UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Síntesis de dos dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas que incorporan el grupo funcional urea y su evaluación citotóxica

Instituto de Química

TESIS

para obtener el título de

Químico Farmacéutico Biólogo

Presenta:

Diego Gallegos Montiel

México, D.F. 2015

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	DR. ADELFO NATALIO REYES RAMÍREZ
VOCAL	DR. ROBERTO MARTÍNEZ
SECRETARIO	Q.F.B. ARMANDO AGUIRRE GUZMÁN
SUPLENTE	Q.F.B. THALIA NOVA TORRES NAVA
SUPLENTE	M. en C. IVAN MONSALVO MONTIEL

Este trabajo se realizó en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la U.N.A.M.

Dr. Roberto Martínez

Dr. Adelfo Natalio Reyes Ramírez

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección y asesoría del Dr. Roberto Martínez y el Dr. Rubén Omar Torres Ochoa; y con el apoyo otorgado por el CONACYT (proyecto 131295) y la beca de Ayudante de Investigador Nacional Nivel III o Emérito (no. 10474)

A mis padres Eva Montiel y Francisco Gallegos, que siempre están presentes, me apoyan y aman incondicionalmente, a mis abuelos Estela Pacheco y Rafael Montiel que siempre han estado para mí cuando los he necesitado. A mis hermanos que me han enseñado más cosas de las que yo les he enseñado. A mis maestros que me han apoyado y compartido sus conocimientos. Gracias sin ustedes no habría logrado esto.

ÍNDICE

ABREVIACIONES Y FÓRMULAS……9

RESUMEN……..12

1. INTRODUCCIÓN……..….13

2. ANTECEDENTES……..17

   2.1. Cáncer……17

   2.2. Pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas ……..18

   2.3. Síntesis de ureas y su utilidad en la Química Medicinal……..……18

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA……27

4. HIPÓTESIS……28

5. OBJETIVOS……29

   5.1. Objetivos generales……..29

   5.2. Objetivos particulares……..30

6. RUTA DE SÍNTESIS PROPUESTA……31

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS……33

   7.1. Reacción de Horner-Emmons……33

   7.2. Obtención del pirrol 2,3,4-trisustituido **37** mediante la reacción de van Leusen……34

7.3. Alquilación del pirrol trisustituido **37** con el agente alquilante **38**.....38

7.4. Cierre del anillo para la obtención de las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas **40**……..41

7.5. Reducción del grupo nitro para obtener la pirroloisoquinolina sustituida con una amina primaria **41**……..……..44

7.6. Síntesis de las ureas no simétricas **4** y **5**…..……47

8. PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD……53

9. CONCLUSIONES……..56

10. SECCIÓN EXPERIMENTAL

10.1. Consideraciones generales……..57

10.2. Parte sintética…….59

10.2.1. Formación de ureas no simétricas disustituidas…….59

Síntesis del 8,9-dimetoxi-2-(3-(piperazina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**5**).....60

10.2.2. Síntesis del 8,9-dimetoxi-3-metil-2-(3-(pirrolidina-1-carboxamido) fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**4**)…….……...61

10.2.3. Síntesis del 3-nitrocinamato de etilo (**36**)….……62

10.2.4. Síntesis del 5-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo (**37**)……62

10.2.5. Síntesis del 1-(2-bromo-4,5-dimetoxifenetil)-5-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo (**39**)……..……..64

10.2.6. Síntesis del 8,9-dimetoxi-3-metil-2-(3-nitrofenil)-5,6-dihidropirrolo [2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**40**)……..…...65

10.2.7. Síntesis del 2-(3-aminofenil)-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidro-pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**41**)……..66

ABREVIACIONES Y FÓRMULAS

%	Por ciento
%IC	Porcentaje de inhibición
AcOEt	Acetato de etilo
c	Cuadruplete
ccf	Cromatografía en capa fina
$CDCl_3$	Cloroformo deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
d	Doblete
DART	Direct Analysis Real Time
dd	Doble doblete
ddd	Doble doble doblete
DIPEA	*N*,*N*-Diisopropiletilamina
DMF	*N*,*N*-Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
eV	Electrón voltios
FAB^+	Fast Atomic Bombarding$^+$
g	Gramos
h	Horas
Hx	Hexano
Hz	Hertz
IC_{50}	Concentración inhibitoria 50
IE	Impacto electrónico
IR	Infrarrojo

J	Constante de acoplamiento
K_2CO_3	Carbonato de potasio
m	Multiplete
$M^{+\cdot}$	Ión molecular
m/z	Relación masa carga
MeCN	Acetonitrilo
MeI	Yodometano
MeOH	Metanol
Me-TosMIC	Isocianuro de *p*-metiltoluensulfonilometilo
min	Minutos
mL	Mililitros
mmoles	Milimoles
Na_2SO_4	Sulfato de sodio
NaH	Hidruro de sodio
$NH_2NH_2 \cdot H_2O$	Hidrazina monohidro
NaOH	Hidróxido de sodio
NBS	*N*-Bromosuccinimida
ºC	Grados centígrados
p.f.	Punto de fusión
$Pd(AcO)_2$	Acetato de paladio
PPh_3	Trifenilfosfina
Ppm	Partes por millón
RMN-^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN-^{1}H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
s	singulete
SA	Sin Actividad
SNC	Sistema Nervioso Central

t	triplete
ta	Temperatura ambiente
TBAI	Yoduro de tetrabutilamonio
td	Triple doblete
TEA	Trietilamina
TosMIC	Isocianuro de *p*-toluensulfonilometilo
TsCl	Cloruro de *p*-toluensulfonilo
δ	Desplazamiento químico
μM	Micromolar
ν_{max}	Frecuencia máxima

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la síntesis de las pirroloisoquinolinas **4** y **5**, las cuales fueron preparadas en 6 pasos cada una, obteniéndose en rendimientos globales del 4.8% y 5.8%,respectivamente.

Asimismo, los compuestos **4** y **5** fueron evaluados en cuanto a su actividad citotóxica en seis líneas celulares neoplásicas determinando primero su porcentaje de inhibición de crecimiento celular (%IC) y después la concentración inhibitoria (IC_{50}) de aquellos compuestos que resultaron activos en el barrido primario.

Los resultados mostraron que el compuesto **5** no presenta actividad frente a las líneas evaluadas, en tanto que el compuesto **4** presenta actividad en tres líneas celulares, **PC-3**, **U-251**, **K-562**, en las cuales después se realizaron pruebas de IC_{50}.

INTRODUCCIÓN

El cáncer constituye un grupo de enfermedades de los organismos multicelulares complejos. Está caracterizada por alteraciones en la expresión de múltiples genes, que tienen como consecuencia la desregularización de la programación celular normal referente a la división y la diferenciación celular.[1] Este padecimiento es una de las principales causas de muerte en todo el mundo, y tan solo en el año 2012 causó 8.2 millones de defunciones.[2] En lo que concierne a México, el cáncer provocó 6.7 millones de defunciones de 2000 a 2008, siendo el cáncer de próstata en hombres y el cáncer de mama en mujeres las neoplasias malignas más comunes.[3] Existen diferentes tipos de tratamiento que se emplean en base al grado de avance de la enfermedad, el tipo de cáncer y el sitio afectado, siendo los más socorridos la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. La quimioterapia es el uso de cualquier medicamento para el tratamiento contra el cáncer. La desventaja de utilizar este paliativo recae en la falta de especificidad de los compuestos hacia las células neoplásicas lo que puede llevar a daños permanentes a órganos y tejidos sanos.[4]

Los fármacos con actividad citotóxica selectiva son el pináculo de la Química Medicinal, por esta razón los esfuerzos se centran en sintetizar compuestos que reúnan las características farmacocinéticas y farmacodinámicas adecuadas para

---

[1] Ruddon W. R.; Cancer Biology 4th ed. New York: Oxford University Press; **2007**,pp 4.
[2] Cancer facts and figures **2012**, American Cancer Society.
[3] Sistema Nacional de Información en Salud [Internet]. Secretaria de Salud, México: *http://www.sinais.salud.gob.mx/indicadores/index.html*
[4] American Cancer Society [Internet]. USA: http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002996-pdf.pdf (15-julio-2014).

reducir o eliminar los efectos secundarios, todo esto con el fin de garantizar un tratamiento eficiente en el combate contra el cáncer.

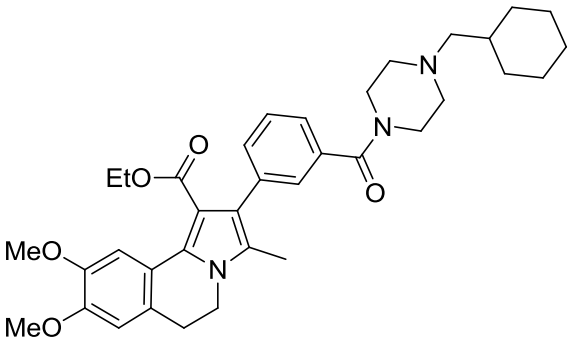
Un grupo destacado de moléculas citotóxicas, tanto sintéticas como naturales, son las que contienen en su estructura el sistema de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina, de las cuales se han informado diversos métodos de síntesis.[5,6,7] Una metodología corta y eficiente fue documentada por Martínez y colaboradores en el 2010, bajo la cual se lograron preparar diversas dihidropirroloisoquinolinas a partir de pirroles tetrasustituidos, empleando una reacción tipo radical oxidativa aromática como etapa clave del proceso. Siguiendo esta ruta de síntesis, se prepararon las pirrolosioquinolinas **1** y **2**, en las cuales el sistema pirroloisoquinolínico es el mismo, y únicamente cambia un sustituyente en uno de los anillos bencénicos, adicionalmente se determinó su actividad citotóxica en seis líneas celulares, la cual resultó ser muy destacada.[8] En un trabajo posterior, se optó por combinar las funcionalidades que se encontraban presentes en los triciclos **1** (amida) y **2** (amina). Fue así que se realizó la síntesis de las ureas **3ª** y **3b**, cuya actividad citotóxica fue equiparable con respecto a **2** en la línea celular de cáncer de mama y SNC, y mejor en el cáncer de próstata.[9]

También fue preparada y evaluada la pirroloisoquinolina **3b**, la cual mostró una pobre actividad citotóxica en comparación con **3a**, haciendo notar la importancia del fragmento de ciclohexilmetanamino (Tabla 1).

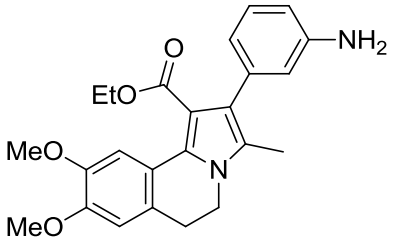
---

[5]Tominaga, Y.; Shirosta, Y.; Kurokawa, T.; Gotou, H.; Matsuda, Y.; Hosomi, A. *J. Heterocyclic Chem.* **1989**, *26*, 477-487.
[6] EP 303446 (*Chem. Abstr.* **1990**, 112, 178703a); EP 319336 (*Chem. Abstr.* **1989**, 111, 232896u).
[7] Bridge, A. W.; Fenton, G.; Halley, F.; Hursthouse, M. B.; Lehmann, C. W.; Lytgoe, D. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1993**, 2761-2772
[8] Reyes-Guitérrez, P. E.; Camacho, J.; Ramírez-Apan, T.; Osornio, M. Y.; Martínez, R. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4374-4382.
[9] Marlene Hernández Sánchez, *Tesis de Licenciatura*, UNAM, **2012**.

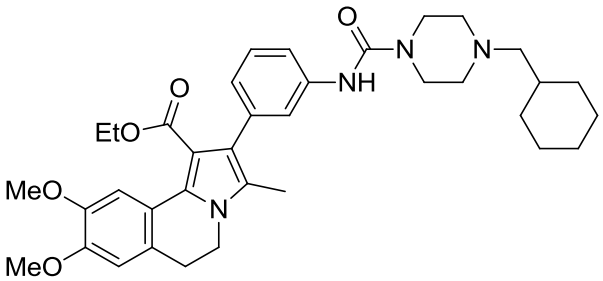
Tabla 1. Valores de IC_{50} (μM) para el compuestos **1**-**3** en seis líneas celulares.



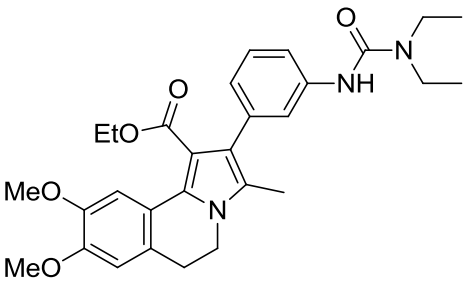
1



2



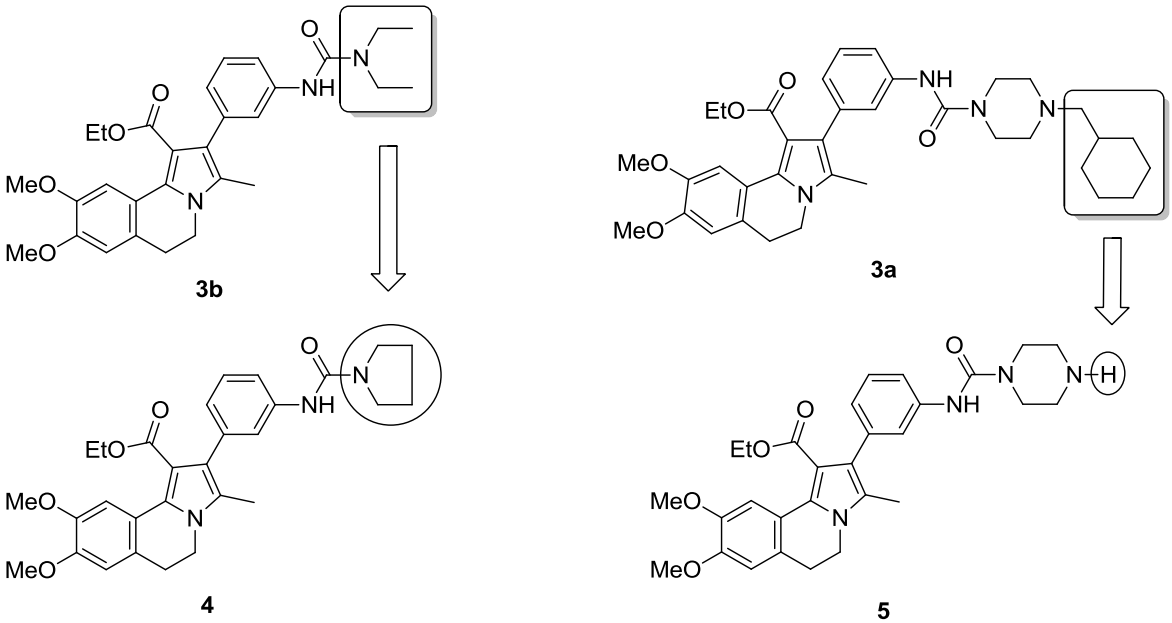
3a



3b

	Valores de IC_{50} (μM)					
Compuesto	**PC-3** (próstata)	**U-251** (SNC)	**K-562** (leucemia)	**HCT-15** (colon)	**MCF-7** (mama)	**SKLU-1** (pulmón)
1	0.16±0.01	0.05±0.01	0.16±0.01	0.02±0.01	5.58±0.04	0.02±0.01
2	21.2±1.20	5.96±0.50	2.5±0.80	0.01±0.01	1.3±0.100	0.10±0.01
3a	8.29±0.4	7.11±0.1	11.03±1.1	0.055±0.001	1.64±0.3	1.13±0.01
3b	11.57±1.0	11.47±1.1	25.0±1.6	6.6±0.7	13.72±0.8	11.7±1.1

En función de que aún se necesita información adicional acerca del papel que juega el fragmento ciclohexilmetilpiperazinilo con respecto a la actividad biológica en las moléculas de tipo **3**, en este trabajo se planteó la síntesis y evaluación de dos nuevas ureas cuyas variaciones ocurran en el fragmento antes mencionado. La primera propuesta consiste en preparar el compuesto **4**, el cual deriva del cambio de los sustituyentes etilo en el fragmento de la urea **3b** por un anillo de pirrolidina, lo anterior con la finalidad de determinar si un fragmento rígido en esta posición hace que la actividad citotóxica se incremente. Por otra parte, también será evaluada la importancia del residuo de ciclohexilmetilo en **3a**, para lo cual este se removerá, manteniendo únicamente el anillo de piperazina, siendo el compuesto **5** el representante de esta modificación estructural (Esquema 1).



Esquema 1. Estructura de los compuestos a sintetizar **4**

ANTECEDENTES

Cáncer

El cáncer se define como el crecimiento anormal de las células causado por cambios en la expresión de genes, provocando un desequilibrio en la proliferación de las células y la apoptosis celular, que pueden evolucionar en una población de células e invadir tejidos provocando metástasis hasta lugares distantes, causando morbilidad significante y, sin tratamiento, la muerte del paciente. El cáncer es una enfermedad de los organismos multicelulares, lo cual implica que hay un error inherente en la habilidad de las células de realizar la apoptosis lo cual provoca cúmulos celulares o movimiento a través del cuerpo a sitios de organogénesis que es la clave para el proceso de tumorogénesis. El cáncer puede ser provocado por factores externos como el tabaquismo o la radiación y por factores internos como mutaciones u hormonas.[1]

Los tratamientos contra el cáncer son muy diversos y se deben de adaptar al tipo de cáncer y al paciente, pero los más comunes son la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. La primera consiste en extirpar el tumor quirúrgicamente, con el fin de eliminar la totalidad de células anormales; sin embargo, existe un porcentaje de reaparición del neoplasma, aunado a que el procedimiento quirúrgico implica un riesgo a la salud. La radioterapia implica el uso de ondas o partículas de alta energía para la eliminación o daño de células cancerosas. Este tratamiento también puede conllevar al deterioro de tejido saludable, trayendo consigo una serie de efectos secundarios como otros cánceres y, además, la cantidad de

radiación que una persona puede recibir durante su vida es limitada. Por su parte, la quimioterapia es el uso de medicamentos antineoplásicos que provocan la destrucción o daño de las células tumorales bloqueando o interrumpiendo funciones celulares. Se utiliza principalmente en pacientes con cánceres sensibles a la radioterapia o con metástasis.[10] En la quimioterapia es imperativo el uso de fármacos con selectividad elevada (características farmacocinéticas y farmacodinámicas adecuadas), ya que esto implicaría la destrucción únicamente de la células afectadas por el cáncer dejando así intactas a las sanas y reduciendo los efectos secundarios de este tratamiento. Un ejemplo de moléculas que están en investigación por su actividad citotóxica, y que son el principal objeto de estudio de este trabajo, son las pirroloisoquinolinas.

Pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas

Este tipo de compuestos son sistemas tricíclicos que contienen en su esqueleto un anillo de pirrol (rojo) y otro de isoquinolina (azul). Un ejemplo de molécula natural que contiene este esqueleto es la Crispina A (**7**) (**Figura 1**).

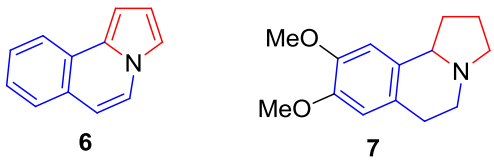
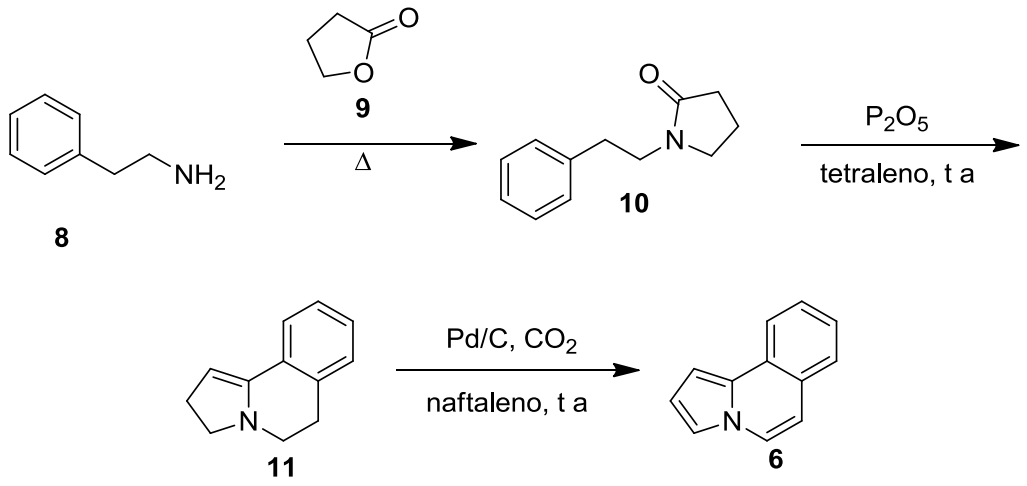


Figura 1. Esqueleto de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina (**6**) y de la Crispina A (**7**).

[10]American Cancer Society. USA: http://www.cancer.org/espanol/servicios/tratamientosyefectossecundarios

Dada la destacable actividad citotóxica de compuestos naturales tales como la Crispinia A, se ha impulsado la síntesis de estructuras análogas.

El esqueleto de las pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas ha sido sintetizado desde mucho antes de que se aislaran moléculas naturales de este tipo. La primera síntesis de una pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina (**6**), fue publicada en 1953 por el equipo de Boekelheide y Godfrey[11]; mientras que el aislamiento de una molécula natural de este tipo fue reportado hasta 2002 por Zhang y colaboradores cuando describieron cinco nuevos alcaloides extraídos de la *Carduus crispus*, entre ellos la Crispina A (**7**).[12] La síntesis de Boekelheide (**Esquema 2**) parte de la fenetilamina **8** y de la γ-butirolactona **9**, las cuales al reaccionar dieron lugar a la lactama **10**, quién a su vez mediante el tratamiento con pentóxido de fósforo permitió la obtención de la tetrahidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **11**. Finalmente, **11** se oxidó con Pd/C en atmósfera de CO_2 para dar lugar a la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **6**.

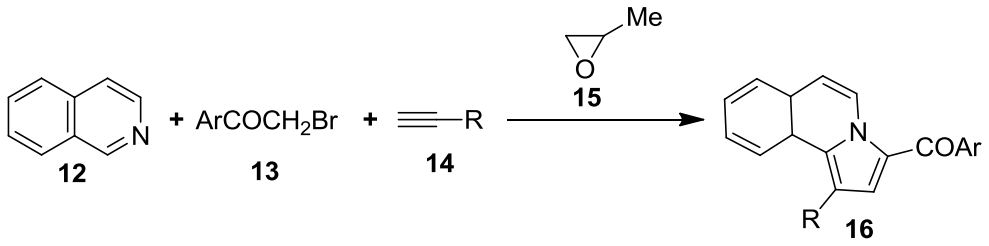


Esquema 2. Síntesis de Boekelheide de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **6**.

[11] Boekelheide, V.; Godfrey, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 3679-3685.
[12] Zhang, Q.; Tu, G.; Zhao, Y.; Cheng, T. *Tetrahedron* **2002**, *34*, 6795-6798.

Otros métodos de síntesis se han enfocado en la preparación de pirrolo[2,1-*a*]isoquinolinas y sus variantes hidrogenadas, ya que se ha visto que ambos tipos de compuestos presentan actividad biológica sobresaliente.[13,14] Ejemplos de síntesis para estos triciclos son los siguientes:

- Mediante la cicloadición 1,3-dipolar que involucra *N*-iluros de isoquinolinio con alquinos, metodología desarrollada por el grupo de investigación de Dumitrascu[15] (**Esquema 3**).

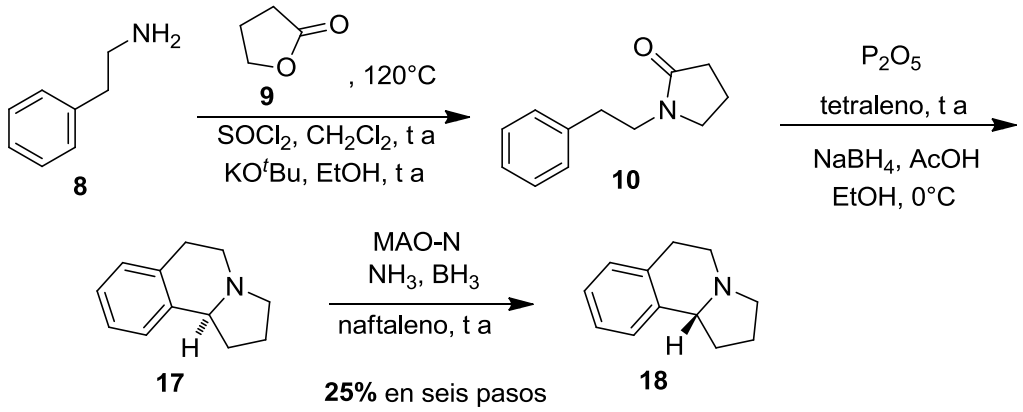


Esquema 3. Síntesis de Dumitrascu de la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **16**.

- En 2007, Turner y colaboradores[16] desarrollaron una desracemización de aminas terciarias; en esta variación se utilizó monoamino oxidasa de *Aspergillus niger* (MAO-N), empleándose las mismas materias primas que en la síntesis de Boekelheide y Godfrey. La ciclación del compuesto **10** se realizó con oxicloruro de fósforo y la subsecuente reducción del intermediario con borohidruro de sodio produjo **17**. Después, la mezcla racémica del compuesto **17**, se sometió a una oxidación con MAO-N, lo

[13] U. Niewohnher, et al. WO 02/48144 (*Chem. Abstr.*, **2002**, *137*, 47106b).
[14] C.Zhang, et al. WO 03/051877 (*Chem. Abstr.*, **2003**, 139, 69161j).
[15] Dumitrascu, F.; Georgescu, E.; Georgescu, F.; Popa, M.M.; Dumitrescu, D. *Molecules* **2013**, *18*, 2635-2645.
[16] Turner, N.J.; Bailey, K.R.; Ellis, A.J.; Reiss; R.; Snape, T.J. *Chem. Commun.* **2007**, 3640-3642.

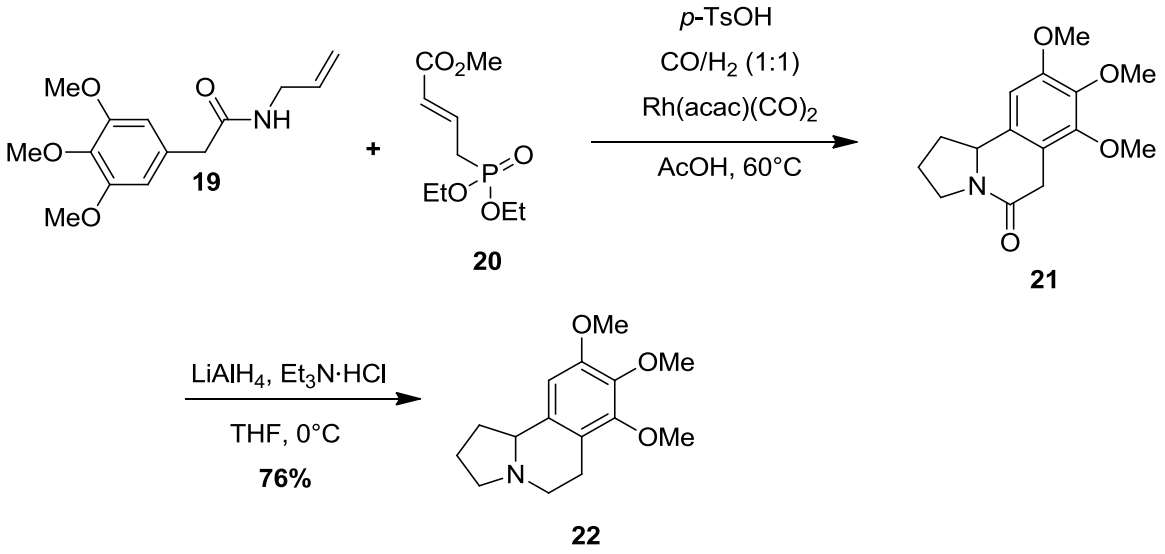
cual permitió la obtención del enantiómero (*S*)-(-)-18 por medio de la oxidación a la correspondiente sal de iminio (**Esquema 4**). El rendimiento global de esta serie de reacciones fue de 25% en seis pasos, aun cuando el rendimiento de la oxidación utilizando el MAO-N fue de 97%.



Esquema 4. Síntesis de Turner de (*R*)-(+)-1,2,3,5,6,10b-hexahidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **18**.

- Otro ejemplo es el trabajo de Chiou *et al.*[17] (**Esquema 5**) en donde se usó un proceso de ciclohidrocarbonilación-ciclación de *N*-alilamidas catalizada por rodio. La posterior reducción *in situ* del compuesto **21** con $LiAlH_4$ generó un complejo de alano-trietilamina dando como producto el compuesto **22**.

[17] Chiou, W.-H.; Lin, G.-H.; Hsu, C.-C.; Chaterpaul, S.J.; Ojima, I. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2659-2662.

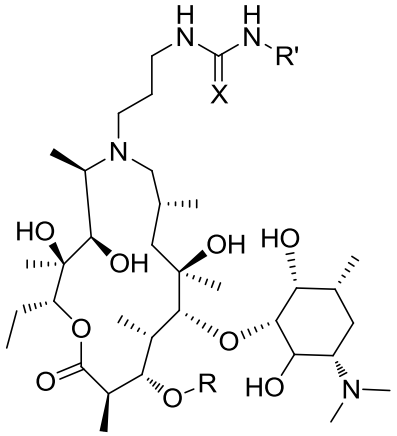


Esquema 5. Síntesis de Chiou de la hexahidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina **22**.

Síntesis de ureas y su utilidad en la Química Medicinal

Las ureas por sus propiedades químicas y estructurales son estables en condiciones ácidas y básicas, además pueden establecer puentes de hidrógeno, lo que les permite formar parte de estructuras superiores, ligantes, catalizadores o fármacos.[18] Las ureas asimétricamente sustituidas son estructuras clave en compuestos que presentan actividad biológica como inhibidores enzimáticos o pseudopéptidos.[19] Como ejemplos de ureas bioactivas se tiene al compuesto **23**, el cual resultó ser un antimalárico eficaz desarrollado por Krajacik y colaboradores (**Figura 2**).[20]

[18] Ripka, S. A.; Díaz D., D.; Sharpless, B. K.; Finn, G. M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 15531-1533.
[19] Majer, P.; Randad, H.S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1937-1938.
[20] Krajacik B., M.; Peric, M.; Smith S., K.; Schönfeld I.; Z.; Ziher, D.; Fajdetic, A.; Kujundzic, N.; Schönfeld, W.; Landek, G.; Padovan, J.; Jelic, D.; Ager,; Milhous K., W.; Ellis, W.; Spaventi, R.; Ohrt, C. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3595-3605.



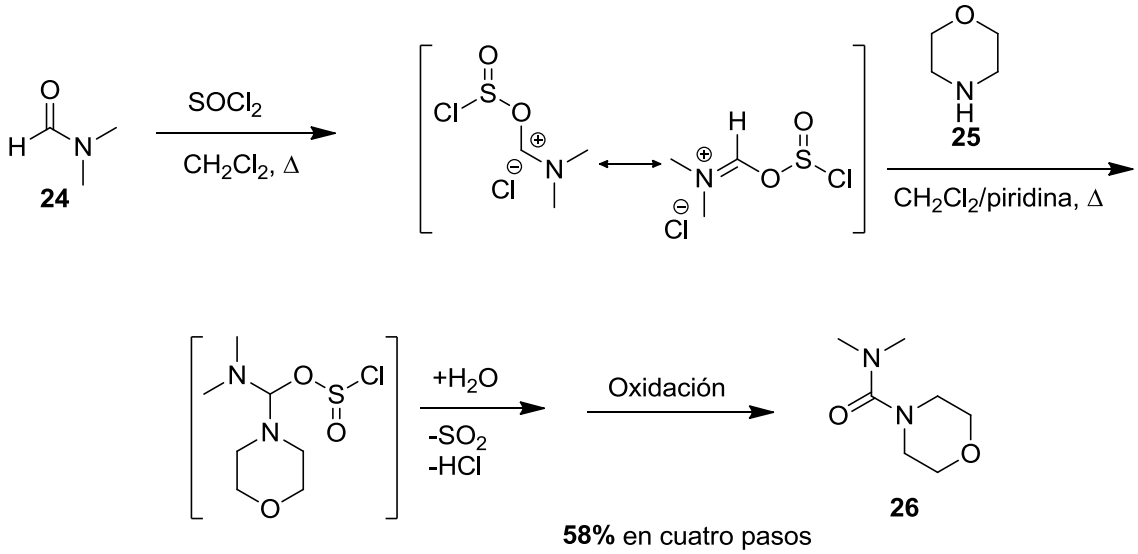
R = cladinosil, X = O ó S, R' = alquil o aril, **23**.

Figura 2. Ureas y tioureas de azálidos de 15 miembros.

Desde el punto de vista sintético, es posible preparar ureas por distintos métodos, y a continuación se detallan algunos ejemplos:

- En 2007 Zhu, y colaboradores prepararon la urea **26** a partir de la reacción entre la *N,N*-dimetilformamida, una amina secundaria y cloruro de tionilo[21] **(Esquema 6)**. Este producto posteriormente fue evaluado contra la línea celular de leucemia humana (K562) con resultados excelentes de CI_{50} (0.25±0.15 μM).

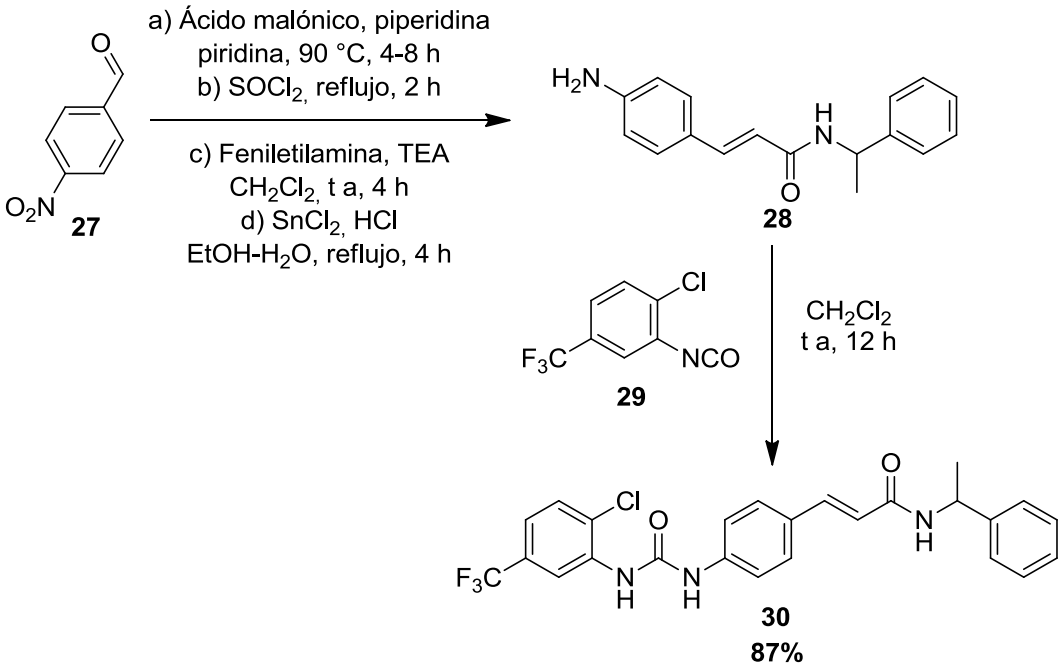
[21] Zhu, H.-L.; Ruan, B.-F.; Li, H.-Q.; Ge, H.-M.; Ding, H.; Huang, X.-F.; Cao, P. *Chem. Biodiver.* **2007**, *4*, 881-886.



Esquema 6. Síntesis de la carboxamida **26**.

- En 2014, Lu y su equipo[22] sintetizaron un grupo de diaril ureas con diferentes grupos funcionales los cuales después se probaron contra diferentes líneas celulares cancerosas. Para ello, Lu sometió al benzaldehído **27** a una reacción de Knoevenagel con ácido malónico o con ácido metilmalónico. A continuación el ácido cinámico obtenido se acopló con la feniletilamina, la posterior reducción del grupo nitro con $SnCl_2$ dio como resultado el intermediario **28.** La condensación de éste con el arilisocianato **29** generó la diarilurea **30** (**Esquema 7)**.

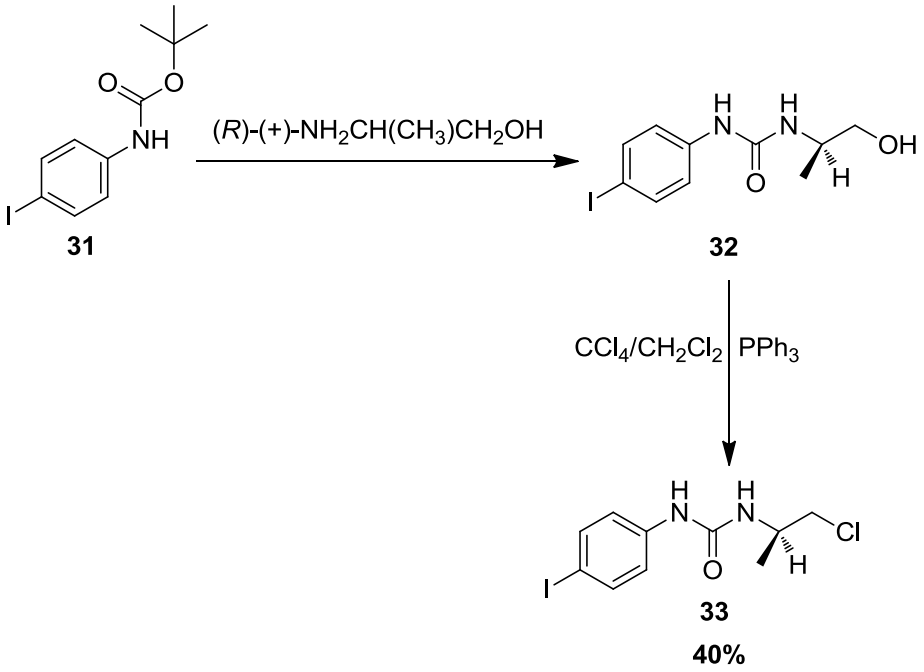
[22] Lu, C.; Tang, K.; Li, Y.; Li, P.; Lin, Z.; Yin, D.; Chen, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 351-360.



Esquema 7. Método de síntesis de ureas empleando isocianato.

- Mounetou en 2003[23] sintetizó nuevas *N*-aril-*N'*-2-cloroetilureas con citotoxicidad mejorada, desarrollados como antimicóticos pero con potencial uso en la quimioterapia contra el cáncer. Para ello emplearon 4-yodoanilina, la cual protegieron con dicarbonato de diterbutilo $(Boc)_2O$, y posteriormente el carbamato se llevó a reacción con un aminoalcohol enantiopuro, lográndose así generar el grupo urea exitosamente. (**Esquema 8**).

[23] Mounetou, E.; Legult, J.; Lacroix, J.; C.-Gaudreault, R. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5055-5063.



Esquema 8. Síntesis de la (*R*)-1-(1-cloropropan-2-il)-3-(4-yodofenil)urea **33**.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

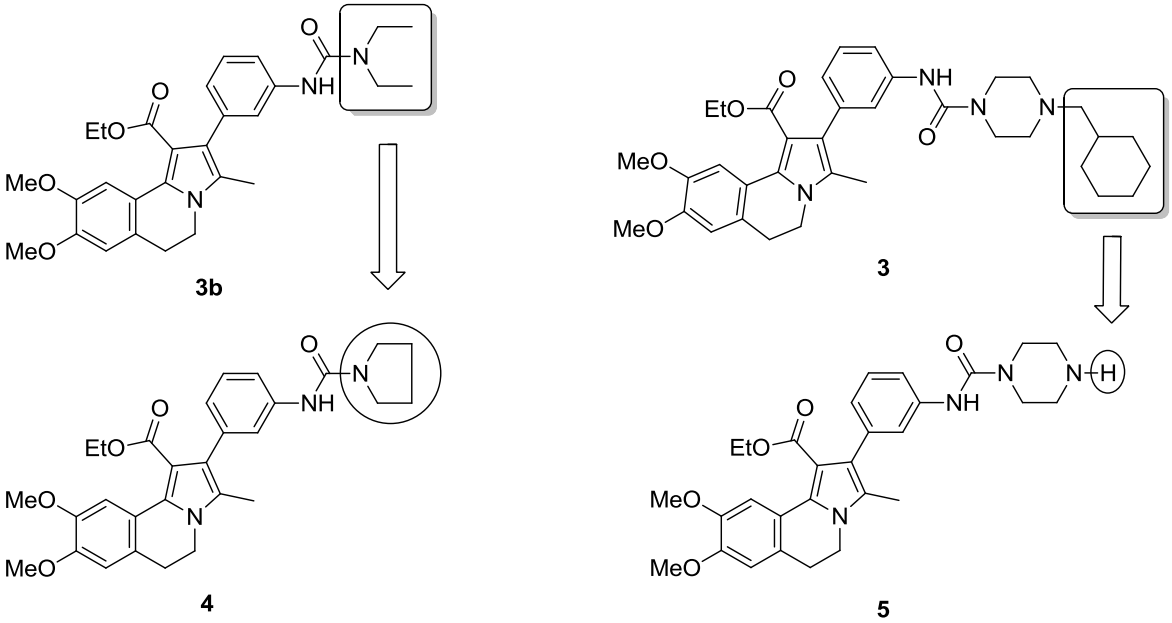
El cáncer es una enfermedad de los organismos multicelulares, lo cual implica que hay un error inherente en la habilidad de las células de realizar la apoptosis lo cual provoca cúmulos celulares. El cáncer puede ser provocado por factores externos y por factores internos.

Los tratamientos contra el cáncer son muy diversos y se deben de adaptar al tipo de cáncer y al paciente, pero los más comunes son la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. La quimioterapia es el uso de medicamentos antineoplásicos que provocan la destrucción o daño de las células tumorales bloqueando o interrumpiendo funciones celulares.

En la quimioterapia es imperativo el uso de fármacos con selectividad elevada, ya que esto implicaría la destrucción únicamente de las células afectadas por el cáncer dejando así intactas a las sanas y reduciendo los efectos secundarios de este tratamiento. Por esta razón en este trabajo se propone sintetizar dos compuestos del tipo pirroloisoquinolinas, las cuales como se presentó anteriormente presentan una citotoxicidad elevada, los cuales se espera que sean potentes y selectivos.

HIPÓTESIS

La modificación de la urea **3b**, al pasar de una estructura abierta a un sistema rígido, así como la eliminación del fragmento ciclohexilmetilo de la pirroloisoquinolina (**3a**), permitirá que los compuestos **4** y **5** tenga una mejor actividad citotóxica.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Comprobar que las modificaciones estructurales realizadas en los compuestos finales resultarán en un incremento en su actividad citotóxica.

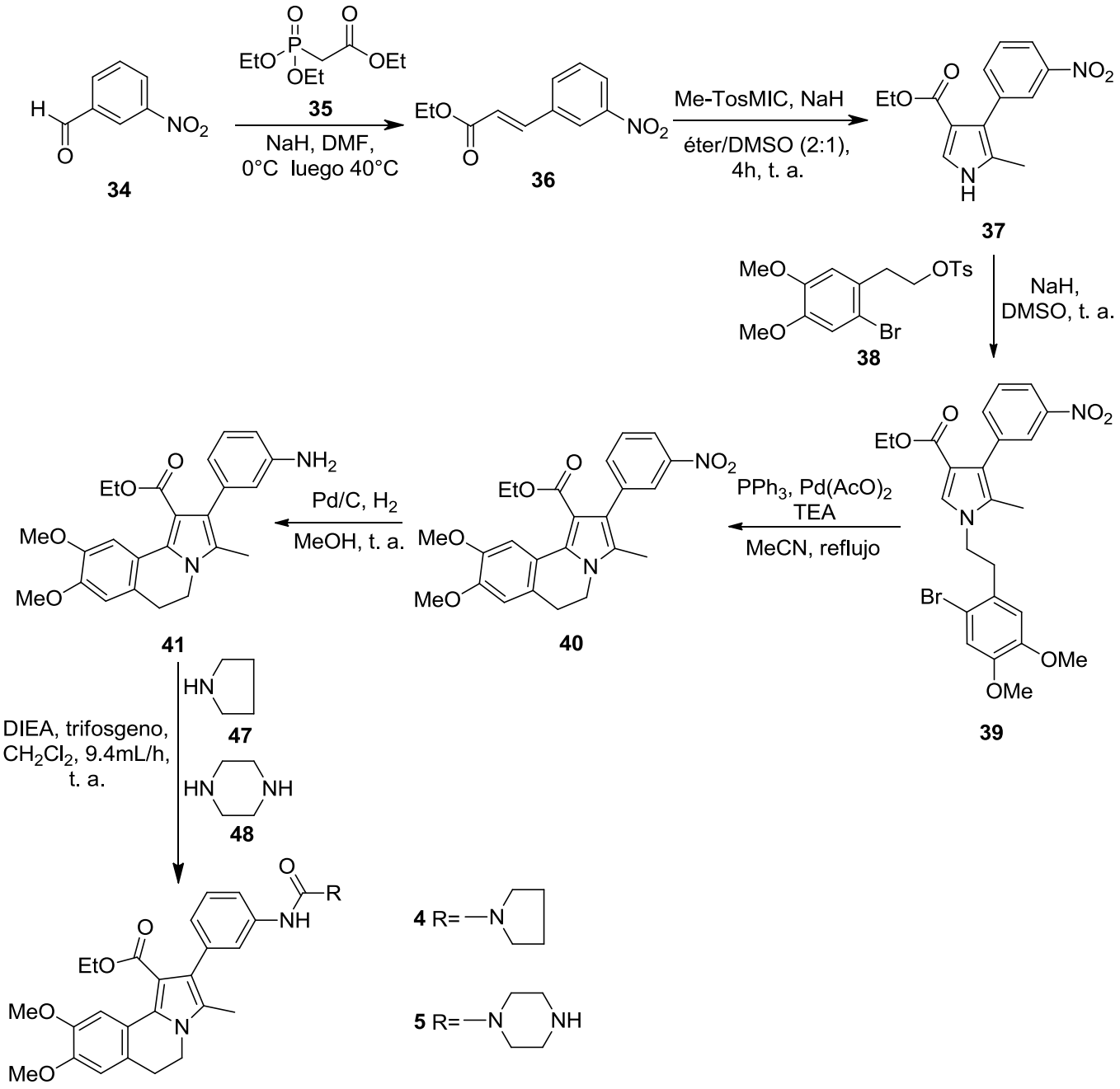
OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar el 8,9-dimetoxi-3-metil-2-(3-(pirrolidina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**4**).

- Sintetizar el 8,9-dimetoxi-2-(3-(piperazina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**5**).

- Evaluar la actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos **4** y **5** en seis líneas celulares neoplásicas: U-251 (SNC), PC-3 (Carcinoma Prostático Humano), K-562 (Leucemia Humana), HTC-15 (Cáncer de Colon), SKLU-1 (Adenocarcinoma de Pulmón Humano) y MCF-7 (Cáncer de Mama).

RUTA DE SÍNTESIS PROPUESTA



Esquema 9. Ruta de síntesis propuesta.

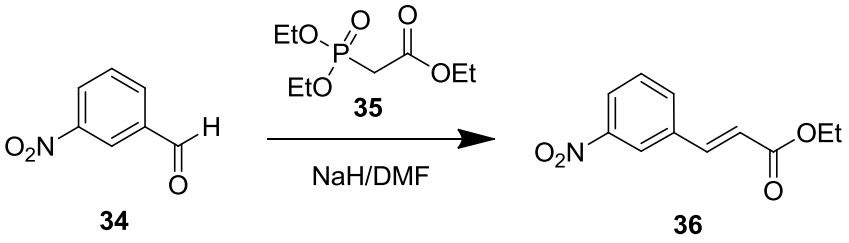
Se propuso que la síntesis de la molécula objetivo iniciaría con la obtención del cinamato **36** a través de una reacción de Horner-Emmons[24] entre el 3-nitrobenzaldehído (**34**) y el trietilfosfonoacetato de etilo (**35**). A continuación, se prepararía el pirrol trisustituido **37** por medio de una reacción de van Leusen, seguida de la N-alquilación del pirrol resultante, empleando para esto último el agente alquilante **38**. Después, se procedería a realizar la reacción de ciclación mediada por paladio con el objetivo de acceder al sistema pirroloisoquinolínico **40**, en el cuál más adelante, el grupo nitro sería reducido con H_2 catalizado con Pd/C, accediendo así al derivado de anilina **41**. Por último, el acoplamiento de la pirrolidina **47** y la piperazina **48** se efectuaría a través de la formación del correspondiente isocianato empleando trifosgeno y DIPEA en CH_2Cl_2.

[24] Wadswoth, W. S., Emmons W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

REACCIÓN DE HORNER-EMMONS

De acuerdo con el esquema general de síntesis (**Esquema 9**), el primer reto fue la formación del éster α,β-insaturado **36**. Para la síntesis del dicho cinamato, se hizo reaccionar el 3-nitrobenzaldehído (**34**) con el trietilfosfonoacetato de etilo (**35**) en presencia de una base.[25] En esta reacción, se forman iluros de fósforo estabilizados por medio de la reacción ácido-base entre el NaH y el fosfonoacetato, el anión resultante después lleva a cabo un ataque nucleofílico hacia el carbono carbonílico del 3-nitrobenzaldehído; a continuación, se forma un oxafosfetano que después se rompe dando como resultado el cinamato **36** deseado con un buen rendimiento (72%) después de su purificación por cromatografía en columna.



Esquema 10. Síntesis del 3-nitrocinamato de etilo (**36**).

[25] Wang, P.; Liu, C.; Sun, X.; Chen, S.; Li, J.; Xie, Z.; Tang, Y. *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 290-292.

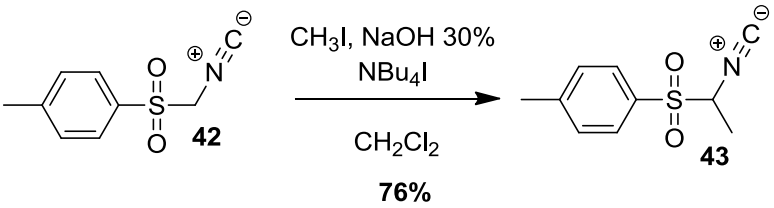
La estructura de **36** fue corroborada al comparar el punto de fusión del producto (74 °C), con el valor descrito en la literatura para el mismo compuesto (lit. 71 – 72 °C[26]).

OBTENCION DEL PIRROL 2,3,4-TRISUSTITUIDO **37** MEDIANTE LA REACCIÓN DE VAN LEUSEN

Para llevar a cabo la síntesis del pirrol **37** por medio de la reacción de van Leusen **(Esquema 11)**, fue necesario efectuar primero la alquilación del isocianuro, y esto se logró empleando una metodología ya reportada,[27] obteniendo en un principio un rendimiento de ~50%; sin embargo, la eficiencia de la reacción pudo elevarse hasta un 85% por medio de un ajuste de la temperatura de reacción, elevándola a un rango entre 5 y 10 ºC. Esta reacción siempre fue monitoreada con ccf con el fin de determinar el momento en el que toda la materia prima se hubiera consumido. Es importante hacer mención que una vez obtenido el producto, era imperativo que este fuera tratado y purificado lo más rápido posible ya que de lo contrario, comenzaba a descomponerse. El proceso de descomposición se podía observar a simple vista con el obscurecimiento repentino del producto. Un aspecto importante por mencionar es que el yoduro de tetrabutilamonio se emplea en la reacción ya que es un agente de transferencia de fases, el cual facilitó que ocurra la reacción

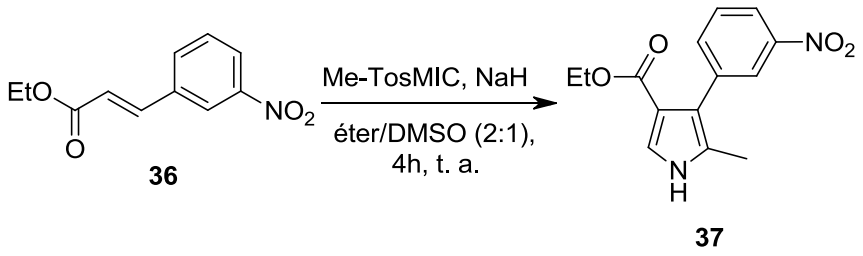
[26] Strawn, L. M.; Martell, E. R.; Simpson, U. R.; Leach, L. K.; Counsell, R. E. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2104-2110.
[27] van Leusen, A. M.; Siderius, H.; Hoogenboom, B. E.; van Leusen, D. *Tetrahedron Lett*. **1972**, *52*, 5337-5340.

ácido-base entre el NaOH (presente en la fase acuosa) y el TosMIC (presente en la fase orgánica). El anión así preparado posteriormente se alquila al reaccionar con el MeI; para lo cual es importante mantener una concentración baja de MeI en la reacción, ya que de lo contrario, se puede favorecer la formación del compuesto de dialquilación. Lo anterior se logra haciendo adiciones de MeI del alquilante cada hora y media asegurándose de que la agitación sea vigorosa promoviendo la colisión de las moléculas. Repitiendo las modificaciones se obtuvieron los rendimientos de hasta 85% del producto de monoalquilación con solo trazas del producto dialquilado.



Esquema 11. Síntesis del Me-TosMIC.

Después de la obtención y purificación del Me-TosMIC, este fue empleado junto con el alqueno **36** en la síntesis del pirrol trisustituido **37**, de acuerdo al procedimiento descrito por van Leusen y colaboradores.[27] La reacción fue relativamente limpia obteniéndose solo trazas de impurezas que después se eliminaron mediante purificación por cromatografía en columna. De esta forma, el compuesto deseado se obtuvo en un rendimiento del 76% (**Esquema 12**).



Esquema 12. Síntesis del pirrol trisustituido **37**.

La elucidación estructural del pirrol **37** se llevó a cabo por métodos usuales de espectroscopía y espectrometría, así, el espectro RMN-^{1}H mostró en 10.50 ppm una señal ancha que propia de H-N4; H-C9 se observó en 2.09 ppm como un singulete que integró para 3H; en 1.01 ppm (J = 7.1 Hz) apareció el triplete que corresponde a H-C8 cuya integración fue para 3H; H-C7 se observó como un cuadruplete en 3.95 ppm (J = 7.2 Hz) que integró para 2H; en 7.33 ppm (J = 3 Hz) se observó el doblete propio de H-C5 que integró para 1H. En cuanto al anillo de nitrobenceno, todas las señales de H se observaron cómo doble doble doblete. La primera de ellas apareció en 7.49 ppm (J_p = 0.6 Hz, J_o = 8.1 Hz) y correspondió a H-C14, la segunda se observó en 7.59 ppm (J_p = 1.2 Hz, J_m = 1.8 Hz, J_o = 7.6 Hz) y fue para H-C15, en tanto que H-C12 se encontró en 7.99 ppm, por último H-C11 se posicionó en 8.01 ppm (J_p = 0.6 Hz, J_m = 2.1 Hz).

La información antes descrita se complementó con las señales del espectro de RMN-^{13}C en el cual se observaron tres señales alifáticas en 11.4 ppm, 13.8 ppm y 58.8 ppm; que corresponden a C9, C8 y C7 respectivamente. También se observaron diez señales aromáticas, de los cuales cinco correspondieron a metinos y cinco a carbonos cuaternarios, los desplazamientos fueron los

siguientes: 113.9 ppm, 119.5 ppm, 120.6 ppm, 123.6 ppm, 123.8 ppm, 125.5 ppm, 127.7 ppm, 128.5 ppm, 136.9 ppm y 137.8 ppm. Por último el carbono de carbonilo (C12) apareció en 164.0 ppm.

Por otra parte, en el espectro de IR se observaron bandas características para los grupos funcionales presentes en la molécula, la banda que aparece en 3281 cm^{-1} corresponde al vibración de alargamiento del enlace NH, en 1511 cm^{-1} el estiramiento de NO_2 y en 1676 cm^{-1} el estiramiento del carbonilo del éster. En tanto en el espectro de masas se observó un ion molecular a m/z 274, que es el que se espera para esta molécula.

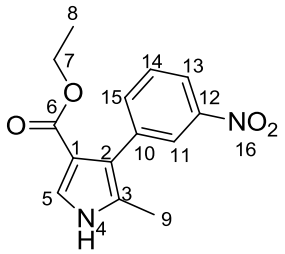
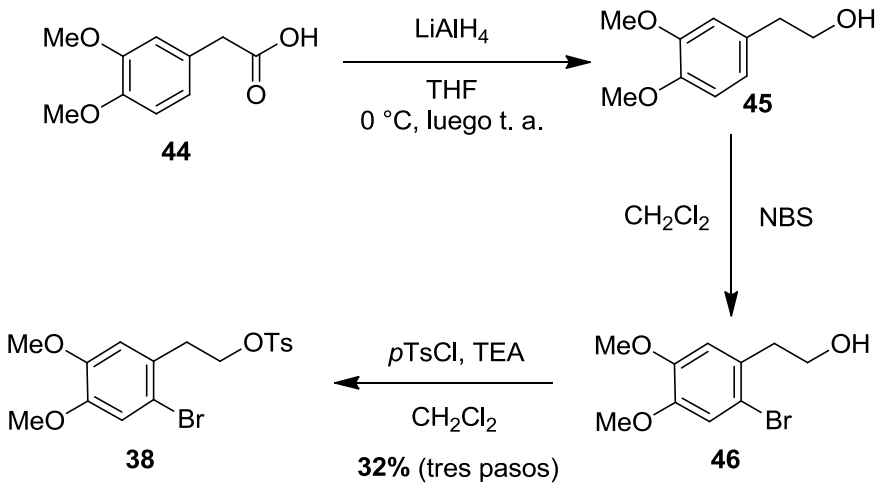


FIGURA 3. Caracterización del compuesto **37**.

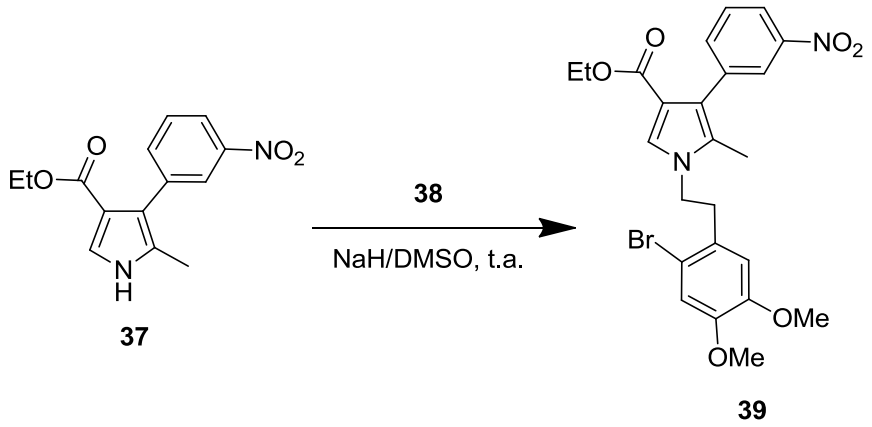
ALQUILACIÓN DEL PIRROL TRISUSTITUIDO **37** CON EL AGENTE ALQUILANTE **38**

Con el fin de obtener el producto de *N*-alquilación **39**, primero se preparó el agente alquilante **38**, el cual fue obtenido reduciendo el ácido 2-(3,4-dimetoxifenil)acético (**44)**, hasta el correspondiente alcohol (**45**), posteriormente se bromó el anillo aromático con NBS y finalmente se tosiló con cloruro de *p*-toluensulfonilo. Las reacciones fueron muy limpias, obteniéndose solo trazas de impurezas en cada paso. Al final se logró preparar el éster sulfónico en un rendimiento total de 32% (tres pasos). El compuesto **38** se caracterizó mediante p.f. el cual concordó con lo encontrado en la literatura (66 ºC).



Esquema 13. Síntesis del agente alquilante **38**.

Después de sintetizar el compuesto **38**, éste fue utilizado en la *N*-alquilación del pirrol **37**, en presencia de NaH y DMSO anhidro como disolvente bajo agitación continua a temperatura ambiente (**Esquema 14**). La reacción fue muy limpia y únicamente se observaron trazas de materia prima sin reaccionar. Algo importante que se debe mencionar es que el agente alquilante se adicionó después de una hora de colocar en reacción el pirrol **37** con el NaH en DMSO. El producto deseado **39** se purificó por cromatografía en columna, y se obtuvo con un rendimiento del 71%.



Esquema 14. Adición del agente alquilante **38**.

El espectro de RMN-^{1}H del compuesto alquilado **39**, muestra en campo alto a H-C8 como un triplete en 1.15 ppm (J = 6.9 Hz) que integró para 3H; H-C18 y H-C19 se mostraron como dos singuletes en 3.75 ppm y 3.87 ppm respectivamente e integraron para 3H cada uno; H-C9 apareció como un singulete en 1.96 ppm que integró para 3H; H-C10 y H-C11 aparecieron como dos tripletes en 4.13 ppm (J = 7.2 Hz) y 3.11 ppm (J = 7.2 Hz) e integraron cada uno para 2H; H-C7 apareció

como un cuadruplete en 4.13 ppm (J = 7.2 Hz) que integró para 2H. En campo más bajo apareció H-C13 y H-C16 como dos singuletes en 6.40 ppm y en 7.04 ppm integrando para 1H cada uno; H-C5 apareció en 7.33 ppm como un singulete cuya integración fue para 1H; H-C24 se observó cada uno como una señal doble de triples en 7.55 ppm (J_m = 1.5 Hz, J_o = 7.5 Hz), en tanto que H-C25 se observó como un multiplete de 7.53 a 7.46 ppm; H-C21 se presentó como un doble de dobles en 8.14 ppm (J_m = 1.5 Hz, J_m = 2.4 Hz) e integró para 1H; por último H-C23 apareció como un multiplete de 8.12 a 8.10 ppm cuya integración correspondió a 1H.

El espectro de carbono 13 mostró siete señales para carbonos alifáticos; en 9.9 ppm, 14.2 ppm, 37.8 ppm, 47.1 ppm, 56.0 ppm, 56.2 ppm y 60.0 ppm; que corresponden a C9, C8, C11, C10, C19, C18 y C7 respectivamente. Además, se presentaron dieciséis carbonos aromáticos, de los cuales siete fueron metinos y las restantes nueve correspondieron a carbonos cuaternarios 113.3 ppm, 113.4 ppm, 114.2 ppm, 115.6 ppm, 120.8 ppm, 121.2 ppm, 125.6 ppm, 126.4 ppm, 128.2 ppm, 128.4 ppm, 128.5 ppm, 136.9 ppm, 137.3 ppm, 147.7 ppm, 148.5 ppm y 148.8 ppm. Por último, el carbono carbonílico (C6) se observó en 164.3 ppm.

En lo que respecta al espectro de IR, se observó la desaparición de la señal del estiramiento de NH lo cual indica que el pirrol **37** se alquiló satisfactoriamente, y se siguieron observando tanto el estiramiento de NO_2 en 1514 cm^{-1} como el estiramiento del carbonilo del éster en 1706 cm^{-1}. En el espectro de masas se detectó la presencia del ion molecular esperado a m/z 516, así como la contribución isotópica hecha por el átomo de bromo a m/z 518.

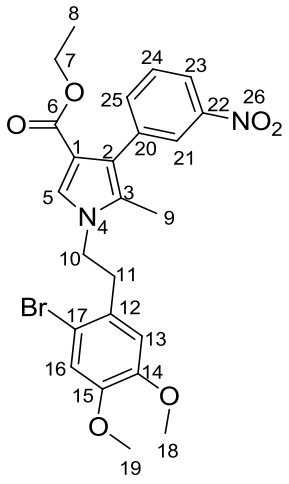


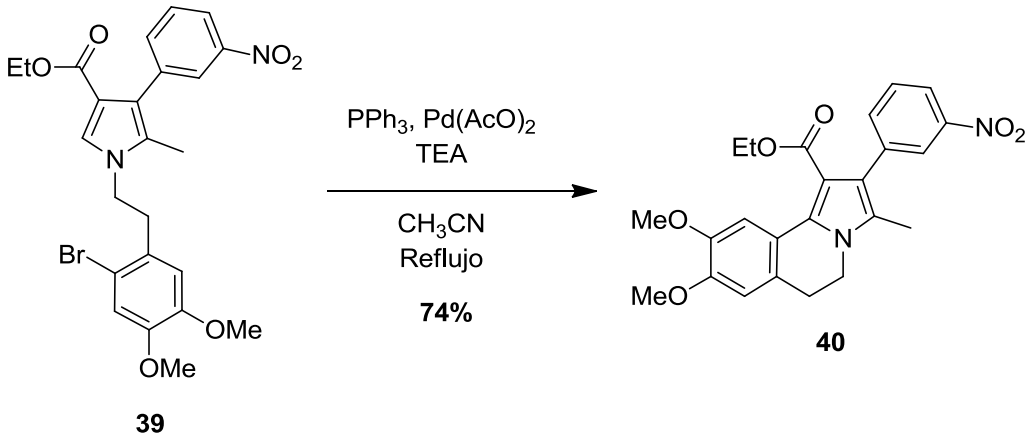
FIGURA 4. Caracterización del compuesto **39**.

CIERRE DEL ANILLO PARA LA OBTENCIÓN DE LA PIRROLO[2,1-*a*]ISOQUINOLINA **40**

Con el pirrol trisustituido alquilado de manera exitosa se procedió a realizar el cierre del anillo para obtener el compuesto **40**, mediante una reacción de Heck empleando como catalizador $Pd(AcO)_2$.[28] Este método fue seleccionado ya que reacciones de este tipo son muy socorridas para la creación de enlaces carbono-

[28] Chen, W.; Li, R.; Han, B.; Li, B. J.; Chen, Y. C.; Wu, Y.; Ding, L. S.; Yang, D. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1177-1184.

carbono[29]; además, ya se tenía la experiencia de haber trabajado con este proceso para la obtención de moléculas similares[9] (**Esquema 15**).



Esquema 15. Reacción de Heck para la obtención de la pirroloisoquinolina **40**.

En la reacción únicamente se observó la formación del producto deseado, aunque es importante señalar que la materia prima no se consumió por completo al monitorearla con ccf, incluso ni al incrementarse el tiempo de reacción. Después de purificar la mezcla de reacción, el compuesto **40** se obtuvo en 74% de rendimiento, considerando la materia prima que fue recuperada.

El espectro de protón de la isoquinolina **40** mostró H-C5 y H-C6 como dos tripletes que integraron para 2H para cada una en 3.96 ppm (J = 6.3 Hz), (traslapado con la señal del metoxilo H-C15) y 3.02 ppm (J = 6.6 Hz); H-C10 y H-C7 se observaron

[29] Lauer, M. G.; Thompson M. K.; Shcaughnessy, K. H. *J. Org. Chem.* **2014** (DOI: 10. 1021/jo501840u).

como dos singuletes en 8.03 ppm y 6.74 ppm, respectivamente, que integraron cada uno para 1H; para H-C12 y H-C13 el espectro mostró un cuadruplete en 4.04 ppm (J = 7.2 Hz) que integró para 2H y un triplete en 0.89 ppm (J = 7.2 Hz) que integró para 3H; el metilo H-C14 se mostró como un singulete que integró para 3H en 2.17 ppm; en tanto que las señales para los metoxilos H-C15 y H-C16 aparecieron como dos singuletes grandes que integraron para 3H cada uno en 3.94 ppm y 3.92 ppm respectivamente; H-C18 se mostró como un doble de dobletes en 8.16 ppm (J_m = 1.2 Hz, J_m = 2.4 Hz) que integró para 1H; en cuanto a H-C20, este se presentó como una señal múltiple, de 8.18 a 8.14 ppm que cuya integración fue para 1H; H-C21 se observó en 7.52 ppm (J_m = 0.9 Hz, J_o = 7.5 Hz) como un triple doblete con una integral de 1H; y por último H-C22 se encontró en 7.59 ppm (J_m = 1.5 Hz, J_o = 7.5 Hz) como un doble triplete integrando para 1H.

La información antes descrita se complementó con el espectro de RMN-^{13}C de **40**, en el que se identificaron siete señales alifáticas en 10.3 ppm, 13.7 ppm, 29.1 ppm, 41.3 ppm, 55.9 ppm, 56.0 ppm y 59.9 ppm; que correspondieron a C14, C13, C6, C5, C16, C15 y C12, respectivamente. También se observaron dieciséis señales aromáticas, de las cuales seis fueron carbonos metínicos y correspondieron a 110.5 ppm, 110.8 ppm, 120.9 ppm, 125.1 ppm, 128.3 ppm y 136.4 ppm; asimismo, se observaron diez carbonos cuaternarios presentes en 109.5 ppm, 120.8 ppm, 121.5 ppm, 125.5 ppm, 126.1 ppm, 132.1 ppm, 138.7 ppm, 147.6 ppm, 147.8 ppm y 148.8 ppm. Por último, el carbono carbonílico C12 apareció en 166.0 ppm.

El espectro de IR de la isoquinolina **40** mostró la señal del estiramiento del grupo nitro en 1517 cm^{-1}, en tanto que en 1709 cm^{-1} se distinguió la correspondiente al carbonilo del éster. Por último, en el espectro de masas se observó un ion molecular de m/z 436 que es el que se esperaba para esta molécula.

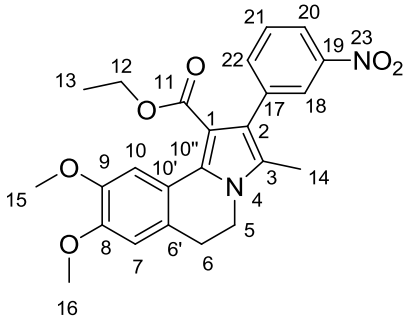
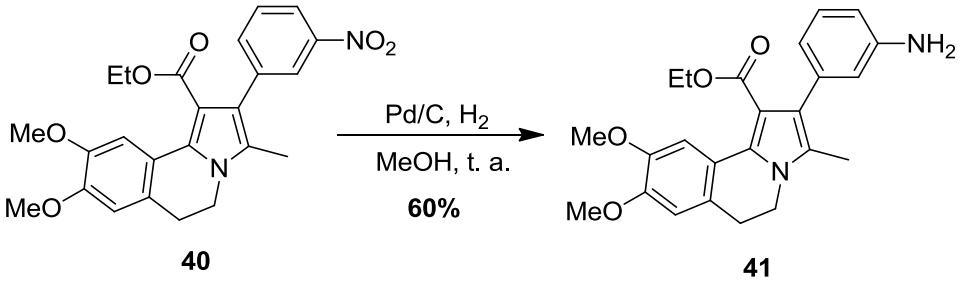


Figura 5. Estructura de la pirroloisoquinolina **40**.

REDUCCIÓN DEL GRUPO NITRO PARA OBTENER LA PIRROLOISOQUINOLINA SUSTITUIDA CON UNA AMINA PRIMARIA **41**

Después de realizar el cierre del ciclo de la pirroloisoquinolina **40**, se procedió a reducir el grupo nitro presente en dicha molécula, mediante una hidrogenación catalítica con Pd/C en MeOH como disolvente. En esta reacción se pierden dos moléculas de agua y se adicionan dos hidrógenos al nitrógeno. De esta manera, se obtuvo la amina primaria **41** en un rendimiento regular de tan solo el 60%

(**Esquema 16**); dado que en el experimento se observó una gran cantidad de subproductos.



Esquema 16. Reducción del grupo nitro para obtener la pirroloisoquinolina **41**.

La caracterización de **41**, se logró utilizando los métodos espectroscópicos usuales: su espectro de RMN de protón mostró los H del grupo amino como un singulete ancho que integró para 2H en 3.46 ppm; H-C10 se observó como una señal simple en 7.95 ppm; en tanto que H-C7 apareció como un multiplete de 6.60 a 6.71 ppm, integrando ambos para 1H; las señales para H-C12 y H-C13 se observaron en el espectro como un cuadruplete en 4.05 ppm (J = 7.2 Hz) y como un triplete en 0.96 ppm (J = 7.2 Hz), integrando la primera de ellas para 2H, en tanto que la segunda integró para 3H; los metoxilos H-C16 y HC15 se observaron como singuletes en 3.90 ppm y 3.91 ppm e integraron para 3H cada uno; el metilo H-C14 se mostró como un singulete, cuya integración correspondió a 3H en 2.18 ppm.

La información antes descrita fue complementada con su espectro de RMN-^{13}C, identificándo en este siete señales alifáticas en 10.3 ppm, 13.7 ppm, 29.1 ppm, 41.1 ppm, 55.9 ppm, 56.0 ppm y 59.9 ppm; que correspondieron a C14, C13, C6, C5, C16, C15 y C12 respectivamente. También se observaron dieciséis señales aromáticas, de las cuales seis fueron para CH aromáticos (110.0 ppm, 110.6 ppm, 112.9 ppm, 116.9 ppm, 120.7 ppm y 128.5 ppm), y nueve correspondieron a señales de carbonos aromáticos cuaternarios (121.4 ppm, 123.6 ppm, 125.1 ppm, 125.4 ppm, 130.4 ppm, 137.5 ppm, 145.7 ppm, 147.7 ppm y 147.9 ppm). Por último, la presencia del carbono carbonílico C12 fue manifiesta por la señal en 167.2 ppm.

En su espectro de IR se logró identificar el estiramiento de NH en 3455 cm^{-1}, y la banda correspondiente al carbonilo del éster en 1691 cm^{-1}. Por último, el espectro de masas mostró la presencia del ion molecular de a m/z 406 que era el esperado para esta molécula.

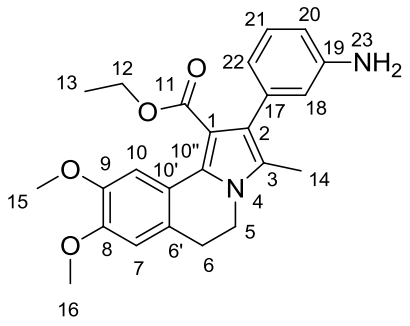
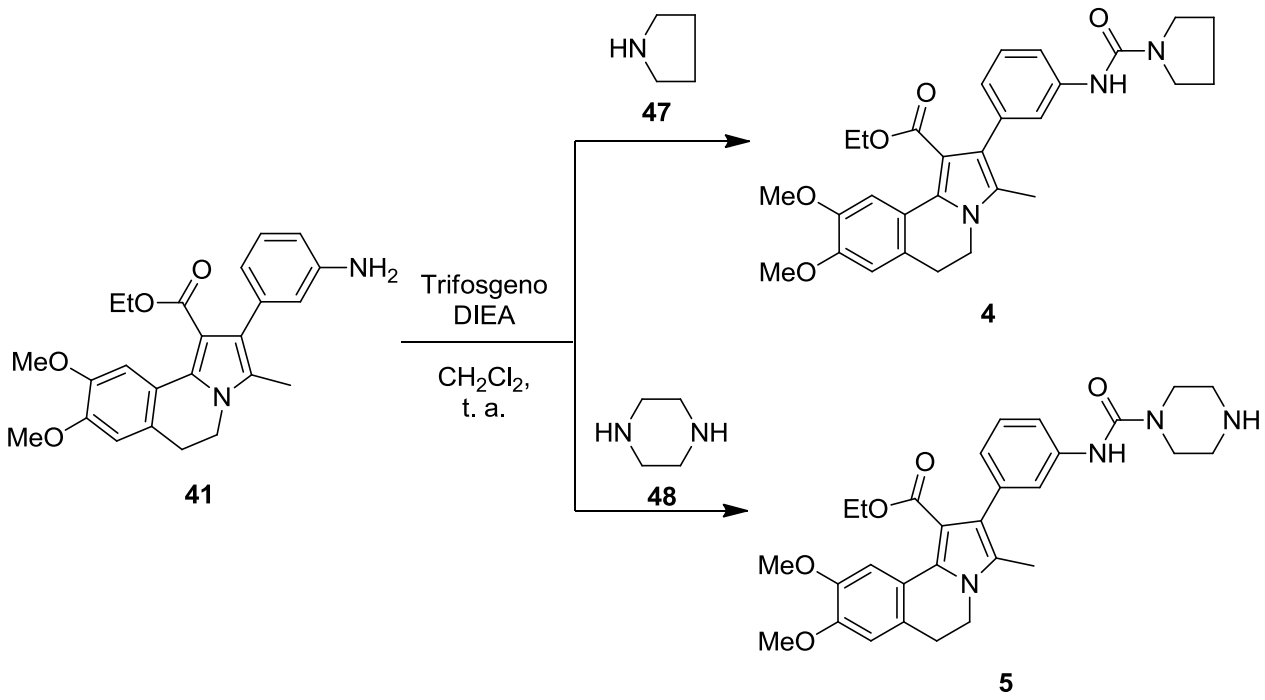


Figura 6. Caracterización del compuesto **41**.

SÍNTESIS DE LAS UREAS NO SIMÉTRICAS **4** Y **5**

Una vez preparada la amina primaria **41,** se continuó con la formación de las ureas no simétricas **4** y **5**, utilizando el método reportado por Majer,[19] el cual es un proceso *one-pot* donde se hacen reaccionar dos aminas en presencia de trifosgeno, utilizando como disolvente diclorometano. De acuerdo con el mecanismo de esta reacción, primero ocurre la formación de un isocianato[30] por la reacción entre la amina primaria con el trifosgeno en presencia de una amina terciaria (DIPEA); a continuación, la amina secundaria correspondiente reacciona con el carbono electrofílico del isocianato dando la correspondiente urea. La reacción se hizo en dos ocasiones, en el primer experimento se empleó como amina secundaria la piperazina (**48**), lo cual generó la urea **5** con un rendimiento bajo (35%). En tanto que en el segundo caso, la amina secundaria fue la pirrolidina (**47**), dando como resultado el compuesto **4** con 28% de rendimiento. Una posible explicación para los rendimientos bajos de ambas transformaciones, es que no toda la materia prima se consumió lo que puede implicar que, en las condiciones en que se realizó la reacción, es poco reactiva. No se intentó optimizar las reacciones por cuestiones de tiempo, aunado a que se habían obtenido cantidad suficiente de los productos tanto para su caracterización como para la determinación de su actividad citotóxica.

[30] Nowick, J. S.; Powell, N. A.; Nguyen, T. M.; Noronha, G. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7365-7366.



Esquema 17. Síntesis de las ureas no simétricas **4** y **5**.

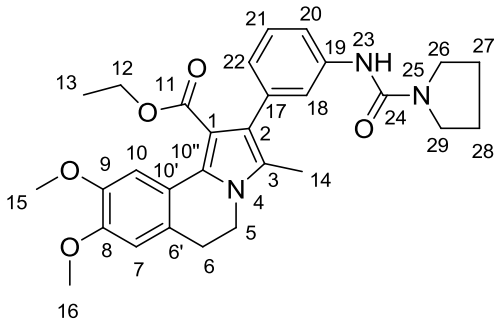
La elucidación estructural del compuesto **4** comenzó examinando su espectro de RMN-^{1}H en el cual se pudo apreciar que los hidrógenos del anillo de la pirrolidina, H-C26 y H-C29, dan un solo triplete en 3.46 ppm (J = 6.0 Hz) y que integró para 4H; en tanto que H-C27 y H-C28 se observaron como un único doble triplete en 1.97 ppm, que integra para 4H. En 0.93 ppm (J = 7.2 Hz) se observó un triplete que correspondió a H-C13 e integró para 3H. El hidrógeno del grupo urea (H-N23) se observó como un singulete pequeño a 6.17 ppm e integró para 1H. Para el caso de H-C22, esta señal apareció como un doble triplete en 6.92 ppm (J_o = 7.8 Hz, J_m = 1.5 Hz) e integró para 1H; H-C21 se encontró como un triplete en 7.26 ppm (J_o = 8.1 Hz) que integró para 1H; H-C18 también se mostró como un triplete

pero en 7.15 ppm (J_m = 1.8 Hz); H-C20 se observó como un doble doble doblete en 7.49 ppm (J_o = 8.1 Hz, J_m = 2.3 Hz, J_p = 1.2 Hz) cuya integración fue para 1H. En lo que respecta a H-C14, este se presentó en 2.15 ppm como un singulete que integró para 3H; H-C12 se encontró como un cuadruplete en 4.04 ppm (J = 7.2 Hz) con una integración para 2H. De 3.96-3.85 ppm se observó una señal múltiple que integró para 8H, en esta se encuentran presentes H-C16, H-C15 y H-C5; para H-C10 y H-C7 se observaron dos singuletes, el primero en 7.97 ppm y el segundo en 6.72 ppm, los dos integrando para 1H; finalmente H-C6 se presentó como un triplete en 2.98 ppm (J = 6.6 Hz) e integró para 2H.

La información descrita arriba fue corroborada por el espectro de RMN-^{13}C de **4**, en el cual fue posible observar 27 señales, de las cuales nueve correspondieron a carbonos alifáticos, dos a carbonos carbonílicos, seis carbonos metínicos aromáticos y diez a carbonos cuaternarios aromáticos. Después del análisis minucioso del espectro, la asignación quedó establecida de la forma en que se presenta en la Tabla 2.

En el espectro de IR del compuesto **4**, se pudo identificar la señal del estiramiento del C-N en 1211 cm^{-1}, la banda correspondiente al grupo carbonilo del éster en 1654 cm^{-1} y el estiramiento N-H en 3382 cm^{-1}. Finalmente, en su espectro de masas se observó un ion molecular a m/z 504, que corresponde a su peso molecular.

Tabla 2. Caracterización del compuesto **4**



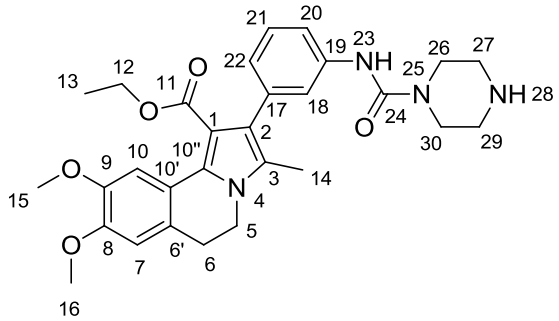
C aromáticos		C alifáticos	C=O
147.9 ppm C8	123.4 ppm C22	59.9 ppm C12	167.1 ppm (éster)
147.7 ppm C9	121.4 ppm C10’	55.96 ppm C15	153.9 ppm (urea)
138.6 ppm C2	121.1 ppm C20	55.91 ppm C16	
137.1 ppm C17	117.3 ppm C18	45.8 ppm C26, C29	
130.7 ppm C19	110.6 ppm C1	41.1 ppm C5	
128.2 ppm C21	110.3 ppm C7	29.7 ppm C27, C28	
125.7 ppm C10’’	110.1 ppm C10	25.6 ppm C6	
125.2 ppm C6’		13.7 ppm C13	
124.7 ppm C3		10.3 ppm C14	

En lo concerniente al triciclo **5**, en su espectro de RMN-^{1}H se observa el desplazamiento químico de los metilenos de la piperazina en 3.52 (H-C26 y H-C30) y 3.32 ppm (H-C27 y HC29), los cuales fueron dos singuletes anchos, que integraron para 4H cada uno; H-N28 se observó como un singulete ancho en 1.99

ppm que integró para 1H; H-N23 apareció como un singulete en 8.54 ppm cuya integral también fue para 1H; para el sistema aromático se tiene que H-C22 se observó como un doblete en 6.75 ppm (J = 7.5 Hz) cuya integración fue para 1H; H-C21 se encontró en 7.20 ppm (J = 7.8 Hz) como un triplete que integró para 1H. El espectro también mostró en 7.38 ppm a H-C20 como un doblete (J = 7.5Hz) cuya integración fue para 1H, esta señal se encontró traslapada con el singulete perteneciente a H-C18 en 7.35 ppm cuya integral fue para 1H. En lo que respecta al esqueleto de la isoquinolina y sus sustituyentes: H-C14 apareció como un singulete en 2.18 ppm que integró para 3H; H-C13 se mostró como un triplete en 0.90 ppm (J = 6.9 Hz) con una integración para 3H; H-C12 fue un cuadruplete en 4.01 ppm (J = 6.9 Hz) que integró para 2H; para H-C15 y H-C16 se observaron dos singuletes en 3.75 ppm y 3.81 ppm integrando cada uno para 3H; para H-C10 y H-C7 se observaron dos singuletes, el primero a 7.74 ppm y el segundo en 6.92 ppm, integrando ambos para 1H; finalmente H-C6 y H-C5 aparecieron en el espectro como dos tripletes, el primero en 2.97 ppm (J = 6.6 Hz) y el segundo en 3.94 ppm (J = 6.0 Hz), este último traslapado con H-C12, cada uno de ellos integró para 2H.

La información descrita arriba fue corroborada con el espectro de RMN-^{13}C de 5, en el cual fue posible observar 27 señales de carbonos distintos, nueve de los cuales correspondieron a carbonos alifáticos, dos a carbonos carbonílicos, seis carbonos metínicos aromáticos y diez carbonos cuaternarios aromáticos. Después de analizar minuciosamente de cada una de las señales, estas fueron asignadas de acuerdo a lo expresado en la Tabla 3.

Tabla 3. Caracterización del compuesto **5**.



C aromáticos		C alifáticos	C=O
147.7 ppm C8	120.8 ppm C22	57.4 ppm C12	164.4 ppm (éster)
145.2 ppm C9	119.2 ppm C10’	53.6 ppm C15	153.1 ppm (urea)
137.9 ppm C2	118.7 ppm C20	53.55 ppm C16	
134.2 ppm C17	115.1 ppm C18	43.9 ppm C27, C29	
127.6 ppm C19	109.5 ppm C1	41.8 ppm C26, C30	
125.5 ppm C21	108.1 ppm C7	27.1 ppm C5	
123.7 ppm C10’’	107.6 ppm C10	26.4 ppm C6	
123.5 ppm C6’		11.6 ppm C13	
121.3 ppm C3		8.1 ppm C14	

Su espectro de IR mostró la señal para el estiramiento de N-H en 3415 cm^{-1}, la del carbonilo del éster en 1644 cm^{-1}y la del estiramiento del N-C en 1223 cm^{-1}.En

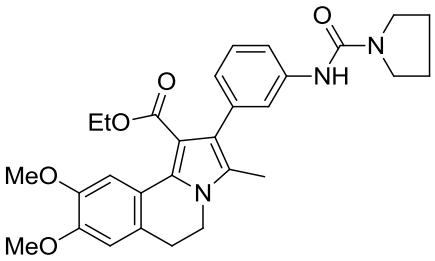
tanto que su espectro de masas exhibió un ion molecular a m/z 518, que corresponde al peso molecular de **5**.

PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD

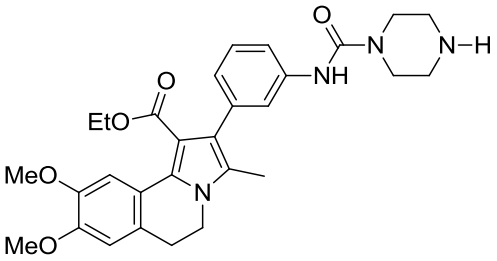
Una vez preparados los compuestos deseados, estos se evaluaron en cuanto a su actividad citotóxica en seis líneas celulares neoplásicas, primero se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento celular micromolar (%IC) para clasificar a las estructuras como activas o inactivas, y después se determinó la concentración inhibitoria 50 (IC_{50}) de las moléculas en las líneas celulares en las que hayan sido activas. El %IC se determinó utilizando placas de microcultivo de 96 pozos cada una, en las cuales se colocaron por duplicado 100 μL de la línea celular correspondiente junto con un blanco; estas se incubaron por 24 horas a 37 °C en atmósfera con 5% de CO_2. A continuación, se adicionó 100 μL de los compuestos químicos a evaluar, y después se volvió a incubar por 48 horas a 37 °C. Posteriormente se fijaron las células neoplásicas con ácido tricloroacético, se trataron con sulforrodamina B y se leyó la densidad óptica. Esto se realizó con un lector de microplaca Bio Kinetis a una absorbancia de 515 nm. La intensidad del color es directamente proporcional al número de células vivas.

En la siguiente tabla se tienen contenidos los resultados obtenidos para las pirroloisoquinolinas evaluadas a una concentración de 50 μM:

Tabla 4. Valores de % de inhibición del compuesto **4** y **5** en seis líneas celulares cancerosas.



4



5

Compuesto	PC-3 (próstata)	U-251 (SNC)	K-562 (leucemia)	HCT-15 (colon)	MCF-7 (mama)	SKLU-1 (pulmón)
4	71.8	50.4	54.2	SA	SA	SA
5	12.1	21.1	SA	SA	39.5	39.9

Como puede observarse, el compuesto **5** no presentó un porcentaje de inhibición mayor al 50% en ninguna línea celular por lo que fue considerado inactivo. De esta manera se concluyó que el incremento de la rigidez en el fragmento de la urea, hizo que se perdiera completamente la actividad en comparación con **3b**, posiblemente al inhibir el establecimiento de interacciones débiles.

Con respecto al compuesto **4**, este presentó una inhibición mayor al 50% en tres líneas celulares, razón por la cual se procedió a determinar el IC_{50}. Para obtener la IC_{50} de los compuestos a evaluar se utilizaron también placas de microcultivo y se adiciona en cada pozo 100 μL de los compuestos evaluados, en

concentraciones de 3.1, 10, 31 y 100 μL, y se incuban a 37 °C durante 48 horas en atmósfera con 5% de CO_2. Posteriormente se fijaron las células, se adicionó la sulforrodamina B y se leyó la densidad óptica igualmente como en el %IC. Una vez con los datos de IC_{50} se construyeron curvas de concentración donde los valores de la dosis son "X" y %IC son "Y". Los resultados se obtuvieron mediante la ecuación obtenida por tratamiento de los datos con una regresión lineal. Dichos resultados se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 5. Valores de concentración inhibitoria (IC_{50}) del compuesto **4** en tres líneas celulares.

Compuesto	**PC-3** (próstata)	**U-251** (SNC)	**K-562** (leucemia)
4	21.52 ± 1.2 μM	42.99 ± 3.8 μM	29.61 ± 1.1 μM

En la **Tabla 5** se observa que la pirroloisoquinolina **4** fue más activa para la línea celular **PC-3** ya que su concentración inhibitoria fue la menor de las tres, en tanto que en la línea de SNC se obtuvo el valor más elevado, y por consiguiente el menos activo de los 3. Al comparar los resultados con los del compuesto **3a**, se puede observar que la presencia del fragmento de ciclohexilmetilo en el sistema pirroloisoquinolínico incrementa la actividad citotóxica, posiblemente mediante el establecimiento de interacciones importantes (van der Waals) con el sitio de unión.

CONCLUSIONES

- Se realizó la síntesis del 8,9-dimetoxi-3-metil-2-(3-(pirrolidina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (**4**), con un rendimiento global de 4.8%, en una síntesis de 6 pasos de reacción.
- Se realizó con éxito la síntesis del derivado del 2-(3-aminofenil)-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-caboxilato de etilo (**5**), con un rendimiento global del 5.8%, empleando una síntesis de 6 etapas de reacción.
- El compuesto **4** resultó tener una actividad citotóxica para la línea celular U251 de 42.99 ± 3.8 μM, para K562 de 29.61 ± 1.1 μM y de 21.52 ± 1.2 μM para la línea celular PC-3.
- El compuesto **5** resultó tener una actividad citotóxica nula al no inhibir más del 50 % del crecimiento celular en las líneas celulares probadas.
- Los cambios propuestos para los compuestos **3a** y **3b** no dieron los resultados esperados, ya que las moléculas planteadas presentaron una disminución considerable de la actividad biológica.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

CONSIDERACIONES GENERALES

- El seguimiento de la reacciones se realizó con cromatofolios Alugram (gel de sílice 60 con indicador fluorescente UV_{254}). Estas fueron reveladas haciendo uso de luz ultravioleta, ninhidrina, vainillina, yodo y permanganato de potasio.
- Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice 230-400 mallas, empleando como eluyentes mezclas de hexano y acetato de etilo, o bien de acetona y metanol de polaridad variada.
- Los puntos de fusión están reportados en ºC, fueron determinados en un aparato Melp-Temp II y no están corregidos.
- Los espectros de IR se obtuvieron en un espetrofotómetro Bruker FT-IR Tensor 27, usando las técnicas de pastilla de KBr o película.

  Los espectros de RMN-^{1}H y ^{13}C se adquirieron en un equipo Eclipse 300 MHz JEOL utilizando cloroformo deuterado ($CDCl_3$) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna (0 ppm), o bien empleando dimetilsulfóxico (DMSO-d_6). El desplazamiento químico está expresado en partes por millón (ppm), la terminología utilizada es: s = singulete, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete, m = multiplete, dd = doble doblete, ddd = doble doble doblete y td = triple doblete, y las constantes de acoplamiento

(*J*) se reportan en Hertz (Hz). Las señales en los espectros de ^{13}C fueron identificadas con ayuda de experimentos tipo DEPT.

- Los espectros de masas se colectaron en los espectrómetros JEOL JMS AX-505 HA, JEOL SX 102 A y JEOL JMS-T100LC por medio de las técnicas de ionización de impacto electrónico (IE), bombardeo por átomos rápidos (FAB+) y análisis directo en tiempo real (DART).

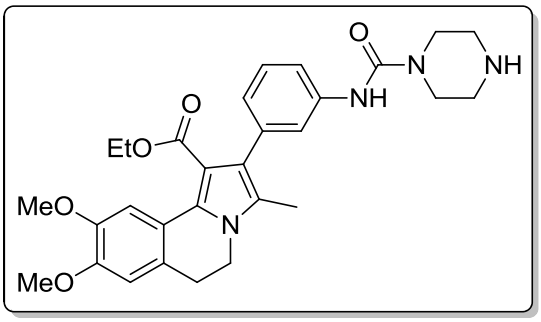
PARTE SINTÉTICA

PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE UREAS NO SIMÉTRICAS

PROCEDIMENTO GENERAL

En un matraz bola de 25 mL, acondicionado con agitación magnética y una aguja para escape de gases, se preparó una solución formada por 0.015 g (0.51 mmol) de trifosgeno en 1.1 mL de CH_2Cl_2. Luego, con una bomba de adición se añadió a esta mezcla una solución compuesta por 0.049 g (0.121 mmol) de la amina primaria (**41**) y 0.05 mL (16 mmol) de DIPEA en 1.8 mL de CH_2Cl_2, a una velocidad de 9.4 mL/h. Al terminar el tiempo de adicción, se retiró la bomba y se dejó agitar por 10 min más, a continuación se añadió en una sola adición una mezcla de 22 mmol de la amina secundaria de interés diluida en 1.1 mL de CH_2Cl_2. La reacción se agitó por aproximadamente 30 min y fue monitoreada por ccf. El producto crudo se extrajo con CH_2Cl_2, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro para después ser purificado por cromatografía en columna con gel de sílice, utilizando mezclas de hexano y acetato de etilo como eluyentes.

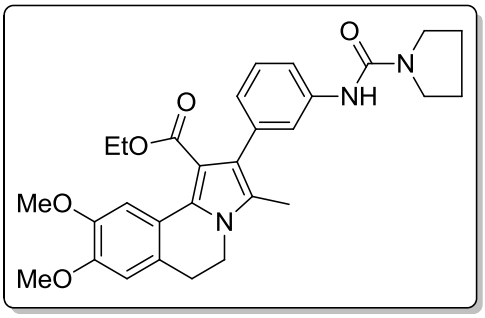
8,9-Dimetoxi-2-(3-(piperazina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (5)



Fue obtenida, a partir del método general para la obtención de ureas no simétricas, usando la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina (**41**) como amina primaria y piperazina (**48**) como amina secundaria como un sólido blanco en 35% de rendimiento.

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0.90 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 1.99 (s, 1H), 2.18 (s, 3H), 2.97 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.32 (s, 4H), 3.52 (s, 4H), 3.75 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.94 (t, J = 7.2 Hz, 2H) 4.01 (c, J = 6.9 Hz 2H), 6.75 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 7.20 (t, J = 7.8 Hz, 1H),7.35 (s, 1H) 7.38 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 8.54 (s, 1H); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 8.1, 11.6, 26.4, 27.1, 41.8, 43.8, 53.5, 53.6, 57.4, 109.4, 109.8, 111.4, 117.0, 120.6, 121.0, 122.6, 123.4, 125.3, 125.6, 127.3, 129.5, 136.0, 139.7, 147.0, 147.7, 155.0, 166.3; **EM** (DART) m/z (%) 518 M^+ (6), 435 $[M-83]^+$ (11), 433 $[M-85]^+$ (100), 434 $[M-84]^+$ (31), 432 $[M-86]^+$ (17), 117 $[M-401]^+$ (42), 89 $[M-429]^+$ (22); **IR** (Pastilla-KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3415, 2921, 1644, 1531, 1223, 1146, 1077; **p. f.** 254–256 °C.

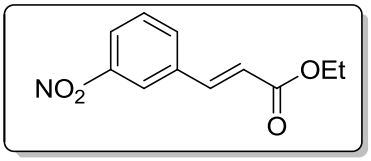
8,9-Dimetoxi-3-metil-2-(3-(pirrolidina-1-carboxamido)fenil)-5,6-dihidropirrolo [2,1-a]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (4)



Fue obtenida a partir del método general para la obtención de ureas no simétricas usando la pirrolo[2,1-*a*]isoquinolina (**41**) como amina primaria y pirrolidina (**47**) como amina secundaria como un sólido amarillento que se funde a 84 °C en 28% de rendimiento.

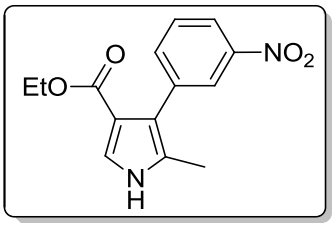
RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.97 (dt, J = 6 Hz, J = 3 Hz, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.98 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.46 (t, J = 6 Hz, 4H), 3.96-3.85 (m, 8H), 4.04 (c, J = 7.2 Hz, 2H), 6.17 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.92 (dt, J_o = 7.8Hz, J_m = 1.5 Hz, 1H), 7.15 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.26 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.49 (ddd, J_o = 8.1 Hz, J_m = 2.3 Hz, J_p = 1.2 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) FALTAN 2 CARBONOS δ 10.3, 13.7, 25.6, 29.7, 31.9, 45.8, 55.91, 55.96, 59.9, 110.1, 110.3, 110.6, 117.3, 121.1, 121.4, 123.4, 124.7, 125.2, 125.7, 128.2, 130.7, 137.1, 138.6, 147.7, 147.9 , 153.9, 167.1; **EM** (DART) m/z (%) 504 M^+ (12), 434 $[M-70]^+$ (30), 433 $[M-71]^+$ (100), 225 $[M-279]^+$ (41), (12), 72 $[M-432]^+$ (30); **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3382, 2916, 2848, 1685, 1654, 1529, 1211, 1137, 1025; **p. f.** 191-193 ºC.

Síntesis del 3-nitrocinamato de etilo (36)



En un matraz bola de 25 mL se colocaron 3.04 g (20.1 mmol) de 3-nitrobenzaldehído (**34**) y 4.56 mL (22.8 mmol) de fosfonoacetato de trietilo, enseguida se disolvieron en 17 mL de DMF anhidra, la mezcla se llevó a 0 °C y bajo atmósfera de N_2 se adicionó una suspensión de 0.74 g (44.5 mmol) de NaH en 17 mL de DMF vía cánula. La mezcla se agitó, y al cabo de aproximadamente 2 h, la reacción había terminado, siendo monitoreada con ccf. La mezcla se trasvasó a un vaso de precipitados de 50 mL y se adicionó agua para precipitar el producto crudo, el cual se filtró al vacío obteniéndose 3.6 g de un sólido blanco con un rendimiento de 76% y un punto de fusión de 74 °C (lit.[19] 71-72 °C).

5-Metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo (37)

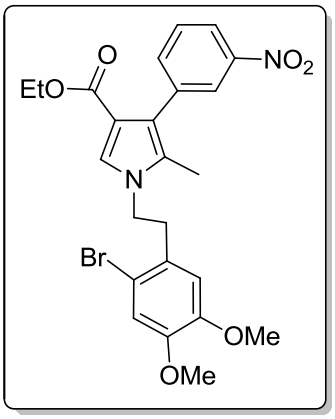


En un matraz redondo de 25 mL acondicionado con agitación magnética y con atmósfera inerte de N_2, se colocaron 0.5 g (2.12 mmol) del éster *α,β*-insaturado (**36**) y 0.578 g (2.76 mmol) de Me-TosMIC (**43**), en una mezcla 2:1 de Et_2O anhidro/DMSO anhidro 15 mL. Esta solución se adicionó a una suspensión

formada por 0.186 g (4.66 mmol) de NaH en 10 mL Et_2O anhidro a 0 °C con ayuda de una cánula. Al terminar la adición, la reacción se retiró del baño de hielo y se continuó con la agitación a temperatura ambiente por aproximadamente 2 h. El avance de la reacción se monitoreó por ccf, una vez concluida se añadió un poco de agua para desactivar el NaH remanente y luego el crudo se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro, y luego el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice usando una mezcla Hx:AcOEt (1:1), dando un sólido color amarillo en 72% de rendimiento.

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.01 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 2.09 (s, 3H), 3.95 (c, J = 7.2 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.49 (ddd, J_p = 0.6 Hz, J_o = 7.8 Hz, 1H), 7.59 (ddd, J_m = 0.6 Hz, J_m = 1.5 Hz, J_o = 7.6 Hz, 1H), 7.99 (ddd, J_m = 1.2 Hz, J_m = 2.4 Hz, J_o = 8.1 Hz, 1H), 8.01 (ddd, J_p = 0.6 Hz, J_m = 2.1 Hz, 1H), 10.50 (s, 1H); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 11.4, 13.8, 58.8, 113.9, 119.5, 120.6, 123.6, 123.8, 125.5, 127.7, 128.5, 136.9, 137.8, 206.2 ; **EM** (*IE*, 70eV) m/z (%) 246 M^+, 246 $[M-28]^+$ (15), 229 $[M-45]^+$ (70), 182 $[M-92]^+$ (20), 154 $[M-120]^+$ (30); **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3282, 1677, 1512, 1341, 1328, 1170, 1030, 733, 688, 601; **p. f.** 170 °C.

1-(2-Bromo-4,5-dimetoxifenetil)-5-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo (39)

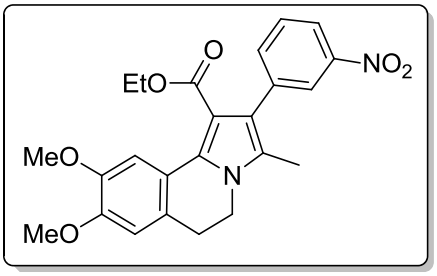


En un matraz bola de 10 mL provisto de agitación magnética, se disolvieron 0.12 g (0.45 mmol) del pirrol 2,3,4-trisustituido **37** en 5 mL de DMSO anhidro. Después, se añadieron lentamente 0.043 g (1.11 mmol) de NaH y la reacción se agitó por 1 h. Al finalizar este tiempo, se agregaron 0.46 g (1.11 mmol) del agente alquilante en porciones (0.28 mmol/ h) y la mezcla se mantuvo en agitación toda la noche. Una vez que se verificó la consumación de la materia prima por ccf, la reacción se detuvo mediante la adición de un poco de agua para eliminar el NaH restante, luego el crudo se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y finalmente el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (hexano:AcOEt, 7:3) dando como producto un sólido amarillo (70%).

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.15 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 1.96 (s, 3H), 3.11 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 4.11 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 4.13 (c, J = 7.2 Hz, 2H), 6.40 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.55 (dt, J_o = 7.5 Hz, J_m = 1.5 Hz, 1H), 7.53 – 7.46 (m, 1H), 8.12–8.10 (m, 1H), 8.14 (dd, J_m = 2.4 Hz, J_m = 1.5 Hz, 1H); **RMN-**

^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 9.9, 14.2, 37.8, 47.1, 56.0, 56.2, 60.0, 113.3, 113.4, 114.2, 115.6, 120.8, 121.2, 125.6, 126.4, 128.2, 128.4, 128.5, 136.9, 137.3, 147.7, 148.5, 148.8, 164.3; **EM** (*IE*, 70eV) m/z (%) 516 M^+ / 518 M^{+2} (3), 470 $[M-46]^+$ (5), 437 $[M-79]^+$ (100), 436 $[M-80]^+$ (35), 391 [M-125] (15), 364$[M-152]^+$ (60), 349 $[M-167]^+$ (20); **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2934, 1706, 1515, 1342, 1205, 1164, 1138, 1030, 742, 723, 688; **p. f.** 102 °C.

8,9-Dimetoxi-3-metil-2-(3-nitrofenil)-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (40)

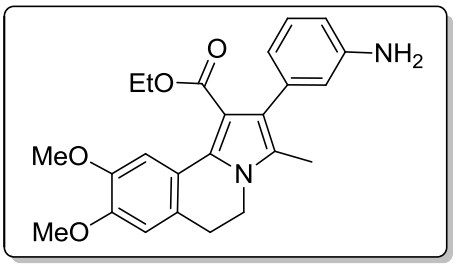


En un matraz bola de 25 mL con atmósfera de nitrógeno y agitación se colocaron 0.061 g (0.23 mmol) de PPh_3 y 0.013 g (0.023 mmol) de $Pd(AcO)_2$. Se añadieron después 10 mL de MeCN anhidro y la mezcla se llevó a reflujo por aproximadamente 1 h o hasta que la reacción tomó un color naranja intenso. Después se agregaron 0.3 g (0.58 mmol) del compuesto **39** disueltos en 10 mL de MeCN anhidro, y por último 0.145 mL (1.04 mmol) de TEA. La reacción se mantuvo a temperatura de reflujo por aproximadamente 4 h, y una vez que la materia prima se consumió y la mezcla se llevó a temperatura ambiente, se filtró sobre algodón, se eliminó el disolvente, el crudo se extrajo con AcOEt, la fase

orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y luego el producto se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice, usando una mezcla Hx:AcOEt de polaridad variada, dando un sólido color amarillo en 74 % de rendimiento.

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 2.17 (s, 3H), 3.02 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.92 (s, 3H). 3.94 (s, 3H), 3.96 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 4.04 (c, J = 7.2 Hz, 2H), 6.74 (s, 1H), 7.52 (td, J_o = 7.5 Hz, J_m = 0.9 Hz, 1H), 7.59 (dt, J_o = 7.5 Hz, J_m = 1.5 Hz, 1H) 8.03 (s, 1H), 8.16 (dd, J_m = 2.4 Hz, J_p = 1.2 Hz, 1H), 8.18-8.14 (m, 1H); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ 10.3, 13.7, 29.1, 41.3, 55.9, 56.0, 59.9, 109.5, 110.5, 110.8, 120.8, 120.9, 121.5, 125.1, 125.5, 126.1, 128.3, 132.1, 136.4, 138.7, 147.6, 147.8, 148.8, 166.0; **EM** (*IE*, 70eV) m/z (%) 436 M^+ (100), 421 $[M-15]^+$ (20), 277 $[M-159]^+$ (18), 225 [M-208] (45), 84 $[M-352]^+$ (18); **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2923.8, 1709.7, 1517.8, 1347.2, 1258.3, 1140.3, 1079.7, 731.3; **P. f.** 108-110°C.

Síntesis del 2-(3-aminofenil)-8,9-dimetoxi-3-metil-5,6-dihidropirrolo[2,1-*a*]isoquinolina-1-carboxilato de etilo (41)



En un matraz balón se preparó una solución formada por 0.087 g de la pirroloisoquinolina **41** en 9 mL de EtOH, enseguida se añadieron a la mezcla

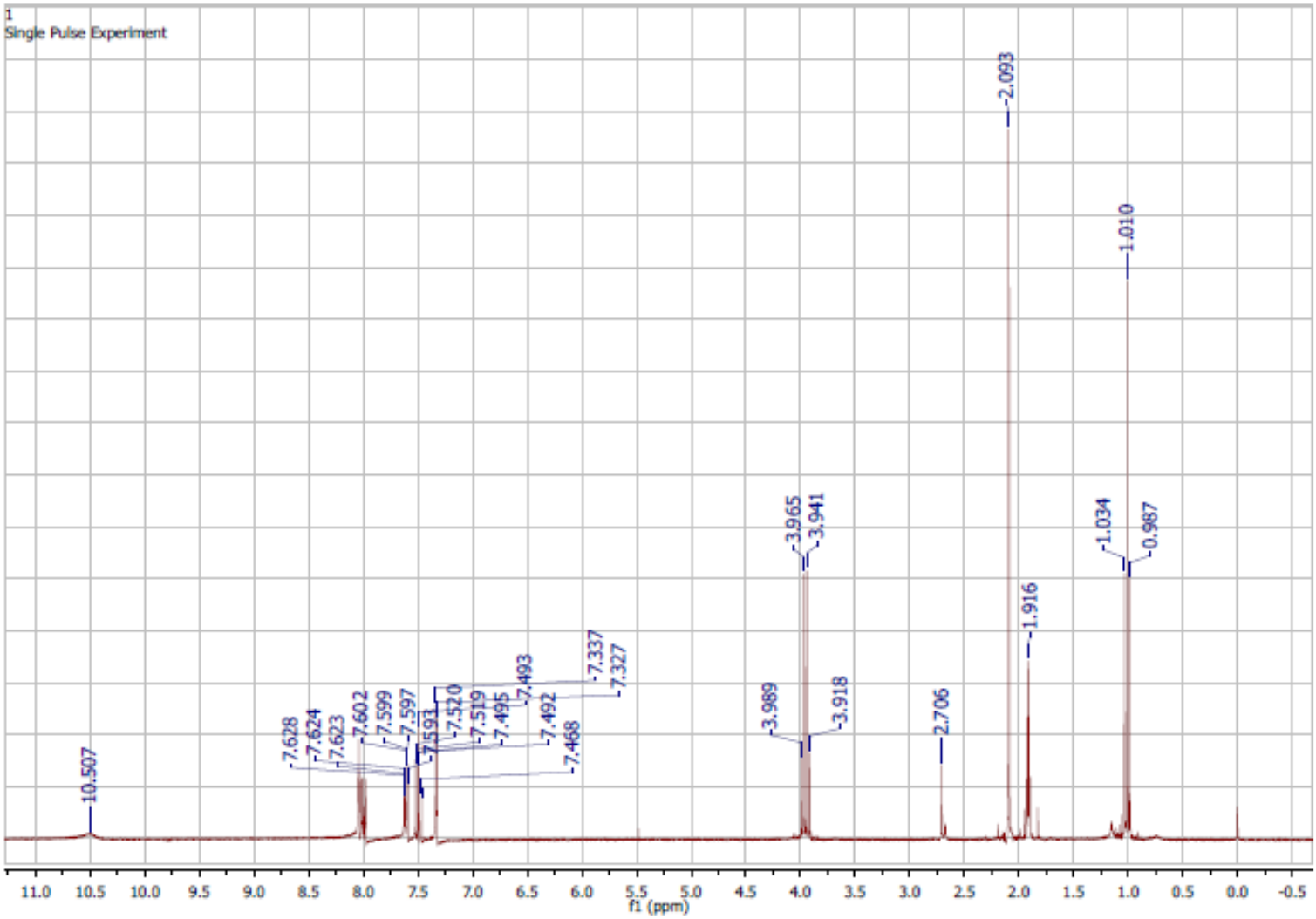
0.009 g del catalizador (Pd/C al 10%). Después , la suspensión se hidrogenó a 1 atm de presión bajo agitación por aproximadamente 24 h. Posteriormente, la reacción se filtró sobre celita enjuagando con AcOEt, las aguas madres se concentraron en el rotavapor y el producto se purificó por columna dando el producto deseado como un sólido blanco en 60%.

RMN-^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 0.96 (t, J =7.2 Hz, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.98 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.91 (s, 3H, traslapado con un triplete, 2H), 4.05 (c, J = 7.2 Hz, 2H), 6.60–6.71 (m, 4H), 7.10–7.15 (m, 1H), 7.95 (s, 1H); **RMN-^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) 10.3, 13.7, 29.1, 41.1, 55.9, 56.0, 59.9, 110.2, 110.6,112.9, 116.9, 120.7, 121.4, 123.6, 125.1, 125.4, 128.5, 130.4, 137.5, 145.7, 147.7, 147.9, 167.2; **EM** (*IE*, 70eV) m/z (%) 406 (M+, 100%); **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3455, 3369, 3232, 2933, 2842, 1691, 1608, 1531, 1494, 1467; **P.F.** 168 °C.[8]

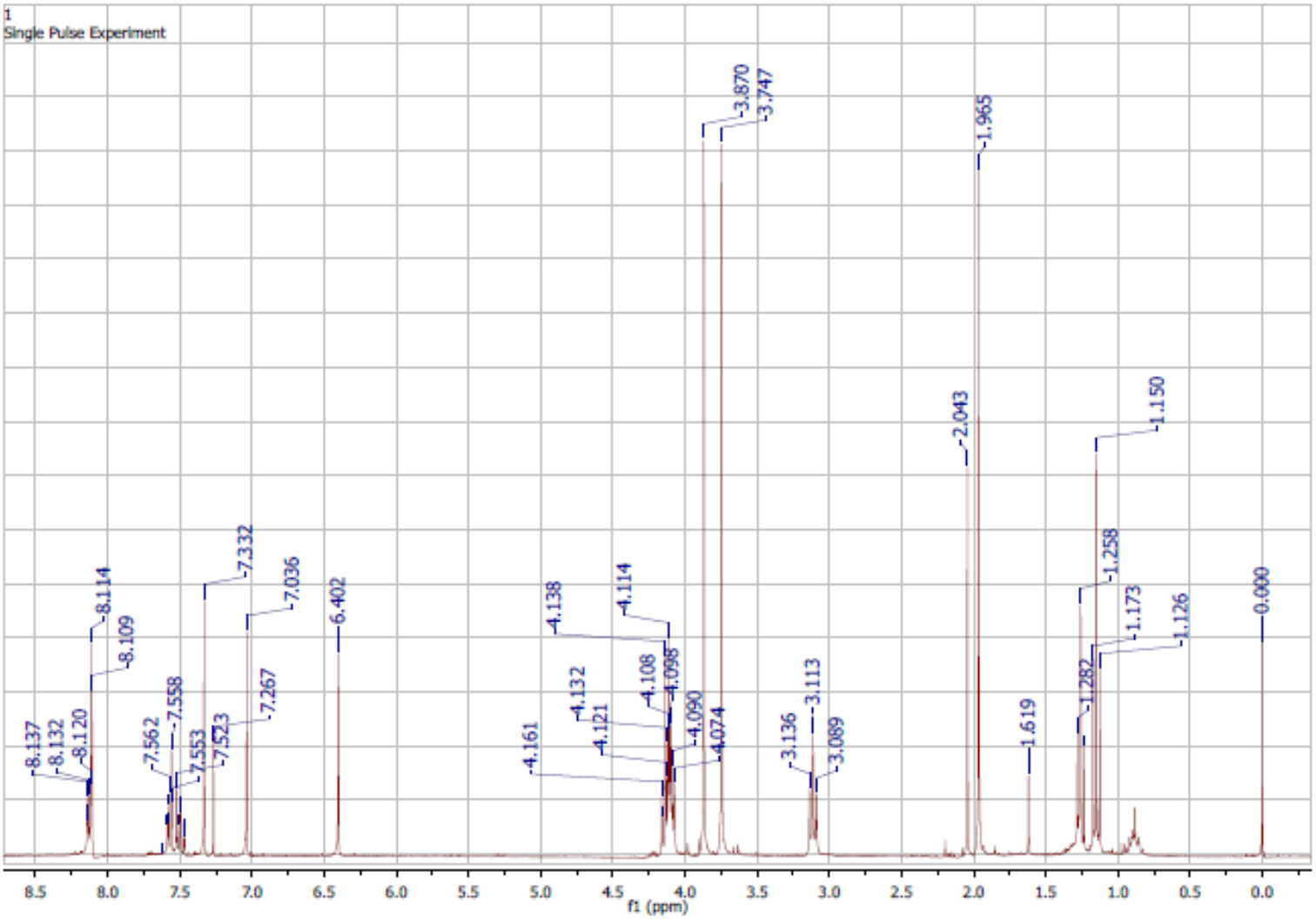
ANEXO 1

RMN- ^{1}H

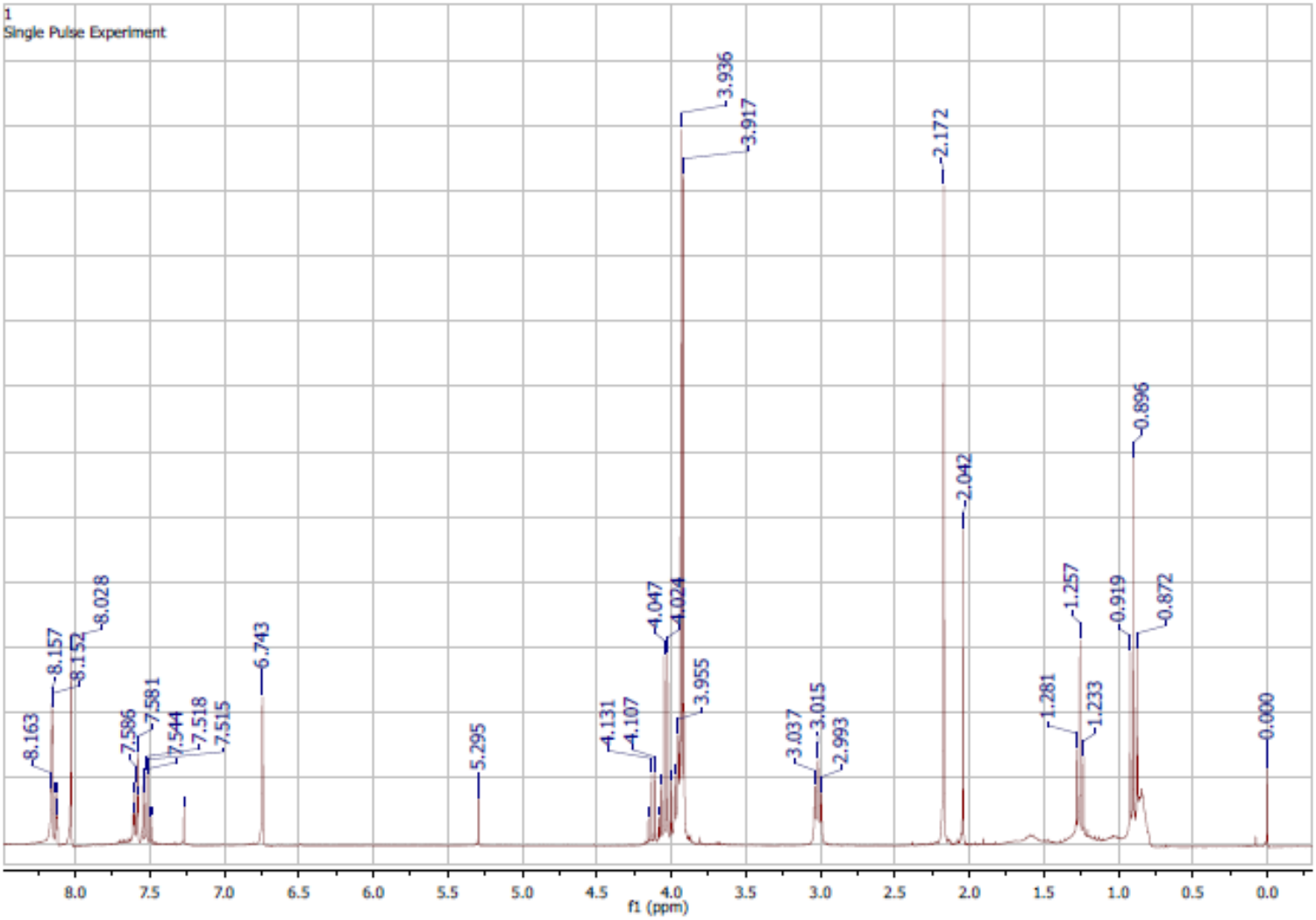
37



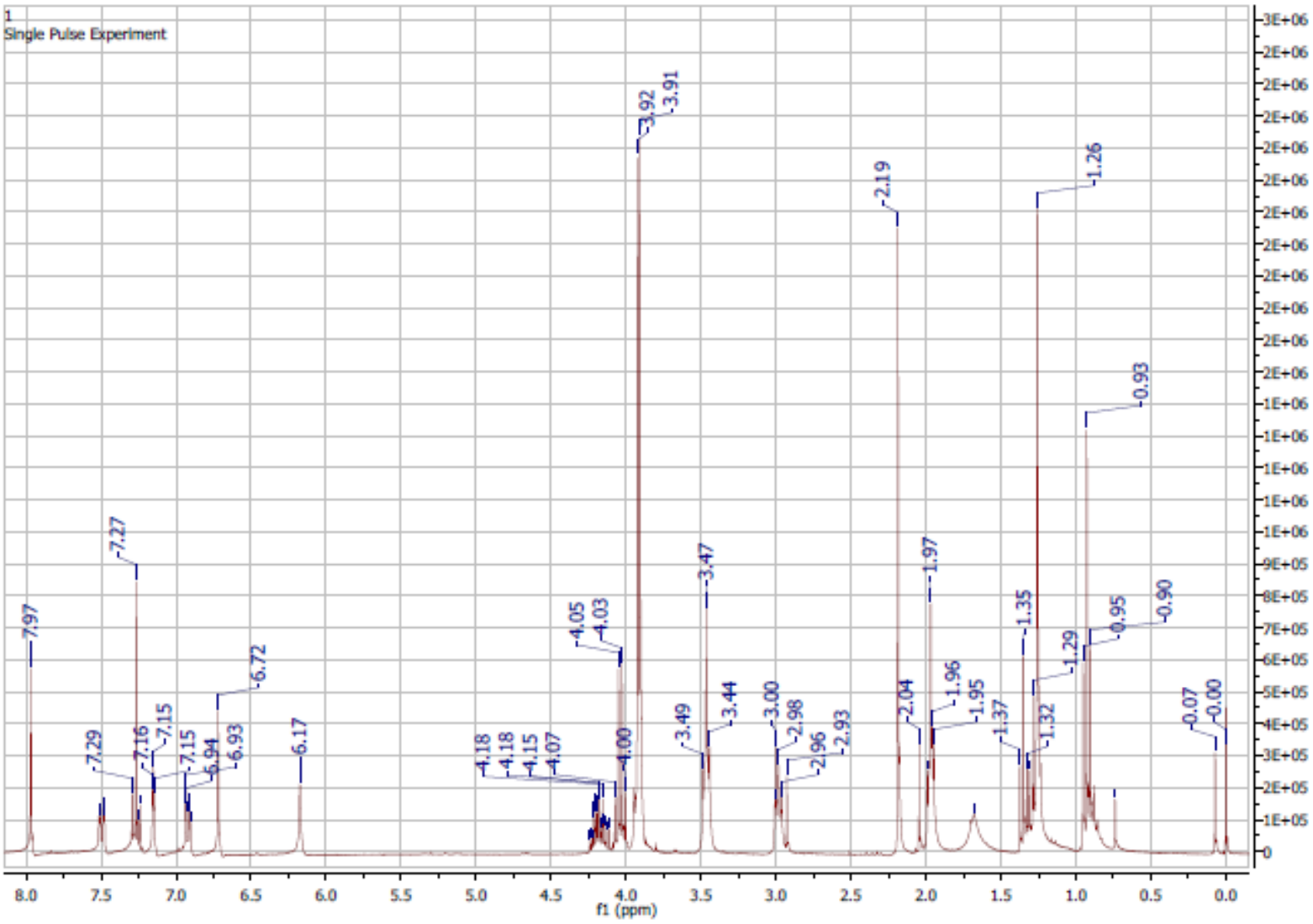
39


1
Single Pulse Experiment
8.137
8.132
8.120
8.114
8.109
7.562
7.558
7.553
7.523
7.332
7.267
7.036
6.402
4.161
4.138
4.132
4.121
4.114
4.108
4.098
4.090
4.074
3.870
3.747
3.136
3.113
3.089
2.043
1.965
1.619
1.282
1.258
1.173
1.150
1.126
0.000
8.5
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
f1 (ppm)

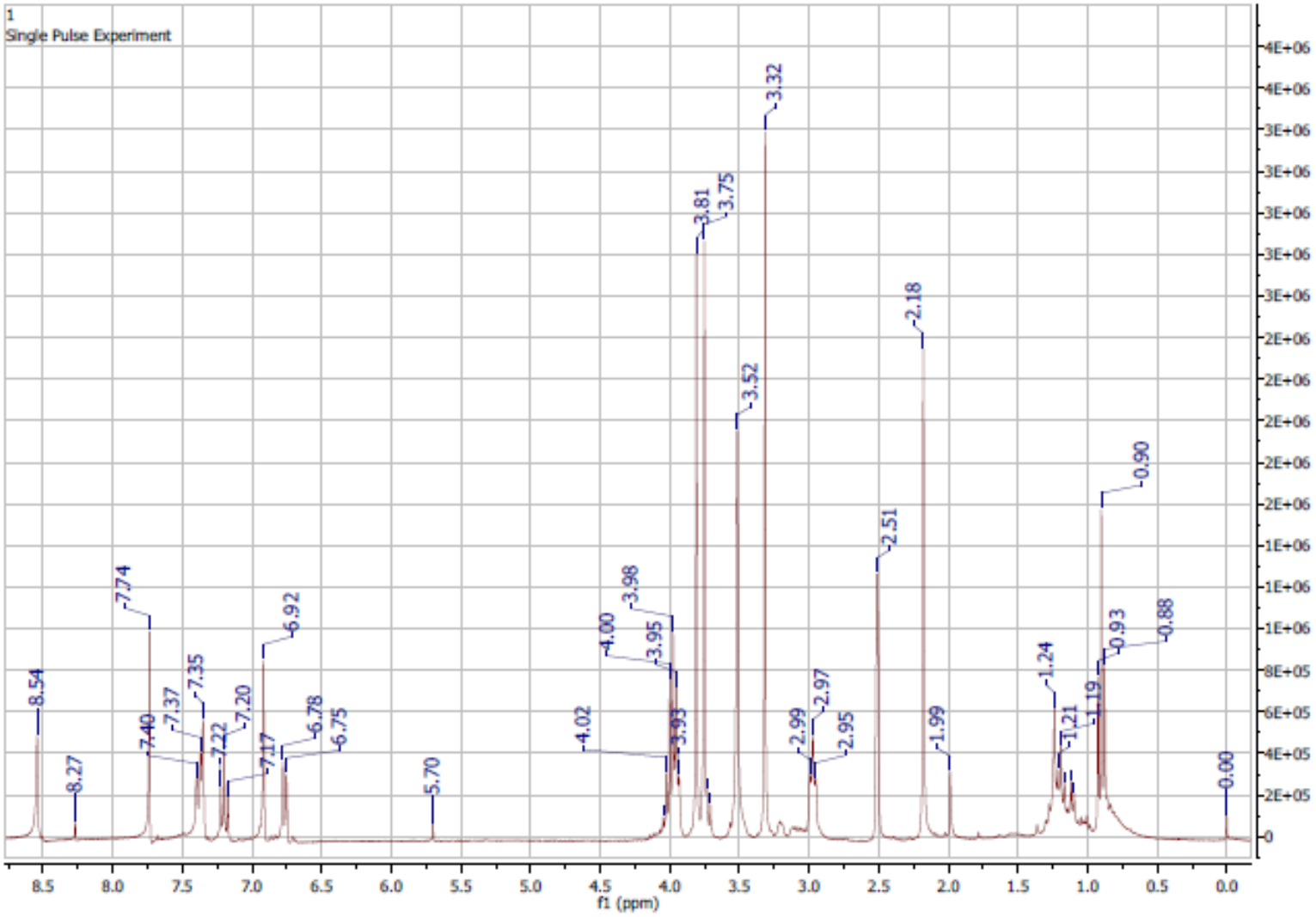
40


1
Single Pulse Experiment
3.936
3.917
2.172
0.896
2.042
8.028
8.157
8.152
6.743
4.047
4.024
1.257
0.919
0.872
7.581
7.586
7.544
7.518
7.515
5.295
4.131
4.107
3.955
3.037
3.015
2.993
1.281
1.233
0.000
8.163
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
f1 (ppm)

4


1
Single Pulse Experiment
7.97
7.29
7.27
7.16
7.15
7.15
6.94
6.93
6.72
6.17
4.18
4.18
4.15
4.07
4.05
4.03
4.00
3.92
3.91
3.49
3.47
3.44
3.00
2.98
2.96
2.93
2.19
2.04
1.97
1.96
1.95
1.37
1.35
1.32
1.29
1.26
0.95
0.93
0.90
0.07
0.00
f1 (ppm)

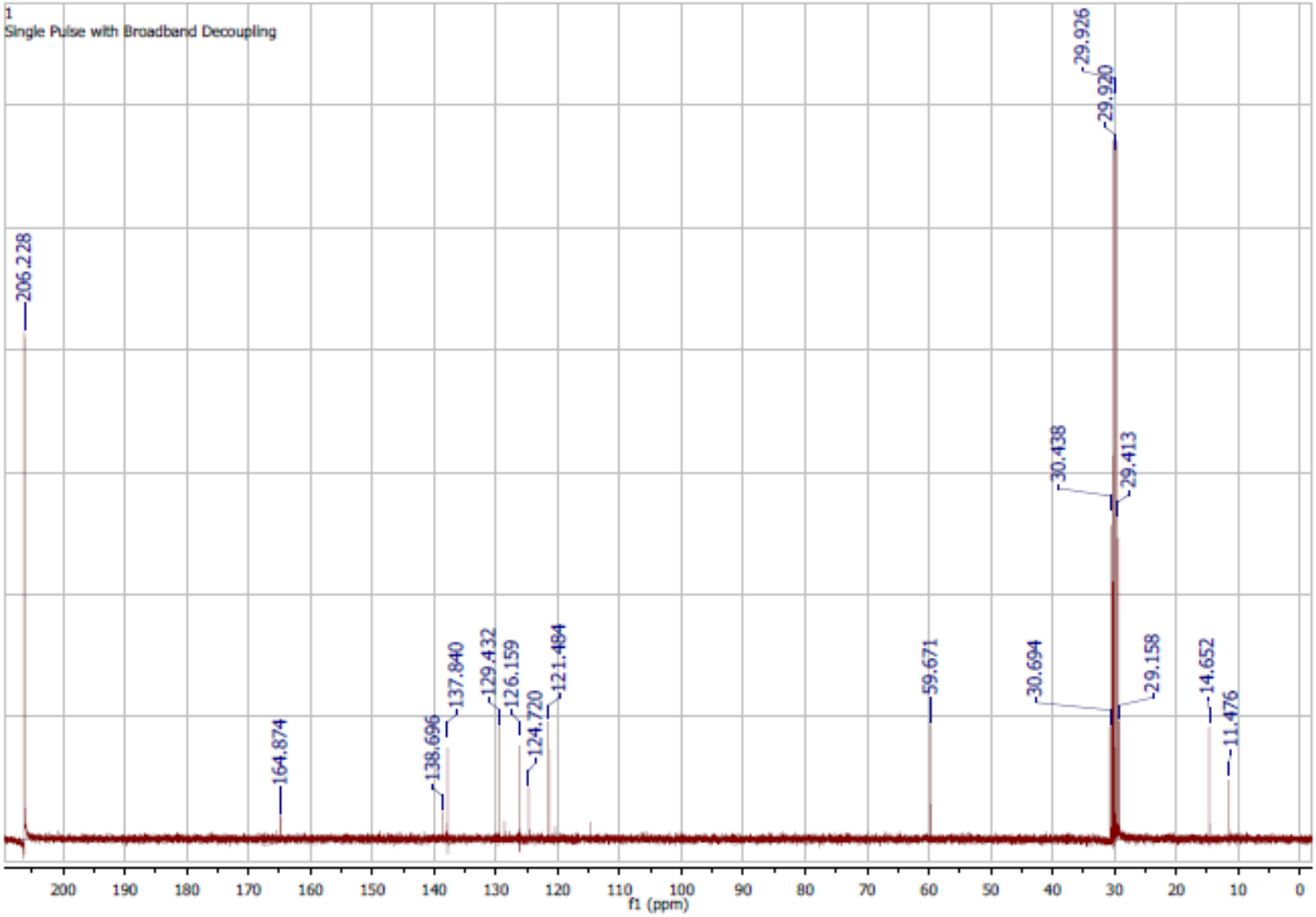
5


1
Single Pulse Experiment
8.54
8.27
7.74
7.40
7.37
7.35
7.22
7.20
7.17
6.92
6.78
6.75
5.70
4.02
4.00
3.98
3.95
3.93
3.81
3.75
3.52
3.32
2.99
2.97
2.95
2.51
2.18
1.99
1.24
1.21
1.19
0.93
0.90
0.88
0.00
f1 (ppm)

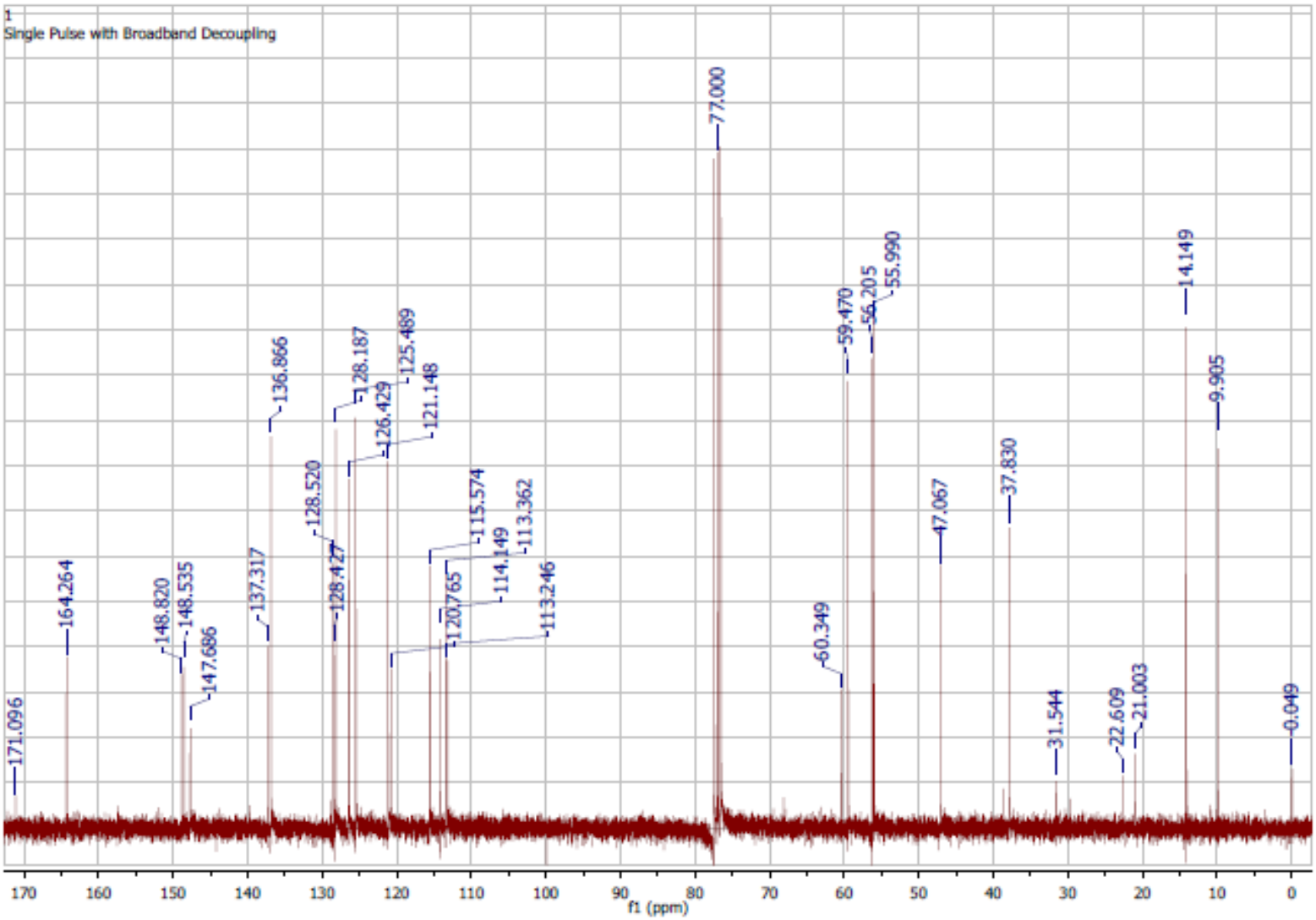
ANEXO 2

RMN – ^{13}C

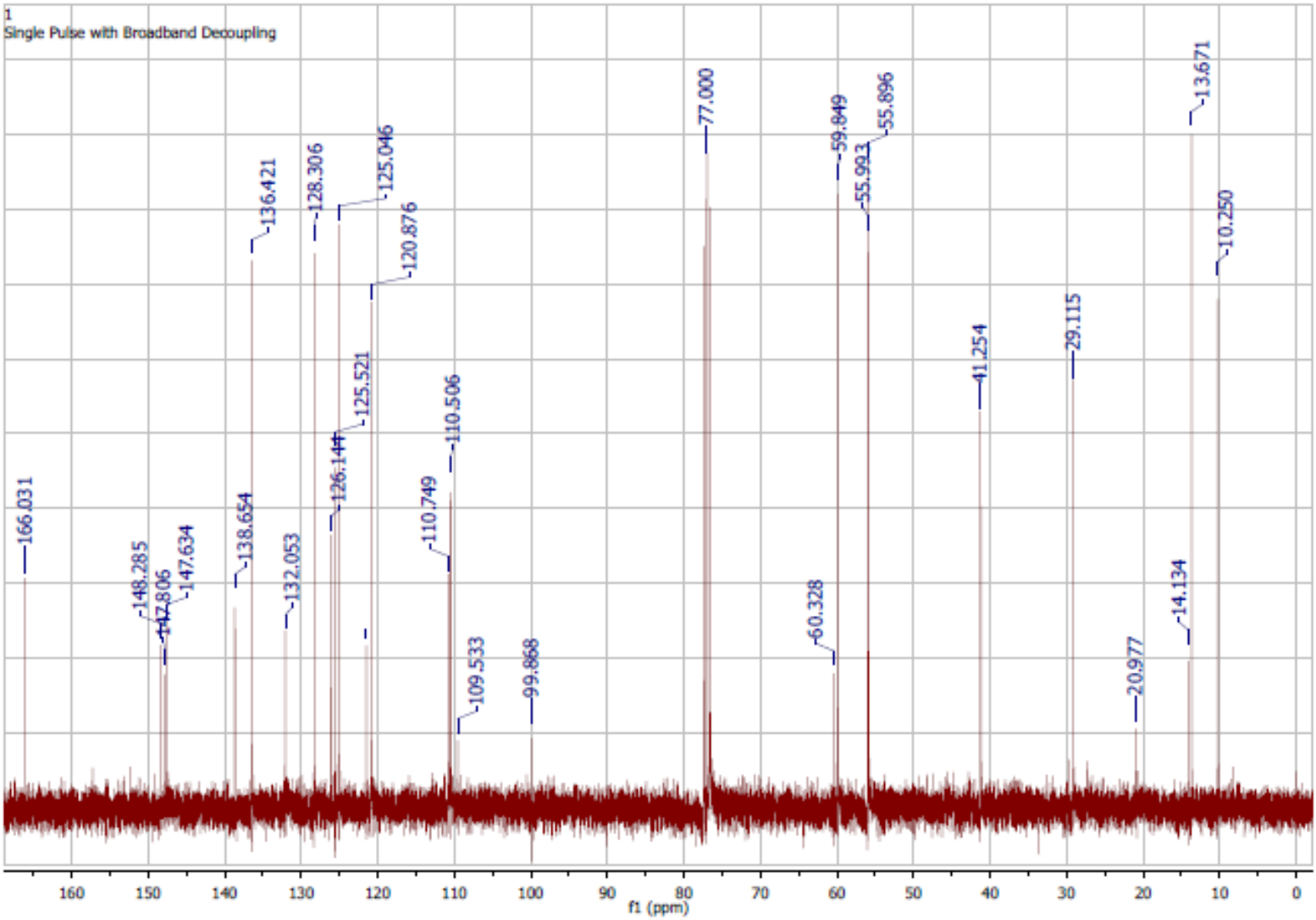
37



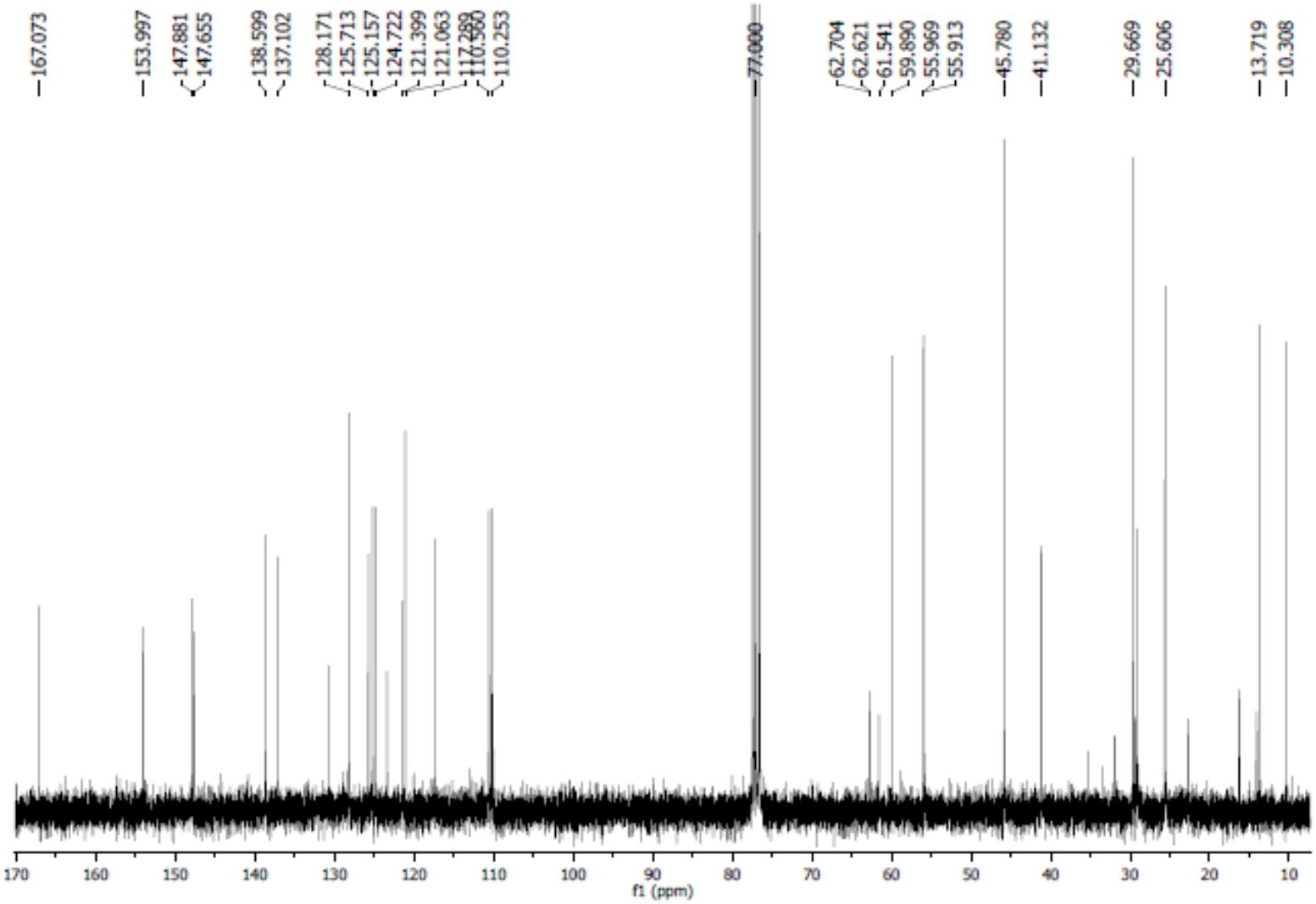
39


1
Single Pulse with Broadband Decoupling
171.096
164.264
148.820
148.535
147.686
137.317
136.866
128.520
128.427
128.187
126.429
125.489
121.148
120.765
115.574
114.149
113.362
113.246
77.000
60.349
59.470
56.205
55.990
47.067
37.830
31.544
22.609
21.003
14.149
9.905
0.049
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
f1 (ppm)

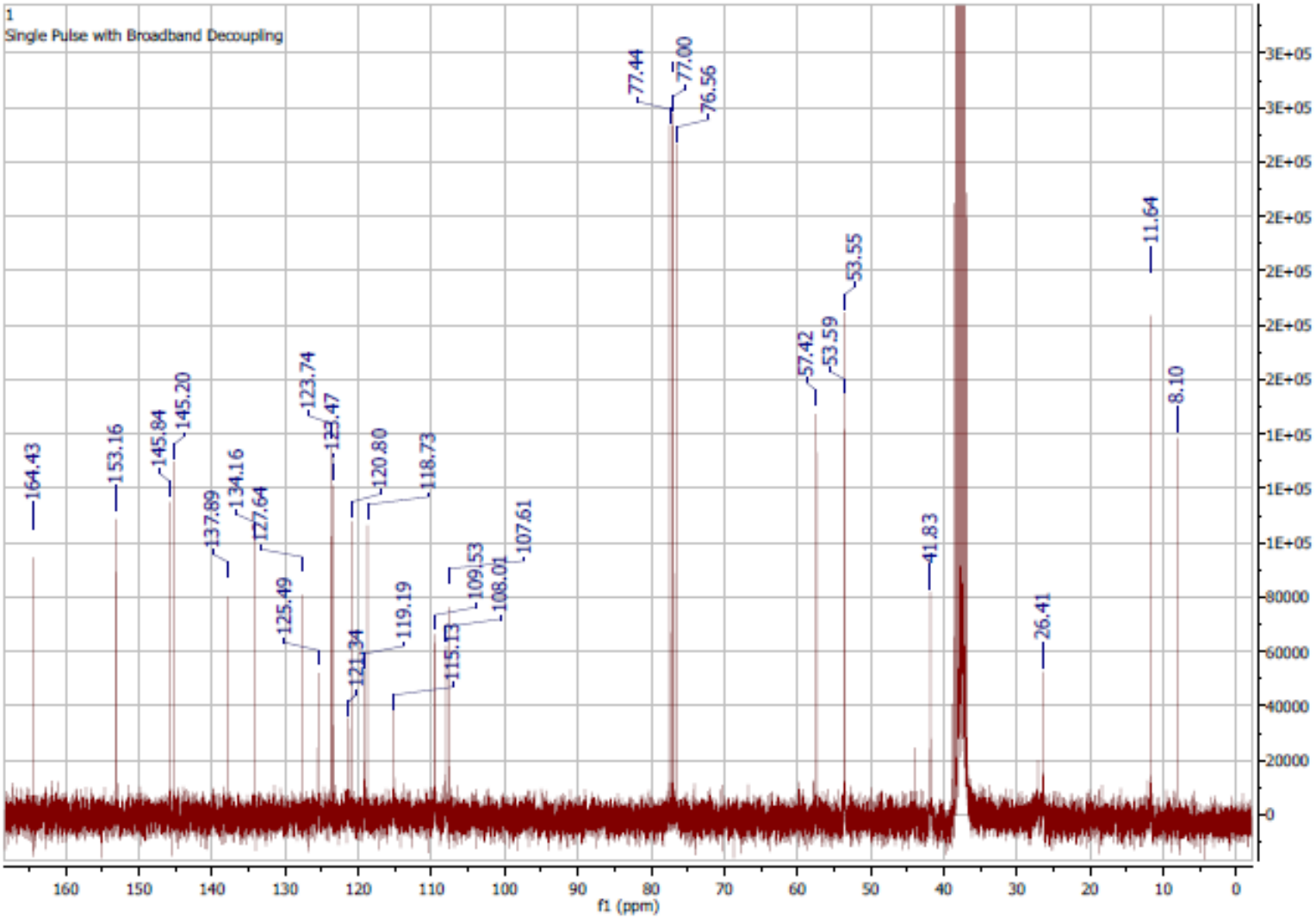
40


1
Single Pulse with Broadband Decoupling
166.031
148.285
147.806
147.634
138.654
136.421
132.053
128.306
126.144
125.521
125.046
120.876
110.749
110.506
109.533
99.868
77.000
60.328
59.849
55.993
55.896
41.254
29.115
20.977
14.134
13.671
10.250
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
f1 (ppm)

4


167.073
153.997
147.881
147.655
138.599
137.102
128.171
125.713
125.157
124.722
121.399
121.063
117.289
110.580
110.253
77.000
62.704
62.621
61.541
59.890
55.969
55.913
45.780
41.132
29.669
25.606
13.719
10.308
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
f1 (ppm)

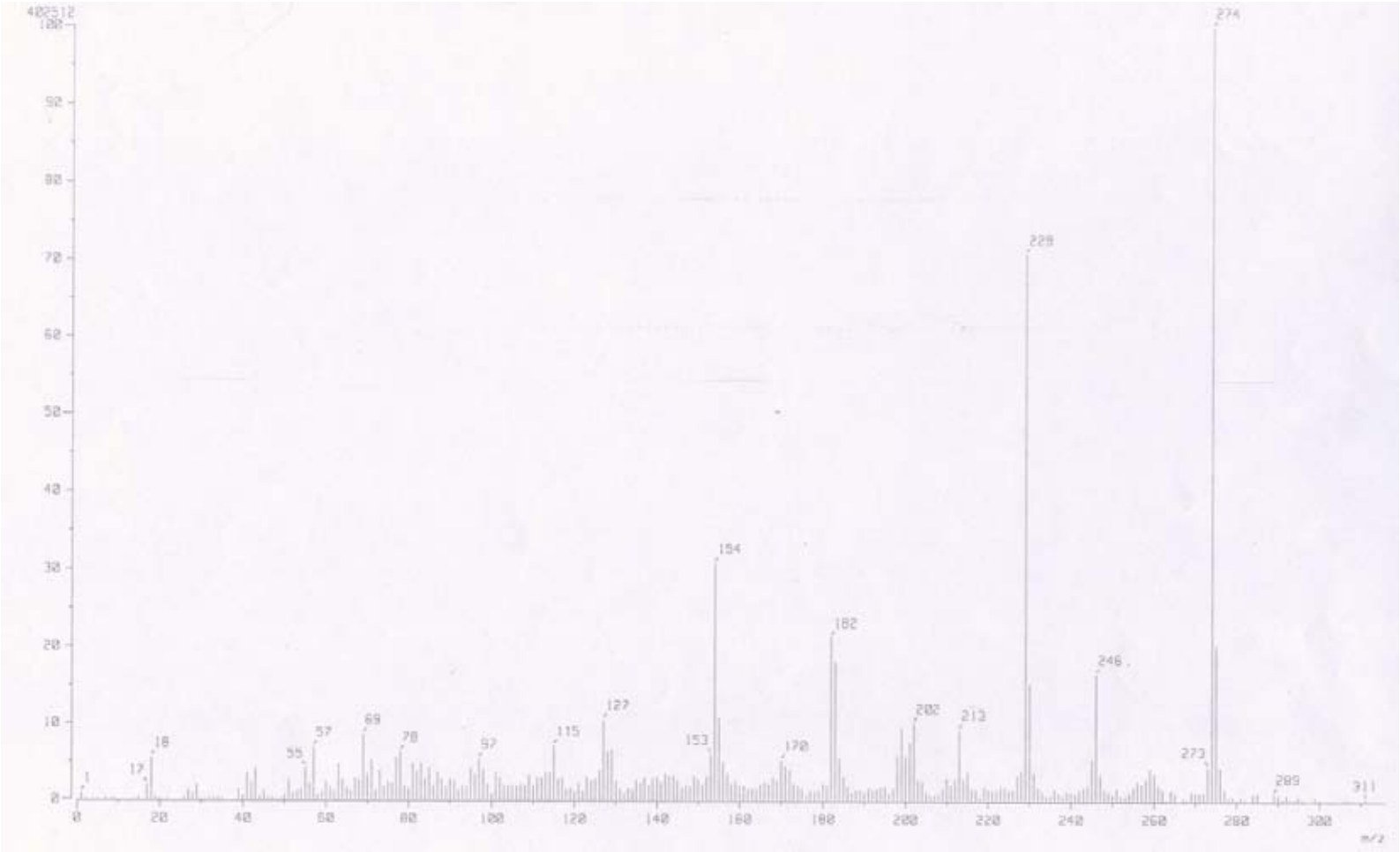
5


1
Single Pulse with Broadband Decoupling
164.43
153.16
145.84
145.20
137.89
134.16
127.64
125.49
123.74
123.47
121.34
120.80
118.73
119.19
115.13
109.53
108.01
107.61
77.44
77.00
76.56
57.42
53.59
53.55
41.83
26.41
11.64
8.10
f1 (ppm)

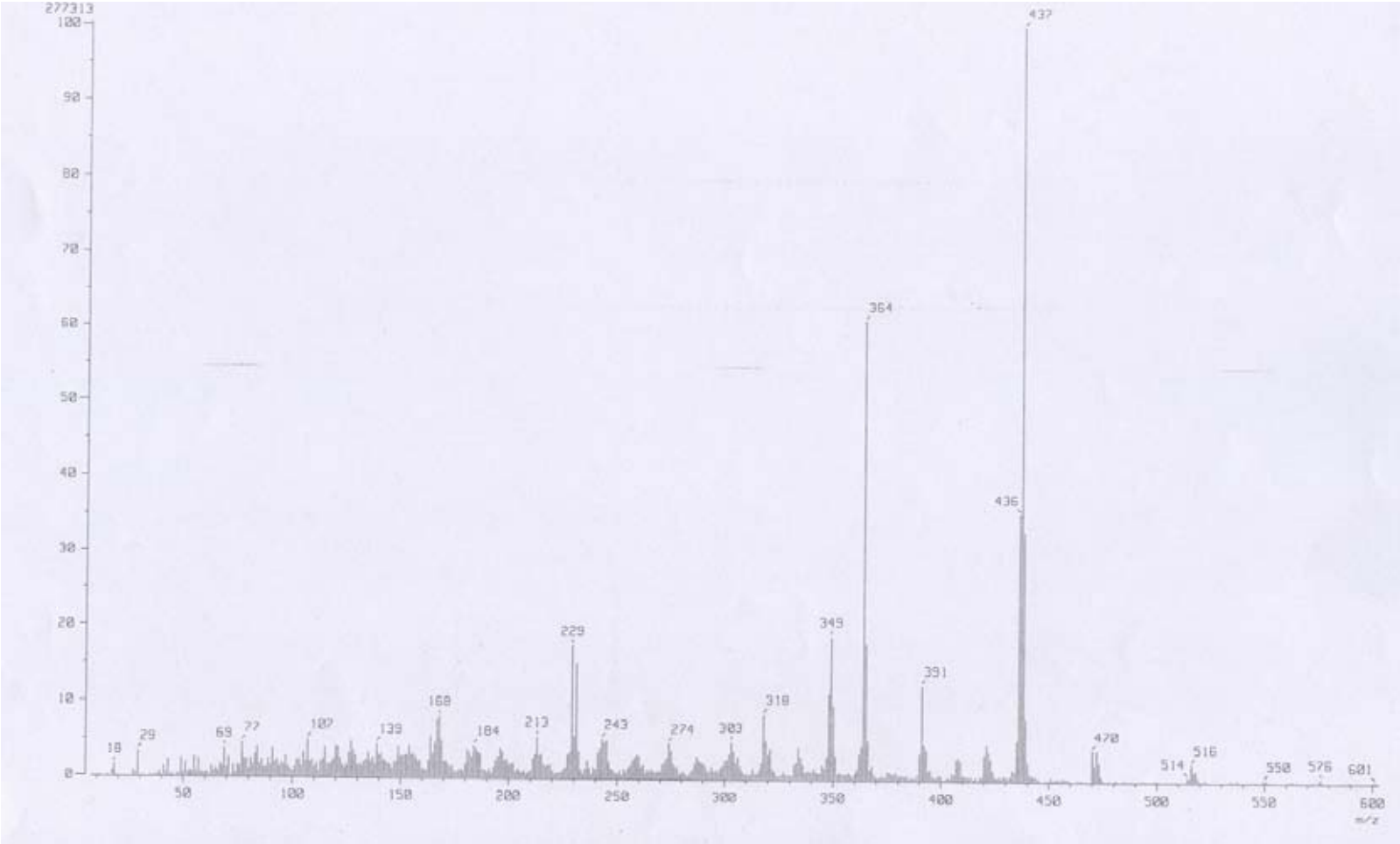
ANEXO 3

Espectrometría de masas

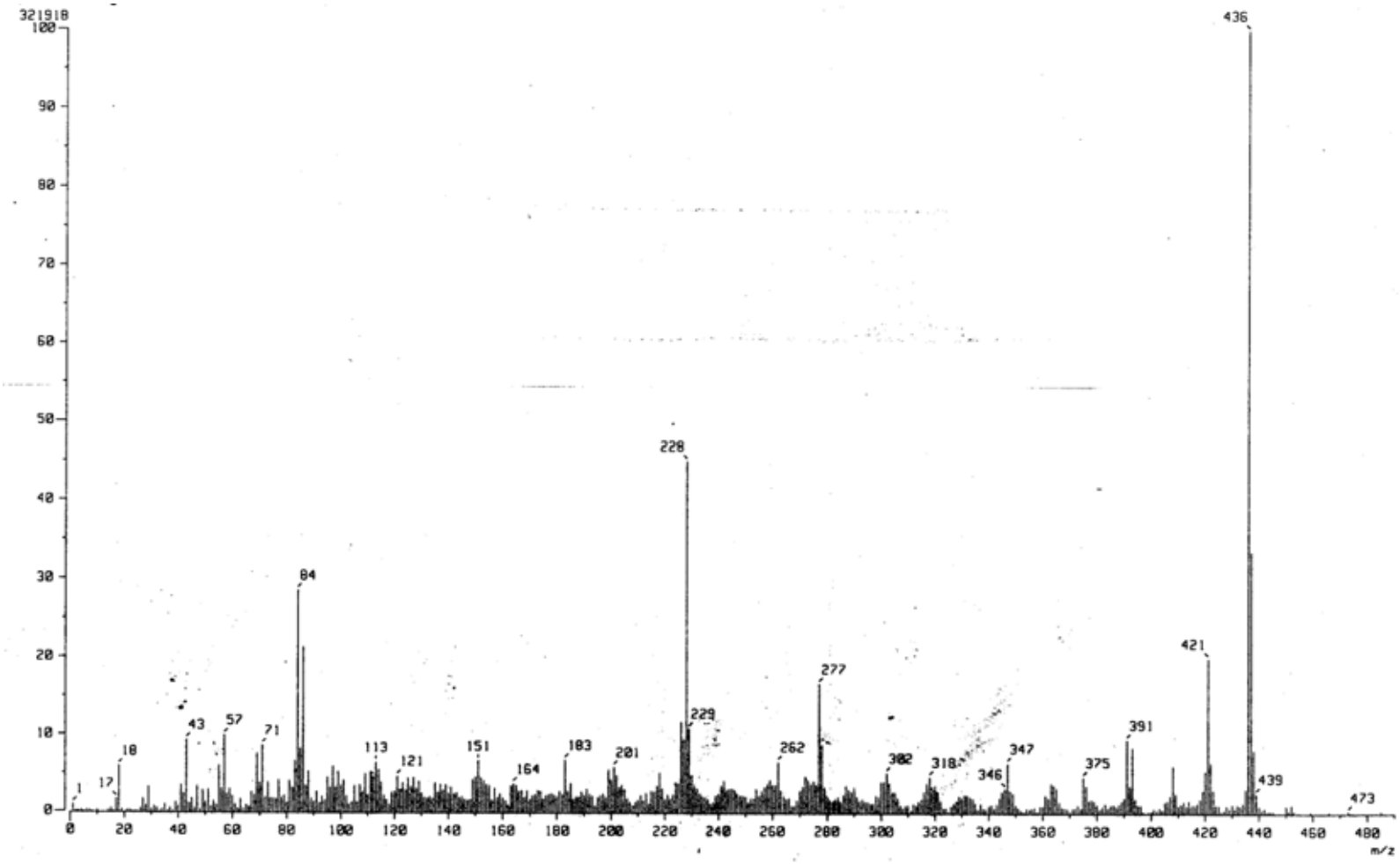
37



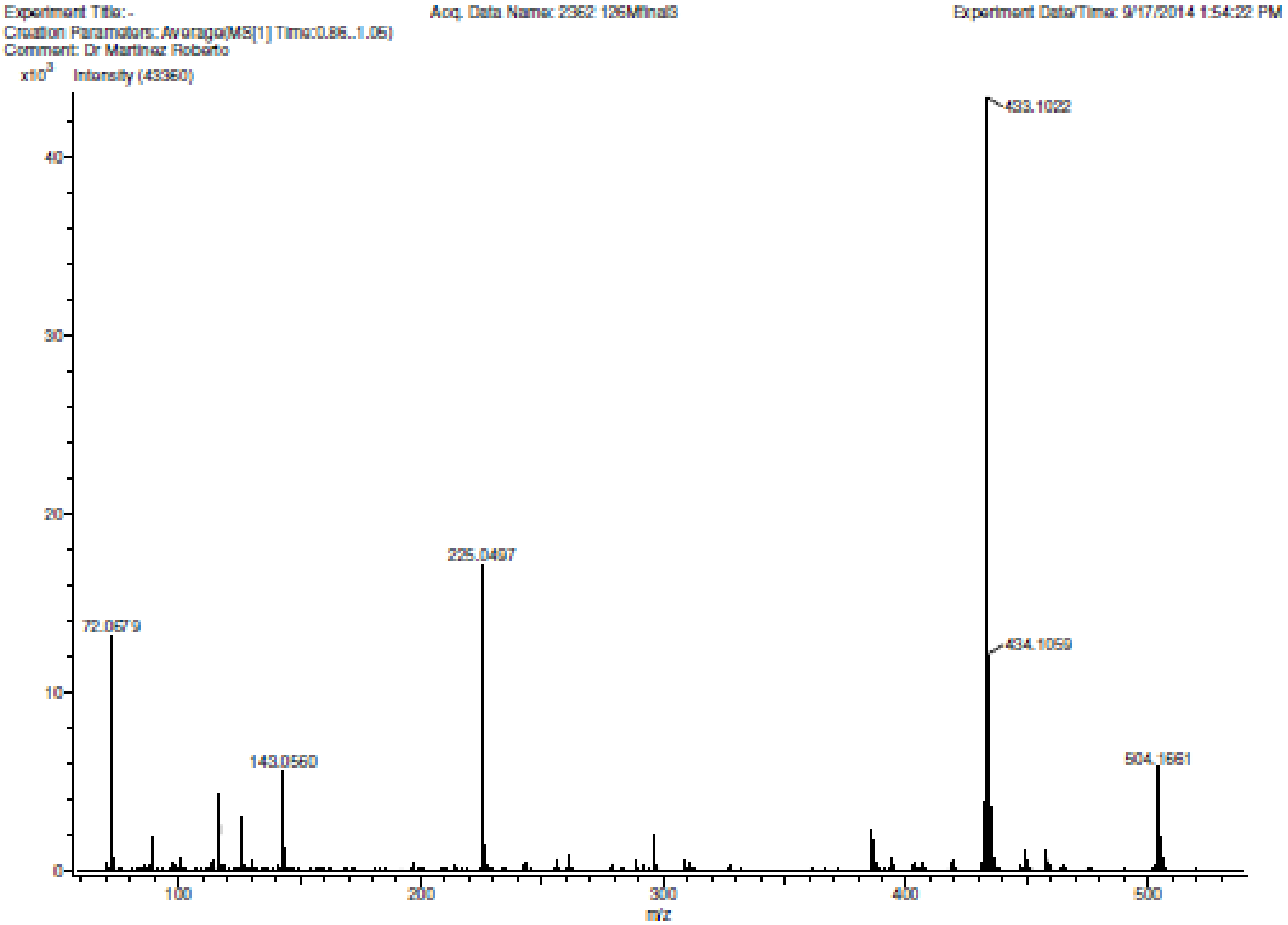
39


277313
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
437
364
436
229
349
391
168
318
213
243
274
303
184
139
107
69
77
29
18
470
514
516
550
576
601
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
550
600
m/z

40

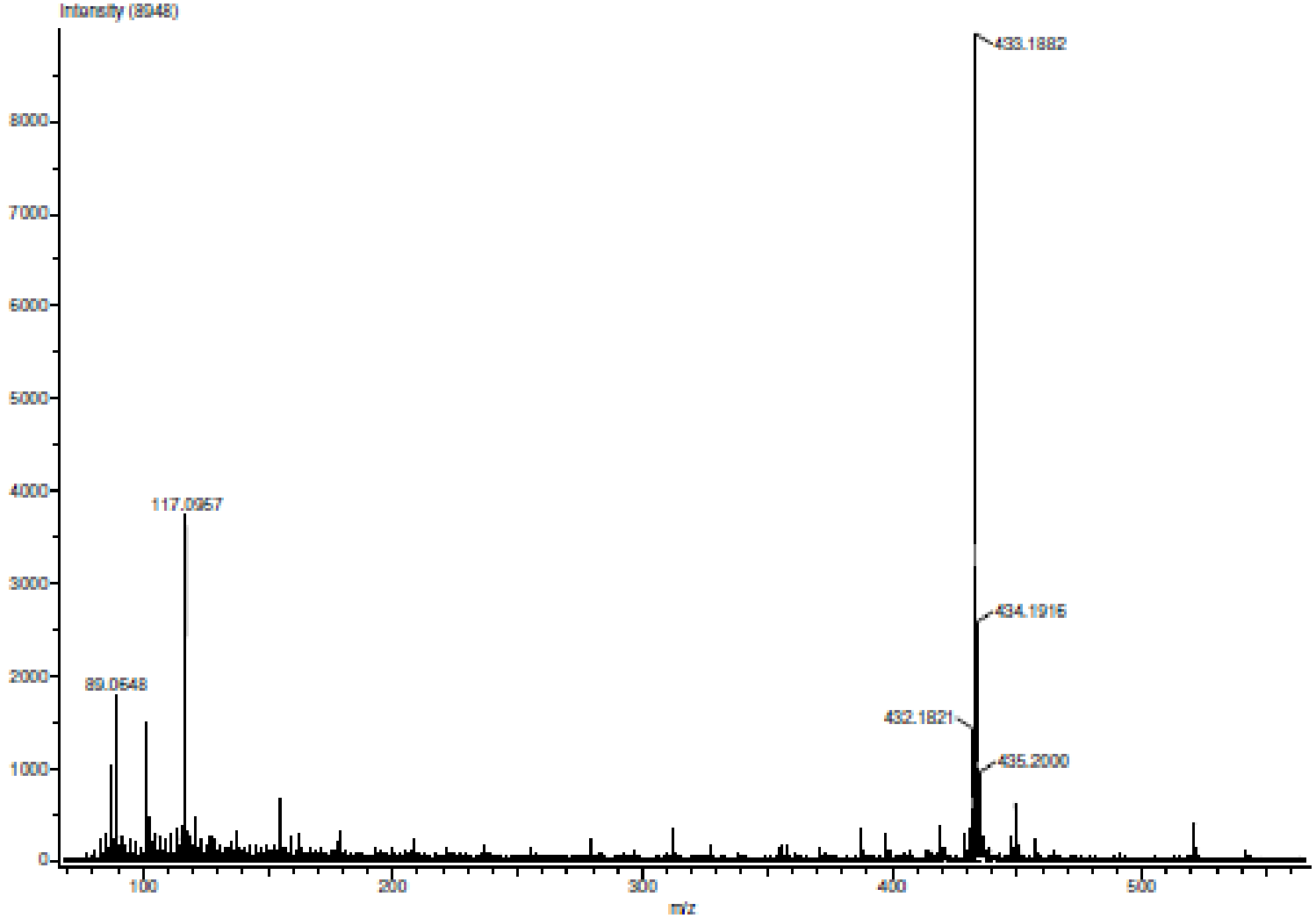

321918
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
436
228
84
421
277
229
43
57
71
391
18
113
121
151
183
201
262
302
318
347
346
375
439
164
1
17
473
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420
440
460
480
m/z

4


Experiment Title: -
Acq. Data Name: 2362 136MfinalS
Experiment Date/Time: 9/17/2014 1:54:22 PM
Creation Parameters: Average(MS[1] Time:0.86..1.05)
Comment: Dr Martinez Roberto
x10^3 Intensity (43360)
433.1022
225.0497
72.0679
434.1059
143.0560
504.1561
m/z

5

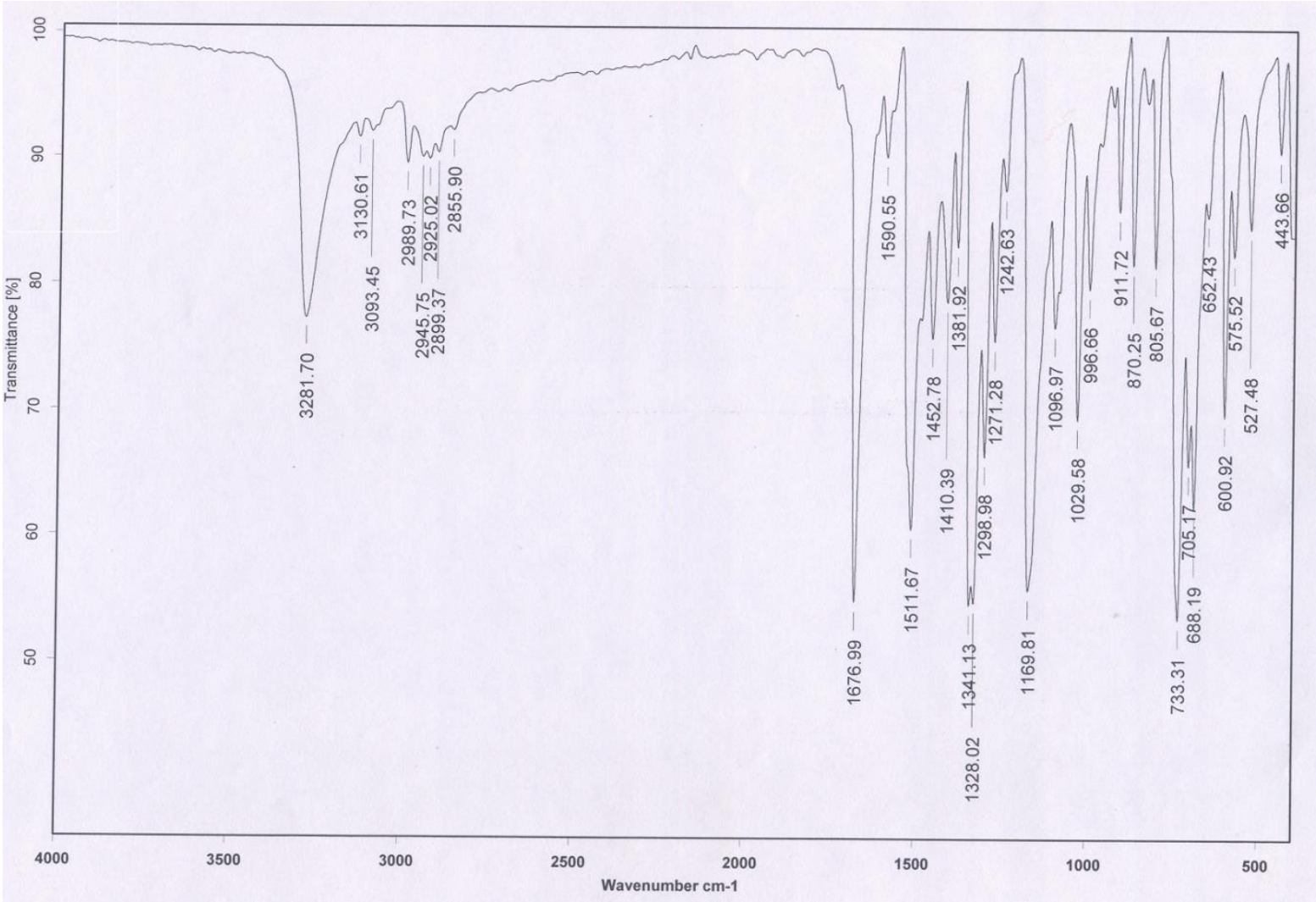
Experiment Title: -
Acq. Data Name: 1354 DGM-final2
Experiment Date/Time: 6/10/2014 6:59:56 PM
Creation Parameters: Average(MS[1] Time:5.12..5.27)
Comment: Dr Martinez Roberto



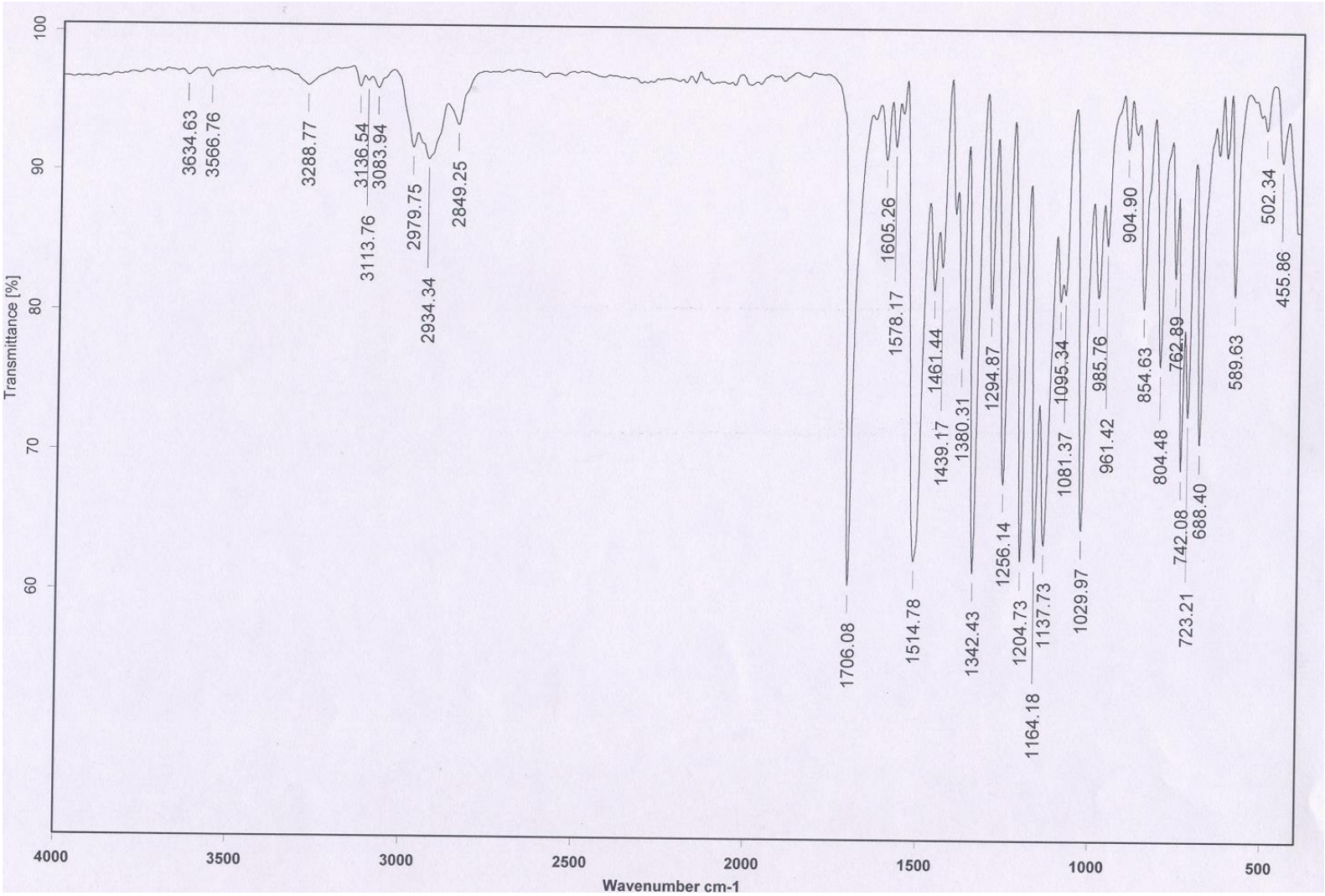
ANEXO 4

IR

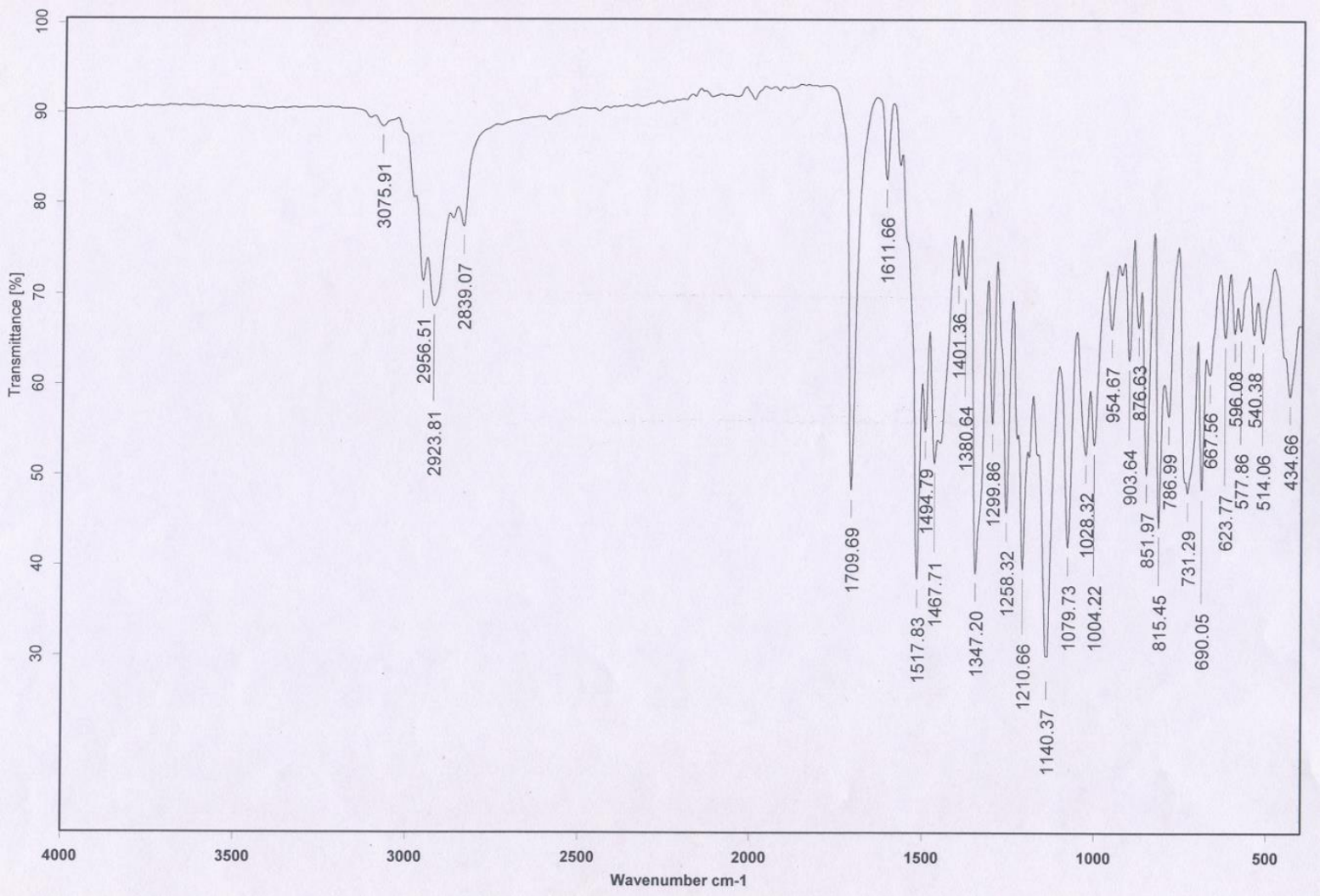
37


Transmittance [%]
100
90
80
70
60
50
3281.70
3130.61
3093.45
2989.73
2945.75
2925.02
2899.37
2855.90
1676.99
1590.55
1511.67
1452.78
1410.39
1381.92
1341.13
1328.02
1298.98
1271.28
1242.63
1169.81
1096.97
1029.58
996.66
911.72
870.25
805.67
733.31
705.17
688.19
652.43
600.92
575.52
527.48
443.66
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wavenumber cm-1

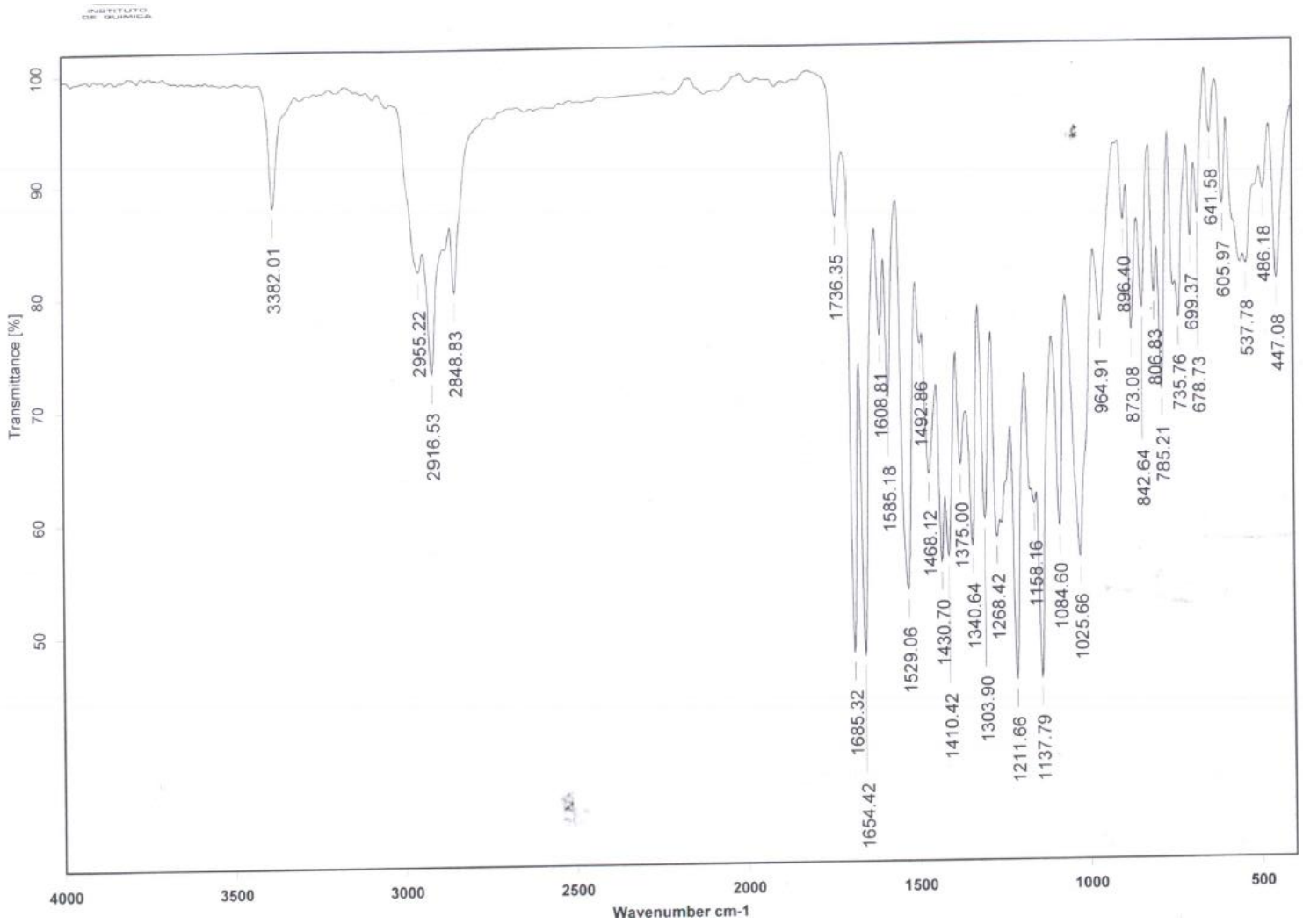
39


Transmittance [%]
100
90
80
70
60
3634.63
3566.76
3288.77
3136.54
3083.94
3113.76
2979.75
2934.34
2849.25
1706.08
1605.26
1578.17
1514.78
1461.44
1439.17
1380.31
1342.43
1294.87
1256.14
1204.73
1164.18
1137.73
1095.34
1081.37
1029.97
985.76
961.42
904.90
854.63
804.48
762.89
742.08
723.21
688.40
589.63
502.34
455.86
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wavenumber cm-1

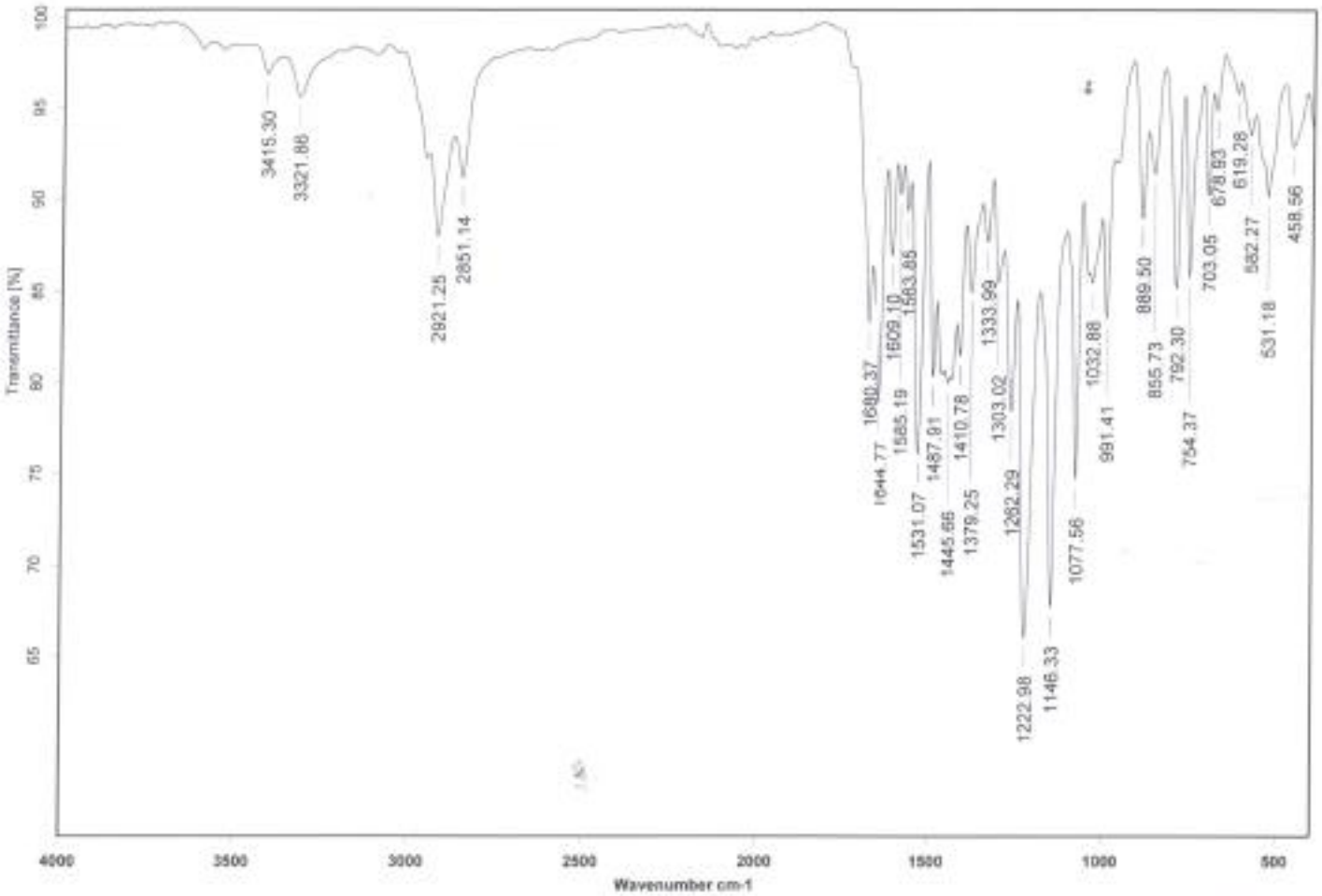
40


Transmittance [%]
100
90
80
70
60
50
40
30
3075.91
2923.81
2956.51
2839.07
1709.69
1611.66
1517.83
1467.71
1494.79
1347.20
1380.64
1401.36
1299.86
1258.32
1210.66
1140.37
1079.73
1004.22
1028.32
954.67
903.64
876.63
851.97
815.45
786.99
731.29
690.05
667.56
623.77
596.08
577.86
540.38
514.06
434.66
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wavenumber cm-1

4


INSTITUTO DE QUIMICA
Transmittance [%]
100
90
80
70
60
50
3382.01
2955.22
2916.53
2848.83
1736.35
1685.32
1654.42
1608.81
1585.18
1529.06
1492.86
1468.12
1430.70
1410.42
1375.00
1340.64
1303.90
1268.42
1211.66
1158.16
1137.79
1084.60
1025.66
964.91
896.40
873.08
842.64
806.83
785.21
735.76
699.37
678.73
641.58
605.97
537.78
486.18
447.08
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wavenumber cm-1

5


Transmittance [%]
100
95
90
85
80
75
70
65
3415.30
3321.88
2921.25
2851.14
1680.37
1644.77
1609.10
1585.19
1563.85
1531.07
1487.91
1445.66
1410.78
1379.25
1333.99
1303.02
1262.29
1222.98
1146.33
1077.56
1032.88
991.41
889.50
855.73
792.30
754.37
703.05
678.93
619.28
582.27
531.18
458.56
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wavenumber cm-1