



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

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

**“ SÍNTESIS Y CITOTÓXICIDAD ANTITUMORAL DE NUEVOS DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-
b]QUINOLINA. INFLUENCIA DEL SUSTITUYENTE 2-METILTIO SOBRE LA ACTIVIDAD
BIOLÓGICA ”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. FRANCISCO JOSÉ REYES RANGEL



TUTOR: **Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha**

AÑO: 2009.



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 Dr. Eugene Athanas Bratoeff Titeff

Vocal Dr. Joaquín Tamariz Mascarúa

Vocal Dr. Roberto Martínez

Vocal Dr. Rogelio Rodríguez Sotres

Secretario Dr. José Alfredo Vázquez Martínez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Departamento de Farmacia, Laboratorio 121, División de Estudios de Posgrado, Facultad de Química, UNAM.

ASESOR

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha

SUSTENTANTE

Q.F.B. Francisco José Reyes Rangel

Agradecimientos

Especialmente al Dr. Alfonso Lira Rocha por las oportunidades otorgadas en estos últimos 5 años: la oportunidad de hacer algo enriqueciendo mi formación profesional, la oportunidad de aprender de mis errores permitiéndome abandonar mis certezas al aceptar mis errores y principalmente por la oportunidad de conocer no al doctor sino al compañero.

Al M.C. Marco Antonio Loza Mejía, por tu amistad, consejos y además dejándome aprender de tus conocimientos que sin duda fueron un catalizador para mi formación enseñándome que la ciencia *“no es más que un refinamiento del pensamiento cotidiano”*.

A la Q. Georgina Duarte Lisci y M.C. Margarita Guzmán Villanueva por su valiosa ayuda en la realización de este proyecto, por su amistad y realización de los respectivos espectros.

A Q. Marisela Gutiérrez, M.C. Rosa Isela del Villar Morales, por la realización de los espectros de IR cercano y RMN respectivamente.

Especialmente al M.C. José Dolores Solano Becerra por su disposición en los estudios de Citotóxicidad y valiosas aportaciones en el desarrollo de este trabajo.

A cada uno de los profesores que integraron el jurado, por sus comentarios y sugerencias que enriquecieron de forma este trabajo.

A cada uno de mis compañeros del laboratorio 121 Adrian, Eliza, Heysol, Paco Jr. por sus sonrisas, por tolerar mi música y lo más importante por dejarme aprender de ustedes.

Aquellos que me permitieron crear vínculos duraderos, a mis amigos dentro y fuera del Posgrado Gaby, Paco, Yareli por enriquecer el “menú” de todos los días con su presencia y motivarme cuando sentía que me aplastaba el sistema....

“A mi madre y hermanos por enseñarme el camino por el cual camino!!”

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
ÍNDICE DE TABLAS	IV
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	3
2.1 Cáncer.....	3
2.2 Terapia Citotóxica del Cáncer.....	4
2.3 Agentes Intercalantes.....	6
2.4 Radioterapia, tratamiento inmunológico y cirugía.....	10
2.4.1 Radioterapia.....	10
2.4.2 Tratamiento inmunológico.....	11
2.4.3 Cirugía.....	11
2.5 Topoisomerasas.....	11
2.5.1 Mecanismo de acción de las topoisomerasas tipo II.....	12
2.5.2 Topoisomerasa II como blanco de fármacos citotóxicos.....	13
2.6 Acridinas y sus derivados.....	17
2.7 Ciclo celular y cáncer.....	19
2.7.1 Apoptosis y Necrosis.....	20
2.8 Tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas	22
2.8.1 Bioisosterismo.....	22
2.8.2 Tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas y sus derivados.....	23
3. Planteamiento de hipótesis.....	28
4. Hipótesis.....	33

5. Objetivos.....	34
5.1 Objetivo General	34
5.2 Objetivos Particulares	34, 35
6. Análisis de Resultados	36
6.1 Parte Química	36
6.1.1 Intermediarios.....	37
6.1.2 Ensayo No. 1.....	39
6.1.3 Ensayo No. 2.....	40
6.1.4 Ensayo No. 3.....	41
6.1.5 Ensayo No. 4.....	41
6.1.6 Ensayo No. 5.....	42
6.1.7 Ensayo No. 6.....	43
6.1.8 Ensayo No. 7.....	44
6.1.9 Ensayo No. 8.....	44
6.2 Descripción y caracterización.....	45
6.2.1 <i>Compuesto 9-Anilintiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7a)</i>	46
6.2.2 <i>Compuesto 9-[(3-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7b)</i>	47
6.2.3 <i>Compuesto 9-[(3-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7c)</i>	48
6.2.4 <i>Compuesto 9-[(4-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7d)</i>	48
6.2.5 <i>Compuesto 9-[(4-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7e)</i>	49
6.3 Compuestos Novedosos.....	50
6.3.1 Datos espectroscópicos de RMN de compuestos novedosos (7f-7i).....	50
6.3.2 <i>Compuesto 9-[(3-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina (7f)</i>	51
6.3.2.1 Propuesta de Mecanismo de Fragmentación.....	54
6.3.3 <i>Compuesto 9-[(3-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4-<i>b</i>]quinolina 7g</i>	54
6.3.3.1 Propuesta de Mecanismo de Fragmentación.....	56

6.3.4 Compuesto 9-[(4-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina 7h.....	56
6.3.4.1 Propuesta de Mecanismo de Fragmentación	58
6.3.5 Compuesto 9-[(4-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina 7i.....	58
6.3.5.1 Propuesta de Mecanismo de Fragmentación.....	59
6.4 Optimización de la reacción de desplazamiento del grupo metilsulfonilo con hidruro.....	60
6.5 Citotóxicidad en líneas celulares.....	60
6.6 Morfología celular.....	69
7. Parte Experimental.....	73
7.1 Reactivos y equipo.....	73
7.1.1 Cromatografía.....	73
7.2 Citotóxicidad en líneas celulares.....	74
7.3 Parte Química	75
7.4 Síntesis y Descripción.....	76
7.4.1 N-[(Etoxicarbonil)metil]ditiocarbamato de metilo (1).....	76
7.4.2 N-[(Etoxicarbonil)metil]iminoditiocarbamato de dimetilo (2).....	76
7.4.3 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (3).....	77
7.4.4 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4).....	78
7.4.5 Procedimiento general para la obtención de 2-(metiltio)-9-anilino-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas (5a-5i).....	79
7.4.6 Procedimiento general de oxidación mediante AcOH/H ₂ O ₂ (6a-6e).....	79
7.4.7 Procedimiento general de oxidación mediante AcOH/ Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O / H ₂ O ₂ (6f-6i).....	80
7.4.8 Procedimiento general para la remoción del grupo metilsulfonilo mediante NaBH ₄ (7a-7i)	81
7.4.9 9-[3-Metoxifenil]amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (7f).....	81
7.4.10 9-[3-Metilfenil]amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (7g)	82

7.4.11 9-[4-Metoxifenil]amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (7h).....	82
7.4.12 9-[4-Metilfenil]amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (7i).....	82
8. Conclusiones.....	84
9. Perspectivas.....	85
10. Bibliografía.....	86
11. Espectros.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

AR	Abundancia Relativa
CCF	Cromatografía de capa fina
CG	Cromatografía de Gases
CI₅₀	Concentración Inhibitoria 50
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIP	Direct Insertion Probe
EM	Espectrometría de Masas
ev	Electrón volts
FDA	Food and Drug Administration
Hz	Hertz
IE	Impacto electrónico
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
m/z	Relación masa-carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PhNCS	Isotiocianato de fenilo
PM	Peso Molecular
PPA	Ácido polifosfórico
ppm	Partes por millón
RMN ¹³C	Resonancia Magnética de Carbono 13
RMN ¹H	Resonancia Magnética de Hidrógeno

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Agentes Alquilantes.....	5
Figura 2. Antimetabolitos.....	5
Figura 3. Alcaloides de la vinca (<i>Catharanthus roseus</i>). Inhibidores mitóticos.....	6
Figura 4. Modelo de inserción (A) ADN. (B) ADN con el intercalador.....	7
Figura 5. Intercalantes Clásicos	8
Figura 6. Gráfica de Absortividad molar contra longitud de onda de bromuro de etidio, ADN y juntos	8
Figura 7. Agentes Intercalantes con actividad biológica, comúnmente usados como antitumorales.....	9
Figura 8. Amsacrina y su isómero de posición <i>o</i> -AMSA	10
Figura 9. Ciclo catalítico de la enzima ADN topoisomerasa II.....	13
Figura 10. Inhibidores catalíticos de la ADN topoisomerasa tipo II	15
Figura 11. Estabilizadores del complejo ADN-enzima	16
Figura 12. Farmacóforo postulado para los agentes intecalantes que como la amsacrina, forman un complejo ternario con el ADN y la topoisomerasa tipo II	17
Figura 13. Vía de detoxificación de la amsacrina (<i>m</i> -AMSA).....	18
Figura 14. Derivados de acridina que presentan actividad citotóxica	18
Figura 15. Puntos de control del ciclo celular	20
Figura 16. Aspectos morfológicos en células necróticas y apoptóticas.....	22
Figura 17. Acridina y su isómero tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	23
Figura 18 . derivados sintetizados por Lira Rocha y colaboradores, que presentan una cadena de alquilamino en posición 2	27
Figura 19. Derivados híbridos 9-anilino tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.....	29
Figura 20. Compuestos sintetizados por Guadarrama Salgado con modificación en la posición 2 del anillo de tiazol	31

Figura 21. Patrón de sustitución de la posición 2 de distintas series de derivados de 9-anilinothiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	62
Figura 22. Morfología de células control, vistas al microscopio	69
Figura 23. Morfología de células tumorales vistas al microscopio (10X), tratadas con el compuesto 7f	70
Figura 24. Comparación de morfología de células tumorales tratadas con 2 diferentes derivados de tiazoloquinolinas, a. G3Cl5P 15 μ M; b. G3Cl5P 90 μ M; c. 7f 15 μ M	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos inhibidores de la ADN topoisomerasa tipo II aprobados por FDA	14
Tabla 2. Algunos fármacos en investigación que inhiben a la ADN topoisomerasa II	14
Tabla 3. Actividad Citotóxica de derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas reportados por Álvarez-Ibarra	24
Tabla 4. Datos de actividad biológica de 9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolinas, Publicados por Lira Rocha y colaboradores.....	25
Tabla 5. Actividad Biológica de 9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolinas, publicados por Lira Rocha y colaboradores.....	26
Tabla 6. Comparación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas sustituidas	28
Tabla 7. Comparación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> y capacidad de unión al ADN de los derivados híbridos	30
Tabla 8. % de inhibición de crecimiento a una concentración de 80 μ M obtenidas en un ensayo MTT	32
Tabla 9. Compuestos propuestos para ser sintetizados	34, 35
Tabla 10. RMN 1 H, desplazamientos químicos (ppm) de los compuestos 7a-7e.....	45
Tabla 11. RMN 1 H, constantes de acoplamiento <i>J</i> (Hz) de los compuestos 7a-7e.....	46
Tabla 12. RMN 1 H, desplazamientos químicos (ppm) de nuevos derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina sintetizados	50
Tabla 13. RMN 1 H, constantes de acoplamiento <i>J</i> (Hz) de los compuestos 7f-7i	51
Tabla 14. Comparación de los desplazamientos químicos en RMN 13 C (ppm) de derivados de tiazoloquinolinas	53
Tabla 15. Comparación de % de Rendimiento, para el desplazamiento del grupo metilsulfonilo en derivados de 9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolinas	60
Tabla 16. Actividad citotóxica de compuestos 7a-7i (CI_{50} , μ M)	61
Tabla 17. Comparación de actividad citotóxica (CI_{50} , μ M) en líneas celulares de derivados de 9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolina	64
Tabla 18. Constantes Electrónicas e Hidrofóbicas de los sustituyentes empleados	68
Tabla 19. Sistemas de elusión empleados	74

RESUMEN

La alta incidencia de cáncer en México ⁽¹⁾ y en el mundo justifica la búsqueda de nuevas estructuras con actividad citotóxica. En este contexto, las 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolinas, son una opción interesante de estudio, debido a que varios miembros de esta familia han mostrado tener actividad citotóxica contra líneas celulares de tumores humanos. Es por ello que en este trabajo se obtuvo una nueva serie de compuestos (7a-7i), los cuales carecen de algún sustituyente en la posición 2 del sistema tricíclico, además, se determinó la importancia del patrón de sustitución presente en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina en la Citotóxicidad. Para evaluar esta actividad biológica, se empleó el modelo de citotóxicidad en un panel de tres líneas celulares (HeLa, SW620, K-562), utilizando ensayos dosis-respuesta gradual, mediante la determinación de MTT a 48 h de incubación.

De los nueve compuestos sintetizados solo los compuestos (7f-7i), tuvieron una actividad citotóxica moderada en algunas líneas celulares, estos resultados de citotóxicidad, fueron comparados con otras 4 series (A,B,C,D) ^(7,8,32) de derivados de 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolina, que presentan en su estructura un grupo 2-metiltio, una cadena alquílica flexible, un heterociclo saturado en la misma posición respectivamente, estos compuestos han demostrado tener de manera general una buena actividad citotóxica en las mismas líneas celulares, los resultados de contrastar estos resultados nos permitieron concluir que el patrón de sustitución en la posición 2 del núcleo de tiazoloquinolina es importante para la citotóxicidad más no crítica y que dicha actividad biológica puede ser modulada por este factor, además se realizaron observaciones al microscopio (10X), de las células tratadas con los compuestos sintetizados (7a-7i), observándose un cambio en la morfología celular, características encontradas en estos compuestos, que los convierte en candidatos interesantes para estudios bioquímicos más específicos (viabilidad celular, citometría de flujo, afinidad a DNA etc.)

Finalmente y de manera paralela se logró establecer una metodología para el desplazamiento del grupo metiltio presente en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina, bajo tratamiento con NaBH₄ en la última etapa de síntesis.

1. Introducción

Las principales causas de mortalidad entre los mexicanos están cambiando; mientras las enfermedades de tipo epidemiológico registran un descenso, los padecimientos como diabetes, cáncer, hipertensión y males cardiovasculares aumentan con una velocidad notable. Actualmente, el cáncer ocasiona el 12% de todas las muertes del país.⁽¹⁾

La quimioterapia del cáncer ha progresado enormemente desde su introducción en los años cuarenta. Sin embargo, debido a que la mayoría de los fármacos actúan sobre células en crecimiento, muchas células sanas (como médula ósea, epitelio intestinal, mucosa bucal) difícilmente evitan la toxicidad de estos fármacos. Además, la quimioterapia se enfrenta con el problema de la quimiorresistencia que presentan algunos tumores.⁽²⁻⁶⁾

Para tratar de disminuir estos problemas se realiza un esfuerzo por mejorar fármacos para que sean más específicos y menos tóxicos. Una forma de mejorar la actividad biológica de los fármacos es la modificación racional de su estructura para reducir los efectos colaterales y optimizar su selectividad por alguna diana en particular.⁽⁴⁾

Por otro lado, los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas son raramente reportados como antiespasmódicos y antiinflamatorios. Estos compuestos son isómeros de los derivados de acridinas, en los cuales un anillo de benceno es sustituido por un anillo de tiazol. En 1997, Álvarez-Ibarra reportó derivados de estos compuestos como potenciales antitumorales. En dicho trabajo se realizó una incorporación de un sustituyente alquildiamino en las posiciones 2 ó 9 y se determinó la actividad citotóxica de estos compuestos en tres líneas celulares; P-388 (neoplasma linfático murino), A-549 (carcinoma de pulmón) y HT-29 (tumor de colon humano).

Una nueva familia de derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolinas fue sintetizada y evaluada su citotóxicidad por Lira Rocha y colaboradores⁽⁷⁾. En estos derivados se incorpora en la posición 9 del sistema tricíclico el grupo anilina apropiadamente sustituido, y en la posición 2 los grupos metiltio o alquilamino. Se evaluó la actividad citotóxica en diferentes líneas celulares: dos líneas celulares cervicales (Hela y C-33), dos líneas celulares de cáncer colorrectal (SW480 y SW620) y en una línea celular de leucemia mielógena (K-562)⁽⁷⁾.

Los resultados de citotoxicidad observados para estos compuestos indicaron que la cadena 2-(*N,N*-dietilamino)etilamino, incorporada en la posición 2 del núcleo tricíclico, así como el grupo metiltio incorporado en la misma posición favorecen la actividad citotóxica. Además, cuando se incorporaron anillos heterocíclicos saturados a la misma posición, dicha actividad disminuyó sensiblemente⁽⁸⁾. Por todo lo anterior, se infiere que los sustituyentes en dicha posición tienen, aparentemente, un papel relevante en la actividad citotóxica y en la interacción con su diana biológica; por lo que, resultaría interesante remover cualquier sustituyente en dicha posición y observar como se ve afectada la actividad biológica.

El presente trabajo versa sobre la obtención de este tipo de derivados, carentes de sustituyentes en la posición 2 del triciclo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, y su evaluación citotóxica.

2. Antecedentes

2.1 Cáncer

El cáncer es una familia diversa de enfermedades, aproximadamente 200, que afecta un amplio intervalo de células y tejidos. A pesar de esta amplia diversidad, existen características comunes a todos los tipos de cáncer: crecimiento anormal de células, capacidad para invadir tejidos cercanos, alteraciones en el control del ciclo celular, una reducción en el proceso de apoptosis, evasión de la respuesta inmune, entre otras.

El proceso por el cual se inicia la formación de tumores o tumorigénesis, no es totalmente comprendido. Sin embargo, se sabe que la acumulación de mutaciones en genes clave puede desencadenar el proceso, ya que desde el punto de vista evolutivo, estas mutaciones favorecen el crecimiento de las células mutantes sobre sus vecinas. Las formas aberrantes de estos genes son denominadas oncogenes y contribuyen a los procesos de transformación, aumentando la división celular o disminuyendo la sensibilidad celular a la muerte. Se ha demostrado que una sola mutación no es capaz de desencadenar el proceso, sino que se requiere al menos de dos oncogenes activados para formar células con un diferente fenotipo. Esto llevó a postular que la tumorigénesis es un proceso de varios pasos intermedios antes de constituir neoplasmas letales⁽⁹⁾.

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

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

Una de las diferencias importantes, entre las células cancerosas y las normales es el rápido crecimiento de las primeras. Debido a que todos los tipos de cáncer requieren en cierta etapa de un crecimiento rápido y anormal, es posible escoger como objetivo las células cancerosas con agentes químicos, que trastornan o inhiben células en crecimiento. Este es el mecanismo de acción de muchos agentes quimioterapéuticos eficaces. Ciertas células normales como las de los folículos pilosos, aparato reproductor, epitelio intestinal y la médula ósea muestran también un rápido crecimiento. Así pues, casi todos los agentes quimioterapéuticos disponibles en la actualidad tienen serios efectos colaterales porque afectan directamente estas células normales de crecimiento rápido. Los efectos colaterales incluyen pérdida del cabello, esterilidad, destrucción del epitelio intestinal e inmunosupresión⁽²⁻⁶⁾.

Con el propósito de disminuir los efectos secundarios, se hace un esfuerzo por obtener fármacos que sean más específicos y menos tóxicos. Una forma de hacerlo es la modificación estructural de una molécula patrón para optimizar su actividad farmacológica. Este proceso de búsqueda suele ser más productivo debido a que existe una gran probabilidad de que la molécula, obtenida por modificación estructural a partir de una molécula patrón, presente actividad farmacológica. Además, ofrece ventajas económicas, ya que tanto los métodos de síntesis como de ensayos farmacológicos de análogos serán semejantes a los utilizados para la molécula patrón. Incluso si no llegan a conseguirse análogos más activos, se pueden obtener datos que permitan realizar una correlación estructura-actividad que, en consecuencia, permita avanzar en la detección de grupos farmacóforos⁽⁴⁾.

2.2 Terapia Citotóxica del Cáncer

La quimioterapia del cáncer ha progresado desde su introducción en los años cuarenta, fundamentalmente en los tumores de origen hematopoyético (leucemias y linfomas). Esta situación se debe a que, durante años, se utilizaron como modelos para el ensayo de la actividad citotóxica líneas celulares de leucemias linfocíticas, especialmente P-388 y L-1210. En consecuencia, los agentes que se mostraron activos en estos modelos lo fueron finalmente frente a neoplasias similares⁽⁴⁾. La terapia citotóxica del cáncer comprende una gran diversidad de agentes entre los cuales se pueden destacar los siguientes:

- a) Agentes alquilantes. Los radicales alquílicos cedidos por compuestos de este tipo se unen con el nitrógeno en posición 7 de las moléculas de guanina del DNA, de esta forma producen su desorganización estructural e incluso la formación de puentes entre cadenas próximas de dichas moléculas (*cross linking*)⁽¹⁰⁾ (Figura 1).

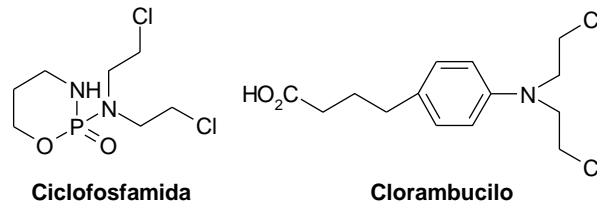


Figura 1. Agentes alquilantes

- b) Antimetabolitos. Son sustancias que compiten con metabolitos normales por determinados sistemas enzimáticos o bien contribuyen a formar metabolitos anormales que luego interrumpen el ciclo metabólico normal. Dentro de estos se incluyen análogos de la glutamina, de las purinas, pirimidinas y análogos del ácido fólico⁽¹⁰⁾ (Figura 2).

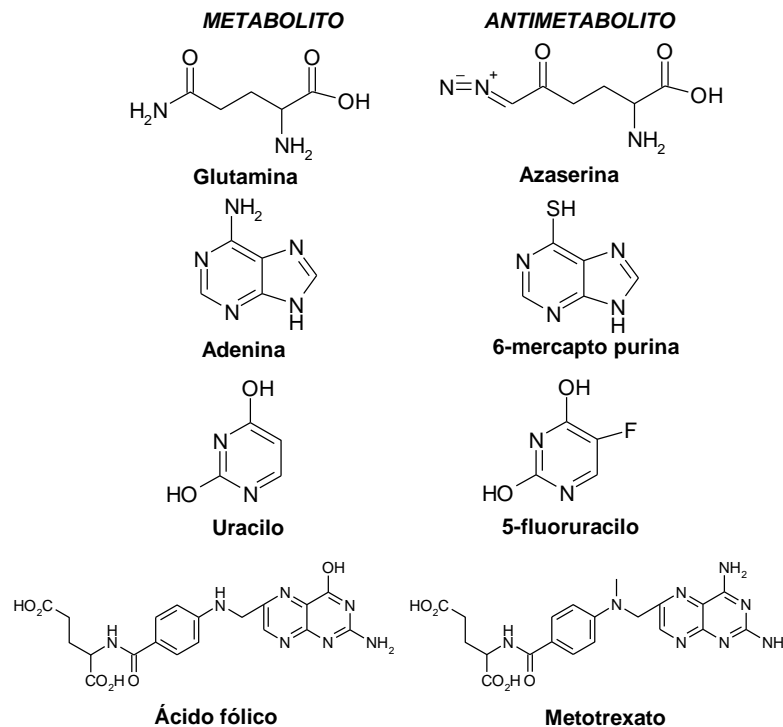
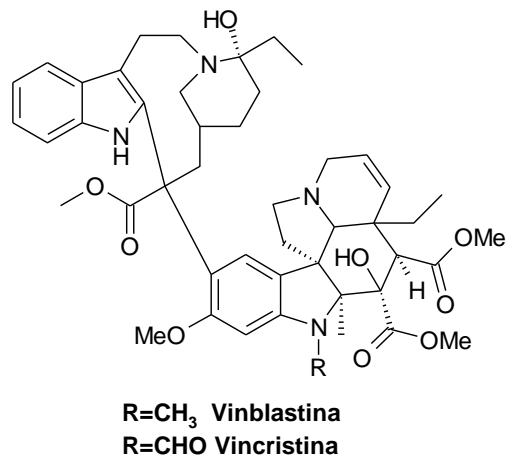


Figura 2. Antimetabolitos

- c) Corticosteroides. Suprimen la mitosis en los linfocitos por lo que son usados en el tratamiento de leucemia aguda en niños⁽¹⁰⁾.
- d) Hidroxiurea. Este compuesto y otros relacionados tienen su sitio primario de acción en la enzima ribonucleósido difosfato reductasa que cataliza la conversión reductiva de ribonucleósidos a desoxirribonucleótidos la cual es una etapa crucial en la biosíntesis del ADN⁽¹⁰⁾.
- e) Inhibidores mitóticos. Interfieren en la formación del huso acromático, produciendo la detención de la metafase. Su actividad se explica por unirse específicamente a la tubulina y bloquear la habilidad de la proteína para polimerizarse en microtúbulos⁽¹⁰⁾ (Figura 3).



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

- f) Agentes intercaladores. Son una clase de compuestos, que pueden interactuar con el ADN, uniéndose con sus cadenas cromofóricas en el surco mayor, menor o incluso en ambos. El modo de acción de estos compuestos se expone, a continuación, con mayor detalle.

2.3 Agentes intercalantes

Las interacciones de ciertos ligantes con los ácidos nucleicos han sido el objeto de intensas investigaciones durante los últimos 50 años. El descubrimiento del ácido desoxirribonucleico (ADN) y de sus propiedades estructurales que le

permiten funcionar como centro de la información genética, lleva a la elección de esta macromolécula como una diana para el desarrollo de compuestos con actividad biológica.

El arreglo secuencial de bases a lo largo de una cadena de azúcar-fosfato codifica la información genética de la célula y es altamente conservado durante la replicación y transcripción en parte gracias a la complementariedad de las bases nitrogenadas en la estructura de doble hélice. Los cambios en esta secuencia pueden resultar en alteraciones en la información genética que pueden ser letales o heredarse a la progenie.

En 1947, Mikaelis hizo notar la posible utilidad de los ligantes al ADN como posibles quimioterápicos y más adelante Kirk, Rauen y Goldberg examinando la estructura y las interacciones de la actinomicina D con los ácidos nucleicos determinaron el potencial del ADN como un posible objetivo para detener el metabolismo celular al interrumpir la replicación y/o la transcripción. Las propiedades citotóxicas observadas para los agentes que se unen al ADN llevaron al uso extensivo de estos compuestos como agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de muchos padecimientos incluyendo el cáncer. Dentro de los más empleados se encuentran los agentes intercalantes.

Estos agentes ejercen su acción mediante la inserción de un cromóforo policíclico planar entre los pares de bases adyacentes (Figura 4). Otras propiedades estructurales ejercen cierta influencia sobre la actividad biológica como son los sustituyentes presentes en el sistema policíclico, la geometría del complejo resultante; además, se ha visto cierta selectividad de ciertas secuencias de bases por algunos agentes⁽¹¹⁾.

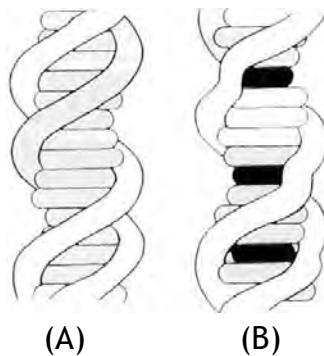


Figura 4. Modelo de inserción
(A) ADN. (B) ADN con el intercalador

Agentes intercalantes clásicos como el bromuro de etidio, la proflavina, la acridina o el naranja de acridina (Figura 5) fueron de los primeros en ser estudiados. Lerman⁽⁹⁾ observó que cuando se agregaba alguno de estos compuestos a una solución de ADN había un marcado cambio en la viscosidad y coeficiente de sedimentación del ADN, lo que lo llevó a establecer que un cierto cambio estructural en el ADN era promovido por este tipo de sustancias a través del mecanismo de intercalación formándose un complejo entre el ligante y el ADN.

La primera caracterización de este tipo de complejo fue presentada por Waring usando espectroscopía ultravioleta al observar que cuando se añadía bromuro de etidio a una solución de ADN había un cambio en el espectro de absorción de este último (Figura 6). Otros compuestos con actividad biológica como la actinomicina D y las antraciclinas mostraron tener un comportamiento similar.⁽¹²⁾

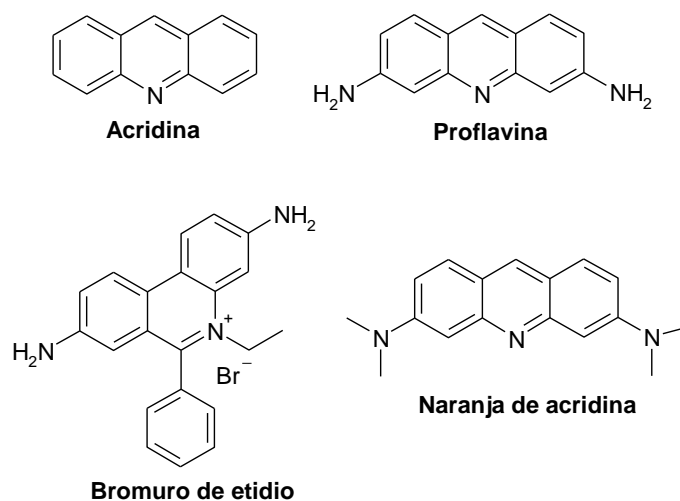


Figura 5. Intercalantes clásicos

El proceso de intercalación inicia con la transferencia del ligante de un ambiente acuoso a una zona hidrofóbica en los surcos del ADN, este proceso puede ser considerado como favorable debido a la naturaleza no polar del ligante, luego el ADN sufre un reacomodo pasando a un estado de transición donde las bases del ADN se separan 3.4 Å, para formar la cavidad donde se intercalará el ligando y una vez que el ligante se ha insertado, fuerzas no covalentes (complejo de transferencia de carga, interacciones de Van der Waals

y formación de puentes de hidrógeno) se encargan de mantener el complejo^(13,14).

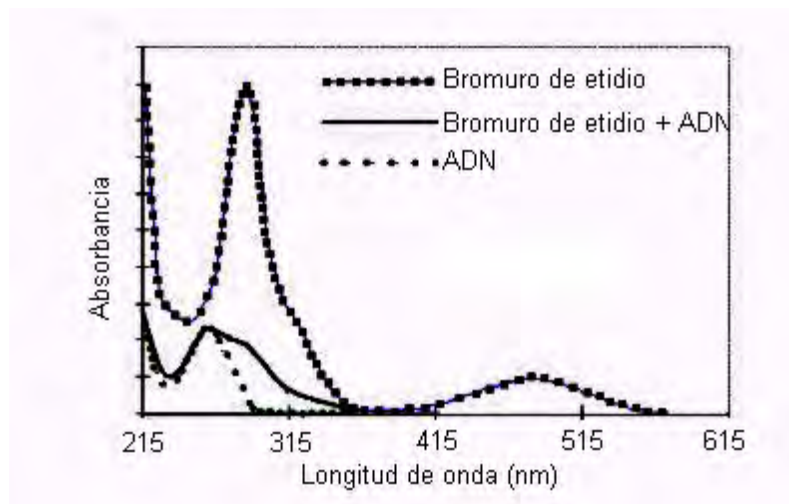


Figura 6. Gráfica de absorptividad molar contra longitud de onda de bromuro de etidio, ADN y juntos.

En general, los compuestos intercalantes del ADN que se usan como quimioterapéuticos tienen estructuras más complejas que el bromuro de etidio o la acridina (Figura 7). Además del cromóforo policíclico, la incorporación de sustituyentes al núcleo aromático tiene influencia en la geometría del complejo resultante o en la selectividad del ligante por algunas secuencias de bases, estos grupos pueden ser tan simples como un grupo metilo o metoxilo o complejos como secuencias de aminoácidos o azúcares, los cuales son importantes para la actividad biológica^(11,15,16).

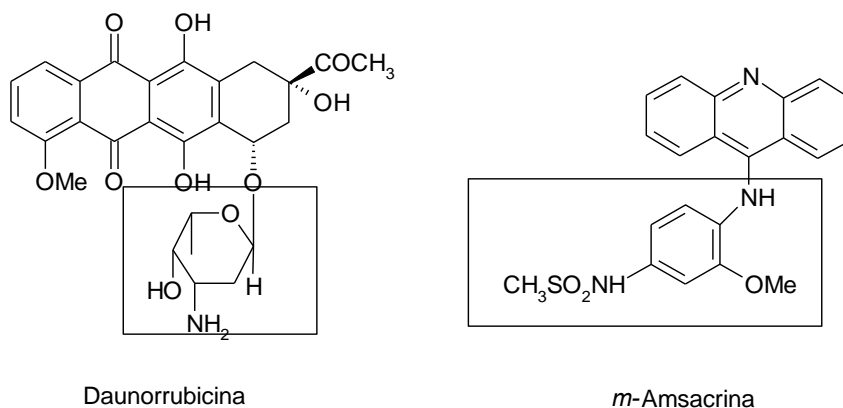


Figura 7. Agentes intercalantes con actividad biológica, comúnmente usados como antitumorales.

Sin embargo, la actividad antineoplásica de los intercalantes del ADN no está dada únicamente por su capacidad de intercalarse entre las bases⁽¹⁵⁾. Esto queda ejemplificado al comparar la actividad de la amsacrina ó *m*-AMSA respecto a su isómero de posición *o*-AMSA (Figura 8). Éste último tiene una afinidad 10 veces mayor al ADN en comparación a la amsacrina (*m*-AMSA); sin embargo, ésta tiene mayor actividad citotóxica que *o*-AMSA. La diferencia estriba en que la *m*-AMSA es capaz de afectar la actividad de la enzima ADN topoisomerasa II. Las ADN topoisomerasas catalizan la ruptura transitoria y unión de las hebras del ADN, las enzimas del tipo I se unen a una sola hebra mientras que las del tipo II se unen a ambas. Las topoisomerasas controlan el superenrollamiento y son necesarias para reparar los “nudos” que se forman en el ADN durante el enrollamiento⁽¹⁶⁾.

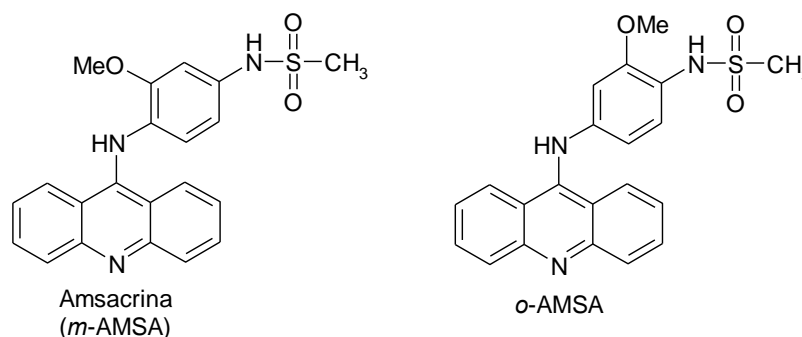


Figura 8. Amsacrina y su isómero de posición *o*-AMSA

2.4 Radioterapia, tratamiento inmunológico y cirugía.

2.4.1 Radioterapia

La radioterapia es una terapéutica física basada en el uso de las radiaciones ionizantes y su interacción con la materia. Estas radiaciones penetran en los tejidos a diferentes profundidades de acuerdo con sus características físicas y depositan su energía en una serie de reacciones fisicoquímicas que comienzan con la ionización, generalmente de moléculas de agua, y finalizan dañando al ADN, interfiriendo de esta forma en la división celular. Este proceso no es selectivo y ocurre tanto en las células normales como en las tumorales.

2.4.2 Tratamiento inmunológico

- Terapia de interferón: Los interferones son un grupo de sustancias que el cuerpo produce normalmente y que, a veces, se utilizan en el tratamiento de la leucemia crónica. Actúan mediante la desaceleración del crecimiento de las células leucémicas, ayudando al sistema inmunológico del cuerpo a combatir la enfermedad.
- Trasplante de células madres. Como se señaló anteriormente, la quimioterapia puede dañar las células normales, al igual que las células cancerosas: el trasplante de células madres permite a los médicos utilizar dosis elevadas en quimioterapia necesarias para lograr un tratamiento eficaz. Aunque los medicamentos destruyen la médula ósea del paciente, las células madres trasplantadas pueden restaurar la médula ósea productora de sangre.

2.4.3 Cirugía

A diferencia de la mayoría de otros tumores cancerosos, la cirugía no se utiliza para tratar la leucemia. Esto se debe a que la leucemia es una enfermedad de la sangre y de la médula ósea, por lo que no se puede curar mediante una operación. No obstante, la cirugía puede utilizarse para ayudar a administrar el tratamiento mediante introducción quirúrgica de un tubo plástico en una vena mayor. Este tubo, llamado dispositivo de acceso venoso, permite la administración de medicamentos quimioterapéuticos o de otro tipo, así como la toma de muestras de sangre, sin la necesidad de pinchar al paciente con la aguja varias veces. En algunos casos de leucemia crónica se emplea la cirugía para extirpar el bazo^(4,6,17).

2.5 Topoisomerasas

Las topoisomerasas, como ya se mencionó, son enzimas que pueden cambiar el estado topológico del ADN a través de la ruptura transitoria y unión de las hebras del ADN. Estas enzimas alteran la orientación en el espacio de la doble hélice, siendo necesarias para reparar los “nudos” que se forman en el ADN durante el enrollamiento, por lo cual son esenciales para la supervivencia de las células, ya que participan en procesos tan importantes como la replicación, transcripción y recombinación del ADN.

Existen dos clases de topoisomerasas:

1. Topoisomerasas tipo I (Tipo I). Actúan provocando el rompimiento transitorio de una hebra de ADN, que permite controlar la rotación (o el paso de una hebra por en medio) del corte por la propia enzima. Modifican el número de enlace del ADN de uno en uno.
2. Topoisomerasas tipo II (Tipo II). Actúan provocando el rompimiento transitorio de dos hebras de ADN, que permite el paso de otra doble hebra a través del rompimiento. Modifica el número de enlace del ADN en paso de 2

En los años 1980's se descubrió que las topoisomerasas tipo II eran la diana primaria de algunos fármacos citotóxicos. Estos fármacos actúan de manera muy especial, ya que en lugar de impedir que las topoisomerasas tipo II desempeñen sus funciones, transforman a las topoisomerasas en toxinas letales que dañan al ADN⁽¹⁸⁻²³⁾.

2.5.1 Mecanismo de acción de las topoisomerasas tipo II.

La actividad enzimática de las topoisomerasas tipo II se puede describir en seis pasos⁽²³⁾ (Figura 9):

Paso 1: Unión al ADN. Las topoisomerasas tipo II inician su actividad enzimática uniéndose al ADN. La interacción es gobernada por dos propiedades de la doble hélice:

- Ciertas secuencias específicas de nucleótidos son reconocidas por las topoisomerasas tipo II.
- La estructura topológica. Las topoisomerasas tipo II, son capaces de distinguir la topología del ADN, es decir, distinguen regiones superenrolladas de las relajadas, interactuando preferentemente con las regiones superenrolladas.

Paso 2: Formación del complejo previo a la traslocación. Hay formación de un complejo transitorio entre la enzima y el ADN en el que la enzima causa la transferencia del fosfoéster en la posición 5' hacia el hidroxilo de una tirosina.

Paso 3: Traslocación. La topoisomerasa experimenta un cambio conformacional que conduce el paso de una doble hebra de ADN, a través del corte transitorio formado en el paso anterior. En este paso se incorpora ATP, lo cual induce la traslocación.

Paso 4: Post-traslocación. En este paso se establece un equilibrio ruptura-uniión de las hebras similar al del paso 2.

Paso 5: Hidrólisis de ATP. La hidrólisis de ATP promueve la separación del complejo ADN-Enzima, que ocurre cuando el ADN esta resellado.

Paso 6: Reciclaje de la enzima.

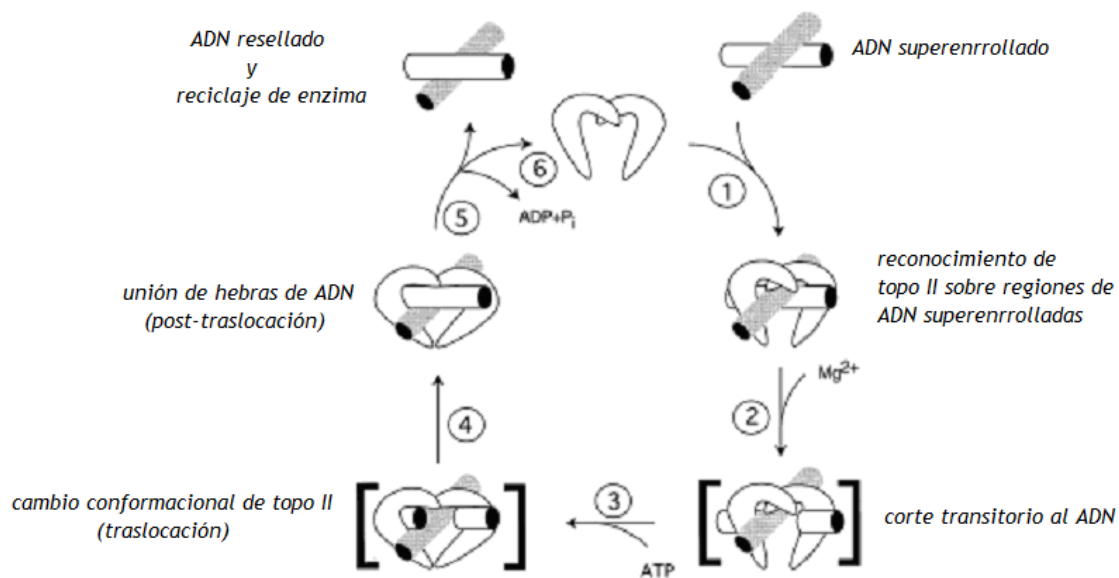


Figura 9. Ciclo catalítico de la enzima ADN topoisomerasa II

2.5.2 Topoisomerasa II como blanco de fármacos citotóxicos.

La ADN topoisomerasa II es blanco de algunos fármacos usados en el tratamiento del cáncer. En la actualidad existen seis fármacos de este tipo que han sido aprobados por la FDA (Tabla 1). Estos mismos se encuentran dentro del Cuadro Básico de Medicamentos. Otros compuestos que inhiben a la ADN topoisomerasa II que también han mostrado actividad antitumoral, son fármacos en investigación o que se encuentran en fases clínicas (Tabla 2).

Tabla 1. Fármacos inhibidores de la ADN topoisomerasa II aprobados por la FDA

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

(*) Tratamiento de primera elección

Tabla 2. Algunos fármacos en investigación que inhiben a la ADN topoisomerasa II

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

* Se usa en la clínica

Dentro de los inhibidores de la ADN topoisomerasa II existen dos tipos, los inhibidores catalíticos y los estabilizadores del complejo ADN-enzima. Los

primeros (Figura 10) actúan inhibiendo algún paso del ciclo catalítico de la enzima, por ejemplo, las bis-dioxopiperazinas actúan inhibiendo el paso 5 al unirse a la región de unión al ATP.

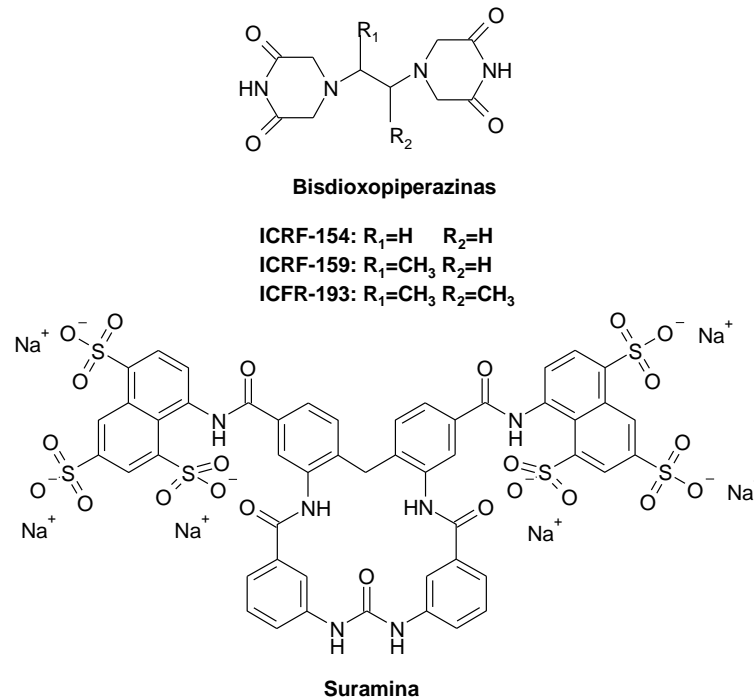


Figura 10. Inhibidores catalíticos de la ADN topoisomerasa II

A diferencia de los inhibidores catalíticos los fármacos estabilizadores del complejo ADN-enzima, actúan estabilizando el complejo tóxico en el cual las hebras de ADN permanecen rotas. Al estar rotas las hebras la respuesta celular incluye:

- Activación de las rutas de reparación. Durante el proceso de reparación del ADN es posible que haya inserciones o ablaciones de bases, las cuales pueden darse en genes vitales para el desarrollo celular.
- Alteraciones en el ciclo celular. En células que tienen copias funcionales de p53, el producto del gen supresor de tumores p53, se ha observado interrupción del ciclo celular en las fases G₁ y G₂ después del tratamiento con estabilizadores del complejo ADN-topoisomerasa II. Sin embargo, se ha demostrado que el etopósido y la doxorubicina son capaces de inducir apoptosis independientemente del estado de p53, por lo que no

está claro que tipo de mecanismos intervienen en la interrupción del ciclo celular.

- Activación de otras vías de señalización. El daño inducido puede activar otra serie de fenómenos como la elevación de la concentración de ceramidas lo cual puede conducir a apoptosis, activación de fosfatasa y cinasa, sin embargo aún no está claro el modo en que pudieran influir en la actividad citotóxica.

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

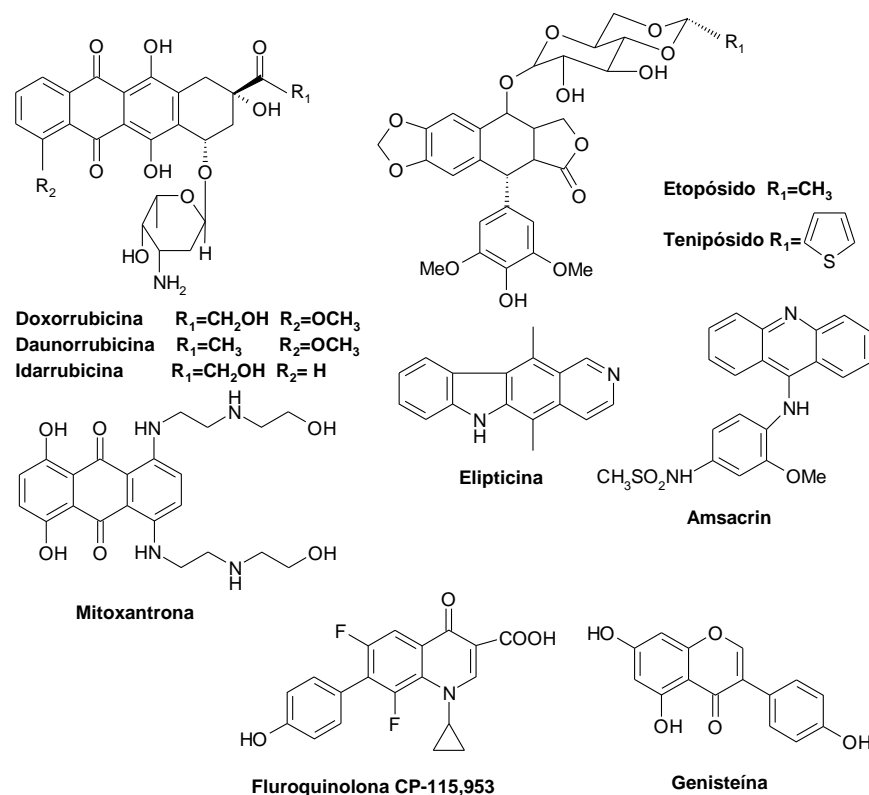


Figura 11. Estabilizadores del complejo ADN-enzima

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

2.6 Acridinas y sus derivados.

Los agentes quimioterapéuticos basados en el núcleo de acridina incluyen compuestos antimaláricos como mepacrina y azacrina; compuestos antibacterianos como la proflavina y aminacrina, así como fármacos anticancerígenos. El primer derivado de acridina usado clínicamente en el tratamiento de la leucemia fue la amsacrina (*m*-AMSA) que es un miembro de la gran familia de las 9-anilinoacridinas.

El mecanismo de acción de la amsacrina es la formación de un complejo ternario como se describió en la sección anterior. Se ha postulado que la estructura del farmacóforo para los agentes intercalantes que, como la amsacrina forman un complejo ternario con el ADN y la topoisomerasa II, puede considerarse de la siguiente forma:

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

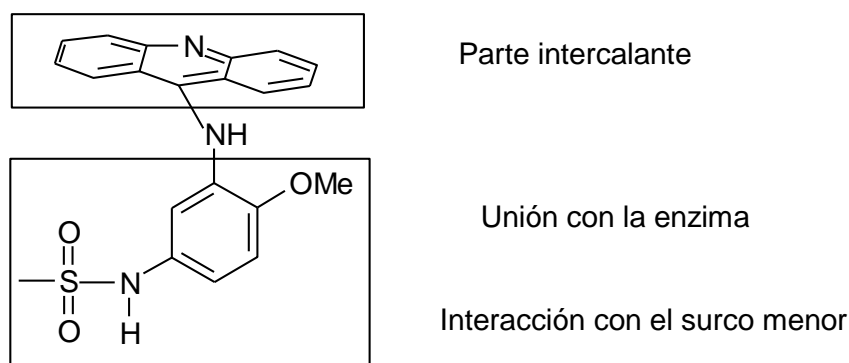


Figura 12. Farmacóforo postulado para los agentes intercalantes, que como la amsacrina, forman un complejo ternario con el ADN y la topoisomerasa tipo II.

La vía de detoxificación propuesta para la amsacrina es la siguiente:

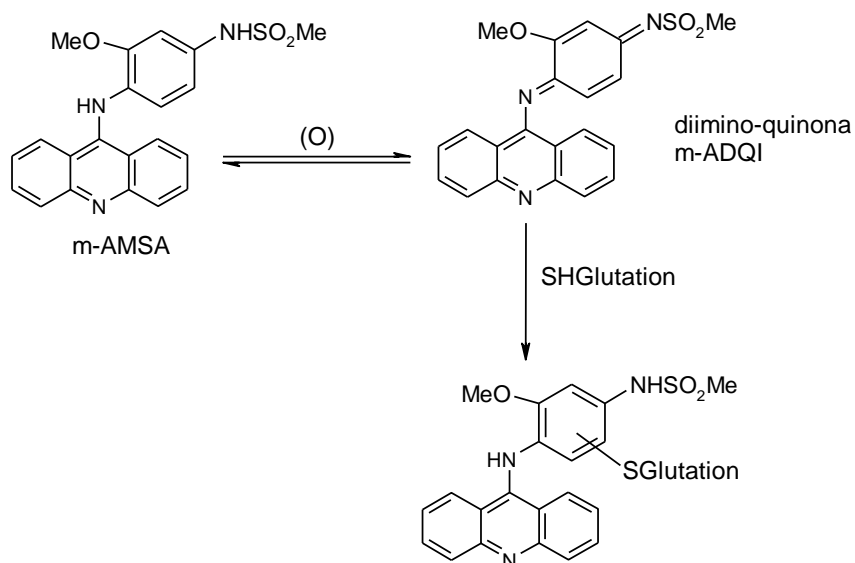


Figura 13. Vía de detoxificación de la amsacrina (*m*-AMSA).⁽²⁴⁾

La amsacrina es fácilmente metabolizada por lo cual tiene una vida media corta en plasma. Para prevenir esta oxidación se han preparado nuevos análogos en los cuales los sustituyentes del anillo de anilina no pueden formar el intermediario diimino-quinona. Entre ellos el más notable es AHMA (Figura 14) que resultó ser más potente que *m*-AMSA, y con una mayor vida media en plasma. Los derivados de acridina han sido extensamente estudiados como potenciales agentes anticancerígenos. Otro derivado importante es DACA (Figura 14)⁽²⁵⁻²⁹⁾.

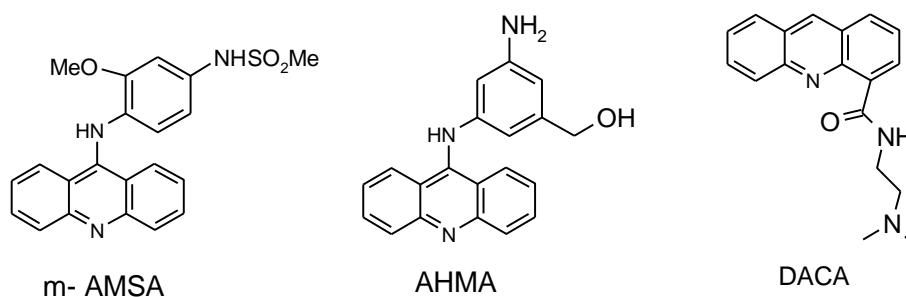


Figura 14. Derivados de acridina que presentan actividad citotóxica.

2.7 Ciclo Celular y cáncer.

En condiciones normales existe un equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis (Figura 15), pero en el cáncer aparecen mutaciones que dan lugar a la activación de *oncogenes* (genes que codifican proteínas del ciclo, que favorecen la proliferación celular) o a la inactivación de *genes supresores* (codifican proteínas que frenan el ciclo celular). De este modo el equilibrio se rompe y la balanza se decanta hacia la proliferación desenfrenada y la inmortalización de la línea celular.

Una manera de regular este equilibrio, existen puntos de control en el ciclo celular que aseguran la progresión sin fallos de éste, evaluando el correcto avance de procesos críticos en el ciclo, como son la replicación del ADN o la segregación de cromosomas. Estas rutas de verificación presentan dos características, y es que son *transitorias* (desaparecen una vez resuelto el problema que las puso en marcha) y que pueden *caducar* si el problema no es resuelto al cabo de un tiempo. Estos puntos de control se describen de manera general a continuación⁽³⁰⁾:

- Punto de control de ADN no replicado, en la entrada de fase M. Actúa inhibiendo a Cdc25, el cual es un activador de la Ciclina A/B Cdk1. (Figura 15)
- Punto de control de ensamblaje del huso (checkpoint de mitosis), antes de la anafase. Se activa una proteína Mad2 que impide la degradación de la segurina, lo que impide la segregación de las cromátidas hermanas hasta que todas se hayan unido al huso. Es pues el punto de control de la separación de cromosomas, al final de la mitosis. En caso de que fuera incorrecto, se impediría la degradación de la ciclina B por parte de APC. (Figura 15)
- Punto de control del daño del ADN, en G₁, S o G₂. El daño celular activa a p53, proteína que favorece la reparación el ADN, detiene el ciclo promoviendo la transcripción de p21, inhibidor de Cdk, y, en el caso de que todo falle, estimula la apoptosis⁽³⁰⁾. (Figura 15)

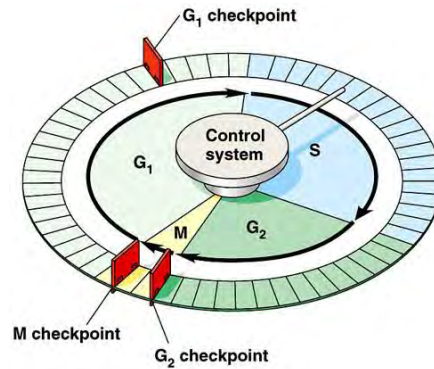


Figura 15 . Puntos de control del ciclo celular

Se cree que muchos tumores son el resultado de una multitud de pasos, de los que una alteración mutagénica no reparada del ADN podría ser el primer paso. Las alteraciones resultantes hacen que las células inicien un proceso de proliferación descontrolada e invadan tejidos normales. El desarrollo de un tumor maligno requiere de muchas transformaciones genéticas. La alteración genética progresa, reduciendo cada vez más la capacidad de respuesta de las células al mecanismo normal regulador del ciclo⁽³²⁾.

Los genes que participan de la carcinogénesis resultan de la transformación de los genes normalmente implicados en el control del ciclo celular, la reparación de daños en el ADN y la adherencia entre células vecinas. Para que la célula se transforme en neoplásica se requieren, al menos, 2 mutaciones: una en un gen supresor de tumores y otra en un protooncogén, que dé lugar, entonces, a un oncogén.

2.7.1 Apoptosis y Necrosis

Dos formas de muerte celular son habituales en el organismo: necrosis y apoptosis. Las características morfológicas de ambas permiten, en la mayoría de los tejidos, establecer claras diferencias, de esta manera la apoptosis, desde el punto de vista morfológico, presenta cuatro fases que se describen a continuación (Figura 16):

- Fase de Precondensación. La inducción de los genes requeridos para la apoptosis determina la transcripción y translación activa en proteínas y enzimas.

- Fase de Condensación. Se produce una reducción del volumen de núcleo y citoplasma, con condensación de la cromatina en el margen nuclear. Hay una pérdida de las interacciones entre la célula apoptótica y las vecinas.
- Fase de Fragmentación. Las proteínas de la matriz nuclear se solubilizan, lo que hace al ADN susceptible de degradación por endonucleasas dependientes de calcio y magnesio. Estas enzimas degradan la cromatina nuclear y originan los llamados cuerpos apoptóticos, que son múltiples y muestran un patrón en escalera en la electroforesis. Estos corpúsculos aumentan progresivamente en número hasta que el núcleo se hace picnótico.
- Fase de Fagocitosis. Los cuerpos apoptóticos son fagocitados y degradados por las enzimas lisosomales de las células vecinas sin respuesta inflamatoria alguna, por lo que no queda ni rastro de su presencia unas horas tras el comienzo del proceso.

Otra forma de muerte celular se da por el proceso llamado necrosis celular, cuyas diferencias de los procesos apoptóticos se mencionan a continuación:

Mientras la apoptosis está caracterizada por una activa participación de la propia célula que está falleciendo, incluso hasta el punto de sintetizar de novo (en algunos tipos celulares) los efectores de su muerte celular, la necrosis es un proceso pasivo, catabólico y degenerativo.

La necrosis también recibe otros nombres como muerte accidental u oncosis. La necrosis generalmente representa una respuesta celular a una lesión y puede ser inducida por una sobredosis de agentes citotóxicos, un choque de pH, hipertermia, hipoxia, trauma directo, un choque ácido, etc. Un acontecimiento temprano de la necrosis es la pérdida de control de la permeabilidad de la membrana plasmática. Como consecuencia de ello se establece un flujo anormal de iones hacia el interior celular que va acompañado de la entrada pasiva de agua. La entrada de agua provoca que tanto la célula como algunos de sus orgánulos membranosos (mitocondria, retículo endoplásmico, etc) se hinchen y finalmente estallen.

Después la membrana plasmática se rompe y se liberan constituyentes citoplásmicos, incluyendo enzimas proteolíticas (Figura 16). En la cromatina

nuclear aparecen áreas de condensación desigual y en núcleo sufre una lenta disolución (cariolisis). La necrosis desencadena una reacción inflamatoria en el tejido que a menudo produce formación de cicatriz. La degradación del DNA no es tan excesiva durante la necrosis como en la apoptosis, y los productos de degradación son de tamaño variable que forman barridos en los geles de electroforesis.

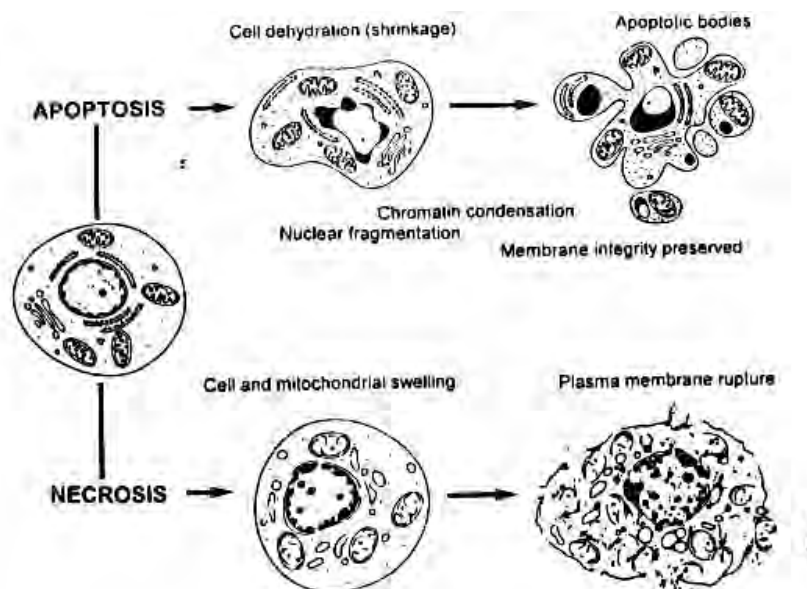


Figura 16. Aspectos morfológicos de la membrana en células necróticas y apoptóticas.

2.8 Tiazolo[5,4-b]quinolinas.

2.8.1 Bioisosterismo.

El isosterismo fue inicialmente un concepto puramente químico, en un intento de aplicar a las moléculas el hecho de que, en el caso de los átomos, una distribución electrónica similar conduce a propiedades fisicoquímicas similares. Así, Langmuir⁽⁴⁾ observó la semejanza de propiedades fisicoquímicas (densidad, constante dieléctrica, solubilidad, etc.) que presentan ciertas moléculas, como el nitrógeno y el monóxido de carbono; él atribuyó dicha semejanza a que estos compuestos poseen el mismo número de átomos y de electrones de valencia y los definió como isósteros. Erlenmeyer⁽⁴⁾ propuso expandir el concepto de isoterismo para incluir ciertos grupos que son aparentemente muy diferentes, pero que en

la práctica poseen propiedades fisicoquímicas semejantes. La similitud de las propiedades físicas entre el benceno y el tiofeno llevó también a proponer la existencia de un isosterismo entre el grupo vinilo y el átomo de azufre. Considerando la utilización del isosterismo como criterio de preparación de análogos en el diseño de fármacos, Friedman⁽⁴⁾ propuso llamar bioisósteros a aquellos compuestos que *“cumplan alguna de las definiciones de isosterismo y posean el mismo tipo de actividad biológica”*. De forma más concreta, Thornber⁽⁴⁾ propuso definir los bioisósteros como *“grupos o moléculas que tienen propiedades físicas y químicas semejantes; y que producen efectos fisiológicos aproximadamente similares”*⁽⁴⁾.

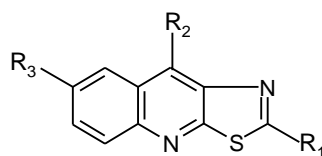
2.8.2 Tiazolo[5,4-*b*]quinolinas y sus derivados.

Álvarez-Ibarra y colaboradores⁽³²⁾ sintetizaron y evaluaron la actividad antitumoral de derivados de tiazolo [5,4-*b*] quinolinas. Estos compuestos habían sido reportados como potenciales antiespasmódicos, antiinflamatorios y colorantes. Estos compuestos son isósteros de los derivados de acridinas en los cuales un anillo de benceno es sustituido por un anillo de tiazol (Figura 17). En 1997, Álvarez-Ibarra⁽³²⁾ reportó derivados de estos compuestos como potenciales antitumorales, realizando una incorporación de un sustituyente alquildiamino en las posiciones 2 ó 9. Se determinó la actividad citotóxica de estos compuestos en tres líneas celulares; P-388 (neoplasma linfático murino), A-549 (carcinoma de pulmón) y HT-29 (tumor de colón humano), sus resultados se reproducen en la Tabla 3.



Figura 17. Acridina y su isoster Tiazolo[5,4-*b*]quinolina

Tabla 3. Actividad citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas reportados por Álvarez-Ibarra⁽³²⁾.

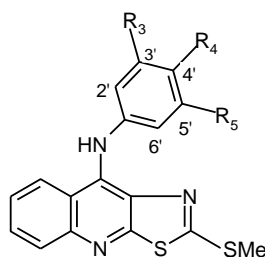


Compuesto	Sustituyentes			Actividad Biológica CI ₅₀ (μM)		
	R ₁	R ₂	R ₃	Línea celular P-388	Línea celular A-549	Línea celular HT-29
A	SO ₂ Me	OH	H	32.4	32.4	32.4
B	SO ₂ Me	OH	Me	>60.4	> 60.4	>60.4
C	SO ₂ Me	OH	F	6	6	6
D	α	OH	H	5.76	7.22	7.22
E	α	OH	Me	3.3	5.6	3.3
F	α	OH	F	1.65	2.9	5
G	SMe	β	H	6	6	6
H	SMe	β	Me	5.4	5.4	5.4
I	SMe	γ	H	12.1	12.1	12.1

α = NH(CH₂)₂NEt₂, β = NH(CH₂)₃NEt₂, γ = MeN(CH₂)₃NMe₂, CI₅₀ = Concentración en μM de compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular.

Una nueva familia de derivados de 9-anilino tiazolo[5,4-*b*]quinolinas fue sintetizada y evaluada su actividad biológica por Lira Rocha y colaboradores⁽³³⁻³⁶⁾. En estos derivados se incorpora en la posición 9 del sistema tricíclico el grupo anilino adecuadamente sustituido, y en la posición 2 grupos metiltilio o alquildiamino. Se evaluó la actividad citotóxica en diferentes líneas celulares: dos líneas celulares cervicales (Hela y C-33), dos líneas celulares de cáncer colorrectal (SW480 y SW620) y en una línea celular de leucemia mielógena (K-562). Los datos de citotoxicidad de dichos compuestos se listan en las Tablas 4 y 5.

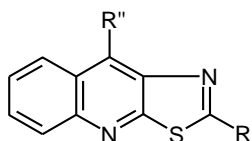
Tabla 4. Datos de actividad biológica de 9-anilino[5,4-*b*]quinolinas publicados por Lira Rocha y Colaboradores⁽⁷⁾.



Compuesto	Actividad Biológica CI ₅₀ (μM)							
	R ₃	R ₄	R ₅	Líneas celulares				
				Hela	C-33	SW480	SW620	K-562
1	H	H	H	>200	153.7	>200	>200	>200
2	NH ₂	H	H	176.5	138.8	>200	>200	143.4
3	NHAc	H	H	>200	>200	>200	153.9	85.3
4	NH ₂	H	CH ₂ OH	>200	>200	>200	183.9	143.4
5	Cl	H	H	69.4	129.3	110.7	129.7	80.3
6	CN	H	H	7.8	15.0	28.7	43.8	8.0
7	OMe	H	H	25.3	75.4	66.7	26.6	22.2
8	CF ₃	H	H	43.3	59.7	65.1	62.3	67.1
9	NO ₂	H	H	152.2	>200	>200	160.82	>200
10	OH	H	H	>200	146.1	146.6	146.3	173.3
11	NHMe	H	H	4.2	133.9	101.4	118.7	46.9
12	χ	H	H	21.7	19.9	13.6	19.7	12.5
13	H	Cl	H	123.8	>200	>200	145.9	79.5
14	H	OMe	H	200	>200	>200	110.8	77.2
15	H	CN	H	140.0	>200	>200	>200	120.0
		<i>m</i> -AMSA		9.5	8.8	27.7	16.7	19.9

χ = -(CO)EDA, EDA = 2-((*N,N*-dietilamino)etilamino), CI₅₀= Concentración en μM de compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular.

Tabla 5. Actividad biológica de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolinas, publicados por Lira Rocha y colaboradores ⁽⁷⁾.



Compuesto	Sustituyente		Actividad biológica CI ₅₀ (μM)				
	R'	R''	Líneas celulares				
			Hela	C-33	SW480	SW620	K-562
16	SCH ₃	EDA	12.9	9.6	27.9	16.8	7.8
17	EDA	Cl	12.9	9.4	19.5	15.2	9.3
18	EDA	-C ₆ H ₅	15.9	22.4	37.7	21.6	16.8
	<i>m</i> -AMSA		9.5	8.8	27.7	16.7	19.9

CI₅₀ = Concentración en μM de compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular

De estos resultados se estableció que los compuestos más activos son: el compuesto 6 que tiene un grupo nitrilo en la posición 3' del anillo de anilina y los compuestos 12, 16, 17 y 18 que tienen una cadena de alquilamino en su estructura. En términos generales, podemos observar que los compuestos con sustituyentes en el anillo de anilina en la posición 3' son más activos que los que tienen sustituyente en la posición 4'. La cadena 2-(*N,N*-dietilamino)etilamina favorece la actividad citotóxica, ya que los compuestos 12, 16, 17 y 18 presentan una actividad comparable al de la amsacrina, a pesar de que hay un cambio en la posición de la cadena alquilamina⁽³³⁻³⁶⁾.

Observando que la presencia de una cadena lateral en la posición 2 del sistema tricíclico favorecía la actividad citotóxica de estos derivados, estudios desarrollados por este mismo grupo de trabajo diseñaron una nueva serie de compuestos de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina, en los cuales dichos derivados contenían en posición 2 del sistema de tiazolo[5,4-*b*]quinolina una cadena lateral, flexible de *N,N*-dietilaminopropilamino y apropiadamente sustituidos en posición 3' y 4' del anillo de anilina con grupos (-Cl, -CN, -OMe)⁽³⁷⁾ (Figura 18). Ello con el objetivo de determinar como la presencia de la cadena de alquilamino y del patrón de sustitución en el anillo de anilina afectaban en la actividad citotóxica de estos derivados.

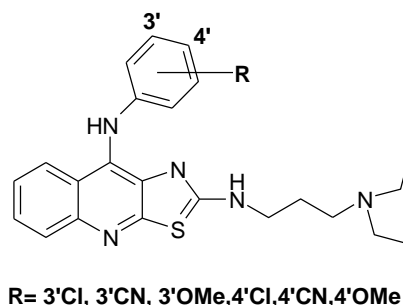


Figura 18. Derivados sintetizados por Lira Rocha y colaboradores, que presentan una cadena de alquilamino en posición 2

En términos generales, se observó que estos nuevos compuestos presentaban mayor actividad citotóxica que sus derivados 2-metilthio, incluso en algunos casos presentaban mayor actividad que la amsacrina (compuesto de referencia).

Dado lo anterior, se realizó la síntesis y evaluación citotóxica de nuevos derivados de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina, en los cuales se incorporó en la posición 2 del núcleo de tiazoloquinolina un heterociclo saturado (4-metil-1-piperazinil, 1-piperidinil, 1-morfolinil)⁽⁸⁾ (Figura 20 pág.31) con el objetivo de disminuir los grados de libertad de la cadena lateral en dicha posición y determinar como este factor influye en la citotoxicidad de estos derivados. Los resultados biológicos de esta nueva serie de compuestos indicaron que esta modificación estructural disminuía sensiblemente la actividad citotóxica en comparación con los derivados de cadena alifática, lo que condujo a inferir que los sustituyentes en la posición 2 del anillo tricíclico tienen un papel importante en la actividad biológica.

Considerando los resultados de los estudios anteriores en los que la incorporación de una cadena de 2-(*N,N*-dietilamino)etilamino o 2-(*N,N*-dietilamino)propilamino incrementa sensiblemente la actividad citotóxica o que la incorporación de heterociclos saturados en la misma posición disminuye la actividad citotóxica en la posición 2 del anillo de tiazoloquinolina, resulta interesante analizar la importancia de los sustituyentes en dicha posición. Una manera inmediata de analizar esta situación es la remoción de cualquier sustituyente en la posición antes mencionada y observar cómo afecta dicha remoción en la actividad citotóxica en líneas celulares.

3. Planteamiento de Hipótesis

Como ya se mencionó, los compuestos sintetizados por Álvarez-Ibarra⁽³²⁾ y colaboradores fueron derivados sustituidos en la posición 2 o en la posición 9 con un sustituyente alquildiamino. Algunos de estos derivados mostraron tener actividad citotóxica en líneas celulares como P-388 (neoplasma linfático murino), A-549 (carcinoma de pulmón humano) y HT-29 (tumor de colon humano), los resultados se listan en la **Tabla 6**.

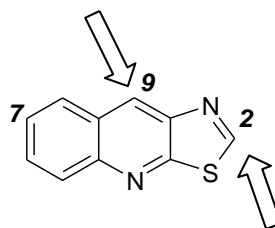
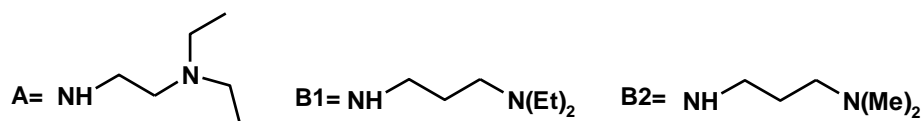


Tabla 6. Comparación de la actividad citotóxica *in vitro* de tiazolo[5,4-*b*] quinolinas sustituidas

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



En estos estudios se observó que aquellos compuestos con una cadena de *N,N*-dietiletilendiamino mostraban buena actividad citotóxica.

También se observó que es importante para la actividad de este tipo de compuestos una baja densidad de carga en la posición 7 y una cadena lateral flexible en la posición 2 ó 9 con dos nitrógenos básicos con un pKa de 7.5 a 10⁽³²⁾.

En estudios posteriores del potencial molecular electrostático (PME) de compuestos con capacidad intercalante, con y sin actividad citotóxica, se encontró que era necesaria la presencia de regiones adicionales de isopotencial comparadas con las moléculas que carecían de actividad citotóxica. Con base en estos estudios Lira Rocha y colaboradores propusieron la síntesis de derivados híbridos de las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas y las 3-[(9'-acridinil)amino]anilinas como potenciales antitumorales, ya que se observaron similitudes en el análisis conformacional y la descripción del potencial molecular electrostático de estos derivados híbridos con derivados como el AHMA y los sintetizados por Álvarez-Ibarra biológicamente activos. Los derivados sintetizados por Lira Rocha se muestran en la Figura 19.

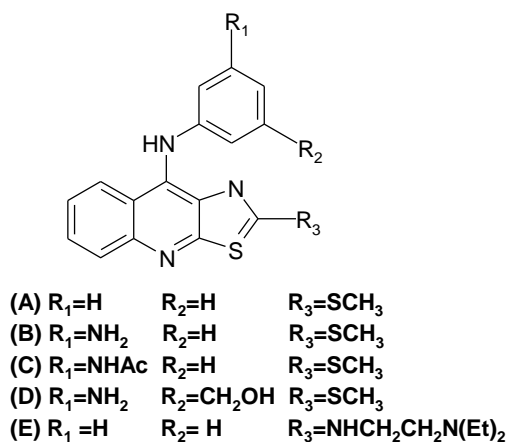


Figura 19. Derivados híbridos 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina

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

Tabla 7 . Comparación de la actividad citotóxica *in vitro* y capacidad de unión al ADN de los derivados híbridos.

Compuesto	CI ₅₀ de inhibición de crecimiento celular (µM)								Intercalación	
	MCF-7	HeLa	Calo	C-33	SW480	SW620	CHO	K-562	Q ^a	Q _{max} ^b
A	>200	>200	198.3	153.7	>200	>200	>200	>200	13.62	0.298
B	74.3	176.5	128.1	138.8	>200	>200	136.8	143.4	6.96	0.586
C	132.3	>200	>200	>200	>200	153.9	58.8	85.3	18.44	1.078
D	138.5	>200	106.4	>200	>200	183.9	111.4	143.4	22.64	1.280
E	16.6	15.96	29.9	22.4	37.7	21.6	30.6	16.8	52.46	1.742

^a Unión al ADN por desplazamiento de bromuro de etidio del ADN. Concentración (µM) para disminuir un 50% la fluorescencia debida al complejo ADN-bromuro de etidio.

^b Unión máxima al ADN (µM). Es una representación de los subsitios a los cuales se une el compuesto en el ADN.

De este conjunto de compuestos el que presentó una mayor actividad fue el compuesto E, el cual posee un grupo dietiletilendiamino en la posición 2. Al comparar entre sí la actividad del resto de los compuestos se apreció que la introducción de un grupo amino en el anillo de anilina favoreció la actividad en todos los casos. Al comparar la actividad del compuesto B con el compuesto acetilado C se observó que el primero fue más activo en algunas líneas celulares. La comparación de actividad entre B y D, que cuenta con un grupo hidroximetilo, muestra la misma situación, lo que indica que no se favorece la inclusión del sustituyente mencionado.

Por otra parte, se observó que todos los compuestos fueron capaces de desplazar al bromuro de etidio del ADN. Estos resultados sugieren que el compuesto B no sólo es el que mejor se unió al ADN (valor de $Q = 6.96$), sino que lo hizo de un modo selectivo ($Q_{max} = 0.5861$); el compuesto acetilado C tuvo una menor afinidad por el ADN por lo que se presume que el grupo amino es importante para la unión al ADN. Además, el compuesto E fue el que tuvo la afinidad más baja pero su Q_{max} fue la de mayor valor, de lo que se deduce que su actividad se puede atribuir a que ocupa varios lugares en el ADN aunque con baja afinidad.

De estos resultados se desprenden tres conclusiones importantes:

- 1) La presencia del grupo [2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino en posición 2 favorece la actividad citotóxica en los compuestos evaluados.

- 2) Si bien es cierto que la presencia del grupo [2-(*N,N*-dietilamino)etil]amino en la posición 2 favorece la actividad citotóxica, la afinidad de este compuesto por el ADN es baja, lo que sugiere que quizá existan factores estéricos y electrónicos que influyen en una mejor afinidad por el ADN.
- 3) Cuando los compuestos evaluados presentaban en la posición 2 un grupo metiltilio la actividad citotóxica se ve disminuida considerablemente.

Debido a la actividad citotóxica que presentaron los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina que en la posición 2 ó 9 poseían una cadena de *N,N*-dietiletilendiamina, se realizaron estudios orientados a analizar la influencia del fragmento alquilo sobre la actividad citotóxica en líneas tumorales; en dicho estudio⁽⁸⁾ se propuso la incorporación de un heterociclo saturado de seis miembros en el cual el átomo de conexión en la posición 2 del tiazol es un átomo de nitrógeno y en la posición 4, con respecto a este último, un átomo de nitrógeno, oxígeno o un grupo metileno (Figura 20).

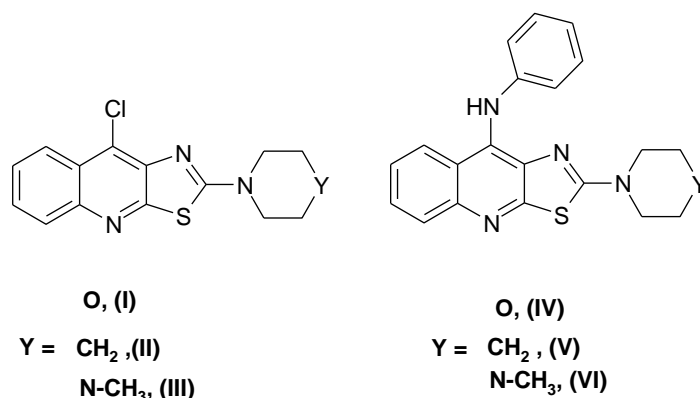


Figura 20. Compuestos sintetizados por Guadarrama Salgado⁽⁸⁾ con modificación en la posición 2 del anillo de tiazol.

Esta nueva serie de compuestos fueron evaluados en 2 líneas celulares, una línea de cáncer de mama MCF-7 y una línea celular de leucemia mielógena K-562. Los datos de citotóxicidad se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. % de inhibición de crecimiento a una concentración de 80 μM obtenidas en un ensayo MTT

Compuesto	MCF-7	K-562
I	26.29	33.73
II	15.75	19.31
III	35.55	30.30
IV	35.73	38.83
V	18.74	25.8
VI*	72.18	73.01

* Cl_{50} (μM) único compuesto con valor obtenido mediante una curva dosis-respuesta gradual.

De estos resultados se observa que el compuesto II fue el que mostró menor actividad citotóxica, en cambio el compuesto VI fue el más activo a esa concentración. Por otro lado, es importante resaltar la diferencia de actividad biológica entre el compuesto III y el VI, ambos poseen el mismo sustituyente heterocíclico en la posición 2 del anillo tricíclico, pero VI es más activo, al parecer es importante la presencia del grupo anilino en la posición 9 para la actividad biológica.

A partir de esta serie de estudios, es evidente que el patrón de sustitución en la posición 2 del núcleo tricíclico tiene una influencia importante en la actividad biológica. Una manera de demostrar el papel del sustituyente en dicha posición sería la remoción del mismo y determinar la actividad citotóxica de estos derivados. Entonces, la actividad biológica de los derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina se puede modular mediante el patrón de sustitución de la posición 2.

Por tal motivo, el presente trabajo se propone continuar con la síntesis de derivados híbridos de las tiazolo[5,4-*b*]quinolinas, con el fin de poder contribuir al establecimiento de los requerimientos estructurales responsables de la actividad citotóxica, así como la influencia del sustituyente presente en la posición 2 del anillo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina sobre dicha actividad biológica con el fin último de mejorar la selectividad de estos compuestos hacia células tumorales.

4. HIPÓTESIS

Es posible alterar la actividad citotóxica, en líneas celulares tumorales humanas de los derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina mediante la remoción del grupo metiltilio presente en la posición 2 del núcleo tricíclico.

5. Objetivos

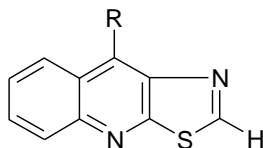
5.1 Objetivo general.

Sintetizar y caracterizar derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas con potencial actividad antitumoral y determinar la actividad citotóxica en líneas celulares tumorales.

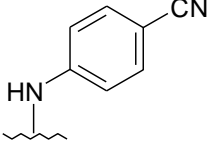
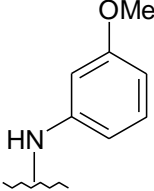
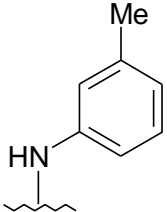
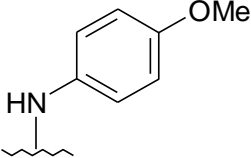
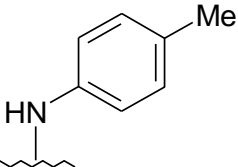
5.2 Objetivos particulares.

- I. Determinar la influencia del sustituyente en la posición 2 del sistema tricíclico sobre la actividad citotóxica.
- II. *Sintetizar los siguientes compuestos:*

Tabla 9. Compuestos propuestos para ser sintetizados



Compuesto	R	Nombre
7a		9-Anilino[5,4- <i>b</i>]tiazoloquinolina
7b		9-[(3-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7c		9-[(3-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7d		9-[(4-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina

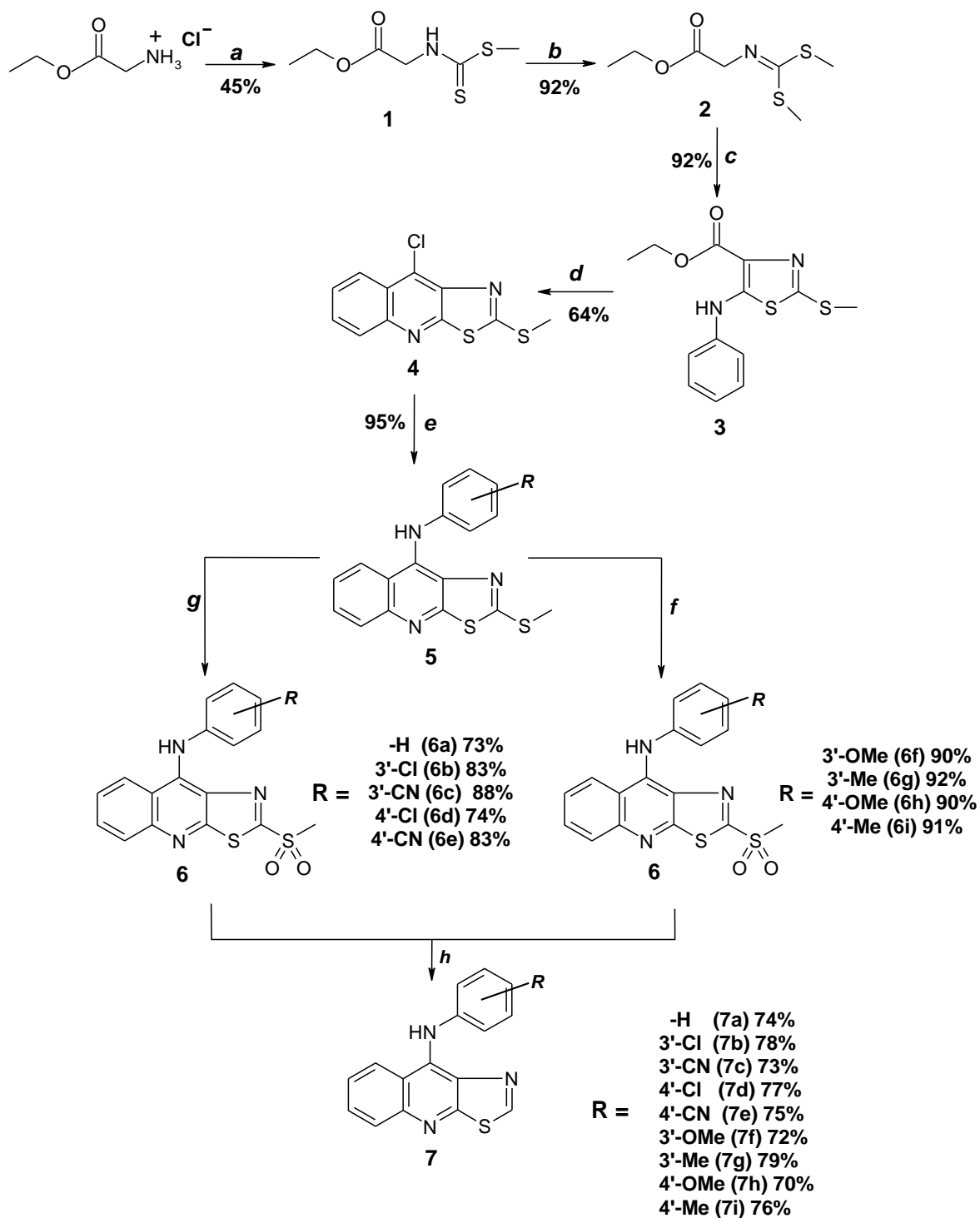
7e		9-[(4-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7f		9-[(3-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7g		9-[(3-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7h		9-[(4-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina
7i		9-[(4-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina

III. *Proponer un método alternativo para el desplazamiento del grupo metiltio presente en la posición 2 del sistema tricíclico, con el fin de incrementar el rendimiento, de los productos en la última etapa de síntesis.*

IV. *Determinar la actividad citotóxica de los nueve derivados sintetizados.*

6. Análisis de Resultados

6.1 Parte química.



Esquema 1. Ruta General de Síntesis

a) 1. NaOH/CS₂/20 °C 2. CH₃I/ 0°C; b) 1. K₂CO₃/ 20°C 2.CH₃I/0°C; c) 1. t-BuO⁻K⁺/THF Anh./-75°C 2. PhNCS/-75 °C; d) POCl₃/ PPA/130-135°C; e) 1. MeOH/HCl 2. 5a, anilina, 5b,3-cloroanilina; 5c, 3-cianoanilina; 5d, 4-cloroanilina; 5e, 4-cianoanilina; 5f, 3-metoxianilina; 5g, 3-metilanilina; 5h, 4-metoxianilina; 5i, 4-metilanilina/ reflujo 8h; f) AcOH/ Na₂WO₄/H₂O₂ 30% T.amb. 10 min; g) AcOH/ H₂O₂ 24h ; h) EtOH absoluto/ NaBH₄ /T. amb. 24 h.

6.1.1 Intermediarios

La metodología propuesta para obtener los compuestos del presente trabajo se ilustra en el esquema 1.

La ruta sintética que comprende hasta el compuesto 5 se basó en metodologías previamente reportadas, pero la obtención de los compuestos de la serie 6 se realizó mediante dos técnicas de oxidación del grupo metiltio a la correspondiente sulfona. Esta oxidación es un paso importante, ya que en previos estudios se había observado que el desplazamiento del grupo metiltio se lograba previa oxidación del mismo y posterior reacción con una amina alifática para, mediante una sustitución nucleofílica aromática, obtenerse el correspondiente amino derivado.⁽³³⁾ Por lo cual, si se pretendía eliminar el grupo metiltio era importante primero hacerlo un buen grupo saliente.

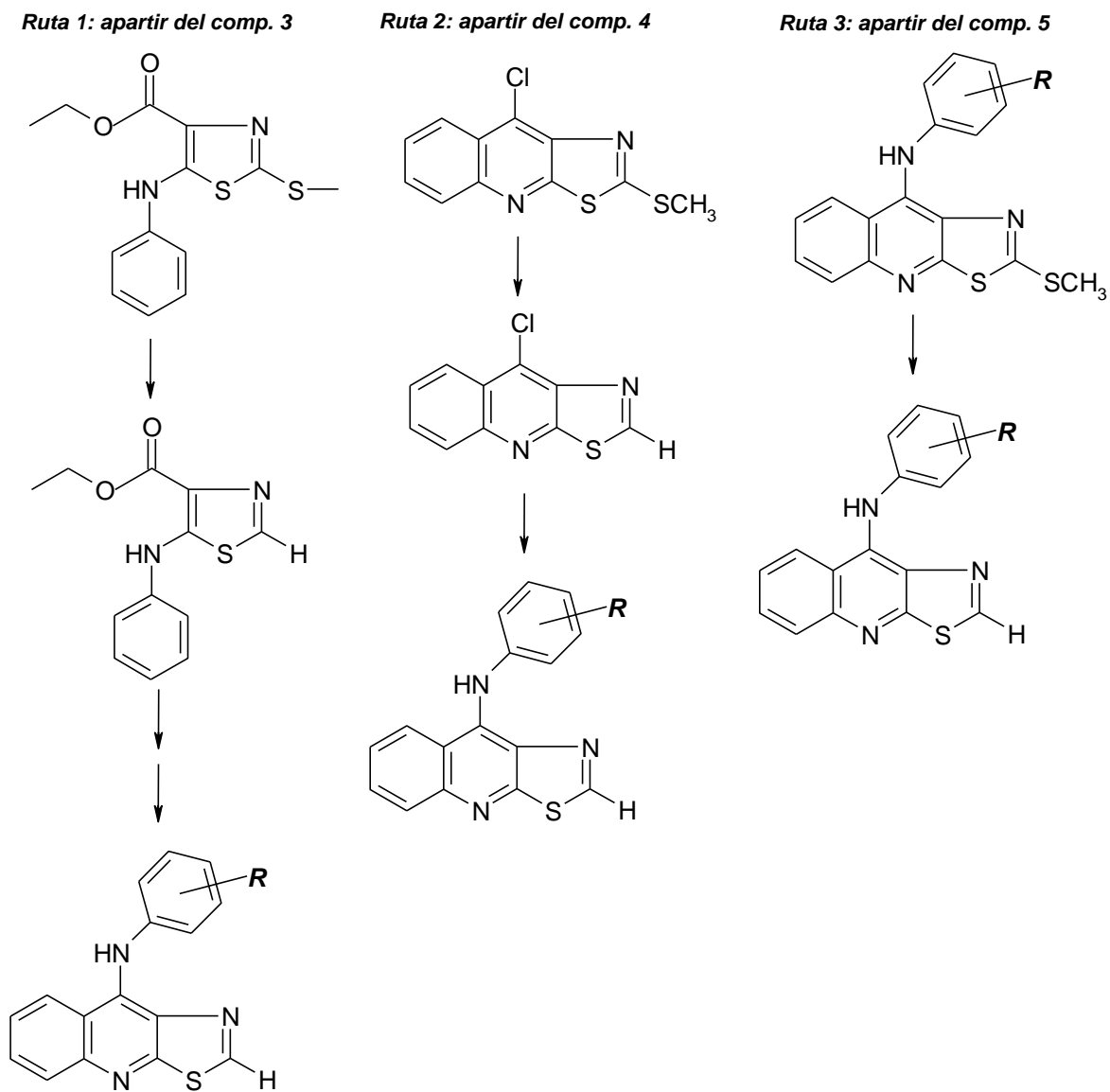
La preparación de los compuestos 6a-6e se realizó al tratar los derivados metiltio (5a-5e) con AcOH/ H₂O₂ 30% , a temperatura ambiente durante 24 horas obteniéndose las correspondientes sulfonas, este procedimiento ya había sido reportado por el grupo de Lira Rocha y colaboradores.⁽³⁷⁾

Por otro lado, los compuestos 6f-6i fueron obtenidos a partir de sus precursores metiltio, mediante un método alternativo de oxidación. Este método alternativo se realizó bajo el tratamiento de un oxometal de W en presencia de H₂O₂ 30% , Na₂WO₄ · 2·H₂O y utilizando como medio de reacción AcOH glacial, ya que se tenían reportes de la oxidación selectiva de derivados metiltio a su correspondientes sulfonas en presencia de cantidades catalíticas de Na₂WO₄, en derivados de las 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolinas.^(38,39,40) Bajo este método alternativo de oxidación, se lograron acortar sensiblemente los tiempos de reacción de 24 h a solamente 15 min.

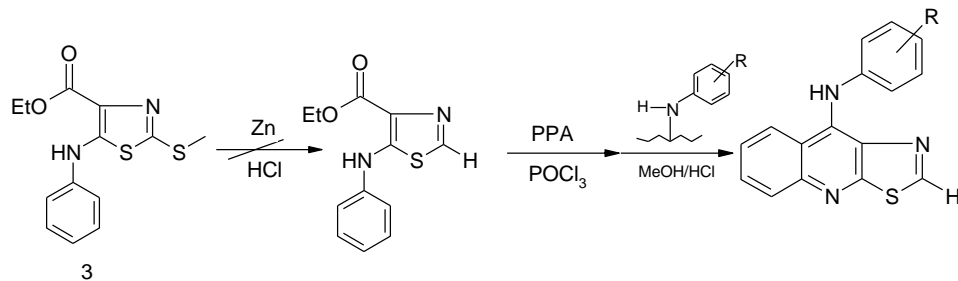
Los intermediarios en esta síntesis fueron obtenidos por medio de métodos previamente reportados, y se caracterizaron mediante análisis por cromatografía en capa fina (ccf) comparativa y por su punto de fusión.⁽⁴¹⁾

Por otra parte, considerando que es posible la remoción del grupo metiltio en alguno de los pasos de la ruta sintética (Esquema 1), se postularon tres alternativas para realizar dicha transformación (Esquema 2) bajo la utilización de tres sustratos distintos⁽⁴¹⁾, las condiciones de reacción para cada alternativa sintética, así como los resultados obtenidos se describen con más detalle en la sección siguiente. En los tres casos, el desplazamiento del grupo metiltio se podría realizar bajo las siguientes condiciones:

- Sustitución del grupo metiltio bajo condiciones de oxido-reducción (Zn/ HCl).
- Sustitución Nucleofílica Aromática mediante el empleo de hidruros metálicos (NaH, LiAlH₄, NaBH₄).
- Oxidación del grupo metiltio a la sulfona correspondiente y posterior desplazamiento del grupo metilsulfonilo bajo condiciones de oxido-reducción (Zn/ HCl).
- Oxidación del grupo metiltio a la sulfona correspondiente y posterior desplazamiento del grupo metilsulfonilo mediante hidruros metálicos (NaH, LiAlH₄, NaBH₄).

Esquema 2. Alternativas sintéticas para la remoción del grupo metilto ⁽⁴¹⁾

Ruta 1

6.1.2 Ensayo No. 1⁽⁴²⁾

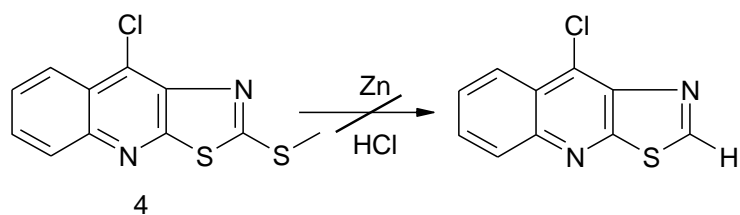
Se colocaron 100 mg del compuesto 3, en un matraz bola de una boca los cuales se suspendieron en un volumen de 9 mL de HCl, la suspensión resultante se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente por un periodo de 15 min, al término de este tiempo se adicionaron 5 mg de polvo de Zn (previamente lavado), se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 24 h. El transcurso de la reacción se siguió mediante CCF, al término del tiempo de reacción y adecuado trabajo de reacción, el producto de reacción se analizó por CCF observándose que era materia prima.

Por consiguiente, la remoción del grupo metiltio de la posición 2 del tiazol, no es posible bajo estas condiciones de oxido-reducción, por lo que la posterior ciclación y adecuada sustitución no fueron posibles de acuerdo a la ruta propuesta.

Por tal motivo, se optó por intentar el desplazamiento del mismo grupo a partir del compuesto 4, ruta 2 (Esquema 2), bajo las mismas condiciones de reacción.

Ruta 2

6.1.3 Ensayo No. 2⁽⁴²⁾



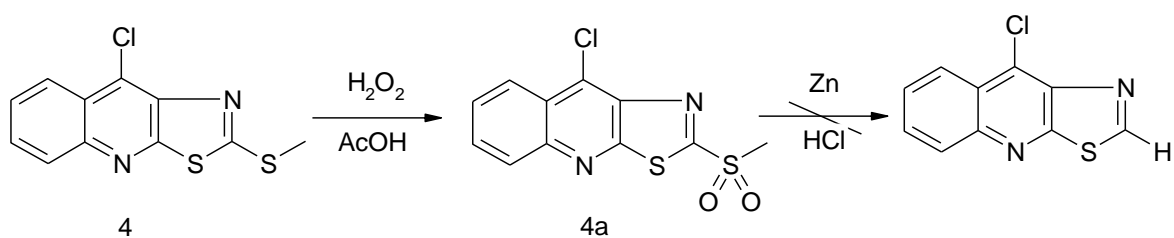
Se colocaron 100 mg del compuesto 4, en un matraz bola de una boca los cuales se suspendieron en un volumen de 9 mL de HCl, la suspensión resultante se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente por un periodo de 15 min, al término de este tiempo se adicionaron 5 mg de polvo de Zn (previamente lavado), la mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante durante 24 h a temperatura ambiente, el progreso de la reacción se siguió mediante CCF. Al término del tiempo de reacción y al adecuado trabajo de reacción, el residuo obtenido se analizó por CCF observándose que la materia prima no sufrió transformación aparente.

Debido a estas observaciones y resultados, se concluyó que el desplazamiento del grupo metiltio presente en la posición 2 del sistema tricíclico

, por medio del metal Zn en medio ácido, no se lleva a cabo bajo estas condiciones.

Se observó que el desplazamiento del grupo metiltilio, utilizando como sustrato el compuesto 4, en presencia de Zn/HCl, no se logró. Se decidió utilizar como sustrato el compuesto 4, pero ahora como derivado metilsulfonilo, la finalidad de realizar una previa oxidación del compuesto 4 fue la obtención de un mejor grupo saliente, como lo es el grupo metilsulfonilo, antes de someterlo a la *reducción* con Zn en medio ácido. (Ensayo No. 3)

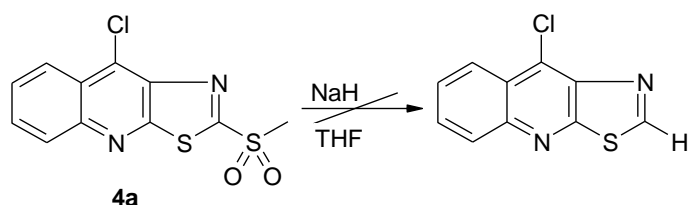
6.1.4 Ensayo No.3



Se colocaron 100 mg del compuesto 4a, previamente oxidado en presencia de AcOH/ H₂O₂ al 30%, posteriormente se sometió bajo tratamiento oxidoreducción (Zn/HCl) a temperatura ambiente por 24 h, al término de este tiempo y el adecuado trabajo de reacción, se observó que no hubo cambio de R_f, en el análisis de CCF, por lo que se descartó la posibilidad de remoción del grupo metilsulfonilo, mediante estas condiciones de reacción.

Se continuó utilizando el compuesto 4a como sustrato, para obtener el compuesto deseado, sin embargo en esta ocasión se empleó NaH (ensayo No. 4), para realizar la remoción del grupo metilsulfonilo presente en la posición 2 del sistema tricíclico.

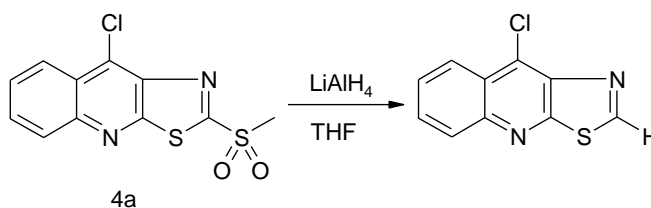
6.1.5 Ensayo No.4



Se suspendieron en condiciones anhidras y enfriándose en baño de hielo, 30 mg NaH en 3ml de THF anh, después de 15 min de agitación en estas condiciones, se añadió a esta suspensión por goteo una solución del compuesto 4a en 6ml de THF anh, manteniéndose en agitación constante por 24 h y siguiendo el progreso de reacción cada 2h, al termino de 24 h no se observó cambio aparente debido a que no hubo diferencia de Rf así como también su punto de fusión no varió, por lo que se concluyó con este ensayo, que el hidruro metílico utilizado no era lo suficientemente fuerte como para desplazar el grupo metilsulfonilo de la posición 2 del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina bajo estas condiciones.

Por lo que, se decidió utilizar un hidruro metálico más fuerte (LiAlH_4), para realizar el desplazamiento del grupo metilsulfonilo (Ensayo No. 5).

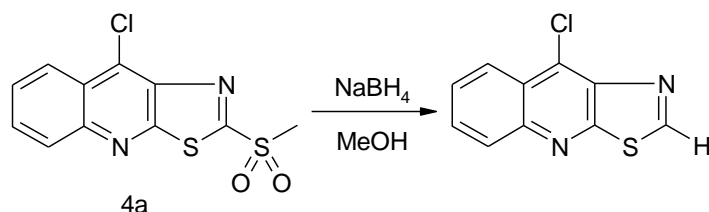
6.1.6 Ensayo No. 5



Nuevamente se utilizó como sustrato el compuesto 4a, las condiciones de reacción fueron similares a las descritas en la sección anterior (sección 6.1.5), nuevamente el avance de reacción se realizó mediante CCF y al cabo de 3h, se pudo observar en CCF demasiados productos de reacción (de mayor y menor polaridad con respecto a la materia prima), ninguno de ellos siendo mayoritario, y por lo consiguiente se dificultó el proceso de separación y caracterización de los mismos. Con este intento se concluyó que el hidruro de aluminio y litio es muy poco selectivo en la reacción de reducción para el grupo metilsulfonilo de la posición 2 del núcleo de tiazoloquinolina, por lo que se descartó el empleo de este hidruro, sobre este sustrato (4a), para realizar dicha remoción.

Por otro lado se buscó tener un hidruro con mayor selectividad para los fines del presente trabajo (Ensayo 6).

6.1.7 Ensayo No. 6



Se colocaron 100 mg del compuesto 4a, en 8 ml de MeOH destilado en un matraz bola de una boca, se agito a temperatura ambiente por 10 min, al término de este tiempo se adicionaron a la solución 5 mg de NaBH₄ (98%) y se mantuvo en agitación constante, el avance de reacción se siguió mediante CCF, al transcurrir 2 h de reacción y al adecuado trabajo de reacción, se obtuvo un sólido amarillo y en el análisis por CCF se observaron dos productos de reacción de menor polaridad que la materia prima en proporción (1:1), estos productos se separaron mediante CCF preparativa (Sistema de elución II, Tabla 19), estos productos de reacción presentaron un R_f = 0.5 y 0.73, respectivamente, ambos mayores al obtenido por la materia prima. Se realizaron análisis de EM para ambos productos obteniéndose lo siguiente:

- El compuesto con R_f de 0.73, presento un ion molecular de m/z = 266; el cual coincide con el peso molecular del compuesto 4 (esquema 1).
- El compuesto con un R_f de 0.5, presento un ion molecular de m/z = 220

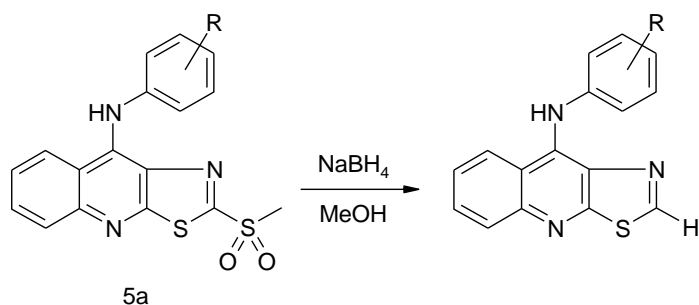
Por otro lado, el producto reducido concordó con el peso molecular del compuesto proyectado (m/z 220), pero al transcurso de 24 h se observó que dicho compuesto era sensible a la luz y se descompuso en otros subproductos, por lo que se concluyó que el compuesto 4 reducido con el átomo de cloro en la posición 9 del núcleo de tiazoloquinolina fue poco estable, por lo que se modificaron las condiciones de reacción.

De los experimentos previos se dedujo la necesidad de realizar una previa oxidación del compuesto para posteriormente someterlo a la reducción química, sin embargo, el compuesto obtenido utilizando el compuesto 4 como sustrato en dicha transformación, se degradaba fácilmente, se decidió incorporar el grupo

anilina, en la posición 9 del anillo de tiazoloquinolina con el fin de tener un producto más estable (Ruta 3).

Ruta 3

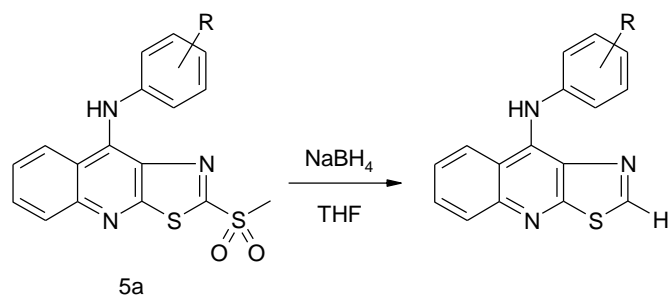
6.1.8 Ensayo No. 7



En esta ocasión se utilizó como sustrato el compuesto 5a y se sometió al procedimiento descrito en la sección (6.1.7), al término de 3 h y al adecuado trabajo de reacción, se obtuvo un sólido amarillo pálido, con dos productos de reacción en una proporción (1:1), se observó que este comportamiento se mantuvo tanto con el compuesto 4 (sección 6.1.7), así como con el compuesto sustituido con el grupo anilina en la posición 9 del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. Lo que implicaba un comportamiento químico similar de estos derivados bajo estas condiciones de reacción.

En un afán de encontrar, un medio de reacción que nos permitiera obtener los productos finales, como productos mayoritarios en esta transformación y de esta manera facilitar la separación de los mismos, se realizó un ensayo más, con un disolvente de menor polaridad en THF (ensayo No. 8).

6.1.9 Ensayo No. 8 ⁽⁴¹⁾



Se colocó en 6ml de THF, 100 mg del compuesto 5a y se sometió al procedimiento descrito en la sección anterior, nuevamente se monitoreo el progreso de reacción por CCF, después de 24 h en agitación constante a temperatura ambiente y al adecuado trabajo de reacción, se obtuvo un producto mayoritario, que correspondió al producto proyectado, así como otros subproductos de menor polaridad en menores proporciones ⁽⁴¹⁾.

Con la información generada a partir de estos ensayos, se logró establecer las condiciones de reacción requeridas para llevar acabo la remoción del grupo metiltio de la posición 2 del sistema tricíclico en derivados de tiazoloquinolina son de manera general:

- Incorporación del grupo anilina a la posición 9
- Oxidación del grupo metiltio a la sulfona correspondiente
- Tratamiento del derivado metilsulfonilo con NaBH

6.2 Descripción y Caracterización

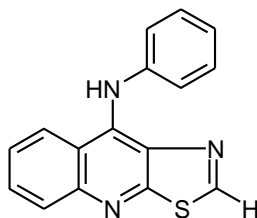
Tabla 10. RMN ¹H, desplazamientos químicos (ppm) de los compuestos 7a-7e

Protón	Compuestos				
	7a	7b	7c	7d	7e
H-2	9.17	9.2	9.3	9.2	9.3
H-5	8	7.9	8	7.94	8
H-6	7.8	7.7	7.8	7.91	7.8
H-7	7.6	7.5	7.6	7.6	7.6
H-8	8.4	8.4	8.6	8.6	8.5
H-2'	7.2	7.1	7.5	7.3	7.2
H-3'	7.3	--	--	7.4	7.7
H-4'	7.1	7.1	7.5	--	--
H-5'	7.3	7.3	7.8	7.4	7.7
H-6'	7.2	7.1	7.5	7.3	7.2
NH-Ar	9.7	9.6	9.7	9.5	9.6

Tabla 11. RMN ^1H , constantes de acoplamiento J (Hz) de los compuestos 7a-7e

Protón	Compuestos				
	7a	7b	7c	7d	7e
H-2	--	--	--	--	--
H-8	8.4	8.4	8.7	8.4	8.4
H-5	7.8,0.8	8.4,0.9	8.7,0.9	8.4,0.8	8.4,0.8
H-6	8.1,7.2,0.9	8.1,6.6,1.2	8.4,6.9,1.2	7.9,6.7,1.2	7.2,6.8,1.2
H-7	8.1,7.2,0.9	8.1,6.6,2.1	8.4,6.9,1.2	7.6,6.7,1.2	7.2,6.8,1.2
Ar-NH	--	--	--	--	--
H-2'	7.5	--	--	8.4	8.4
H-3'	8.1,7.5	--	--	8.8	8.8
H-4'	7.5,7.2	--	--	--	--
H-5'	8.1,7.5	8.1	7.5	8.8	8.8
H-6'	7.5	--	--	8.4	8.4

6.2.1 Compuesto 9-Anilino[5,4-b]quinolina (7a)



El compuesto se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad, utilizando el sistema de elución IV (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amorfo de color amarillo ocre, con un p.f. de 135 °C y un R_f de 0.32 (Sistema III, Tabla 19)

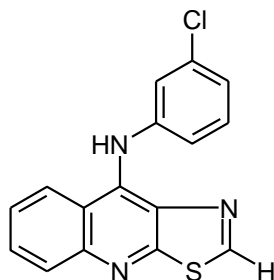
Sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se describen a continuación:

En su espectro de IR (Espectro1) se observó a 3413 cm^{-1} una banda que indica la presencia de una amina secundaria, además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} y también se observan bandas características en la zona aromática a 1476 , 1536 , 1577 cm^{-1} .

En el análisis de RMN ^1H (Espectro 2), los valores de los desplazamientos químicos, así como las constantes de acoplamiento para el compuesto 7a se describen en la (Tabla 10 y 11).

En su espectro de masas (Espectro 3) se observó un pico base que corresponde con el ión molecular de $m/z = 277$ (100%) de Abundancia Relativa que coincide con el peso molecular del compuesto proyectado.

6.2.2 Compuesto 9-[(3-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7b)



El compuesto 7b se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad, utilizando el sistema de elución IV (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amarillo claro, con un punto de fusión de 160 °C y un R_f de 0.29, sistema de elución III (Tabla 19)

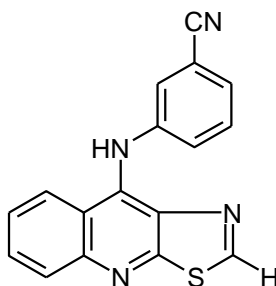
Sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se describen a continuación:

En su espectro de IR (Espectro 4) se pudo observar una banda a 3354 cm^{-1} correspondiente a una amina secundaria, además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} , bandas características en la zona aromática a 1476 , 1536 , 1577 cm^{-1} , así como la banda característica debida a la unión C-Cl a 850 cm^{-1} .

En el análisis de RMN ^1H (Espectro 5), los valores de los desplazamientos químicos en ppm, así como las constantes de acoplamiento en Hz, para el compuesto 7b se describen en la Tabla (10 y 11).

En su espectro de Masas (Espectro 6) se observó que el pico base corresponde al ión molecular 311 (100%) y que está de acuerdo al peso molecular del compuesto propuesto, además se observó la contribución isotópica correspondiente del átomo de cloro.

6.2.3 Compuesto 9-[(3-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4-b]quinolina (7c)



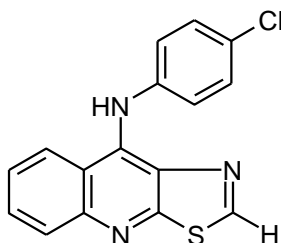
El compuesto 7c se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad, utilizando el sistema de elución IV (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amarillo intenso, con un punto de fusión de 160 °C y un Rf de 0.38, sistema de elución III (Tabla 19)

En su espectro de IR (Espectro 7) se observó una banda a 3329 cm^{-1} correspondiente a la presencia de una amina secundaria, así como la presencia de una banda fina intensa a 2231 cm^{-1} debida a la presencia del grupo nitrilo, además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} , así como la presencia de bandas características en la zona aromática a 1476, 1536, 1577 cm^{-1} .

En el análisis de RMN ^1H (Espectro 8), los valores de los desplazamientos químicos en ppm, así como las constantes de acoplamiento en Hz, para el compuesto 7c se describen en la Tabla (10 y 11).

En su espectro de Masas (Espectro 9) se observó que el pico base corresponde al ión molecular 302 (99%) el cual corresponde al peso molecular del compuesto propuesto, por otro lado se observó también la contribución isotópica correspondiente del átomo de nitrógeno.

6.2.4 Compuesto 9-[(4-clorofenil)amino]-tiazolo[5,4-b]quinolina (7d)



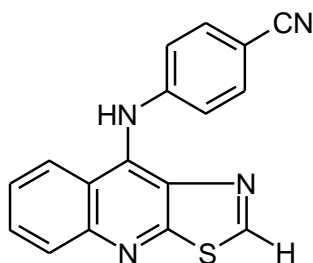
El compuesto 7d se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad, usando como el sistema de elución III (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amarillo, este compuesto presentó un punto de fusión de 180 °C y un Rf de 0.32 (Sistema III, Tabla 19)

En su espectro de IR (Espectro 10) se observó una banda característica de una amina secundaria a 3398 cm^{-1} , además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} , bandas características en la zona aromática a 1476, 1536, 1577 cm^{-1} , banda presente en 850 cm^{-1} debida a la unión carbono-cloro.

En el análisis de RMN ^1H (Espectro 11), los valores de los desplazamientos químicos en ppm, así como las constantes de acoplamiento en Hz, para el compuesto 7d se describen en la Tabla (10 y 11).

En su espectro de Masas (Espectro 12) se observó el pico base en $m/z = 311$ y una abundancia relativa de 100%, el cual corresponde al peso molecular del compuesto propuesto, además se observó la correspondiente contribución isotópica del átomo de cloro presente.

6.2.5 Compuesto 9-[(4-cianofenil)amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7e)



El compuesto 7e se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad, usando como el sistema de elución III (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amarillo, este compuesto presentó un punto de fusión de 162 °C y un Rf de 0.42 (Sistema III, Tabla 19)

En su espectro de IR (Espectro 13), se observó una banda a 3329 cm^{-1} correspondiente a la presencia de una amina secundaria, así como la presencia de una banda fina intensa a 2231 cm^{-1} debida a la presencia del grupo nitrilo, además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las

sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} , bandas características en la zona aromática a 1476, 1536, 1577 cm^{-1} .

En el análisis de RMN ^1H (Espectro 14), los valores de los desplazamientos químicos en ppm, así como las constantes de acoplamiento en Hz, para el compuesto 7e se describen en la Tabla (10 y 11).

En su espectro de Masas (Espectro 15), se observó que el pico base corresponde al ion molecular 302 (99%) el cual corresponde al peso molecular del compuesto propuesto, por otro lado se observó también el aporte correspondiente del átomo de nitrógeno.

6.3 Compuestos Novedosos

6.3.1 Datos espectroscópicos de RMN de compuestos novedosos (7f-7i)

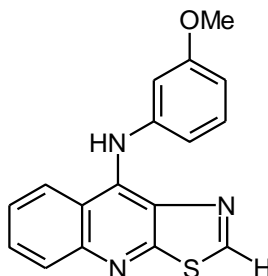
Tabla 12. RMN ^1H , desplazamientos químicos (ppm) de nuevos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina sintetizados

	<i>Compuestos</i>			
	7f	7g	7h	7i
H-2	9.22	9.18	9.07	9.14
H-5	7.97	7.95	7.9	7.93
H-6	7.75	7.73	7.7	7.72
H-7	7.49	7.47	7.42	7.45
H-8	8.29	8.29	8.31	8.3
H-2'	6.58	6.86	7.06	7.05
H-3'	--	--	6.85	6.97
H-4'	6.58	6.86	--	--
H-5'	7.11	7.1	6.85	6.97
H-6'	6.58	6.86	7.06	7.05
NH-Ar	9.4	9.35	9.29	9.34
Otros	OMe	Ar-Me	OMe	Ar-Me
	3.65	2.21	3.73	2.26

Tabla 13. RMN ^1H , constantes de acoplamiento J (Hz) de los compuestos 7f-7i

	<i>Compuestos</i>			
	7f	7g	7h	7i
H-2	----	----	----	----
H-8	8.4	8.5	8.6	8.3
H-5	8.6, 0.8	8.5, 0.9	8.3, 0.9	8.5, 0.9
H-6	8.1, 6.8, 1.3	8.1, 7, 1.2	8.1, 7.5, 7.1	8.2, 7, 1.1
H-7	8.3, 7.1, 1.2	8.2, 7, 1.2	8.1, 7.7, 7.08	8.2, 7, 1.1
Ar-NH	----	----	----	----
H-2'			8.7	8.3
H-3'	----	----	8.7	8.3
H-4'			----	----
H-5'	8	7.7	8.7	8.3
H-6'			8.7	8.3

6.3.2 Compuesto 9-[(3-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7f)



Este compuesto se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad de gel de sílice utilizando el sistema de elución IV (Tabla 19) y se obtuvo como cristales de color amarillo intenso, con un punto de fusión de 151 °C y un $R_f = 0.35$ (sistema III).

Es importante señalar que la utilización de EtOH absoluto facilitó la solubilidad de los derivados metilsulfonilo (6a-6i) lo que redituó en una mayor eficiencia en la remoción del grupo metiltio para la obtención de los compuestos 7a-7i.

Sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se describen a continuación.

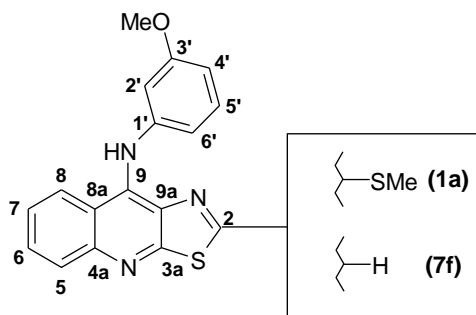
En su espectro de IR (Espectro 16) se observó una banda pequeña a 3066 cm^{-1} , característica del grupo NH, 2958 cm^{-1} característica de CH, una banda pequeña a 2833 cm^{-1} debida a O-CH, una banda en 1270 cm^{-1} debida a Ar-O, además no se observan las bandas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} .

En el espectro de RMN ^1H (Espectro 17) se observa una señal simple a 9.4 ppm que corresponde al protón de la amina secundaria. También, se observa una señal simple a 9.22 ppm que integra para un protón que corresponde al protón H-2. Los protones del anillo de 3-metoxianilina se asignaron como a continuación se detalla: señal múltiple a 6.58 ppm que integra para 3 protones correspondientes a H-2', H-4', H-6'; señal triple a 7.11 ppm ($J= 8.7$ Hz) que integra para un protón que corresponde a H-5', una señal simple a 3.65 ppm, que integra para tres protones que corresponden al grupo OCH_3 .

Con base en lo reportado en trabajos previos, las señales de los protones del sistema de tiazolo[5,4-*b*]quinolina se establecieron como sigue: señal doble a 8.29 ppm ($J= 8.4$ Hz) que se asignó a H-8, la señal doble de doble a 7.97 ppm se asignó a H-5 ($J= 8.7, 0.9$ Hz), la señal doble de doble de dobles a 7.75 ppm se asignó a H-6 ($J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) y la señal correspondiente a H-7, que se observa como una señal doble de doble de dobles, en 7.49 ppm ($J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz.). Con el objeto de verificar que el anillo de tiazol no sufrió apertura en la última etapa de la ruta sintética (tratamiento con NaBH_4), se realizaron espectros de RMN ^{13}C y NOESY para este compuesto (Espectros 18, 19, 20). En el espectro DEPT (Espectro 21) se observa una señal a 160.7 ppm que corresponde a un carbono CH y que por su desplazamiento se asignó al carbono de la posición 2 del triciclo, existe otra señal a 160 ppm pero corresponde a un carbono cuaternario. En el espectro NOESY no se observó ninguna correlación para el protón desplazado a 9.22 ppm y que se asignó a H-2. Con estas evidencias se puede afirmar que el anillo de tiazol no experimentó apertura por la remoción del grupo metilsulfonilo.

Con el fin de asignar las señales de RMN ^{13}C para el nuevo derivado en la Tabla 14 se ilustran, de manera comparativa los valores del compuesto 7f con los valores de un compuesto previamente reportados por el grupo de trabajo.

Tabla 14. Comparación de los desplazamientos químicos en RMN ^{13}C (ppm) de derivados de tiazoloquinolinas



No. C	1a*	7f
SMe	14.5	----
C-2	162.5	160.7
C-3 ^a	137.5	141.1
C-4 ^a	144	144.7
C-5	128.1	128.7
C-6	129.1	130.2
C-7	124.1	124.7
C-8	123.9	124.4
C-8 ^a	119.6	119.5
C-9	161.6	160
C-9 ^a	132.1	133.1
C-1'	146.4	148.1
C-2'	106.5	106.5
C-3'	159.3	153.2
C-4'	107.6	108.2
C-5'	128.8	129.5
C-6'	113.2	113.1
Otros	OMe	OMe
	54.9	55.3

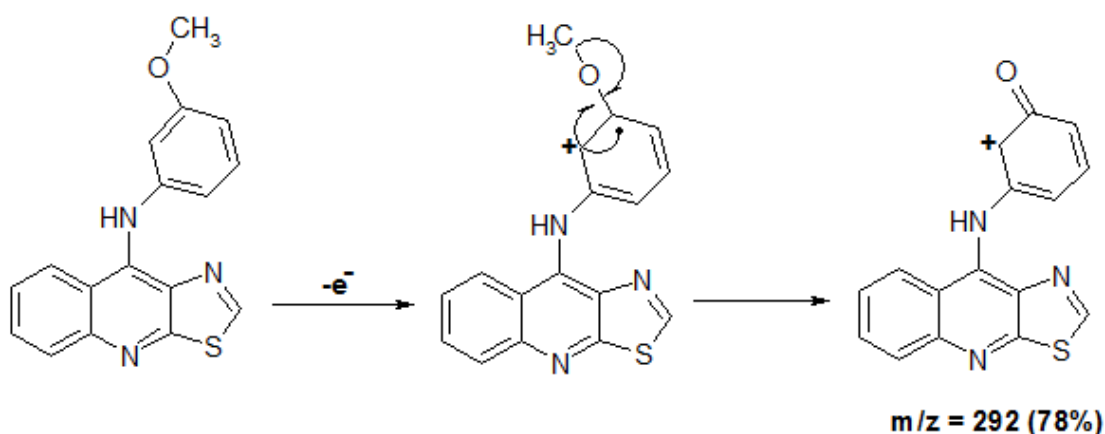
* Datos reportados en la referencia (7)

Un análisis minucioso de la tabla anterior, nos permite resaltar principalmente el valor del desplazamiento químico para el C-2 a 162.5 ppm, del derivado 2-metiltio compuesto 1a (Tabla 14), comparando este valor con el obtenido en el compuesto 7f, el cual presentó un desplazamiento químico a campo ligeramente más alto (160.7 ppm), esta diferencia de 1.8 unidades era predecible y puede ser explicada, considerando que el compuesto 7f en la posición 2 del núcleo tricíclico de tiazoloquinolina, carece del grupo metiltio, es decir que el carbono 2 del mismo sistema, se encuentra sólo entre dos grupos electronegativos Nitrógeno y Azufre del anillo de tiazol, en cambio el carbono 2

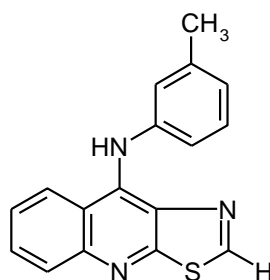
del mismo sistema tricíclico en el compuesto derivado 2-metiltio (compuesto 1a), se encuentra entre tres grupos electronegativos, esta pequeña diferencia principalmente en el carbono 2 de estos derivados, nos permitieron tener mas certeza y más información sobre los resultados esperados en los análisis de RMN ^{13}C de los compuestos sintetizados, así como también, poder asegurar que la remoción del grupo metilsulfonilo con NaBH_4 se realizo de manera satisfactoria

En su espectro de masas (Espectro 22 , IE, ID) se observó el ión molecular (M^+) m/z 307 con 100% de Abundancia Relativa, que corresponde al peso molecular de la estructura propuesta, también, se presenta una señal en m/z 292 que corresponde a M^+-15 en una abundancia relativa de 78% aparentemente debida a la perdida del grupo metilo.

6.3.2.1 Propuesta de Mecanismo de fragmentación



6.3.3 Compuesto 9-[(3-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7g)



Este compuesto se aisló y purificó mediante cromatografía en columna por gravedad de gel de sílice utilizando el sistema de elución III (Tabla 19), se obtuvo como un sólido amorfo de color amarillo pálido, con un punto de fusión de 132 °C y un $R_f = 0.45$ (sistema III)

Sus constantes espectroscópicas y espectrométricas se describen a continuación:

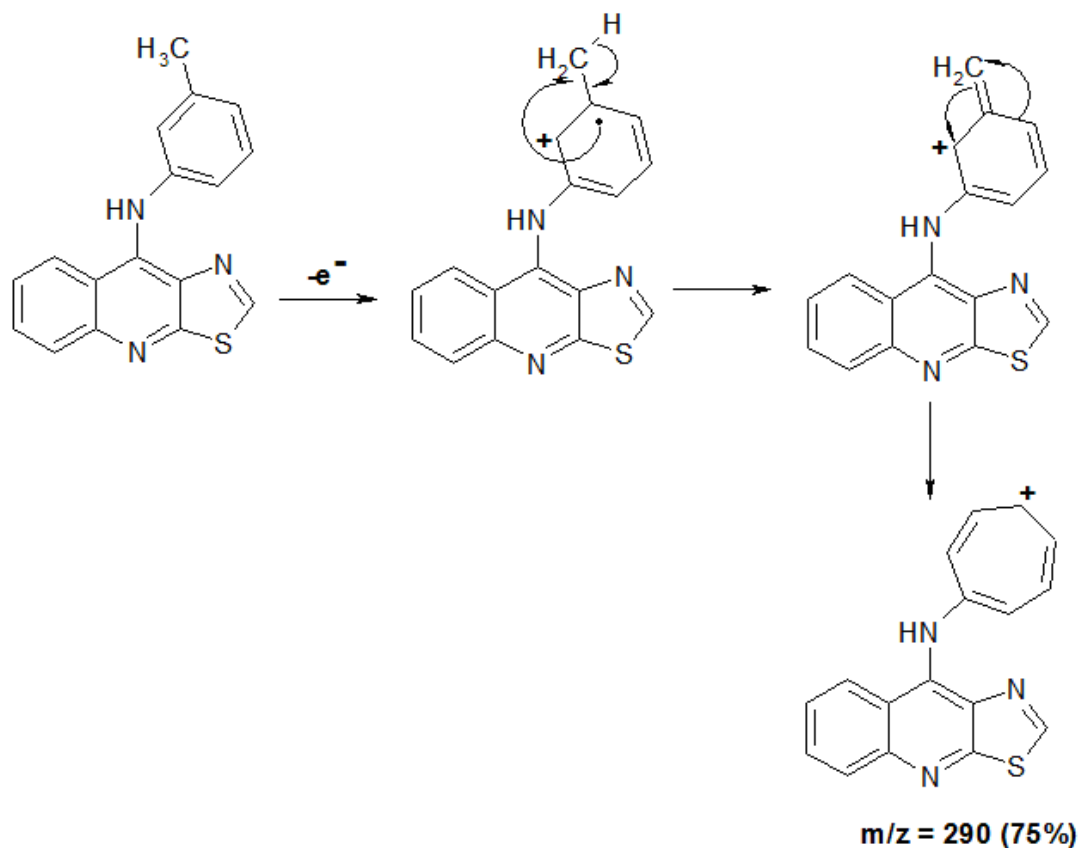
En su espectro de IR (Espectro 23) se observó una banda fina a 3068 cm^{-1} , característica del grupo NH, bandas en (1595,1571,1543,1476) características de la zona aromática; además, no se observaron las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} .

En su espectro de RMN ^1H (Espectro 24) se observan las señales del anillo de 3-metilanilina que a continuación se detallan: una señal simple a 9.35 ppm que integra para un protón correspondiente a la amina secundaria, una señal simple a 2.21 ppm que integra para tres protones correspondientes al grupo metilo, una señal múltiple a 6.86 ppm que integra para tres protones correspondientes a H-2', H-4', H-6'; también se observó una señal triple a 7.1 ppm ($J= 8.6\text{ Hz}$) que integra para un protón correspondiente a H-5'.

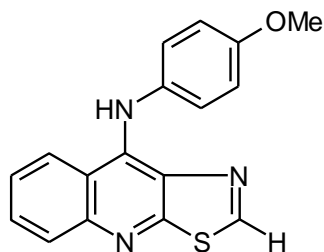
La asignación de las señales de los protones del sistema de tiazolo[5,4-*b*]quinolina fue como sigue: la señal doble a 8.29 ppm ($J= 8.4\text{ Hz}$) se asignó a H-8, la señal doble de doble a 7.95 ppm se asignó a H-5 ($J= 8.7, 0.9\text{ Hz}$), la señal doble de doble de dobles a 7.73 ppm se asignó a H-6 ($J= 8.4, 6.9, 1.2\text{ Hz}$) y la señal correspondiente a H-7 se observa como una señal doble de doble de dobles a 7.47 ppm ($J= 8.4, 6.9, 1.2\text{ Hz.}$), una señal simple a 9.18 ppm, que integra para un protón, corresponde a H-2.

En su espectro de masas (Espectro 25, IE) se observó el ión molecular (M^+) m/z 291 con 100% de Abundancia Relativa, que corresponde al peso molecular de la estructura propuesta, también, se presenta una señal en m/z 290 que corresponde a M^+-1 con una abundancia relativa de 75%.

6.3.3.1 Propuesta de Mecanismo de fragmentación



6.3.4 Compuesto 9-[(4-metoxifenil)amino]-tiazolo[5,4-b]quinolina 7h



Este compuesto se aisló utilizando cromatografía en columna por gravedad de gel de sílice y se obtuvo como un sólido amorfo de color amarillo, con un punto de fusión de 147 °C y un factor de retención de 0.41 (sistema IV)

Sus datos espectroscópicos y espectrométricos se describen a continuación:

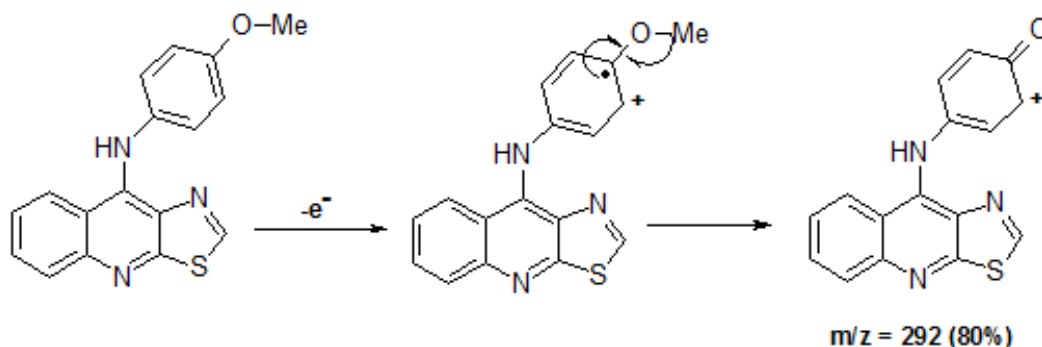
En el espectro de IR (Espectro 26) se observó una banda pequeña a 3066 cm^{-1} , característica del grupo NH, a 2958 cm^{-1} una banda característica de CH, una banda pequeña a 2833 cm^{-1} debida a O-CH, una banda en 1270 cm^{-1} debida a Ar-O-, bandas características en la zona aromática (1573,1546,1510,1475), además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} .

En el espectro de RMN ^1H (Espectro 27,28) se asignaron las señales como se detalla a continuación: una señal simple a 9.29 ppm que corresponde al protón de la amina secundaria. También, se observa una señal simple a 9.07 ppm, que integra para un protón que corresponde H-2, una señal simple a 3.73 ppm que integra para 3 protones correspondientes a $-\text{OCH}_3$; una señal doble a 6.85 ppm ($J= 8.4\text{ Hz}$) que integra para dos protones correspondientes al H-3' y H-5'; una señal doble a 7.06 ppm ($J= 8.4\text{ Hz}$) que integra para dos protones que corresponden a H-2' y H-6'.

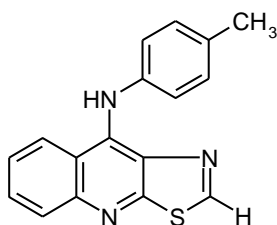
Las señales de los protones del sistema de tiazolo[5,4-*b*]quinolina se describen a continuación: la señal doble a 8.31 ppm ($J= 8.6\text{ Hz}$) que integra para un protón que se asignó a H-8, la señal doble de doble a 7.9 ppm que integra para un protón que se asignó a H-5 ($J= 8.3, 0.9\text{ Hz}$), la señal doble de doble de dobletes a 7.7 ppm se asignó a H-6 ($J= 8.1, 7.5, 7.1\text{ Hz}$) y la señal correspondiente a H-7 se observa como una señal doble de doble de dobles a 7.42 ppm ($J= 8.1, 7.7, 7.08\text{ Hz}$) que integró para un protón.

En su espectro de masas (Espectro 29) mediante la técnica de IE y la introducción de muestra por sonda directa se observó el ión molecular (M^+) m/z 307 con 100% de Abundancia Relativa; que corresponde al peso molecular de la estructura propuesta, también se presenta un pico en m/z 292 que corresponde a M-15 en una abundancia relativa de 80% aparentemente debida a la pérdida del grupo $-\text{CH}_3$.

6.3.4.1 Propuesta de Mecanismo de Fragmentación



6.3.5 Compuesto 9-[(4-metilfenil)amino]-tiazolo[5,4-b]quinolina 7i



Este compuesto se purificó utilizando cromatografía en columna por gravedad de gel de sílice utilizando el sistema de elución IV, y se aisló como un sólido amorfo de color amarillo, con un punto de fusión de 196 °C y un factor de retención de 0.38 (sistema IV).

Sus constantes espectrométricas y espectroscópicas se detallan a continuación:

En el espectro de IR (Espectro 30) se observó una banda fina a 3068 cm^{-1} , característica del grupo NH; bandas en (1595, 1571, 1543, 1476) características de la zona aromática; además se observó la **desaparición** de las bandas intensas características de las sulfonas a 1317 y 1146 cm^{-1} .

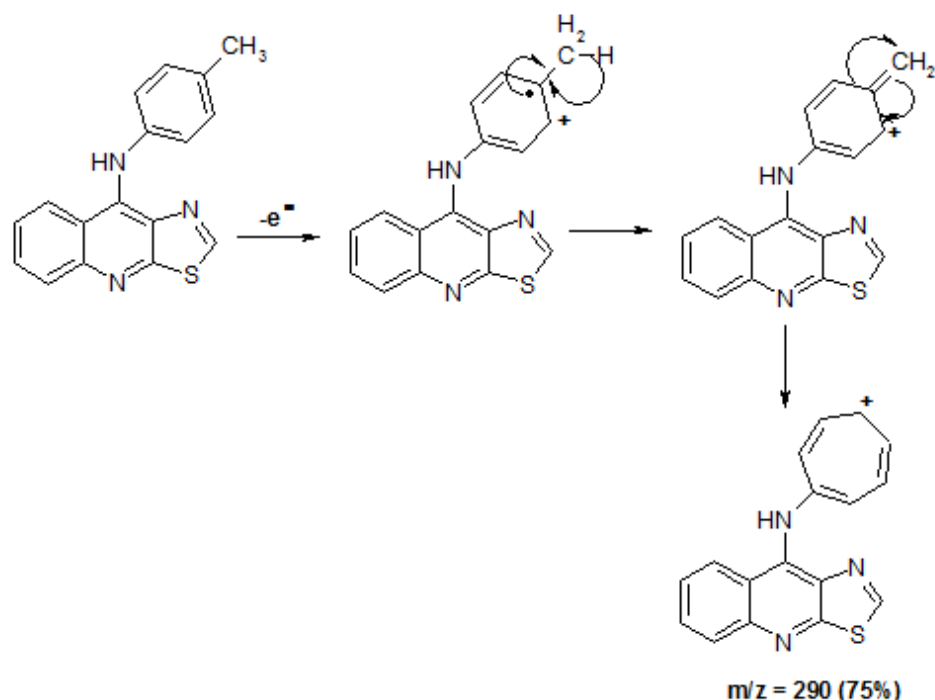
En el espectro de RMN ^1H (Espectro 31) las señales del anillo de 4-Metilnilina se asignaron como sigue; una señal simple a 9.34 ppm que integra para un protón correspondiente a la amina secundaria, una señal simple a 2.26

ppm que integra para tres protones correspondientes al grupo metilo aromático; una señal doble a 7.05 ppm ($J= 8.6$ Hz) que integró para dos protones correspondientes a H-2' y H-6'; se observó una señal doble a 6.97 ppm ($J= 8.6$ Hz) que integró para dos protones correspondientes a H-3' y H-5'.

La asignación de las señales de los protones del sistema de tiazolo[5,4-*b*]quinolina es como sigue: la señal doble a 8.3 ppm ($J= 8.4$ Hz) corresponde a H-8, la señal doble de doble a 7.93 ppm a H-5 ($J= 8.7, 0.9$ Hz), la señal doble de doble de doble a 7.72 ppm se asigna a H-6 ($J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) y la señal correspondiente a H-7 se observa como una señal doble de doble de dobles a 7.45 ppm ($J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz.), una señal simple a 9.14 ppm que integra para un protón que corresponde a H-2.

En su espectro de masas (Espectro 32) mediante la técnica de IE e introducción de muestra por CG, se observó el ión molecular (M^+) m/z 291 con 100% de Abundancia Relativa, que corresponde al peso molecular de la estructura propuesta, también se presenta un pico en m/z 290 que corresponde a M^+-1 con una abundancia relativa de 75%

6.3.5.1 Propuesta de Mecanismo de fragmentación



6.4 Optimización de la reacción de desplazamiento del grupo metilsulfonilo con hidruro.

En trabajos previos se reportó que el disolvente utilizado para este tipo de transformación era el THF⁽⁴¹⁾, sin embargo, en un afán de mejorar el rendimiento se planeó utilizar un disolvente que ayudará a disolver la materia prima; después de algunos ensayos con diversos disolventes se encontró que el etanol disolvía más eficientemente la materia prima y, como se indica en la Tabla 15, esto favoreció el rendimiento de la reacción aunque los tiempos de reacción se mantuvieron inalterados.

Tabla 15. Comparación de % de Rendimiento, para el desplazamiento del grupo metilsulfonilo en derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolinas

<i>Compuesto</i>	<i>Condiciones de Reacción</i>	<i>% Rendimiento</i>
7a	THF / NaBH ₄ / t. ambiente*	40
	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	74
7b	THF/ NaBH ₄ / t. ambiente*	40
	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	78
7c	THF/ NaBH ₄ / t. ambiente*	40
	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	73
7d	THF/ NaBH ₄ / t. ambiente*	40
	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	77
7e	THF/ NaBH ₄ / t. ambiente*	40
	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	75
7f	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	72
7g	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	79
7h	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	70
7i	EtOH absoluto / NaBH ₄ / t. ambiente	76

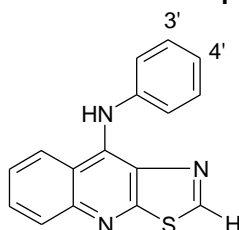
*Condiciones de reacción previamente reportadas (41)

6.5 Citotóxicidad en líneas celulares

Se evaluó la actividad citotóxica de los nueve compuestos sintetizados en tres líneas celulares diferentes (cáncer colorrectal humano, SW620; cáncer cervical HeLa; cáncer leucemia mielógena humana K-562), los resultados representan el promedio de tres experimentos independientes \pm desviación estándar y fueron obtenidos mediante ensayos de citotóxicidad dosis-respuesta gradual utilizando la determinación de MTT y se expresan como CI₅₀ en la Tabla

16. Una observación interesante en este ensayo es que después de 48h de incubación, como lo indica el protocolo, los cultivos celulares tratados con los compuestos que presentaron actividad citotóxica, sufrieron un cambio evidente en su morfología, observación realizada con la ayuda de un microscopio con un aumento de 10X, siendo este cambio distinto al que presentan estas mismas líneas celulares tratadas con otro derivado de 9-anilinothiazoloquinolina el cual a demostrado tener alta capacidad citotóxica. Este cambio en la morfología de las células tratadas con los compuestos sintetizados, fue relevante y se discutirá con más detalle en el apartado 6.6 (pág. 69)

Tabla 16. Actividad citotóxica de compuestos 7a-7i (CI₅₀, μM)



Compuesto	Sustituyente	SW620	HeLa	K-562
7a	H	SA	SA	SA
7b	3'-Cl	SA	SA	SA
7c	3'-CN	SA	SA	SA
7d	4'-Cl	SA	SA	SA
7e	4'-CN	SA	SA	SA
7f	3'-OMe	73.6±3.23	27.2±6.29	23.6±1.81
7g	3'-Me	83.2±3.09	85.8±4.72	41.5±3.39
7h	4'-OMe	SA	30.8±2.28	41.8±2.72
7i	4'-Me	SA	SA	33.7±3.61
<i>Amsacrina</i> *		27.70±2.00	9.50±0.60	19.90±0.80

* Compuesto de referencia ⁽³⁴⁾

SA, Sin actividad a las concentraciones utilizadas (0.1, 1, 15, 45, 90 μM)

Un análisis minucioso permite afirmar que el compuesto 7f es el que mostró mayor actividad en las tres líneas celulares evaluadas pero menor que el compuesto de referencia.

Comparando la actividad del compuesto 7f con su isómero de posición (compuesto 7h), este último presentó actividad citotóxica moderada sólo en 2 líneas celulares lo que generó dos observaciones importantes:

- a) Influye la posición del sustituyente en el anillo de anilina en la actividad citotóxica para este tipo de derivados.

- b) Si bien es cierto que el compuesto 7f (*m*-metoxi) presentó mayor actividad citotóxica en las 3 líneas celulares, en contraste con su *p*-metoxi derivado que sólo presentó actividad moderada en 2 líneas celulares (HeLa y K-562), esta observación nos permite afirmar que la línea celular SW620 es menos sensible a este compuesto (7h), a las concentraciones evaluadas, lo que nos permite inferir, también, que la actividad citotóxica puede ser modulada por el patrón de sustitución en el anillo de anilina.

Por otro lado, comparando el compuesto 7g y 7i, observamos que 7i presentó una actividad citotóxica moderada en la línea celular K-562 a diferencia del compuesto 7g que fue activo en las tres líneas celulares, siendo en la línea celular K-562 en la que presentó mayor actividad.

Entonces, es preciso señalar que, de los compuestos que presentaron actividad citotóxica en las líneas celulares, es importante la presencia de los grupos metoxilo y metilo en el anillo de anilina. Aparentemente, la sustitución en *meta* de estos derivados favorece la actividad citotóxica en las tres líneas celulares; pero aquellos compuestos que tienen estos sustituyentes en posición *para* muestran actividad citotóxica sólo en una o dos líneas celulares y que, probablemente, aquellas líneas en las cuales no se presentó actividad biológica sean menos sensibles a estos compuestos para sustituidos

Por otro lado, para discernir la influencia del sustituyente presente en la posición 2 del núcleo de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina sobre la citotoxicidad en líneas de células tumorales, es interesante confrontar los datos de actividad citotóxica de los compuestos obtenidos en el presente estudio, con los datos de citotoxicidad de otras series de compuestos que han sido reportados anteriormente por Lira Rocha y colaboradores (serie **A-D**)^(7,8); el patrón de sustitución para dichas series se ilustra en la Figura 21.

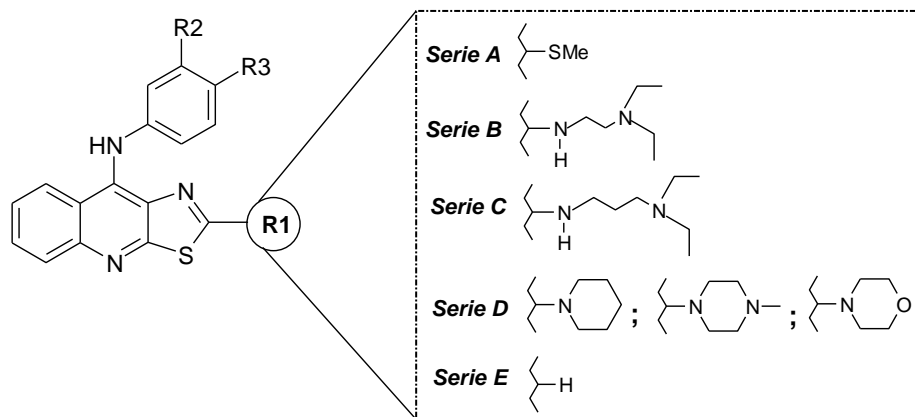


Figura 21. Patrón de sustitución de la posición 2 de distintas series de derivados de 9-anilinothiazolo[5,4-b]quinolina ^(7,8,34)

Tabla 17. Comparación de actividad citotóxica (CI_{50} , μM) en líneas celulares de derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina ^(7,43)

Serie	Compuesto	R1	R2	R3	HeLa	SW620	K-562
A	1	SCH ₃	H	H	SA	SA	SA
A	2	SCH ₃	3'-Cl	H	69.37	129.73	80.26
A	3	SCH ₃	3'-CN	H	7.75	43.75	8.01
A	4	SCH ₃	3'-Ome	H	25.34	26.58	22.17
A	5	SCH ₃	H	4'-Cl	123.86	145.95	79.45
A	6	SCH ₃	H	4'-CN	140.02	SA	120.01
A	7	SCH ₃	H	4'-OMe	SA	110.8	77.2
B	8	E	H	H	15.96	21.6	16.8
B	9	E	3'-Cl	H	9.12	17.78	12.19
B	10	E	3'-CN	H	13.33	14.62	12.48
B	11	E	3'-Ome	H	19.2	20	23.5
B	12	E	H	4'-Cl	10.16	12.20	7.26
B	13	E	H	4'-CN	15.18	16.49	8.36
B	14	E	H	4'-OMe	13.60	16.38	10.87
C	15	P	H	H	6.27	16.56	7.52
C	16	P	3'-Cl	H	7.46	10.17	9.84
C	17	P	3'-CN	H	19.21	19.65	12.88
C	18	P	H	4'-Cl	8.82	7.48	3.36
C	19	P	H	4'-CN	24.18	29.15	12.88
D	20	X	H	H	>80	>80	>80
D	21	Y	H	H	60.7	>80	73.01
D	22	Z	H	H	>80	>80	>80
E	23	H	H	H	SA	SA	SA
E	24	H	3'-Cl	H	SA	SA	SA
E	25	H	3'-CN	H	SA	SA	SA
E	26	H	3'-Ome	H	27.2	76.6	23.6
E	27	H	3'-Me	H	85.8	83.2	41.5
E	28	H	H	4'-Cl	SA	SA	SA
E	29	H	H	4'-CN	SA	SA	SA
E	30	H	H	4'-OMe	30.8	SA	41.8
E	31	H	H	4'-Me	SA	SA	33.7
<i>Amsacrina*</i>					9.50	27.70	19.90

* compuesto de referencia ⁽³⁴⁾SA, Sin actividad a las concentraciones de [0.1, 1, 15, 45 y 90 μM]E = NH-(CH₂)₂-N(Et)₂P = NH-(CH₂)₃-N(Et)₂

X = 1-piperidinil

Y = 1-(4-metil)piperazinil

Z = 1-morfolinil

Comparando los datos de actividad de los compuestos de la serie A (comp. 1-7) con los obtenidos de la serie E (comp. 23-31, presente estudio) podemos destacar lo siguiente:

- Para la serie A, el compuesto que presentó menor actividad fue aquel que carecía de algún sustituyente en el anillo de anilino (compuesto 1), por otro lado, el compuesto 3, el cual presenta en posición 3' un grupo -CN, mostró tener mayor actividad del total de compuestos de la serie en algunas líneas celulares (HeLa y K-562), e inclusive mayor actividad que la reportada para el compuesto de referencia⁽⁷⁾. Otra observación importante es que hay una gran diferencia de actividades de este último (compuesto 3) con respecto a su isómero el derivado *p*-CN (compuesto 6), la actividad de este último disminuyó considerablemente. Esta tendencia se mantiene con todos los compuestos de la serie A. Es decir los compuestos que presentan sustituyente en posición meta, fueron más activos que sus análogos *p*-sustituidos.

Lo anterior nos permite inferir lo siguiente:

- Para los 2-metilthio derivados (serie A), para la actividad citotóxica es relevante la naturaleza del sustituyente en la posición 3' del anillo de anilina.
- Grupos electroattractores y aparentemente buenos grupos aceptores de puentes de hidrogeno presentes en posición meta del anillo de anilina, mejoran la actividad citotóxica en estos derivados.

Por otro lado, contrastando lo anterior con los datos obtenidos de la serie E observamos una tendencia interesante:

- Nuevamente, el compuesto que no presenta sustituyentes en el anillo de anilina (compuesto 23), carece de actividad citotóxica.
- Como ya se mencionó, sólo los compuestos que tienen sustituyentes en posición 3' en el anillo de anilina (3'-OMe, 3'-Me), presentaron actividad en las tres líneas celulares evaluadas, siendo el derivado 3'-metoxi (compuesto 26) el que presentó mayor actividad citotóxica de estos dos. Estos valores de citotoxicidad del compuesto 26, se mantuvieron

prácticamente iguales que los obtenidos para su análogo de la serie A (compuesto 4) en dos líneas celulares (HeLa y K-562).

También se observa que los compuestos que presentan estos sustituyentes (-OMe, -Me) en el anillo de anilina pero en posición *para*, de igual forma presentaron actividad moderada. Con la diferencia que con sólo este cambio de posición de dichos grupos no solo influyó en la actividad citotóxica en líneas celulares, sino que también aparentemente influye sensiblemente en la selectividad hacia alguna línea celular tumoral. Esta tendencia se observa más marcadamente en los compuestos metil-derivados de esta serie. El compuesto *m*-metil derivado presentó actividad en las tres líneas celulares, no así el *p*-metil derivado que sólo fue activo en una línea celular (K-562), incluso siendo más activo este último en dicha línea celular que su isómero de posición.

Comparando la serie B con la serie E, se destaca que los compuestos de la primera, que tienen en la posición 2 del sistema tricíclico una cadena de *N,N*-dietiletilendiamino, en términos generales, mejoraron su actividad citotóxica, y en algunos casos incluso mostraron mayor actividad que la amsacrina, compuesto de referencia.

También a diferencia de la serie anterior, en la cual el patrón de sustitución de los compuestos de la serie B sí les afectó en la actividad citotóxica pero de manera menos sensible; es decir los compuestos *meta* sustituidos y sus isómeros *para* sustituidos para un mismo grupo funcional, de manera general presentaron valores de citotoxicidad similares, siendo de esta serie de compuestos los derivados clorados en 3' y 4' los que presentaron mayor actividad citotóxica.

Una observación interesante es que los valores de citotoxicidad para los derivados 3'-metoxi de las series B y E, en las líneas K-562 y HeLa no muestren una gran diferencia. Considerando que la variación estructural es muy grande, en un caso existe en el carbono 2 un grupo *N,N*-dietiletilendiamino mientras que en el otro sólo hay un átomo de hidrógeno, esto conduce a suponer que existen otros factores estructurales que influyen en la actividad citotóxica de este tipo de compuestos. También, es posible que la susceptibilidad de las líneas celulares hacia este tipo de compuestos sea diferente. Está es una aseveración que tendría que ser estudiada.

El análisis de las actividades presentadas por los compuestos de la serie C permite detectar que la elongación de la cadena lateral en la posición 2 del sistema de tiazoloquinolina, sustituyente *N,N*-dietilpropilendiamino, favorece la citotoxicidad en algunas líneas celulares, como en el caso del compuesto 18, que fue el más activo en esta serie, inclusive más que el compuesto de referencia.

Por otro lado, comparando los datos de actividad biológica de la serie D y E, se observa que de manera general los compuestos de la serie E mostraron mayor actividad citotóxica en las líneas celulares evaluadas, que los presentados por los compuestos de la serie D que tienen en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina un heterociclo saturado. También es interesante observar que los compuestos de la serie D no poseen ningún sustituyente en el anillo de anilina, lo que refuerza aún más lo precisado anteriormente en el sentido de que el patrón de sustitución del anillo de anilina influye de manera sensible en la actividad citotóxica.

Además se desprenden las siguientes consideraciones:

- a) La introducción de heterociclos saturados en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina, cuyos grados de libertad están más restringidos que en las dos series anteriores, permite establecer que factores conformacionales del grupo presente en dicha posición influyen de manera directa en la actividad citotóxica de estos derivados, ya que las actividades de estos compuestos (serie D) se abatieron considerablemente.
- b) Aparentemente, es necesario un átomo de nitrógeno terciario a cierta distancia del nitrógeno unido directamente a la posición 2, ya que el compuesto con un anillo de 4-*N*-metilpiperazina (compuesto 21) fue más activo que aquellos que carecían de él.

En resumen, de las observaciones anteriores, sobre la influencia del sustituyente en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina en la actividad citotóxica en líneas celulares podemos resaltar tres muy importantes:

- El patrón de sustitución en posición 2 del sistema tricíclico influye de manera sensible en la actividad citotóxica observada.
- La presencia de cadenas laterales, flexibles con mayor grados de libertad (sustituyente *N,N*-dietiletilendiamino y *N,N*-dietilpropilendiamino) en

posición 2 de dicho sistema, mejoran sensiblemente la actividad citotóxica de estos compuestos. La longitud de la cadena de alquilamino fue relevante, más no crítica en la actividad citotóxica en las líneas celulares evaluadas, ya que, aparentemente, hay otros descriptores estero-electrónicos que influyen en la misma.

- La ausencia de sustituyentes voluminosos en la posición 2 del sistema tiazoloquinolina, disminuye de manera importante la actividad citotóxica de estos derivados (serie E).

Sin embargo, es evidente que la actividad se puede modular mediante el patrón de sustitución en el anillo de anilina. Tanto el grupo CN como el átomo de cloro atraen fuertemente la densidad electrónica, mientras que los grupos -OMe y -Me presentan el efecto contrario.

Tabla 18. Constantes Electrónicas e Hidrofóbicas de los sustituyentes empleados. ⁽⁴⁴⁾

Sustituyente	<i>Descriptores</i>		
	π	σ_m	σ_p
Cl	0.36	0.30	0.06
CN	-0.84	0.52	0.61
CH ₃	0.31	-0.37	-0.24
OMe	0.22	0.06	-1.00

Considerando el factor lipofílico (π), el átomo de cloro, y los grupos -OMe y -Me, se consideran como sustituyentes hidrofóbicos, mientras que el grupo CN es de tipo hidrofílico. Si este factor es el que controla la actividad biológica, entonces los derivados 7b,7d,7f,7h,7g,7i, sustituidos con Cl, OMe, Me respectivamente deberían tener actividad. Si es el factor electrónico el importante, entonces esto explica porqué sólo aquellos compuestos que tienen grupos electrodonadores son activos. Aunque el conjunto de compuestos es reducido, se observa una cierta tendencia, la que sería interesante corroborar incrementando el número de compuestos con ambos tipos de sustituyentes (electrodonadores y electroattractores).

6.6 Morfología celular

Se realizaron observaciones al microscopio con un aumento de 10X de las células presentes en los cultivos celulares, tanto de los cultivos control, como de los que fueron tratados con los compuestos sintetizados a las distintas concentraciones después de 48 h de tratamiento.

Se puede observar que la morfología de las células tratadas con los compuestos que presentaron actividad citotóxica se ve alterada, comparándolas con las células del cultivo control. Las células control muestran una morfología circular en algunos casos, son aparentemente poco densas, presentan bordes lisos y muestran también formas alargadas con extremos cónicos (Figura 22), por otro lado, las células tratadas con el compuesto 7f muestran una morfología diferente, se puede apreciar células con formas circulares con bordes ligeramente irregulares (“rugosidades”), aparentemente más densas y con un ligero aumento de volumen, característica que se hace mas evidente al aumentar la concentración del compuesto (Imagen A,B,C,D, Figura 23)

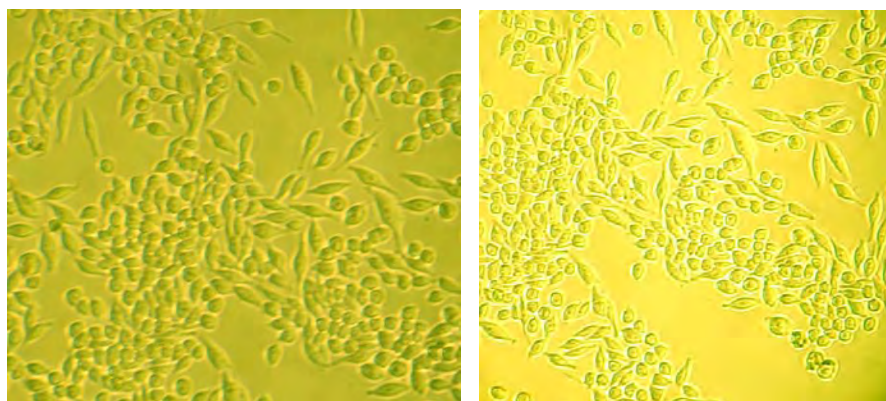


Figura 22. Morfología de células control, vistas al microscopio

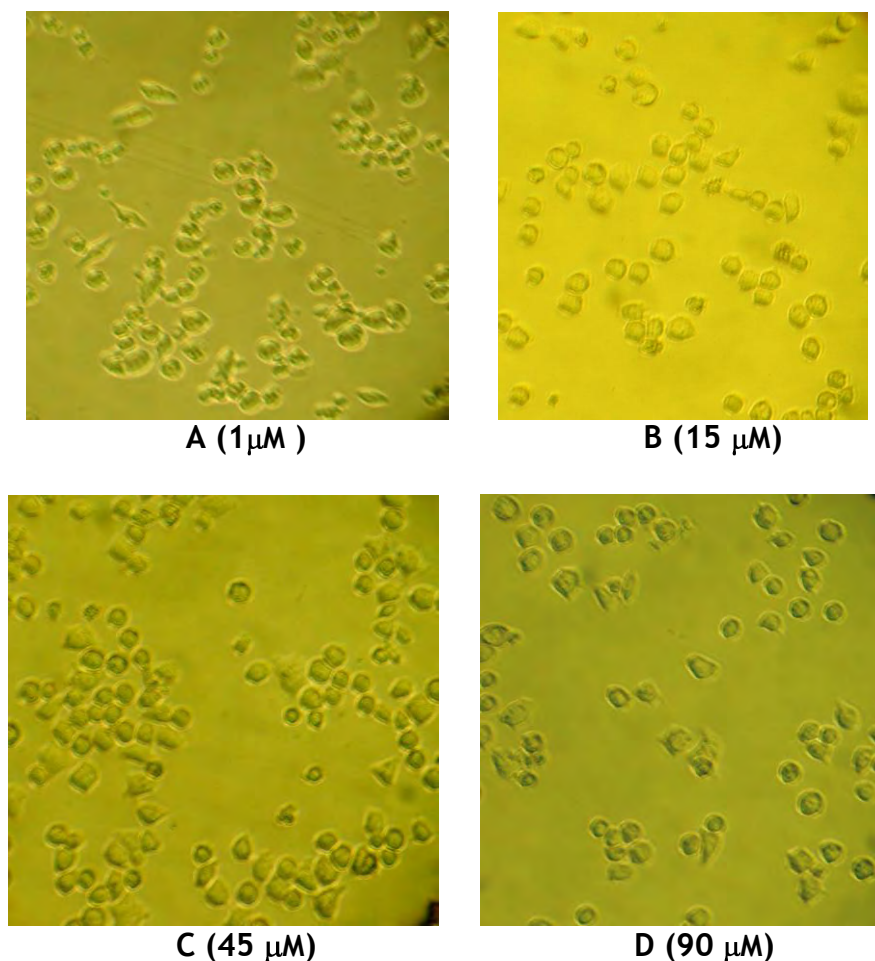


Figura 23. Morfología de células tumorales vistas al microscopio (10X), tratadas con el compuesto 7f

Además, estas observaciones son más evidentes y contrastantes al compararlas con las células tratadas con un derivado de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina **G3C15P**⁽⁴⁰⁾, el cual ha demostrado tener una alta actividad citotóxica en los mismos paneles de líneas celulares (Figura 24), incluso valores mayores al reportado por el compuesto de referencia, amsacrina⁽⁴⁰⁾. Las imágenes tomadas a las células cultivadas, con ayuda de un microscopio, muestran un número mayor de células por campo a 15 μM y prácticamente la ausencia de células por campo a una concentración de 90 μM (imágenes a y b, Figura 24), resultado del efecto citotóxico de este compuesto. Al observar la morfología de las mismas a una concentración de 15 μM, destaca que las células presentes muestran una forma muy similar a la que presentan los cultivos control, en contraste con la morfología observada de las células tratadas con el compuesto 7f.

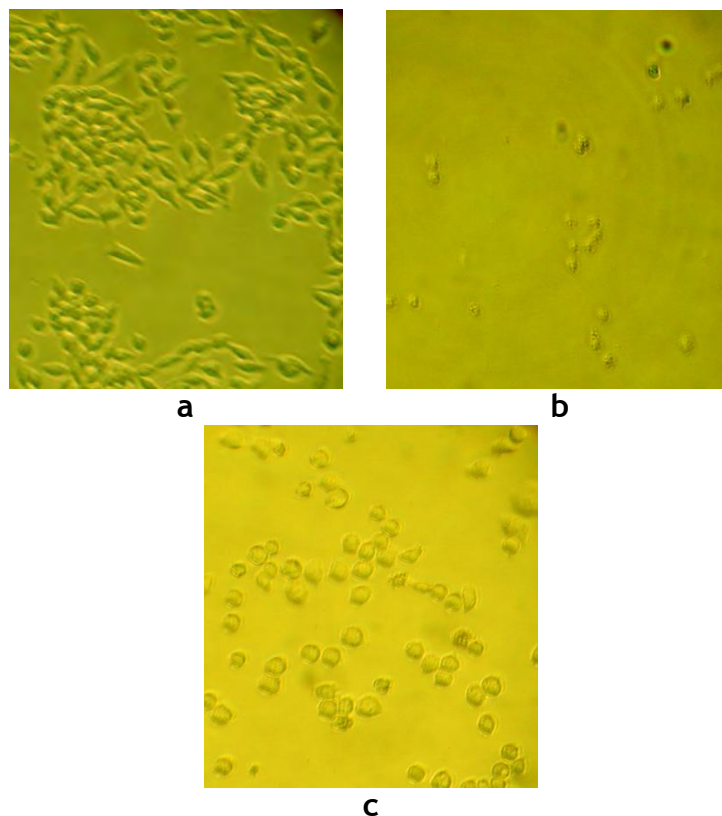


Figura 24. Comparación de morfología de células tumorales tratadas con 2 diferentes derivados de tiazoloquinolinas, a. G3C15P 15 μM ; b. G3C15P 90 μM ; c. 7f 15 μM

Se tiene reportes que algunos compuestos utilizados en la clínica o en alguna fase de estudio en contra del cáncer⁴⁵⁻⁴⁶, entre los que se encuentran los alcaloides de la vinca, tienen la capacidad de inhibir el ciclo celular en la fase G2/M, por complejos mecanismos moleculares aún no bien descritos, les permiten a estos compuestos “arrestar” a las células en dicha fase, sin embargo, existen en la literatura otra clase de compuestos con buena actividad citotóxica, es el caso de compuestos tricíclicos tales como las 9-anilinoacridinas, 9-arilacridinas, 9-alkilaminoacridinas, 9-arilaminoacridinas, que su actividad citotóxica parece estar relacionada a su capacidad de intercalación con la macromolécula de DNA.

Derivados como son 9-anilino[5,4-*b*]quinolina, 9-alkil[5,4-*b*]quinolina y 2-alkil-9-anilino[5,4-*b*]quinolina, mostraron buena actividad, que, sin embargo no correlacionó con su capacidad de intercalarse entre las bases del ADN^(33,36). En otros compuestos tricíclicos, la intercalación parece estar vinculada a la inhibición de la actividad de las DNA topoisomerasas tipo II, con poco efecto

sobre otras enzimas que actúan sobre el ADN, como lo son las DNA polimerasas^(47,48).

Si bien es cierto que el cambio en la morfología de las células tratadas con los compuestos sintetizados, puede ser explicada por una probable inhibición de la enzima topoisomerasa tipo II, por los reportes previos, es cierto, que también esta hipótesis aún no ha sido probada para los compuestos sintetizados que presentaron esta actividad (7f-7i). Por otro lado, es importante mencionar que existen diversos factores que pueden propiciar un cambio en la morfología celular, como lo son: alteraciones a nivel del citoesqueleto, presión osmótica, por mencionar algunos.

Sin embargo, la citotoxicidad puede también depender de la solubilidad de los compuestos y de la permeabilidad de las células a los mismos. De tal forma que también es posible que la citotoxicidad depende de algún otro mecanismo adicional no identificado. Para resolver este problema, sería interesante abordar en estudios futuros, la determinación de los efectos de estos compuestos sobre la síntesis de DNA, la integridad del DNA *in vivo*, citometría de flujo, viabilidad celular, etc. y que lo aquí señalado es solo una observación que debe ser considerada para futuros estudios.

7. Parte Experimental

7.1 Reactivos y equipo

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

Se utilizó un rotaevaporador marca Buchi modelo RE 111 para la evaporación de los disolventes utilizados. Los puntos de fusión reportados se determinaron mediante un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , 2D RMN; así como la preparación de muestras para el análisis de Resonancia Magnética Nuclear de Líquidos, el ajuste del equipo, se realizó en un aparato Varian VxR-300S (300MHz), en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM. Los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de señales se expresa como s = señal simple, sa = señal ancha, c = señal cuádruple, d = señal doble, dd = señal doble de doble, ddd = señal doble de doble de doble, t = señal triple, q = señal quintuple, m = señal múltiple. Se utilizó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolvente dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$).

Los espectros de masas se determinaron mediante las siguientes técnicas de ionización: 1. Bombardeo con Átomos Rápidos (FAB) y 2. Electroionización (IE) y el tipo de introducción de las muestras fue mediante Sonda Directa y por Cromatografía de Gases, realizados en un equipo JEOL y una matriz de glicerol. El ión molecular se indica mediante (M^+), además la nomenclatura se indica como m/z = masa/carga, relacionada con su respectivo % de Abundancia Relativa (% AR).

7.1.1 Cromatografía

Para las cromatografías en columna se empleó gel de sílice Merck 60 malla 70-230. Los análisis cromatográficos se realizaron en capa fina analítica siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas de gel de sílice (Aldrich) con indicador de UV y espesor de 0.2 mm. Para la visualización de las manchas se empleó una lámpara de luz UV.

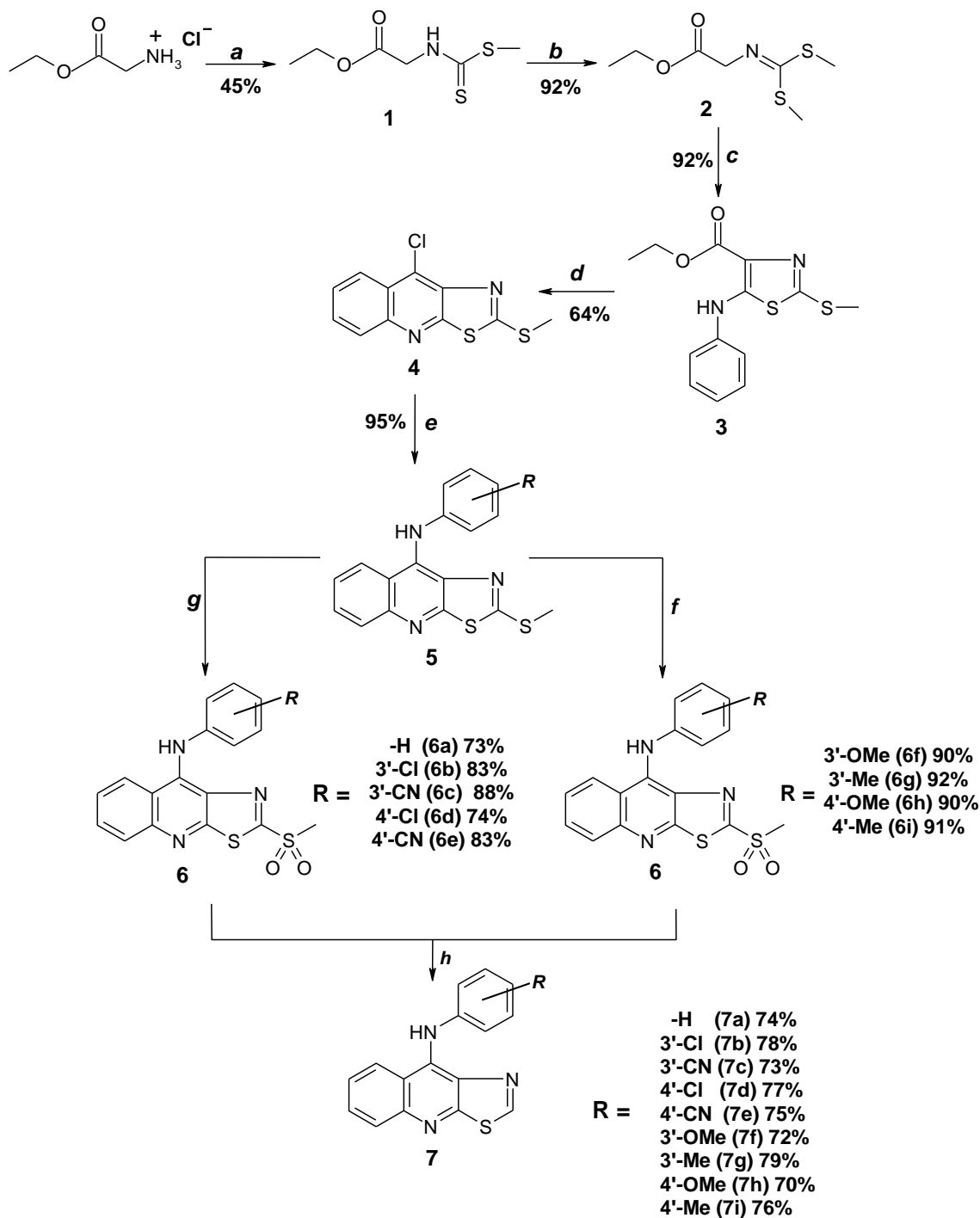
Tabla 19 .Sistemas de elución empleados

Sistema	Mezcla de disolventes	Proporción
I	Hexano/ Acetato de etilo	1:1
II	Hexano/ Acetato de etilo	7:3
III	Hexano/ Acetato de etilo	8:2
IV	Diclorometano/MeOH	9:1

7.2 Citotoxicidad en líneas celulares

Los ensayos de Citotóxicidad en líneas celulares de los nueve compuestos sintetizados (7a-7i), se realizaron en el Departamento de Biología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los efectos citotóxicos de estos derivados de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina se determinaron en un panel de tres líneas celulares diferentes, una línea cervical (HeLa), una línea celular de cáncer colorrectal humano (SW620), una línea celular de leucemia mielogena humana (K-562), realizando un perfil dosis-respuesta gradual (0.1, 1, 15, 45, 90 μM), mediante el método de determinación de MTT a 48 h de tratamiento, expresándose como CI_{50} , que representa el promedio de tres experimentos independientes \pm desviación estándar.

7.3 Parte Química



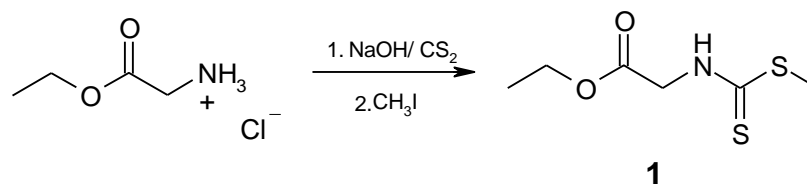
Esquema 3. Ruta general de síntesis.

a) 1. NaOH/CS₂/20 °C 2. CH₃I/ 0°C; b) 1. K₂CO₃/ 20°C 2.CH₃I/0°C; c) 1. t-BuO⁻K⁺/THF Anh./-75°C 2. PhNCS/-75 °C; d) POCl₃/ PPA/130-135°C; e) 1. MeOH/HCl 2. 5a, anilina, 5b,3-cloroanilina; 5c, 3-cianoanilina; 5d, 4-cloroanilina; 5e, 4-cianoanilina;

5f, 3-metoxianilina; 5g, 3-metilanilina; 5h, 4-metoxianilina; 5i, 4-metilanilina/ reflujo 8h; f) AcOH/ Na₂WO₄/H₂O₂ 30% T.amb. 10 min; g) AcOH/ H₂O₂ 24h ; h) EtOH absoluto/ NaBH₄ /T. amb. 24 h.

7.4 Síntesis y Descripción

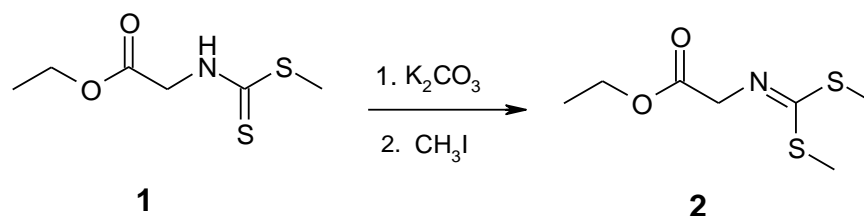
7.4.1 N-[(Etoxicarbonil)metil]ditiocarbamato de metilo (1)



En un matraz de fondo redondo de tres bocas acondicionado con un termómetro, agitación mecánica y embudo de adición, se mezclaron 300 mL de dimetilsulfóxido y 83.76 g de clorhidrato de glicinato de etilo (0.6 mol). La suspensión se agitó vigorosamente a temperatura ambiente hasta disolución total. Posteriormente a esta solución se le adicionaron lentamente 36 mL de una solución 20 M de hidróxido de sodio, manteniendo la temperatura a 20 °C. Terminada la adición se agregaron lentamente 48 mL de disulfuro de carbono (0.78 mol), manteniendo la temperatura entre 15 y 20 °C. Se mantuvo la agitación por 40 minutos a temperatura ambiente. La solución amarilla se enfrió a 0 °C y se adicionaron lentamente 48 mL de yoduro de metilo (0.78 mol), manteniendo la temperatura de reacción a 0 °C.

Terminada la adición se retiró el sistema de enfriamiento y se dejó agitando por 3 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se vertió sobre 3000 mL de una mezcla de hielo-agua con agitación constante. El precipitado formado se aisló y secó por filtración. Se obtuvieron 51.73 g (44.61 %) de un precipitado ligeramente amarillo, con un Rf de 0.3 (Sistema III).

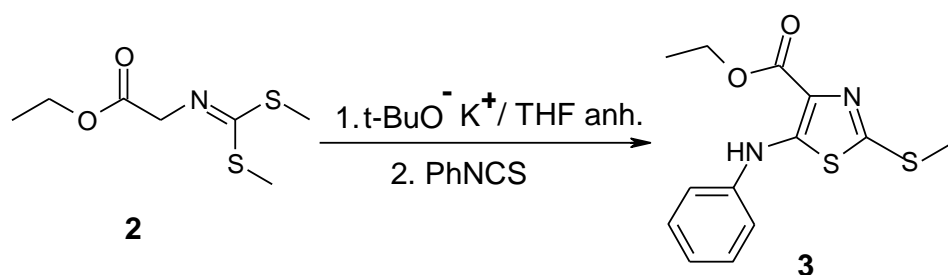
7.4.2 N-[(Etoxicarbonil)metil]iminoditiocarbamato de dimetilo (2)



En un matraz de fondo redondo de tres bocas acondicionado con termómetro, agitación mecánica y embudo de adición se mezclaron 43 g del crudo del compuesto 1 (aproximadamente 0.224 mol), en 120 mL de dimetilsulfóxido. Posteriormente a la solución amarilla resultante se le agregó, lentamente, una solución de 48 g de carbonato de potasio en 38 mL de agua, manteniendo la temperatura a 20 °C, formándose una suspensión color rojo pardo.

Terminada la adición la suspensión se enfrió a 0 °C y se adicionaron lentamente 20 mL de yoduro de metilo (0.32 mol) manteniendo la temperatura en 0 °C y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió lentamente sobre 1000 mL de agua con agitación. La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo (4 x 400 mL). Se juntaron las fracciones orgánicas, se trataron con sulfato de sodio anhidro, y se eliminó el acetato de etilo mediante un rotaevaporador, obteniéndose un aceite oscuro. Este aceite se purificó mediante destilación a presión reducida, colectándose la fracción que destiló entre 145-160 °C. Se obtuvieron 41.93 g (91.87 %) de un aceite incoloro con un Rf de 0.4 (sistema II) que se torna amarillo por la exposición a la luz.

7.4.3 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (3)



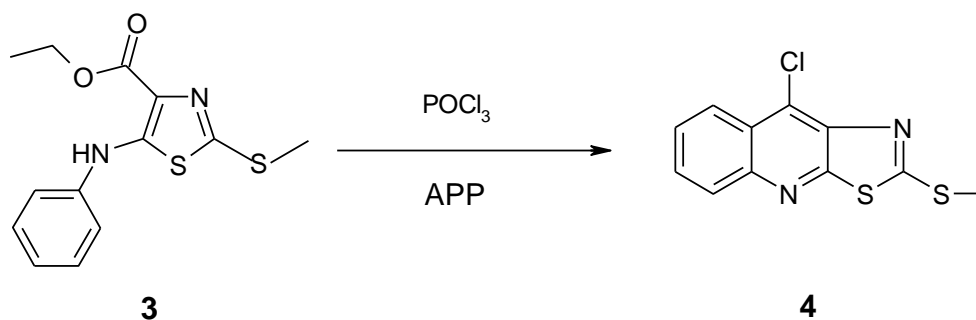
En un matraz de tres bocas, tipo europeo, acondicionado con termómetro para bajas temperaturas, embudo de adición, condiciones anhidras y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 6.34 g de *tert*-butóxido de potasio (56.6 mol) en 200 mL de tetrahidrofurano anhidro. La suspensión formada se enfrió a -75 °C mediante una mezcla de hielo seco-acetona. Al embudo de adición se transfirió, mediante una cánula, una solución de 8 g del compuesto 2 (38.64 mmol) en 15 mL de THF anhidro, la cual se adicionó por goteo a la suspensión de *tert*-butóxido de potasio, manteniendo la misma temperatura.

Terminada la adición, la solución amarillo-naranja resultante se dejó agitar durante 90 minutos a la misma temperatura. A continuación se transfirió al

embudo de adición una solución de 4.8 mL de isotiocianato de fenilo (38.64 mmol) en 15 mL de THF anhidro y se adicionó por goteo, manteniéndose en agitación constante y en las mismas condiciones. Se dejó agitar durante 50 minutos y se retiró el sistema de enfriamiento.

Cuando la temperatura se aproximó a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ se formó un precipitado amarillo. La suspensión formada se dejó en agitación por 16 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo la suspensión amarilla se vertió lentamente en 1600 mL de agua con agitación constante, formándose un precipitado blanco, el cual se separó y secó por filtración al vacío. Se obtuvieron 10.4 g (91.5 %) del compuesto 3, con un punto de fusión de $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un R_f de 0.57 (sistema I).

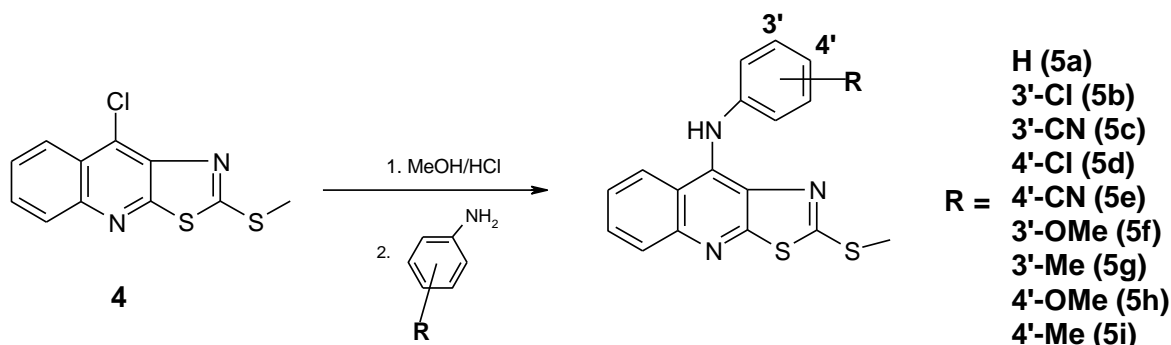
7.4.4 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4)



En un matraz de fondo redondo de una boca se colocaron 2.94 g (10mmol) del compuesto 3, se adicionaron 710 mg de ácido polifosfórico (6 mmol) y 3 mL de oxiclورو de fósforo (11.7 mmol). La mezcla de reacción se calentó, con agitación constante a $130\text{-}135\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas. Al final de este tiempo se dejó enfriar la reacción a temperatura ambiente y se agregaron lentamente y por goteo 10 mL de etanol frío. Al disolverse el aceite obtenido precipitó un sólido color naranja, la suspensión se vertió sobre 20 mL de agua y se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio.

El precipitado amarillo-café se separó por filtración al vacío y se secó por succión. El crudo se suspendió en metanol, se calentó ligeramente con agitación durante 5 minutos y se filtró para obtener 1.7 g (63.9%) del compuesto 4, con un punto de fusión de $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ y un R_f de 0.65 (sistema I).

7.4.5 Procedimiento General para la obtención de 2-(metiltio)-9-anilino[5,4-*b*]quinolinas (5a-5i).

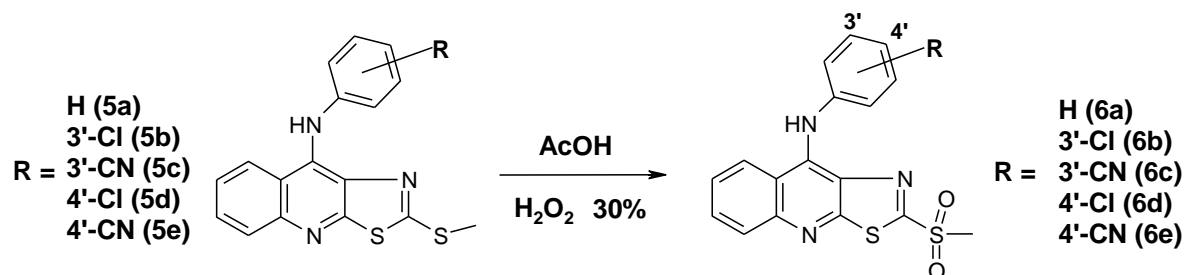


En un matraz de fondo redondo de una boca acondicionado con refrigerante y con agitación magnética se suspendieron 266 mg (1 mmol) del compuesto 4 en 5 mL de metanol a esta suspensión se añadieron 4 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se dejó agitar por 10 minutos. Terminado este tiempo se agregaron 180 mg de la amina aromática correspondiente, esta mezcla se sometió a reflujo vigoroso durante 8 horas. Al término de este tiempo, se suspendió el calentamiento y la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se eliminó el metanol a presión reducida.

El residuo sólido se suspendió en 10 mL de agua destilada y se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio, el precipitado, color amarillo, se filtró al vacío, se lavó con agua destilada y se secó por succión para obtenerse 303 mg (95 %) del compuesto sustituido (5a).

Para los compuestos 5a,5b,5g,5i, el sólido obtenido se lavó con acetona fría; los productos obtenidos se compararon por CCF con una muestra de referencia de acuerdo al método reportado.⁽³⁷⁾

7.4.6 Procedimiento general de oxidación mediante AcOH/ H₂O₂ (6a-6e)⁽³³⁾.

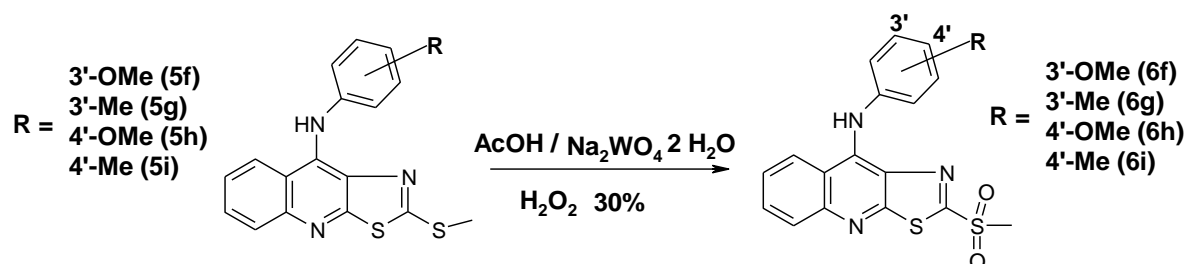


En un matraz de fondo redondo de una boca, acondicionado con refrigerante de aire, se suspendieron 200 mg del derivado metiltio correspondiente (compuesto 5a) en 6 mL de ácido acético glacial, la suspensión resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente por espacio de 10 min, al término de este tiempo se le agregaron a la suspensión y con agitación constante 6 mL de peróxido de hidrógeno al 30%, la suspensión resultante se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 24 h, al término de este tiempo la mezcla se vertió sobre 30 mL de una mezcla agua-hielo con agitación constante.

El precipitado formado se separó por filtración, se lavó con agua destilada y se secó por succión. Obteniéndose 160 mg de un sólido color amarillo (compuesto 6a).

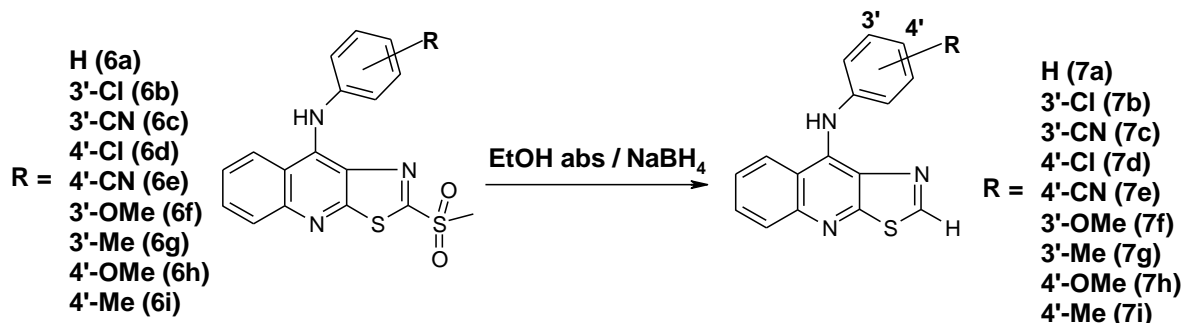
Los productos obtenidos se compararon por CCF con una muestra de referencia, de acuerdo con el método reportado por Olvera Vázquez S.⁽³⁷⁾

7.4.7 Procedimiento general de oxidación mediante AcOH / Na₂WO₄ 2H₂O / H₂O₂ (6f-6i)^(38,39,40).



En un matraz de fondo redondo de una boca, acondicionado con refrigerante de aire, se suspendieron con agitación constante, a temperatura ambiente y por espacio de 10 min, 200 mg del derivado metiltio correspondiente (compuesto 5f) y 5 mg (0.015 mmol) de Na₂WO₄ 2H₂O en 5 mL de ácido acético glacial, al término de este tiempo, a la suspensión amarilla, se le agregaron lentamente y por goteo 1.5 mL de peróxido de hidrógeno al 30 %. La suspensión resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente por 10 min. Transcurrido este tiempo la mezcla de reacción, de color amarillo intenso, se vertió con agitación constante sobre 20 mL de una mezcla agua-hielo. El precipitado formado se separó por filtración, se lavó con agua destilada y se secó por succión. Se obtuvieron 170 mg (90 %) de un sólido amarillo claro (compuestos 6f), los productos obtenidos se compararon por CCF con una muestra de referencia^(37,38,39,40)

7.4.8 Procedimiento general para la remoción del grupo metilsulfonilo mediante NaBH₄ (7a-7i).



En un matraz de fondo redondo de una boca, se suspendieron con agitación constante y a temperatura ambiente 220 mg de la sulfona correspondiente (compuesto 6a) en 6 mL de etanol absoluto por espacio de 10 minutos. Transcurrido este tiempo se le agregó a la suspensión amarilla 5 mg (0.138 mmol) de NaBH₄. La suspensión resultante se mantuvo en agitación constante y a temperatura ambiente por espacio de 24 hrs. Al término de este tiempo se obtuvo una solución amarilla, a la que se le adicionaron lentamente y con agitación constante 2 mL de HCl al 10%. El precipitado formado color amarillo, se separó por filtración al vacío, se lavó con agua destilada y con solución saturada de bicarbonato de sodio. Se obtuvieron 200 mg del producto en su forma cruda (compuesto 7a); el cual se purificó mediante cromatografía en columna abierta de gel de sílice (sistema de elución IV), las fracciones de composición semejante se juntaron y se concentraron a presión reducida obteniéndose 130 mg de un sólido color amarillo pálido (compuesto 7a).

A continuación se describen las constantes físicas y espectroscópicas para los compuestos finales novedosos.

7.4.9 9-[3-Metoxifenil]amino]-tiazolo[5,4-b]quinolina (7f)

Utilizando el procedimiento descrito en la sección 7.4.8 se obtuvieron 137 mg (0.44 mmol, 72%), de un sólido amarillo claro, compuesto 7f, con un punto de fusión de 151 °C y un R_f de (0.35) (sistema III). Sus constantes espectroscópicas son las siguientes; IR (KBr cm⁻¹): 3120 (NH), 3053, 2966 (CH), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476 (aromáticos), 1266 (Ar-O); RMN H¹: (DMSO -d₆, δ): 9.4 (s, 1H) -NH-Ar;

9.22 (s,1H)H-2;6.58(m,3H) H-2',H-4',H-6'; 7.11 (t,1H, $J= 8.7$ Hz) H-5'; 3.65 (s, 3H) -OMe; 8.29 (d, 1H, $J= 8.4$ Hz) H-8; 7.97 (dd, 1H, $J= 8.7, 0.9$ Hz) H-5; 7.75 (ddd, 1H, $J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-6; 7.49 (ddd, 1H, $J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-7; RMN C^{13} (DMSO- d_6): 55.3,106.5, 108.2, 113.1, 119.5, 124.4, 124.7, 128.7, 129.5, 130.2, 133.1, 141.1, 144.7, 148.1, 153.2, 160, 160.7 ;(EM IE, m/z): 307(M^+ , 100%), 292 (M^+-15 , 78%).

7.4.10 9-[3-Metilfenil]amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7g)

Utilizando el procedimiento descrito en el apartado 7.4.8 se obtuvieron 150 mg (0.515 mmol, 79%), de un sólido amarillo, compuesto 7g, con un punto de fusión de 132 °C y un Rf de (0.6) (sistema III). Sus constantes espectroscópicas son las siguientes; IR (KBr cm^{-1}): 3120 (NH), 3053, 2966 (CH), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476 (aromáticos); RMN H^1 : (DMSO - d_6 , δ): 9.35 (s, 1H)-NH-Ar, 9.18 (s, 1H) H-2; 2.21 (s, 3H) Ar-Me; 8.29 (d, 1H, $J= 8.4$ Hz) H-8; 7.95 (dd, 1H, $J= 8.7, 0.9$ Hz) H-5; 7.73 (ddd, 1H, $J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-6; 7.47 (ddd, 1H, $J= 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-7; 7.1 (t, 1H, $J= 8.6$ Hz) H-5'; 6.86 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; (EM IE, m/z): 291 (M^+ , 100%), 290 (M^+-1 , 75%).

7.4.11 9-[4-Metoxifenil]amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7h)

Usando el procedimiento para la remoción descrito en la sección 7.4.8 se obtuvieron 140 mg (0.46 mmol, 70%) de un sólido amarillo, compuesto 7h, con un punto de fusión de 147 °C y un Rf de (0.41) (sistema III). Sus constantes espectroscópicas son las siguientes; IR (KBr cm^{-1}): 3120 (NH), 3053, 2966 (CH), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476 (aromáticos); RMN H^1 (DMSO - d_6 , δ): 9.29 (s,1H) -NH-Ar; 9.07 (s, 1H) H-2; 6.85 (d, 2H, $J= 8.4$ Hz) H-3', H-5';7.06 (d, 2H, $J= 8.4$) H-2', H-6'; 3.73 (s, 3H) -OMe; 8.31 (d, 1H, $J= 8.6$ Hz) H-8; 7.9 (dd, 1H, $J= 8.3, 0.9$ Hz) H-5; 7.7 (ddd, 1H, $J= 8.1, 7.5, 7.1$ Hz) H-6; 7.42 (t, 1H, $J= 8.1, 7.7, 7.08$ Hz) H-7 ;(EM IE, m/z): 307(M^+ , 100%), 292 (M^+-15 , 78%).

7.4.12 9-[4-Metilfenil]amino]-tiazolo[5,4-*b*]quinolina (7i)

Utilizando el procedimiento descrito en el apartado 7.4.8 se obtuvieron 145 mg (0.498mmol, 76%) de un sólido amarillo, compuesto 7i, con un punto de fusión de 196 °C y un Rf de (0.54) (sistema III). Sus constantes espectroscópicas son las siguientes; IR (KBr cm^{-1}): 3120 (NH), 3053, 2966 (CH), 1595, 1571, 1543, 1503, 1476 (aromáticos); RMN H^1 (DMSO- d_6 , $:\delta$): 9.34 (s,1H) -NH-Ar; 9.14 (s, 1H) H-2; 8.3 (d, 1H, $J= 8.4$ Hz) H-8; 7.93 (dd, 1H, $J= 8.7, 0.9$ Hz) H-5; 7.72 (ddd, 1H,

$J = 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-6; 7.45 (ddd, 1H, $J = 8.4, 6.9, 1.2$ Hz) H-7; 7.05 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz) H-2', H-6'; 6.97 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz) H-3', H-5'; (EM IE, m/z): 291 (M^+ , 100%), 290 ($M^+ - 1$, 75%).

8. Conclusiones

➤ Parte Química

Se realizó la síntesis de nueve derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina mediante el desarrollo de una metodología y su optimización que permite la remoción de un grupo metilto de la posición 2 del sistema tricíclico.

➤ Parte Biológica:

La posición 2 del sistema tiazoloquinolina es importante para la actividad biológica de estos derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina.

Se logró establecer que es posible alterar o modular la actividad citotóxica en líneas celulares (HeLa, SW620, K-562), por remoción del grupo metilto presente en la posición 2 del sistema tricíclico en derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina, además que el patrón de sustitución en dicha posición influye de manera sensible en la actividad citotóxica en las líneas celulares tumorales evaluadas. Sin embargo, dicho factor no es crítico para la misma, ya que, aparentemente, influyen otros factores para la citotoxicidad de los derivados obtenidos.

9. PERSPECTIVAS

- Incrementar el número de compuestos de la serie obtenida, cuya característica principal es la ausencia de sustituyente en la posición 2 del sistema tiazolo[5,4-*b*]quinolina.
- Realizar los estudios de unión a ADN, que permitan conocer la importancia del sustituyente removido en la afinidad.
- Estudios encaminados a determinar si estos compuestos están interaccionando con alguna molécula involucrada en el ciclo celular (citometría de flujo), estudios *in vitro* de inhibición de DNA topoisomerasa II.
- Análisis del efecto de estos compuestos sobre la progresión del ciclo celular (citometría de flujo).
- Estudios sobre la capacidad de estos compuestos para inhibir la actividad de la Topoisomerasa II, Topoisomerasa I y ADN polimerasa “*in vitro*” e “*in vivo*”.
- Análisis de relación estructura-actividad de los compuestos para relacionar los sustituyentes con la potencia de estas moléculas con fármacos antitumorales.

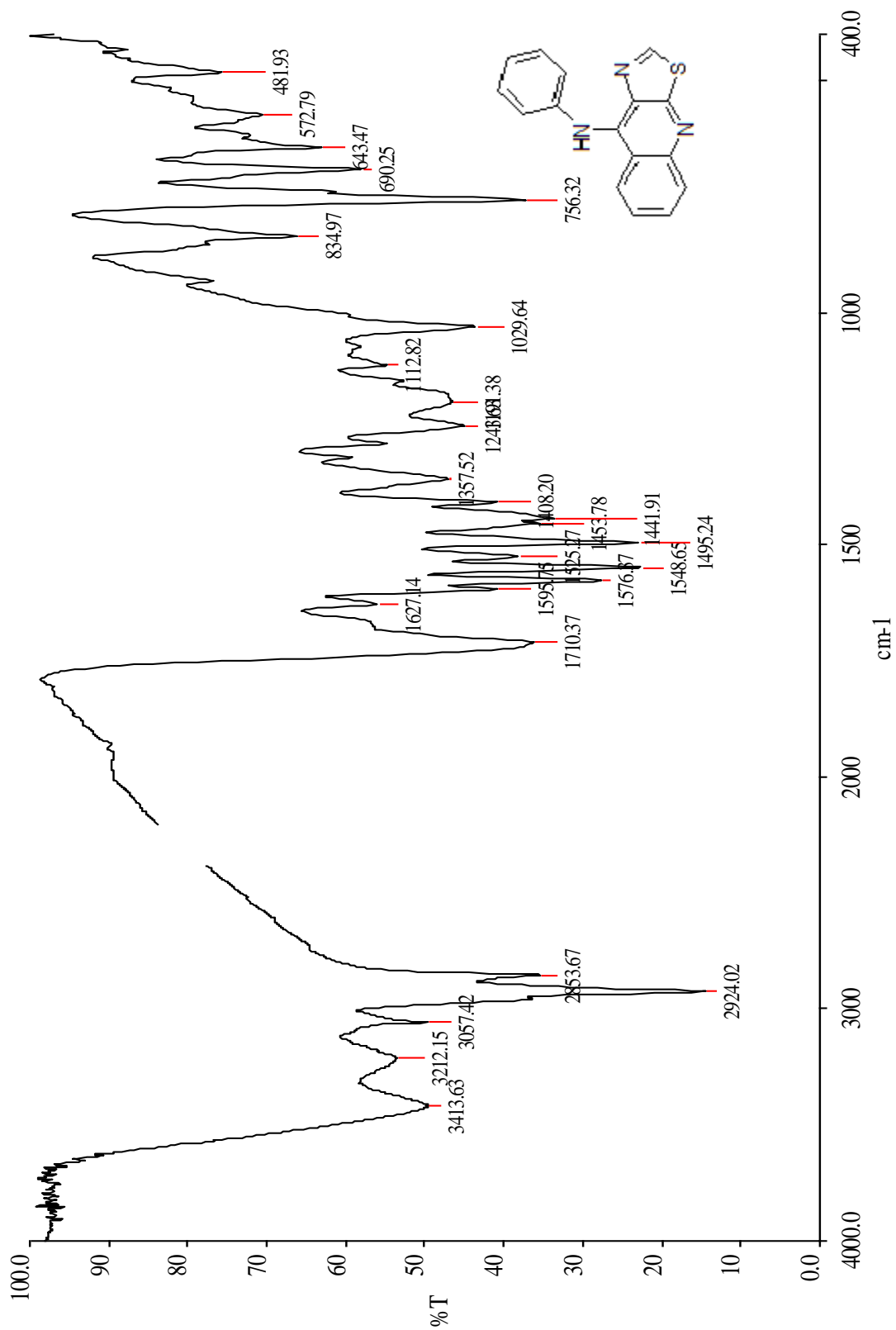
10. Bibliografía

- 1) Salud México 2008. <http://www.salud.gov.mx>
- 2) Cummings, M.R. Conceptos de Genética. 5ª edición. 1999. Prentice Hall pp. 626-641.
- 3) Hans-Olov, A. Textbook of Cancer Epidemiology. 2002. pp. 29-49
- 4) Avendaño, C. Introducción a la Química Farmacéutica. 2ª edición. 2001. McGraw- Hill. pp. 63-76, 532-573.
- 5) Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. Chemotherapeutic Agents, vol.5. 6a Edición.
- 6) Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 8ª Edición. 1996. pp. 1301-1359.
- 7) Loza-Mejía, M; Maldonado-Hernández, K; Rodríguez-Hernández F; Rodríguez-Sotres R; González-Sánchez I; Quinter A; Solano J; Lira-Rocha A; *Bioorg. Med. Chem.* 2008,16,1142-1149.
- 8) Guadarrama Salgado Teresita. Síntesis de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas con heterociclos saturados en posición 2 como posibles compuestos antitumorales. Tesis de Maestría. UAM, México, 2008.
- 9) La fond, R.: Cancer; The outlaw cell; American Chemical Society, Washington, EUA; 1988
- 10) Stehelin, D.; Varmus, H.; Bishop, J.; Vogt, P.K., *Nature*, 1976, 260, 170-173
- 11) Hennings, H.; Glick, A.; Greenhalgh, D.; Yuspa, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1993,202, 1-8
- 12) Holland, J.F., E. Cancer medicine. 5a. Edición. BC Becker. Canadá. 2000
- 13) McLaughlin, F.; Finn, P.; La Thangue, N. *Drug Discovery Today*. 2003, 8, 793-802
- 14) Rezler, E.; Bearss, D.; Hurley, H. *Current Opinión in Pharmacology* 2002, 2, 415-423.
- 15) Schelhammer, P.F., *Urology*. 1996, 47, 622-628
- 16) Kirk, J. M., *Biochim. Biophys. Acta*, 1960, 42, 167-169.
- 17) Fernández. Rasaña, V.M. Terapia en Oncohematología. 1998. pp 4-28
- 18) Osheroff, N. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 1-2.
- 19) Berger, J.M. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 3-18.

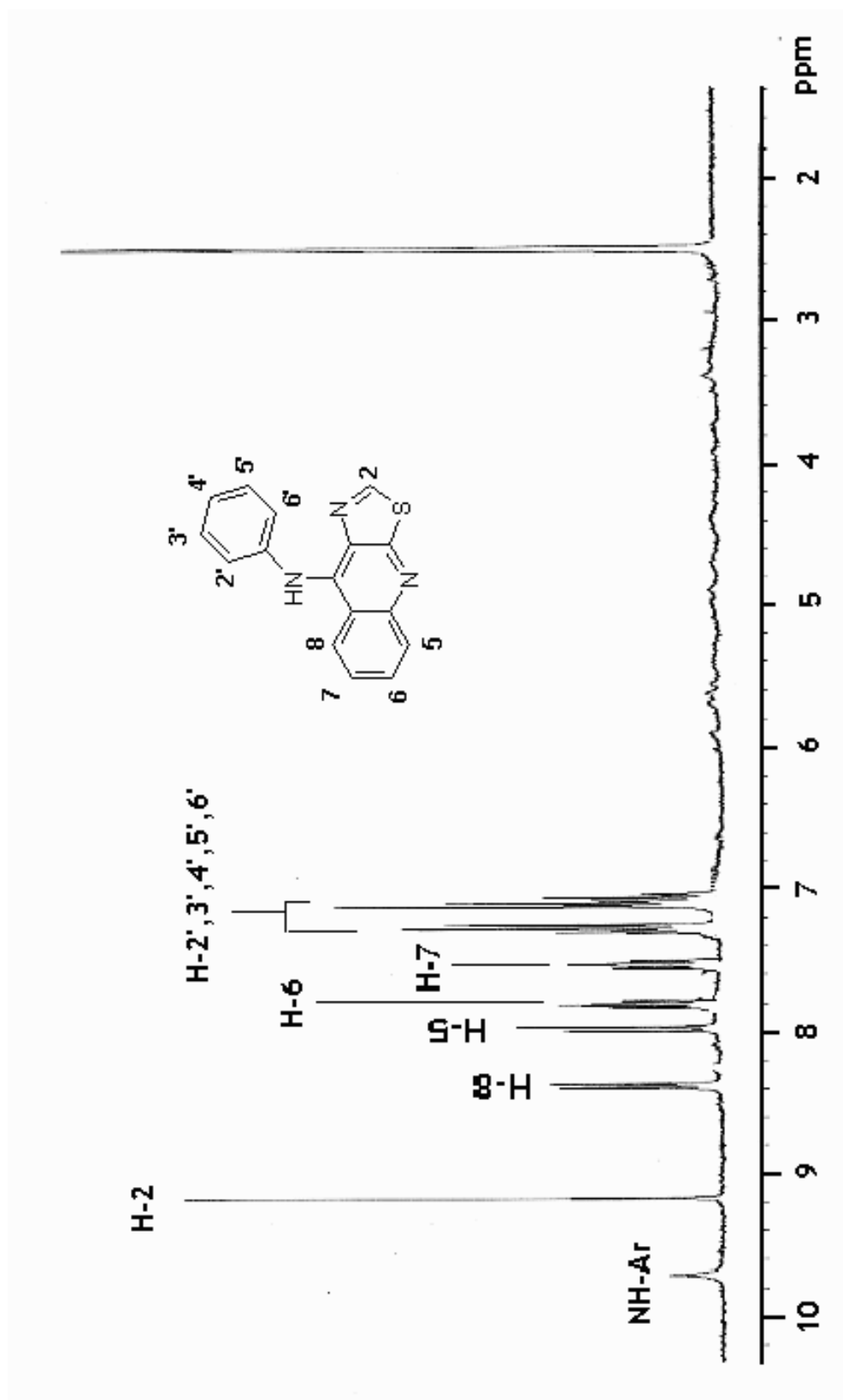
- 20) Capranico, G., Binaschi M. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 185-194.
- 21) Kaufmann, H.S. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 195-211.
- 22) Kingma, S.P, Osheroff N. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 223-235.
- 23) Osheroff, N, Burden A.D. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1400, 139-154.
- 24) Tsann-Long, Su.; Rastogi K.; Pan W.; Chen C.; Chou T. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1995, 38, 3226-3235.
- 25) Wakelin, P.G.; Adams A.; Denny W.A. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 2002, pp. 894-901.
- 26) Gao Hua.; Denny W.A.; Garg R.; Hansch C. *Chemico-Biological Interactions*, 1998, 116, 157-180.
- 27) Gamage, A.S.; Figgitt D.P.; Wojcik S.J.; Ralph R.K.; Ransijn A. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1997, 40, 2634-2642.
- 28) Rastogi, K.; Adams A.; Thorpe J.H.; Wakelin L. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, 45, 4485-4493.
- 29) Todd, K.A. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1999, 42, 536-540.
- 30) Soussi, T.; Legros, Y.; Lubin, R.; Ory, K.; Schlichtholz, B. (1994), "Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review", *Int J Cancer* 57 (1): 1-9
- 31) Bartek, J.; Lukas, J.; Bartkova, J. (1999), "Perspective: Defects in cell cycle control and cancer", *Journal of pathology* 187 (1): 95-99
- 32) Álvarez-Ibarra, C.; Fernández G.R.; Quiroga M.L.; Carbonell A. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1997, 40, 668-676.
- 33) Rodríguez-Loaiza, M.P. Síntesis de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas como potenciales intercaladores del DNA. Tesis de Maestría. UNAM, México 2000.
- 34) Rodríguez-Loaiza, M.P.; Quintero A.; Rodríguez S.R.; Solano J.; Lira R.A. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 39, 5-10.
- 35) Loza Mejía, M.A. Síntesis de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina como potenciales antitumorales. Tesis de Licenciatura. Universidad La Salle, México, 2002.
- 36) Loza Mejía, M.A. Síntesis y análisis de relación estructura actividad citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. Tesis de Maestría, UNAM, México, 2004

-
- 37) Olvera Vázquez, S. Síntesis de 2-(*N',N'*-Alquil-*N*-Trimetilamina)-9-Anilinothiazolo[5,4-*b*]Quinolinas como potenciales antitumorales. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, 2005.
- 38) Thakur V. Vinay; Sudalai A.; *Tetrahedron Asymmetry*, 2003, 14, 407- 410.
- 39) Sato K.; Hyodo M.; Auki M.; Xiao-Qi Z.; Noyori R.; *Tetrahedron*. 2001,57, 2469-2476.
- 40) López Rodríguez K.A. Síntesis de derivados de 2-[2-(1-azacicloalquil)etilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina como potenciales antitumorales. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, 2009.
- 41) Reyes Rangel F.J. Obtención de nuevos potenciales antitumorales por desplazamiento del grupo metilsulfonilo presente en la posición 2 del anillo de tiazoloquinolina con hidruro. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, 2007
- 42) Baldwin, John ; Edward L; Engelhardt, R; Gerard S. Ponticello, *JMC*, 1980,23,65-70
- 43) Loza-Mejía, M.; Olvera-Vázquez S.; Maldonado-Hernández K.; Guadarrama-Salgado T.; González-Sánchez I.; Rodríguez-Hernández F.; Solano J.; Rodríguez-Sotres R.; Lira-Rocha A.; *Bio. Med. Chem.* 2009,
- 44) Corwin Hansch; Albert Leo and David Hoekman. Exploring QSAR Hydrophobic, Electronic and Steric Constants, ACS, 1995, USA.
- 45) Organización Mundial de la Salud. Lucha contra el cáncer. Ginebra 2002
<http://www.who.int/cancer/media/en/423.pdf>.
- 46) Huryn, D. M.; Wipf, P. In *Natural Product Chemistry and Anticancer Drug Discovery*; Neidle, S. Ed. Cancer Drug Design and Discovery, Academic Press: New York, 2008; Part II, Chapter 5, pp 107-130.
- 47) Osheroff, N. Burden, B.A. *Biochim. Biophys Acta*, 1997, 1400, 139-154
- 48) Wadkins, R.M., Graves, D.E., *Biochemistry*, 1991, 30, 4277-4283

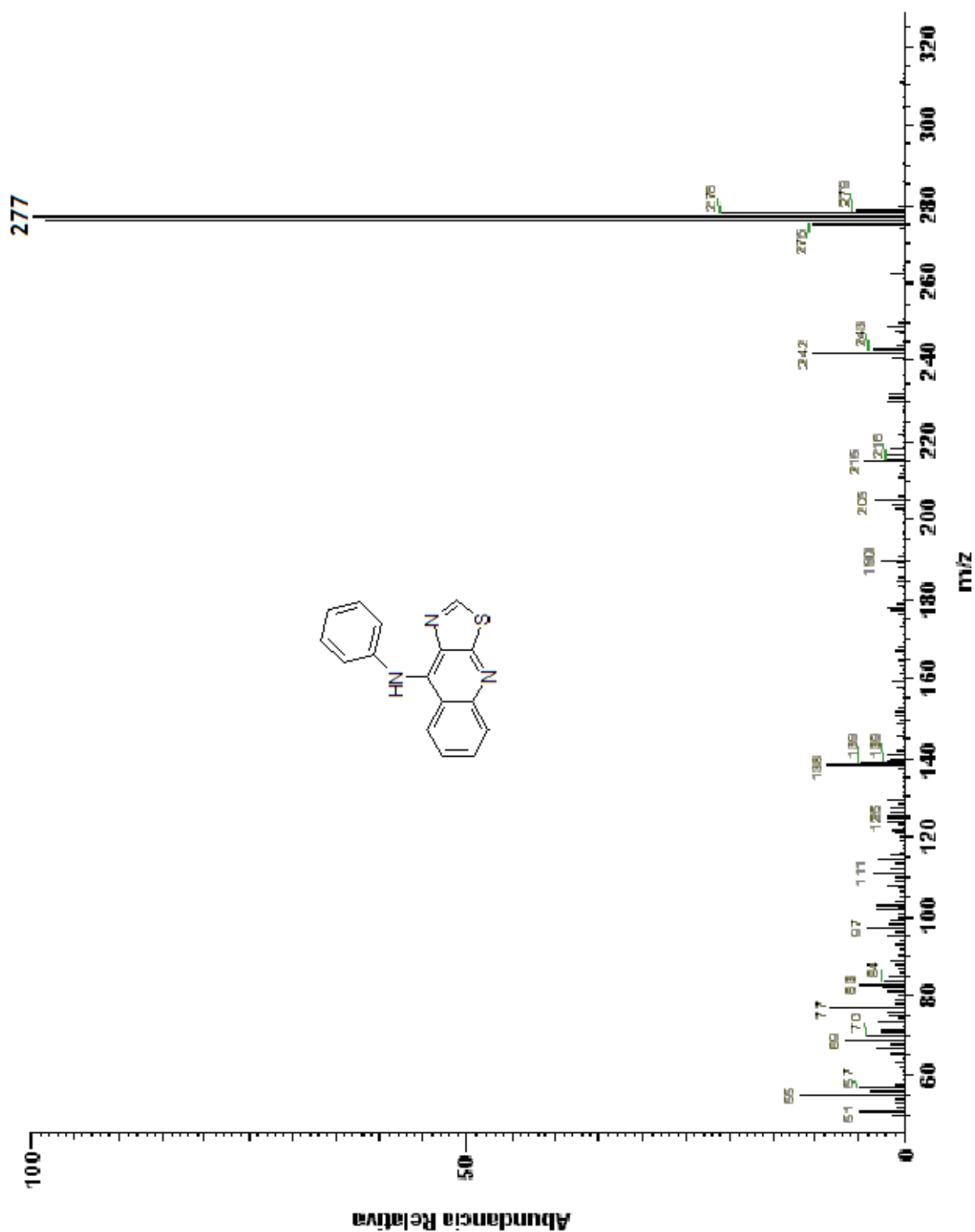
ESPECTROS



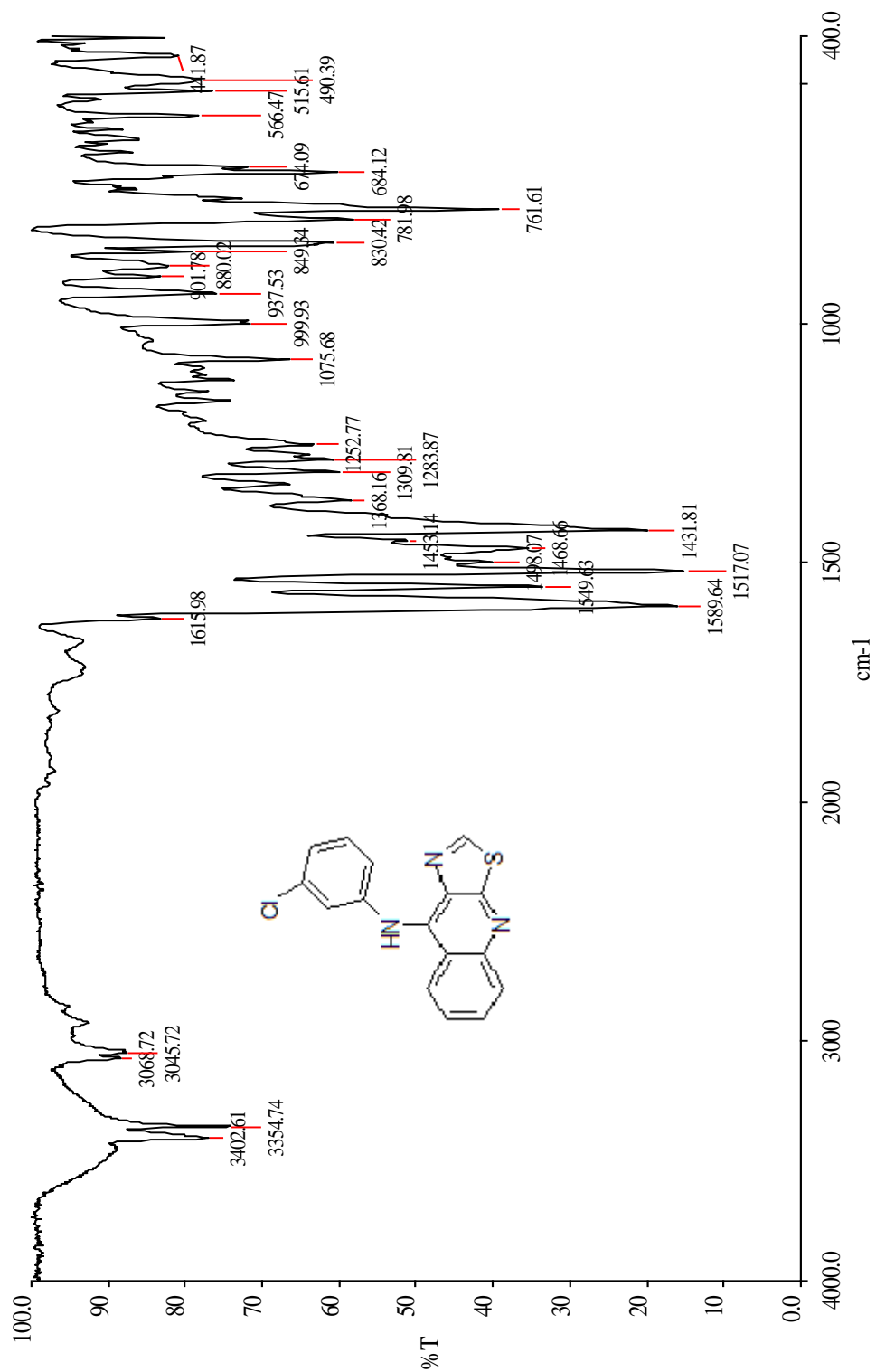
Espectro No. 1: IR (pastilla KBr) del compuesto 7a



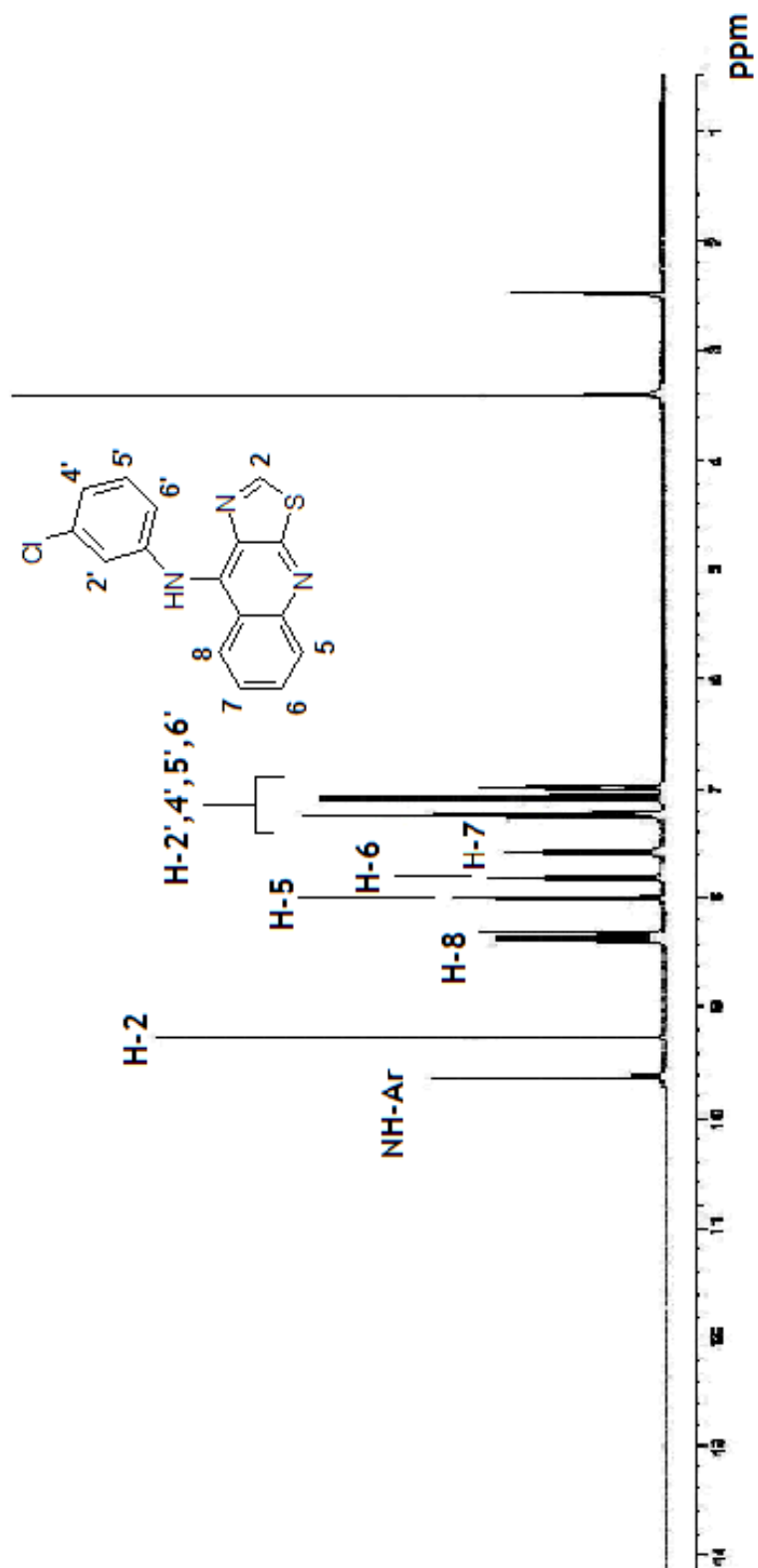
Espectro No. 2: RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$) del compuesto 7a



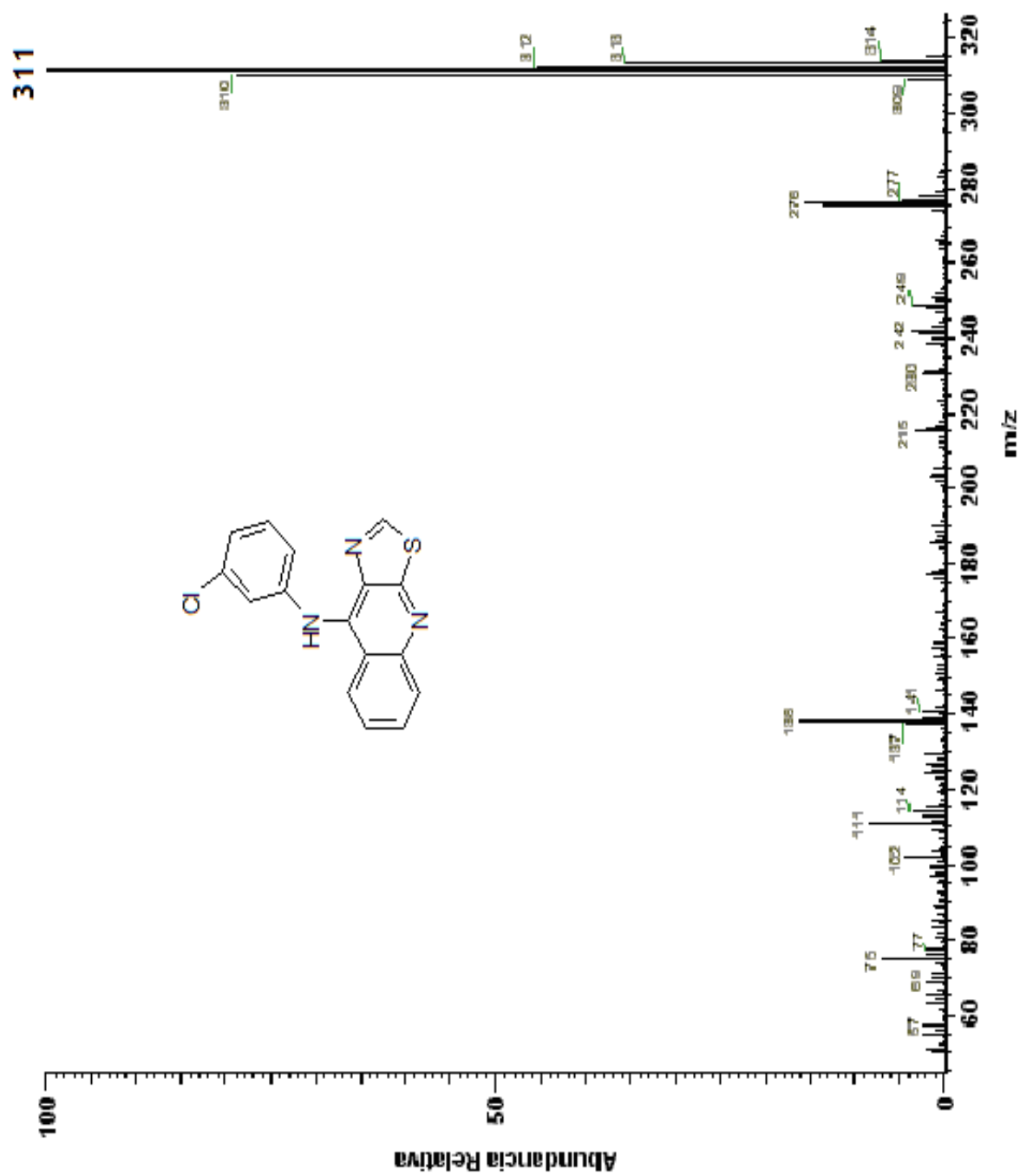
Espectro No. 3: EM (IE, DIP) del compuesto 7a



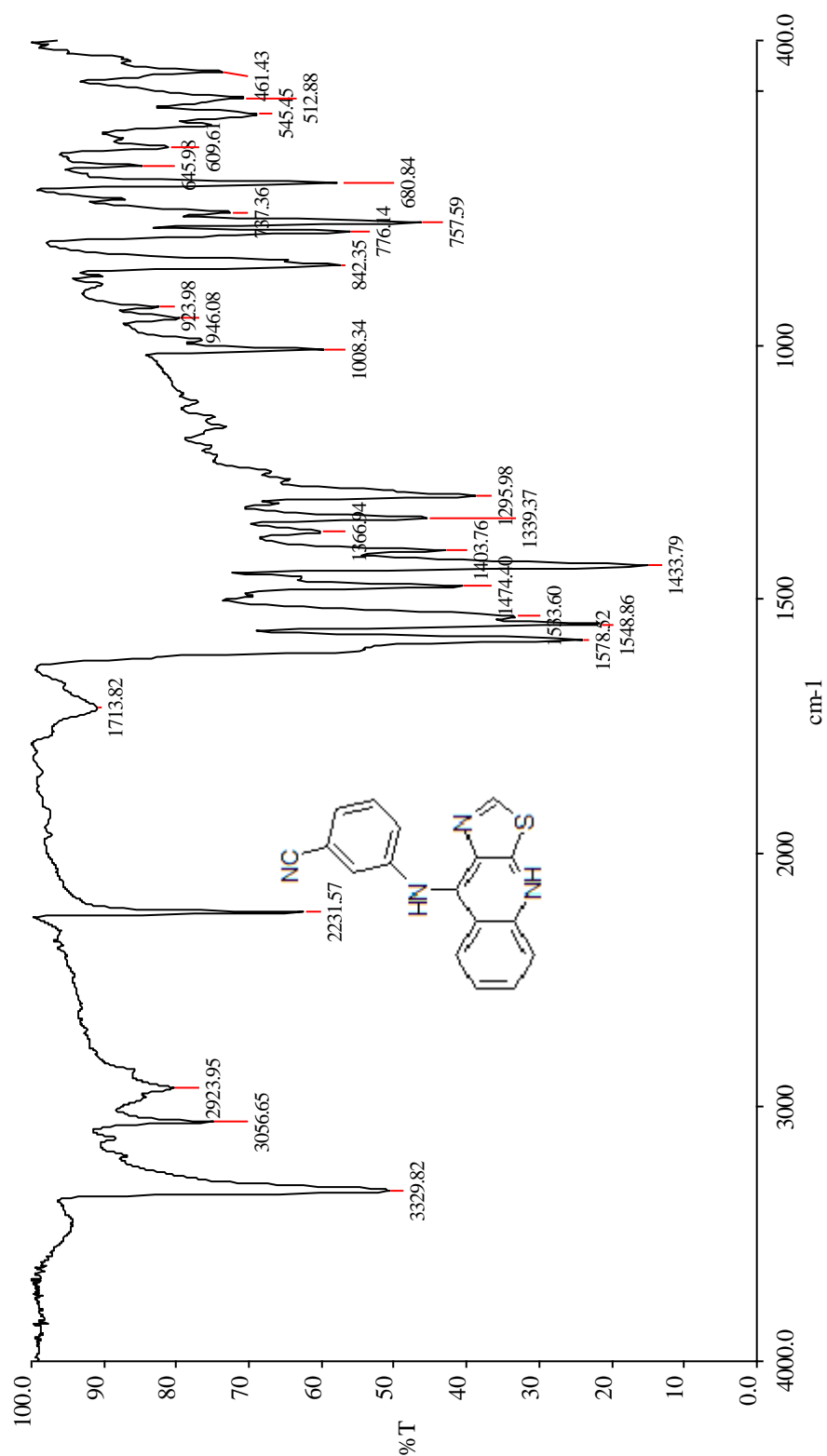
Espectro No. 4:IR (pastilla KBr) del compuesto 7b



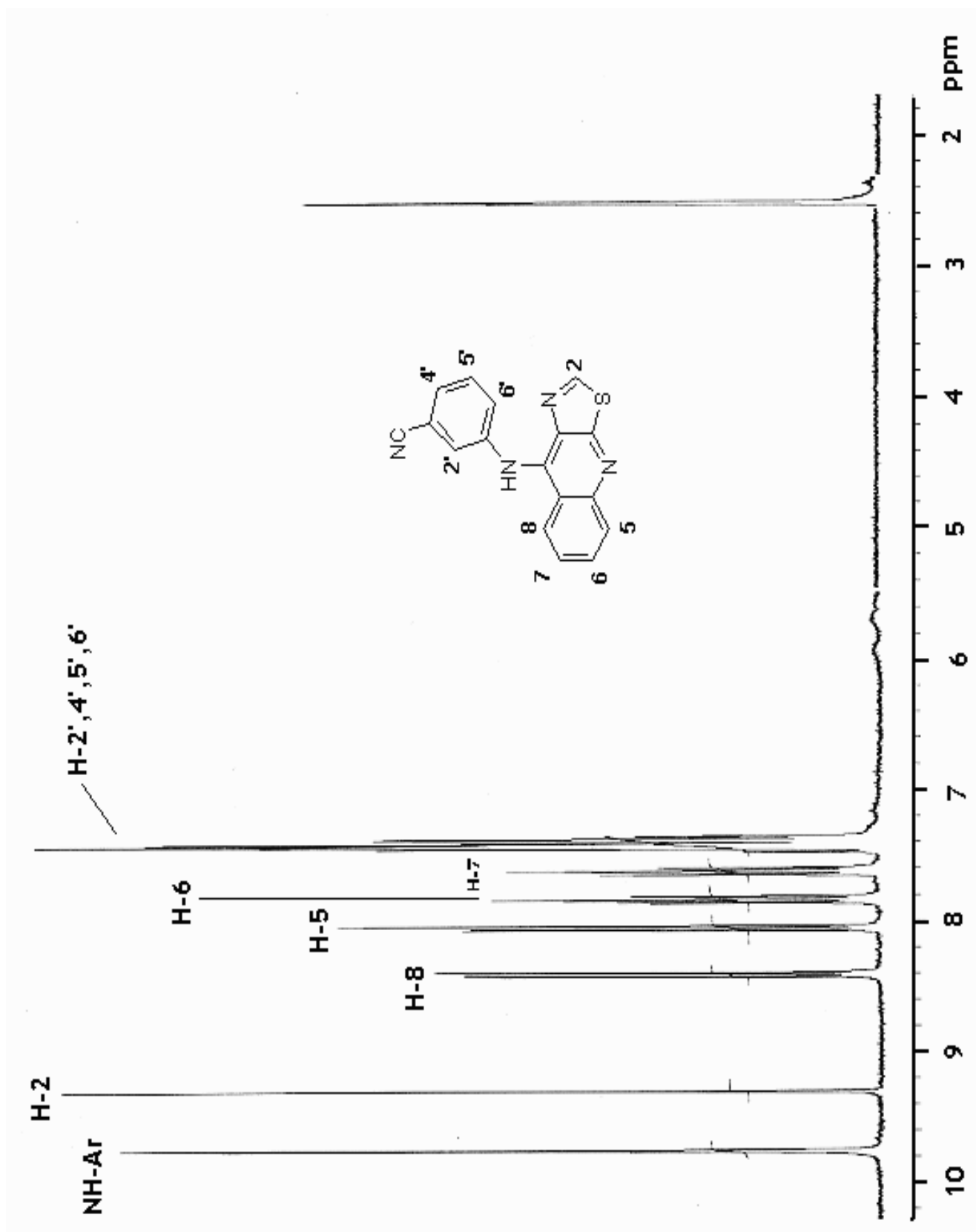
Espectro No. 5: RMN ^1H (DMSO-d_6) del compuesto 7b



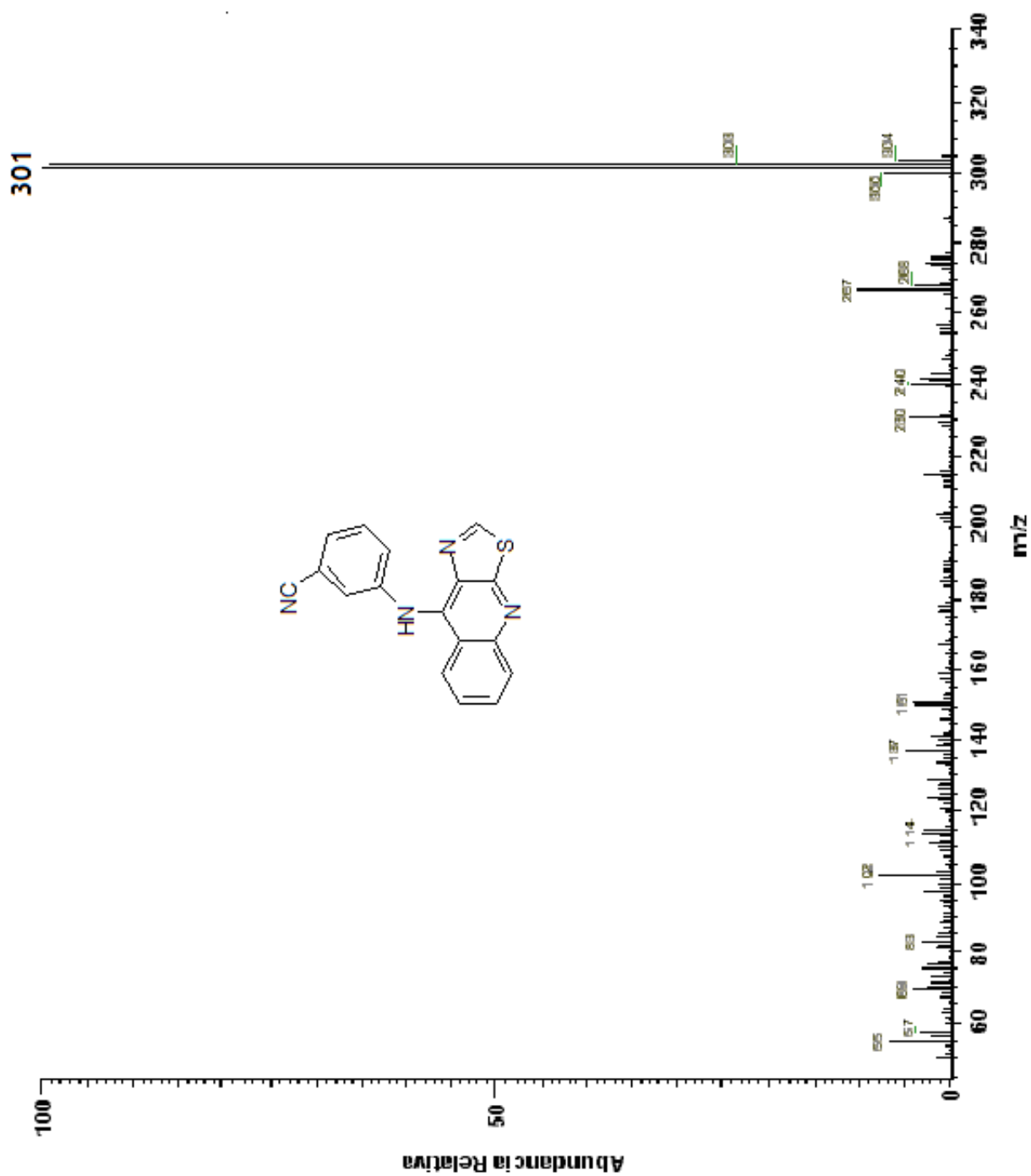
Espectro No.6 : EM (IE, DIP) del compuesto 7b



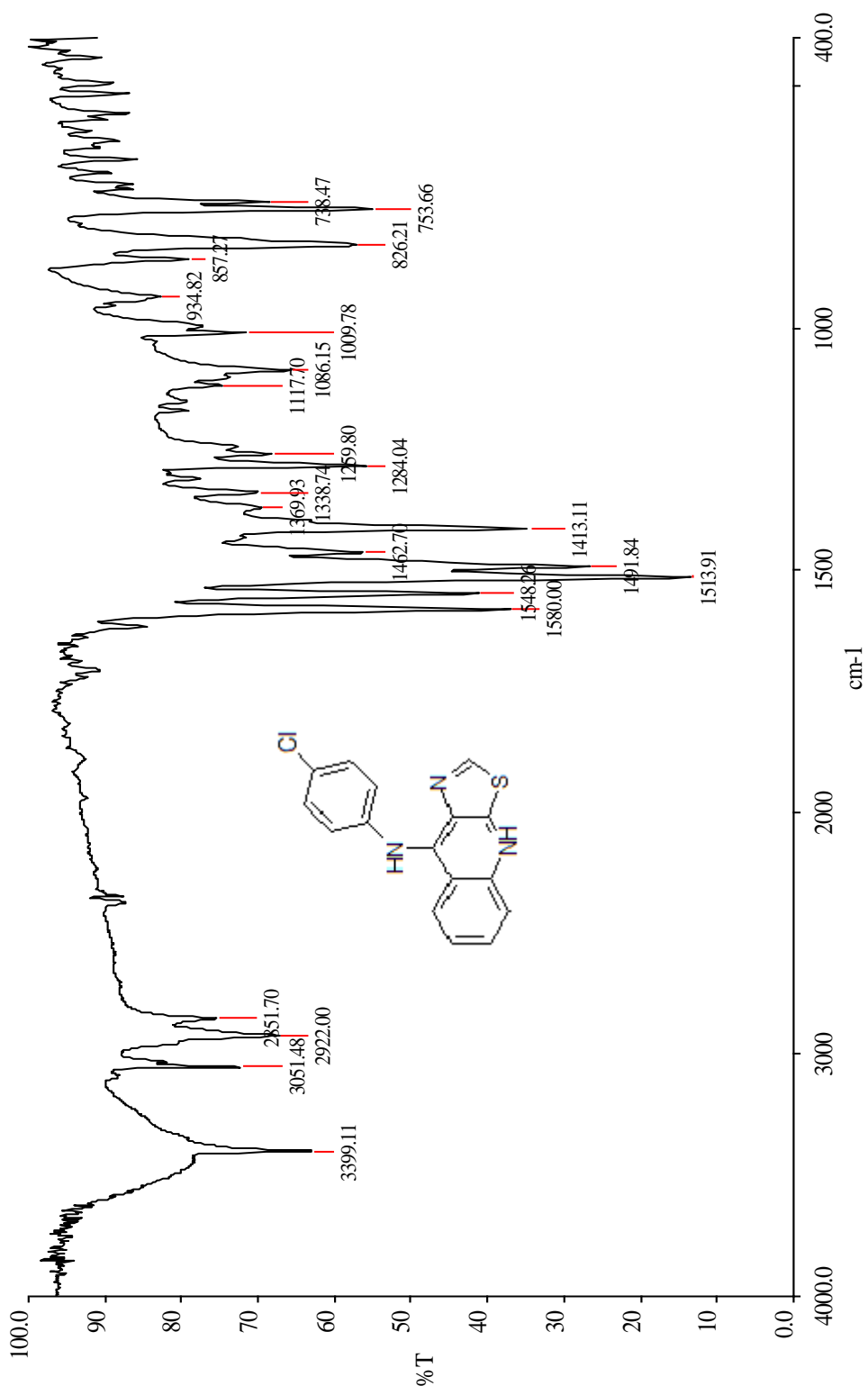
Espectro No.7 : IR (pastilla KBr) del compuesto 7c

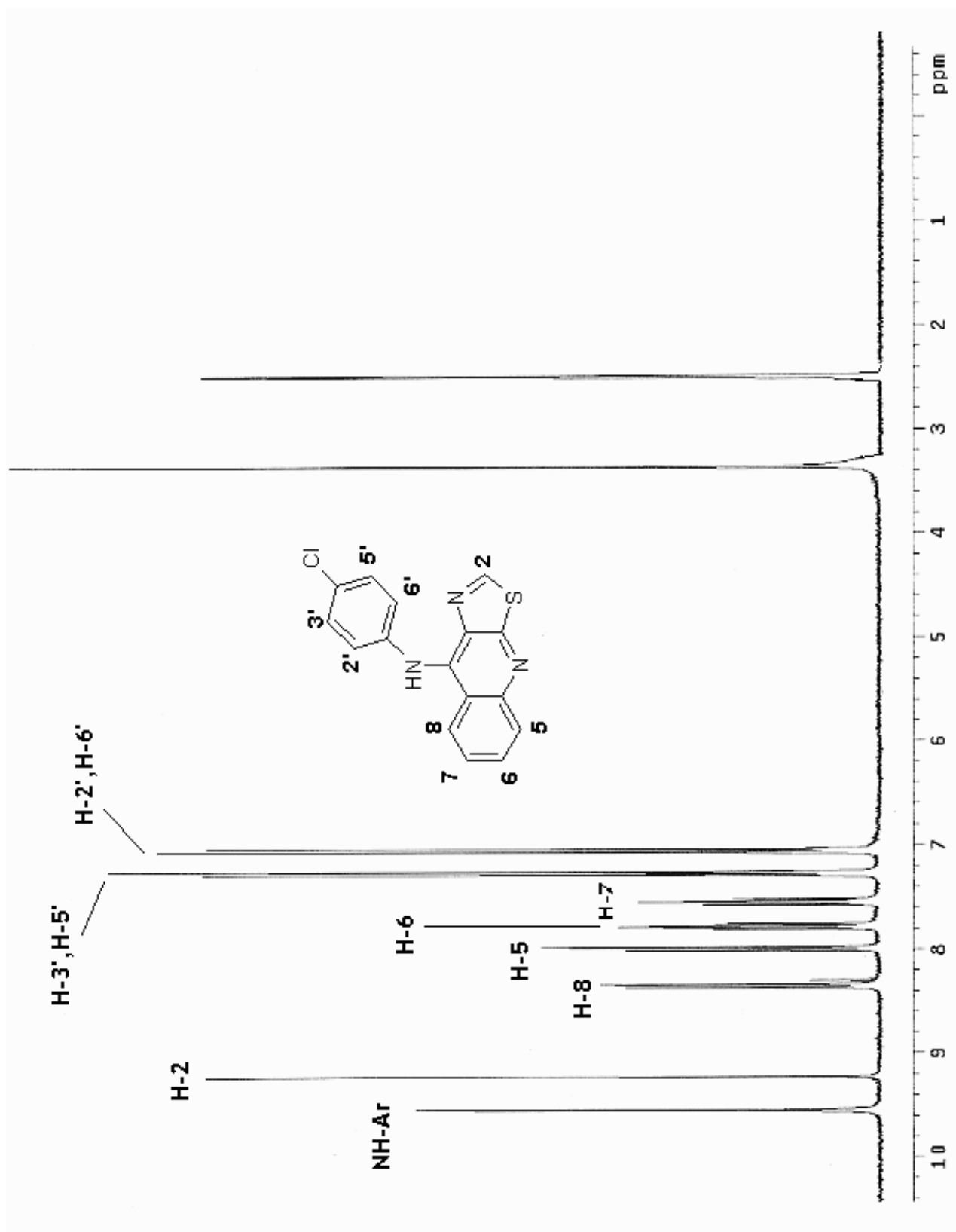


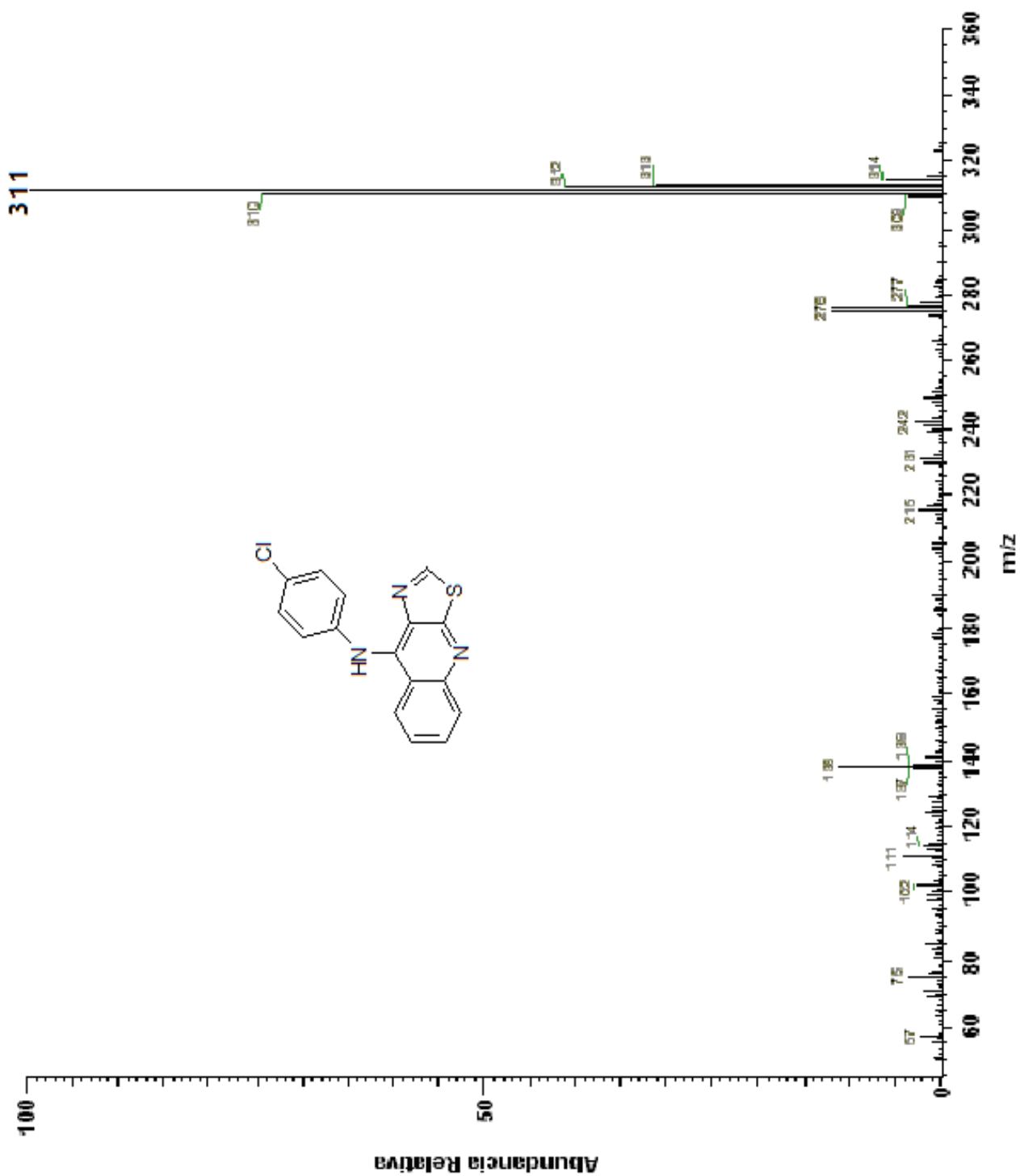
Espectro No. 8: RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$) del compuesto **7c**



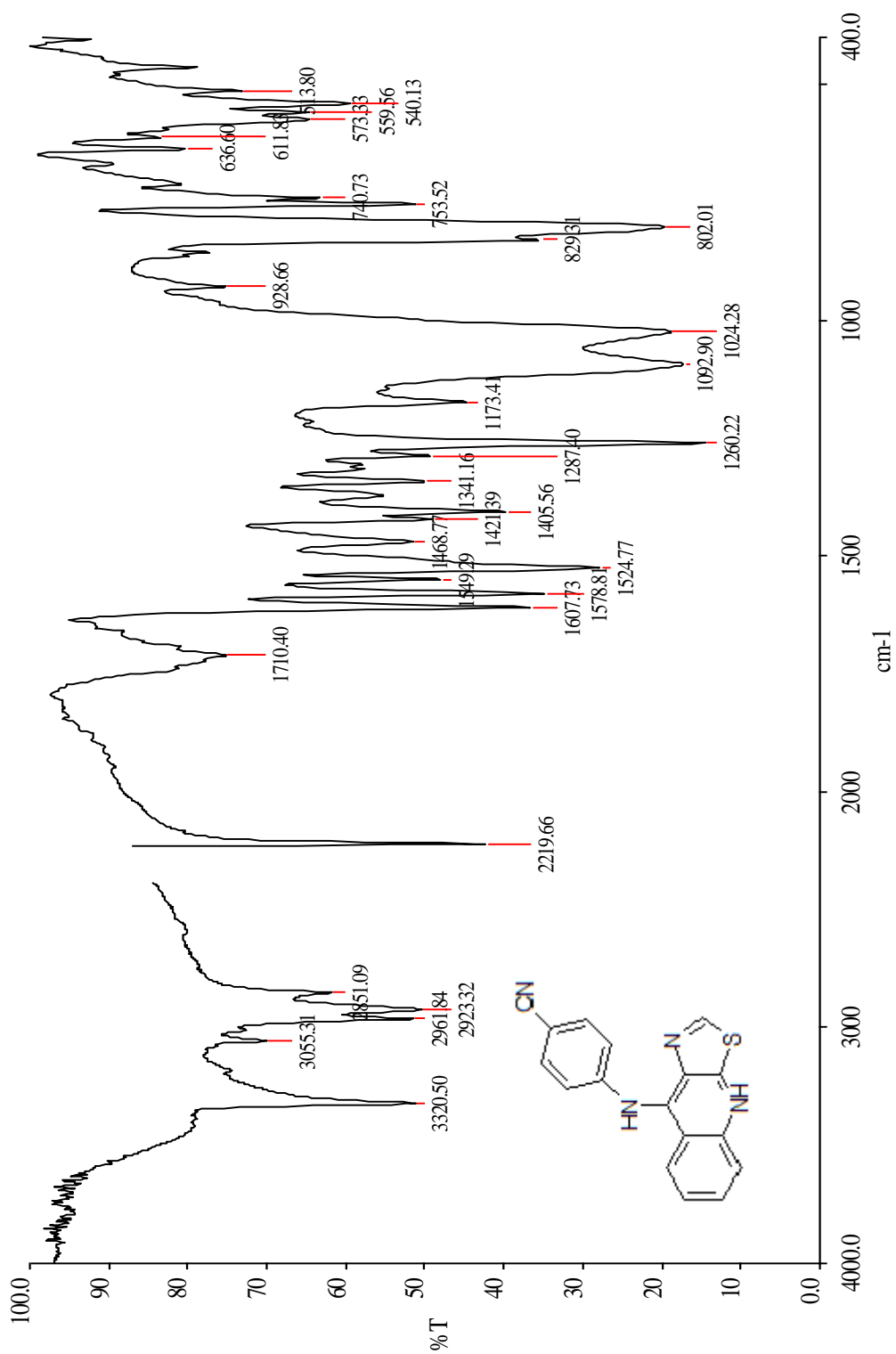
Espectro No.9 :EM (IE, DIP) del compuesto 7c



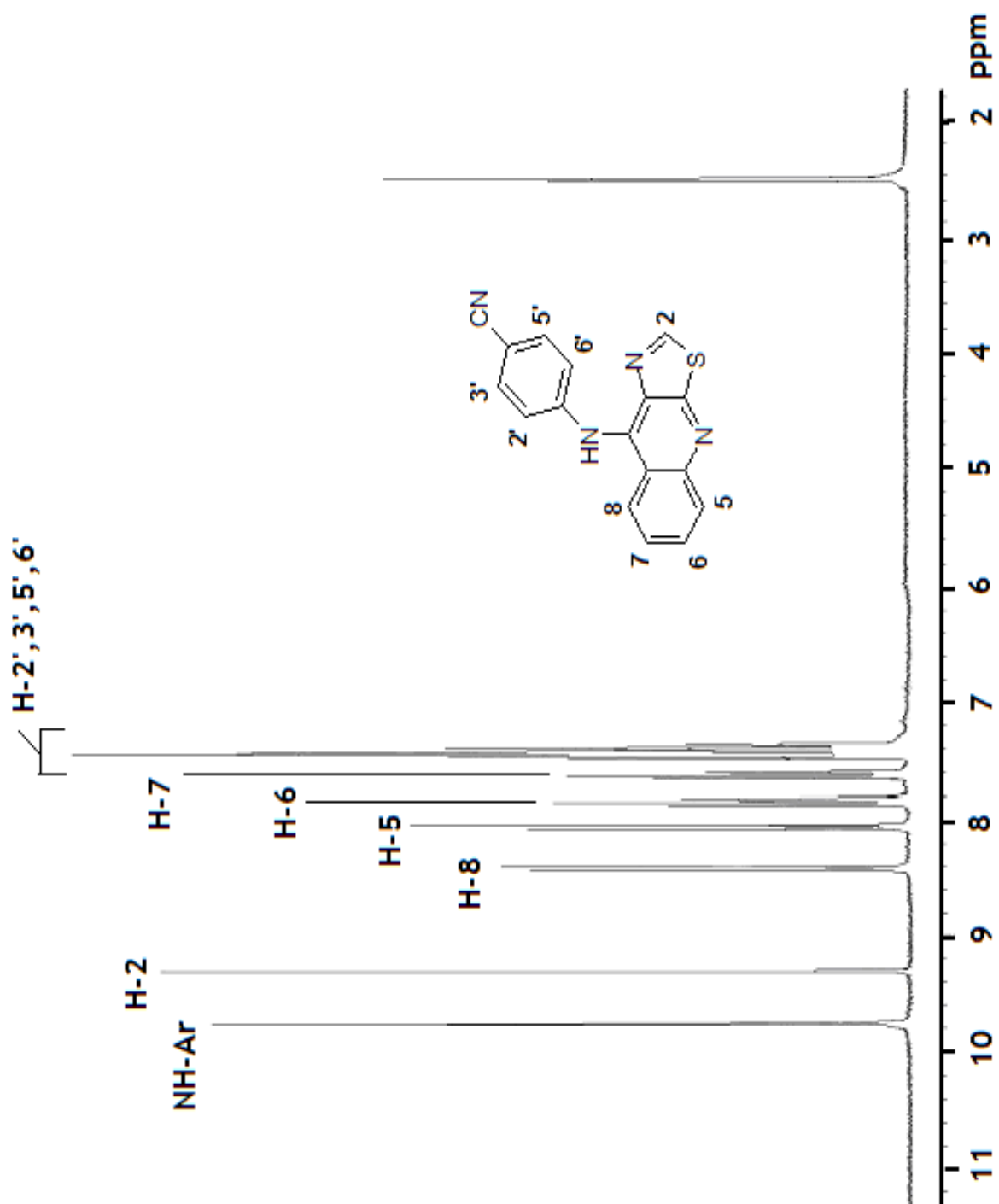
Espectro No. 11: RMN ^1H (DMSO-d_6) del compuesto 7d

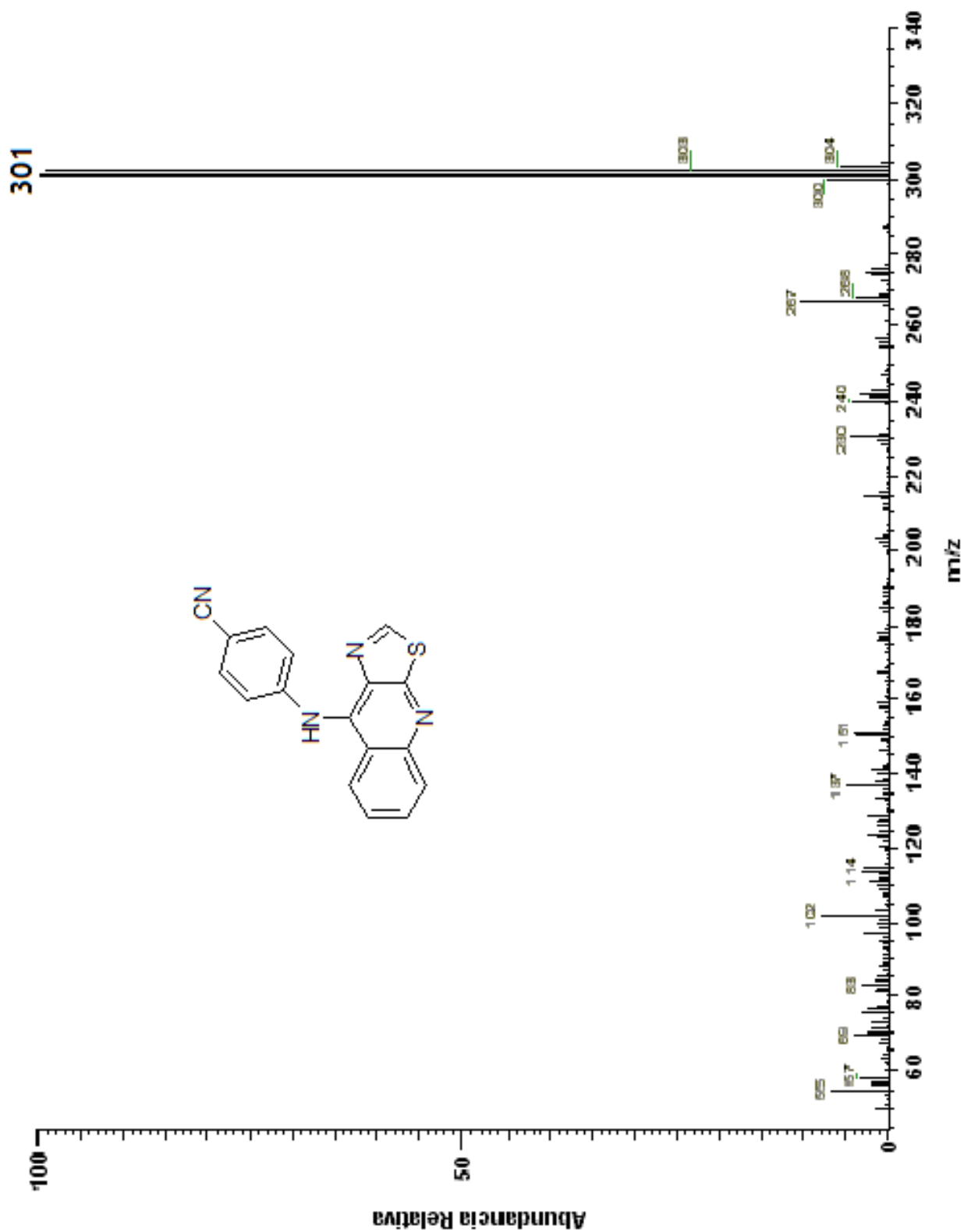


Espectro No. 12: EM (IE,DIP) del compuesto 7d

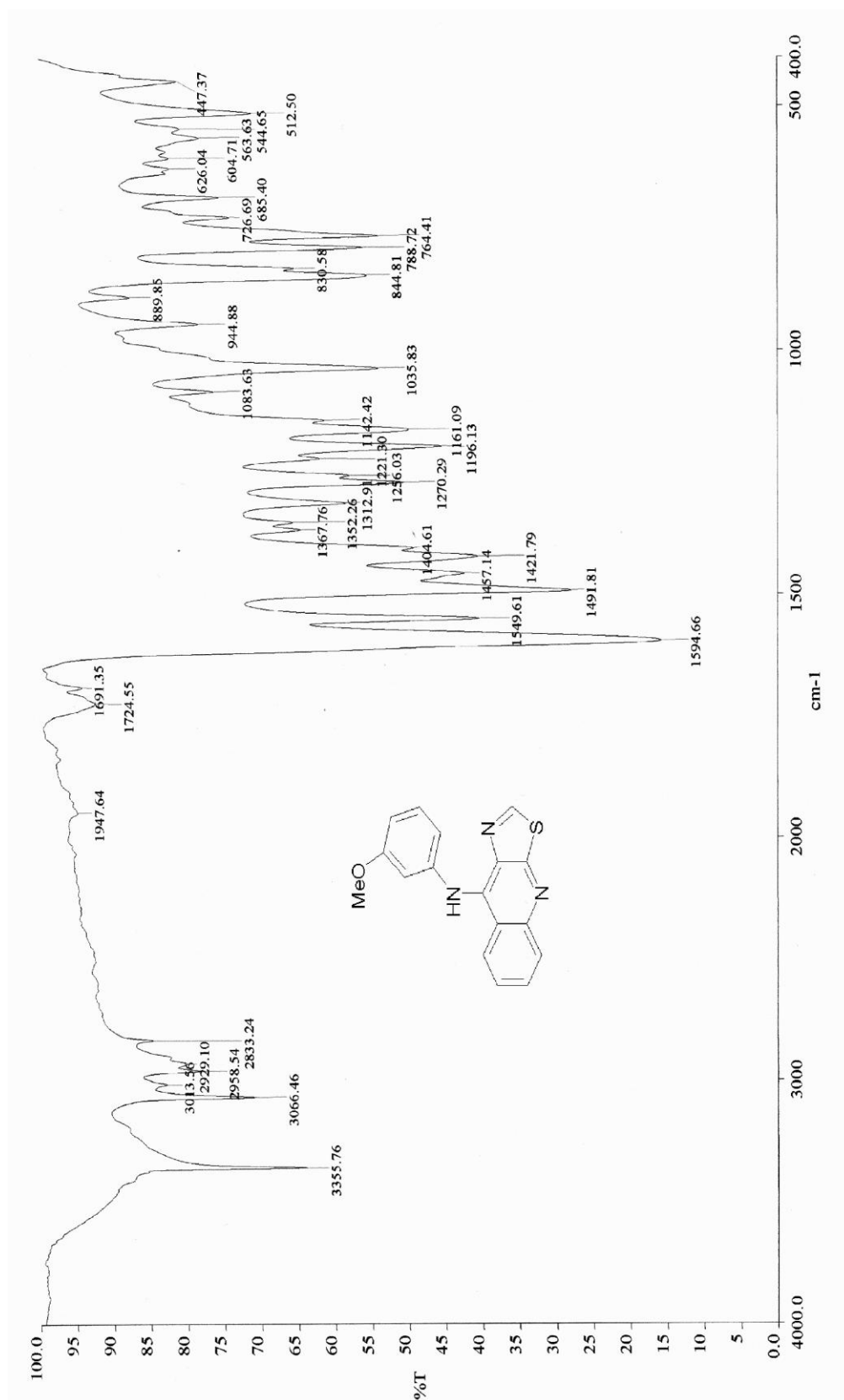


Espectro No.13 : IR (pastilla KBr)del compuesto 7e

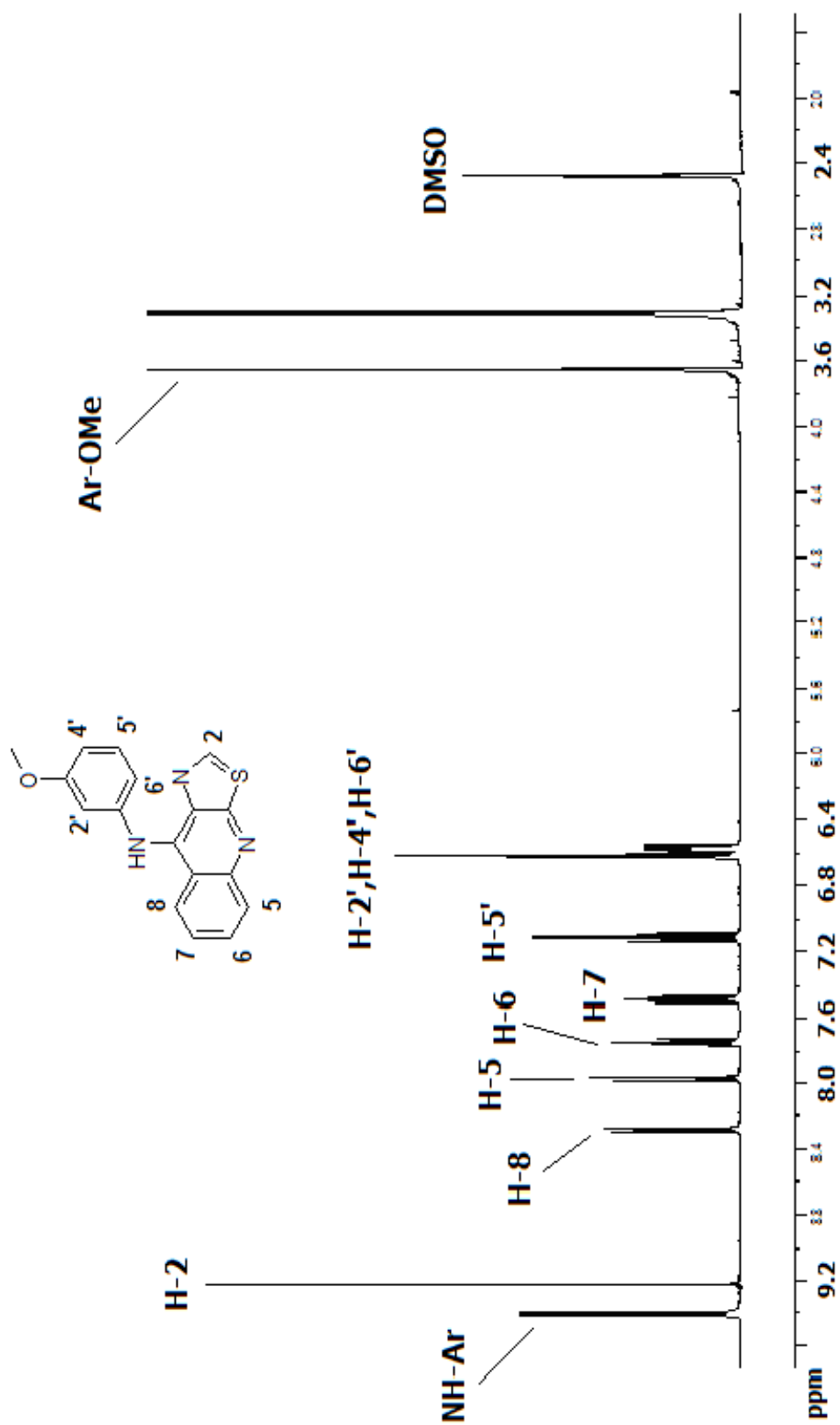
Espectro No. 14: RMN ^1H (DMSO- d_6) del compuesto 7e

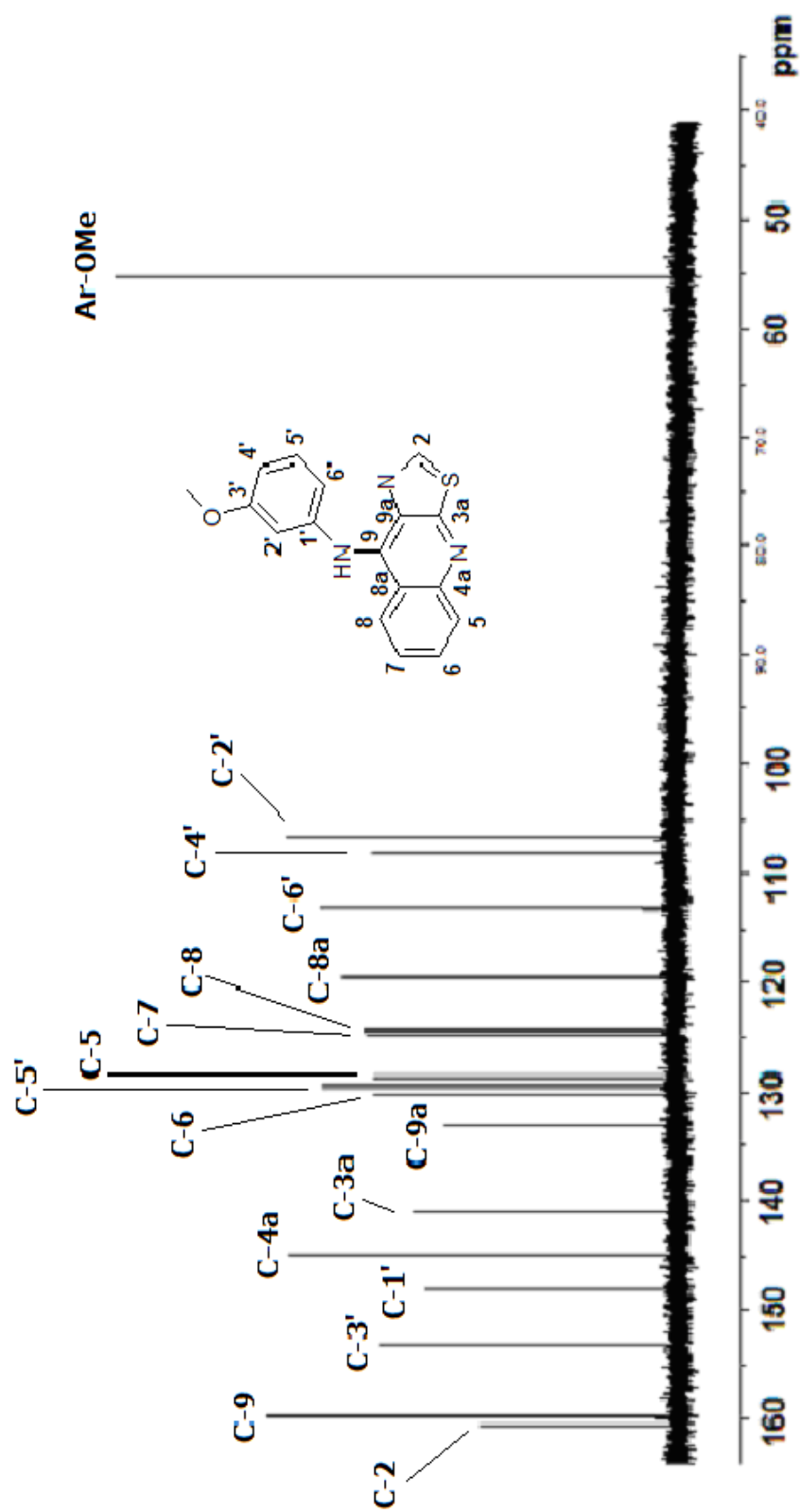


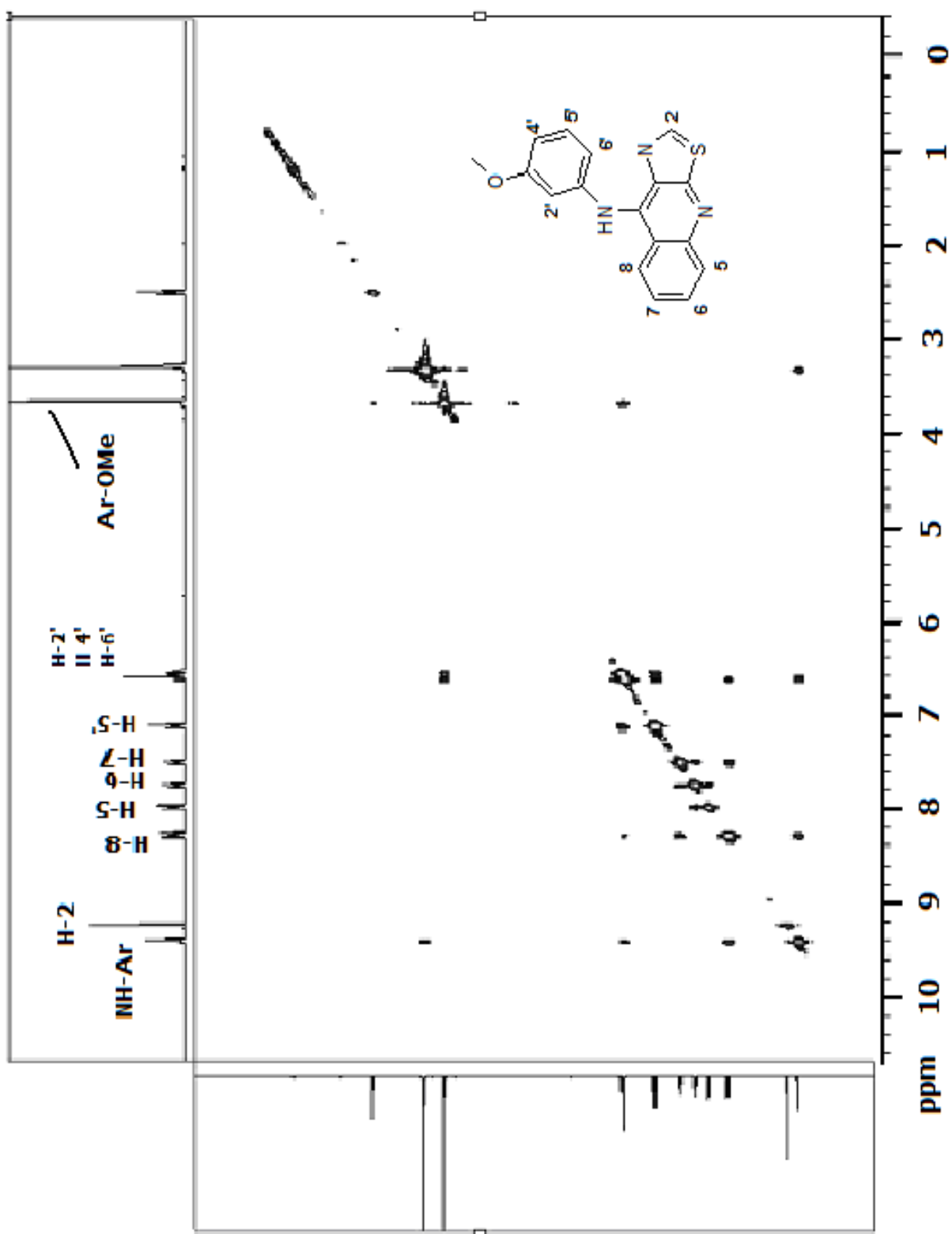
Espectro No.15 : EM (IE, DIP) del compuesto 7e

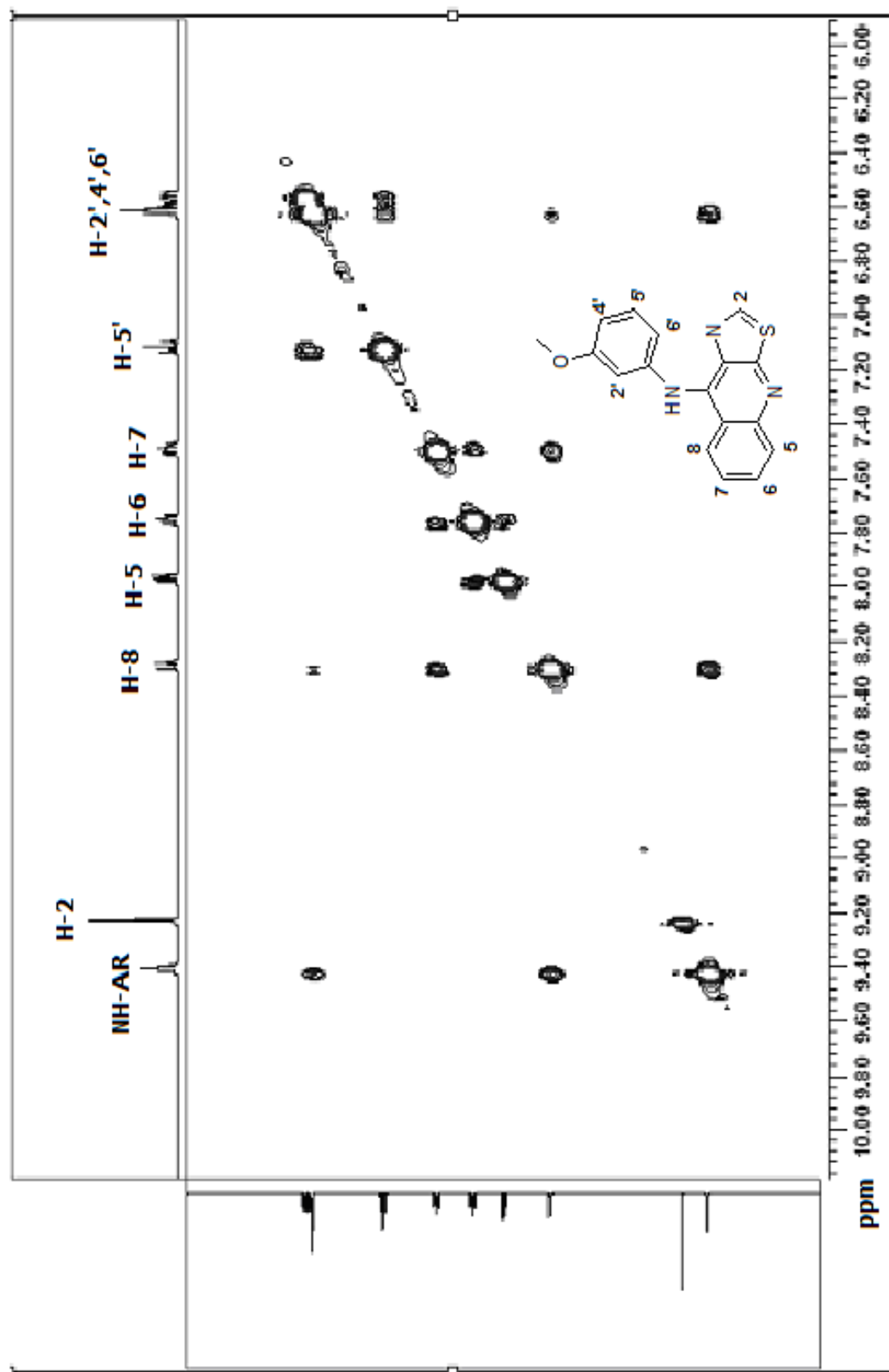


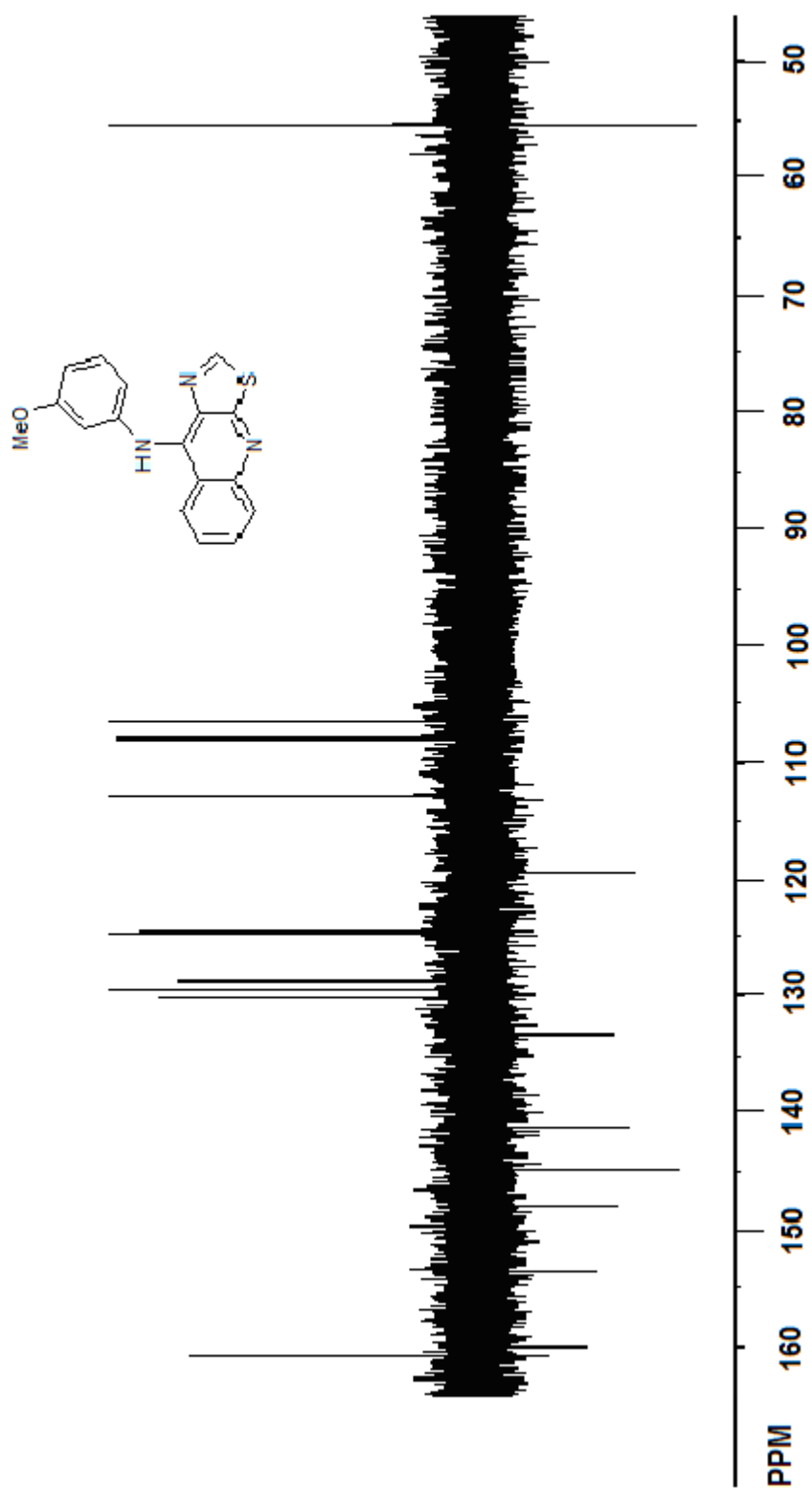
Espectro No. 16: IR (pastilla KBr) del compuesto 7f

Espectro No.17: RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$) del compuesto 7f

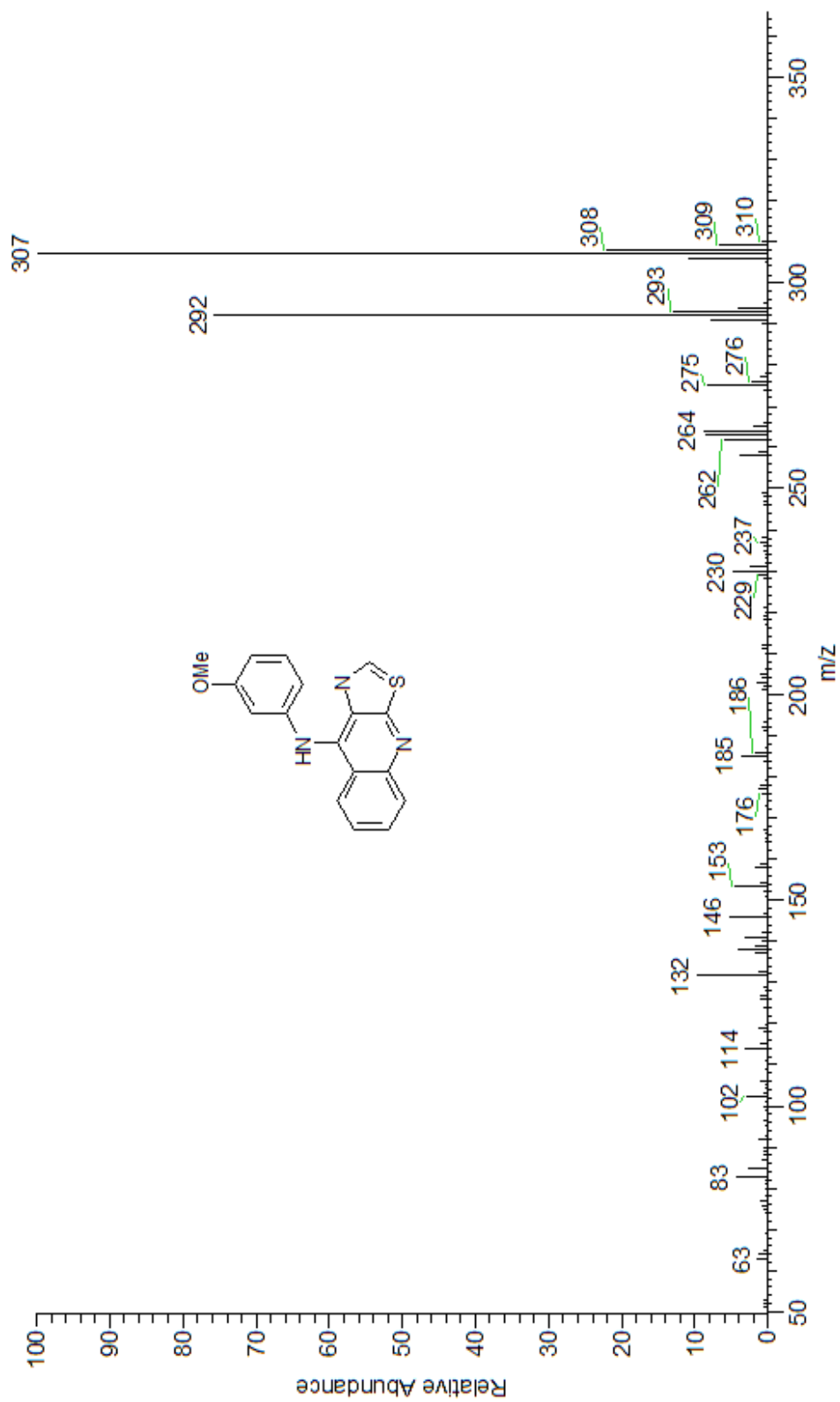
Espectro No. 18: RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$) del compuesto 7f

Espectro No. 19: RMN ^1H 2D-NOESY del compuesto 7f

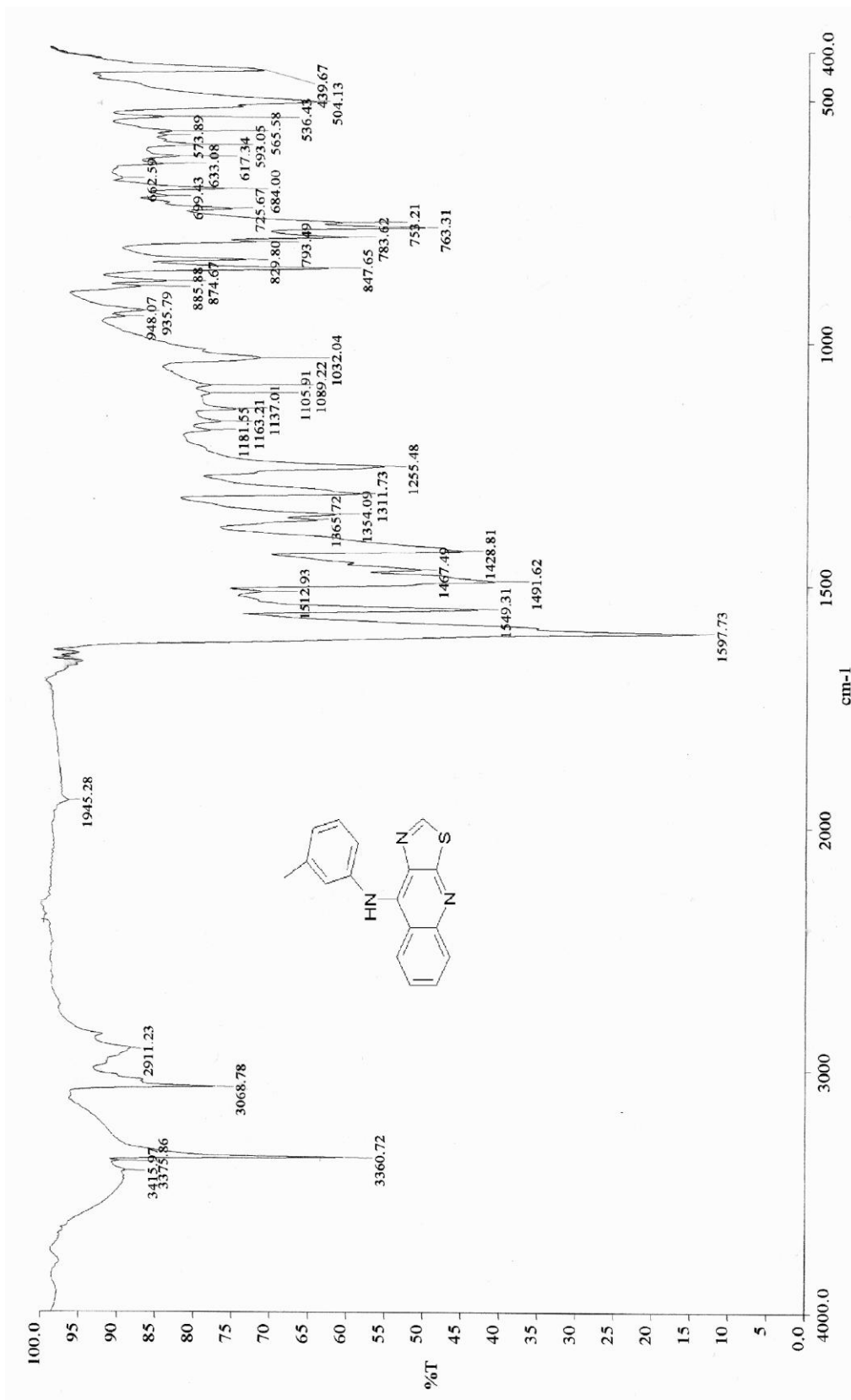
Espectro No. 20: RMN ^1H 2D-NOESY ampliación campo bajo del compuesto 7f



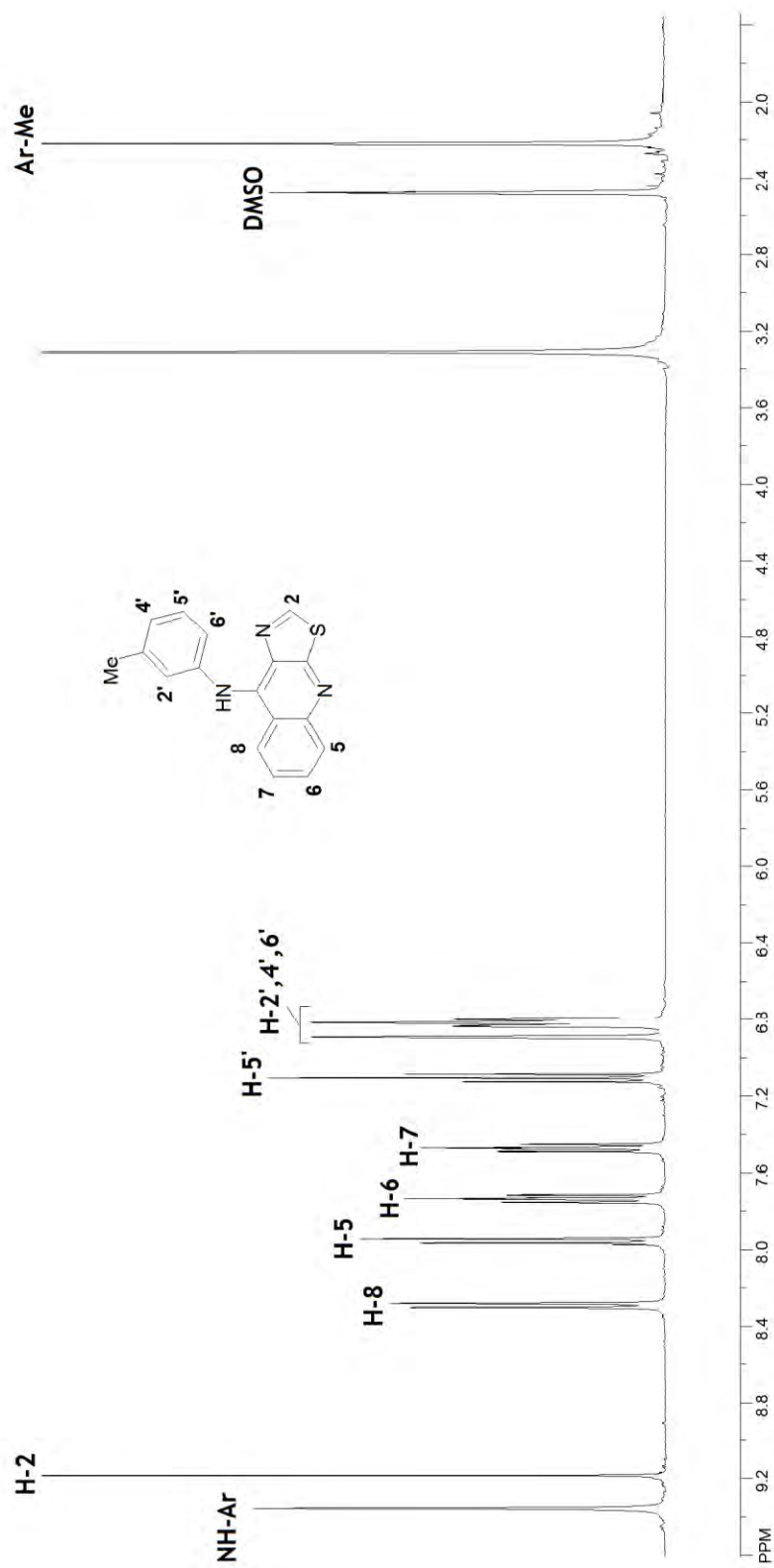
Espectro No. 21: RMN DEPT del compuesto 7f



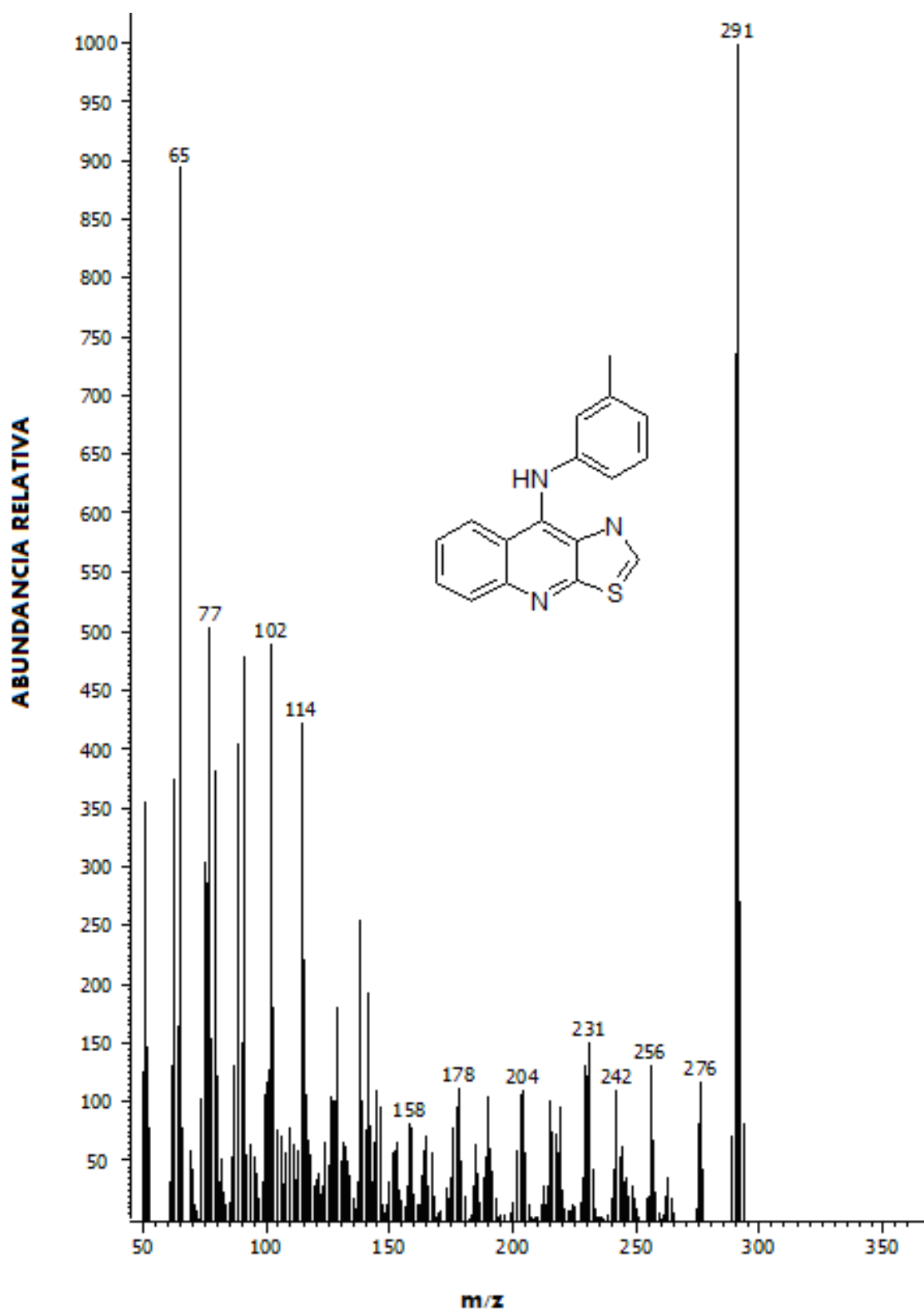
Espectro No. 22: EM (IE, DIP) del compuesto 7f



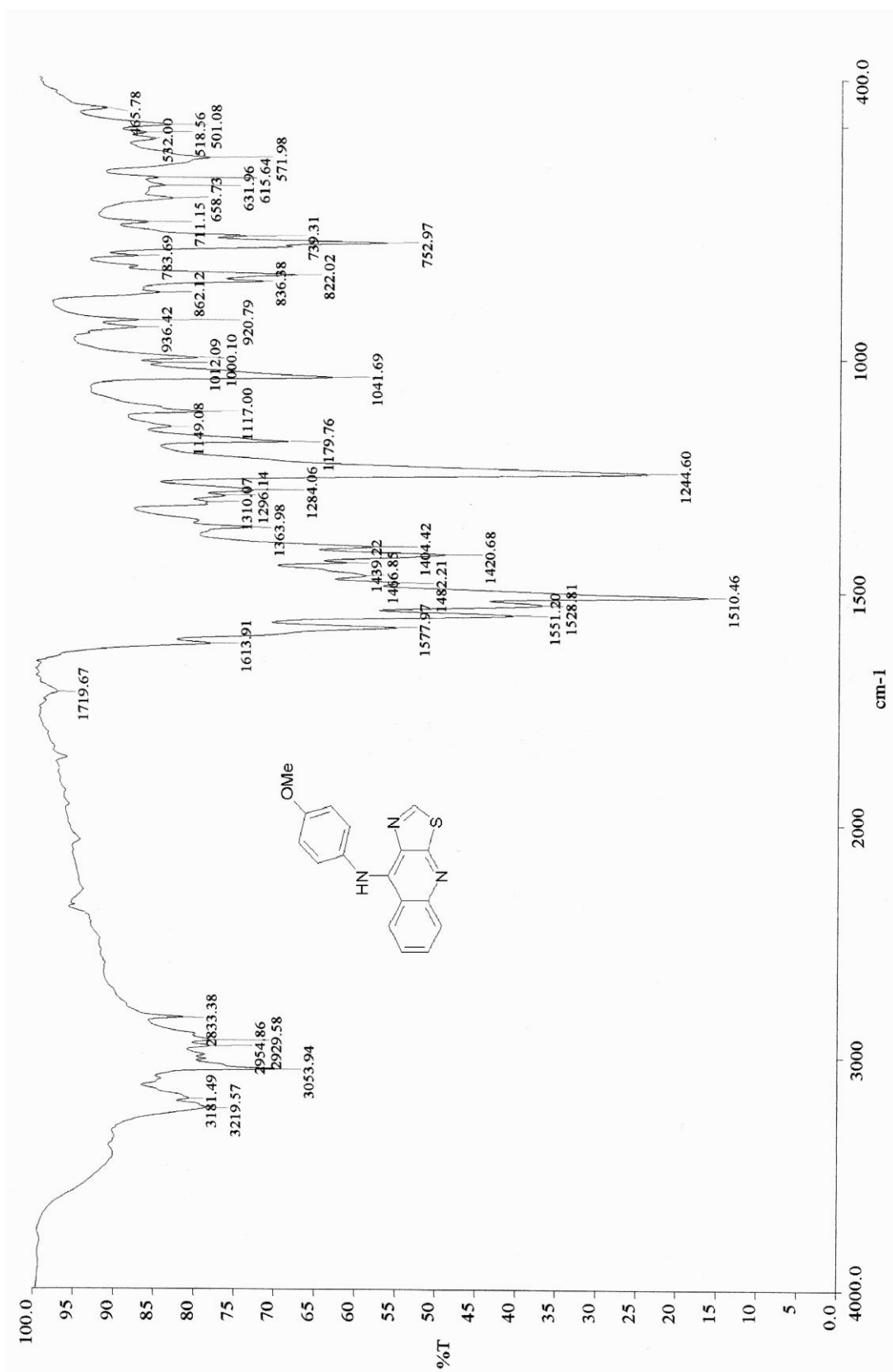
Espectro No. 23: IR (pastilla KBr) del compuesto 7g



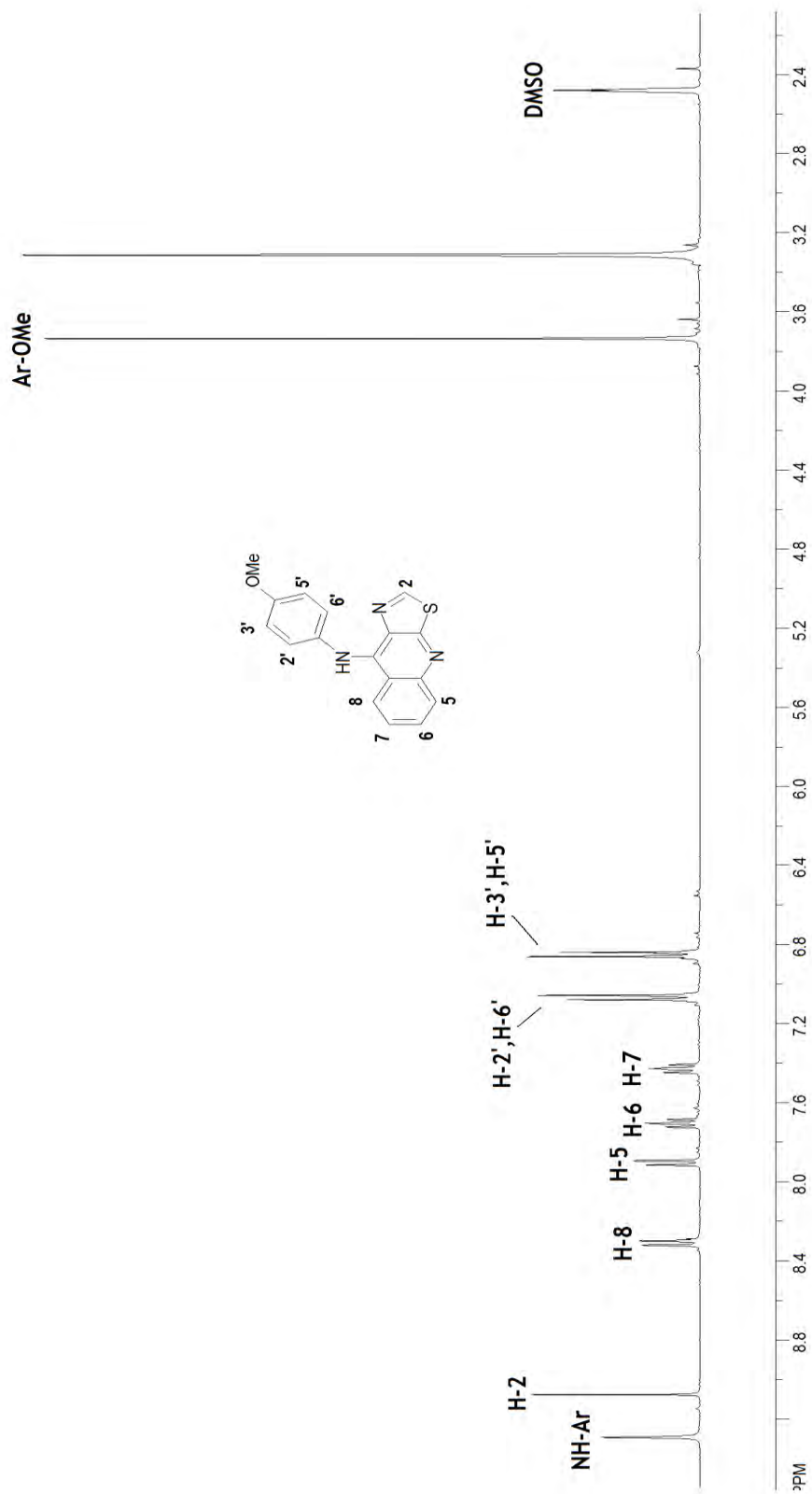
Espectro No. 24: $\text{RMN } ^1\text{H}$ (DMSO-d_6) del compuesto **7g**



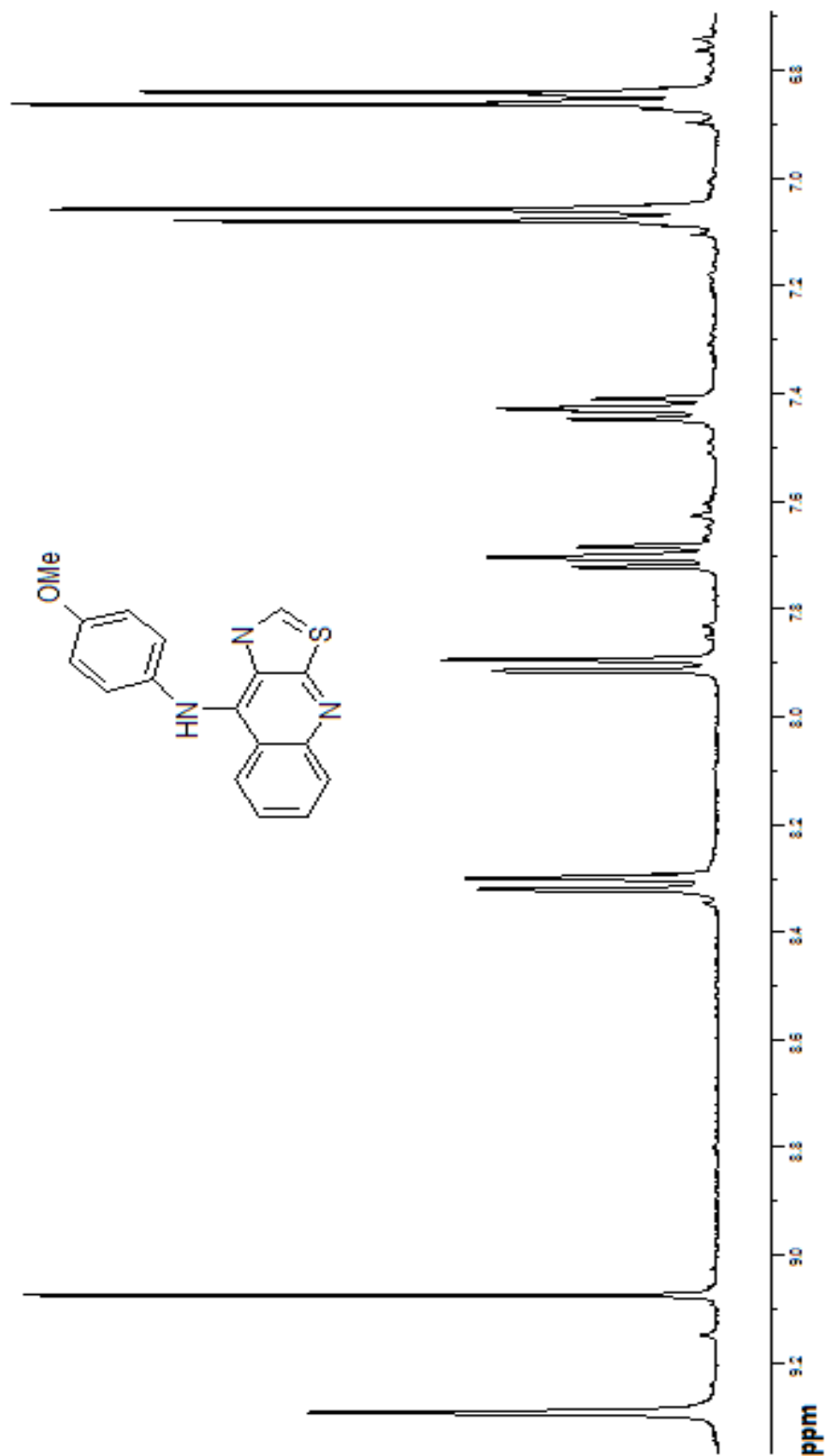
Espectro No. 25 : EM (IE,CG) del compuesto 7g



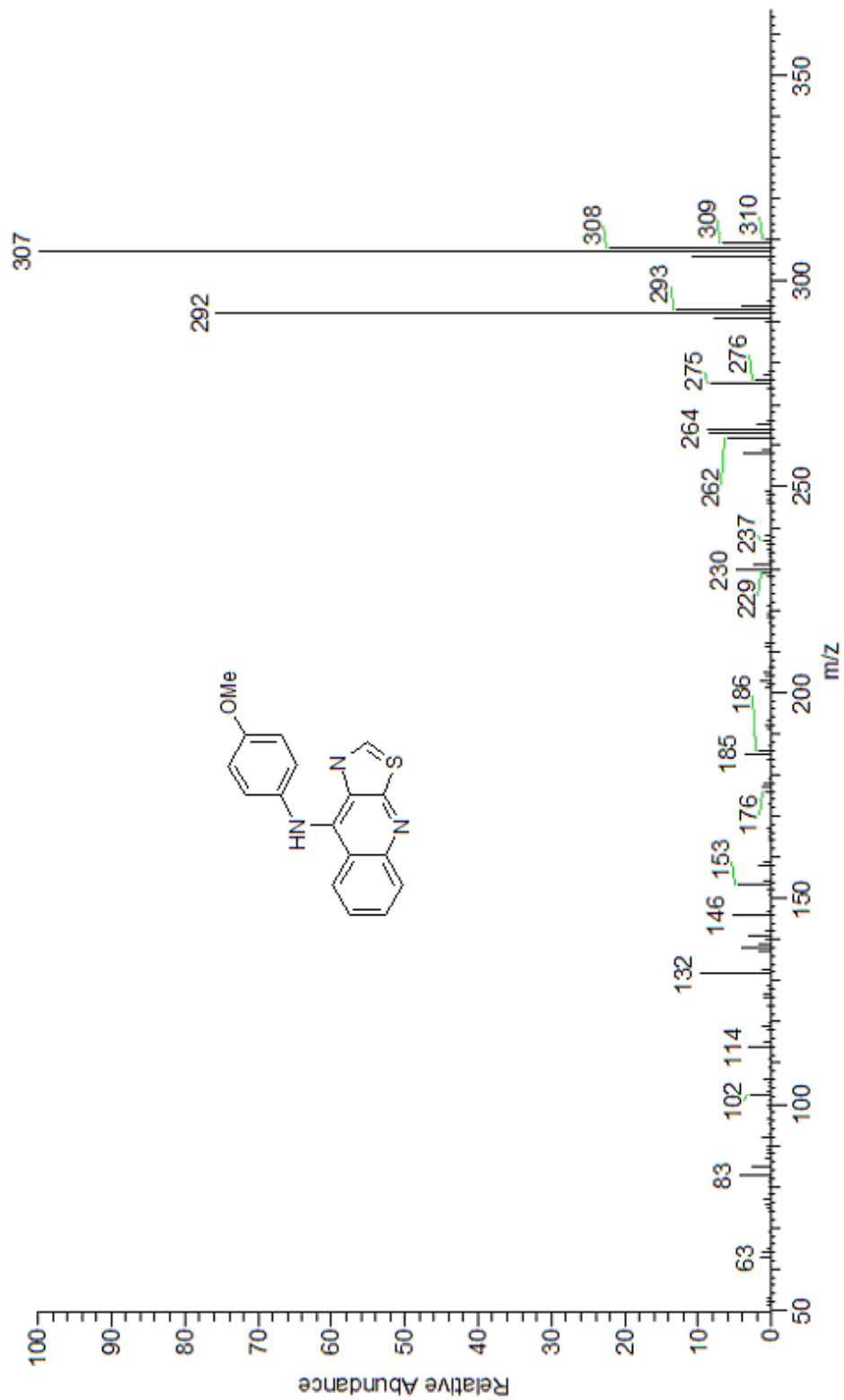
Espectro No. 26 : IR (pastilla KBr) del compuesto 7h



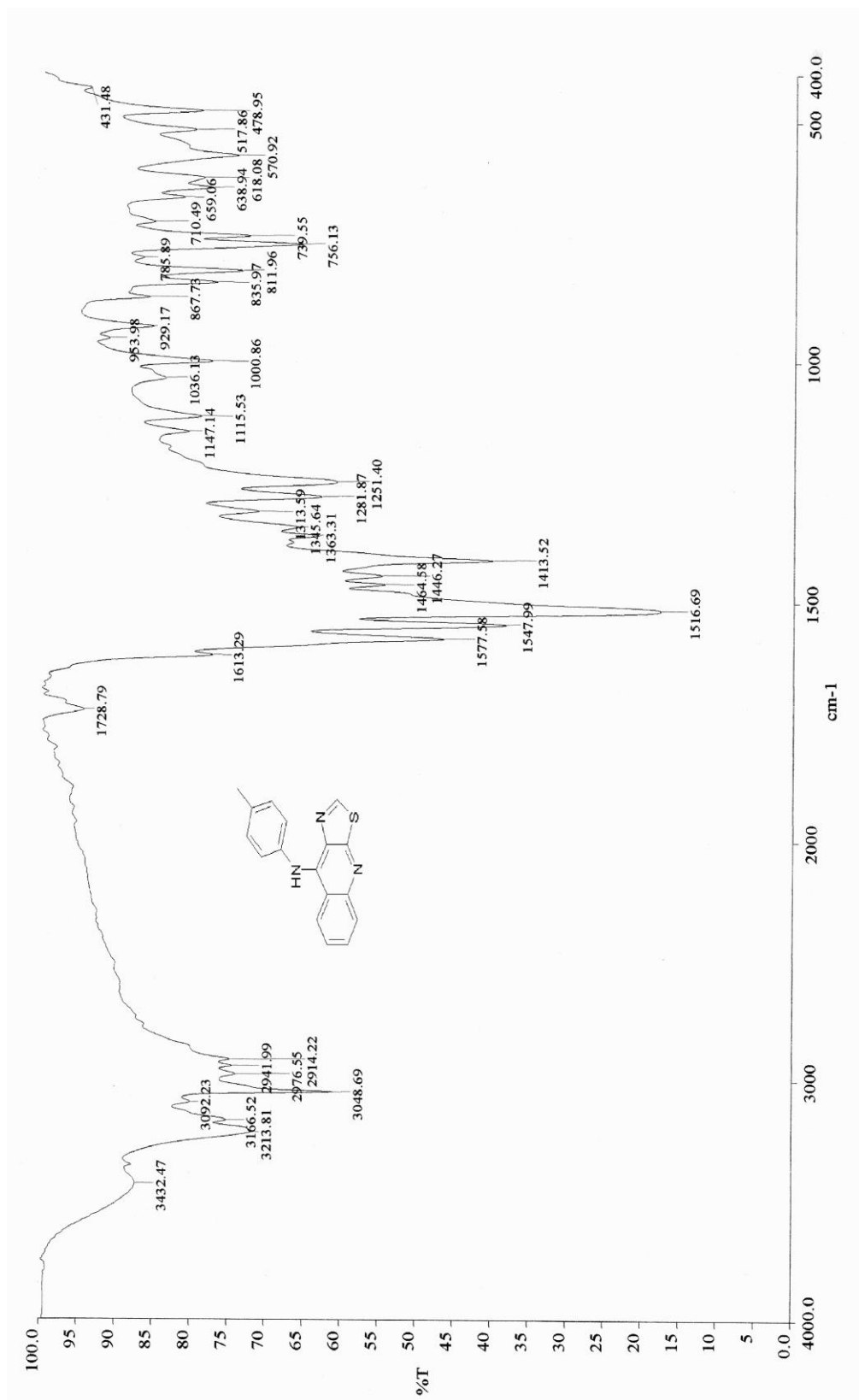
Espectro No. 27: RMN ^1H (DMSO-d_6) del compuesto **7h**



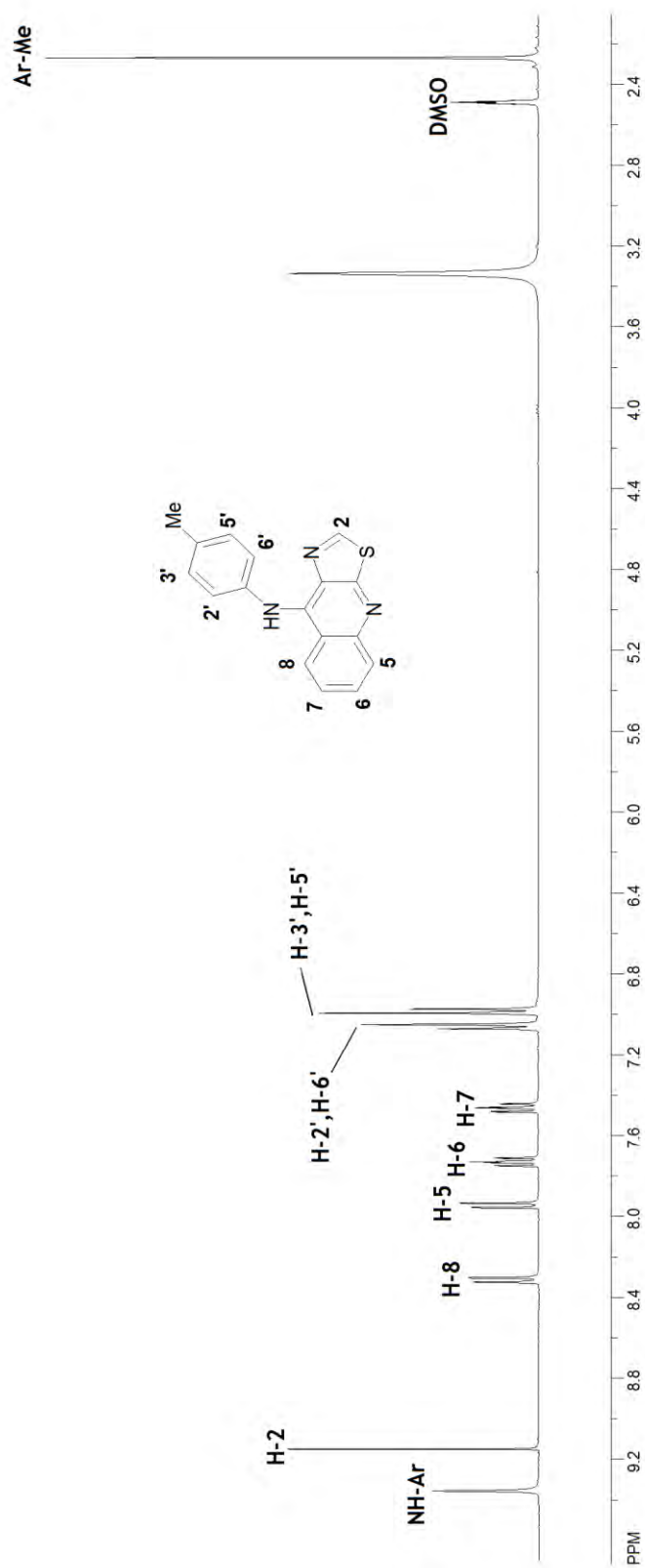
Espectro No. 28: continuación RMN H^1 ($\text{DMSO-}d_6$), ampliación campo bajo, del compuesto 7h



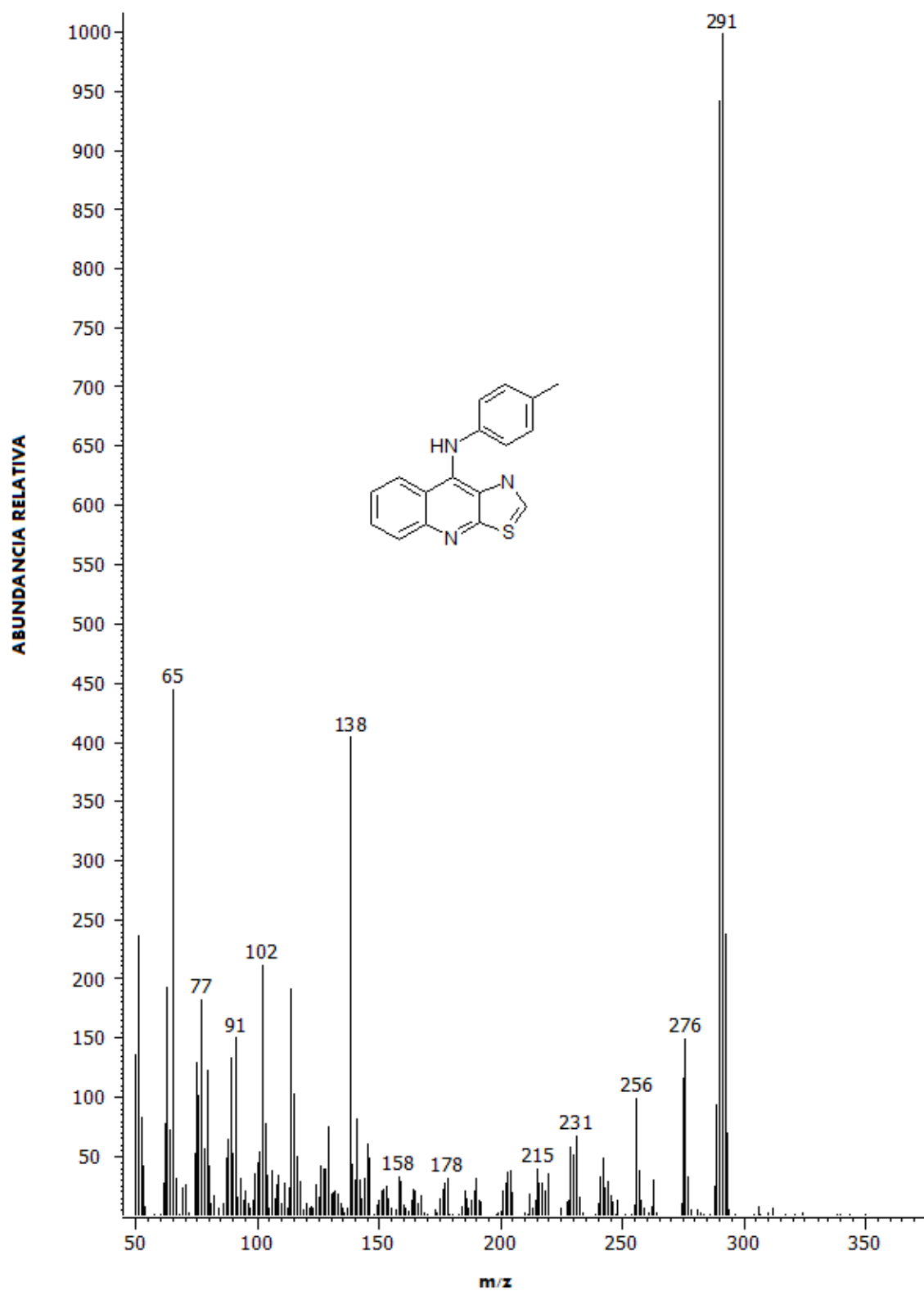
Espectro No. 29 : EM (IE, DIP) del compuesto 7h



Espectro No. 30: IR (pastilla KBr) del compuesto 7i



Espectro No. 31: RMN ^1H (DMSO-d_6) del compuesto **7i**



Espectro No. 32: EM (IE, CG) del compuesto 7i