



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE NUEVOS
COMPUESTOS ORGANOSELENADOS”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

JOSÉ ANTONIO ZAPATA JIMÉNEZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. Eduardo Guillermo Ramón Marambio Dennett

VOCAL: Q. Reina García Sánchez

SECRETARIO: Dr. José Guadalupe López Cortés

1er SUPLENTE: Q.F.B. Nayeli López Balbiaux

2° SUPLENTE: Q. Norma Castillo Rangel

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE INORGÁNICA 4, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. José Guadalupe López Cortés

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Alejandro Iván Gutiérrez Hernández

SUSTENTANTE:

José Antonio Zapata Jiménez

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	4
OBJETIVOS.....	26
Objetivo general.....	27
Objetivo particular.....	27
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	29
Instrumentos y reactivos.....	30
Pruebas de citotoxicidad.....	31
Síntesis del etoxicarbeno de Fischer con un fragmento indólico (A).....	33
Síntesis de aminocarbenos de Fischer con un fragmento indólico (B - C).....	35
Síntesis de selenoamidas con un fragmento indólico (D - E).....	38
Síntesis de selenoimidato (F).....	41
ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	43
Síntesis del etoxicarbeno de Fischer con un fragmento indólico (A).....	44
Síntesis de aminocarbenos de Fischer con un fragmento indólico (B - C).....	57
Síntesis de selenoamidas con un fragmento indólico (D - E).....	64
Síntesis de selenoimidato (F).....	71
Pruebas biológicas.....	77
CONCLUSIONES.....	80

Introducción

Uno de los mayores retos de la síntesis orgánica, radica en la química farmacéutica ya que esta área de investigación se encuentra siempre en la búsqueda constante de nuevas moléculas con actividad biológica. La gran importancia que ha tomado esta disciplina en las últimas décadas, ha orillado a un gran número de grupos de investigación a estudiar nuevas rutas sintéticas que les permitan obtener una gran variedad de compuestos en el menor tiempo posible, a bajos costos y sobre todo en buenos rendimientos. Asimismo, se ha extendido el uso de elementos químicos novedosos o poco habituales en la química farmacéutica, los cuales se han incorporado a las moléculas orgánicas tradicionales biológicamente activas con la finalidad de incrementar su actividad.

Un claro ejemplo de ello es el selenio, elemento poco explorado hasta hace poco, que sin embargo en los últimos años ha incrementado su popularidad debido a las múltiples actividades biológicas que exhiben sus derivados, lo cual lo ha colocado en una posición líder en la química farmacéutica, de forma tal que los compuestos organoselenados se visualizan en un futuro como importantes candidatos en el estudio de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades con gran incidencia en el siglo XXI como diabetes, SIDA, cardiopatías, enfermedades cerebrovasculares y sobre todo cáncer.

En este contexto, el cáncer, es una de las principales causas de muerte alrededor del mundo y el número total de casos está aumentando dramáticamente. Se prevé que, a nivel mundial, la mortalidad por cáncer aumentará un 45% entre 2007 y 2030 (pasará de 7,9 millones a 11,5 millones de defunciones), debido en parte al crecimiento demográfico y al envejecimiento de la población. El impacto tanto social como económico de esta enfermedad, ha orillado a un desarrollo mucho más acelerado de nuevos fármacos para su tratamiento lo cual ha enfrentado a la química farmacéutica a una gran variedad de retos para lograr este cometido.

Este rápido desarrollo, arrojó que algunos tipos de cáncer han mostrado buena respuesta al tratamiento por numerosos compuestos organoselenados, a partir de estos hechos, muchos proyectos han dirigido su atención a la síntesis de compuestos organoselenados con la posibilidad de encontrar posibles fármacos contra esta patología.

Motivados por la evidencia acumulada de las funciones biológicas y propiedades benéficas del selenio, además de la continua búsqueda de nuevos compuestos farmacológicamente activos, el propósito de este trabajo es realizar la síntesis de una nueva clase de compuestos organoselenados y poner a prueba su potencial actividad biológica como agentes citotóxicos frente a diversas líneas celulares cancerosas humanas y poder establecer una probable relación estructura-actividad.

Antecedentes

El selenio es un elemento no metálico con número atómico 34 perteneciente al grupo 16 de la tabla periódica, ubicado entre los elementos azufre y telurio, el cual se encuentra principalmente en tres estados de oxidación (-2, +4 y +6) y es comúnmente asociado a compuestos que contienen azufre debido a su similitud en algunas propiedades físicas y químicas como tamaño atómico (0.37 Å para el azufre y 0.5 Å para el selenio), energías de enlace, potenciales de ionización, estados de oxidación, alotropía y reactividad.¹ El selenio se encuentra en su mayoría como dos formas alotrópicas, polvo rojo y polvo negro, con una abundancia promedio en la corteza terrestre de 90 µg/kg.²

El primer reporte sobre la síntesis de un compuesto organoselenado se remonta a 1836 cuando Löwig sintetizó el dietil selenuro, el cual fue aislado posteriormente en su forma pura en 1869. La etapa temprana de la química del selenio, consistió en la síntesis de compuestos alifáticos como selenoles (RSeH), selenuros (RSeR) y diselenuros (RSeSeR) sin embargo, su manejo era complicado aunado a su inestabilidad, lo cual provocó un lento desarrollo en la química de este elemento. No fue hasta la década de 1970 que se explotó el uso de los compuestos organoselenados por su aplicación en química orgánica, en la síntesis de alquenos vía descomposición de selenóxidos y aún más con el uso de especies nucleofílicas de selenio en la apertura de epóxidos implementada por Sharpless.³ Actualmente, la química de los compuestos organoselenados es un campo bien establecido y avances recientes en el tema, han arrojado una gran variedad de aplicaciones para estos compuestos en diversas áreas de la química como síntesis orgánica, bioquímica, xerografía, materiales conductores, semiconductores, ligantes, catálisis y farmacología.⁴

¹ R. Connor, *Selenium in Food and Health*, 2^a ed., Springer, Australia, **2006**, 1-6

² B. S. Kumar. K. I. Priyadarsini, *Biomed. Prev. Nutr.* **2014**,
<http://dx.doi.org.pbidi.unam.mx:8080/10.1016/j.bionut.2014.01.006>

³ T. Wirth, *Topics in Current Chemistry*, **2000**, 208, 259

⁴ A. J. Mukherjee, S. S. Zade, H. B. Singh, R. B. Sunoj, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 4357-4416

En un inicio, el selenio fue considerado como tóxico debido a que causó envenenamiento en el ganado que pastaba en los estados de Nebraska y Dakota en Estados Unidos de Norteamérica, provocándoles necrosis en las pezuñas y pérdida excesiva de pelo, por lo que durante mucho tiempo se siguió considerando como tóxico e incluso carcinogénico. Sin embargo, fue en 1957 cuando Schwartz y Foltz encontraron que prevenía la necrosis de hígado en ratas⁵ y con este descubrimiento se hizo aparente que el selenio era tóxico solo en altas concentraciones y que podría considerarse un nutrimento esencial a bajos niveles de consumo asociándose a muchos beneficios para la salud humana⁶ tales como la protección contra enfermedades cardiovasculares (enfermedad de Keshan), tratamiento contra desordenes musculares, la demora en el comienzo del SIDA en pacientes con VIH positivo, estimulante del sistema inmune, aumento de la fertilidad, prevención de enfermedades cerebrales como el Alzheimer y epilepsia, antimicrobiano, promotor de la función tiroidea, prevención del cáncer, antiparasitario⁷ y antidiabético.⁸

Tomando en cuenta los beneficios anteriores, la ingesta diaria recomendada de selenio por la Food and Nutrition Board (FNB) del IOM (Institute of Medicine of the National Academies) para adultos es de 55 μg de Se/día mientras que la ingestión máxima tolerable es de 400 μg de Se/día, ya que puede ocasionar toxicidad y causar lesiones neuronales, síntomas gastrointestinales, síntomas respiratorios, falla renal e infarto al miocardio.⁹ Este elemento se encuentra principalmente en plantas, carnes, granos, cereales, vegetales y huevos tanto en forma inorgánica presentándose como selenito (SeO_3^{2-}), selenato (SeO_4^{2-}) y tioselenato ($\text{Se}_2\text{O}_3^{2-}$) y como selenio en su forma orgánica, el cual se conoció hasta el descubrimiento de una serie de proteínas en las que se reemplazó un

⁵ D. L. Hatfield, P. A. Tsuji, B. A. Carlson, V. N. Gladyshev, *TIBS*, **2014**, *39*, 112-120

⁶ M. P. Rayman, *Lancet*, **2000**, *356*, 233-241

⁷ C. Pizzo, P. Faral-Tello, G. Salinas, M. Fló, C. Robello, P. Wipf, S. G. Mahler, *Med. Chem. Commun.* **2012**, *3*, 362

⁸ S. Fujimoto, H. Yasui, Y. Yoshikawa, *J. Inorg. Biochem.* **2013**, *121*, 10-15

⁹ Reilly Conor, *The Nutritional Trace Metals*, Blackwell Publishing Ltd., R.U., **2004**, 135-179

átomo de azufre por uno de selenio dando origen a los selenoaminoácidos: selenocisteína, selenometionina y metilselenocisteína (Figura 1).¹⁰

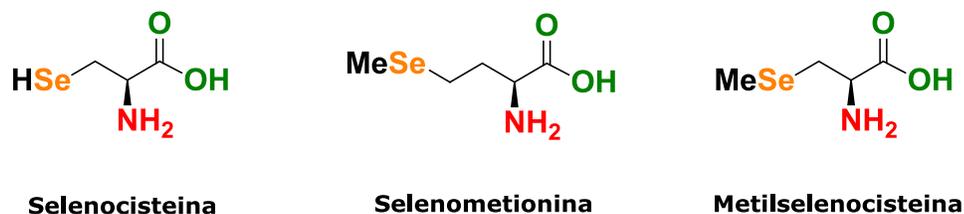


Figura 1. Selenoaminoácidos

En los sistemas biológicos, el selenio existe en forma de selenoproteínas, principalmente selenoenzimas las cuales desempeñan un papel muy importante en diversos procesos metabólicos.¹¹ Una de las selenoenzimas más estudiadas ha sido la glutatión peroxidasa (GPx), la cual en conjunto con el glutatión (GSH) como cofactor, cataliza la reducción de diversos peróxidos¹² en donde el centro catalítico es el átomo de selenio en forma de selenocisteína.¹³ Entre otras selenoproteínas, se encuentran por mencionar algunas, la tioredoxin reductasa (TrxR), selenoproteína P plasmática, iodotironina deiodinasa (ID), selenoproteína W en músculo y selenofosfato sintetasa.¹⁴

El estudio de la gran variedad de actividades biológicas que presentan las selenoproteínas, principalmente como antioxidantes, despertó el interés en el diseño racional de compuestos organoselenados, siendo el resultado y prototipo de ellos el Ebselen.¹⁵

¹⁰ C. W. Nogueira, J. B. T. Rocha, *Arch. Toxicol.* **2011**, *85*, 1313-1359. b) G. Zhang, V. Nitteranon, S. Guo, P. Qiu, X. Wu, F. Li, H. Xiao, Q. Hu, K. L. Parkin, *Chem. Res. Toxicol.* **2013**, *26*, 456-464. c) Y. Hu, G. H. McIntosh, G. P. Young, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2012**, *13*, 165-172

¹¹ A. S. Hodage, P. P. Phadnis, A. Wadawale, K. I. Priyadarsini, V. K. Jain, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 2992

¹² A. S. Hodage, C. P. Prabhu, P. P. Phadnis, A. Wadawale, K. I. Priyadarsini, V. K. Jain, *J. Organomet. Chem.* **2012**, *720*, 19-25

¹³ M. Iwaoka, K. Arai, *Curr. Chem. Biol.* **2013**, *7*, 2-24

¹⁴ M. Kieliszek, S. Blazejak, *Nutrition* **2013**, *29*, 713-718

¹⁵ M. Ibrahim, W. Hassan, A. M. Deobald, A. L. Braga, J. B. T. Rocha, *Biol. Trace Elem. Res.* **2012**, *149*, 399-404

El Ebselen (Figura 2), que actualmente se encuentra en las últimas etapas del desarrollo farmacéutico, es un heterociclo de cinco miembros que contiene un átomo de selenio, el cual ha demostrado tener propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, se ha propuesto que su actividad biológica se debe primordialmente a que esta molécula mimetiza la actividad de la enzima GPx, asimismo al aumento de la propiedad antioxidante del sistema tiorredoxina (Trx) al actuar como sustrato de la enzima TrxR. Aunado a lo anterior, el Ebselen es un potente inhibidor de varias enzimas de importancia clínica como la óxido nítrico sintasa (NOS), lipoxigenasas (LOX), cicloxigenasas (COX), NADPH oxidasa, protein cinasa C (PKC), glutatión S-transferasa (GST), citocromo P-450, cisteín proteasas y prostaglandina H sintetasa. Tal ha sido el éxito de esta molécula que se han realizado diversos estudios clínicos para su uso en el tratamiento de enfermedades como la isquemia y el accidente cerebrovascular.¹⁶

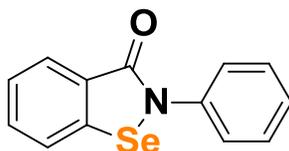


Figura 2. Ebselen

A partir de la síntesis del Ebselen, su éxito ha sido tan rotundo que diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de obtener análogos de esta molécula, diseñados para exhibir una actividad mimética de la enzima GPx (Figura 3).¹⁷

¹⁶ G. Muges, *Curr. Chem. Biol.* **2013**, 7, 47-56. b) M. J. Parnham, H. Sies, *Biochem. Pharmacol.* **2013**, 86, 1248-1253

¹⁷ G. Muges, A. Panda, H. B. Singh, R. J. Butcher, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1411-1421. b) T. Wirth, *Molecules*, **1998**, 3, 164-166. c) C. P. Prabhu, P. P. Phadnis, A. P. Wadawale, K. I. Priyadarsini, V. K. Jain, *J. Organomet. Chem.* **2012**, 713, 42- 50. d) C. A. Collins, F. H. Fry, A. L. Holme, A. Yiakouvaki, A. Al-Qenaei, C. Pourzand, C. Jacob, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1541-1546. e) T. G. Back, Z. Moussa, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12104-12105. f) F. Fumakara, B. Mishra, K. I. Priyadarsini, M. Iwaoka, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 440-445

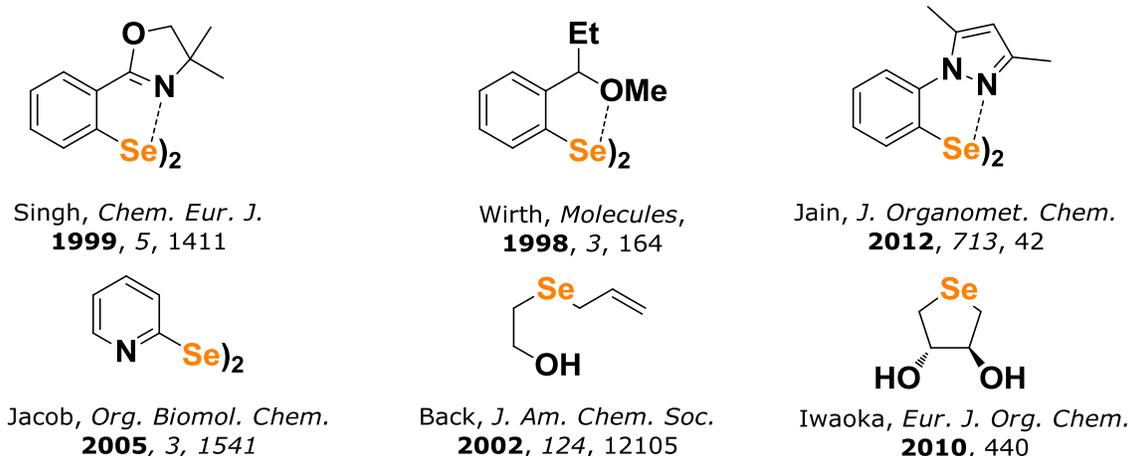


Figura 3. Análogos del Ebselen

En este contexto, otro compuesto organoselenado que comparte con el Ebselen algunas propiedades antioxidantes es el difenil diselenuro (DPDS), el cual posee un rol protector en diversos modelos experimentales relacionados a la sobreproducción de radicales libres, así como propiedades antiinflamatorias y antinociceptivas en modelos animales de ratones, ratas y conejos (Figura 4).¹⁸

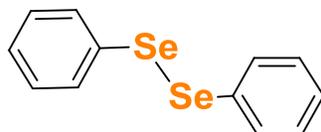


Figura 4. Difenil diselenuro (DPDS)

Otro compuesto organoselenado que ha despertado gran interés es el Ethselen (Figura 5), como potente anticancerígeno con la ventaja de tener baja toxicidad. Su efectividad ha sido probada *in vitro* en una gran diversidad de líneas celulares cancerosas como HeLa (cáncer cervical), BGC823 (adenocarcinoma estomacal), HL60 y K562 (leucemia), A549 (pulmón), LoVo (colon), Bel-7402 (hígado), Tca8113 (lengua) y KB (nasofaringe). Su actividad anticancerígena se debe a que inhibe a la enzima TrxR1 citosólica, la cual se encuentra sobreexpresada en células malignas y está relacionada con la agresividad tumoral, inhibición de la apoptosis y resistencia a la quimioterapia.

¹⁸ R. P. Ineu, M. dos Santos, O. S. do Rego Barros, C. W. Nogueira, J. B. T. Rocha, G. Zeni, M. E. Pereira, *Cell. Biol. Toxicol.* **2012**, 28, 213-223

Este es un compuesto muy prometedor y se encuentra actualmente en pruebas de fase clínica I, donde se ha estudiado ampliamente y parece ser un excelente candidato para el desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos.¹⁹

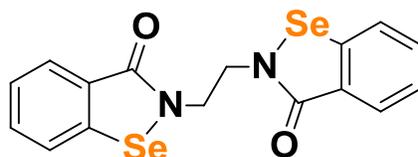
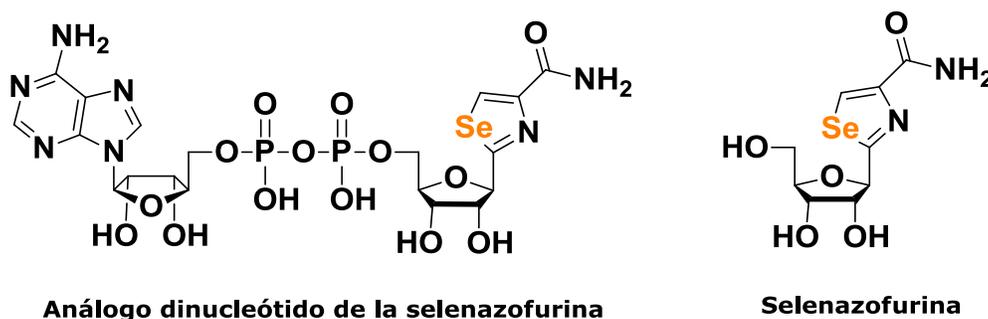


Figura 5. Ethaselen

Continuando con este orden de ideas, los compuestos heterociclos que contienen un átomo de selenio en su estructura como el selenazol, aparecieron por primera vez en 1889 y contienen un átomo de selenio, uno de nitrógeno y dos dobles enlaces para formar un anillo de cinco miembros y está presente en una gran variedad de compuestos farmacológicamente activos.²⁰ Un ejemplo de ellos es la selenazofurina la cual posee actividad citotóxica *in vitro* en líneas celulares de leucemia (P388 y L1210), mientras que en estudios *in vivo* demostró actividad significativa contra líneas celulares P388, osteosarcoma de Ridgeway y carcinoma pulmonar de Lewis. Por otra parte, los análogos dinucleótidos de selenazofurina han resultado ser potentes agentes antivirales *in vitro* (Figura 6).²¹



Análogo dinucleótido de la selenazofurina

Selenazofurina

Figura 6. Selenazoles con actividad biológica

¹⁹ L. Wang, Z. Yang, J. Fu, H. Yin, K. Xiong, Q. Tan, H. Jin, J. Li, T. Wang, W. Tang, J. Yin, G. Cai, M. Liu, S. Kehr, K. Becker, H. Zeng, *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, 52, 898-908. b) J. He, D. Li, K. Xiong, Y. Ge, H. Jin, G. Zhang, M. Hong, Y. Tian, J. Yin, H. Zeng, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 3816-3827

²⁰ G. Hofmann, *Justus Liebigs Ann, Chem.* **1889**, 250, 294.

²¹ M. Ninomiya, D. R. Garud, M. Koketsu, *Coord. Chem. Rev.* **2011**, 255, 2968-2990

En 1994, el grupo de investigación del Profesor Henk van der Goot encontró que un derivado del selenazol, la amselamina (2-amino-5-(2-aminoetil)-4-metil-1,3-selenazol) (Figura 7), demostró ser un potente agonista selectivo de los receptores H₂ de histamina, lo cual resultó interesante para la investigación de compuestos similares para el tratamiento de padecimientos relacionados a la vasodilatación mediada por dicho receptor como el asma y la hipertensión arterial.²²



Figura 7. Amselamina

En la literatura, se encuentran algunos reportes de moléculas derivadas del selenofeno, análogo selenado del tiofeno, con actividad biológica, tal es el caso del 1-(2,5-difenilselenofen-3-il)-3-metilpent-1-in-3-ol, el cual además de presentar actividad anticonvulsivante posee la capacidad de reducir el estrés oxidativo en el modelo de pilocarpina, asimismo ha demostrado efectividad hepatoprotectora, hiperanalgésica y antinociceptiva. Este compuesto ha resultado de interés en la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento del dolor.²³

Igualmente, el compuesto D-501036 (2,5-Bis(5-hidroximetil-2-selenil)-3-hidroximetil-N-metilpirrol, es un derivado diselenofeno el cual ejerce actividad antitumoral tanto *in vitro* como *in vivo* y es selectivo contra líneas celulares tumorales resistentes a otros fármacos debido a la sobreexpresión de la

²² H. van der Goot, J. Ch. Eriks, R. Leurs, H. Timmerman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4, 1913-1916

²³ E. A. Wilhelm, C. R. Jesse, C. F. Bortolatto, C. W. Nogueira, L. Savegnano, *Brain Res. Bull.* **2009**, 79, 281-287. b) E. A. Wilhelm, C. R. Jesse, S. S. Roman, C. W. Nogueira, L. Savegnano, *Exp. Mol. Pathol.* **2009**, 87, 20-26. c) E. A. Wilhelm, C. R. Jesse, C. F. Bortolatto, C. W. Nogueira, L. Savegnano, *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2009**, 93, 419-425

glicoproteína P e induce apoptosis a través de la vía mitocondrial asociada a p-53 (Figura 8).²⁴

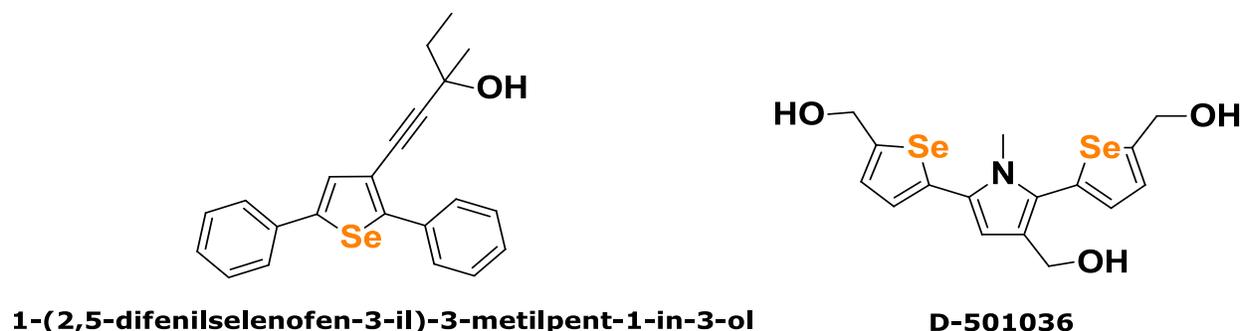


Figura 8. Selenofenos con actividad biológica

Por otro lado, compuestos como el 1-benzil-3-(5-hidroximetil-2-furil)selenolo[3,2-c]pirazol han sido evaluados por su citotoxicidad en paneles de líneas celulares cancerígenas humanas del NCI (National Cancer Institute), resultando un nuevo candidato para el tratamiento del cáncer renal y pulmonar de células no pequeñas.²⁵

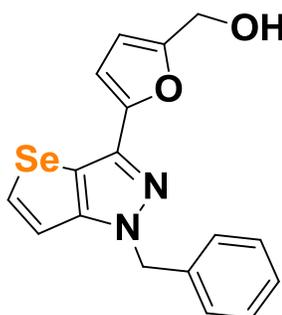


Figura 9. 1-benzil-3-(5-hidroximetil-2-furil)selenolo[3,2-c]pirazol

²⁴ S.-H. Juang, C.-C. Lung, P.-C. Hsu, K.-S. Hsu, Y.-C. Li, P.-C. Hong, H.-S. Shiah, C.-C. Kuo, C.-W. Huang, Y.-C. Wang, L. Huang, T.S. Chen, S.-F. Chen, K.-C. Fu, C.-L. Hsu, M.-J. Lin, C.-J. Chang, C.L. Ashendel, T.C.K. Chan, K.-M. Chou, J.-Y. Chang, *Mol. Cancer Ther.* **2007**, *6*, 193-202 b) H.-S. Shiah, W.-S. Lee, S.-H. Juang, P.-C. Hong, C.-C. Lung, C.-J. Chang, K.-M. Chou, J.-Y. Chang, *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 610-619

²⁵ L.-C. Chou, L.-J. Huang, M.-H. Hsu, M.-C. Fang, J.-S. Yang, S.-H. Zhuang, H.-Y. Lin, F.-Y. Lee, C.-M. Teng, S.-C. Kuo, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1395-1402

Otro ejemplo a destacar, es el selenosartan (Figura 10), un derivado selenado del milfasartan, el cual exhibe una potente propiedad antagonista de los receptores de angiotensina tipo 1 (AT₁).²⁶

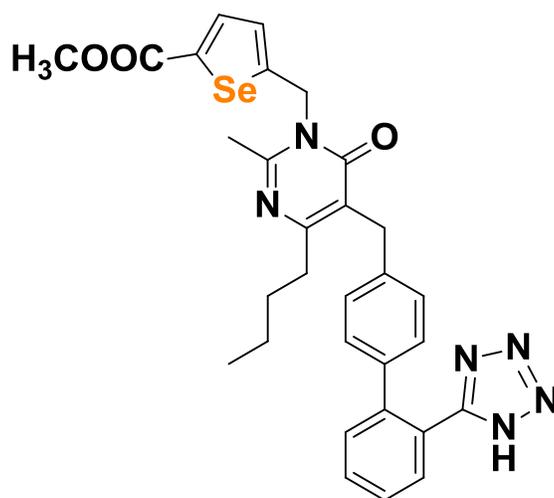


Figura 10. Selenosartan

El éxito de los anillos heterociclos de cinco miembros que contienen un átomo de selenio en su estructura, ha dirigido la investigación química y biológica hacia la obtención y evaluación de compuestos organoselenados de anillos heterociclos de seis miembros, la cual ha ido en aumento durante los últimos años, siendo los heterociclos más estudiados los compuestos con un anillo de 1,3-selenazina. Esta familia de compuestos demostró fuerte actividad inhibitoria contra bacterias *Gram*-positivas y *Gram*-negativas, de igual forma mostraron inhibición de la proliferación celular de células de fibrosarcoma humano (HT-1080) y cáncer gástrico (TMK-1) vía inducción de la apoptosis, resultados que marcaron a este tipo de compuestos como potenciales candidatos para una futura evaluación como agentes anticancerígenos (Figura 11).²⁷

²⁶ R. L. Grange, J. Ziogas, A. J. North, J. A. Angus, C. H. Schiesser, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1241-1244

²⁷ M. Koketsu, H. Ishihara, W. Wu, K. Murakami, I. Saiki, *Eur. J. Pharm. Sci.* **1999**, *9*, 157-161

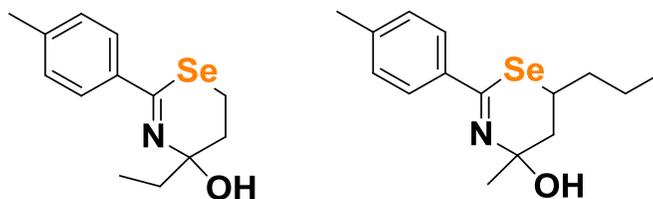


Figura 11. Selenazinas con actividad biológica

El selenio, también figura en el campo de los antibióticos y lo podemos encontrar en moléculas con actividad antibacterial como los selenapenems (β -lactamas) sintetizados inicialmente por Perrone y colaboradores en 1986.²⁸

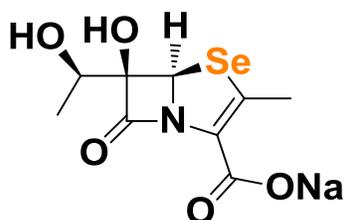


Figura 12. 2-selenapenem

No obstante su actividad antibacterial, las β -lactamas conteniendo selenio en su estructura también poseen actividad antioxidante al atenuar el estrés oxidativo mediante la captura directa de especies reactivas de oxígeno (ROS), así como la inhibición del crecimiento celular, lo cual las ha convertido en potenciales agentes farmacológicos para la quimioprevención del cáncer de próstata.²⁹

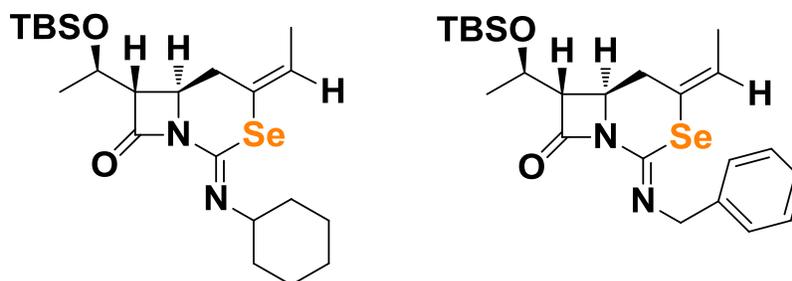
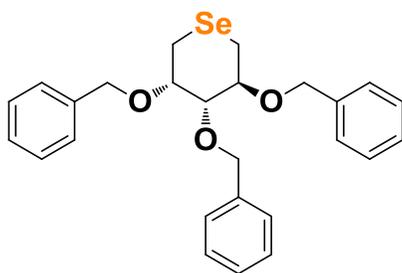


Figura 13. β -lactamas con potencial actividad anticancerígena

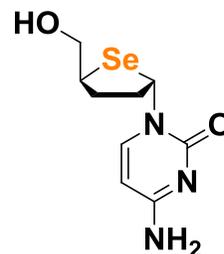
²⁸ M. Alpegiani, A. Bedeschi, E. Perrone, G. Franceschi, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3041-3044

²⁹ R. Tarazawa, D.R. Garud, N. Hamada, Y. Fujita, T. Itoh, Y. Nozawa, K. Nakane, T. Deguchi, M. Koketsu, M. Ito, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 7001-7008

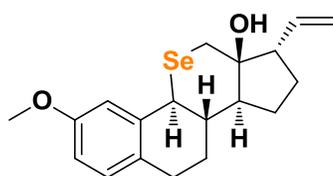
El selenio también está contenido en heterociclos basados en biomoléculas, los cuales han adquirido gran importancia en los últimos años y tal ha sido el interés que se ha puesto en este tipo de compuestos organoselenados que la gama estructural de estas moléculas va desde azúcares,³⁰ nucleósidos,³¹ esteroides³² hasta vitaminas.³³



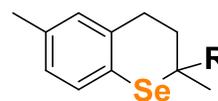
2,3,4-tri-O-bencil-1,5-dideoxi-5-seleno-D-piranososa
Análogo de piranososa



2',3'-dideoxi-4'-selenonucleósido
Anti VIH y VHB



11-selenasteroide
Mimetiza actividad vitamina E



R = a. *n*-Bu
b. 4,8,12-trimetiltridecil
Análogos de la vitamina E

Figura 14. Análogos organoselenados de biomoléculas

Cabe resaltar el papel que han desempeñado algunas selenoazúcares en el campo de la investigación para el tratamiento del cáncer, tal es el caso de los ésteres selénicos de xilitol y sacarosa los cuales en un estudio conducido por Pei Guo y colaboradores, demostraron actividad citostática vía inducción de apoptosis mitocondrial en células de carcinoma hepatocelular humano (SMC-7221) en una relación dosis dependiente, mientras que en células normales hepáticas (HL-

³⁰ M. A. Lucas, O. T. K. Nguyen, C. H. Schiesser, S.-L. Zheng, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 3995-4000

³¹ C. K. Chu, L. Ma, S. Olgen, C. Pierra, J. Du, G. Gumina, E. Gullen, Y.-C. Cheng, R. F. Schinazi, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3906-3912

³² M. Ibrahim-Ouali, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1607-1609

³³ N. Al-Maharik, L. Engman, J. Malmström, C. H. Schiesser, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6286-6290

7702) mostraron nula toxicidad. Esto colocó a los selenoazúcares en la mira para el futuro desarrollo de fármacos anticancerígenos (Figura 15).³⁴

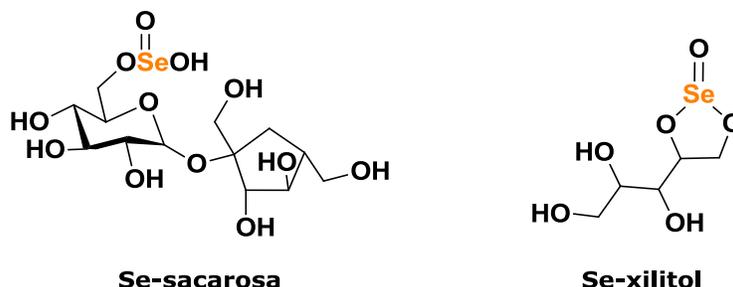


Figura 15. Selenoazúcares

Un compuesto organoselenado que ha resultado interesante en el último año debido a su potencial actividad biológica y que en un futuro puede ser muy prometedor, es la 6-selenocafeína (Figura 16), un análogo de la cafeína, la cual demostró una capacidad antioxidante mucho mayor que la cafeína además de una moderada actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer de mama.³⁵

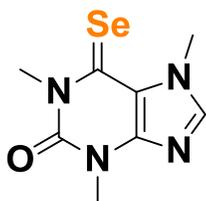


Figura 16. 6-selenocafeína

La atención obtenida por la gran diversidad de compuestos organoselenados debido a sus actividades biológicas, abrió el interés hacia la investigación de su uso en el tratamiento de la diabetes, por ejemplo, el di(2-mercaptopiridin-*N*-oxidato)zinc(II) [ZPM] posee actividad hipoglucemiante en modelos *in vivo* de ratones debido a que el selenio incrementa la sensibilidad a la insulina al mimetizar la actividad de dicha hormona, asimismo diversos estudios han

³⁴ P. Guo, Q. Wang, J. Liu, L. Liu, P. Zhao, Y. Cao, Y. Liu, C. Qi, Y. Liu, *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *154*, 304-311

³⁵ I. L. Martins, J. P. Miranda, N. G. Oliveira, A. S. Fernandes, S. Goncalves, A. M. M. Antunes, *Molecules*, **2013**, *18*, 5251-5264

mostrado que compuestos basados en selenio son capaces de atenuar la condición patológica de la diabetes.⁵



Figura 17. ZPM

Entre los compuestos organoselenados conocidos, una clase que ha despertado un gran interés en los últimos años y que ha sido biológicamente poco estudiada, son las selenoamidas, moléculas análogas a las amidas que poseen un grupo selenocarbonilo (Se=C) en lugar de un carbonilo (O=C), esta familia de moléculas presentan una gran versatilidad química ya que son precursores muy útiles ampliamente utilizados en síntesis orgánica³⁶ y esencialmente son interesantes bloques constructores de selenoheterociclos de cinco y seis miembros.

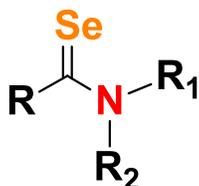
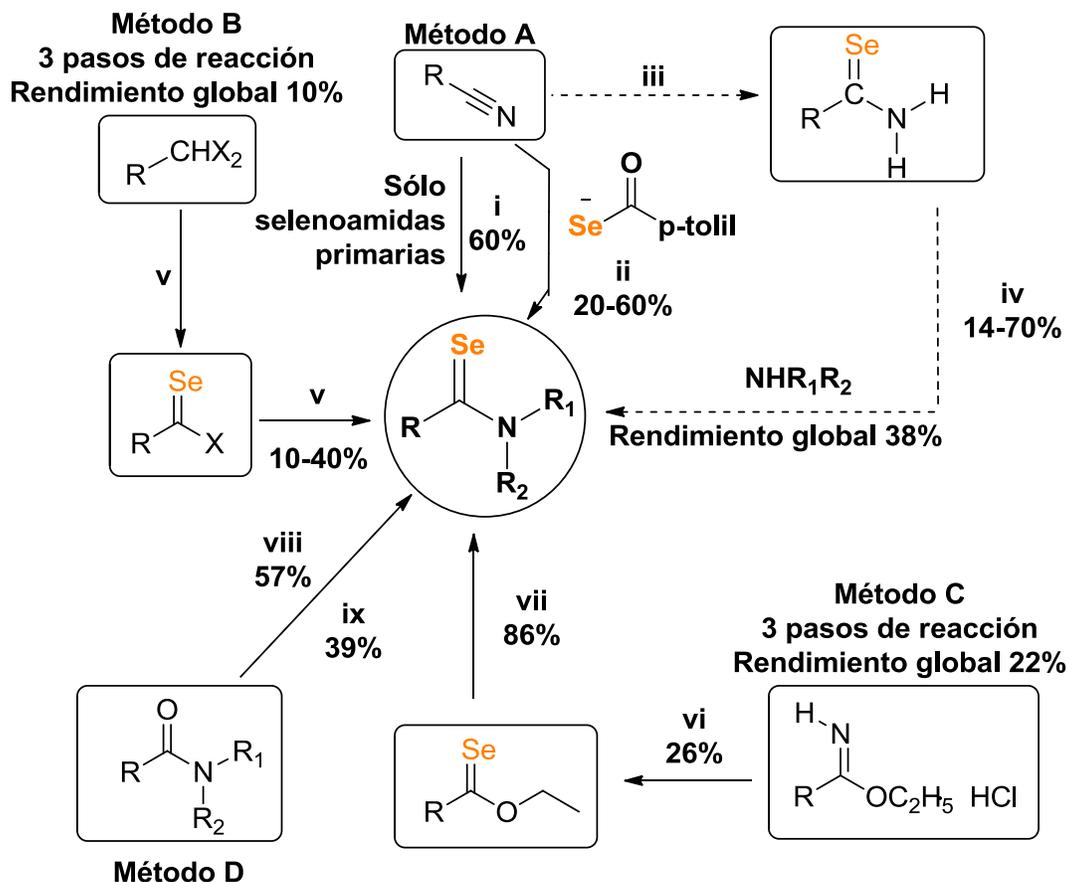


Figura 18. Estructura general de las selenoamidas

A pesar de ser intermediarios muy útiles y ampliamente usados, en la literatura existen pocos informes sobre la síntesis de selenoamidas, de forma tal que de las metodologías para la obtención de selenoamidas, ninguna de ellas representa un método general debido a la dificultad en su preparación, primordialmente por la alta toxicidad y difícil manipulación de los agentes selenantes, largos tiempos y condiciones drásticas de reacción, provocando que los rendimientos globales sean bajos.

³⁶ D. Sureshkumar, P. Gopinath, S. Chandrasekaran, *Chimia*, **2012**, *66*, 921-929 b) T. M. Vishwanatha, N. Narendra, B. Chattopadhyay, M. Mukherjee, V. V. Sureshbabu, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 2689-2702. c) N. Tanahashi, M. Koketsu, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4650-4653



Método A: i) Reactivo de Woollins, Reflujo de Tolueno, 5h, 60%³⁷, ii) Selenobenzoato, THF 0 °C, 5h, 60%³⁸, iii) Se, H₂O, Trietilamina, THF, CO 5 Kg/cm², 100 °C, 5h, 93 %³⁹, iv) THF, NHR₁R₂, 100 °C, 3h, 41%, **Método B:** v) PhCHCl₂, Se, NaH, HMPA 120 °C, 3h, 10%, **Método C:** vi) Acetamidato de etilo, H₂Se, Trietilamina, Piridina, -30 °C, 30min. 26%⁴⁰, vii) Mg, EtBr, NH₂R, Reflujo de Éter, 1h, 86 %⁴¹, **Método D:** viii) Se, HSiCl₃, DMAP, Tolueno, 115°C, 1.5h, 57%⁴², ix) Seleniuro bis(1,5-ciclooctadienilborilo), Tolueno TA, 24h, 39%⁴³.

Esquema 1. Métodos para la síntesis de selenoamidas

³⁷ G. Hua, Y. Li, A. M. Z. Slawin, J. D. Woollins, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5251-5254. b) P. Bhattacharyya, J. D. Woollins, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 5949-5951

³⁸ H. Ishihara, K. Yosimura, M. Kouketsu, *Chem. Lett.* **1998**, *27*, 1287-1288

³⁹ A. Ogawa, J. Miyake, N. Kambe, S. Murai, N. Sonoda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, *58*, 1448-1451

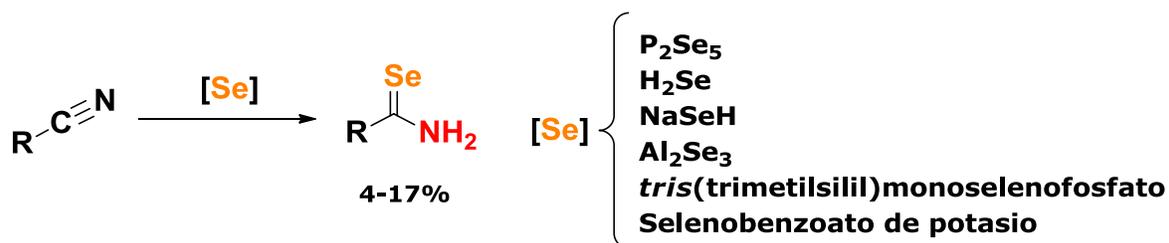
⁴⁰ V. I. Cohen, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 2645-2647

⁴¹ Y. Takikawa, M. Yamaguchi, T. Sasaki, K. Ohnishi, K. Shimada, *Chem. Lett.* **1994**, 2105-2108. b) K. Shimada, M. Yamaguchi, T. Sasaki, K. Ohnishi, Y. Takikawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1996**, *69*, 2235-2242

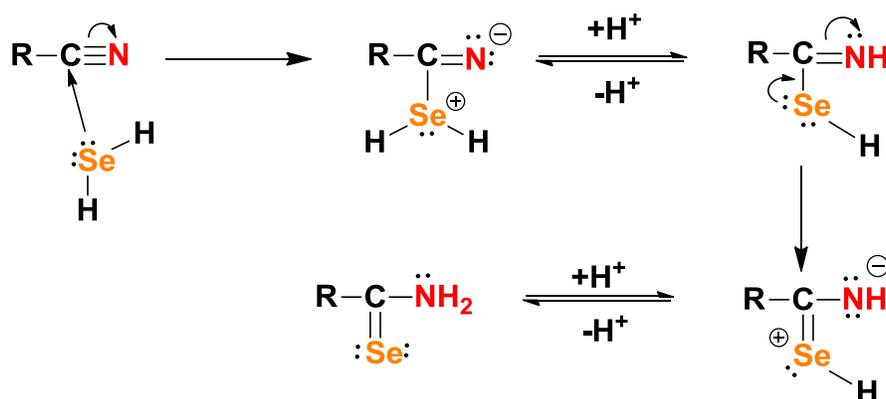
⁴² F. Shibahara, R. Sugiura, T. Murai, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3064-3067

⁴³ K. Shimada, N. Jin, M. Kawaguchi, K. Dobashi, Y. Nagano, M. Fujimura, E. Kudoh, T. Kai, N. Saito, J. Masuada, M. Iwaya, H. Fujisawa, S. Aoyagi, Y. Takikawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, *70*, 197-206

De manera general, las selenoamidas primarias son sintetizadas mediante una reacción de nitrilos con el agente selenante adecuado (Esquema 2), como puede ser seleniuro de fósforo (P_2Se_5), ácido selenhídrico (H_2Se), seleniuro de aluminio (Al_2Se_3), $NaSeH$, *tris*(trimetilsilil)monoselenofosfato o selenobenzoato de potasio. Sin embargo, estos procedimientos arrojan resultados desfavorables con rendimientos entre 4 y 17%.⁴⁴



Esquema 2. Síntesis de selenoamidas primarias

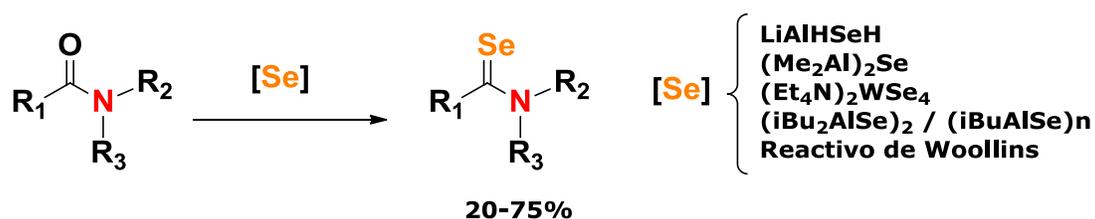


Esquema 3. Mecanismo de reacción general para la síntesis de selenoamidas primarias utilizando H_2Se como agente selenante

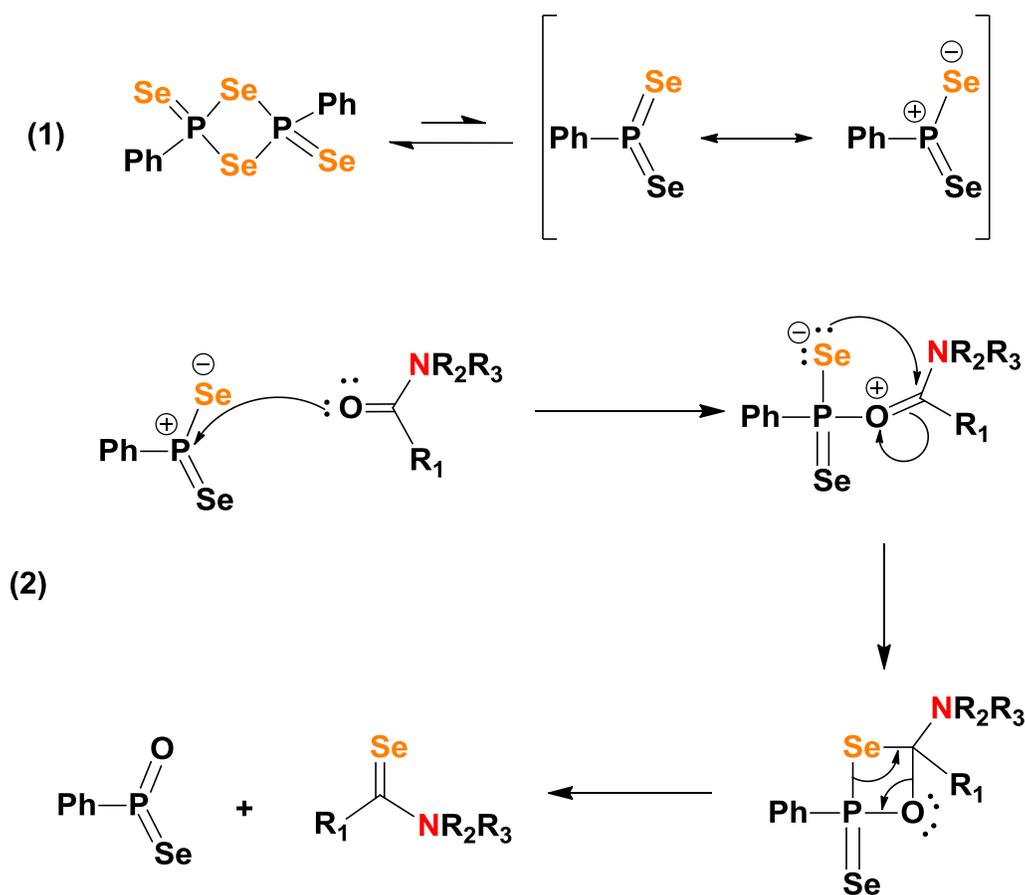
En lo que respecta a las selenoamidas secundarias y terciarias, también existen diversos métodos para su síntesis. El método general es la reacción de la amida respectiva con el agente selenante adecuado.⁴⁵

⁴⁴ K. Geisler, W.-D. Pfeiffer, A. Künzler, H. Below, E. Bulka, P. Langer, *Synthesis*, **2004**, 6, 875-884

⁴⁵ M. Koketsu, Y. Okayama, H. Aoki, H. Ishihara, *Heteroatom Chem.* **2002**, 13, 195-198. b) H. Ishihara, M. Koketsu, Y. Fukuta, F. Nada, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8408-8409. c) G. M. Li, R. A. Zingaro, M. Segi, J. H. Reibenspies, T. Nakajima, *Organometallics*, **1997**, 16, 756-762

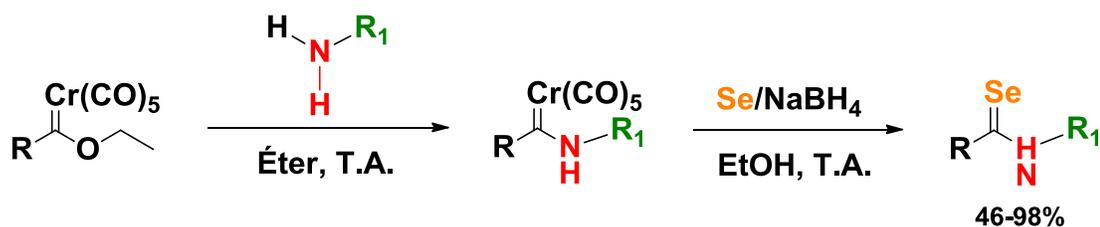


Esquema 4. Síntesis de selenoamidas secundarias y terciarias



Esquema 5. (1) Formación de la especie reactiva; (2) Mecanismo de reacción para la síntesis de selenoamidas secundarias y terciarias utilizando el reactivo de Woollins

Las metodologías antes mencionadas para la obtención de selenoamidas, no permiten la introducción de ciertos grupos funcionales y tomando en cuenta la agresividad de los reactivos utilizados. En este contexto, nuestro grupo de trabajo ha informado una nueva ruta sintética (Esquema 6) para la síntesis de selenoamidas con buenos rendimientos y condiciones suaves de reacción. Esta metodología se basa en la desmetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer utilizando como agente selenante una mezcla de NaBH₄ y selenio elemental en etanol a temperatura ambiente, con la posibilidad de introducir diferentes grupos funcionales.⁴⁶



Esquema 6. Reacción de desmetalación partiendo de etoxicarbenos de Fischer

La metodología anteriormente descrita, le permitió a nuestro grupo de investigación la síntesis de una novedosa familia de ferrocenilselenoamidas, las cuales tienen actividad citotóxica en una gran variedad de líneas celulares cancerosas humanas tales como próstata, SNC, leucemia, colon, mama y pulmón, mostrando una actividad equiparable y en algunos casos mayor al Tamoxifen y Cisplatino, fármacos de elección en el tratamiento de algunos tipos de cáncer.⁴⁶

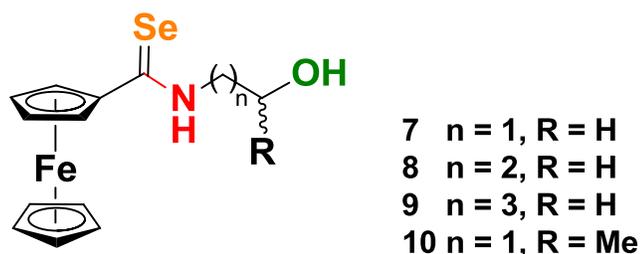


Figura 19. Ferrocenilselenoamidas con actividad biológica

⁴⁶ A. I. Gutiérrez-Hernández, J. G. López-Cortés, M. C. Ortega- Alfaro, M. T. Ramírez-Apan, J. J. Cázares-Marinero, R. A. Toscano, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4652-4663

Tabla 1. IC₅₀ (μM) en líneas celulares tumorales

Compuesto	U251	HCT-15	MCF-7
7	7.24 ± 0.5	4.48 ± 0.09	4.58 ± 0.4
8	7.78 ± 0.4	11.65 ± 1.0	13.62 ± 1.2
9	7.52 ± 0.3	10.99 ± 1.0	12.69 ± 0.9
10	7.15 ± 0.5	11.26 ± 1.1	9.87 ± 0.6
Tamoxifen	13.63 ± 1.3	13.3 ± 1.1	12.78 ± 1.1
Cisplatino	9.5 ± 0.7	13.5 ± 0.7	25.8 ± 2.3

Aunado a los resultados anteriores y tomando en cuenta su similitud estructural con las selenoamidas, ha surgido nueva evidencia que demuestra que los selenoimidocarbamatos (Figura 20) ejercen una actividad citotóxica muy alta contra líneas celulares cancerosas de próstata (PC-3), incluso mayor que el Etopósido, fármaco utilizado convencionalmente para el tratamiento de este tipo de cáncer.⁴⁷

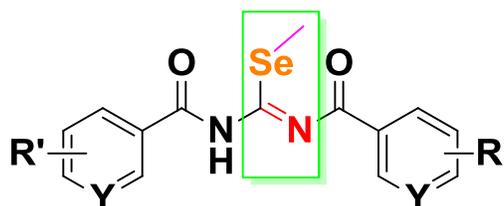
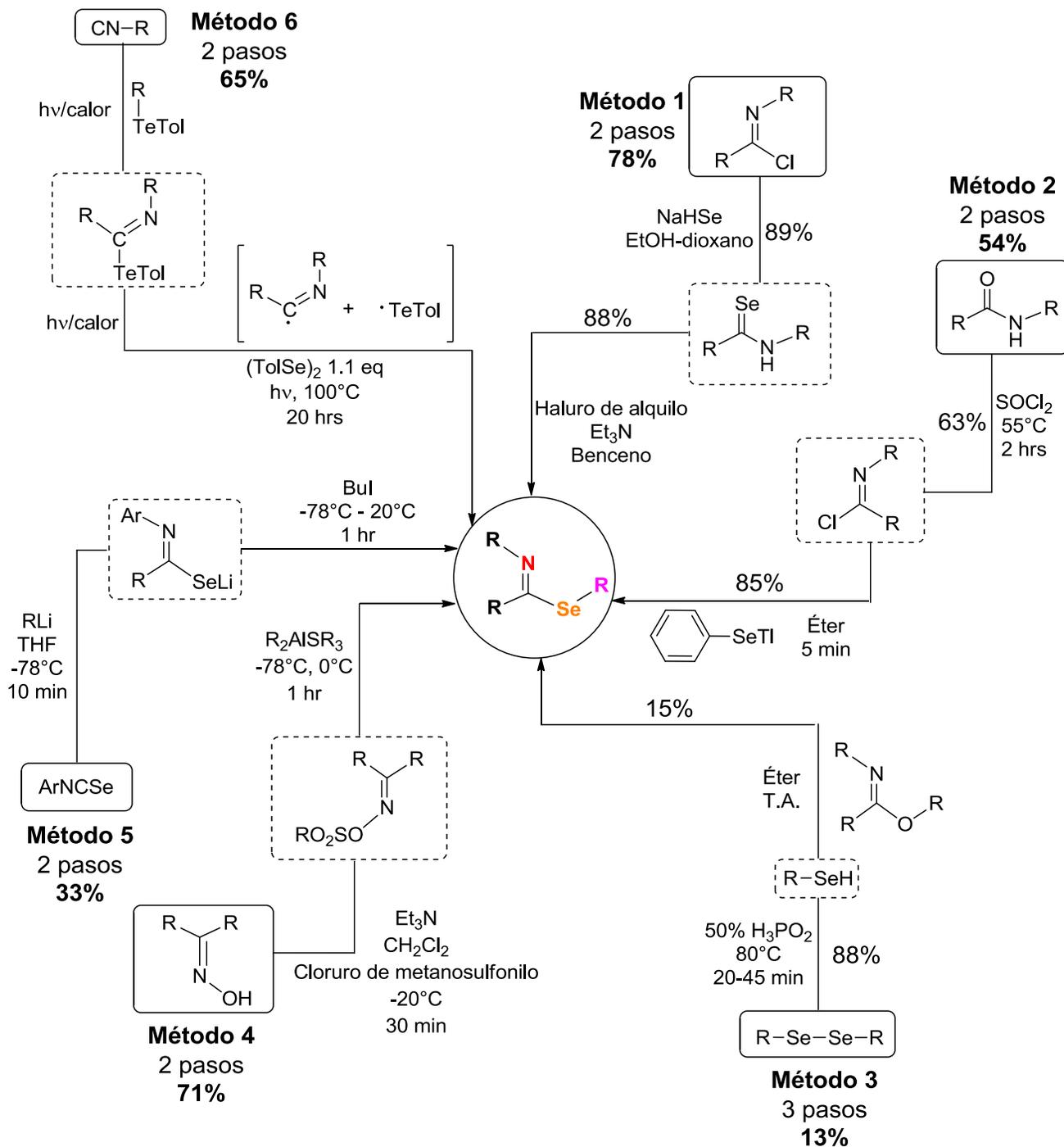


Figura 20. Selenoimidocarbamato

Tabla 2. IC₅₀ (μM) vs PC-3

Y	R	R'	IC ₅₀ (μM)
N	Metil	2-Cl	9.14
C	Metil	H	2.50
C	Etil	H	>10
C	Metil	3,5-diOCH ₃	6.50
C	Metil	4-Cl	7.60
C	Metil	4-CH ₃	1.85
C	Metil	4-NO ₂	>10
C	Metil	4-CF ₃	>10
C	Metil	4-CN	>10
Etopósido	-	-	13.6 ± 2.2

⁴⁷ D. Plano, C. Sanmartín, E. Moreno, C. Prior, A. Calvo, J. A. Palop, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6853-6859

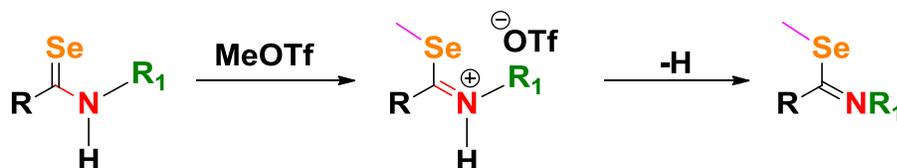


Esquema 7. Métodos generales para la síntesis de selenimidatos

Este tipo de compuestos muestran una similitud estructural muy estrecha con las selenoamidas, siendo la diferencia principal la alquilación del átomo de selenio, sin embargo, tomando en cuenta la utilidad de las selenoamidas como intermediarios sintéticos, es posible llevar a cabo reacciones de alquilación en el

átomo de selenio para la obtención de selenoimidatos, los cuales hasta nuestro mejor conocimiento, no han sido evaluados para establecer sus propiedades biológicas.⁴⁸ Hasta el momento, son pocas las metodologías reportadas para la síntesis de selenoimidatos, siendo las principales: (1) alquilación de selenoamidas utilizando haluros de alquilo;⁴⁹ (2) reacción de cloruros de imidol con aniones selenolato;⁵⁰ (3) la reacción de imidatos con selenoles;⁵¹ (4) reacción de sulfonatos de oxima con selenolatos organoalumínicos;⁵² (5) reacción de isoselenocianatos con organolitios⁵³ y (6) reacción de radicales imidoilo con diaril diselenuros.⁵⁴

A pesar de la variedad de metodologías conocidas, la más reciente y que mejores resultados ha arrojado, es la reportada por Mutoh y Murai la cual consiste en la alquilación de selenoamidas utilizando triflato de metilo para la obtención de sales de selenioimonio como compuestos estables y su posterior tratamiento básico para la obtención de selenoimidatos.⁵⁵



Esquema 8. Obtención de selenoimidatos vía sales de selenioimonio

Es por lo anterior, que en este trabajo se pretende realizar la síntesis de una nueva arilselenoamida mediante la reacción de demetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer y posteriormente realizar diversas modificaciones

⁴⁸ S. Fujiwara, H. Maeda, T. Matsuya, T. Shin-ike, N. Kambe, N. Sonoda, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5022-5025

⁴⁹ M. P. Cava, L. E. Saris, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1975**, 617-618

⁵⁰ M. R. Detty, G. P. Wood, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 80-89

⁵¹ C. O. Meese, W. Walter, H. Mrotzek, H. Mirzai, *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 956-964

⁵² K. Maruoka, T. Miyazaki, M. Ando, Y. Matsumura, S. Sakane, K. Hattori, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2831-2843

⁵³ H. Maeda, N. Kambe, N. Sonoda, S. Fujiwara, T. Shin-ike, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 12165-12176

⁵⁴ S. Yamago, H. Miyazoe, R. Goto, J. Yoshida, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2347-2350

⁵⁵ Y. Mutoh, T. Murai, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1361-1364. b) Y. Mutoh, T. Murai, *Organometallics*, **2004**, *23*, 3907-3913

estructurales con la finalidad de estudiar su reactividad hacia la obtención de nuevos compuestos organoselenados como los selenoimidatos, conocer su posible actividad biológica y establecer una probable relación estructura actividad de los compuestos obtenidos.

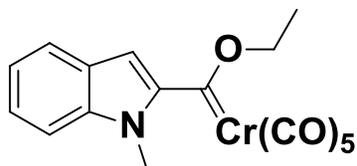
Objetivos

Objetivo general

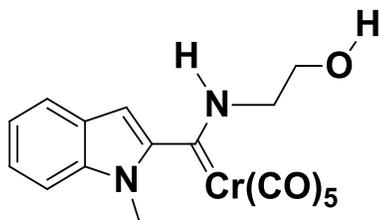
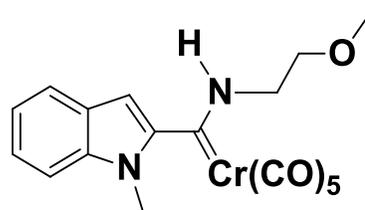
- ✓ Realizar la síntesis de dos nuevas arilselenoamidas con un fragmento indólico en su estructura mediante la reacción de desmetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer y posteriormente estudiar su reactividad hacia la obtención de nuevos derivados organoselenados como los selenoimidatos con el propósito de obtener nuevas moléculas con probable actividad biológica estudiando su potencial actividad citotóxica frente a diferentes líneas celulares cancerosas humanas

Objetivos particulares

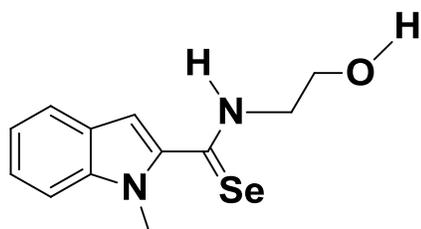
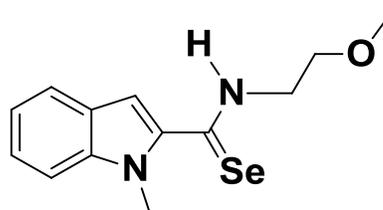
- Sintetizar un etoxicarbeno de Fischer con un fragmento indólico en su estructura mediante una modificación al método clásico informado por Fischer.

**A**

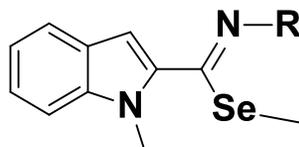
- Llevar a cabo la síntesis de dos diferentes aminocarbenos de Fischer mediante la reacción de aminólisis del etoxicarbeno de Fischer sintetizado en la etapa anterior empleando etanolamina y 2-metoxietilamina como aminas primarias.

**B****C**

- Obtener las diferentes 2-indolilselenoamidas mediante una reacción de desmetalación seleniurativa de los diferentes aminocarbenos de Fischer preparados empleando como agente selenante una mezcla de selenio y borohidruro de sodio.


D

E

- Estudiar la reactividad de las arilselenoamidas obtenidas hacia la obtención de nuevos derivados organoselenados como los selenoimidatos con el propósito de obtener nuevas moléculas con potencial actividad biológica.


F

- Caracterizar todos los compuestos obtenidos mediante las técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales (IR, EM, RMN ^1H y ^{13}C) y de ser posible por difracción de rayos X de monocristal.
- Estudiar el efecto de los derivados organoselenados obtenidos sobre distintas líneas celulares cancerosas humanas (próstata, glía de sistema nervioso central, leucemia, colon, mama y pulmón) como probables agentes citotóxicos.

Metodología

Experimental

Instrumentos y reactivos

Los reactivos y disolventes que se utilizaron para la síntesis de todos los compuestos son marca Aldrich Chemical Company. Todas las reacciones se llevaron a cabo bajo atmósfera inerte de nitrógeno y fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina (ccf) utilizando cromatofolios de aluminio recubiertos con sílice Alugram Sil G/UV254 de 0.25 mm como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de hexano-acetato de etilo (variando las proporciones de acuerdo a la polaridad del compuesto de interés) y como revelador luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm.

La purificación de los productos se realizó mediante cromatografía en columna (cc), siendo la fase estacionaria alúmina neutra (tamaño de partícula 0.05-0.15 mm) o gel de sílice (malla 70-230) y dependiendo de la polaridad de los compuestos, se utilizaron diferentes gradientes de hexano-acetato de etilo como fase móvil. En la evaporación de los disolventes se utilizó un rotavapor marca Büchi modelo R114 con un baño térmico modelo B-480 acoplado a una bomba marca Marvac Scientific Manufacturing Co. Modelo B2. Los puntos de fusión se midieron en un aparato MEL-TEMP II y los valores no están corregidos.

Los espectros de masas se obtuvieron en un equipo JEOL JMSAX505 usando la técnica de impacto electrónico (IE^+) a un potencial de ionización de 70 eV y de bombardeo con átomos rápidos (FAB^+). El aparato empleado para la espectrofotometría de infrarrojo (IR) fue un espectrofotómetro Perkin-Elmer 283B o 1420 utilizando las técnicas de pastilla de KBr o película, según fuera necesario.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de 1H y ^{13}C fueron obtenidos en un equipo Bruker AVANCE III 300 a 300.53 y 75.58 MHz para 1H y ^{13}C respectivamente, utilizando como disolvente cloroformo deuterado ($CDCl_3$). Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm). Las señales obtenidas en los espectros de RMN de 1H se encuentran indicadas como señal

simple (s), señal doble (d), señal triple (t) y señal múltiple (m) utilizando como referencia tetrametilsilano.

El análisis por difracción de rayos X de monocristal, se llevó a cabo en un espectrofotómetro Brücker Smart Apex CCD con detector de área de radiación monocromática de $K\alpha$ (071073 Å), mientras que la resolución estructural de los compuestos se realizó por Métodos Directos mediante el programa SHELXL-97 y refinadas por el método de Mínimos Cuadrados (Full Matrix Least Squares F2). Las distancias interatómicas se expresan en Angstroms (Å) y los ángulos en grados (°).

Pruebas de citotoxicidad

Los compuestos fueron probados *in vitro* frente a líneas celulares humanas cancerosas de próstata (PC-3), glía de sistema nervioso central (U251), leucemia (K526), colon (HCT-15), mama (MCF-7) y pulmón (SKLU) proporcionadas por el Instituto Nacional de Cancerología (NCI) de los Estados Unidos de América. La citotoxicidad fue determinada utilizando el colorante de unión a proteínas sulforodamida B (SRB) en un ensayo de microcultivo para medir el crecimiento celular, como está descrito en el protocolo establecido por el NCI.⁵⁶

Las líneas celulares fueron sembradas en un medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con suero fetal bovino, una disolución 2 mM de L-glutamina, 1000 unidades/mL de penicilina G, 1000 µg/mL de sulfato de estreptomicina, 25 µg/mL de anfotericina B (Gibco) y 1% de aminoácidos no esenciales marca Gibco. Todas las células se incubaron a 37°C en atmósfera húmeda y al 5% de dióxido de carbono. La viabilidad de las células utilizadas en los experimentos excede el 95% como fue determinado con el azul de tripano.

⁵⁶ A. Monks, D. Scudeiro, P. Skehan, R. Shoemaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, M. Gray-Goodrich, H. Campbell, J. Mayo, M. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757-766

Las células fueron removidas de los matraces de cultivo de tejido y se suspendieron con medio fresco, tomando 100 μL de la suspensión de células conteniendo 5000 o 10000 células y se depositaron en una placa con 96 pozos para microtitulación, el material se incubó a 37°C por 24 horas en un atmósfera al 5% de dióxido de carbono, subsecuentemente se adicionaron 100 μL de una disolución de los compuestos de prueba con una concentración de 1.0 a 50.0 μM , exponiendo los cultivos por 48 horas al contacto con dichos compuestos.

Después del periodo de incubación, las células se fijaron al sustrato plástico utilizando 50 μL de una solución acuosa al 50% de ácido tricloroacético en frío. Las placas fueron incubadas a 4°C, posteriormente lavadas con agua y secadas con aire. Las células fijadas se tiñeron por la adición de una solución al 0.4% de SRB, el remanente de esta solución fue removido utilizando una solución acuosa al 1% de ácido acético.

Las placas fueron secadas al aire y el colorante unido a las proteínas fue solubilizado al añadir 100 μL de una solución 10 mM de Tris, finalmente las placas se colocaron en un agitador por 5 minutos y se determinó su absorción a 515 nm utilizando un lector de placas de ELISA (Bio-Tex Instruments).

Síntesis del [Etoxi(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

Se colocaron 2 mL (16 mmol) de 1-metilindol y 10 mL de tetrahidrofurano anhidro dentro de un matraz de bola de 50 mL y posteriormente se agregó 6.6 mL de *n*-butilitio (2.5M) por goteo lento a 0°C bajo atmósfera de nitrógeno y agitación constante por 90 minutos.

Posteriormente, en otro matraz de bola se formó una suspensión con 3.66 g (17 mmol) de hexacarbonilo de cromo (Cr(CO)₆) y 15 mL de THF anhidro, a 0°C y bajo atmósfera de nitrógeno. Una vez formado el producto organolitiado de la etapa anterior, fue adicionado mediante una cánula, a esta mezcla y se mantuvo a 0°C durante 15 minutos y posteriormente a temperatura ambiente y agitación constante durante dos horas.

Finalmente, se evaporó el tetrahidrofurano y se realizó la alquilación utilizando 3.97 g (16 mmol) de hexafluorofosfato de trietiloxonio (Et₃OPF₆) en hielo. El producto de la reacción se extrajo utilizando cloruro de metileno (CH₂Cl₂) y se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y por último se evaporó a presión reducida el disolvente obteniendo así el etoxicarbeneo de Fischer con un fragmento *N*-metilindol como sustituyente. Este compuesto se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil hexano. La síntesis antes descrita es una modificación a la metodología diseñada por el grupo del Dr. López-Cortés.⁴⁶

Compuesto A [Etoxi(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

De este compuesto se obtuvieron 6.05 g de un sólido color rojizo equivalente a un 94% de rendimiento.

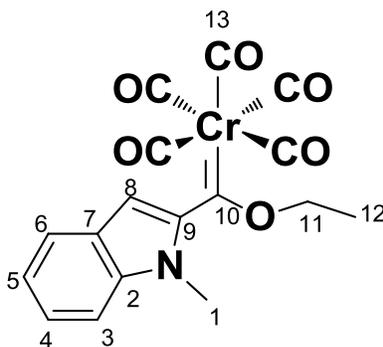


Figura 21. [Etoxi(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

Fórmula: C₁₇H₁₃CrNO₆

PM: 379.28 g/mol

Punto de fusión: 115-120°C (Descomposición)

IR v_{max} (KBr)/cm⁻¹: 2054, 1913 (Cr-CO)

EM (FAB⁺) m/z (%): 379 [M⁺] (9), 351 [M⁺-CO] (26), 323 [M⁺-2CO] (19), 295 [M⁺-3CO] (13), 267 [M⁺-4CO] (52), 239 [M⁺-5CO] (31)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 7.80 (H₈, s, 1H), δ 7.73 (H₃, d, 1H), δ 7.40 (H₄, t, 1H), δ 7.31 (H₆, d, 1H), δ 7.14 (H₅, t, 1H), δ 5.21 (H₁₁, m, 2H), δ 3.76 (H₁, s, 3H), δ 1.74 (H₁₂, t, 3H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): δ 319.7 (C₁₀), δ 223.6 (C_{13ax}), δ 217.2 (C_{13ec}), δ 148.9 (C₉), δ 139.8 (C₂), δ 128.7 (C₇), [δ 127.7 (C_{5E}), δ 126.6 (C_{5Z})], [δ 123.2 (C_{6E}), δ 121.4 (C_{6Z})], [δ 122.6 (C_{4E}), δ 119.2 (C_{4Z})], [δ 120.8 (C_{3E}), δ 109.1 (C_{3Z})], [δ 110.7 (C_{8E}), δ 100.8 (C_{8Z})], δ 76.6 (C₁₁), δ 34.0 (C₁), δ 15.3 (C₁₂)

Síntesis de aminocarbenos de Fischer con un fragmento heterociclo (B-C)

Para la obtención de los aminocarbenos de Fischer **B-C**, se disolvieron 3 mmol del etoxicarbeno de Fischer **A** en éter anhidro dentro de un matraz de bola bajo atmósfera de nitrógeno, en seguida se adicionaron 8 mmol de la amina primaria correspondiente (etanolamina o 2-metoxietilamina) y se mantuvo la reacción bajo agitación constante y a temperatura ambiente. Para identificar la formación del producto deseado, se siguió el avance de la reacción mediante cromatografía en capa fina (ccf), una vez terminada, el producto fue tratado, tras la evaporación del éter, mediante una extracción líquido-líquido utilizando CH_2Cl_2 y una solución saturada de NaHCO_3 y finalmente la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro.

La purificación del producto obtenido se realizó mediante cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice y la fase móvil una mezcla de hexano:acetato de etilo (70:30).

Compuesto B [Hidroxietilamino(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

De este compuesto se obtuvieron 0.486 g de un aceite viscoso color amarillo, correspondiente a un 93% de rendimiento.

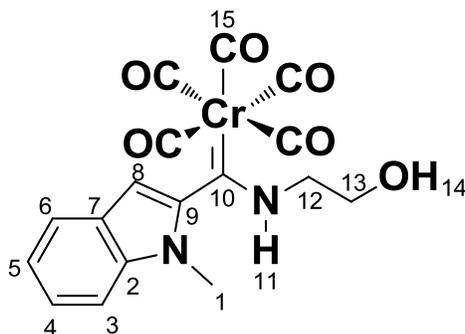


Figura 22. [Hidroxietilamino(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

Fórmula: $C_{17}H_{14}CrN_2O_6$

PM: 394.29 g/mol

IR ν_{\max} (película)/ cm^{-1} : 3349 (-OH) y (-NH), 2054, 1976, 1912 (Cr-CO)

EM (FAB⁺) m/z (%): 395 [$M^{+}+1$] (10), 366 [$M^{+}-CO$] (58), 338 [$M^{+}-2CO$] (16), 310 [$M^{+}-3CO$] (10), 282 [$M^{+}-4CO$] (100), 254 [$M^{+}-5CO$] (79)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 9.76 (H_{11} , s, 1H), δ 7.0 – 7.8 ($H_{3,4,5,6}$, m, 4H), δ 6.19 (H_8 , s, 1H), δ 3.76 (H_{13} , s, 2H), δ 3.6 (H_1 , s 3H), δ 3.36 (H_{12} , s, 2H), δ 1.26 (H_{14} , s, 1H)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 279.0 (C_{10}), δ 223.1 (C_{15ax}), δ 216.8 (C_{15ec}), δ 145.0 (C_9), δ 137.0 (C_2), δ 128.1 (C_7), δ 122.1 (C_5), δ 121.0 (C_6), δ 120.4 (C_4), δ 109.4 (C_3), δ 96.0 (C_8), δ 60.6 (C_{13}), δ 53.0 (C_{12}), δ 30.8 (C_1)

Compuesto C [2-metoxietilamino(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

Se obtuvieron 0.320 g de un aceite color amarillo correspondiente al 99% de rendimiento de la reacción.

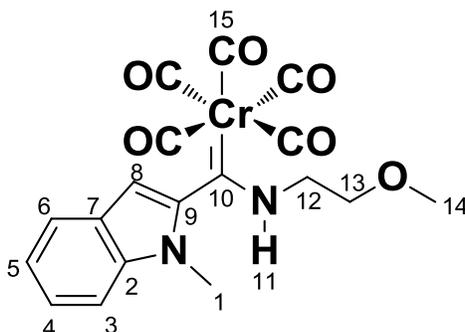


Figura 23. [2-metoxietilamino(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0)

Fórmula: C₁₈H₁₆CrN₂O₆

PM: 408.33 g/mol

IR v_{max} película/cm⁻¹: 3340 (-NH), 2054, 1928 (Cr-CO)

EM (FAB⁺) m/z (%): 409 [M⁺+1] (7), 380 [M⁺-CO] (46), 352 [M⁺-2CO] (12), 324 [M⁺-3CO] (7), 296 [M⁺-4CO] (78), 268 [M⁺-5CO] (100)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 9.66 (NH_E) y δ 8.99 (NH_Z), δ 7.60 (H₃, d, 1H), δ 7.3 (H₄, t, 1H), δ 7.24 (H₆, d, 1H), δ 7.14 (H₅, t, 1H), δ 6.19 (H₈, s, 1H), δ 3.59 (H₁, s, 3H), δ 3.45 – δ 3.36 (H_{12, 13, 14}, m, 7H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): δ 278.3 (C₁₀), δ 223.3 (C_{15ax}), δ 216.9 (C_{15ec}), δ 145.1 (C₉), δ 137.1 (C₂), δ 128.2 (C₇), δ 122.2 (C₅), δ 121.1 (C₆), δ 120.5 (C₄), δ 109.6 (C₃), δ 96.1 (C₈), δ 69.9 (C₁₃), δ 59.4 (C₁₄), δ 51.3 (C₁₂), d 30.9 (C₁)

Síntesis de selenoamidas con un fragmento heterociclo (D-E)

La síntesis de las selenoamidas se realizó formando previamente el agente calcogenante para posteriormente utilizarlo en la reacción de desmetalación seleniurativa en una relación estequiométrica 10:1 con respecto al aminocarbeno. Inicialmente en un matraz de bola bajo atmósfera inerte se suspendieron 20 mmol de borohidruro de sodio (NaBH_4) en 15 mL de etanol (EtOH) a 0°C . A la mezcla anterior, se le agregó lentamente 20 mmol de selenio (Se) elemental y la mezcla se mantuvo bajo agitación constante a 0°C durante 15 minutos, una vez transcurrido este tiempo se retiró el baño de hielo y se dejó alcanzar la temperatura ambiente por 30 minutos más hasta formar una solución roja. Posteriormente, se agregó el aminocarbeno de Fischer correspondiente previamente disuelto en EtOH a esta solución y se dejó reaccionar bajo agitación constante durante 3 horas, siendo monitoreada mediante ccf. Al término de la reacción, el etanol se evaporó a presión reducida y a una temperatura máxima de 50°C y se extrajo la selenoamida correspondiente con CH_2Cl_2 y agua, secando la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro y finalmente se evaporó el disolvente. El producto anterior se purificó por cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de hexano:acetato de etilo (que varía según la polaridad del compuesto de interés).

Compuesto D *N*-(2-hidroximetil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboselenoamida

Se obtuvieron 1.01 g de un sólido amarillo opaco equivalente al 91% de rendimiento.

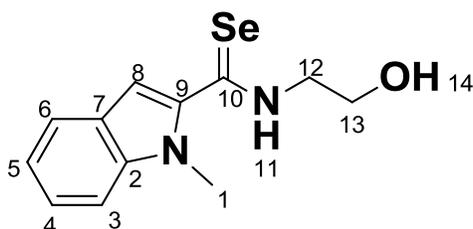


Figura 24. *N*-(2-hidroximetil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboselenoamida

Fórmula: C₁₂H₁₄N₂OSe

PM: 281.21 g/mol

Punto de fusión: 106-108°C

IR ν_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 3422 (-OH), 3150 (-NH), 1644 (C=Se)

EM (EI⁺) *m/z* (%): 282 [M⁺+1] (7), 200 [M⁺-H₂Se] (100), 156 [C₁₀H₈NH]⁺ (20)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8.62 (H₁₁, s, 1H), δ 7.63 (H₃, d, 1H), δ 7.33 (H_{4,6}, m, 2H), δ 7.16 – 7.11 (H₅, m, 1H), δ 6.73 (H₈, s, 1H), δ 4.02 (H_{1,12,13}, m, 7H), δ 2.02 (H₁₄, s, 1H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): δ 192.5 (C₁₀), δ 143.3 (C₉), δ 140.3 (C₂), δ 126.1 (C₇), δ 124.2 (C₅), δ 121.9 (C₆), δ 121.0 (C₄), δ 110.4 (C₃), δ 101.8 (C₈), δ 60.3 (C₁₃), δ 50.6 (C₁₂), δ 32.3 (C₁)

Compuesto E *N*-(2-metoxietil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboselenoamida

Del compuesto **E** se obtuvieron 0.145 g de aspecto sólido y color naranja, equivalente al 63% de rendimiento de la reacción.

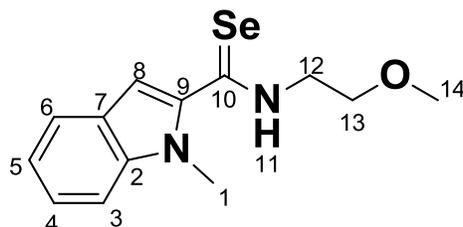


Figura 25. *N*-(2-metoxietil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboselenoamida

Fórmula: C₁₃H₁₆N₂OSe

PM: 295.24 g/mol

Punto de fusión: 94-95 °C

IR ν_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 3291 (-NH), 1519, 1502 (C=Se)

EM (EI⁺) *m/z* (%): 296 [M⁺+1] (40), 215 [M⁺-H₂Se] (5), 157 [C₁₀H₈NH]⁺ (100)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8.53 (H₁₁, s, 1H), δ 7.63 (H₃, d, 1H), δ 7.33 (H_{4,6}, m, 2H), δ 7.16 – 7.11 (H₅, m, 1H), δ 6.71 (H₈, s, 1H), δ 4.01 (H_{1,13}, m, 5H), δ 3.71 (H₁₂, t, 2H), δ 3.41 (H₁₄, s, 1H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): δ 192.0 (C₁₀), δ 143.3 (C₉), δ 140.1 (C₂), δ 126.1 (C₇), δ 124.0 (C₅), δ 121.7 (C₆), δ 120.8 (C₄), δ 110.3 (C₃), δ 101.5 (C₈), δ 69.2 (C₁₃), δ 58.9 (C₁₄), δ 48.4 (C₁₂), δ 32.1 (C₁)

Síntesis de selenoimidato con un fragmento heterociclo (F)

La síntesis del selenoimidato **F** se realizó agregando 0.34 mmol de la selenoamida **E** en un matraz de bola bajo atmósfera inerte, al cual posteriormente se le añadieron 10 mL de éter y una vez disuelto finalmente se agregó 0.34 mmol de triflato de metilo (MeOTf) como agente alquilante, la mezcla se dejó bajo agitación constante a temperatura ambiente durante 2 horas, la reacción se monitoreó mediante ccf y se dió por finalizada al desaparecer la materia prima. Una vez terminada la reacción, el disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se lavó repetidamente con hexano HPLC. La purificación del compuesto **F** se realizó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria y acetato de etilo como fase móvil.

Compuesto F *N*-(2-metoxietil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboimidoseleato

Se obtuvieron 0.1 g de un sólido café de olor característico, correspondiente a un 95% de rendimiento.

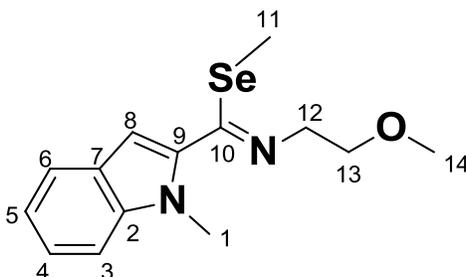


Figura 26. *N*-(2-metoxietil)-1-metil-1*H*-indol-2-carboimidoseleato

Fórmula: C₁₄H₁₈N₂OSe

PM: 309.27 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 1639 (C=N)

EM (ESI⁺) *m/z*: 309.0818

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): δ 7.63 (H₃, d, 1H), δ 7.34 – 7.23 (H_{4,6}, m, 2H), δ 7.11 (H₅, t, 1H), δ 6.70 (H₈, s, 1H), δ 3.80 (H_{1,12,13}, m, 7H), δ 3.43 (H₁₁, s, 3H), δ 2.0 (H₁₄, s, 3H)

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): δ 157.2 (C₁₀), δ 137.9 (C₉), δ 135.8 (C₂), δ 126.6 (C₇), δ 122.8 (C₅), δ 121.4 (C₆), δ 119.9 (C₄), δ 109.7 (C₃), δ 105.0 (C₈), δ 72.2 (C₁₃), δ 58.9 (C₁₄), δ 56.6 (C₁₂), δ 30.7 (C₁), δ 8.0 (C₁₁)

Análisis de Resultados

Síntesis del etoxicarbeno de Fischer con un fragmento *N*-metilindol como sustituyente (A)

Desde la síntesis del primer complejo carbénico de tungsteno (*O*) reportado por Fischer y Maasböl en 1964, casi cuarenta años después, los carbenos de Fischer han sido ampliamente reconocidos y usados en la síntesis orgánica ya que permiten la construcción de estructuras polifuncionalizadas que mediante síntesis tradicional serían muy difíciles de obtener.⁵⁷

Partiendo de esta premisa, las reacciones para la obtención de alcoxycarbenos de Fischer han sido ampliamente estudiadas y una de sus aplicaciones poco desarrollada pero de gran interés es la obtención de alcoxycarbenos con un fragmento heterociclo en su estructura con la finalidad de obtener precursores que puedan ser utilizados para la síntesis de nuevos compuestos con actividad biológica, tales como las selenoamidas.

En este contexto, los heterociclos tienen una gran relevancia, debido a la amplia gama de actividades biológicas que poseen como antiinflamatorios,⁵⁸ antibacteriales, antifúngicos,⁵⁹ antitumorales⁶⁰ y antiparasitarios.⁶¹ Gracias a esto, ha sido posible realizar una infinidad de combinaciones para la obtención de compuestos biológicamente activos, muchos de los cuales ahora son comercialmente reconocidos. En particular, los derivados del indol han demostrado tener propiedades antivirales,⁶² antipsicóticas,⁶³ anticancerígenas,⁶⁴

⁵⁷ I. Fernández, F. P. Cossío, A. Arrieta, B. Lecea, M. J. Mancheño, M. A. Sierra, *Organometallics*, **2004**, *23*, 1065-1071

⁵⁸ S. Shafi, M. M. Alam, N. Mulakayala, C. Mulakayala, G. Vanaja, A. M. Kalle, R. Pallu, M. S. Alam. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 324-333

⁵⁹ V. Padmavathi, P. Thriveni, G. S. Reddy, D. Deepti, *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 917-924

⁶⁰ A. Muralikrishna, B. C. Venkatesh, V. Padmavathi, A. Padmaja, P. Kondaiah, N. S. Krishna, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 605-614

⁶¹ K. Kaur, M. Jain, R. P. Reddy, R. Jain, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3245-3264

⁶² G. Jin, S. Lee, M. Choi, S. Son, G.-W. Kim, J.-W. Oh, C. Lee, K. Lee, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *75*, 413-425

⁶³ A. Bali, U. Sen, T. Peshin, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 477-490

antiinflamatorias,⁶⁵ entre otras. De la misma manera, a través de los años, han destacado principios activos con una fracción indólica en su estructura que actualmente se encuentran en el mercado. (Figura 27).⁶⁶

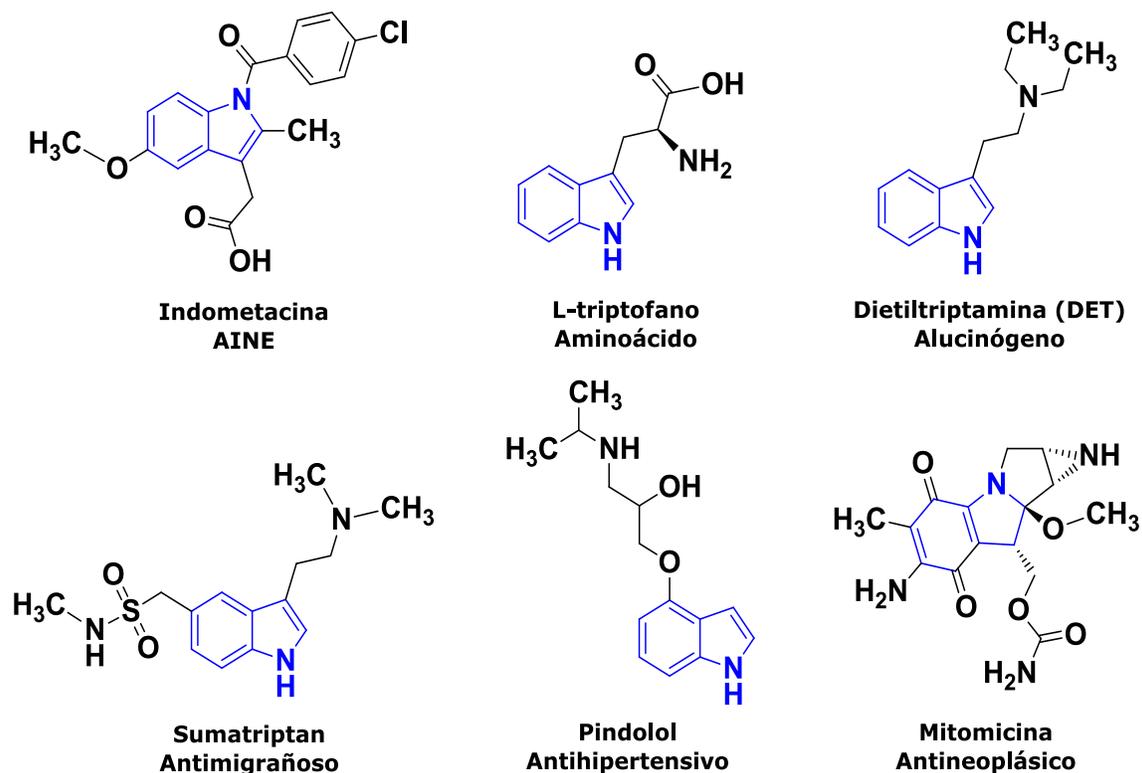


Figura 27. Compuestos indólicos con actividad biológica

Es por esto que la finalidad de este trabajo de tesis es sintetizar nuevas arilselenoamidas que contengan en su estructura un fragmento de *N*-metilindol con el propósito de promover un efecto sinérgico positivo en su posible actividad farmacológica y posteriormente estudiar su reactividad hacia la obtención de nuevos compuestos organoselenados tales como los selenoimidatos para evaluar su potencial actividad biológica y conocer la influencia estructural de la molécula en la actividad citotóxica.

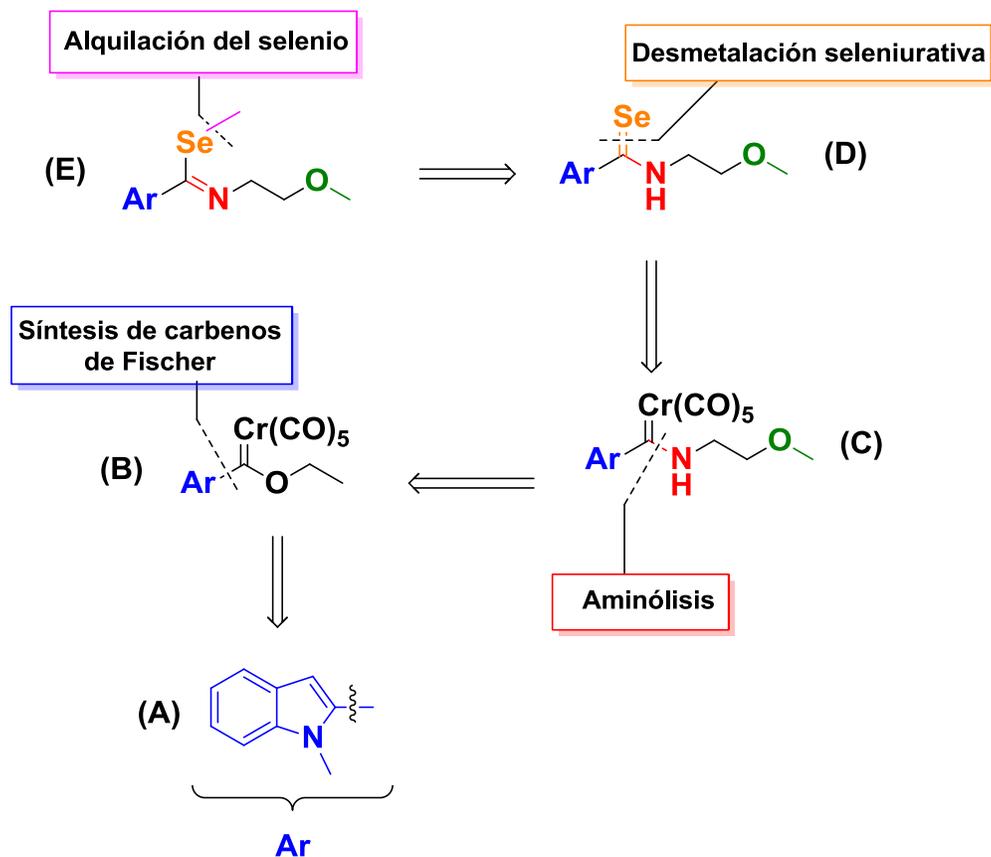
⁶⁴ N. Panathur, U. Dalimba, P. V. Koushik, M. Alvala, P. Yogeewari, D. Sriram, V. Kumar, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *69*, 125-138

⁶⁵ Shaveta, A. Singh, M. Kaur, S. Sharma, R. Bhatti, P. Singh, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 185-192

⁶⁶ <http://www.drugbank.ca/>

Para lograr este cometido, se planteó la posibilidad de obtener selenoimidatos vía alquilación de selenoamidas mediante el siguiente análisis retrosintético (Esquema 9).

El selenoimidato (E), se puede preparar mediante la alquilación del átomo de selenio de la selenoamida (D), la cual puede ser preparada mediante una reacción de demetalación seleniurativa sobre el átomo de carbono carbénico del aminocarbeno (C), donde el fragmento amino del complejo (C) proviene de la amina primaria correspondiente introducido por medio de una reacción de aminólisis del etoxicarbeno de Fischer (B), el cual puede ser preparado mediante el método clásico de Fischer para la síntesis de alcoxycarbenos, utilizando 1-metilindol (A) comercialmente disponible como material de partida.



Esquema 9. Planteamiento retrosintético para la síntesis de arilselenoamidas y selenoimidatos

Inicialmente, para la síntesis del etoxicabeno de Fischer **A**, se cuenta con escasos antecedentes de su preparación en la literatura, tal es el caso del método informado por W. D. Wulff y colaboradores para la síntesis de metoxicarbenos con un fragmento indólico en su estructura (Figura 28). La técnica establecida en dicha metodología consiste en utilizar una temperatura de -78°C y un tiempo de reacción de 22 horas, sin embargo el rendimiento obtenido mediante esta metodología es alrededor de (73%).⁶⁷

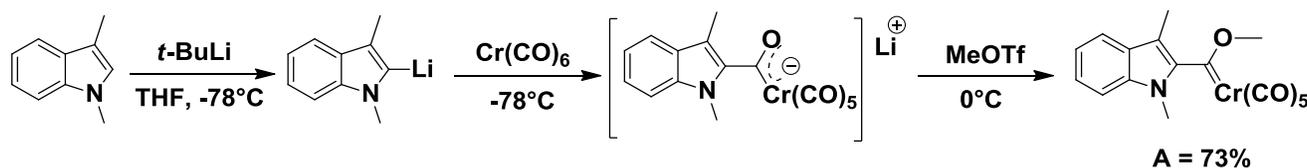


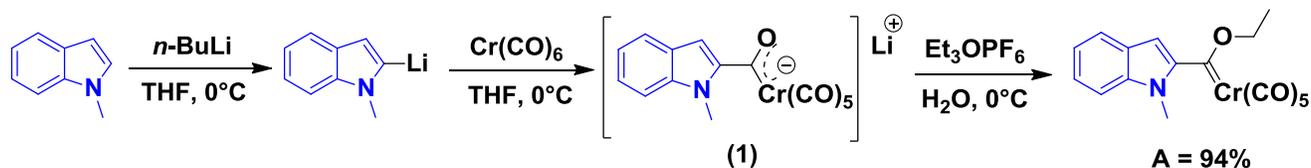
Figura 28. Síntesis de 1,3-dimetil-2-indolil carbeno

Dado que el etoxicarbena de Fischer es la materia prima de partida para el resto de las reacciones planteadas en el análisis retrosintético, es necesario obtener cantidades suficientes de dicho complejo, es por esto que decidimos emplear una modificación a la metodología informada por López-Cortés para la síntesis de ferrocenilcarbenos en la preparación del etoxicabeno **A**.⁶⁸

Una vez planteada la estrategia sintética, se procedió a la preparación del complejo carbénico tipo Fischer con un fragmento indólico en su estructura. Inicialmente se llevó a cabo la monolitación del 1-metilindol empleando como base *n*BuLi a 0°C en THF, a medida que transcurre la reacción se observa un cambio de color (la solución transparente adquiere un tono oscuro), una vez formado el 2-litioderivado, éste se adicionó a la suspensión de hexacarbonilo de cromo también en THF y a 0°C durante 2 horas, generando así el intermediario acilmetalato (1). Por último, este intermediario fue alquilado utilizando hexafluorofosfato de trietiloxonio en hielo para obtener el [Etoxi(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (0) (Esquema 9).

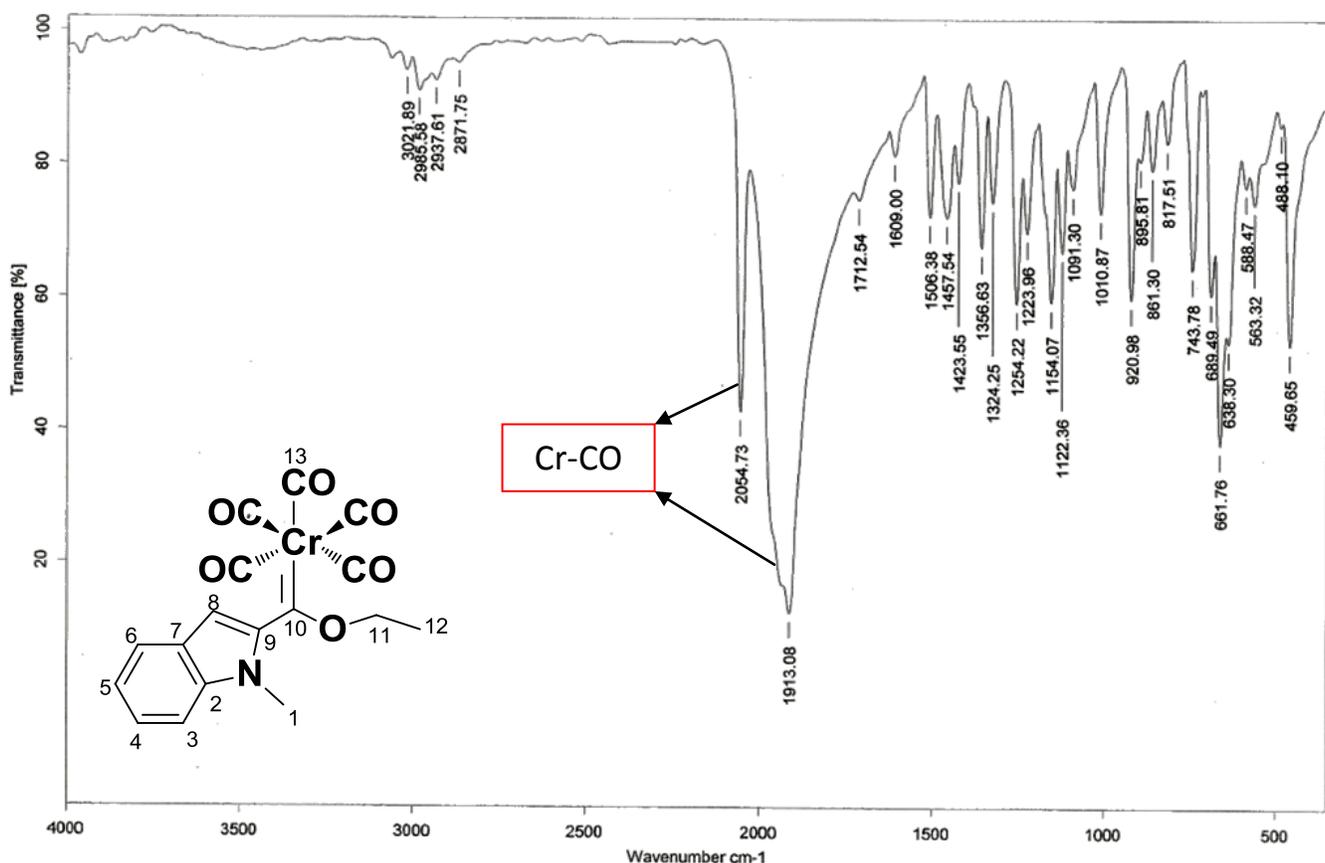
⁶⁷ R. P. Hsung, W. D. Wulff, S. Chamberlin, Y. Liu, R.-Y. Liu, H. Wang, J. F. Quinn, S. L. B. Wang, A. L. Rheingold, *Synthesis*, **2001**, 2, 200-220

⁶⁸ J. G. López-Cortés, L. F. Contreras de la Cruz, M. C. Ortega-Alfaro, R. A. Toscano, C. Alvarez-Toledano, H. Rudler, *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 2229-2237

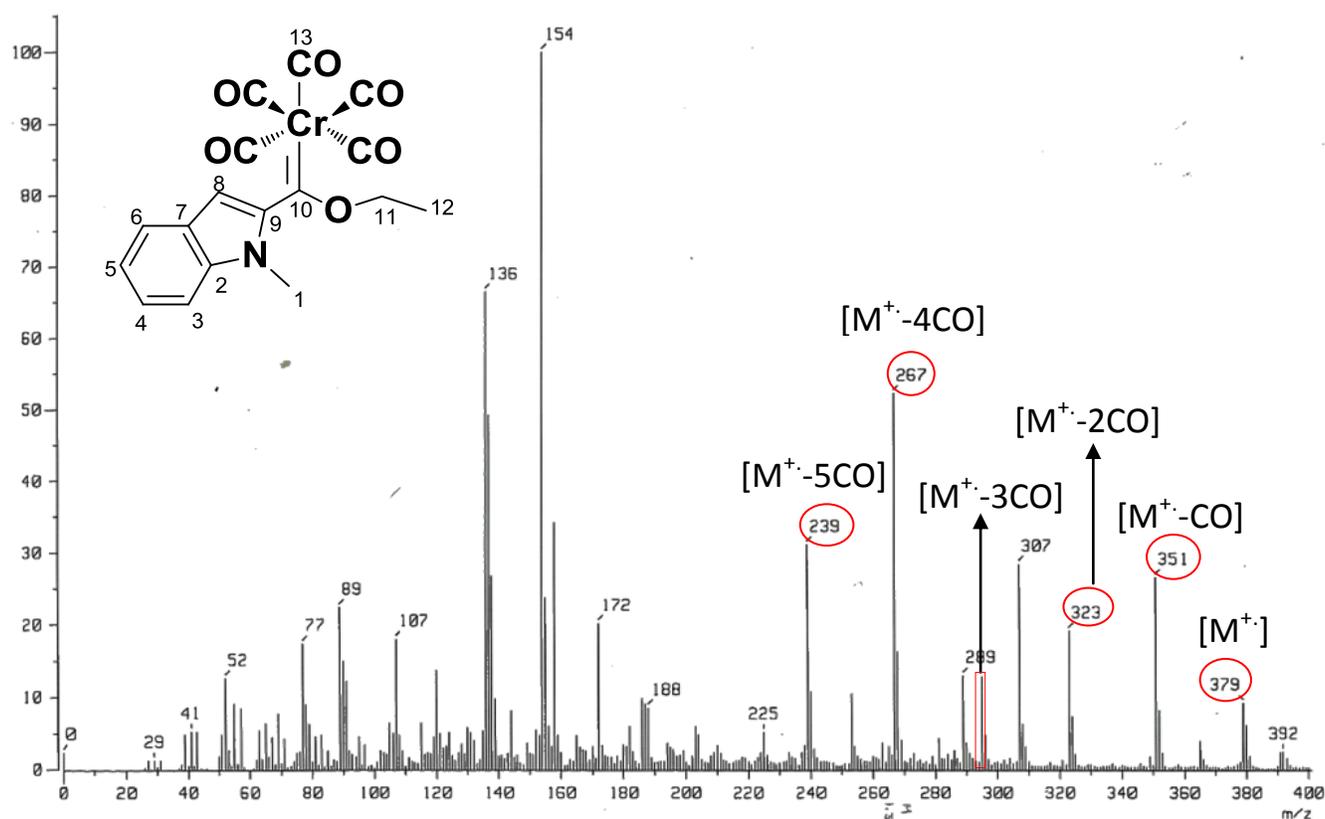
Esquema 9. Síntesis del [Etoxi(*N*-metilindol-2-il)metiliden]pentacarbonil cromo (A)

El etoxicarbeno de Fischer **A** se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil hexano, obteniéndose un compuesto sólido color vino de olor característico en un rendimiento del 94%. El compuesto **A** fue caracterizado mediante las técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales (IR, EM, RMN ^1H y ^{13}C).

En el espectro de infrarrojo (Espectro 1), se observan dos bandas de absorción alrededor de 2054 y 1913 cm^{-1} correspondientes a los carbonilos metálicos (Cr-CO), las cuales son características para este tipo de compuestos.

Espectro 1. Espectro de IR (KBr) del compuesto **A**

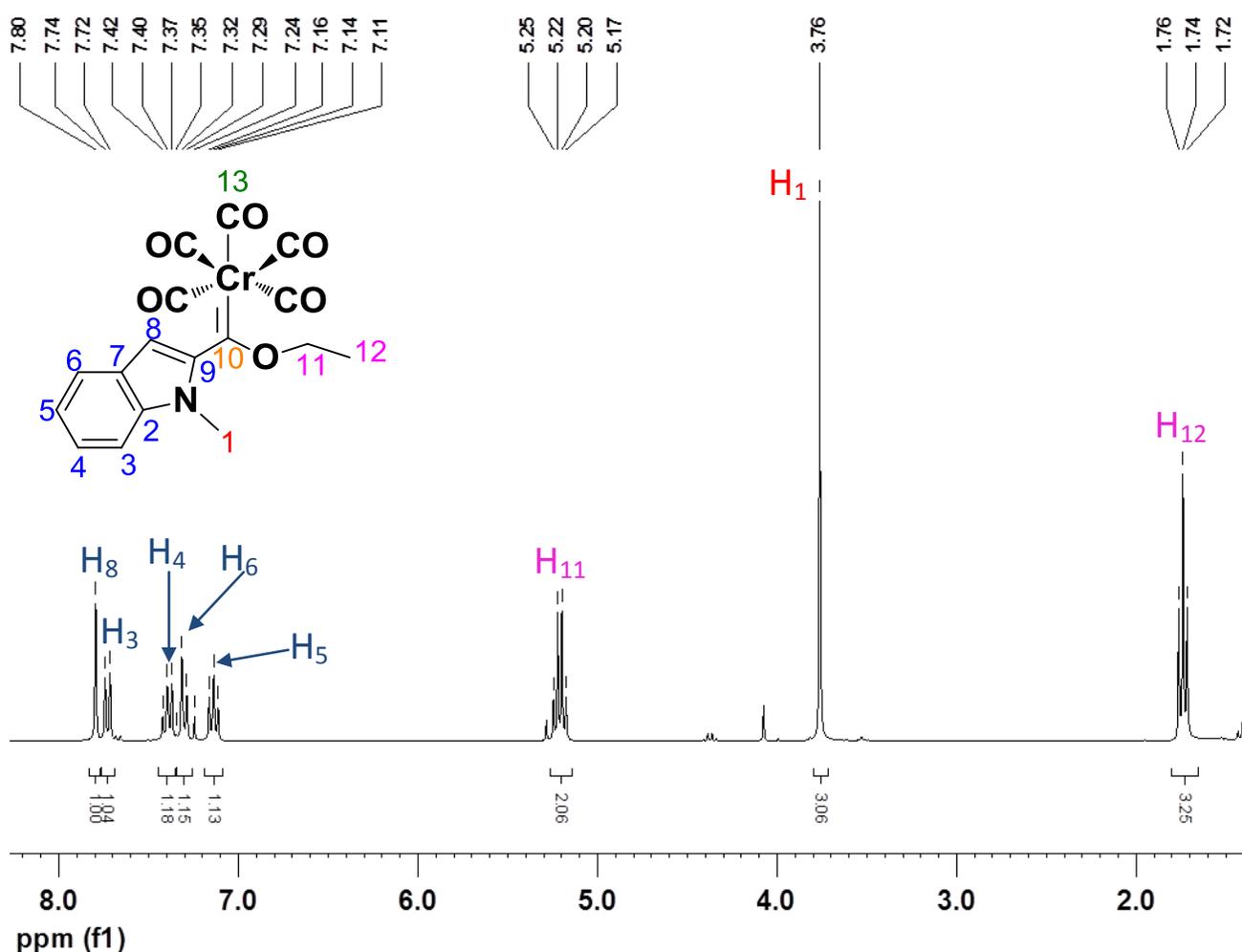
En el espectro de masas (Espectro 2), se observa un pico con una relación masa/carga (m/z) de 379 correspondiente al ión molecular, el cual concuerda con el peso molecular esperado para el compuesto **A**. Posteriormente se aprecia la pérdida sucesiva de 28 m/z característica de los carbenos de Fischer, correspondiente a la fragmentación de los cinco grupos carbonilos en 351, 323, 295, 267 y 239 m/z .



Espectro 2. Espectro de EM (FAB⁺) del compuesto **A**

En lo que respecta al espectro de RMN de ^1H del compuesto **A** (Espectro 3), se observan a campo bajo en la región de aromáticos las señales correspondientes a los átomos de hidrógeno del anillo indólico, donde aparece un singulete en 7.80 ppm seguido de un doblete en 7.73 ppm, dichas señales integran cada una para un átomo de hidrógeno H_8 y H_3 respectivamente. Las siguientes señales correspondientes al anillo aromático, son un triplete en 7.40, un doblete en 7.31 y otro triplete en 7.14 ppm, todas ellas integrando para un

hidrógeno (H_4 , H_6 y H_5 respectivamente). Hacia campos más altos, se encuentran las señales correspondientes a los átomos de hidrógeno de los metilos alifáticos de la molécula, en 5.21 ppm se observa una señal múltiple correspondiente a los hidrógenos del metileno H_{11} , en 3.76 ppm aparece un singulete correspondiente al metilo base de nitrógeno del anillo indólico (H_1), mientras que el triplete en 1.74 ppm corresponde al metilo terminal de la cadena alquílica (H_{12}).



*Espectro 3. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz del compuesto **A***

En lo que respecta al análisis de RMN ^{13}C del compuesto **A** (Espectro 4), encontramos que algunas señales se encuentran duplicadas, esto puede ser debido a que el complejo carbénico en solución es una mezcla del isómero *E* y *Z*, generando así, un ambiente magnético distinto para algunos átomos de carbono (Figura 29).⁶⁹ En frecuencias altas, se observa una señal en 319.7 ppm correspondiente al carbono carbénico (C_{10}) haciendo evidente su carácter electrofílico, mientras que los carbonilos metálicos (C_{13}) aparecen en 223.6 ppm para aquellos en posición axial y 217.2 ppm para los ecuatoriales.

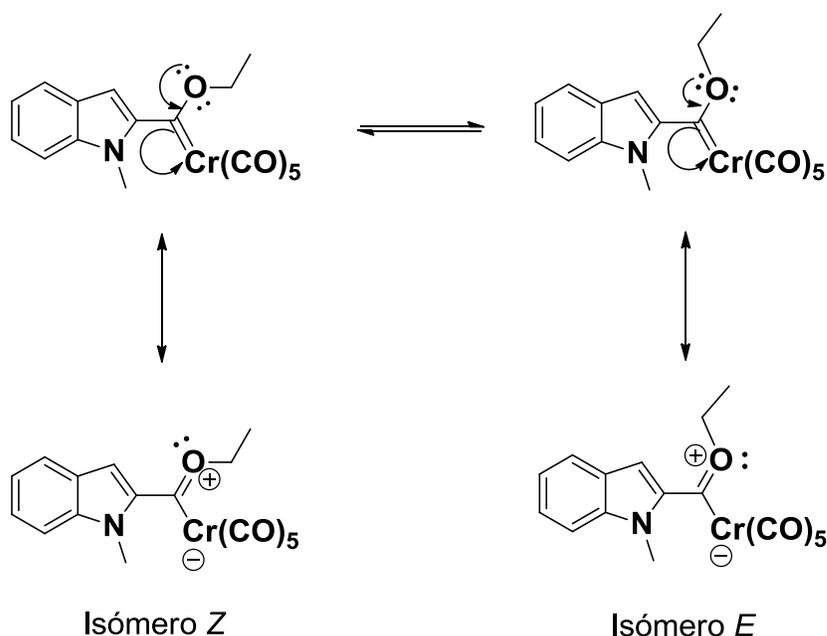
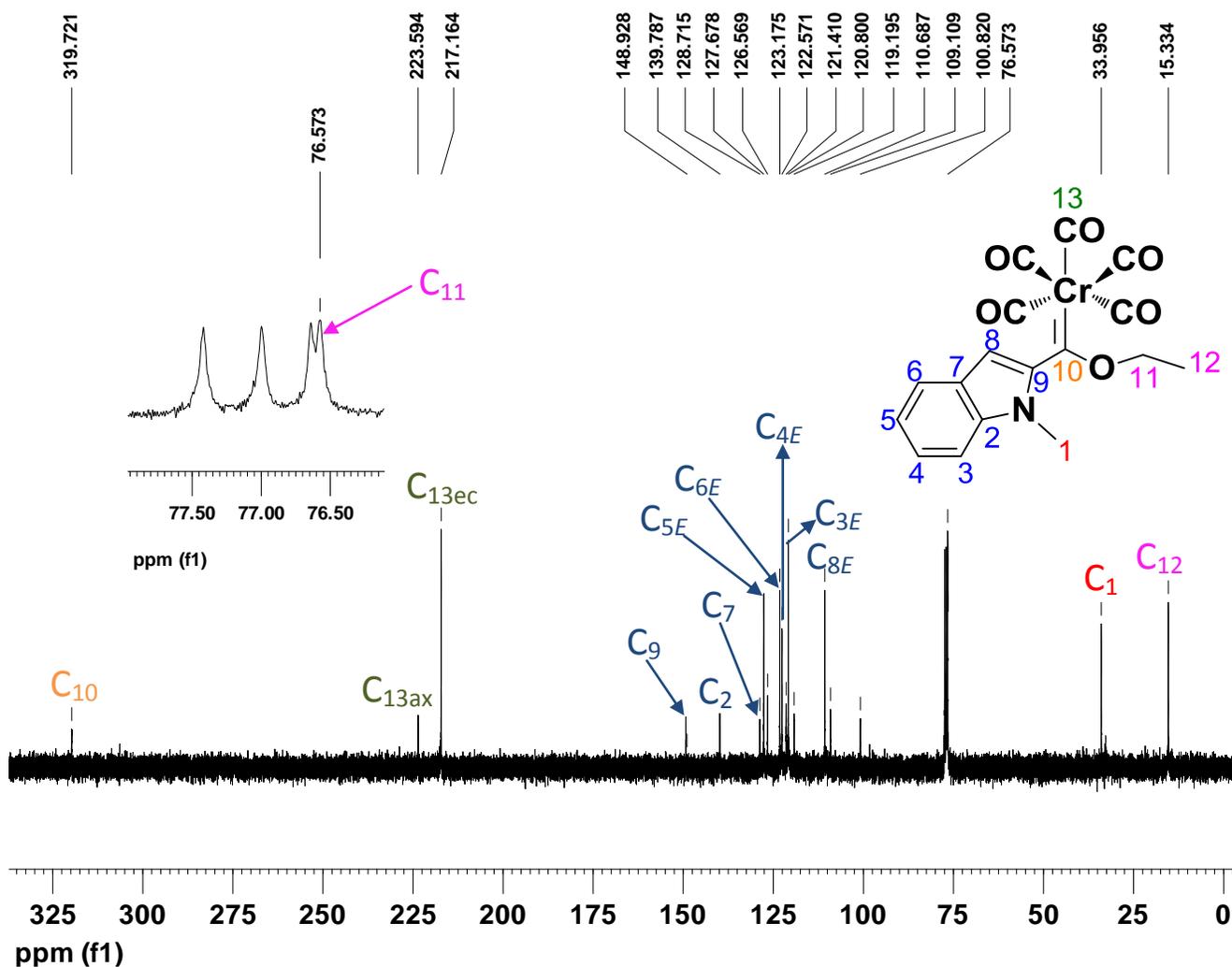


Figura 29. Isómeros *E* y *Z* del etoxicarbeno de Fischer A

Hacia campos altos, en la región aromática, se encuentra el C_{ipso} en 148.9 ppm y en 139.8 y 128.7 ppm se observan las señales correspondientes a los carbonos de la fusión del fragmento indólico (C_2 y C_7). En 127.7, 123.2, 122.6 y 120.8 ppm se aprecian las señales generadas por los átomos de carbono del anillo de seis miembros (C_{5E} , C_{4E} , C_{6E} y C_{3E}). Mientras que las señales duplicadas correspondientes al isómero *Z* se encuentran en 126.6, 121.4, 119.2 y 109.1 (C_{5Z} , C_{4Z} , C_{6Z} y C_{3Z}).

⁶⁹ R. Schobert, R. Kempe, T. Schmalz, A. Gmeiner, *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 859-868

Por otra parte, para el carbono C_8 se observan dos señales en 110.7_E y 100.8_Z ppm. Hacia campos altos se observan las señales correspondientes a los metilos, siendo la señal en 76.6 ppm correspondiente al metileno base de oxígeno (C_{11}), la señal en 34.0 ppm la señal del metilo base nitrógeno (C_1) y finalmente en 15.3 ppm la del metilo terminal de la cadena alifática (C_{12}).



*Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del compuesto **A***

Tabla 3. Resumen del análisis espectroscópico del etoxicarbeno de Fischer **A**

RMN				IR		EM		
¹ H		¹³ C		ν _{max} (cm ⁻¹)	X-Y	m/z	%	Fragmento
δ (ppm)	H	δ (ppm)	C					
7.80	H ₈	319.7	C ₁₀	2054 1913	Cr-CO	379	9	[M ⁺]
		223.6 _{ax}	C ₁₃					
7.73	H ₃	217.2 _{ec}				C ₉		
		148.9						
7.40	H ₄	139.8	C ₂					
		128.7	C ₇					
7.31	H ₆	127.7 _E	C ₅					
		126.6 _Z						
7.14	H ₅	123.2 _E	C ₆					
		121.4 _Z						
5.21	H ₁₁	122.6 _E	C ₄					
		119.2 _Z						
3.76	H ₁	120.8 _E	C ₃					
		109.1 _Z						
		110.7 _E	C ₈					
		100.8 _Z						
1.74	H ₁₂	76.6	C ₁₁					
		34.0	C ₁					
		15.3	C ₁₂					

Para corroborar la asignación del compuesto **A**, se logró obtener un monocristal adecuado para su estudio por difracción de rayos X utilizando una mezcla hexano-benceno, confirmándose plenamente su estructura. Como puede observarse en la representación ORTEP obtenida de este análisis, el átomo de carbono carbénico se encuentra unido directamente al anillo heterocíclico en la posición α del indol. La geometría que presenta alrededor del átomo metálico es octaédrica y la longitud del enlace entre el átomo de oxígeno y el átomo de carbono carbénico es más corta (1.307 Å) que la longitud de enlace entre el

oxígeno y el átomo de carbono metilénico (C₁₁) (1.469 Å), lo que indica un carácter parcial de doble enlace entre el átomo de oxígeno y el átomo de carbono carbénico, lo que es característico para este tipo de compuestos. En la Tabla 4 se muestran los datos cristalográficos más importantes y en la Tabla 5 y 6 los ángulos y distancias de enlace.

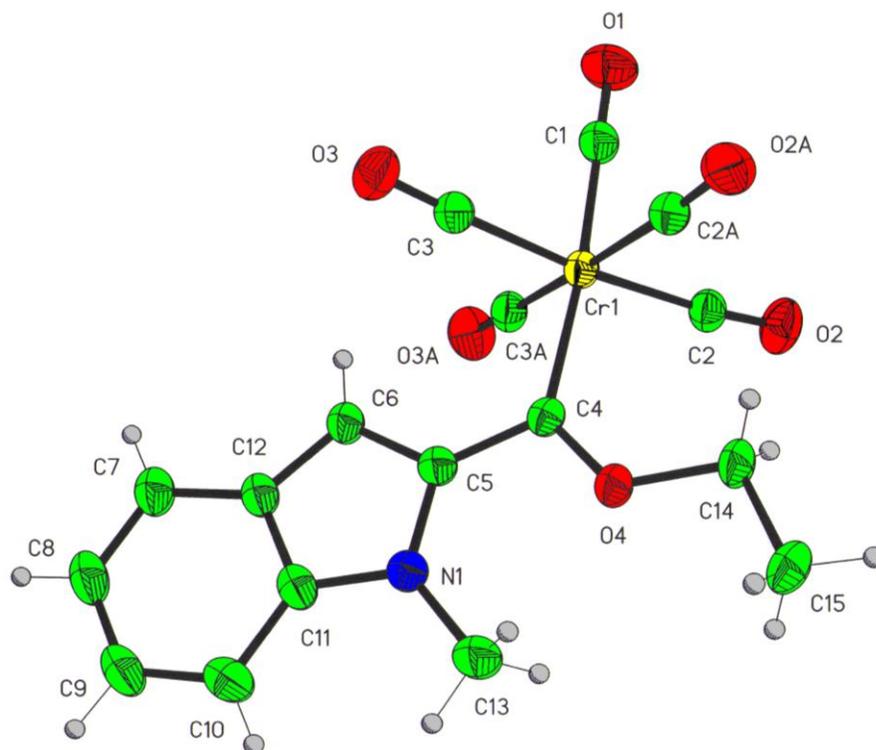


Figura 30. Representación ORTEP del compuesto **A**

Tabla 4. Datos cristalográficos del compuesto **A**

Datos cristalográficos	
Fórmula	C ₁₇ H ₁₃ CrNO ₆
Peso molecular (g/mol)	379.28
Tamaño de cristal (mm)	0.314 x 0.238 x 0.216
Color	Rojo
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /m

Continuación Tabla 4

Datos cristalográficos	
Dimensiones de la celda unitaria	
a [Å]	9.363 (1)
b [Å]	7.614 (1)
c [Å]	12.391 (2)
α [°]	90
β [°]	102.434 (2)
γ [°]	90
V [Å ³]	862.6 (2)
Z	2
D_{calc} (mg/m ³)	1.449
Reflexiones recogidas	7137
Reflexiones independientes (R_{int})	1703 (0.0349)
Método de corrección absorción	Analítico
Máximos y mínimos	0.8801 y 0.8234
Datos/parámetros	1703/139
Índice final R [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0.037$, $wR2 = 0.0968$
Índices R (todos los datos)	$R1 = 0.0434$, $wR2 = 0.1014$

Tabla 5. Distancias de enlace en Å del compuesto **A**

Enlace	Distancia (Å)	Enlace	Distancia (Å)
Cr(1)-C(1)	1.870 (3)	N(1)-C(5)	1.418 (4)
Cr(1)-C(2)	1.897 (2)	N(1)-C(13)	1.455 (4)
Cr(1)-C(2)	1.897 (2)	C(4)-C(5)	1.462 (4)
Cr(1)-C(3)	1.897 (2)	C(5)-C(6)	1.384 (4)
Cr(1)-C(3)	1.897 (2)	C(6)-C(12)	1.398 (4)
Cr(1)-C(4)	2.090 (3)	C(7)-C(8)	1.368 (5)
O(1)-C(1)	1.141 (4)	C(7)-C(12)	1.427 (4)
O(2)-C(2)	1.137 (3)	C(8)-C(9)	1.382 (5)
O(3)-C(3)	1.135 (3)	C(9)-C(10)	1.386 (5)
O(4)-C(4)	1.307 (3)	C(10)-C(11)	1.412 (4)
O(4)-C(14)	1.469 (4)	C(11)-C(12)	1.383 (5)
N(1)-C(11)	1.378 (4)	C(14)-C(15)	1.489 (5)

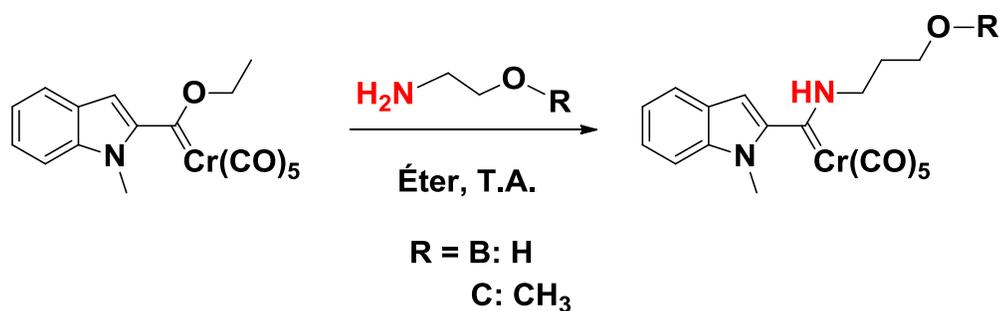
Tabla 6. Ángulos de enlace en grados (°) del compuesto **A**

Enlace	Ángulo	Enlace	Ángulo
C(1)-Cr(1)-C(2)	87.39 (10)	O(2)-C(2)-Cr(1)	174.2 (2)
C(1)-Cr(1)-C(2)	87.39 (10)	O(3)-C(3)-Cr(1)	177.6 (2)
C(2)-Cr(1)-C(2)	88.96 (14)	O(4)-C(4)-C(5)	107.2 (2)
C(1)-Cr(1)-C(3)	87.99 (9)	O(4)-C(4)-Cr(1)	128.7 (2)
C(2)-Cr(1)-C(3)	88.16 (3)	C(5)-C(4)-Cr(1)	124.1 (2)
C(2)-Cr(1)-C(3)	174.66 (9)	C(6)-C(5)-N(1)	107.2 (2)
C(1)-Cr(1)-C(3)	87.99 (9)	C(6)-C(5)-C(4)	127.1 (3)
C(2)-Cr(1)-C(3)	174.66 (9)	N(1)-C(5)-C(4)	125.7 (3)
C(2)-Cr(1)-C(3)	88.16 (10)	C(5)-C(6)-C(12)	108.6 (3)
C(3)-Cr(1)-C(3)	94.35 (13)	C(8)-C(7)-C(12)	117.4 (4)
C(1)-Cr(1)-C(4)	175.05 (12)	C(7)-C(8)-C(9)	121.8 (3)
C(2)-Cr(1)-C(4)	96.14 (9)	C(8)-C(9)-C(10)	122.6 (3)
C(2)-Cr(1)-C(4)	96.14 (9)	C(9)-C(10)-C(11)	116.1 (4)
C(3)-Cr(1)-C(4)	88.64 (9)	N(1)-C(11)-C(12)	109.2 (3)
C(3)-Cr(1)-C(4)	88.64 (9)	N(1)-C(11)-C(10)	128.8 (3)
C(4)-O(4)-C(14)	123.2 (2)	C(12)-C(11)-C(10)	121.9 (3)
C(11)-N(1)-C(5)	107.5 (3)	C(11)-C(12)-C(6)	107.4 (3)
C(11)-N(1)-C(13)	123.3 (39)	C(11)-C(12)-C(7)	120.3 (3)
C(5)-N(1)-C(13)	129.2 (3)	C(6)-C(12)-C(7)	132.3 (3)
O(1)-C(1)-Cr(1)	179.8 (3)	O(4)-C(14)-C(15)	106.1 (3)

Síntesis de aminocarbenos de Fischer con un fragmento indólico (B-C)

Una vez sintetizado y caracterizado el etoxicarbena de Fischer **A**, la siguiente etapa sintética fue la reacción de aminólisis como se planteó en nuestro análisis retrosintético. Inicialmente, se disolvió en éter 3 mmol del etoxicarbena **A** a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno, a esta mezcla se le añadió un exceso (3 equivalentes) de la amina primaria correspondiente etanolamina o 2-metoxietilamina (Esquema 10). La selección de estas aminas primarias, es con la finalidad de colocar en el producto final los grupos funcionales capaces de generar enlaces de hidrógeno, ya que se ha observado que este tipo de interacciones puede incrementar la actividad biológica en compuestos farmacológicamente activos.⁷⁰

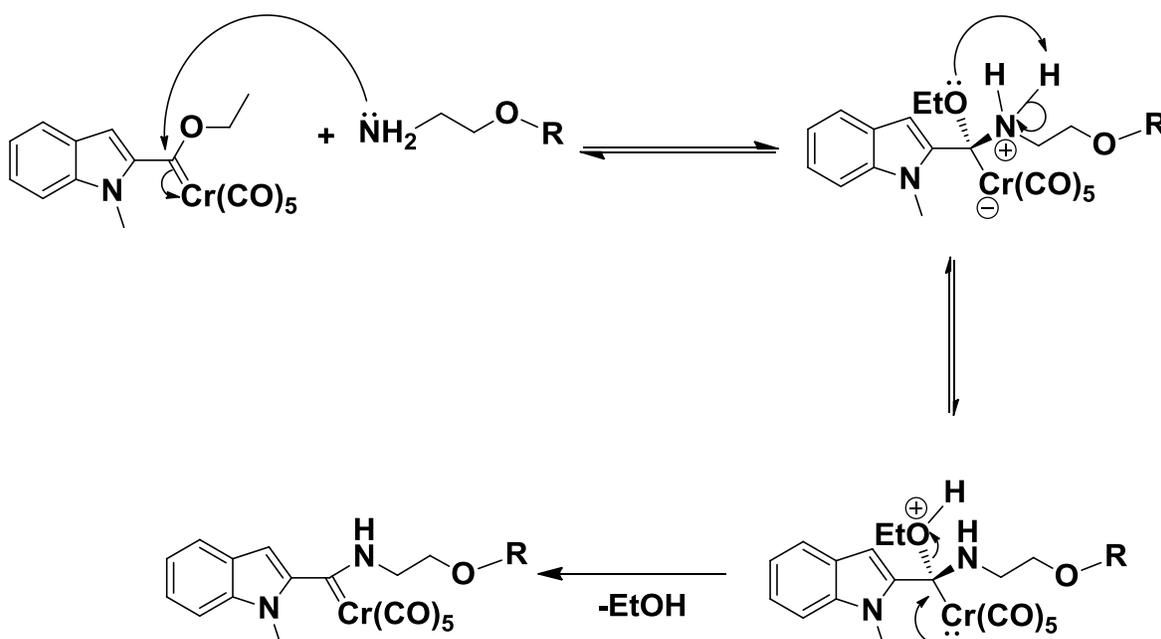
Conforme transcurre el tiempo, la mezcla originalmente roja adquiere una tonalidad naranja traslucida. Mediante ccf, se confirmó la presencia de un nuevo producto y la desaparición de la materia prima, posteriormente se lavó con agua, se extrajo con diclorometano y se secó la fase orgánica utilizando sulfato de sodio anhidro. Tras la purificación, el rendimiento de los productos obtenidos son casi cuantitativos sin embargo, los aminocarbenos son inestables y se descomponen fácilmente por aumento de temperatura, en disolución y por contacto con el oxígeno ambiental.



Esquema 10. Síntesis de aminocarbenos de Fischer con un fragmento indólico

⁷⁰ B. Kuhn, P. Mohr, M. Stahl, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2601-2611

La formación de estos complejos carbénicos, puede explicarse mediante un mecanismo de sustitución vía adición-eliminación como el propuesto por Bernasconi⁷¹ (Esquema 11). Inicialmente, el átomo de nitrógeno de la amina primaria con un par de electrones disponibles, se adiciona al átomo de carbono carbénico deslocalizándose un par de electrones hacia el centro metálico, generando un intermediario tetrasustituido el cual, después de la salida de una molécula de etanol, genera los correspondientes aminocarbenos de Fischer.



Esquema 11. Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis de los compuestos **B** y **C**

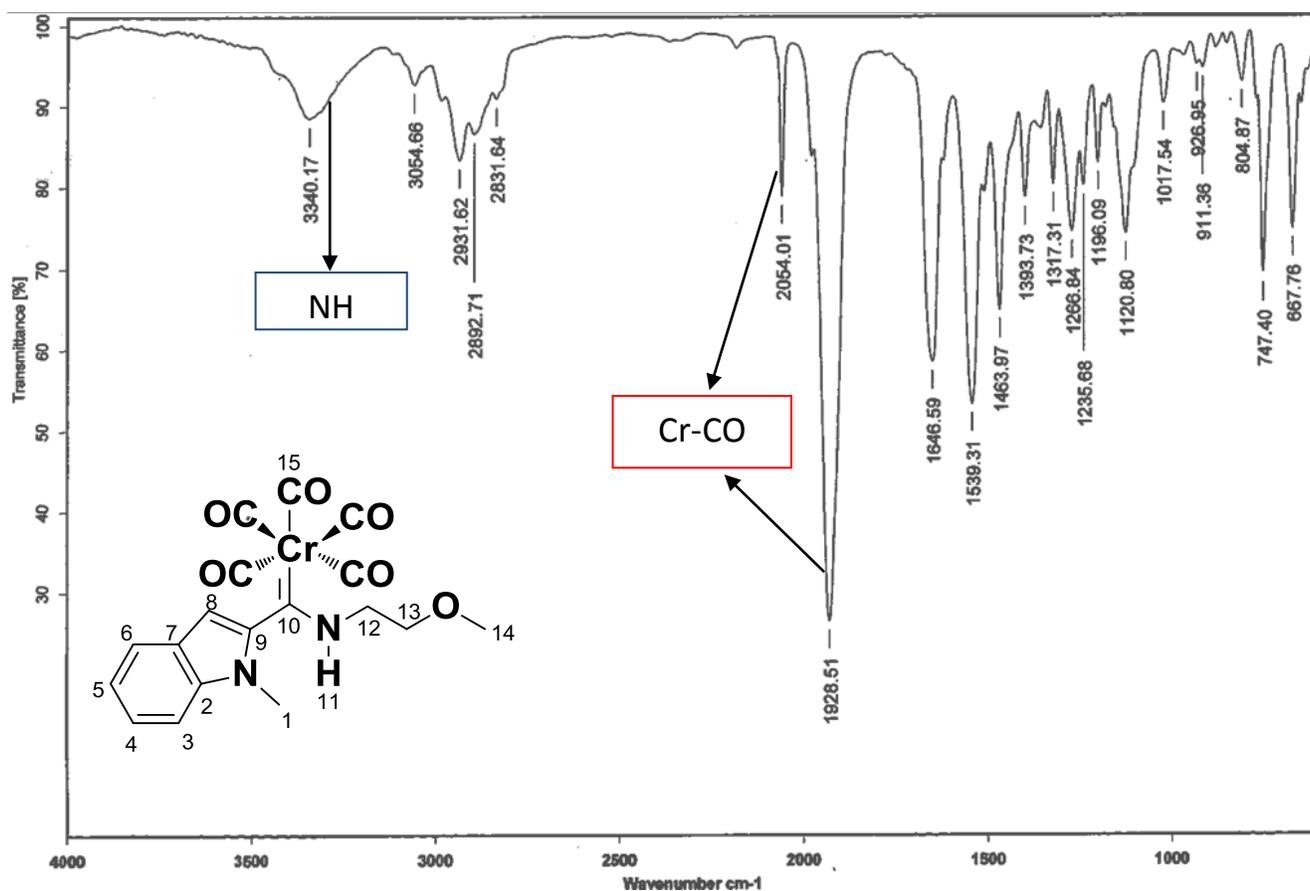
Tabla 7. Rendimientos obtenidos de la reacción de formación de aminocarbenos de Fischer

Compuesto	Rendimiento (%)	Aspecto	Tiempo (min)
B	93	Aceite viscoso color amarillo	20
C	99	Aceite color amarillo	30

⁷¹ C. F. Bernasconi, M. Ali, *Organometallics*, **2004**, 23, 6134-6139

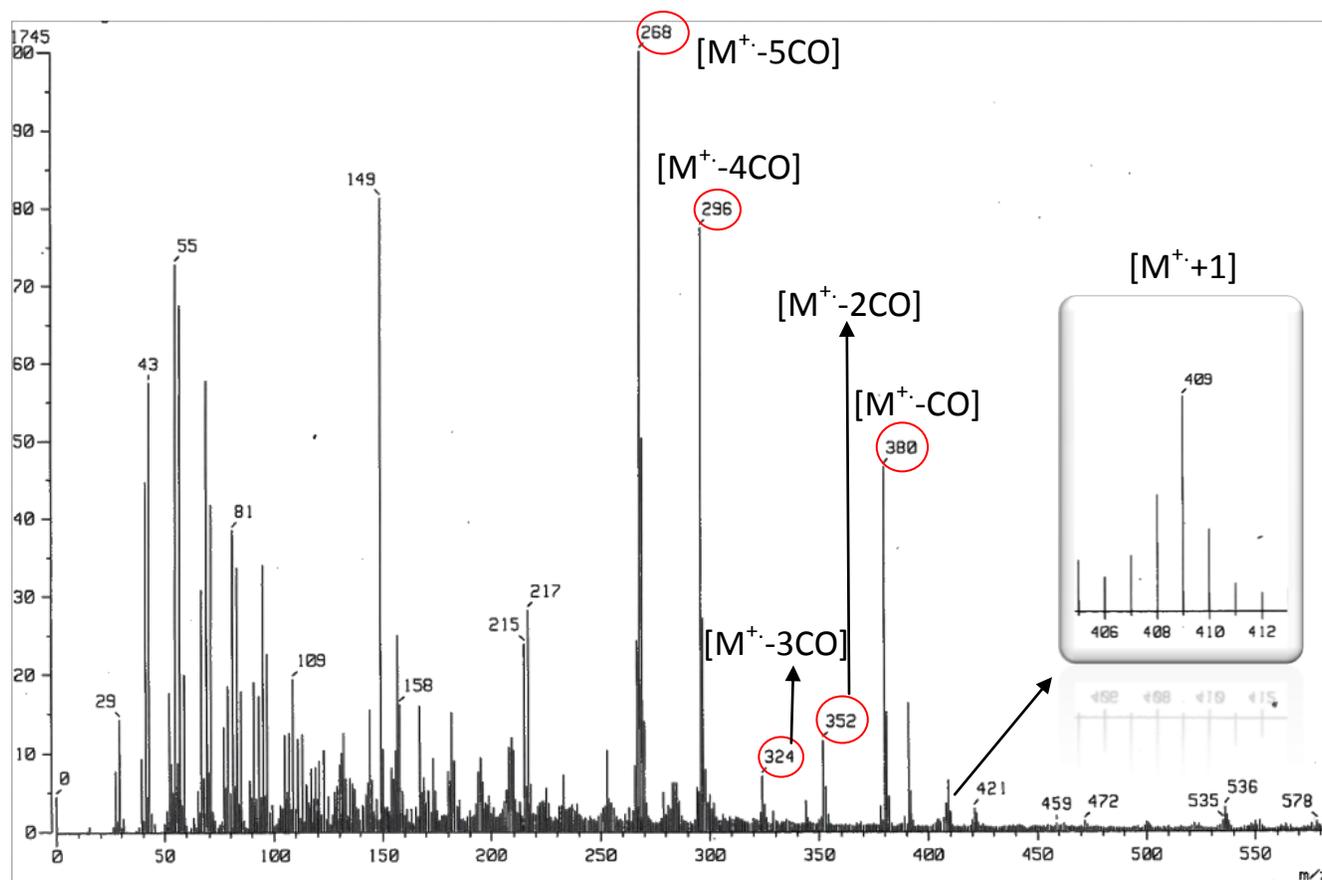
Una vez sintetizados y purificados los aminocarbenos **B** y **C**, se realizó la caracterización espectroscópica y espectrométrica. A manera de ejemplo, solo se presenta el análisis espectroscópico (IR, EM, RMN ^1H y RMN ^{13}C) para el aminocarbeno de Fischer **C**.

La espectroscopia de infrarrojo para el compuesto **C** (Espectro 5), muestra las bandas de absorción para los grupos funcionales presentes en la estructura, en 3340 cm^{-1} se observa la banda correspondiente a la vibración del grupo $-\text{NH}$, mientras que en 2054 y 1928 cm^{-1} aparecen las bandas características de los enlaces Cr-CO , las cuales son características de este tipo de complejos carbénicos.



Espectro 5. Espectro de IR (película) del compuesto C

En el espectro de masas (Espectro 6) del compuesto **C**, obtenido mediante la técnica FAB⁺, se observa un pico en 409 *m/z* que corresponde al ión molecular, el cual está de acuerdo con la masa molecular esperada, posteriormente se observan cinco pérdidas sucesivas de 28 *m/z* en 380, 352, 324, 296 y 268 (pico base), patrón característico de este tipo de complejos, lo cual nos indica las pérdidas sucesivas de los carbonilos metálicos.

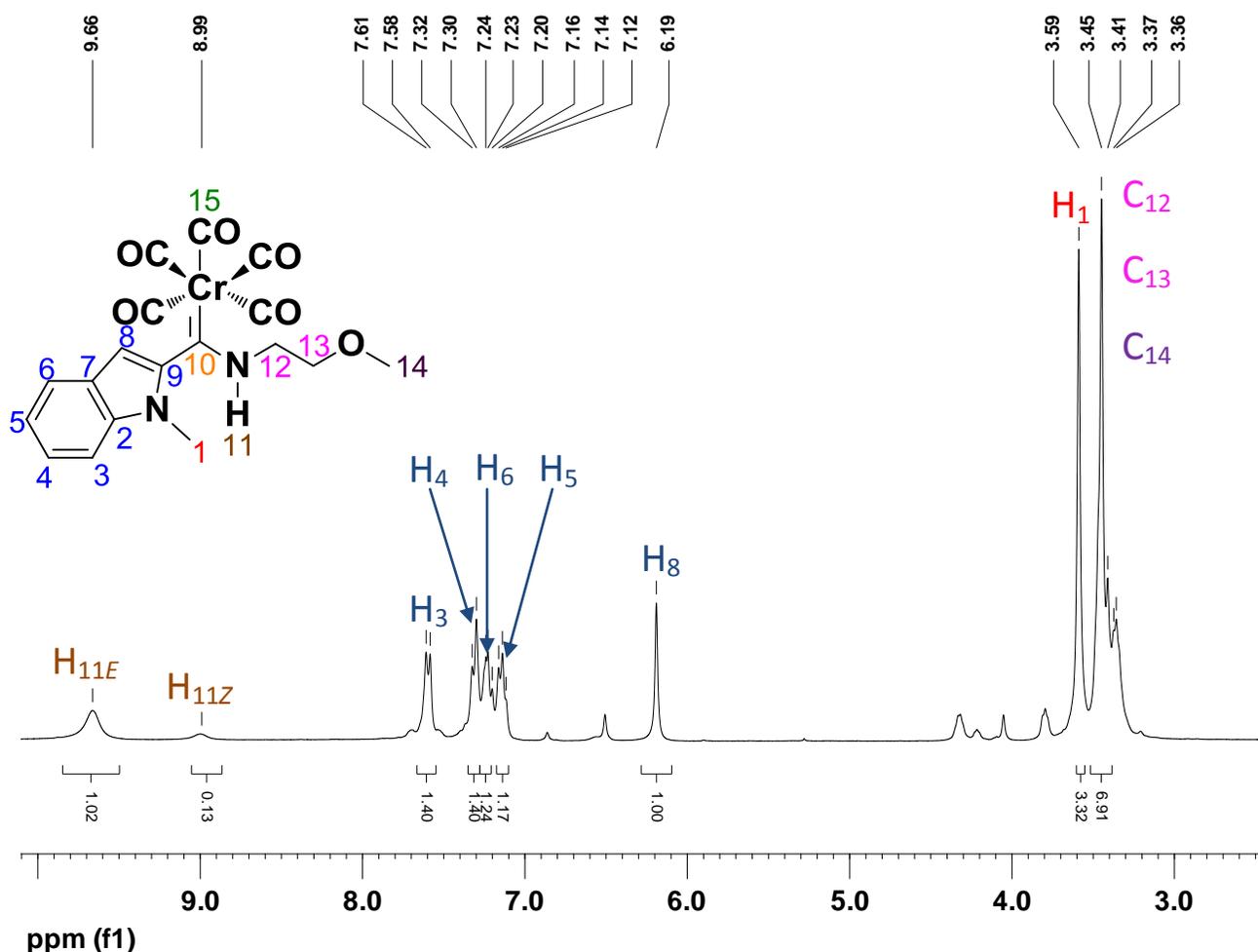


Espectro 6. Espectro de EM (FAB⁺) del compuesto **C**

En lo que respecta a la espectroscopía de RMN ¹H (Espectro 7) del complejo **C**, se observa que las señales del átomo de hidrógeno del grupo amino se encuentran duplicadas en 9.66 (NH_E) y en 8.99 (NH_Z) ppm, lo que es un comportamiento característico de los aminocarbenos de Fischer y que se ha descrito previamente por C. Bernasconi y colaboradores.⁷⁰ A temperatura ambiente estos complejos existen como mezclas de los isómeros geométricos *E* y

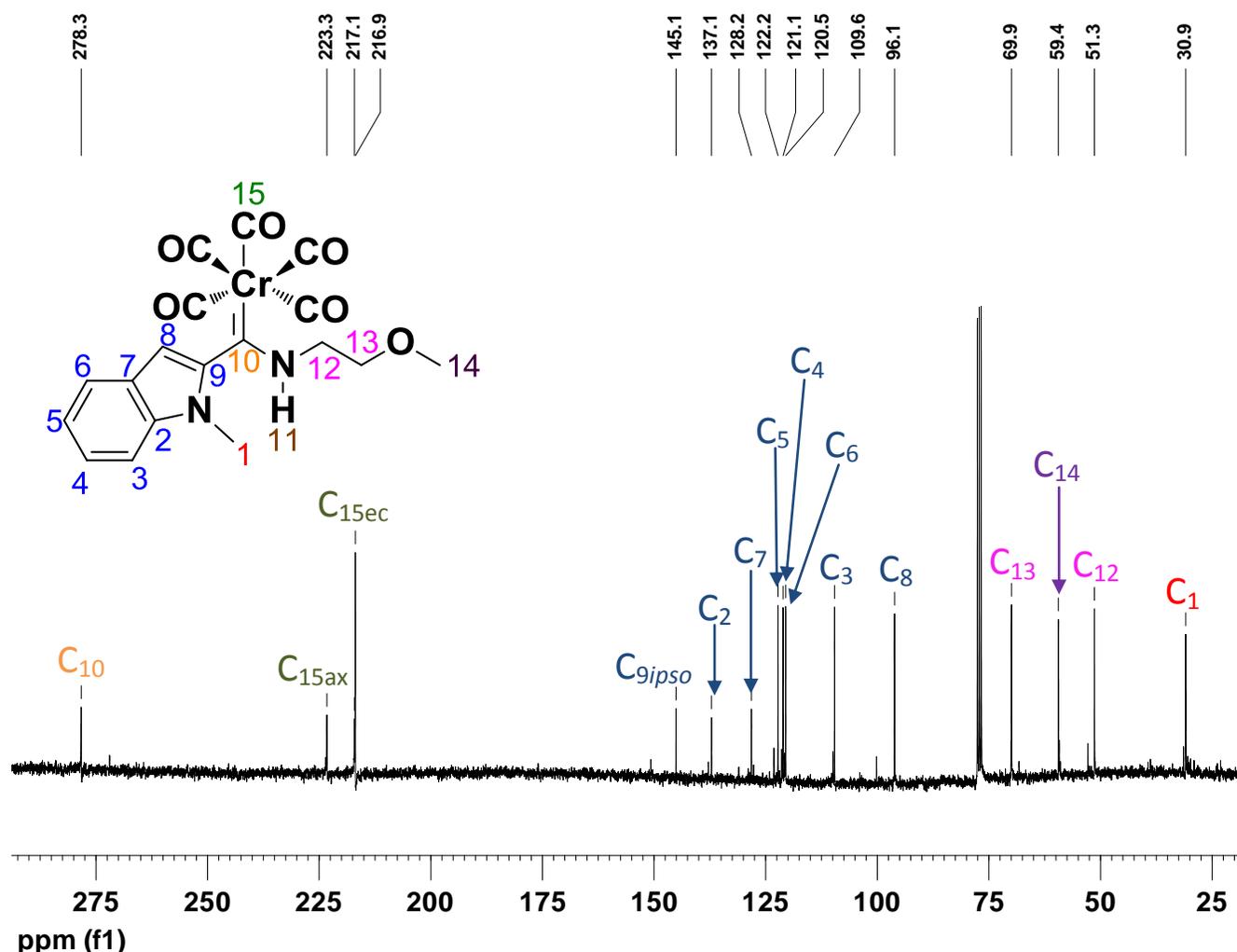
Z, debido al carácter de doble enlace que presenta el enlace C-N, en una de las formas resonantes predominantes en solución.

A campo alto, en la región de los aromáticos en 7.60 ppm se observa un doblete asignado para el H₃ del anillo indólico, en 7.3 ppm se aprecia un triplete correspondiente al hidrógeno H₄, otra señal ubicada en 7.24 ppm como un doblete que integra para el átomo de hidrógeno H₆ y en 7.14 ppm otro triplete asignado al hidrógeno H₅ y finalmente en 6.19 ppm se aprecia un singulete que integra para un hidrógeno asignado al átomo de hidrógeno H₈. Hacia campos más altos, se encuentran las señales correspondientes a los hidrógenos de los metilenos (H₁₂ y H₁₃), así como del metilo terminal (H₁₄) traslapadas entre 3.54 y 3.36 ppm. Finalmente la señal asignada a los átomos de hidrógeno del metilo base nitrógeno del anillo indólico se localiza en 3.59 ppm.



Espectro 7. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del compuesto C

Por último, en la RMN ^{13}C del compuesto **C** (Espectro 8), se observa una señal correspondiente al carbono carbénico ($\text{C}=\text{Cr}$) en 278.3 ppm, los carbonilos metálicos (C_{15}) presentan dos señales en 223.3 y 216.9 ppm debido a su disposición axial y ecuatorial, respectivamente. A campo más alto aparece la señal asignada al carbono *ipso* (C_9) en 145.1 ppm, para los carbonos de la fusión entre los anillos (C_2 y C_7) se observan sus señales en 137.1 y 128.2 ppm, respectivamente. Las señales restantes para los átomos de carbonos del anillo indólico aparecen en 122.2 (C_5), 121.1 (C_6), 120.5 (C_4), 109.6 (C_3) y 96.1 ppm (C_8). En cuanto a los carbonos de los metilenos de la cadena lateral, sus señales aparecen en 69.9 ppm para el C_{13} y en 51.3 ppm para el C_{12} . Finalmente las señales de los átomos de carbono de los metilos C_{14} y C_1 se encuentran ubicadas en 59.4 y 30.9 ppm respectivamente.



Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del compuesto **C**

Tabla 8. Resumen del análisis espectroscópico de aminocarbenos de Fischer

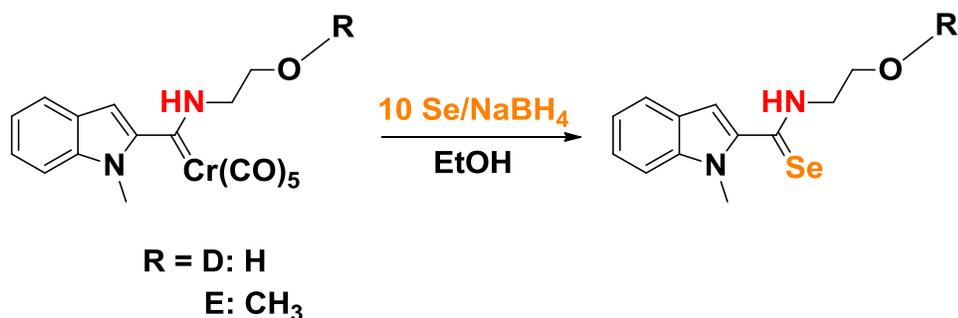
Compuesto	RMN				IR		EM												
	¹ H		¹³ C		ν _{max} (cm ⁻¹)	X-Y	m/z	%	Fragmento										
	δ (ppm)	H	δ (ppm)	C															
B	9.76	H ₁₁	279.0	C ₁₀	3359	OH, NH	395	10	[M ⁺ +1]										
			223.1 _{ax}	C ₁₅															
	7.0 - 7.8	H ₃ , H ₄ , H ₅ , H ₆	216.8 _{ec}							C ₉									
			145.0																
	6.19	H ₈	137.0	C ₂															
			128.1	C ₇															
	3.76	H ₁₃	122.1	C ₅						2054	Cr-CO	310	10	[M ⁺ -3CO]					
			121.0	C ₆															
	3.6	H ₁	120.4	C ₄															
			109.4	C ₃															
	3.36	H ₁₂	96.0	C ₈											1976	Cr-CO	282	100	[M ⁺ -4CO]
			60.6	C ₁₃															
1.26	H ₁₄	53.0	C ₁₂	1912	Cr-CO	254	79	[M ⁺ -5CO]											
		30.8	C ₁																
C	9.66 _E 8.99 _Z	H ₁₁	278.3	C ₁₀	3340	NH	409	7	[M ⁺ +1]										
			7.6	H ₃											223.3 _{ax}	C ₁₅			
	216.9 _{ec}																		
	7.3	H ₄	145.1	C ₉															
			137.1	C ₂															
	7.24	H ₆	128.2	C ₇															
			122.2	C ₅															
	7.14	H ₅	121.1	C ₆						2054	Cr-CO	324	7	[M ⁺ -3CO]					
			120.5	C ₄															
	6.19	H ₈	109.6	C ₃															
			96.1	C ₈															
	3.59	H ₁	69.9	C ₁₃											1928	Cr-CO	296	78	[M ⁺ -4CO]
59.4			C ₁₄																
3.45 - 3.36	H ₁₂ , H ₁₃ , H ₁₄	51.3	C ₁₂																
		30.9	C ₁																

Síntesis de selenoamidas con un fragmento indólico (D-E)

A pesar de que en los últimos años han sido reportadas una gran diversidad de metodologías para la conversión del grupo carbonilo a un selenocarbonilo, dichas metodologías poseen muchos inconvenientes, entre ellos el manejo de los reactivos selenantes. Es por ello que una alternativa eficiente para la síntesis de selenoamidas es mediante la desmetalación oxidativa de complejos carbénicos de Fischer utilizando selenio elemental y borohidruro de sodio a temperatura ambiente. Esta metodología, propuesta por nuestro grupo de trabajo, permite la remoción del fragmento metálico y la introducción de un átomo de selenio bajo condiciones de reacción suaves arrojando buenos rendimientos (Esquema 12).

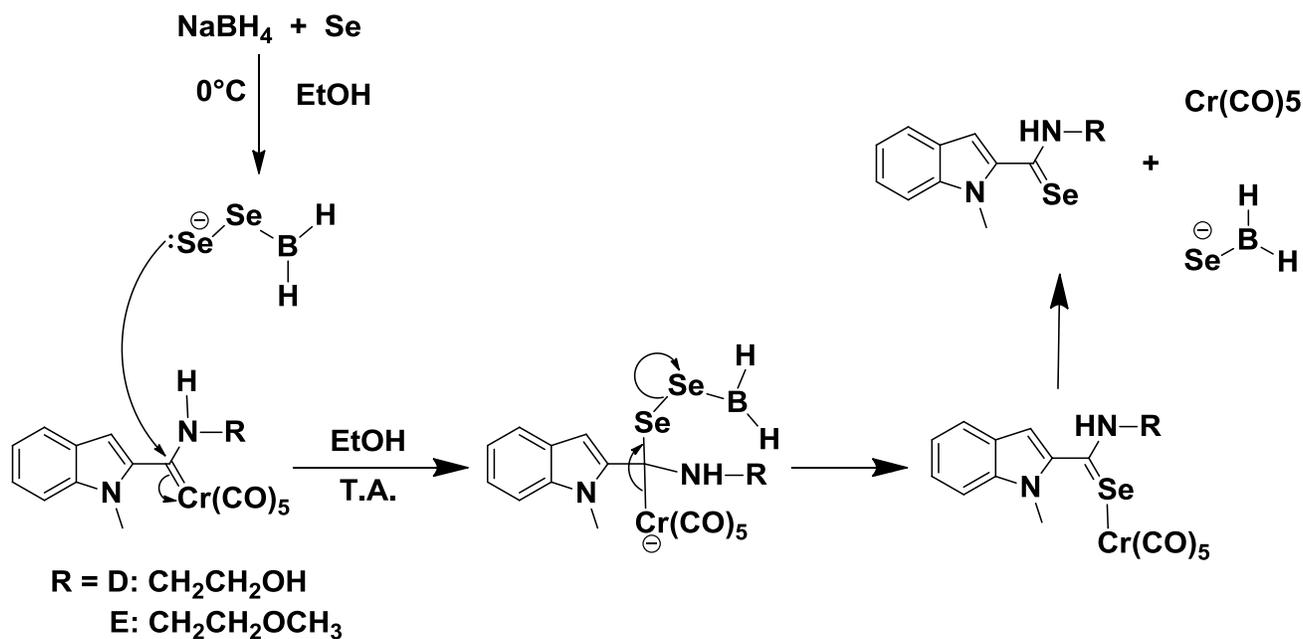
El procedimiento comienza con la formación del agente selenante a partir de una mezcla equimolar de Se/NaBH₄ y etanol como disolvente, ésta se deja reaccionar bajo atmósfera inerte y agitación constante por 30 min. Cabe señalar que esta transformación es altamente exotérmica y la suspensión de color negro que resulta de la mezcla inicial al transcurrir el tiempo se torna en una solución color rojo ladrillo.

A la solución resultante, se le agrega una disolución etanólica del aminocarbeno correspondiente en una relación 1:10 con respecto al agente selenante. Al monitorear la reacción con ccf y una vez que la materia prima se ha consumido totalmente, el etanol se evaporó a presión reducida y baja temperatura para evitar la disminución del rendimiento de la reacción. El crudo de reacción se resuspende en agua y se extrae con diclorometano, la fase orgánica se pasa a través de una columna de sulfato de sodio y se evapora a presión reducida. Los compuestos se purificaron en columna de gel de sílice utilizando diferentes gradientes de hexano:acetato de etilo.



Esquema 12. Síntesis de selenoamidas con un fragmento indólico

De acuerdo a lo anterior, es posible proponer un posible mecanismo de reacción por el cual procede la demetalación seleniurativa (Esquema 14). Como un primer paso, se propone la formación del agente selenante (H_2BSe_2) por la reacción entre el borohidruro de sodio y selenio. Inicialmente, el selenio del agente selenante ataca al carbono carbénico, desplazando un par de electrones del doble enlace $C=Cr$ hacia el centro metálico quedando este con una carga negativa. La formación del doble enlace $C=Se$ puede explicarse mediante el rompimiento del enlace $C-Cr$ y la posterior eliminación del fragmento H_2BSe .



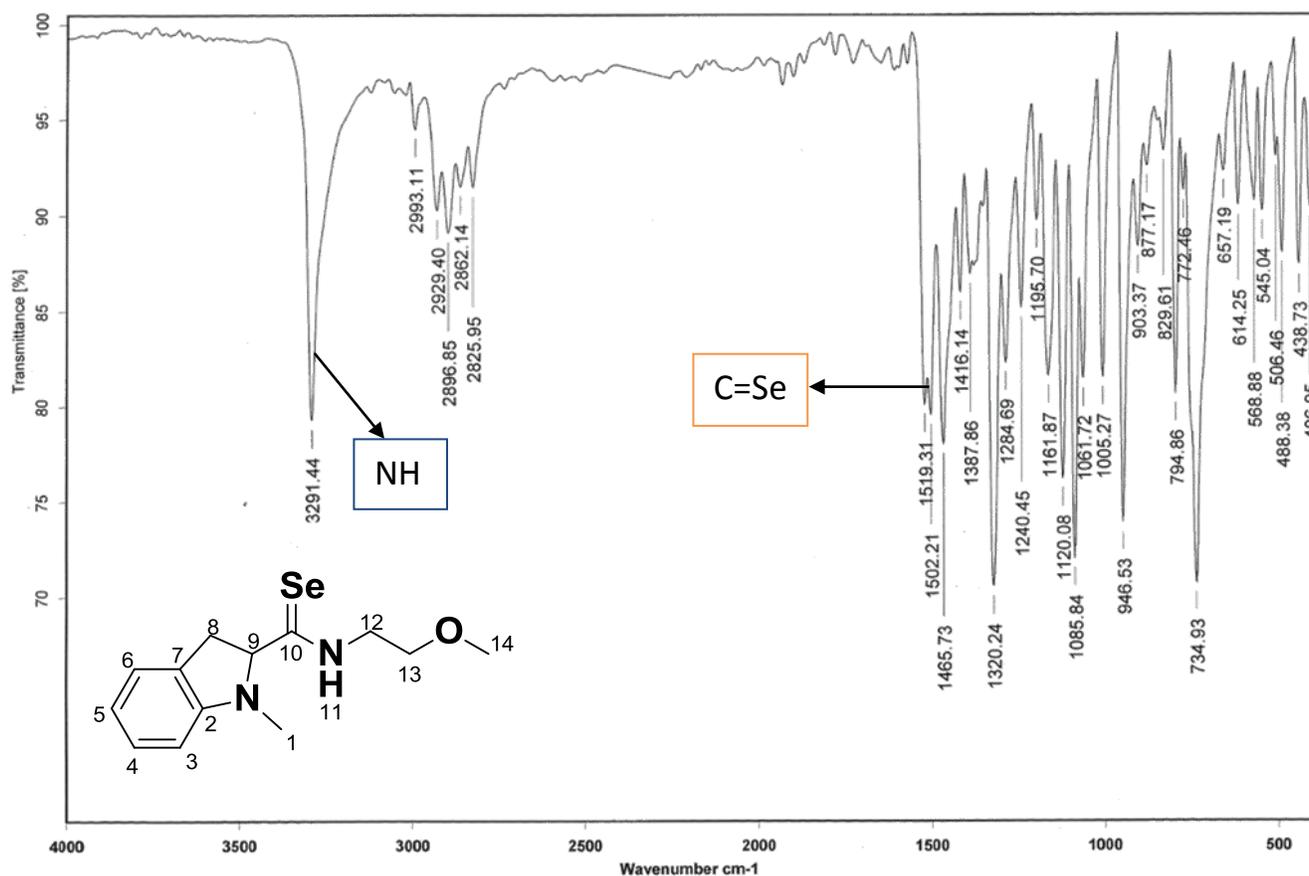
Esquema 13. Mecanismo probable de reacción para la reacción de desmetalación de aminocarbenos de Fischer

Tabla 9. Rendimientos obtenidos de la reacción de desmetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer

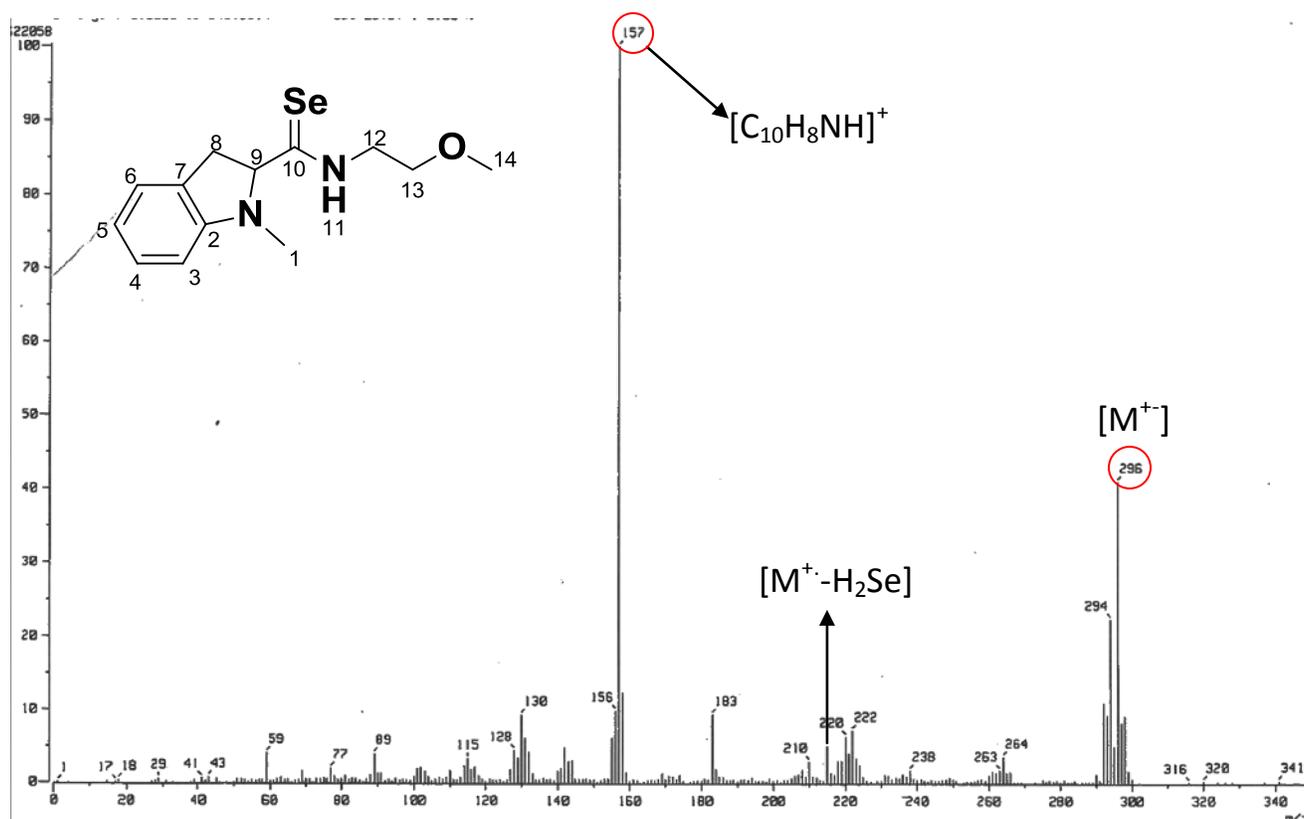
Compuesto	Rendimiento (%)	Tiempo de reacción	Aspecto	p.f. (°C)
D	91	2 h	Sólido amarillo	106-108
E	63	3 h	Sólido naranja	94-95

Una vez purificados los compuestos, fueron caracterizados mediante las técnicas espectroscópicas convencionales. A manera de ejemplo se discutirán los espectros correspondientes a la selenoamida **E**.

La espectroscopía de infrarrojo (Espectro 9) muestra una banda de absorción en 3291 cm^{-1} que corresponde al grupo amino (-NH) mientras que en 1519 y 1502 cm^{-1} aparecen dos bandas que se asignan al doble enlace C=Se del grupo selenocarbonilo.



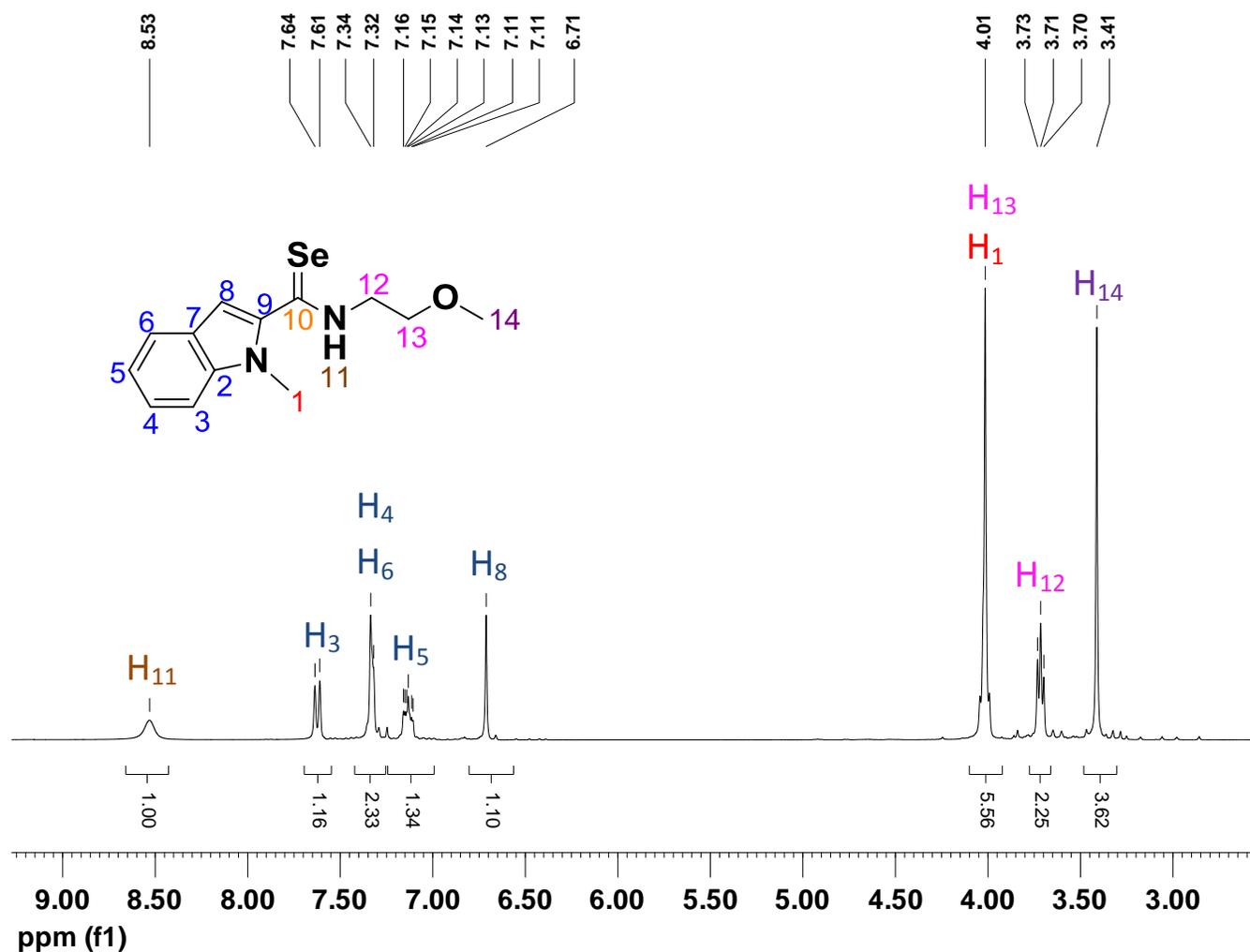
El espectro de masas obtenido mediante la técnica de impacto electrónico (Espectro 10), muestra que el ión molecular presenta una relación de masa/carga (m/z) de 296, pico que corresponde al peso molecular esperado para esta selenoamida. Además se observa la pérdida de 81 m/z debido a la eliminación de $[H_2Se]$. Adicionalmente, se observa un pico en 157 m/z correspondiente a la formación de $[C_{10}H_8NH]^+$ (pico base), que es un fragmento característico en el patrón de fragmentación de selenoamidas.



Espectro 10. Espectro de EM (IE+) del compuesto E

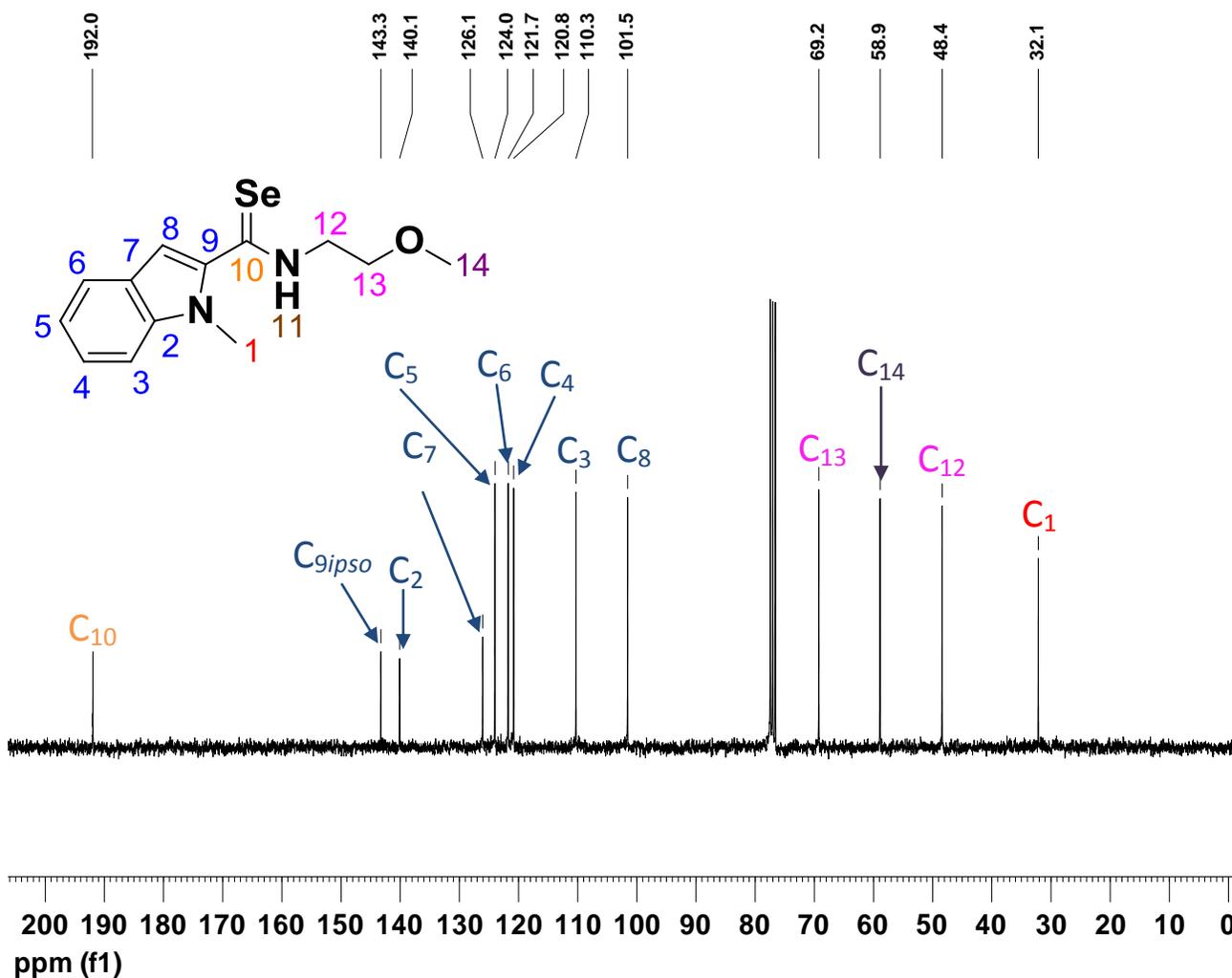
En el espectro de RMN 1H de la selenoamida **E** (Espectro 11), se puede observar en 8.53 ppm, la señal debida al hidrógeno de la selenoamida (N-H), en la zona de los hidrógenos aromáticos se aprecia un doblete en 7.63 ppm que integra para un átomo de hidrógeno asignado a H_3 , mientras que la señal múltiple ubicada en 7.33 ppm que integra para dos hidrógenos pertenece a los hidrógenos H_4 y H_6 del anillo de seis miembros del indol. Asimismo, entre 7.11 y 7.16 ppm,

se observa otra señal múltiple que integra para un hidrógeno correspondiente al H₅. El último átomo de hidrógeno del anillo aromático (H₈) se aprecia como un singlete en 6.71 ppm. Hacia campos altos se distingue una señal múltiple en 4.01 ppm que integra para 5 hidrógenos y corresponde a los átomos de hidrógeno del metilo del anillo indólico H₁ así como al metileno base de oxígeno H₁₃ y posteriormente se observa un triplete en 3.71 ppm que integra para 2 átomos de hidrógeno correspondientes al metileno base de nitrógeno H₁₂ y finalmente un singlete asignado al metilo base de oxígeno (H₁₄) de la cadena lateral.



*Espectro 11. Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) del compuesto **E***

En relación a la RMN ^{13}C (Espectro 12), a campos bajos se observa la señal correspondiente al selenocarbonilo (C_{10}) en 192.0 ppm, cabe señalar que esta señal desplazada hacia campos bajos es característica de las selenoamidas. Por otro lado el carbono *ipso* (C_9) aparece en 143.3 ppm, seguido de los carbonos de la fusión entre los anillo que conforman el indol C_2 y C_7 en 140.1 y 126.1 ppm, respectivamente. La señal del átomo de carbono C_8 se aprecia en 101.5 ppm, mientras que los carbonos del anillo aromático de seis miembros C_3 , C_4 , C_5 y C_6 se encuentran en 110.3, 120.8, 124.0 y 121.7 ppm, respectivamente. Los átomos de carbono de los metilenos C_{12} y C_{13} se encuentran en 48.4 y 69.2 ppm, mientras que la señal del metilo terminal C_{14} aparece en 58.9 ppm. Finalmente, la señal del metilo correspondiente al anillo aromático (C_1) se encuentra en 32.1 ppm.



Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del compuesto **E**

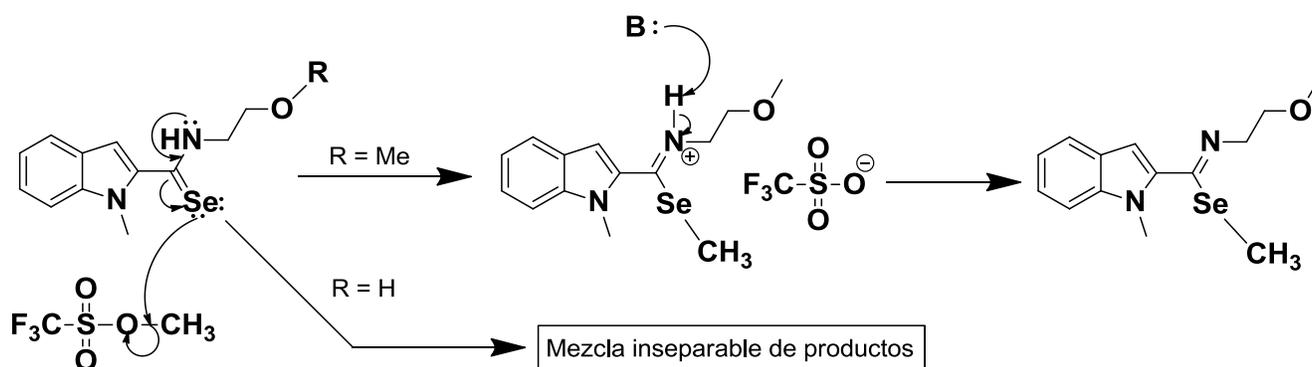
Tabla 9. Resumen del análisis espectroscópico de las selenoamidas

Compuesto	RMN				IR		EM		
	¹ H		¹³ C		ν _{max} (cm ⁻¹)	X-Y	m/z	%	Fragmento
	δ (ppm)	H	δ (ppm)	C					
D	8.62	H ₁₁	192.5	C ₁₀	3422	OH	282	7	[M ⁺ +1]
	7.63	H ₃	143.3	C ₉					
			140.3	C ₂					
	7.33	H ₄ , H ₆	126.1	C ₇	3150	NH	200	100	[M ⁺ -H ₂ Se]
			124.2	C ₅					
	7.16 - 7.11	H ₅	121.9	C ₆	1644	C=Se	156	20	[C ₁₀ H ₈ NH] ⁺
			121.0	C ₄					
	6.73	H ₈	110.4	C ₃	1502	C=Se	157	100	[C ₁₀ H ₈ NH] ⁺
101.8			C ₈						
4.02	H ₁ , H ₁₂ , H ₁₃	60.3	C ₁₃	1502	C=Se	157	100	[C ₁₀ H ₈ NH] ⁺	
2.02	H ₁₄	50.6	C ₁₂						
				32.3	C ₁				
E	8.53	H ₁₁	192.0	C ₁₀	3291	NH	296	40	[M ⁺ +1]
			143.3	C ₉					
	7.63	H ₃	140.1	C ₂					
			126.1	C ₇					
	7.33	H ₄ , H ₆	124.0	C ₅	1519	C=Se	215	5	[M ⁺ -H ₂ Se]
			121.7	C ₆					
	7.16 - 7.11	H ₅	120.8	C ₄	1502	C=Se	157	100	[C ₁₀ H ₈ NH] ⁺
			110.3	C ₃					
6.71	H ₈	101.5	C ₈						
		69.2	C ₁₃						
4.01	H ₁ , H ₁₃	58.9	C ₁₄						
3.71	H ₁₂	48.4	C ₁₂						
3.41	H ₁₄	32.1	C ₁						

Síntesis de selenoimidatos con un fragmento indólico (F)

Para la obtención de los selenoimidatos propuestos, se empleó la metodología propuesta por Mutoh y Murai, en la cual se hace reaccionar la selenoamida correspondiente con triflato de metilo a temperatura ambiente. Inicialmente, se procedió a realizar la alquilación del selenio de la selenoamida **D**, sin embargo obtuvimos una mezcla inseparable de productos. Debido probablemente a que el átomo de oxígeno de la selenoamida puede reaccionar formando productos con estructura similar y difíciles de separar. Por esta razón, se decidió utilizar la selenoamida **E** en donde el átomo de oxígeno se encuentra metilado. De esta manera al realizar la alquilación logramos obtener el producto deseado.

Inicialmente se disolvió la selenoamida **E** en la mínima cantidad de éter y posteriormente se le agregó 1 equivalente de triflato de metilo, se dejó reaccionar a temperatura ambiente y agitación constante, considerándose por terminada la reacción cuando se observó la presencia de un precipitado rojo de aspecto ceroso.

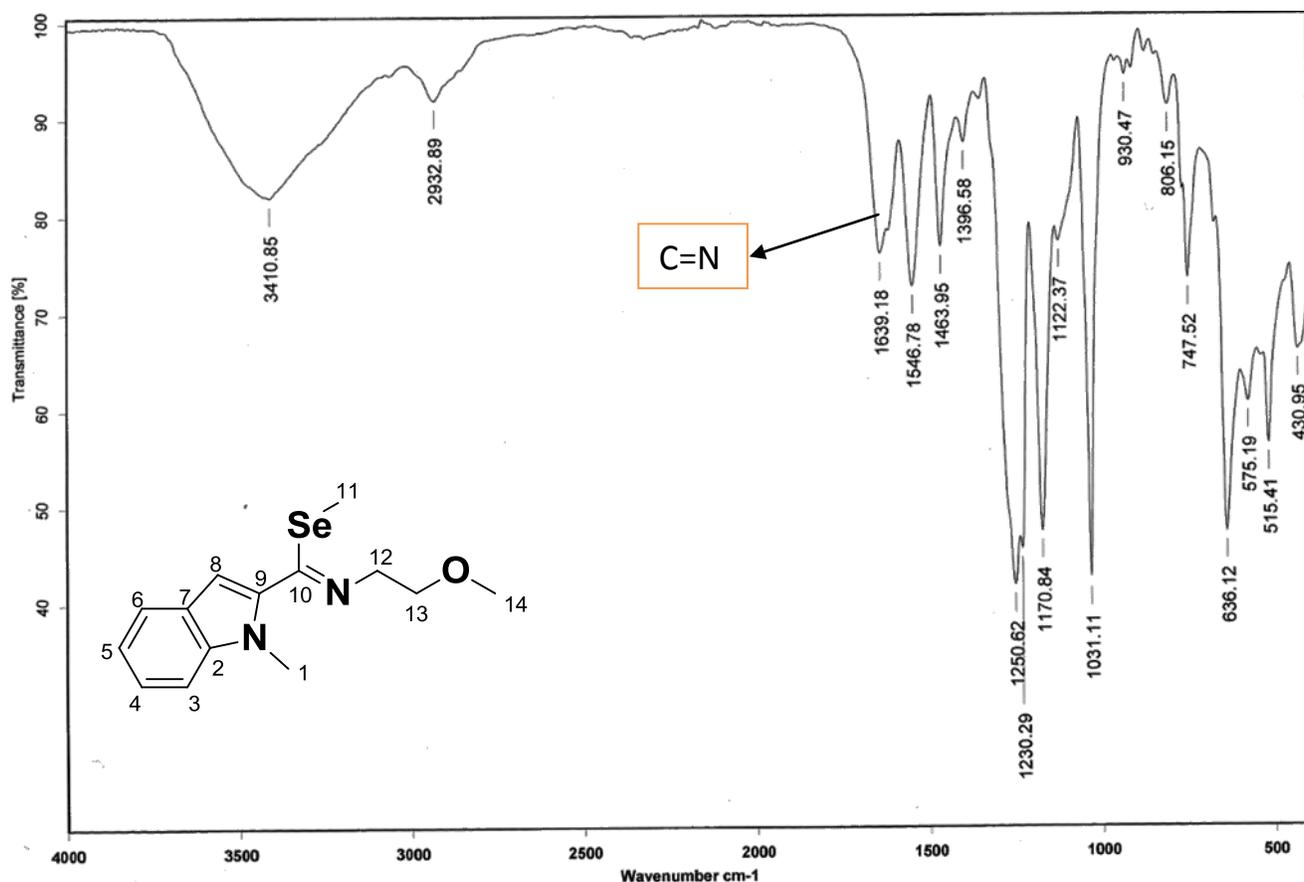


Esquema 14. Mecanismo de reacción propuesto para la formación del selenoimidato

La purificación del compuesto **F** se realizó mediante cromatografía *flash* empleando gel de sílice y benceno como diluyente. No obstante al realizar la RMN del compuesto de interés se observó una gran cantidad de impurezas por lo cual

se decidió purificar nuevamente mediante placa preparativa de gel de sílice, logrando finalmente la separación eficiente del compuesto **F**.

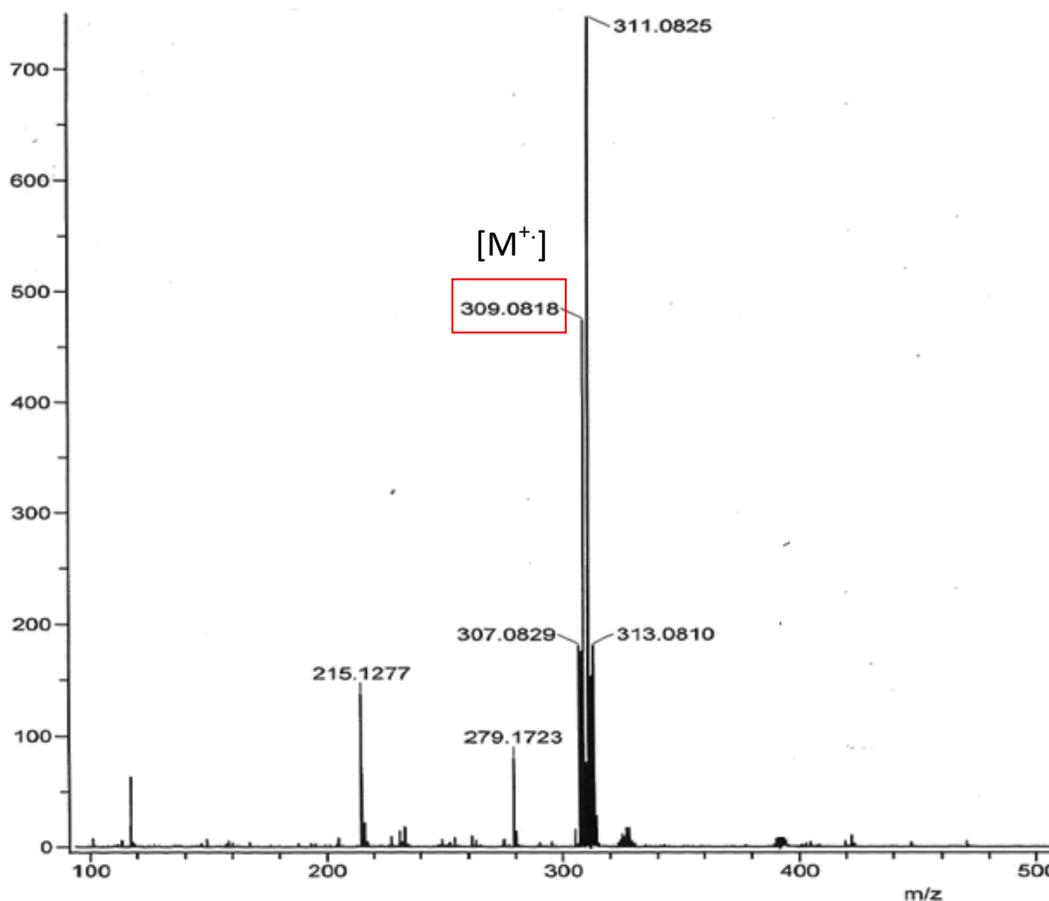
Por esta razón, se decidió realizar la reacción cambiando el agente alquilante por uno menos agresivo con la molécula siendo este iodometano e hidruro de sodio como base. Asimismo al finalizar la reacción se realizó un lavado con NaHCO_3 con el fin de desprotonar inmediatamente previo a la purificación, esta modificación trajo consigo una mejora considerable durante la purificación en columna cromatográfica, siendo innecesaria la purificación mediante placa preparativa. Una vez purificado el compuesto **F**, fue caracterizado mediante las técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales (IR, EM, RMN ^1H y ^{13}C).



*Espectro 13. Espectro de IR (KBr) del compuesto **F***

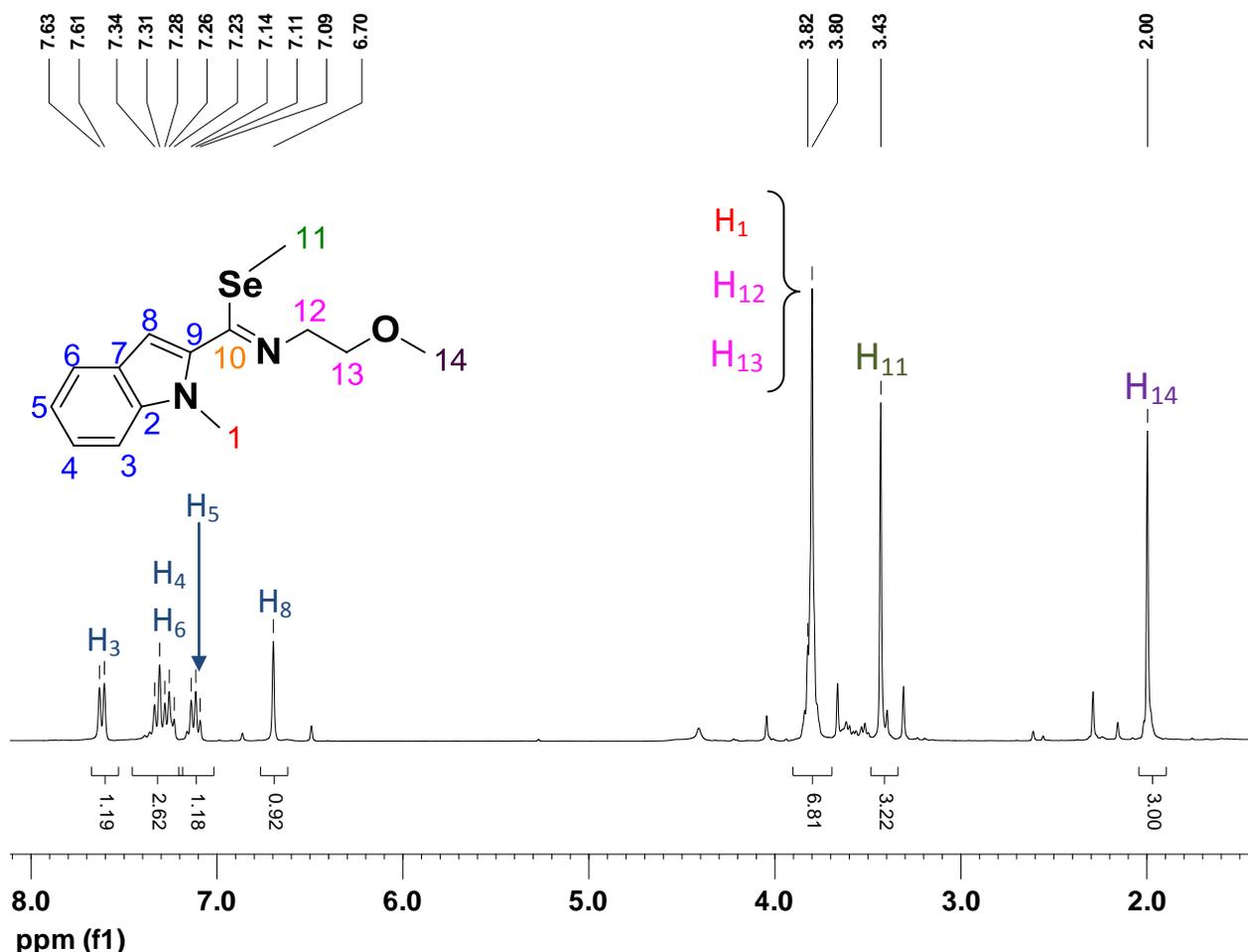
En el espectro de IR (Espectro 13) del compuesto **F** se observa una banda en 1639 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=N.

En lo que respecta al espectro de masas, inicialmente se mando determinar mediante impacto electrónico (EI^+) y FAB^+ sin embargo en ninguna de estas técnicas fue posible obtener el ión molecular ni un patrón de fragmentación característico por lo cual se decidió utilizar una técnica de ionización más suave como el electrospray (ESI^+), con lo cual nos fue posible observar el ión molecular, el cual se observa en 309.0818 m/z , valor que corresponde a la masa molecular esperada para este compuesto, debido a que esta técnica de ionización es menos agresiva con la molécula, no se observan patrones de fragmentación.



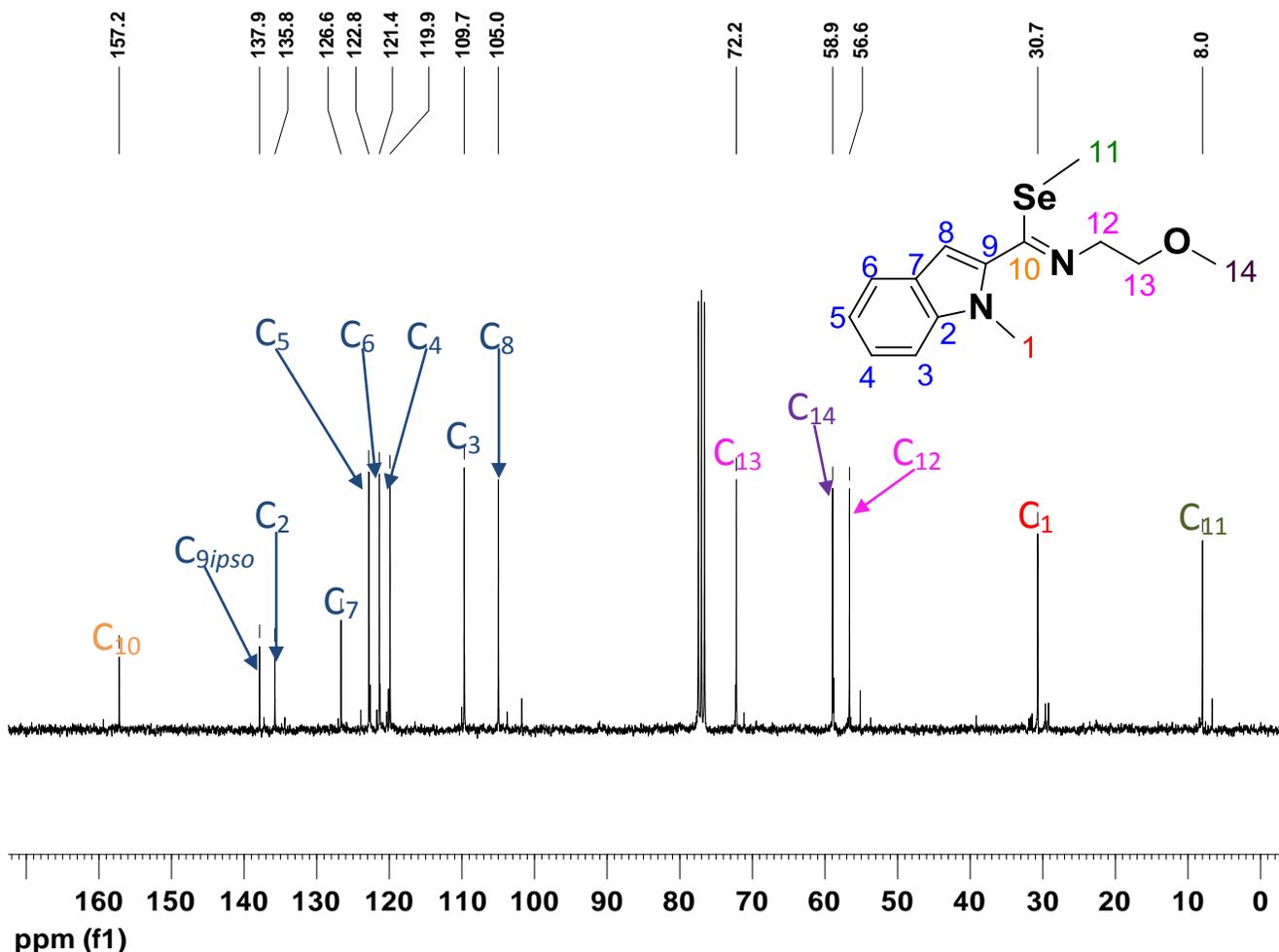
Espectro 14. Espectro de EM (ESI^+) del compuesto **F**

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **F** (Espectro 15), se puede observar en campos bajos las señales correspondientes a los átomos de hidrógeno del anillo de seis miembros del indol, en 7.63 ppm aparece un doblete que integra para un hidrógeno correspondiente al H_3 seguido de una señal múltiple entre 7.34 y 7.23 ppm que integra para 2 hidrógenos asignados a H_4 y H_6 y finalmente un triplete en 7.11 ppm asignado al átomo de hidrógeno H_5 . Justo a un lado de estas señales se encuentra un singulete en 6.70 ppm que integra para 1 átomo de hidrógeno que corresponde al H_8 del anillo indólico. Desplazados hacia campos bajos se observa una señal en 3.80 ppm que integra para 7 hidrógenos, los cuales corresponden a los átomos de hidrógeno de los metilenos H_{12} y H_{13} así como al metilo del anillo indólico H_1 , posteriormente se observa un singulete en 3.43 ppm, esta señal se asigna al metilo H_{14} y finalmente la señal en 2.0 ppm corresponde al metilo base de selenio H_{11} .



Espectro 15. Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz) del compuesto **F**

En lo que respecta a la RMN ^{13}C del compuesto **F** (Espectro 16) en 157.2 ppm aparece la señal correspondiente al carbono C_{10} . En la región de los aromáticos en 137.9 ppm se encuentra la señal del carbono *ipso* C_9 seguido de las señales asignadas a los carbonos de la fusión del indol C_2 y C_7 en 135.8 y 126.6 ppm, respectivamente. Los carbonos del anillo aromático de seis miembros C_3 , C_4 , C_5 y C_6 se ubican en 109.7, 119.9, 122.8 y 121.4 ppm respectivamente. La señal del metino C_8 se observa en 105.0 ppm. Hacia campos bajos se encuentran las señales asignadas a los metilenos C_{12} y C_{13} en 56.6 ppm y 72.2 ppm. La señales correspondientes a los carbonos de los metilos se encuentran en 58.9 ppm para el metilo C_{14} , en 30.7 para el metilo del anillo indólico y en 8.0 para el metilo base selenio C_{11} , dicha señal es característica para compuestos similares.



Espectro 16- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) del compuesto **F**

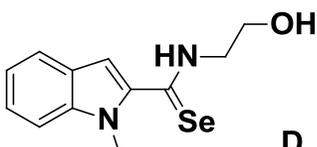
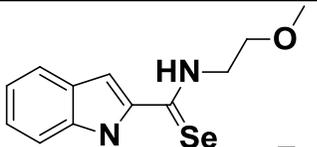
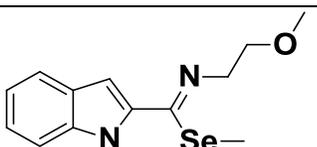
Tabla 10. Resumen espectroscópico realizado al selenoimidato

RMN				IR		EM
¹ H		¹³ C		ν _{max} (cm ⁻¹)	X-Y	m/z
δ (ppm)	H	δ (ppm)	C			
7.63	H ₃	157.2	C ₁₀	3411	C=N-R	309.0810
		137.9	C ₉			
7.34 - 7.23	H ₄ , H ₆	135.8	C ₂			
		126.6	C ₇			
7.11	H ₅	122.8	C ₅			
		121.4	C ₆			
6.7	H ₈	119.9	C ₄	1639	C-Se	
		109.7	C ₃			
3.8	H ₁ , H ₁₂ , H ₁₃	105.0	C ₈			
		72.2	C ₁₃			
3.43	H ₁₁	58.9	C ₁₄			
		56.6	C ₁₂			
2.0	H ₁₄	30.7	C ₁			
		8.0	C ₁₁			

Pruebas de citotoxicidad

Teniendo como punto de partida la actividad biológica comprobada de diversos compuestos organoselenados, nos dimos a la tarea de someter los compuestos preparados a pruebas de actividad biológica en líneas celulares cancerosas humanas de adenocarcinoma prostático (PC-3), leucemia mielogena crónica (K562), adenocarcinoma colorectal (HCT-15), adenocarcinoma de mama (MCF-7), carcinoma pulmonar no microcítico (SKLU) y glioblastoma (U251). Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 11 y el Gráfico 1.

Tabla 11. Resultados de pruebas de citotoxicidad

Compuesto	% de inhibición del crecimiento por la línea celular					
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
 D	91.0	>100	99.0	>100	>100	86.1
 E	89.3	67.6	72.0	53.6	66.8	94.2
 F	85.6	100	100	85.7	89.4	94.9

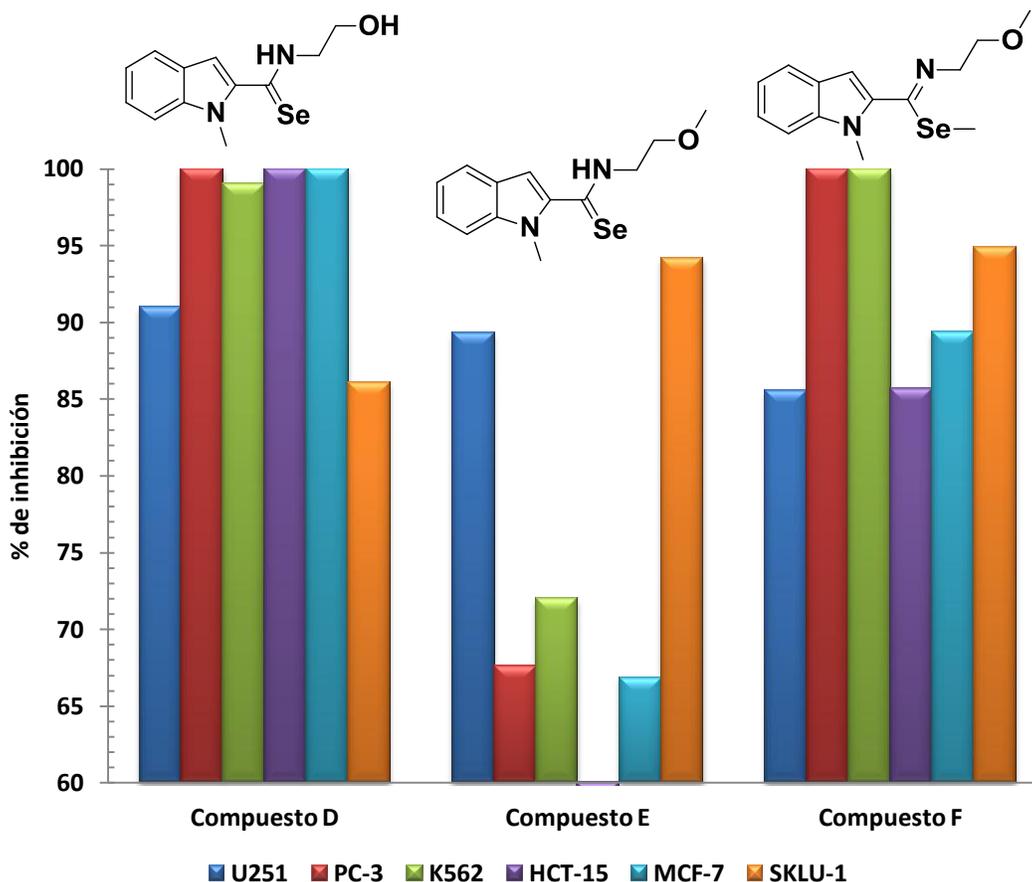
% de inhibición por la línea celular

Gráfico 1. Porcentaje de inhibición de los compuestos sobre las líneas celulares

Una vez purificados y caracterizados plenamente todos los compuestos, se procedió a realizar las pruebas de actividad biológica mediante un screening primario 50 μ M en las líneas celulares cancerosas anteriormente mencionadas. Se puede observar que el compuesto **D** inhibe casi en su totalidad el crecimiento celular en prácticamente todas las líneas celulares analizadas, con el valor más bajo (86.1 %) para la línea de pulmón. Esto deja en evidencia el efecto que ejercen los grupos funcionales de la molécula como el grupo aceptor (-OH), el grupo amino (NH), el selenocarbonilo y el anillo heterociclo, demostrándonos que la elección de dichos grupos puede influir positivamente en la actividad citotóxica de la molécula.

En lo que respecta al compuesto **E**, en esta molécula se observa la influencia del grupo hidroxilo presente en el compuesto **D** sobre su actividad citotóxica, dado que al alquilar el átomo de oxígeno en la selenoamida **E** ocurre una disminución significativa de la actividad citotóxica respecto a la selenoamida **D** en las líneas de próstata, leucemia, colon y mama, sin embargo es posible apreciar que la actividad biológica sobre la línea de glioblastoma se conserva, de forma tal que dicha modificación estructural otorga cierta selectividad a la molécula.

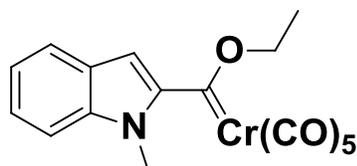
Para el compuesto **F**, se realizó la alquilación sobre el átomo de selenio observándose que hubo un efecto tanto sinérgico como selectivo en la actividad anticancerígena para las líneas de próstata, leucemia, colon y mama respecto a la selenoamida **E**, notándose que el selenoimidato posee una actividad equiparable a la selenoamida **D**.

En resumen, los estudios de actividad biológica nos han dado la pauta para la síntesis posterior de nuevos compuestos organoselenados, ya que el compuesto **D** resultó ser un buen líder de forma tal que se pueden realizar modificaciones estructurales con la finalidad de estudiar la posible actividad farmacológica de nuevas moléculas tales como los compuestos **E** y **F**. Sin embargo, los estudios de actividad biológica aquí presentados no nos permiten establecer una relación estructura-actividad de manera cuantitativa, por lo cual estudios posteriores de concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) serían recomendables para comenzar a establecer una relación estructura-actividad de esta familia de selenoamidas y selenoimidatos con un fragmento indólico en su estructura.

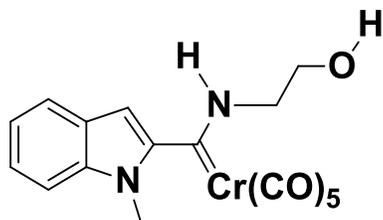
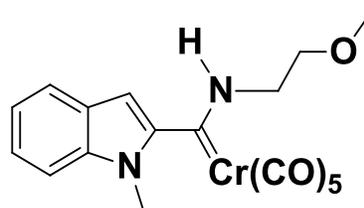
Conclusiones

Conclusiones

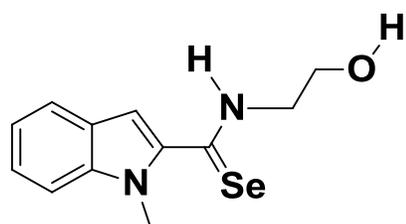
- ✓ Se logró sintetizar exitosamente el etoxicarbeno de Fischer con un fragmento heterociclo (1-metilindol) como sustituyente, confirmándose su estructura mediante difracción de rayos-X de monocristal.

**A**

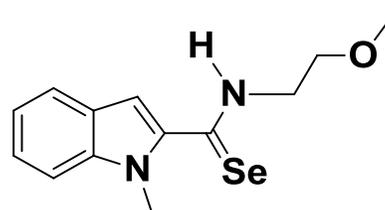
- ✓ Se comprobó la reactividad del etoxicarbeno de Fischer con un fragmento heterociclo, frente a dos diferentes aminas primarias, generando dos aminocarbenos de Fischer (B y C) con excelentes rendimientos. De estos dos carbenos, el B no ha sido previamente reportado en la literatura.

**B****C**

- ✓ Se obtuvieron y aislaron dos diferentes selenoamidas (D y E) mediante una reacción de demetalación seleniurativa, con dicha metodología fue posible obtener rendimientos superiores a los reportados en la literatura y bajo condiciones suaves de reacción. La selenoamida E no había sido sintetizada anteriormente, siendo de gran importancia ya que es el precursor inmediato para la obtención de selenoimidatos.

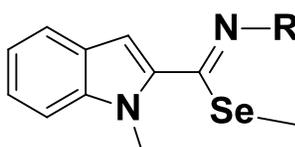


D



E

- ✓ Se logró el desarrollo de un método para la síntesis de selenoimidatos con un fragmento indólico a partir de selenoamidas, mejorando considerablemente los rendimientos y condiciones de las metodologías reportadas de forma tal que fue posible la obtención de un selenoimidato (F). Cabe mencionar que hasta nuestro mejor conocimiento, la síntesis de este tipo de compuestos no han sido reportados en la literatura.



F

- ✓ Se comprobó la actividad biológica de las selenoamidas y el selenoimidato sintetizados al mostrar potencial citotóxico en seis líneas celulares de cáncer humano. De igual manera se evaluó el efecto de la alquilación sobre el átomo de oxígeno y de selenio observándose que dicha modificación estructural otorga especificidad a la molécula contra determinadas líneas celulares.