizó con una solución de K_2CO_3 al 10 %, después se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 (10 mL x 3). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró en una bomba de alto vacío. El producto de reacción se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna, utilizando gel de sílice como soporte y una mezcla de Hex: AcOEt (6:4) como eluyente. De las últimas fracciones se obtiene un sólido de color crema con un 39 % de rendimiento y p.f 101-103°C. IR (Pastilla-KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3450, 1620; RMN¹H (300 MHz, $CDCl_3$); δ 1.95 (m, 2H), 2.94 (t, 2H), 3.09 (c, 2H), 3.84 (s, 3H grupo OCH_3), 6.94-6.99 (m, 1H Ar), 7.19-1.35 (m, 2H Ar), 7.73 (s, 1H grupo amida); EMIE, m/z (%) 191 (M^+ , 100), 193 (M^{+2} , 2).

**8-METOXI-2,3,4,5TETRAHIDRO[2]-BENZAZEPIN-1-ONA (88a)**

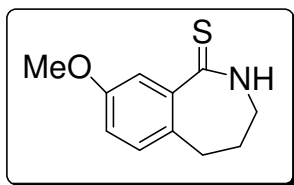
El intermediario **86** se sometió a las mismas condiciones de reacción que **85**, con la variante del calentamiento a 50°C durante 5 horas. Después del tratamiento normal y su separación por cromatografía ultrarrápida, se obtiene un sólido de color beige con un 50 % de rendimiento y un p.f. 119-120 °C. IR (Pastilla-KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3450, 1620; RMN¹H (300MHz, $CDCl_3$) δ 2.0 (q, 2H), 2.82 (t, 2H), 3.14 (t, 2H), 3.84 (s, 3H OCH_3), 6.96 (dd, $J= 8.1$ y 4.2 Hz, 1H Ar), 7.11 (d, $J= 12.3$ Hz, 1H Ar), 7.26 (s, 1H Ar), 6.86 (s, 1H grupo amida); EMIE, m/z (%) 191(M^+ , 100), 193 (M^{+2} , 3).

7.3 FORMACIÓN DE LAS TIONAS 89 Y 90**PROCEDIMIENTO GENERAL**

A un matraz bola de dos bocas provisto de un sistema de agitación magnética, un refrigerante y una canastilla de calentamiento, se le agregaron 800 mg (2.94mmol) del reactivo de Lawesson y 500 mg (2.61mmol) de la benzazepinona correspondiente, bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se le adicionaron 25mL de tolueno recién destilado, y la mezcla de reacción se sometió a reflujo 80-90 °C, durante 4 horas. Después de este tiempo la mezcla se concentró en una bomba de alto vacío. El sólido obtenido se purificó por cromatografía ultrarápida en columna, utilizando gel de sílice con una capa de flourosil como soporte y CH₂Cl₂ como eluyente.

**6-METOXI-2,3,4,5-TETRAHIDRO-2-BENZAZEPIN-1-TIONA (89)**

Sólido amarillo con olor a azufre, p.f. 120-122 °C (R=75 %); RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 2.07 (q, 2H), 2.87 (t, 2H), 3.2 (c, 2H), 3.83 (s, 3H grupo OCH₃), 6.95 (dd, *J*= 7.5 y 0.6 Hz, 1H Ar), 7.25-7.27 (m, 1H Ar), 7.49 (dd, *J*= 6.9 y 0.9 Hz, 1H Ar), 9.13 (s, 1H grupo tioamida).

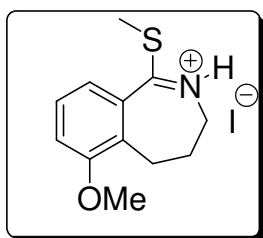
**8-METOXI-2,3,4,5-TETRAHIDRO-2-BENZAZEPIN-1-TIONA (90)**

Sólido amarillo con olor a azufre, p.f. 124 °C (R=90 %); RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 2.1 (q, 2H), 2.73 (t, 2H), 3.22 (c, 2H), 3.84 (s, 3H grupo OCH₃), 7.04 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H Ar), 6.92 (dd, *J*= 5.4 y 3.0 Hz, 1H Ar), 7.47 (s, 1H Ar), 9.05 (s, 1H grupo tioamida).

7.4 REACCIÓN DE METILACIÓN

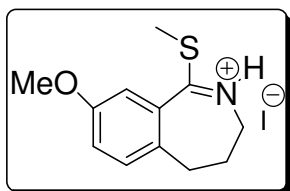
PROCEDIMIENTO GENERAL

A un matraz bola de dos bocas, provisto de un sistema de agitación magnética, se le agregaron 400 mg (1.93mmol) de la tioamida correspondiente y 25 mL de CH₂Cl₂, recién destilado, bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó hasta que se disolvió y enseguida el matraz se colocó en un baño de hielo. Posteriormente se le agregaron 0.5mL de iodometano (1.55mmol) y se retiró el baño de hielo dejando que la mezcla de reacción alcance la temperatura ambiente; transcurrida una hora se le agregó un exceso de iodometano en las condiciones antes mencionadas. La mezcla de reacción se dejó bajo agitación y se siguió por ccf hasta que la reacción se completo 4 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se concentró bajo atmósfera de nitrógeno, hasta eliminar totalmente el disolvente. El crudo de reacción se sometió a la siguiente reacción.



YODURO DE 1-METILTIO-6-METOXI-4,5-DIHIDRO-3H-2-BENZAZEPINIO (91)

Sólido amarillo claro de p.f. 184-186 °C con un rendimiento cuantitativo ≈100 %; RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 2.47 (q, 2H), 2.89 (t, 2H), 3.25 (s, 3H grupo SCH₃), 3.77 (t, 2H), 3.90 (s, 3H grupo OCH₃), 7.20 (dd, *J*= 7.5 y 0.9 Hz, 1H Ar), 7.28 (dd, *J*= 5.7 y 1.2 Hz, 1H Ar), 7.42 (t, *J*= 8.1 y 8.1 Hz, 1H Ar), 12.19 (s, 1H grupo iminio).



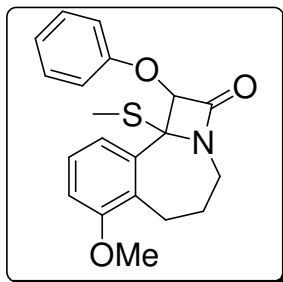
YODURO DE 1-METILTIO-8-METOXI-4,5-DIHIDRO-3H-2-BENZAZEPINIO (92)

Sólido amarillo claro de p.f. 182 °C con rendimiento cuantitativo ≈100 % ; RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 2.49 (q, 2H), 2.78 (t, 2H), 3.27 (s, 3H grupo SCH₃), 3.80 (t, 2H), 3.87 (s, 3H grupo OCH₃), 7.17 (dd, *J*= 5.7 y 2.7 Hz, 1H Ar), 7.23 (d, 1H Ar), 7.32 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H Ar), 12.5 (s, 1H grupo iminio).

7.5 FORMACIÓN DEL ANILLO 2-AZETIDINONA

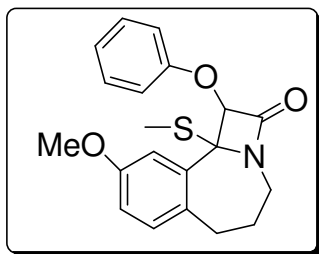
PROCEDIMIENTO GENERAL

A un matraz bola de dos bocas, provisto de un sistema de agitación, un refrigerante y una canastilla de calentamiento, se le agregaron 400 mg (1.8mmol) de la metilsulfanilimina correspondiente y 25 mL de CH₂Cl₂ recién destilado, con agitación constante y bajo atmósfera de nitrógeno. El matraz se colocó en un baño de hielo y después se le agregaron 1.25 mL (9.0mmol) de Et₃N recién destilada. Posteriormente se le agregaron, gota a gota, 0.7 mL (5.42mmol) de cloruro de fenoxiacetilo, retirándose el baño de hielo al término de este proceso. Después de 1 hora se le agregó un exceso de Et₃N y cloruro de fenoxiacetilo. La mezcla de reacción se dejó a reflujo durante 16 horas, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró al vacío. El filtrado se concentró utilizando una bomba de alto vacío y posteriormente se trato de purificar por cromatografía ultrarrápida en columna, utilizando gel de sílice con una capa de fluorosil como soporte y una mezcla de Hex: AcOEt (8:2) como eluyente. La purificación final se realizó mediante una placa preparativa utilizando una mezcla de Benceno: Acetato de Etilo (9:1) como medio eluyente.



1,2,4,5,6,11-HEXAHIDRO-7-METOXI-10b-METILTIO-1-FENOXI-2-OXO-AZETO[2,1-a][2] BENZAZEPINA (5)

Sólido blanco de p.f. 140-142 °C (R=35 %); IR (Pastilla-KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1761; RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 1.66-1.74 (m, 1H), 2.06-2.16 (m, 1H), 2.23 (s, 3H grupo SCH₃), 3.0 (dd, *J*= 15.6 Hz, 1H), 3.25-3.34 (m, 1H), 3.49 (dd, *J*=15.6 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H GRUPO OCH₃), 4.11 (dt, *J*=13.2 Hz, 1H), 5.51 (s, 1H grupo OPh), 6.74 (d, *J*= 7.8 Hz, 1H Ar), 6.78 (d, *J*= 7.8 Hz, 1H Ar), 7.05-7.11 (m, 1H Ar), 7.25-7.38 (m, 5H Ar); RMN ¹³C (75.4 MHz, CDCl₃) δ 13.412, 23.507, 25.823, 41.498, 55.920, 78.326, 90.213, 110.739, 117.236, 120.091, 122.888, 126.909, 129.502, 129.677, 140.239, 156.962, 157.764, 164.640; EMIE, *m/z* (%) 355(M⁺,7), 357 (M⁺+2, 2).



**1,2,4,5,6,11-HEXAHIDRO-9-METOXI-10b-METILTIO-1-FENOXI-2-
OXO-AZETO[2,1-a][2] BENZAZEPINA (6)**

Sólido blanco de p.f. 103-104 °C (R=44%); IR (Pastilla-KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1756.81; RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ 1.67-1.81 (m, 1H), 2.03-2.11 (m, 1H), 2.23 (s, 3H grupo SCH₃), 2.88 (dd, $J= 15$ y 7.8 Hz, 1H), 3.19-3.30 (m, 2H), 3.59 (s, 3H grupo OCH₃), 4.15 (dt, $J=12.3$, 3.0 y 1.2 Hz, 1H), 5.53 (d, $J= 0.6$ Hz, 1H grupo OPh), 6.56 (d, $J= 2.7$ Hz, 1H Ar), 6.69 (dd, $J= 8.55$ y 2.7 Hz, 1H Ar), 7.01 (d, $J= 8.4$ Hz, 1H Ar), 7.06-7.38 (m, 5H Ar); RMN ¹³C (75.4 MHz, CDCl₃) δ 13.368, 26.814, 34.185, 40.916, 55.148, 78.559, 90.533, 113.536, 113.754, 117.731, 123.165, 129.750, 132.256, 132.532, 139.467, 157.836, 164.407; EMIE, m/z (%) 355(M⁺,5), 357 (M⁺+2, 1).

7.6 PRUEBA DE CITOTOXICIDAD

Los ensayos para determinar la actividad citotóxica de **5** y **6** fueron realizados en el Laboratorio de Pruebas de Actividad Biológica del Instituto de Química de la UNAM, bajo el mismo criterio en metodología y tratamiento de datos utilizado por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos.

Se utilizan dos placas (I y II) de 96 pozos cada una donde se han distribuido las líneas celulares y el blanco, en cada placa se colocan aproximadamente 7500 células neoplásicas en suspensión, por pozo y se incuban a 37°C y atmósfera con 5% de CO₂, por un lapso de 24 horas. Posteriormente las células de la placa II se fijan utilizando ácido tricloroacético. El preparado se incuba por una hora a 4°C y enseguida se tiñen las células con SRB (sulforhodamina B) el cual es un colorante que se une a los aminoácidos básicos de la célula y se mide la DO (densidad óptica) de las muestras a una $\lambda=500$ nm. El valor promedio de la densidad óptica para cada línea celular se llama **plato tiempo cero (T₀)**. A la placa I se le adicionan 100 μ L de la solución de los compuestos a probar, diluidos en DMSO, en las concentraciones de 3.1, 10, 31 y 100 μ M y se incuban por 48 horas. El ensayo para cada línea celular dentro de la placa se realiza por duplicado. Finalmente las células se fijan, se le adiciona SRB y se determina la DO.

El porcentaje de inhibición de crecimiento (%CI) se calcula para cada concentración con su correspondiente línea celular de la siguiente forma:

$$T = t - b$$

$$C = T_{(DMSO)} - b$$

$$\%CI = 100 - [(T - T_0) / (C - T_0)]$$

En donde:

%CI= Porcentaje de inhibición de crecimiento.

b= blanco

T= DO real de la muestra

C= control

t= DO de la muestra sin corregir

T_(DMSO)= DO de las células en DMSO

T₀= DO del plato teórico en el tiempo cero

La concentración inhibitoria 50 (**CI**₅₀) de los compuestos **5** y **6** para cada línea celular se calcula a partir de una gráfica **%CI** vs. log de la concentración. De esta forma se obtiene la concentración del fármaco a la cual se inhibe en un 50% el crecimiento celular.

8.-BIBLIOGRAFIA.

1. Mohar A, Frías-Mendivil M, Suchil-Bernal L, Mora-Macias T, G. de la Garza J. "Descriptive epidemiology of cancer at the Instituto Nacional of Cancerología of Mexico" *Salud Pública Mex* **1997**; 39; 253.
2. www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/español/prensa/Contenidos/estadisticas/2006/cancer06.pdf
3. Katritzky, A.R., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. "The Structure, Reactions Síntesis and Uses of Heterocyclic Compounds", V. 1 Ed. Pergamon Press Ltd., New York. **1984**. 144.
4. Cañas Alonso. R.C. Tesis de Licenciatura: Síntesis y Evaluación citotóxica de la 1,2,4,5,6,11-hexahidro-7-metoxi-10b-metilsulfanil-1-fenoxi-2-oxo-azeto[1,2-a][1]benzazepina **2002**, UNAM.
5. Ferrer Camacho. R. Estancia corta de Doctorado. **2006**, UNAM.
6. Rubenstein, E. and Federmann, D. D. *Scientific American Medicine*. **1997**, 5, 11.
7. Darnell, J. and Fodish, H. *Molecular Cell Biology*. Ed. W. H. Freeman and Company, New York. **1999**.
8. Lewin, B. *Genes VI*. Ed. Oxford University Press, Oxford. **1997**.
9. <http://www.imss.gob.mx/nr/imss/dpm/dties> revisado el día 14-Abril-2007
10. Doherty, A.M. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*. Volume 37. Elsevier Academic Press. San Diego, California. pag. 115. **2002**.
11. Koda-Kimble, M.A., Yong, L.Y., Kradjan, M., Gugliermo, B.J., Alldredge, B.K. and Corelli, R.L. *Applied Therapeutics The Clinical Use of Drugs*. 8th ed. Ed. Lippincott Williams ε Wilkins. Philadelphia. **2005**.
12. a) Bruton,L.L., Lazo, J.S. and Parker, K.L. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th Ed. Ed Mc Graw-Hill. New York, Mexico City. **2006**. b) Kaye B. Br., *J. Cancer.*, **1998**, 78 Suppl 3:1-7
13. Hurley LH., *Nat. Rev. Cancer.*, **2002**, 2(3), 188-200.
14. Martínez, R.; Chacón-García, L. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12,127.
15. a) Bentram DJ., "Current Opinion in Obstetrics and Gynecology"., **2002**, 14, 5-12. b)Waller, D.G, Renwick, A.G. and Hillier, K. *Medicinal Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Saunders. **2005**. c) Schwartz AL, Ciechanover A., *Annu. Rev. Med.*, **1999**, 50, 57-74.
16. a) *Chem. Abstr., Chemical Substance Index*. **1997**, 1089; b) *Chem. Abstr, 13th Collective Chemical Substance Index* **1992-1996**, 235.
17. Monleón L.; Grande, M.; Anaya, J. *Tetrahedron*. **2007**, 63, 3017.

18. Black, D.; Johnstone, L. M. *Aust. J. Chem.* **1984**, *37*, 577.
19. Banik, B.K.; Subbaraju, G.V.; Manhas, M.S.; Bose, A.K. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1363.
- 20 Ikeda, M.; Akamatsu, S.; Kugo, Y.; Sato, T. *Heterocycles.* **1996**, *42*, 155.
21. Pipich, S.; Bartsch, H.; Erker, T. *J. Heterocyclic Chem.* **1997**, *34*,823.
22. Kouznetsov, V.; Palma, A.; Ewert, C. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 519.
23. Chumpradit, S.; Kung, H.F.; Billings, J.; Kung, M.-P.;Pan, S., *J. Med. Chem.*, **1989**, *32*, 1431.
24. Berger, J.G.; Cheng, W.K.; Gold, E.H.; Elliot, A.J. *USA Patent* 4996202, 1991. *Chem. Abstr.*, **1991**, *115*, 71420.
25. Neumeyer, J.L.; Kula, N.S.; Baldessarini, R.J.; Baidur,N. *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 1466.
26. Hino, K.; Nagai, Y.; Uno, H., *Chem. Pharm. Bull.*, **1988**, *36*, 2386.
27. D.M. James and A.H. Rees, *J. Med. Pharm. Chem.*, **1962**, *5*, 1234.
28. Witte, J.; Boekelheide, V., *J.Org. Chem.*, **1972**, *37*, 2849.
29. Mori, M.; Chiba, K.; Ban, Y. *J. Org. Chem.*, **1978**, *43*, 1684.
30. Kaminura, A.; Taguchi, Y. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2335.
31. Gupta, D.N.; McCall, I.; McLean, A., *J.Chem.Soc.*, C, **1970**, 2191
32. Conley, R.T.; Lange, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *70*, 210.
33. Grunewald, G.L.; Dahanukar, V.H. *J. Heterocycl. Chem.*, **1994**, *31*, 1609.
34. Castellanos, M.A., "Fundamentos de Química Organica". Ed. Mc Graw Hill., México, **1995**. 175.
35. Chang, P.K., Ulbricht, T.L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1958**, *80*, 976.
36. Kato, K.; Mukaiyama, T.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1991**, *64*, 2948-2953.
37. Held, W.Z.; Donaruma, L.G., *Org. React.*, XI, Chap.I.
38. -Lawry, T.H., Schueller, K., "Mechanism and Theory in Organic Chemistry"., Ed. Harper & Row Publisher., **1976**, 415.
39. Wolff, H. *Org. React.*, **1946**, *3*, 307-336.
40. Thennarasu, S.; Perumal, P. T., *Moléculas.* 2002, *7*, 487-493.
41. Wakabayashi, T.; Kato, Y. *Chem. Abstr.* **1979**,90, 22818h.
42. Paquer,D.; Smadja, 5.; Vialle, J. C. *R. Hebd. Seances Acad. Sei.*, Ser. C **1974**, 279,529.
43. Bodine, J. J.; Kalomtian, M. K. *Synth. Commun.* **1982**,*12*,787.
44. Pedersen, B. S., *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1977**,*86*,693.
45. -Ishi, Y.; Hirabayaaahi, T. Imaeda, H.; Ito, K. *Chem. Abstr.* **1975**, *82*, 156074f
46. Fay, P.; Lankelma, H.P., *J. Am. Chem*, **1952**,*74*,4933.
47. Kodama, Y.; Ori, M.; Nishio, T., *Helv. Chim. Act.* **2005**, *88*,187.

-
48. Smith, D. C.; Lee, S. W., Fuchs, P. L., *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 348-354.
49. Salvatore, R.N.; Smith, R.A.; Gavin, T. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8931.
50. Landini, D., Rolla, F., *Org. Syn.*, **1978**, 58, 143.
51. Jacobi, P. A. ; Lanz, S., Ghosh, I., Leung, S. H. , Lower, F., Pippin ,D., *Org. Lett.*, **2001**, 36, 831-834.
52. a) Alcaide, B.; Almendros, P.; Rodríguez-Vicente, A.; Ruiz, M.P. *Tetrahedron.* **2005**, 61, 2767. b) Coantic, S.; Mouysset, D.; Mignani, S.; Tabart, M.; Stella, L. *Tetrahedron.* **2007**, 63, 3205.
53. Yang, Y.; Wang, F.; Rochon, D.F.; Kayser, M.M. *Can. J. Chem.* **2005**, 83, 28.
54. Banik, B.K.; Lecea, B.; Arrieta, A.; Cózar, A.; Cossío, F.P. *Angew. Chem. Int.* **2007**, 46, 3028.
55. Jiao, L.; Liang, Y.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6060.
56. Wang, Y.; Liang, Y.; Jiao, L.; Du, D.M.; Xu, J. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 6983.

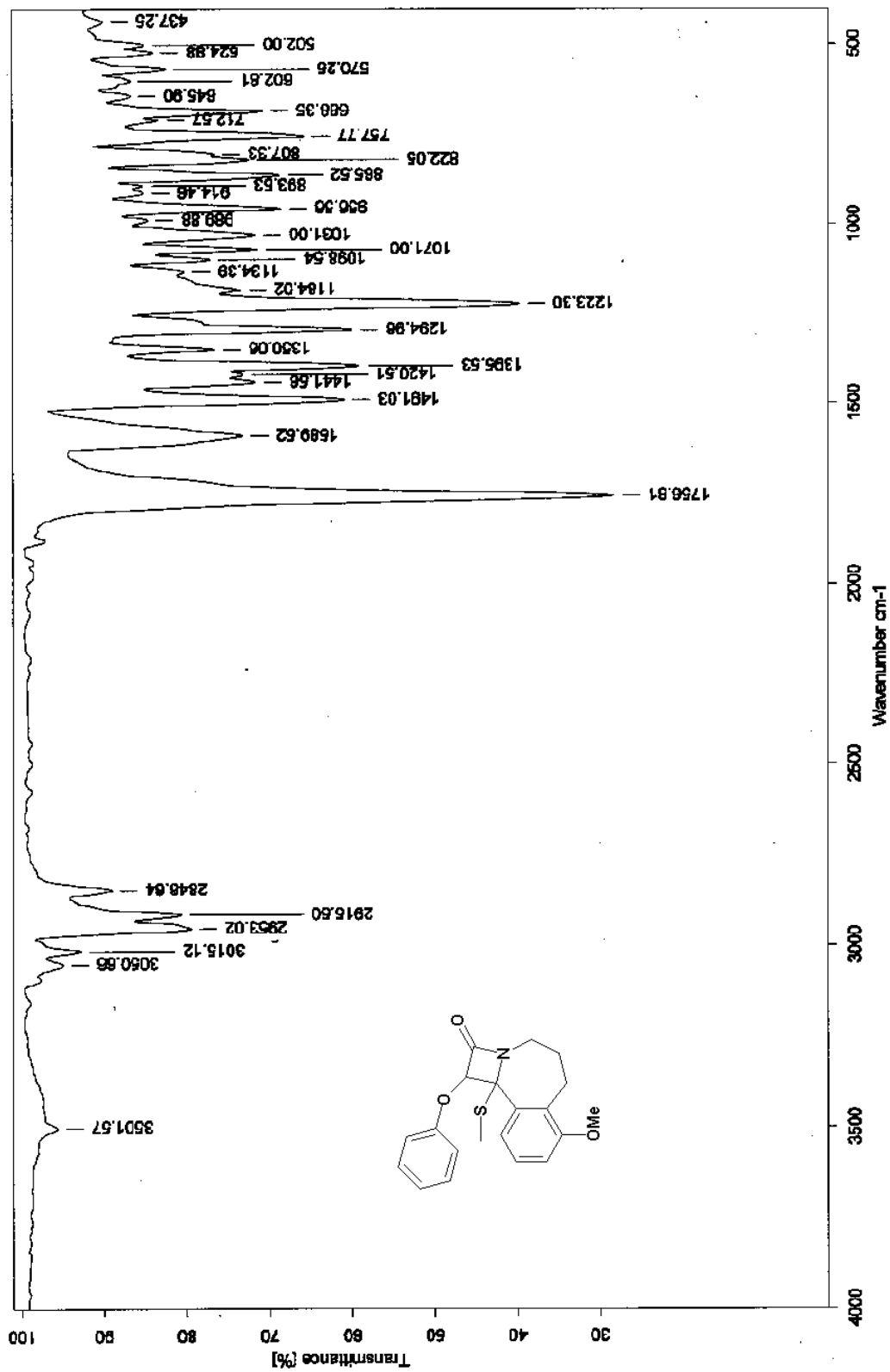


Imagen 1. Espectro de IR de la azetobenzazepinona 5

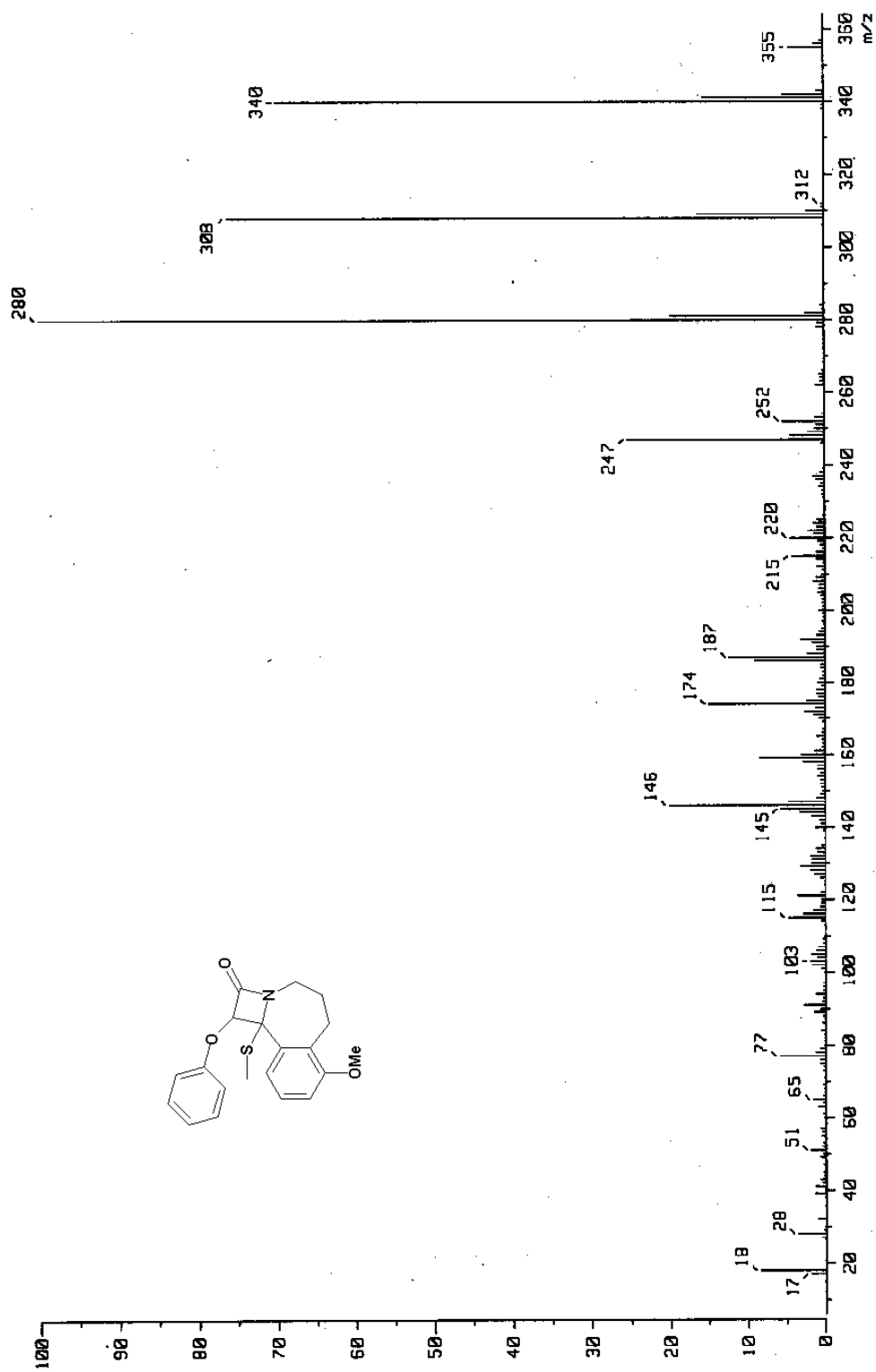


Imagen 2. Espectro de Masas de la azetobenzazepinona 5

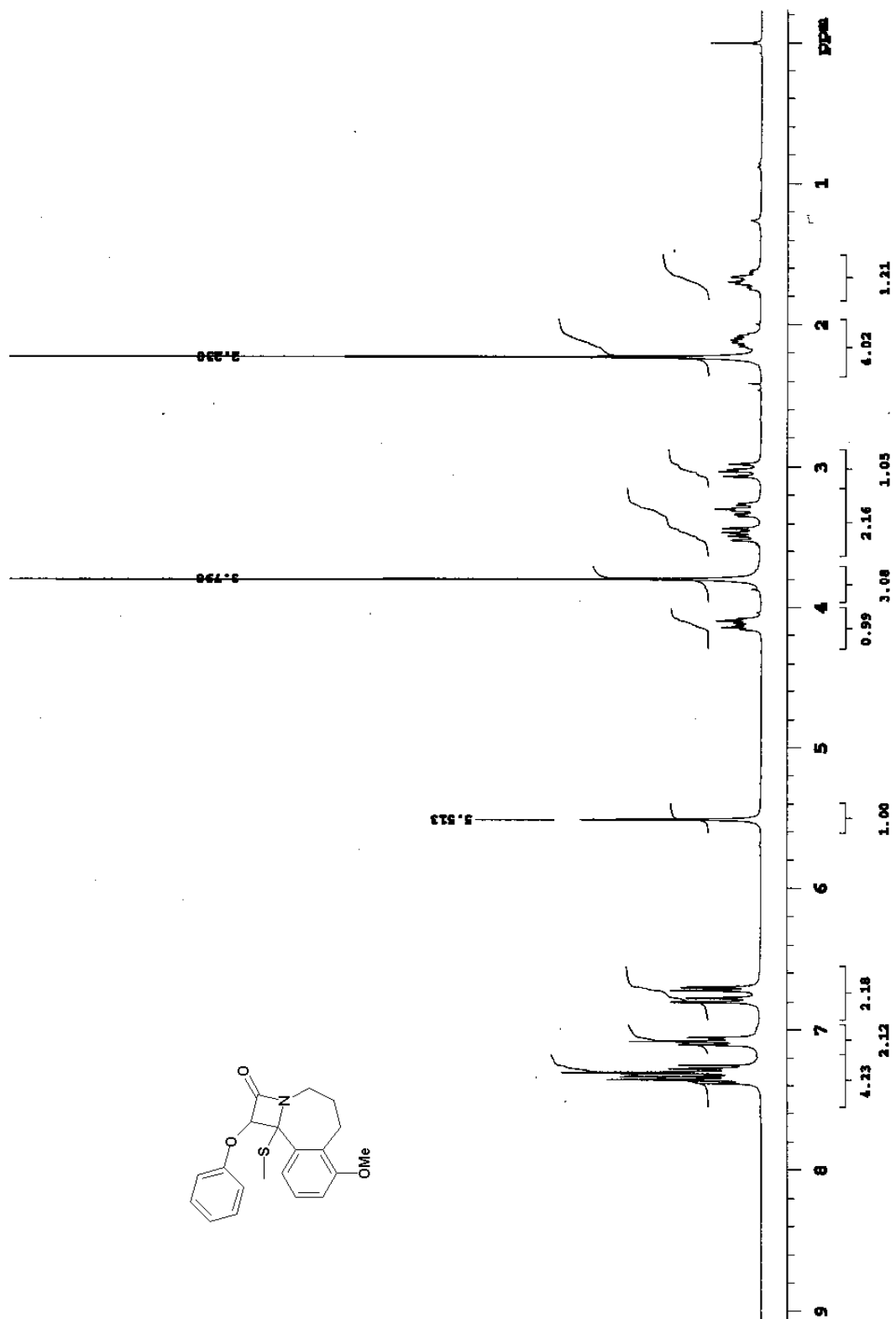
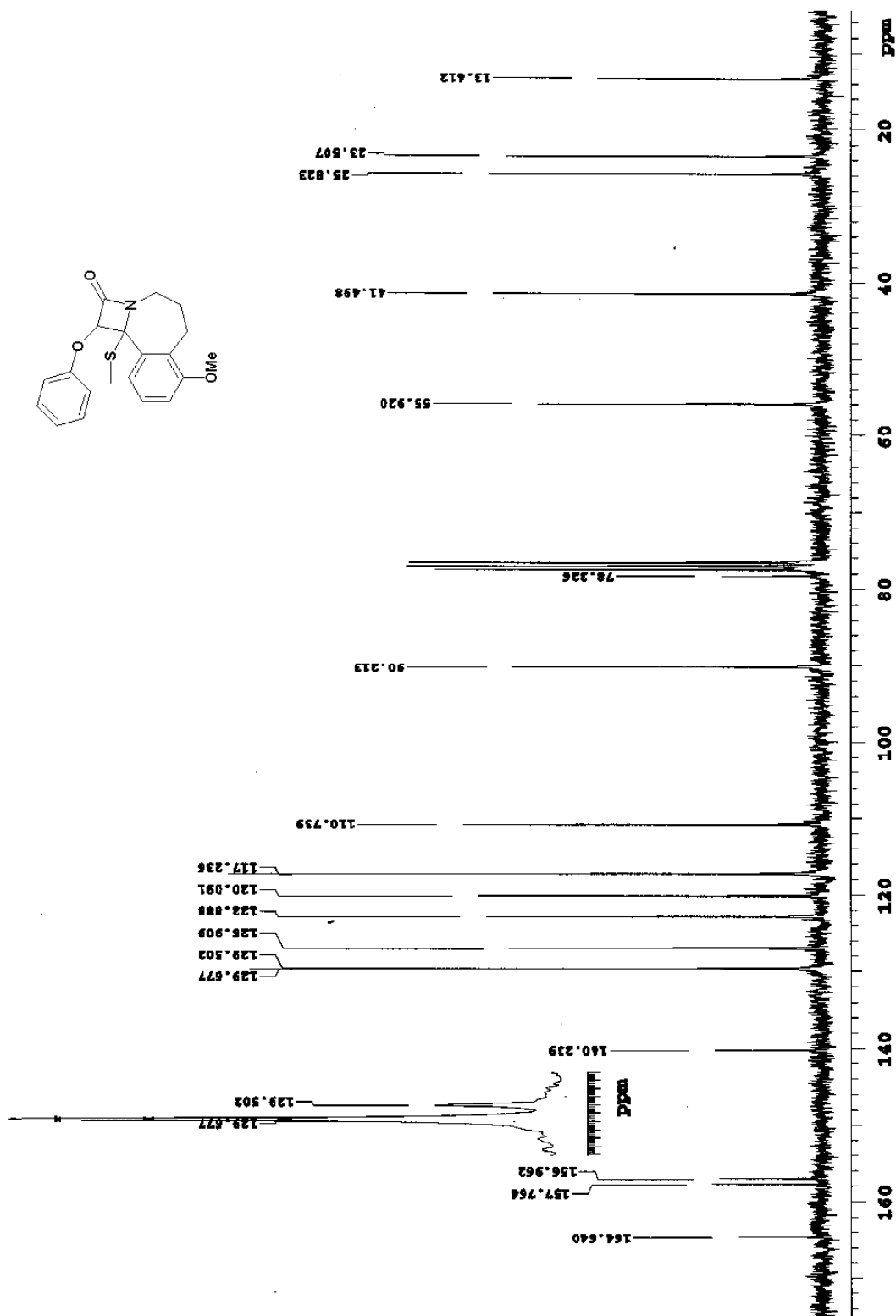


Imagen 3. Espectro de RMN ^1H de la azetobenzazepinona 5

Imagen 4. Espectro de RMN ^{13}C de la azetobenzazepinona 5

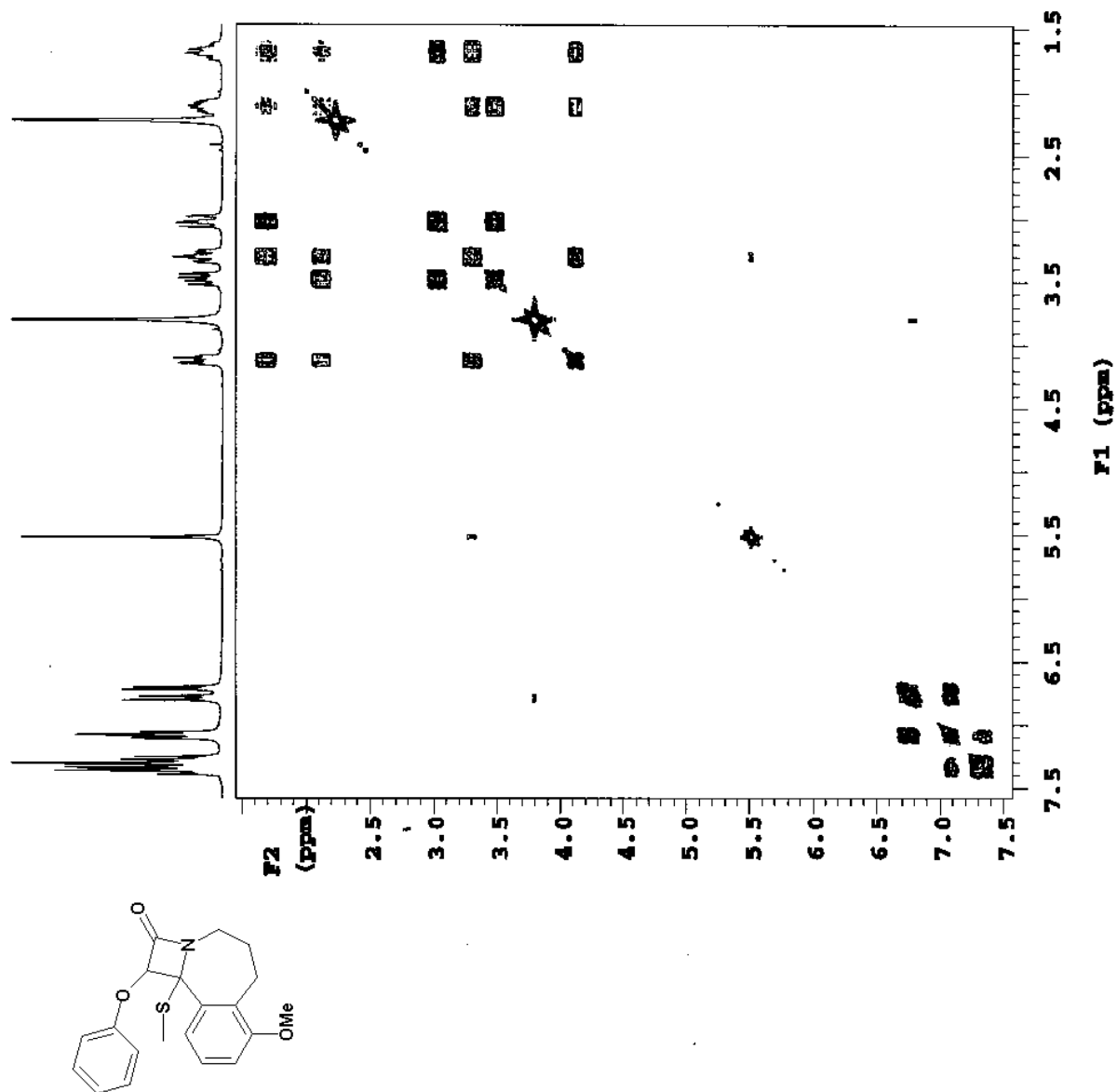


Imagen 5. Espectro COSY de la azetobenzazepinona 5

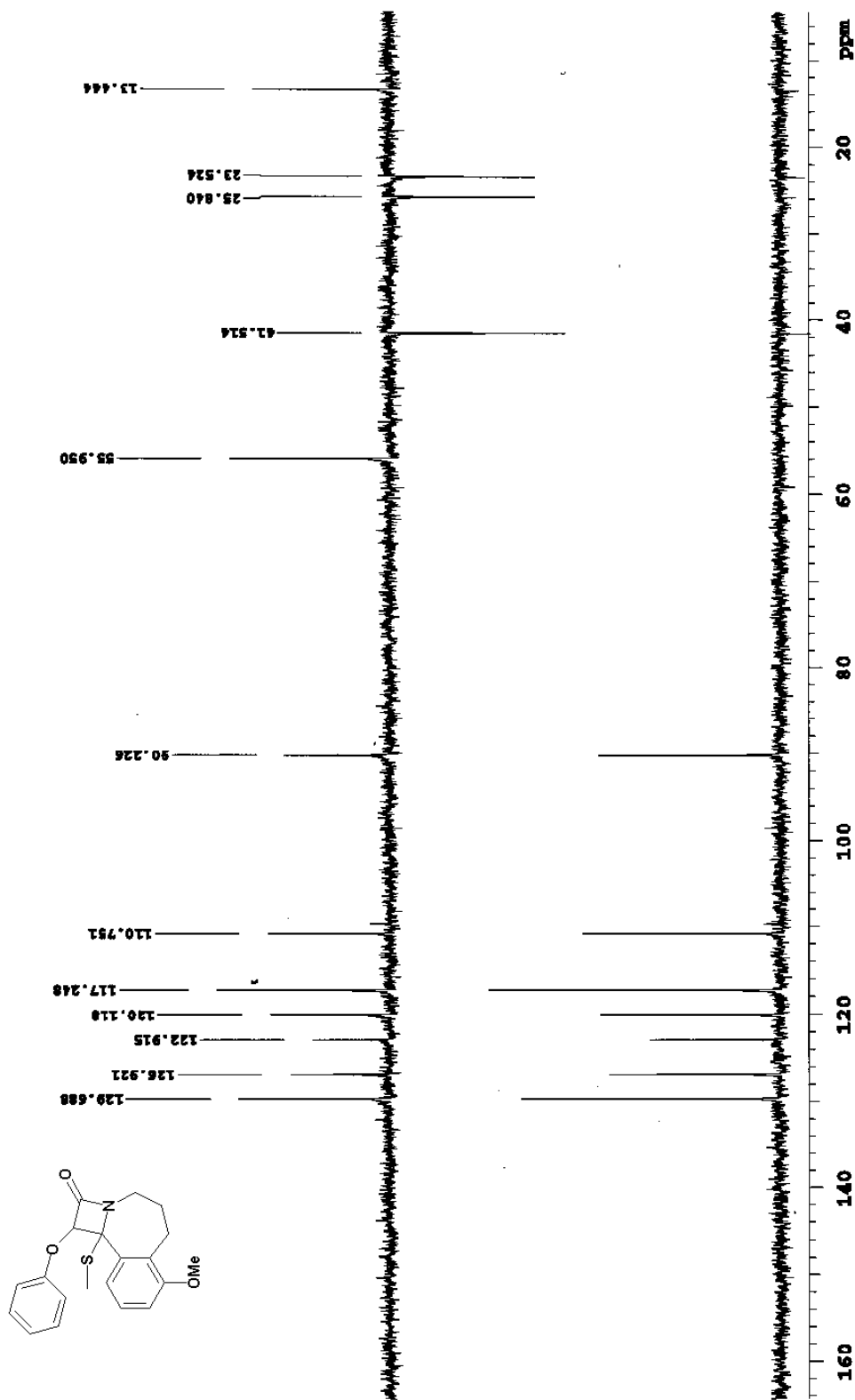


Imagen 6. Espectro DEPT de la azetobenzazepinona 5

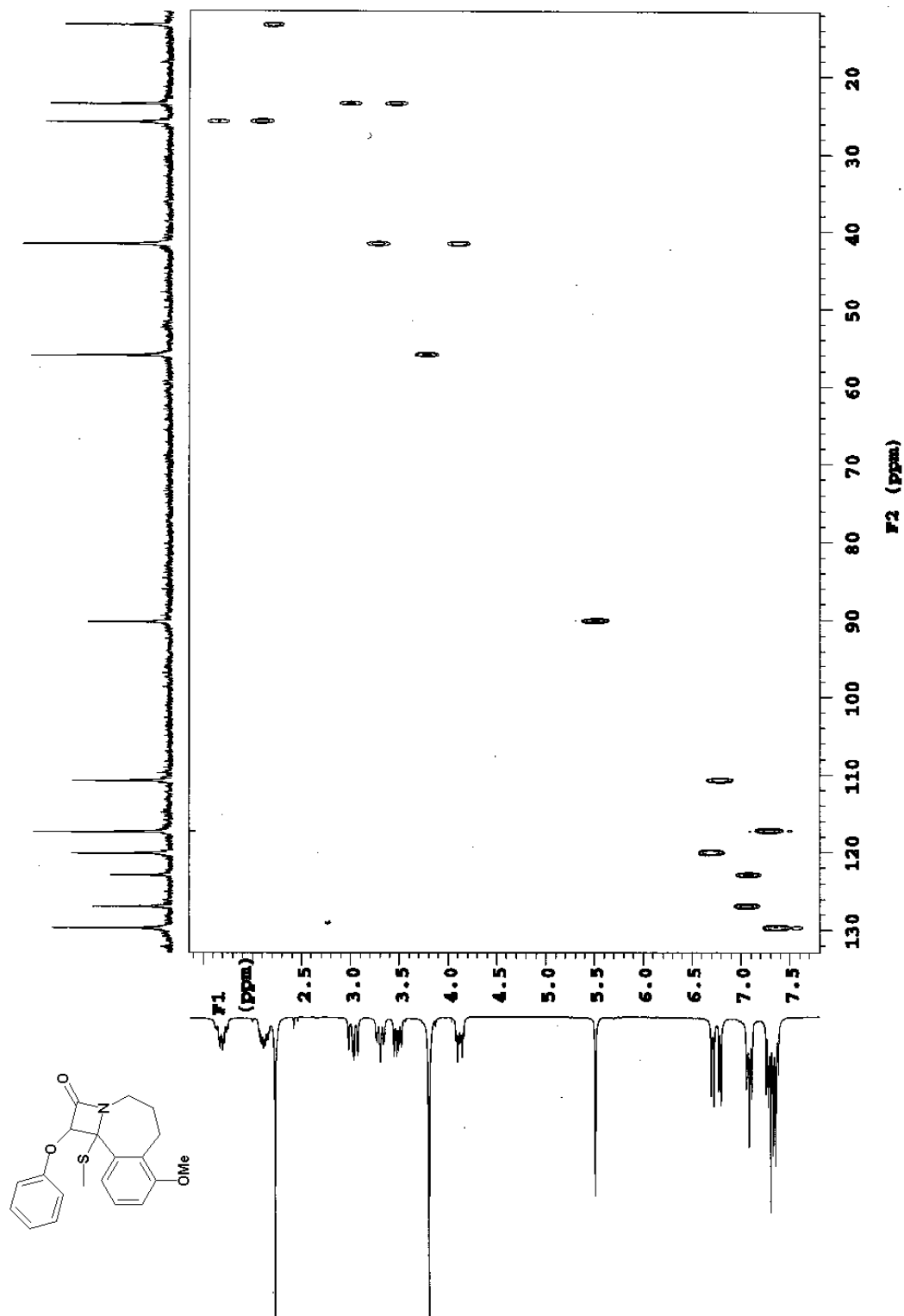


Imagen 7. Espectro HETCOR de la azetobenzazepinona 5

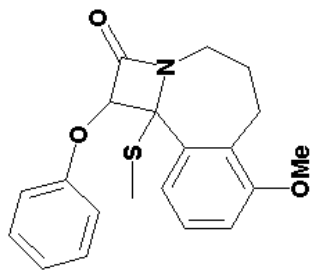
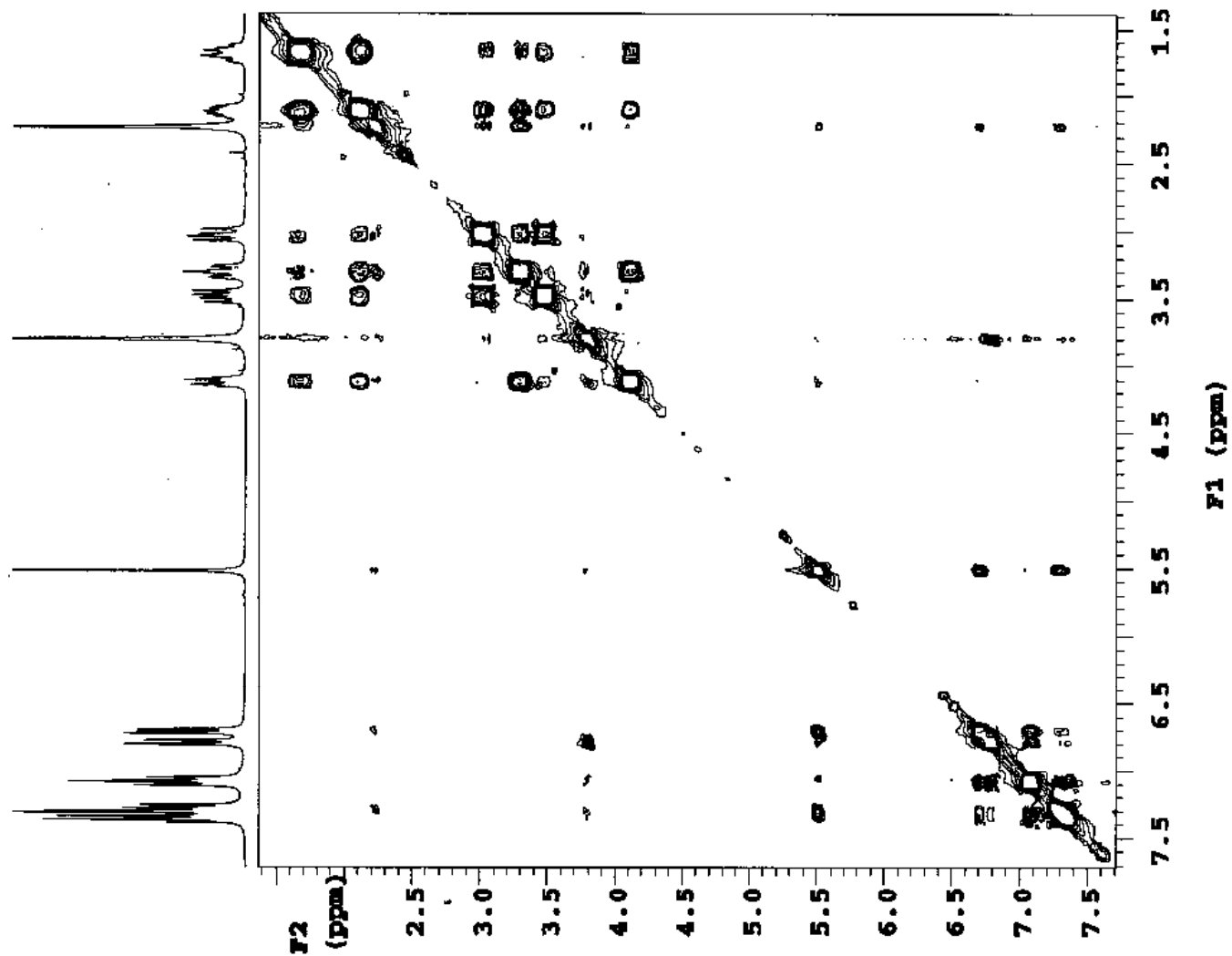


Imagen 8. Espectro NOESY de la azetobenzazepinona 5

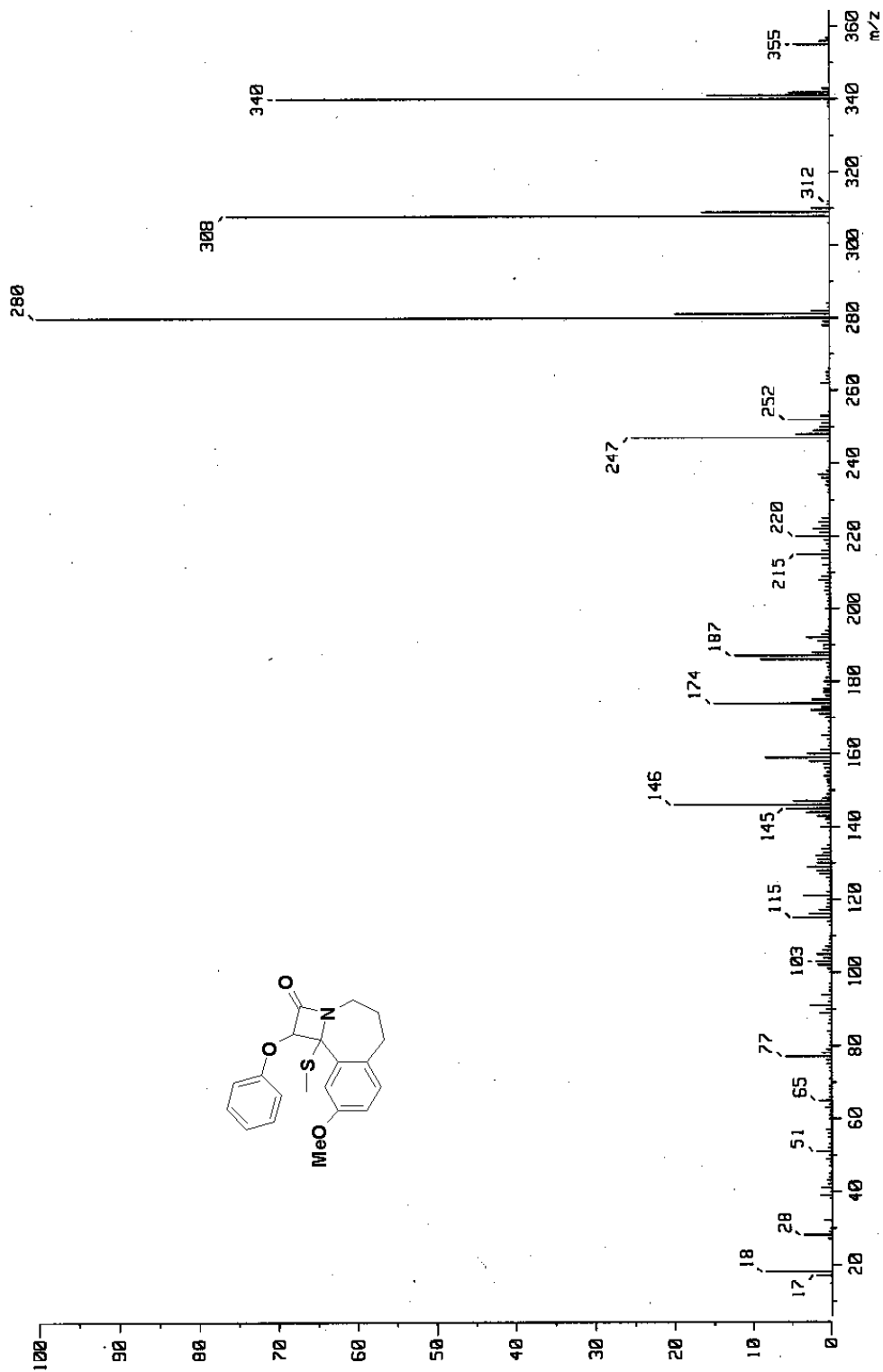


Imagen 9. Espectro de MASAS de la azetobenzazepinona 6

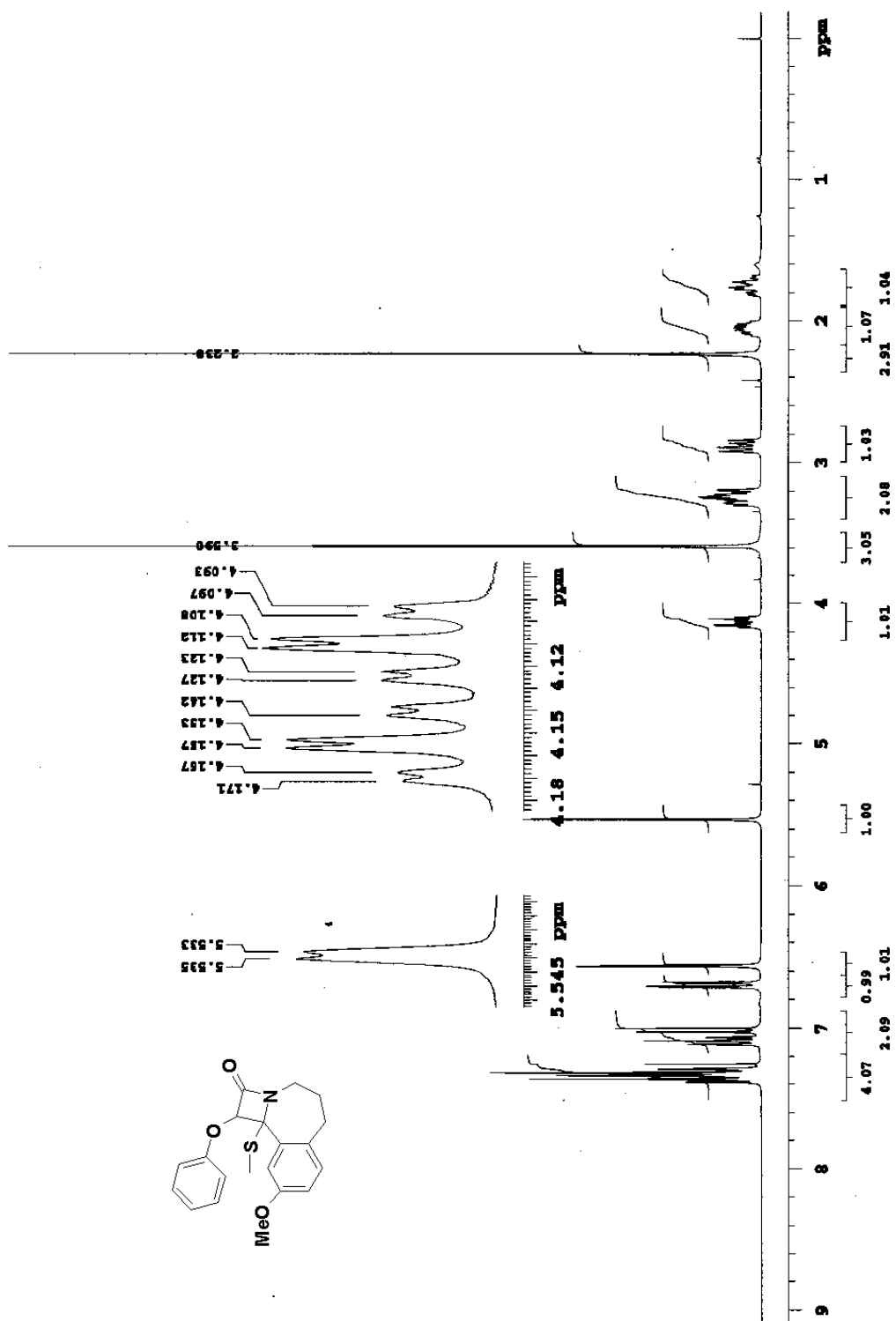
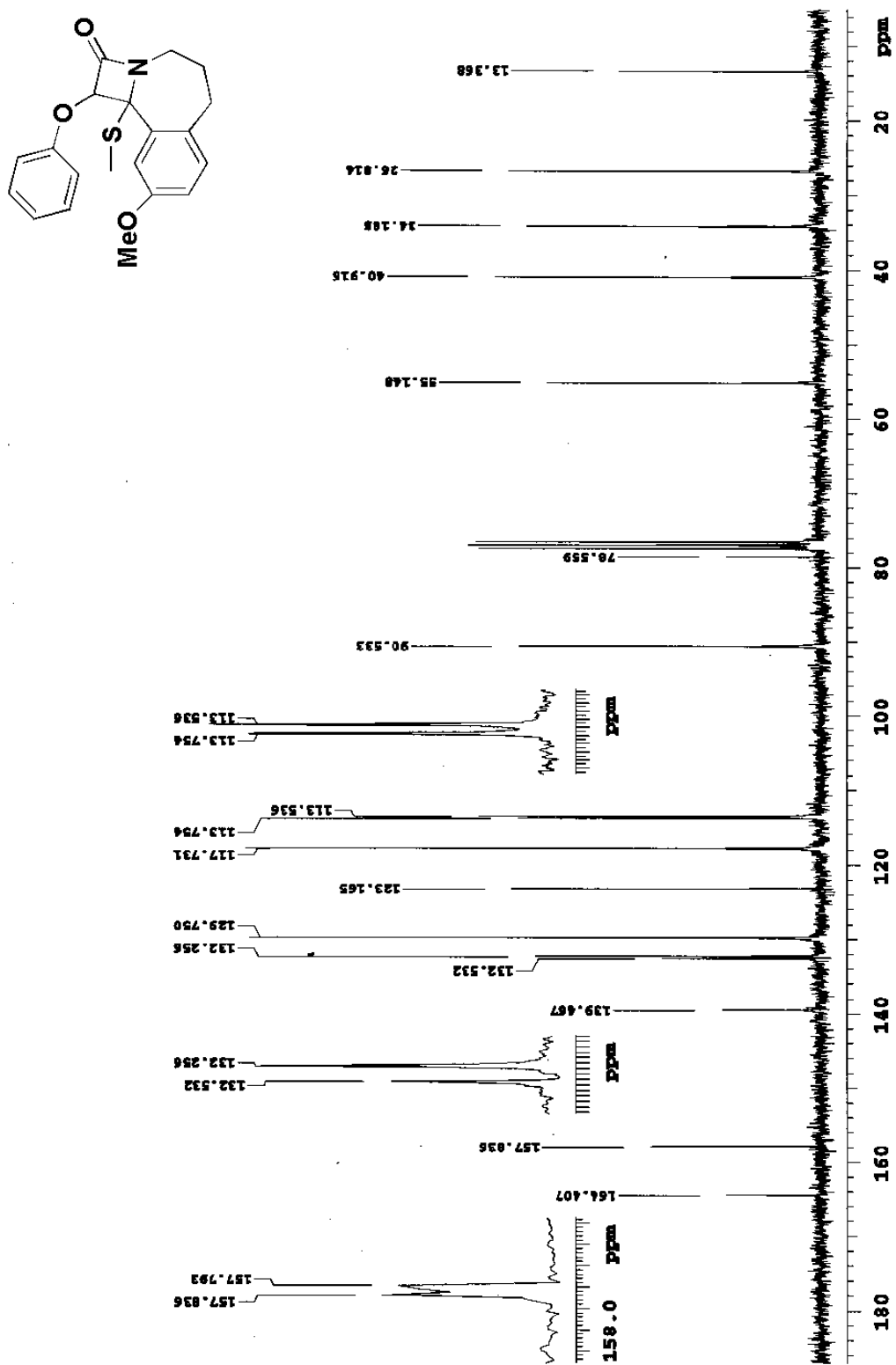


Imagen 10. Espectro de RMN ¹H de la azetobenzazepinona 6

Imagen 11. Espectro de RMN ^{13}C de la azetobenzazepinona 6

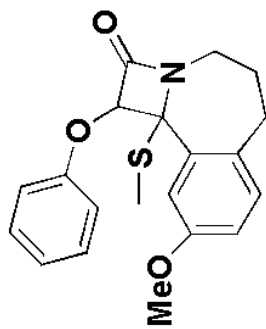
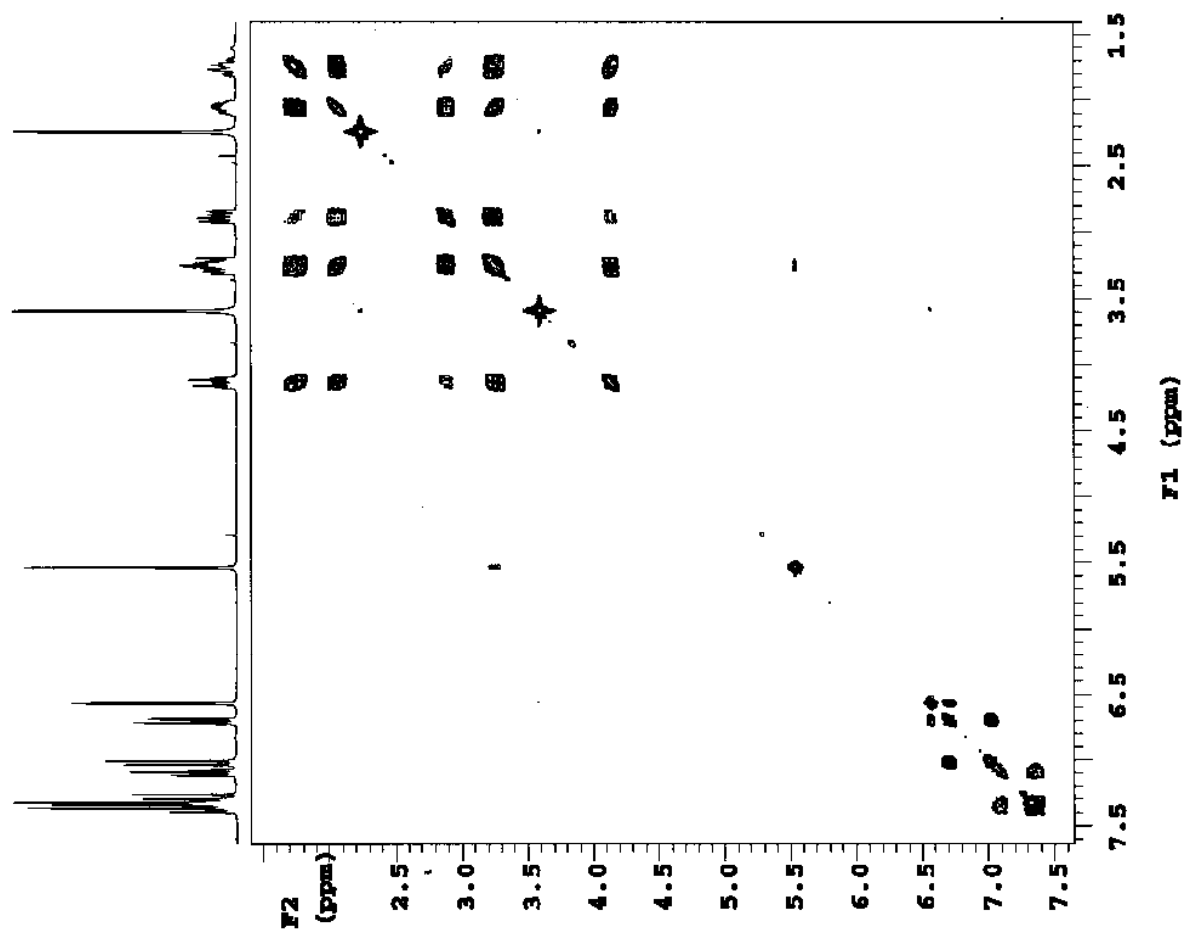


Imagen 12. Espectro COSY de la azetobenzazepinona 6

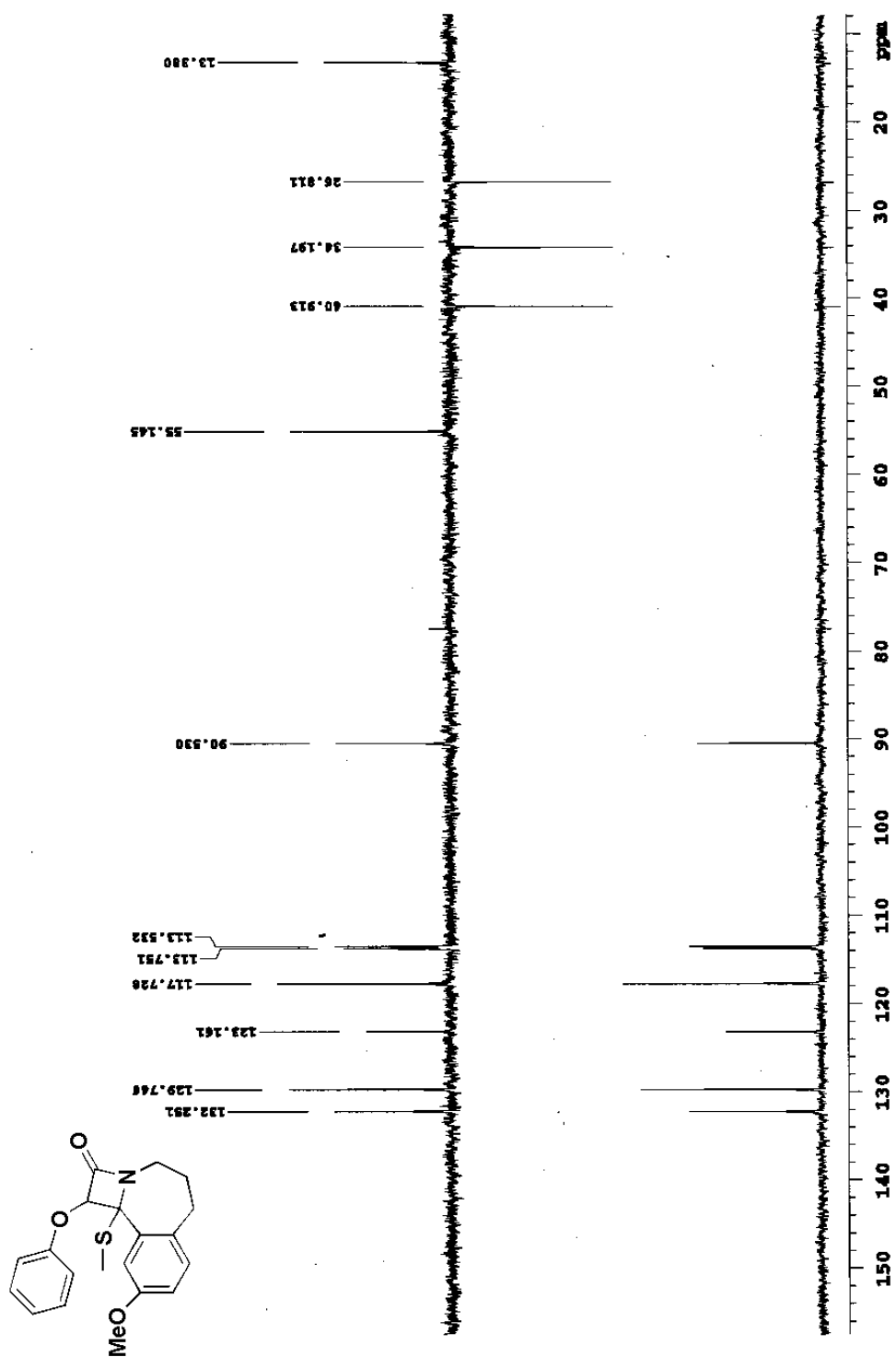


Imagen 13. Espectro DEPT de la azetobenzazepinona 6

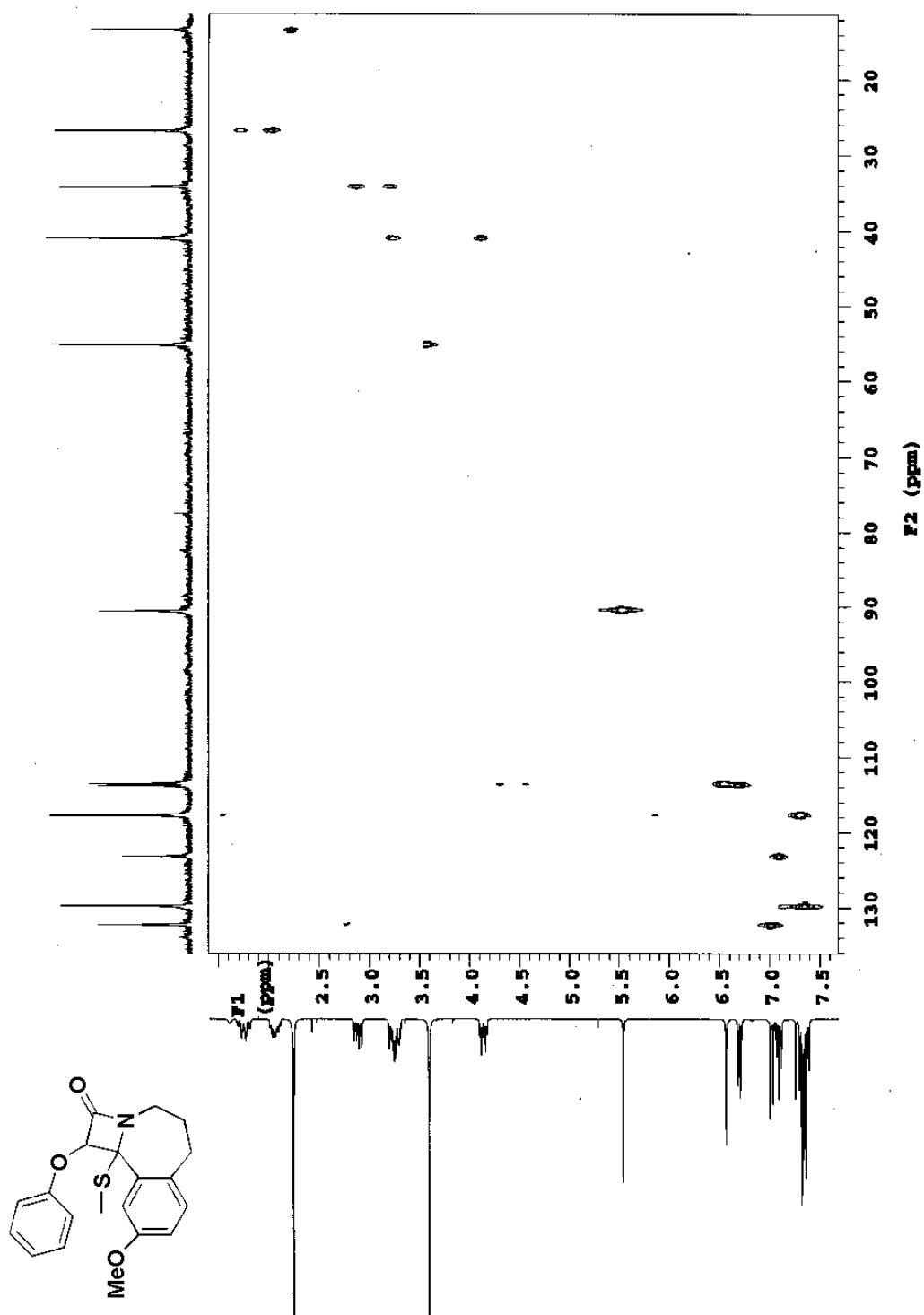


Imagen 14. Espectro HÉCTOR de la azetobenzazepinona 6

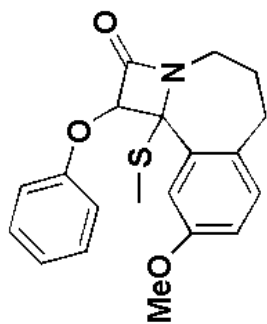
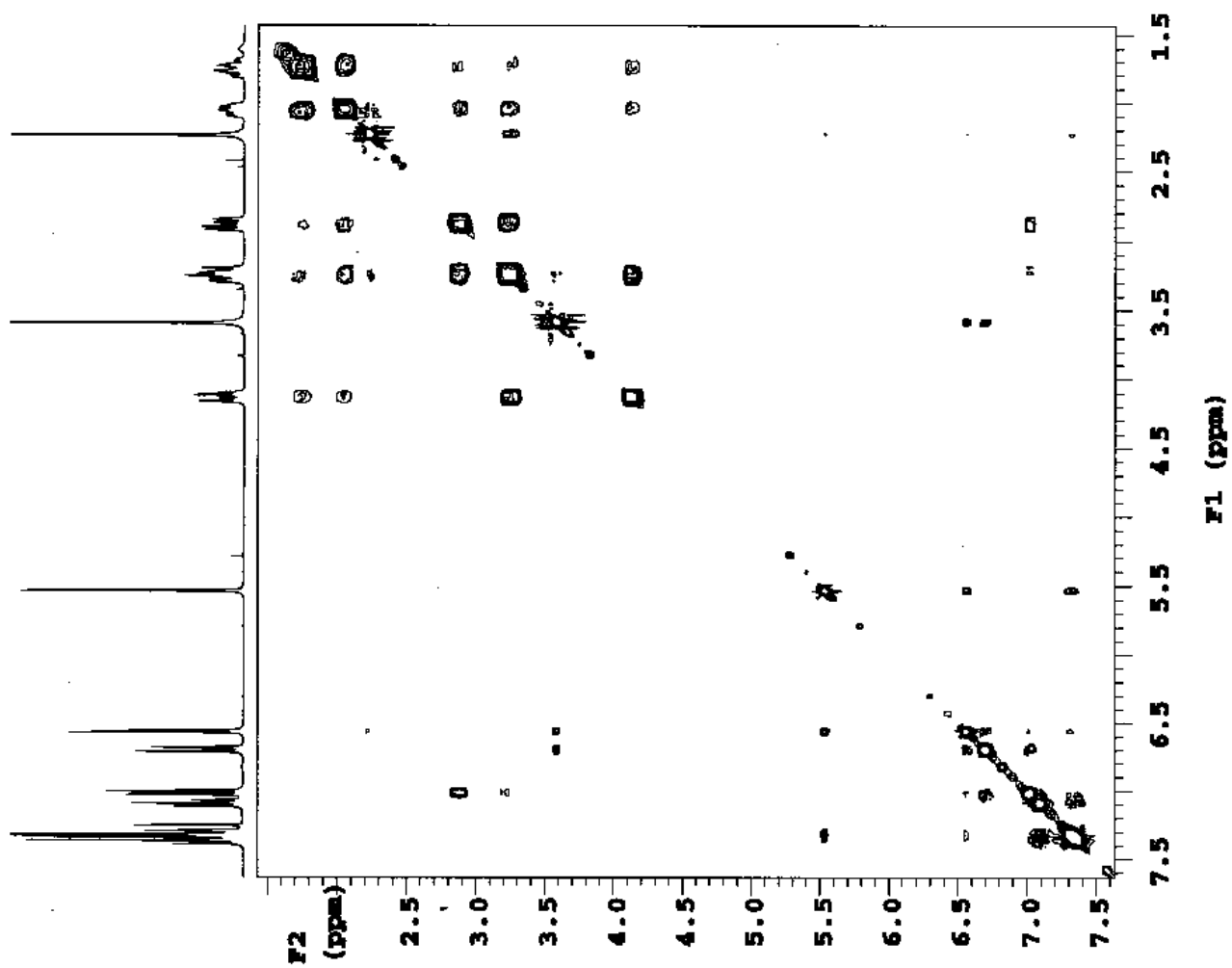


Imagen 15. Espectro NOESY de la azetobenzazepinona 6