



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

***“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN CITOTÓXICA DE NUEVAS  
SELENOAMIDAS CON UN FRAGMENTO PIRIDINA”***

**TESIS**

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

**PRESENTA**

**ABRAHAM RAMÍREZ RODRÍGUEZ**



**CDMX**

**2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dra. Yolanda Caballero Arroyo

**VOCAL:** M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

**SECRETARIO:** Dr. José Guadalupe López Cortés

**1er. SUPLENTE:** M. en C. Nayeli López Balbiaux

**2° SUPLENTE:** M. en C. Jacinto Eduardo Mendoza Pérez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE QUÍMICA INORGÁNICA IV, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**DR. JOSÉ GUADALUPE LÓPEZ CORTÉS**

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

---

**M. EN C. JOSÉ ANTONIO RAMÍREZ GÓMEZ**

**SUSTENTANTE:**

---

**ABRAHAM RAMÍREZ RODRÍGUEZ**

## Abreviaturas y símbolos

|                     |   |
|---------------------|---|
| °C                  | Grados Celsius                          |
| δ                   | Desplazamiento químico                  |
| d                   | Señal doble                             |
| DART                | Direct Analysis in Real Time            |
| EM                  | Espectrometría de masas                 |
| Eq                  | Equivalente                             |
| Et <sub>2</sub> O   | Eter dietílico                          |
| FAB <sup>+</sup>    | Fast Atom Bombardment                   |
| g                   | Gramo                                   |
| h                   | Horas                                   |
| Hz                  | Hertz                                   |
| IR                  | Infrarrojo                              |
| m                   | Señal múltiple                          |
| m/z                 | Relación masa/carga                     |
| Me                  | Metilo                                  |
| min                 | Minutos                                 |
| mL                  | Mililitro                               |
| ppm                 | Partes por millón                       |
| RMN <sup>13</sup> C | Resonancia magnética nuclear de carbono |
| RMN <sup>1</sup> H  | Resonancia magnética nuclear de protón  |
| s                   | Señal simple                            |
| t                   | Señal triple                            |
| TA                  | Temperatura ambiente                    |

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <i>n</i> -BuLi                   | <i>n</i> -Butil litio                                     |
| THF                              | Tetrahidrofurano  |
| <i>v</i>                         | Frecuencia de vibración                                   |
| Et <sub>3</sub> OBF <sub>4</sub> | Tetrafluoroborato de trietiloxonio                        |
| PC-3                             | Línea celular cancerosa de adenocarcinoma prostático      |
| K562                             | Línea celular cancerosa de leucemia mielogena crónica     |
| HCT-15                           | Línea celular cancerosa de adenocarcinoma colorectal      |
| MCF-7                            | Línea celular cancerosa de adenocarcinoma de mama         |
| SKLU                             | Línea celular cancerosa carcinoma pulmonar no microcítico |
| U251                             | Línea celular cancerosa de glioblastoma                   |
| u.m.a                            | Unidad de masa atómica                                    |
| ROS                              | Reactive oxygen species                                   |
| c.c.f                            | Cromatografía en capa fina                                |
| Å                                | Angstrom  |

## ÍNDICE TEMÁTICO

|  |    |
|--|----|
| I. INTRODUCCIÓN.....   | 1  |
| II. ANTECEDENTES .....   | 3  |
| 2.1 Selenio y cáncer .....   | 3  |
| 2.2 Selenoamidas.....  | 6  |
| 2.3 Síntesis de Selenoamidas.....  | 8  |
| 2.4 Reactividad.....   | 11 |
| 2.5 Actividad Biológica .....  | 15 |
| III. OBJETIVOS.....  | 17 |
| 3.1 General .....  | 17 |
| 3.2 Particulares .....   | 17 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 18 |
| 4.1 Análisis Retrosintético.....   | 18 |
| 4.2 Síntesis de Etoxicarbenos de Fischer .....                               | 19 |
| 4.3 Síntesis de Aminocarbenos de Fischer .....                               | 22 |
| 4.4 Síntesis de Selenoamidas.....  | 33 |
| 4.5 Ensayo de Citotoxicidad .....  | 41 |
| V. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....  | 48 |
| 5.1 Reactivos e Instrumentos.....  | 48 |
| 5.2 Procedimiento General para la Síntesis de Etoxicarbenos de Fischer ..... | 50 |
| 5.3 Procedimiento General para la Síntesis de Aminocarbenos de Fischer ..... | 52 |
| 5.4 Procedimiento General para la Síntesis de Selenoamidas.....              | 55 |
| 5.5 Pruebas de Citotoxicidad .....   | 61 |
| VI. CONCLUSIONES.....  | 63 |
| VII. REFERENCIAS .....   | 64 |

## **I. INTRODUCCIÓN**

En las últimas décadas, los compuestos organoselenados, han despertado un gran interés y una importante atención tanto en química orgánica<sup>1</sup> como en la industria farmacéutica,<sup>2</sup> esto debido a la actividad biológica que presentan como antivirales,<sup>3</sup> antihipertensivos,<sup>4</sup> antioxidantes,<sup>5</sup> antimicrobianos<sup>6</sup> y a sus propiedades anticancerígenas.<sup>7</sup> Por mencionar un ejemplo, el Ebselen,<sup>8</sup> se encuentra actualmente en las últimas etapas de desarrollo farmacéutico, debido a que aún se sigue estudiando su potente actividad como inhibidor de enzimas de importancia clínica como el óxido nítrico sintasa (NOS), lipoxigenasas (LOX), ciclooxigenasas (COX), NADPH oxidasa, proteína cinasa C (PKC), glutatión S-transferasa (GST), citocromo P-450, cisteína proteasas, prostaglandina H sintetasa, entre otras.

Es por lo anterior, que recientemente diversos estudios en epidemiología, sugieren que elementos traza o micronutrientes, como el selenio, actúan como agentes protectores contra un gran número de padecimientos y enfermedades con gran incidencia, como diabetes, SIDA, cardiopatías, enfermedades cerebrovasculares, además existe evidencia que sugiere, que dicho calcógeno también actúa inhibiendo diferentes mecanismos moleculares en la carcinogénesis temprana de distintas células, dependiendo de la forma química en la cual se encuentra presente este elemento.<sup>9</sup>

Actualmente un grupo de compuestos organoselenados que ha recibido gran atención en años recientes y que han sido biológicamente poco estudiados, son las selenoamidas ya que son precursores ampliamente utilizados en síntesis orgánica.<sup>10</sup>

Dichos compuestos han demostrado su potencial uso como agentes citotóxicos<sup>11</sup> contra diferentes líneas celulares de cáncer humano, mostrando mejoría en la actividad citotóxica, en comparación a la observada por algunos de los fármacos que se encuentran actualmente en el mercado.<sup>12</sup>

Es por todo lo anterior y teniendo en consideración las aplicaciones y hallazgos alrededor de los compuestos selenados, en este trabajo se presenta la síntesis y evaluación biológica de una nueva familia de compuestos organoselenados mediante una modificación a la metodología<sup>13</sup> propuesta por nuestro grupo de trabajo.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Selenio y cáncer

El selenio es un elemento químico no metálico perteneciente al grupo XVI (IUPAC) y periodo IV de la tabla periódica, representado por el símbolo (Se), cuyo número atómico es 34 y masa atómica 78.96 u.m.a., se ubica entre los elementos químicos Azufre (S) y Telurio (Te), suele encontrarse principalmente en tres estados de oxidación (-2, 4 y 6). Posee nueve isótopos; tres sintéticos y seis naturales, de los cuales cinco son estables ( $^{74}\text{Se}$ ,  $^{76}\text{Se}$ ,  $^{77}\text{Se}$ ,  $^{78}\text{Se}$ ,  $^{80}\text{Se}$ ); además de encontrarse en su mayoría como dos formas alotrópicas, polvo rojo y polvo negro, con una abundancia en la corteza terrestre de 90  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .<sup>14</sup>

Su función biológica esencial es de oligoelemento, y pertenece a los compuestos quimiopreventivos más ampliamente estudiados.<sup>15</sup> Alimentos tales como cereales, granos y vegetales, contienen diversas cantidades y formas químicas de selenio ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ,  $\text{SeO}_4^{2-}$ ,  $\text{Se}_2\text{O}_3^{2-}$ ). Una adecuada ingesta de selenio recomendada por la Food and Nutrition Board (FNB) del Institute of Medicine (IOM) ha estimado en 50  $\mu\text{g}/\text{día}$ , con niveles tóxicos que se calculan con la ingesta del orden de 350-700  $\mu\text{g}/\text{día}$ .<sup>16</sup>

El selenio es importante para muchos procesos celulares, ya que es un componente de varios selenoaminoácidos (Selenometionina (SeMet), Metilselenocisteína (MeSeCys), Selecistamina y Selenocisteína (SeCys)), de manera que se considera que poseen función preventiva de cáncer.<sup>17</sup>

La ingesta diaria de selenio con dosis bajas parece ser beneficioso no sólo para la prevención del cáncer, sino también, puede influir positivamente en muchas otras funciones en el organismo mediante la reducción antiinflamatoria, enfermedades del corazón y la regulación de la presión arterial.<sup>18</sup>

La eficacia de los compuestos de selenio como agente quimiopreventivo *in vivo* se correlaciona con su capacidad para efectuar la regulación del ciclo celular, para estimular la apoptosis y para inhibir la migración de células tumorales, así como la invasión *in vitro*.<sup>19</sup>

En este contexto, algunos tipos de cáncer, han mostrado buena respuesta por el tratamiento con numerosos compuestos organoselenados.<sup>20</sup> Las células de un organismo generan *n*-cantidad de especies reactivas (ROS) como metabolitos de compuestos oxigenados, como radicales superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radicales hidroxilo ( $OH^-$ ).

Dichas especies reactivas causan la degeneración de biomacromoléculas induciéndolas a estrés oxidativo. De esta manera, resulta de vital importancia eliminar *in vivo* fuentes de oxígeno dentro de la célula. Enzimas antioxidantes, como superóxido-dismutasas (SODs), catalasa y glutatión-peroxidasa; vitaminas antioxidantes como la vitamina C y E, atrapan y eliminan a estas especies reactivas de oxígeno. Cabe resaltar la importancia de la enzima glutatión-peroxidasa que cuenta con selenio como cofactor, pues atrapa y elimina de manera *in vitro* como *in vivo* al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

De esta manera, diversos estudios<sup>21</sup> han demostrado que compuestos selenados, como selenoproteínas, protegen a las células del estrés oxidativo. Debido a esto, Santos y colaboradores<sup>22</sup> consideraron la posibilidad de encontrar eficiencia en compuestos organoselenados para atrapar y eliminar especies reactivas de oxígeno, desarrollando un estudio para determinar la actividad de selenoamidas para atrapar agentes oxidantes *in vitro*<sup>23</sup> y a partir de esos resultados, muchas investigaciones se han dirigido a la síntesis de compuestos con la posibilidad de encontrar actividad contra cáncer. Al mismo tiempo se han efectuado estudios epidemiológicos que relacionen el aporte dietético de selenio en las poblaciones y su incidencia en algún tipo de cáncer.

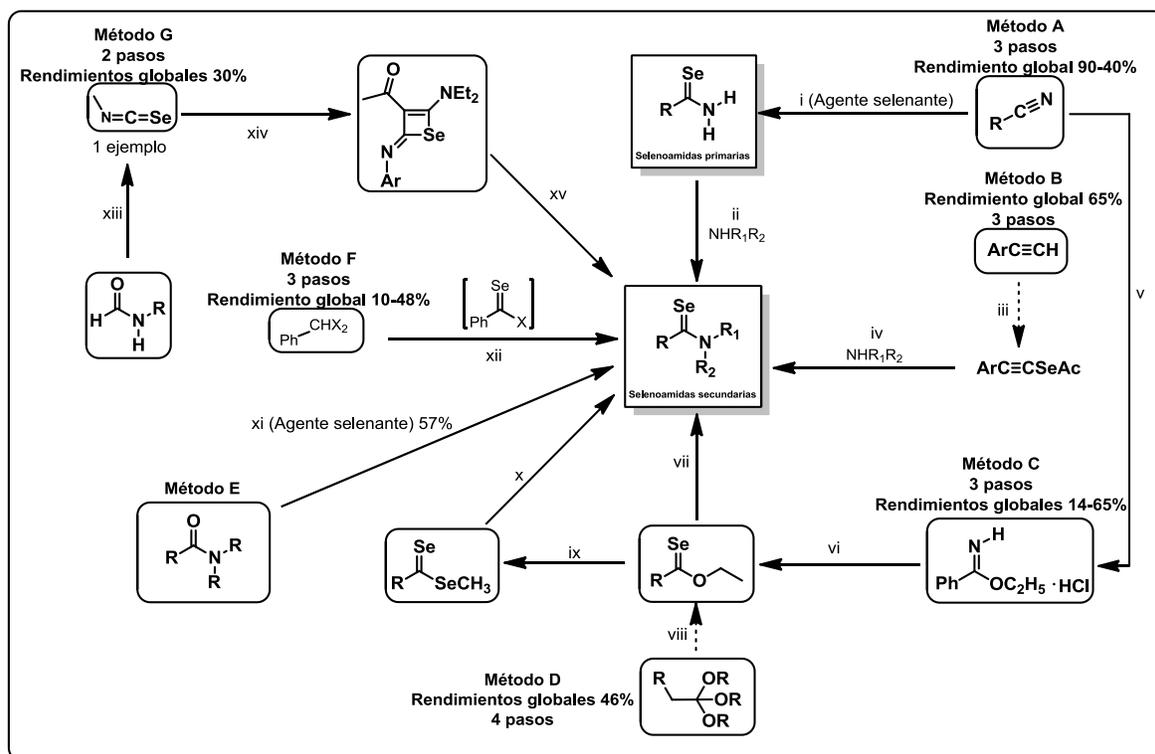
## 2.2 Selenoamidas

Las selenoamidas son moléculas análogas a las amidas en las cuales existe un grupo selenocarbonilo (C=Se), en lugar de un carbonilo (C=O), las cuales tienen una gran versatilidad química y esencialmente son utilizadas como bloques constructores para la preparación de compuestos con interés biológico,<sup>24</sup> así como heterociclos o moléculas que contengan un átomo de selenio, ejemplo de ello son las selenazinas y los selenazoles por mencionar algunos.

Actualmente, las estrategias sintéticas para la obtención de selenoamidas **N**-sustituidas son limitadas en comparación con sus análogos azufrados; esto debido a la difícil preparación de los agentes selenantes, además es posible observar que las metodologías existentes para su síntesis, involucran una serie de múltiples pasos de reacción, empleando reactivos en la mayoría de los casos de difícil manejo o tóxicos, lo cual se ve reflejado en rendimientos globales bajos y por lo tanto, dichas metodologías no pueden ser consideradas generales (**Esquema 1**).

Sin embargo, pese a las limitantes antes mencionadas, estudios previos, han demostrado que dichos compuestos organoselenados dependiendo de la naturaleza y número de sustituyentes, pueden presentar estabilidad termodinámica, siendo así, la selenoamida terciaria más estable que la selenoamida secundaria y esta a su vez, más estable que la selenoamida primaria.<sup>25</sup>

Bajo este contexto, nuestro grupo de trabajo se ha enfocado a la síntesis de selenoamidas altamente funcionalizadas en buenos rendimientos, empleando complejos carbenicos tipo Fischer con un fragmento metálico del grupo VI, debido a que estos complejos pueden generar una gama de interesantes compuestos orgánicos, en especial, aminocarbenos que han venido transformándose en otros análogos, como por ejemplo, las tioamidas y selenoamidas.<sup>26, 27</sup>

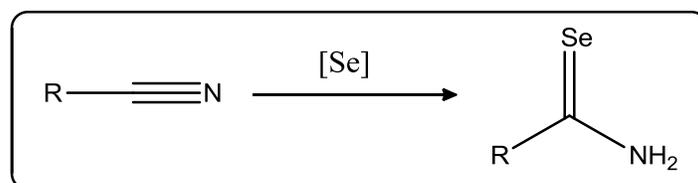


**A:** (i) Reactivo de Woollins,  $P_2Se_5$ ,  $H_2Se$ ,  $Al_2Se_3$ ,  $NaSeH$ , Selenobenzoato de Potasio; (ii)  $NHR_1R_2$ , EtOH, HCl,  $100^\circ C$ , 5h;  $NHR_1R_2$ , DMF, HCl,  $100^\circ C$ , 3h; **B:** (iii) Éter,  $n-BuLi$ , Se, AcCl,  $0^\circ C$ ; (iv)  $NHR_1R_2$ , Éter,  $20^\circ C$ , 3h; **C:** (v) ROH, HCl, Éter,  $0^\circ C$ ; (vi) Acetimidato de Etilo, Piridina, Trietilamina,  $H_2Se$ ,  $-30^\circ C$ ; (vii) Mg, EtBr,  $NH_2R$ , Éter, 1h; **D:** (viii) Trialquil Ortobenzoato,  $(Me_3Al)_2Se$ , Tolueno-Dioxano,  $50^\circ C$ , 3 h; (ix)  $(CH_3)_2AlSeCH_3$ , Tolueno; (x)  $NHR_1R_2$ , THF,  $0^\circ C$ ; **E:** (xi)  $(iBuAlSe)_n$ ,  $Me_2AlSeAlMe_2$ , Se,  $HSiCl_3$ ,  $Et_4WSe$ ,  $LiAlHSeH$ , Reactivo de Woollins, Selenuro de bis(1,5-ciclooctanodiiborilo); **F:** (xii) NaH, Se,  $NHR_1R_2$ , HMPA,  $120^\circ C$ ; **G:** (xiii) *N*-arilformamida, Trietilamina, Se, Tolueno reflujo, 10h; (xiv) 4-dietilamino-3-butin-2-ona, THF, reflujo; (xv)  $NHR_1R_2$ , THF, reflujo.

**Esquema 1.** Rutas sintéticas para la formación de Selenoamidas

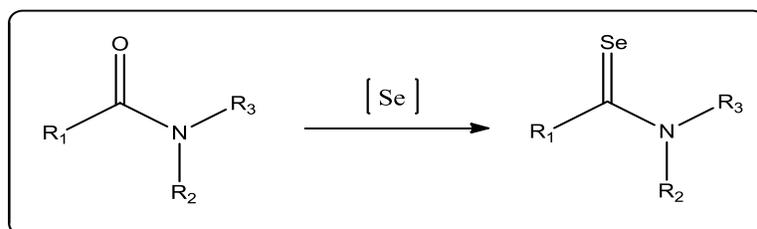
## 2.3 Síntesis de Selenoamidas

Existen pocos métodos sintéticos para la obtención de selenoamidas posiblemente debido a la inestabilidad que se menciona y a su difícil preparación, anteriormente los reportes generales para la síntesis de selenoamidas primarias consistían en reacciones de aril-nitrilos con agentes selenantes como ácido selenhídrico ( $\text{H}_2\text{Se}$ ), seleniuro de fósforo ( $\text{P}_2\text{Se}_5$ ), seleniuro de aluminio ( $\text{Al}_2\text{Se}_3$ ), biseleniuro de sodio ( $\text{NaSeH}$ ), *tris*(trimetilsilil)monoselenofosfato ( $\text{Si}(\text{Me}_3)_3\text{PSeO}_3$ ), reactivo de Woollins,<sup>3,28</sup> entre otros. Sin embargo, estos procedimientos arrojan resultados desfavorables con rendimientos globales menores al 17%<sup>29</sup> (**Esquema 2**).



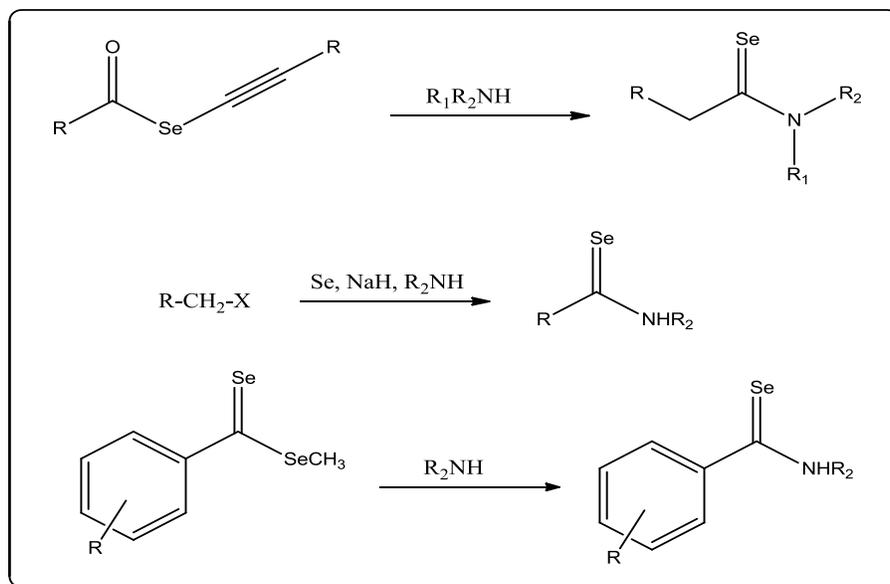
**Esquema 2.** Formación de Selenoamidas Primarias

En lo que respecta a la síntesis de selenoamidas secundarias y terciarias, existen metodologías que favorecen buenos rendimientos globales de reacción, los cuales emplean amidas como reactivos y otros agentes selenantes como  $\text{LiAlHSeH}^{30}$ ,  $(\text{iBuAlSe})_n$ ,  $(\text{Me}_2\text{Al})_2\text{Se}^{31}$ ,  $(\text{Et}_4\text{N})_2\text{WSe}_4^{32}$  (**Esquema 3**).



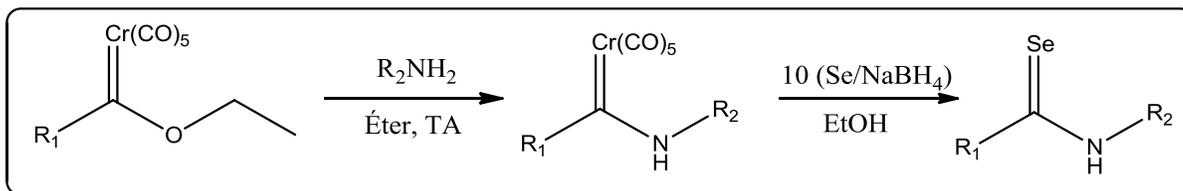
**Esquema 3.** Formación de Selenoamidas Secundarias y Terciarias

A la metodología anterior, se han sumado la síntesis de selenoamidas por medio de reacciones de selenocarboxilatos con aminas, haloalcanos con selenio elemental, aminas e hidruro de sodio (NaH), así como ésteres seleniometilicos derivados del ácido diselenónico<sup>33</sup> (**Esquema 4**).



**Esquema 4.** Reacciones análogas para la formación de Selenoamidas

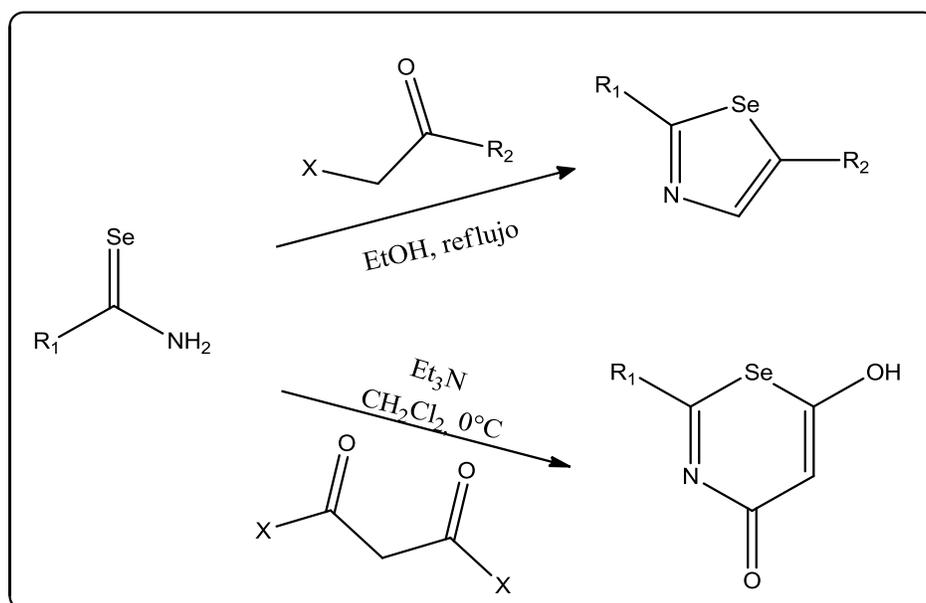
Adicionalmente a las metodologías reportadas, nuestro grupo de trabajo, diseñó e implementó una nueva y eficiente metodología para la síntesis de selenoamidas con buenos rendimientos, tiempos cortos y condiciones suaves de reacción. Dicha metodología, consiste en una reacción de demetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer, en la cual se utiliza como agente selenante una mezcla de borohidruro de sodio ( $NaBH_4$ ) y selenio elemental<sup>12</sup> (**Esquema 5**).



**Esquema 5.** Demetalación seleniurativa de aminocarbemos de Fischer

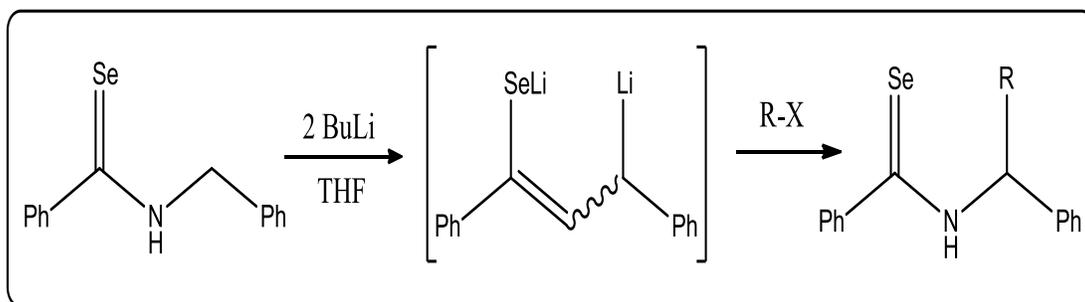
## 2.4 Reactividad

Las selenoamidas son útiles intermediarios en la formación de heterociclos y sus derivados, por mencionar algunos: selenazoles, selenazinas, furanos, pirroles, tiofenos, piridinas, entre otros. Dicho lo anterior, la reacción de selenoamidas primarias con  $\alpha$ -haloacetonas o haluros de haloacilo, producen derivados del 1,3-selenazol.<sup>34</sup> Incluso reacciones de una selenoamida primaria con cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas o compuestos 1,3-dicarbonílicos, producen derivados de 1,3-selenazina<sup>35</sup> (**Esquema 6**).



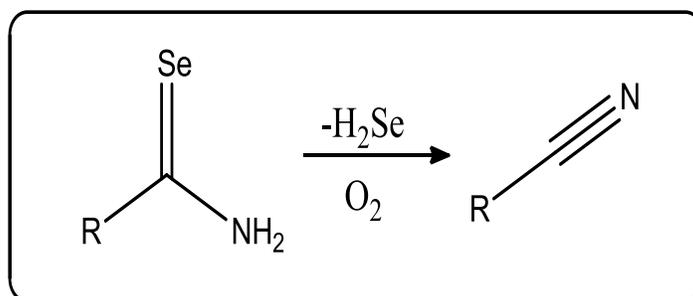
**Esquema 6.** Formación de Selenaheterociclos

El grupo selenocarbonilo presenta mayor reactividad que sus correspondientes análogos sulfurados y oxigenados,<sup>36</sup> de tal manera que se ha demostrado que la desprotonación de selenoamidas conduce a la formación de dianiones que pueden ser susceptibles a la reacción con diversos electrófilos, esto para obtener selenoamidas sustituidas en posición alfa al nitrógeno<sup>37</sup> (**Esquema 7**).



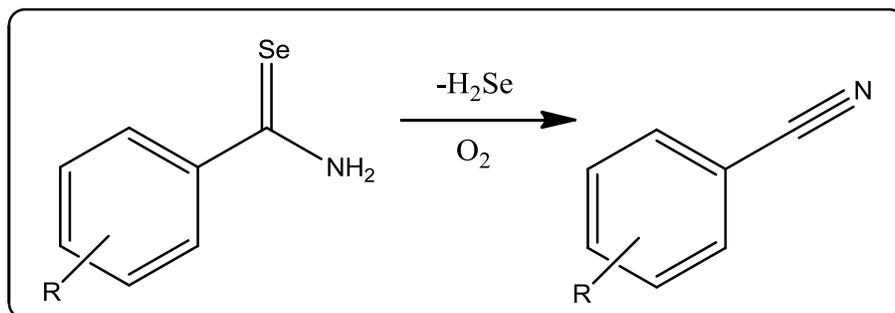
**Esquema 7.** Obtención de Selenoamidas sustituidas

Diversos reportes describen que las selenoamidas son especies más estables que los correspondientes selenoésteres, sin embargo, son susceptibles a perder seleniuro de hidrógeno y formar el respectivo nitrilo (**Esquema 8**).



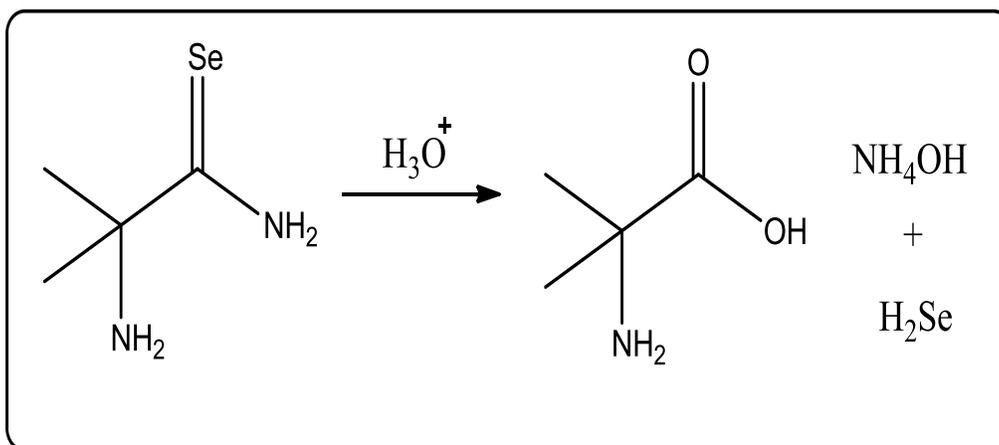
**Esquema 8.** Reacción para la formación de nitrilos a partir de selenoamidas primarias

En cuanto a las selenoamidas aromáticas primarias, éstas son relativamente estables a temperatura ambiente bajo atmósfera inerte y al igual que las selenoamidas alifáticas, cuando se exponen al aire, son lentamente transformadas en nitrilos, agua y selenio elemental<sup>38</sup> (**Esquema 9**).



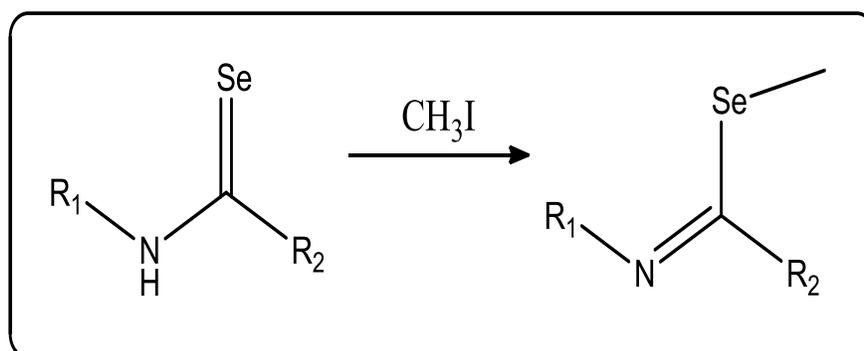
**Esquema 9.** Formación de Nitrilos a partir de Selenoamidas aromáticas primarias

Desde hace aproximadamente 4 décadas, se ha sabido que la hidrólisis de una selenoamida primaria produce su correspondiente ácido carboxílico, hidróxido de amonio y seleniuro de hidrógeno (**Esquema 10**)<sup>39</sup>.



**Esquema 10.** Hidrólisis de Selenoamidas

Asimismo, las reacciones de alquilación y acilación de selenoamidas en el átomo de selenio ocurren rápidamente, obteniendo rendimientos globales altos<sup>40</sup> (**Esquema 11**).



**Esquema 11.** Metilación de Selenoamidas

## 2.5 Actividad Biológica

El primer reporte conocido del empleo del selenio para el tratamiento de cáncer fue realizado por Walter y Klein;<sup>41</sup> quienes describieron con éxito el tratamiento de cáncer (lingual), mediante inyección directa de seleniuro de sodio en el tumor. De aquí en adelante, muchos compuestos mostraron ser capaces de afectar el desarrollo de múltiples variedades de tumores en modelos animales.<sup>42</sup>

Estos efectos citotóxicos fueron investigados *in vitro* utilizando cultivos celulares cancerosos y los resultados fueron similares.<sup>43</sup> En dichas pruebas de actividad biológica se emplearon muestras de compuestos inorgánicos y orgánicos; los resultados mostraron que no todos los compuestos de selenio presentan actividad anticarcinogénica. Sin embargo, los compuestos que sí presentaron actividad, detuvieron el crecimiento de células malignas y redujeron la inducción de carcinogénesis en los cultivos y experimentos animales.<sup>44</sup>

A partir del primer derivado organoselenado publicado, el etilselenol, hasta la fecha, la química de organoselenados se ha incrementado, debido a sus numerosas aplicaciones en síntesis orgánica, así como en farmacología, ya que una gran cantidad de este tipo de moléculas son biológicamente activas.

En este contexto, los compuestos organoselenados hoy en día han atraído la atención causada por la presencia del selenio en una serie de enzimas de mamíferos en forma de residuos de selenocisteína.<sup>45</sup> Estas enzimas están involucradas en el sistema de defensa antioxidante, regulación redox del metabolismo de la hormona de la tiroides, crecimiento celular y apoptosis.<sup>46</sup>

El número de selenoproteínas identificadas ha aumentado considerablemente en los últimos años. Convencionalmente, yodotirosina desyodinasas (ID), responsable de la conversión de las hormonas tiroideas, tiorredoxina reductasa (TrxR), que desempeña un importante papel en la síntesis de ADN y el grupo bien conocido de glutatión peroxidasas (GPx), a cargo de la protección celular de peróxidos, son la clase más representativa de selenoproteínas.<sup>47</sup>

Actualmente, el selenio atrae una atención considerable, aparte de su papel como micronutriente, una combinación de observaciones experimentales en la biología del selenio ha permitido ampliar las áreas de investigación del azufre al selenio<sup>48</sup> y encontrar diversas aplicaciones en áreas como la síntesis orgánica,<sup>49</sup> catálisis,<sup>50</sup> química de coordinación,<sup>51</sup> ciencias de materiales<sup>52</sup> y farmacia.<sup>53</sup> En esta última, los compuestos organoselenados han mostrado variedad de bioactividades, que van desde imitación de enzimas antioxidantes,<sup>54</sup> neuroprotectores,<sup>55</sup> antibacterianas o antiparasitarias,<sup>56</sup> anticonvulsivantes<sup>57</sup> y en el mejor de los casos, anticancerígenos.<sup>58</sup>

En investigaciones recientes, un amplio espectro de compuestos organoselenados ha sido probado contra diferentes líneas celulares de cáncer humano, por ejemplo, selenitas,<sup>59</sup> selenatos,<sup>60</sup> seleniuros,<sup>61</sup> diseleniuros,<sup>62</sup> diversos selenaheterociclos,<sup>63</sup> imidoselenocarbamatos,<sup>64</sup> selenophem y selenopenams,<sup>65</sup> seleno-piranosas,<sup>66</sup> selenonúcleosidos,<sup>67</sup> el bien conocido ethaselen,<sup>68</sup> y recientemente una amplia familia de ferrocenil(hidroxi)aryl-selenoamidas<sup>69</sup> que fueron reportados para inhibir el crecimiento de líneas celulares de cáncer humano U-251 (glioblastoma), HCT-15 (adenocarcinoma colorectal), y MCF-7 (adenocarcinoma de mama), los cuales, demostraron mayor eficacia que fármacos que se encuentran actualmente disponibles en el mercado, como el tamoxifen o cisplatino.<sup>12</sup>

### **III. OBJETIVOS**

#### **3.1 General**

- Realizar la síntesis de nuevas aril-selenoamidas con un fragmento piridina en su estructura mediante una reacción de demetalación seleniurativa de arilaminocarbenos de Fischer y posteriormente, evaluar la posible actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares de cáncer humano.

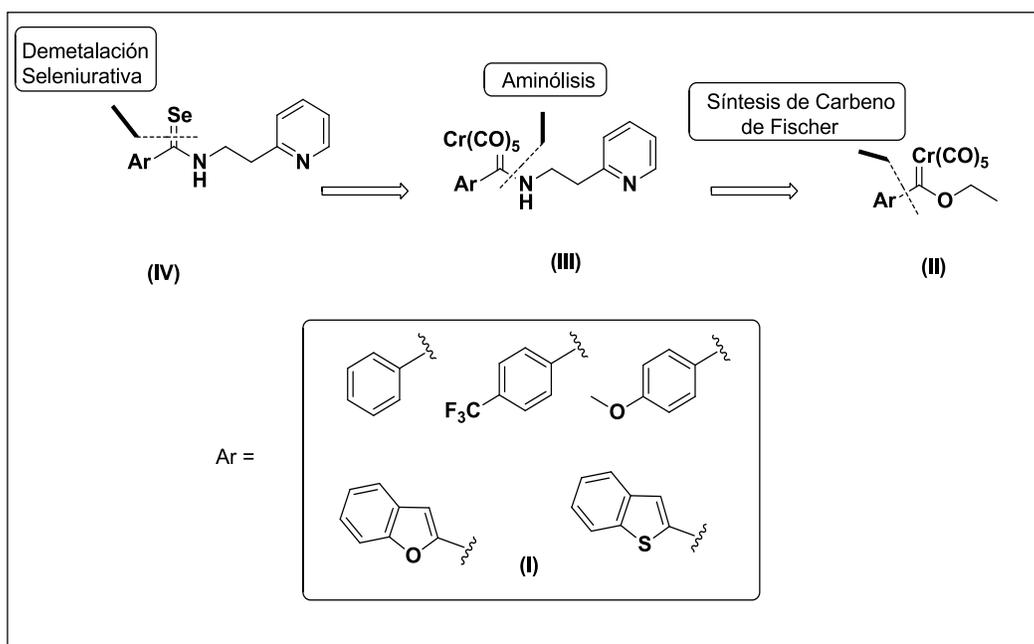
#### **3.2 Particulares**

- Sintetizar y obtener las nuevas selenoamidas a partir de la síntesis de los correspondientes aminocarbenos de Fischer con un fragmento piridina, promovida por una reacción de demetalación seleniurativa con una mezcla de Se/NaBH<sub>4</sub>.
- Sintetizar y obtener los aminocarbenos de Fischer mediante reacción de aminólisis de etoxicarbenos, empleando una amina comercial [2-(2-aminoetil)piridina].
- Llevar a cabo la purificación y caracterización espectroscópica (IR, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C), espectrométrica (Espectrometría de Masas) y de ser posible la difracción de rayos X de monocristal de las diferentes entidades aisladas.
- Evaluar la posible actividad citotóxica de los compuestos selenocarbonílicos obtenidos sobre líneas celulares de cáncer humano (Glía de sistema nervioso central (U251), Próstata (PC-3), Leucemia (K526), Colon (HCT-15), Mama (MCF-7) y Pulmón (SKLU)) como probables agentes citotóxicos.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Análisis Retrosintético

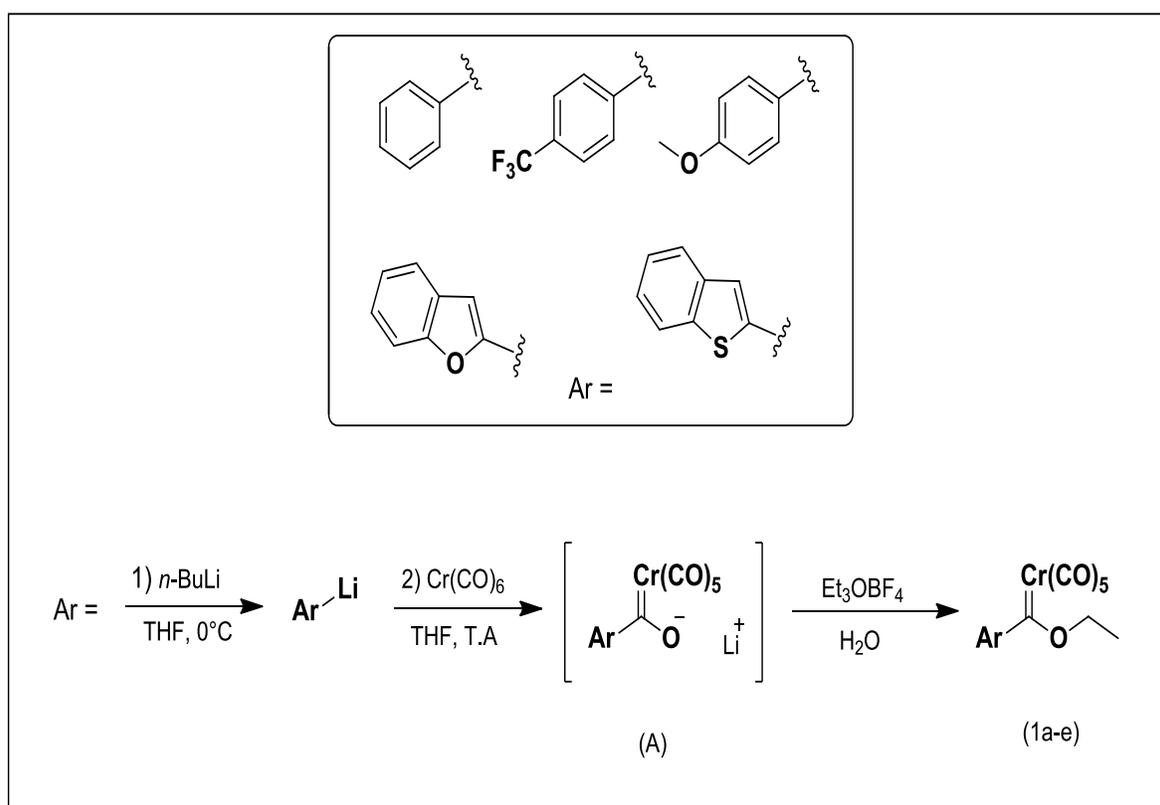
Como se describió anteriormente, el desarrollo de nuevas moléculas que contengan selenio como elemento clave para presentar actividad citotóxica es un tópico de gran interés, es por esto, que nos enfocamos en la obtención de compuestos derivados de *N*-(2-piridin-2-il)etil-aryl-selenoamidas, y en este contexto, se planteó el análisis retrosintético (**Esquema 12**). La selenoamida objetivo (**IV**) podría prepararse por la introducción del átomo de selenio mediante una reacción de demetalación seleniurativa del aminocarbeno de Fischer (**III**), el fragmento amino podría introducirse por una reacción de aminólisis de 2-(2-aminoetil)piridina y el respectivo etoxicarbeno de Fischer (**II**), el cual, puede ser fácilmente obtenido por una modificación a la metodología desarrollada por López-Cortés y colaboradores<sup>13</sup> empleando materias primas comercialmente disponibles (**I**).



**Esquema 12.** Análisis retrosintético

## 4.2 Síntesis de Etoxicarbenos de Fischer

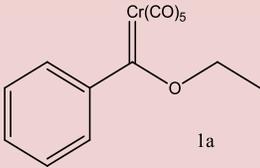
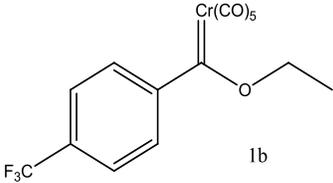
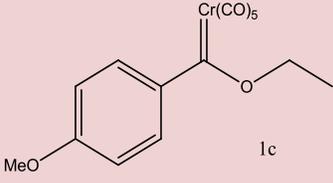
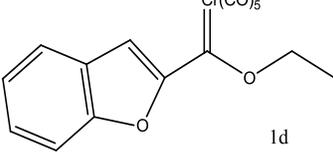
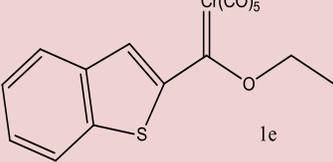
Una vez planteada la ruta sintética, se comenzó con la preparación de los carbenos de Fischer; inicialmente se llevó a cabo la monolitiación de las materias primas planteadas utilizando como base *n*-BuLi. Formados los correspondientes organolitios, se adicionó el hexacarbonilo de cromo para formar acil-metalatos intermediarios (**A**). Estos intermediarios se alquilaron con tetrafluoroborato de trietiloxonio ( $\text{Et}_3\text{OBF}_4$ ) en agua, obteniéndose los respectivos etoxicarbenos de Fischer (**1a-e**) en buenos rendimientos (80% - 90%) (**Esquema 13**).



**Esquema 13.** Metodología de síntesis de etoxicarbenos de Fischer

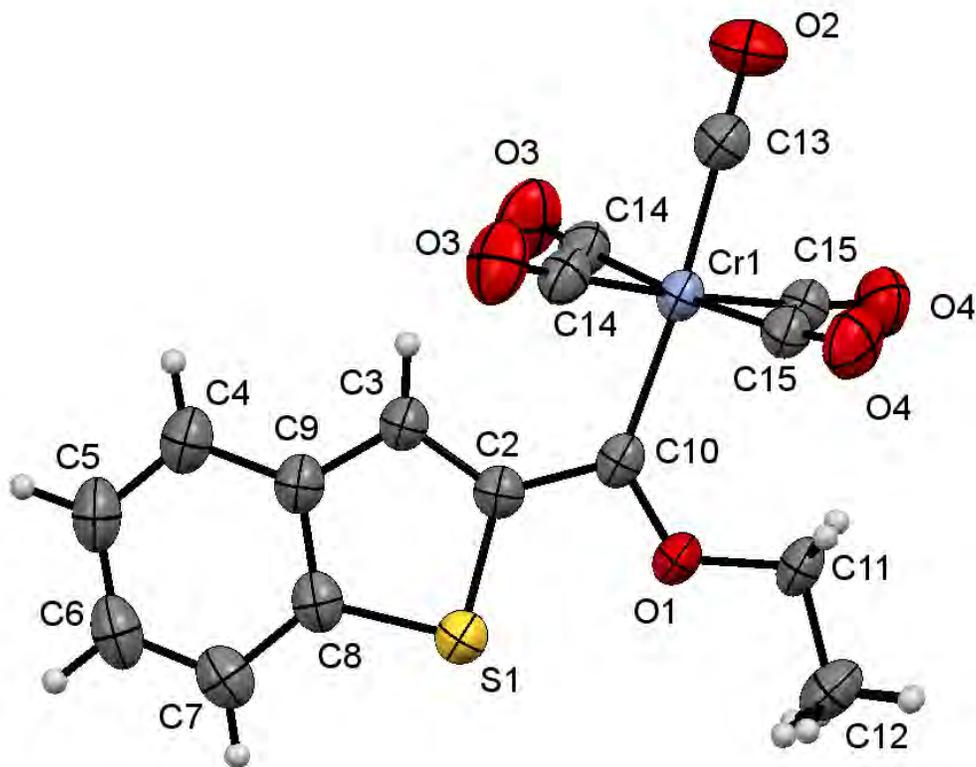
La **Tabla 1** muestra las características físicas de los etoxicarbenos de Fischer obtenidos con la metodología mencionada anteriormente.

**Tabla 1.** Características de los etoxicarbenos de Fischer

| <b>Compuesto</b>  | <b>Rendimiento (%)</b> | <b>Apariencia</b> | <b>P. Fusión (°C)</b> |
|---|------------------------|-------------------|-----------------------|
| <br>1a   | 90                     | Sólido/Vino       | 47                    |
| <br>1b   | 89                     | Sólido/Vino       | 46-48                 |
| <br>1c  | 80                     | Sólido/Violeta    | 103-104               |
| <br>1d | 85                     | Sólido/Vino       | 120-122               |
| <br>1e | 90                     | Sólido/Violeta    | 120                   |

Para el caso del compuesto **1e** se logró la obtención de un monocristal adecuado para su estudio por difracción de rayos X, utilizando una mezcla de hexano-benceno, confirmando plenamente la estructura del etoxicarbeno de Fischer.

En la **Figura 1** puede observarse la representación ORTEP de este análisis y en la **Tabla 2** se muestran los datos cristalográficos más importantes.

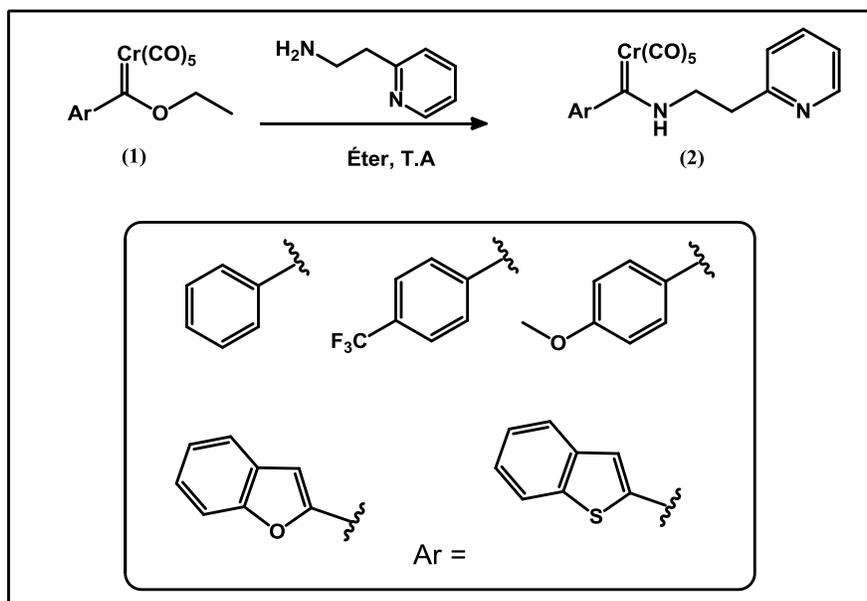


**Figura 1.** Representación ORTEP del compuesto **1e**

**Tabla 2.** Datos cristalográficos del compuesto **1e**

| <b>Fórmula</b>                                     | <b>Peso molecular (g/mol)</b> | <b>Color</b> | <b>P. fusión (°C)</b> | <b>Sistema cristalino</b> |
|--|-------------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------|
| C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> CrO <sub>6</sub> S | 382.30                        | Violeta      | 120                   | Monoclínico               |

### 4.3 Síntesis de Aminocarbenos de Fischer

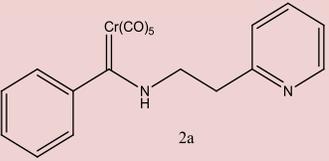
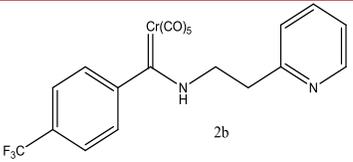
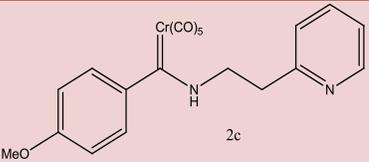
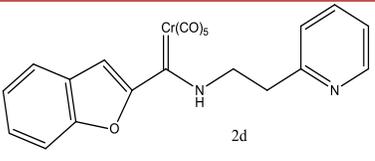
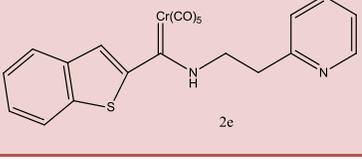


**Esquema 14.** Reacción de Aminólisis

Una vez sintetizados los diferentes etoxicarbenos de Fischer y conociendo que entre las reacciones que pueden sufrir se encuentra la de sustitución nucleofílica mediante procesos de adición-eliminación,<sup>70</sup> se realizaron reacciones de aminólisis de los etoxicarbenos (**1**) previamente sintetizados con 2-(2-aminoetil)piridina, obteniendo los correspondientes aminocarbenos de Fischer (**2**) en rendimientos que van desde moderados a buenos (70-85%) (**Esquema 14**).

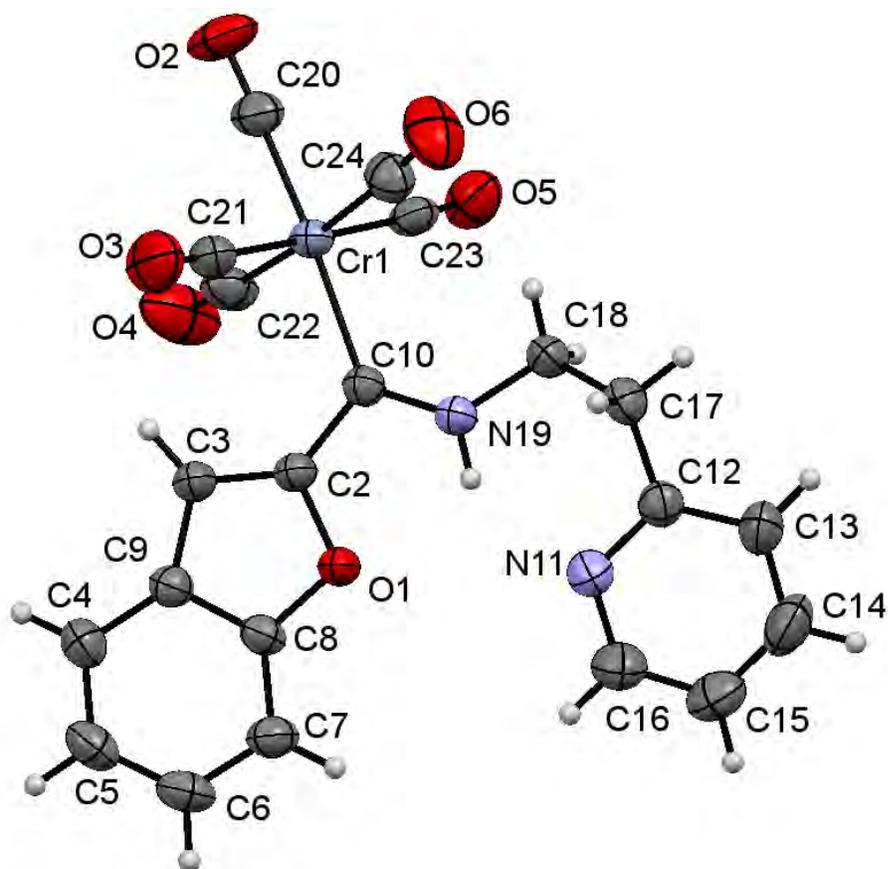
En la **Tabla 3** se muestran los diferentes Aminocarbenos de Fischer resultado de la reacción de aminólisis.

**Tabla 3.** Características de los aminocarbenos de Fischer

| Compuesto   | Rendimiento (%) | Apariencia              | P. Fusión (°C) |
|---|-----------------|-------------------------|----------------|
| <br>2a   | ----            | Líquido<br>Oleoso/Verde | ----           |
| <br>2b   | ----            | Líquido<br>Oleoso/Verde | ----           |
| <br>2c  | ----            | Líquido<br>Oleoso/Verde | ----           |
| <br>2d | 85              | Sólido/Rojizo           | 140            |
| <br>2e | 85              | Sólido/Amarillo         | 92             |

Para el caso del compuesto **2d** se logró la obtención de un monocristal adecuado para su estudio por difracción de rayos X, utilizando una mezcla de hexano-benceno, confirmando plenamente la estructura del aminocarbeno.

En la **Figura 2** puede observarse la representación ORTEP de este análisis y en la **Tabla 4** se muestran los datos cristalográficos más importantes.

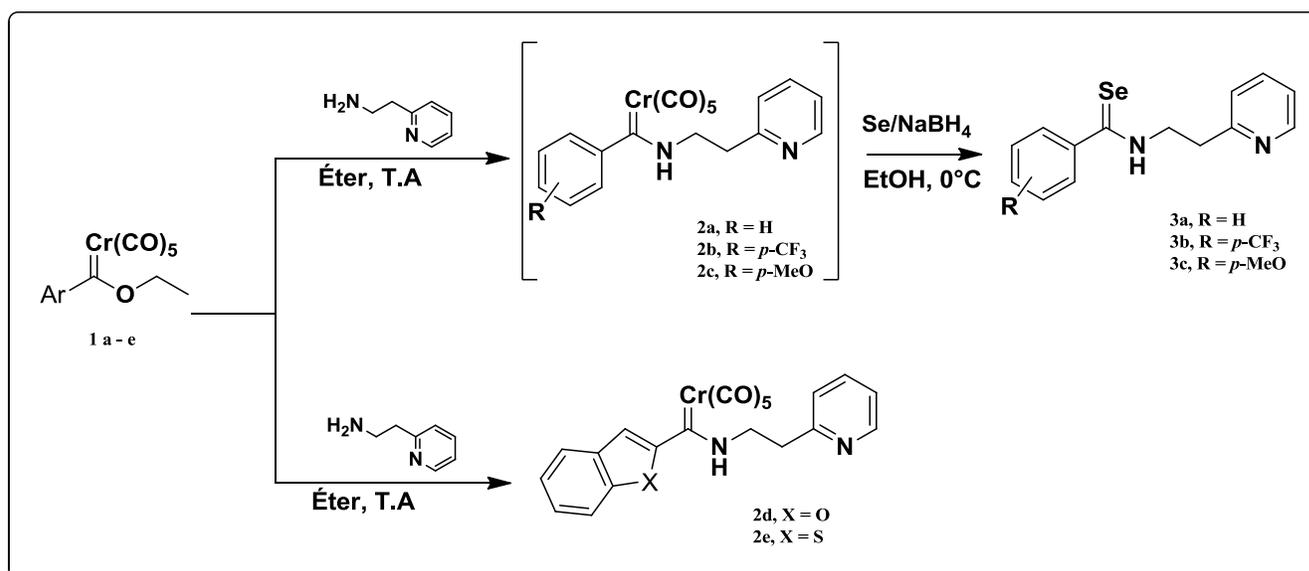


**Figura 2.** Representación ORTEP del compuesto **2d**

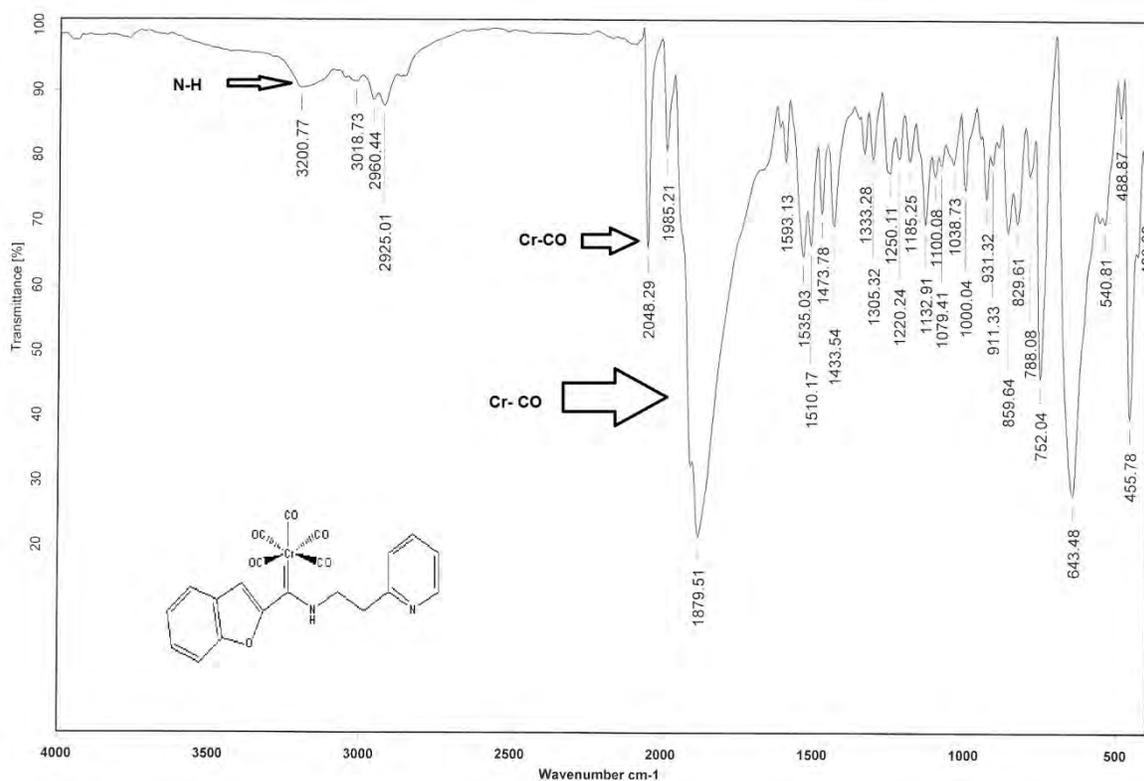
**Tabla 4.** Datos cristalográficos del compuesto **2d**

| <b>Fórmula</b>  | <b>Peso molecular (g/mol)</b> | <b>Color</b> | <b>P. fusión</b> | <b>Sistema cristalino</b> |
|---|-------------------------------|--------------|------------------|---------------------------|
| C <sub>21</sub> H <sub>14</sub> CrN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> | 442.34                        | Amarillo     | 140              | Monoclínico               |

Debido a que 3 de los aminocarbenos sintetizados (**2a-c**) son inestables, se sometieron a una reacción en tándem de demetalación seleniurativa como paso clave para la obtención de las selenoamidas (**Esquema 15**).



**Esquema 15.** Metodología en tándem de demetalación seleniurativa de aminocarbenos de Fischer inestables



**Espectro 1.** Espectro de IR (KBr) para el compuesto **2d**

A manera de ejemplo, a continuación se describen los datos espectroscópicos obtenidos para el compuesto **2d** (**Espectro 1**). En el espectro de infrarrojo, se aprecia la banda de vibración de enlace ( $\nu$ ) N-H en  $3200\text{ cm}^{-1}$ , además se tienen dos bandas de absorción intensa en  $2048\text{ cm}^{-1}$  y una en  $1879\text{ cm}^{-1}$  asignadas a los carbonilos metálicos, característicos en este tipo de compuestos. Los datos espectroscópicos para el infrarrojo de los compuestos **2e** y **2d** se reúnen en la **Tabla 5**.

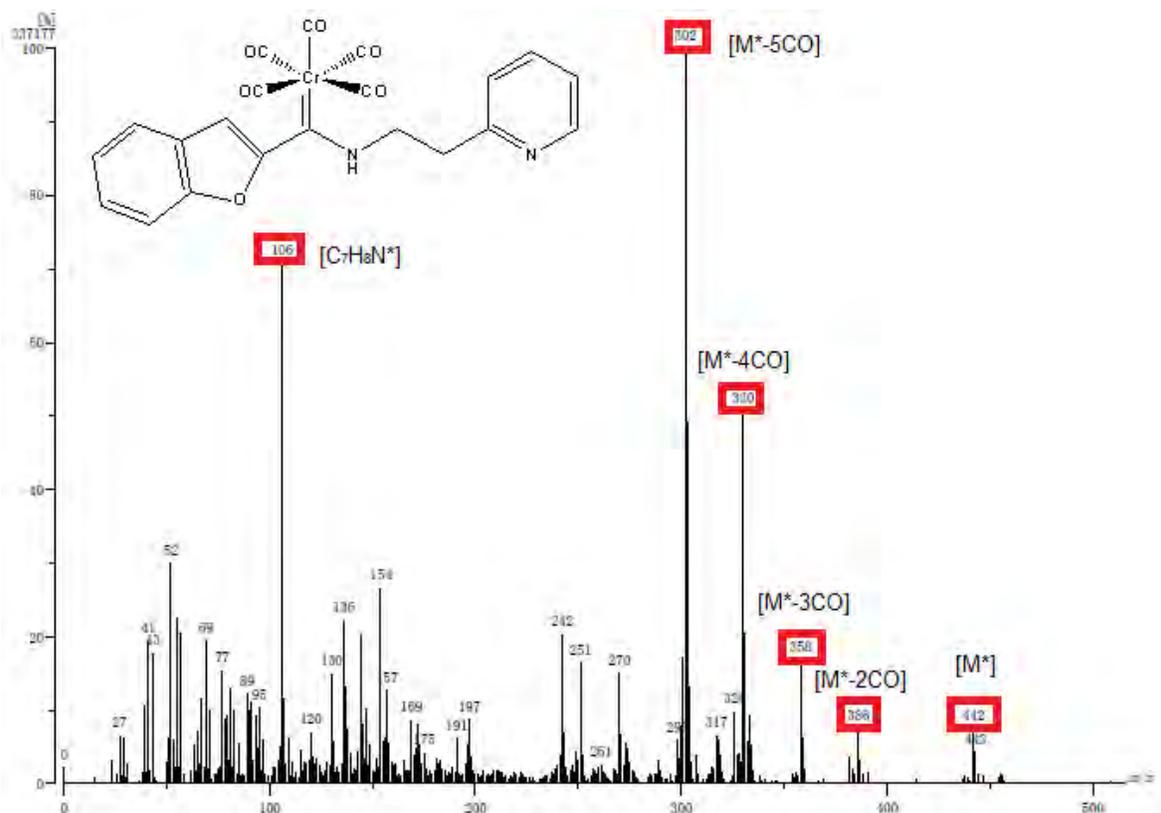
**Tabla 5.** Datos de IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) para los compuestos **2d-e**

| Compuesto | $\nu(\text{N-H})$ | $\nu(\text{M-CO})$ | $\nu(\text{M-CO})$ |
|-----------|-------------------|--------------------|--------------------|
| <b>2d</b> | 3200              | 2048               | 1879               |
| <b>2e</b> | 3128              | 2049               | 1883               |

Al analizar el espectro de masas (FAB<sup>+</sup>) para el compuesto **2d** (**Espectro 2**), se observa un pico con una relación masa/carga ( $m/z$ ) de 442 correspondiente al ión molecular, el cual concuerda con el peso molecular esperado. Posteriormente se aprecia la pérdida sucesiva de 28  $m/z$  debido a la pérdida de los cinco carbonilos metálicos del complejo. Adicionalmente, se observa un pico en 106  $m/z$  correspondiente a la formación de  $[C_7H_8N]^+$  como fragmento de nuestra amina empleada en la aminólisis. Posteriormente, los picos producidos por las fragmentaciones de los compuestos **2d** y **2e** se resumen en la **Tabla 6**.

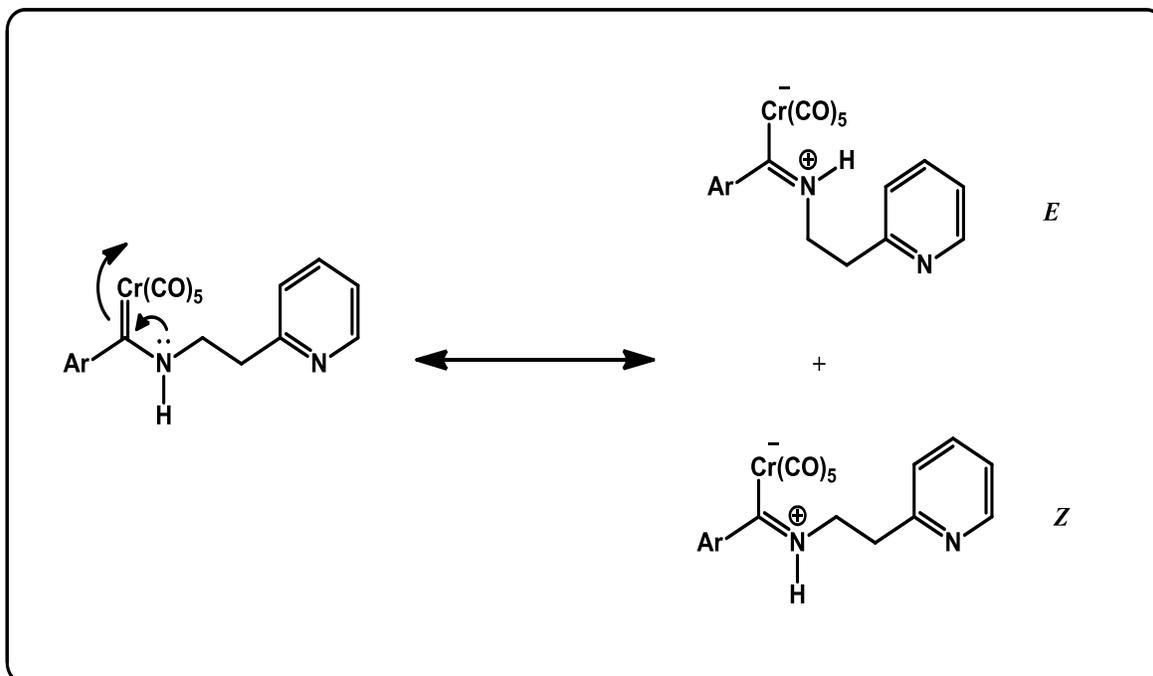
**Tabla 6.** Datos de masas ( $m/z$ ) para los compuestos **2d-e**

| <b>Fragmento</b>                                 | <b>2d</b> | <b>2e</b> |
|--|-----------|-----------|
| <b>[M]<sup>+</sup></b>                           | 442       | 458       |
| <b>[M<sup>+</sup>-CO]</b>                        | 414       | 430       |
| <b>[M<sup>+</sup>-2CO]</b>                       | 386       | 402       |
| <b>[M<sup>+</sup>-3CO]</b>                       | 358       | 374       |
| <b>[M<sup>+</sup>-4CO]</b>                       | 330       | 346       |
| <b>[M<sup>+</sup>-5CO]</b>                       | 302       | 318       |
| <b>[C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N]<sup>+</sup></b> | 106       | 106       |



**Espectro 2.** Espectro de masas (FAB<sup>+</sup>) para el compuesto **2d**

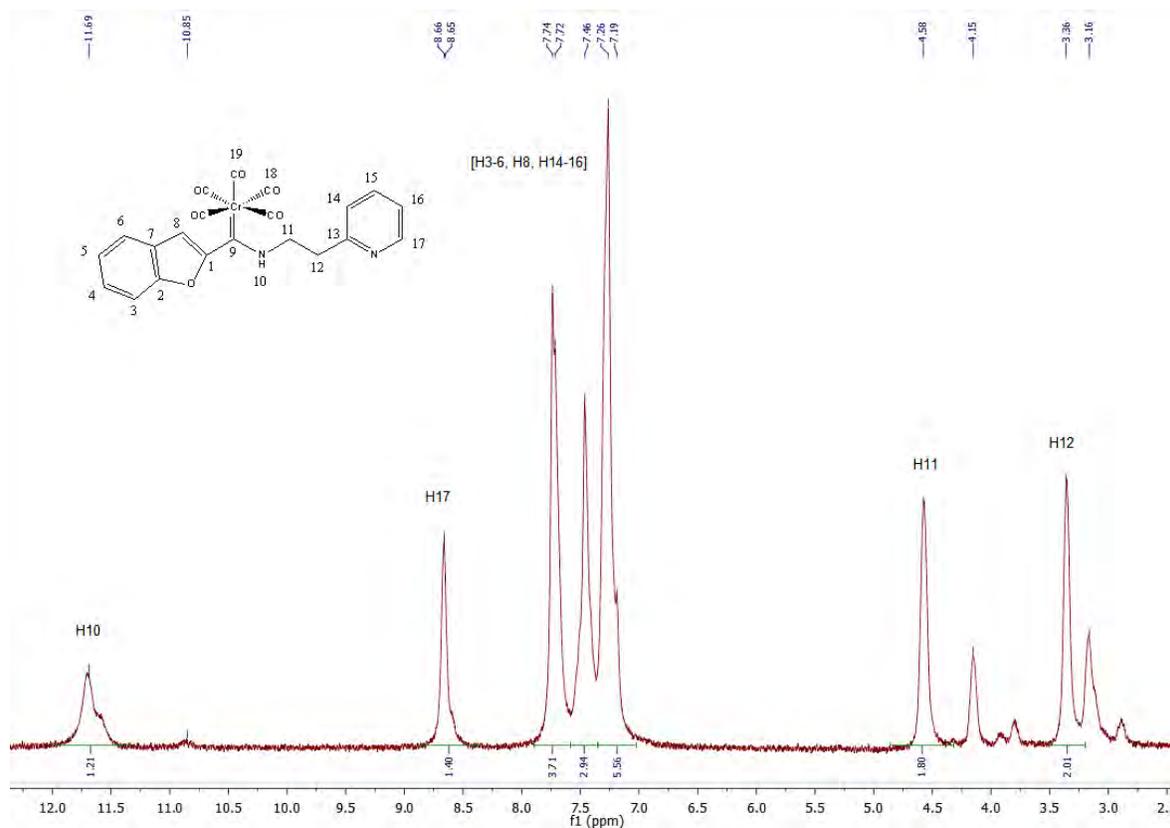
En el espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 3**) del compuesto **2d**, se puede observar que algunas señales están duplicadas, lo cual puede atribuirse a que durante el transcurso de la reacción de aminólisis del etoxicarbeno, se genera una mezcla inseparable por cromatografía de dos isómeros, lo cual es común en este tipo de moléculas. La isomería de estos complejos carbénicos es debida al doble enlace parcial del C<sub>carbénico</sub>-N que resulta de la deslocalización del par electrónico libre del nitrógeno hacia el carbono carbénico electrodeficiente resultando en la formación de una mezcla de los isómeros geométricos *E/Z*<sup>71</sup> (**Esquema 16**).



**Esquema 16.** Estructuras de resonancia de los Aril-aminocarbenos

Considerando el fenómeno antes mencionado, en campos altos se aprecia una señal sencilla en 3.36 ppm, que corresponde a los hidrógenos H12 de la cadena alifática, mientras que en 4.58 ppm se aprecia otra señal sencilla que corresponde a los hidrógenos H11 de la misma cadena alifática. En la zona aromática puede apreciarse en 7.26 ppm una señal ancha, en 7.46 ppm una señal simple y en 7.74 ppm una señal doble, las cuales, integran para los protones enlazados a los carbonos aromáticos (H3-6, H8, H14-16), resaltando una señal doble en 8.65 ppm correspondiente al hidrógeno H17. Finalmente, el espectro muestra una señal simple ancha en campos bajos debida al protón perteneciente a la amida en 11.69 ppm y que integra para un protón H10. Finalmente, es posible apreciar señales en 3.16 ppm, 4.15 ppm y 10.85 ppm, que corresponden a los protones del isómero **Z** respectivo.

Los desplazamientos químicos de mayor interés para los aminocarbenos de Fischer **2d** y **2e** se pueden observar en la **Tabla 7**.



**Espectro 3.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) para el compuesto **2d**

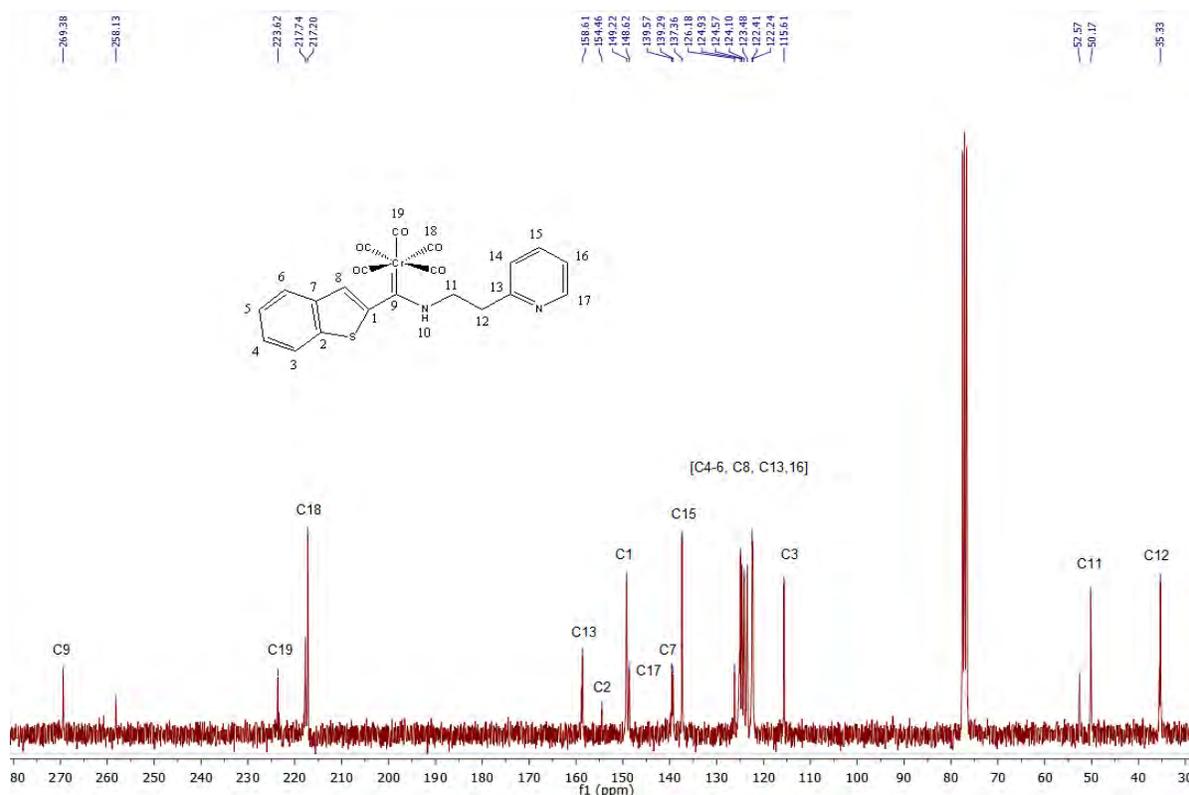
**Tabla 7.** Datos de RMN <sup>1</sup>H (ppm) para los compuestos **2d** y **2e**

| Posición   | <b>2d</b> | <b>2e</b> |
|------------|-----------|-----------|
| <b>H10</b> | 11.69     | 11.94     |
| <b>H11</b> | 4.58      | 3.85      |
| <b>H12</b> | 3.36      | 3.06      |
| <b>H17</b> | 8.65      | 8.63      |

En cuanto al espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 4**) del compuesto **2e**, los carbonos *ipso* del benzo[b]tiofeno, C1, C2 y C7 se observan en 149.2, 154.4 y 139.2 ppm, respectivamente. Para C15 y C17, se observan señales en 137.3 y 148.6 ppm, respectivamente y para el carbono *ipso* C13 se observa una señal en 158.3 ppm.

Los carbonos de la cadena alifática tienen señales en 50.1 ppm para C11 y 35.3 ppm para C12, mientras que para el fragmento metálico, los carbonilos metálicos ecuatoriales C18 se observa una señal en 217.2 ppm y para el carbono metálico en posición apical C19 se observa una señal en 223.6 ppm.

Finalmente en 269.3 ppm se observa el carbono carbénico C9.



**Espectro 4.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para el compuesto **2e**

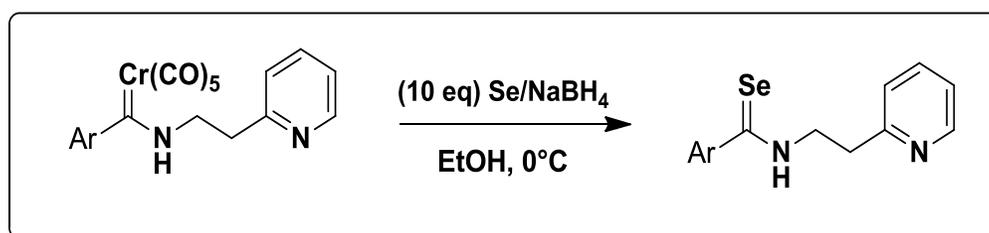
En la **Tabla 8** se aprecian los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de mayor interés para los compuestos **2d** y **2e**.

**Tabla 8.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  (ppm) para los compuestos **2d-e**

| <b>Posición</b> | <b>2d</b> | <b>2e</b> |
|-----------------|-----------|-----------|
| <b>C1</b>       | 153.8     | 149.2     |
| <b>C9</b>       | 254.2     | 269.3     |
| <b>C11</b>      | 52.0      | 50.1      |
| <b>C12</b>      | 35.2      | 35.3      |
| <b>C13</b>      | 158.8     | 158.6     |
| <b>C18</b>      | 218.2     | 217.2     |
| <b>C19</b>      | 223.4     | 223.6     |

#### 4.4 Síntesis de Selenoamidas

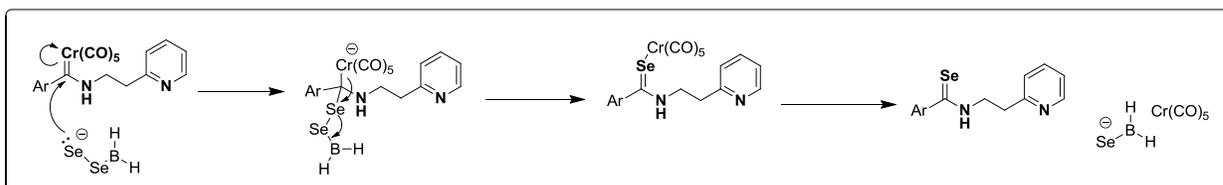
La obtención de Selenoamidas, se inició con la formación del agente selenante, que es una mezcla de selenio elemental y borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) en etanol como disolvente y agitación constante por 40 minutos, bajo atmósfera de nitrógeno. A la disolución resultante, se le agregó el correspondiente aminocarbeno de Fischer (**2a-e**) en una relación 1:10 con respecto al agente selenante. Finalizada la reacción, se extrajo, se concentró y posteriormente se purificó por cromatografía en columna obteniéndose las selenoamidas (**3a-e**) con rendimientos que van desde 70 al 90% (**Esquema 17**). Posteriormente, todas las selenoamidas obtenidas se caracterizaron por técnicas de espectroscopia (IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ ) y espectrometría (E.M).



**Esquema 17.** Metodología de demetalación seleniurativa de Aminocarbenos de Fischer

De acuerdo a lo anterior, se puede establecer un probable mecanismo de reacción por el cual procede la demetalación seleniurativa (**Esquema 18**). Como primer paso, se propone la formación del agente selenante ( $\text{H}_2\text{BSe}_2$ ) por la reacción entre el borohidruro de sodio y selenio elemental. Inicialmente, el selenio del agente selenante ataca al carbono carbénico, deslocalizando un par electrónico del doble enlace  $\text{C}=\text{Cr}$  hacia el centro metálico.

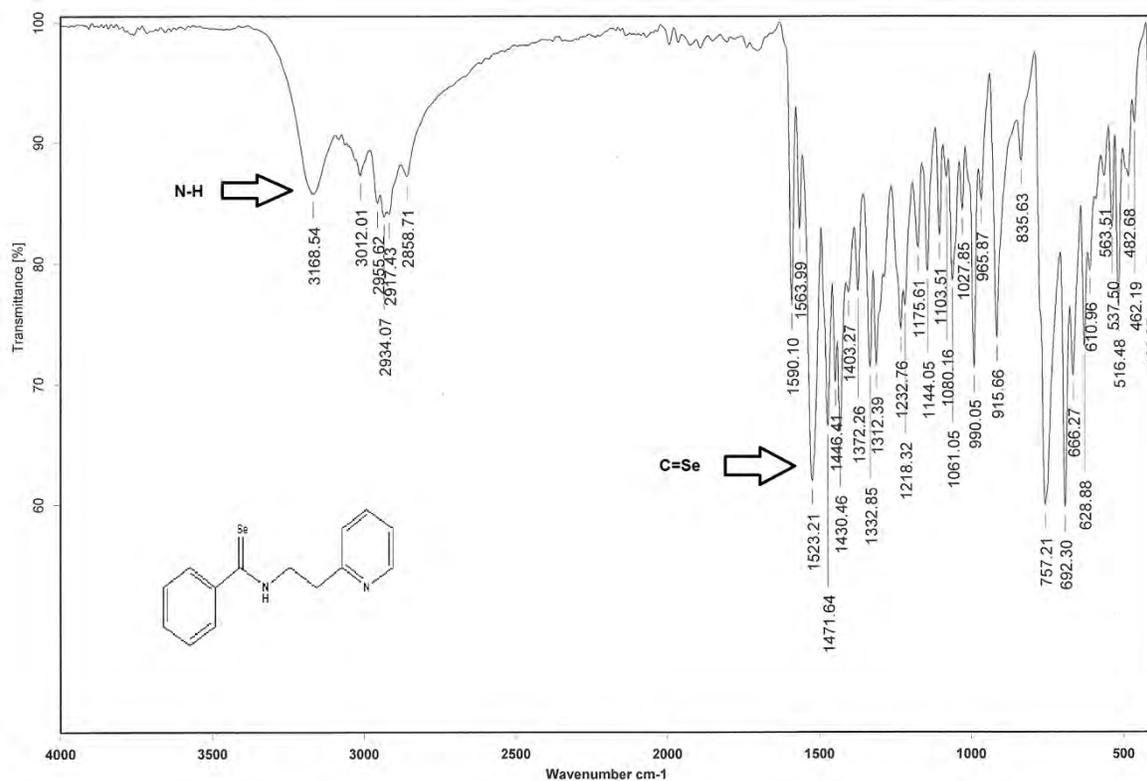
La formación del doble enlace C=Se, se puede explicar mediante el rompimiento del enlace C=Cr y la posterior eliminación del fragmento H<sub>2</sub>BSe. Es importante señalar que cuando se emplea una menor proporción de agente selenante, se obtiene la selenoamida coordinada al fragmento metálico (Cr(CO)<sub>5</sub>), la cual fue observada por Zheng.<sup>72</sup>



**Esquema 18.** Propuesta mecanística para la demetalación seleniurativa

A manera de ejemplo, a continuación se describen los datos espectroscópicos de IR obtenidos para el caso del compuesto **3a** (**Espectro 5**), se aprecia una banda característica de la vibración del enlace N-H en 3168 cm<sup>-1</sup>, y una banda de intensidad fuerte asignada a la vibración del selenocarbonilo (C=Se) en 1523 cm<sup>-1</sup>.

Los datos espectroscópicos de IR para los compuestos **3a-e** se reúnen en la **Tabla 9**.



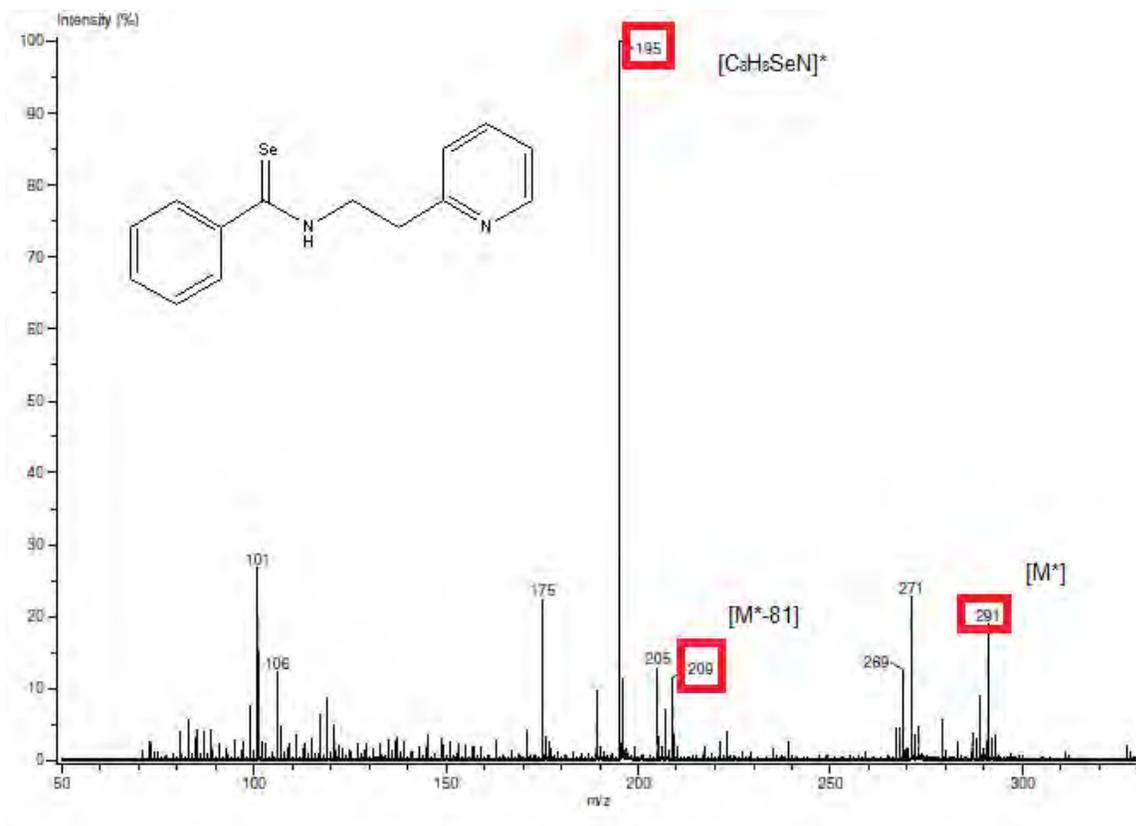
**Espectro 5.** Espectro de IR (KBr) para el compuesto **3a**

**Tabla 9.** Datos de IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) para los compuestos **3a-e**

| Compuesto | $\nu(\text{N-H})$ | $\nu(\text{C=Se})$ |
|-----------|-------------------|--------------------|
| <b>3a</b> | 3168              | 1523               |
| <b>3b</b> | 3187              | 1533               |
| <b>3c</b> | 3194              | 1500               |
| <b>3d</b> | 3131              | 1529               |
| <b>3e</b> | 3155              | 1537               |

Por otra parte, en el análisis de espectrometría de masas (DART) para el compuesto **3a** (**Espectro 6**), se observa un pico con una relación masa/carga ( $m/z$ ) de 291 correspondiente al ión molecular, el cual concuerda con el peso molecular esperado más uno, debido a que en esta técnica espectrométrica es posible la protonación.

Posteriormente se aprecia un pico en 209  $m/z$  por la pérdida de 81  $m/z$  debido a la eliminación de  $[H_2Se]$  de la selenoamida. Adicionalmente, se observa un pico en 195  $m/z$  correspondiente a la formación de  $[C_8H_8SeN]^+$  como posible patrón de fragmentación de nuestra selenoamida. Posteriormente, los picos producidos por los compuestos **3a-e** se resumen en la **Tabla 10**.

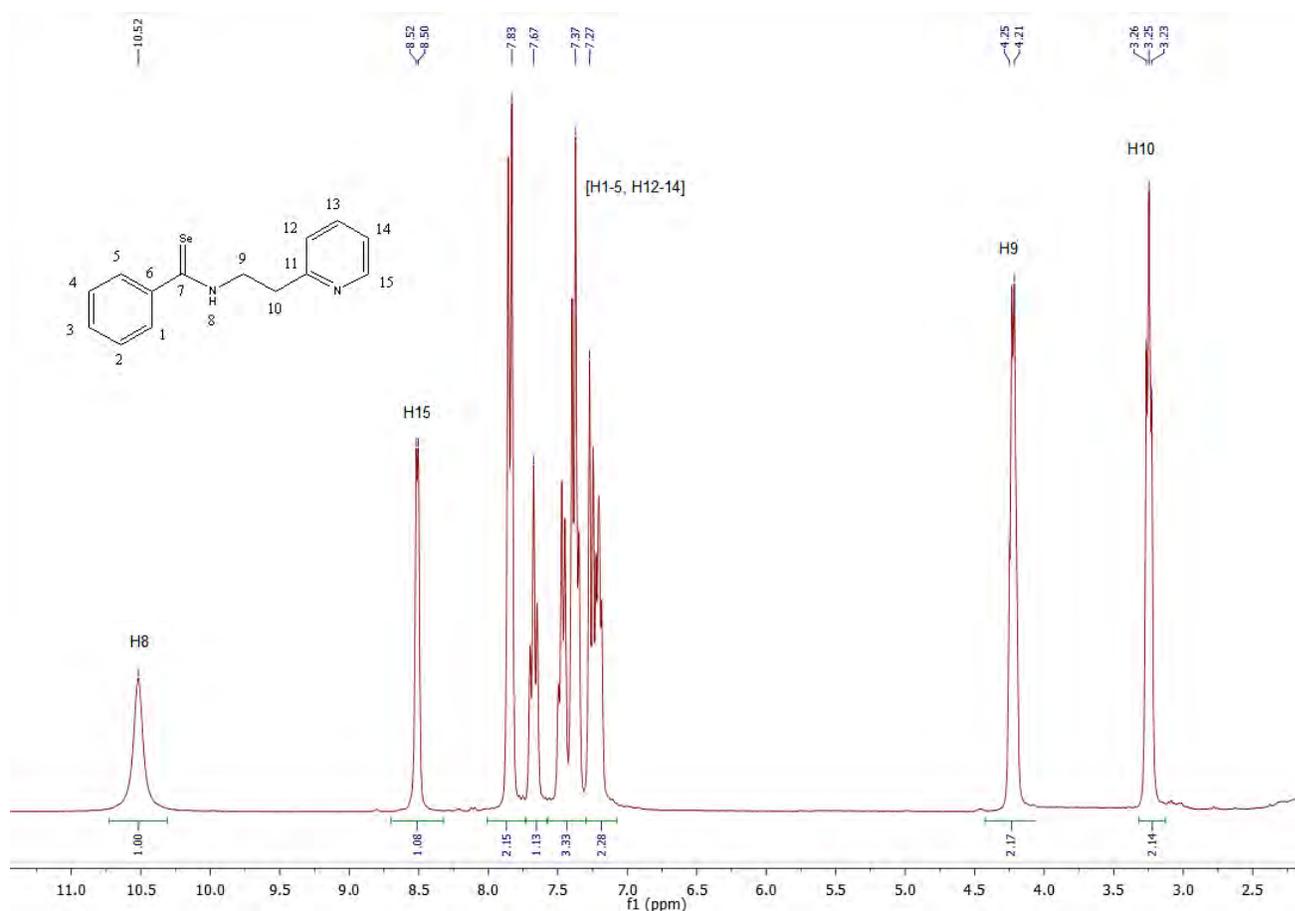


**Espectro 6.** Espectro de masas (DART) para el compuesto **3a**

**Tabla 10.** Datos de masas ( $m/z$ ) para los compuestos **3a-e**

| Fragmento     | 3a  | 3b  | 3c  | 3d  | 3e  |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| $[M^+]$       | 291 | 359 | 321 | 331 | 347 |
| $[M^+-H_2Se]$ | 209 | 277 | 239 | 249 | 265 |

A manera de ejemplo, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 7**) del compuesto **3a**, en campos altos se aprecia una señal triple en 3.25 ppm, que fue asignada a los hidrógenos H10 de la cadena alifática, mientras que en 4.25 ppm se aprecia una señal doble que corresponde a los hidrógenos H9 de la misma cadena alifática. En la zona aromática puede apreciarse en 7.27 ppm, 7.37 ppm, 7.67 ppm y 7.83 ppm, señales múltiples e intensas que integran para los protones enlazados a los carbonos aromáticos (H1-5, H12-14), resalta una señal doble en 8.52 ppm que integra para un protón correspondiente al hidrógeno H15. Finalmente, el espectro muestra una señal simple ancha en campos bajos asignada al protón del N-H en 10.52 ppm correspondiente a H8.



**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para el compuesto **3a**

Los desplazamientos químicos de mayor interés para las selenoamidas **3a-c** se encuentran en la **Tabla 11**, y para el caso de las selenoamidas **3d-e** los desplazamientos se resumen en la tabla **12**.

**Tabla 11.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  (ppm) para los compuestos **3a-c**

| Posición | 3a    | 3b    | 3c    |
|----------|-------|-------|-------|
| H8       | 10.52 | 10.82 | 10.40 |
| H9       | 4.25  | 4.21  | 4.22  |
| H10      | 3.25  | 3.26  | 3.25  |
| H15      | 8.52  | 8.51  | 8.52  |

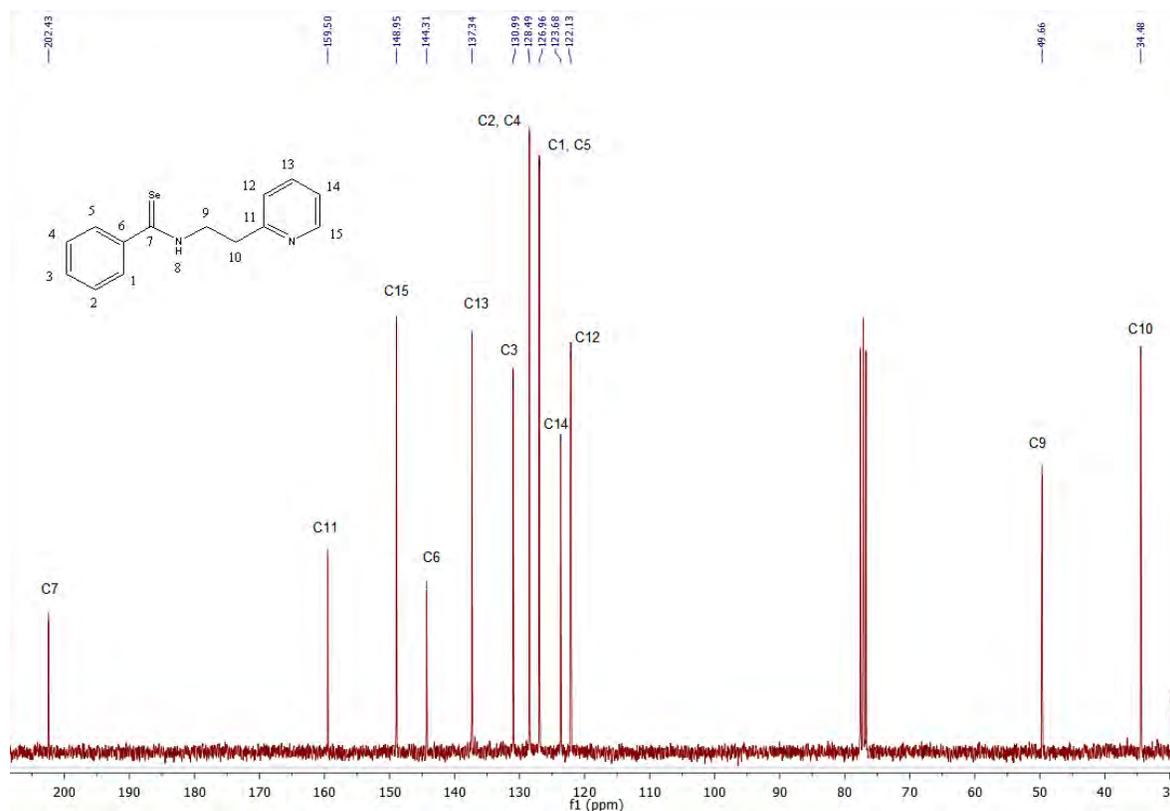
**Tabla 12.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  (ppm) para los compuestos **3d-e**

| Posición | 3d    | 3e    |
|----------|-------|-------|
| H10      | 10.69 | 10.86 |
| H11      | 4.26  | 4.21  |
| H12      | 3.27  | 3.25  |
| H17      | 8.63  | 8.63  |

En cuanto al espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 8**) del compuesto **3a**, el carbono *ipso* C6 del anillo bencénico se observa en 144.3 ppm, mientras que para los carbonos C1 y C5 se observa una señal intensa en 126.9 ppm y para C2 y C4 se observa otra señal intensa en 128.4 ppm, el carbono C3 se observa en 130.9 ppm.

Para los carbonos del fragmento de piridina C12, C13, C14 y C15 se observan en 122.1, 137.3, 123.6 y 148.9 ppm, respectivamente y para el carbono *ipso* C11 se observa una señal en 159.5.

Los carbonos de la cadena alifática tienen señales en 49.6 ppm para C9 y 34.4 ppm para C10. Finalmente se observa una señal en 202.4 ppm asignada al carbono C7 perteneciente al selenocarbonilo.



**Espectro 8.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) para el compuesto **3a**

En la **Tabla 13** se aprecian los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de mayor interés para los compuestos **3a-c**, y para el caso de los compuestos **2d-e**, se resumen en la **Tabla 14**.

**Tabla 13.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  para los compuestos **3a-c**

| Posición   | 3a    | 3b    | 3c    |
|------------|-------|-------|-------|
| <b>C6</b>  | 144.3 | 148.8 | 137.3 |
| <b>C7</b>  | 202.4 | 200.8 | 200.8 |
| <b>C9</b>  | 49.6  | 49.7  | 49.6  |
| <b>C10</b> | 34.4  | 34.2  | 34.6  |
| <b>C11</b> | 159.5 | 159.4 | 162.1 |

**Tabla 14.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  para los compuestos **3d-e**

| Posición   | 3d    | 3e    |
|------------|-------|-------|
| <b>C1</b>  | 149.1 | 148.7 |
| <b>C2</b>  | 155.7 | 142.3 |
| <b>C7</b>  | 128.3 | 139.5 |
| <b>C9</b>  | 184.5 | 190.9 |
| <b>C11</b> | 47.8  | 49.2  |
| <b>C12</b> | 34.7  | 34.3  |
| <b>C13</b> | 159.2 | 159.6 |

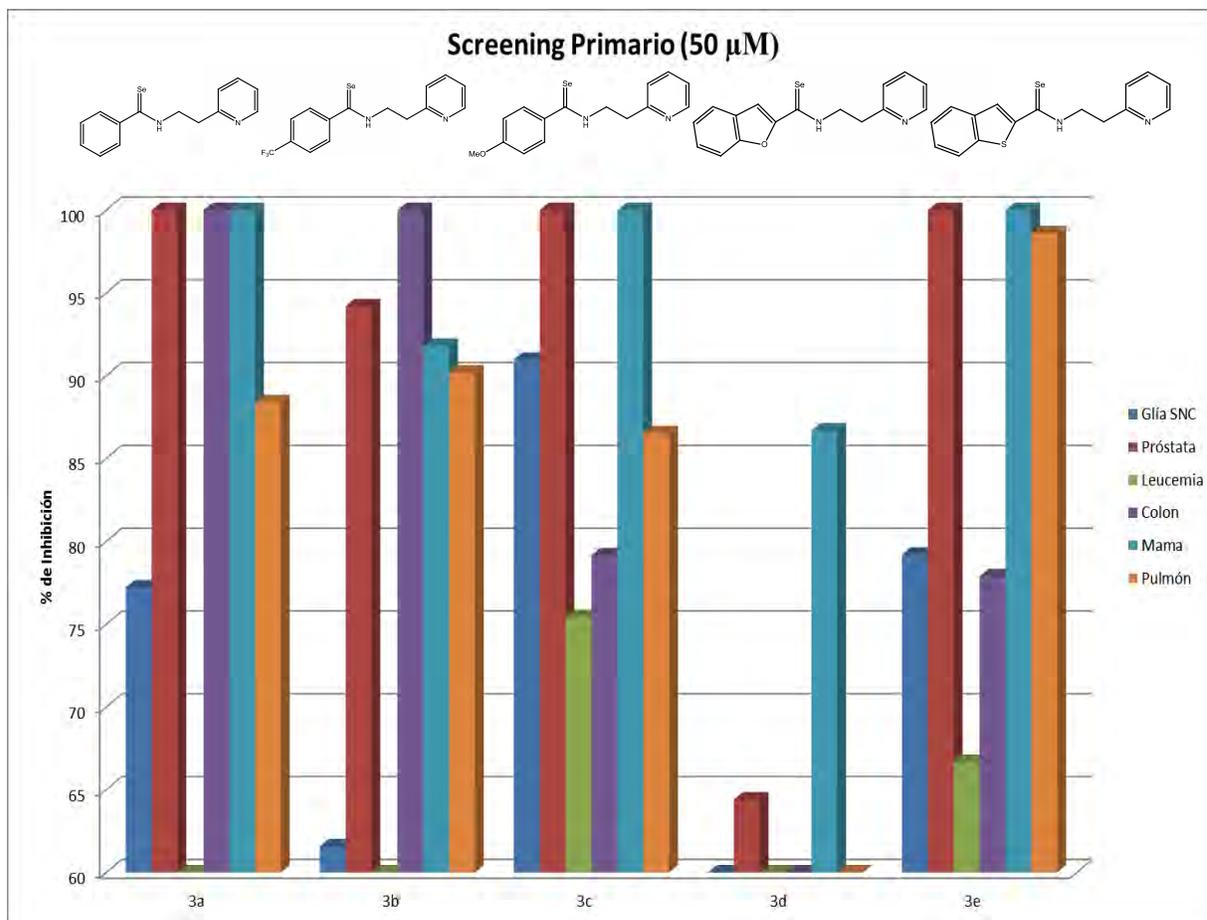
## 4.5 Ensayo de Citotoxicidad

El crecimiento y división celular son bioprocesos que están altamente regulados, no obstante, una excepción notable es aquella provista por las células cancerosas, las cuales se caracterizan por tener un crecimiento y desarrollo desmedido. En consecuencia, existe un gran interés en la búsqueda de nuevos fármacos anticancerígenos con alta eficacia, baja toxicidad y efectos colaterales bajos o nulos.<sup>73</sup>

Aunado a esto y motivados por los excelentes resultados obtenidos con anterioridad por nuestro grupo de trabajo,<sup>12</sup> nos enfocamos hacia la síntesis de moléculas pequeñas<sup>74</sup> que contuvieran en su estructura un átomo de selenio, ya que este elemento es importante para múltiples procesos celulares<sup>75</sup> y varias estudios indican que los compuestos organoselenados poseen propiedades anticancerígenas.<sup>76</sup>

Teniendo como punto de partida la actividad biológica comprobada de compuestos organoselenados, nos dimos a la tarea de someter las selenoamidas preparadas a un **Screening Primario 50  $\mu$ M** frente a 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). Dicho estudio consistió en exponer a cada línea celular cancerosa a una selenoamida sintetizada en una concentración conocida (50  $\mu$ M) para observar su capacidad inhibitoria reportada como porcentaje relativo (%).

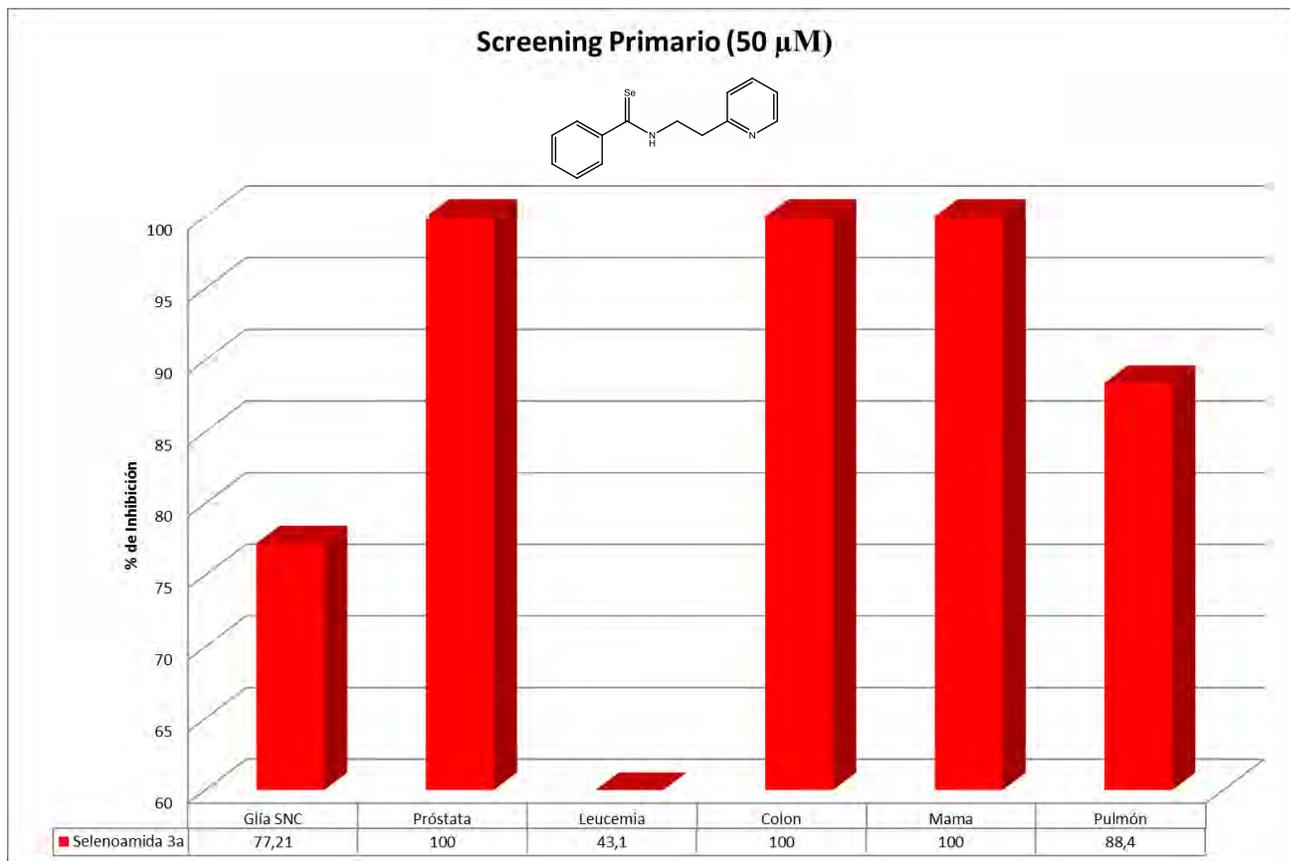
La **Grafica 1**, muestra a manera de resumen la actividad de las 5 nuevas selenoamidas obtenidas frente a las líneas celulares de cáncer humano. Observando que todas muestran actividad, siendo para nosotros la selenoamida **3d** la más importante, debido a la especificidad que presenta hacia una sola línea celular de cáncer.



**Grafica 1.** Ensayo citotóxico de las 5 nuevas Selenoamidas

Posteriormente se evaluaron y analizaron individualmente las nuevas selenoamidas y los resultados se presentan a continuación:

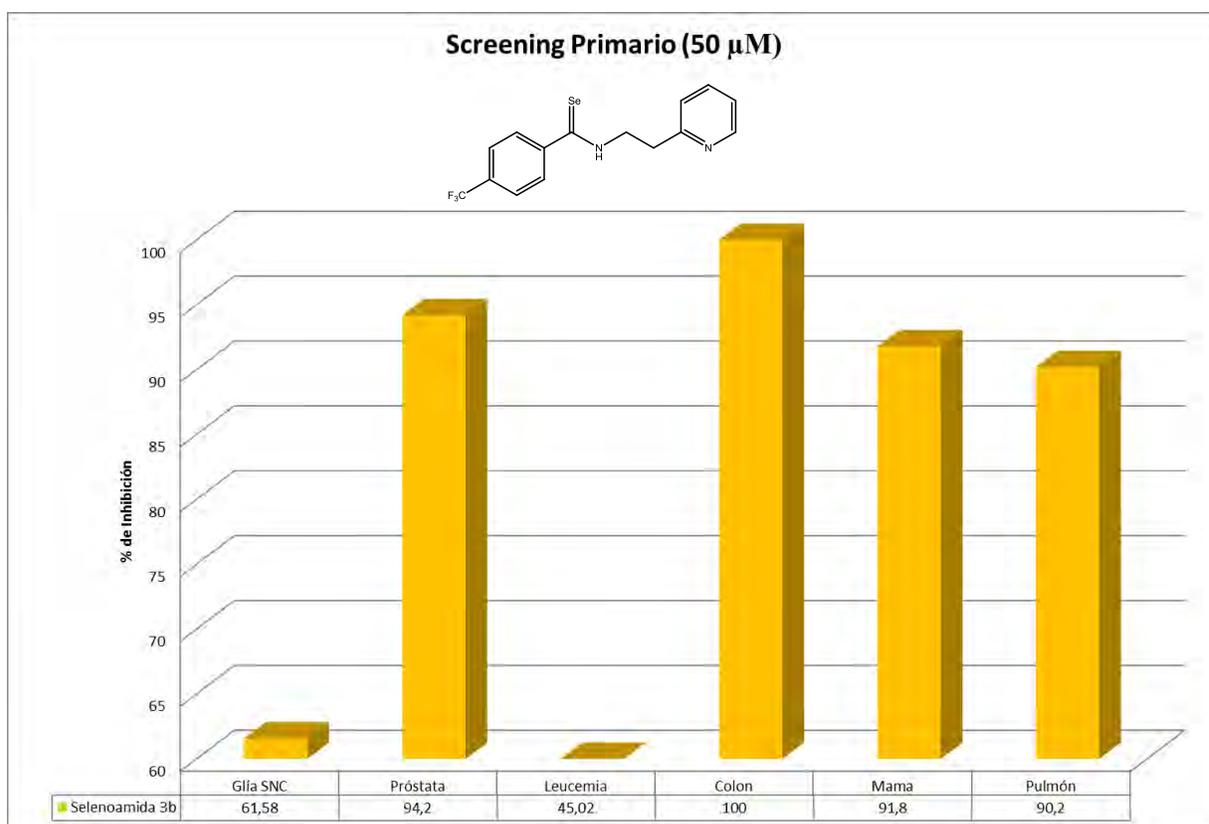
El primer compuesto que se evaluó, fue la selenoamida **3a (Grafica 2)**, la cual mostró una buena actividad sobre la mayoría de las líneas celulares en que fue probada, sin embargo, para el caso de la línea celular de Leucemia la respuesta no es muy favorable, logrando inhibir cerca del 42% del crecimiento celular de esta línea. Y para el caso de la línea celular de Gliá SNC la respuesta no es significativa respecto al resto de líneas celulares, logrando inhibir cerca del 77% del crecimiento celular de esta línea.



**Grafica 2.** Ensayo para el compuesto **3a**

El segundo compuesto que se evaluó, fue la selenoamida **3b** (**Grafica 3**), este compuesto mostró buena actividad en cuatro de las líneas celulares en las que se probó (Próstata, colon, mama y pulmón). No así, para las líneas celulares de Glía SNC y Leucemia, donde la actividad mostrada para dichas líneas celulares no es buena, logrando inhibir solo 61% y 45%, respectivamente. Para este compuesto, cabe señalar que se realizó la comparación con el compuesto **3a**, pues se quería ver la influencia de un grupo electroattractor en posición 4 del anillo bencénico y su influencia sobre la actividad de las líneas celulares.

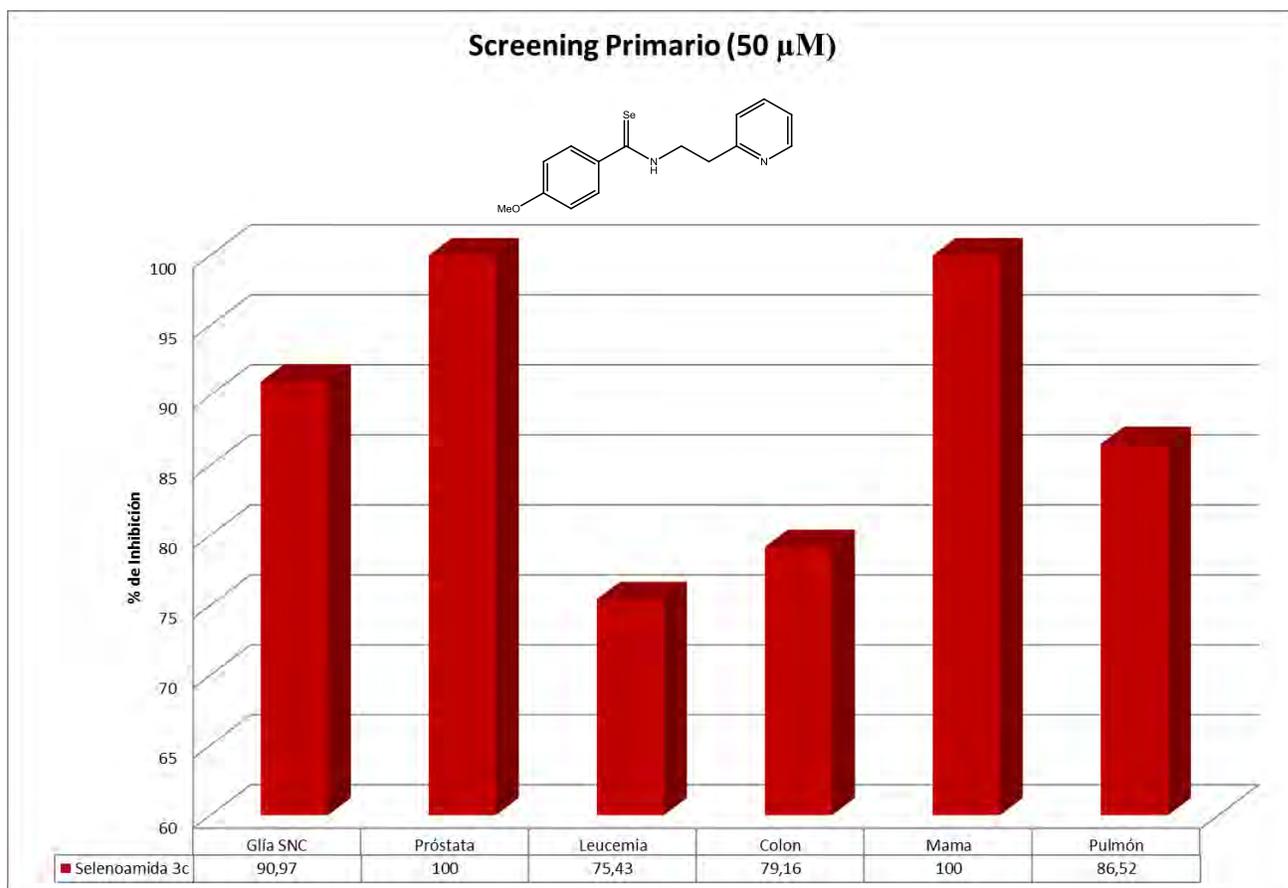
En este contexto, ambos compuestos mostraron actividad similar, donde la línea celular de Glía SNC muestra una ligera disminución de la actividad citotóxica. Los resultados obtenidos para la línea celular de leucemia, muestra que la incorporación de un grupo electroattractor en el anillo bencénico no tiene un efecto sobre la actividad citotóxica.



**Grafica 3.** Ensayo para el compuesto **3b**

El tercer compuesto que se evaluó fue la selenoamida **3c** (**Grafica 4**), dicho compuesto en relación a los compuestos anteriores (**3a y 3b**) posee un grupo electrodonador en posición 4 del anillo bencénico. Como puede observarse, presenta buena actividad en todas las líneas celulares. La influencia del grupo modifica completamente la actividad de las líneas celulares de Glía SNC y Leucemia; elevando la actividad significativamente en estas líneas celulares.

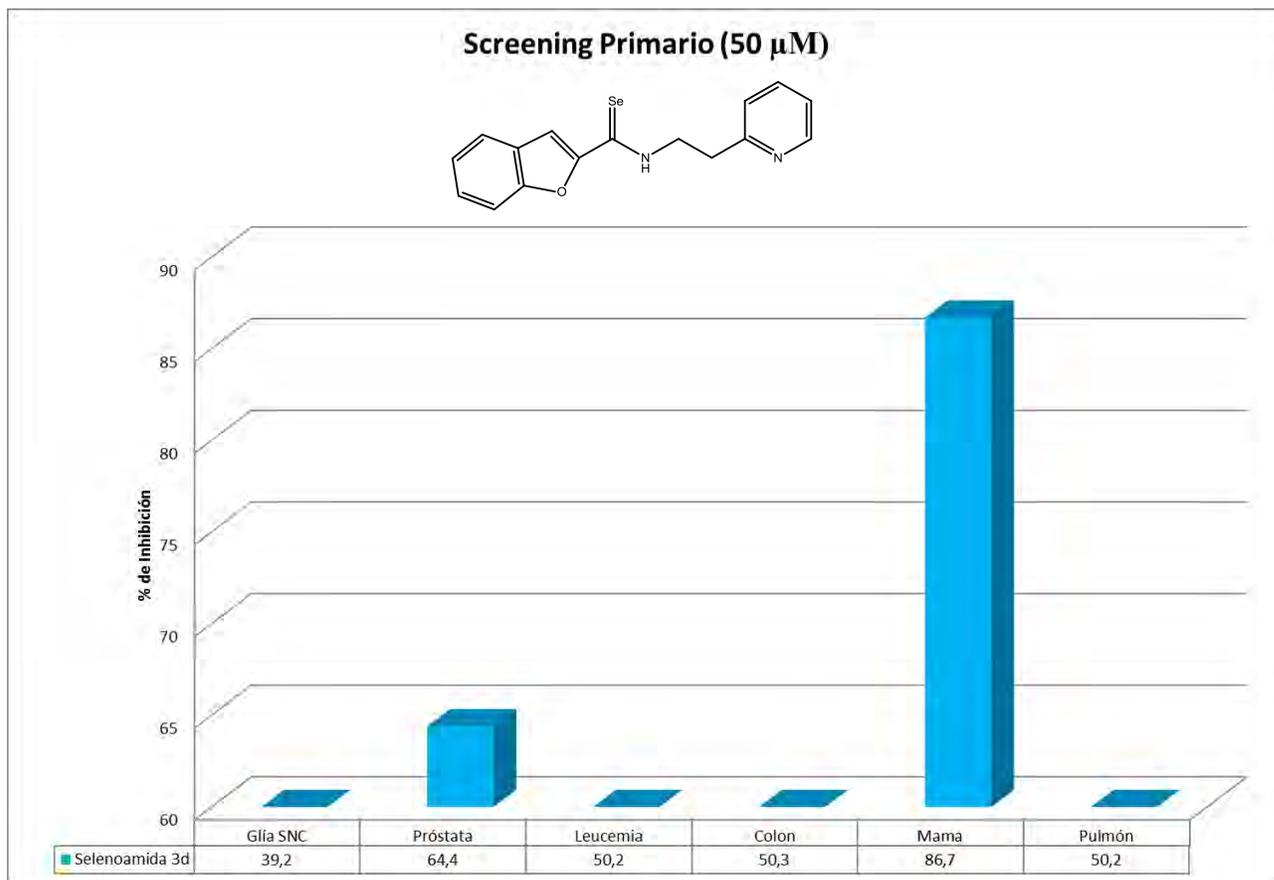
Sin embargo, el porcentaje de inhibición del crecimiento celular en la línea de colon disminuye hasta un 79%.



**Grafica 4.** Ensayo para el compuesto **3c**

Posteriormente, se evaluó el compuesto **3d** (**Grafica 5**), el cual presenta actividad significativa para la línea celular de próstata y buena actividad para la línea celular de mama; haciendo de este compuesto, específico para línea celular de mama con un 87% de inhibición respecto a las otras líneas celulares que presentan escasa actividad con un valor de inhibición cercanos al 50%. Podemos decir que se generó un compuesto con especificidad a una sola línea celular cancerosa, lo cual, es una de las metas en el campo de la Química Farmacéutica Moderna.<sup>77</sup>

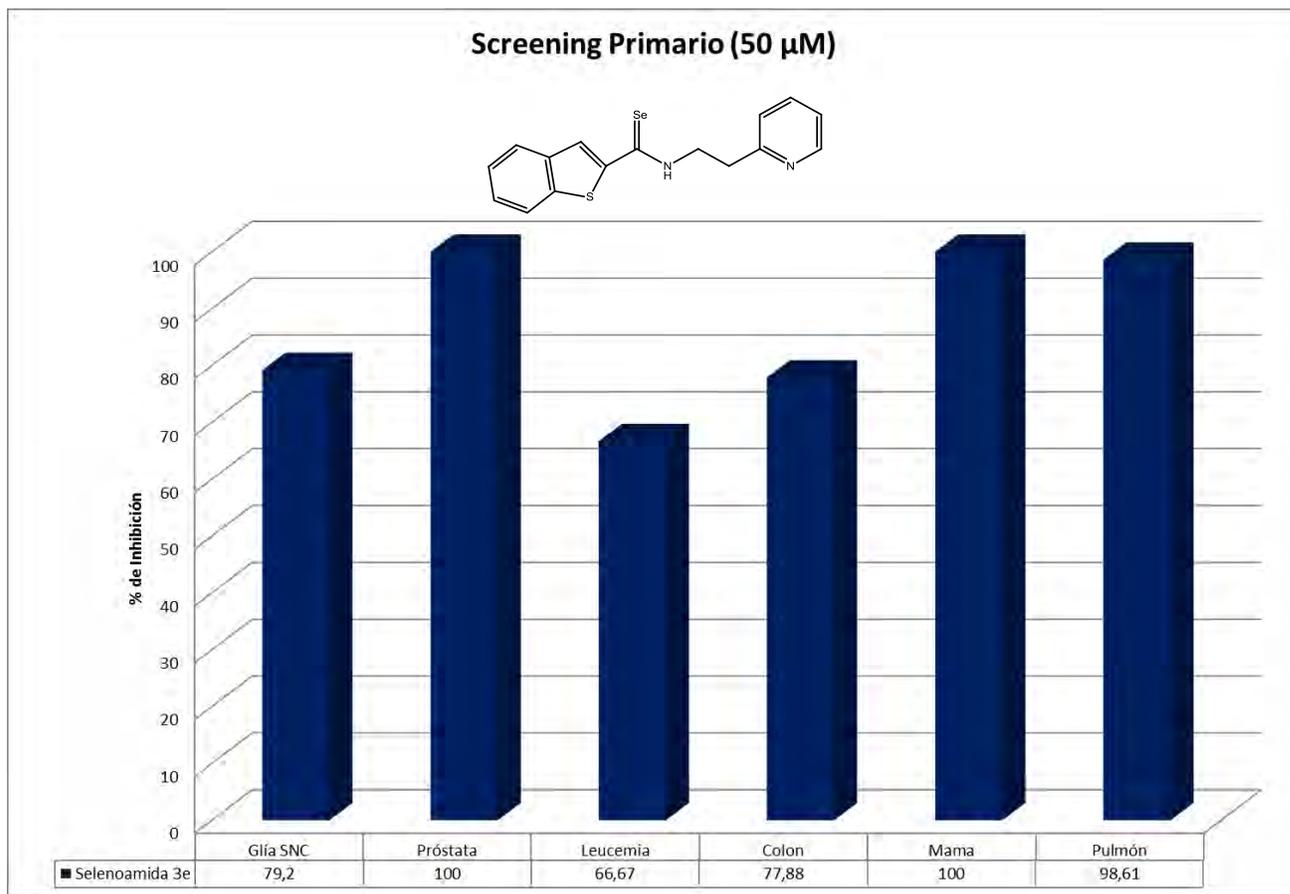
A diferencia de las anteriores selenoamidas, este compuesto contiene en su estructura un anillo tipo benzofurano y posteriormente se comparó la actividad con la selenoamida **3e**, que contiene en su estructura benzo[b]tiofeno.



**Grafica 5.** Ensayo para el compuesto **3d**

El último compuesto que se evaluó fue la selenoamida **3e** (**Grafica 6**), observando valores superiores en los porcentajes inhibitorios, especialmente sobre las líneas celulares de próstata con 100%, mama con 100% y pulmón con 98%. El valor más pequeño de inhibición es de 67% para el caso de la línea celular de leucemia.

Al realizar la comparación de este compuesto con la selenoamida **3d**, podemos observar la influencia que tiene el heteroátomo sobre la actividad de las líneas celulares, siendo el compuesto **3d** específico para la línea celular de mama.



**Grafica 6.** Ensayo para el compuesto **3e**

## V. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 5.1 Reactivos e Instrumentos

Todos los reactivos utilizados son marca Sigma-Aldrich Company y se utilizaron sin ninguna purificación adicional. Los disolventes utilizados fueron adquiridos de proveedores comerciales y se utilizaron sin ningún tratamiento posterior.

Los espectros de Infrarrojo (IR) se realizaron en un espectrofotómetro Bruker Tensor 27 utilizando la técnica de pastilla de Bromuro de Potasio (KBr). Los resultados obtenidos fueron expresados en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

La espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) se realizó en un espectrómetro Bruker Avance III a 300 MHz para  $^1\text{H}$  y 75 MHz para  $^{13}\text{C}$ , utilizando cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Los **desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en** partes por millón (ppm) usando tetrametilsilano (TMS) como patrón interno de referencia.

La espectrometría de masas (EM) se realizó utilizando un espectrómetro JEOL JMS-SX102A para la técnica de bombardeo con átomos acelerados ( $\text{FAB}^+$ ) y como matriz alcohol nitrobenílico y polietilenglicol. Para la técnica de Análisis Directo en Tiempo Real (DART) se utilizó un espectrómetro AccuTOF JMS-T100LC.

El análisis por difracción de rayos X de monocristal, se llevó a cabo en un espectrofotómetro Brüker Smart Apex CCD con detector de área de radiación monocromática de  $\text{K}\alpha$  (0.71073 Å).

La purificación de los compuestos obtenidos se realizó por medio de cromatografía en columna, empleando como fase estacionaria gel de sílice (malla 70-230) y como fase móvil se utilizaron diferentes gradientes de hexano/acetato de etilo.

Para la determinación de los puntos de fusión se empleó un aparato Mel-Temp II y los valores no están corregidos.

## 5.2 Procedimiento General para la Síntesis de Etoxicarbenos de Fischer

En un matraz de dos bocas bajo atmósfera de nitrógeno, se adaptó un tubo de vidrio para añadir sólidos, el cual contenía 1 equivalente de hexacarbonilo de cromo ( $\text{Cr}(\text{CO})_6$ ). Dentro del matraz se colocó 1.2 de la materia prima (Yodobenceno, 1-Bromo-4-trifluorometilbenceno, 1-Iodo-4-metoxibenceno, 2,3-Benzofurano o Benzo[b]tiofeno), disuelto en 35 mL de THF anhidro. Posteriormente el matraz de reacción se enfrió a  $0^\circ\text{C}$  con un baño en hielo (si la materia prima es Benzofurano o Benzo[b]tiofeno) o a  $-78^\circ\text{C}$  con un baño de hielo seco/acetona (si la materia es Yodobenceno, 1-bromo-4-trifluorometilbenceno o 1-Yodo-4-metoxibenceno) y se añadieron gota a gota 1.5 equivalentes de *n*-BuLi en solución 2.5 M; la reacción se dejó en agitación magnética constante por una hora.

Transcurrido el tiempo establecido se adicionó el equivalente de hexacarbonilo de cromo (0) ( $\text{Cr}(\text{CO})_6$ ) a  $0^\circ\text{C}$  o a  $-78^\circ\text{C}$ , dependiendo el caso, y se permitió que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente. Después de 2 horas de reacción se evaporó el THF a vacío y se adicionaron 1.5 equivalentes de tetrafluoroborato de trietiloxonio ( $\text{Et}_3\text{OBF}_4$ ) disueltos en 10 mL de agua con hielo para proceder inmediatamente con una extracción en un embudo de separación de 1 L de capacidad con cloruro de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) añadiendo 5 mL de solución saturada de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y fue evaporada a sequedad.

Posteriormente, se procedió con la purificación mediante columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice (malla 70-230) y como fase móvil únicamente un gradiente de hexano.

Con esta metodología se obtuvieron los etoxicarbenos de Fischer esperados en rendimientos que van desde 80% a 90% y sus datos espectroscópicos corresponden a los reportados previamente en la literatura.

### 5.3 Procedimiento General para la Síntesis de Aminocarbenos de Fischer

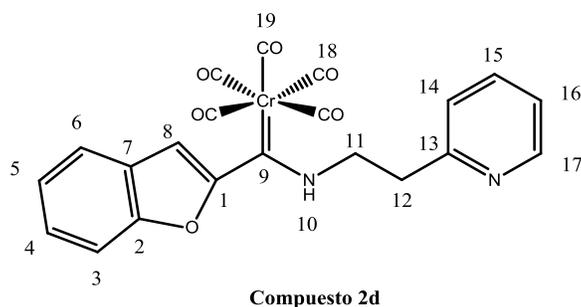
En un matraz bola de 50 mL se colocó un equivalente de Etoxicarbena de Fischer, se disolvió en 15 mL de éter etílico (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O) y se adicionaron 1.2 equivalentes de 2-(2-aminoetil)piridina. Se dejó en agitación magnética constante y temperatura ambiente y la reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina (c.c.f) hasta el consumo total de materia prima utilizando cromatofolios de aluminio recubiertos con sílice Alugram Sil G/UV254 de 0.25 mm como fase estacionaria, fase móvil un gradiente de hexano/acetato de etilo (70:30) y revelador luz ultravioleta longitud de onda 254 nm.

Al término de la reacción, el disolvente fue removido a sequedad y el residuo se diluyó con agua para posteriormente extraer en un embudo de separación de 250 mL con cloruro de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó a sequedad.

El producto obtenido fue purificado por columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice (malla 70-230) y como fase móvil únicamente gradiente de hexano/acetato de etilo (70:30). Los Aminocarbenos (**2a-c**) fueron utilizados inmediatamente después de su purificación por cromatografía en columna, en el siguiente paso de reacción de la ruta sintética propuesta. Solo los Aminocarbenos de Fischer estables (**2d-e**) se caracterizaron por técnicas de espectroscopia (IR, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C) y espectrometría (E.M).

**[Benzofuran-2-il((2-(piridin-2-il)etil)amino)metiliden]  
pentacarbonil cromo (0)**



Compuesto 2d

**Rendimiento:** 85%, Sólido Rojizo.

**Punto de Fusión:** 140°C (descomposición).

**Fórmula Molecular:** C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>CrN<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (442.0257 g/mol).

**Masa exacta:** 442.0254 g/mol.

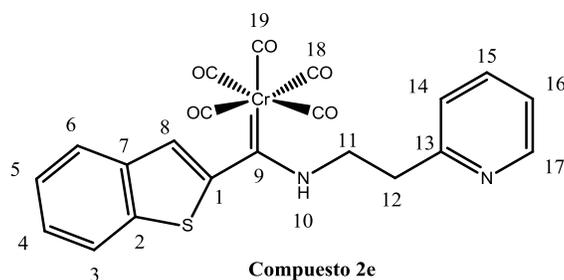
**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3200 cm<sup>-1</sup> (N-H), 2048 cm<sup>-1</sup> (M-C=O), 1879 cm<sup>-1</sup> (M-C=O).

**EM-FAB<sup>+</sup>  $m/z$  (%):** 442 (10) [M<sup>+</sup>], 386 (10) [M<sup>+</sup>-2CO], 358 (20) [M<sup>+</sup>-3CO], 330 (52) [M<sup>+</sup>-4CO], 302 (100) [M<sup>+</sup>-5CO], 106 (70) [C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sup>+</sup>].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.36 (s, 2H, H12),  $\delta$  4.58 (s, 2H, H11),  $\delta$  7.26-7.74 (m, 8H, H3-6; H8; H14-16),  $\delta$  8.65 (d, 1H, H17),  $\delta$  11.69 (sa, 1H, H10).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  35.2 (C12),  $\delta$  52.0 (C11),  $\delta$  111.6 (C3),  $\delta$  112.9 (C8),  $\delta$  119.3 (C14),  $\delta$  122.2 (C16),  $\delta$  123.4 (C5, C6),  $\delta$  127.1 (C4),  $\delta$  128.1 (C7),  $\delta$  149.3 (C15),  $\delta$  153.8 (C1),  $\delta$  157.0 (C2),  $\delta$  158.8 (C13),  $\delta$  218.2 (C18),  $\delta$  223.4 (C19),  $\delta$  254.2 (C9).

**[Benzo[b]tiofen-2-il((2-(piridin-2-il)etil)amino)metiliden] pentacarbonil cromo (0)**



**Rendimiento:** 85%, Sólido Amarillo.

**Punto de Fusión:** 92°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>CrN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S (458.0029 g/mol).

**Masa exacta:** 458.0039 g/mol.

**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3128 cm<sup>-1</sup> (N-H), 2049 cm<sup>-1</sup> (M-C=O), 1883 cm<sup>-1</sup> (M-C=O).

**EM-FAB<sup>+</sup>  $m/z$  (%):** 458 (3) [M<sup>+</sup>], 430 (5) [M<sup>+</sup>-CO], 402 (10) [M<sup>+</sup>-2CO], 374 (15) [M<sup>+</sup>-3CO], 346 (40) [M<sup>+</sup>-4CO], 318 (100) [M<sup>+</sup>-5CO], 106 (55) [C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sup>+</sup>].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.06 (s, 2H, H12),  $\delta$  3.85 (s, 2H, H11),  $\delta$  6.83-7.84 (m, 8H, H3-6; H8; H14-16),  $\delta$  8.63 (d, 1H, H17),  $\delta$  11.94 (sa, 1H, H10).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  35.3 (C12),  $\delta$  50.1 (C11),  $\delta$  115.6 (C3),  $\delta$  122.2 (C8),  $\delta$  137.3 (C15),  $\delta$  139.2 (C7),  $\delta$  148.6 (C17),  $\delta$  149.2 (C1),  $\delta$  154.4 (C2),  $\delta$  158.6 (C13),  $\delta$  217.2 (C18),  $\delta$  223.6 (C19),  $\delta$  269.3 (C9).

#### 5.4 Procedimiento General para la Síntesis de Selenoamidas

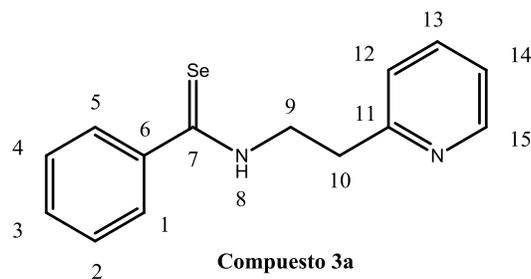
En un matraz bola de 100 mL bajo atmósfera de nitrógeno, se hace una suspensión de 10 equivalentes de borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) en 20 mL de etanol (EtOH) a  $0^\circ\text{C}$ , se adicionó lentamente 10 equivalentes de selenio elemental con liberación de hidrógeno. La mezcla seleniurativa se mantuvo en agitación magnética constante por 30 minutos y se dejó que alcanzara temperatura ambiente. La solución anterior se adicionó a una solución de Aminocarbeno de Fischer (1 equivalente) en 15 mL de etanol (EtOH) y se dejó en agitación magnética constante y bajo atmósfera inerte de nitrógeno por 24 horas.

Terminada la reacción, el disolvente fue removido a sequedad y el residuo se diluyó con agua para posteriormente extraer en un embudo de separación de 250 mL con cloruro de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). La fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó a sequedad.

El producto obtenido fue purificado por columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice (malla 70-230) y como fase móvil gradiente de hexano/acetato de etilo (80:20).

Las selenoamidas obtenidas (**3a-e**) se caracterizaron por técnicas de espectroscopia (IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ ) y espectrometría (E.M).

### **N-(2-(piridin-2-il)etil)benzoselenoamida**



**Rendimiento:** 85%, Sólido Amarillo.

**Punto de Fusión:** 70°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Se (291.0400 g/mol).

**Masa exacta:** 291.0402 g/mol.

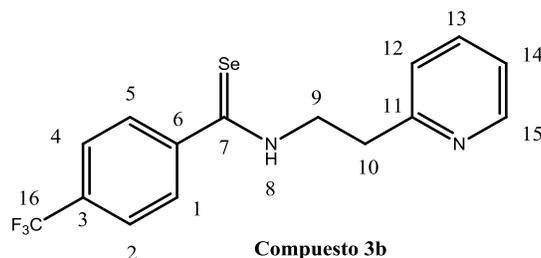
**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3168 cm<sup>-1</sup> (N-H), 1523 cm<sup>-1</sup> (C=Se).

**EM-DART  $m/z$  (%):** 291 (20) [M<sup>+</sup>], 209 (15) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>Se], 195 (100) [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>SeN<sup>+</sup>].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.25 (t, 2H, H10),  $\delta$  4.25 (d, 2H, H9),  $\delta$  7.27-7.83 (m, 8H, H1-5; H12-14),  $\delta$  8.52 (d, 1H, H15),  $\delta$  10.52 (sa, 1H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  34.4 (C10),  $\delta$  49.6 (C9),  $\delta$  122.1 (C12),  $\delta$  123.6 (C14),  $\delta$  126.9 (C1, C5),  $\delta$  128.4 (C2, C4),  $\delta$  130.9 (C3),  $\delta$  137.3 (C13),  $\delta$  144.3 (C6),  $\delta$  148.9 (C15),  $\delta$  159.5 (C11),  $\delta$  202.4 (C7).

**N-(2-(piridin-2-il)etil)-4-(trifluorometil)benzoselenoamida**



**Rendimiento:** 80%, Sólido Amarillo.

**Punto de Fusión:** 102°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>SeF<sub>3</sub> (359.0274 g/mol).

**Masa exacta:** 359.0271 g/mol.

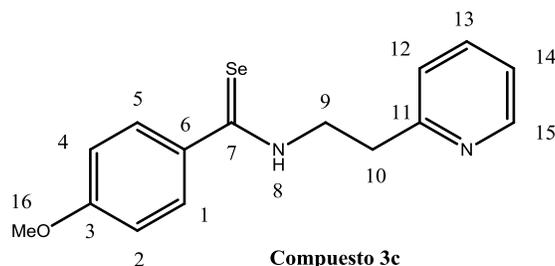
**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3297 cm<sup>-1</sup> (N-H), 1533 cm<sup>-1</sup> (C=Se).

**EM-DART  $m/z$  (%):** 359 (100) [M<sup>+</sup>], 277 (13) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>Se].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.26 (t, 2H, H10),  $\delta$  4.21 (m, 2H, H9),  $\delta$  7.26-7.92 (m, 7H, H1-2; H4-5; H12-14),  $\delta$  8.51 (d, 1H, H15),  $\delta$  10.82 (sa, 1H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  34.2 (C10),  $\delta$  29.7 (C9),  $\delta$  122.0 (C16),  $\delta$  122.2 (C12),  $\delta$  123.7 (C14),  $\delta$  125.5 (C1, C5),  $\delta$  127.1 (C2, C4),  $\delta$  132.4 (C3),  $\delta$  137.4 (C13),  $\delta$  147.4 (C15),  $\delta$  148.8 (C6),  $\delta$  159.4 (C11),  $\delta$  200.8 (C7).

**N-(2-(piridin-2-il)etil)-4-(metoxi)benzoselenoamida**



**Rendimiento:** 60%, Sólido Café.

**Punto de Fusión:** 90°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>ON<sub>2</sub>Se.

**Masa Molecular:** 321.0506 g/mol.

**Masa exacta:** 321.0505 g/mol.

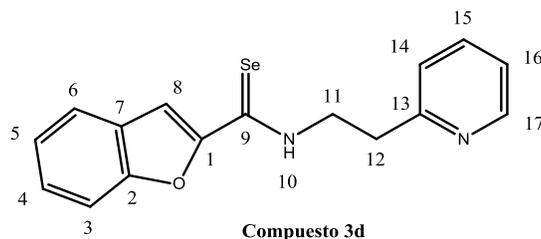
**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3194 cm<sup>-1</sup> (N-H), 1500 cm<sup>-1</sup> (C=Se).

**EM-DART  $m/z$  (%):** 321 (100) [M<sup>+</sup>], 239 (25) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>Se].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.25 (d, 2H, H10),  $\delta$  3.82 (s, 3H, H16),  $\delta$  4.22 (d, 2H, H9),  $\delta$  6.87-7.86 (m, 7H, H1-2; H4-5; H12-14),  $\delta$  8.52 (d, 1H, H15),  $\delta$  10.40 (sa, 1H, H8).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  34.6 (C10),  $\delta$  49.6 (C9),  $\delta$  55.5 (C16),  $\delta$  113.6 (C1, C5),  $\delta$  122.0 (C12),  $\delta$  123.6 (C14),  $\delta$  128.9 (C2, C4),  $\delta$  136.4 (C13),  $\delta$  137.3 (C6),  $\delta$  148.9 (C15),  $\delta$  159.5 (C11),  $\delta$  162.1 (C3),  $\delta$  200.8 (C7).

**N-(2-(piridin-2-il)etil)benzofuran-2-carboselenoamida**



**Rendimiento:** 90%, Sólido Naranja.

**Punto de Fusión:** 110-112°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>OSe.

**Masa Molecular:** 331.0349 g/mol.

**Masa exacta:** 331.0344 g/mol.

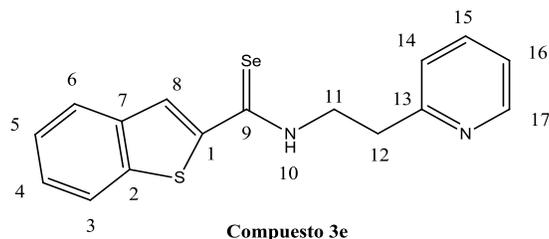
**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3131 cm<sup>-1</sup> (N-H), 1529 cm<sup>-1</sup> (C=Se).

**EM-DART  $m/z$  (%):** 331 (100) [M<sup>+</sup>], 249 (50) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>Se].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.27 (t, 2H, H12),  $\delta$  4.26 (c, 2H, H11),  $\delta$  7.23-7.85 (m, 8H, H3-6; H8; H14-16),  $\delta$  8.63 (d, 1H, H17),  $\delta$  10.69 (sa, 1H, H10).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  34.7 (C12),  $\delta$  47.8 (C11),  $\delta$  111.9 (C3),  $\delta$  115.7 (C8),  $\delta$  122.0 (C14),  $\delta$  122.6 (C16),  $\delta$  123.5 (C6),  $\delta$  123.8 (C5),  $\delta$  127.5 (C4),  $\delta$  128.3 (C7),  $\delta$  137.1 (C15),  $\delta$  149.1 (C1),  $\delta$  154.7 (C17),  $\delta$  155.7 (C2),  $\delta$  159.2 (C13),  $\delta$  184.5 (C9).

**N-(2-(piridin-2-il)etil)benzo[b]tiofen-2-carboselenoamida**



**Rendimiento:** 90%, Sólido Naranja.

**Punto de Fusión:** 120°C.

**Fórmula Molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>SSe

**Masa Molecular:** 347.0121 g/mol.

**Masa exacta:** 347.0129 g/mol.

**IR  $\nu_{\max}$  (Pastilla KBr):** 3155 cm<sup>-1</sup> (N-H), 1537 cm<sup>-1</sup> (C=Se).

**EM-DART  $m/z$  (%):** 347 (100) [M<sup>+</sup>], 265 (10) [M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>Se].

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  3.25 (t, 2H, H12),  $\delta$  4.21 (d, 2H, H11),  $\delta$  7.26-7.90 (m, 8H, H3-6; H8; H14-16),  $\delta$  8.63 (d, 1H, H17),  $\delta$  10.86 (sa, 1H, H10).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm):**  $\delta$  34.3 (C12),  $\delta$  49.2 (C11),  $\delta$  122.2 (C14),  $\delta$  122.4 (C3),  $\delta$  122.5 (C16),  $\delta$  123.7 (C5),  $\delta$  125.0 (C5),  $\delta$  125.5 (C4),  $\delta$  126.3 (C8),  $\delta$  137.4 (C15),  $\delta$  139.5 (C7),  $\delta$  142.3 (C2),  $\delta$  148.7 (C1),  $\delta$  148.9 (C17),  $\delta$  159.6 (C13), 190.9 (C9).

## 5.5 Pruebas de Citotoxicidad

Los compuestos fueron probadas *in vivo* frente a las 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 Cáncer (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<sup>78</sup>.

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 estreptomina, 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.

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 una 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.

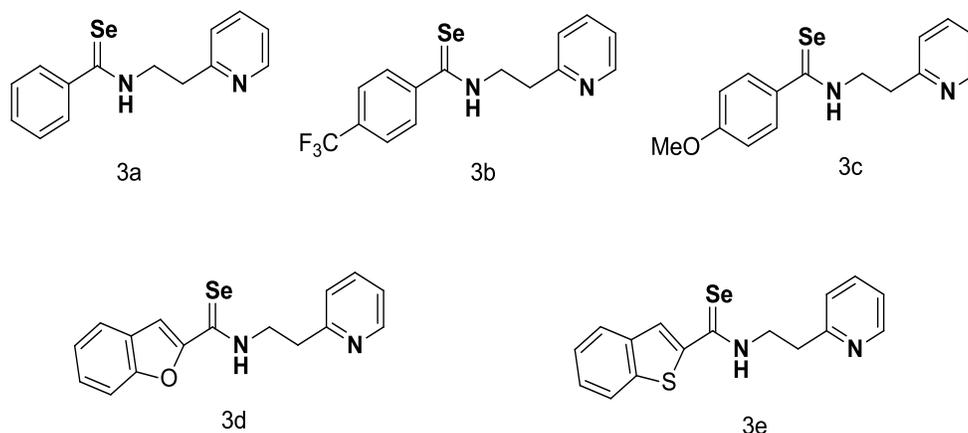
Después del periodo de incubación, las células se fijaron al sustrato plástico utilizando 50 µL de una solución acuosa al 50% de ácido tricloroacético en frío.

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 ELISA (Bio-Tex Instruments).

## VI. CONCLUSIONES

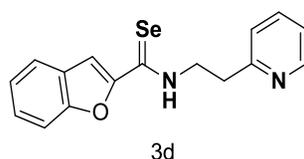
- Se realizó la síntesis de cinco nuevas selenoamidas (**3a-e**) mediante un procedimiento que involucra una reacción de demetalación seleniurativa en condiciones suaves y tiempos cortos de reacción.



- Se obtuvieron dos nuevos Aminocarbenos de Fischer (**2d-e**) en rendimientos cuantitativos y se caracterizaron por técnicas convencionales, los cuales no han sido reportados en la literatura.



- Se comprobó el potencial citotóxico de la familia de selenoamidas sintetizadas al mostrar actividad biológica en las seis líneas celulares de cáncer humano en las que fueron probadas, de las cuales la selenoamida **3d** mostró tener especificidad a la línea celular cancerosa de mama.



## VII. REFERENCIAS

- <sup>1</sup> a) C. W. Nogueira.; G. Zeni.; J. B. T. Rocha. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6255; b) T. Wirth. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3740; c) T. Wirth. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1; d) D. Liotta.; R. Monahan. *Science* **1986**, *231*, 356.
- <sup>2</sup> a) K. Swapna.; S. Narayana-Murthy.; Y. V. Durga-Nageswar. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 1940; b) A. Krief. *Comprehensive Organometallic Chemistry*, Pergamon Press, Oxford, **1991**; c) A. Krief.; L. Hevesi. *Organoselenium Chemistry*, Springer, Berlin, **1988**.
- <sup>3</sup> a) G. Hua.; Y. Li.; A. M. Z. Slawin.; J. D. Woollins. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5251; b) B. M. Goldstein.; S. D. Kennedy.; W. J. Hennen. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8265.
- <sup>4</sup> R. L. Grange.; J. Ziogas.; J. A. Angus.; C. H. Schiesser. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6301.
- <sup>5</sup> K. P. Bhabak.; G. Mugesh. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 4594.
- <sup>6</sup> a) D. R. Garud.; M. Koketsu. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3319; b) S. Mehta.; J. S. Andrews.; B. D. Johnston.; B. Svens On.; B. M. Pinto. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9783.
- <sup>7</sup> a) H. J. Ahn.; M. Koketsu.; E. M. Yang.; Y. M. Kim.; H. Ishihara.; H. O. Yang. *J. Cell. Biochem.* **2006**, *99*, 807; b) W. Wu.; K. Murakami.; M. Koketsu.; Y. Yamada.; I. Sakai. *Anticancer Res.* **1999**, *19*, 5375.
- <sup>8</sup> M. Ibrahim.; W. Hassan.; A. M. Deobald.; A. L. Braga.; J. B. T. Rocha. *Biol. Trace Elem. Res.* **2012**, 149, 399.
- <sup>9</sup> D. Plano.; C. Sanmartín.; E. Moreno.; C. Prior.; A. Calvo.; J. A. Palop. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6853-6859.

- <sup>10</sup> a) D. Sureshkumar.; P. Gopinath.; S. Chandrasekaran. *Chimia*, **2012**, 66, 921-929; b) N. Tanahashi.; M. Koketsu. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4650.
- <sup>11</sup> a) G. Mugest.; A. Panda.; H. B. Singh.; R. J. Butcher. *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1411.; b) T. Wirth. *Molecules* **1998**, 3, 164.; c) C. P. Prabhu.; P. P. Phadnis.; A. P. Wadawale.; K. I. Priyadarsini.; V. K. Jain. *J. Organomet. Chem.* **2012**, 713, 42.; 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.; e) T. G. Back.; Z. Moussa. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12104.; f) F. Fumakara.; B. Mishra.; K. I. Priyadarsini.; M. Iwaoka. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 440-445.
- <sup>12</sup> 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.
- <sup>13</sup> J. G. López-Cortés.; L. F. Contreras de la Cruz.; M.C. Ortega-Alfaro.; R. A. Toscano.; C. Álvarez-Toledano.; H. Rudler. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 609, 2290.
- <sup>14</sup> B. S. Kumar.; K. I. Pryyadarsini. *Biomed. Prev. Nutr.* **2014**.
- <sup>15</sup> a) C. D. Thomson. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: A review. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2004**, 58, 391; b) S. B. Goldhaber. Trace element risk assessment: Essentiality vs. toxicity. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2003**, 38, 232-242.
- <sup>16</sup> N. R. Council. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*; The National Academic Press: Whashington, DC, USA, **2000**.

- <sup>17</sup> a) J. Lu.; A. Holmgren. Selenoproteins. *J. Biol.Chem.* **2009**, 284, 723-727; b) L. V. Papp.; J. Lu.; A. Holmgren.; K. K. Khanna. From selenium to selenoproteins: Synthesis, identify, and their role in human health. *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, 9, 775.
- <sup>18</sup> J. Brozmanova.; D. Manikova.; V. Vlckove.; M. Chovanec. Selenium: A double-edged sword for defense and offence in cancer. *Arch. Toxicol.* **2010**, 84, 919.
- <sup>19</sup> H. Zeng.; G. F. Combs Jr. Selenium as an anticancer nutrient: Roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *J. Nutr. Biochem.* **2008**, 19, 1-7.
- <sup>20</sup> a) G. B. Elion.; E. Burgi.; G. H. Hitchings. *J. Amer. Chem. Soc.* **1952**, 74, 411; b) J. J. Jaffe.; H. G. Mautner. *Cancer Res.* **1960**, 20, 381.
- <sup>21</sup> O. Micke.; L. Schomburg.; J. Buentzel.; K. Kisters.; R. Moecke. *Molecules.* **2009**, 14, 3975.
- <sup>22</sup> D. B. Santos.; V. P. P. Schiar.; M. C. P. Ribeiro.; R. S. Schwab.; D. F. Meinerz.; J. Allebrant.; J. B. T. Rocha.; C. W. Nogara.; M. Aschner.; N. B. V. Barbosa. *Mutation Res.* **2009**, 676, 21.
- <sup>23</sup> H. Takahashi.; A. Nishina.; H. Kimura.; K. Motoki.; M. Koketsu.; H. Ishihara. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2004**, 23, 207.
- <sup>24</sup> T. Murray. *Topics in Current Chemistry*, **2005**, Vol. 251, Springer, GmbH.
- <sup>25</sup> M. Koketsu.; H. Ishihara. *Curr. Org. Chem.* **2007**, 4, 15.
- <sup>26</sup> C. Sandoval-Chávez.; J. G. López-Cortés.; A. I. Gutiérrez-Hernandez.; M. C. Ortega-Alfaro.; R. A. Toscano.; C. Álvarez-Toledano. *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 3692.

- <sup>27</sup> R. Neidlein.; S. Gurtler. *Synthesis*, **1995**, 325.
- <sup>28</sup> P. Bhattacharyya.; J. D. Woollins. *Tetrahedron. Lett.* **2001**, 42, 5949-5951.
- <sup>29</sup> a) H. A. Hallam.; C. M. Jones. *J. Chem. Soc. A.* **1969**, 1033-1039; b) K. Geisler.; W. D. Pfeiffer.; A. Künzler.; H. Below.; E. Bulka.; P. Langer. *Synthesis* **2004**, 875.
- <sup>30</sup> M. Koketsu.; Y. Okayama.; H. Aoki.; H. Ishihara. *Heteroatom. Chem.* **2002**, 13, 195.
- <sup>31</sup> G. M. Li.; R. A. Zingaro. *J. Chem. Soc. Perkin Tran.* **1998**, 4, 647.
- <sup>32</sup> S. Chandrasekaran.; S. Das.; C. Muherjee.; V. Saravanan. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 681.
- <sup>33</sup> H. Ishihara.; M. Yoshimi.; N. Mhara.; H. Ando.; S. Kato. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, 63, 835.
- <sup>34</sup> A. Ogawa.; J. Miyajima.; Y. Karasaki.; S. Murai.; N. Sonoda. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 384.
- <sup>35</sup> M. Koketsu.; S. Himaratsu.; H. Ishihara. *Chem. Lett.* **1999**, 485.
- <sup>36</sup> K. Geisler.; A. Künzler.; H. Below.; E. Bulka.; W. D. Pfeiffer.; P. Langer. *Synlett* **2003**, 8, 1195.
- <sup>37</sup> T. Murray.; H. Aso.; S. Kato. *Org. Lett.* **2002**, 4, 1407.
- <sup>38</sup> R. H. Crabtree.; D. M. P. Mingos. *Selenium: Comprehensive Organometallic Chemistry III*, **2007**, Vol. 9, Elsevier.
- <sup>39</sup> F. Asinger.; H. Berding. *Monatsh. Chem.* **1968**, 99, 2072.

- <sup>40</sup> C. O. Maese.; W. Walter.; H. Mrotzek.; H. Miryai. *Chem. Ber.* **1976**, 109, 956.
- <sup>41</sup> C. H. Walker.; F. Klein. *Am. Med. J.* **1915**, 628-629.
- <sup>42</sup> a) D. Medina.; F. S. Shepherd. *Can. Lett.* **1984**, 24, 227; b) D. Medina. *Int. J. Toxicol.* **1986**, 5, 21-27.
- <sup>43</sup> a) K. Poirier.; J. A. A. Milner. *J. Nutr.* **1983**, 113, 2147; b) A. M. Watrach.; J. A. A. Milner. *Can. Lett.* **1984**, 25, 41.
- <sup>44</sup> G. F. Combs.; W. P. Gray. *Pharmacol. Ther.* **1998**, 79, 179-192.
- <sup>45</sup> a) G. Mugesh. *Curr. Chem. Biol.* **2013**, 7, 47; b) T. Wirth. *Organoselenium Chemistry: Synthesis and Reactivity*; Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Germany, **2012**.
- <sup>46</sup> 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.
- <sup>47</sup> K. P. Bhabak.; G. Mugesh. *Acc, Chem. Res.* **2010**, 43, 1408.
- <sup>48</sup> M. Iwaoka.; K. Arai. *Curr. Chem. Biol.* **2013**, 7, 2.
- <sup>49</sup> F. Marini.; S. Sternativo. *SYNLETT*, **2013**, 24, 11.
- <sup>50</sup> A. Kumar.; G. K. Rao.; F. Saleem.; A. K. Singh. *Dalton Trans.* **2012**, 41, 11949.
- <sup>51</sup> R. S. Chauhan.; C. P. Prabhu.; P. P. Phadnis.; G. Kedarnath.; J. A. Golen.; A. L. Rheingold.; V. K. Jain. *J. Organomet. Chem.* **2013**, 723, 163.
- <sup>52</sup> R. K. Sharma.; G. Kedarnath.; V. K. Jain.; A. Wadawale.; C. G. S. Pillai.; M. Nalliath.; B. Vishwanadh. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 9194.

- <sup>53</sup> N. Yoshimoto.; T. Itoh.; Y. Inaba.; H. Ishii.; K. Yamamoto. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 7527.
- <sup>54</sup> P. Merino-Montiel.; S. Maza.; S. Martos.; Ó. López.; I. Maya.; J. G. Fernández-Bolaños. *Eur. J. Pharm.* **2013**, 48, 582.
- <sup>55</sup> S. Pinton.; C. A. Brüning.; C. E. Sartori Oliveira.; M. Prigol.; C. W. Nogueira. *J. Nutr. Biochem.* **2013**, 24, 311.
- <sup>56</sup> C. Pizzo.; P. Faral-Tello.; G. Salinas.; M. Fló.; C. Robello.; P. Wipf.; S. G. Mahler. *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 362.
- <sup>57</sup> E. A. Wilhelm.; C. R. Jesse.; C. F. Bortolatto.; C. W. Nogueira.; L. Savegnano. *Brain Res. Bull.* **2009**, 79, 281.
- <sup>58</sup> P. Guo.; P. Zhao.; J. Liu.; H. Ma.; J. Bai.; Y. Cao.; Y. Liu.; H. He.; C. Qi. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, 151, 301.
- <sup>59</sup> C. M. Weekly.; H. H. Harris. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 8870.
- <sup>60</sup> F. W. Ávila.; V. Faquin.; Y. Yang.; S. J. Ramos.; L. R. G. Guilherme.; T. W. Thannhauser.; L. Li. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 6216.
- <sup>61</sup> P. Du.; U. M. Viswanathan.; K. Khairan.; T. Buric.; N. E. B. Saidu.; Z. Xu.; B. Hanf.; I. Bazukyan.; A. Trchounian.; F. Hannermann.; I. Bernhardt.; T. Burkholz.; B. Diesel.; A. K. Kiemer.; K. H. Schäfer.; M. Montenarh.; G. Kirsch.; C. Jacob. *Med. Chem. Commun.* **2014**, 5, 25.
- <sup>62</sup> C. M. Weekley.; J. B. Aitken.; I. F. Musgrave.; H. H. Harris. *Biochemistry.* **2012**, 51, 736.
- <sup>63</sup> R. Csuk.; B. Siewert.; J. Wiemann. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 3542.

- <sup>64</sup> M. Font.; A. Zuazo.; E. Ansó.; D. Plano.; C. Sanmartín.; J. A. Palop.; J. J. Martínez-Irujo. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 5110.
- <sup>65</sup> R. Terazawa.; 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.
- <sup>66</sup> K. Bijian.; Z. Zhang.; B. Xu.; S. Jie.; B. Chen.; S. Wan.; J. Wu.; T. Jiang.; M. A. Alaoui-Jamali. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 48, 143.
- <sup>67</sup> C. K. Chu.; L. M. Sureyya.; C. Pierra.; J. Du.; G. Gumina.; E. Gullen.; R. F. Schinazi. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3906.
- <sup>68</sup> D. D. Li.; J. Hie.; H. H. Zeng. *Appl. Organometal. Chem.* **2012**, 26, 619.
- <sup>69</sup> S. S. Braga.; A. M. S. Silva. *Organometallics.* **2013**, 32, 5626.
- <sup>70</sup> C. F. Bernasconi. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, 26, 299.
- <sup>71</sup> a) D. I. Bezuidenhout.; D. C. Liles.; P. H. van Rooyen.; S. Lotz. *J. Organomet. Chem.* **2007**, 692, 774. b) W. Chih-Chieh.; W. Yu.; L. Hui-Jean.; L. Kuan-Jiuh.; Liang-Kuei.; C. Kin-Shing. *J. Phys. Chem.* **1997**, 101, 8887.
- <sup>72</sup> Z. Zheng.; J. Chen.; Z. Yu.; X. Han. *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 3679.
- <sup>73</sup> J. M. Reichert.; J. B. Wenger. *Drug. Discov. Today.* **2008**, 13, 30.
- <sup>74</sup> J. A. Bikker.; N. Brooijmans.; A. Wissner.; T. Mansour. *J. Med. Chem.* **2009**, 52(6), 1493.
- <sup>75</sup> F. Xing.; S. Li.; X. Ge.; C. Wang.; H. Zeng.; D. Li.; L. Dong. *Oral Oncol.* **2008**, 44, 963.

- <sup>76</sup> V. Jamier.; L. A. Ba.; C. Jacob. *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 10920.
- <sup>77</sup> T. W. Cooper.; I. Campbell.; S. J. Macdonald. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 8082.
- <sup>78</sup> 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.