



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

**“SÍNTESIS, ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD
DE DERIVADOS DE
2-[(1-AZACICLOALQUIL)ALQUILAMINO]-9-ANILINOTIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA”**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. F. B. ADRIÁN KÉMISH LÓPEZ RODRÍGUEZ



TUTOR: DR. ALFONSO SEBASTIÁN LIRA ROCHA

2011



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.



PARTE DE ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN CONGRESOS NACIONALES DE QUÍMICA:

45° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA
29° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA

Riviera Maya, Quintana Roo, del 18 al 22 de Septiembre, 2010.

“DESARROLLO DE HOMÓLOGOS DE TIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA COMOPOTENCIALES ANTITUMORALES” **Adrián Kémish López-Rodríguez**, Marco A. Loza-Mejía, José Solano-Becerra, Alfonso Lira-Rocha. Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

Trabajos Libres Orales en Química Medicinal.

46° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA
30° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA

Querétaro, Querétaro., del 10 al 14 de Septiembre, 2011.

“SÍNTESIS Y ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE NUEVOS DERIVADOS DE 9-ANILINOTIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA 2 SUSTITUIDOS” **Adrián Kémish López-Rodríguez**, José Solano-Becerra., Alfonso Lira-Rocha. Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

Trabajos Profesionales en cartel, Química Medicinal.

“MODELADO MOLECULAR Y ANÁLISIS DE RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE 9-ANILINOTIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA” **Adrián Kémish López-Rodríguez**, José Solano-Becerra., Alfonso Lira-Rocha. Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

Trabajos Libres Orales en Química Medicinal





JUARADO ASIGNADO

PRESIDENTE	DR. EUGENE ATHANAS BRATOEFF
VOCAL	DR. ROBERTO MARTÍNEZ
VOCAL	DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS
VOCAL	DR. JUAN GABRIEL NAVARRETE VÁZQUEZ
SECRETARIO	DR. FERNANDO CORTÉS GUZMÁN

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

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

ASESOR

DR. ALFONSO SEBASTIÁN LIRA ROCHA

SUSTENTANTE

Q. F. B. ADRIÁN KÉMISH LÓPEZ RODRÍGUEZ





AGRADECIMIENTOS

De manera profunda y sentida a la Universidad Nacional Autónoma de México, particularmente a la Facultad de Química, por otorgarme la oportunidad de formar parte de ella, por permitir mi desarrollo profesional y humano dentro y fuera de sus instalaciones.

Al Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha, por la gran paciencia mostrada a lo largo de todo este tiempo, por todos sus consejos, su apoyo, y liderazgo con la calidad humana que lo distingue. Por la confianza depositada en mí persona, por extenderme la oportunidad de formar parte, más que de un grupo de trabajo, de una gran familia. Por su amistad.

Al Dr. Marco Loza Mejía, por su amistad, sus sabios comentarios, por haber confiado en mí, en especial por poner siempre buena cara y por esa manera tan particular de motivar a las personas que lo distingue.

A la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación (USAI) de la Facultad de Química, por el apoyo en la realización de la espectroscopia, particularmente:

A la Q. Georgina Duarte Lisci y a la M. en C. Margarita Guzmán Villanueva por su valiosa ayuda y la realización de los espectros de masas.

A la Q. Marisela Gutiérrez por el entusiasmo mostrado en la realización de los espectros de Infrarrojo cercano.

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

De manera especial al M. en C. José Solano Becerra del departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM, por el interés que siempre ha mostrado en el proyecto y por su arduo empeño en la determinación de la actividad citotóxica.

A todos y cada uno de los profesores integrantes del jurado, quienes con sus valiosos comentarios y sugerencias, enriquecieron en gran medida este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por otorgarme una beca para la realización de estudios de Posgrado (Número de becario CONACyT: 346106).

El apoyo financiero ofrecido por DGAPA a través del proyecto PAPIIT- IN218910 para la adquisición de los reactivos y materiales utilizados en este trabajo.

A todos los que de alguna u otra forma estuvieron conmigo en esta aventura haciéndola más interesante: Luis, Marcos, Ricardo, a Jaq por su compañía, cariño y paciencia.







ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	<i>i</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>iii</i>
ÍNDICE DE GRÁFICOS	<i>vi</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>vii</i>
RESUMEN	<i>viii</i>
1. INTRODUCCIÓN	<i>1</i>
2. ANTECEDENTES	<i>3</i>
2.1. CÁNCER	<i>3</i>
2.2. TERAPIA CITOTÓXICA DEL CÁNCER	<i>5</i>
2.3. DIANAS EN LA QUIMIOTERAPIA DEL CÁNCER	<i>6</i>
2.3.1. ÁCIDOS NUCLEICOS	<i>6</i>
2.4. AGENTES INTERCALADORES	<i>7</i>
2.5. ADN TOPOISOMERASAS	<i>10</i>
2.5.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE DTi2	<i>11</i>
2.6. TELOMERAS Y TELOMERASA	<i>12</i>
2.7. DERIVADOS DE ACRIDINA	<i>14</i>
2.8. BIOISOSTERISMO	<i>17</i>
2.9. DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-<i>b</i>]QUINOLINAS	<i>18</i>
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	<i>28</i>
4. HIPÓTESIS	<i>32</i>
5. OBJETIVOS	<i>33</i>
5.1. OBJETIVO GENERAL	<i>33</i>
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES	<i>33</i>
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS	<i>35</i>
6.1. PARTE QUÍMICA	<i>35</i>
6.1.1. PARTE SINTÉTICA	<i>35</i>
6.1.2. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO	<i>38</i>
6.2. ACTIVIDAD CITOTÓXICA	<i>41</i>





6.2.1. ANÁLISIS AL MICROSCOPIO	42
6.2.2. CITOTOXICIDAD EN LÍNEAS CELULARES	45
6.2.2.1. SW-620 (adenocarcinoma colorrectal).....	45
6.2.2.2. SW-480 (adenocarcinoma colorrectal)	47
6.2.2.3. HeLa (cáncer cervicouterino).....	47
6.2.2.4. K-562 (leucemia humana mielogena)	48
6.3. MODELADO MOLECULAR	50
6.3.1. ANÁLISIS CONFORMACIONAL	50
6.3.2. ANÁLISIS DE ESTRUCTURA ELECTRÓNICA.....	52
6.3.2.1. AM1	52
6.3.2.2. HF	59
6.3.2.3. DFT	65
6.4. RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR)	72
6.4.1. HeLa, cáncer cervicouterino.....	72
6.4.2. SW-620, adenocarcinoma colorrectal	79
6.4.3. SW-480, adenocarcinoma colorrectal	81
6.4.4. K-562, leucemia humana mielógena	83
7. PARTE EXPERIMENTAL	86
7.1. REACTIVOS Y EQUIPO.....	86
7.2. CROMATOGRAFÍA.....	86
7.3. PARTE QUÍMICA	87
7.4. SÍNTESIS Y DESCRIPCIÓN	88
7.4.1. <i>N</i> -[(Étoxicarbonil)metil]iminoditiocarbamato de dimetilo (I)	88
7.4.2. 4-(Étoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (II).....	88
7.4.3. 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (III)	89
7.4.4. Método general para la obtención de derivados de 9-anilino-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	89
7.4.4.1. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVa)	90
7.4.4.2. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVb)	90





7.4.4.3.	9-[(3-Cianofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVc)	90
7.4.4.4.	9-[(4-Cianofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVd)	90
7.4.4.5.	9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVe)	91
7.4.4.6.	9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (IVf)	91
7.4.5.	Método general para la obtención de derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	91
7.4.5.1.	9-[(3-Clorofenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Va)	92
7.4.5.2.	9-[(4-Clorofenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Vb)	92
7.4.5.3.	9-[(3-Cianofenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Vc)	92
7.4.5.4.	9-[(4-Cianofenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Vd)	92
7.4.5.5.	9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Ve)	93
7.4.5.6.	9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-(metilsulfonyl)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (Vf)	93
7.4.5.	Método general para la obtención de derivados de 2-[(1-azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas	93
7.4.5.1.	9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(2-aminoetil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (1a)	93
7.4.5.2.	9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(2-aminoetil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (1b)	94
7.4.5.3.	9-[(3-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2a)	94
7.4.5.4.	9-[(4-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2b)	94
7.4.5.5.	9-[(3-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2c)	94
7.4.5.6.	9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2d)	95
7.4.5.7.	9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2e)	95
7.4.5.8.	9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (2f)	95
7.4.5.9.	9-[(3-Clorofenil)amino]-2-{3-[(2 <i>R</i> , <i>S</i>)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (3a)	96
7.4.5.10.	9-[(4-Clorofenil)amino]-2-{3-[(2 <i>R</i> , <i>S</i>)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (3b)	96





7.4.5.11. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-{3-[(2 <i>R</i> , <i>S</i>)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (3c)	96
7.4.5.12. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-{3-[(2 <i>R</i> , <i>S</i>)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (3d)	96
7.4.5.13. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-{3-[(2 <i>R</i> , <i>S</i>)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (3e)	97
7.4.5.14. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4a)	97
7.4.5.15. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4b)	97
7.4.5.16. 9-[(3-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4c)	98
7.4.5.17. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4d)	98
7.4.5.18. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4e)	98
7.4.5.19. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina (4f)	98
7.5. MODELADO MOLECULAR	99
7.5.1. ANÁLISIS CONFORMACIONAL Y CÁLCULO DE LAS PROPIEDADES ELECTRÓNICAS DE LAS MOLÉCULAS AISLADAS	99
7.6. CITOTOXICIDAD EN LÍNEAS CELULARES	99
7.7. RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR)	99
8. CONCLUSIONES	100
10. BIBLIOGRAFÍA	102
11. ANEXOS	104





LISTA DE ABREVIATURAS.

AM1: Austin Model 1.

A-549: Línea Celular de Carcinoma de Pulmón.

CCF: Cromatografía de Capa Fina.

CI₅₀: Concentración Inhibitoria 50, concentración necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular.

C-33: Línea Celular Cervical.

DFT: Teoría de funcionales de la densidad, en ingles.

DMF: *N,N'*-dimetil formamida.

δ : Desplazamiento Químico (en ppm).

DTi 1: Topoisomerasa tipo I.

DTi 2: Topoisomerasa tipo II.

EDG: Grupo electrodonador, en ingles.

EM: Espectrometría de Masas.

EWG: Grupo electroattractor, en ingles.

HF: Hartree-Fock.

HSAB: Ácidos y bases duros y blandos, en ingles.

FAB: Bombardeo Rápido de Átomos, en ingles.

HBA: Aceptor en la formación de enlaces de hidrógeno, en ingles.

Hela: Línea Celular Cervical.

HOMO: Orbital molecular más alto ocupado, en ingles.

HT-29: Línea Celular de Tumor de Colon Humano.

hTER: Región molde de ARN de la enzima Telomerasa.

hTERT: Subunidad catalítica de la enzima Telomerasa.

IE: Impacto Electrónico.

IR: Infrarrojo.

J: Constante de Acoplamiento (en Hz).

K-562: Línea celular de leucemia mielógena humana.

logP: Logaritmo del coeficiente de partición.





LUMO: Orbital molecular más bajo desocupado, en ingles.

[M⁺]: Ión Molecular.

[MH⁺]: Ión Pseudomolecular.

***m*-AMSA:** Amsacrina.

m/z: Relación masa-carga.

MTT: Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol.

pCI₅₀: Logaritmo inverso de la concentración inhibitoria 50.

PhNCS: Isotiocianato de fenilo.

PME: Potencial molecular electrostático.

PPA: Ácido Polifósfirico.

PSA: Área polar superficial, en ingles.

P-338: Línea Celular de neoplasma linfático murino.

QSAR: Relación cuantitativa estructura-actividad, en ingles.

R_r: Factor de retención.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

SW-480: Línea celular de cáncer colorectal.

SW-620: Línea celular de cáncer colorectal.

TEA: Trietilamina.

THF: Tetrahidrofurano.

TMS: Tetrametilsilano.

TTA's: Agentes dirigidos a telómero.

χ: Electronegatividad.





ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Etapas de la carcinogénesis	3
Figura 2: Mecanismos y sitios de acción de quimioterápicos utilizados en neoplasias. PALA: N-fosfonoacetil-L-aspartato; TMP: timidinmonofosfato.....	5
Figura 3: Agentes alquilantes usados en el tratamiento de Leucemia.	7
Figura 4: A) Unión al ADN a través del surco menor. B) Unión por intercalación al ADN	7
Figura 5: Intercaladores al ADN	8
Figura 6: Surco mayor y menor en el ADN	8
Figura 7: Agentes intercaladores clásicos	8
Figura 8: Agentes intercaladores al ADN usados en la práctica clínica.....	9
Figura 9: Amsacrina y su isómero posicional: σ -AMSA	10
Figura 10: Ciclo catalítico de las ADN topoisomerasas tipo 2.....	12
Figura 11: Posibles configuraciones intramoleculares (tetrámeros G), formadas en el ADN telomérico de humanos	13
Figura 12: Modelo del alargamiento progresivo del ADN telomérico por la telomerasa. Este proceso requiere varios pasos, como se ilustra en la figura. (a) Primero, el ADN telomérico es reconocido por la ribonucleoproteína telomerasa (RNP) y se une a la subunidad RNA de la telomerasa. (b) Se adicionan los nucleótidos en la dirección 3' de ADN telomérico. (c) La telomerasa se transloca y repositona en un extrema 3' para su elongación. (d) Se inicia otra ronda de adición de nucleótidos.....	13
Figura 13: Interacción de los ligandos G-4 con el tetrámero de Guanina en el telómero. A) Modelo de anclaje alternado arriba-abajo. B) Modelo de anclaje todos arriba	14
Figura 14: Ftalanilidas	15
Figura 15: Sal cuaternaria de amonio	15
Figura 16: 9-(4-aminoanilino)acridina	15
Figura 17: (A) Derivado diaminado. (B) 9-(4-metilsulfonilida-amino)acridina (AMSA)	16
Figura 18: Amsacrina (m -AMSA).....	16
Figura 19: Farmacóforo postulado para agentes intercaladores. EDG: grupo electrodonador	17
Figura 20: Requerimientos estructurales en TTAs	17
Figura 21: Isosterismo entre el núcleo de acridina (A) y el de tiazolo[5,4- b]quinolina (B)	19
Figura 22: Derivados de tiazolo[5,4- b]quinolina con actividad citotóxica. Reportados por Álvarez-Ibarra	20
Figura 23: Generación de los derivados híbridos de tiazolo[5,4- b]quinolina, por Lira-Rocha y col.....	20





Figura 24: Propuesta de Interacción electrostática con los grupos fosfato del ADN	23
Figura 25: Agrupamiento de los compuestos reportados por Loza-Mejía, según su orientación del vector de momento dipolar. Los grupos B y D, comprenden los compuestos con mayor actividad	24
Figura 26: Grafico de actividad observada vs. Calculada con la ecuación para K-562, por Loza-Mejía, se observa la presencia de dos subgrupos de compuestos, abajo los compuestos con el grupo alquilamino, arriba el grupo metiltio en posición 2	25
Figura 27: Cultivos celulares control SW-480 vistos al microscopio	27
Figura 28: Cultivos SW-480 a 48 h. de tratamiento concentración 90 μ M. A) Compuesto VIb. B) Compuesto FJR6	27
Figura 29: Cultivos celulares SW-480. Izquierda células del grupo control. Derecha células tratadas con FJR6 90 μ M	29
Figura 30: Incremento de la actividad citotóxica al derivar la serie homóloga superior en aquellos compuestos con sustituyente dietilaminoalquilamino en posición 2	29
Figura 31: Derivación de los homólogos superiores de 2-[(azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino-tiazolo [5,4- <i>b</i>]quinolina	30
Figura 32: (A) Interacción electrostática por parte del nitrógeno β , con los grupos fosfato del ADN. (B) Ausencia de interacción del nitrógeno β , con los grupos fosfato, por la presencia del grupo carbonilo	30
Figura 33: Nuevos compuestos a sintetizar	33
Figura 34: Análisis retrosintético de la formación del núcleo de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	35
Figura 35: Ruta sintética para la formación del núcleo de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	35
Figura 36: Esquema general de síntesis para la obtención de los derivados de 2-[(azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino-tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina	36
Figura 37: Explicación de acuerdo a HSAB, de las zonas de reacción	37
Figura 38: Valores energéticos de los estados de transición para la reacción del compuesto III con anilina. (A) Sobre la posición 9. (B) Sobre la posición 2	37
Figura 39: Estado de transición para la reacción del compuesto V con una amina alifática. 3-(1-piperidinil)propilamina	38
Figura 40: Numeración y nomenclatura empleada en la asignación de señales	38
Figura 41: Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 1	39
Figura 42: Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 2	40
Figura 43: Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 3	40
Figura 44: Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 4	41
Figura 45: Morfología de las células control SW-620. Objetivo 10X	43
Figura 46: Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 2a. Objetivo 10X.....	44
Figura 47: Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 3a. Objetivo 10X.....	44





Figura 48: Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 4b. Objetivo 10X.....	45
Figura 49: Conformación del anillo de anilina	51
Figura 50: Conformaciones de la cadena lateral, A y B representan a los compuestos con buena actividad citotóxica, conformación de “escorpión”. C) compuestos con poca o nula actividad citotóxica, no existe un patrón evidente en la conformación de la cadena lateral	51
Figura 51: Gráficos del HOMO de los compuestos VIa, 1b, 3c y 4f.....	54
Figura 52: Gráficos del LUMO de los compuestos VIIc, 2c, 3d y 4d.....	55
Figura 53: Representación gráfica del PME de los compuestos VIa, 1a, 3d y 4a.....	56
Figura 54: Gráficos de Isopotencial (-83.68 KJ/mol) de los compuestos 1b, 2b, 3c, y 4f.....	57
Figura 55: Orientación del momento dipolar de algunos compuestos analizados. VIc, 1b, 2c y 4d	58
Figura 56: Agrupación de los compuestos, según la orientación del vector de momento dipolar. A) Compuestos de las series VI, VII, 1, 2, 3, 4a y 4b. B) Compuestos inactivos 4c, 4d, 4e y 4f.....	58
Figura 57: Gráficos del HOMO de los compuestos VIIc, 2a, 3e y 4f.....	61
Figura 58: Gráficos del LUMO de los compuestos VIIc, 2b, 2c y 4a	61
Figura 59: Mapas de PME de los compuestos VIa, VIc, 3a, y 3e.....	62
Figura 60: Gráficos de Isopotencial (-83.68 KJ/mol) de los compuestos VIIa, 2a, 3e, y 4e.....	63
Figura 61: Dirección del momento dipolar de algunos compuestos analizados. VIa y 1a	63
Figura 62: Orientación del vector de momento dipolar en relación con el sustituyente en el anilino	64
Figura 63: Agrupación de los compuestos, según la orientación del vector de momento dipolar. A) Compuestos de las series VI, VII, 1, 2, y 3. B) Compuestos inactivos 4c, 4d, 4e y 4f	64
Figura 64: Geometrías de equilibrio calculadas por DFT, para los compuestos 2a, 3c, 3e y 4f. Las moléculas que presentan un enlace de hidrogeno intramolecular son representativos de los compuestos más activos	67
Figura 65: Gráficos de LUMO de los compuestos 2b y 4d	68
Figura 66: Gráficos de HOMO de los compuestos VIa y 3c	68
Figura 67: Mapas de PME de los compuestos VIc y 2e.....	69
Figura 68: Mapas de Isopotencial (-83.68 KJ/mol), para los compuestos VIIa, 2b, 4a y 4d	69
Figura 69: Grupos de compuestos según la orientación de su vector de momento dipolar, los compuestos del grupo A poseen mayor actividad citotóxica	70
Figura 70: Orientación del vector del momento dipolar en relación con el sustituyente en el anilino	71
Figura 71: Esquema general de síntesis para la obtención de los derivados de 2-[(azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino-5,4-b]quinolina	87





ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1: pCl_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Adenocarcinoma colorrectal SW-620	46
Gráfico 2: pCl_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Adenocarcinoma colorrectal SW-480	47
Gráfico 3: pCl_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Cáncer cervicouterino HeLa.....	48
Gráfico 4: pCl_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Leucemia humana mielogena K-562.....	49
Gráfico 5: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 1	73
Gráfico 6: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 2	74
Gráfico 7: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 3	74
Gráfico 8: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 4	75
Gráfico 9: Actividad observada contra $\log P$ calculado (Ghose-Crippen).....	76
Gráfico 10: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 9	77
Gráfico 11: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 10	78
Gráfico 12: Actividad observada vs. Act. pronosticada en la línea SW-620, obtenida con la ecuación 15	80
Gráfico 13: Actividad observada vs. Act. pronosticada en la línea SW-620, obtenida con la ecuación 16	80
Gráfico 14: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea SW-480, obtenida con la ecuación 17	82
Gráfico 15: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea SW-480, obtenida con la ecuación 18	82
Gráfico 16: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea K-562, obtenida con la ecuación 19	83
Gráfico 17: Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea K-562, obtenida con la ecuación 20	84





ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de Topoisomerasas	10
Tabla 2: Datos de actividad biológica de derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas	19
Tabla 3: Datos de actividad biológica de derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinas. Reportados por Loza Mejía y col.	21
Tabla 4: Compuestos agrupados en función de la orientación del vector de momento dipolar y la CI ₅₀ (μM) promedio para la línea celular HeLa, por Loza-Mejía y col	24
Tabla 5: CI ₅₀ (μM)* de derivados de 9-anilino tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina, y amsacrina como referencia	26
Tabla 6: % de inhibición de crecimiento a 80μM mediante ensayo MTT	28
Tabla 7: Tabla 7. CI ₅₀ (μM) de los compuestos novedosos (series 1-4), y amsacrina como referencia.....	42
Tabla 8: Descriptores moleculares calculados mediante el método semiempírico AM1 para los compuestos analizados.....	52
Tabla 9: Descriptores moleculares calculados mediante el método <i>ab initio</i> HF/6-31 G* para los compuestos analizados	59
Tabla 10: Descriptores moleculares calculados por medio de DFT B3LYP/6-31 G* para los compuestos analizados	65
Tabla 11: Sistemas de elución empleados	86





RESUMEN

El cáncer representa un grave problema de salud pública en México como en el mundo entero, dada su gran incidencia y mortalidad en la población en general. Lo anterior justifica los esfuerzos enfocados en la búsqueda de nuevas entidades químicas con actividad antineoplásica. A este respecto, las moléculas de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina son una opción tanto interesante como prometedora para su estudio, puesto que varios de los miembros de esta familia sintetizados por Lira-Rocha y colaboradores han mostrado tener actividad citotóxica sobre diversas líneas celulares humanas. De igual manera se ha encontrado que el patrón de sustitución, particularmente en posición 2 del sistema, repercute de manera notable en la actividad de dichas moléculas. Es por ello, que en el presente trabajo se derivó una nueva serie homóloga superior de compuestos de esta familia (serie **2-4**), en los cuales se lleva a cabo la incorporación de una cadena del tipo azacicloalquilalquilamino en posición 2, en una de las cuales se reduce la basicidad del nitrógeno β presente en la cadena lateral determinando el efecto de esta modificación sobre la actividad citotóxica. Por otra parte se determinó la importancia del patrón de sustitución en posición 2 del sistema de tiazoloquinolina sobre la actividad citotóxica. Para la evaluación de esta actividad biológica se empleó un modelo de citotoxicidad en panel de cuatro líneas celulares (K-562 leucemia humana mielogena, HeLa cáncer cervicouterino, SW-480 y SW-620 adenocarcinoma colorrectal), utilizando un ensayo dosis-respuesta gradual mediante el método MTT modificado realizando las determinaciones a 48 horas de exposición *in vitro*.

Con el propósito de establecer la existencia de algunos parámetros comunes o diferencias entre los compuestos con mayor citotoxicidad y aquellos con poca o nula actividad, se estudiaron mediante modelado molecular los compuestos sintetizados en el presente trabajo así como algunos derivados de la serie homóloga inferior, todas ellas como entidades aisladas. El análisis de relación estructura-actividad mostró que los valores adecuados de la energía de los orbitales frontera (particularmente el orbital LUMO), la magnitud y orientación del momento dipolar así como el coeficiente de partición ($\log P$), son parámetros que modulan la actividad citotóxica de dichos compuestos.

Si bien todos los compuestos sintetizados presentaron buena actividad biológica, en comparación con el compuesto de referencia (*m*-AMSA), es evidente que la incorporación de un anillo del tipo γ -lactámico en la cadena lateral, reduce sensiblemente la actividad, esto debido a la baja basicidad del nitrógeno anular lo que limita su capacidad de establecer interacciones de tipo electrostático con la hipotética diana biológica. Lo anterior hace destacar la importancia del nitrógeno β como punto farmacofórico en la actividad de este tipo de sustancias.

Por otro lado los compuestos con mayor actividad biológica, fueron aquellos con un centro quiral y que se presentan como mezcla racémica. Si bien es cierto que la resolución del racemato y la determinación de actividad de las formas homoquirales queda pendiente, se plantea una hipótesis de la posible interacción de ambos enantiómeros con el hipotético sitio de acción.





1. INTRODUCCIÓN.

En los últimos años se han revertido los principales tipos de enfermedades en México, de epidemiológicas a padecimientos crónico-degenerativos tales como la diabetes, el cáncer, hipertensión y cardiovasculares, entre otras. Particularmente, el cáncer constituye un problema de salud pública en nuestro país, se encuentra entre las primeras cinco causas de muerte según estadísticas de la Secretaría de Salud.¹ Si bien no existe una definición concreta, J. Ewing lo ha definido como *“un desarrollo de tejido hereditariamente alterado, relativamente autónomo”*.²

Entre los tratamientos empleados en la terapia contra el cáncer se encuentran:

- Cirugía.
- Radioterapia.
- Terapia inmunológica.
- Terapia génica.
- **Quimioterapia.**

Gracias a los avances de la quimioterapia en los últimos 30 años se ha podido progresar de manera por demás sustancial en el tratamiento de los pacientes con cáncer. Desde la década de los 50's del siglo XX, cuando se empezaron a usar, el número de agentes quimioterapéuticos ha aumentado notablemente. La meta de la quimioterapia es eliminar a todas las células cancerosas hasta la remisión de la enfermedad o hasta un punto en el que su avance se detiene.

Sin embargo, la quimioterapia tiene algunos inconvenientes:

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

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

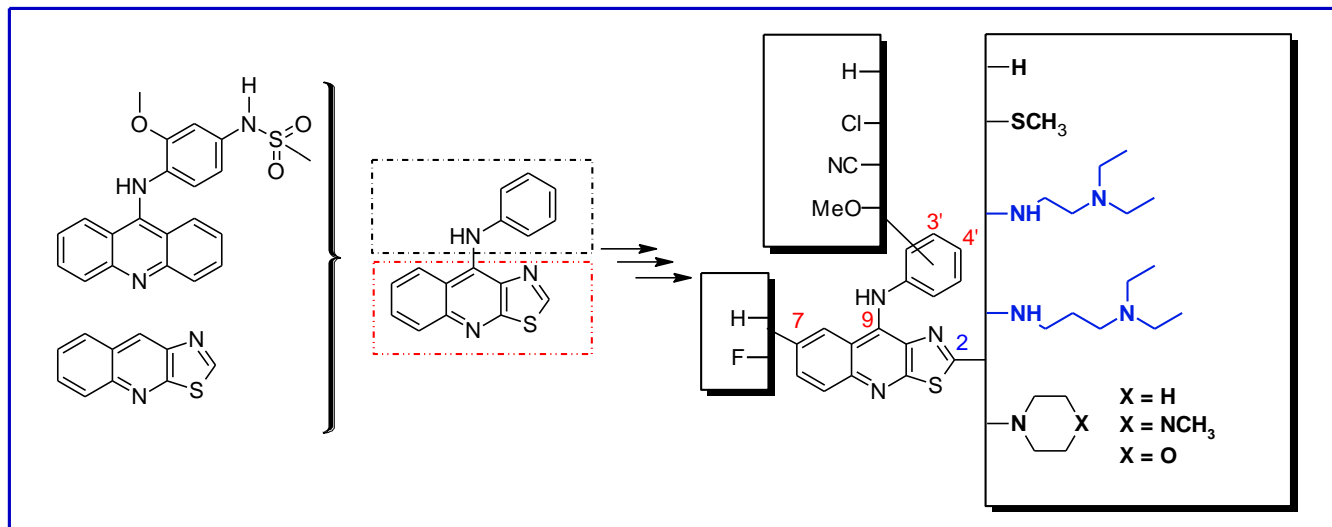
Para solucionar estos problemas, la investigación en quimioterapia se enfoca en descubrir y diseñar sustancias que incrementen el número de fármacos para combatir la enfermedad, que tengan mayor selectividad sobre las células tumorales, reduciendo con ello el número de efectos colaterales y mejorando las probabilidades de remisión. Una de las formas de obtención de nuevos fármacos se basa en la modificación estructural de una molécula patrón con el fin de optimizar su actividad farmacológica. Este proceso de búsqueda suele ser más productivo debido a que existe una gran probabilidad de que una molécula, obtenida por modificación estructural 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 en la molécula patrón; incluso si no llegan a conseguirse análogos más activos, se pueden obtener datos





que permitan una correlación estructura-actividad que permita avanzar en la detección de grupos farmacofóricos esenciales para la actividad biológica.

En los últimos años el grupo de trabajo de Lira-Rocha y col.^{4,5,6} combinaron el patrón estructural de las 9-anilinoacridinas con el núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina (isósteros, en los cuales un anillo de benceno es sustituido por un anillo de tiazol), explorando ampliamente el patrón de sustitución de la posición 2 y 9 del sistema tricíclico originando una nueva familia de derivados híbridos los cuales han mostrado buena actividad sobre diversas líneas celulares cancerosas (Esquema 1).



Esquema 1. Generación de los derivados híbridos 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolina 2 sustituidos, por Lira-Rocha y col.

Por otro lado, es factible que esta clase de compuestos sea evaluada sobre otro tipo de dianas farmacológicas relacionadas con este padecimiento, con el fin de esclarecer su mecanismo de acción. Por ejemplo, recientemente se ha reportado, la actividad de los derivados de acridina como inhibidores de la enzima telomerasa, que es la enzima que sintetiza el ADN telomérico y, por tanto, controla la síntesis de los telómeros, por lo que juega un papel importante en el proceso de inmortalización de las células.^{7,8,9} Así mismo se ha podido demostrar que la telomerasa está sobre-expresada en muchos tipos de tumores malignos, no así en los tejidos somáticos normales. El estudio de la regulación de la longitud de los telómeros y de la actividad de la telomerasa ha permitido comparar dos fenómenos biológicos diferentes y fundamentales, como lo son la senescencia y el cáncer, por lo que el telómero y la telomerasa podrían constituir un blanco atractivo para el desarrollo de nuevos agentes antitumorales.

Considerando lo anterior, en el presente trabajo, nos propusimos sintetizar, evaluar la actividad citotóxica, realizar los estudios de modelado molecular (obtención del confórmero más estable, propiedades electrostáticas, descriptores QSAR y superficies de propiedades electrónicas), establecer una relación estructura-actividad preliminar de un nuevo grupo de derivados 2 sustituidos, manteniendo la cadena lateral pero anclando el nitrógeno terminal (β) en un anillo de 5 o 6 miembros.

Así mismo, teniendo en cuenta que la basicidad del nitrógeno β es importante en la actividad de este tipo de compuestos, se propuso una serie de compuestos en donde esté forma parte de un anillo del tipo γ -lactámico y observar si este factor también influye sobre la actividad biológica.



2. ANTECEDENTES.

2.1 CÁNCER.

Los términos cáncer, neoplasia, y malignidad son usualmente utilizados alternativamente en la literatura técnica y popular. La familia de enfermedades llamada cáncer es mejor definida por cuatro características que describen como se comportan las células cancerosas, en comparación con sus contrapartes normales:

- 1) Clonalidad: *en la mayoría de los casos, el cáncer se origina de una sola célula que prolifera en una copia de células malignas.*
- 2) Autonomía: *el crecimiento no es regulado correctamente por las influencias bioquímicas y físicas normales en el ambiente.*
- 3) Anaplasia: *hay una carencia de la coordinación normal en la diferenciación celular.*
- 4) Metástasis: *las células cancerosas desarrollan la capacidad para el crecimiento y la difusión a otras partes del cuerpo (invasión a otros tejidos).*

La carcinogénesis es el proceso que lleva, mediante mutaciones genéticas, al desarrollo del cáncer y puede dividirse en; iniciación, promoción y progresión.^{10,11,12} La iniciación involucra un cambio genético irreversible; la promoción un aumento en la proliferación de las células, y la progresión, es la acumulación de mutaciones que llevan a la adquisición de un fenotipo maligno o invasivo (Figura 1).

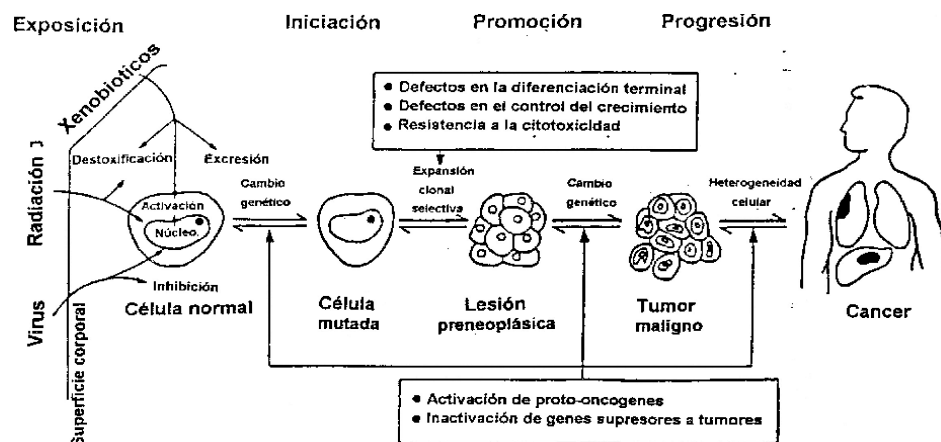


Figura 1. Etapas de la carcinogénesis

En el tratamiento del cáncer, son utilizadas gran variedad de estrategias terapéuticas, entre las que se incluyen; cirugía, radioterapia y la quimioterapia.¹¹ No obstante, estos tratamientos poseen la gran desventaja de provocar diversos efectos adversos. Como ha sido mencionado, la principal característica de esta enfermedad, es la rápida proliferación de los tejidos afectados, esta característica juega un rol importante en el tratamiento, dado que la mayoría de los agentes quimioterapéuticos basan su mecanismo de acción en la interferencia de la proliferación celular, por tanto se trata de atacar mayoritariamente a las células cancerosas, que se encuentran en una división celular incontrolada. Por otro lado, existen tejidos celulares normales, que poseen esta característica de gran proliferación. Así pues casi todos los agentes quimioterapéuticos disponibles en la actualidad tienen serios efectos colaterales, por que afectan directamente estas células normales de crecimiento rápido. Pocas categorías de medicamentos de uso común tienen un índice terapéutico más estrecho y una mayor probabilidad de ocasionar efectos adversos dañinos que los que muestran los fármacos



antineoplásicos.¹² Los efectos colaterales incluyen pérdida del cabello, esterilidad, destrucción del epitelio intestinal e inmunosupresión.^{12,13,14}

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 una 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 en la molécula patrón; incluso si no llegan a conseguirse análogos más activos, se pueden obtener datos que permiten realizar una correlación estructura-actividad, que permita avanzar en la detección de grupos farmacóforos, esenciales para la actividad farmacológica.

Las células tumorales tienen ciertas diferencias respecto de las células normales. Esta es una característica importante para el establecimiento de dianas para tratar la enfermedad. Algunas de estas diferencias son:¹¹

- **Alteraciones observadas in vitro:**

Cambios citológicos: aumento del número y/o tamaño del núcleo. Formación de “clusters” de células

- ✓ Alteración en el crecimiento celular: disminución de la sensibilidad a los factores que detienen el crecimiento celular; pérdida de la adhesión; pérdida en el control del ciclo celular, resistencia a la apoptosis
- ✓ Cambios en la estructura y funcionalidad de la membrana celular
- ✓ Pérdida de las interacciones en la matriz extracelular
- ✓ Pérdida en la respuesta a agentes que inducen la diferenciación celular
- ✓ Mecanismos de transducción de señales afectados

- **Alteraciones observadas in vivo**

- ✓ Incremento de la expresión de oncogenes debido a alteraciones en los cromosomas
- ✓ Pérdida de las proteínas producto de los genes supresores de tumores
- ✓ Alteración en los patrones de mutación de ADN
- ✓ Sobreproducción de los factores de crecimiento
- ✓ Incremento en los niveles de las proteínas implicadas en la síntesis de ácidos nucleicos
- ✓ Producción de antígenos oncofetales
- ✓ Capacidad para evitar la respuesta inmune del hospedero

La etiología del cáncer no es del todo clara, sin embargo se sabe que existen varios factores que pueden “disparar” el padecimiento.¹⁵

- Predisposición genética
- Carcinogénesis química





- Desajuste hormonal
- Radiación
- Acción física
- Virus y parásitos

2.2 TERAPIA CITOTÓXICA DEL CÁNCER.

Una de las dificultades principales en el tratamiento del cáncer, radica en la eliminación de todas y cada una de las células tumorales, ya que si esto no se logra, una sola célula que no sea eliminada puede dar origen a la reaparición del tumor. Los fármacos citotóxicos ejercen selectivamente sus efectos sobre células que están en proceso activo de división y proliferación. El objetivo terapéutico de la quimioterapia es obtener mayor efecto sobre las células cancerosas que sobre las células normales. La mayor parte de los quimioterapéuticos citotóxicos inhiben uno o más procesos celulares implicados en la división y proliferación celular (Figura 2). Las células cancerosas disponen de menos medios para iniciar y mantener mecanismos de reparación después de la exposición a un agente citotóxico y, por ello, tienen menos posibilidad de supervivencia después del daño infligido por la quimioterapia.

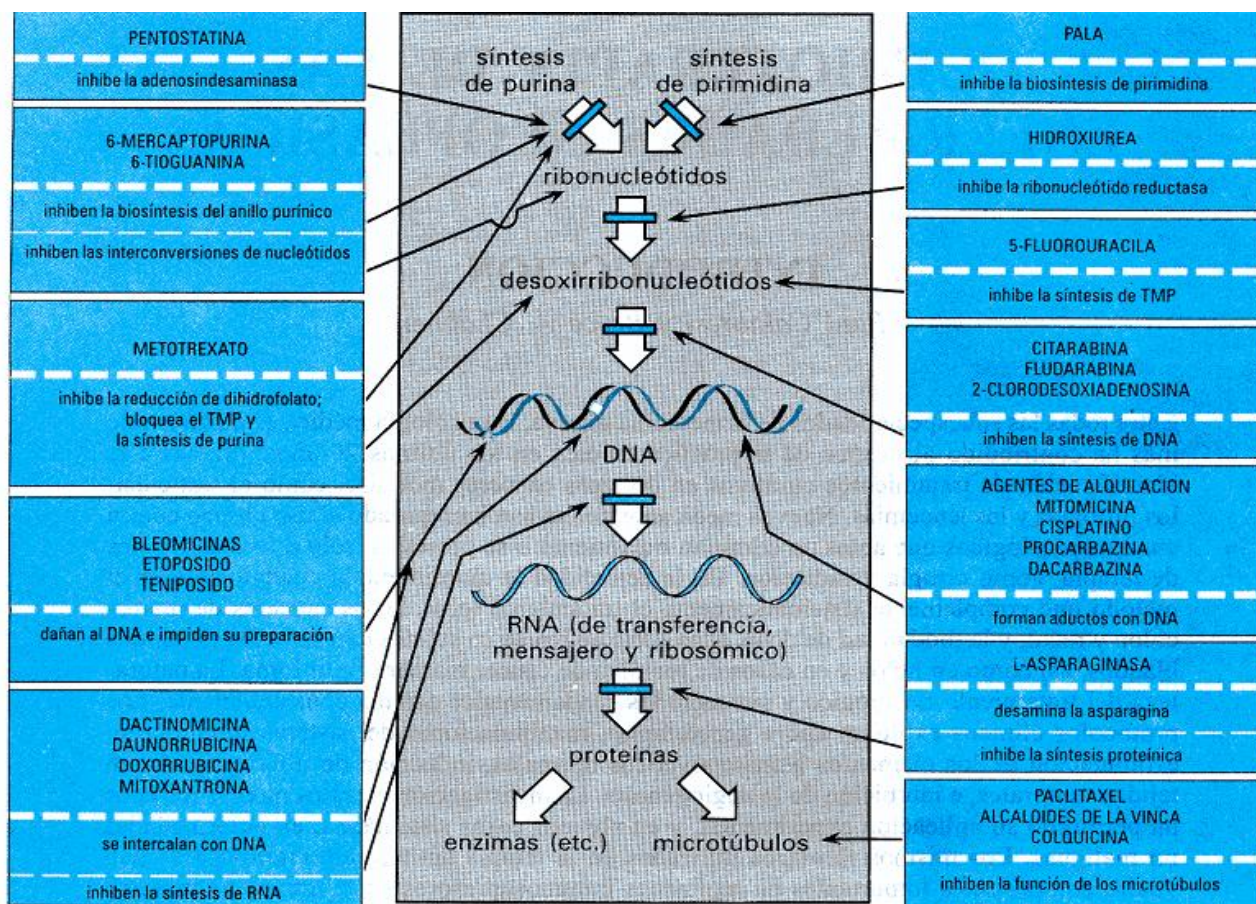


Figura 2. Mecanismos y sitios de acción de quimioterápicos utilizados en neoplasias. PALA: N-fosfoacetil-L-aspartato; TMP: timidinmonofosfato.¹³

Algunos tejidos normales también poseen poblaciones celulares que se dividen rápidamente, en particular las células de la luz intestinal y de la médula ósea. Estos tejidos tienden a ser más





sensibles a la quimioterapia. La actuación de citotóxicos sobre tejidos normales, con un ciclo celular rápido, permite explicar algunos de los efectos secundarios que con frecuencia aparecen con las pautas quimioterapéuticas, pero no todos ellos.

La ventaja de la quimioterapia citotóxica es que generalmente se puede administrar por vía sistémica para tratar cánceres avanzados y tumores que todavía están en una fase inicial. Actualmente se investigan nuevos quimioterapéuticos citotóxicos que evaden los mecanismos de resistencia habituales y actúan específicamente sobre células cancerosas, al tiempo que minimizan los efectos adversos generalmente asociados con esta clase de fármacos.

2.3. DIANAS EN LA QUIMIOTERAPIA DEL CÁNCER.

Los agentes terapéuticos antidiana pueden actuar sobre un proceso biológicamente activo (habitualmente, pero no necesariamente, una única molécula) preferiblemente central, de una vía importante de la tumorigénesis. La diana sobre la que ejercen su acción debe ser medible en la clínica y correlacionarse con el beneficio clínico cuando la terapia se administra. Las características fundamentales que debe tener una proteína diana incluyen la expresión única (o activación) de la misma en el tumor pero no en los tejidos sanos y que ésta confiera una ventaja selectiva de crecimiento a las células tumorales. El objetivo de la terapia dirigida es la inhibición de la función, supresión del fenotipo transformado y la interrupción de la progresión tumoral sin efectos adversos que afecten a las células normales. Por ello requiere una valoración clínica, que a su vez requiere la estrecha colaboración de científicos de laboratorio, oncólogos y patólogos.¹⁶

Aunque los agentes citotóxicos para el tratamiento del cáncer, tradicionalmente se han clasificado por su mecanismo de acción, también pueden ser clasificados por el sitio de acción al cual van dirigidos. De manera general se pueden agrupar en cuatro categorías:

- enzimas específicas
- microtúbulos (inhibidores de la mitosis)
- receptores de hormonas y factores de crecimiento
- **ácidos nucleicos.**

2.3.1. ÁCIDOS NUCLEICOS.

Dentro de esta categoría los agentes pueden clasificarse de acuerdo a la manera en que se unen al ADN, ya sea de manera covalente (agentes alquilantes) o no covalente (ya sea al surco menor o por intercalación) y también aquellas que tienen como diana el ADN telomérico (ligandos G-4).

-Unión covalente: este tipo de fármacos, son fundamentalmente compuestos electrófilos alquilantes que atacan preferentemente a un tipo de base, generalmente una base púrica, formando una unión irreversible. Los radicales alquílicos cedidos por compuestos de este tipo se unen con el nitrógeno en posición 7 de las moléculas de guanina del ADN, de esta forma producen su desorganización estructural e incluso la formación de puentes entre cadenas próximas de dichas moléculas (*cross linking*). Un ejemplo de ellos lo representan las mostazas nitrogenadas (β -haloalquilaminas), entre otros (Figura 3). Algunos de los inconvenientes de dichos fármacos se ha resuelto incorporando cromóforos acarreadores que se unen al ADN por intercalación.²⁷



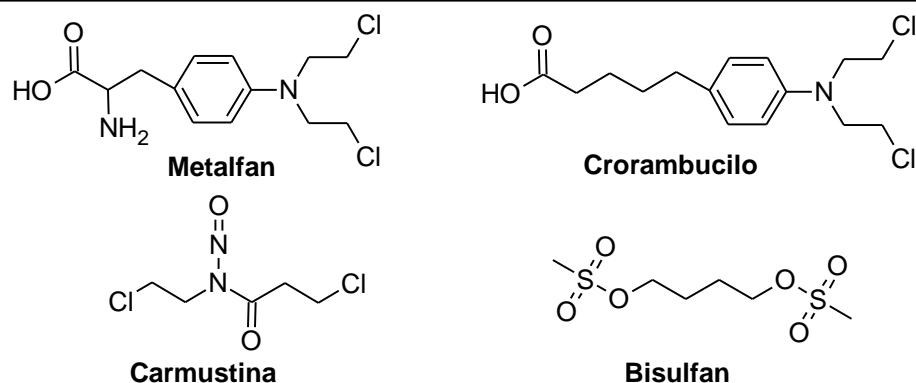


Figura 3. Agentes alquilantes usados en el tratamiento de Leucemia.

-Unión al surco menor: la unión al surco menor del ADN por parte de estos agentes es estabilizada a través de puentes de hidrogeno, interacciones electrostáticas y fuerzas de van der Waals, tienen alta selectividad por secuencias específicas de ADN, aunque preferentemente se unen a secuencias ricas en adenina-timina (A-T). Varias sustancias de este tipo poseen en sus estructuras sistemas heterocíclicos de 5 o 6 miembros unidos por enlaces amida y con grupos básicos que se encontrarían en su forma protonada a pH fisiológico.²⁷

-Unión por intercalación: la intercalación involucra la inserción de una molécula plana entre los pares de bases. Aunque la intercalación se ha asociado con sistemas policíclicos, intercalantes atípicos que carecen de sistemas fusionados empiezan a ser reconocidos (Figura 4). Normalmente la presencia de grupos básicos, catiónicos o electrofílicos es necesaria para que tengan actividad antitumoral y a sus estructuras se han incorporado grupos reactivos para unirse de manera covalente al ADN o cationes metálicos que inducen la ruptura hidrolítica o fotolítica de la cadena de fosfatos.²⁸

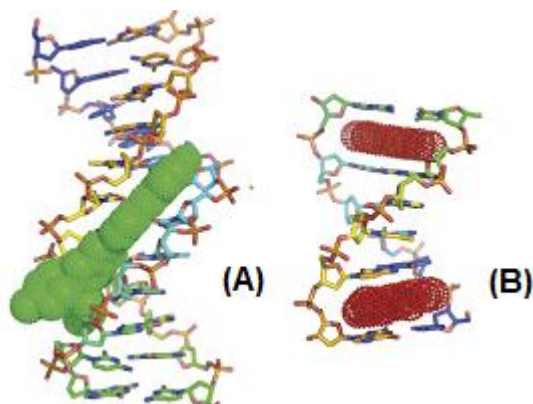


Figura 4. A) Unión al ADN a través del surco menor. B) Unión por intercalación al ADN.

2.4. AGENTES INTERCALADORES AL ADN

En 1947, Michaelis hizo notar la posibilidad de los ligandos de ADN como posibles quimioterapéuticos y más adelante Kirk, Rauen y Goldberg, examinando la estructura y las interacciones de la actinomicina D con los ácidos nucleicos, visualizaron el potencial del ADN como posible diana para detener el metabolismo celular al interrumpir la replicación y/o la transcripción.²⁹

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; entre los más empleados se encuentran los agentes intercaladores. Éstos son compuestos planos, aromáticos o heteroaromáticos (Figura 5), capaces de





incorporarse entre las bases apareadas, desorganizando la forma de doble hélice, puesto que la incorporación del agente intercalador modifica la geometría de la doble hélice, lo que impide la replicación y la transcripción. Esta interacción modifica las propiedades químicas y espectrofotométricas del intercalador, fundamentalmente sus espectros de absorción electrónica, y se traduce generalmente en cambios de conformación en el ADN que interfieren en la acción de enzimas que se unen al mismo, fundamentalmente topoisomerasas y polimerasas. La interacción suele ser el primer paso de una serie de eventos que terminan por dañar al ADN por diversos mecanismos, fundamentalmente alterando las interacciones con las enzimas anteriormente mencionadas.

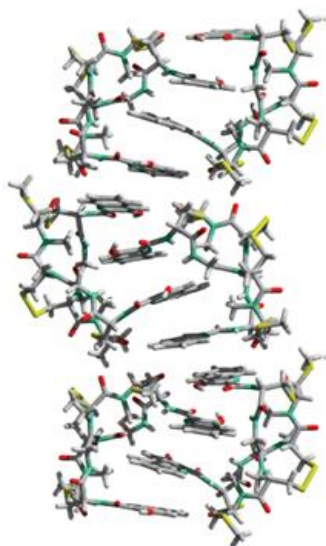


Figura 5. Intercaladores al ADN.

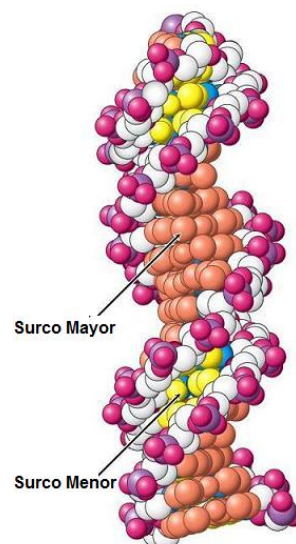


Figura 6. Surco mayor y menor en el ADN.

Agentes intercaladores clásicos como el bromuro de etidio, la poliflavina, acridina o el naranja de acridina (Figura 7), fueron los primeros en ser estudiados. Lerman²⁸ 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 era promovido por este tipo de sustancias a través del mecanismo de intercalación formándose un complejo entre el ligando y el ADN.

La primera caracterización de este tipo de complejo fue presentada por Waring usando espectroscopia UV, al observar que cuando se añadía bromuro de etidio a la solución de ADN se registraba un cambio en el espectro de absorción de este último. Otros compuestos con actividad biológica como la actinomicina D o la antraciclina, mostraron tener un comportamiento semejante.

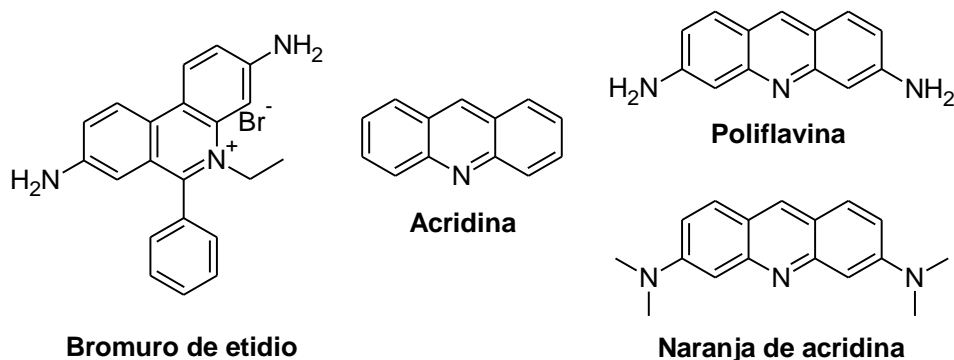


Figura 7. Agentes intercaladores clásicos.





El proceso de intercalación inicia con la transferencia del ligante de un ambiente acuoso a una zona hidrofóbica en los surcos del ADN (Figura 6), este proceso puede ser considerado como favorable debido a la naturaleza no polar del ligando. Posteriormente el ADN sufre un reacomodo pasando a un estado de transición donde las bases se separan 3.4 Å para formar la cavidad donde se insertará el ligando. Una vez que esté se ha insertado la formación de los complejos de intercalación es reversible, siendo la fuerza impulsora para su unión una combinación de interacciones electrostáticas, de *van der Waals* y complejos de transferencia de carga (π -stacking), así como enlaces de hidrógeno y factores de tipo entrópico. Estos agentes son cromóforos planos con deficiencia electrónica (electrófilos) con cadenas laterales polares las cuales pueden interactuar con los grupos fosfato del ADN.

De manera general los compuestos intercaladores que se usan en la práctica clínica poseen estructuras más complejas que el bromuro de etidio o la acridina (Figura 8). Además de poseer un cromóforo policíclico plano, la incorporación de sustituyentes al núcleo aromático tiene influencia en la geometría del complejo resultante o en la selectividad del ligando por ciertas secuencias de bases, estos grupos pueden ser tan simples como grupos metilo, metoxilo y halógenos o más complejos como secuencias de aminoácidos o azúcares, los cuales repercuten en la actividad biológica.

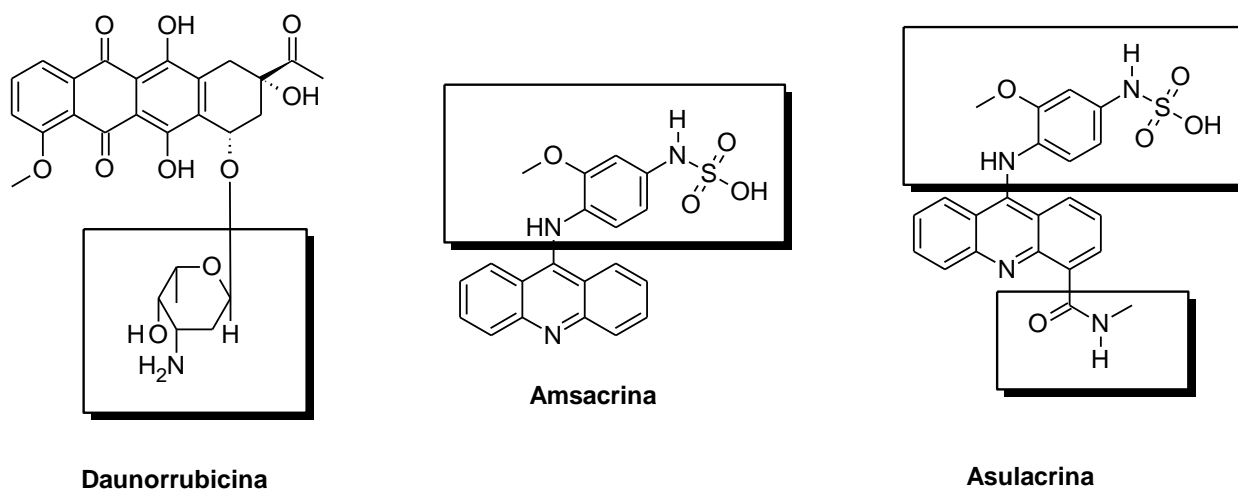


Figura 8. Agentes intercaladores al ADN usados en la práctica clínica.

Por otra parte se ha observado que la actividad antineoplásica de los intercaladores al ADN no se encuentra mediada únicamente por su capacidad de incorporarse entre los pares de bases del ADN.³⁰ Un claro ejemplo se presenta al realizar la comparación de la actividad de la amsacrina o *m*-AMSA respecto de su isómero posicional *o*-AMSA (Figura 9). Este último posee una afinidad 10 veces mayor que la amsacrina por el ADN, sin embargo ésta tiene mayor actividad citotóxica que su isómero. La principal diferencia radica en que la *m*-AMSA es capaz de afectar la actividad enzimática de la ADN topoisomerasas II. Las ADN topoisomerasas catalizan la unión y ruptura transitoria de las hebras de ADN, las de tipo I se unen sólo a una hebra mientras que las de tipo II tienen la capacidad de unirse a ambas hebras. Estas enzimas controlan el superenrollamiento y son necesarias para reparar los “nudos” formados durante el proceso de enrollamiento o la topología del ADN que ha sido afectada por exposición a algún xenobiótico.

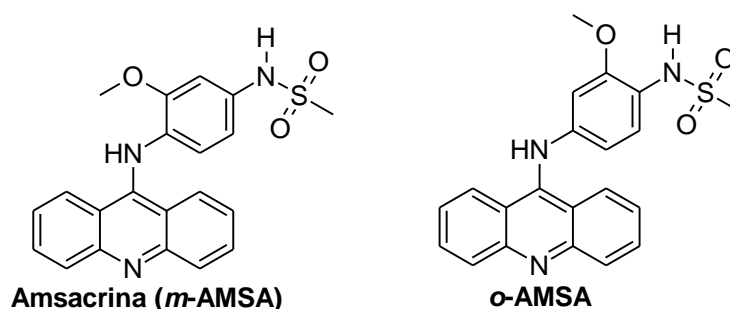


Figura 9. Amsacrina y su isómero posicional: o-AMSA.

2.5. ADN TOPOISOMERASAS.

Las ADN Topoisomerasas (DTi) son las enzimas encargadas de dar al ADN el superenrollamiento necesario para que el empaquetamiento y cualquier proceso cromosómico tengan lugar sin tensiones. También, en forma inversa, son capaces de retirarlo cuando es necesario desanudar el ADN y adicionalmente, promover la separación de los dúplex hijos previa a la división celular, proceso conocido como decatenación. Las topoisomerasas son proteínas ubicuas, todos los organismos vivos las presentan y muestran una notable conservación evolutiva debido al papel crítico que cumplen. Su mecanismo básico se basa en la separación transitoria (mellado-resellado) de las hebras de la doble hélice. En función de la manera de cumplir con dicho mecanismo estas enzimas se agrupan en dos tipos o familias (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de Topoisomerasas.³¹

Familia	IA	IB	IIA	IIB
Estructura	Monómero	Monómero	Tetrámero	Tetrámero
Cofactor metálico (Mg ²⁺)	Si	No	Si	Si
Requerimientos de ATP	No	No	Si	Si
Ruptura de hebra	Una	Una	Ambas	Ambas
Polaridad del corte fosfodiéster	5'	3'	5'	5'
Número de enlaces y sentido*	+1	+/- varios	+/- 2	+/- 2
Sensibilidad a fármacos**	Camptotecinas	¿?	Podofilinas Quinolonas Amsacrina	¿?
Ejemplos procariontas	topo I y III	v-topo I	DNA girasa, topo IV	topo IV
Ejemplos eucariotas	Girasa reversa	h-topo I	topo II	

* Modificación del *n* de enlace por cada ciclo catalítico: + supergiro positivo; - supergiro negativo. ** Las camptotecinas (topotecan) y las podofilofilinas (etopósido, tenipósido) actúan sobre topoisomerasas procariontas y eucariotas, por ello se usan como antineoplásicos. En cambio las quinolonas exhiben selectividad hacia las procariontas.

Su actividad las hace esenciales para los procesos tales como la duplicación de ADN, la transcripción y recombinación, así como en la condensación y segregación de los cromosomas, dicho de otra manera, estas enzimas son indispensables para la supervivencia celular.





- **La familia I (DTi 1)** comprende proteínas monoméricas que producen la separación transitoria de una sola cadena sin gasto energético. Ello permite el paso de una hebra sobre la otra del dúplex o bien el giro libre de la cadena cortada para reducir tensiones. Con ellas, el número de enlace aumenta una vez o se reduce-aumenta n veces, si se trata del paso de hebra o del giro libre respectivamente.
- **La familia II (DTi 2)** comprende proteínas tetraméricas que catalizan la separación transitoria de las dos cadenas de manera concertada con gasto de energía, promoviendo el paso a través de ella de otra parte del ADN antes del cierre. Ello genera el supergiro negativo o positivo propio del empaquetamiento o de la relajación decatenación. Con ellas, se produce una modificación de dos veces el número de enlace.

Fue en la década de 1980 que se descubrió que las DTi 2 representaban una diana primaria para algunos fármacos citotóxicos. El mecanismo de acción de estos fármacos es particularmente especial, puesto que en lugar de impedir que las DTi 2 cumplan con su ciclo catalítico, las transforman en toxinas letales que dañan al ADN³² y posteriormente promueven la apoptosis.

2.5.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA DTi 2.

La actividad enzimática de las ADN topoisomerasas tipo II, se puede describir en seis pasos ³³ (Figura 10):

1. Unión al ADN. Reconocimiento de la secuencia de corte ricas en G-C. La interacción es gobernada por dos propiedades de la doble hélice;
 - Secuencias específicas son reconocidas por la DTi 2.
 - La estructura topológica. Las DTi 2, son capaces de distinguir la topología del ADN, en otras palabras, distinguen las regiones superenrolladas de las relajadas, interactuando preferentemente con las primeras.
2. Formación del complejo previo a la translocación. Formación de un complejo transitorio entre la enzima y el ADN en el que la enzima genera la ruptura de la doble hebra. Durante el corte se da la formación de un enlace éster entre un grupo hidroxilo de tirosina de la enzima y el grupo fosfato en 5' del ADN.
3. Translocación. La DTi 2 experimenta un cambio conformacional que conduce a un paso de una doble hélice de ADN a través del corte transitorio formado en el paso anterior. En este paso se incorpora ATP, lo cual "dispara" la translocación.
4. Post-translocación. En este punto, se establece un equilibrio ruptura-unión de las hebras similar al sucedido en el paso 2.
5. Hidrólisis de ATP. La hidrólisis de ATP promueve la separación del complejo ADN-Enzima.
6. Reciclaje de la enzima.



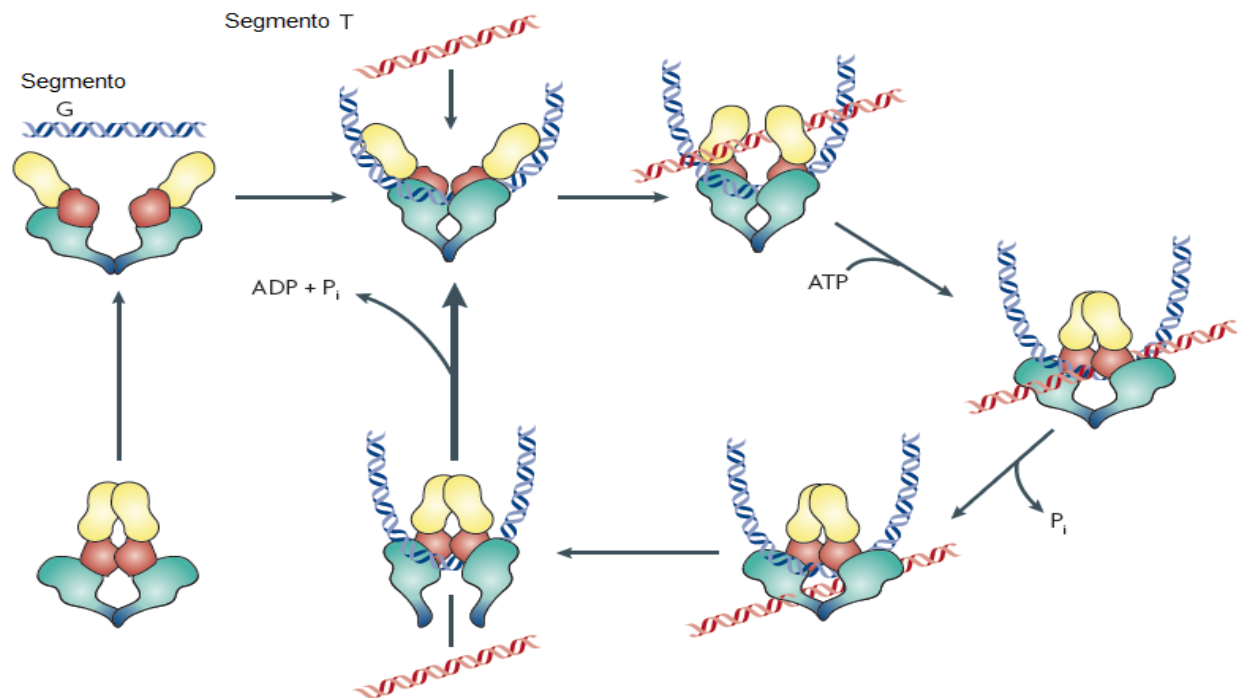


Figura 10. Ciclo catalítico de las ADN topoisomerasas tipo 2.

2.6. TELÓMEROS Y TELÓMERASA.

Los telómeros son estructuras nucleoproteicas especializadas que constituyen las extremidades de los cromosomas y cuya longitud predice la capacidad replicativa de las células. Su función principal es la de proteger los fragmentos terminales de los cromosomas de una degradación no programada o de eventos de fusión. En células somáticas normales los telómeros sufren un acortamiento progresivo, eventualmente se presenta una etapa de cese de la proliferación y consecuentemente estas células tienen un tiempo de vida finito. En contraste, los telómeros de células tumorales no son acortados durante la división celular, lo que conlleva a un proceso efectivo de inmortalización en estos tipos celulares. En los humanos, el ADN del telómero está constituido por repeticiones hexaméricas del tipo TTAGGG,^{7,9,23,24} las cuales están repetidas entre 150 y 2000 veces, encontrándose mayor número de repeticiones en el 3' terminal, el cual finaliza en repetidos de cadena simple, haciendo a esta porción más larga que la hebra complementaria 5'-terminal. Las repeticiones hexaméricas que se encuentran en cadena simple, permiten al ADN telomérico adoptar estructuras secundarias muy particulares debido a la interacción de los grupos guaninas a través de enlaces de hidrógeno. Estas estructuras se denominaron tetrámeros G, debido a que están involucrados cuatro grupos de guanina, los cuales pueden interactuar intra o inter cadena (Figura 11).³⁴

La telomerasa es una enzima con actividad de transcriptasa reversa que actúa sobre el ADN telomérico. Controla la síntesis de los telómeros y el proceso de elongación de los mismos, por lo que juega un papel importante en la inmortalización celular en los procesos neoplásicos. Los métodos empleados para cuantificar esta enzima son reproducibles, seguros y semicuantitativos, y han permitido mostrar que la telomerasa es sobre-expresada en muchos tipos de tumores malignos, no así en los tejidos somáticos normales. El estudio de la regulación de la longitud de los telómeros y de la actividad de la telomerasa ha permitido comparar dos fenómenos biológicos diferentes y fundamentales, como lo son la senescencia y el cáncer, por lo que el telómero y la telomerasa podrían constituir un blanco atractivo para el desarrollo de nuevos agentes antitumorales.

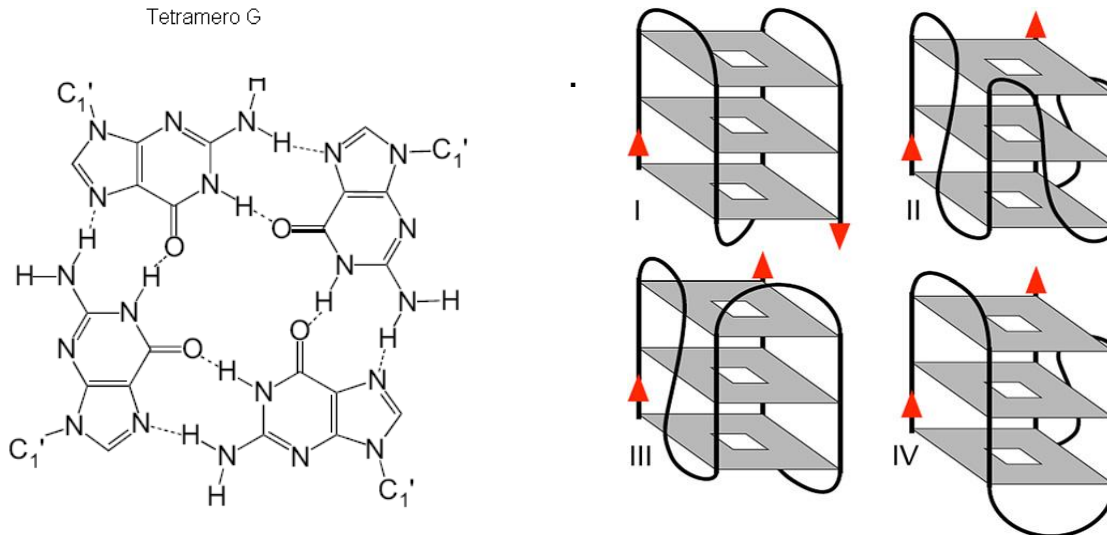


Figura 11. Posibles configuraciones intramoleculares (tetrameros G), formadas en el ADN telomérico de humanos.

La telomerasa está constituida por varias subunidades, necesarias para formar la holoenzima, formada principalmente por una subunidad catalítica (hTERT) y una subunidad de ARN (hTR), esta enzima a su vez necesita de la formación en el ADN telomérico de la estructura de tetrameros G para poder anclarse a los telómeros y de esta manera llevar a cabo la elongación de los mismos (Figura 12).³⁴ Este papel es el responsable del mantenimiento de longitud del telómero en más de 80% de todos los tipos de cáncer, y no se expresa en el normal somático.

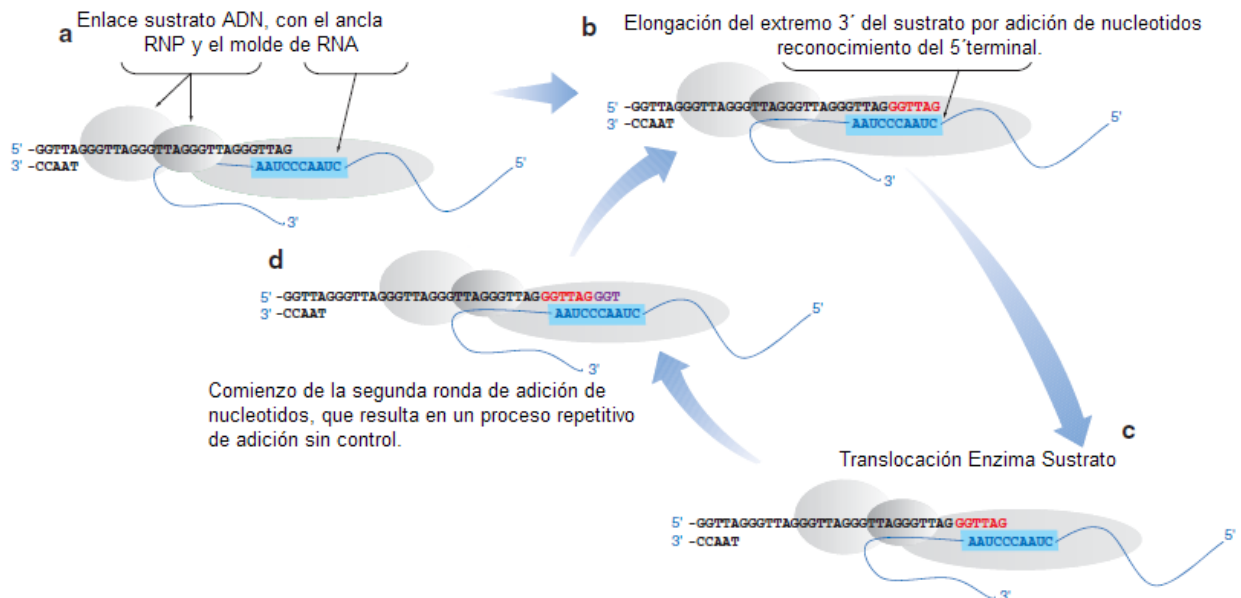


Figura 12. Modelo del alargamiento progresivo del ADN telomérico por la telomerasa. Este proceso requiere varios pasos, como se ilustra en la figura. (a) Primero, el ADN telomérico es reconocido por la ribonucleoproteína telomerasa (RNP) y se une a la subunidad RNA de la telomerasa. (b) Se adicionan los nucleótidos en la dirección 3' de ADN telomérico. (c) La telomerasa se transloca y reposiciona en un extremo 3' para su elongación. (d) Se inicia otra ronda de adición de nucleótidos.

Su potencial como una diana anti-cáncer ha sido demostrada en varios estudios, usando mutantes dominantes para la expresión de esta enzima. En estos estudios, se ha observado una





inhibición de la actividad de la telomerasa por medio del bloqueo del tetrámero G, formado por los telómeros, impidiendo la interacción de la telomerasa con dichas estructuras, de igual manera su actividad decae cuando no es expresado el gen que codifica para la formación de la subunidad catalítica de la enzima o bien se presenta una hiperacilación de la subunidad de RNA de la misma. Esta enzima presenta una gran variedad de mecanismos posibles de inhibición:

- 1) Inhibición por bloqueo del sitio catalítico hTERT.
- 2) Bloqueo de la hebra molde de RNA (hTER), que es el segmento que sirve como molde para la ulterior síntesis y elongación del ADN telomérico.
- 3) Mutación en el dominio ARN y disrupción entre las interacciones con la subunidad catalítica.
- 4) DNA telomérico como sustrato, bloqueo del tetrámero G. Ligando G-4

Diversos estudios han demostrado que la mejor manera de bloquear la acción de la telomerasa, es mediante el bloqueo del tetrámero mediante ligandos G-4, esto da pauta a una estabilización de la conformación por parte de la hebra doble de ADN, bloqueando de manera efectiva el sitio de acción de la enzima (Figura 13). El bloqueo se da por medio de diversos agentes quimioterapéuticos, principalmente derivados de acridinas, y constituye una nueva estrategia en el tratamiento de esta enfermedad, ya que recientes estudios han demostrado que es la más efectiva para bloquear la acción de la telomerasa, dado que en procesos neoplásicos, se puede presentar un mecanismo alterno de alargamiento del telómero, independiente a la acción de la telomerasa, pero que no es efectivo cuando se bloquea el acceso al tetrámero G.²⁴

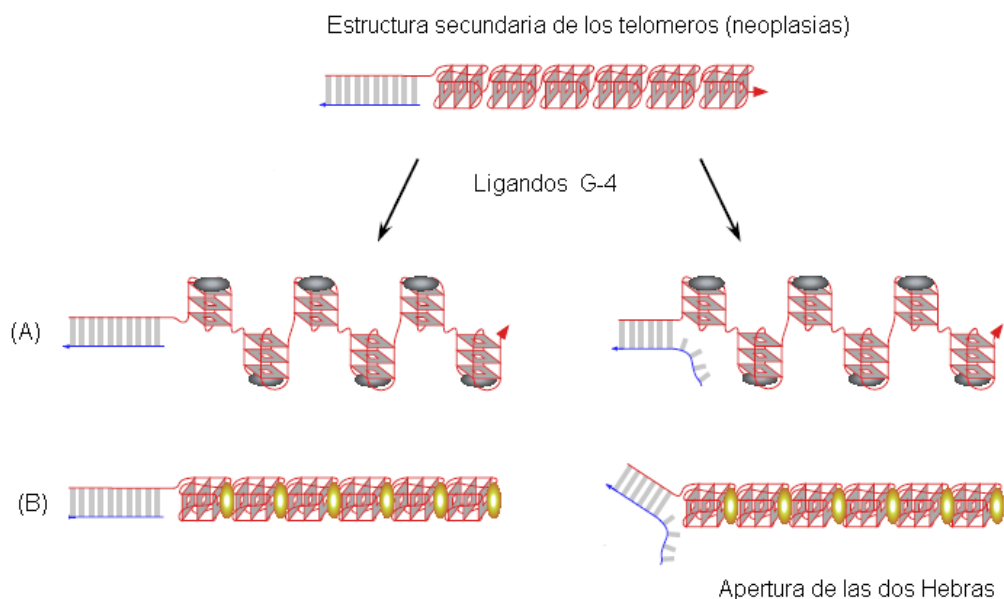


Figura 13. Interacción de los ligandos G-4 con el tetrámero de Guanina en el telómero. A) Modelo de anclaje alternado arriba-abajo. B) Modelo de anclaje todos arriba.²⁴

2.7. DERIVADOS DE ACRIDINA.

Los derivados de acridina, se introdujeron en la terapéutica en el siglo XIX como agentes antipalúdicos y posteriormente, se comenzó el uso de la proflavina y la aminacrina como





antibacterianos. Si bien diversas acridinas poseen diferentes características químicas y biológicas, comparten en común su afinidad por el ADN lo que determinó que se consideraran como tratamiento contra el cáncer.

Hacia la década de 1960 Cain y col.³⁵ estudiaron las sales *bis*-cuaternarias de algunos heterociclos que mostraron efectividad experimental en leucemia. Buscando elucidar las características estructurales responsables de la actividad y basándose en compuestos del tipo ftalanilidas (Figura 14), sintetizaron nuevas sales *bis*-cuaternarias (Figura 15) y plantearon que los requisitos incluían la presencia de 3 anillos aromáticos y una total planaridad del sistema.

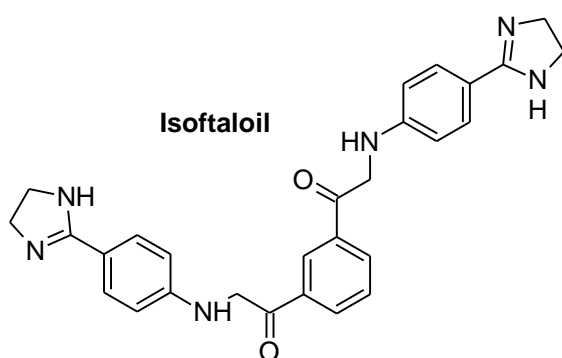


Figura 14. Ftalanilidas.

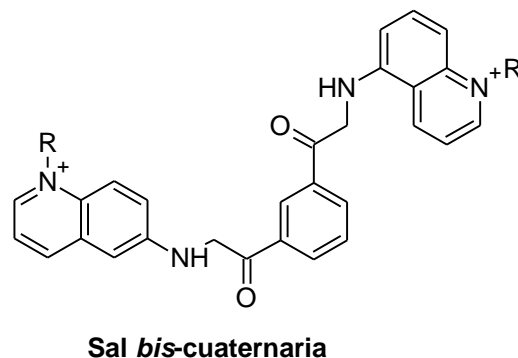


Figura 15. Sal cuaternaria de amonio.

Los resultados obtenidos sugirieron que este tipo de compuestos probablemente actuaban sobre la doble hélice de ADN. Paralelamente se observó una correlación lipofilia-actividad,³⁵ sin embargo no fue posible establecer un patrón que orientara a la generación de nuevos compuestos. Hacia 1970 Cain³⁶ observó que un factor limitante en la penetración celular de los fármacos, era la concentración de especies neutras y que las sales cuaternarias poseían una naturaleza hidrofílica, por lo que prepararon el compuesto 9-(4'-aminoanilino)acridina (Figura 16). A partir de este compuesto se realizaron estudios para demostrar los requerimientos estructurales asociados a la actividad de este tipo de compuestos y plantearon que se requería la existencia de 3 anillos aromáticos y una total planaridad. La eliminación de uno de los anillos bencénicos terminó en compuestos inactivos, con lo que se demostró la importancia del sistema tricíclico.³

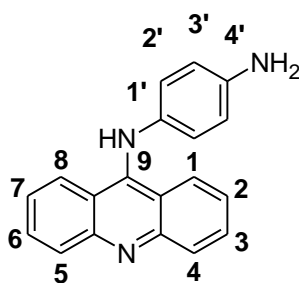


Figura 16. 9-(4-aminoanilino)acridina.

Las variaciones en los sustituyentes en el anillo de anilina de la posición 9, arrojaron resultados que permitieron concluir que la presencia de grupos electrodonadores favorecían la actividad. Con estos resultados se obtuvieron derivados diaminaados (resultando químicamente inestables) y con grupos sulfonamida en posición 4' (Figura 17) los cuales resultaron ser activos en líneas celulares de leucemia.



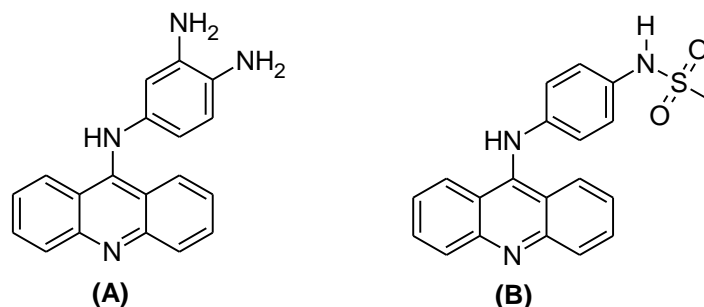


Figura 17. (A) Derivado diaminado. (B) 9-(4-metilsulfonanilida-amino)acridina (AMSA).

Posteriormente, se vio que al añadir un grupo metoxilo en 2' (amsacrina, *m*-AMSA, Figura 18), se incrementaba la actividad micromolar 6.7 veces con respecto de AMSA. Dicha diferencia se explicó al demostrar que la actividad *in vivo* de AMSA decaía rápidamente debido a la reacción con los tioles del hospedero (metabolismo por glutatión), mientras que en la amsacrina el grupo metoxilo disminuye la reacción por efectos estéricos.

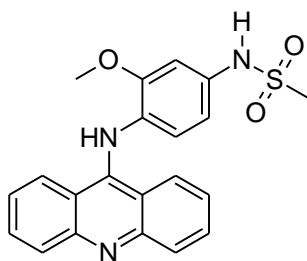


Figura 18. Amsacrina (*m*-AMSA).

Fue en 1982 que Cain, Hansch y col.³⁷ realizaron un análisis QSAR con 776 derivados de 9-anilinoacridinas utilizando parámetros lipofílicos, electrónicos y estéricos como descriptores moleculares, complementados posteriormente por Gao y col.³⁸ obteniéndose principalmente tres conclusiones importantes:

1. Presencia de grupos electrodonadores en el anillo de anilina. Esto puede asociarse a las interacciones que ocurren en el sitio de acción, ya sea mediante la unión del núcleo de acridina al ADN (modificando el pKa del nitrógeno de la acridina), o de la unión del anillo de anilina a la enzima (por patrones específicos de densidad electrónica). Por el contrario la presencia de grupos electroattractores disminuye la actividad.
2. Factor hidrofóbico. Aparentemente este parámetro carece de importancia, lo que llama la atención puesto que en la mayoría de los modelos QSAR en sistemas biológicos es importante, aunque no hay que perder de vista el hecho que un sistema poliaromático planar es necesario pues este sistema es de naturaleza hidrofóbica.
3. Un efecto estérico negativo sobre la actividad biológica. Esto puede relacionarse con el sitio de acción de este tipo de compuestos, lo que sugiere que está implicado un receptor de naturaleza proteica.



De esta manera la estructura del farmacóforo para la amsacrina y agentes intercaladores, vía la formación de un complejo ternario (ADN-Ligando-Enzima), presenta una región intercaladora al ADN y otro de interacción con la enzima DTi 2 y el surco menor (Figura 19).

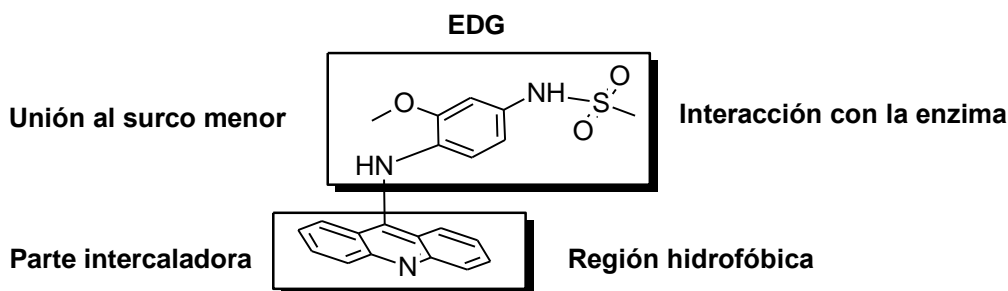


Figura 19. Farmacóforo postulado para agentes intercaladores. EDG: grupo electrodonador.

Surgido de estos estudios sobre los requerimientos moleculares para mejorar la actividad antitumoral de los derivados de acridina, conjuntamente con el esclarecimiento de la íntima relación que posee el desarrollo del cáncer con la actividad de la enzima telomerasa y su mecanismo de acción, en años recientes se han desarrollado derivados de carboxamidoacridinas que aunque no tienen a la DTi 2 como principal diana enzimática, son los llamados agentes dirigidos a telómeros (TTAs, *Telomere Targeting Agents*)²⁴ o ligandos G-4. Estos agentes tienen la capacidad de ligarse a los segmentos de ADN telomérico conocidos como cuartetos G inhibiendo de manera indirecta la actividad de la telomerasa (sección 2.6). El prototipo de este tipo de compuestos está representado por BRACO19, para el cual se han reportado sus requerimientos estructurales para la inhibición de la telomerasa (Figura 20).

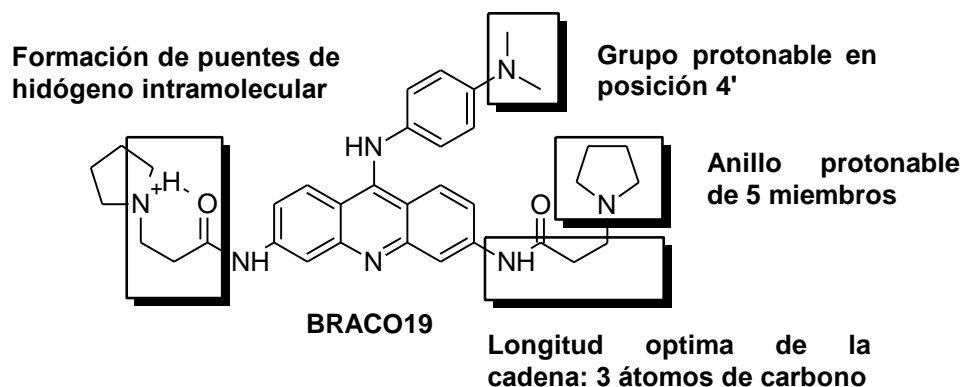


Figura 20. Requerimientos estructurales en TTAs.

2.8. BIOISOSTERISMO.

Una técnica de apoyo que resulta de interés en la obtención de derivados bioactivos, es la aplicación del concepto de bioisosterismo. Inicialmente fue 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.

Langmuir en 1919, estudio el comportamiento químico y la reactividad de determinados compuestos que tenían átomos o grupos con el mismo número de electrones de valencia (isoelectrónicos), como el nitrógeno y el monóxido de carbono, creando el concepto de *isosterismo*





para definir a átomos o moléculas orgánicas o inorgánicas que poseen el mismo número y/o arreglo de electrones y propiedades fisicoquímicas semejantes (densidad, constante dieléctrica, solubilidad, etc.).³⁹ Erlenmeyer³⁹ propuso expandir el concepto de isosterismo para incluir ciertos grupos aparentemente muy diferentes, pero que en la práctica poseen propiedades semejantes. La similitud de propiedades físicas entre el benceno y el tiofeno, llevo así mismo a proponer la existencia de un isosterismo entre el grupo vinilo y el átomo de azufre. Pensando en la utilización del isosterismo como criterio de preparación de análogos en el diseño de fármacos. Friedman⁴⁰ propuso llamar *Bioisósteros* a “*aquellos compuestos que cumplan alguna de las definiciones de isosterismo y posean el mismo tipo de actividad biológica agonista o antagonista*”. Thonrber⁴¹ propuso ampliar el término de *Bioisósteros*, definiéndolos como “*grupos de átomos o moléculas que tienen propiedades físicas y químicas semejantes; y que producen efectos fisiológicos aproximadamente similares*”.

El Bioisosterismo es una estrategia de la Química Farmacéutica que se emplea en el diseño racional de nuevas moléculas bioactivas, mediante la modificación dirigida de compuestos “líderes”, obteniéndose así agentes cuya acción es idéntica a los compuestos tomados como modelo, más seguros y clínicamente más eficaces.⁴¹ Los compuestos líderes, deben ser de una estructura química y mecanismo de acción muy bien conocido, si es posible a nivel de interacción topológica con el receptor. Así como también sus propiedades fisicoquímicas las cuales regulan su biodisponibilidad y efectos secundarios.³⁹

El uso del bioisosterismo en el diseño de fármacos nos permite mejorar la actividad farmacológica, obtener selectividad para un determinado receptor, reducción de efectos adversos, e incluso optimizar la farmacocinética del compuesto líder, minimizando los esfuerzos de trabajo sintético y evaluación biológica. Por otro lado, se requiere de un conocimiento previo de los parámetros físicos, químicos, electrónicos y conformacionales que resultarán del remplazo a fin de poder predecir los posibles efectos farmacológicos. Los aspectos más relevantes a considerar son:

- Tamaño, volumen y distribución electrónica de los átomos involucrados en el reemplazo y su efecto en la polarizabilidad y conformación molecular.
- La alteración de parámetros relacionados con la solubilidad como el logP y el pKa.
- La reactividad química de los grupos funcionales o las subunidades bioisostéricas, principalmente para poder predecir los productos de biotransformación y su relevancia en el perfil toxicológico.
- La capacidad de formar puentes de hidrógeno inter o intramoleculares que pudieran alterar la conformación de la molécula u otros parámetros fisicoquímicos.

2.9. DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA.

Los compuestos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas son isósteros del núcleo de acridina (Figura 21), se trata de igual manera de sistemas tricíclicos poliaromáticos totalmente planares, en los cuales se ha realizado la modificación isostérica de un anillo de benceno por un anillo de tiazol. Este tipo de derivados ya han sido reportados con anterioridad en la literatura, aunque no con mucha frecuencia y se han reportado como potenciales antiespasmódicos, antiinflamatorios y antioxidantes.⁴²

Considerando este principio, fue en 1997, cuando Álvarez-Ibarra y col.³ sintetizaron y evaluaron la actividad citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina sustituidos en posición 2 ó 9 con grupos *N,N'*-dialquilaminoalquilamino y variando el sustituyente en posición 7, mostrando algunos de éstos una interesante actividad (Tabla 2) sobre las líneas celulares ensayadas (P-338: neoplasma linfático murino; A-549: carcinoma de pulmón humano; HT-29: tumor de colon humana).



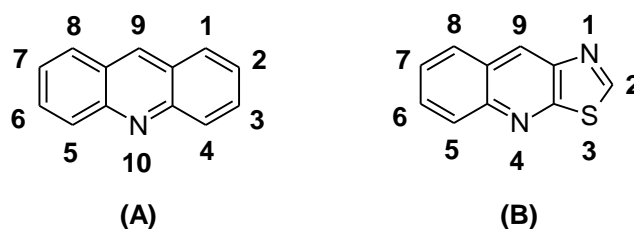
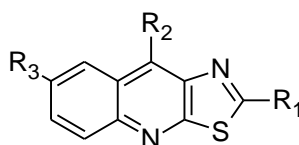


Figura 21. Isosterismo entre el núcleo de acridina (A) y el de tiazolo[5,4-*b*]quinolina (B).

Tabla 2. Datos de actividad biológica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas.³



Compuesto	Sustituyente			Actividad Biológica CI_{50} (μM)		
	R_1	R_2	R_3	Línea Celular		
				P-388	A-549	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

$\alpha = -NH(CH_2)_2NEt$, $\beta = -NH(CH_2)_3NEt$, $\gamma = -MeN(CH_2)_3NMe_2$, CI_{50} = Concentración del compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular.

En estos estudios se observó que aquellos compuestos con una cadena de *N,N'*-dietiletilendiamino mostraban buena actividad citotóxica (Figura 22). Con estos resultados se desprendió que es importante para la actividad de este tipo de compuestos: una densidad de carga positiva inducida por el sustituyente del carbono en la posición 7, una cadena flexible en la posición 2 ó 9 con dos nitrógenos alcalinos con pKa en un rango de 7.5-10.³



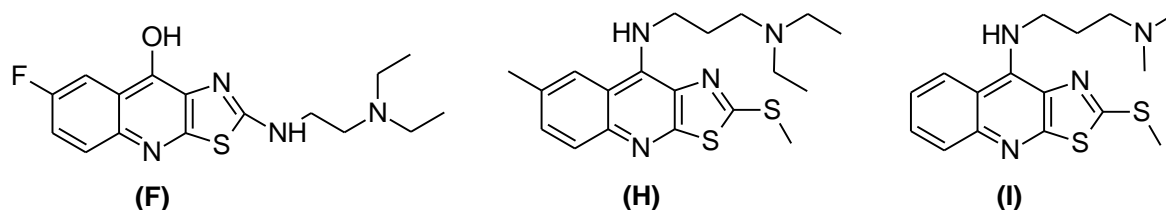


Figura 22. Derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina con actividad citotóxica. Reportados por Álvarez-Ibarra.

Estudios posteriores sobre el potencial molecular electrostático (PME) de compuestos con capacidad de interactuar con el ADN, con y sin actividad citotóxica, se encontró que era necesaria la presencia de regiones adicionales de isotencial, en comparación de con las moléculas que carecían de actividad citotóxica.^{4,43,44,45}

Recientemente se han reportado derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina con diferentes modificaciones estructurales con el fin de incrementar la actividad biológica. A este respecto Lira-Rocha y col.^{4,5,6} combinaron el patrón estructural de las 9-anilinoacridinas con el núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Figura 23), originando un novedoso grupo de sustancias, y explorando ampliamente el patrón de sustitución en posición 2 del sistema, así como la sustitución en el anillo de anilina, las cuales han mostrado buena actividad citotóxica sobre diversas líneas celulares cancerosas (Tabla 3).

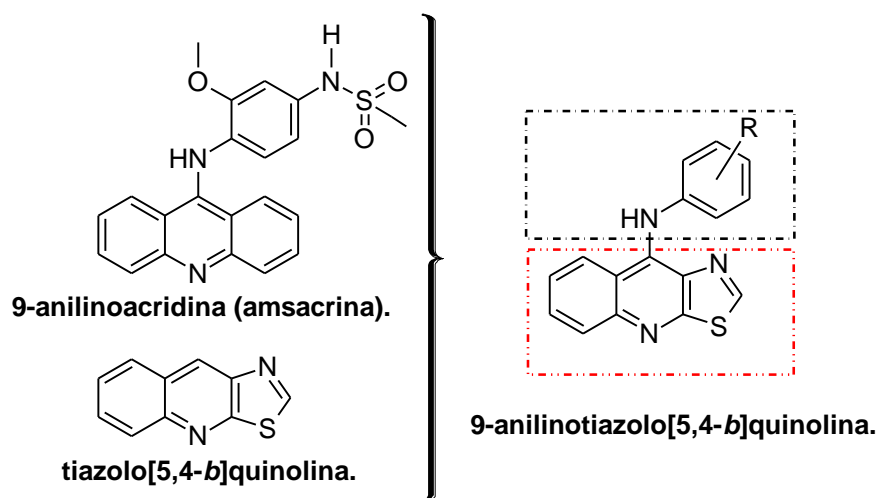
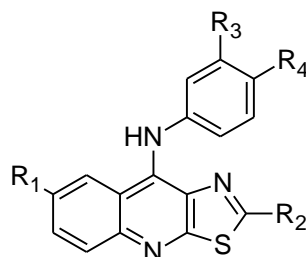


Figura 23. Generación de los derivados híbridos de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, por Lira-Rocha y col.





Tabla 3. Datos de actividad biológica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolinas. Reportados por Loza Mejía y col. ⁶



Compuesto	Sustituyente				Actividad Biológica (CI ₅₀ μM)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Línea Celular			
					Hela	SW-480	SW-620	K-562
7a	F	SMe	H	H	>80	>80	>80	>80
7b	F	SMe	CN	H	>80	>80	>80	55,36
7c	F	SMe	OMe	H	15,8	13,7	12,2	n.p.
7d	F	SMe	H	CN	>80	>80	>80	n.p.
7e	F	SMe	H	OMe	>80	>80	>80	54,91
7f	H	SMe	CO ₂ Et	H	>80	>80	>80	>80
7g	H	SMe	COMe	H	>80	>80	>80	>80
7h	H	SMe	OXM	H	34,2	37,3	39,4	32,8
7i	H	SMe	H	H	>80	>80	>80	>80
7j	H	SMe	CN	H	7,75	28,68	43,75	8,01
7k	H	SMe	OMe	H	25,34	66,65	26,58	22,17
7l	H	SMe	Cl	H	69,37	>80	>80	80,26
7m	H	SMe	H	CN	>80	>80	>80	>80
7n	H	SMe	H	OMe	>80	>80	>80	77,2
7o	H	SMe	H	Cl	>80	>80	>80	79,45
7p	H	SMe	NMe	H	46,22	>80	>80	46,85
7q	H	SMe	(CO)Et	H	21,69	13,6	19,72	12,54
7r	H	SMe	CF ₃	H	43,34	65,13	62,28	67,06
7s	H	SMe	OH	H	>80	>80	>80	>80
7t	H	SMe	NH ₂	H	>80	>80	>80	>80
7u	H	SMe	NH ₂	β	>80	>80	>80	>80
7v	H	SMe	NHAc	H	>80	>80	>80	>80
8a	H	PIP	α	α	>80	>80	>80	>80
8b	H	MPZ	α	α	>80	>80	>80	>80
8c	H	MOR	α	α	>80	>80	>80	>80





Compuesto	Sustituyente				Actividad Biológica (CI ₅₀ μM)			
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Línea Celular			
8d	H	PIP	H	H	>80	>80	>80	>80
8e	H	MPZ	H	H	60,7	41,8	>80	73,01
8f	H	MOR	H	H	>80	>80	>80	>80
10a	H	E	CN	H	13,33	13,10	14,62	12,48
10b	H	E	Cl	H	9,12	14,33	17,78	12,19
10c	H	E	OMe	H	19,2	11,5	20,0	23,5
10d	H	E	H	CN	15,18	14,18	16,49	8,36
10e	H	E	H	Cl	10,16	12,56	12,20	7,26
10f	H	E	H	OMe	13,60	12,04	16,30	10,87
10g	H	E	H	H	15,96	37,7	21,6	16,8
11a	H	P	H	H	6,27	6,90	16,56	7,52
11b	H	P	CN	H	19,21	11,53	19,65	12,88
11c	H	P	Cl	H	7,46	7,91	10,17	9,84
11d	H	P	H	CN	24,18	22,70	29,15	12,88
11e	H	P	H	Cl	8,82	4,92	7,48	3,36
Amsacrina					9,5	27,7	16,7	19,9

α=Cloro en posición 9, en sustitución del anillo de anilina, β=5'-CH₂OH, E=-NH(CH₂)₂NEt₂, P=-NH(CH₂)₃NEt₂, PIP=-1-piperidinil, MPZ=-4-metilpiperazinil, MOR=-1-morfolinil, OXM=-C(NOH)Me, n.p=no probado, CI₅₀=Concentración del compuesto que inhibe el 50% del crecimiento celular.

Un análisis exhaustivo de los datos de actividad citotóxica de los compuestos reportados en la tabla anterior, permitió obtener algunas conclusiones en cuanto a los requerimientos estructurales necesarios para buena actividad de este conjunto de análogos:

1. La incorporación de heterociclos saturados en posición 2, no es benéfico para la actividad.
2. El valor del coeficiente de partición (logP) es crucial para la actividad (a mayor logP mayor actividad).^{6,46}
3. La incorporación de grupos electroattractores en el anillo de 9-anilino aumenta la actividad (la posición 3' se ve favorecida). Aceptor en la formación de puentes de hidrógeno (HBA).
4. Sustituyentes del tipo dietilaminoalquilamino en posición 2 aumentan la actividad biológica, siendo importante la longitud de la cadena pero no decisiva, en este caso entre mayor sea la longitud mayor la actividad mostrada. Lo anterior se puede explicar, dado una mayor facilidad de atravesar membranas biológicas debido a las diferentes conformaciones posibles de la cadena alifática y a una mayor facilidad de interacción con la diana biológica.
5. Otro punto a considerar es la basicidad del grupo amino de la cadena lateral. En ambos casos existe un amino terciario que se presume que a pH fisiológico estará en su forma protonada y que la misma este interactuando con el hipotético sitio de acción.

La actividad citotóxica de estos compuestos está íntimamente ligada a la estructura molecular, en 2009 Loza-Mejía y col.⁶ realizaron el modelaje molecular y análisis de relación estructura-actividad citotóxica de los compuestos citados en la Tabla 3, obteniéndose los siguientes resultados:





- En el análisis conformacional los compuestos muestran una disposición oblicua del anillo de anilino, orientado hacia el tiazol, en relación con el núcleo tricíclico.
- Todos los compuestos parecen comportarse como electrófilos, puesto que los valores energéticos del LUMO fueron negativos. Por el contrario, los pares de bases del ADN han demostrado que actúan como donadores de electrones.
- En el caso de los derivados alquílicos, se pueden formar especies catiónicas debido a las propiedades básicas de la cadena lateral, que pueden interactuar con el esqueleto de fosfato, lo que facilita la intercalación con el ADN. Esta última interacción se ha demostrado que se producen en compuestos similares y fue sugerido por Loza-Mejía con base en resultados previos (Figura 24).

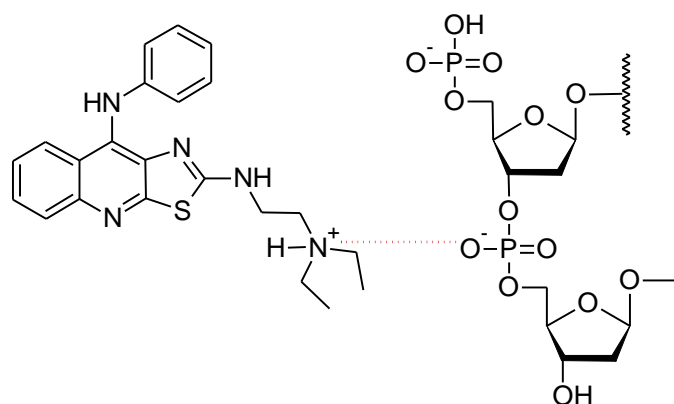


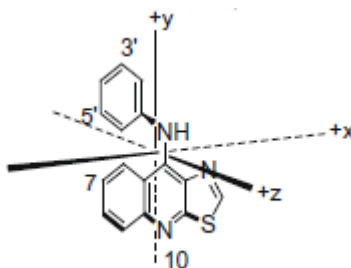
Figura 24. Propuesta de Interacción electrostática con los grupos fosfato del ADN.

Puesto que el momento dipolar describe la distribución de carga en una molécula y de alguna manera muestra un resumen de los efectos electrónicos que participan en reconocimiento molecular es importante su análisis. Más aun con intercaladores de ADN, una correlación directa entre sus valores momento dipolar y la citotoxicidad ha sido encontrada. A este respecto en este trabajo se ha encontrado que:

- Un grupo nitrilo o un átomo de cloro aumenta la magnitud del momento dipolar cuando se coloca en la posición 4' que cuando se coloca en posición 3'.
- La tendencia opuesta se observa para el grupo metoxilo.
- Para los compuestos con un sustituyente dialquilaminoalquilamino, la incorporación de grupos electroattractores (EWG), aumentó la magnitud del momento dipolar.
- La sustitución del grupo metiltio en posición 2 con un residuo dialquilaminoalquilamino también dio lugar a un momento dipolar mayor, y la incorporación de un heterociclo saturado redujo ligeramente su magnitud.

Sin embargo, las variaciones en la dirección del momento dipolar pueden ser de mayor importancia, y con base en la dirección momento dipolar, los compuestos se pueden subdividir en cuatro grupos principales con relación a su actividad citotóxica (Tabla 4 y Figura 25).

Tabla 4. Compuestos agrupados en función de la orientación del vector de momento dipolar y la Cl_{50} (μM) promedio para la línea celular HeLa, por Loza-Mejía y col.⁶



Grupo A (dirección 10)	Promedio Cl_{50} (μM)	Grupo B (dirección 7)	Promedio Cl_{50} (μM)	Grupo C (dirección 3')	Promedio Cl_{50} (μM)	Grupo D (dirección 4')	Promedio Cl_{50} (μM)
7h, 7i, 7k, 7l, 7n, 7o, 7s, 7t, 7u, 7v	>80	7a, 7c, 7e, 8a, 8b, 8d, 8e, 8f, 10b, 10c, 10e, 10f, 10g, 11a, 11c, 11e	>80	7j, 7q, 7r.	24.2	7b, 7d, 7f, 7g, 7m, 8c	>80
						10a, 10d	14.2
						11b, 11d	21.7

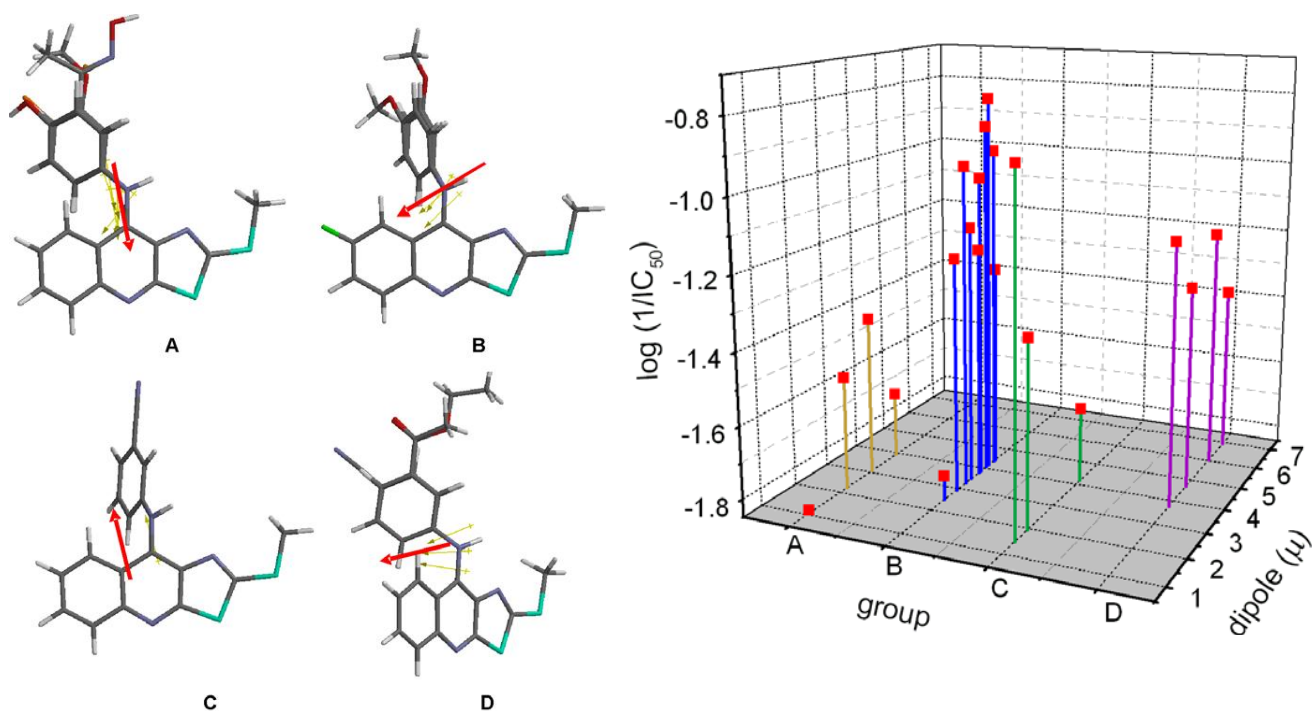


Figura 25. Agrupamiento de los compuestos reportados por Loza-Mejía, según su orientación del vector de momento dipolar. Los grupos B y D, comprenden los compuestos con mayor actividad.

El análisis QSAR de este estudio permitió derivar dos ecuaciones de correlación significativas, una para la línea celular **K-562** (Leucemia humana mielógena):

$$\log(1/Cl_{50}) = 1.14576 * \text{LUMO} + 0.13084 * (-\text{momento dipolar}) - 0.59538 \quad (n=19; r^2=0.850; F=45.583)$$



De donde se hace evidente la presencia de dos subgrupos de compuestos (Figura 26), uno que comprende los derivados con grupos dialquilaminoalquilamino y otro que engloba aquellos con metiltio en posición 2.

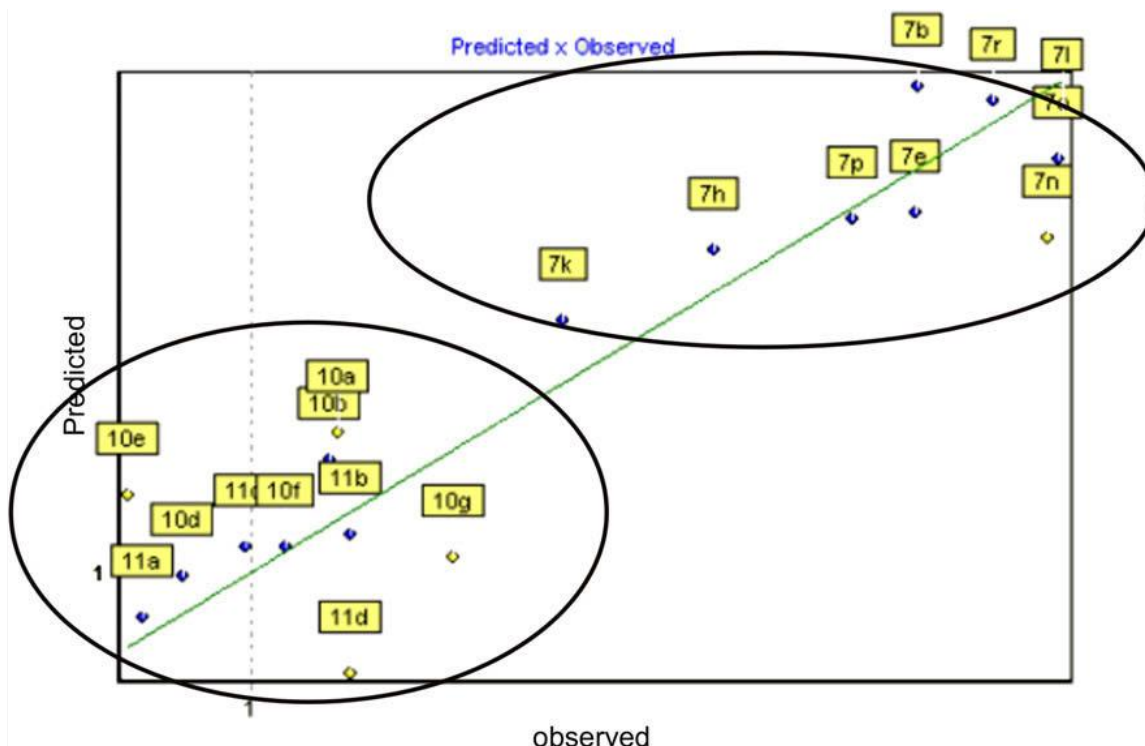


Figura 26: Grafico de actividad observada vs. Calculada con la ecuación para K-562, por Loza-Mejía, se observa la presencia de dos subgrupos de compuestos, abajo los compuestos con el grupo alquilamino, arriba el grupo metiltio en posición 2.

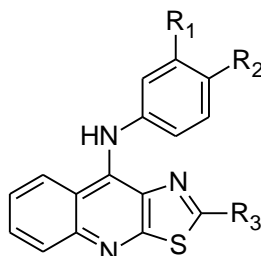
Para los compuestos con grupos dialquilaminoalquilamino los factores hidrofóbicos parecen ser importantes, puesto que los compuestos con un logP mayor, independientemente de la orientación del vector del momento dipolar, se encuentran entre los más activos; para desarrollar un estudio QSAR-2D, varios descriptores representantes de tamaño, electrónicos y lipofílicos fueron utilizados, pero sólo una ecuación satisfactoria fue encontrada para estos compuestos:

$$\text{HeLa: } \log(1/CI_{50}) = -0.01964 \text{ PSA} - 0.19409 \quad (n = 10; r^2 = 0.740; F = 24.541)$$

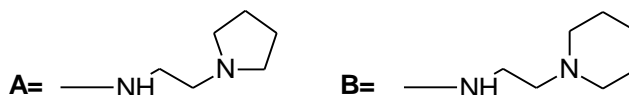
Dado que el PSA (área polar superficial) es un parámetro de correlación, un factor importante para la actividad de estos compuestos radica en su capacidad para atravesar membranas biológicas ya que el PSA correlaciona fuertemente con la permeabilidad a las membranas biológicas.

Considerando la importancia que muestra el patrón de sustitución en posición 2 del sistema, en estudios recientes han sintetizado y evaluado compuestos derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina, en donde si bien se mantiene la cadena alquílica lateral, se ancla el nitrógeno terciario en un anillo de cinco o de seis miembros (para determinar si el factor clave sobre la actividad es debido a la cadena lateral o al heterociclo saturado), así mismo se realiza la remoción del sustituyente, estudiando la repercusión de dichos cambios sobre la actividad biológica (Tabla 5).



Tabla 5. CI_{50} (μM)* de derivados de 9-anilino[5,4-b]quinolina, y amsacrina como referencia. ^{47,48,49}

Compuesto	Sustituyente			Actividad Biológica (CI_{50} μM)			
	R ₁	R ₂	R ₃	Línea Celular			
				Hela	SW-480	SW-620	K-562
Vla	H	H	A	27.81 (1.18)	29.10 (3.81)	31.58 (1.86)	24.11 (4.9)
Vlb	Cl	H	A	14.64 (1.99)	15.42 (0.53)	14.37 (1.59)	5.69 (1.68)
Vlc	H	Cl	A	17.46 (3.31)	26.51 (4.59)	13.47 (0.68)	19.48 (0.46)
VIIa	H	H	A	32.28 (0.73)	26.70 (3.81)	20.13 (1.31)	21.25 (2.19)
VIIb	Cl	H	B	12.06 (0.95)	12.75 (0.63)	18.12 (2.15)	10.62 (2.99)
VIIc	H	Cl	B	14.42 (2.04)	18.42 (1.17)	11.60 (0.98)	7.38 (3.51)
FJR1	H	H	B	SA	NT	SA	SA
FJR2	Cl	H	H	SA	NT	SA	SA
FJR3	H	Cl	H	SA	NT	SA	SA
FJR4	CN	H	H	SA	NT	SA	SA
FJR5	H	CN	H	SA	NT	SA	SA
FJR6	Me	H	H	27.2 (6.29)	NT	73.6 (3.23)	23.6 (1.81)
FJR7	H	Me	H	85.8 (4.72)	NT	83.2 (3.09)	41.5 (3.39)
FJR8	OMe	H	H	30.8 (2.28)	NT	SA	41.8 (2.72)
FJR9	H	OMe	H	SA	NT	SA	33.7 (3.61)
Amsacrina (<i>m</i>-AMSA)				9,5	27,7	16,7	19,9



* CI_{50} μM concentración necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular. SA: sin actividad, NT: no evaluados. Desviación estándar entre paréntesis.

Si bien la actividad en los derivados de azacicloalquilalquilamino no mejora con respecto de los derivados alquílicos la actividad de estos se mantiene, no observándose diferencia estadísticamente significativa con respecto al tamaño del anillo y teniendo menor actividad aquellos compuestos en donde no existe sustituyente alguno en la anilina. Lo anterior hace patente la necesidad de la cadena alquílica y un sustituyente en el anillo de anilino, puesto que, como se explico previamente, la incorporación directa del heterociclo saturado abate sensiblemente la actividad.

Aquellos compuestos en donde se practica la remoción del sustituyente, no poseen buena actividad citotóxica sobre las líneas celulares ensayadas en comparación con el compuesto de referencia (*m*-AMSA). Llama la atención que un análisis al microscopio de las células tratadas con estos compuestos (aumento 10X), revela un evidente cambio en la morfología celular cuando son comparadas con células sin tratamiento (control) y con otras tratadas con compuestos más citotóxicos (Figura 27 y 28).

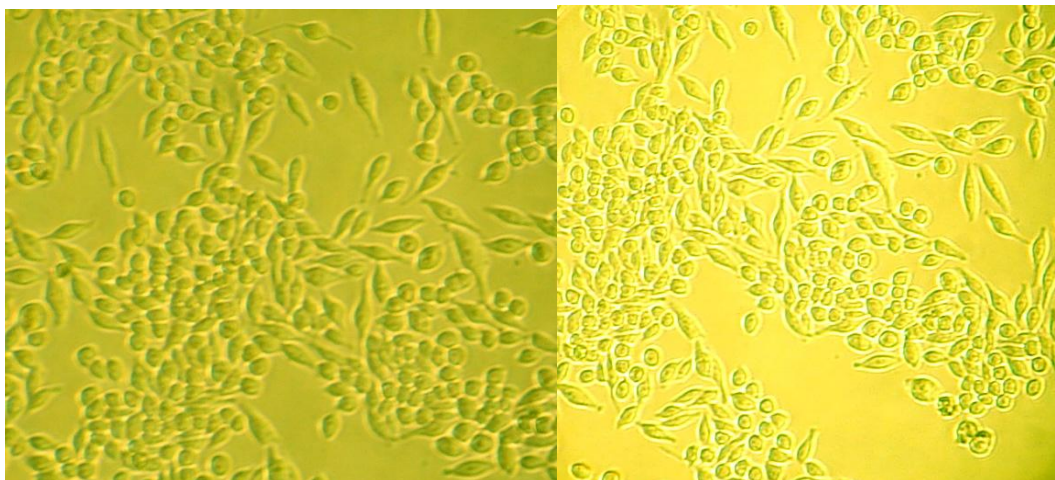
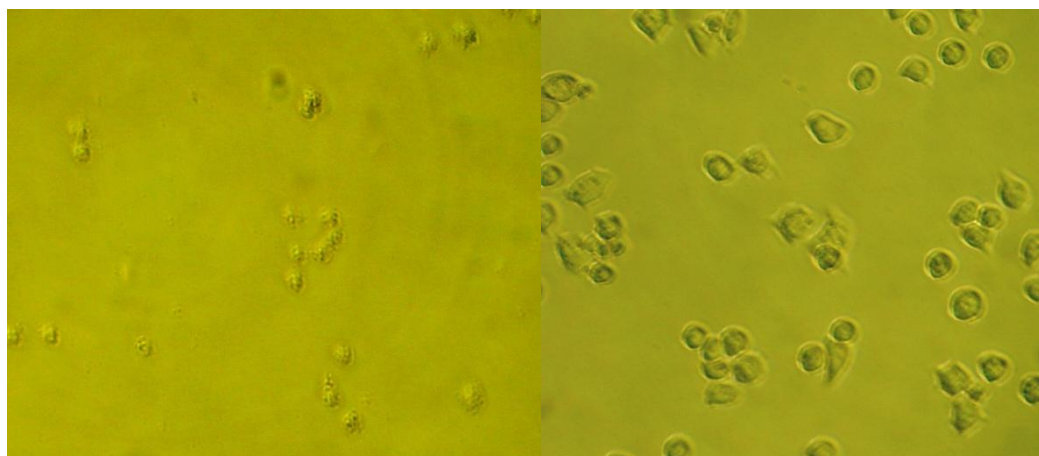


Figura 27. Cultivos celulares control SW-480 vistos al microscopio.



A

B

Figura 28. Cultivos SW-480 a 48 h. de tratamiento concentración 90 μ M.
A) Compuesto VIb. B) Compuesto FJR6.

Lo anterior hace suponer que aquellos compuestos en donde no existe sustituyente en posición 2, actúan por un mecanismo de acción diferente, en el quizás esté involucrada la inhibición enzimática que provoque alteraciones a nivel de citoesqueleto induciendo un “arresto” en alguna fase del ciclo celular e inhibiendo la proliferación.⁴⁹

Considerando los resultados de todos los estudios anteriores referentes a las variaciones estructurales en la posición 2 del sistema de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina, en los que la incorporación de una cadena de *N,N'*-dietilaminoetilamino o *N,N'*-dietilaminopropilamino incrementa sensiblemente la actividad citotóxica, que la incorporación de un heterociclo saturado o un hidrógeno da por resultado análogos inactivos y que cuando se conserva la cadena pero se ancla el nitrógeno terminal en un anillo saturado (Tabla 5), la actividad no se mejora, pero tampoco se pierde, y tomando en cuenta que en el caso de los derivados con cadenas alquílicas la derivación de la serie homóloga superior rinde un incremento en la actividad, resulta interesante la aplicación de esta estrategia en derivados con sustituyentes 2-(azacicloalquilamino)etilamino y observar cómo afecta dicho cambio sobre la actividad.

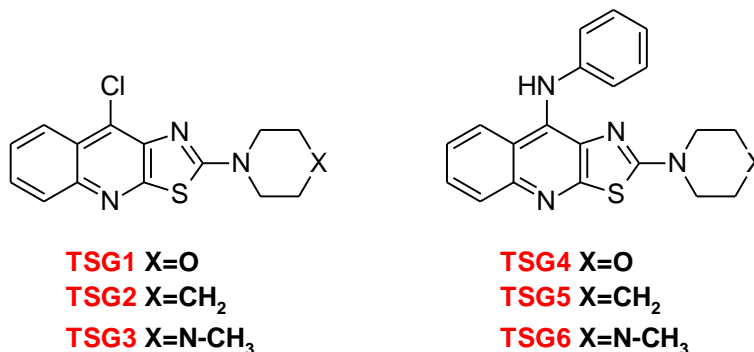




3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Como se ha mencionado con anterioridad, de los derivados sintetizados por Álvarez-Ibarra y col. sustituidos en posición 9 y 2 con sustituyentes alquildiamino así como de los derivados híbridos reportados por Lira-Rocha y Loza-Mejía, se obtienen varias conjeturas importantes. En primer lugar y la más evidente es la aparente necesidad de la incorporación de cadenas de alquildiamino en posición 2 del sistema. Segundo, si bien es cierto que realizando incorporación de heterociclos saturados (morfolina, piperazina y metilpiperazina) en posición 2 resulta una pérdida en de la actividad (Tabla 5). Analizando estos resultados se puede ver que el compuesto menos activo es el **TSG2**, en cambio el más activo es el **TSG6** a esa concentración. Por otro lado es importante resaltar la diferencia en la actividad biológica presentada entre el compuesto **TSG3** y **TSG6** ambos compuestos con el mismo sustituyente heterociclíco en posición 2 del sistema, sin embargo claramente el compuesto **TSG6** más activo. De lo anterior se desprende la aparente importancia de la presencia del grupo anilino en posición 9 para la actividad biológica.

Tabla 6. % de inhibición de crecimiento a 80 μ M mediante ensayo MTT. ⁵⁰



Compuesto	Línea celular	
	MCF-7	K-562
TSG1	26.29	33.73
TSG2	15.75	19.31
TSG3	35.55	30.30
TSG4	35.73	38.83
TSG5	18.74	25.8
TSG6*	72.18	73.01

*Cl₅₀ μ M, único compuesto con valor obtenido mediante una curva dosis-respuesta gradual.

Tercero. La remoción del sustituyente en 2, ocasiona una caída de actividad, sin embargo, por el análisis al microscopio de las células tratadas con estos compuestos se aprecia un cambio evidente en la morfología celular con respecto del grupo control (Figura 29), lo que sugiere un mecanismo de acción diferente y deja patente la importancia de practicar rutinariamente este análisis a fin de no pasar por alto pistas que permitan obtener información acerca de las alteraciones





ocasionadas por la acción de los compuestos lo que puede ayudar a elucidar mejor el mecanismo de acción.

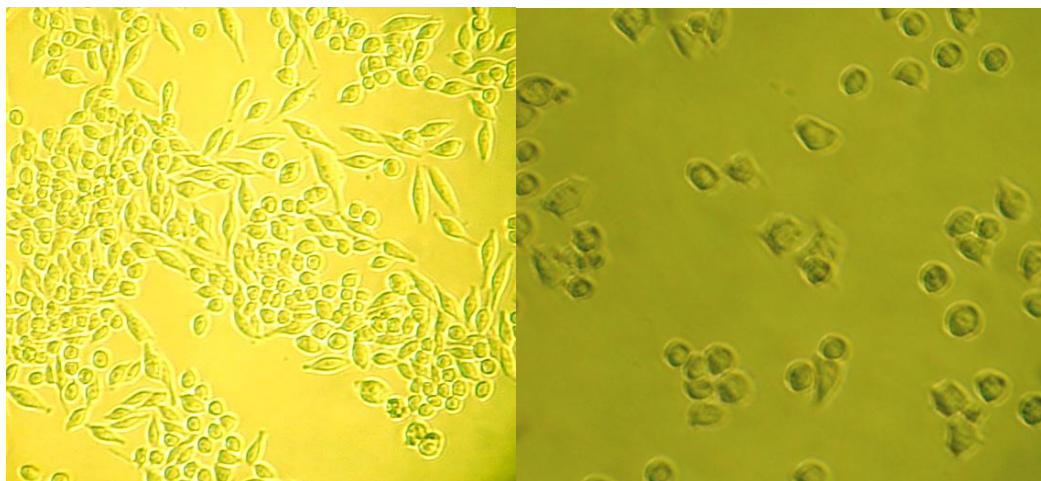


Figura 29. Cultivos celulares SW-480. Izquierda células del grupo control. Derecha células tratadas con FJR6 90μM.

Cuarto. El anclaje del nitrógeno terminal en los compuestos derivados de 2-(azacicloalquil)etilamino aparentemente no mejora la actividad, pero esta es conservada, en relación a su contraparte alquildiamino. No existe diferencia estadísticamente significativa respecto del tamaño del anillo. Los derivados más activos fueron aquellos que presentan un sustituyente en el anillo de anilina no teniendo importancia evidente la posición, poniendo de manifiesto que la necesidad de dicho sustituyente.

Quinto, se ha observado que los derivados homólogos superiores presentan una mayor actividad puesto que el cambio del sustituyente *N,N'*-dietilaminoetilamino a *N,N'*-dietilaminopropilamino rinde un incremento en la citotoxicidad (Figura 30).

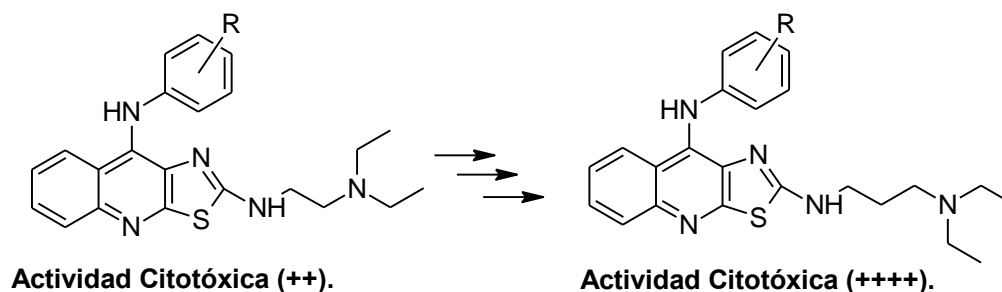


Figura 30. Incremento de la actividad citotóxica al derivar la serie homóloga superior en aquellos compuestos con sustituyente dietilaminoalquilamino en posición 2.

A partir de esta serie de estudios queda claro que una manera de modular la actividad de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina así como su aparente mecanismo de acción, es realizando variaciones estructurales, principalmente en la posición 2 del sistema. Tomando como plataforma todo lo anterior se propone la generación de la serie homóloga superior de derivados de 2-[2-(1-azacicloalquil)etilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina, esto es, a derivados de 2-[3-(1-azacicloalquil)propilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina y analizar su repercusión sobre la actividad biológica (Figura 31).



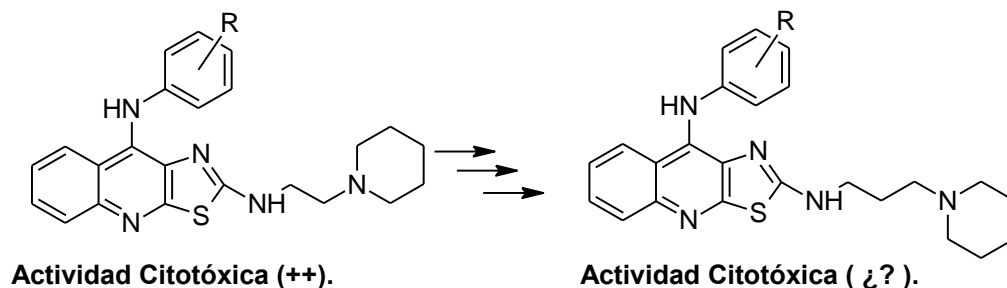


Figura 31. Derivación de los homólogos superiores de 2-[(azacicloalquil)alquilamino]-9-anilinothiazolo [5,4-*b*]quinolina.

Por otro lado, considerando la importancia del nitrógeno terciario como punto farmacofórico en la actividad biológica de este tipo de compuestos, se propuso la síntesis de una serie de derivados en donde dicho nitrógeno forma parte de un anillo del tipo γ -lactámico, de los cuales, bajo este precepto, se esperó una caída en la actividad debido a la baja basicidad del nitrógeno lactámico lo que conlleva a una poca posibilidad de interacciones electrostáticas con la hipotética diana biológica (Figura 32).

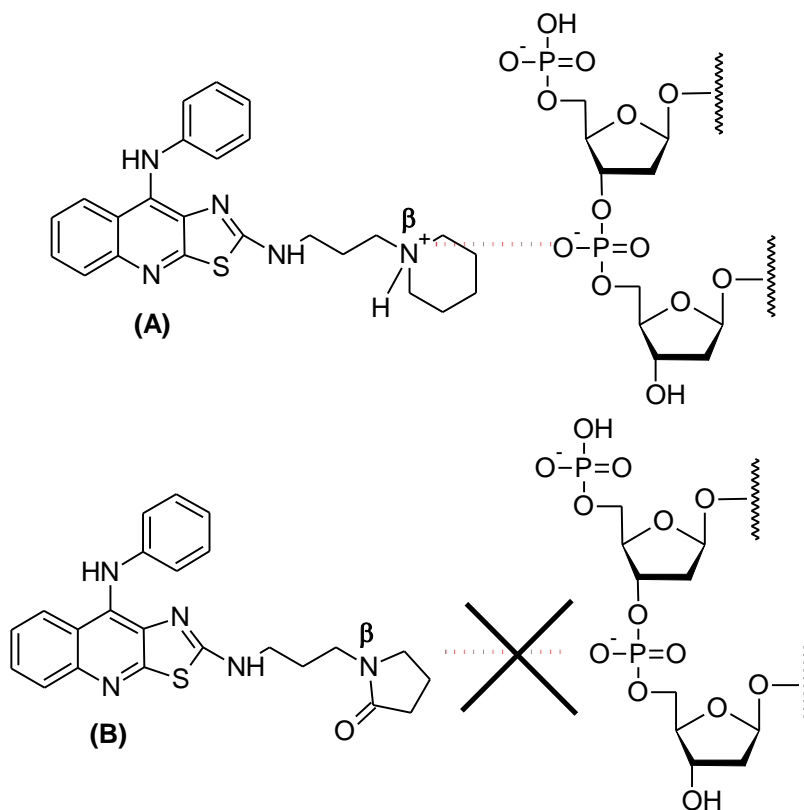


Figura 32. (A) Interacción electrostática por parte del nitrógeno β , con los grupos fosfato del ADN. (B) Ausencia de interacción del nitrógeno β , con los grupos fosfato, por la presencia del grupo carbonilo.

Ahora bien de los estudios QSAR sobre la actividad citotóxica de las 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina realizados por Loza-Mejía y col. se han podido derivar 2 ecuaciones de correlación donde se hace patente la importancia de parámetros como el coeficiente de partición ($\log P$), el momento dipolar tanto en magnitud como en dirección y los orbitales frontera (principalmente el LUMO). Por esta razón se propone realizar estudios de modelado molecular de los compuestos proyectados





tratando de encontrar una ecuación de correlación que pueda describir los factores estructurales importantes para la actividad biológica de estos compuestos. Lo anterior realizado con diferentes métodos de estructura electrónica (AM1, HF/6-31 G* y DFT B3LYP/6-31 G*), con objeto de poder realizar una comparación de los resultados obtenidos y determinar cual método explica mejor lo observado experimentalmente.





4. HIPOTESIS.

La generación de la serie homóloga superior de derivados de 2-[2-(1-azacicloalquil)etilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina, esto es, a derivados de 2-[3-(1-azacicloalquil)propilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina brindará compuestos con mayor actividad citotóxica sobre líneas tumorales.

Si la basicidad del nitrógeno β es importante como punto farmacofórico en la actividad de este tipo de compuestos, entonces, la reducción de la misma reducirá la actividad citotóxica de este tipo de compuestos, lo cual se puede lograr interconvirtiendo la amina a la correspondiente amida.





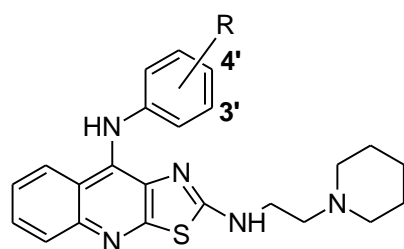
5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo General

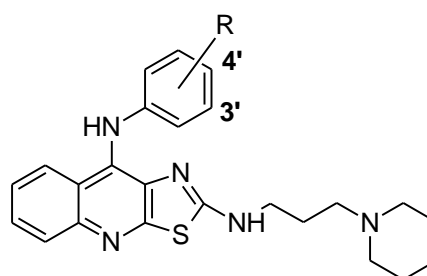
Determinar la influencia de los parámetros electrónicos e hidrofóbicos de los sustituyentes en la actividad citotóxica de los derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina 2 sustituidos con grupos azacicloalquilalquilamino

5.2. Objetivos Particulares

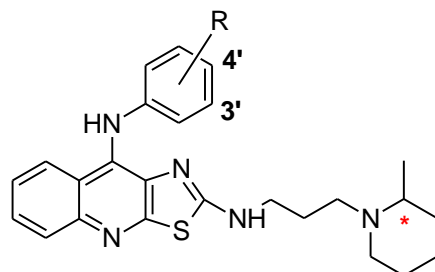
1. Sintetizar derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina con diversos sustituyentes en el anillo de anilino y en posición 2 del tricyclo (Figura 33).



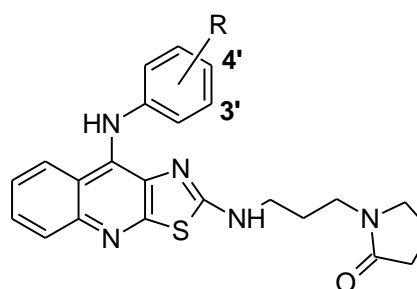
1a R=4'-CN
1b R=4'-OMe



2a R=3'-Cl
2b R=4'-Cl
2c R=3'-CN
2d R=4'-CN
2e R=3'-OMe
2f R=4'-OMe



3a R=3'-Cl
3b R=4'-Cl
3c R=4'-CN
3d R=3'-OMe
3e R=4'-OMe



4a R=3'-Cl
4b R=4'-Cl
4c R=3'-CN
4d R=4'-CN
4e R=3'-OMe
4f R=4'-OMe

Figura 33. Nuevos compuestos a sintetizar.





2. Caracterizar los derivados obtenidos mediante parámetros físicos, espectrométricos y espectroscópicos.
3. Realizar estudios de modelaje molecular de los derivados proyectados, los cuales incluyen: obtención del conformero más estable, optimización de la geometría de equilibrio, así como el cálculo de los descriptores QSAR.
4. Determinar la actividad citotóxica de los derivados propuestos en diversas líneas celulares tumorales.
5. Una vez obtenidos los datos de actividad citotóxica de los compuestos sintetizados, establecer las relaciones estructura-actividad cualitativa y cuantitativa para este tipo de compuestos.





6. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

6.1. PARTE QUÍMICA.

6.1.1. PARTE SINTÉTICA.

La formación del sistema tricíclico puede racionalizarse de cuatro formas respecto a la formación de los anillos B y C, las cuales se ilustran en la Figura 34. La ruta IV para la formación del anillo B fue inicialmente propuesta por Álvarez-Ibarra,³ en esta se utiliza como precursor del sistema al 4-(etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol, esta fue modificada y se utiliza en esta tesis, tal como se describe en la figura 35.

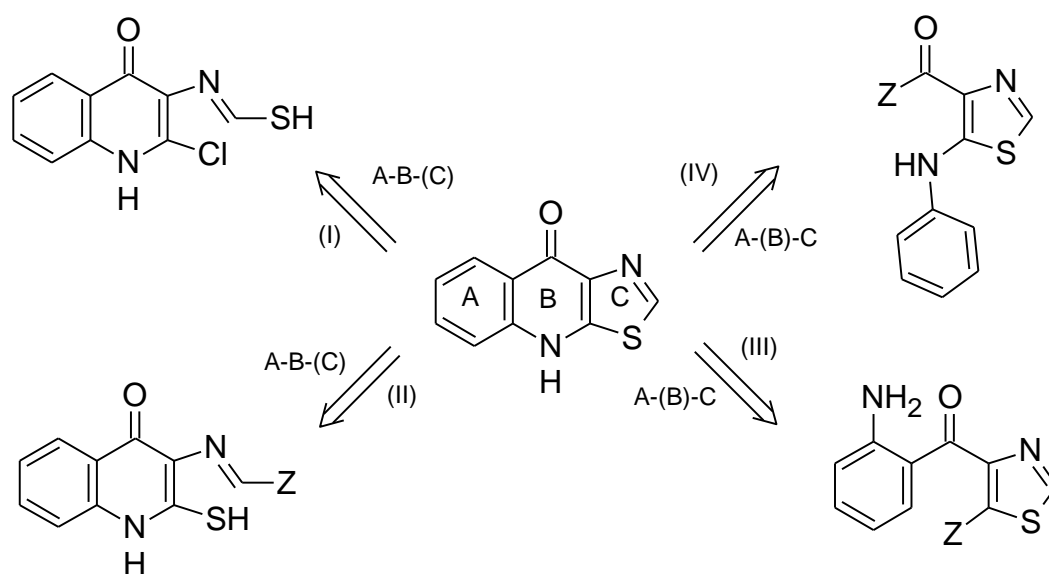


Figura 34. Análisis retrosintético de la formación del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.³

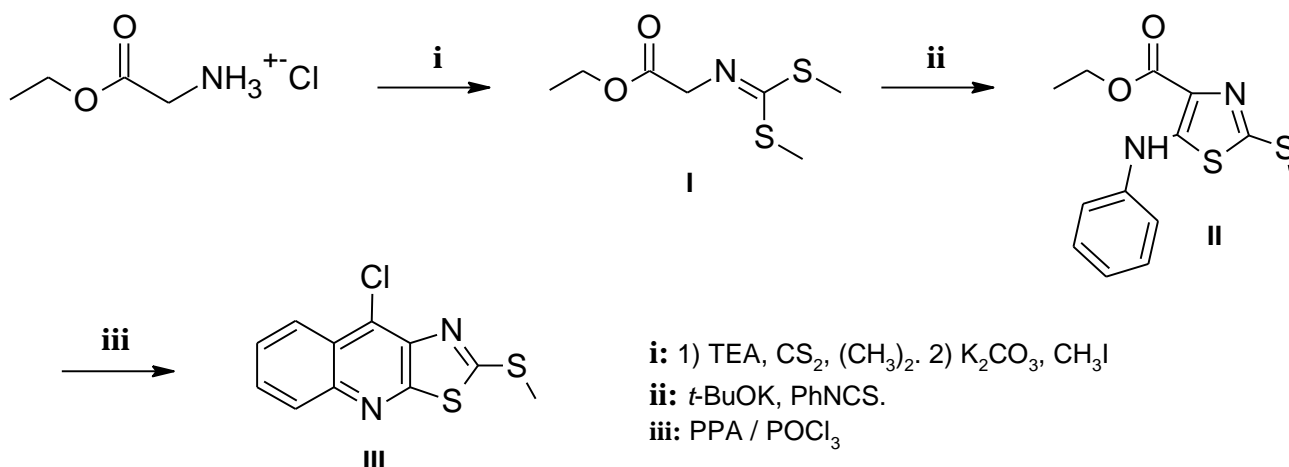


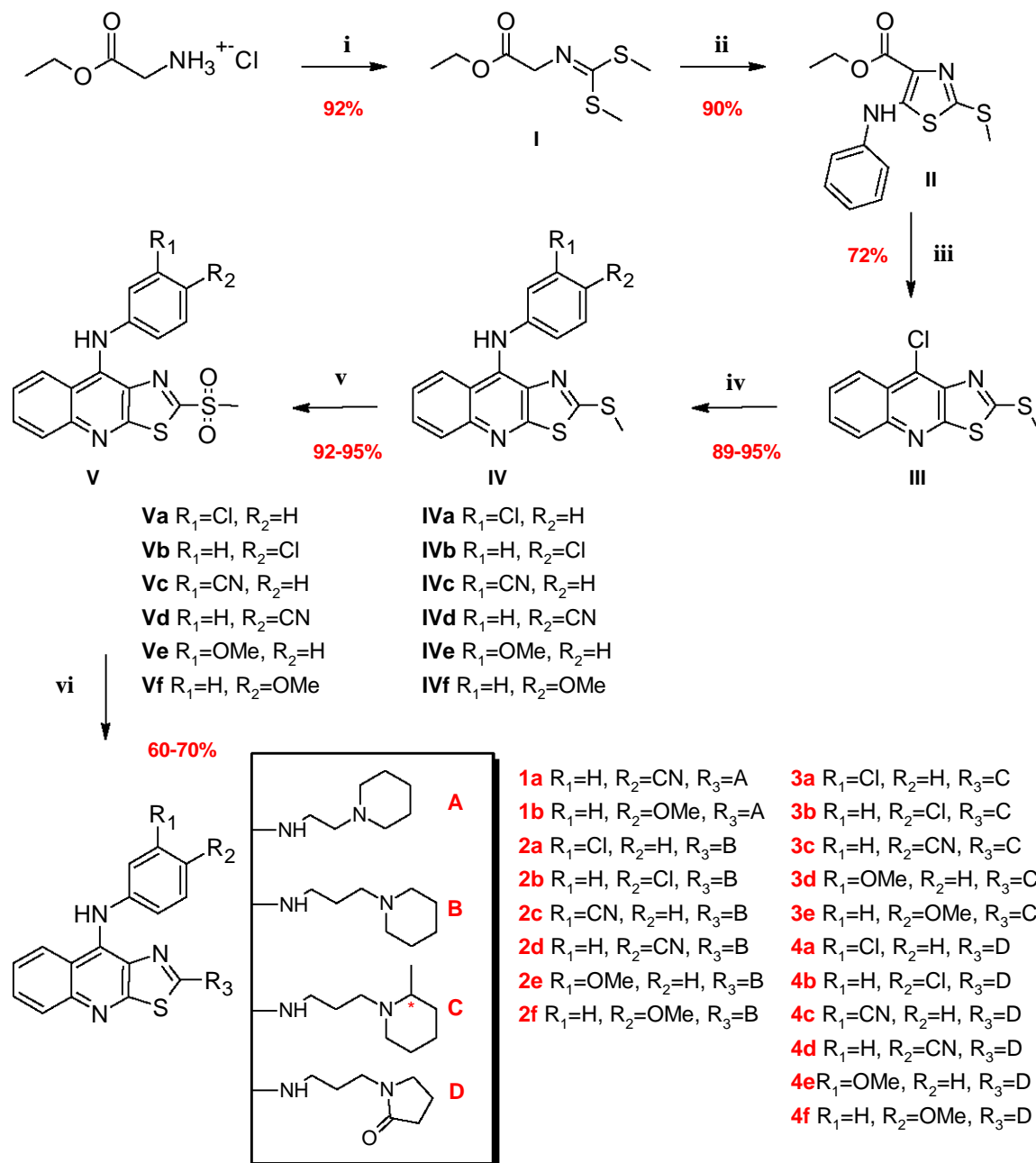
Figura 35. Ruta sintética para la formación del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Para la obtención del compuesto I se modificó la técnica usualmente empleada y se realizó la adaptación de la metodología empleada por Almerico y colaboradores⁵¹ logrando buenos resultados



al incrementar el rendimiento de un 45% a un 85%, a partir del clorhidrato de glicinato de etilo. La preparación de los compuestos **II** y **III** se realizó según esta reportado en la literatura sin modificaciones. La caracterizaron se realizó mediante cromatografía en capa fina y punto de fusión comparativos.⁵²

A partir del compuesto **III**, que es un compuesto clave, la obtención del resto de los intermediarios así como de las moléculas finales proyectadas se realizó como se indica en el esquema general de síntesis de la figura 36.



i: 1) TEA, CS_2 , $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$. 2) K_2CO_3 , CH_3I . ii: *t*-BuOK, PhNCS. iii: PPA/ POCl_3 . iv: $\text{H}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{R}$, MeOH/HCl reflujo. v: AcOH, $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 . vi: Amina, DMF, t.a. 30min.

Figura 36. Esquema general de síntesis para la obtención de los derivados de 2-[(azacycloalquil)alquilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina.



Llama la atención que para la incorporación de las diferentes anilinas al compuesto 9-clorotiazolo[5,4-*b*]quinolina, sólo se obtenga un único producto (reacción en posición 9), pues esta molécula posee dos sitios susceptibles de sufrir reacciones de sustitución nucleofílica aromática (SNA), las posiciones 2 y 9. Este fenómeno se ha explicado hasta el momento en términos de la teoría de Pearson⁵³ de ácidos y bases duros y blandos (HSAB) (Figura 37).

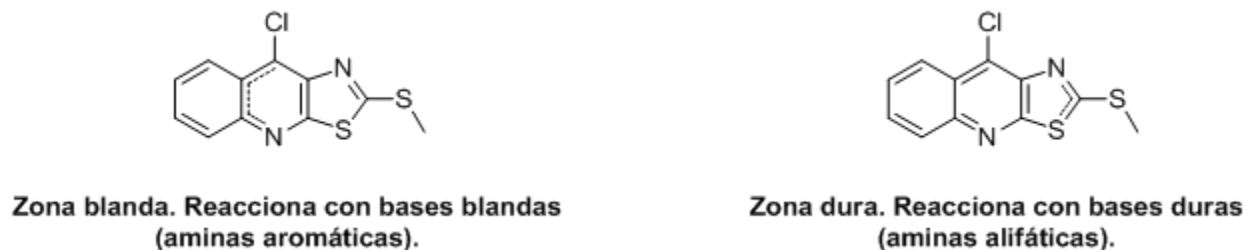


Figura 37. Explicación de acuerdo a HSAB, de las zonas de reacción.

Ahora bien un análisis teórico de los estados de transición del ataque nucleofílico por parte de anilinas a ambos sitios propensos a reaccionar (realizado con el programa *Spartan '08*®, con un método semiempírico y utilizando el protocolo de búsqueda sistemática), ha mostrado que energéticamente es más favorable el ataque sobre la posición 9 del núcleo, que sobre la posición 2 (Figura 38), lo que está en concordancia con la teoría de HSAB.

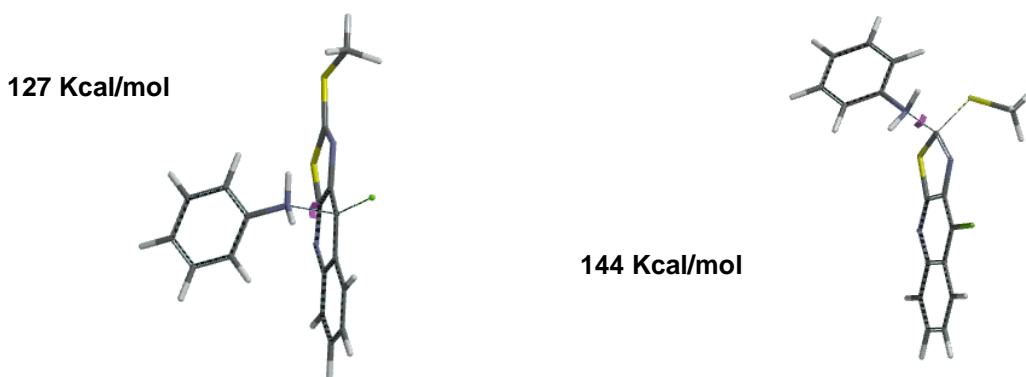


Figura 38. Valores energéticos de los estados de transición para la reacción del compuesto III con anilina. (A) Sobre la posición 9. (B) Sobre la posición 2.

Las reacciones de aminas alifáticas sobre dicho núcleo generan como producto de reacción únicamente la sustitución en la posición 2, que igualmente se explica con la teoría HSAB. En este trabajo dicha reacción se practicó sobre el sistema previamente sustituido con la anilina correspondiente. Es de llamar la atención que la reacción procede casi inmediatamente a temperatura ambiente, caso contrario de las anilinas en donde se hace necesario el uso de largos tiempos de reacción (6-8 horas) y calentamiento a reflujo. Tratando de explicar lo anterior se realizó un análisis de los estados de transición de la reacción de sustitución con aminas alifáticas (Figura 39). El análisis de las energías en el estado de transición, corrobora lo observado experimentalmente desde que estas son muy grandes para la sustitución con anilinas y aproximadamente la mitad para la sustitución realizada con aminas alifáticas.



78.26 Kcal/mol

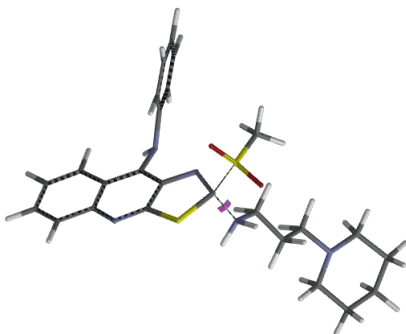


Figura 39. Estado de transición para la reacción del compuesto V con una amina alifática. 3-(1-piperidinil)propilamina.

6.1.2. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

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

La numeración correspondiente de las estructuras se muestra a continuación (Figura 40):

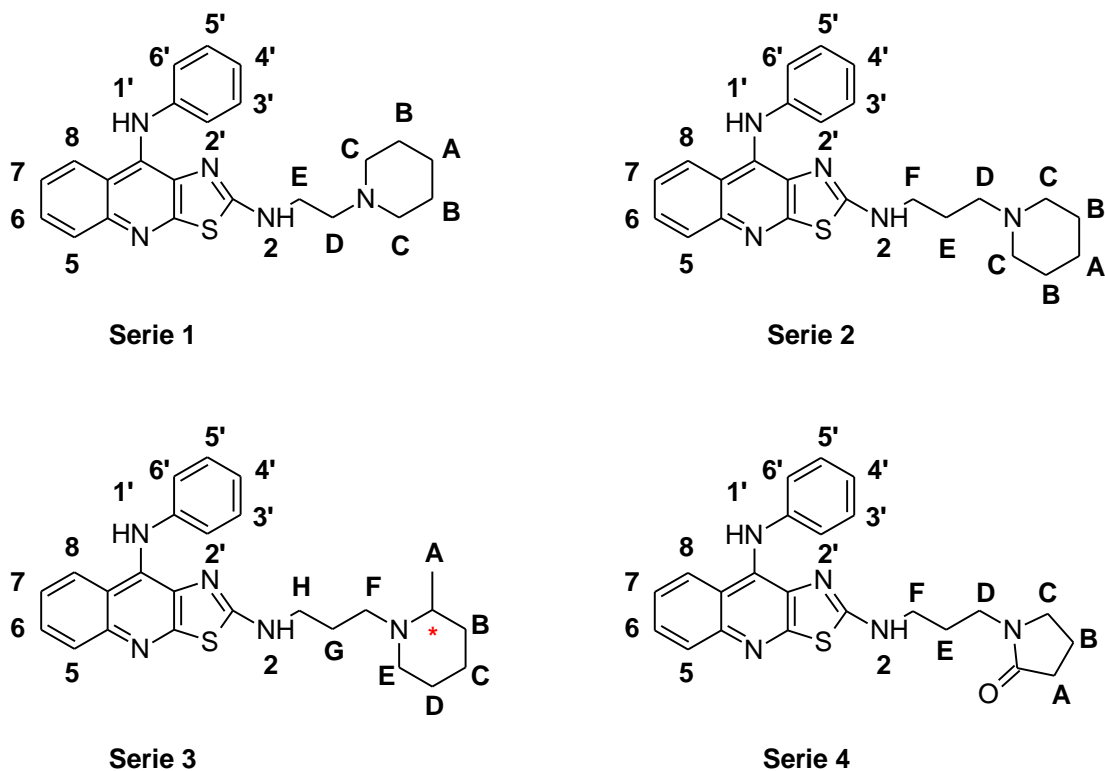


Figura 40. Numeración y nomenclatura empleada en la asignación de señales.





El análisis de los espectros de IR permitió la identificación de bandas características de los grupos funcionales, que fueron útiles para confirmar la incorporación de los sustituyentes proyectados tanto en la posición 9 (anilina con grupos metoxilo, nitrilo y átomo de cloro), como en la posición 2 (aminas secundarias y terciarias). Se observan bandas alrededor de $3200-3300\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a aminas aromáticas y en $2900-3150\text{ cm}^{-1}$ bandas correspondientes a la frecuencia de vibración del estiramiento del enlace C-H aromático, así como las señales características de cadenas alquílicas. Esta información se encuentra resumida en la sección 7.

Espectrometría de masas: Todos los espectros fueron determinados por Bombardeo Rápido de Átomos (FAB, en inglés), y utilizando como matriz alcohol 3-nitrobencílico. En la mayoría de los casos el pico base correspondió al ion molecular (M^+ ó M^++1), que para todos los casos estuvo en concordancia con el peso molecular de la estructura propuesta. Debido a la técnica empleada, la información acerca del patrón de fragmentación de los compuestos fue limitada, observándose principalmente pérdidas de M^+-98 (serie 1 y 2), M^+-112 (serie 3) y M^+-98 (serie 4). Algunos patrones de fragmentación generales se muestran más adelante (Figuras 41-44).

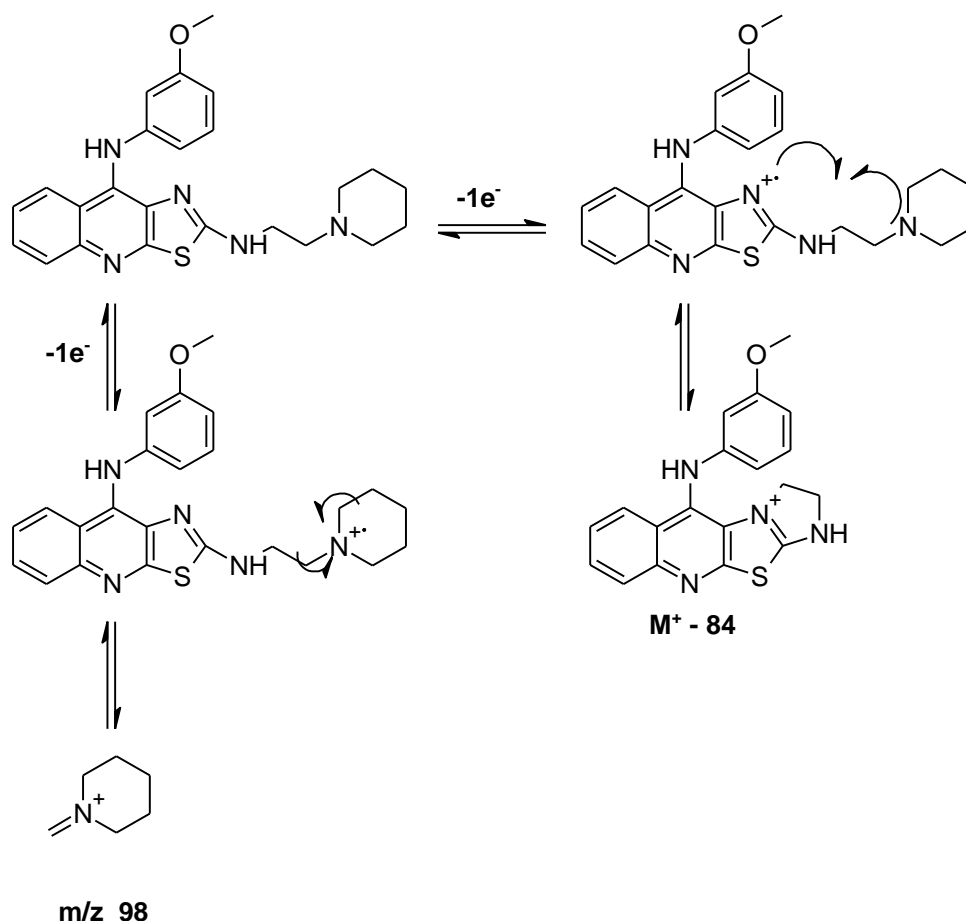


Figura 41. Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 1.

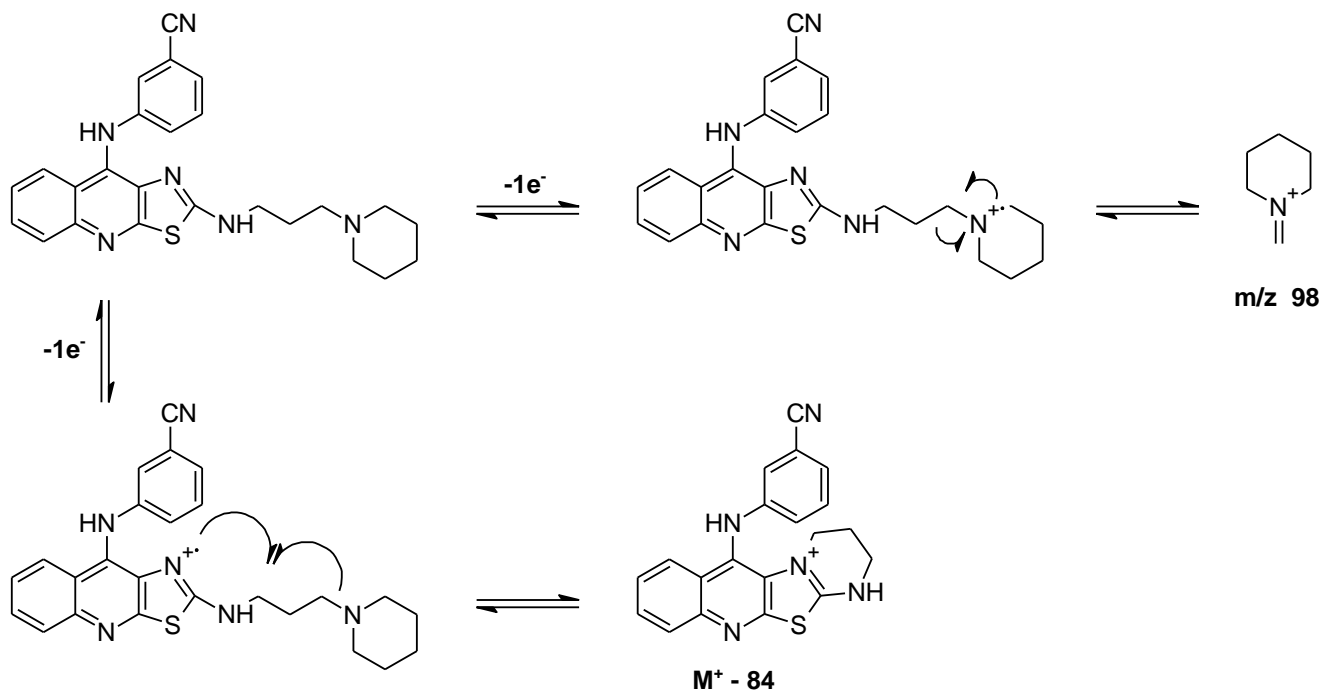


Figura 42. Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 2.

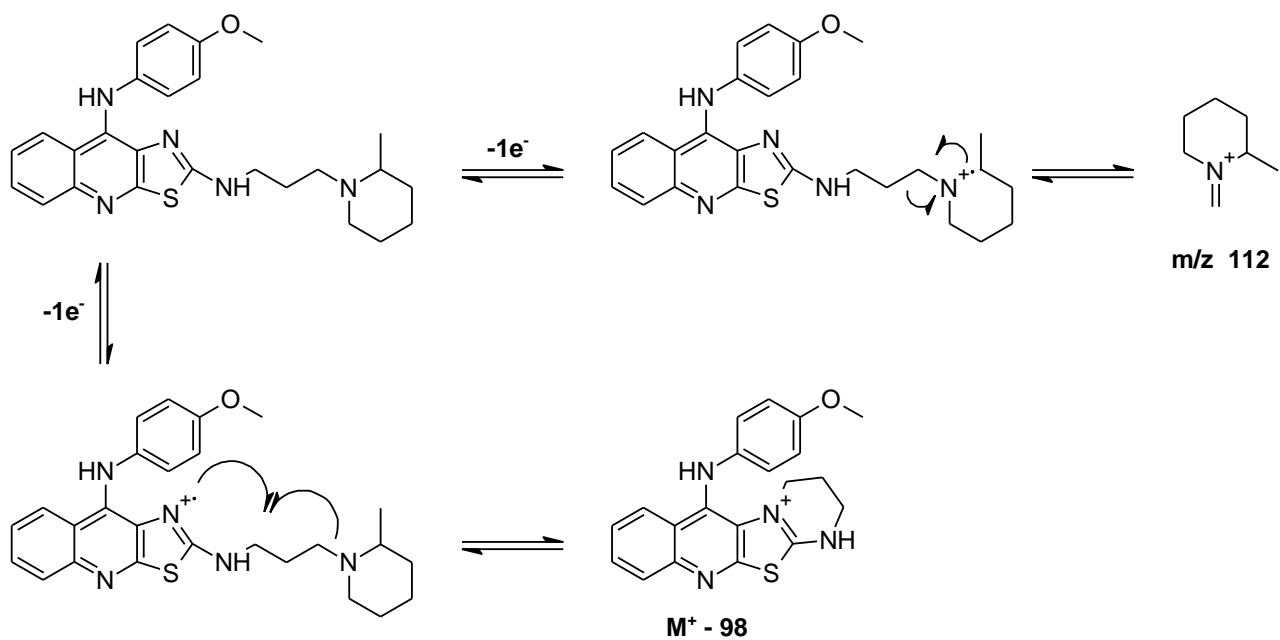


Figura 43. Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 3.

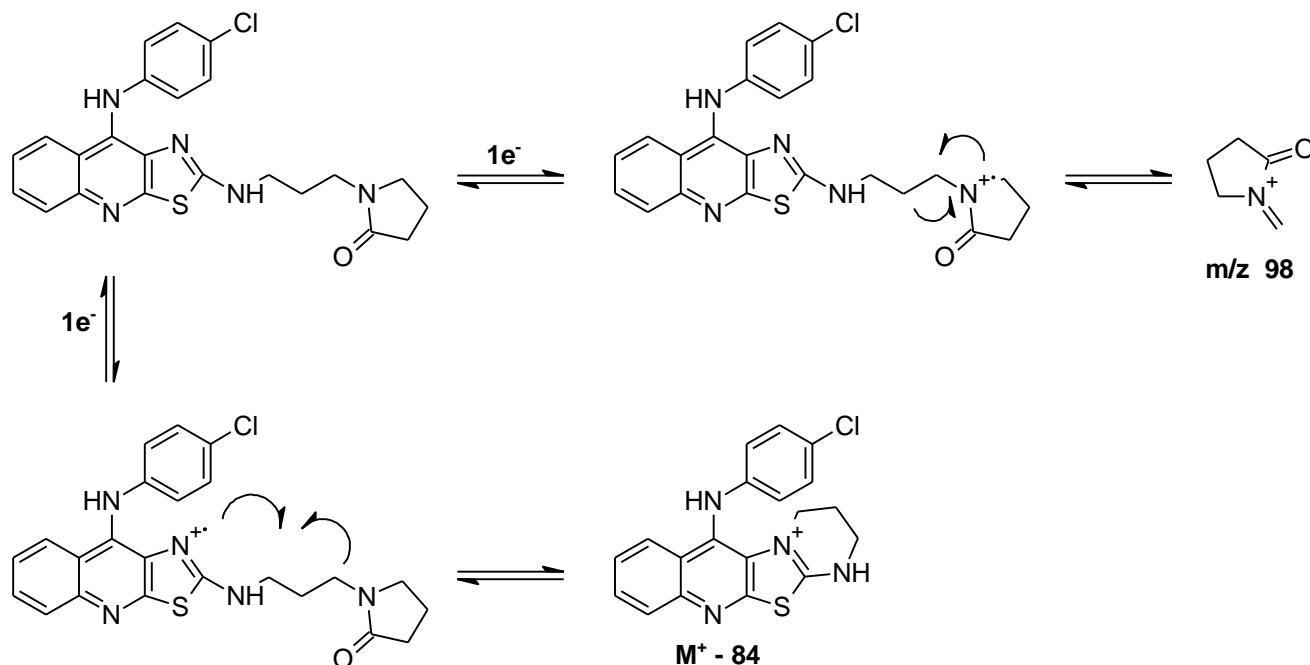


Figura 44. Patrón de fragmentación propuesto para los compuestos de la serie 4.

La asignación de las señales de los espectros de RMN ^1H , se realizó con base en el desplazamiento químico de las señales, la obtención de las constantes de acoplamiento y por comparación con reportes previos.⁴⁷ Para el caso de los protones aromáticos, se pudo establecer el siguiente patrón de señales:

- Las señales de los protones del anillo de anilina tienen un desplazamiento variable debido a la presencia de los diferentes sustituyentes en él.
- Las señales de los protones del sistema tiazolo[5,4-*b*]quinolina, aparecen en el siguiente orden, de campo bajo a campo alto:
 - H-7, señal doble de doble de doble ($J=8.0, 8.0, 4.0$ Hz).
 - H-6, señal doble de doble de doble ($J=8.0, 8.0, 4.0$ Hz).
 - H-5, señal doble de doble ($J=8.0, 4.0$ Hz).
 - H-8, señal doble de doble ($J=8.0, 4.0$ Hz).
- La señal del grupo amino que une al anillo aromático con el sistema tricíclico se observa como una señal sencilla, y su desplazamiento químico está ampliamente influenciado tanto por el sustituyente en el anilino como por el disolvente en el que se analizaron las muestras, que en este caso fue dimetilsulfoxido ($\text{DMSO-}d_6$), la señal aparece, por lo general de 8.5 a 9 ppm.

En lo que se refiere a la asignación de las señales de la zona alifática, la resolución de las mismas fue baja, lo que no facilitó la asignación de todas estas señales, esto se puede atribuir a los equilibrios conformacionales que pueden establecer los sistemas anulares saturados (ver sección 7).

6.2. ACTIVIDAD CITOTÓXICA.

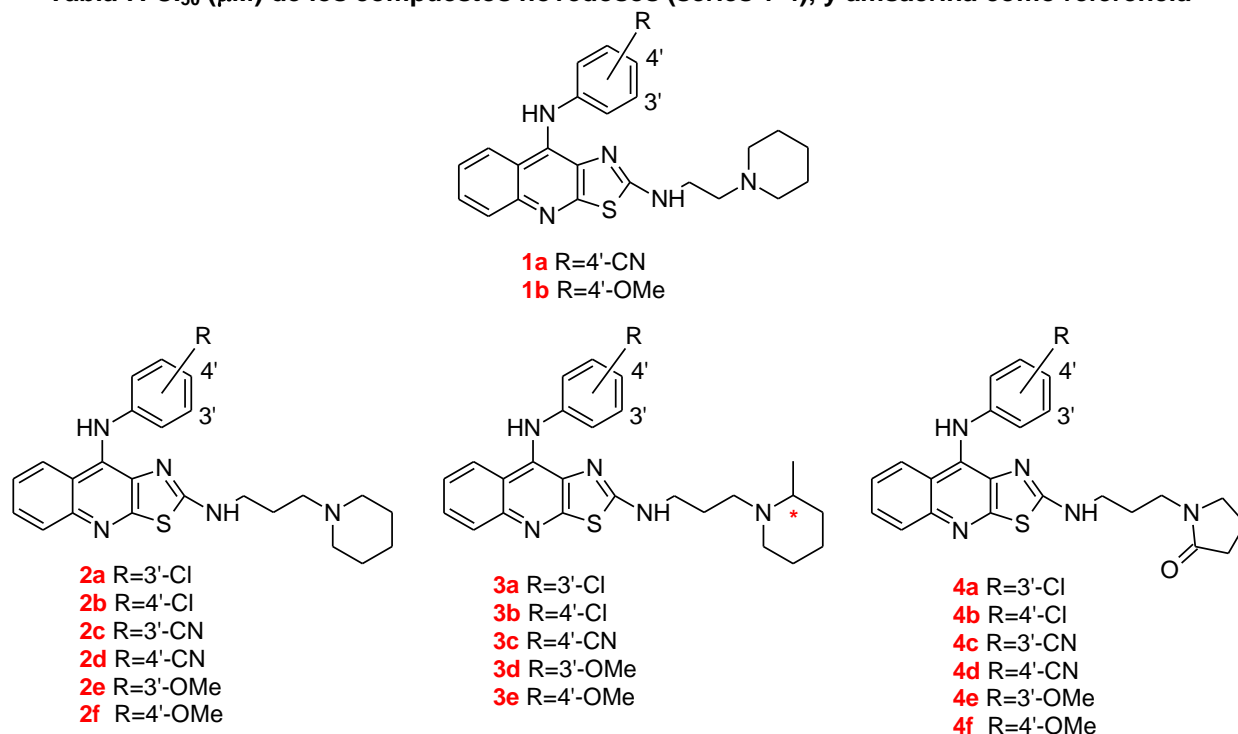
Los datos de actividad citotóxica fueron obtenidos mediante el método MTT con líneas celulares SW-620, SW-480 (adenocarcinoma colorrectal), HeLa (cáncer cervicouterino) y K-562 (leucemia humana mielogena).⁵⁴ Los valores de CI_{50} (μM) se determinaron a 48 horas de exposición *in vitro*. Los resultados representan el promedio de 3 experimentos independientes \pm la desviación estándar, fueron obtenidos a las concentraciones analizadas (1, 10, 30, 60 y 100 μM). El valor de CI_{50}





se obtuvo mediante análisis de correlación no lineal. Los valores de actividad citotóxica se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Cl_{50} (μ M) de los compuestos novedosos (series 1-4), y amsacrina como referencia*



Compuesto	SW-620	SW-480	HeLa	K-562
1a	16.4 (5.71)	26.1 (4.96)	25.06 (4.21)	12.5 (5.01)
1b	16.23 (5.08)	28.2 (7.3)	22.7 (3.6)	9.05 (3.62)
2a	46.3 (10.07)	45.8 (6.65)	56.27 (7.42)	51.3 (4.9)
2b	15.2 (3.15)	16.62 (3.69)	10.89 (2.31)	9.23 (2.65)
2c	23.8 (2.95)	25.9 (4.55)	21.32 (2.51)	17.4 (3.6)
2d	11.8 (3.42)	19.1 (3.25)	10.21 (1.62)	15.4 (2.54)
2e	14.5 (5.63)	13.7 (1.93)	16.94 (3.95)	20.9 (27.1)
2f	38.3 (7.28)	35.9 (6.32)	36.88 (3.74)	29.2 (7.2)
3a	6.72 (2.53)	9.65 (0.92)	6.1 (1.79)	5.02 (2.01)
3b	9.26 (1.79)	11.2 (3.21)	7.54 (2.67)	8.17 (2.8)
3c	16.73 (5.6)	15.9 (4.7)	10.3 (2.05)	6.67 (2.18)
3d	9.62 (1.29)	15.7 (2.96)	10.71 (3.07)	16.2 (3.09)
3e	34.7 (12.9)	30.18 (5.7)	25.9 (2.97)	21.8 (5.28)
4a	NT	NT	39.3 (3.01)	34.5 (5.2)
4b	75.9 (2.31)	SA	SA	SA
4c	76.6 (9.2)	70.54 (12.1)	75.5 (6.9)	72.82 (11.1)
4d	NT	NT	70.1 (3.7)	63.8 (1.6)
4e	SA	SA	85.62 (11)	78.4 (4.99)
4f	NT	NT	76.7 (5.1)	69.4 (2.75)
amsacrina	16.7 (2.8)	27.7 (2)	9.5 (0.6)	19.9 (0.8)

* Cl_{50} μ M concentración necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular. SA: sin actividad, NT: no evaluados. Desviación estándar entre paréntesis.





Como puede apreciarse de los datos de la tabla anterior, la mayoría de los compuestos sintetizados mostraron buena actividad biológica frente a las líneas celulares ensayadas en comparación con el compuesto de referencia, siendo los más activos aquellos que se presentan como mezcla racémica y con menor actividad aquellos en donde el nitrógeno terciario forma parte de un anillo γ -lactámico. Un análisis más a fondo por línea celular permite determinar ciertas relaciones estructurales, en los cuales se incluyen compuestos de series homólogas inferiores previamente reportados (Tabla 4, sección 2, series VI y VII).⁴⁷

6.2.1. ANÁLISIS AL MICROSCOPIO.

Se realizaron observaciones al microscopio con el objetivo 10X (aumento total 100), de las células presentes en los cultivos celulares, tanto de las células control como de las células tratadas con los compuestos sintetizados a las concentraciones evaluadas (1, 10, 30, 60 y 100 μ M), después de 48 horas de tratamiento. Lo anterior con el fin de analizar la presencia de cambios a nivel morfológico de las células con tratamiento y corroborar visualmente, en su caso, la muerte de las mismas.

Tanto las células sin tratamiento alguno como las células con el vehículo (DMSO de 0.1 a 0.4%) utilizado para analizar los compuestos, muestran una morfología circular en algunos casos (dependiendo de su orientación), son poco densas, presentan bordes lisos y muestran de igual manera formas alargadas con extremos cónicos (Figura 45). El tono y el color de las imágenes cambian pues no todas las muestras analizadas se observan con el mismo filtro de luz y de intensidad.

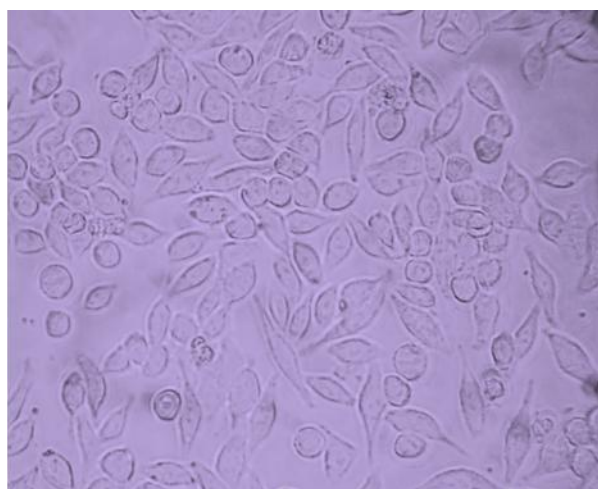


Figura 45. Morfología de las células control SW-620. Objetivo 10X.

Las células tratadas con el compuesto **2a** (medianamente activo, representativo de la serie **2**), no muestran cambios evidentes en cuanto a la morfología, pero se pueden apreciar bordes ligeramente irregulares (“rugosidades”), aparentemente con mayor densidad y presentan disminución de volumen (Figura 46). Al aumentar la concentración del compuesto se presenta una notable reducción del número de células. Este compuesto inhibe desde 30 μ M pero a 60 y 100 μ M inhibe notoriamente mejor que **4a**, se aprecia un precipitado, aunque escaso y en aguja. No obstante que se ha observado que la solubilidad de los compuestos es factor importante, no siempre es el caso pues aún con precipitado algunos compuestos resultaron muy activos.

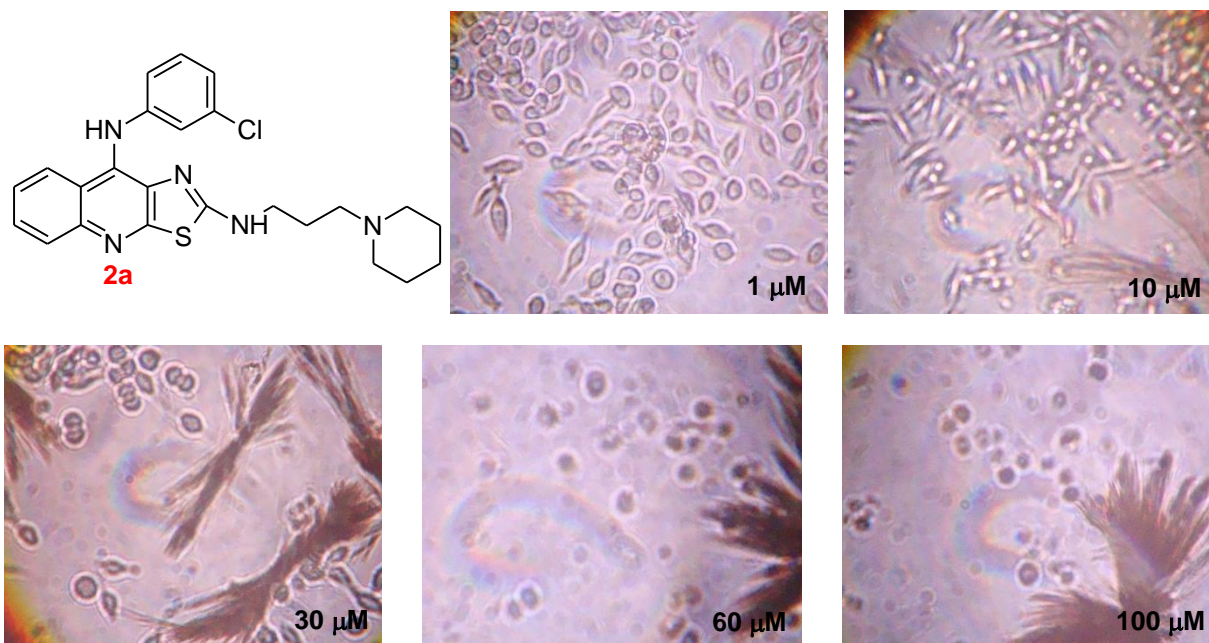


Figura 46. Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 2a. Objetivo 10X.

3a Compuesto muy activo. Se puede observar una ausencia casi total de precipitación en todas las concentraciones evaluadas, la inhibición se mostró entre 1 y 10 μM , desde 10 μM ya no se perciben células íntegras solo fragmentos de ellas, que en función de la concentración se hacen cada vez más pequeños. De igual manera se aprecian bordes “rugosos” y aumento de la densidad en las células (Figura 47).

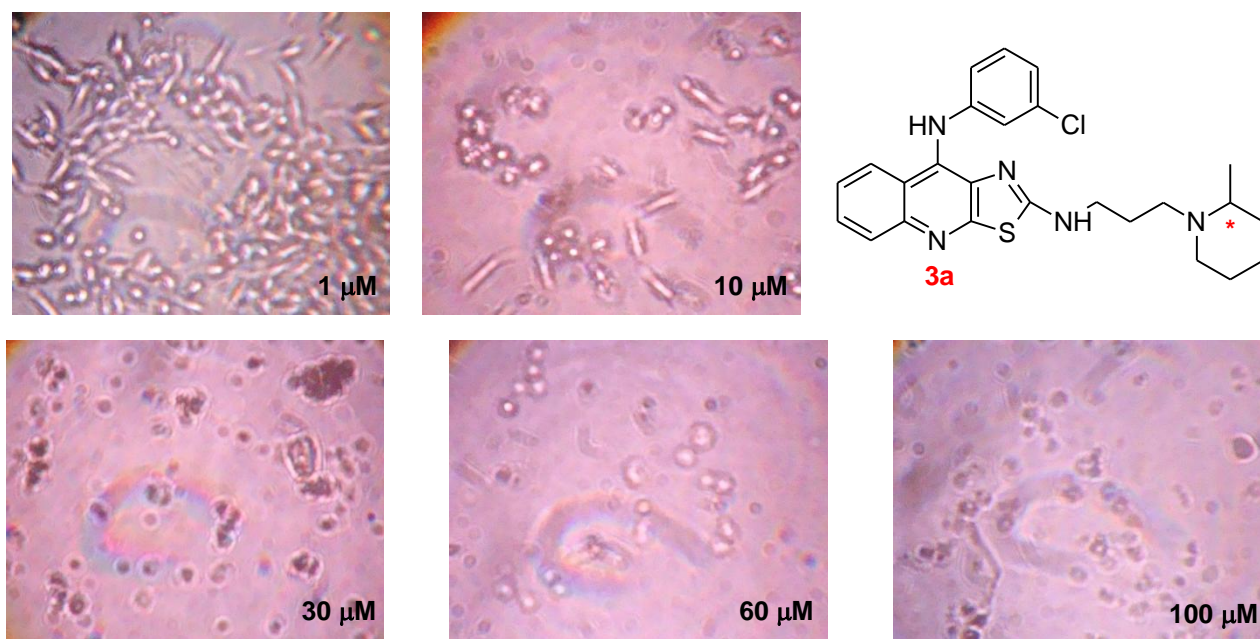


Figura 47. Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 3a. Objetivo 10X.

4b Compuesto moderadamente activo. Además de las características mencionadas para los compuestos anteriores, no se observa ningún cambio evidente en la morfología celular. Este





compuesto, desde la concentración de 30 μM , inhibe en número a las células y se notan éstas en pequeños fragmentos, a 60 μM se nota más daño celular y un precipitado leve con aspecto grumoso que a 100 μM es abundante. A una concentración de 60 y 100 μM se encuentran muchas células pero el precipitado no permite observarlas de manera clara (Figura 48).

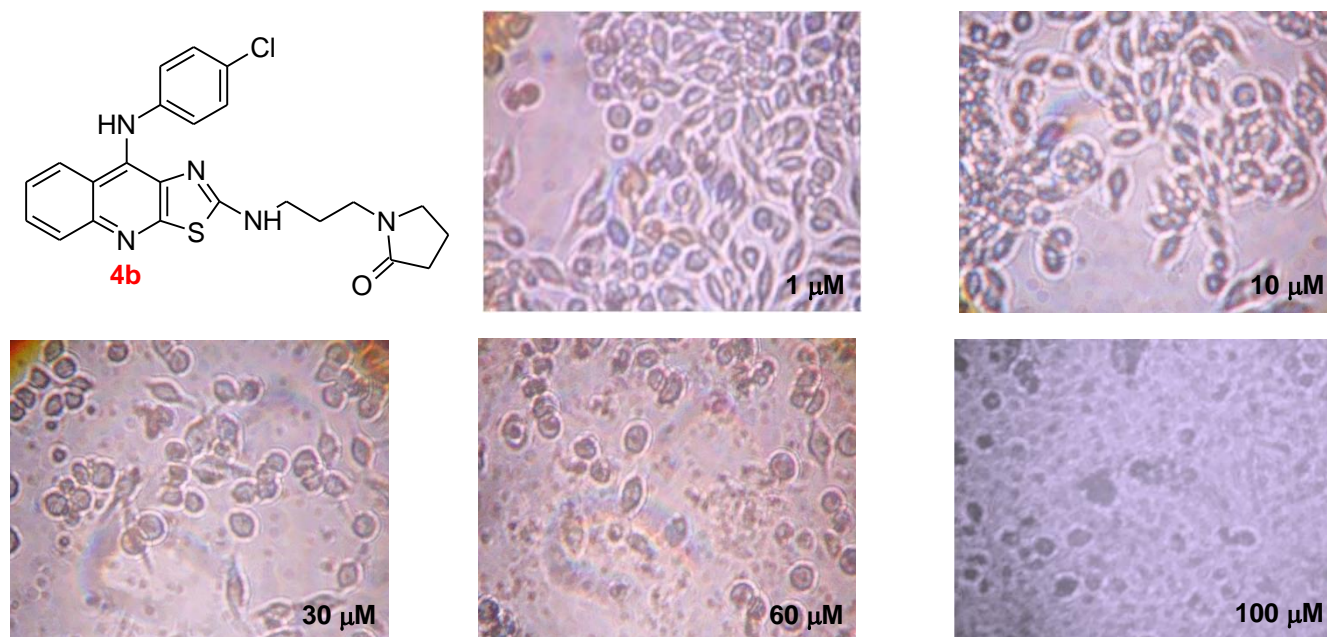


Figura 48. Cultivo celular SW-620, tratado con el compuesto 4b. Objetivo 10X.

Un aspecto interesante que surgió a raíz de este análisis, fue la detección, en algunos casos, de cristales del compuesto evaluado a ciertas concentraciones, lo que nos proporcionó mayor información para realizar el análisis de relación estructura-actividad y que más adelante se discute.

6.2.2. CITOTOXICIDAD EN LÍNEAS CELULARES.

6.2.2.1. SW-620 (adenocarcinoma colorrectal).

Un análisis minucioso permite afirmar que los compuestos más activos, son aquellos pertenecientes a la serie 3 (Tabla 7, Gráfico 1), donde todos los compuestos evaluados mostraron buena actividad con respecto del compuesto de referencia *m*-AMSA. Dentro de esta serie, el compuesto más activo es el 3a al analizar su isómero de posición, el compuesto 3b, ambos resultaron prácticamente igual de activos (ambos más activos que la referencia), no encontrándose una diferencia significativa en cuanto a la posición de este sustituyente (cloro, electronegativo). Por otro lado, cuando el sustituyente en el anillo de anilina es modificado por uno de carácter electrodonador, como lo es el grupo metoxilo, se observa una enorme diferencia de actividad entre los isómeros posicionales 3' y 4', viéndose favorecida la posición 3' por un factor de cuatro. Puesto que el grupo metoxilo funciona como un aceptor de puentes de hidrógeno, la posición de este tipo de sustituyentes es crucial porque dichas interacciones son direccionales, por lo tanto la posición de sustitución puede brindar selectividad, al facilitar las interacciones con el sitio blanco.

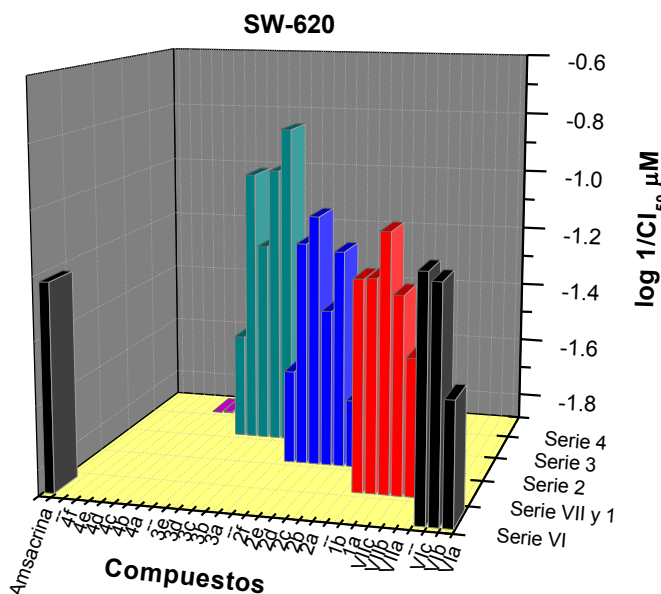


Gráfico 1. pCl_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Adenocarcinoma colorrectal SW-620.

En el caso de un grupo electroattractor, como lo es el nitrilo, sólo se pudo evaluar el compuesto con la sustitución en 4' de la serie 3 y aunque su actividad es moderada, fue similar a la del compuesto de referencia. Entonces, resultaría interesante determinar la actividad de su isómero posicional para averiguar, si al igual que su contraparte electrodonadora, existe una preferencia de posición, lo cual llevaría a pensar que aquellos sustituyentes con habilidad para formar puentes de hidrógeno, ya sea como aceptores o donadores, son factores de peso sobre la actividad citotóxica.

Para las demás series de compuestos (sin centros asimétricos), e incluyendo algunos previamente reportados (serie VI y VII, Tabla 4), resulta que los compuestos con mayor actividad son aquellos que incorporan un átomo de cloro, no encontrándose diferencia en la posición del mismo para la serie VI y VII pero para la serie 2 es evidente la diferencia en la actividad respecto de la posición siendo favorable la posición 4' sobre la 3' por un factor de 2.5. Sin embargo, cuando se hace el intercambio por sustituyentes con capacidad de formar puentes de hidrógeno, una vez más, se hace evidente que la posición es un factor a considerar, siendo favorable la posición 4' para grupos electroattractores (EWG) y la posición 3' para grupos electrodonadores (EDG), ambos por un factor de 2.5. Resulta interesante que esto sucede de la misma manera en la serie analizada con anterioridad (serie 3) y es común con otras líneas celulares, proporcionando información sobre los requerimientos estructurales que rigen la actividad de estos compuestos.

Los compuestos pertenecientes a la serie 4, resultaron muy poco activos, e inclusive a algunos no se les pudo determinar el valor de CI_{50} a las concentraciones evaluadas; lo que si se determinó, en general, es que todas son muy similares en actividad, al parecer no importando el tipo de sustituyente, ni la posición del mismo. Lo anterior conduce a proponer que un factor determinante en la actividad citotóxica de los compuestos aquí presentados lo dicta la basicidad del nitrógeno terminal más que el tipo y posición del sustituyente incorporado en el anillo de anilina, esta propuesta es apoyada por los datos previamente reportados para los compuestos **Via** y **VIIa** (Tabla 4), que no poseen ningún tipo de sustituyente en el anillo de anilina y no obstante esto resultan más activos





que los de la serie 4 reportada en este trabajo para cualquier línea celular y cualquier tipo de sustituyente en 3' o 4'.

6.2.2.2. SW-480 (adenocarcinoma colorrectal).

Los resultados para esta línea celular se esquematizan a continuación (Gráfico 2), representados como el logaritmo inverso de CI_{50} μM . Estos resultados siguen de manera general la misma tendencia que los expuestos anteriormente para la línea celular **SW-620**, algo que no es de extrañar pues ambas son de adenocarcinoma colorrectal y es de esperarse resultados semejantes en líneas celulares similares.

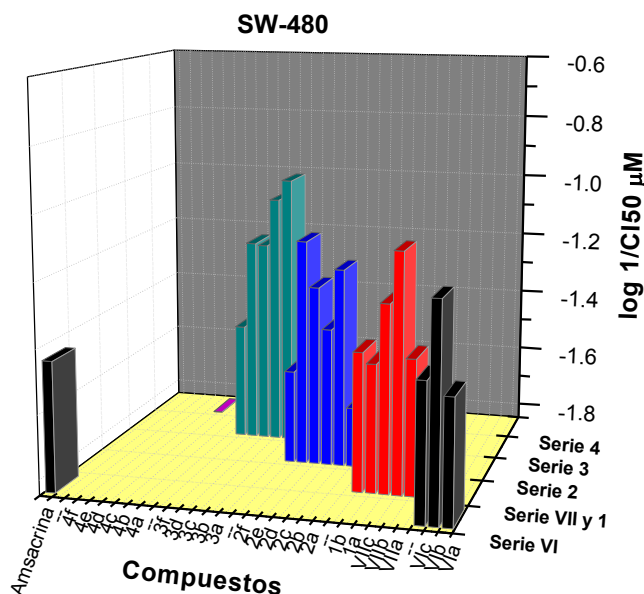


Gráfico 2. pCI_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Adenocarcinoma colorrectal SW-480.

Los compuestos de la serie 1, ambos presentan actividad muy similar aunque su naturaleza electrónica es contraria, no pudiéndose evaluar el efecto de sus isómeros posicionales por falta de los mismos. No se aprecia una clara relación entre la actividad citotóxica y la longitud de la cadena como se esperaba (serie VII, Tabla 4, serie 1 y serie 2) por los reportes previos.

6.2.2.3. HeLa (cáncer cervicouterino).

Resultados similares son observados para esta línea celular cuando son analizados la naturaleza y posiciones favorecidas de los sustituyentes (Tabla 7, Gráfico 3), presentándose como más activos aquellos con sustituyentes electronegativos (-Cl) y electroattractores (-CN) en posición 4' del anillo de anilina.

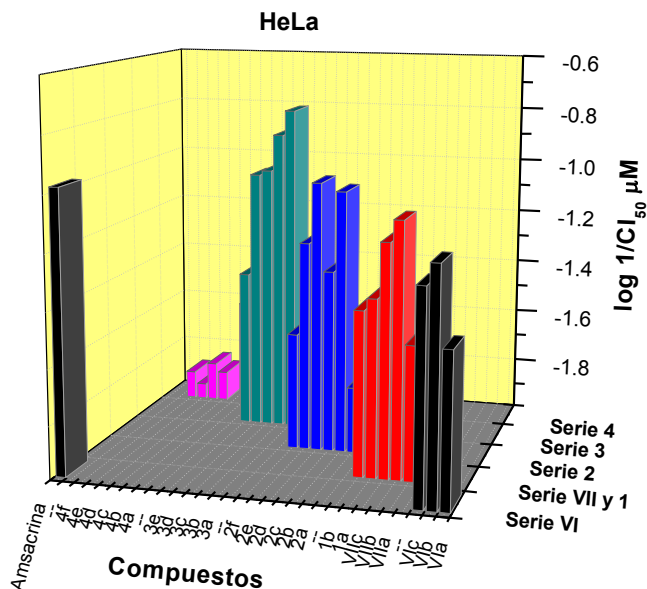


Gráfico 3. pCI₅₀ μM, de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Cáncer cervicouterino HeLa.

Incluso para los compuestos de la serie 4, que habían mostrado nula actividad en las líneas analizadas con anterioridad, el compuesto clorado posee actividad moderada y si bien la actividad de los demás derivados es pobre, es sensiblemente mayor a las líneas de adenocarcinoma colorrectal, esta observación nos permite afirmar que la línea de cáncer cervicouterino **HeLa** es más sensible que las de colon a las concentraciones evaluadas.

6.2.2.4. K-562 (leucemia humana mielogena).

Los resultados para esta línea celular son presentados en las Tablas 4 (series **VI** y **VII**) y 7 (compuestos novedosos), así como en el Gráfico 4. Si bien las tendencias en cuanto los requisitos estructurales son las mismas, con el análisis de los resultados obtenidos es posible apreciar que todos los compuestos evaluados (tanto los sintetizados en este trabajo como los previamente reportados), presentan su máximo de actividad sobre esta línea celular más que con cualquier otra de las ensayadas, incluso con varios compuestos más activos que la referencia, y otros tantos con actividad comparable.

La evidencia de que la línea de leucemia humana mielogena **K-562** resulta particularmente sensible a los compuestos que fueron evaluados en el presente trabajo, concuerda con lo descrito previamente en la literatura para algunos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.^{5,6}

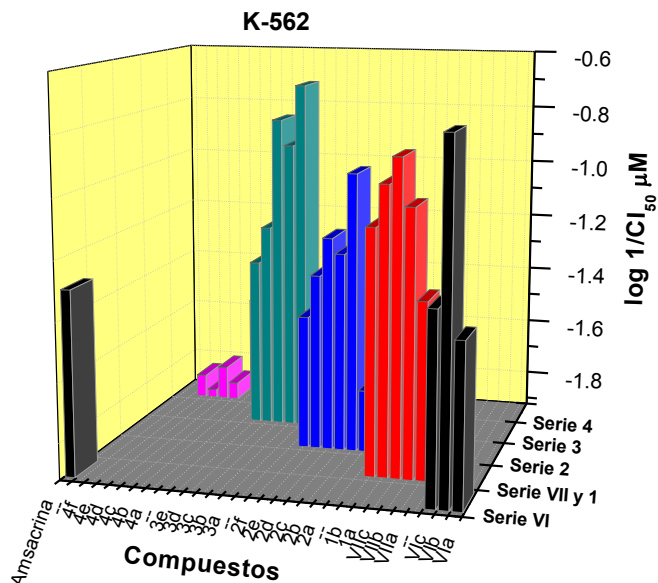


Gráfico 4. pCI_{50} μM , de los compuestos novedosos y análogos previamente reportados (Tabla 4, series VI y VII). Leucemia humana mielógena K-562.

Es importante notar y recordar en este punto, algunos antecedentes históricos del surgimiento y planeación de los compuestos sintetizados en este trabajo, los cuales en un inicio surgieron por la implementación de la estrategia de reemplazo bioisostérico, tomando como núcleo base a la acridina y posteriormente con la incorporación de un anillo de anilina apropiadamente sustituido en la posición 9 de dicho sistema, rindiendo derivados análogos a la amsacrina.

Todo lo anterior con el objeto de resaltar el hecho de que la acridina fue, en su momento, un compuesto ampliamente usado en la clínica (reemplazado en la actualidad de manera paulatina por moléculas más activas y con menor toxicidad), y que la principal afección en la que se usaba era en los casos de cáncer de médula ósea, leucemia, por su gran efectividad sobre este tipo de cáncer y que es precisamente en dicha línea en donde estos nuevos derivados son más activos, lo cual hace suponer y refuerza las suposiciones iniciales de que el mecanismo de actuación, probablemente, sea el mismo para estos compuestos. Para finalizar este punto, es conveniente destacar que si bien lo anterior parece indicar el mismo mecanismo de acción, la forma de interactuar con la diana puede ser diferente ya que en los derivados de 9-anilinoacridina los grupos incorporados en la anilina responsables de la actividad son electrodonadores y para los derivados de 9-anilinoiazolo[5,4-*b*]quinolina son del tipo electroattractores.

De todos los análisis realizados con anterioridad se han generado varias conclusiones preliminares importantes que son resumidas a continuación:

- Los compuestos más activos fueron aquellos con un centro asimétrico.
- No es posible definir una relación evidente de incremento de actividad al derivar la serie homóloga superior como se esperaba y como se había observado en estudios previos, pero es cierto que la actividad se mantiene.





- Tanto la solubilidad como el coeficiente de partición (logP), son cruciales en la actividad de este tipo de compuestos.
- La basicidad del nitrógeno terminal es crucial, incluso más que la sustitución en el anillo de anilina. Los compuestos de la serie **4**, son un claro ejemplo.
- Sustituyente en el anillo de anilina. Los más favorecidos son los electronegativos y electroattractores. La habilidad de formar enlaces de hidrógeno es importante.
- Patrón de sustitución. Se prefiere la posición 3' para EWG y 4' para EDG.
- La línea **K-562** resultó ser la más susceptible al efecto de los compuestos evaluados.

Una plausible explicación a la mayor actividad de los compuestos con un centro quiral es que éstos pueden interactuar de manera específica con otra entidad disimétrica, como lo es el ADN, esto debido a su naturaleza helicoidal. La disimetría del ADN llevaría a la formación de complejos del tipo diasterómero al interactuar con el compuesto quiral y se sabe que esta interacción, puede “disparar” en un sentido negativo o positivo los procesos de un sistema biológico.

Dado que los compuestos que se presentan como mezcla racémica resultaron ser los más activos, es indudable la necesidad de realizar la resolución de la mezcla racémica y la determinación de su actividad biológica en su forma homoquiral; por otro lado y puesto que existe evidencia de que este tipo de compuestos actúan a nivel del ADN, y teniendo en cuenta que ésta es una molécula disimétrica (puesto que tiene las hebras en antisentido), se plantea aquí la hipótesis de una posible interacción por parte del racemato con el ADN, es decir, que cada enantiómero interactúe con una hebra en dirección antiparalela y por ende la actividad biológica observada se deba a ambos enantiómeros. No obstante, lo anterior sólo quedará demostrado realizando la experimentación y en su caso, determinar cuál es el eutómero y el distómero.

6.3. MODELADO MOLECULAR.

Se llevó a cabo el análisis conformacional de las moléculas propuestas y algunas previamente reportadas mediante un protocolo de búsqueda sistemática utilizando el campo de fuerza de Merck (MMFF94), rotando todos los enlaces sp^3 cada 15° . La determinación del conformero más estable se llevó a cabo con base en la energía y la distribución de Boltzman. Una vez realizado lo anterior, se optimizó la geometría del conformero más estable mediante un método semiempírico AM1, uno *ab initio* HF/6-31 G* y uno de funcionales de la densidad DFT/B3LYP 6-31 G* y se calcularon los descriptores QSAR para todas las moléculas. La distribución electrónica calculada fue usada para generar las correspondientes superficies de energía potencial electrostática.

6.3.1. ANÁLISIS CONFORMACIONAL.

En cuanto a la conformación obtenida en todos los casos el anillo de anilina guarda una relación prácticamente ortogonal con respecto del núcleo tricíclico, con una ligera orientación hacia el anillo bencenoide del sistema (Figura 49), de manera similar a lo reportado con anterioridad en la literatura.⁶



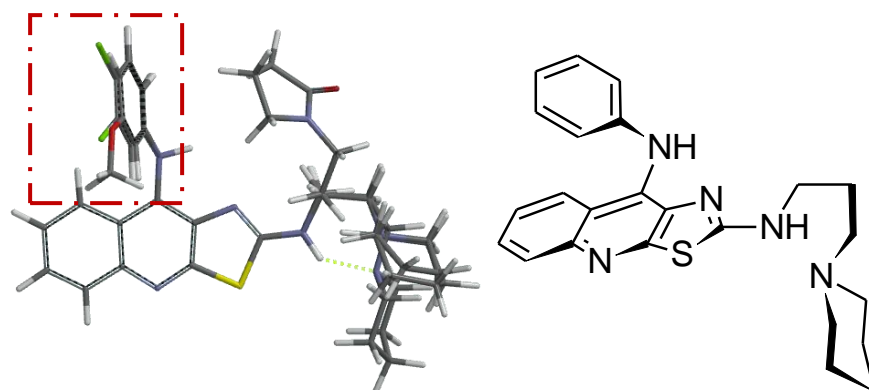


Figura 49. Conformación del anillo de anilina.

En lo que respecta a la conformación de la cadena lateral, cabe señalar que todos los compuestos analizados, con excepción de los de la serie **4** (excepto **4a** y **4b**), presentan una conformación que hemos denominado de “escorpión” o “gancho”. Lo anterior resulta interesante puesto que un análisis preliminar sobre las geometrías del conformero más estable, permite la agrupación de las moléculas en dos categorías. **1)** Aquellas moléculas que adquieren la conformación definida como de “escorpión” y **2)** moléculas que no presentan dicha conformación (Figura 50). Se ha encontrado una relación de la actividad citotóxica con esta conformación, siendo los compuestos más activos aquellos que adquieren la conformación de “escorpión”. Este hecho hace resaltar la importancia que posee la conformación adquirida por la molécula con relación a su capacidad para internalizarse a través de las membranas, a la célula y llegar a interactuar con su diana biológica.

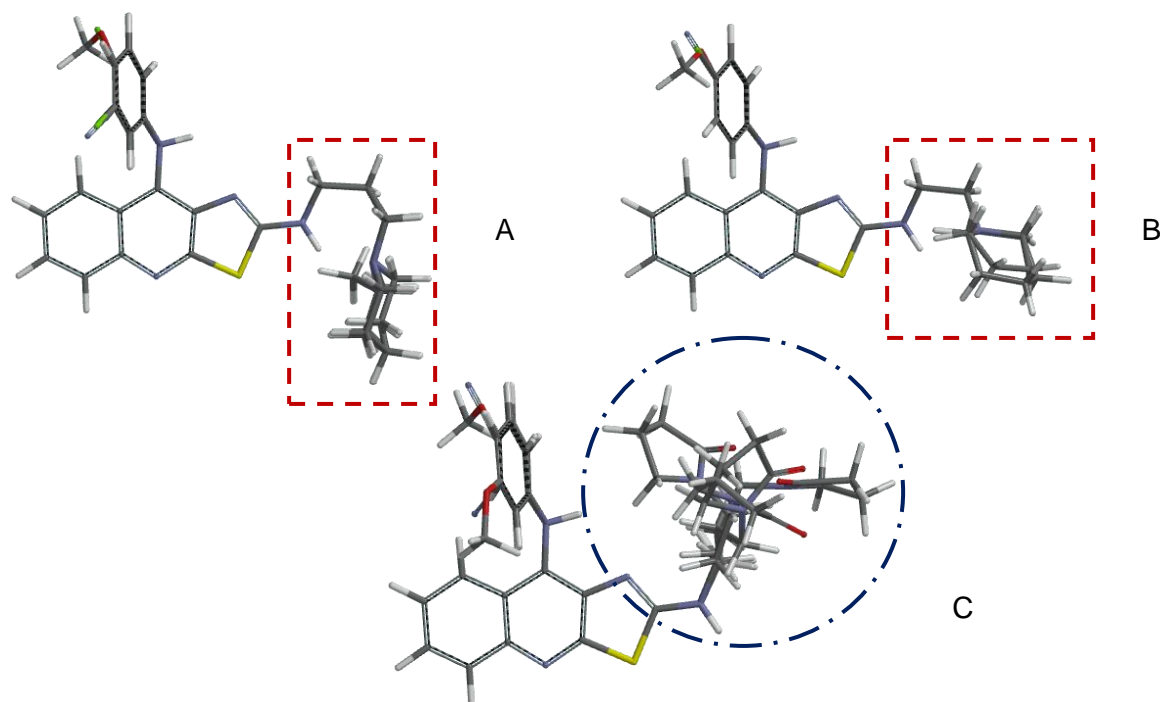


Figura 50. Conformaciones de la cadena lateral, A y B representan a los compuestos con buena actividad citotóxica, conformación de “escorpión”. C) compuestos con poca o nula actividad citotóxica, no existe un patrón evidente en la conformación de la cadena lateral.





6.3.2. ANÁLISIS DE ESTRUCTURA ELECTRÓNICA.

Se obtuvieron los siguientes parámetros:

1. Energía.
2. Energías de orbitales frontera (HOMO y LUMO).
3. Momento dipolar.
4. Área superficial.
5. Volumen.
6. Área Polar Superficial (PSA):
7. Log P (Ghose-Crippen).
8. Ovalidad.
9. Dureza.
10. Electronegatividad.
11. Gráficos de isopotencial del potencial molecular electrostático (PME).

6.3.2.1. AM1.

En la Tabla 8, se muestran los parámetros **1-10** enlistados en el punto anterior, para cada uno de los compuestos obtenidos por el método de cálculo semiempírico AM1.

Tabla 8. Descriptores moleculares calculados mediante el método semiempírico AM1 para los compuestos analizados.

Compuesto	E (kcal/mol)	E HOMO (kcal/mol)	E LUMO (kcal/mol)	Dipolo (debye)	Área (Å ²)	Volumen (Å ³)
Vla	119.72	-187.75	-18.95	4.03	413.16	398.26
Vlb	112.78	-190.61	-20.68	4.51	428.48	411.66
Vlc	112.43	-190.22	-21.36	3.94	428.54	411.66
VIIa	111.2	-187.73	-18.93	3.8	428.81	414.9
VIIb	104.25	-190.6	-20.66	4.31	444.16	428.3
VIIc	103.91	-190.21	-21.35	3.82	444.22	428.3
1a	141.79	-194.08	-24.25	5.07	450.19	434.55
1b	73.91	-184.86	-18.51	3.52	458.6	442.21
2a	98.22	-189.17	-19.25	4.63	461.5	446.43
2b	97.86	-188.82	-19.95	4.39	461.5	446.41
2c	136.92	-191.77	-21.13	5.94	467.48	452.69
2d	135.7	-192.72	-22.88	5.75	467.51	452.68
2e	67.16	-187.16	-18.85	4.15	476.13	460.43
2f	67.92	-183.72	-17.18	4.04	475.93	460.36
3a	96	-189.14	-19.31	4.55	477.91	464.16
3b	95.65	-188.81	-20.01	4.32	477.94	464.15
3c	133.49	-192.68	-22.94	5.69	483.93	470.41
3d	64.95	-187.13	-18.9	4.07	492.53	478.15
3e	65.71	-183.74	-17.22	4.00	492.39	478.09





Compuesto	E (kcal/mol)	E HOMO (kcal/mol)	E LUMO (kcal/mol)	Dipolo (debye)	Área (Å ²)	Volumen (Å ³)
4a	70.49	-189.58	-19.26	6.74	447.26	432.65
4b	70.12	-189.35	-19.98	5.98	447.29	432.65
4c	113.04	-193.7	-23.28	4.58	456.14	439.2
4d	112.43	-196.52	-26.95	4.15	459.49	439.51
4e	41.83	-192.98	-23.79	3.63	460.42	446.64
4f	42.43	-187.86	-21.77	3.07	467.51	447.06

Compuesto	PSA (Å ²)	OVALIDAD	DUREZA (kcal/mol)	LogP (Ghose-Crippen)	χ
Vla	39.4769	1.578	84.40	4.55	0.16
Vlb	39.4938	1.601	84.96	5.11	0.17
Vlc	39.4942	1.601	84.43	5.11	0.17
Vlla	39.2862	1.594	84.40	4.97	0.16
Vllb	39.2939	1.616	84.97	5.52	0.17
Vllc	39.2923	1.617	84.43	5.52	0.17
1a	54.7060	1.623	84.92	5	0.17
1b	46.5017	1.634	83.18	4.84	0.16
2a	36.9490	1.634	84.96	5.8	0.17
2b	36.9459	1.634	84.44	5.8	0.17
2c	52.3836	1.64	85.32	5.28	0.17
2d	52.3243	1.64	84.92	5.28	0.17
2e	44.0979	1.651	84.16	5.12	0.16
2f	44.1601	1.651	83.27	5.12	0.16
3a	36.8936	1.648	84.92	6.12	0.17
3b	36.8935	1.649	84.40	6.12	0.17
3c	52.2680	1.654	84.87	5.6	0.17
3d	44.0352	1.666	84.12	5.44	0.16
3e	44.1126	1.665	83.26	5.44	0.16
4a	47.9290	1.617	85.16	4.49	0.17
4b	47.9258	1.617	84.68	4.49	0.17
4c	67.5427	1.632	85.21	3.96	0.17
4d	68.4024	1.644	84.785	3.96	0.18
4e	60.1391	1.629	84.595	3.8	0.17
4f	60.4964	1.653	83.045	3.8	0.17

a) Análisis de los Orbitales frontera HOMO y LUMO.

Se ha postulado la existencia de varias fuerzas estabilizadoras (van der Waals, puentes de hidrógeno, fuerzas electrostáticas, complejos de transferencia de carga e interacciones de orbitales frontera)⁵⁵ de los complejos formados por moléculas antineoplásicas con el ADN. En particular, se ha





sugerido una interacción entre el orbital HOMO de los pares de bases del ADN con el orbital LUMO del ligante. Es por esto que se decidió estudiar lo anterior a partir de los valores energéticos y la distribución de los orbitales frontera de los compuestos sintetizados.

Analizando los datos de la Tabla 8, se observa que los valores de los orbitales frontera HOMO y LUMO, no muestran una gran variación a lo largo de toda la serie de compuestos. Al analizar los gráficos de los orbitales HOMO se observó la localización de los mismos a lo largo del sistema tricíclico y sobre el anillo de anilina, en lo que respecta la cadena lateral sólo el nitrógeno secundario unido a la posición 2 muestra alguna contribución. (Figura 51). No se observan cambios significativos en la contribución de los diferentes tipos de compuestos, más bien son cambios discretos regidos por el tipo de sustituyente presente en el anillo de anilina.

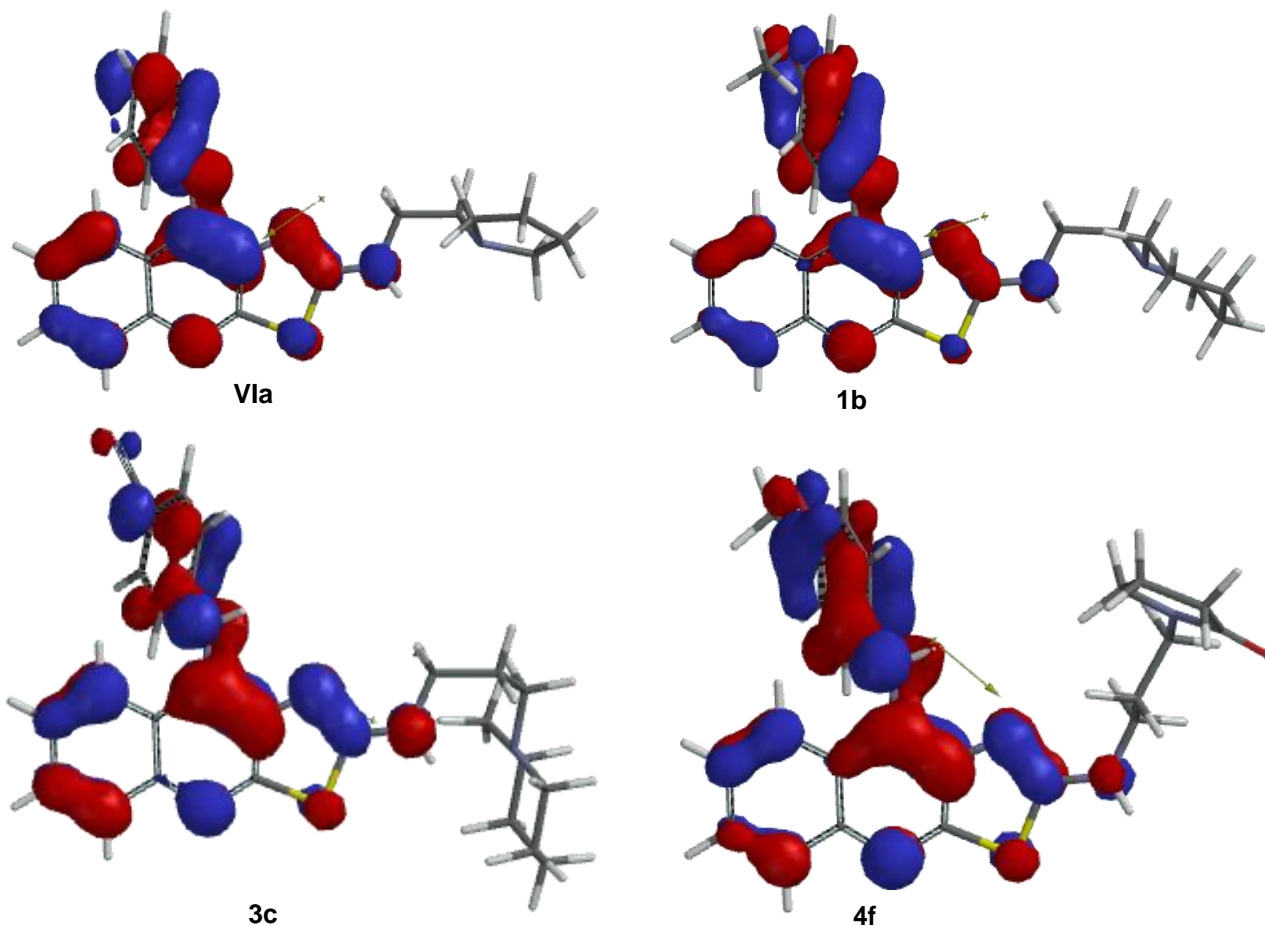


Figura 51. Gráficos del HOMO de los compuestos 1a, 1b, 3c y 4f.

Como se esperaba, los valores energéticos de los orbitales HOMO y LUMO están relacionados con la naturaleza del sustituyente incorporado en el anillo de anilino, puesto que se han encontrado valores menores para aquellos compuestos con grupos electroattractores en las posiciones 3' y 4' como se recopila en la Tabla 8.

En el caso de los orbitales LUMO, éstos se localizan en el sistema tricíclico, a diferencia de su contraparte HOMO, no existe una marcada contribución por parte del anillo de anilino (Figura 52). Esto resulta importante de considerar puesto que podría existir cierta relación entre este parámetro y la afinidad de los compuestos por el ADN. Puesto que las energías para estos orbitales son negativas y se centran en el sistema tricíclico, este tipo de compuestos pueden considerarse como electrófilos



y, ya que los pares de bases nitrogenadas que conforman al ADN se comportan como un nucleófilo, es factible que se establezcan complejos de transferencia de carga por traslape de orbitales entre en ADN y estos compuestos. Sin embargo al no observarse una diferencia significativa, se hace necesario considerar otros factores para establecer una relación con la afinidad por el ADN o con su actividad citotóxica.

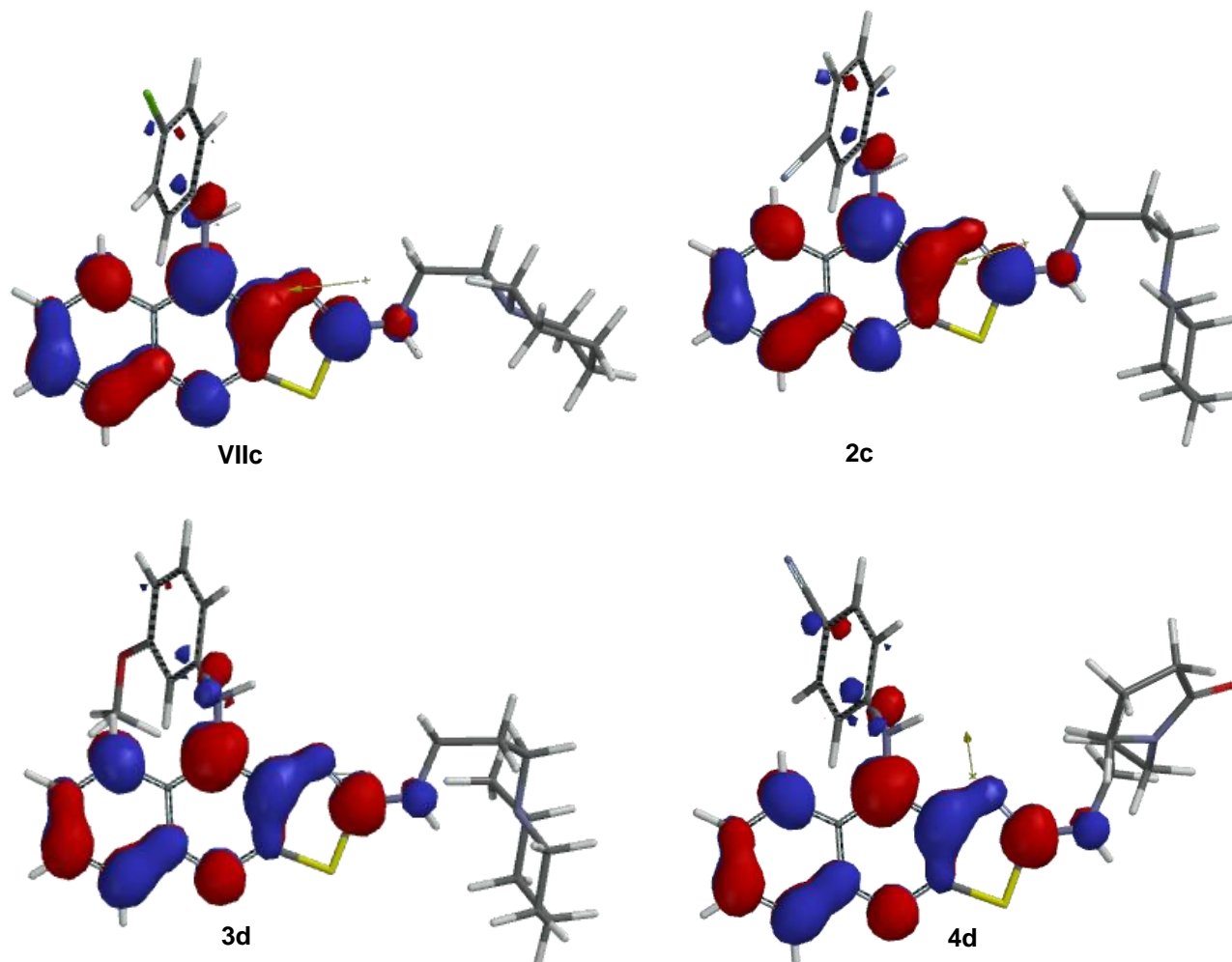


Figura 52. Gráficos del LUMO de los compuestos VIIc, 2c, 3d y 4d.

Para ambos orbitales frontera analizados, se observa cierta asimetría a la largo del sistema tricíclico, si esta característica le confiere cierta afinidad por el sitio receptor, que se especula que es el ADN, es algo que aún no se sabe pero que debería de tomarse en cuenta en estudios futuros.

b) *Potencial Molecular Electroestático.*

Respecto del PME es posible detectar varias zonas en donde éste se circunscribe (zonas calientes), principalmente sobre aquellos átomos electronegativos como lo son los nitrógenos, tanto de la quinolina como del tiazol y en menor grado los de la anilina y de la cadena lateral (Figura 53). Además, estas zonas cambian según sea el tipo de sustituyente enlazado en el anillo de anilina, esto resulta importante puesto que estas zonas pueden dar información de los puntos en la molécula que tendrían interacción con el receptor vía fuerzas electrostáticas. De manera similar, se puede observar que a lo largo del sistema tricíclico no existe acumulación de carga, una vez más este sistema puede funcionar como aceptor de electrones en interacciones de transferencia de carga, se ha especulado





que la acumulación del potencial sobre el nitrógeno juega un papel importante en el reconocimiento y direccionalidad de dichas interacciones.

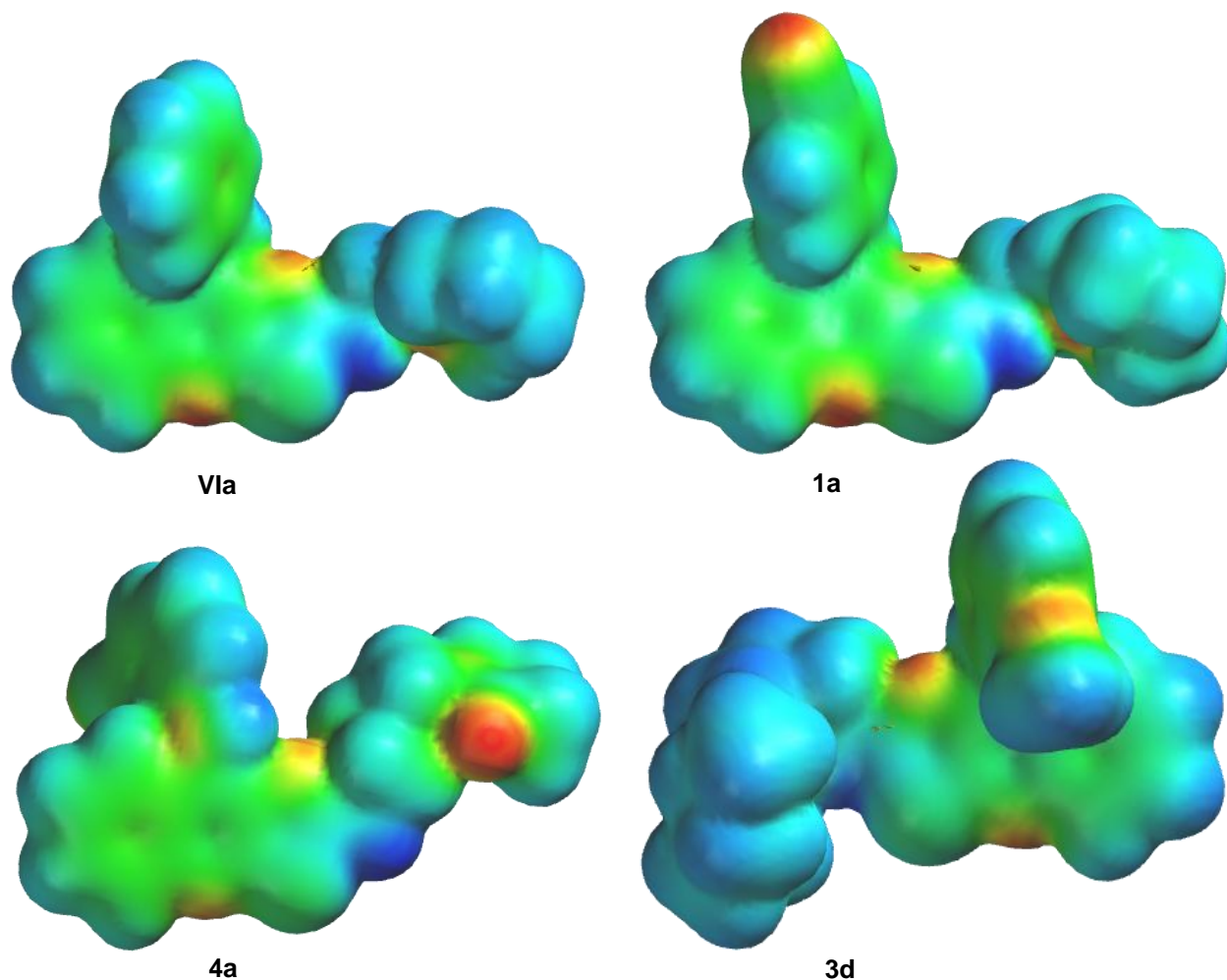


Figura 53. Representación gráfica del PME de los compuestos VIa, 1a, 3d y 4a.

Los gráficos de isotopotencial muestran de manera más clara las zonas electronegativas presentes en las moléculas, y se puede observar que existen principalmente cinco zonas conservadas en todos los compuestos: **1)** el nitrógeno de la quinolina; **2)** el nitrógeno del anillo de tiazol; **3)** el nitrógeno de la posición 9; **4)** el nitrógeno de la posición 2; **5)** el anillo bencenoide de la quinolina (Figura 54). El estudio de estos gráficos radica en que se pueden establecer regiones de la molécula que pueden participar en posibles interacciones “*de no enlace*” a larga distancia con ciertas regiones complementarias del supuesto sitio receptor.

Aunque estas regiones se conservan a lo largo de todos los compuestos y las variaciones son discretas y resultan del sustituyente en posición 3' o 4', es oportuno destacar que, para los compuestos de la serie 4, existe además una zona del potencial muy marcada en el anillo lactámico, ubicado en el oxígeno de la amida, esto es importante por el hecho que resultan ser los compuesto con poca o nula actividad citotóxica, lo que podría explicarse considerando las diferencias observadas en el gráfico de isotopotencial por dos razones principales:

1. La reducción de la electronegatividad del nitrógeno anular, dado que ésta se ve disminuida en el isotopotencial, lo que puede evitar que este se protone y por tanto no logré interaccionar de la misma manera que los demás compuestos.





2. La acumulación de carga por efecto del grupo carbonilo, es una zona de isopotencial adicional que no existe en las demás series de compuestos, lo que ocasiona una reducción en la basicidad del nitrógeno y por tanto este no podrá protonarse tan fácilmente para interactuar con el sitio de acción. Esto a su vez podría ocasionar una repulsión de carga con el sitio de acción. Se ha observado que lo anterior, repercute a su vez en la conformación de dichos compuestos, en lo que respecta a este análisis estas son las únicas diferencias que fue posible establecer como explicación de la diferencia de actividad, sin embargo, parecen no ser suficientes.

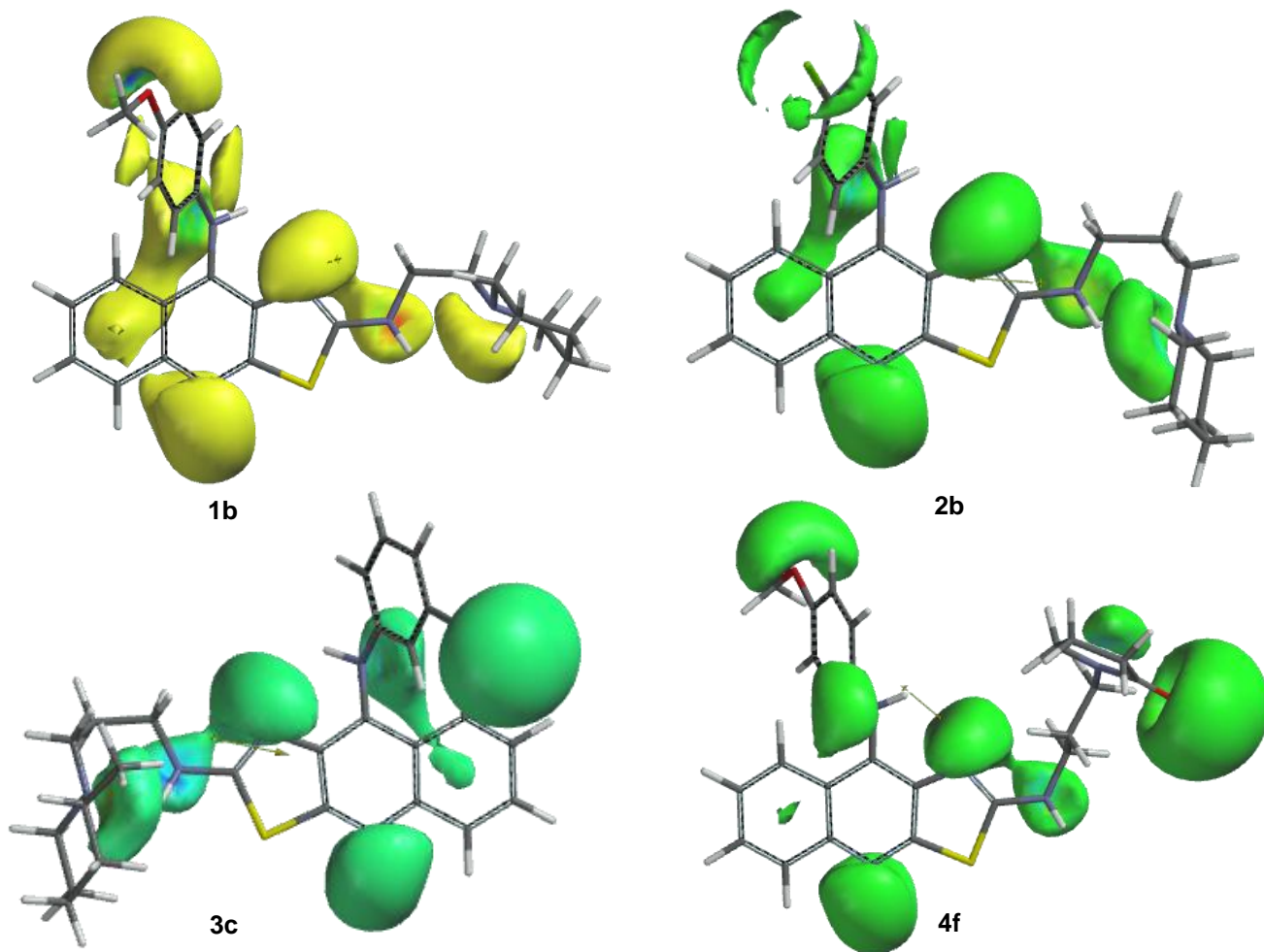


Figura 54. Gráficos de Isopotencial (-83.68 KJ/mol) de los compuestos 1b, 2b, 3c, y 4f.

c) Magnitud y vector del momento dipolar.

Puesto que el momento dipolar describe la distribución de carga en una molécula y de alguna manera muestra un resumen de los efectos electrónicos que participan en el reconocimiento molecular es importante su análisis. Sobre todo con intercaladores de ADN, ya que una correlación directa entre sus valores del momento dipolar y la citotoxicidad fue reportada en 2009 por Loza-Mejía y col.⁶ para derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina.

El análisis del momento dipolar para los compuestos sintetizados reveló que el sustituyente en posición 3' ó 4' es el principal factor que repercute sobre la magnitud del mismo, encontrándose que los grupos electroattractores provocan un aumento del dipolo y observándose un mayor incremento cuando estos se localizan en la posición 3'. El efecto contrario ocurre con los grupos





electrodonadores. Sin embargo, las diferencias observadas, en cuanto a la magnitud, no correlacionan con la actividad citotóxica observada; sólo en el caso de los compuestos de la serie 4 se observa que aquellos con un elevado momento dipolar fueron los más activos dentro de esa serie, pero al incluir a todos los compuestos se observa que algunos de los más activos poseen magnitudes menores a los anteriormente citados. Dadas estas ambigüedades entre las magnitudes del dipolo y la actividad y puesto que la correlación del dipolo con las características electrónicas de la molécula poseen además cierta orientación se decidió realizar el análisis del vector del momento dipolar (Figura 55).

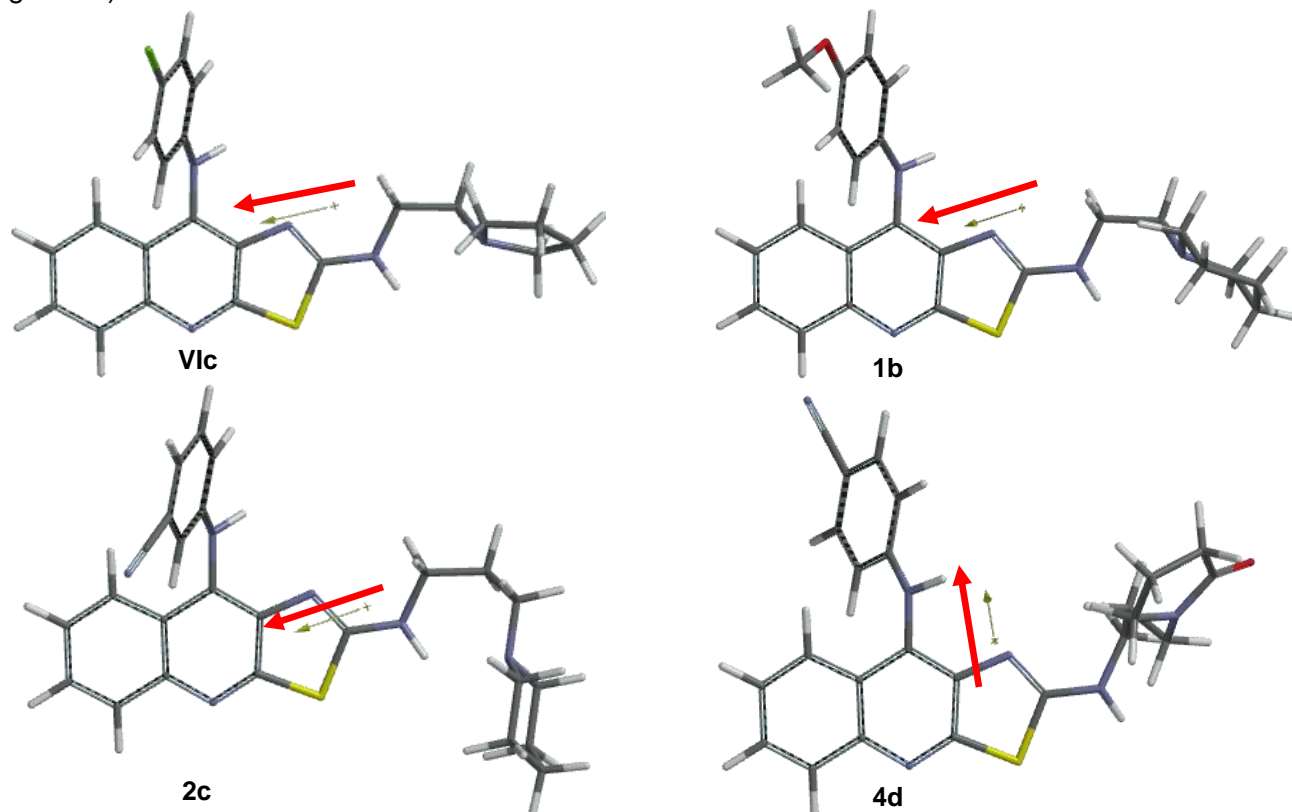


Figura 55. Orientación del momento dipolar de algunos compuestos analizados. Vlc, 1b, 2c y 4d.

Una vez realizado este análisis, fue posible clasificar a los compuestos en dos grupos de acuerdo a la orientación del vector de su momento dipolar, de esta manera observamos una correlación con la orientación y la actividad citotóxica de los compuestos (Figura 56).

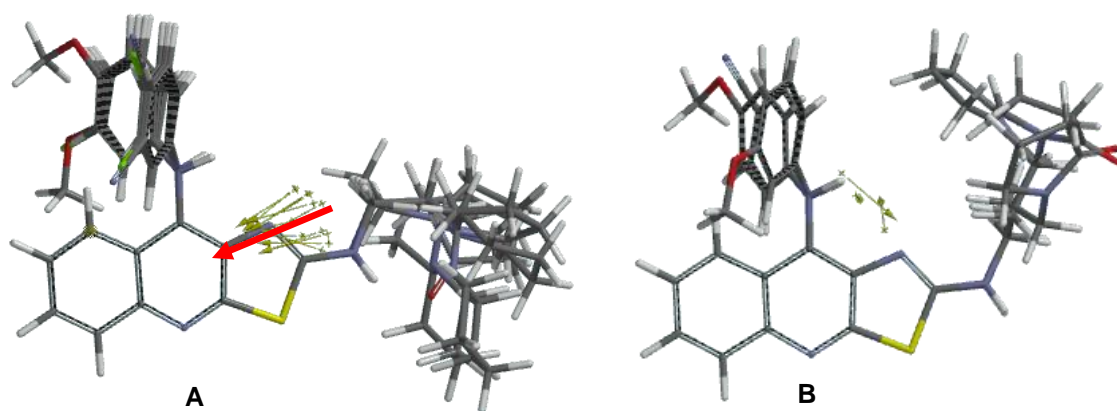


Figura 56. Agrupación de los compuestos, según la orientación del vector de momento dipolar. A) Compuestos de las series VI, VII, 1, 2, 3, 4a y 4b. B) Compuestos inactivos 4c, 4d, 4e y 4f.





6.3.2.2. HF.

En la Tabla 9 se listan los resultados de los parámetros calculados para los compuestos analizados mediante el método *ab initio* HF/6-31 G*.

Tabla 9. Descriptores moleculares calculados mediante el método *ab initio* HF/6-31 G* para los compuestos analizados.

Compuesto	E (kcal/mol)	E HOMO (kcal/mol)	E LUMO (kcal/mol)	Dipolo (debye)	Área (Å ²)	Volumen (Å ³)
Vla	-951471.83	-170.22	57.46	4.79	408.11	393.22
Vlb	-1239436.19	-174.15	54.14	5.64	423.79	406.85
Vlc	-1239436.2	-174.03	53.74	5.09	423.84	406.86
Vlla	-975970.28	-170.25	57.49	4.74	423.2	409.72
Vllb	-1263934.64	-174.15	54.13	5.63	438.83	423.34
Vllc	-1263934.65	-174.03	53.74	5.1	438.89	423.35
1a	-1033536.88	-179.61	48.29	7.19	444.49	429.31
1b	-1047430.32	-167.95	60	4.87	453.14	436.56
2a	-1288429.32	-172.43	55.46	6.05	456.7	441.4
2b	-1288429.33	-172.35	55.05	5.82	456.75	441.41
2c	-1058029.72	-175.29	52.98	7.95	462.07	447.3
2d	-1058031.64	-177.77	49.71	8.13	462.33	447.36
2e	-1071926.57	-168.69	56.71	5	470.05	454.46
2f	-1071924.93	-166.32	61.34	5.15	470.96	454.61
3a	-1312921.76	-172.45	55.45	6.02	473.63	459.12
3b	-1312921.77	-172.37	55.03	5.8	473.68	459.12
3c	-1082524.08	-177.76	49.71	8.08	479.24	465.07
3d	-1096419.01	-168.67	56.69	5.02	486.97	472.17
3e	-1096417.37	-166.33	61.34	5.21	487.88	472.32
4a	-1310202.67	-172.03	56.07	8.39	442.69	427.63
4b	-1310202.69	-172.04	55.57	7.39	442.72	427.63
4c	-1079798.42	-177.83	50.97	6.99	453.83	434.26
4d	-1079799.69	-182.96	44.94	7.27	454.68	434.29
4e	-1093696.25	-174.68	51.82	3.19	461.14	441.41
4f	-1093693.82	-171.12	57.34	3.3	463.36	441.5





Compuesto	PSA	OVALIDAD	DUREZA (kcal/mol)	LogP	
	(Å²)			(Ghose-Crippen)	χ
Vla	36.3984765	1.572	113.84	4.55	0.09
Vlb	36.4027576	1.596	114.145	5.11	0.1
Vlc	36.4116906	1.596	113.885	5.11	0.1
Vlla	36.2604673	1.586	113.87	4.97	0.09
Vllb	36.2481353	1.609	114.14	5.52	0.1
Vllc	36.2593704	1.61	113.885	5.52	0.1
1a	51.3725145	1.615	113.95	5	0.1
1b	43.0319761	1.628	113.975	4.84	0.09
2a	33.8015903	1.629	113.945	5.8	0.09
2b	33.8142306	1.629	113.7	5.8	0.09
2c	48.9263091	1.634	114.135	5.28	0.1
2d	48.9203121	1.634	113.74	5.28	0.1
2e	40.3990713	1.644	112.7	5.12	0.09
2f	40.6040601	1.647	113.83	5.12	0.08
3a	33.8385898	1.646	113.95	6.12	0.09
3b	33.8511888	1.646	113.7	6.12	0.09
3c	48.9578309	1.651	113.735	5.6	0.1
3d	40.4249031	1.661	112.68	5.44	0.09
3e	40.6328215	1.663	113.835	5.44	0.08
4a	45.6665118	1.613	114.05	4.49	0.09
4b	45.6716533	1.613	113.805	4.49	0.09
4c	65.7721389	1.636	114.4	3.96	0.1
4d	65.6524602	1.636	113.95	3.96	0.11
4e	57.2133759	1.645	113.25	3.8	0.1
4f	57.404152	1.653	114.23	3.8	0.09

a) Análisis de los orbitales frontera HOMO y LUMO.

Los datos recopilados en la Tabla 9 muestran que no existen variaciones en cuanto a los valores energéticos de los orbitales frontera HOMO y LUMO. Sin embargo, para este método de cálculo, encontramos que los valores energéticos para el LUMO de todos los compuestos, si bien son bajos, estos son positivos por lo que su capacidad como aceptores de electrones se verá disminuida, no obstante lo anterior, esto dependerá del valor energético del HOMO de la estructura con la que se quiera presentar la interacción para definir si es posible o no llevar a cabo el traslape de orbitales.

Los mapas de distribución de los orbitales frontera, muestran distribuciones asimétricas en ambos casos a lo largo del triciclo; para el caso del HOMO (Figura 57), se localizan zonas adicionales sobre el anillo de anilino que no están presentes en el LUMO (Figura 58).



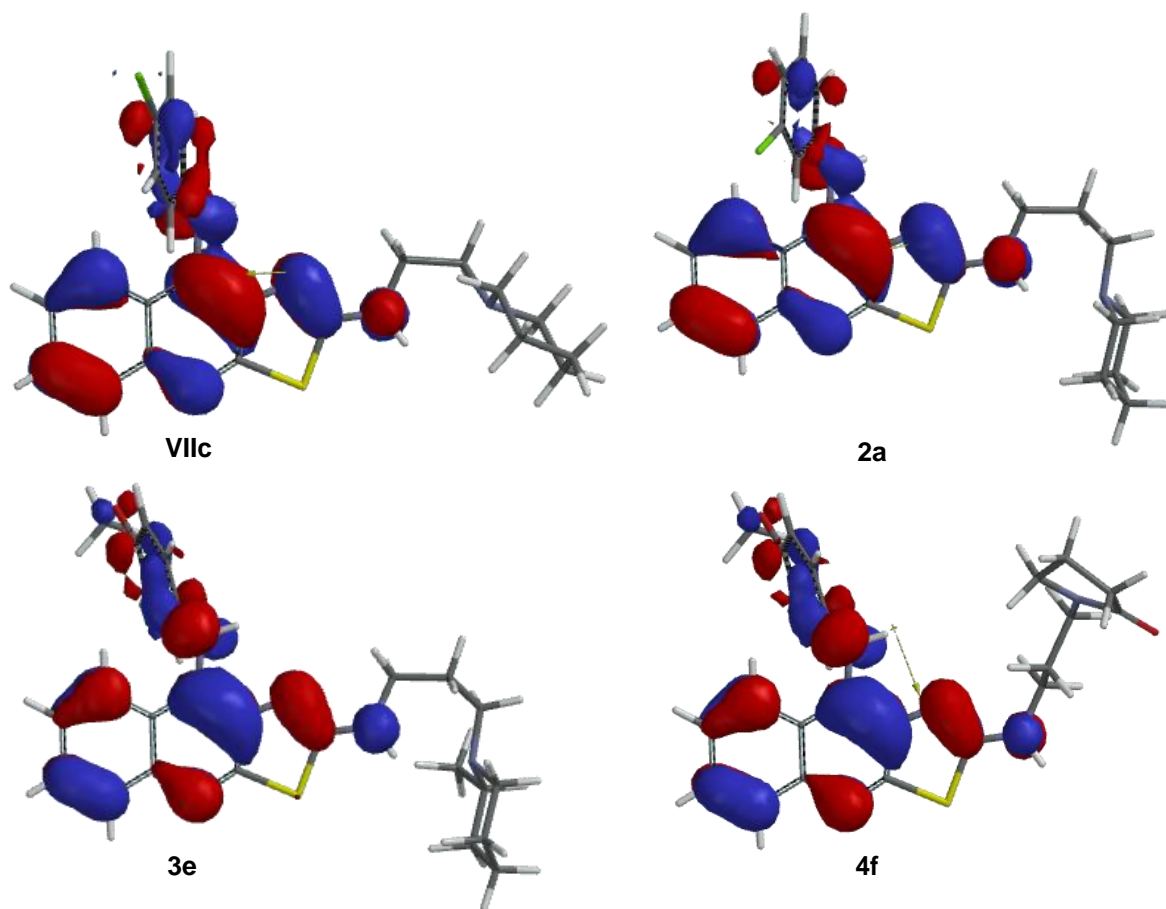


Figura 57. Gráficos del HOMO de los compuestos VIIc, 2a, 3e y 4f.

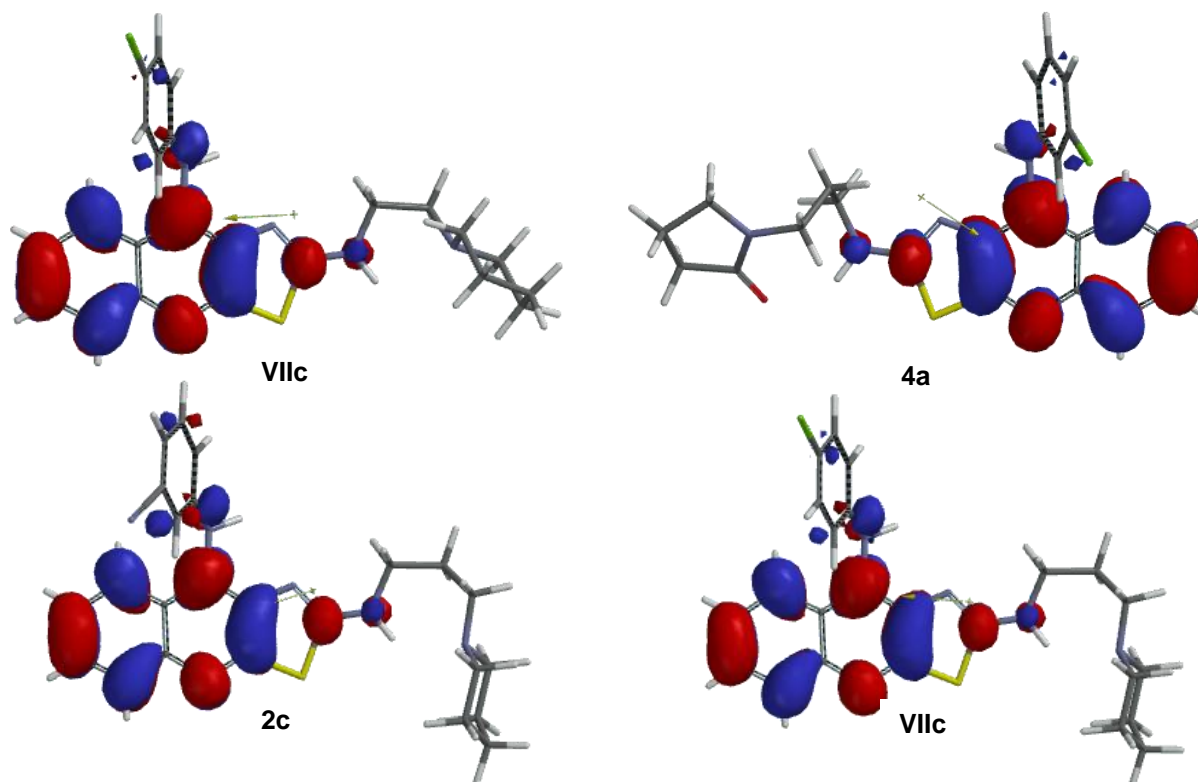


Figura 58. Gráficos del LUMO de los compuestos VIIc, 2b, 2c y 4a.





Una vez más esto da información acerca del posible mecanismo de acción, pues se encuentra ampliamente reportada la necesidad de sistemas poliaromáticos con al menos tres anillos, totalmente planares para la actividad de estos compuestos, y que es precisamente este sistema el que le permite interactuar con el ADN. Dado que el orbital LUMO está localizado a lo largo del sistema poliaromático esto ofrece gran capacidad para interactuar, vía complejos de transferencia de carga o traslape de orbitales, con las bases del ADN.

b) *Potencial Molecular Electrostático.*

Los mapas de PME muestran como se ha venido observando, las zonas calientes de la molécula localizadas sobre átomos electronegativos, pero es de llamar la atención que en este caso la concentración de las zonas calientes también se observa a lo largo del sistema aromático de la molécula (Figura 59), esto puede ser consecuencia de los valores energéticos de los orbitales frontera.

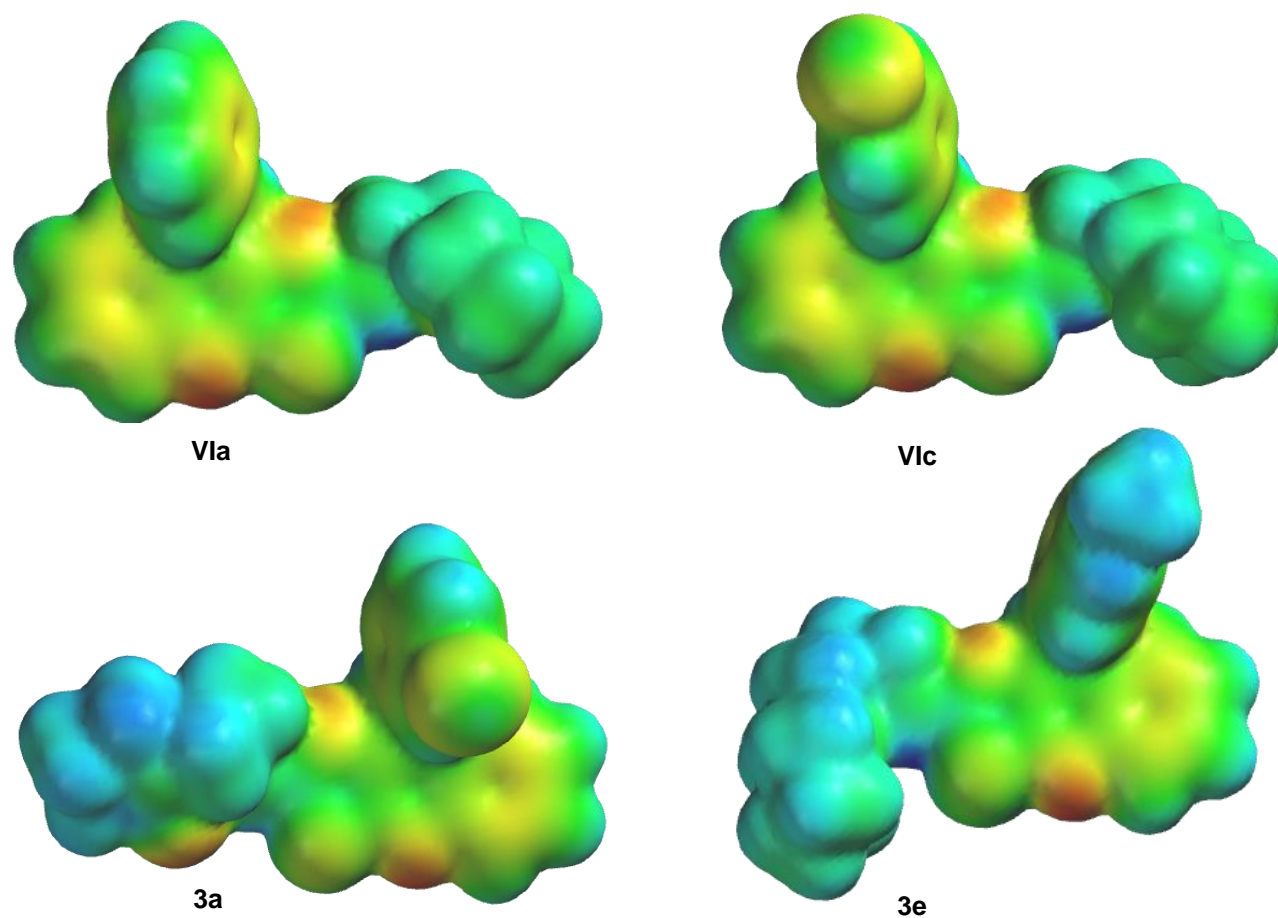


Figura 59. Mapas de PME de los compuestos VIa, VIc, 3a, y 3e.

El isopotencial mantiene una íntima relación con las posibles zonas importantes para la interacciones electrostáticas entre ligando-receptor. Para las moléculas analizadas su distribución se ve afectada por el tipo de sustituyente presente en el anillo de anilina (Figura 60), observándose las siguientes tendencias: grupos electroattractores lo polarizan hacia si mismos, por el contrario los grupos electrodonadores generan acumulación del isopotencial sobre el anillo de anilina, lo que podría ser un factor que se refleje sobre la actividad, ya que de manera general los sustituyentes electrodonadores mostraron ser los menos activos.



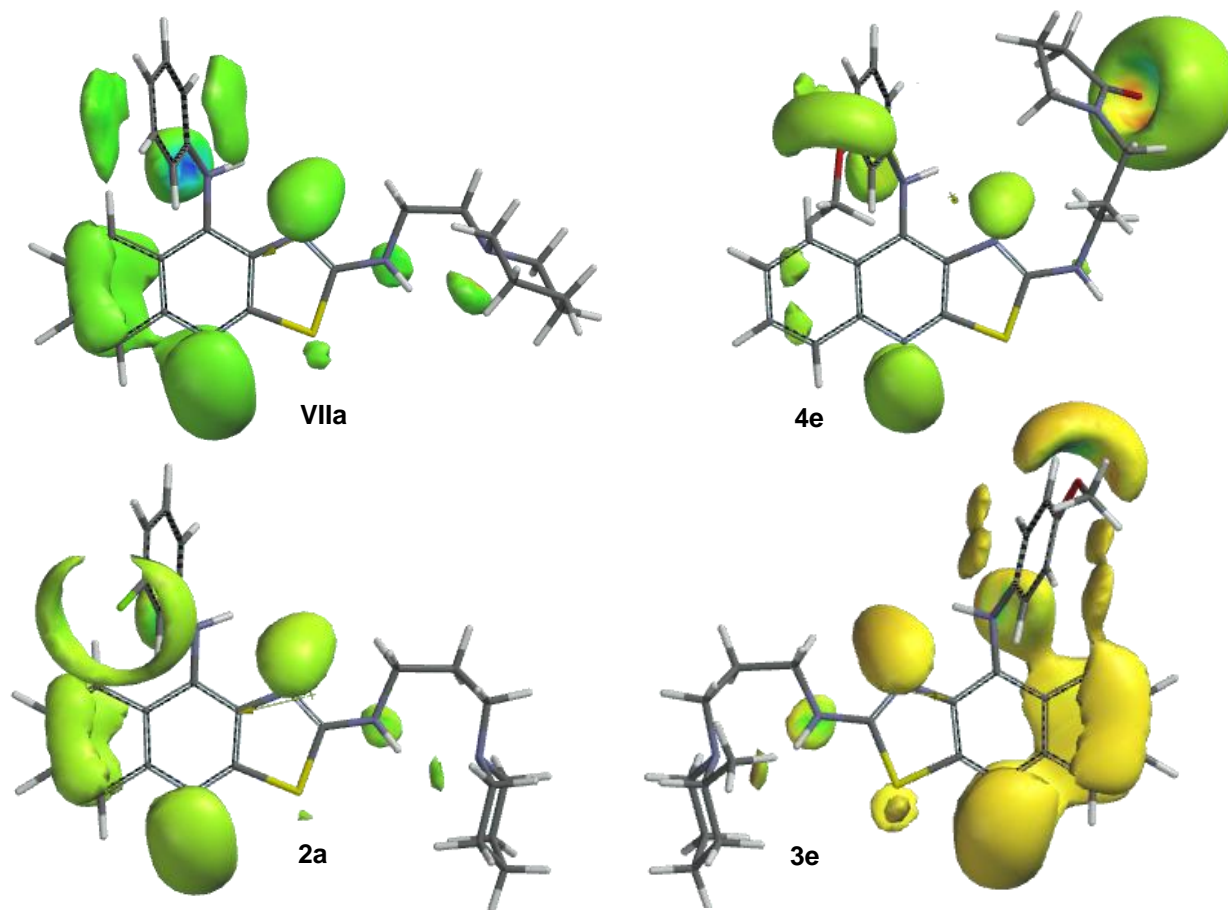


Figura 60. Gráficos de Isopotencial (-83.68 KJ/mol) de los compuestos VIIa, 2a, 3e, y 4e.

c) Magnitud y vector del momento dipolar.

De manera general, la orientación es prácticamente paralela al núcleo tricíclico, encontrándose ligeras desviaciones en función del tipo de sustituyente anclado en el anillo de anilina, es decir cuando no existen sustituyentes o estos son electrodonadores, el momento dipolar se orienta ligeramente hacia el núcleo tricíclico; mientras que cuando se incorporan sustituyentes electroattractores el dipolo sufre una ligera desviación hacia el anillo de anilina (Figura 61 y 62).

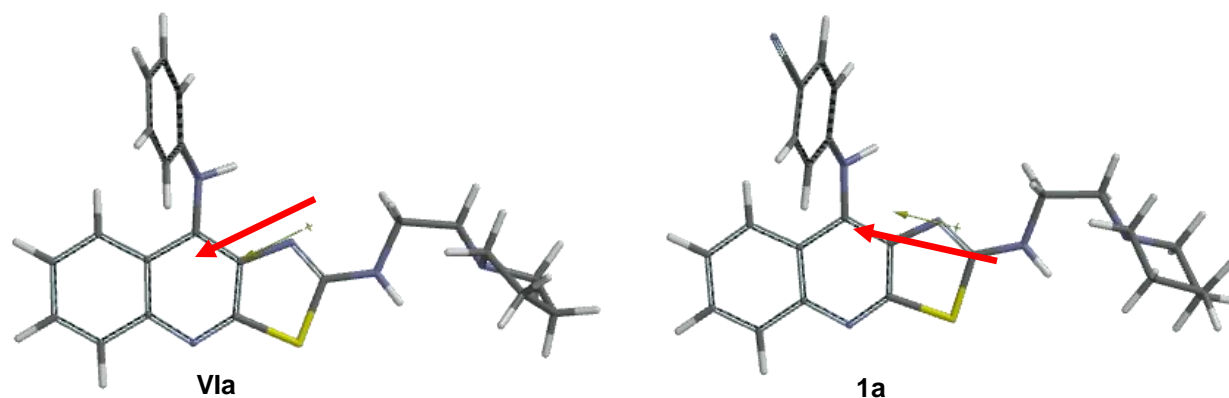


Figura 61. Dirección del momento dipolar de algunos compuestos analizados. VIa y 1a.



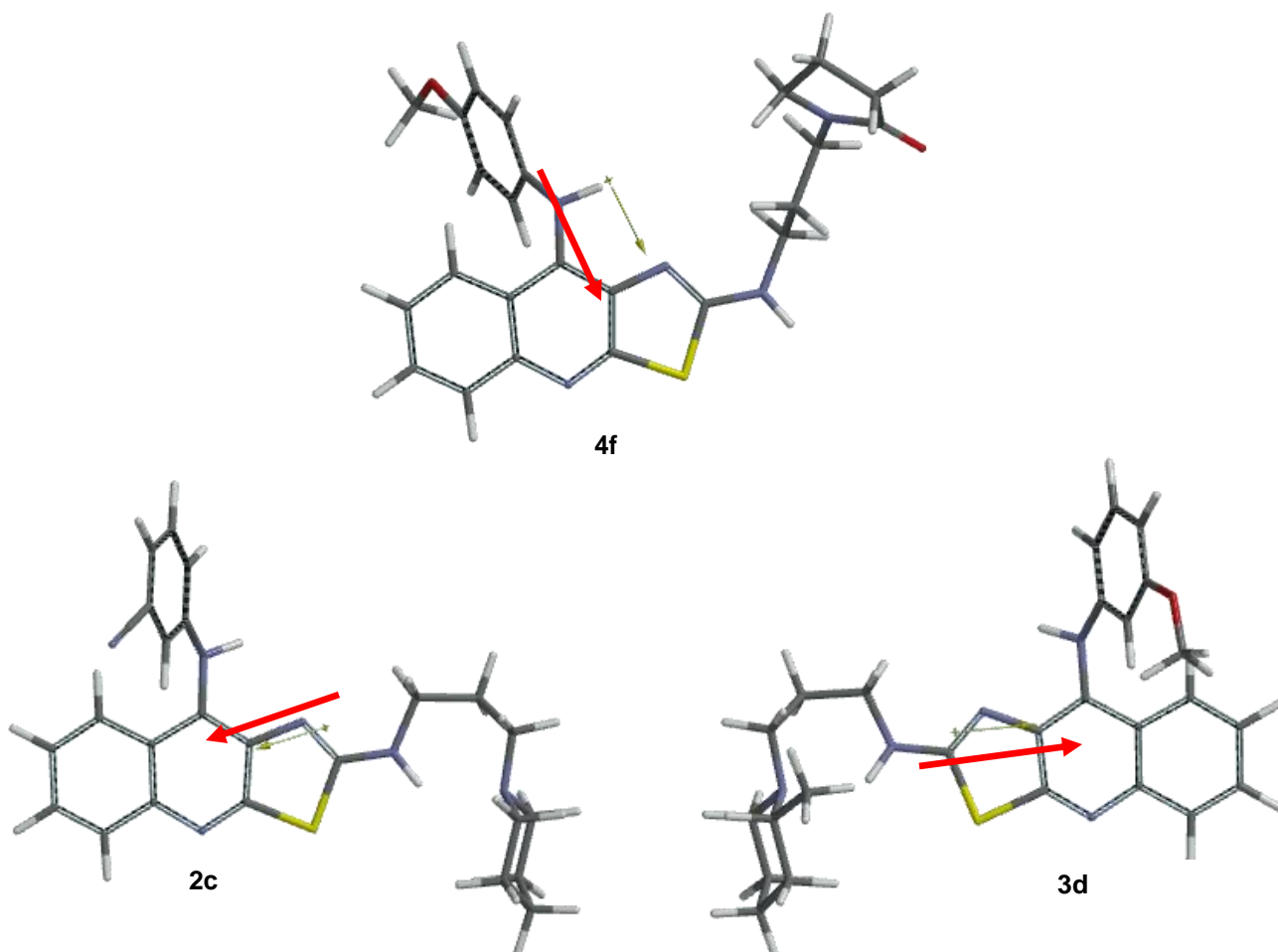


Figura 62. Orientación del vector de momento dipolar en relación con el sustituyente en el anilino.

Al parecer de entre todos los parámetros obtenidos mediante el modelado molecular, la orientación del vector de momento dipolar parece ser el que mejor correlaciona con la actividad citotóxica, puesto que es posible agrupar a los compuesto según su orientación, en aquellos que resultaron activos y los que no lo fueron (Figura 63).

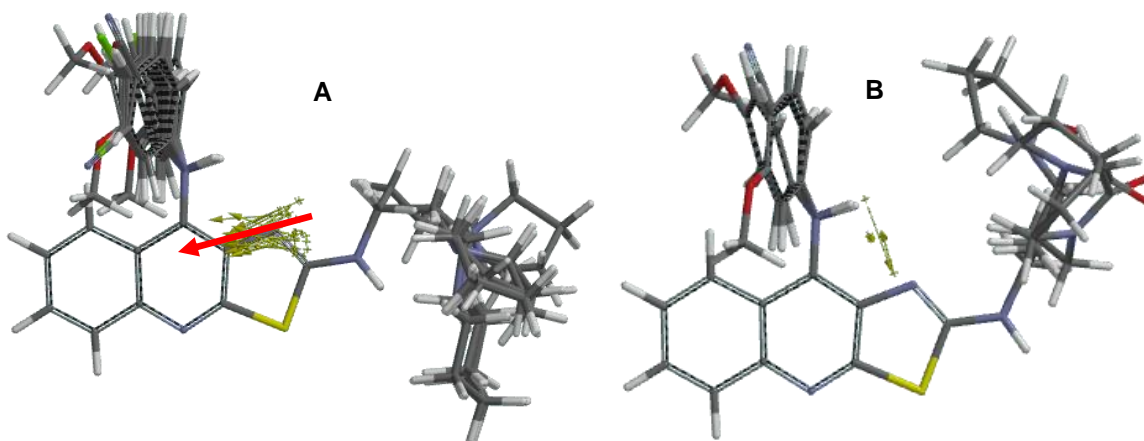


Figura 63. Agrupación de los compuestos, según la orientación del vector de momento dipolar.
A) Compuestos de las series VI, VII, 1, 2, y 3. B) Compuestos inactivos 4c, 4d, 4e y 4f.



6.3.2.3. DFT.

En la Tabla 10, se recopilan los valores de los descriptores moleculares calculados para los compuestos analizados mediante teoría de los funcionales de la densidad con un funcional híbrido B3LYP y una base doble Z con funciones polarizadas 6-31 G*.

Tabla 10. Descriptores moleculares calculados por medio de DFT B3LYP/6-31 G* para los compuestos analizados.

Compuesto	E (kcal/mol)	E HOMO (kcal/mol)	E LUMO (kcal/mol)	Dipolo (debye)	Área (Å ²)	Volumen (Å ³)
Vla	-956426.51	-116	-26.12	5.44	410.84	396.78
Vlb	-1244827.74	-120.46	-29.48	6.45	426.41	410.46
Vlc	-1244827.48	-119.7	-29.7	5.82	426.52	410.49
VIIa	-981100.77	-115.52	-25.81	5.45	426.19	413.48
VIIb	-1269501.97	-120.3	-29.32	6.58	441.9	427.13
VIIc	-1269501.75	-119.3	-29.44	6.04	441.95	427.16
1a	-1038986.13	-125.34	-35.62	8.35	447.14	433.01
1b	-1052963.81	-112.45	-23.8	5.14	456.21	440.55
2a	-1294173.05	-117.58	-27.2	7.25	459.49	445.19
2b	-1294172.93	-117.56	-27.77	6.88	459.54	445.15
2c	-1063655.72	-121.13	-30.15	9.48	464.67	451.04
2d	-1063655.72	-121.13	-30.15	9.48	464.67	451.04
2e	-1077636.38	-112.78	-24.98	5.87	473.05	458.42
2f	-1077634.83	-109.71	-21.77	5.56	473.68	458.58
3a	-1318841.68	-117.6	-27.19	7.24	476.72	463.09
3b	-1318841.53	-117.29	-27.67	6.87	476.58	463.00
3c	-1088326.06	-123.01	-33.65	9.52	481.92	468.94
3d	-1102304.97	-112.81	-24.96	5.88	490.19	476.29
3e	-1102303.43	-109.72	-21.81	5.61	490.93	476.51
4a	-1315967.38	-118.19	-27.52	9.01	444.84	431.21
4b	-1315967.42	-118.01	-28.02	8.09	444.89	431.23
4c	-1085444.21	-125.06	-33.36	7.75	456.82	438.19
4d	-1085445.15	-129.23	-39.12	7.05	458.01	438.22
4e	-1099425.93	-120.04	-31.31	3.32	463.52	445.5
4f	-1099423.51	-115.93	-27.27	3.26	466.85	445.72





Compuesto	PSA	OVALIDAD	DUREZA (kcal/mol)	LogP	
	(Å²)			(Ghose-Crippen)	χ
Vla	36.0738418	1.573	44.94	4.55	0.11
Vlb	35.9943845	1.596	45.49	5.11	0.12
Vlc	35.9484213	1.597	45	5.11	0.12
VIIa	35.6089091	1.588	44.855	4.97	0.11
VIIb	36.0835805	1.611	45.49	5.52	0.12
VIIc	35.9250849	1.611	44.93	5.52	0.12
1a	51.2864525	1.615	44.86	5	0.13
1b	43.1753851	1.629	44.325	4.84	0.11
2a	32.8444194	1.63	45.19	5.8	0.12
2b	33.0809446	1.63	44.895	5.8	0.12
2c	48.2208264	1.634	45.49	5.28	0.12
2d	48.2208264	1.634	45.49	5.28	0.12
2e	39.7408081	1.645	43.9	5.12	0.11
2f	39.7402561	1.647	43.97	5.12	0.1
3a	32.9211559	1.647	45.205	6.12	0.12
3b	33.0536148	1.647	44.81	6.12	0.12
3c	48.2127658	1.651	44.68	5.6	0.12
3d	39.8042765	1.662	43.925	5.44	0.11
3e	39.7981133	1.664	43.955	5.44	0.1
4a	44.7934081	1.612	45.335	4.49	0.12
4b	44.7037209	1.612	44.995	4.49	0.12
4c	66.2947531	1.637	45.85	3.96	0.13
4d	66.1676457	1.642	45.055	3.96	0.13
4e	57.7272053	1.643	44.365	3.8	0.12
4f	57.8751646	1.654	44.33	3.8	0.11

a) Análisis de las geometrías de equilibrio.

Un análisis de las geometrías de equilibrio calculadas para este método, reveló un aspecto importante que no se había observado con los estudios anteriores sobre estas moléculas, esto es, se puede identificar claramente la formación de un enlace de hidrógeno intramolecular en aquellas moléculas con una cadena lateral en la que se incorporan tres átomos de carbono, con una conformación de “escorpión” (Figura 64), si bien esta conformación había sido observada previamente con los otros métodos de cálculo, no se ponía de manifiesto la formación del enlace de hidrógeno por otra parte, en las moléculas sintetizadas en este trabajo, esta interacción solo se observa en aquellos compuestos con buena actividad citotóxica, por lo que para la serie **4** (con el anillo lactámico) únicamente es evidente en dos de las moléculas, que resultan ser las únicas de





dicha serie que presentan una actividad citotóxica moderada en comparación con el compuesto de referencia (*m*-AMSA). Lo anterior a su vez repercute en las zonas de distribución de los mapas de isotencial como se discutirá más adelante.

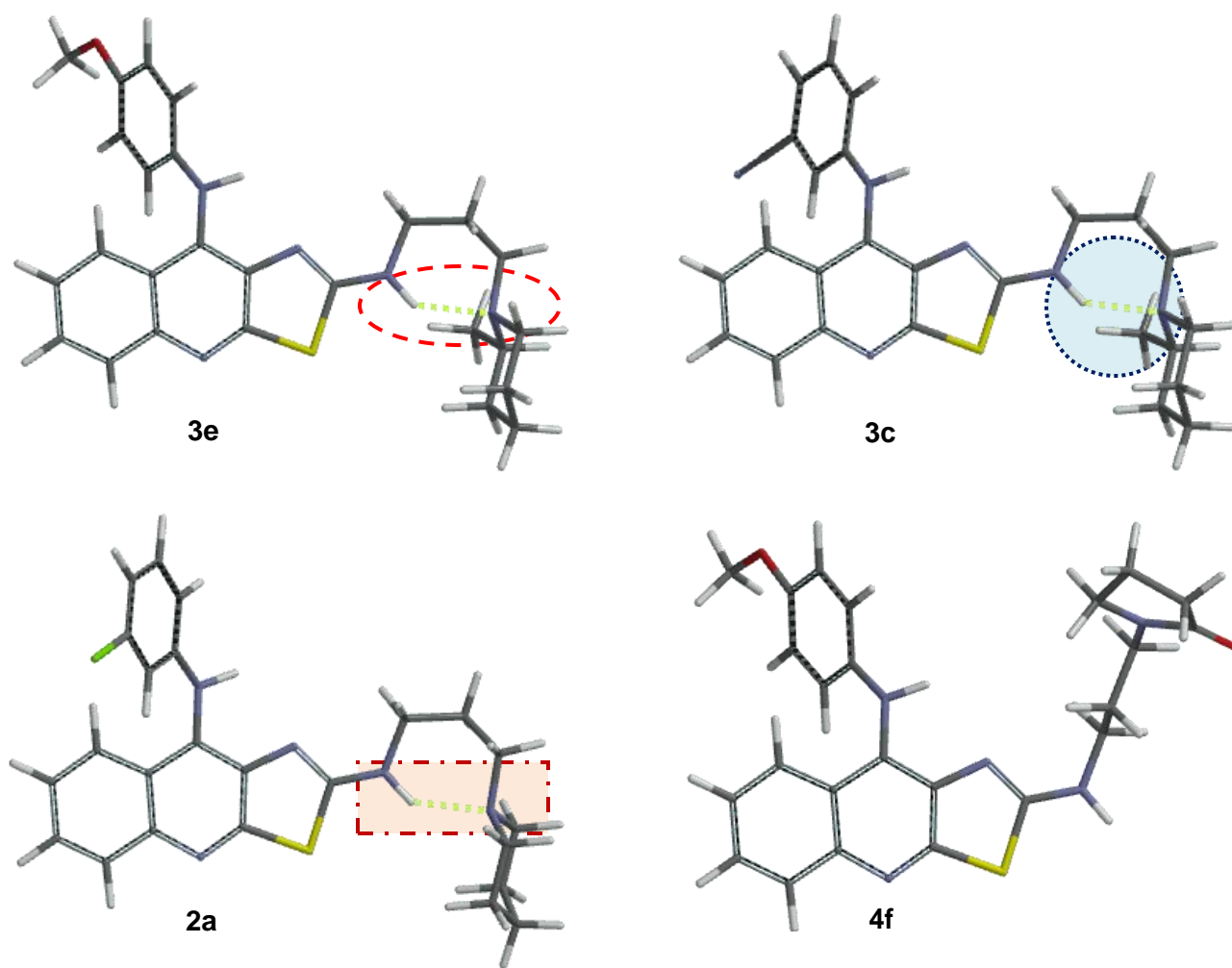


Figura 64. Geometrías de equilibrio calculadas por DFT, para los compuestos 2a, 3c, 3e y 4f. Las moléculas que presentan un enlace de hidrogeno intramolecular son representativos de los compuestos más activos.

b) Análisis de los Orbitales frontera HOMO y LUMO.

Lo más destacado de este cálculo son las energías negativas para el orbital LUMO de las moléculas, de esta manera pueden ser consideradas como electrófilos; para identificar las zonas de mayor contribución a este efecto más adelante se realiza el análisis de los mapas de los orbitales frontera.

La distribución de los orbitales del LUMO (Figura 65), se encuentra centrada a lo largo del triciclo principalmente y puede verse que resulta asimétrica, circunscrita hacia el anillo bencenoide de el sistema.



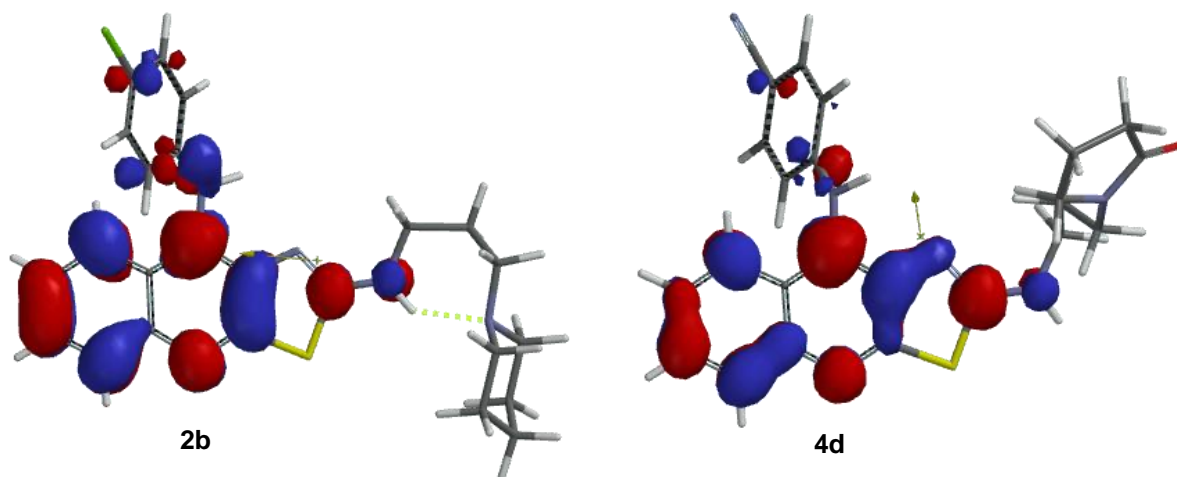


Figura 65. Gráficos de LUMO de los compuestos 2b y 4d.

En lo que respecta al HOMO (Figura 66), de igual manera se observa una distribución asimétrica a lo largo del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina y en este caso la distribución también se encuentra localizada sobre el anillo de anilina de la posición 9.

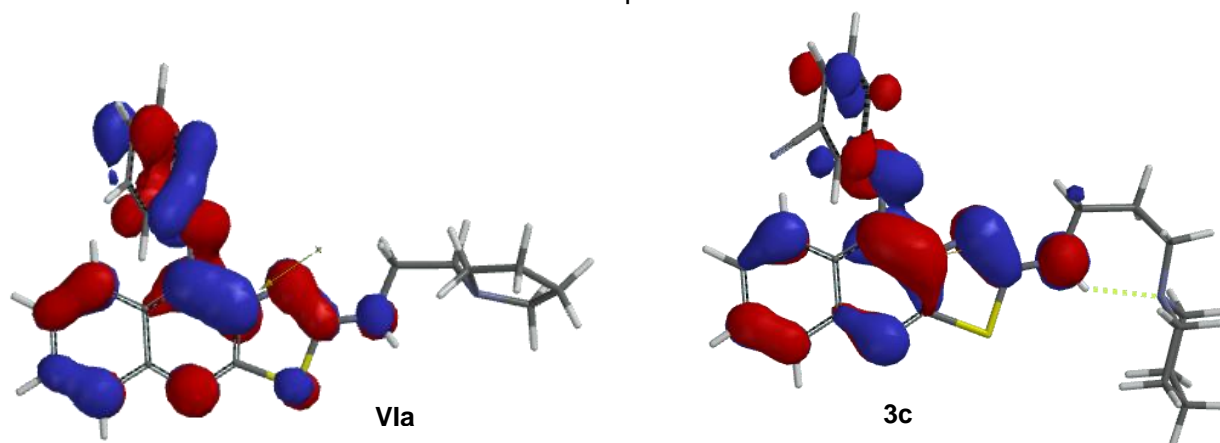


Figura 66. Gráficos de HOMO de los compuestos VIa y 3c.

De manera general para los orbitales HOMO y LUMO, se aprecia que los valores energéticos se encuentran íntimamente relacionados con la naturaleza del sustituyente en el anillo de anilina, valores menores corresponden a aquellos compuestos con grupos electroattractores en posición 3' ó 4'.

c) *Potencial Molecular Electrostático*

Los estudios realizados por Medhi y col.⁵⁶ sugieren que aunque la cadena lateral es importante para determinar la selectividad de los compuestos por ciertas secuencias del ADN, variaciones en el PME pueden afectar la afinidad. En general, se ha observado que las zonas de bajo potencial favorecen la interacción con el ADN, una vez más los complejos de transferencia de carga juegan un rol importante en dichas interacciones. Los compuestos analizados poseen sus zonas de bajo potencial concentradas a lo largo del sistema tricíclico, en la zona plana de la molécula, con ligeras concentraciones sobre los elementos más electronegativos resultando esenciales dichas zonas para formar interacciones que establezcan la unión ligando-ADN (Figura 67).

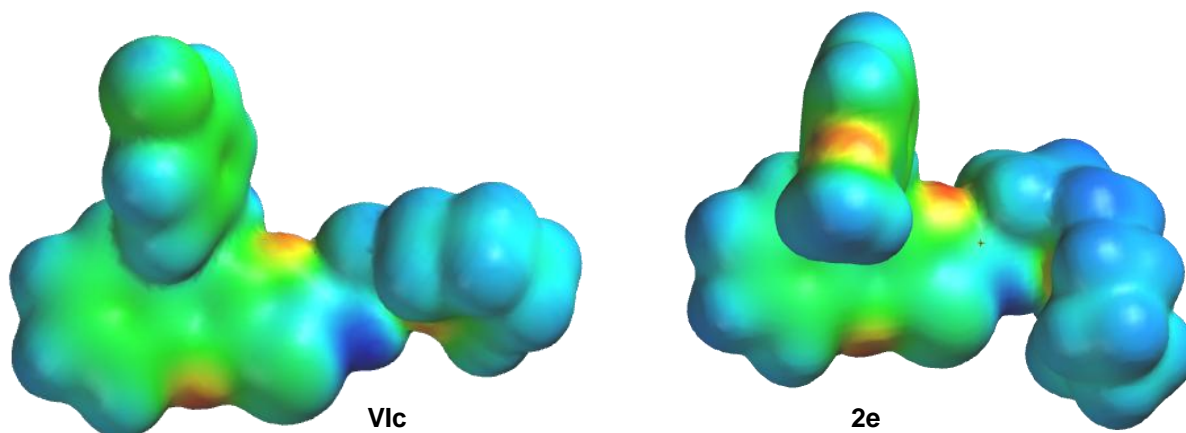


Figura 67. Mapas de PME de los compuestos VIc y 2e.

La distribución de la densidad de carga en los mapas de isopotencial molecular muestra la presencia de tres lóbulos a lo largo del triciclo, concentrados en el átomo de nitrógeno central; el nitrógeno del anillo de tiazol, y el anillo bencenoide. Respecto del resto de las zonas de potencial, éstas se encuentran localizadas en los demás átomos electronegativos de las diferentes moléculas (Figura 68).

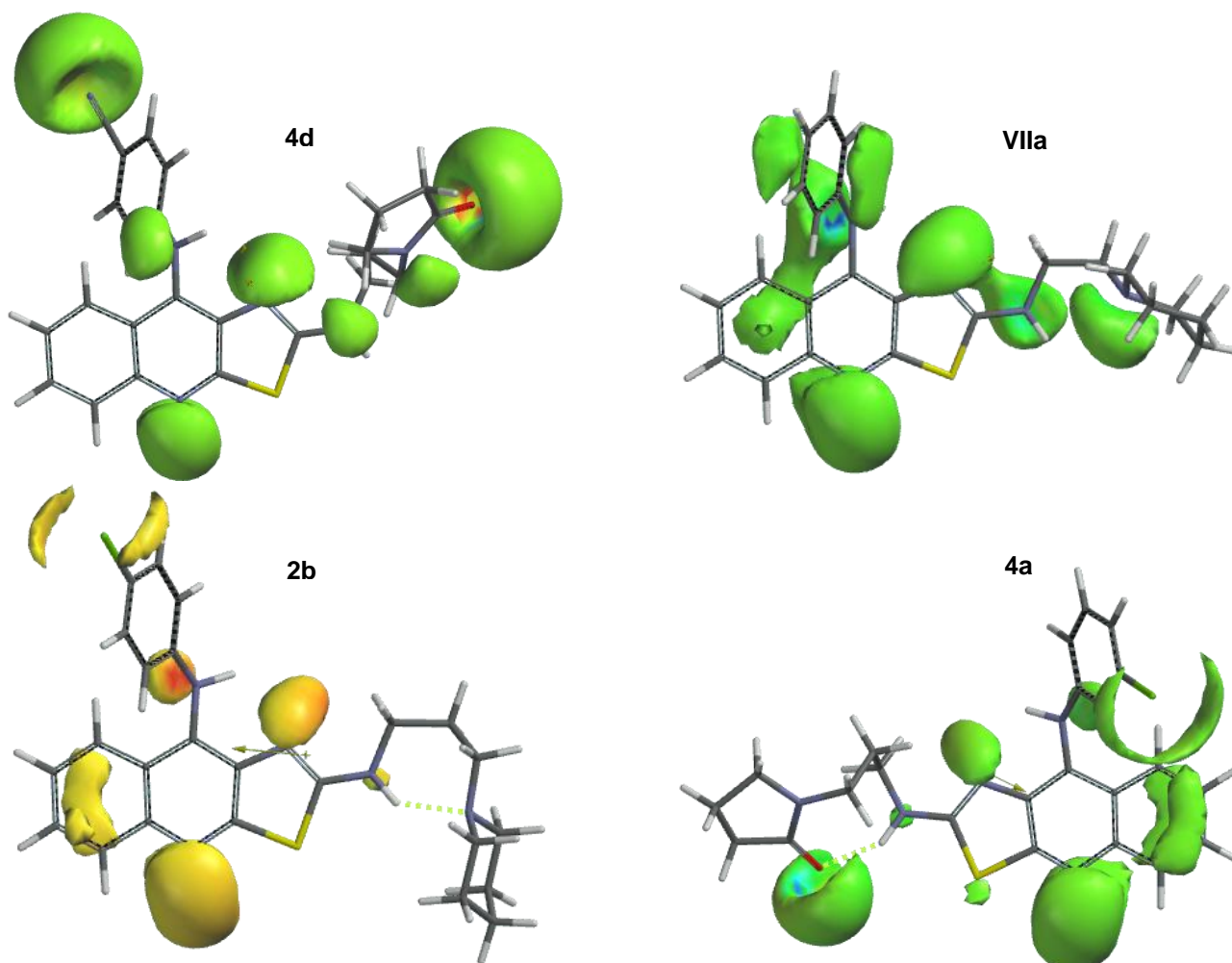


Figura 68. Mapas de Isopotencial (-83.68 KJ/mol), para los compuestos VIIa, 2b, 4a y 4d.





Un aspecto notable y que se especula que es consecuencia de la formación del puente de hidrógeno intramolecular, es que para los compuestos de las series **2-3**, que poseen tres átomos de carbono en la cadena lateral, la concentración de densidad electrónica sobre el nitrógeno alicíclico desaparece en aquellos que forman el puente de hidrógeno. Una posible explicación a este comportamiento es que dicha acumulación de carga podría ser distribuida a lo largo del enlace de hidrógeno formado.

d) Magnitud y orientación del vector de momento dipolar.

Como ya se mencionó, se ha reportado que el momento dipolar tiene una participación importante en la afinidad por los sitios de unión al ADN⁶, por lo que es importante considerarlo en este estudio. En los compuestos analizados, fue posible clasificar de manera similar al estudio con el método HF, a los compuestos en dos grupos dependiendo la orientación de su vector de momento dipolar y se observó que esto correlacionaba en buena medida con la actividad citotóxica (Figura 69). Dado que en todos los compuestos con buena actividad citotóxica, comparados con la referencia (*m*-AMSA), el vector de momento dipolar es prácticamente paralelo al sistema poliaromático, surge la interrogante de si este factor es decisivo en cuanto a la direccionalidad de la interacción con el sitio blanco, vía interacciones dipolo-dipolo complementarias, esto resulta muy interesante para ser analizado en estudios futuros.

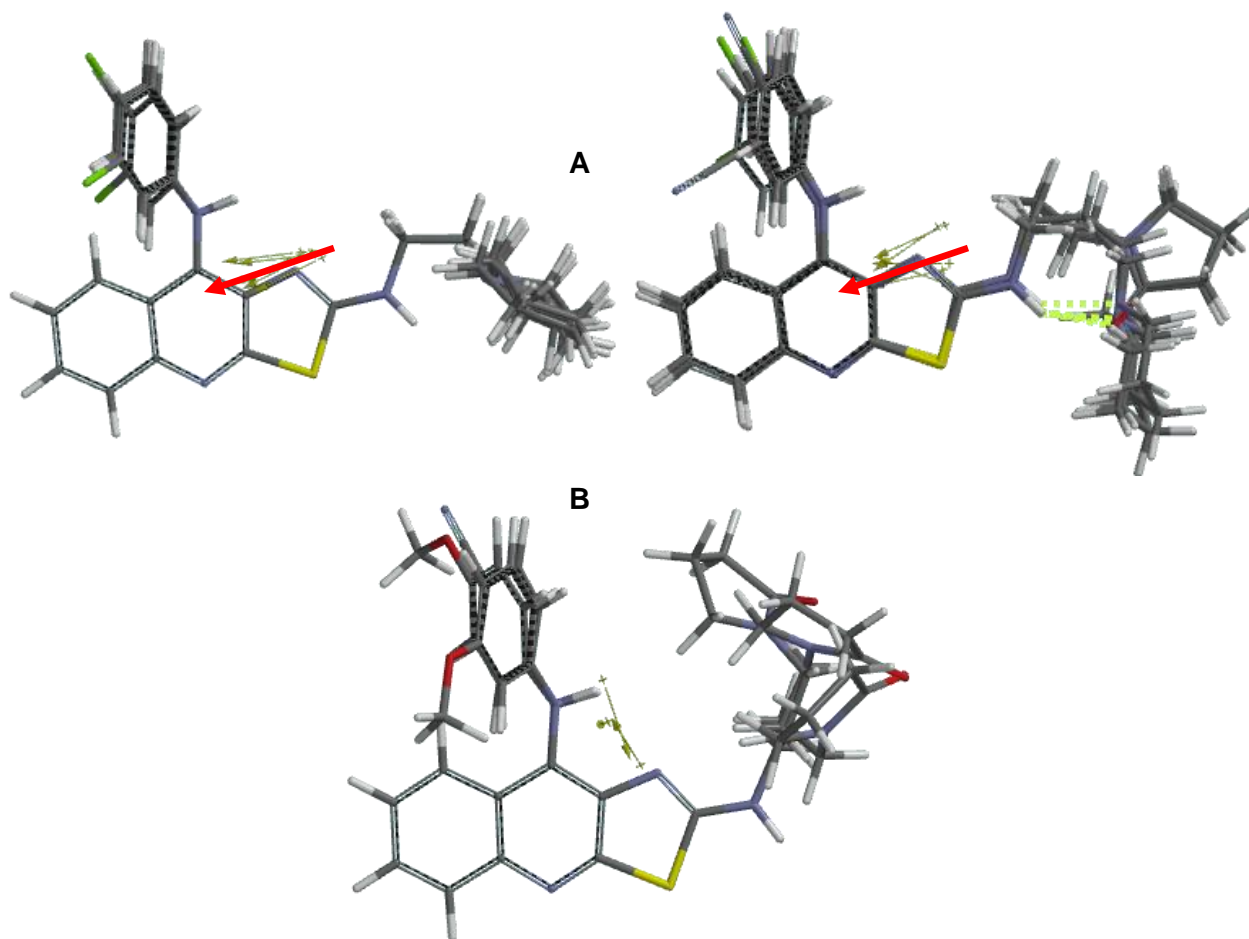


Figura 69. Grupos de compuestos según la orientación de su vector de momento dipolar, los compuestos del grupo A poseen mayor actividad citotóxica.

De manera general y para los compuestos de las series **1-3**, la orientación es prácticamente paralela al núcleo tricíclico, encontrándose ligeras desviaciones en función del tipo de sustituyente





presente en el anillo de anilina, es decir cuando no existen sustituyentes o estos son electrodonadores en posición 4', el momento dipolar se orienta ligeramente hacia el núcleo tricíclico, caso contrario sucede cuando se localizan en posición 3'; mientras que cuando se incorporan sustituyentes electroattractores en 4' el dipolo sufre una ligera desviación hacia el anillo de anilina, el efecto contrario se observa cuando la sustitución es 3' (Figura 70). Esto se puede racionalizar con base en una ligera competencia o cooperatividad (sustracción o adición vectorial, de los momentos dipolares locales generados por cada átomo y su contribución al momento dipolar total de la molécula), entre los sustituyentes del anillo de anilina y el átomo de nitrógeno central del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. Mientras que los grupos electrodonadores aumentan la densidad electrónica hacia el anillo de anilina, lo cual aumenta la densidad en la zona cercana al núcleo tricíclico, los grupos electroattractores lo atraen hacia ellos mismos lo que surte el efecto contrario, disminución de la densidad electrónica en el sistema tricíclico y orientación del momento dipolar hacia la parte "norte" de la molécula.

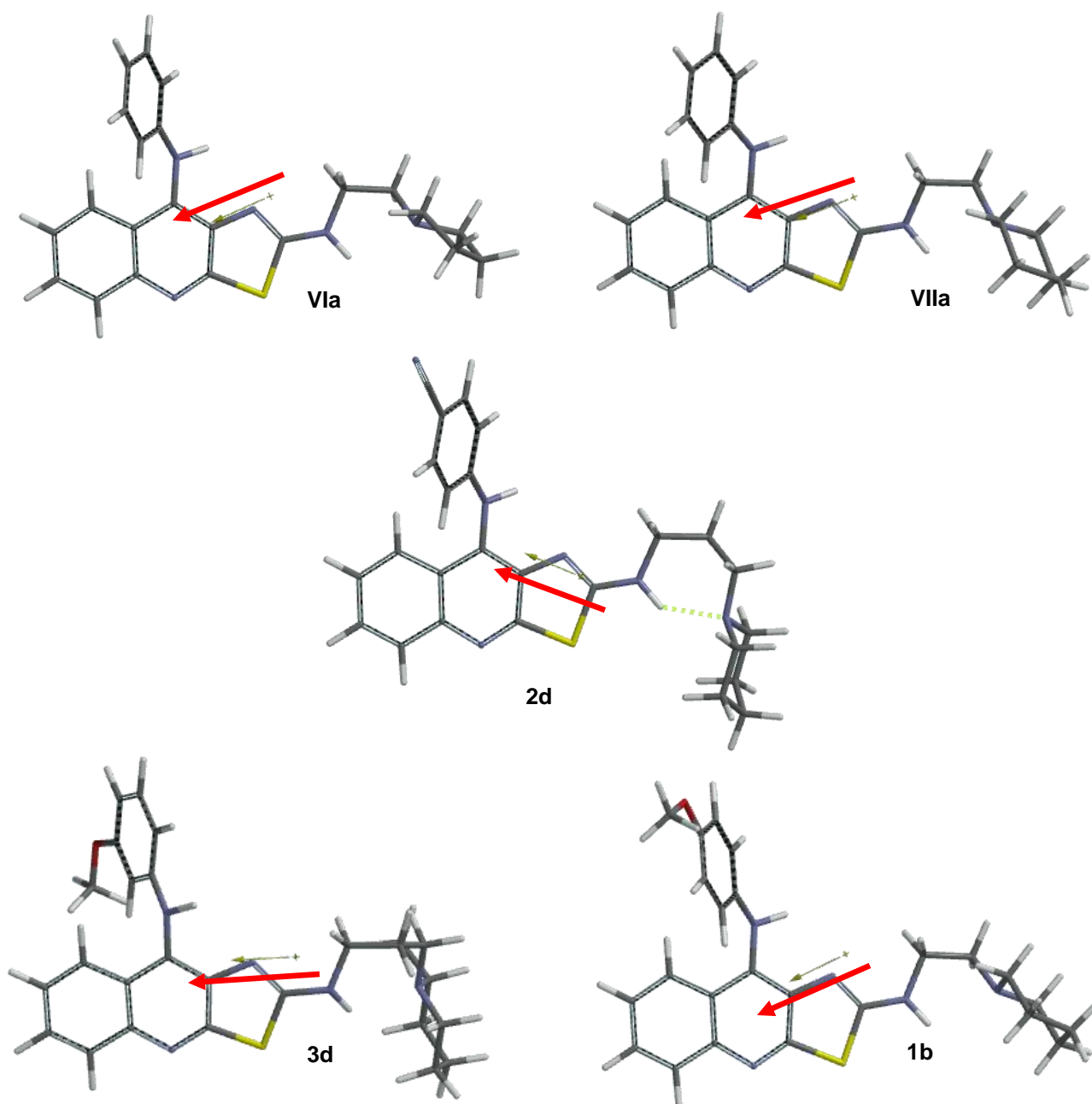


Figura 70. Orientación del vector del momento dipolar en relación con el sustituyente en el anilino.





Un análisis comparativo de los métodos de cálculo empleados en el análisis de estructura electrónica y las superficies de energía potencial electrostática, no muestra diferencias sensibles respecto de las geometrías de equilibrio obtenidas, la orientación del vector de momento dipolar y las principales zonas de concentración del potencial molecular electrostático; sólo son apreciables diferencias discretas en los mapas de isopotencial, pues las concentraciones de éste sobre el anillo bencenoide presenta diferencias menores, principalmente en AM1 respecto de HF y DFT. Otra diferencia que pudo ser observada al respecto es la región de isopotencial presente en el nitrógeno alicíclico, que en los mapas obtenidos por DFT desaparece. Si bien es cierto que los valores numéricos para todos los descriptores de tipo electrónico calculados difieren de un método a otro, es posible observar tendencias, similares en los tres métodos, que para el análisis que se desea realizar son de utilidad.

La única diferencia significativa entre los métodos empleados es la presencia de un puente de hidrogeno intramolecular en las geometrías de equilibrio calculadas con DFT, lo que también conlleva a la desaparición del lóbulo de potencial electrostático presente en el nitrógeno alicíclico que se observa con los otros métodos; este punto no hubiese sido notado con los otros métodos empleados y es información valiosa puesto que se ha observado que compuestos con conformaciones similares suelen presentar una mejor permeabilidad a través de membranas.

6.4. RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR).

Con la intención de establecer relaciones cuantitativas estructura-actividad citotóxica (QSAR por sus siglas en inglés) se analizaron los descriptores moleculares obtenidos en los estudios de modelado molecular (Tablas 8, 9 y 10), mediante el programa Build QSAR ®⁵⁷ para cada línea celular evaluada.

Se analizaron todos los parámetros obtenidos en función de la actividad citotóxica expresada como pCl_{50} ($\log 1/Cl_{50}$). Se plantearon posibles ecuaciones mediante el protocolo de búsqueda sistemática, realizando primeramente el cálculo de la matriz de correlación de los descriptores para determinar cuáles de ellos eran colineales y realizar simplificaciones al modelo, posteriormente se acotaron las condiciones mediante el número de parámetros utilizados para formular las ecuaciones (1, 2, 3, 4 y 5), así mismo que cumplieran con una correlación entre variable menor a 0.3 y un coeficiente de correlación (r^2) mayor a 0.70. Los compuestos de la serie 3, que son aquellos que se evaluaron como mezcla racémica no se incluyeron en este estudio.

6.4.1. HeLa, cáncer cervicouterino.

Las ecuaciones de correlación encontradas para esta línea celular se muestran a continuación, junto con sus respectivos parámetros estadísticos de regresión lineal múltiple que representan:

n= número de observaciones.

r= coeficiente de correlación múltiple.

s= estimación del error estándar.

F= prueba de Fisher con 95 % de confianza.

Q²= coeficiente cuadrado de predicción de correlación.





SPRESS= predicción del error estándar de la suma de cuadrados residual

Para los parámetros calculados mediante el método semiempírico de estructura electrónica AM1, se lograron obtener principalmente dos ecuaciones que satisfacían los requisitos impuestos:

$$pCl_{50} = -0.01371(\pm 0.04994)\text{LUMO} + 0.02287(\pm 0.12194)\text{DIPOLO} - 0.00335(\pm 0.00608)\text{VOLUMEN} + 0.38509(\pm 0.19277)\text{LogP} - 2.25564(\pm 3.036814)\dots\dots\dots(\text{ec.1})$$

(n=019; r=0.797; s=0.209; F=6.112; Q²=0.417; SPRESS=0.264)

La correlación de la actividad observada vs. la actividad pronosticada, se muestra en el Gráfico 5.

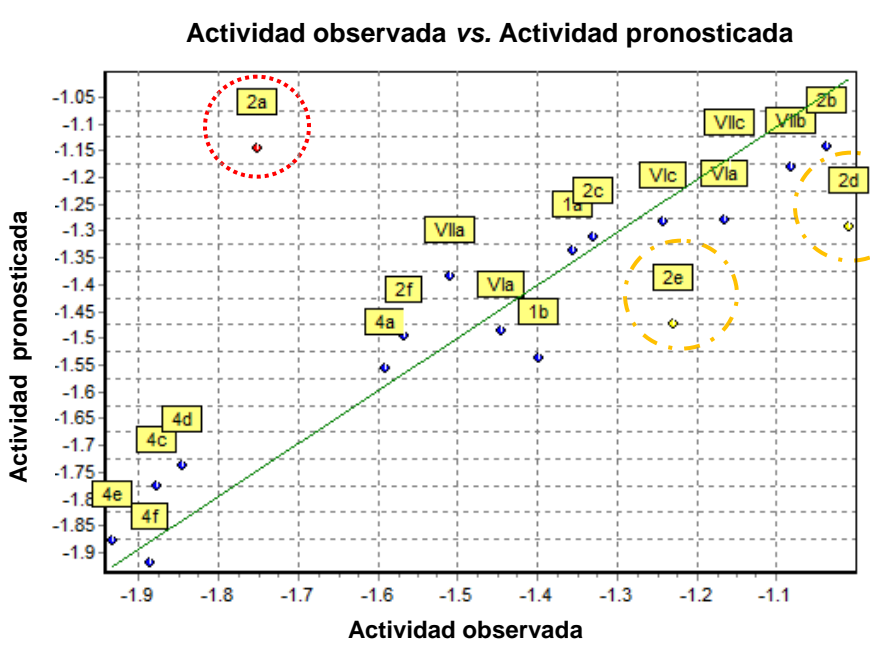


Gráfico 5. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 1.

Resulta evidente, al observar el gráfico existen tres compuestos que se encuentran fuera de los límites, pero en particular el compuesto **2a** se encuentra muy por encima, cuando éste es excluido del análisis la ecuación generada mejora sensiblemente:

$$pCl_{50} = -0.01214(\pm 0.02715)\text{LUMO} + 0.01600(\pm 0.06634)\text{DIPOLO} - 0.00203(\pm 0.00334)\text{VOLUMEN} + 0.47406(\pm 0.10965)\text{LogP} - 3.16499(\pm 1.683566)\dots\dots\dots(\text{ec. 2})$$

(n=018; r=0.946; s=0.113; F=27.738; Q²=0.449; SPRESS=0.258)



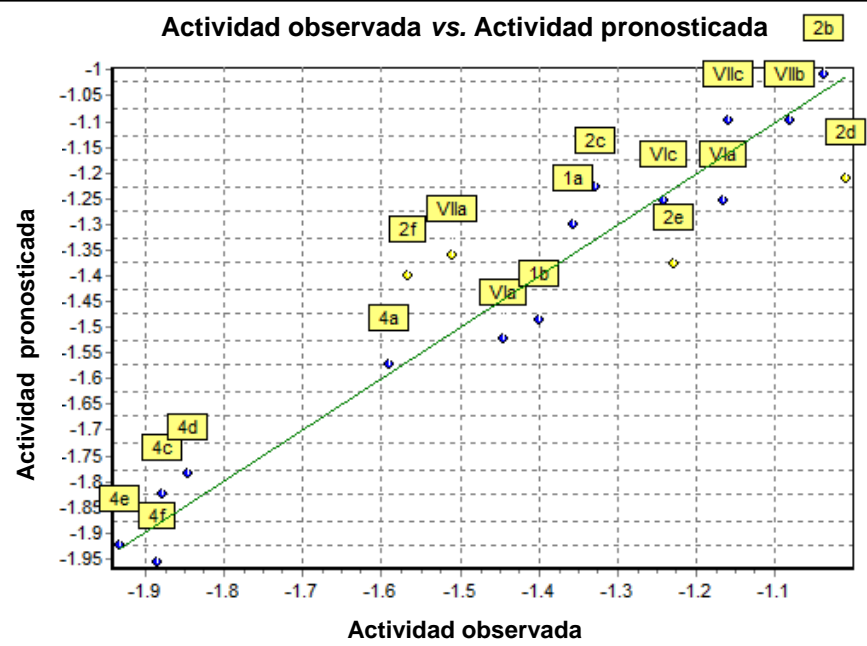


Gráfico 6. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 2.

La inclusión del PSA en la ecuación de correlación, no mejora de manera sensible los parámetros de regresión, pero se puede observar que de igual manera correlacionan.

$$pCI_{50} = -0.02213(\pm 0.10294) \mathbf{LUMO} + 0.02903(\pm 0.14278) \mathbf{DIPOLO} - 0.00242(\pm 0.01164) \mathbf{VOLUMEN} - 0.00456(\pm 0.04809) \mathbf{PSA} + 0.33900(\pm 0.52578) \mathbf{LogP} - 2.42011(\pm 3.610504) \dots \dots \dots (\text{ec. 3})$$

(n=019; r=0.798; s=0.216; F=4.563; Q²=0.361; SPRESS=0.287)

El gráfico 7, muestra la correlación obtenida por medio de la ecuación 3 para la actividad observada vs. la actividad pronosticada.

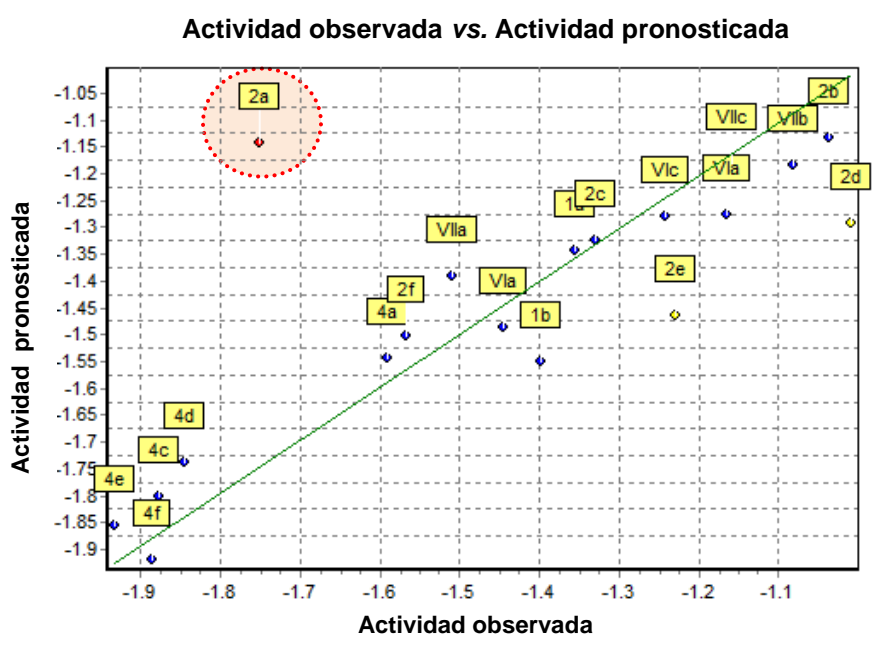


Gráfico 7. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 3.





Una vez más el compuesto **2a** se encuentra por encima de los límites aceptables, por lo que se excluye y se vuelve a calcular la ecuación de correlación:

$$pCl_{50} = -0.03272(\pm 0.05439)\text{LUMO} + 0.03095(\pm 0.07526)\text{DIPOLO} + 0.00026(\pm 0.00621)\text{VOLUMEN} \\ - 0.01115(\pm 0.02546)\text{PSA} + 0.36273(\pm 0.27725)\text{LogP} - 3.58085(\pm 1.948933)\dots\dots\dots(\text{ec. 4}) \\ (n=018; r=0.950; s=0.113; F=22.191; Q^2=0.282; SPRESS=0.307)$$

Evidentemente los parámetros de regresión mejoran de manera drástica cuando el compuesto **2a** es excluido del análisis, el gráfico 8 muestra la correlación de la actividad observada contra la pronosticada para la ecuación 4.

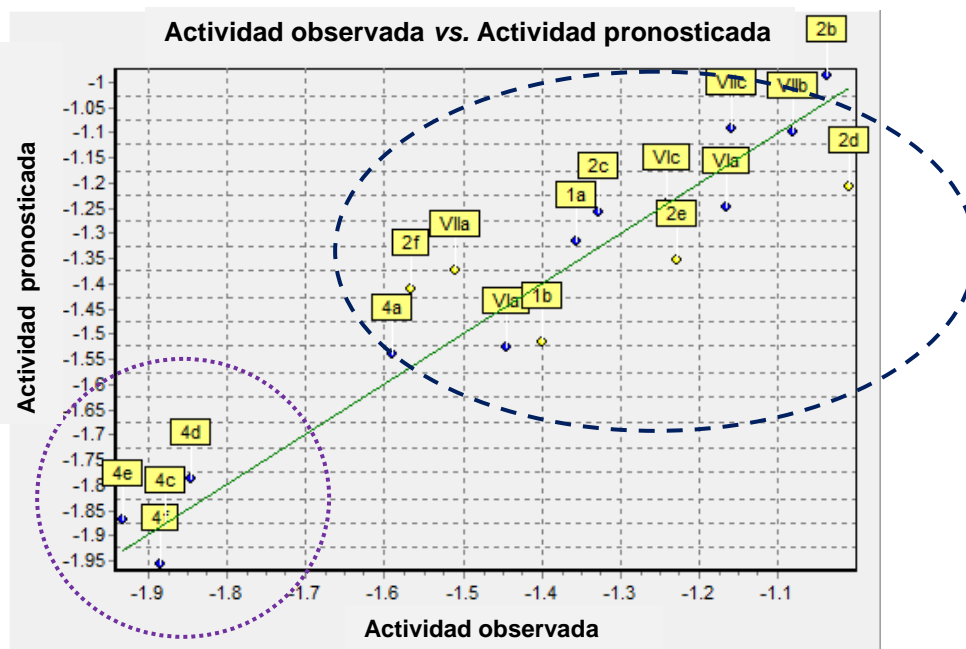


Gráfico 8. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 4.

Ahora bien, es claro en los gráficos que se encuentran dos grupos de compuestos, los que poseen buena actividad relativa y aquellos menos activos, que como era de esperarse, comprenden a los compuestos del grupo **4**, los que poseen un anillo γ -lactámico.

Además, si analizamos los valores de los coeficientes para cada descriptor resulta que aquel que posee más significancia es el asociado al logP, si se grafica el valor de pCl_{50} en función de este descriptor nos encontramos con la siguiente correlación (Gráfico 9):



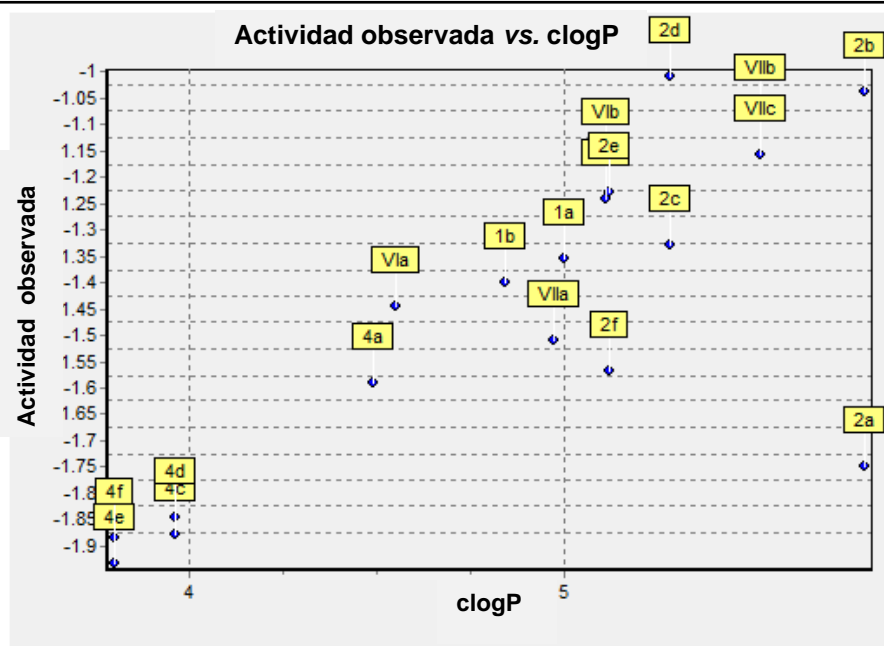


Gráfico 9. Actividad observada contra logP calculado (Ghose-Crippen).

Se aprecia claramente que los compuesto inactivos poseen un valor de logP menor a cuatro, aparentemente la actividad está guiada por su capacidad para atravesar membranas biológicas.

Ecuaciones y parámetros de regresión sumamente similares fueron obtenidos cuando dicho análisis se realizó con los descriptores obtenidos mediante el método HF/6-31G*.

$$pCl_{50} = -0.00666(\pm 0.03268)\text{LUMO} + 0.00683(\pm 0.08766)\text{DIPOLO} - 0.00328(\pm 0.00622)\text{VOLUMEN} \\ + 0.37389(\pm 0.18043)\text{LogP} - 1.53472(\pm 3.149857) \dots \dots \dots (\text{ec. 5}) \\ (n=019; r=0.795; s=0.210; F=6.022; Q^2=0.415; SPRESS=0.264)$$

Eliminando el compuesto **2a** del análisis:

$$pCl_{50} = -0.00832(\pm 0.01770)\text{LUMO} - 0.00145(\pm 0.04754)\text{DIPOLO} - 0.00187(\pm 0.00340)\text{VOLUMEN} \\ + 0.47008(\pm 0.10362)\text{LogP} - 2.43975(\pm 1.735667) \dots \dots \dots (\text{ec. 6}) \\ (n=018; r=0.946; s=0.113; F=27.722; Q^2=0.575; SPRESS=0.227)$$

Cuando se incorpora en análisis de regresión lineal múltiple el área polar superficial, se obtiene la siguiente ecuación para los descriptores calculados con el método basado en la función de onda:

$$pCl_{50} = -0.01126(\pm 0.05550)\text{LUMO} + 0.01207(\pm 0.10412)\text{DIPOLO} - 0.00221(\pm 0.01214)\text{VOLUMEN} \\ - 0.00521(\pm 0.04968)\text{PSA} + 0.30818(\pm 0.65383)\text{LogP} - 1.22489(\pm 4.415882) \dots \dots \dots (\text{ec. 7}) \\ (n=019; r=0.796; s=0.217; F=4.501; Q^2=0.359; SPRESS=0.287)$$

Una vez más si dejamos fuera al compuesto **2a**, los parámetros de correlación mejoran sensiblemente:





$pCl_{50} = -0.01954(\pm 0.02904)$ **LUMO** $+0.01114(\pm 0.05420)$ **DIPOLO** $-0.00078(\pm 0.00641)$ **VOLUMEN**
 $-0.01269(\pm 0.02600)$ **PSA** $+0.31191(\pm 0.34034)$ **LogP** $-1.70222(\pm 2.304943)$ (ec. 8)
 (n=018; r=0.951; s=0.112; F=22.589; $Q^2=0.559$; SPRESS=0.240)

Únicamente, una ecuación adicional surgió en este caso que fue considerada como satisfactoria, obteniéndose los mejores parámetros de regresión, la predicción se muestra en la gráfica 10:

$pCl_{50} = +0.02767(\pm 0.10409)$ **DIPOLO** $+0.00147(\pm 0.01284)$ **VOLUMEN** $-0.01741(\pm 0.04669)$ **PSA**
 $+0.15587(\pm 0.63165)$ **LogP** $+15.27023(\pm 27.61656)$ **ELECTRONEGATIVIDAD**
 $-3.67368(\pm 4.257138)$ (ec. 9)
 (n=019; r=0.815; s=0.208; F=5.156; $Q^2=0.383$; SPRESS=0.282)

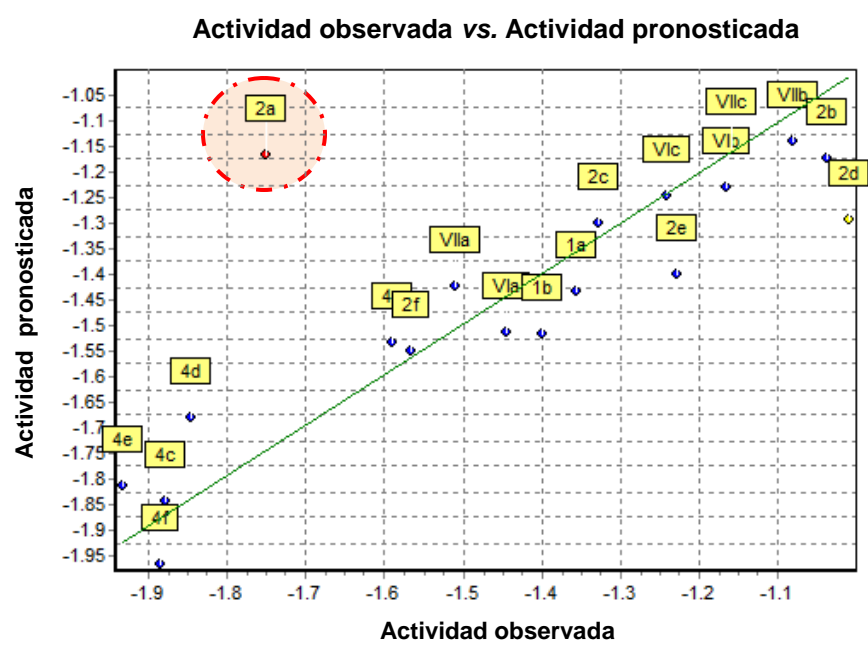


Gráfico 10. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 9.

Una vez más se aprecia en el gráfico la poca correlación que demuestra el compuesto **2a**, excluyéndolo nuevamente, se obtiene una mejor ecuación de correlación:

$pCl_{50} = +0.02133(\pm 0.05537)$ **DIPOLO** $+0.00175(\pm 0.00683)$ **VOLUMEN** $-0.01383(\pm 0.02485)$ **PSA**
 $+0.28543(\pm 0.33908)$ **LogP** $+11.39532(\pm 14.74718)$ **ELECTRONEGATIVIDAD**
 $-4.14590(\pm 2.269337)$ (ec. 10)
 (n=018; r=0.953; s=0.110; F=23.781; $Q^2=0.635$; SPRESS=0.219)



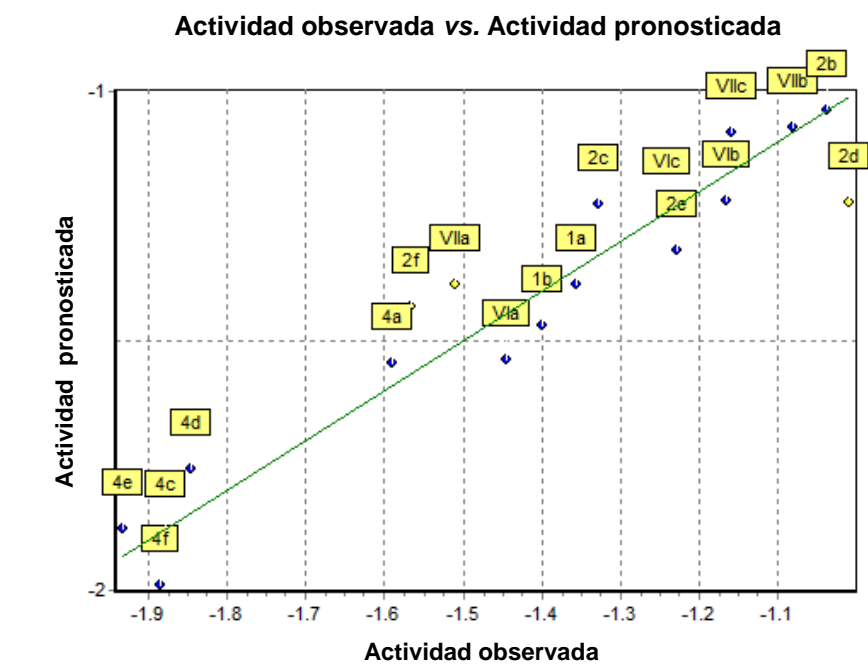


Gráfico 11. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea HeLa, obtenida con la ecuación 10.

En vista de que es claro (según lo analizado hasta el momento), de que el compuesto **2a** no se ajusta por completo a las ecuaciones de correlación y puesto que es el único que posee este tipo de desviación, en adelante se practica un cálculo de correlación adicional excluyendo a este compuesto.

Una vez más, las ecuaciones obtenidas mediante el uso de los descriptores calculados con teoría de funcionales de la densidad, dan por resultados ecuaciones equivalentes a las anteriormente encontradas con el uso de los descriptores calculados por medio del método semiempírico y el basado en la función de onda.

Ecuaciones obtenidas con los descriptores obtenidos mediante DFT:

$$pCl_{50} = -0.00025(\pm 0.03300)\text{LUMO} + 0.01608(\pm 0.07714)\text{DIPOLO} - 0.00336(\pm 0.00627)\text{VOLUMEN} + 0.35214(\pm 0.20986)\text{LogP} - 1.81836(\pm 3.255447) \dots \dots \dots (\text{ec. 11})$$

(n=019; r=0.793; s=0.211; F=5.935; Q²=0.411; SPRESS=0.265)

Excluyendo **2a**:

$$pCl_{50} = -0.00318(\pm 0.01830)\text{LUMO} + 0.00744(\pm 0.04282)\text{DIPOLO} - 0.00189(\pm 0.00351)\text{VOLUMEN} + 0.45708(\pm 0.12255)\text{LogP} - 2.96132(\pm 1.851592) \dots \dots \dots (\text{ec. 12})$$

(n=018; r=0.943; s=0.116; F=26.083; Q²=0.558; SPRESS=0.231).

Incorporando en la ecuación el área polar superficial (PSA):

$$pCl_{50} = -0.00765(\pm 0.06344)\text{LUMO} + 0.00950(\pm 0.09171)\text{DIPOLO} - 0.00517(\pm 0.01385)\text{VOLUMEN} - 0.00797(\pm 0.05379)\text{PSA} + 0.45297(\pm 0.71450)\text{LogP} - 1.60667(\pm 3.676199) \dots \dots \dots (\text{ec. 13})$$

(n=019; r=0.795; s=0.218; F=4.463; Q²=0.346; SPRESS=0.290)





Eliminando a **2a**:

$$pCl_{50} = -0.00851(\pm 0.03572)\text{LUMO} + 0.01174(\pm 0.05084)\text{DIPOLO} - 0.00066(\pm 0.00787)\text{VOLUMEN} \\ - 0.00534(\pm 0.03026)\text{PSA} + 0.39079(\pm 0.39677)\text{LogP} - 3.11665(\pm 2.120398) \dots\dots\dots(\text{ec. 14}) \\ (n=018; r=0.944; s=0.120; F=19.523; Q^2=0.539; SPRESS=0.246).$$

Los parámetros que mejor correlacionan con la actividad de los compuestos analizados sobre esta línea celular, son principalmente cinco:

- LUMO, de forma negativa en todas la ecuaciones, lo cual quiere decir que a menor energía de este orbital, la actividad se verá incrementada, lo que está de acuerdo con lo anteriormente planteado sobre la interacción con el ADN.
- Volumen, en la mayoría de las ecuaciones encontradas, este parámetro actúa de forma negativa, lo que nos hace pensar que entre menor sea el volumen de la molécula esta será más activa, situación que se encuentra íntimamente ligada con la conformación adquirida y con el paso a través de las membranas.
- LogP. De forma positiva, es decir a mayor logP mayor actividad, este hecho debe de tomarse con precaución en un ulterior diseño de compuestos que se pretenda sean más activos, pues es cierto que se predice que a mayor valor del coeficiente de partición se tendrá mayor actividad, pero esto puede ocasionar problemas de solubilidad, como ya se expuso con anterioridad.
- PSA, en todos los casos este parámetro tiene una correlación negativa. Esto es moléculas con un valor elevado de PSA tendrán menor actividad, como aquellos con el anillo lactámico. Esto era de esperarse pues se encuentra ampliamente reportado que el PSA se encuentra íntimamente ligado con la permeabilidad y que moléculas con valores elevados de este descriptor poseen poca permeabilidad celular.⁵⁸
- Dipolo. La mayor parte de las ecuaciones en donde está presente, correlaciona de manera positiva, pero como se comentó anteriormente (sección 6.3.3.1), parece que es más importante la orientación y sentido del vector que la propia magnitud.

En vista de que es evidente la equivalencia en las ecuaciones de correlación para los tres métodos de cálculo empleados, puesto que las tendencias descritas con anterioridad para los descriptores calculados son similares para ellos, en adelante sólo se mostrarán las ecuaciones de correlación con los mejores parámetros de correlación, haciendo hincapié en que la diferencia es mínima en cuanto a las encontradas con los otros métodos de cálculo.

6.4.2. SW-620, adenocarcinoma colorrectal.

Para esta línea celular la mejor ecuación obtenida fue utilizando los descriptores moleculares calculados con el método *ab initio* HF/6-31 G*:

$$pCl_{50} = -0.01953(\pm 0.16507)\text{DIPOLO} - 0.04259(\pm 0.05927)\text{PSA} - 0.11367(\pm 0.71122)\text{LogP} \\ + 9.53997(\pm 12.53467)\text{OVALIDAD} + 46.92977(\pm 32.96008)\text{ELECTRONEGATIVIDAD} \\ - 17.29167(\pm 17.482855) \dots\dots\dots(\text{ec. 15}) \\ (n=016; r=0.868; s=0.174; F=4.567; Q^2=0.131; SPRESS=0.373).$$

La predicción lograda con esta ecuación se muestra en el gráfico 12.



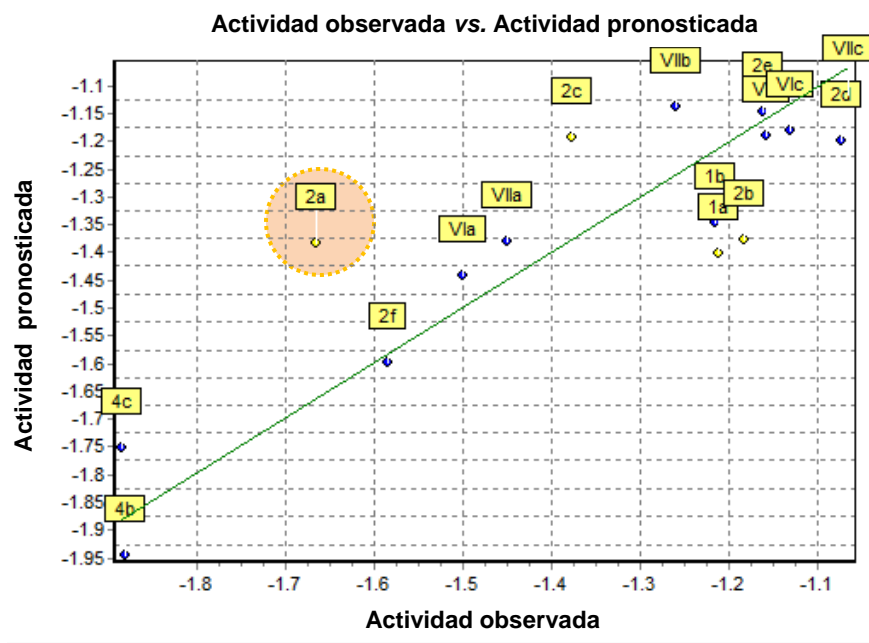


Gráfico 12. Actividad observada vs. Act. pronosticada en la línea SW-620, obtenida con la ecuación 15.

Si eliminamos al compuesto **2a**, obtenemos la siguiente ecuación, lo que da por resultado un mejor ajuste:

$$\text{pCl}_{50} = -0.02296(\pm 0.13349) \text{DIPOLO} - 0.03179(\pm 0.04891) \text{PSA} + 0.07974(\pm 0.60125) \text{LogP} \\ + 7.24550(\pm 10.34605) \text{OVALIDAD} + 36.82314(\pm 28.18559) \text{ELECTRONEGATIVIDAD} \\ - 14.35792(\pm 14.383381) \dots \dots \dots (\text{ec. 16}) \\ (n=015; r=0.920; s=0.139; F=7.382; Q^2=0.220; \text{SPRESS}=0.313).$$

El gráfico 13 muestra la correlación obtenida al realizar este ajuste.

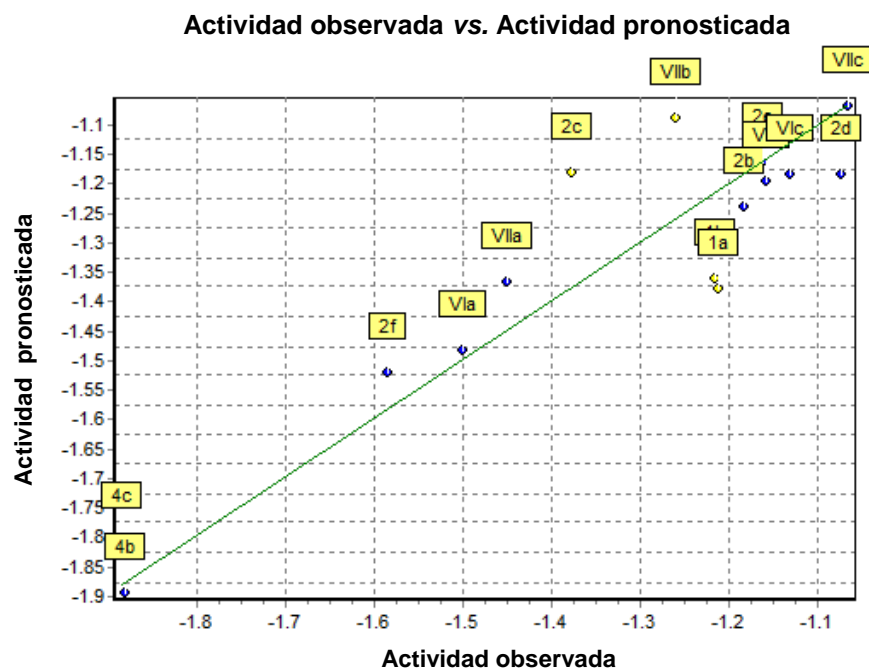


Gráfico 13. Actividad observada vs. Act. pronosticada en la línea SW-620, obtenida con la ecuación 16.





Por un lado, llama la atención que en la mejor ecuación encontrada para esta línea celular los parámetros del dipolo y el logP (principalmente este último), tengan una contribución negativa a la actividad, pues esto indica que a mayor valor de los mismos, la actividad será menor y se ha venido observando lo contrario en muchos casos. Por otro lado, podría pensarse que esta contribución negativa a la actividad se presenta cuando se tienen valores muy elevados, pues el coeficiente asociado a los mismos no tiene mucho peso en la ecuación. En segundo lugar, cuando se excluye al compuesto **2a**, si bien los parámetros de regresión mejoran, existe un cambio en el signo del coeficiente asociado al coeficiente de partición pues cambio de negativo a positivo al dejar fuera a un compuesto. Se debe tomar en consideración lo anterior si es que se desea usar esta ecuación para predecir actividades y realizar en consecuencia un análisis más a fondo.

Los coeficientes con mayor peso para esta línea celular, además de los ya mencionados, son:

- Ovalidad. Está íntimamente asociado a la forma de la molécula, es decir a la conformación de la misma.
- Electronegatividad. Lo que habla de las propiedades electrónicas de la molécula, parámetros importantes en las interacciones electrostáticas con el sitio blanco.

Por el valor de los coeficientes, estos dos últimos descriptores parecen tener gran peso en la determinación de la actividad, pero si tomamos en cuenta que los valores numéricos de los mismos son generalmente bajos, menores a 1 para la electronegatividad, la incidencia de los mismos sobre la actividad se reduce. Además, las desviaciones asociadas a los coeficientes son muy elevadas, una vez más esto se tiene que tomar con mesura.

6.4.3. SW-480, adenocarcinoma colorrectal.

Correlaciones obtenidas con los parámetros calculados por HF/6-31G*. Se presentan resultados muy similares a los obtenidos para la otra línea celular de adenocarcinoma colorrectal evaluada (**SW-620**). A continuación se muestra la ecuación generada, la correlación de la misma se presenta en el gráfico 14.

$$\text{pCl}_{50} = -0.01482(\pm 0.06779)\text{LUMO} + 0.01421(\pm 0.01420)\text{VOLUMEN} - 0.05542(\pm 0.04941)\text{PSA} \\ - 0.45864(\pm 0.77363)\text{LogP} + 38.38292(\pm 31.79394)\text{ELECTRONEGATIVIDAD} \\ - 4.84595(\pm 6.784253) \dots \dots \dots (\text{ec. 17}) \\ (n=015; r=0.846; s=0.142; F=3.350; Q^2=0.239; \text{SPRESS}=0.232)$$

Eliminando al compuesto **2a** del análisis, obtenemos la siguiente ecuación y el respectivo gráfico de correlación de la actividad observada experimentalmente contra la actividad pronosticada (Gráfico 15):

$$\text{pCl}_{50} = -0.02361(\pm 0.04433)\text{LUMO} + 0.01177(\pm 0.00935)\text{VOLUMEN} - 0.04762(\pm 0.03244)\text{PSA} \\ - 0.32056(\pm 0.50967)\text{LogP} + 24.04735(\pm 22.60417)\text{ELECTRONEGATIVIDAD} \\ - 3.39197(\pm 4.499568) \dots \dots \dots (\text{ec. 18}) \\ (n=014; r=0.940; s=0.090; F=8.798; Q^2=0.326; \text{SPRESS}=0.304)$$



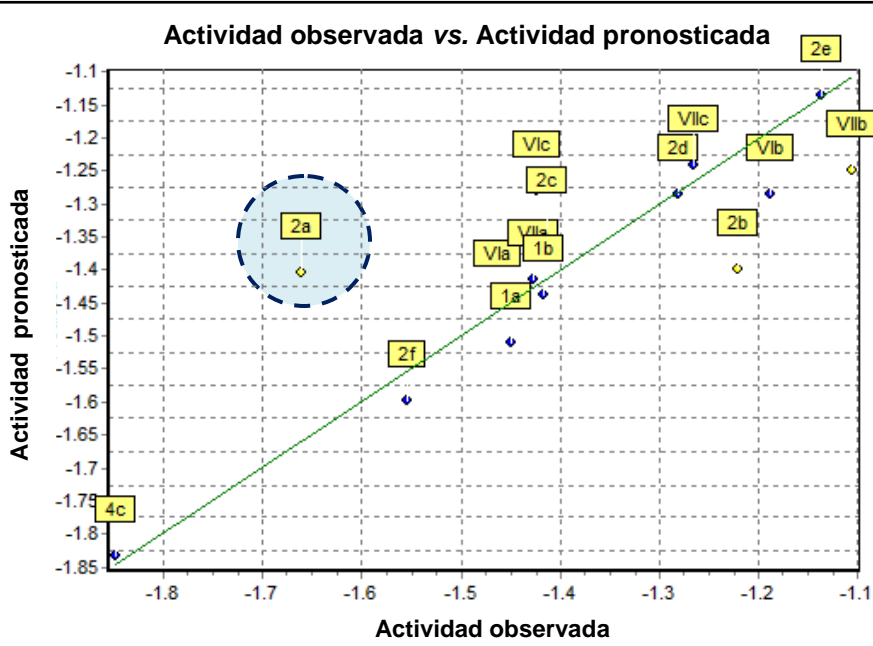


Gráfico 14. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea SW-480, obtenida con la ecuación 17.

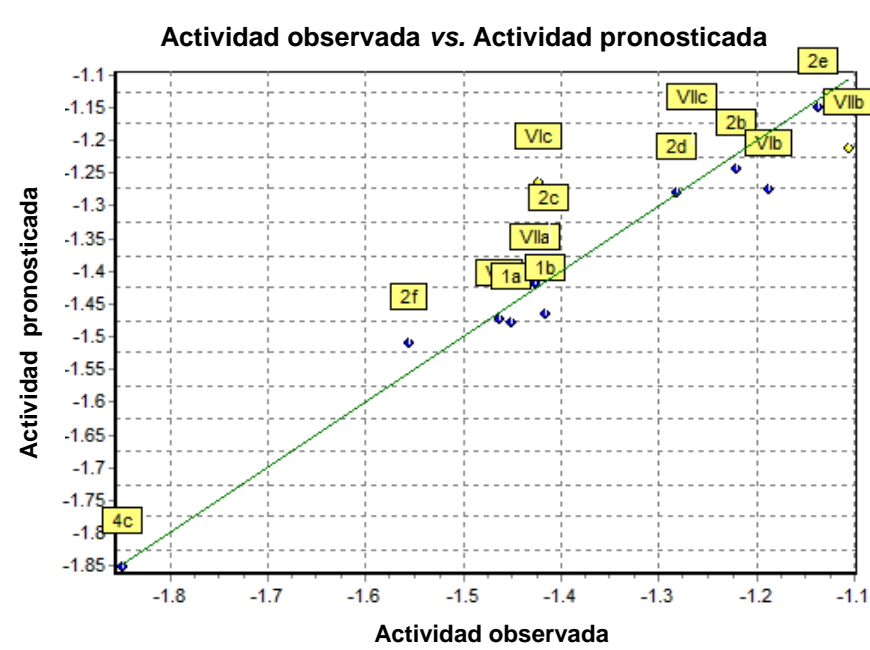


Gráfico 15. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea SW-480, obtenida con la ecuación 18.

En esta ocasión se hace presente una vez más la electronegatividad, aunque con las mismas características que las ecuaciones anteriormente mencionadas. El orbital LUMO sigue apareciendo como uno de los parámetros importante, así como el logP aunque una vez más de manera negativa y con el coeficiente ocupando el segundo lugar en prioridad.





El volumen, en este caso posee una contribución positiva, lo cual es de extrañar pues esto significaría que a mayor volumen molecular se tendría una mayor actividad, y es bien sabido por las reglas de Lipinski⁵⁹ que entre más grande sea una molécula es más difícil que logre internalizarse en la célula blanco.

6.4.4. K-562, leucemia humana mielógena.

La mejor ecuación de correlación fue obtenida mediante parámetros obtenidos con funcionales de la densidad y se muestran a continuación junto con sus respectivos gráficos de correlación de actividad pronosticada (Gráficos 16 y 17):

$$\text{pCl}_{50} = -0.01600(\pm 0.07567)\text{LUMO} + 0.02165(\pm 0.10939)\text{DIPOLO} - 0.01142(\pm 0.01652)\text{VOLUMEN} + 0.02340(\pm 0.06416)\text{PSA} + 0.71204(\pm 0.85225)\text{LogP} - 0.29813(\pm 4.384959) \dots \dots \dots (\text{ec. 19})$$

(n=019; r=0.785; s=0.260; F=4.189; Q²=0.286; SPRESS=0.354)

Eliminando el compuesto 2a:

$$\text{pCl}_{50} = -0.00134(\pm 0.05202)\text{LUMO} + 0.01925(\pm 0.07404)\text{DIPOLO} - 0.00657(\pm 0.01147)\text{VOLUMEN} + 0.00911(\pm 0.04407)\text{PSA} + 0.64531(\pm 0.57784)\text{LogP} - 1.91858(\pm 3.088084) \dots \dots \dots (\text{ec. 20})$$

(n=018; r=0.911; s=0.174; F=11.699; Q²=0.576; SPRESS=0.275)

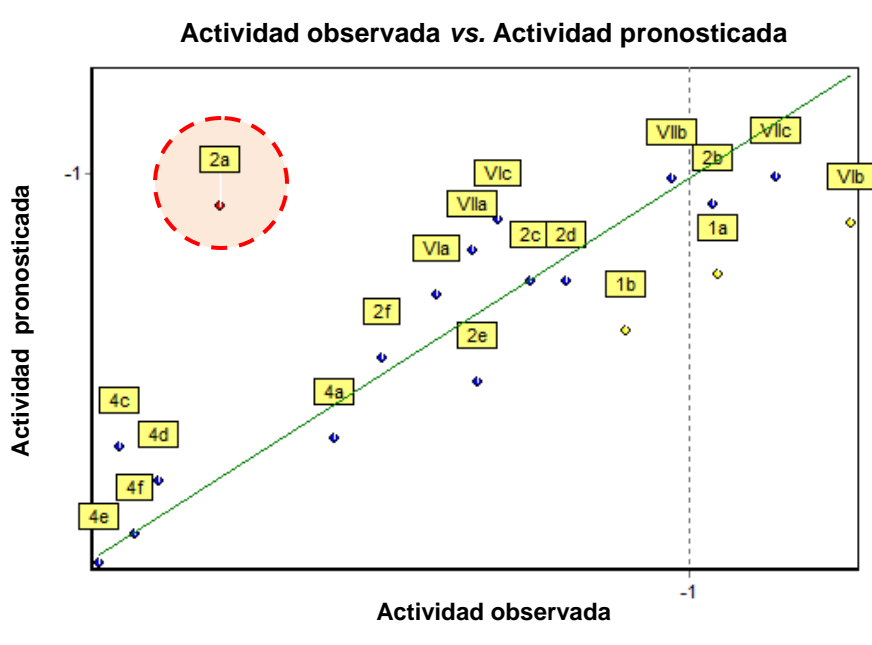


Gráfico 16. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea K-562, obtenida con la ecuación 19.



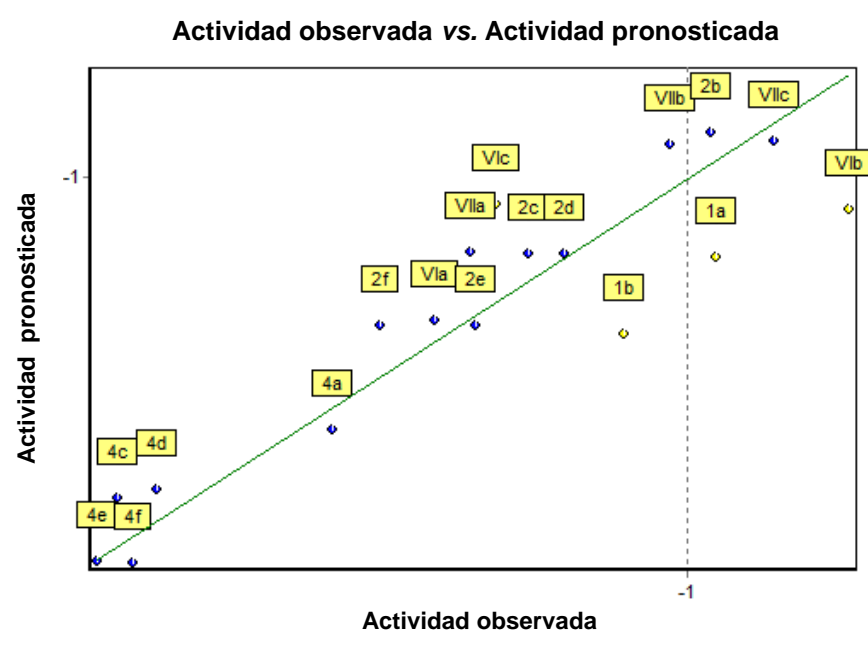


Gráfico 17. Actividad observada vs. Actividad pronosticada en la línea K-562, obtenida con la ecuación 20.

De manera contraria a lo obtenido en la línea celular anterior, el volumen tiene una contribución negativa a la actividad, como era de esperarse. En esta línea celular se mantiene la presencia de los parámetros que se han venido observando. Los descriptores principales vienen representados por el LUMO, PSA y por el logP, lo que una vez más hace patente la importancia de, primero, tener la capacidad de llegar al sitio de acción por parte del ligando y segundo, tener la capacidad de establecer interacciones con el dominio adecuado en el receptor.

Con el análisis conjunto de las correlaciones encontradas en este estudio, surgen de manera inmediata algunos aspectos importantes:

- Los tres métodos empleados para el cálculo de los descriptores resultan ser equivalentes, desde que las ecuaciones encontradas son prácticamente equivalentes.
- El único compuesto para el cual no se observa una correlación adecuada es el **2a**, en todos los análisis y para todas las líneas celulares evaluadas se encuentra fuera de los límites de confianza; cuando es eliminado, los parámetros de regresión mejoran sensiblemente.
- Evidentemente se observa la existencia de dos subgrupos de compuestos, aquellos con nula actividad, y los compuestos citotóxicos.
- Los parámetros de correlación son descriptores de tamaño y lipofilia, indicando que la actividad de estos compuestos se encuentra íntimamente ligada con su capacidad de internalizarse a la célula y para ejercer su efecto farmacológico.
- El PSA, correlaciona casi siempre de manera negativa, pues está ligado con la capacidad de atravesar membranas.





- Los subgrupos de compuestos que han sido observados, se encuentran relacionados íntimamente con el valor del coeficiente de partición.
- El valor de la energía del LUMO, es un factor de correlación ligado con la capacidad de interacción con los pares de bases del ADN.
- El coeficiente de partición ($\log P$), resulta el parámetro con mayor peso en la correlación con la actividad citotóxica, resulta interesante llevar a cabo trabajos futuros el cálculo de este parámetro con diferentes métodos además del empleado en este trabajo (Ghose-Crippen). Es posible que la equivalencia de las ecuaciones de correlación generadas, con los diferentes métodos de estructura electrónica empleados para el cálculo de los descriptores, sea debido a que el de $\log P$ es el mismo en todos los casos.





7. PARTE EXPERIMENTAL.

7.1. REACTIVOS Y EQUIPO.

Las materias primas utilizadas en la obtención de todos los intermediarios, así como de los compuestos finales, se adquirieron comercialmente en grado reactivo. La caracterización de los intermediarios previamente reportados se realizó por comparación de sus puntos de fusión y mediante cromatografía en capa fina comparativa con una muestra analítica mostrando concordancia con lo reportado en la literatura.

Para la evaporación de los disolventes empleados, se utilizó un evaporador rotatorio marca Büchi modelo RE 111. En la destilación a presión reducida se empleó una bomba para vacío marca FECISA, modelo FE-1405 con capacidad máxima de 0.1mm Hg. Los puntos de fusión reportados se determinaron mediante un aparato Fischer-Johns y no están corregidos.

Los espectros de RMN ^1H ; así como la preparación de las muestras para el análisis de Resonancia Magnética Nuclear de Líquidos, el ajuste del equipo y la adquisición del núcleo de Hidrógeno, se realizó en un aparato Varian VxR-300S (300MHz), en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Unidad de Servicios Analíticos para la Investigación (USAI), de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Los desplazamientos químicos están reportados en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se expresa como: s=singulete; sa=señal amplia; 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 Infrarrojo (IR), fueron determinados en un equipo Nicolet FT5SX en pastilla de KBr. Las unidades se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de masas, fueron determinados por medio de impacto electrónico (IE), en un espectrómetro JEOL JMS-AX505 y por Bombardeo de Átomos Rápidos (FAB), en un espectrómetro de masas JEOL Sx102, empleando para el ensayo FAB, alcohol 3-nitrobencílico como matriz, el ión molecular se indica como $[\text{M}^+]$. La nomenclatura se indica como m/z = masa/carga, con su respectivo % de Abundancia Relativa (% AR).

7.2. CROMATOGRAFÍA

Para la separación por cromatografía en columna se empleó gel de sílice Merck 60 malla 70-230. Por otro lado, los análisis cromatográficos se llevaron a cabo en capa fina analítica siguiendo las técnicas convencionales, utilizando placas de vidrio recubiertas con gel de sílice (Aldrich) con indicador de UV y espesor de 0.2mm. Para la visualización de las placas se empleó una lámpara de luz UV.

Tabla N. 11. Sistemas de elución empleados.

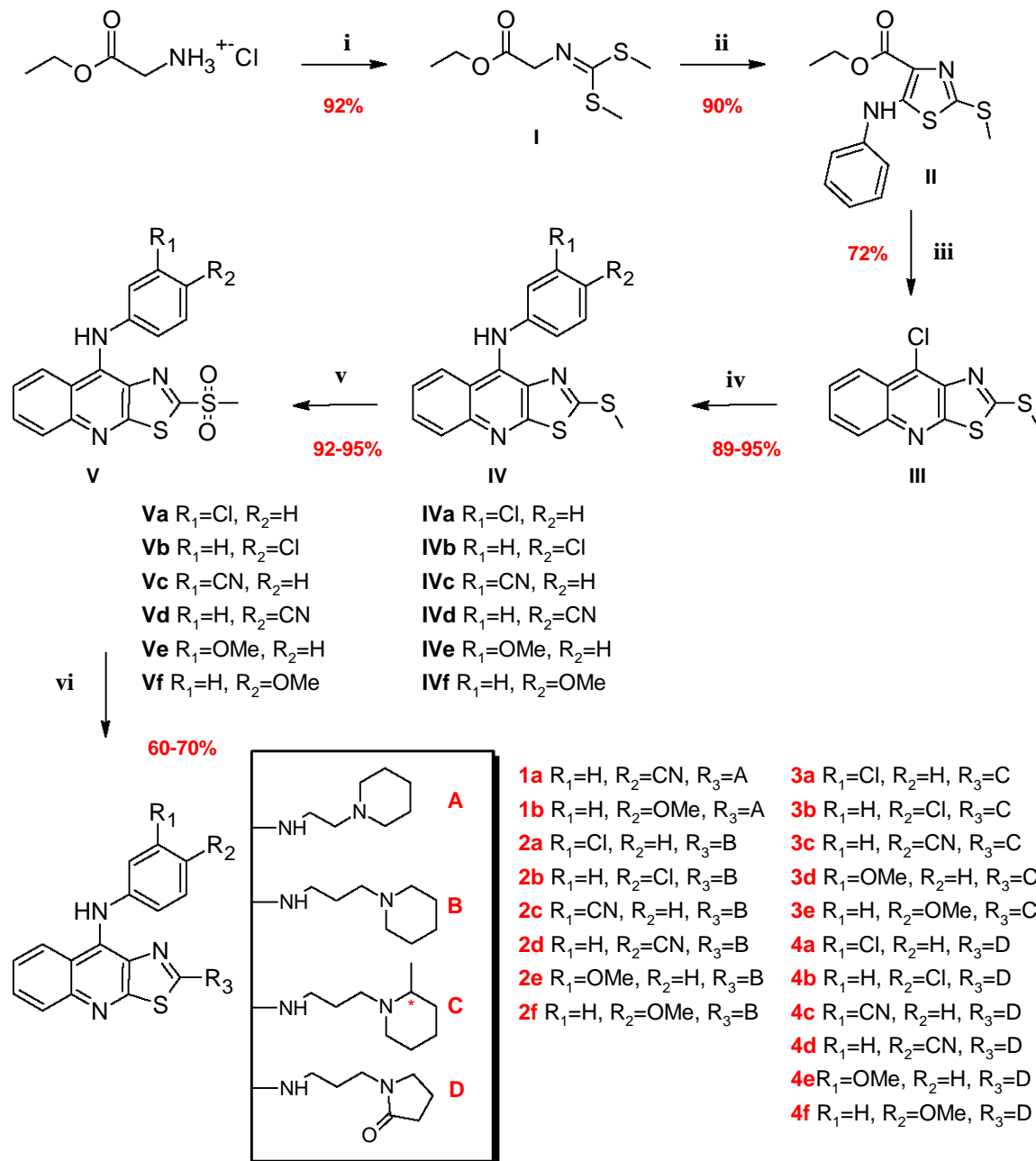
SISTEMA	MEZCLA DE DISOLVENTE	PROPORCIÓN.
I	Hexano/Acetato de Etilo	1:1
II	Hexano/Acetato de Etilo	7:3
III	Hexano/Acetato de Etilo	8:2
IV	Cloroformo/Metanol	8:2
V	Cloroformo/Metanol	9:1





7.3. PARTE QUIMICA

Los compuestos propuestos fueron obtenidos mediante la siguiente ruta sintética:



i: 1) TEA, CS_2 , $(CH_3)_2SO_4$. 2) K_2CO_4 , CH_3I . ii: $t-BuOK$, PhNCS. iii: PPA/ $POCl_3$. iv: $H_2N-C_6H_4-R$, MeOH/HCl reflujo. v: AcOH, $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$, H_2O_2 . vi: Amina, DMF, t.a. 30min.

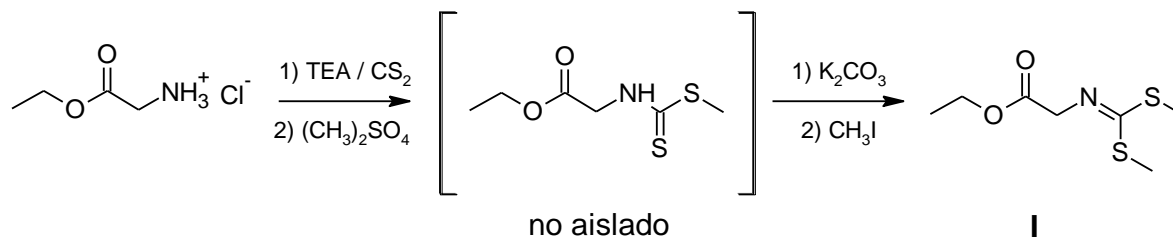
Figura 71. Esquema general de síntesis para la obtención de los derivados de 2-[(azacicloalquil)alquilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina.





7.4. SÍNTESIS Y DESCRIPCIÓN

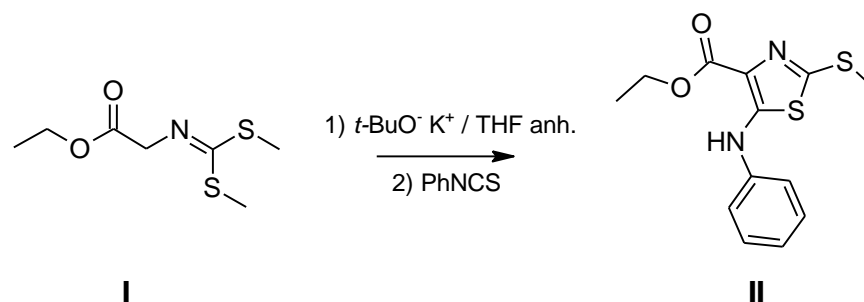
7.4.1. *N*-[(Etoxicarbonil)metil]iminoditiocarbamato de dimetilo (I)



En un matraz de tres bocas, acondicionado con termómetro, refrigerante y embudo de adición, se mezclaron 200mL de cloroformo con 50g (0.361mol) de clorhidrato de glicinato de etilo, la suspensión se agitó vigorosamente hasta disolución total. Posteriormente se adicionaron 83.5mL (0.75mol) de trietilamina, seguida de la adición de 21.6mL (0.361mol) de disulfuro de carbono, la mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, al embudo de adición, se transfirió mediante una cánula, 34mL de sulfato de dimetilo (0.353mol). Se mantuvo a reflujo durante 1 hora más y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

La solución resultante se lavó con agua destilada, posteriormente se concentró a presión reducida la fase orgánica obteniéndose un aceite amarillo el cual fue disuelto en 300mL de acetona. A la solución amarilla resultante, se le agregaron lentamente una solución de 48g de carbonato de potasio en 38mL de agua, seguida de la adición de 22mL de yoduro de metilo (0.353mol). La reacción se calentó a 40°C, manteniendo un reflujo suave durante 3 horas, después de lo cual se retiró el calentamiento dejando enfriar la mezcla a temperatura ambiente y continuando la agitación durante 18 horas. Transcurrido este tiempo se eliminó la acetona a presión reducida, obteniéndose un aceite con coloración ámbar. Dicho aceite se purificó por destilación a presión reducida, colectándose la fracción que destiló entre 145-160°C. Se obtuvieron 68g (0.328mol) (90.9%) de un aceite incoloro con un R_f de 0.4 (sistema II, tabla 11), que se torna amarillo con la exposición a la luz.

7.4.2. 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (II)



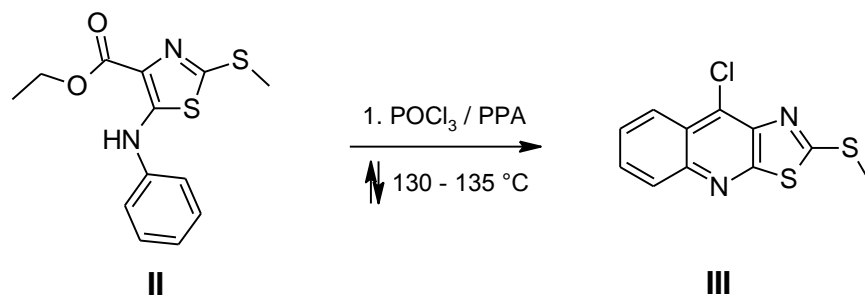
En un matraz de tres bocas, Ace tipo Europeo, acondicionado con termómetro para bajas temperaturas, embudo de adición, condiciones anhidras y atmosfera de nitrógeno, se mezclaron 6.34g de *ter*-butóxido de potasio (56.6mmol) en 200mL de tetrahidrofurano anhidro. La suspensión formada se enfrió a -75°C mediante un baño de hielo seco-acetona. Al embudo de adición se transfirió, mediante una cánula, una solución de 8.0g del compuesto I (38.64mmol) en 25mL de THF anhidro, la cual se adicionó por goteo a la suspensión de *ter*-butóxido de potasio, manteniendo la temperatura a -75°C. Terminada la adición, la solución amarillo-naranja resultante, se agitó durante 90 minutos a la misma temperatura. A continuación se transfirió al embudo de adición una solución de 4.8mL de isotiocianato de fenilo (38.64mmol) en 15mL de THF anhidro y se adicionó por goteo,





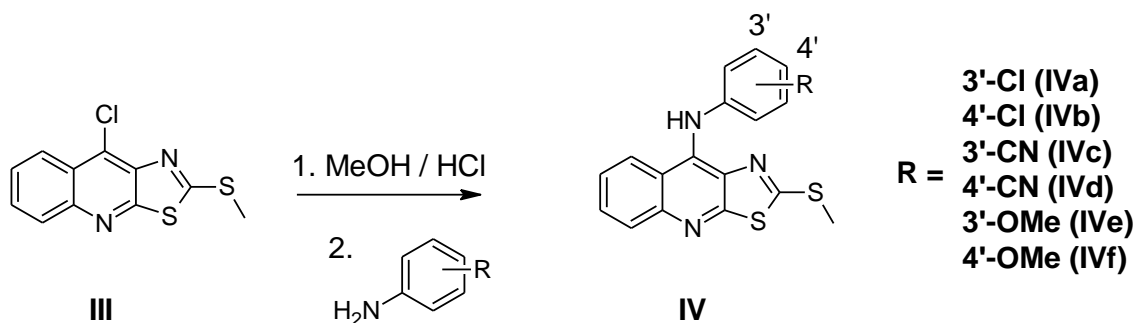
cuidando que la temperatura se mantuviera a -75°C . Se dejó agitar durante 50 minutos más y se retiró el sistema de enfriamiento. Cuando la temperatura se acercó a -10°C , se formó un precipitado amarillo. La suspensión formada se dejó en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la suspensión se vertió lentamente sobre 1600mL de agua con agitación constante, formándose un precipitado blanco-rosado el cual se separó y secó por filtración al vacío. El crudo se recristalizó de etanol obteniéndose un sólido cristalino blanco el cual se separó y secó por filtración al vacío. Se obtuvieron 10.4g (35.37mmol, 91.5%) del compuesto **II** (Lit. 90%) con un punto de fusión de 80°C y un R_f de 0.57 (sistema I, tabla 11).

7.4.3. 9-Cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (**III**)



En un matraz de fondo redondo de una boca, acondicionado con refrigerante y trampa de humedad, se colocaron 8.94g (30mmol) del compuesto **II**, se adicionaron 2.18g de ácido polifosfórico (18mmol) y 6mL de oxiclورو de fósforo (23.4mmol). La mezcla de reacción se calentó, con agitación constante hasta alcanzar un reflujo suave ($130\text{-}135^{\circ}\text{C}$), el cual se mantuvo por cuatro horas. Después de lo cual se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 15mL de etanol frío. Al disolverse el aceite obtenido, precipitó un sólido color naranja; la suspensión se vertió sobre 100mL de agua y se neutralizó con una 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 5.21g (19.5mmol, 64.5%) del compuesto **III** (Lit. 60.3%), con un punto de fusión de 160°C y un R_f de 0.65 (sistema I, tabla 11).

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



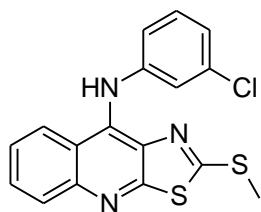
En un matraz de fondo redondo de una boca acondicionado con refrigerante se suspendieron 1.33g (5mmol) del compuesto **III** en 15mL de metanol y se añadieron 6 gotas de ácido clorhídrico concentrado, la mezcla se agito por 10 minutos. Transcurrido este tiempo, se agregaron 10mmol de la anilina con el patrón de sustitución deseado, y se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 8 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se eliminó el metanol a presión reducida. El residuo se suspendió en 50mL de agua y se ajustó el pH a 8 con carbonato de sodio al 10%, precipitando un sólido que se filtró al vacío, se lavó con agua destilada y se secó por succión.





Los productos obtenidos fueron comparados por CCF con una muestra de referencia de acuerdo al método reportado^{50,52}

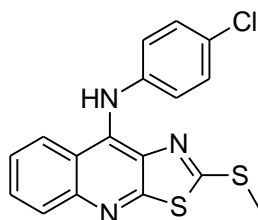
7.4.4.1. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVa)



IVa

Siguiendo el procedimiento descrito en la sección 7.4.4., y utilizando como materias primas el compuesto **III** (1.33g, 5mmol) y 3-cloroanilina (3mL, 10mmol), se obtuvieron 1.62g (90.5%) de un sólido amarillo ocre del compuesto **IVa**, con un R_f de 0.64 (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 185-187°C, el producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia de acuerdo al método reportado.^{50,52}

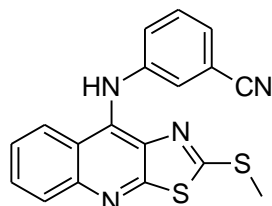
7.4.4.2. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVb)



IVb

Usando el procedimiento descrito en la sección 7.4.4., y utilizando como materias primas el compuesto **III** (1.33g, 5mmol) y la 4-cloroanilina (1.28g, 10mmol), se obtuvieron 1.6g (89.6%) de un sólido amarillo que corresponde al compuesto **IVb**, con un R_f de 0.51 (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 183-185°C, el producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia, sus constantes espectroscópicas se reportan en la referencia descrita.^{50,52}

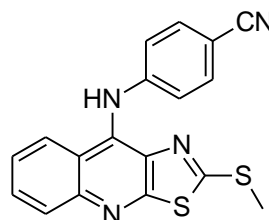
7.4.4.3. 9-[(3-Cianofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVc)



IVc

Siguiendo la descripción de la sección 7.4.4., usando el compuesto **III** (1.33g, 5mmol) y 3-aminobenzonitrilo (1.2g, 10mmol) como materias primas, se obtuvieron 1.66g (95.3%), de un sólido amarillo claro que corresponde al compuesto **IVc**, con un R_f de 0.3 (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 210-212°C, el producto obtenido fue comparado con una muestra de referencia.^{50,52}

7.4.4.4. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVd)

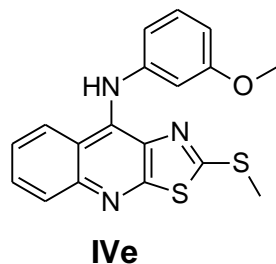


IVd

Se obtuvieron 1.58g (90.7%) del compuesto **IVd** como un sólido amarillo, a partir de 1.33g (5mmol) del compuesto **III** y 1.19g (10mmol) de 4-aminobenzonitrilo, siguiendo el procedimiento descrito en el punto 7.4.4., con un $R_f=0.3$ (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 186-189°C. El producto obtenido fue comparado mediante un análisis de cromatografía en capa fina comparativa con una muestra de referencia.^{50,52}

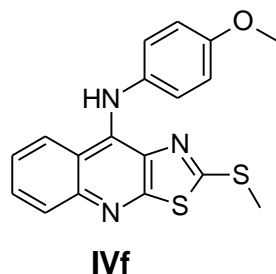


7.4.4.5. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVe)



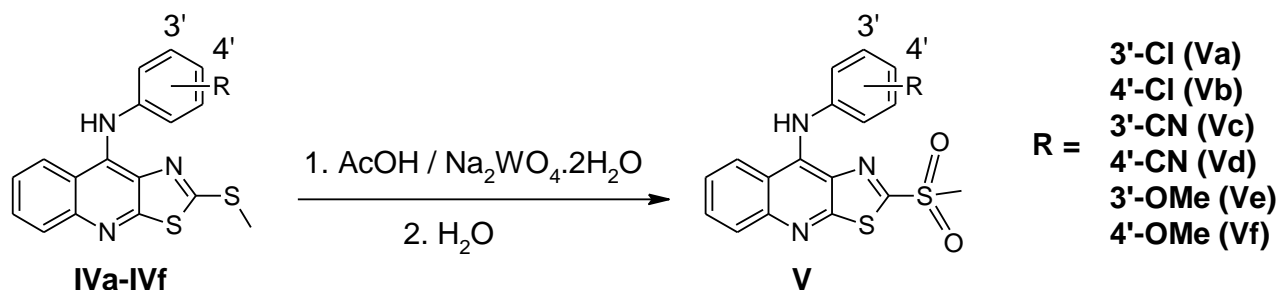
Mediante el procedimiento descrito en la sección 7.4.4, utilizando como materias primas el compuesto **III** (1.33g, 5mmol) y *m*-anisidina (4.5mL, 13mmol), se obtuvieron 1.61g (92%) de un sólido amarillo canario del compuesto **IVe**, con un R_f de 0.48 (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 175-179°C, el producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia de acuerdo al método reportado.

7.4.4.6. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IVf)



Se obtuvieron 1.59g (92%) de un sólido amarillo oscuro con un $R_f=0.51$ (sistema III, tabla 11) y un punto de fusión de 205-207°C haciendo reaccionar, mediante el procedimiento descrito en el punto 7.4.4., 1.33g (5mmol) del compuesto **III** y 1.23g (10mmol) de *p*-anisidina. Un análisis por cromatografía en capa fina comparativa con una muestra de referencia^{50,52}, reveló que el producto obtenido corresponde al compuesto **IVf**.

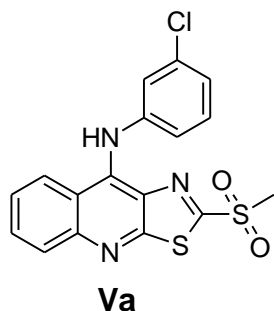
7.4.5. Método general para la obtención de derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina.



En un matraz de fondo redondo de una boca acondicionado con refrigerante de aire, se suspendieron 1.5mmol del compuesto **IV** (**IVa-IVf**) con el patrón de sustitución deseado, en 5mL de ácido acético glacial, enseguida se adicionaron 20mg de tungstato de sodio dihidratado. La suspensión se dejó en agitación durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo se adicionaron, por goteo, 3mL de peróxido de hidrogeno al 30%, la reacción se agito vigorosamente a temperatura ambiente durante 30 minutos. La suspensión formada se vertió sobre 50mL 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.

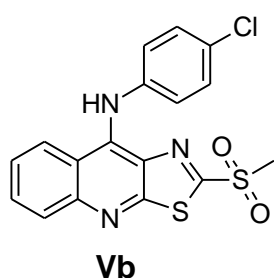


7.4.5.1. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Va)



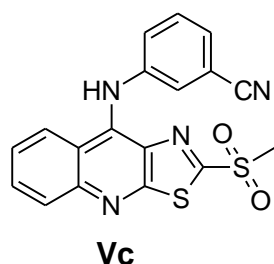
Empleando como materia prima 540mg del compuesto **IVa** (1.5mmol), se llevó a cabo el procedimiento descrito en la sección 7.4.5. Se obtuvieron 445mg (1.1mmol, 95.1%) de un sólido amarillo oscuro que corresponde al compuesto **Va**, con un punto de fusión de 221-224°C y un R_f de 0.56 (sistema I, tabla 11). El producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia, sus constantes espectroscópicas se reportan en la referencia descrita.^{50,52}

7.4.5.2. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Vb)



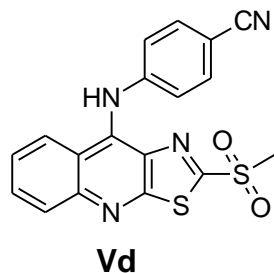
Mediante el procedimiento descrito en la sección 7.4.5., utilizando como materia prima 543mg (1.5mmol) del compuesto **IVb**, se obtuvieron 433mg (1.1mmol, 92.6%) de un sólido naranja, como el compuesto **Vb**, el cual presenta un punto de fusión de 260-265°C y un R_f =0.58 (sistema I, tabla 11), el producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia de acuerdo al método reportado.^(50,52)

7.4.5.3. 9-[(3-Cianofenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Vc)



Siguiendo el procedimiento descrito en la sección 7.4.5., utilizando como materia prima 450mg (1.3mmol) del compuesto **IVc**, se obtuvieron 470mg (1.2mmol, 95.6%) de un sólido naranja claro, como el compuesto **Vc**, el cual presenta un punto de fusión de 255-257°C y un R_f =0.40 (sistema I, tabla 11), el producto obtenido se comparó por cromatografía en capa fina comparativa con una muestra de referencia, sus constantes espectroscópicas se encuentran descritas en la literatura.^{50,52}

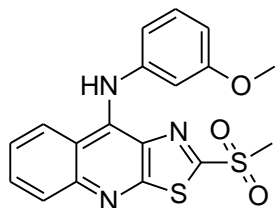
7.4.5.4. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Vd)



Se obtuvieron 462mg (93.4%, 1.2mmol) de un sólido ligeramente naranja con un R_f =0.46 (sistema I, tabla 11) y un punto de fusión de 274-278°C haciendo reaccionar mediante el procedimiento descrito en el punto 7.4.5., 450mg (1.3mmol) del compuesto **IVd**. Una análisis por cromatografía en capa fina comparativa con una muestra de referencia^{50,52}, reveló que el producto obtenido corresponde al compuesto **Vd**.

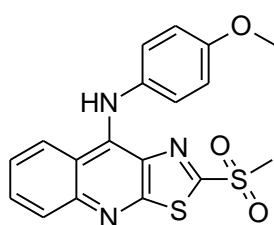


7.4.5.5. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Ve)

**Ve**

Siguiendo la descripción de la sección 7.4.5., usando el compuesto **IVe** (530mg, 1.5mmol) como materia prima, se obtuvieron 500mg (86.6%) de un sólido amarillo oscuro que corresponde al compuesto **Ve**, con un R_f de 0.43 (sistema I, tabla 11) y un punto de fusión de 215-217°C, el producto obtenido fue comparado con una muestra de referencia.

7.4.5.6. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (Vf)

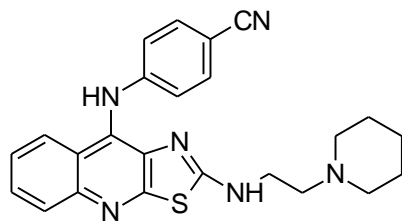
**Vf**

Empleando como materia prima 530mg del compuesto **IVf** (1.5mmol), se llevó a cabo el procedimiento descrito en la sección 7.4.5. Se obtuvieron 528mg (1.4mmol, 91.3%) de un sólido amarillo oscuro correspondiente al compuesto **Vf**, con un punto de fusión de 225-227°C y un R_f de 0.46 (sistema I, tabla 11). El producto obtenido se comparó por CCF con una muestra de referencia.^{50,52} sus constantes espectroscópicas se reportan en la referencia descrita.

7.4.5. Método general para la obtención de derivados de 2-[(1-azacicloalquil)alquilamino]-9-anilintiazolo[5,4-*b*]quinolinas.

En un matraz de fondo redondo de una boca, se suspendieron 0.6mmol del compuesto **V** (**Va-Vf**), con el patrón de sustitución deseado, en 5mL de *N,N*-dimetilformamida, dejando en agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos. Transcurrido el tiempo se adicionó por goteo 1.6mmol de la 3-(1-azacicloalquil)alquilamina correspondiente, la mezcla de reacción se agito vigorosamente a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió sobre 50mL de una mezcla agua-hielo formándose un precipitado el cual se separó por filtración al vacío y se lavó con agua destilada. El sólido aislado se purificó mediante cromatografía en columna abierta de gel de sílice (sistema de elución V, tabla 11), el desarrollo de la columna se siguió mediante análisis por cromatografía en capa fina analítica (sistema de elución IV, tabla 11). Las fracciones de composición semejante se juntaron y se concentraron a presión reducida.

7.4.5.1. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(2-aminoetil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (**1a**)

**1a**

Aspecto: Sólido color amarillo claro.

Rendimiento: 145mg (56.4%, 3mmol).

R_f : 0.65 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 89-90°C

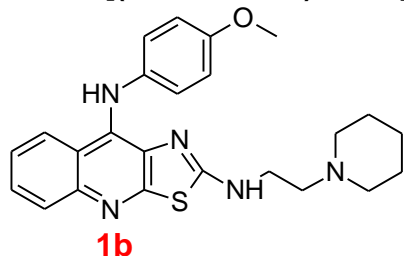
IR (KBr, cm^{-1}): 3462 (-NH); 3240, 3061, 3026 (-CH); 2217 (-CN); 1599, 1558, 1515, 1377 (aromáticos); 757 (-CS).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm: 1.30-1.35(sm, 2H) A; 1.39-1.46(sm, 4H) B; 2.09-2.20(sa, 4H) C; 2.20-2.27(t, $J=8\text{Hz}$, 2H) D; 2.30-2.40(sm, 2H) E; 6.74-6.86(dd, $J=8\text{Hz}$, 2H) H-2', H-6'; 7.20-

7.25(dd, 2H) H-3', H-5'; 7.50(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-7; 7.60 (t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-6; 7.88-7.96(d, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-8; 8.04-8.14(d, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-5; 8.45-8.54(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-2; 9.30(s, 1 H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 429 (M^++1 , 80%).



**7.4.5.2. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(2-aminoetil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (1b)**

Aspecto: Sólido color amarillo.

Rendimiento: 160mg (73%, 0.4mmol).

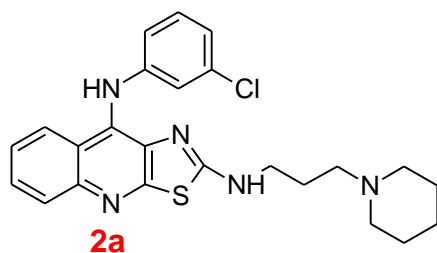
R_f: 0.63 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 84-86°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3205 (-NH); 2931 (-CO); 1598, 1559, 1508, 1495 (aromáticos); 757 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.30-1.35(sa, 2H) A; 1.40-1.50(sm, 4H) B; 2.20-2.40(sm, 6H) C, D; 3.30-3.45(sa, 2H) E; 3.68(s, 3H)-OCH₃; 6.80(dd, *J*=8, 8Hz, 4H) H-2', H-3', H-5', H-6'; 7.35(t, *J*=8Hz, 1H) H-7; 7.50(t, *J*=8Hz 1H) H-6; 7.79(d, *J*=8Hz, 1H) H-8; 8.04(d, *J*=8Hz, 1H) H-5; 8.13(sa, 1H) H-2; 8.31(s, 1 H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 434 (M⁺+1, 100%).

7.4.5.3. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (2a)

Aspecto: Sólido color amarillo claro.

Rendimiento: 170mg (62.6%, 0.3mmol).

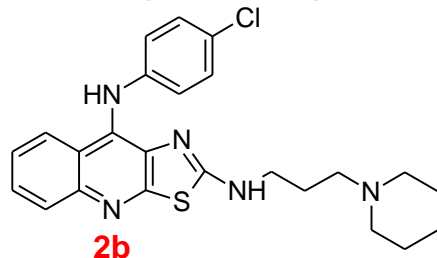
R_f: 0.7 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 105-106°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3330 (-NH); 1587, 1546, 1487, 1455 (aromáticos); 817 (-CCl); 778 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.13-1.50(sa, 8H) A, B, D ; 2.25-2.30(sa, 6H) C, E; 2.35-2.40(sa, 2H) F; 6.65-6.80(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.15(t, *J*=8Hz, 1H) H-2'; 7.45(t, *J*=8Hz, 1H) H-7; 7.55(t, *J*=8Hz, 1H) H-6; 7.85(d, *J*=8Hz, 1H) H-8; 8.15(d, *J*=8Hz, 1H) H-5; 8.35(sa, 1H) H-2; 8.80(sa, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 452 (M⁺+1, 100%)

7.4.5.4. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (2b)

Aspecto: Sólido color café.

Rendimiento: 215mg (79.2%, 5mmol).

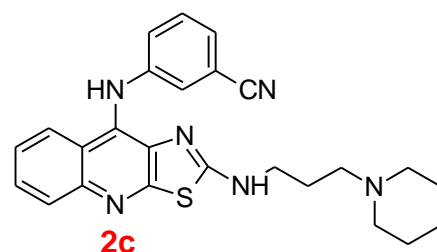
R_f: 0.55 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 94-97°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3136, 3023 (-NH); 3074, 2982 (-CH); 1587, 1533, 1500, 1439, 1341 (aromáticos); 863, 888 (-CCl); 777 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 2.95(sa, 2H) A; 3.15(sm, 4H) B; 3.25(sm, 2H) D; 3.95(sa, 4H) C; 4.85(sm, 4H) E, F; 8.14(d, *J*=8Hz, 2H) H-2', H-6'; 8.75(d, *J*=8Hz, 2H) H-3', H-5'; 9.05(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 9.50(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 9.35(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-8; 9.68(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-5; 10.05(t, *J*=8Hz, 1H) H-2; 10.31(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 452 (M⁺+1, 8%)

7.4.5.5. 9-[(3-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (2c)

Aspecto: Sólido blanco.

Rendimiento: 98mg (36.9%, 2mmol).

R_f: 0.7 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 120-122°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3198, 3018 (-NH); 2852, 2932 (-CH); 2227 (-CN); 1598, 1581, 1559, 1496, (aromáticos); 759 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.30-1.35(sm, 2H) A; 1.39-1.45(sm, 4H) B; 1.60-1.65(q, *J*=8Hz, 4Hz, 2H) E; 2.15-2.25(sm,

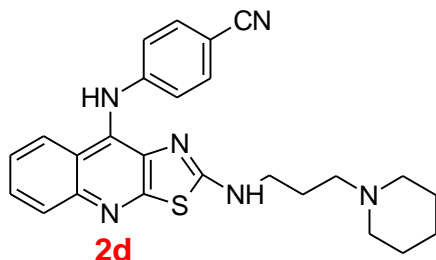




6H) C, D; 3.15–3.20(sm, 2H) F; 7.15–7.20(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.30(t, $J=4$ Hz, 1H) H-2'; 7.45(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.55(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.85(dd, $J=8$ Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.15(dd, $J=4$ Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.45(sa, 1H) H-2; 8.99(s, 1H) H1'.

EM (FAB, m/z): 443 ($M^+ + 1$, 70%).

7.4.5.6. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (**2d**)



Aspecto: Sólido color crema.

Rendimiento: 180mg (67.7%, 4mmol).

R_f: 0.68 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 75-78°C

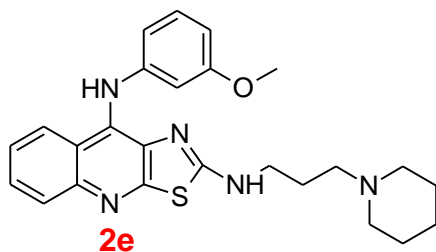
IR (KBr, cm⁻¹): 3215, 3020 (-NH); 2929, 2852, 2767 (-CH); 2214 (-CN); 1662, 1599, 1557, 1510, 1496 (aromáticos); 755 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.30-1.35(sm, 2H) A; 1.39-1.45(sm, 4H) B; 1.60-1.65(q, $J=8$ Hz, 4Hz, 2H) E; 2.15-2.25(sm, 6H) C, D; 3.15-3.20(sm, 2H) F; 6.80(d, $J=8$ Hz, 2H) H-2', H-6';

7.45-7.55(sm, 3H) H-3', H-5', H-7; 7.59(sm, 1H) H-6; 7.90(d, $J=8$ Hz, 1H) H-8; 8.05(d, $J=8$ Hz, 1H) H-5; 8.55(sa, 1H) H-2; 9.28(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 443 ($M^+ + 1$, 95%).

7.4.5.7. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (**2e**)



Aspecto: Sólido color dorado.

Rendimiento: 225mg (83%, 5mmol).

R_f: 0.51 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 135-137°C

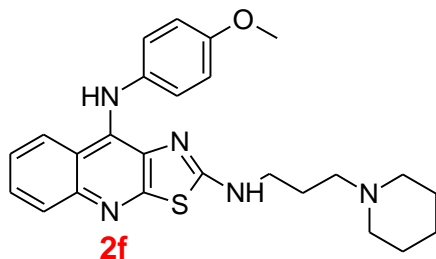
IR (KBr, cm⁻¹): 3195 (-NH); 2930 (-OCH₃); 1670 (-CO); 1594, 1559, 1491, 1414, 1400, 1374 (aromáticos); 758 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.30-1.35(sm, 2H) A; 1.39-1.45(sm, 4H) B; 1.60-1.65(q, $J=8$ Hz, 4Hz, 2H) E; 2.15-2.25(sm, 6H) C, D; 3.15-3.20(sm, 2H) F; 3.60(s, 3H) -OCH₃; 6.30(sa, 3H)

H-4', H-5', H-6'; 7.10(t, $J=8$ Hz, 1H) H-2'; 7.40(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.60(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.80(dd, $J=8$ Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.00(dd, $J=4$ Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.50(s, 1H) H-1'; 8.55(t, $J=8$ Hz, 1H) H-2.

EM (FAB, m/z): 448 ($M^+ + 1$, 100%).

7.4.5.8. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)piperidinil]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (**2f**)



Aspecto: Sólido color amarillo.

Rendimiento: 155mg (57.7%, 3mmol).

R_f: 0.48 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 141-143°C

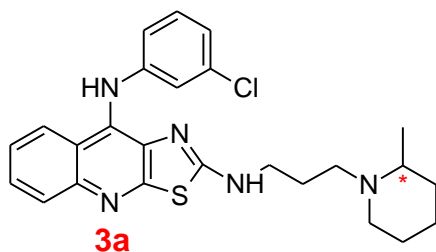
IR (KBr, cm⁻¹): 3210, 3029 (-NH); 2931 (-OCH₃); 1600, 1560, 1508, 1495, 1466 (aromáticos); 761 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.30-1.35(sa, 2H) A; 1.45(sm, 6H) B, D; 1.60-1.65(q, $J=8$ Hz, 4Hz, 2H) E; 2.25-2.30(sm, 4H) C; 3.15-3.20(sm, 2H) F; 3.67(s, 3H) -OCH₃; 6.75(d, $J=8$ Hz,

2H) H-2', H-6'; 6.85(d, $J=8$ Hz, 2H) H-3', H-6'; 7.35(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.50(ddd, $J=8$ Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.80(dd, $J=8$ Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.00(dd, $J=4$ Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.15(t, $J=4$ Hz, 1H) H-2; 8.20(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 448 ($M^+ + 1$, 100%).



**7.4.5.9. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-{3-[(2*R,S*)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4-*b*]quinolina (3a)**

Aspecto: Sólido color amarillo claro.

Rendimiento: 168mg (60%, 3mmol).

R_f: 0.74 (sistema IV, tabla 11).

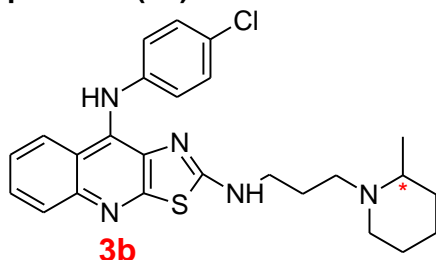
Punto de fusión: 73-76°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3210, 3186 (-NH); 3066, 2975 (-CH); 1601, 1585, 1559, 1489 (aromáticos); 840 (-CCl); 758 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: [0.80(s); 0.90(s) ambas para 3H] -CH₃; 1.10-1.65(sm, 7H) A, B, C, D; 1.90-2.00(sm, 1H) E; 2.15-2.20(sm, 2H) F; 2.55-2.70(sm, 3H) G, E; 3.15-3.25(sm, 2H)

H; 6.65-6.75(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.12(t, *J*=8Hz, 1H) H-2'; 7.45(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.55(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.85(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.05(dd, *J*=4Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.40(sa, 1 H) H-2; 8.76(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 466 (M⁺+1, 100%).

7.4.5.10. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-{3-[(2*R,S*)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4-*b*]quinolina (3b)

Aspecto: Sólido color amarillo brillante.

Rendimiento: 147mg (52.5%, 3mmol).

R_f: 0.62 (sistema IV, tabla 11).

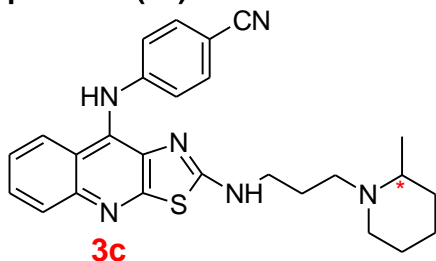
Punto de fusión: 85-88°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3148, 3260 (-NH); 1600, 1585, 1559, 1489, 1374 (aromáticos); 830 (-CCl); 759 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 6.85(d, *J*=16Hz, 2H) H-2', H-6'; 7.15(d, *J*=12Hz, 2H) H-3', H-5'; 7.45(t, *J*=8Hz, 1H) H-7; 7.50(t, *J*=8Hz, 1H) H-6; 7.85(d, *J*=8Hz, 1H) H-8; 8.10(d, *J*=8Hz,

1H) H-5; 8.55(sa, 1 H) H-2; 8.76(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 466 (M⁺+1, 100%).

7.4.5.11. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-{3-[(2*R,S*)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4-*b*]quinolina (3c)

Aspecto: Sólido color amarillo pálido.

Rendimiento: 137mg (50%, 3mmol).

R_f: 0.64 (sistema IV, tabla 11).

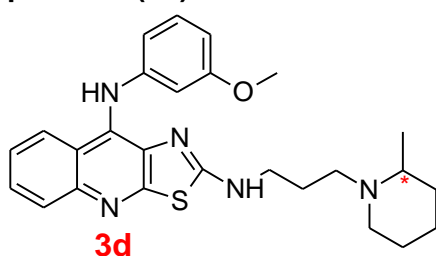
Punto de fusión: 72-75°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3198 (-NH); 2213 (-CN); 1599, 1581, 1557, 1509, 1496 (aromáticos); 759 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 0.99(sa, 3H) -CH₃; 1.20-1.25(sa, 3H) A, B; 1.45-1.75(sm, 7H) C, D, E, F; 2.70(s, 1H) E; 2.80(s, 1H) G; 3.25-3.45(sa, 3H) G, H; 6.80(d, *J*=8Hz, 2H) H-2', H-

6'; 7.47-7.53(sm, 3H) H-3', H-5', H-7; 7.58(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.88(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.06(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-5; 8.62(sa, 1H) H-2; 9.31(s, 1 H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 457 (M⁺+1, 100%).

7.4.5.12. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-{3-[(2*R,S*)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4-*b*]quinolina (3d)

Aspecto: Sólido color beige.

Rendimiento: 70mg (25.5%, 1.5mmol).

R_f: 0.64 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 75-77°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3451, 3348 (-NH); 2997, 2219 (-OCH₃); 1612, 1599, 1558, 1494 (aromáticos); 760 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.10-1.25(sm, 3H) -CH₃; 1.35-2.00(sm, 9H) A, B, C, D, E; 2.57-3.20(sm, 6H) F, G, H; 3.65(s, 3H) -OCH₃; 6.35-6.45(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.05(t,

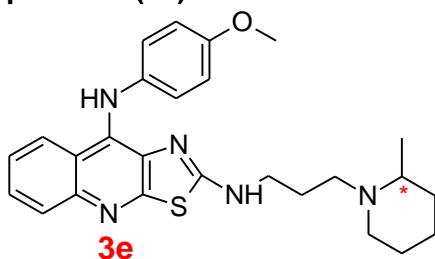




$J=8\text{Hz}$, 1H) H-2'; 7.45(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-7; 7.75(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-6; 7.85(d, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-8; 8.05(d, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-5; 8.50(s, 1H) H-1'; 8.56(s, 1H) H-2.

EM (FAB, m/z): 462 ($M^+ + 1$, 45%).

7.4.5.13. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-{3-[(2*R,S*)-2-metilpiperidin-1-il]propilamino}tiazolo[5,4-*b*]quinolina (3e)



Aspecto: Sólido color amarillo.

Rendimiento: 135mg (48.74%, 3mmol).

R_f : 0.73 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 89-93°C

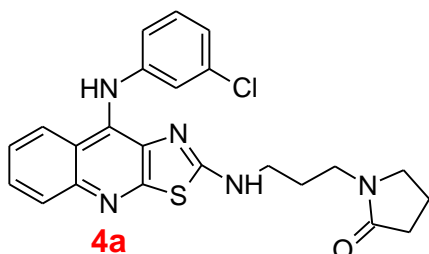
IR (KBr, cm^{-1}): 3348, 3211 (-NH); 2927, 2213 (-OCH₃); 1612, 1599, 1509, 1494 (aromáticos); 760 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: [0.95(s); 0.90(s) ambas para 3H] -CH₃; 1.15-1.20(sa, 2H) H; 1.35-1.40(sm, 1H) A; 1.40-1.60(sa, 5H) C, D, B; 2.00-2.05(sa, 1H) B; 2.15-2.20(sa, 2H) F;

2.55-2.60(sa, 1H) E; 2.70(sa, 1H) E; 3.20(sa, 2H) G; 3.70(s, 3H) -OCH₃; 6.75(d, $J=8\text{Hz}$, 2H) H-2', H-6'; 6.85(d, $J=8\text{Hz}$, 2H) H-3', H-5'; 7.05(ddd, $J=8\text{Hz}$, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.50(ddd, $J=8\text{Hz}$, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.80(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-8; 8.05(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-5; 8.25 (s, 1H) H-1'; 8.35 (t, $J=4\text{Hz}$, 1H) H-2.

EM (FAB, m/z): 462 ($M^+ + 1$, 100%).

7.4.5.14. 9-[(3-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4a)



Aspecto: Sólido cristalino color blanco.

Rendimiento: 135mg (50%, 3mmol).

R_f : 0.48 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 114-115°C

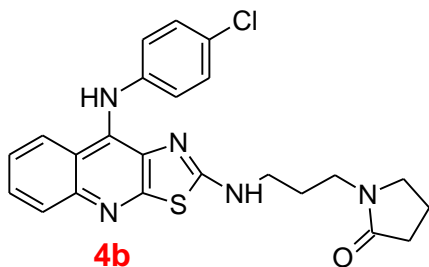
IR (KBr, cm^{-1}): 3288, 3023 (-NH); 2871, 1647 (-CO); 1611, 1593, 1559, 1480 (aromáticos); 845 (-CCl), 762 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.60(q, $J=8\text{Hz}$, 12Hz, 2H) B; 1.85-1.90(sm, 2H) C; 2.15(t, $J=8\text{Hz}$, 2H) D; 3.14(t, $J=8\text{Hz}$, 2H) E; 3.20(sm, 4H) A, F; 6.69-6.79(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.15(t,

$J=8\text{Hz}$, 1H) H-2'; 7.45(ddd, $J=8\text{Hz}$, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.55(ddd, $J=8\text{Hz}$, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.85(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-8; 8.05(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-5; 8.43(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-2; 8.79(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 452 ($M^+ + 1$, 85%).

7.4.5.15. 9-[(4-Clorofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4b)



Aspecto: Sólido color dorado claro.

Rendimiento: 150mg (55%, 3mmol).

R_f : 0.41 (sistema IV, tabla 11).

Punto de fusión: 120-123°C

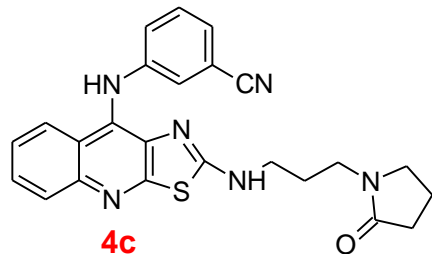
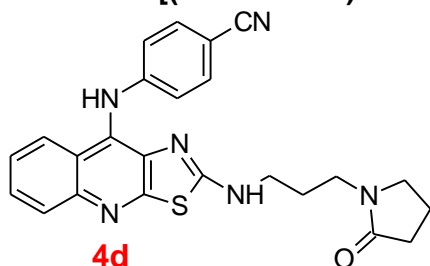
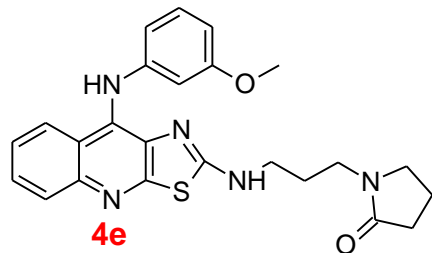
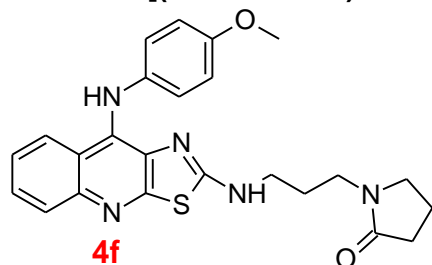
IR (KBr, cm^{-1}): 3359 (-NH); 2875, 1661 (-CO); 1613, 1599, 1582, 1567, 1488 (aromáticos); 820 (-CCl); 760 (-CS).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.60-1.70(q, $J=8\text{Hz}$, 12Hz, 2H) B; 1.85-1.90(q, $J=8\text{Hz}$, 12Hz, 2H) E; 2.10-2.20(t, $J=8\text{Hz}$, 2H) C; 3.10-3.25(sm, 6H) A, D, F; 6.75(d, $J=8\text{Hz}$, 2H) H-2', H-6'; 7.45-

7.55(sm, 3H) H-3', H-5', H-7; 7.59(ddd, $J=8\text{Hz}$, 4Hz, 8Hz, 1H) H-5; 7.90(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-8; 8.05(dd, $J=4\text{Hz}$, 8Hz, 1H) H-5; 8.55(t, $J=8\text{Hz}$, 1H) H-2; 9.29(s, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 452 ($M^+ + 1$, 100%).



**7.4.5.16. 9-[(3-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4c)****4c****Aspecto:** Sólido blanco.**Rendimiento:** 220mg (83%, 5mmol).**R_f:** 0.36 (sistema IV, tabla 11).**Punto de fusión:** 110-111°C**IR (KBr, cm⁻¹):** 3198 (-NH); 2852, 1661 (-CO); 2227 (-CN); 1581, 1578, 1557, 1502 (aromáticos); 760 (-CS).**RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm:** 1.65-1.70(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H) B;1.80-1.90(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H) E; 2.15-2.20(t, *J*=8Hz, 2H) C; 3.10-3.15(t, *J*=8Hz, 2H) D; 3.15-3.25(sa, 4H) A, F; 6.35-6.45(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.00-7.05(t, *J*=8Hz, 1H) H-2'; 7.35-7.45(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.50-7.60(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.80-7.85(dd, *J*=4Hz, 8Hz, 1H) H-8; 7.95-8.00(dd, *J*=4Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.30-8.35(t, *J*=4Hz, 1H) H-2; 8.45(s, 1H) H-1'.**EM (FAB, m/z):** 443 (M⁺+1, 30%).**7.4.5.17. 9-[(4-Cianofenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4d)****4d****Aspecto:** Sólido color blanco.**Rendimiento:** 200mg (75%, 45mmol).**R_f:** 0.57 (sistema IV, tabla 11).**Punto de fusión:** 109-110°C**IR (KBr, cm⁻¹):** 3346 (-NH); 2869, 2572, 1667 (-CO); 2212 (-CN); 1600, 1566, 1520, 1502 (aromáticos); 751 (-CS).**RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm:** 1.60-1.70(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H) B;1.80-1.90(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H) E; 2.10-2.15(t, *J*=8Hz, 2H) C; 3.10-3.15(t, *J*=8Hz, 2H) D; 3.15-3.25(sa, 4H) A, F; 6.75-6.80(d, *J*=8Hz, 2H) H-2', H-6'; 7.45-7.70(sm, 4H) H-3', H-5', H-7, H-6; 7.85(d, *J*=8Hz, 1H) H-8; 8.05(d, *J*=8Hz, 1H) H-5; 8.50-8.55(t, *J*=4Hz, 1H) H-2; 9.28(s, 1H) H-1'.**EM (FAB, m/z):** 443 (M⁺+1, 95%).**7.4.5.18. 9-[(3-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina(4e)****4e****Aspecto:** Sólido color dorado claro.**Rendimiento:** 245mg (91%, 5.5mmol).**R_f:** 0.44 (sistema IV, tabla 11).**Punto de fusión:** 118-120°C**IR (KBr, cm⁻¹):** 3252 (-NH); 3026, 3000 (-CH); 2934, 2869, 2834 (-OCH₃); 1708, 1664 (-CO); 1594, 1561, 1493, 1463, 1449 (aromáticos); 763 (-CS).**RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm:** 1.65-1.70(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H)B; 1.85-1.90(q, *J*=8Hz, 8Hz, 2H) E; 2.50-2.55(t, *J*=8Hz, 2H) C; 3.15(t, *J*=8Hz, 2H) D; 3.25(sa, 4H) A, F; 3.70(s, 3H) -OCH₃; 6.35(sm, 3H) H-4', H-5', H-6'; 7.00 (t, *J*=4Hz, 1H) H-2'; 7.40(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-7; 7.55(ddd, *J*=8Hz, 4Hz, 8Hz, 1H) H-6; 7.80(dd, *J*=4Hz, 8Hz, 1H) H-8; 8.00(dd, *J*=4Hz, 1H) H-5; 8.35(t, *J*=8Hz, 1H) H-2; 8.45(s, 1H) H-1'.**EM (FAB, m/z):** 448 (M⁺+1, 100%).**7.4.5.19. 9-[(4-Metoxifenil)amino]-2-[1-(3-aminopropil)pirrolidin-2-ona]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (4f)****4f****Aspecto:** Sólido color amarillo brillante.**Rendimiento:** 179mg (66.7%, 3mmol).**R_f:** 0.52 (sistema IV, tabla 11).**Punto de fusión:** 115-117°C**IR (KBr, cm⁻¹):** 3430, 3363, 3237 (-NH); 3027, 2959 (-CH); 2929, 2848 (-OCH₃); 1660 (-CO); 1552, 1506, 1493, 1464, 1450, 1440 (aromáticos); 762 (-CS).



RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.55-1.65(sm, 2H) B; 1.85-1.90(sm, 2H) E; 2.15-2.20(sm, 2H) C; 3.10-3.25(sm, 6H) A, D, F; 3.65(s, 3H) -OCH₃; 6.75(d, *J*=8Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.85(d, *J*=8Hz, 2H) H-3', H-5'; 7.35(t, *J*=8Hz, 1H) H-7; 7.50(t, *J*=8Hz, 1H) H-6; 7.80(dd, *J*=8Hz, 4Hz, 1H) H-8; 8.00(dd, *J*=4Hz, 8Hz, 1H) H-5; 8.15(sa, 1H) H-2; 8.25(sa, 1H) H-1'.

EM (FAB, m/z): 448 (M⁺+1, 100%).

7.5. MODELADO MOLECULAR.

7.5.1. ANÁLISIS CONFORMACIONAL Y CÁLCULO DE LAS PROPIEDADES ELECTRONICAS DE LAS MOLÉCULAS AISLADAS.

Los estudios de modelado molecular se realizaron en una PC con 4GB de memoria en RAM, utilizando el programa *Spartan'08* ®⁶⁰. Las moléculas fueron construidas a partir de fragmentos convencionales y se preoptimizó su geometría. Las moléculas fueron consideradas en su forma neutra. El análisis conformacional fue llevado a cabo utilizando como campo de fuerza al MMFF 94 de Merck y un protocolo de búsqueda sistemático, todos los enlaces *sp*³ presentes en la molécula fueron rotados cada quince grados.

El conformero más estable fue elegido considerando la energía y la distribución de Boltzman. Las geometrías de los conformeros más estables fueron optimizadas utilizando los siguientes métodos:

- Método semiempírico AM1
- Método *ab initio* HF/6-31 G*
- Funcionales de la densidad, DFT B3LYP/6-31 G*

Se calcularon las propiedades electrónicas, las cuales fueron usadas para generar las correspondientes superficies de energía potencial electrostática.

7.6. CITOTOXICIDAD EN LÍNEAS CELULARES.

Los ensayos de citotoxicidad de los compuestos finales, fueron realizados en el departamento de Biología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los efectos citotóxicos de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina se determinaron en un panel de cuatro líneas celulares diferentes, dos de adenocarcinoma colorrectal (SW-480 y SW-620), una de cáncer cervicouterino (HeLa) y una más de leucemia humana mielogena (K-562) realizando un perfil dosis-respuesta gradual (1, 10, 30, 60 y 100 μM) mediante el método de determinación MTT a 48 horas de exposición *in vitro*, expresándose como CI₅₀, que representa el promedio de tres experimentos independientes ± la desviación estándar.

7.7. RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR).

Una vez determinada la actividad citotóxica de los compuestos propuestos, se analizaron los descriptores moleculares obtenidos en los estudios de modelado molecular mediante el programa Build QSAR ®⁵⁷. Se analizaron todos los parámetros obtenidos en función de la actividad citotóxica expresada como pCI₅₀ (log 1/CI₅₀). Se plantearon las posibles ecuaciones mediante el protocolo de búsqueda sistemática, ensayando las condiciones de uno, dos, tres cuatro y cinco parámetros para formular las ecuaciones, acotando los valores de correlación entre las variables a un valor menor a 0.30 y un coeficiente de correlación (*r*²) mayor a 0.70.





8. CONCLUSIONES.

Se sintetizaron y caracterizaron, mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas, 19 derivados novedosos de 2-[(1-azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino[5,4-*b*]quinolina y se determinó su actividad citotóxica en 4 líneas celulares tumorales, la mayoría de los compuestos presentó buena actividad en las cuatro líneas en relación al compuesto de referencia (*m*-AMSA).

Se logró determinar la importancia de la basicidad del nitrógeno alicíclico como un punto farmacofórico en la actividad de este tipo de compuestos.

El análisis de la actividad citotóxica observada para estos compuestos permitió definir algunas características estructurales:

- La presencia de grupos electroattractores (-Cl, -CN) en el anillo de anilina, de manera general, favorece la actividad biológica respecto a los grupos electrodonadores (-OMe).
- Existe influencia en cuanto a la posición de sustitución en el anillo de anilino, para grupos electroattractores se ve favorecida la posición 4', por el contrario para los grupos electroattractores la posición 3' favorece la actividad citotóxica.
- Es importante para la actividad la presencia de un grupo aceptor en la formación de puentes de hidrógeno en el anillo de anilina.

Los compuestos analizados como mezcla racémica, fueron los más activos, es clara la necesidad de realizar la resolución de la mezcla racémica y la determinación de su actividad biológica en su forma homoquiral y en su caso, determinar cuál es el eutómero y el distómero.

En cuanto al análisis de modelado molecular fue posible establecer lo siguiente:

- La conformación adquirida por los compuestos analizados, correlaciona ampliamente con la actividad citotóxica observada para los mismos.
- La orientación del momento dipolar permite establecer una correlación con la actividad.
- Se hizo evidente la presencia de un puente de hidrógeno intramolecular en las geometrías de equilibrio de algunos de los compuestos mediante el uso de funcionales de la densidad.
- Además de lo expuesto en el punto anterior, los métodos empleados para la estructura electrónica parecen comportarse como equivalentes para este tipo de compuestos, puesto que los resultados obtenidos son similares.

Por medio del análisis QSAR, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Fue posible establecer ecuaciones de correlación en todas las líneas celulares ensayadas con los descriptores utilizados.
- Los métodos empleados para calcular los descriptores moleculares resultaron prácticamente equivalentes.
- El compuesto **2a**, es el único que no se ajusta adecuadamente a las ecuaciones de correlación generadas, puesto que en todos los análisis y para todas las líneas celulares





ensayadas queda fuera de los límites de confianza; cuando es omitido, los parámetros de regresión lineal múltiple mejoran de manera sensible.

- Existen dos subgrupos de compuestos, los que presentan poca o nula actividad citotóxica, y aquellos con buena citotoxicidad comparados con el compuesto de referencia, situación que se encuentra ligada íntimamente con el coeficiente de partición.
- Los parámetros de correlación son aquellos descriptores de tamaño y lipofilia, lo que indica que la actividad de estos compuestos se encuentra relacionada con su capacidad de internalizarse a la célula.
- El PSA, correlaciona casi siempre de manera negativa, pues está ligado con la capacidad de atravesar membranas.
- Los valores energéticos del orbital LUMO, llevan a especular sobre la capacidad de interacción por parte de estas moléculas con los pares de bases del ADN.
- Puesto que el coeficiente de partición ($\log P$), resulta ser el parámetro con mayor peso sobre la correlación con la actividad citotóxica, es interesante abordar en el trabajo futuro el cálculo de este parámetro por diferentes métodos. Existe la posibilidad, que la equivalencia de las ecuaciones generadas, con los métodos de estructura electrónica empleados en el cálculo de los descriptores moleculares, sea debido al valor de $\log P$.

Las perspectivas del futuro trabajo, incluyen la síntesis de nuevos derivados que permitan ampliar y confirmar los requerimientos estructurales sugeridos. El estudio del mecanismo de acción citotóxica de estos compuestos. Además se espera realizar un análisis computacional de las moléculas simulando, mediante la constante dieléctrica, el disolvente, así como de las especies protonada, con objeto de corroborar si efectivamente la conformación adquirida es un parámetro de correlación tan fuerte como se mostro en este trabajo.

Puesto que los compuestos más activos fueron los presentados como mezcla racémica, se plantea la resolución de la misma y la determinación de la actividad de los enantiómeros es su forma homoquiral, y determinar si se ajustan a los modelos de correlación encontrados en este trabajo.

Por otra parte la comentado en el punto anterior sugiere que quizás aquellos compuestos con centros asimétricos interactúan de manera selectiva con la diana biológica, por lo que es interesante abordar el estudio de compuestos con centros quirales y determinar la influencia que esto posee sobre la actividad citotóxica.





9. BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud [OMS] (2011). *Cáncer*. Nota descriptiva No. 297, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>.
2. La Fond, R. *Cancer: The outlaw cell*, ACS, USA, 1988.
3. Alvarez-Ibarra, C., Fernandez-Granada. R., Quiroga M. L., Carbonell A., *J. Med. Chem.*, 40 (1997) 668-676
4. Rodríguez-Loaiza M. P., Quintero A., Rodríguez-Sotres R., Solano-Becerra J., Lira-Rocha A. *E. J. Med. Chem.*, 39 (2004) 5-10.
5. Loza-Mejía M. A., Solano-Becerra J., Rodríguez-Sotres R., Lira-Rocha A. *Bioorg. Med. Chem.*, 16 (2008) 1142-1149.
6. Loza-Mejía M. A., Solano-Becerra J., Rodríguez-Sotres. R., Lira-Rocha A. *Bioorg. Med. Chem.*, 17 (2009) 3266-3277.
7. Martins Cristina, Gunaratman M., Stuart J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17 (2007) 2293-2298.
8. Gunaratman M., Greciano O., Martins C., Reszka A. P. *Biochem. Pharm.*, 74 (2007) 679-689.
9. Arvelo Francisco. *Acta Científica Venezolana*, 55 (2004) 288-303.
10. Burger's, *Medicinal Chemistry and Drug Discovery. Chemotherapeutic Agents*, vol.5. 6ª edición
11. Isselbacher J., Kurt G., *Harrison's, Principles of Internal Medicine* 12th edition. 1998. McGraw-Hill Inc. pp. 1576-1590.
12. Hans-Olov, A. *Textbook of Cancer Epidemiology*, 2002. pp.29-49.
13. Goodman and Gilman. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 10ª edición. 2003. McGraw-Hill Interamericana. pp.1397-1475.
14. Cummings, M. R. *Conceptos de Genética*, 5ª edición. 1999. Prentice-Hall. pp.626-641.
15. Slattery M. L., Wolff R. K., Herrick J., Caan. B. J., Samowitz W., *Int. J. Cancer.*, 52 (2009) 1603-1610.
16. Wulff C. N., Thygesen M., Søndergaard J., Vedsted P., *BMC Health Serv Res.* 6 (2008) 227-240
17. Gellert M., Smith C. E., Neville D., Felsenfeld G., *J. Mol. Biol.* 11 (1995) 445-457
18. Osheroff N., Burden B. A., *Biophys. Acta.*1400 (1997) 139-154
19. Roca J., *Trends Biochem. Sci.*, 20 (1995) 156-160
20. Bereger J. M., *Biochem. Bioophys. Acta*, 1400 (1997) 3-18
21. Froelich S., Osheroff N., *J. Biol. Chem.*, 270 (1995) 21429-32.
22. Holden J. A., *Curr. Med. Chem-Anti Cancer Agents.*, 1 (2001) 1-25
23. Caprio V., Guyen B., Opoku-Boahen Y., Mann J., Gowan S. M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10 (2000) 2063-2066
24. Cuesta Javier, Read M. A., Neidle S., *Mini Rev. Med. Chem.*, 3 (2003) 11-21
25. Wang S. C., Hung M. C., *Semin. Oncol.* 28 (2001) 115-124
26. Hodgson, Ernest. *A text book of Modern Toxicology*, 3rd edition. 2004. Jhon Wiley & Sons Inc. New Jersey.
27. Holland, J. F., Frei, E. *Cancer Medicine*. 5a Edición. BC. Becker. Canadá. 2000.
28. Lerman L. S., *J. Mol. Biol.*, 3 (1961) 18-30
29. Kirk J. M., *Biochim. Biophys. Acta*, 42 (1960) 167-169.
30. Marco Esther., Gago Federico., *ChemMedChem*, 2 (2007) 1388-1401.
31. Nieto-García Raquel, Manzanares Ignacio, Cuevas Carmen, Gago Federico, *J. Med Chem.*, 43 (2000) 14367-14369.
32. Spicer J. A., Gamge S., Atwell G., *J. Med. Chem.*, 40 (1917) 1919-1929.
33. Nitis Jhon L., *Nature Rev. Can.*, 9 (2009) 338-350.
34. De Cian A., Lacroix L., Douarre C., Temime-Smaali N., *Biochimie.* 90 (2008) 131-155
35. Cain B. F., Atwell G. J., Seelye R. N., *J. Med Chem.*, 12 (1969) 199-206.
36. Cain B. F., Atwell G. J., Seelye R. N., *J. Med Chem.*, 15 (1972) 611
37. Cain B. F., Atwell G. J., Seelye R. N., *J. Med Chem.*, 17 (1974) 922
38. Gao H., Denny W., Gary K., Hansch C., *Chemico-Biological Interactions*, 116 (1998) 157-180.





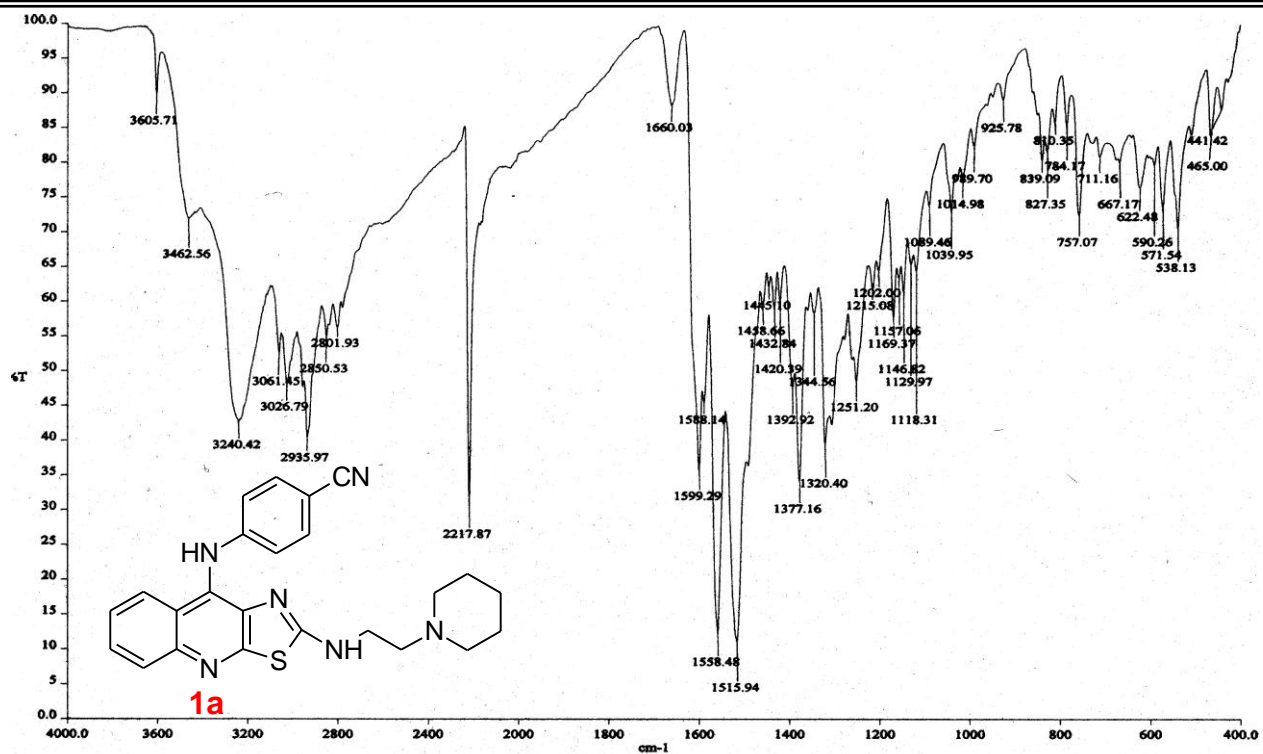
39. Moreira Lidia, Barreiro Eliezer, *Curr. Med. Chem.*, 12 (2005) 23 -49.
40. Friedman H., *Influence of Isosteric Replacements upon Biological Activity*, Washington, National Academy of Science, 206, 295, (1951)
41. Thornber C.W., *Chem Soc. Rev.* 8 (1979) 563.
42. Patani George, La Voie Edmond, *Chem. Rev.*, 96 (1996) 3147-3176.
43. Olvera Vazquez S., *Síntesis de 2-(N',N'-Alquil-N-Trimetilendiamina)-9-Anilino[5,4-b]quinolinas como potenciales antitumorales*. Tesis de Licenciatura UNAM, México 2005
44. Rodríguez Loaiza María del Pilar, *Síntesis de derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina como potenciales intercaladores del ADN*. Tesis de Maestría, UNAM, México 2000
45. 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
46. Loza-Mejía M. A., Castillo Rafael, Lira-Rocha A., *J. Mol. Graph. Mod.*, 27 (2009) 900-907
47. López Rodríguez Adrián Kémish., *Síntesis de derivados de 2-[2-(1-azacicloalquil)etilamino]-9-anilino[5,4-b]quinolina como potenciales antitumorales*. Tesis de Licenciatura, UNAM, México 2009
48. Reyes Rangel Francisco, *Obtención de nuevos potenciales antitumorales por desplazamiento del grupo metilsulfonilo presente en la posición 2 del anillo de tiazolo quinolina con hidruro*. Tesis de Licenciatura, UNAM, México 2007
49. Reyes Rangel Francisco, *Síntesis y citotoxicidad antitumoral de nuevos derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina. Influencia del sustituyente 2-metiltio sobre la actividad biológica*. Tesis de Maestría, UNAM, México 2009
50. 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
51. Barraja P., Diana P., Lauria A., Passannanti A., Almerico A. M., *Bioorg. Med. Chem.*, 7 (1999) 1591-1596.
52. Olvera Vázquez Susana, *Síntesis de 2-(N',N'-Alquil-N-Trimetilendiamina)-9-Anilino[5,4-b]quinolinas como potenciales antitumorales*. Tesis de Licenciatura, UNAM, México 2005
53. Jerry March, *Advanced Organic Chemistry*, 3ra edición, 1985, Wiley-Interscience.
54. Auxtexier C., Lue F. N., *Annu. Rev. Biochem.*, 75 (2000) 493-517.
55. Negri A., Marco E., García-Hernandez V., Gago Federico, *J. Med. Chem.*, 50 (2007) 3322-3333.
56. Wavefunction, Inc., Irvine, CA, USA
57. De Olivera D. B., Gaudio A. C., *Quant. Struct.-Act. Relat.*, 19 (2000) 599-601.
58. Leo A, Hansch C, and Elkins D., *Chem Rev.*, 71 (6) (1971) 525-616
59. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., and P.J. Feeney, *Adv. Drug Del. Rev.* 46 (2001) 3-26



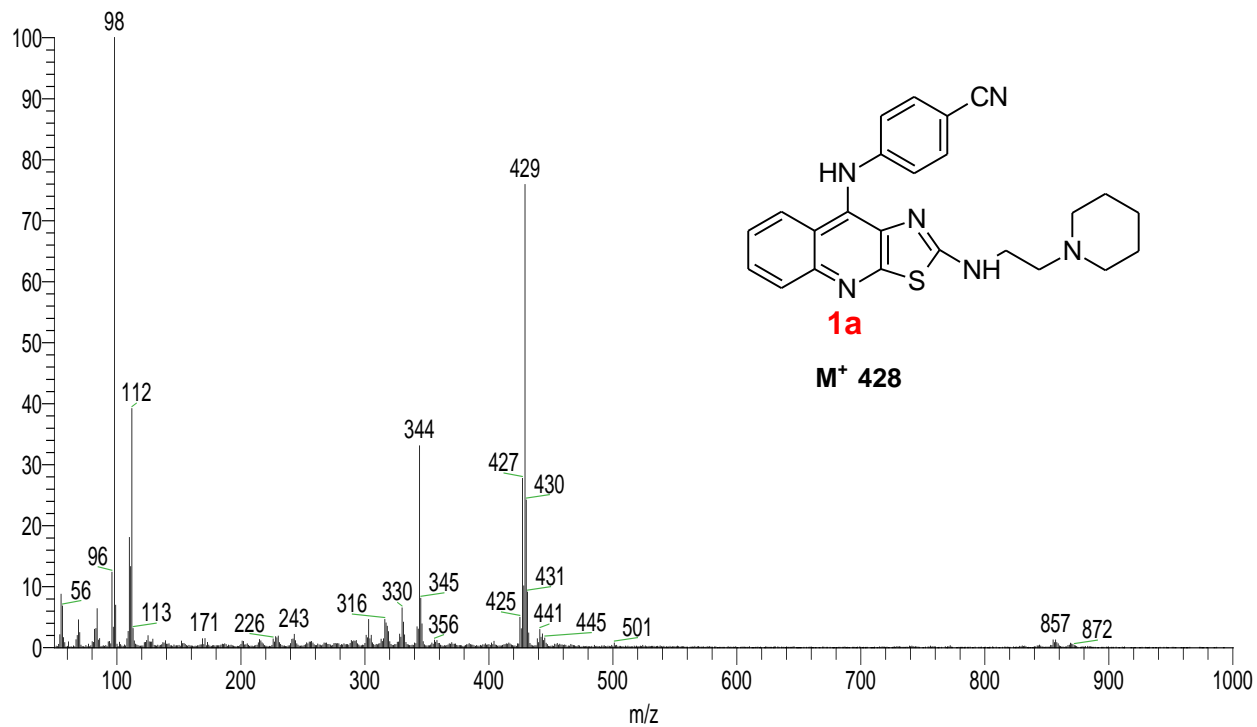


10. ANEXOS



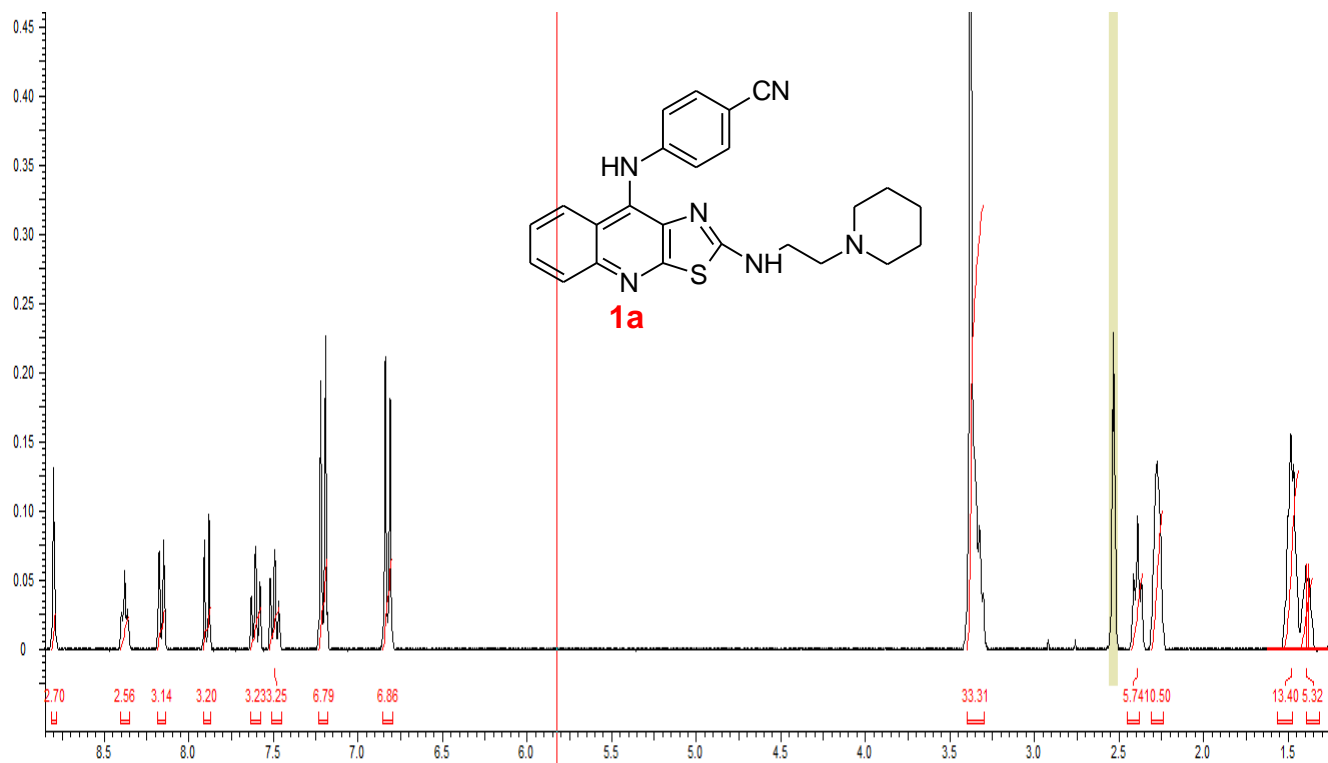
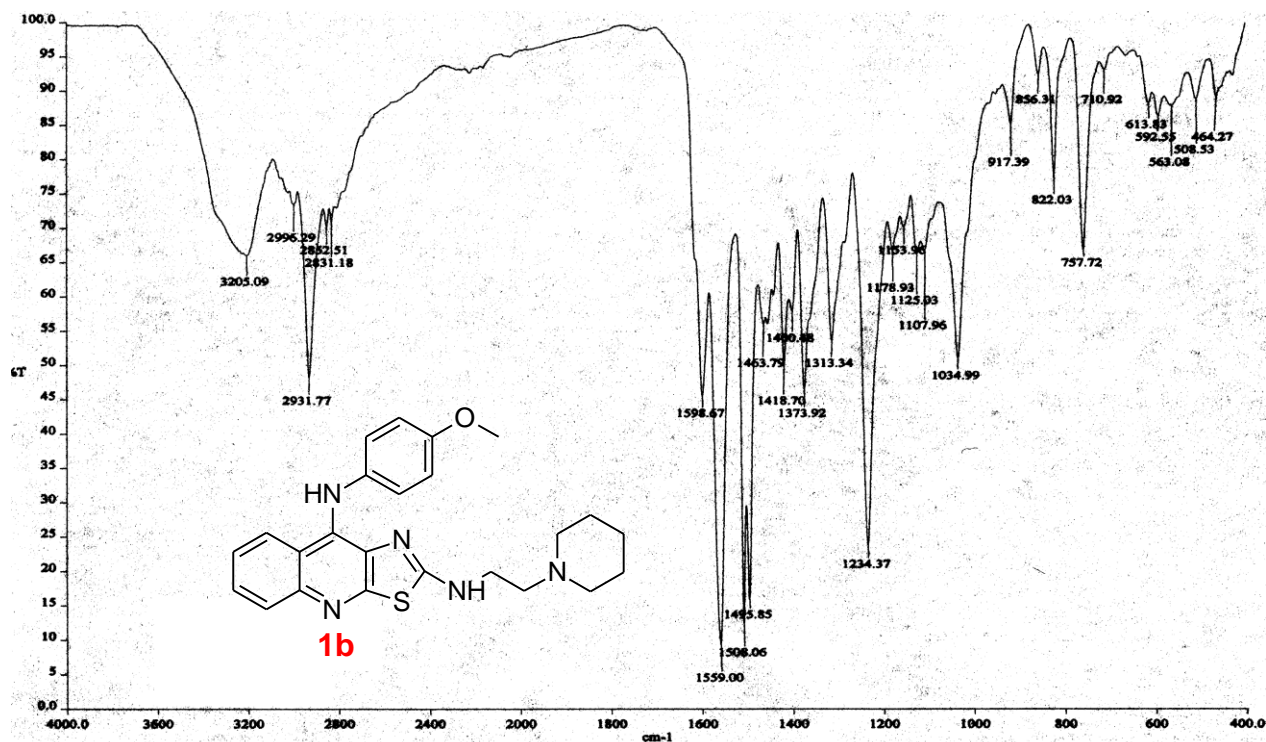


Espectro 1. IR (pastilla KBr) del compuesto 1a.



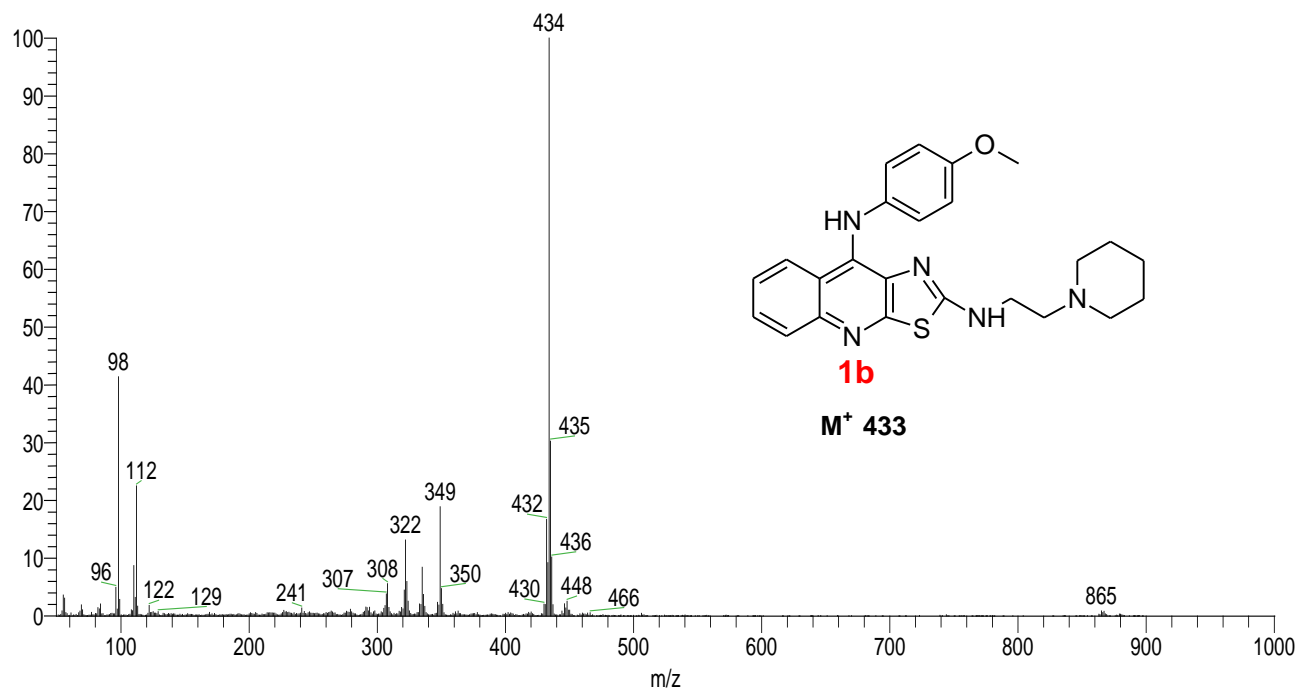
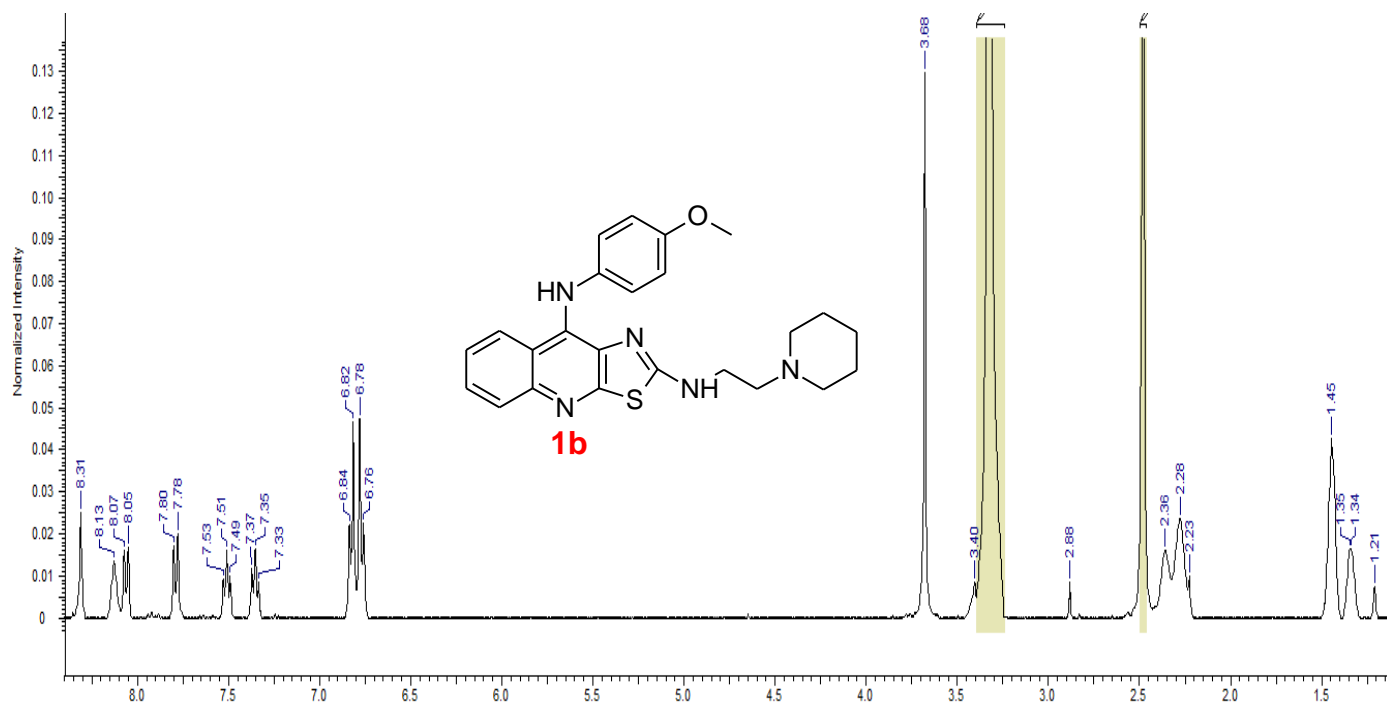
Espectro 2. EM (FAB) del compuesto 1a.

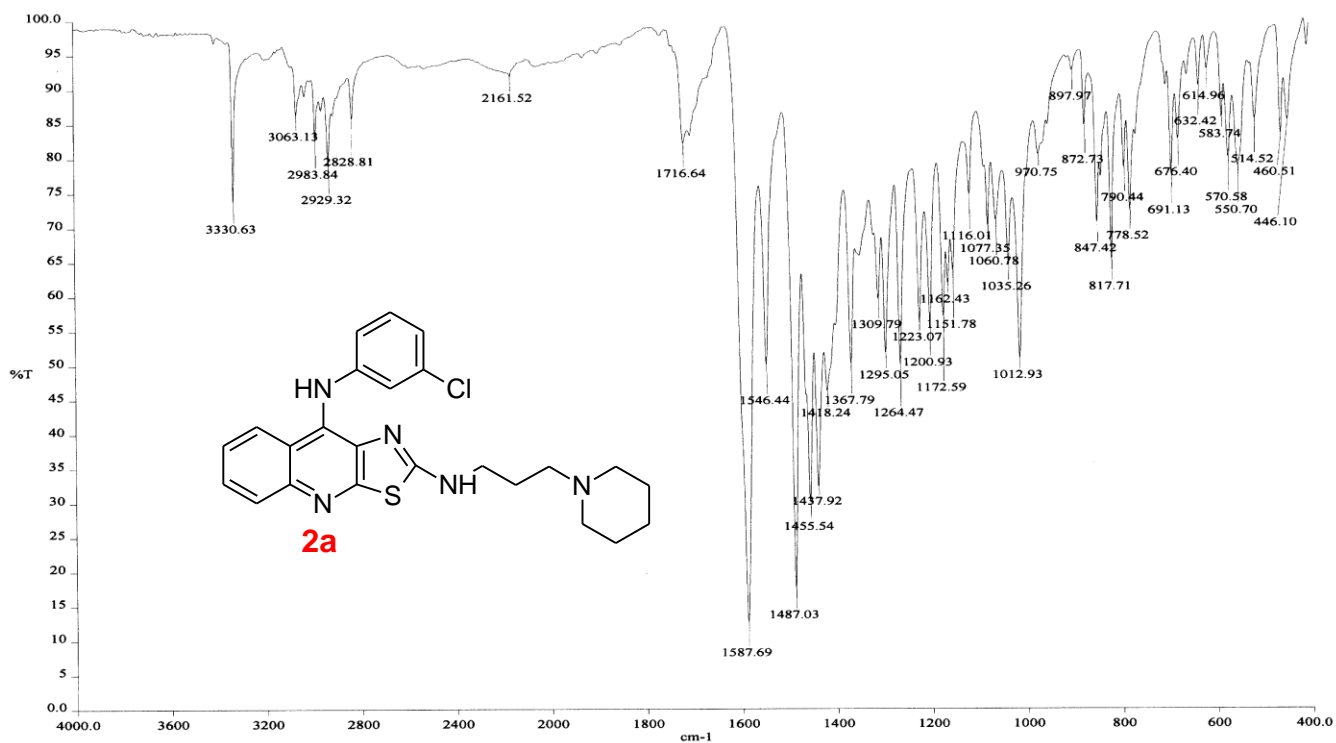


Espectro 3. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 1a.

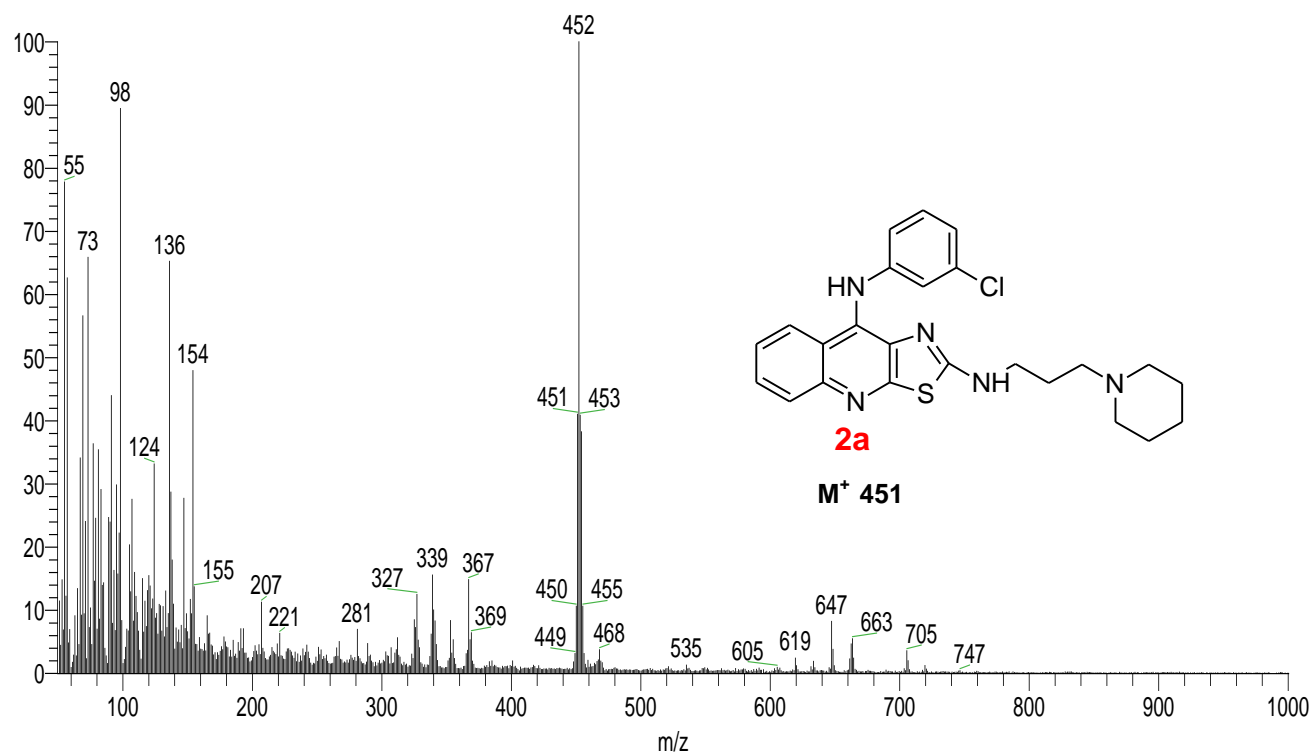
Espectro 4. IR (pastilla KBr) del compuesto 1b.



Espectro 5. EM (FAB) del compuesto **1b**.Espectro 6. RMN- 1H (DMSO- d_6) del compuesto **1b**.

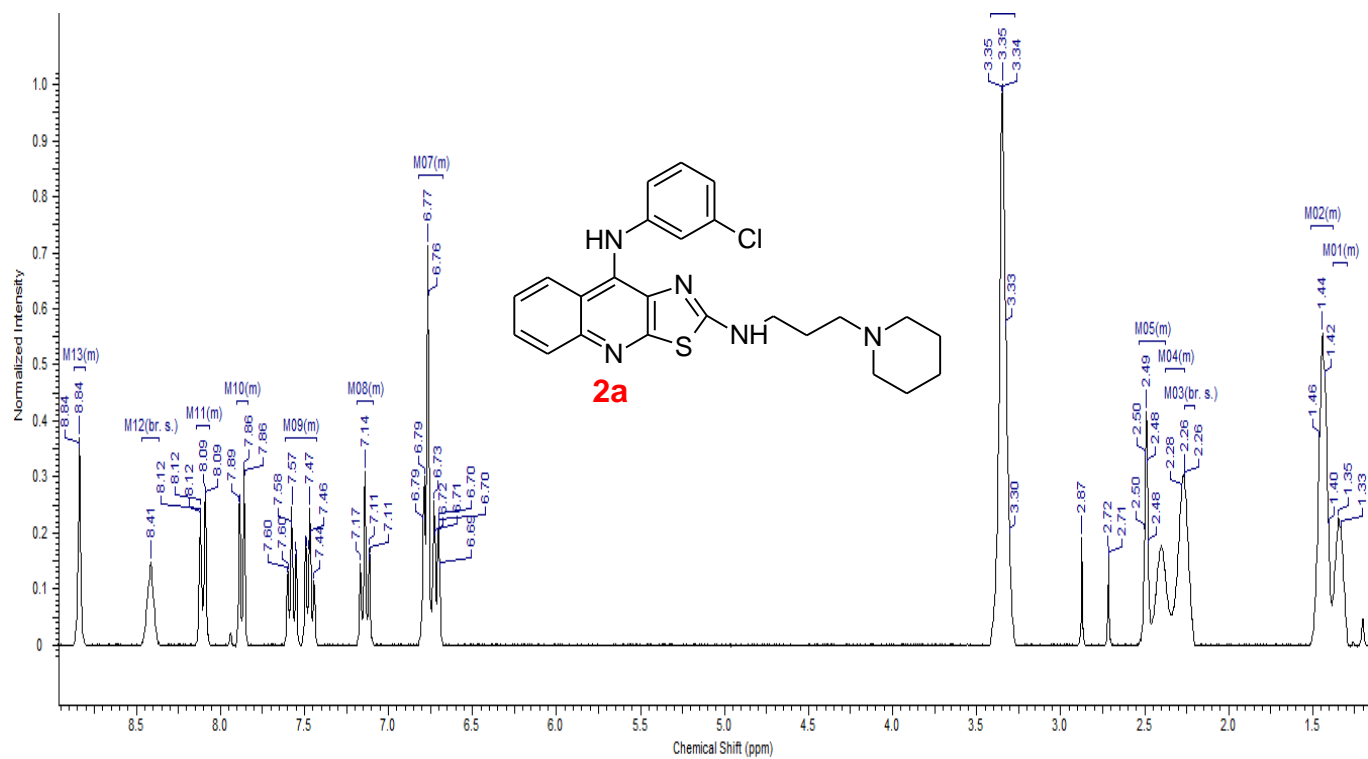
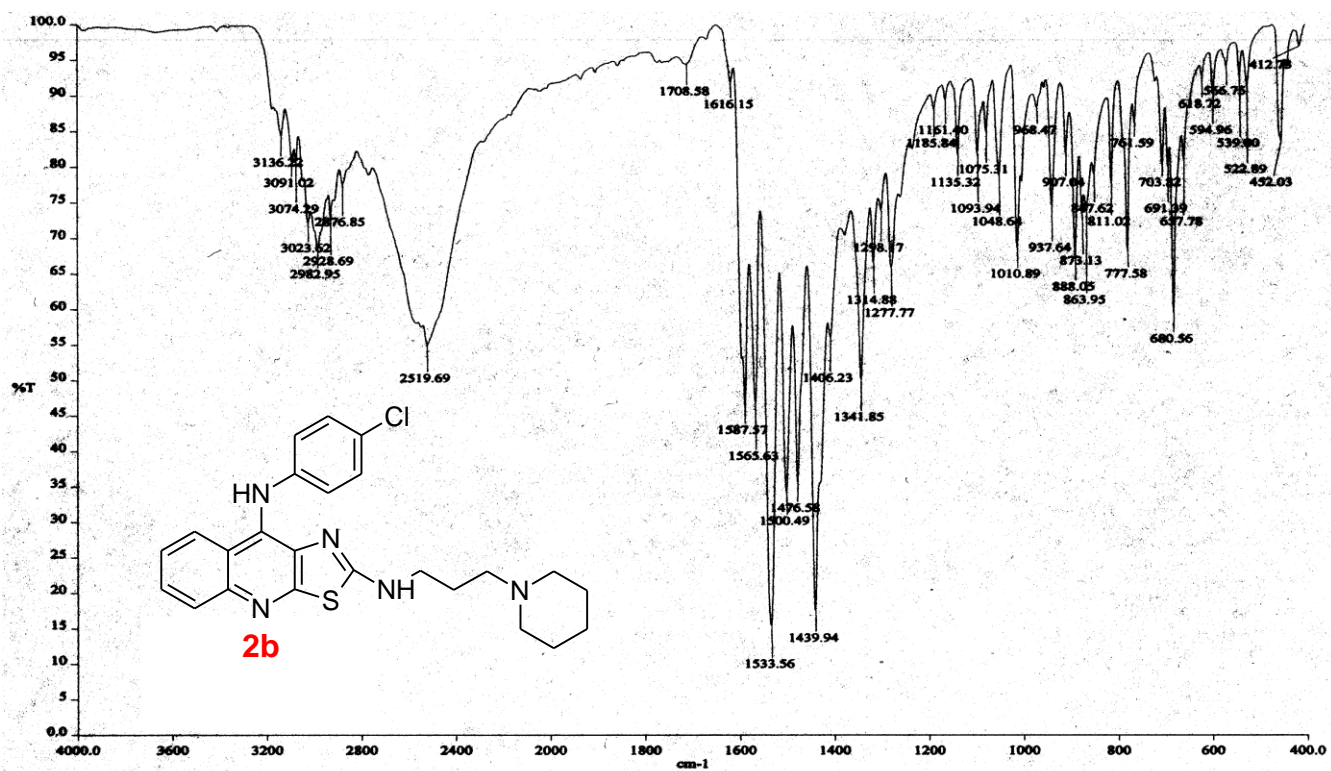


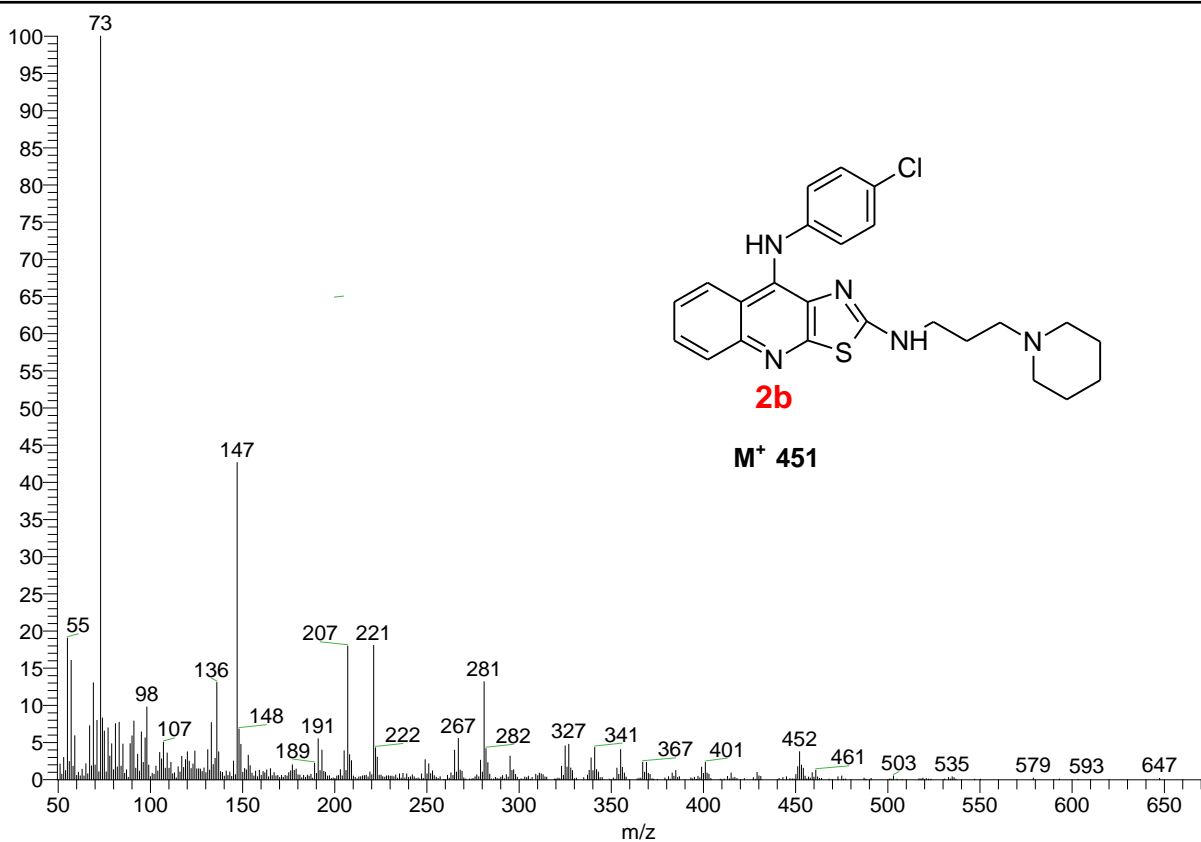
Espectro 7. IR (pastilla KBr) del compuesto 2a.



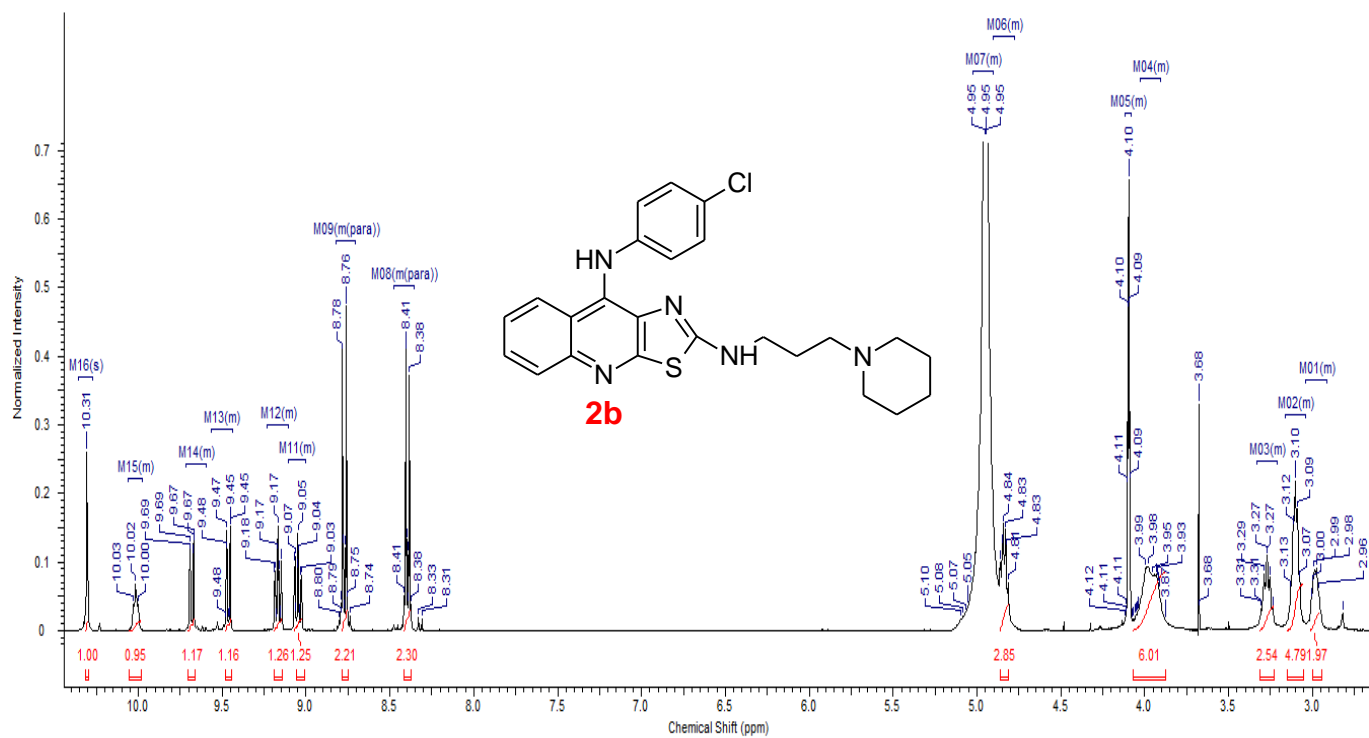
Espectro 8. EM (FAB) del compuesto 2a.

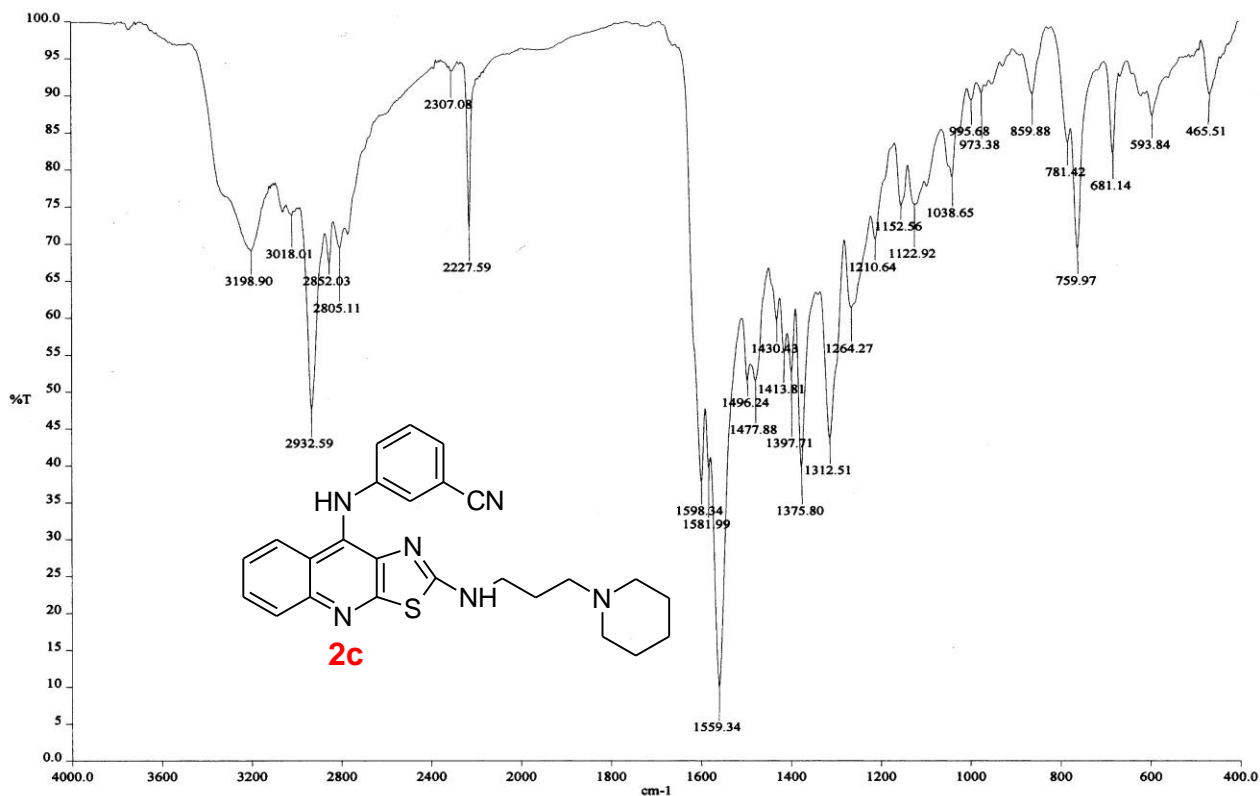


Espectro 9. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto **2a**.Espectro 10. IR (patilla KBr) del compuesto **2b**.

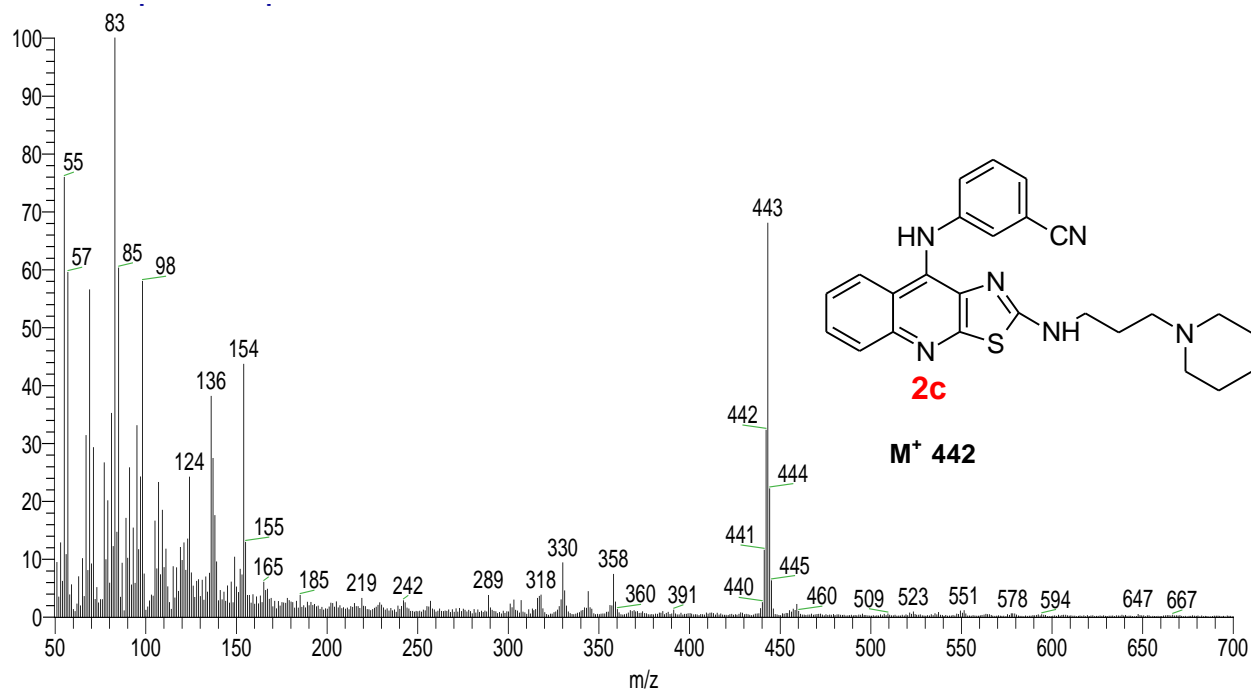


Espectro 11. EM (FAB) del compuesto 2b.

Espectro 12. RMN-¹H (DMSO-d₆) del compuesto 2b.

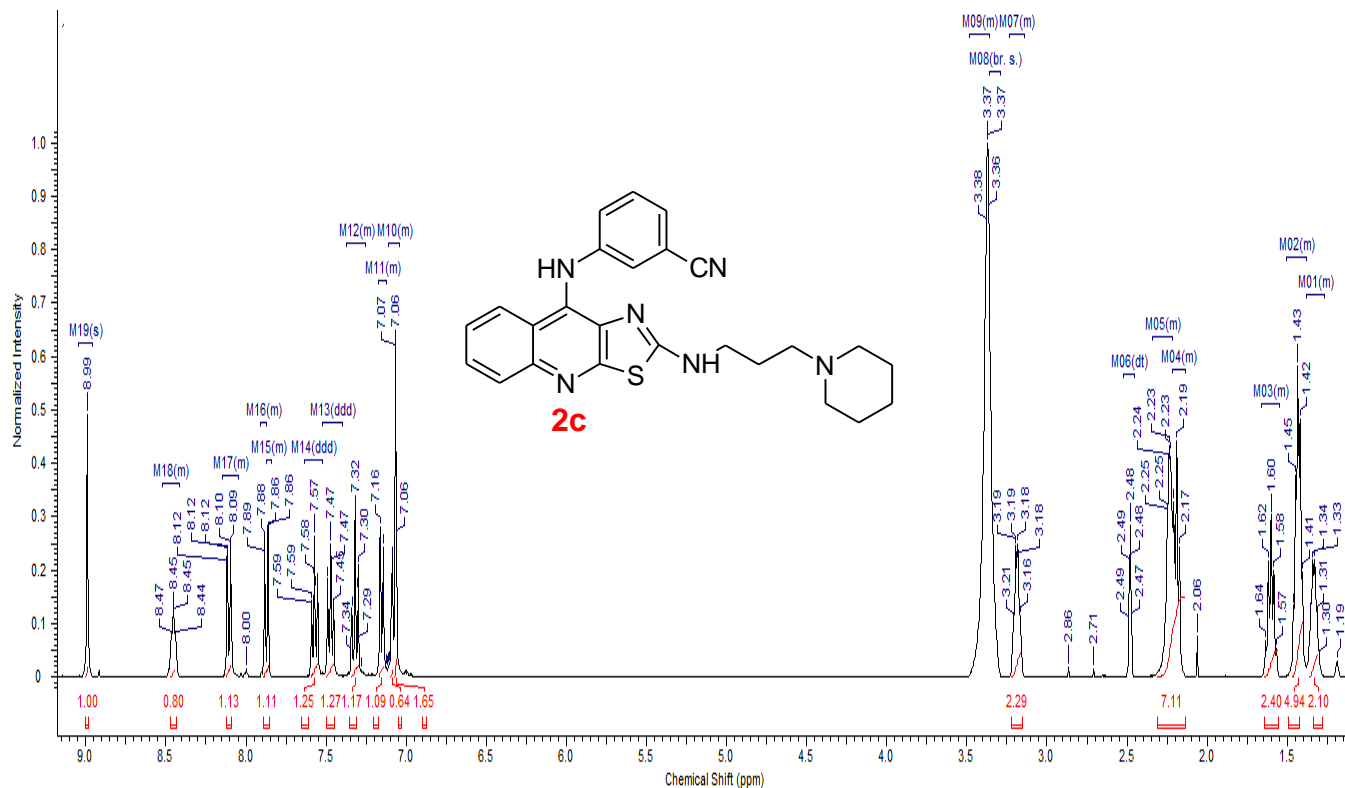
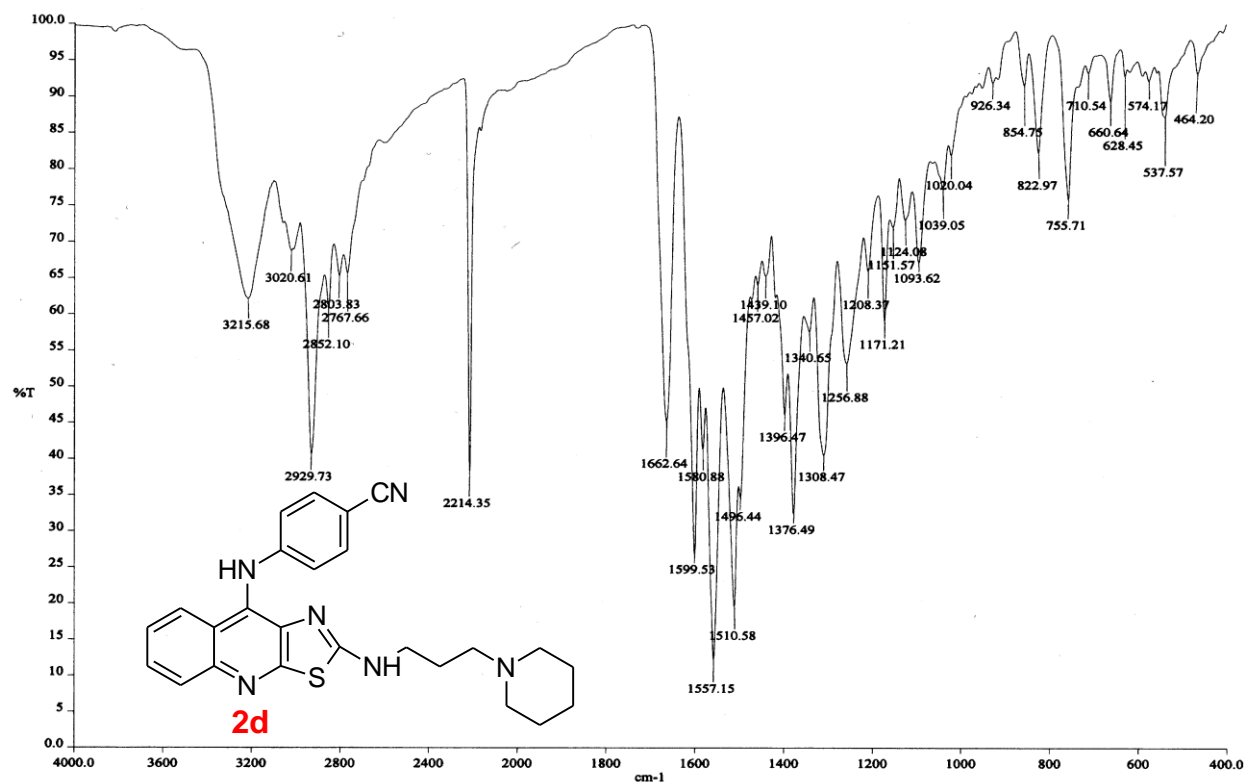


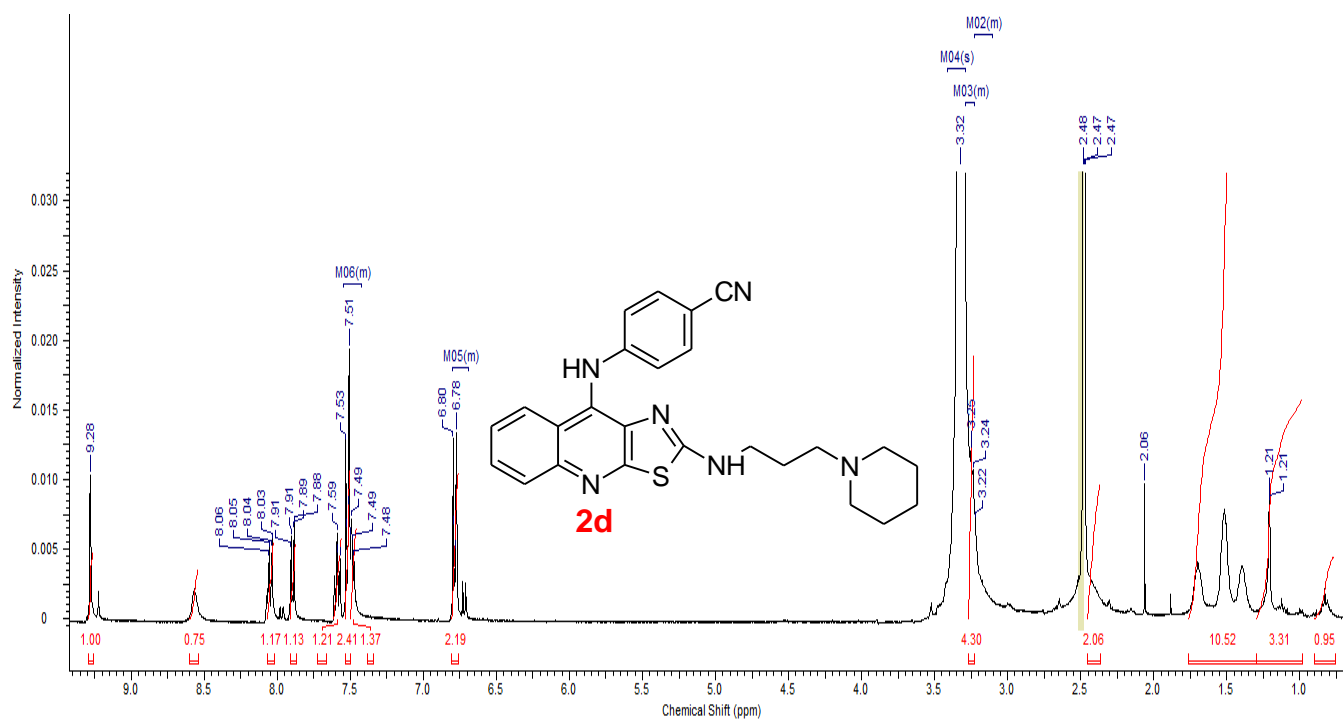
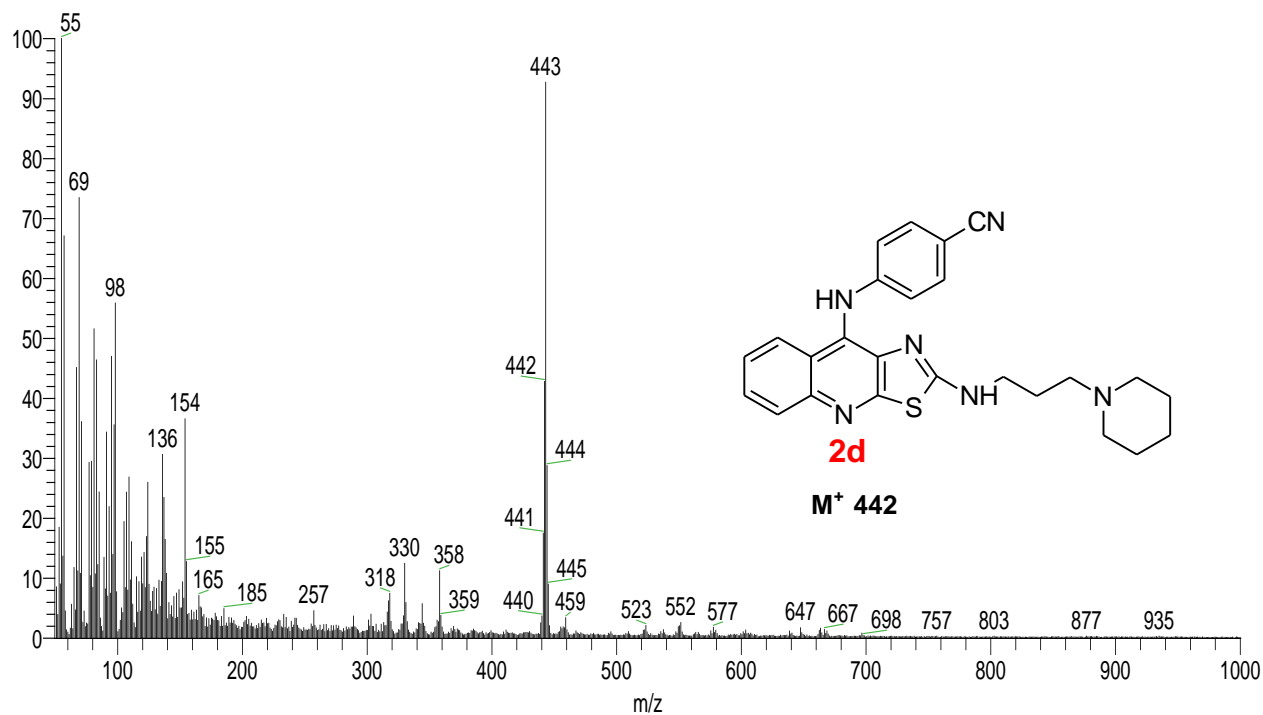
Espectro 13. IR (pastilla KBr) del compuesto 2c.

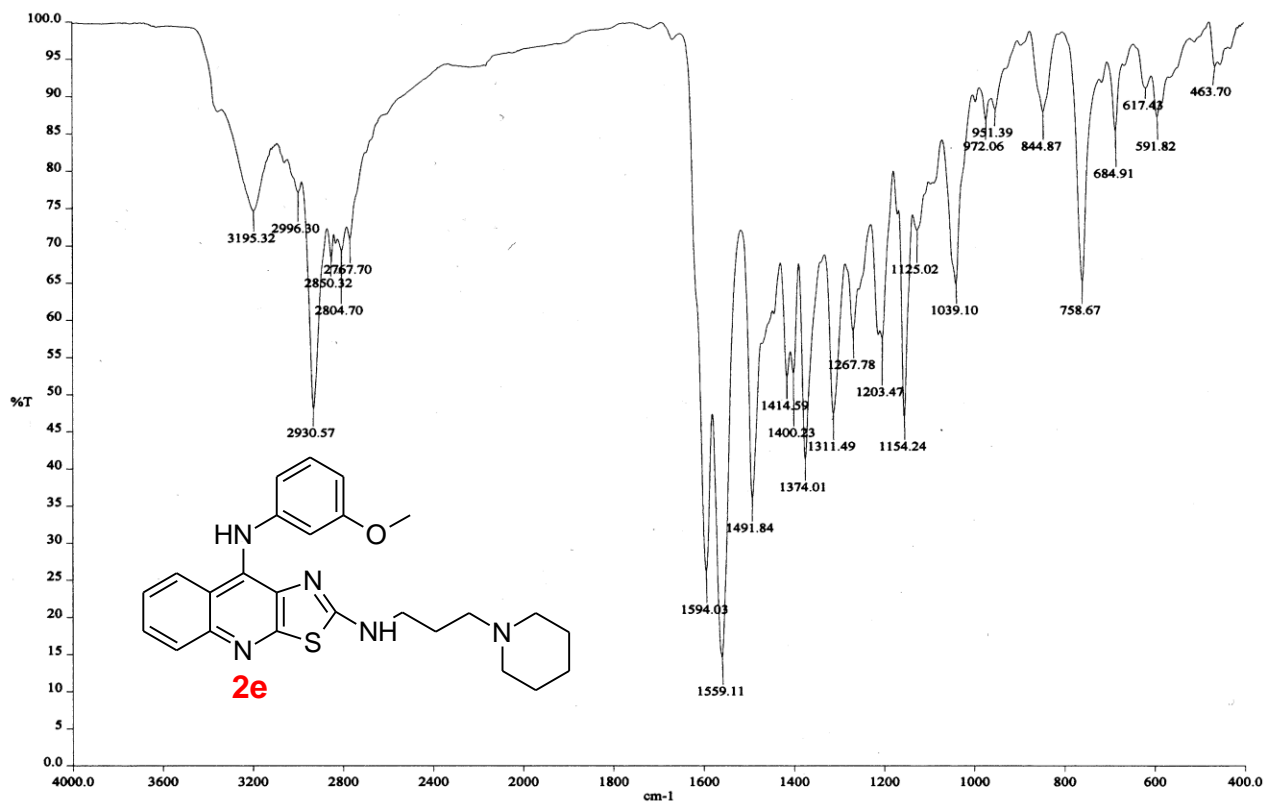


Espectro 14. EM (FAB) del compuesto 2c.

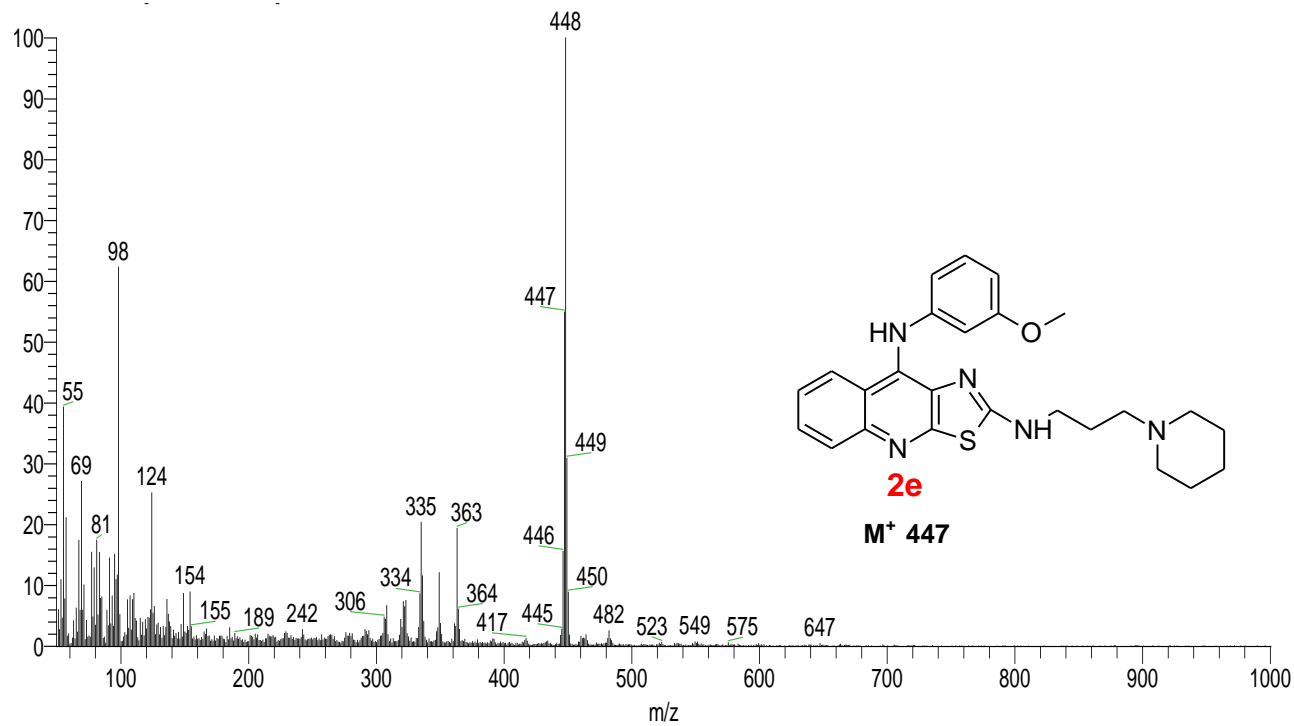


Espectro 15. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto **2c**.Espectro 16. IR (pastilla KBr) del compuesto **2d**.



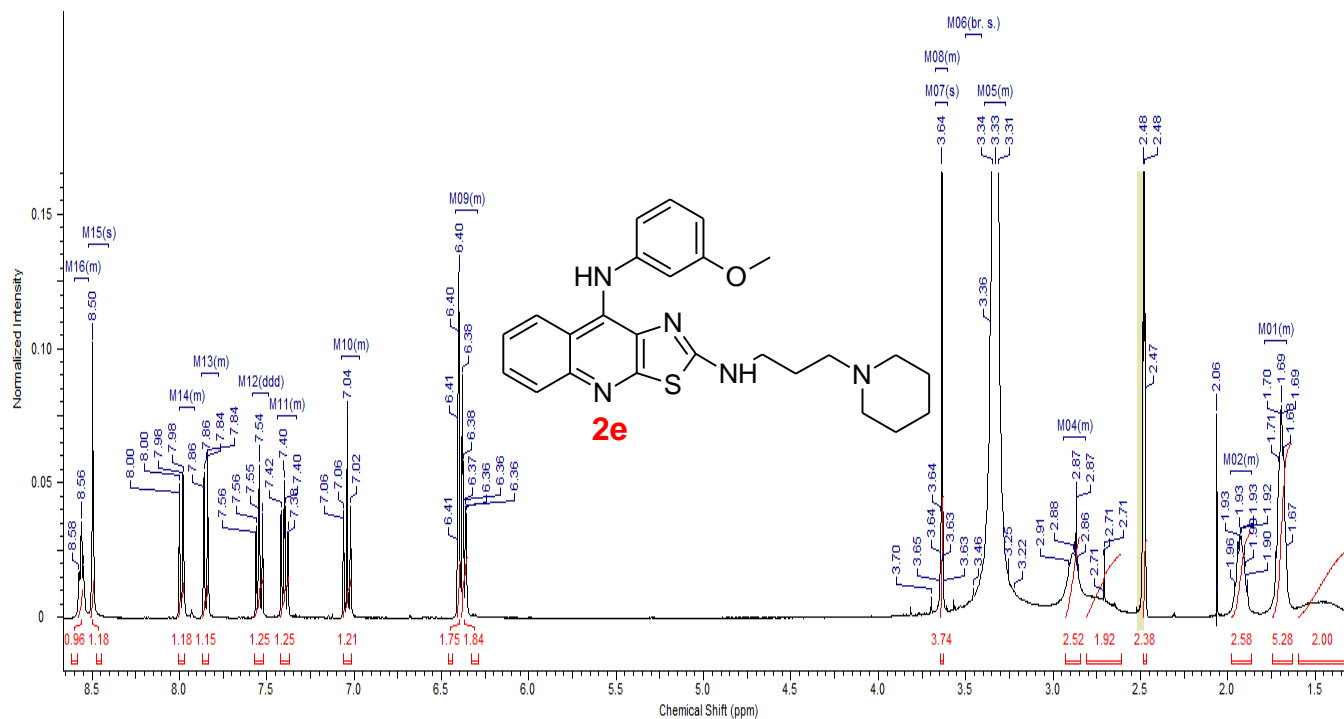
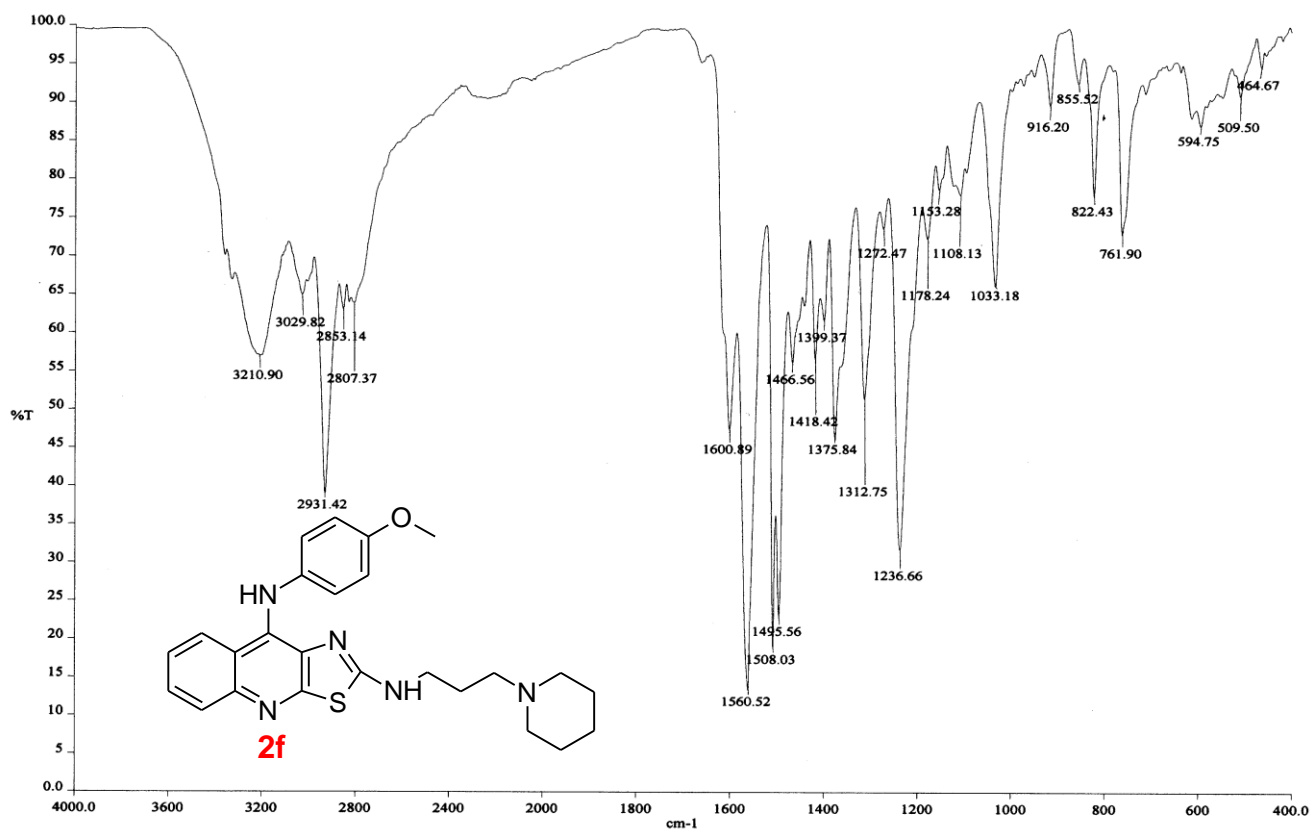


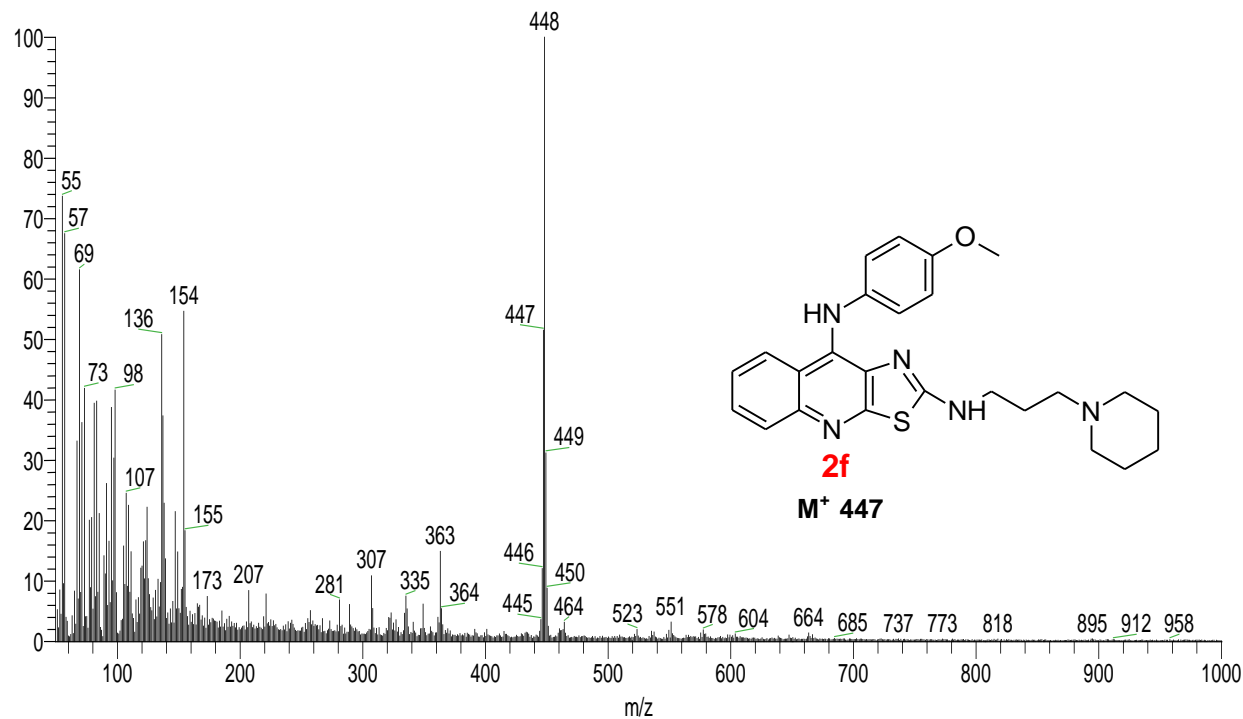
Espectro 19. IR (pastilla KBr) del compuesto 2e.



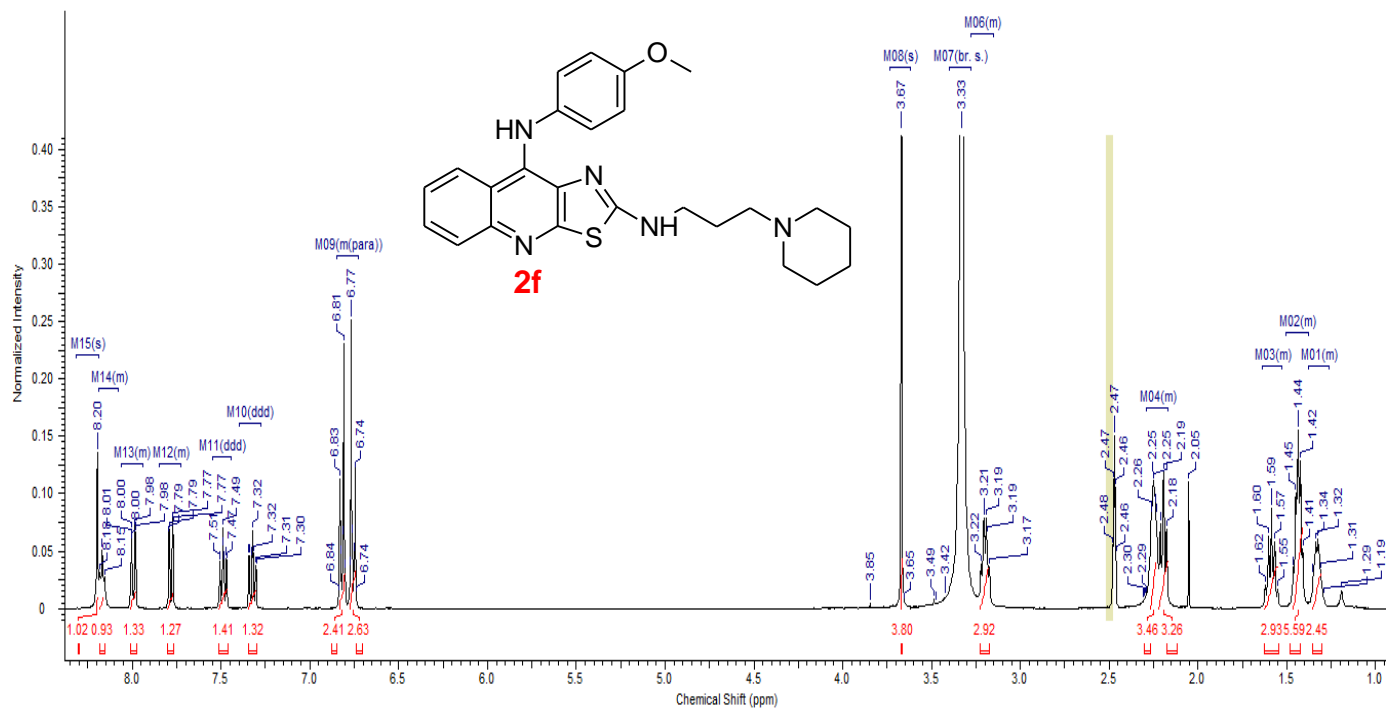
Espectro 20. EM (FAB) del compuesto 2e.

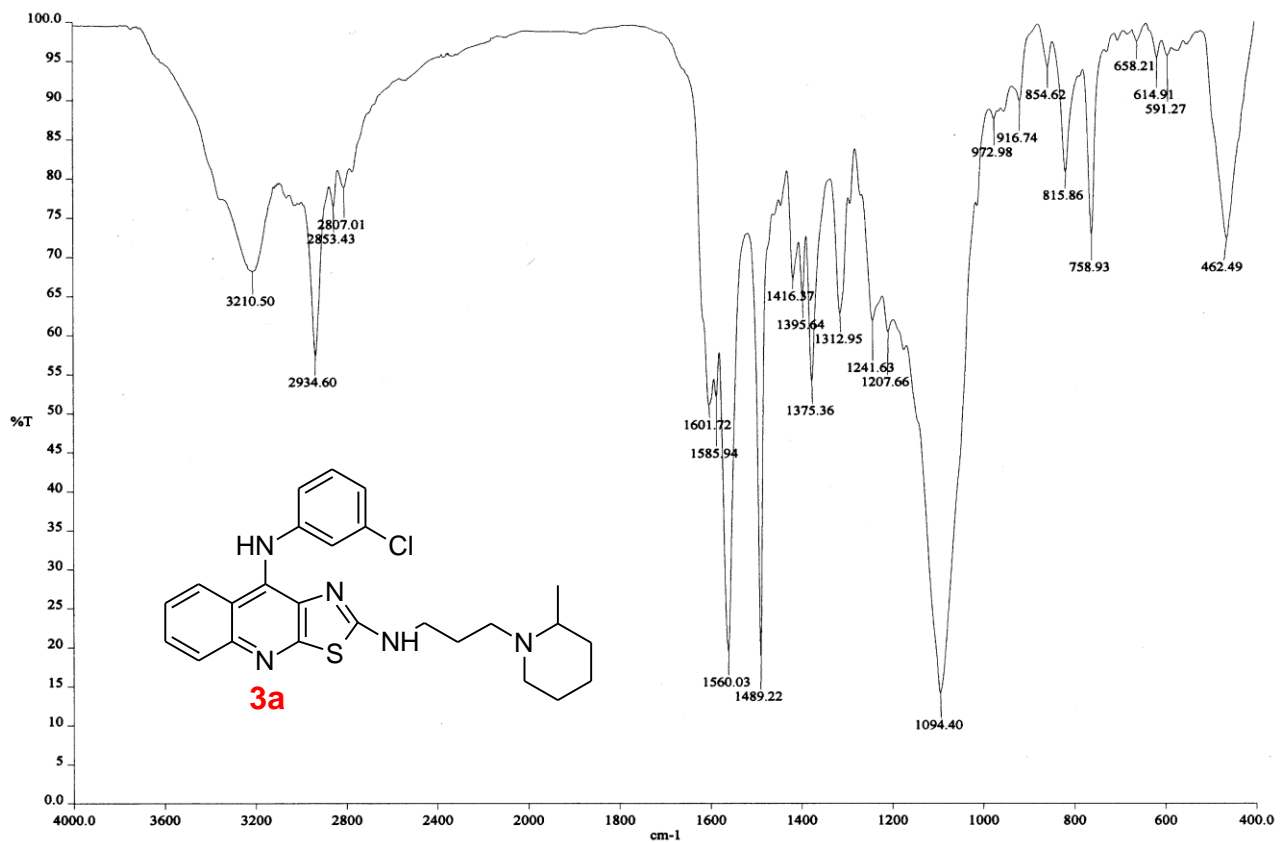


Espectro 21. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto **2e**.Espectro 22. IR (pastilla KBr) del compuesto **2f**.

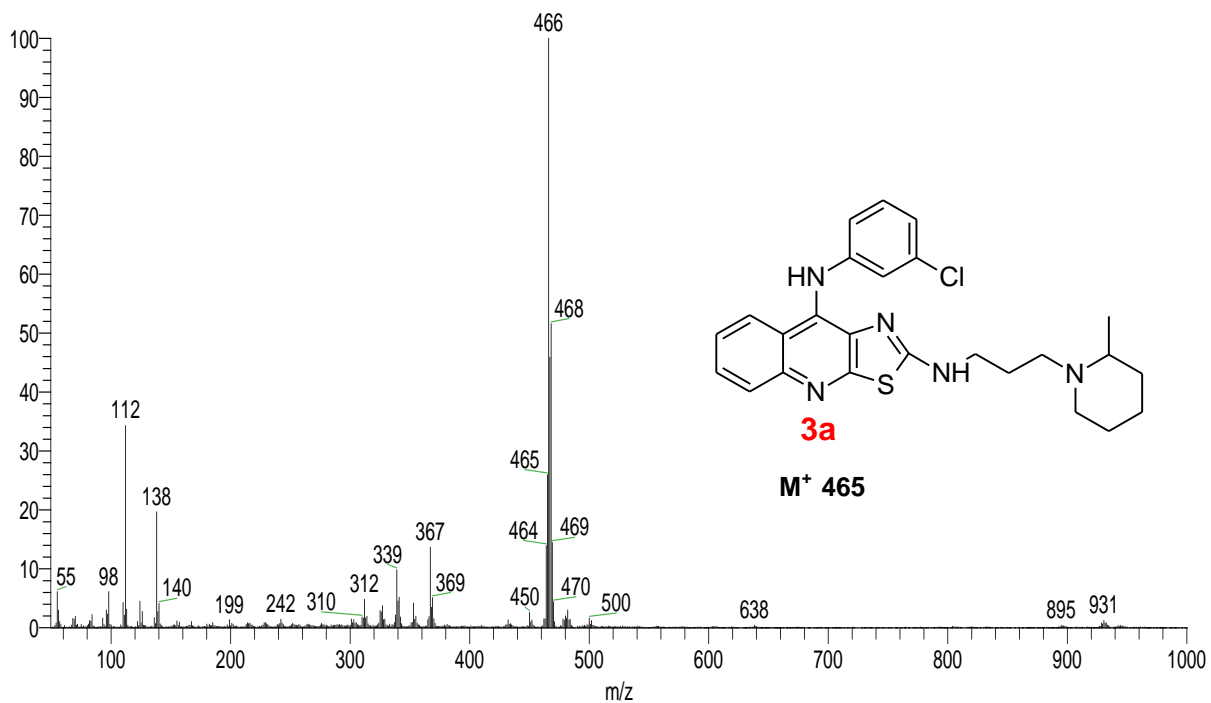


Espectro 23. EM (FAB) del compuesto 2f.

Espectro 24. RMN- ^1H (DMSO- d_6) del compuesto 2f.

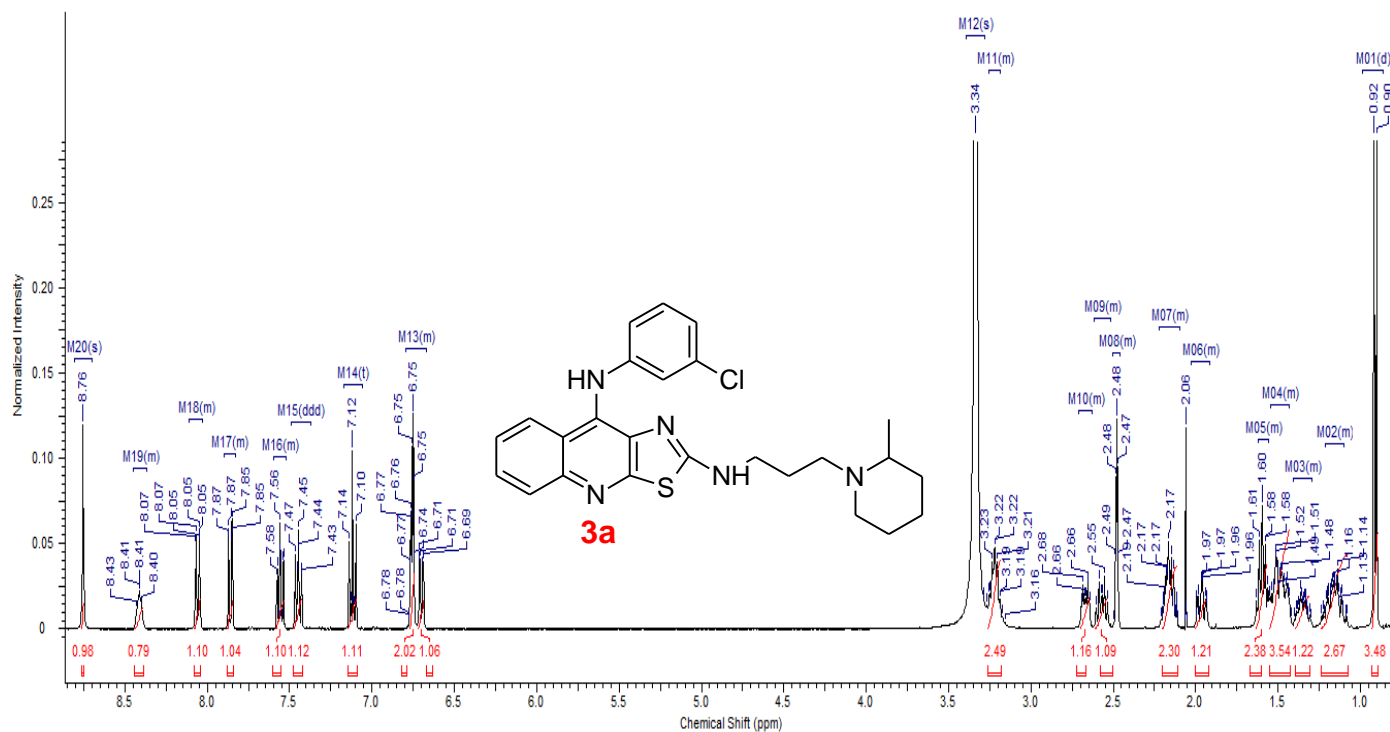
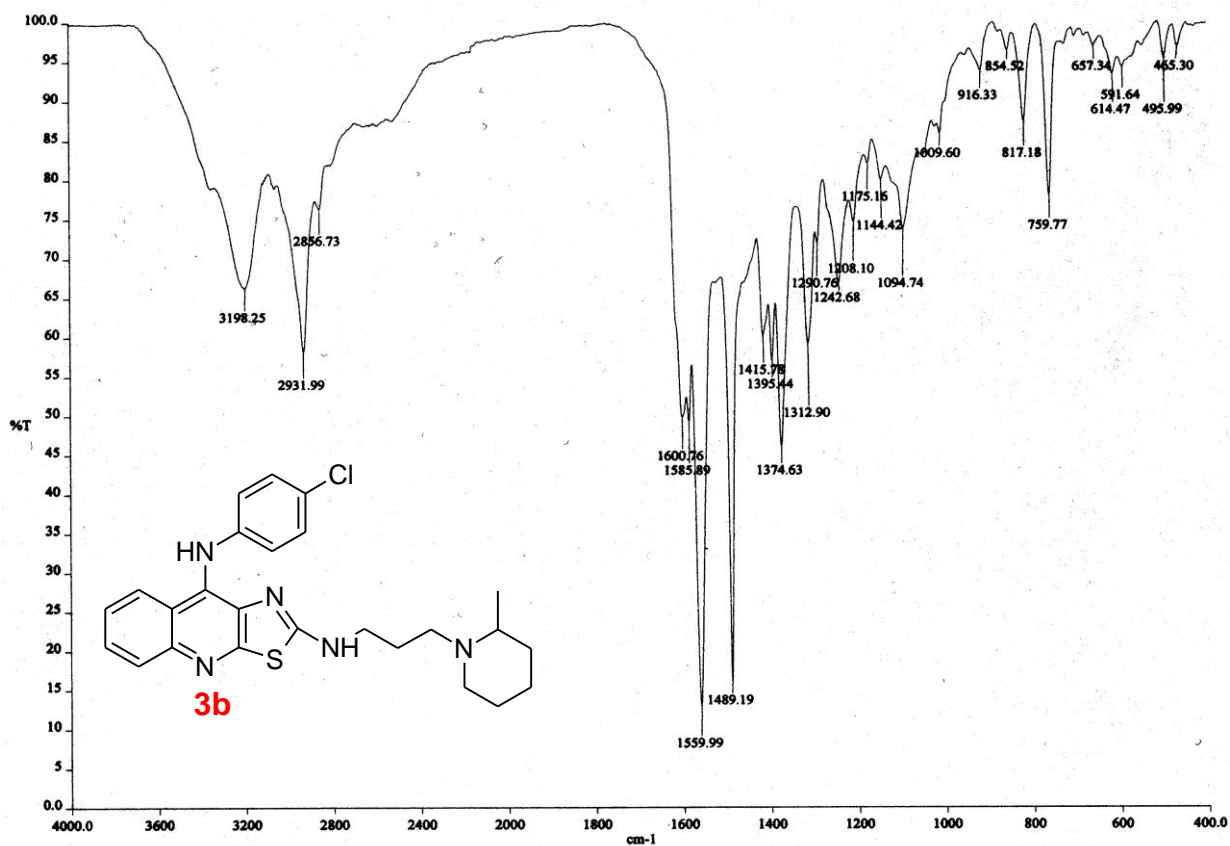


Espectro 25. IR (pastilla KBr) del compuesto 3a.



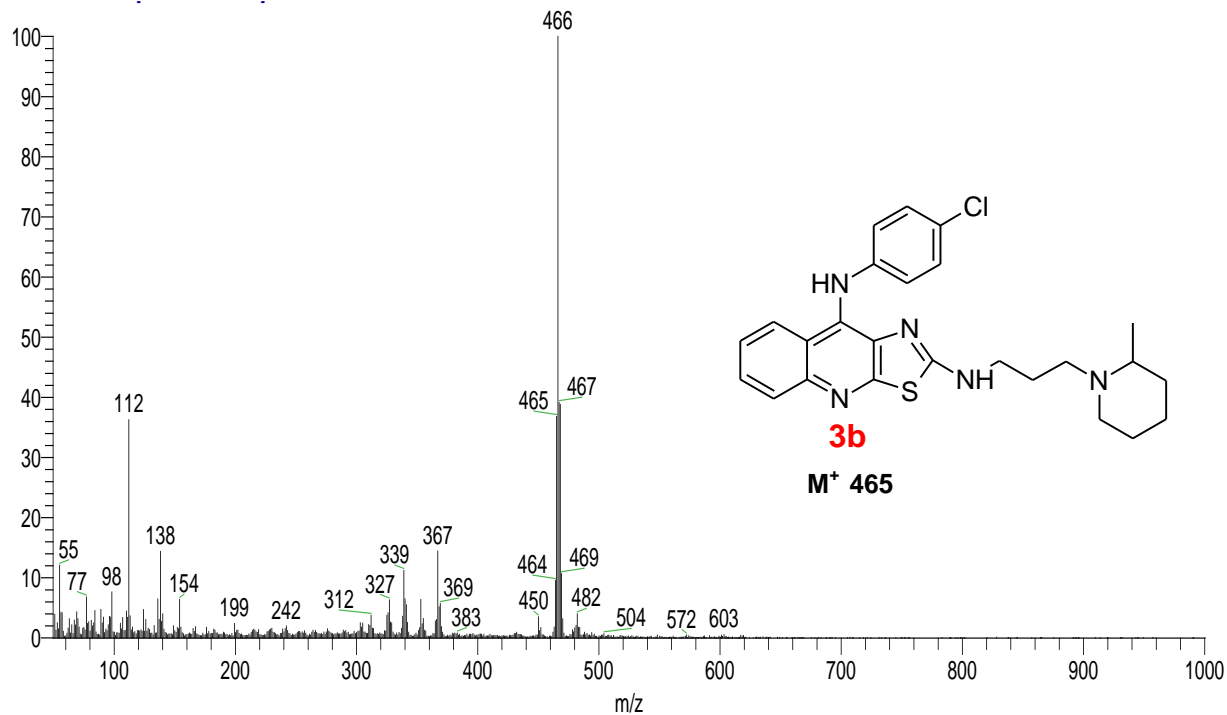
Espectro 26. EM (FAB) del compuesto 3a.



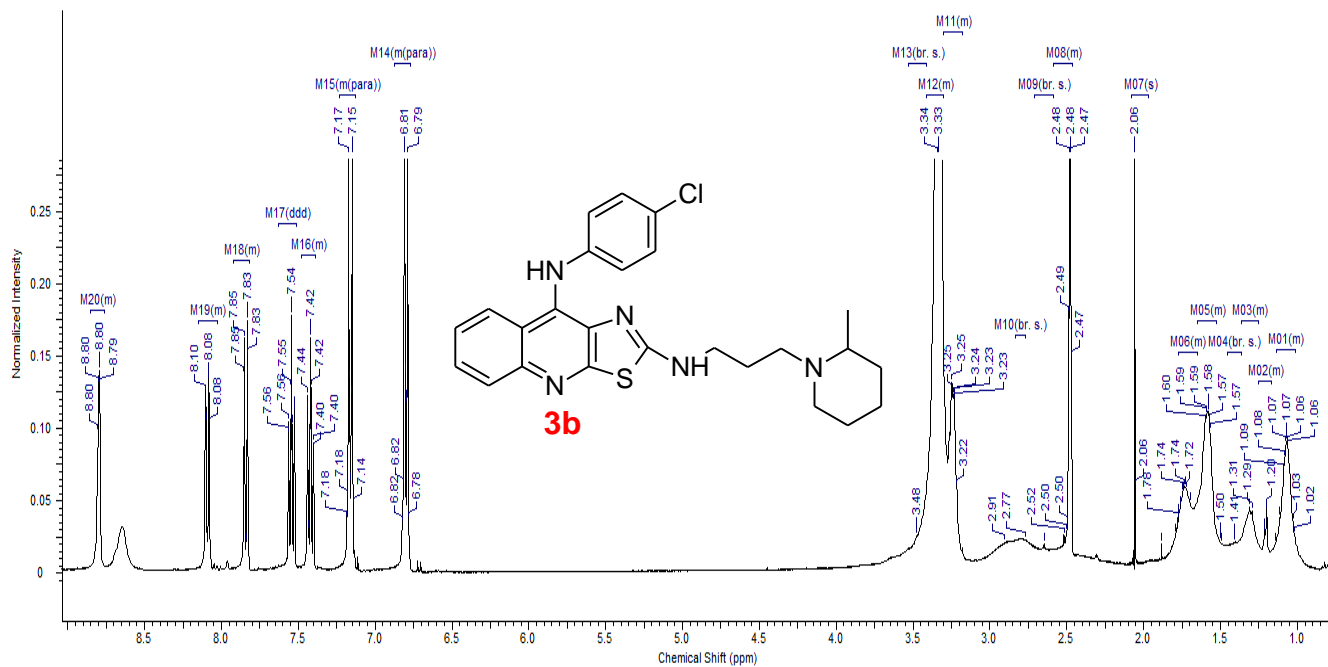
Espectro 27. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 3a.

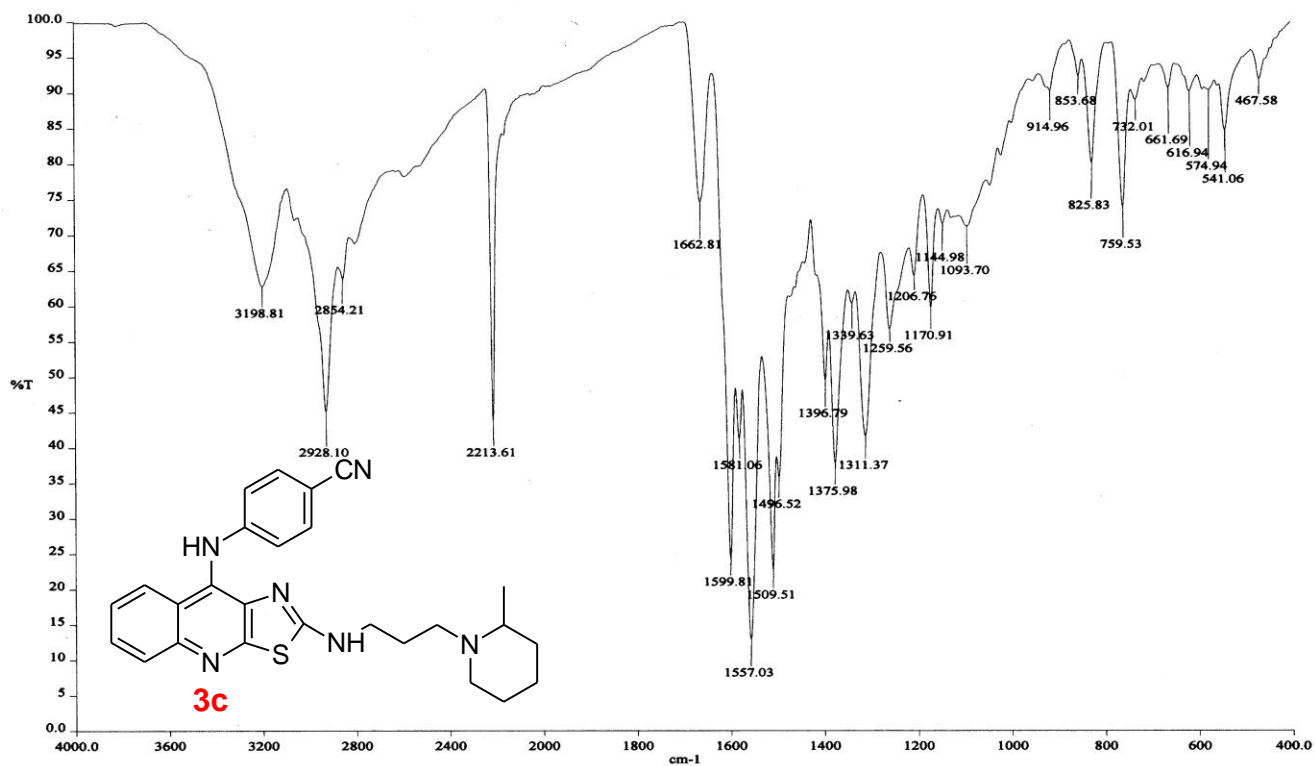
Espectro 28. IR (pastilla KBr) del compuesto 3b.



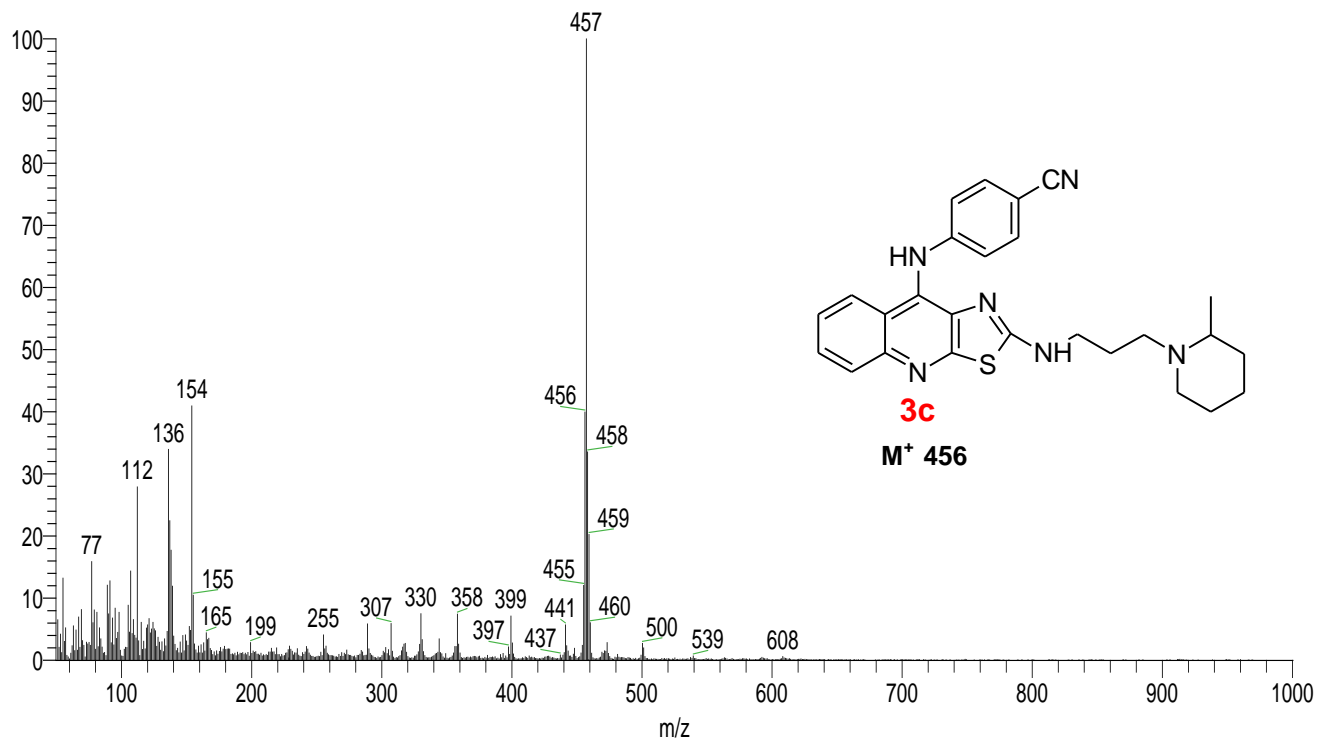


Espectro 29. EM (FAB) del compuesto 3b.

Espectro 30. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 3b.

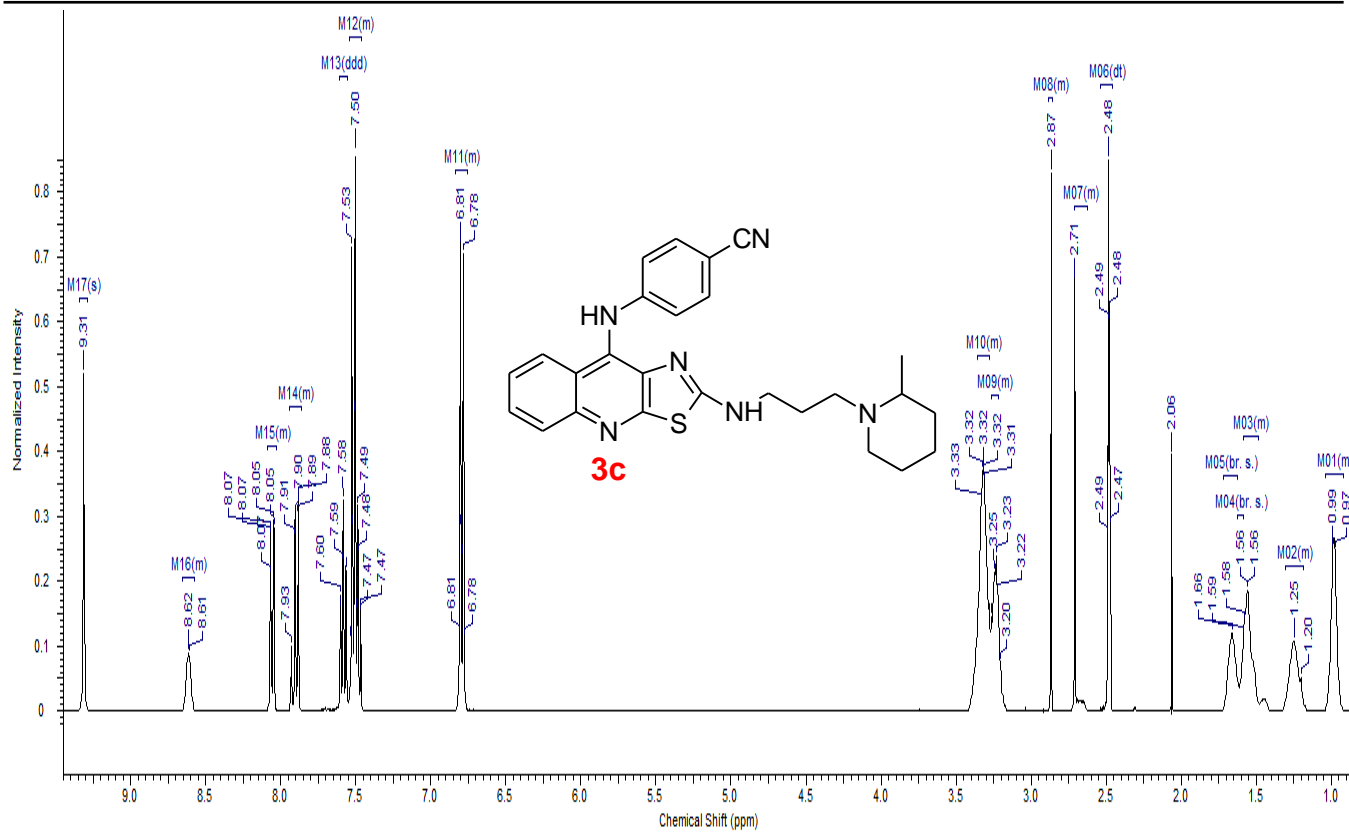
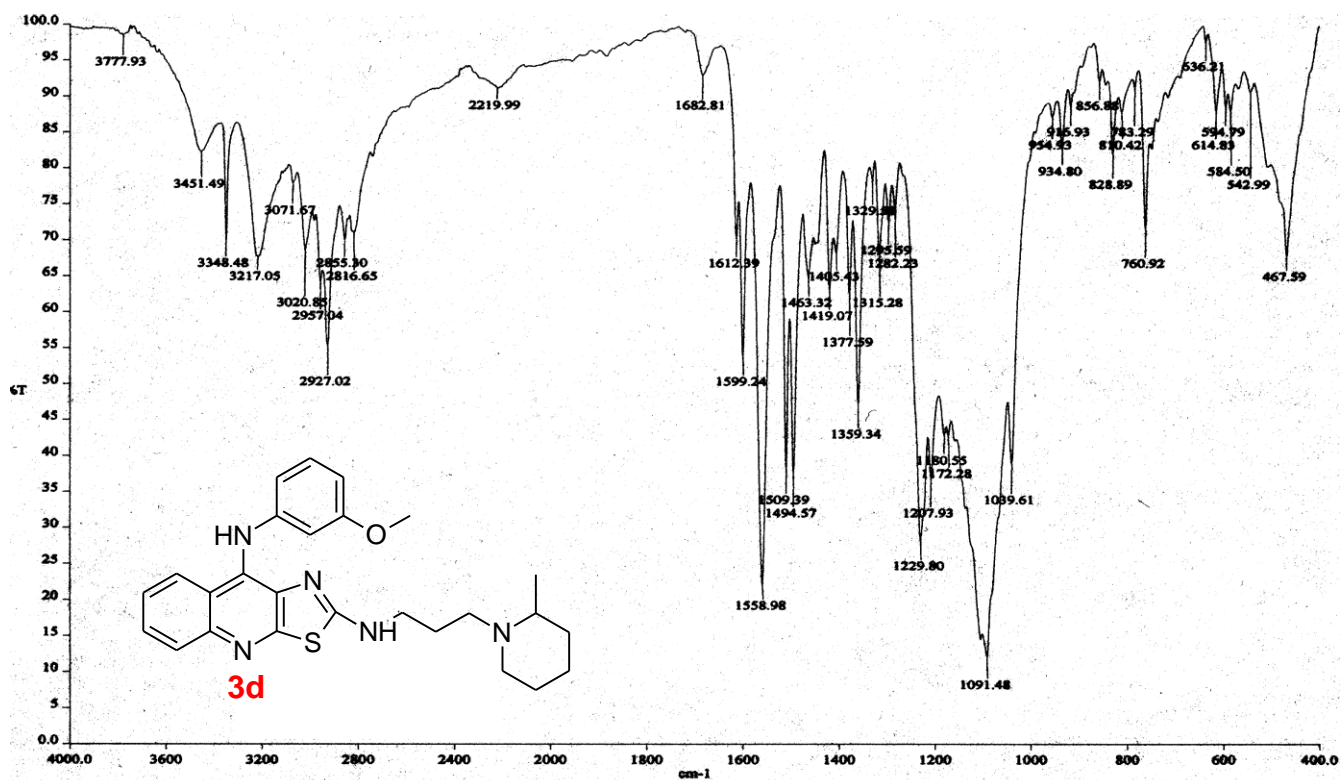


Espectro 31. IR (pastilla KBr) del compuesto 3c.



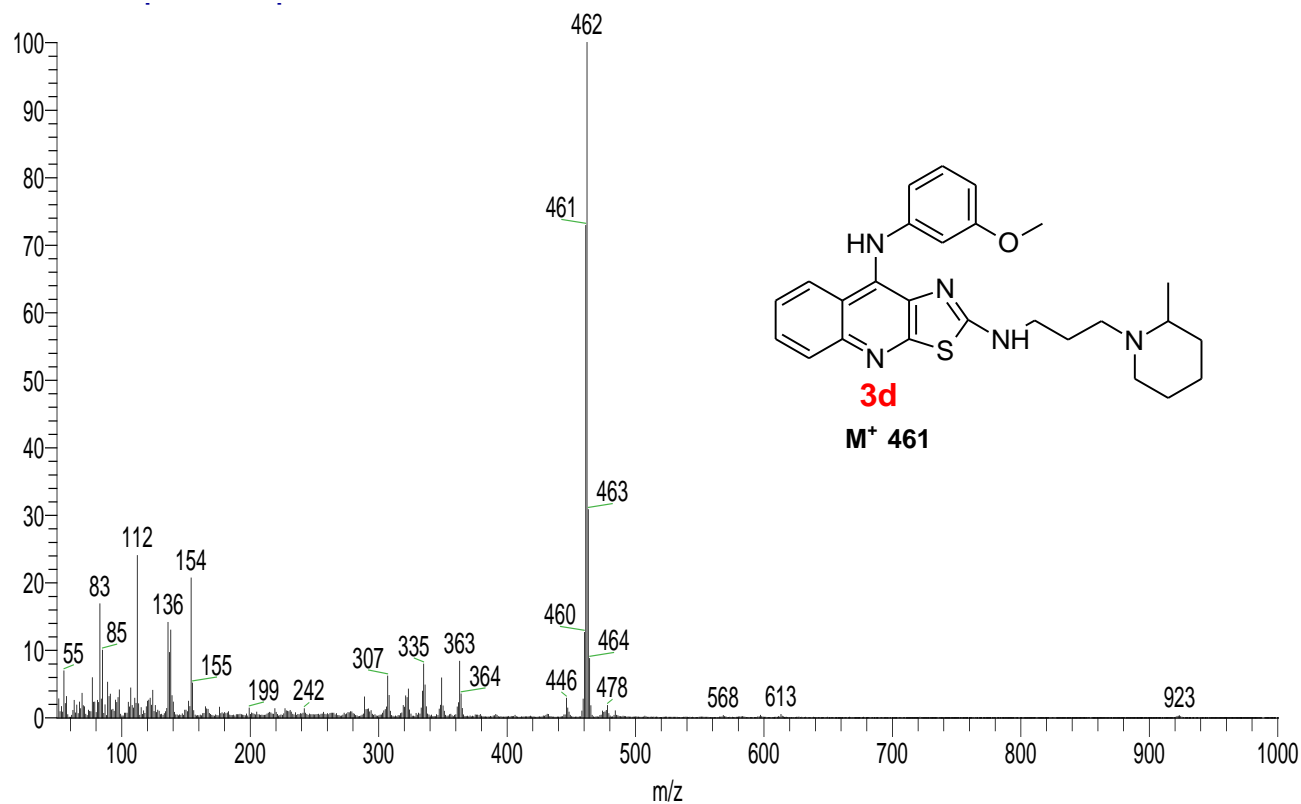
Espectro 32. EM (FAB) del compuesto 3c.



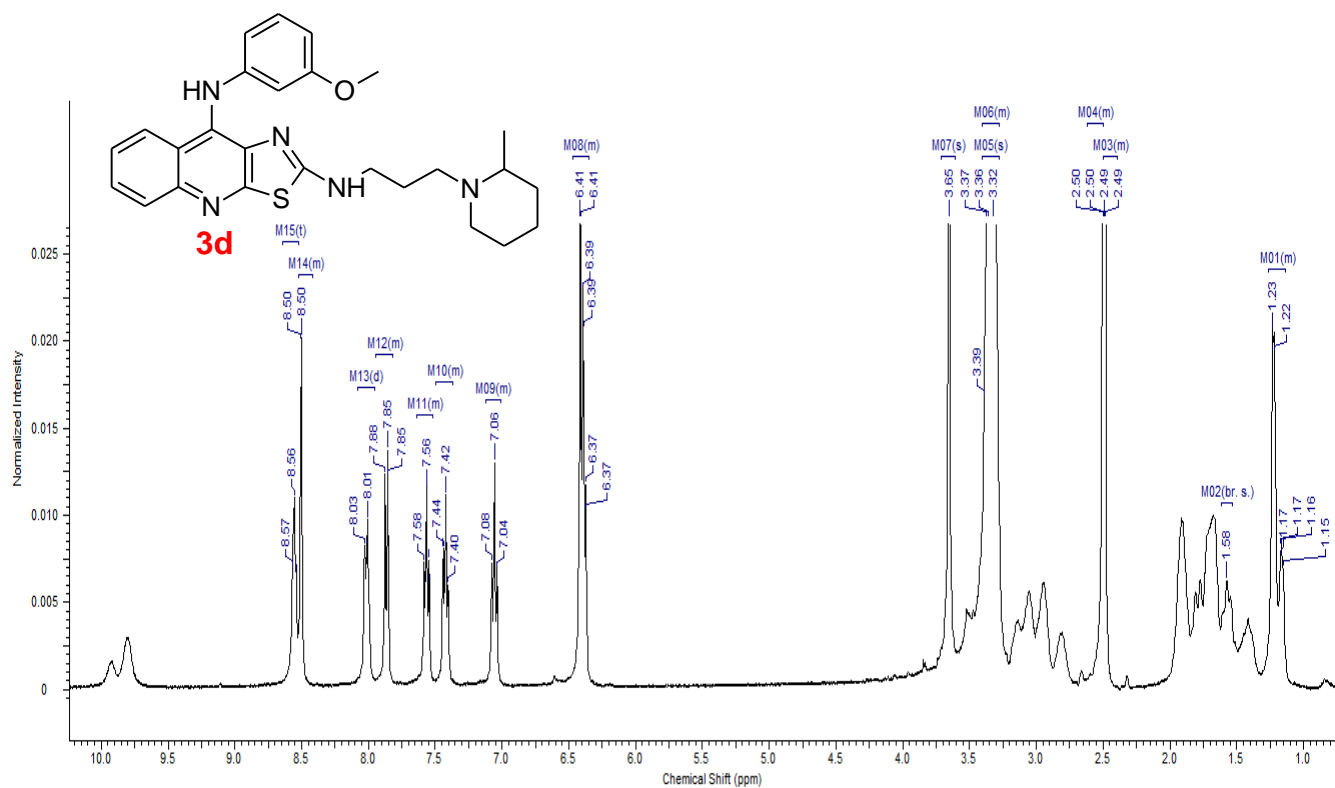
Espectro 33. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 3c.

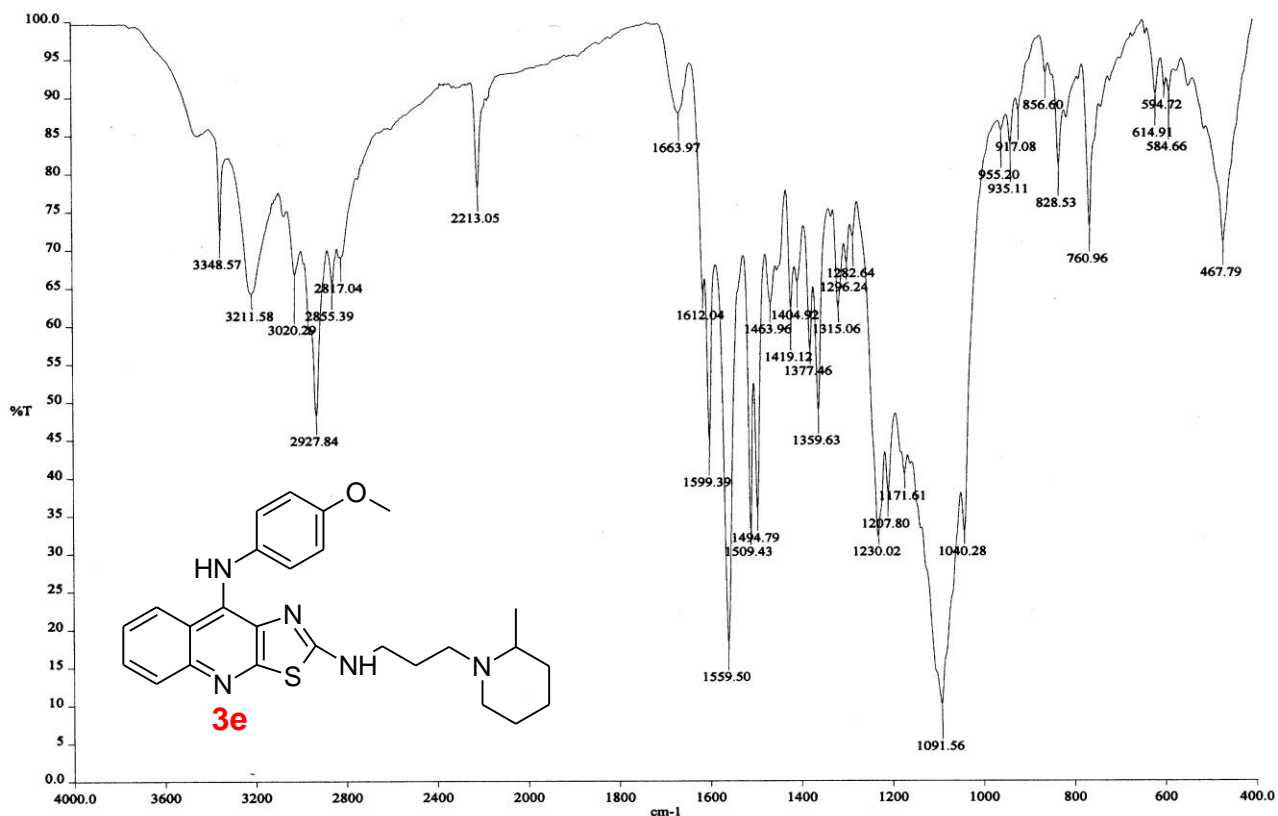
Espectro 34. IR (pastilla KBr) del compuesto 3d.



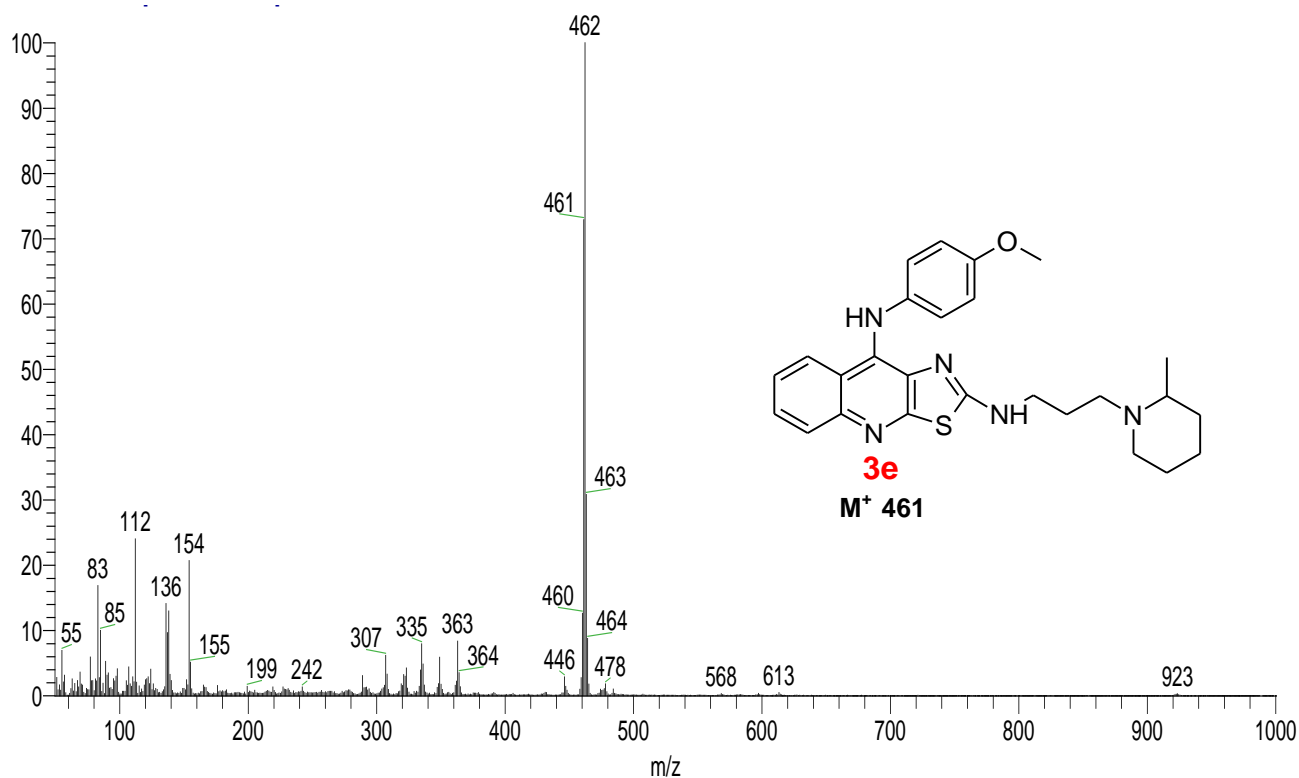


Espectro 35. EM (FAB) del compuesto 3d.

Espectro 36. RMN- ^1H ($\text{DMSO}-d_6$) del compuesto 3d.

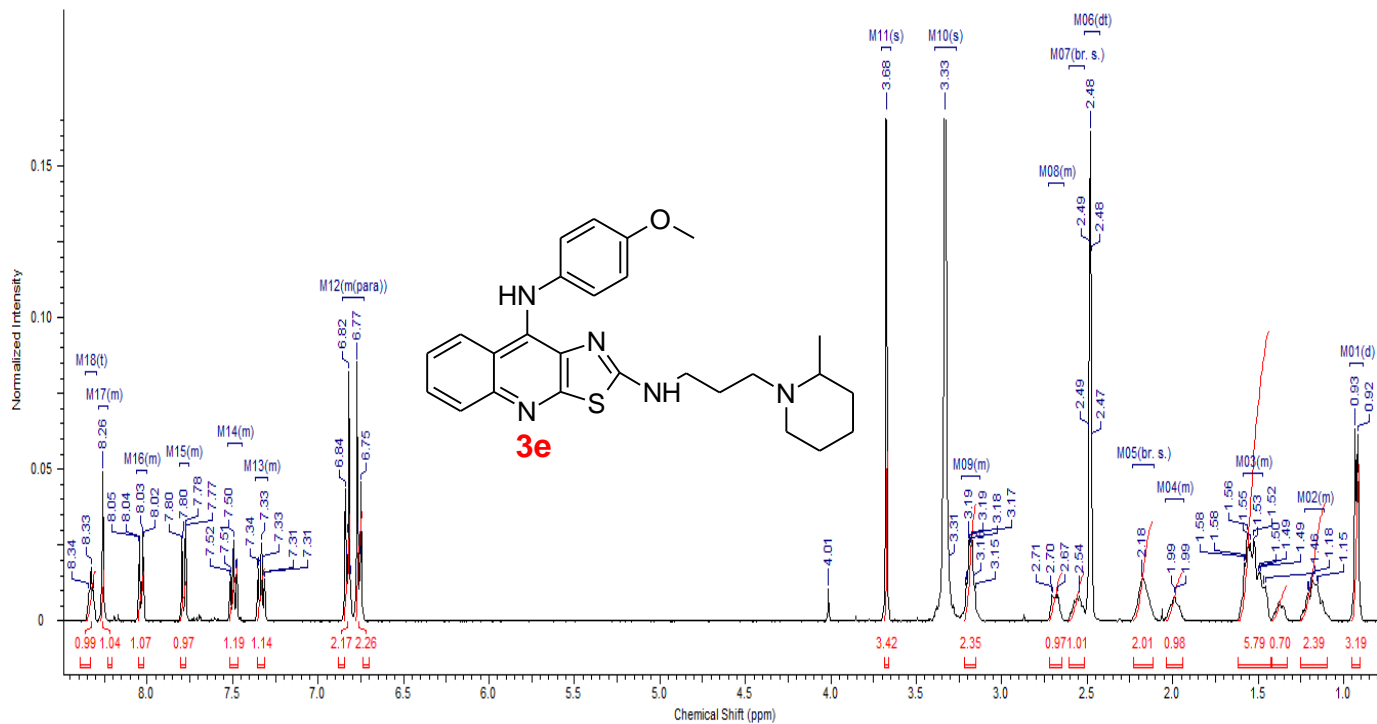
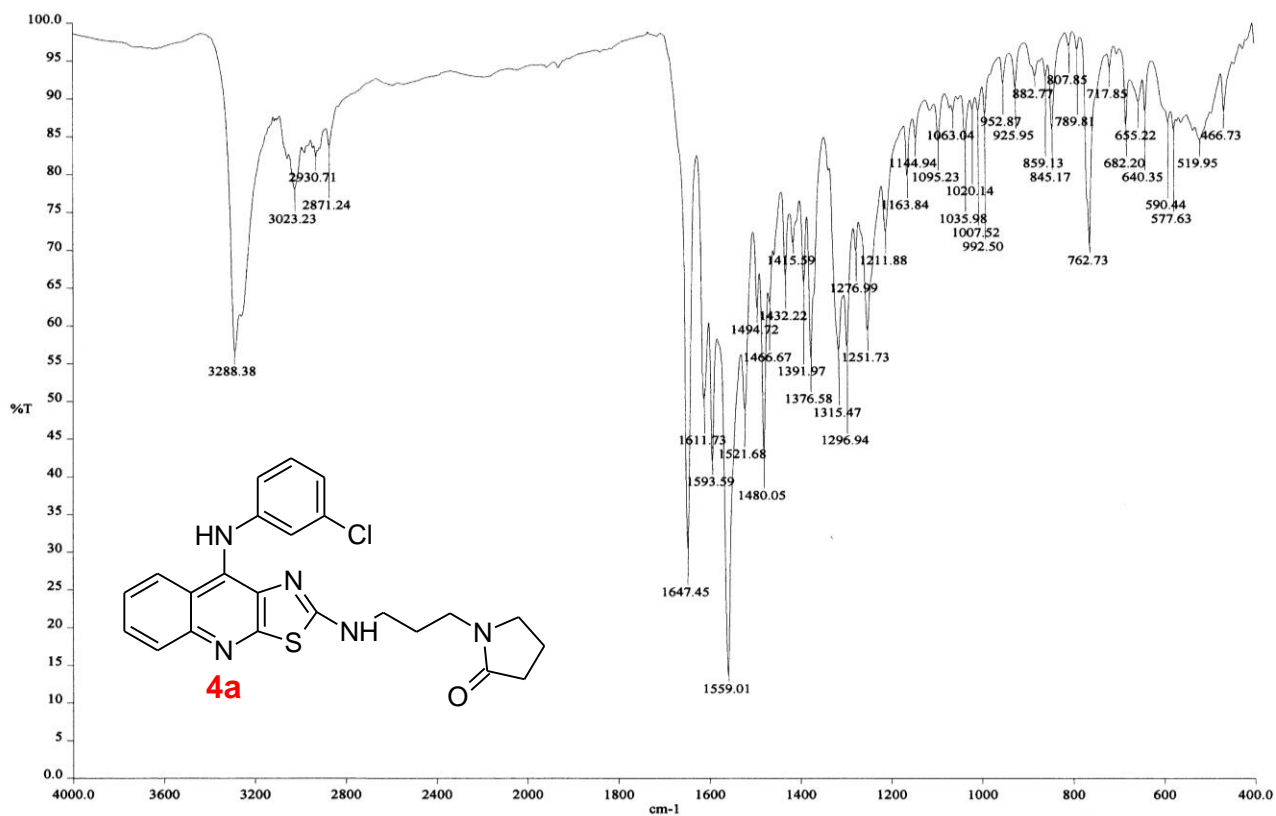


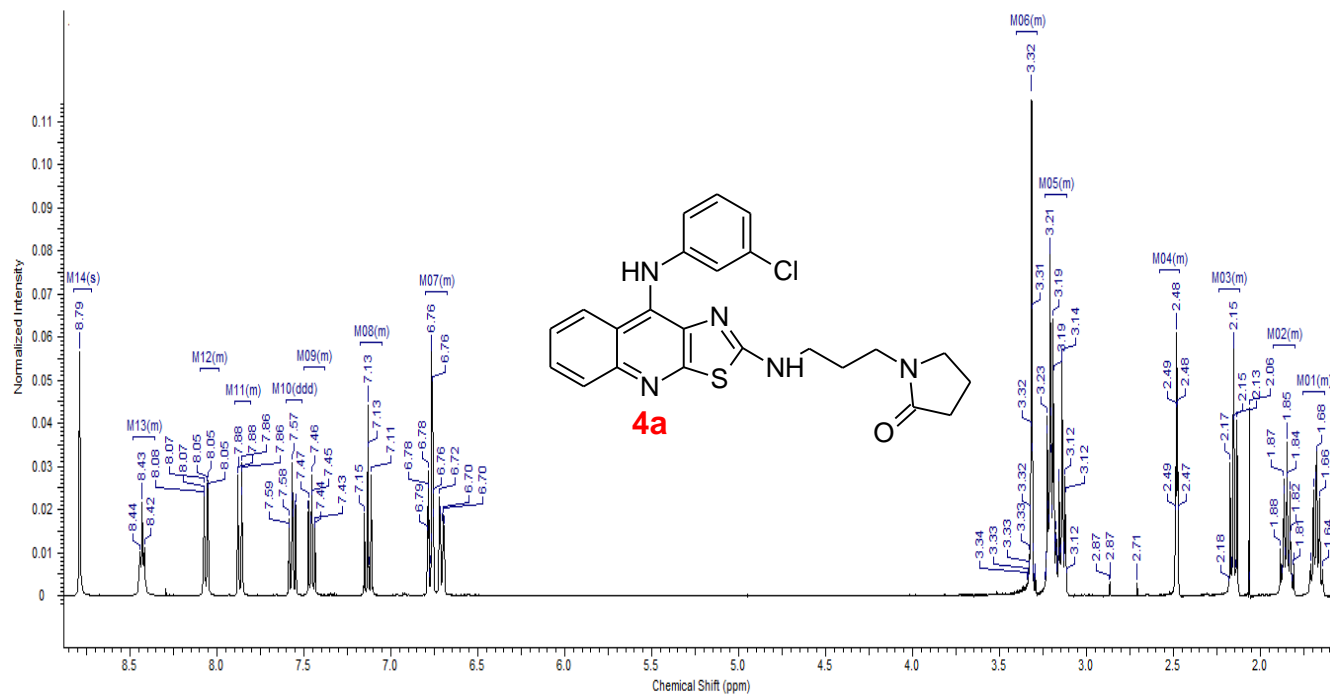
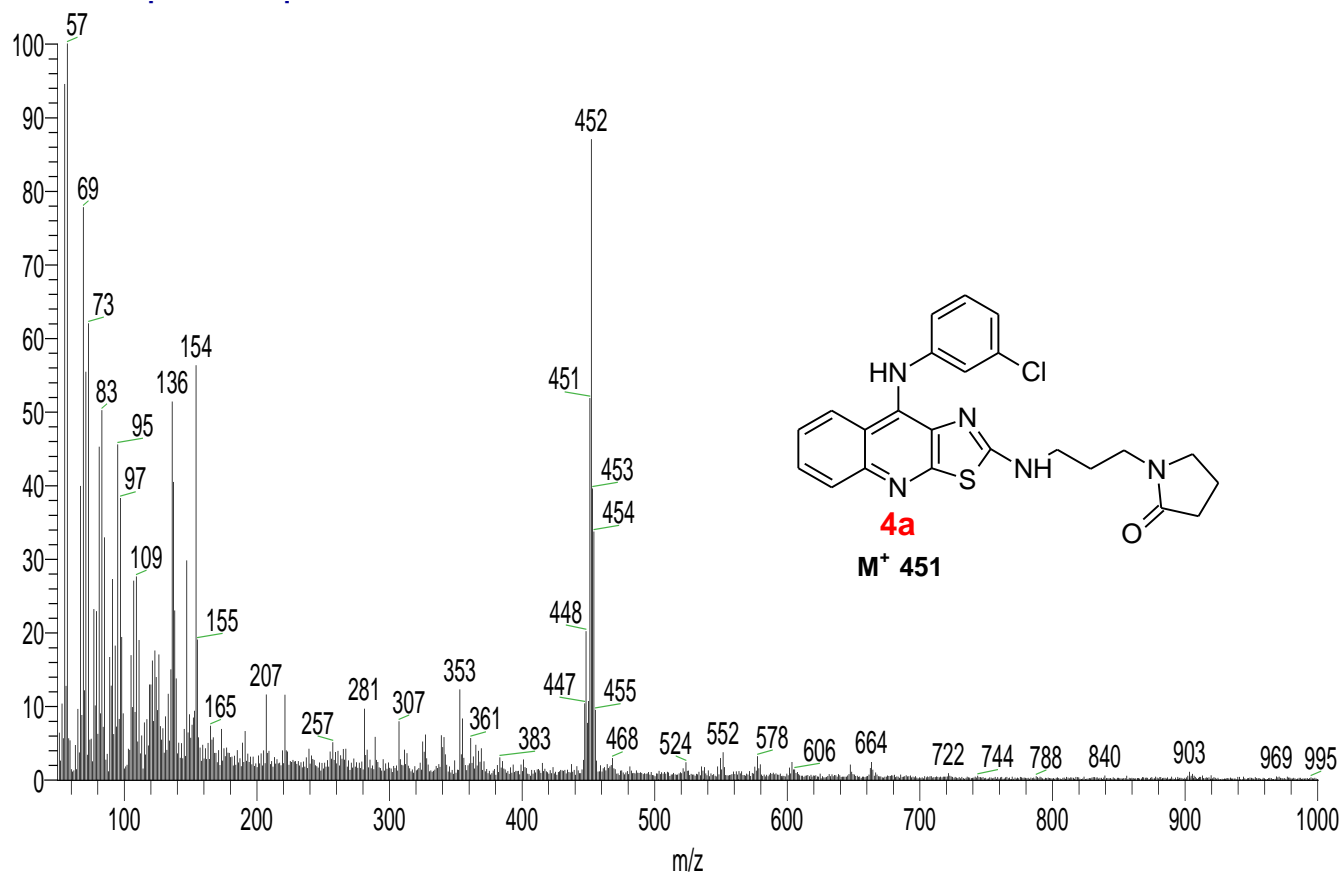
Espectro 37. IR (pastilla KBr) del compuesto 3e.

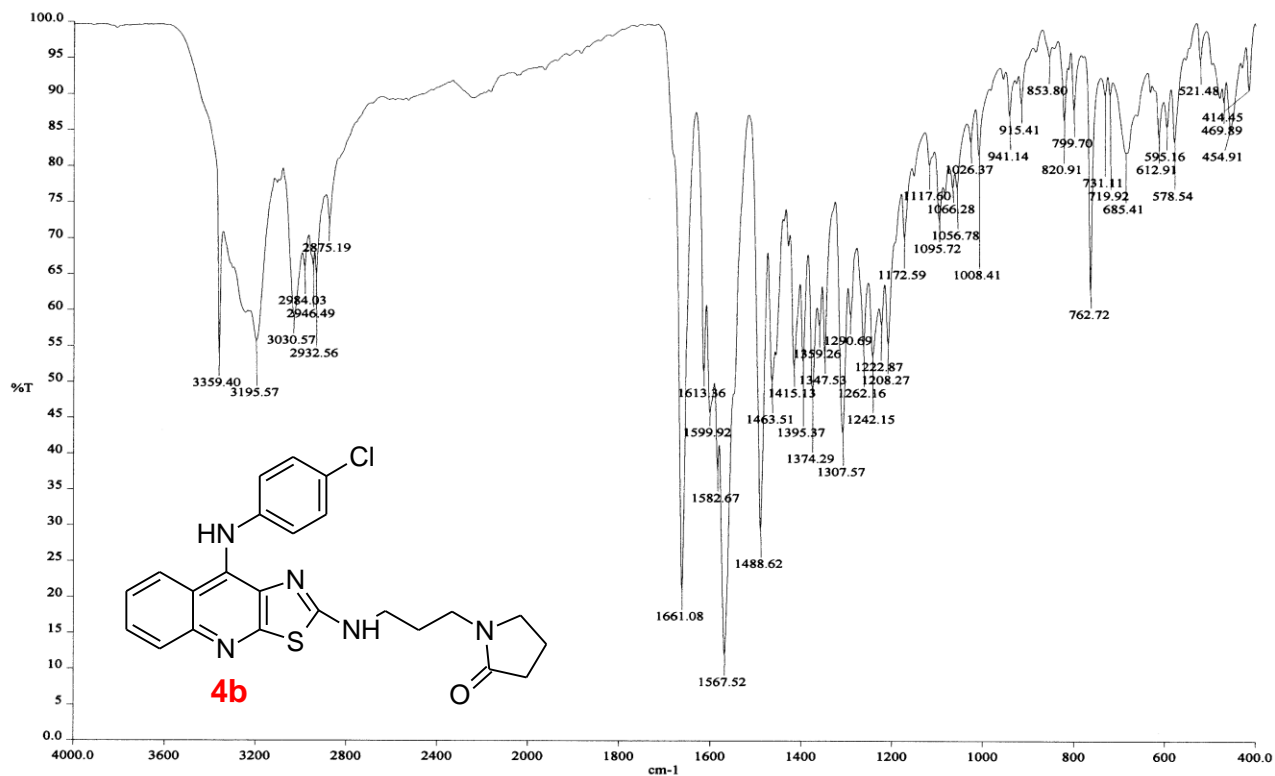


Espectro 38. EM (FAB) del compuesto 3e.

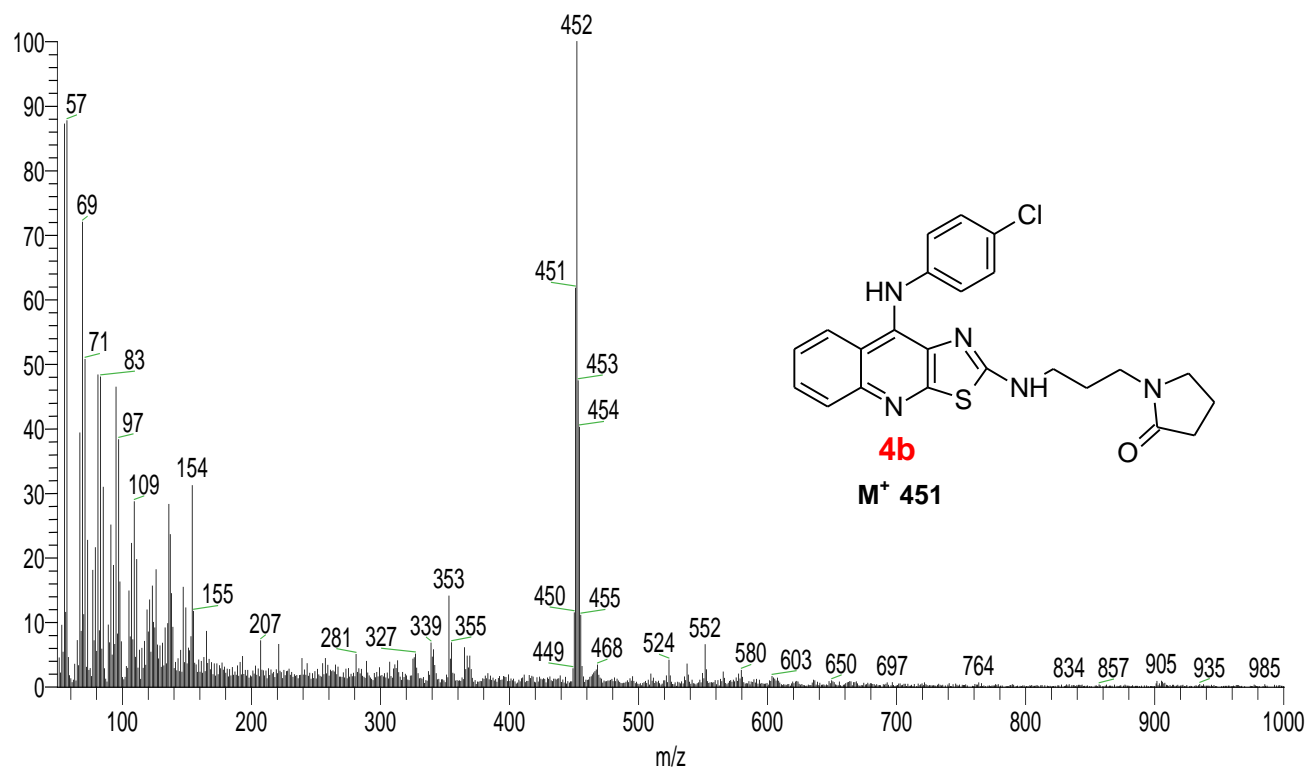


Espectro 39. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto **3e**.Espectro 40. IR (pastilla KBr) del compuesto **4a**.



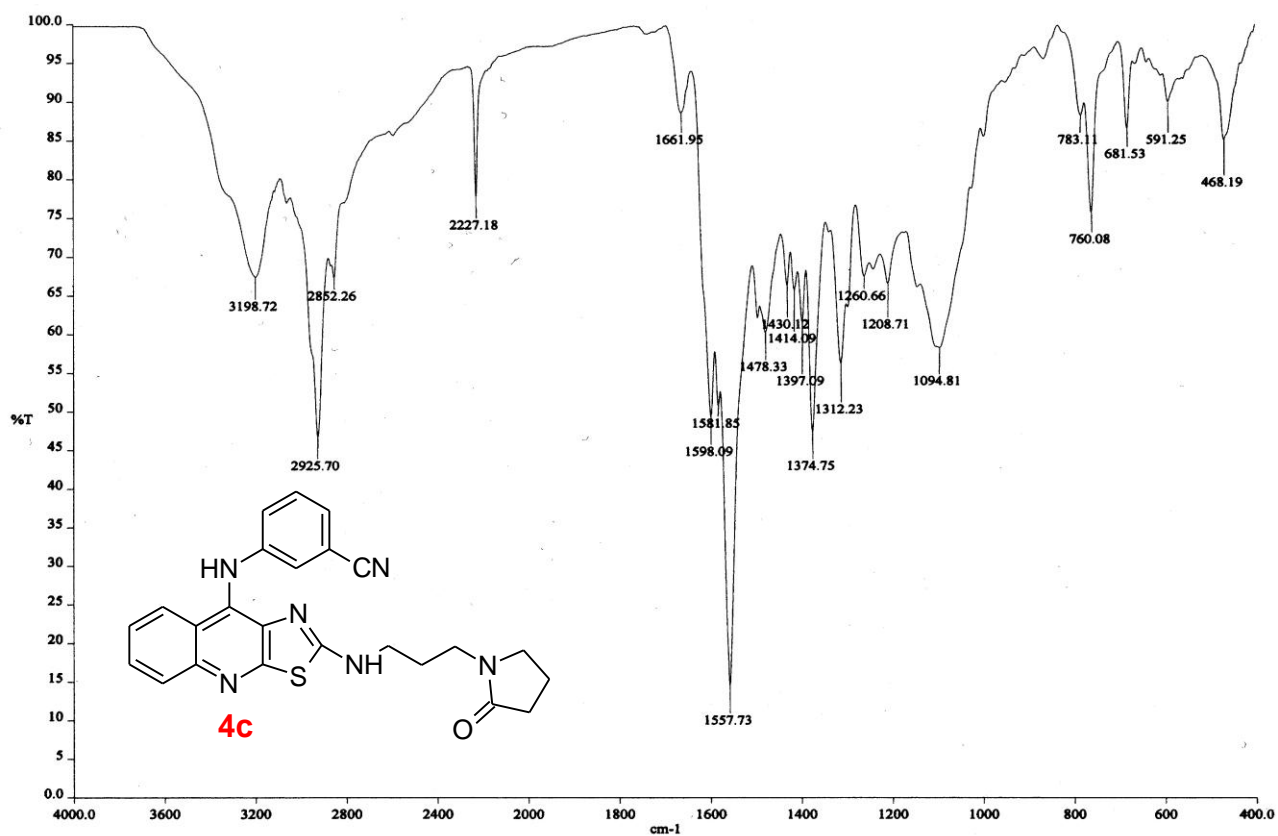
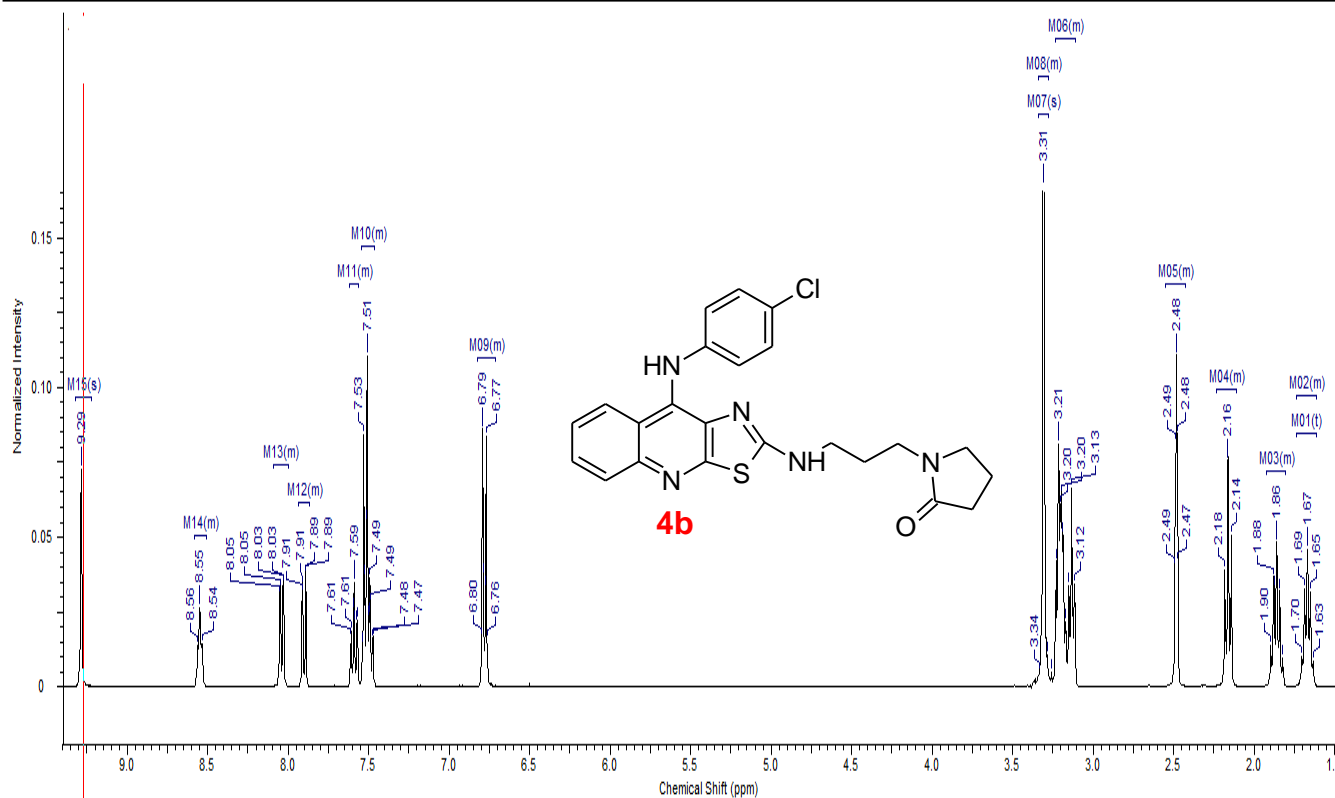


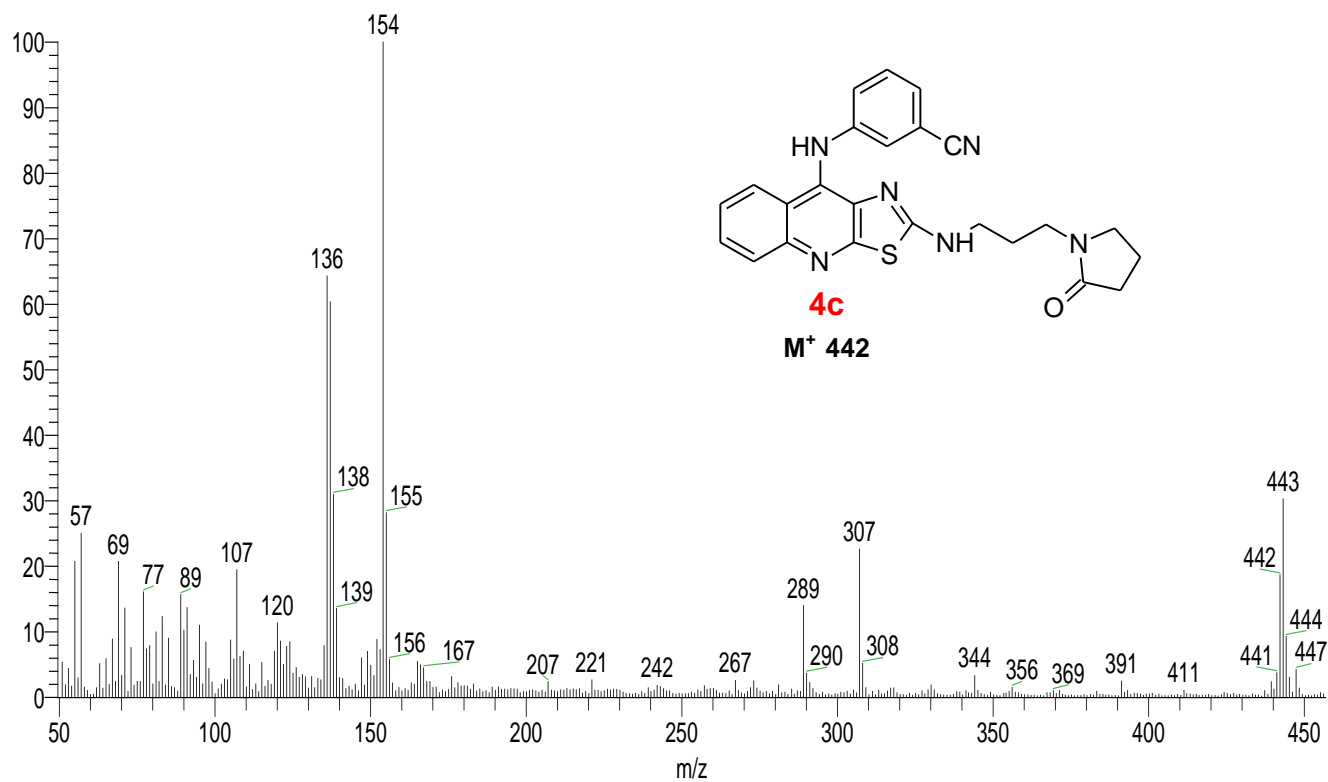
Espectro 43. IR (pastilla KBr) del compuesto 4b.



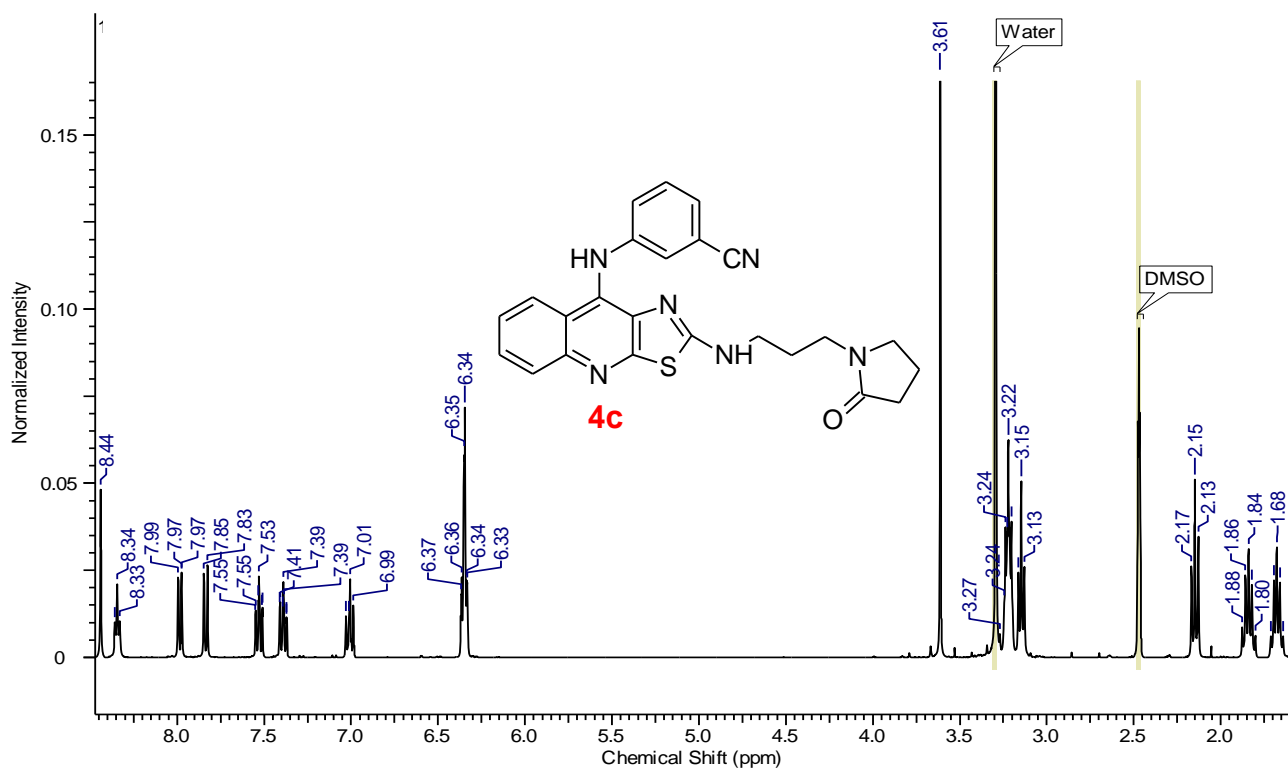
Espectro 44. EM (FAB) del compuesto 4b.

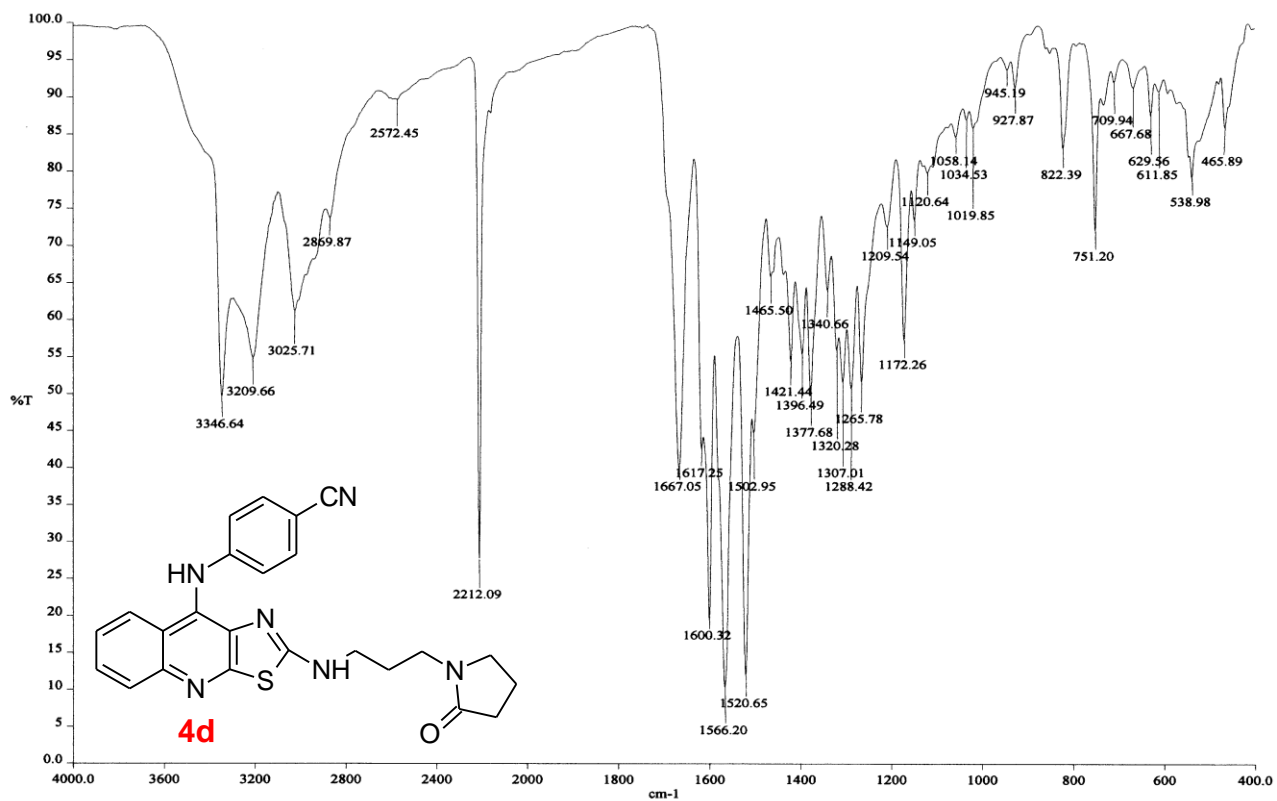




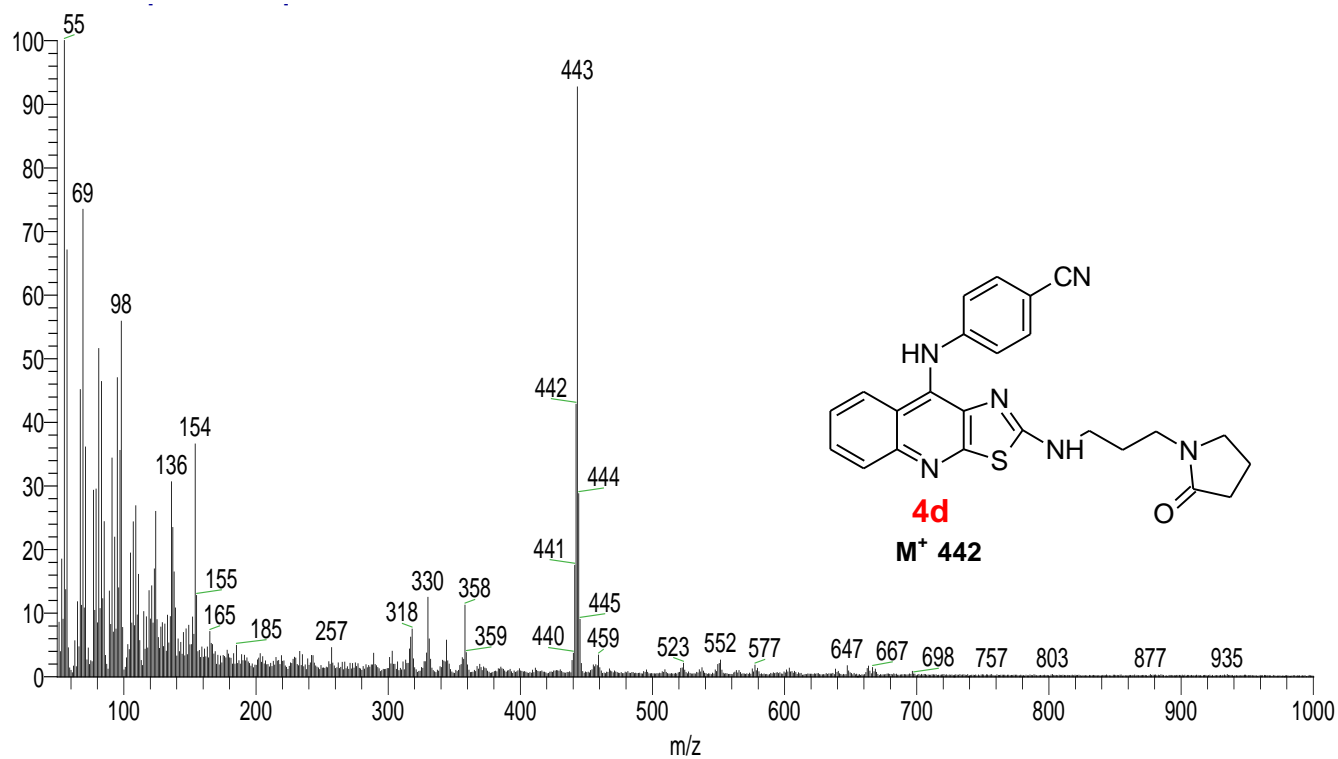


Espectro 47. EM (FAB) del compuesto 4c.

Espectro 48. RMN- ^1H (DMSO- d_6) del compuesto 4c.

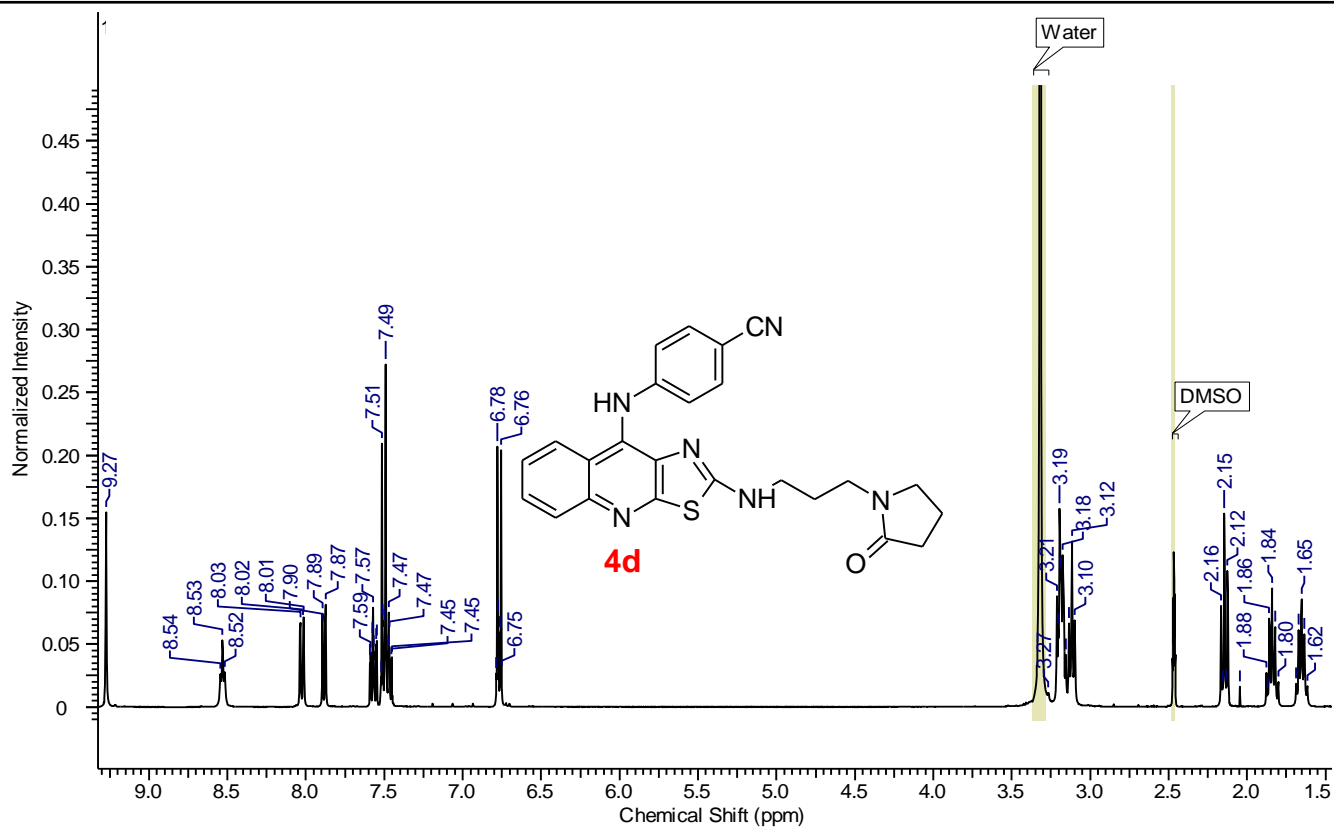
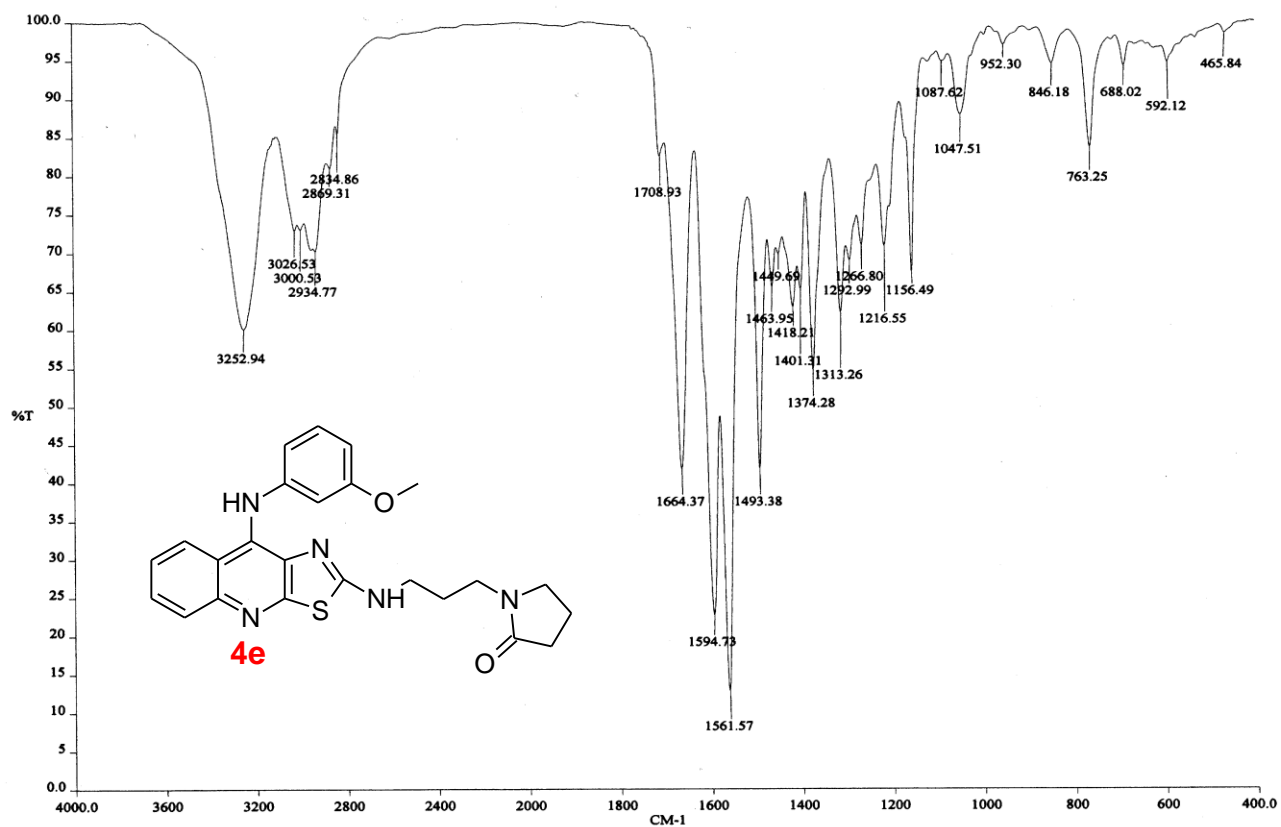


Espectro 49. IR (pastilla KBr) del compuesto 4d.



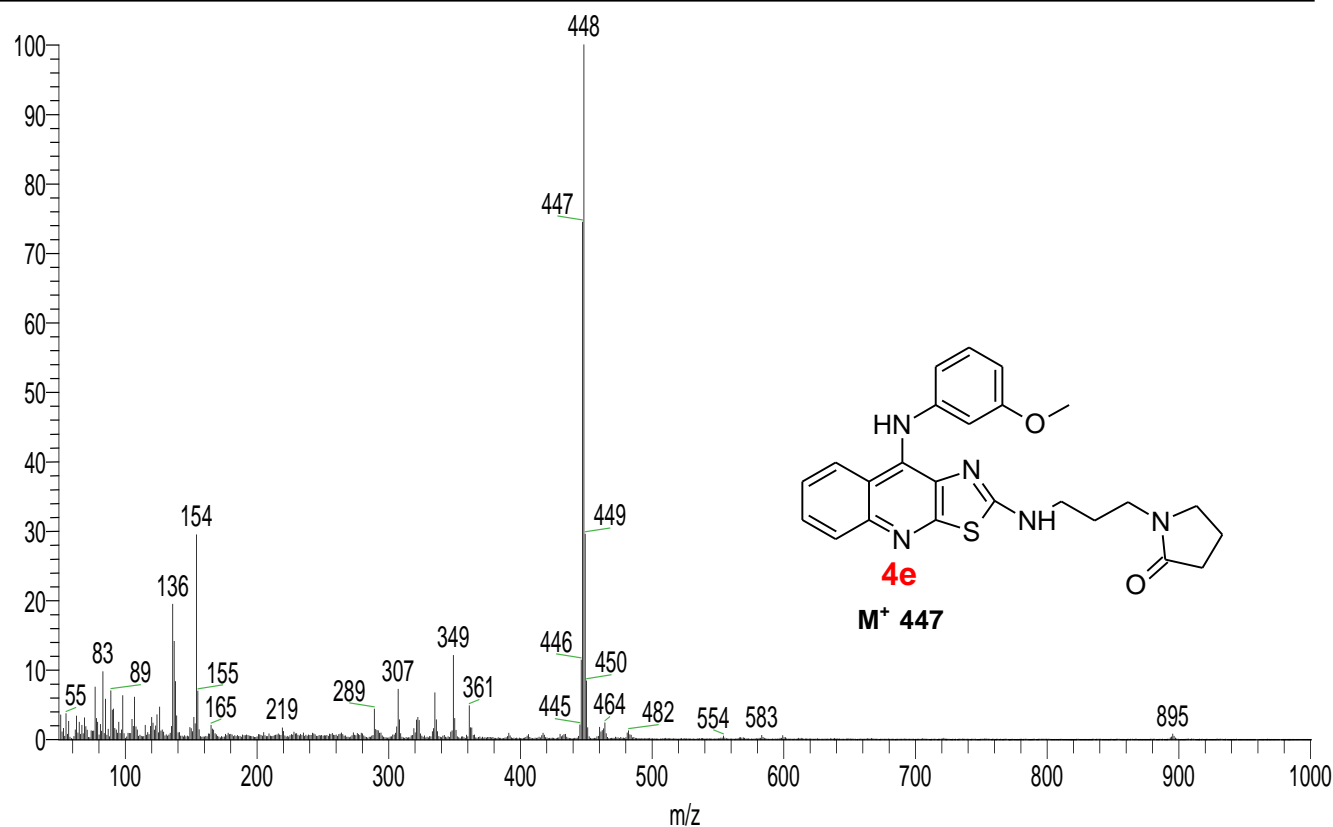
Espectro 50. EM (FAB) del compuesto 4d.



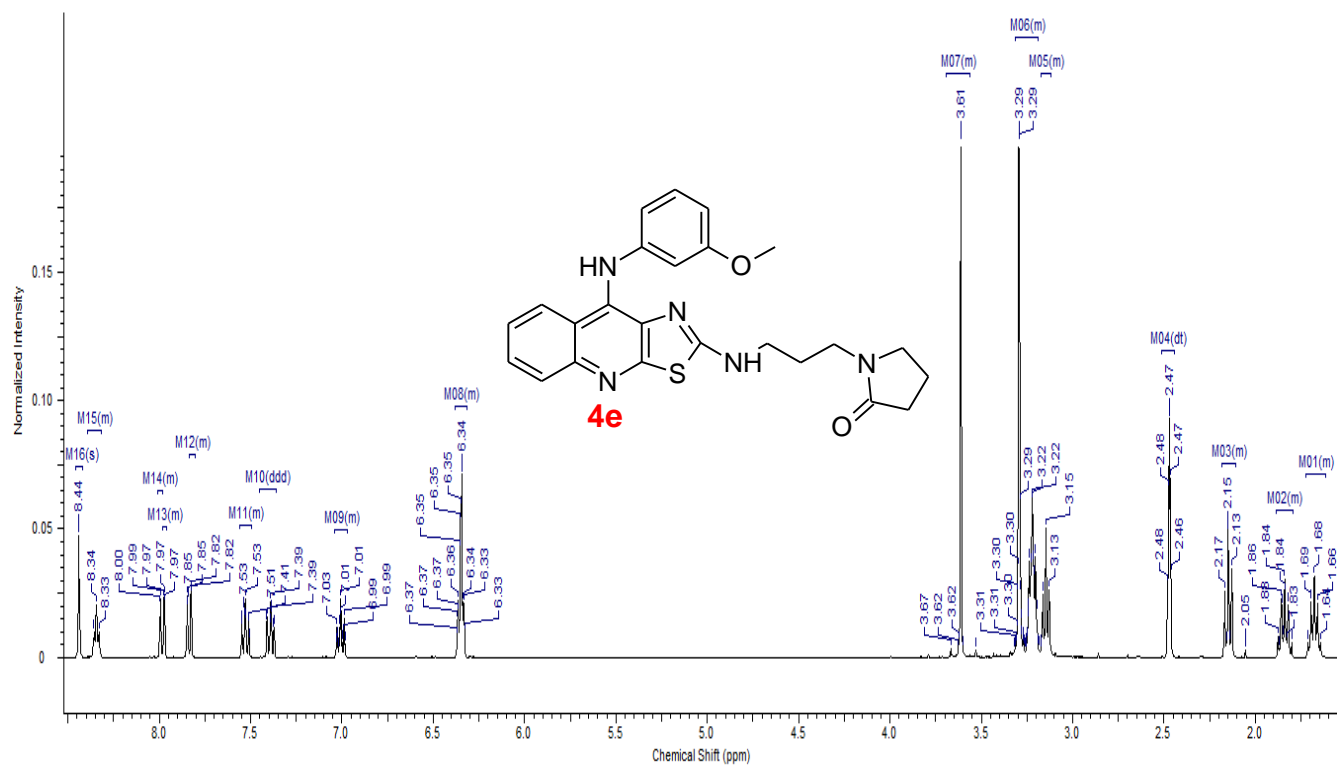
Espectro 51. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 4d.

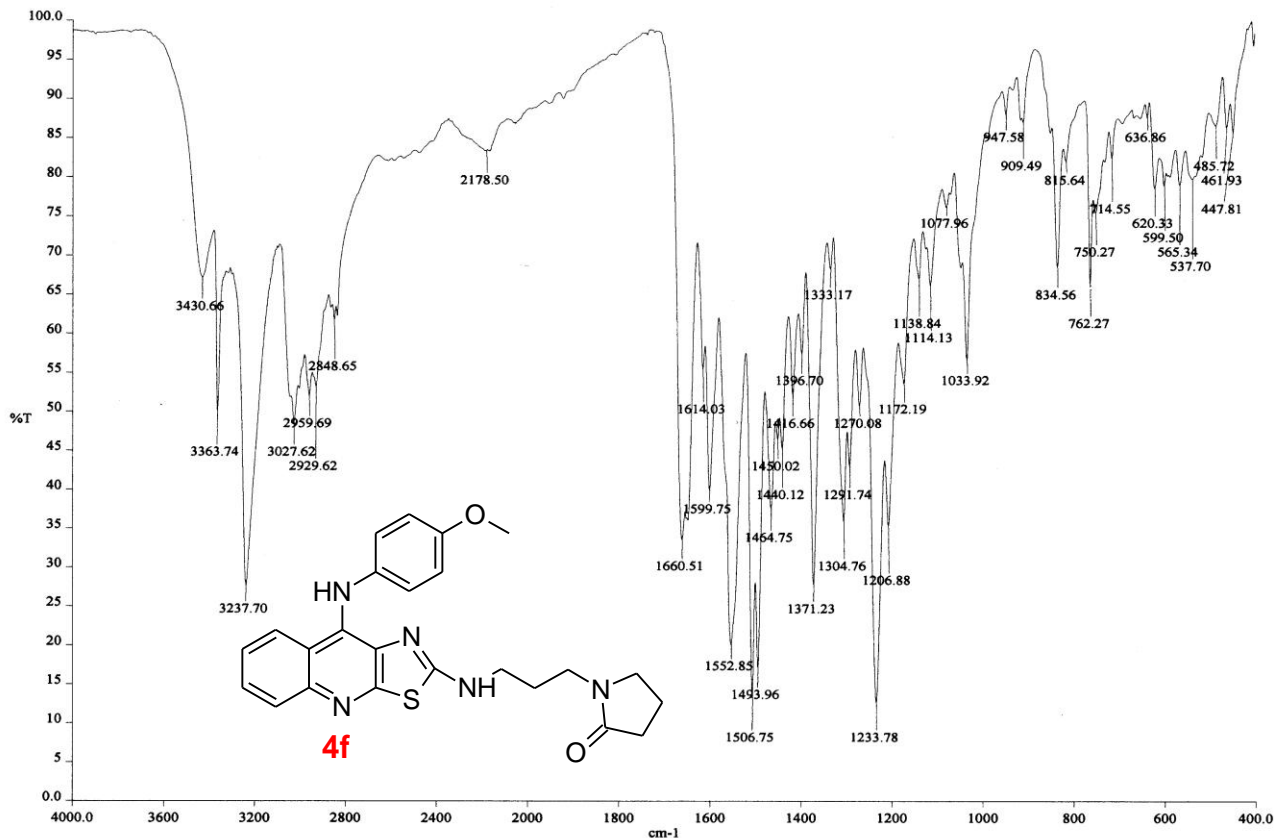
Espectro 52. IR (pastilla KBr) del compuesto 4e.



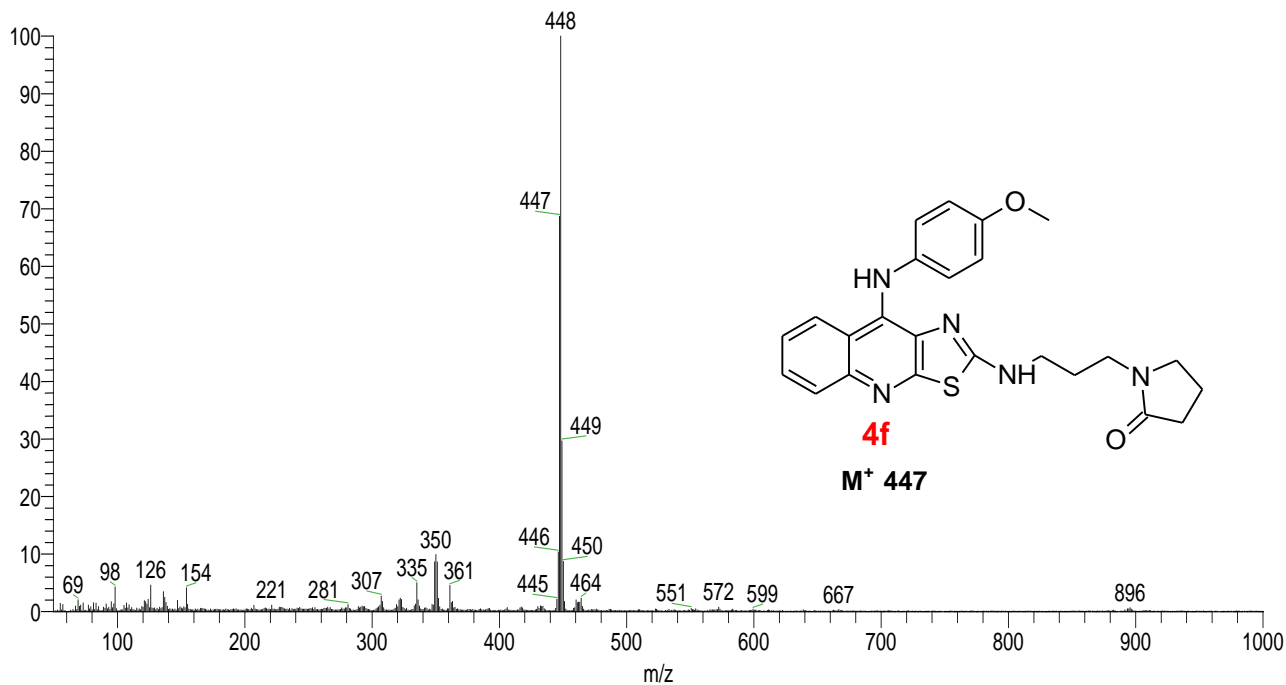


Espectro 53. EM (FAB) del compuesto 4e.

Espectro 54. RMN-¹H (DMSO-d₆) del compuesto 4e.

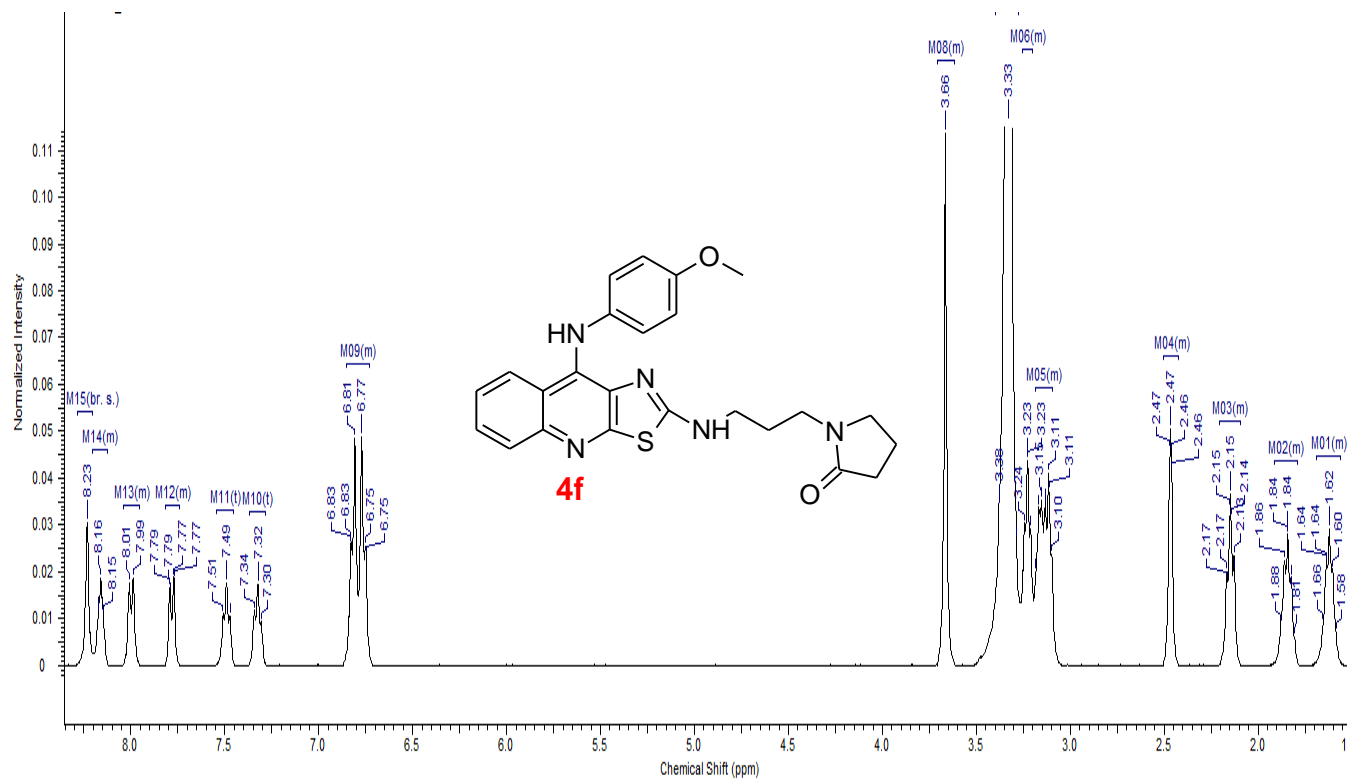


Espectro 55. IR (pastilla KBr) del compuesto 4f.



Espectro 56. EM (FAB) del compuesto 4f.



Espectro 57. RMN-¹H (DMSO-*d*₆) del compuesto 4f.