



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE DERIVADOS DE 7-(R-FENIL)-10,10-DIMETIL-
7,10,11,12-TETRAHIDROBENZ[C]ACRIDIN-8(9H)-ONA Y SU
ESTUDIO DE DOCKING EN EL RECEPTOR 1D37**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICA

PRESENTA

VIVIAN ÁLVAREZ ISLAS



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.

AÑO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Méndez Stivalet José Manuel

VOCAL: Ávila Zarraga José Gustavo

SECRETARIO: Flores Pérez Blas

1er. SUPLENTE: Jiménez Curiel Cristina del Carmen

2° SUPLENTE: Escárcega Bobadilla Martha Verónica

EL TRABAJO AQUÍ PRESENTADO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO 224 DE LA UNIDAD DE POSGRADO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

Dr. José Gustavo Ávila Zarraga

Asesor de Tesis

Vivian Álvarez Islas

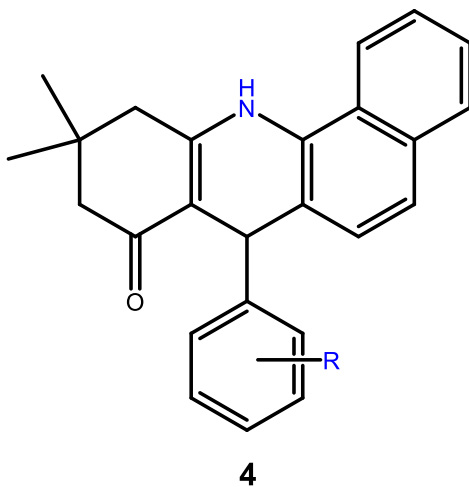
Sustentante

Agradecimientos

Al Programa de Apoyo a la Investigación (PAIP 5000: 9060) de la Facultad de Química de la UNAM por los recursos asignados.

Resumen

Las acridinas y azepinas son conocidas por su actividad anticancerígena es por ello que se tomaron como modelo para desarrollar nuevos compuestos con posible actividad anticancerígena. Se propuso una serie de nuevos compuestos a partir de la funcionalización del compuesto 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**4**) y a partir de su estudio teórico de docking en ADN, topoisomerasa II y CDK-1, se identificó que aquellos que presentan una mayor afinidad al ADN son los compuestos que presentan mayor número de anillos aromáticos en su estructura y grupos funcionales que puedan formar interacciones por puente de hidrógeno en el sitio activo. En este trabajo se presentan también los avances rumbo a la síntesis de los compuestos que presentan la mayor posibilidad de funcionar como fármacos anticancerígenos.



Índice General

Índice de figuras	8
1. Introducción	10
2. Antecedentes	11
2.1. Intercalantes de ADN	12
2.2. Las acridinas como fármacos anticancerígenos	13
2.3. Cinasas dependientes de ciclina (CDKs)	19
2.4. Azepinas como fármacos anticancerígenos	21
2.5. Docking, modelado molecular	25
2.5.1. Docking en ADN	27
2.6. Síntesis y funcionalización de benzoacridinas	30
2.6.1. Reacciones multicomponente	31
2.6.2. Reacciones de aromatización en heterociclos	33
2.6.3. Reacomodo ciclohexanona-fenol	35
2.6.4. Síntesis de lactamas	36
3. Definición del proyecto	39
3.1. Objetivo general	39
3.2. Objetivos Particulares	39
3.3. Hipótesis	41
3.4. Estrategia sintética	41
4. Resultados y discusión	46
4.1. Resultados de docking	46

4.2.	Resultados experimentales	85
4.2.1	Construcción de los compuestos 4	85
4.2.2	Construcción de los compuestos 5	88
4.2.3	Exploración encaminada a la construcción de los compuestos 8 y 9	90
4.2.4	Exploración encaminada a la construcción de los compuestos 12 y 13	96
5.	Conclusiones	100
6.	Sección Experimental	101
6.1.	Metodología de cálculos teóricos	101
6.2.	Metodología experimental	102
7.	Bibliografía	113

Índice de Figuras

Fig. 1 Acridina C ₁₃ H ₉ N	13
Fig.2 Acridinas que presentan actividad anticancerígena	14
Fig. 3 Estructura cristalina de la acridina DACA como intercalante en un fragmento de ADN. PDB:452D	15
Fig. 4 Diagrama de las interacciones π- π aromáticas y por puente de hidrógeno de la acridina DACA con un fragmento de ADN. PDB: 367D	15
Fig. 5 Acridinas con actividad inhibitoria de la enzima topoisomerasa.	16
Fig. 6 Estructura cristalina de la amsacrina como intercalante de ADN en complejo con topoisomerasa II, diagrama de interacciones de la amsacrina con ADN.	16
Fig. 7 Benz[a]acridina y benz[c]acridina	17
Fig.8 Estructura de la isoquinolino[4,5-bc]acridina (A), acronicina (B), benzo[c]acronicina (C) y benzo[a]acronicina (D).	18
Fig.9 Estructura de la berberina (E), derivado de benz[a]acridina (F) e híbrido de platino-benz[c]acridina (G).	19
Fig. 10 Reacción de fosforilación catalizada por complejo CDK/ciclina	20
Fig. 11 Ciclo celular con los complejos CDK/ciclina y con los inhibidores INK4 y CIP/KIP en los puntos donde es conocido que estos actúan (Collins y Garret 2005, Fuster 2010).	21
Fig. 12 a) Azepina b) Estructuras generales de análogos de azepina biológicamente activos.	22
Fig. 13 Azepinonas con actividad anticancerígena.	23
Fig. 14 a) Complejo de ciclina A (naranja), CDK-2 (morado) y ATP (verde)	24
Fig. 15 Sitio activo de CDK-2 con ATP, interacciones de puente de hidrógeno con residuos GLU81 y LEU83 (verde). PDB:1FIN	25
Fig. 16 Complejo de cuádruplex de ADN con acridinas 3,6,9 trisustituídas.	28
Fig. 17 Docking realizado para híbridos de acridinas-porfirinas con ADN.	29

Esq. 1 Ejemplos de reacciones multicomponentes.	32
Esq. 2 Síntesis de 7-aril-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenzo[<i>c</i>]acridin-8(9 <i>H</i>)-onas	33,85,103
Esq. 3 Oxidación de 1,4-dihidropiridinas	34
Esq. 4 Oxidación para obtener los compuestos 7-aril-10,11-dihidro-10,10-dimetil-benzo[<i>c</i>]acridin-8(9 <i>H</i>)-onas.	34,88,107
Esq. 5 Reacomodo dienona-fenol.	35
Esq. 6 Aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.	36,45,91,110
Esq. 7 Reacción de Schmidt para cetonas.	37
Esq. 8 Transposición de Beckmann.	38
Esq.9 Funcionalización del compuesto 4 a partir de anillos aromáticos y grupos funcionales.	43
Esq. 10 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 8 y 9.	44,91
Esq. 11 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 6 y 7.	44
Esq. 12 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 12 y 13.	45,97
Esq. 13 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 10 y 11.	45
Esq. 14. Estructuras en las cuales se realizó el docking.	47
Esq. 15. Mecanismo de reacción de la aromatización de 4 con NaNO ₂ /AcOH	90
Esq. 16. Mecanismo para la aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.	95
Esq. 17 Mecanismo propuesto para la reacción de aromatización en los compuestos 5.	96
Esq. 18 Síntesis de 11,11-dimetil-7-fenil-8,10,11,12-tetrahidro-9 <i>H</i> -azepino[3,2- <i>b</i>]benzo[<i>h</i>]quinolin-9-ona.	97,112
Esq. 19 Mecanismo propuesto para la aromatización con NaN ₃ en medio ácido.	98

1. Introducción

Uno de los problemas de salud más serios hoy en día es el cáncer. Aun cuando se ha logrado un gran progreso en el entendimiento bioquímico, no se ha logrado combatir por completo esta enfermedad. Las alternativas para su tratamiento incluyen operaciones, radioterapia, inmunoterapia y quimioterapia. Sin embargo, para algunos tipos de cáncer la única terapia efectiva es la quimioterapia, en la cual se distribuyen fármacos anticancerígenos a través del sistema circulatorio, que llegan hasta las células cancerosas adondequiera que se hayan propagado. ^[1]

De entre los compuestos orgánicos que han sido estudiados por su potencial como fármacos anticancerígenos destacan las acridinas y sus derivados. Derivados como la amsacrina o la acridina carboxamida (DACA) han logrado combatir exitosamente varios tipos de cáncer, gracias a que las acridinas presentan actividad como intercalantes en el ADN o bien inhibiendo a las enzimas topoisomerasas, cinasas dependiente de ciclina (CDKs) y telomerasas. ^[2] Por otra parte, las azepinonas y sus derivados también han sido estudiados desde hace varios años como agentes anticancerígenos. Diferentes azepinas han logrado, además de eliminar células cancerosas, disminuir el crecimiento de tumores y controlar la metástasis al actuar como inhibidores de CDKs, de histonas deacetilasas y de tubulina. ^[3] Existen diversos métodos enfocados al diseño y síntesis de nuevas acridinas y azepinonas. Ambos compuestos heterocíclicos son de gran interés farmacológico, por lo que comprender y mejorar su actividad anticancerígena, así como el diseño de nuevos derivados y la optimización de su síntesis, es de gran relevancia para la química orgánica medicinal.

Una herramienta complementaria a la síntesis orgánica y al diseño de fármacos son los métodos computacionales de modelado molecular. Con técnicas como el acoplamiento molecular o docking es posible predecir la afinidad y actividad de un posible fármaco sobre un blanco biológico (enzimas, hormonas, ADN), esto facilita la búsqueda sistemática de sustancias con mayor potencia medicinal y menor toxicidad. ^[4] El docking aplicado a los fármacos anticancerígenos ha permitido comprender mejor sus mecanismos de acción y optimizar la búsqueda de nuevos fármacos viables.

En este trabajo se estudió el impacto que tiene la funcionalización de una serie de derivados de benz[*c*]acridinonas en su actividad biológica. Para ello se llevó a cabo el estudio teórico de docking con estos compuestos como intercalantes en fragmentos de ADN, como inhibidores de la enzima topoisomerasa II y cómo inhibidores de CDK-1. Se analizaron los aspectos estructurales y los grupos funcionales que les permiten obtener una mejor afinidad en el sitio activo de los tres blancos biológicos, logrando obtener compuestos activos en más de un sitio biológico y con una mayor posibilidad de funcionar exitosamente como fármacos anticancerígenos. Posteriormente se desarrollaron los primeros pasos de síntesis para obtener aquellos compuestos que resultaron más prometedores en el estudio teórico.

2. Antecedentes

El cáncer es una de las causas principales de muerte alrededor del mundo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, en 2012, hubo 14 millones de casos nuevos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer. Según los datos obtenidos en el 2013, el INEGI la reportó como la tercera enfermedad que causa más muertes en México. El principal problema es que el cáncer no es una enfermedad aislada, sino un grupo de enfermedades relacionadas que afectan diferentes órganos y sistemas del cuerpo. Esto causa una anormal e incontrolada división celular, frecuentemente de forma más acelerada que la mayoría de las células normales en el cuerpo. Una de las principales alternativas para su tratamiento es la quimioterapia, que consiste en administrar un fármaco que detenga o disminuya el crecimiento acelerado de las células cancerosas.^[1] Hay en el mercado una gran diversidad de fármacos antineoplásicos, sin embargo, el reto principal del diseño de nuevos fármacos anticancerígenos es encontrar una molécula estable, específica, efectiva, de bajo costo y con mínimos efectos secundarios.

2.1 Intercalantes de ADN

Debido al papel del ADN en el control de las funciones celulares, es considerado un excelente objetivo para el tratamiento del cáncer y demás enfermedades genéticas. Por otro lado, debido a la gran rapidez con la cual las células cancerígenas proliferan, la gran mayoría de los fármacos contra el cáncer se dirigen al ciclo celular. Algunos de estos fármacos son pequeñas moléculas que se unen a la doble cadena del ADN, esta unión puede ocurrir a través de tres vías principales: unión al surco, intercalación entre dos pares de bases y formando un enlace covalente o de coordinación a las bases. Además, un único compuesto puede mostrar más de un modo de unión a la hebra de ADN (por ejemplo, la intercalación y el enlace covalente). [5]

La intercalación es uno de los métodos de unión de pequeñas moléculas aromáticas al ADN, consiste en su inserción entre dos pares de bases adyacentes en la cadena de ADN, esta unión puede presentar interacciones adicionales en los surcos. Una inserción de este tipo requiere una abertura entre los pares de bases, lo que se traduce en la formación de un bolsillo hidrofóbico. La inserción de la mayoría de los intercalantes se produce en el sitio de intercalación de CG. Los intercalantes de ADN, por lo general, contienen un sistema poliaromático planar que forma interacciones π - π con las dos bases que se encuentran en el costado de la cadena, se cree que estas interacciones pueden ser la principal fuerza directriz que da lugar a la unión de intercalación. Otras interacciones que contribuyen a la formación de los complejos intercalante-ADN son las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y las interacciones de transferencia de carga. Varios intercalantes sintéticos tienen carga positiva debido a la contribución que tiene la fuerza electrostática a la energía de unión. [5,6]

La unión de los intercalantes a la molécula de ADN conduce a cambios conformacionales en su estructura, incluyendo la abertura de las bases adyacentes a la cadena y el alargamiento y desenrollamiento del giro helicoidal. Estos cambios estructurales afectan las funciones biológicas del ADN, incluyendo la inhibición de la transcripción, replicación y procesos de reparación del ADN, haciendo de ese modo a los intercalantes potentes mutágenos y potenciales fármacos antitumorales. [5,7]

2.2 Las acridinas como fármacos anticancerígenos

La acridina es un compuesto orgánico formado por dos ciclos aromáticos de carbono y un heterociclo con un nitrógeno. Este compuesto cuya fórmula es $C_{13}H_9N$ presenta una estructura plana. Las acridinas son aquellos compuestos que contienen en su estructura este triciclo aromático (**Fig. 1**).

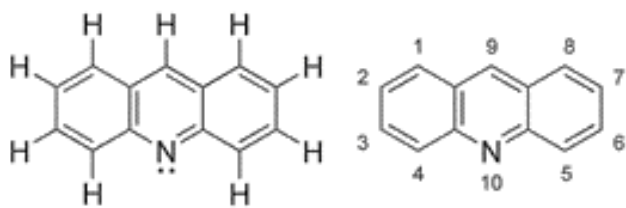


Fig. 1 Acridina $C_{13}H_9N$

Las acridinas y los compuestos derivados de ellas son reconocidos agentes anticancerígenos, pero además presentan diferentes formas de actividad biológica. Son utilizados como fármacos anti-bacteriales, anti-protozoarios, anti- VIH y como tratamiento contra la malaria. Las acridinas son utilizadas como quimioterapéuticos debido a su estabilidad química y biológica, un gran número de ellas tanto de origen natural como sintético han sido probadas como agentes anticancerígenos, pero hasta ahora son pocos los compuestos que han sido considerados para pruebas clínicas y aprobados para la quimioterapia (**Fig.2**). [2,8-13]

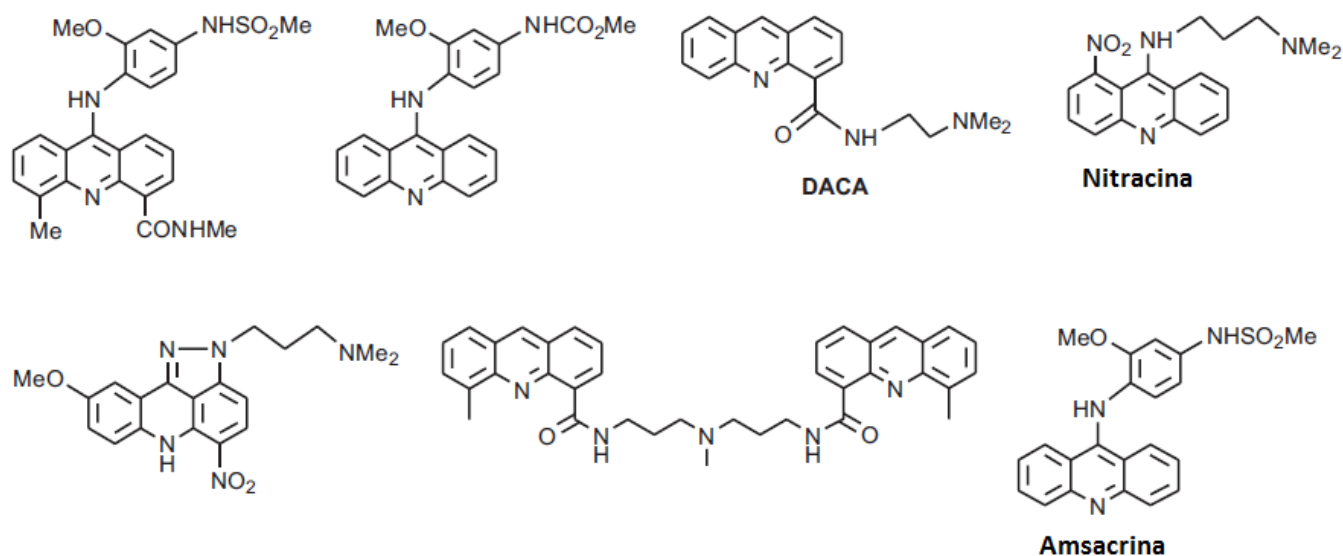


Fig.2 Acridinas que presentan actividad anticancerígena.

Gracias a sus características químicas, las acridinas pueden intercalarse en las cadenas de ADN y ARN afectando procesos metabólicos esenciales en las células. El mecanismo de acción de la intercalación de estos compuestos se basa en la interacción con los pares de bases de las cadenas de los ácidos nucleicos. Las acridinas tienen una estructura plana heterocíclica y poliaromática que les permite embonar en la brecha entre dos cadenas de polinucleótidos, de manera que interfieren con los procesos de división celular. Es esta propiedad de intercalarse con el ADN, así como la fuerza y la cinética de esta unión, lo que les confiere actividad antitumoral **(Fig.3 y 4)**.^[2,7,14]

Sin embargo, se sabe que los derivados de acridinas perturban la función de las células cancerosas al disminuir la actividad de varias enzimas que son cruciales para el buen funcionamiento celular, como las topoisomerasas^[15], las telomerasas^[16], las cinasas dependientes de ciclina^[17], también al interactuar con el proteasoma inhibiendo calpaina, tripsina, catepsina B y quimotripsina^[18]; y al inducir la producción de proteína p53^[19], una proteína supresora de tumores.

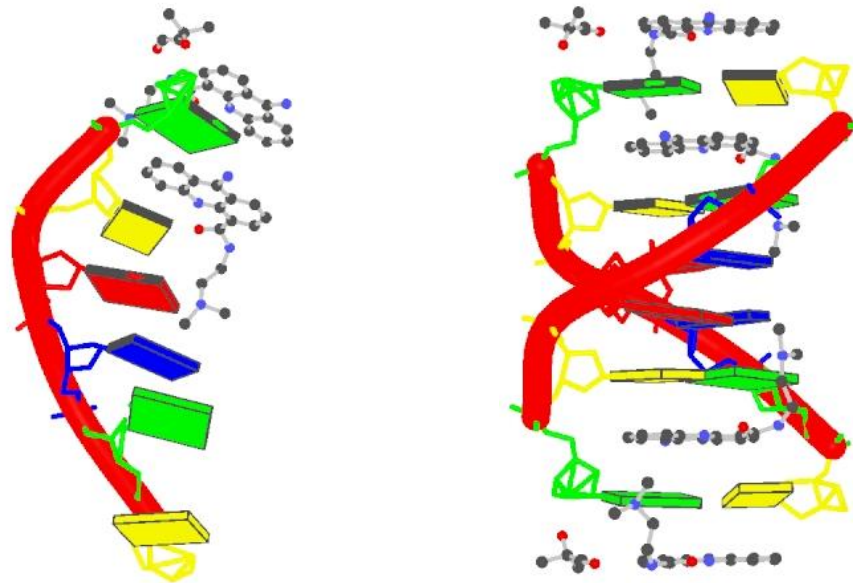


Fig. 3 Estructura cristalina de la acridina DACA como intercalante en un fragmento de ADN. PDB:452D

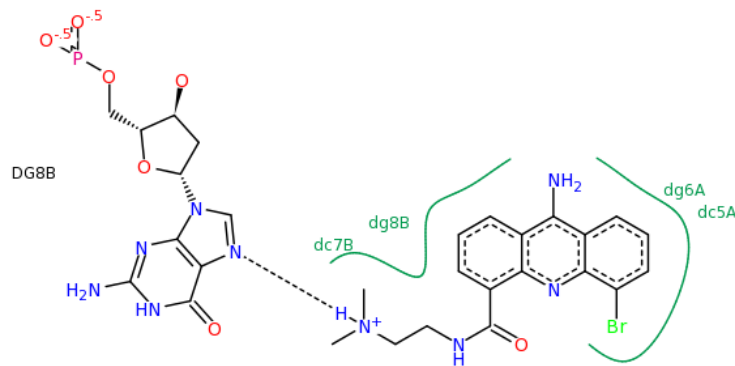


Fig. 4 Diagrama de las interacciones π - π aromáticas y por puente de hidrógeno de la acridina DACA con un fragmento de ADN. PDB: 367D

Las ADN topoisomerasas son enzimas involucradas en la regulación del súper enrollamiento de ADN. Las topoisomerasas tipo 1 modifican el grado de súper enrollamiento del ADN catalizando la ruptura transitoria en una sola hebra y permitiendo que la cadena sana pase a través de la cadena unida a la enzima, resultando así en la relajación del DNA. Por otro lado, las topoisomerasas tipo 2 realizan cortes en ambas hebras y luego unen los extremos separados de forma que pueda relajarse la cadena de ADN. Ambas actividades son necesarias durante la transcripción, la replicación del ADN y la condensación de cromatina. Derivados de acridina como las anilinoacridinas, imidazoacridonas y las acridin-4-carboxamidas interfieren con las actividades

de las topoisomerasas. [15,18] En especial la amsacrina (**Fig. 2**) es utilizada como fármaco en el tratamiento de leucemia. [11] DACA (**Fig. 2**) es otro derivado de acridina que inhibe a ambas topoisomerasas I y II. [20,21] La interacción de estos fármacos con las topoisomerasas es debido a los sustituyentes laterales, estos influyen las propiedades inhibitorias, por lo que se concluye que la activación de los anillos aromáticos es esencial para aumentar la actividad anticancerígena de este tipo de compuestos (**Fig.5 y 6**).

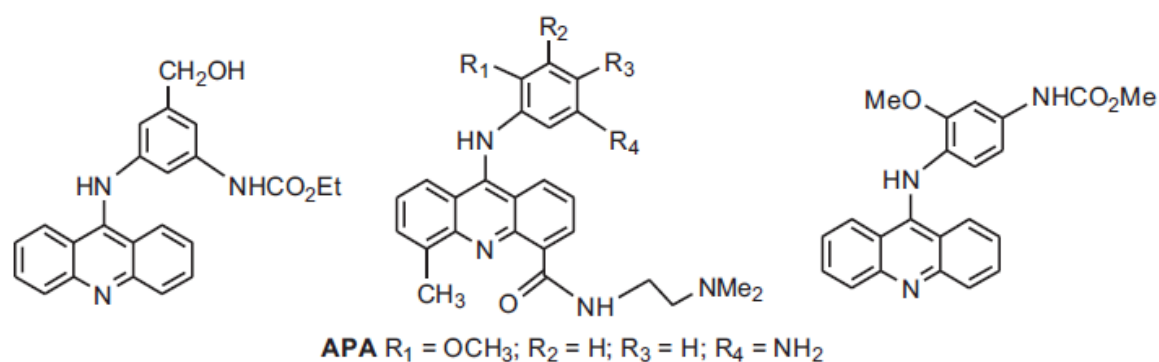


Fig. 5 Acridinas con actividad inhibitoria de la enzima topoisomerasa.

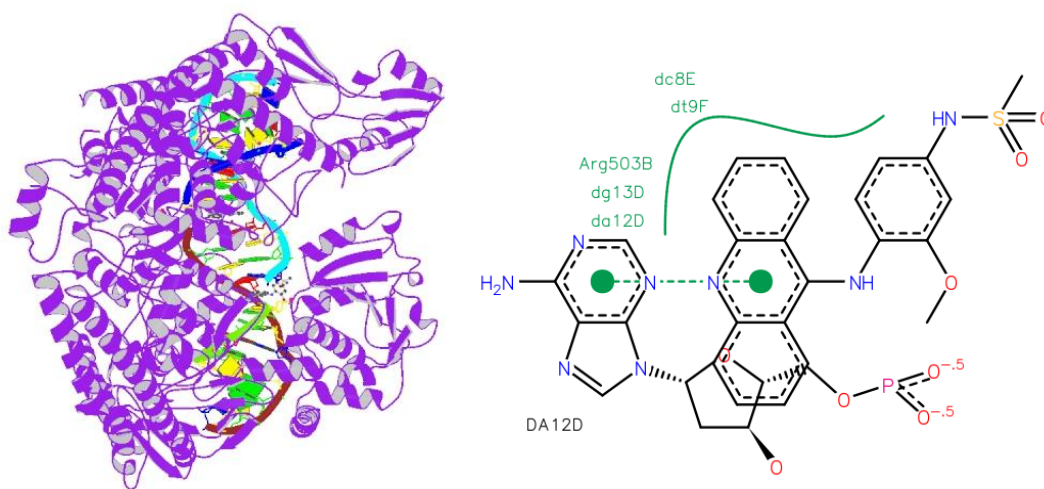


Fig. 6 Estructura cristalina de la amsacrina como intercalante de ADN en complejo con topoisomerasa II, diagrama de interacciones de la amsacrina con ADN.

Actuando como intercalantes en el ADN, disminuyendo diferentes actividades enzimáticas, o bien inhibiendo a las topoisomerasas, las acridinas y sus derivados tienen diferentes moléculas blanco que perturban la función de las células en tumores cancerosos. Debido a este gran potencial como fármacos anticancerígenos es que continúa el desarrollo de moléculas similares en búsqueda de mejores resultados.

Dentro de los análogos importantes de las acridinas, se encuentran las benzoacridinas y sus derivados (**Fig. 7**) cuyo esqueleto está formado por cuatro heterociclos aromáticos.

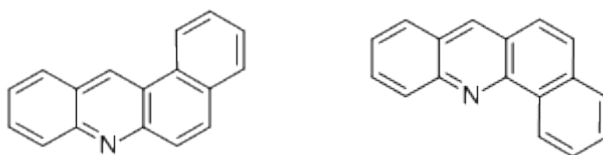


Fig. 7 Benz[a]acridina y benz[c]acridina

Por sus características se espera que tengan una actividad biológica similar a las acridinas, sin embargo, son pocos los estudios con respecto a su posible actividad anticancerígena. Moléculas con estructuras parecidas como las isoquinolinoacridinas y las benzoacronicinas (**Fig.8**) han presentado actividad antitumoral en células de cáncer de pulmón y de leucemia. ^[22] En particular algunas benzo[c]acronicinas y benzo[a]acronicinas (**Fig.8**) presentan una mayor actividad ($IC_{50} = 6.7 \mu M$ y $0.7 \mu M$) que la acronicina ($IC_{50} = 23 \mu M$), en este ejemplo se observa que un sistema de anillos aromáticos extendido puede mejorar la actividad anticancerígena. ^[2]

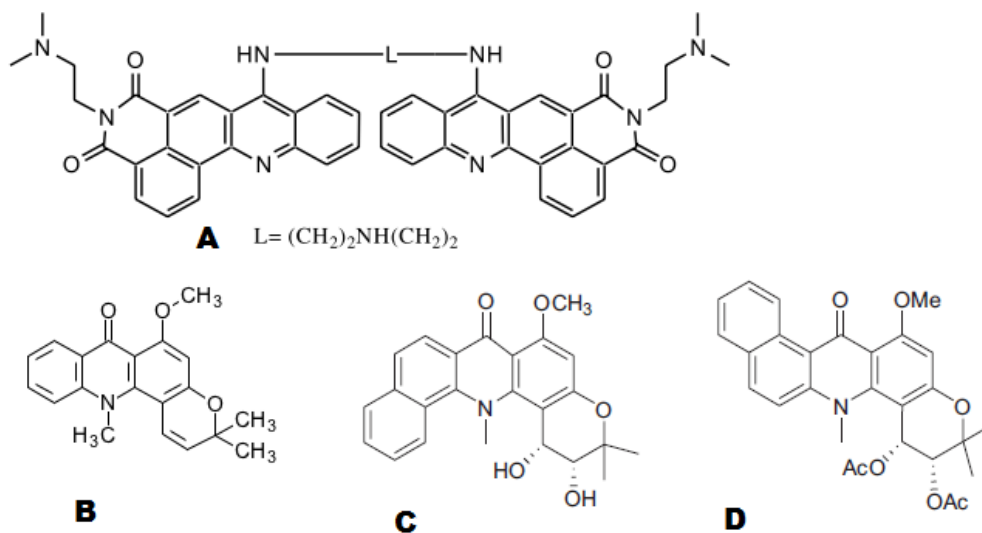


Fig.8 Estructura de la isoquinolino[4,5-bc]acridina (A), acronicina (B), Benzo[C]acronicina (C) y Benzo[A]acronicina (D).

Otra molécula con estructura similar a las benzoacridinas es la berberina (**Fig.9**), un alcaloide de isoquinolina de origen natural presente en hierbas orientales. Ha sido utilizada ampliamente en la medicina China, entre otras cosas, por sus propiedades antineoplásicas que incluyen unión al ADN y ARN, inducción a apoptosis, detención del ciclo celular, inhibición de migración celular, inhibición de topoisomerasas y telomerasas, activación de proteína p53 y activación de reguladores autofágicos.^[23,24] La berberina ha demostrado su actividad anticancerígena en células de carcinoma hepático, cáncer de pulmón, leucemia y en estudios *in vivo* disminuyendo tumores mamarios en ratones.^[25,26]

Específicamente algunos derivados de benz[a]acridinas (**Fig.9**) han demostrado unirse al ADN y actuar como inhibidores de topoisomerasas^[27], mientras que otros derivados de benz[c]acridinas unidos a un átomo de platino han mostrado actividad citotóxica en células de pulmón cancerígenas (**Fig. 9**).^[28]

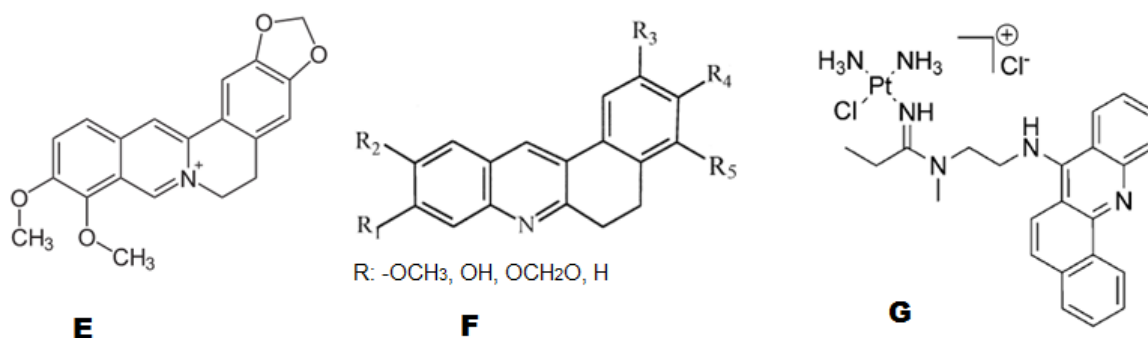


Fig.9 Estructura de la berberina (E), derivado de benz[a]acridina (F) e híbrido de platino-benz[c]acridina (G).

A pesar de la poca información sobre benzoacridinas y su potencial como fármacos, estos primeros estudios arrojan resultados positivos que nos indican su posible actividad biológica. Por lo que es relevante continuar el diseño de nuevos fármacos anticancerígenos tomando como partida sus características químicas.

2.3 Cinasas dependientes de ciclina (CDKs)

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los fármacos anticancerígenos se dirigen al ciclo celular ya que este es un proceso vital en el cuerpo que controla la división celular y asegura la correcta duplicación del material genético. En las células cancerígenas este proceso no funciona con normalidad, lo que provoca que las células proliferen sin control. [1]

Las cinasas dependientes de ciclina (CDKs) son un grupo de enzimas cinasas de serina/treonina cuya función es regular la transición a través de las fases G₀, G₁, S, G₂ y M del ciclo celular. Se ha observado que el funcionamiento aberrante de estas enzimas está directamente ligado al desarrollo de patologías cancerígenas. Es por ello que son consideradas potenciales blancos farmacológicos para agentes anti-cancerígenos. [29]

Las CDKs se activan a partir de la unión con una ciclina específica y se encargan de la fosforilación de los intermediarios esenciales para la progresión del ciclo celular. Catalizan la transferencia de un grupo fosfato de su sustrato, ATP, a una cadena lateral de aminoácidos de proteínas encargadas del control de la transcripción y de la progresión del ciclo celular (**Fig.10**). [30]

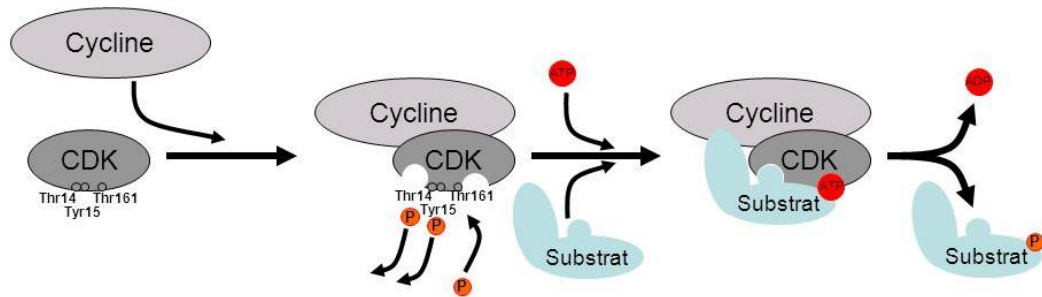


Fig. 10 Reacción de fosforilación catalizada por complejo CDK/ciclina

Las CDKs son reguladas a partir de la presencia de las ciclinas para asegurar que el ciclo celular proceda en el orden correcto. Por ejemplo, las ciclinas de la familia D forman complejos con las CDKs 4 y 6 durante la fase G1, la ciclina E se compleja con la CDK2 en la etapa tardía G1, la ciclina A se une a la CDK2 en la fase S y la ciclina B se compleja con la CDK1 en la fase tardía G2/M (**Fig. 11**). [29]

Dentro de la célula existen mecanismos que inhiben la actividad de las CDKs y que funcionan como puntos de control, ya que es importante inhibir estas enzimas y detener el ciclo celular cuando la célula detecta daños en el ADN. [31] Los inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina (CDI) se dividen en dos familias que actúan por diferentes mecanismos al inhibir las CDKs. La familia INK4 formada por las proteínas p15, p16, p18 y p19 se unen a la CDK4 y CDK6 e impiden que se forme el complejo con la ciclina D. Por otra parte, la familia CIP/KIP a la que corresponden las proteínas p21, p27 y p57 se unen a la mayoría de los complejos CDK/ciclina, insertándose en el sitio de unión del ATP, no permitiendo la entrada de este al sitio activo (**Fig. 11**). [32,33]

Se ha encontrado que en las células cancerosas las familias de CDI se encuentran mutadas u omitidas de manera que estas células no cuentan con mecanismos de regulación en el ciclo celular. [33,34] Ésta es la razón por la que desde hace unos años se ha tomado como modelo el mecanismo de regulación de los CDI para proponer nuevos fármacos que inhiban a las enzimas CDKs, con el propósito de controlar la proliferación de las células de cáncer.

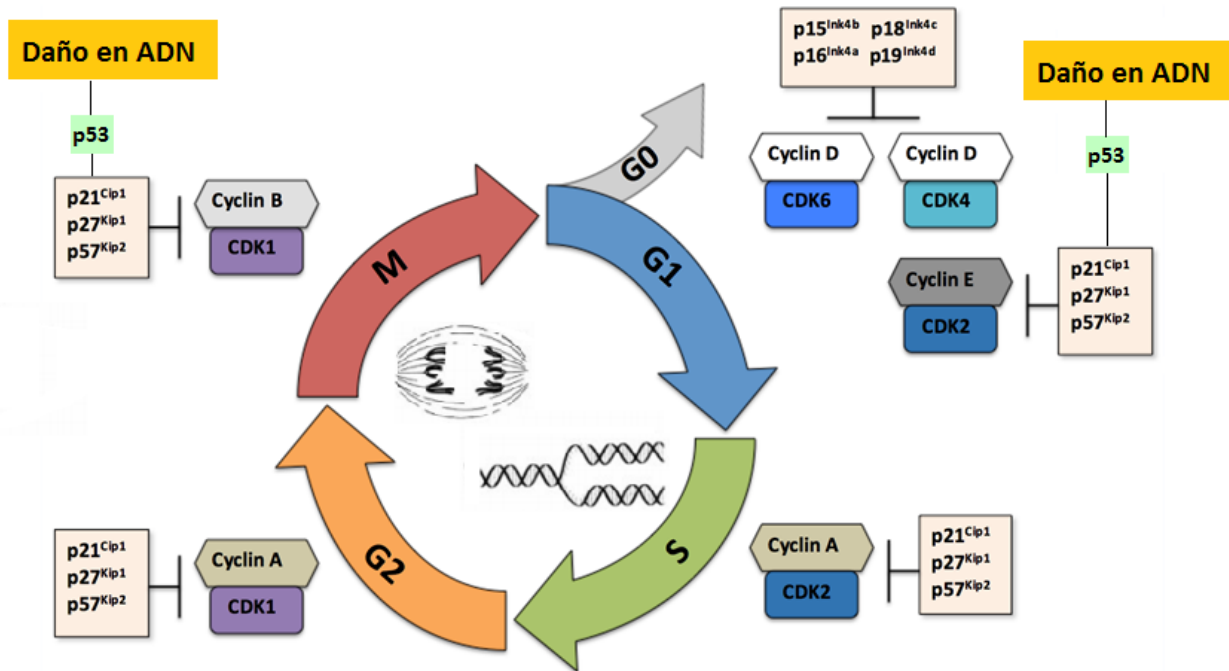


Fig. 11 Ciclo celular con los complejos CDK/ciclina y con los inhibidores INK4 y CIP/KIP en los puntos donde es conocido que estos actúan. [35,36]

2.4 Azepinas como fármacos anticancerígenos

Las azepinas son heterociclos insaturados de 7 miembros en los cuales uno de los átomos de carbono ha sido sustituido por un átomo de nitrógeno. En diferentes compuestos se puede encontrar este heterociclo unido a otros heterociclos o anillos aromáticos, como es el caso de las benzoazepinas, benzodiazepinas, benzoazepinonas o las pirrolazepinonas (**Fig.12**).

Las azepinas han sido de interés farmacológico desde hace algunos años, debido a que la flexibilidad del anillo de siete miembros permite a los grupos funcionales localizados en el esqueleto de azepina colocarse en diferentes posiciones. Esto incrementa la posibilidad de formar puentes de hidrógeno y otro tipo de interacciones con un blanco biológico, que no sería posible formar con un anillo de cinco o seis miembros. [3]

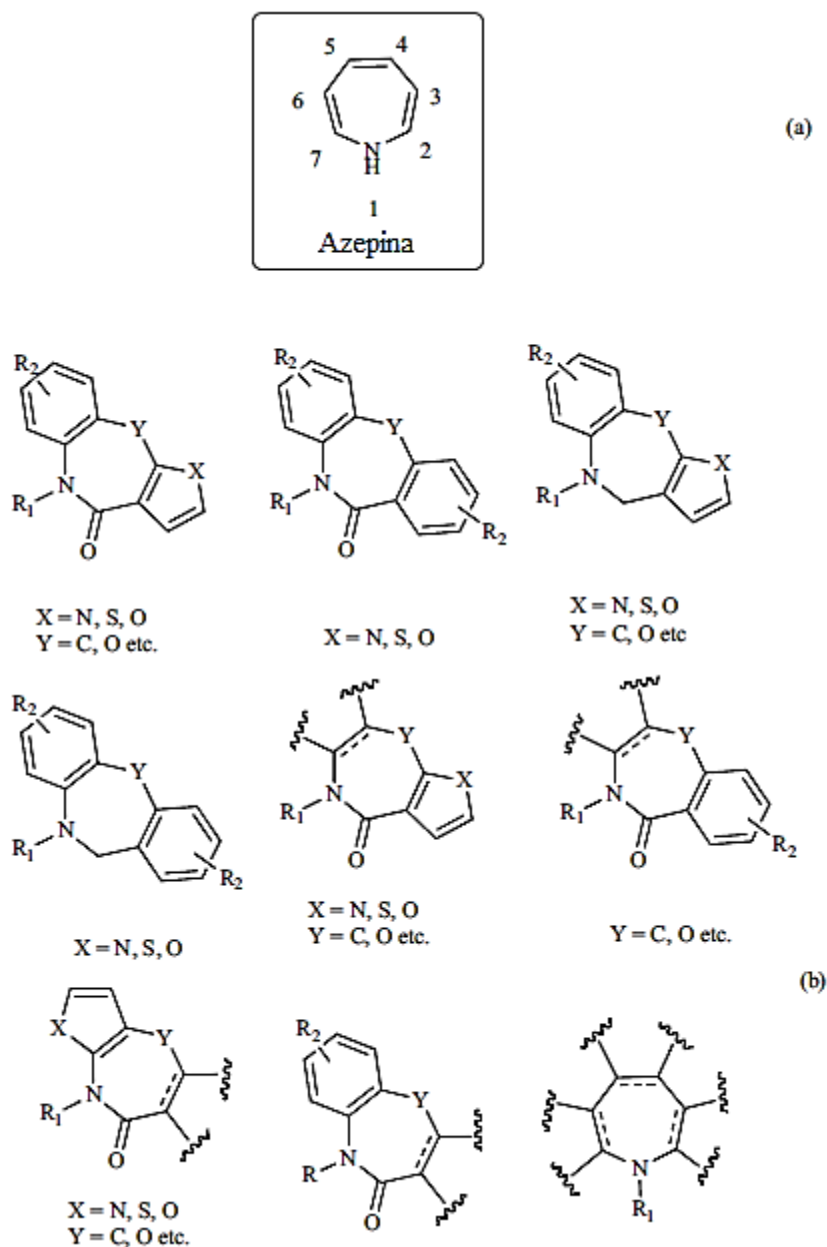


Fig. 12 a) Azepina b) Estructuras generales de análogos de azepina biológicamente activos. [3]

Este tipo de compuestos han presentado actividad como antimicrobiales [37], antivirales [38], anestésicos [39], antidepresivos, ansiolíticos [40] y antiepilépticos [41] entre otros. Sin embargo, los derivados de azepinas, especialmente las azepinonas, han destacado también por su potencial actividad como fármacos anticancerígenos (Fig. 13).

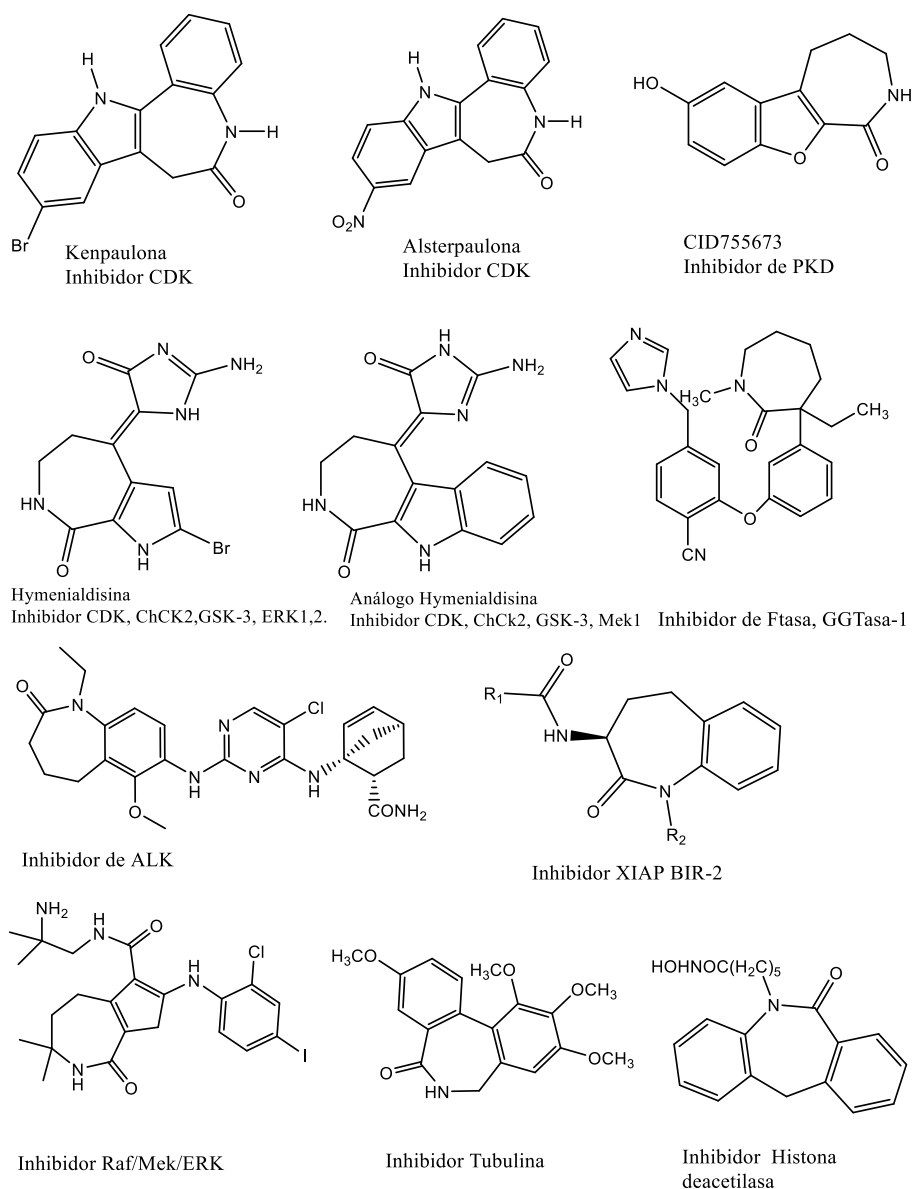


Fig. 13 Azepinonas con actividad anticancerígena.

Existen distintos mecanismos por los cuales las azepinonas combaten el cáncer, siendo el más importante y estudiado como inhibidores de CDK. Este tipo de compuestos actúan como competidores del ATP uniéndose al sitio catalítico en las cinasas (**Fig. 14**). Las azepinonas se unen al sitio de unión del ATP principalmente por interacciones hidrofóbicas y por puentes de hidrógeno con la cinasas. El grupo carbonilo y el grupo amino de la leucina 83 en las CDKs participan como aceptor y donador de enlaces-H respectivamente, mientras que el grupo carbonilo

del glutamato 81 participa como aceptor de enlaces-H (**Fig. 15**).^[42] Esta interacción se favorece en el caso de las azepinonas como la kenpaulona (**Fig. 13**) donde el grupo carbonilo y el grupo N-H en el anillo de azepina forman puentes de hidrógeno con el residuo Leu83 de las cinasas.^[43] De igual manera para las pirrolazepinonas como la hymenialdisina (**Fig.13**) el grupo N-H del indol junto con el carbonilo de la azepina forman puentes de hidrógeno con la Leu83 mientras que el grupo N-H de la azepina interacciona con Glu81.^[44]

Las azepinonas y sus derivados han demostrado ser valiosos agentes anticancerígenos no solo por inhibir enzimas CDK, sino también al ser inhibidores de otras proteínas cinasas, de tubulina, de Ras, de Ftasa, de GGtasa y de histona deacetilasa. También promueven la apoptosis y son moduladores hormonales.^[3] Es por ello que continuar la exploración de nuevas estructuras que contengan el anillo de azepinona es de gran interés para la química orgánica medicinal.



Fig. 14 a) Complejo de ciclina A (naranja), CDK-2 (morado) y ATP (verde)

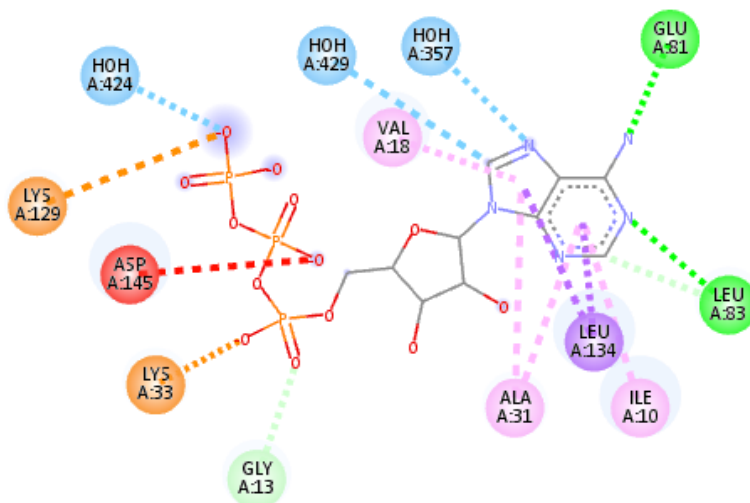


Fig. 15 Sitio activo de CDK-2 con ATP, puentes de hidrógeno con residuos GLU81 y LEU83 (verde). PDB:1FIN

2.5 Docking, modelado molecular

Los métodos computacionales aplicados al descubrimiento y a la síntesis de nuevos fármacos han tenido un reciente crecimiento, ya que han sido empleados para identificar y optimizar las partes activas de un fármaco, así como para estudiar el acoplamiento de diversas moléculas en el sitio activo de un receptor. El proceso de docking en las proteínas, hormonas o ácidos nucleicos tiene dos principales objetivos: el modelado estructural preciso y la predicción correcta de la actividad de un compuesto, lo cual implica la predicción acertada de la conformación y la orientación del ligando dentro de un sitio de unión específico.

El docking es un proceso de múltiples pasos en el cual cada paso introduce uno o más grados de complejidad. El proceso comienza con la aplicación de algoritmos de acoplamiento que introducen a las moléculas en el sitio activo (*posing*), debido a la gran cantidad de grados de libertad conformacional que presentan las moléculas, es necesario aplicar un muestreo de grados de libertad, que debe de contener la suficiente precisión, para identificar cuál es la conformación estructural de la molécula que se adapta mejor a la estructura del receptor y debe de ser lo suficientemente rápido para permitir la evaluación de miles de compuestos en un plazo de tiempo corto. Los algoritmos de acoplamiento se complementan con funciones de puntuación (*scoring*), que están diseñadas para predecir la actividad biológica de los compuestos evaluando las interacciones entre los compuestos y los sitios activos de las proteínas. Las primeras funciones

de puntuación evalúan cómo se ajusta el compuesto en cuanto a los cálculos de tamaño y complementariedad electrostática. Posteriormente los conformeros son reevaluados utilizando sistemas de puntuación más complejos (*ranking*). Se busca estimar la energía libre de unión de la forma más exacta posible, con un tratamiento mayor de las interacciones electrostáticas, de Van der Waals y la inclusión de al menos un efecto de solvatación o entrópico. [45]

Existen tres métodos diferentes para encontrar la pose de un ligante dependiendo del tipo de algoritmo utilizado: los métodos sistemáticos (construcción gradual, búsqueda conformacional, bases de datos), los métodos aleatorios o estocásticos (Monte Carlo, algoritmos genéticos, búsqueda tabú) y los métodos de simulación molecular (dinámica molecular, minimización de energía).

En los métodos sistemáticos los algoritmos de búsqueda conformacional utilizan una construcción progresiva del ligante en el sitio activo. Esto consiste en dividir el ligante en el núcleo y las cadenas laterales con enlaces rotatorios. El núcleo es colocado en el sitio activo, progresivamente se agregan las cadenas laterales y se evalúan los grados de libertad rotacional. En los métodos estocásticos los algoritmos operan realizando cambios aleatorios de conformación, traslación y rotación en los ligantes, por cada cambio se evalúa la energía del nuevo ligante, si esta solución es mejor, se evalúa con una función de probabilidad de Boltzman, si resulta ser un mínimo el nuevo ligante se acepta. Se repite este proceso hasta obtener el número de configuraciones deseadas. En los métodos de simulación molecular lo más común es utilizar dinámica molecular, esta consiste en resolver la segunda ley de Newton $F=ma$, donde F es la fuerza ejercida sobre una partícula, m es su masa y a su aceleración. La fuerza de cada átomo se calcula con los cambios de la energía potencial entre las diferentes posiciones. La integración de las ecuaciones de movimiento $F=m(d^2r/dt^2)$ da como resultado una trayectoria que describe las aceleraciones ($a=dV/dt$), velocidades ($v=dr/dt$) y posiciones de los átomos en función del tiempo.

En cuanto a las funciones de puntuación actualmente se utilizan tres tipos: las que se basan en campos de fuerza, las funciones empíricas y las funciones basadas en el conocimiento. Las funciones de puntuación utilizadas en los programas de docking asumen y simplifican las evaluaciones de los complejos que modelan, con el fin de disminuir costos y tiempo de cómputo,

es por ello que no describen por completo los fenómenos físicos que determinan el reconocimiento molecular. Por ejemplo, los acontecimientos de unión de los ligantes son impulsados por una combinación de efectos entrópicos y entálpicos, sin embargo, la mayoría de las funciones de puntuación actuales están mucho más enfocadas en calcular los efectos entálpicos y no los entrópicos.

Además de los problemas asociados con las funciones de puntuación, existen otras complicaciones que hacen que sea difícil predecir con exactitud las conformaciones más estables para la unión y la actividad del compuesto, éstas incluyen entre otras, la resolución limitada de los datos cristalográficos, la flexibilidad inherente de estos y la participación de moléculas de agua en las interacciones proteína-ligante.^[45,46] No obstante, el docking a partir de un cálculo rápido permite evaluar largas listas de compuestos y proponer hipótesis estructurales sobre como los ligantes interaccionan con un receptor biológico, ahorrando tiempo y dinero en la optimización de fármacos.^[47]

2.5.1 Docking en ADN

El estudio de los complejos ADN-ligante ofrece información del mecanismo de acción de los fármacos anticancerígenos, de las interacciones químicas de los carcinógenos que provocan los daños en el ADN y ayuda al diseño racional de nuevos fármacos.^[48]

Se han realizado un pequeño número de estudios de docking en ADN, sin embargo, la mayoría de los métodos de conexión existentes se parametrizan empleando los complejos proteína-ligando.^[48] Es importante en los estudios de docking con ADN, conocer el modo de unión de los ligantes (unión al surco o intercalación), debido a que en la mayoría de los softwares de docking el receptor (ADN) permanece rígido y solo el ligante es flexible. Los intercalantes generan una brecha en el ADN, por lo que si un ligante que es conocido como intercalante se evalúa en un receptor de ADN que no contiene una brecha se obtienen resultados erróneos.^[5,49]

El docking se ha utilizado para modelar al inhibidor de la topoisomerasa I, campotecina, en el complejo de ADN-topoisomerasa I. Esto con el fin de explicar las interacciones presentes y el mecanismo de inhibición de esta enzima. Para ello se utilizó un método de programación evolutiva y dinámica molecular AMBER6.^[50]

A partir del docking de cuádruplex de ADN se han logrado diseñar nuevas acridinas trisustituídas que funcionan inhibiendo a la enzima telomerasa. Utilizando el programa INSIGHT II se calcularon las energías de unión y se predijeron nuevos derivados de acridina selectivos con una potente actividad inhibitoria para la enzima telomerasa (**Fig. 16**).^[51]

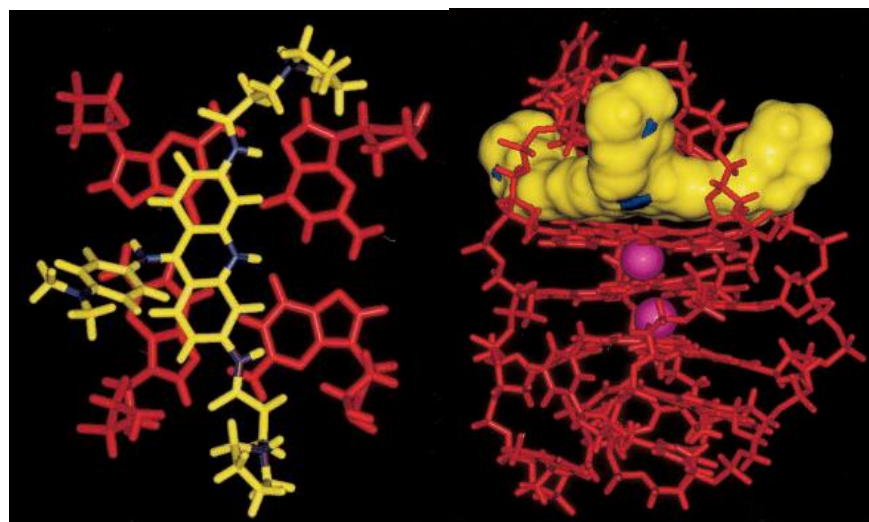


Fig. 16 Complejo de cuádruplex de ADN con Acridinas 3,6,9 trisustituídas.^[51]

Con el docking se han estudiado las interacciones que presentan híbridos de acridinas-porfirinas a modo de intercalantes en hebras de ADN.^[52] Utilizando el programa AUTODOCK se observó que los complejos de porfirina-acridina pueden interactuar con hebras de ADN por medio de surcos menores y por uniones intercalantes, la interacción se estabiliza por el anillo de porfirina unido al ADN a través del surco menor, asistido además por el grupo acridina del compuesto. (**Fig. 17**) El aspecto más importante de las interacciones intercalantes en las hebras de ADN es que las uniones al surco menor prefieren las regiones ricas en AT, mientras que las uniones por intercalación prefieren las regiones de la hebra rica en GC.

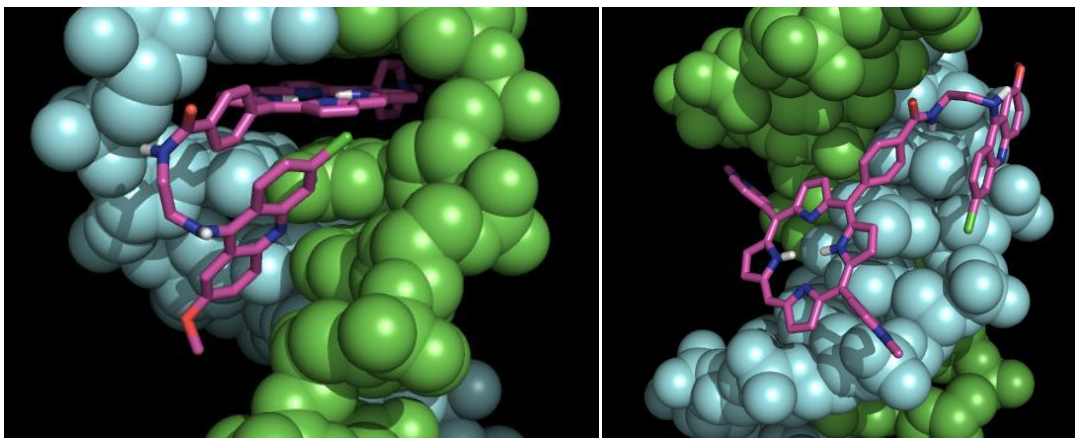


Fig. 17 Docking realizado para híbridos de acridinas-porfirinas con ADN.

Actualmente las simulaciones de docking en ácidos nucleicos se pueden realizar en distintos programas como lo son: AUTODOCK [5,48,49,53], MOE [54-56], GOLD [57], GLIDE [57], SURFLEX [53] y HEX [49,58]. En este trabajo se utilizarán los programas MOE y Molecular Forecaster para evaluar las interacciones ADN-ligante.

Molecular Operating Environment (MOE) [59] es un software desarrollado por Chemical Computing Group para el desarrollo de la química medicinal. En este programa se puede realizar docking de pequeñas moléculas en sitios de unión macromoleculares. Tiene disponible distintos algoritmos de posing, funciones de puntuación y campos de fuerza de mecánica molecular con los cuales se pueden realizar las simulaciones y obtener la energía de la pose de un ligante en el sitio de unión en kcal/mol.

El método en MOE de posing Triangle Matcher es un algoritmo semi-sistemático que genera las poses de los ligantes a partir de alinear tripletes de átomos del ligante con tripletes de esferas alfa que representan sitios de empaquetamiento en el sitio del receptor. La función de scoring London dG [60] estima la energía libre de la pose de un ligante en el sitio de unión tomando en cuenta las imperfecciones geométricas, la entropía rotacional y traslacional y la suma de las energías de la flexibilidad del ligante, de los enlaces de hidrógeno y de solvatación. Finalmente, la función de refinamiento GBVI/WSA [61] estima la energía de las poses de los ligantes considerando campos de fuerza, las energías electrostáticas, la energía de contribución del solvente, las fuerzas de van der Waals y el área de superficie expuesta.

Molecular Forecaster ^[62] es otro software desarrollado por Molecular Forecaster Inc en la Universidad de McGill, con el cuál es posible realizar docking flexible de pequeñas moléculas en proteínas y ADN con moléculas de agua removibles. Solamente cuenta con un algoritmo de posing evaluado por varias funciones de scoring, al final se obtiene la mejor pose calculada para el ligante y su energía de unión en kcal/mol.

Forecaster utiliza el programa FITTED 2.6^[63,64] para realizar el docking, éste es un método estocástico que consiste en una búsqueda de farmacóforos y un algoritmo genético Lamarckiano/Darwiniano. Este algoritmo genera aleatoriamente las poses de los ligantes y elige a los mejores, tomando en cuenta que los grupos funcionales reactivos en el ligante empalmen con los sitios reactivos en el receptor, aproximándolos a partir de esferas traslapadas. Toma en cuenta también la flexibilidad en las cadenas laterales de las proteínas, la torsión angular de los ligantes, el esqueleto de la proteína y las posiciones de las moléculas de agua describiéndolos como genes en un cromosoma. Este se optimiza y se calcula la energía potencial del complejo con los operadores de evolución utilizando los campos de fuerza AMBER/GAFF. Se seleccionan las mejores poses con la función de scoring Rankscore 5. ^[65] Esta función combina los términos de campos de fuerza (electrostáticos, de van der Waals, los enlaces de hidrógeno utilizando AMBER/GAFF), los términos de solvatación (con el método GB/SA ^[66]) y un término de la entropía del ligante. Este último considera los enlaces rotatorios dependiendo de su polaridad y entorno químico en la proteína.

Con base en la información recopilada, es posible decir que el docking es una herramienta útil para el diseño de nuevos fármacos anticancerígenos, del cual se puede hacer uso para mejorar la actividad biológica de moléculas con potencial farmacológico como lo son las benzoacridinas y las azepinas. Posteriormente se puede llevar a cabo la síntesis y evaluación biológica de los compuestos evaluados y propuestos como viablemente activos.

2.6 Síntesis y funcionalización de Benzoacridinas

Para llevar a cabo la síntesis de benzoacridinas existen varios métodos reportados. Los métodos lineales generalmente parten de la condensación de un ácido o-cloro benzoico con una naftilamina, para posteriormente ciclar el ácido naftilantracíclico obtenido con POC_l₃. ^[67,68] Sin

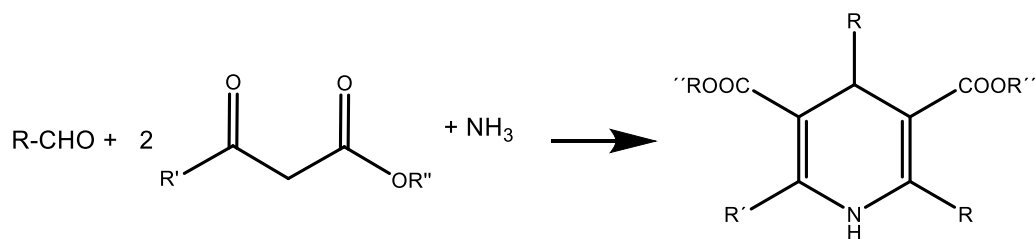
embargo, los métodos con reacciones multicomponente que utilizan condensaciones en un solo paso han tenido particular éxito en los últimos años.

2.6.1 Reacciones Multicomponente

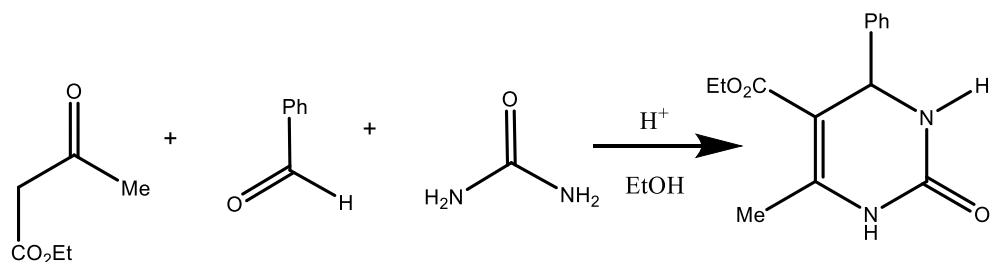
Las reacciones Multicomponente (RMC) son aquellas en que tres o más reactivos dan lugar a un nuevo producto en un solo paso de síntesis. Estas reacciones se pueden llevar a cabo en sólido o en disolución y con frecuencia se utilizan catalizadores que facilitan el acoplamiento de dos componentes durante la reacción. En este tipo de reacción los componentes pueden condensarse de manera concertada o por un mecanismo en diferentes etapas, lo importante es que el producto se obtenga en un solo paso. Los mecanismos suelen ser similares a los de reacciones de dos componentes. [69] En el caso ideal, las reacciones secundarias son equilibrios reversibles, mientras que solo la formación de los productos ocurre en un paso irreversible. Es por ello, que las RMC conducen a un producto con mayor rendimiento y pureza en comparación con las síntesis lineales. [70]

Las RMC son consideradas una estrategia superior de síntesis debido a que economizan tiempo, esfuerzo y reactivos. Son flexibles, atómicamente económicas, eficientes, selectivas y ecológicas. [71,72] Las RMC han sido utilizadas sobre todo para diseñar nuevas rutas de síntesis rápida de heterociclos. [73] Las RMC son una gran herramienta para generar bibliotecas de compuestos activos biológicamente, basadas en una estructura común, en teoría cualquier reactivo de la reacción puede ser variado independientemente de los otros, lo que genera compuestos con una diversidad proporcional al número y disponibilidad de los reactivos. [69,70]

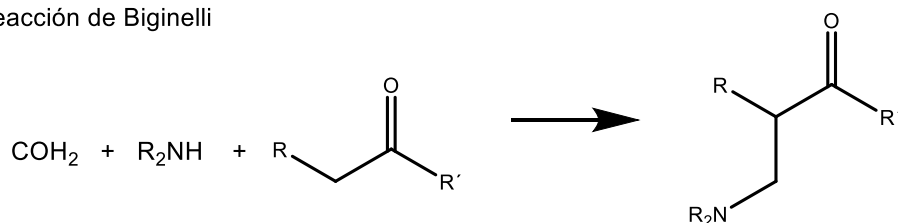
Algunos ejemplos de reacciones multicomponentes son: la reacción de Hantzsch [74] (4 componentes) que condensa un aldehído, dos β -cetoésteres y amoníaco para la síntesis de piridinas; la reacción de Biginelli [75] (3 componentes) que condensa un aldehído, un β -cetoéster y urea para la obtención de dihidropirimidonas; la reacción de Mannich [76] (3 componentes) que condensa un aldehído no enolizable, una amina y un carbonilo enolizable para compuestos aminometilados y la reacción de Ugi-Dömling [77] de 7 componentes, que combina la reacción de Asinger (3 componentes) con la reacción de Ugi (4 componentes) para formar tiorheterociclos **(Esq. 1)**.



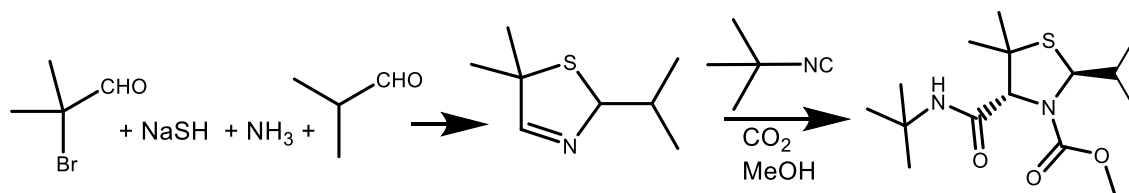
Reacción de Hantzsch



Reacción de Biginelli



Reacción de Mannich

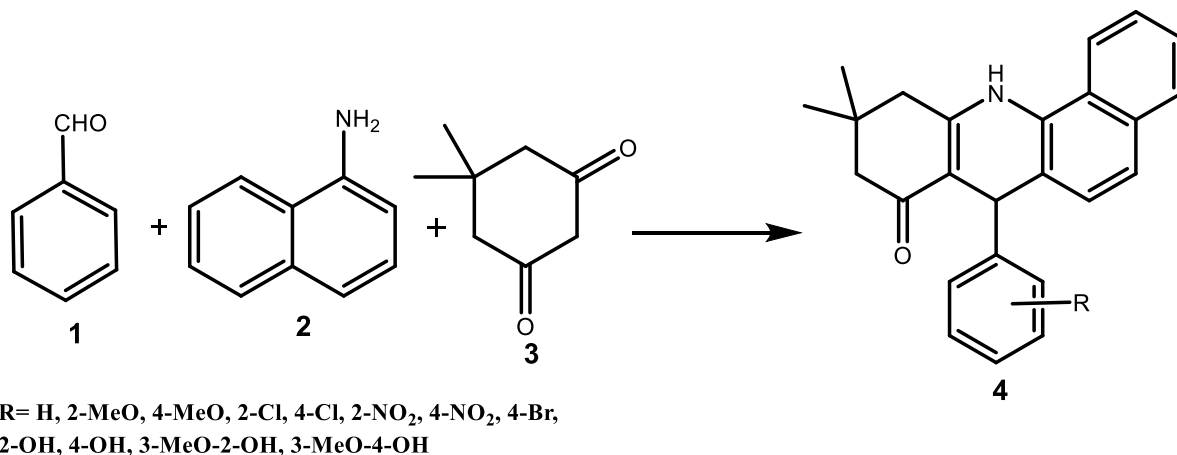


Reacción de Ugi-Dömling

Esquema 1. Ejemplos de Reacciones multicomponentes.

La construcción de benzoacridinas ha sido posible por medio de una RMC condensando dicetonas cíclicas, naftilaminas y un aldehído. ^[78-80] Más específicamente, para la síntesis de los derivados 7-aryl-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahydrobenzo[*c*]acridin-8(9*H*)-onas se reporta la condensación de 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona, 1-naftilamina y un aldehído en etanol o benceno calentando a reflujo (**Esq. 2**). ^[81] Esta reacción se ha optimizado al agregar catalizadores como L-prolina ^[71] o bien utilizando irradiación con microondas. ^[82]

Zang ^[83] y sus colaboradores reportaron la síntesis de estos compuestos, utilizando como catalizador cloruro de estaño dihidratado bajo irradiación de ondas ultrasónicas a temperatura ambiente, obteniendo muy buenos rendimientos y los menores tiempos de reacción.



Esquema 2. Síntesis de 7-aryl-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahydrobenzo[*c*]acridin-8(9*H*)-onas

2.6.2 Reacciones de aromatización en heterociclos

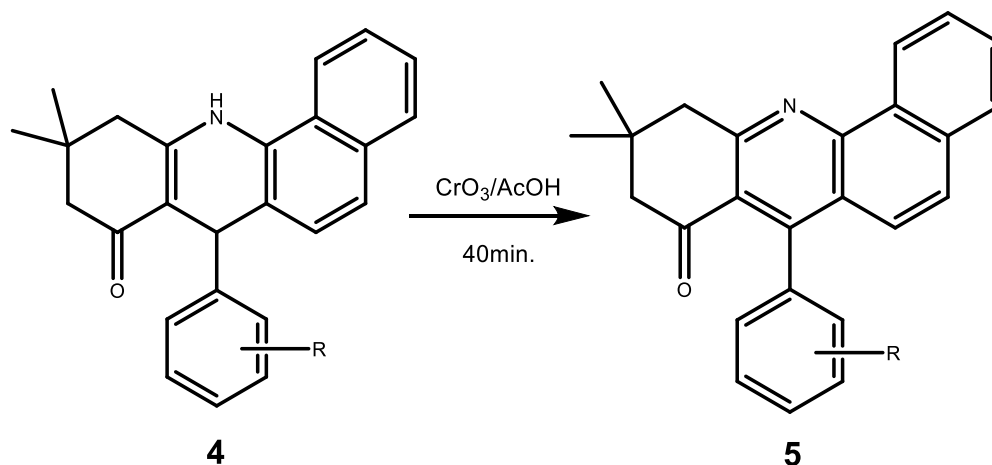
Las tetrahydrobenzo[*c*]acridinonas obtenidas (**4**) presentan la reactividad característica de compuestos similares como las 1,4-dihidropiridinas. Este tipo de compuestos son susceptibles a la aromatización llevando a cabo una oxidación en el heterociclo, para formar dihydrobenzo[*c*]acridinonas y obtener un sistema poliaromático.

Las reacciones de aromatización para derivados de 1,4-dihidropiridinas se han llevado a cabo bajo diferentes metodologías y variados agentes oxidantes (**Esq. 3**). Tales como perclorato férrico y ácido acético ^[84], oxígeno molecular en presencia de carbón activado ^[85], utilizando dióxido de magnesio y microondas a 100°C ^[86], con peroxomonosulfato de potasio (oxone) y catalizadores Mn(III)-salofen ^[87], utilizando peróxido de hidrógeno, urea y anhídrido maléico ^[88], con SiO₂/P₂O₅ y SeO₂ como agente oxidante a 40°C ^[89] y nitrato de guanidinio con silica sulfúrica ácida. ^[90]



Esquema 3. Oxidación de 1,4-dihidropiridinas

Específicamente para este tipo de compuestos **(4)** Cortés ^[81] y sus colaboradores reportan la reacción de oxidación de **4** para obtener 7-aryl-10,11-dihidro-10,10-dimetil-benzo[*c*]acridin-8(9*H*)-onas **(5)**, utilizando ácido acético y anhídrido crómico en agitación a temperatura ambiente **(Esq. 4)**. Guzak ^[91] y su grupo reportan la oxidación de benzofenantrolinas que son sistemas similares a las benzoacridinonas, con nitrito de sodio y ácido acético en agitación a temperatura ambiente.



R= H, 2-MeO, 4-MeO, 2-Cl, 4-Cl, 2-NO₂, 4-NO₂, 4-Br.

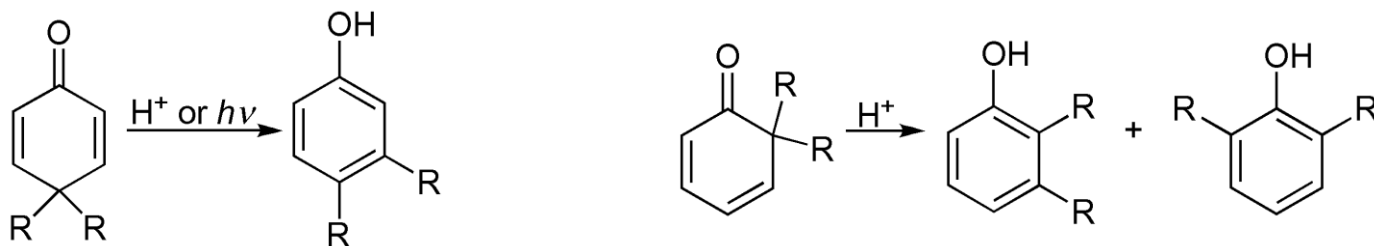
Esquema 4. Oxidación para obtener los compuestos 7-aryl-10,11-dihidro-10,10-dimetil-benzo[*c*]acridin-8(9*H*)-onas.

Esta reacción de aromatización en los compuestos estudiados puede ser relevante para incrementar su actividad como fármacos anticancerígenos. Se ha observado que los sistemas poliaromáticos al tener una mayor densidad electrónica y menor flexibilidad interaccionan mejor intercalándose al ADN. ^[2]

2.6.3 Reacomodo ciclohexanodiona-fenol

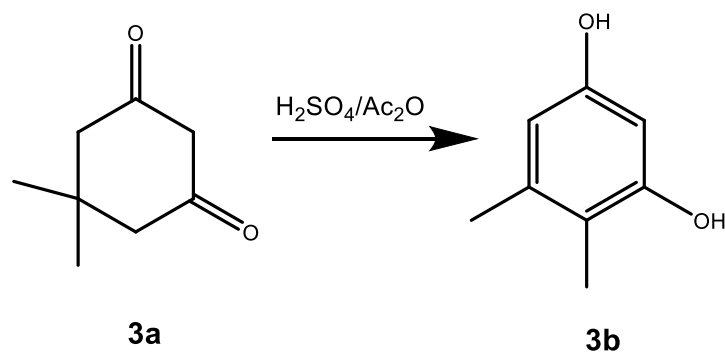
Continuando con la búsqueda de compuestos completamente aromáticos se propone aromatizar el último anillo alquílico, para lo cual es de gran utilidad el reacomodo de las ciclohexanodionas para obtener fenoles.

Al tratar las ciclohexanodionas con anhídrido acético y ácido (usualmente ácido sulfúrico o p-toluensulfónico) se obtienen los acetatos de fenol correspondientes a través de una migración [1,2], seguido de una hidrólisis básica o ácida se obtienen los fenoles (**Esq. 5**). El grupo que migra puede ser metilo, fenilo, ciclopentilo o ciclohexilo. Esta migración ocurre aun cuando las dienonas están fusionadas a un anillo de benceno.^[92] La fuerza motriz de esta reacción es la construcción de un anillo aromático en el producto.^[93] Dado que esta reacción ocurre vía un estado de transición con un carbocatión, la regioselectividad está controlada principalmente por factores electrónicos y no por los factores estéricos. El producto que se obtiene depende mecanísticamente de la estabilidad en el carbocatión final, por lo que se puede predecir el resultado evaluando la estabilidad relativa de los carbocationes que se forman en el reacomodo.^[94]



Esquema 5. Reacomodo dienona-fenol.

De manera similar a las dienonas, las ciclohexanodionas pueden ser aromatizadas para obtener dihidroxibencenos. En el caso de la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona a través de una migración [1,2] de metilo se puede obtener el producto 4,5-dimetil-1,3-dihidroxibenceno (**10**), esta reacción se puede llevar a cabo en anhídrido acético, atmósfera inerte y ácido sulfúrico a reflujo, seguido de una hidrólisis.^[95-98] Métodos más recientes reportan la obtención del 4,5-dimetilresorcinol (**10**) utilizando ácido sulfúrico y anhídrido trifluoroacético (TFAA) a reflujo^[99], o bien yodo y trimetilortoformiato (TMOF) en agitación a temperatura ambiente (**Esq. 6**).^[100]

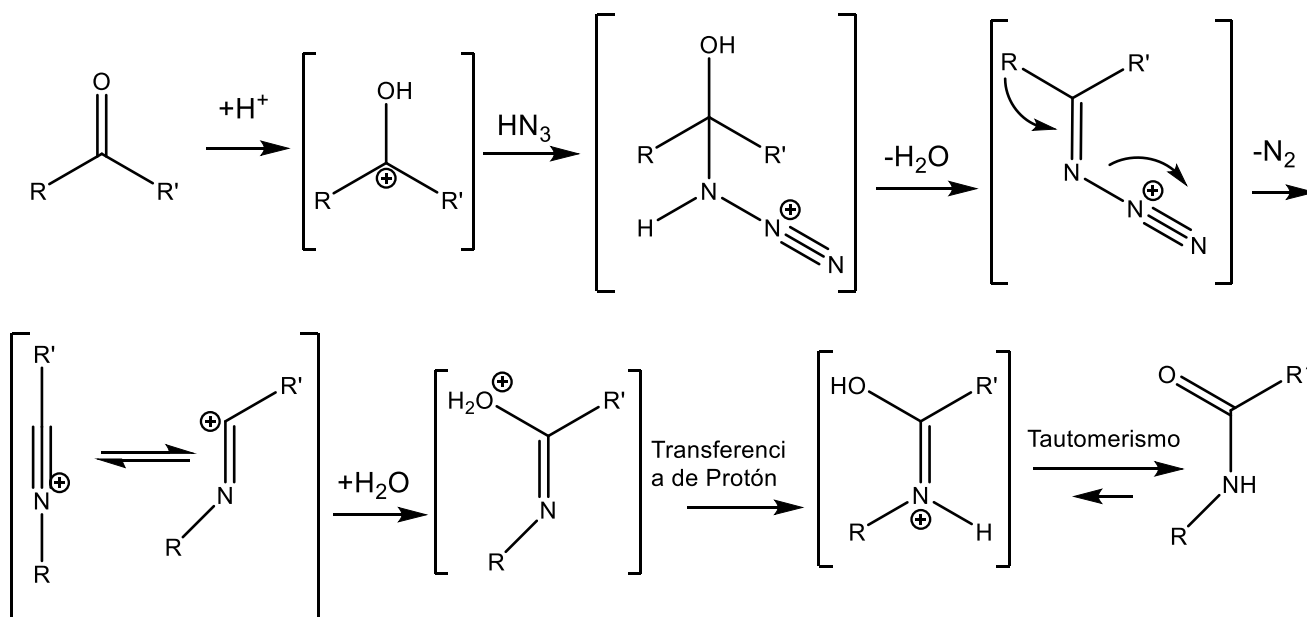


Esquema 6. Aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.

2.6.4 Síntesis de lactamas

Otra estrategia para funcionalizar un compuesto e incrementar los grupos farmacóforos, es por medio de una expansión en los anillos que adicione nuevos grupos funcionales. En el caso de los compuestos **4** esto es posible mediante la formación de una lactama en el anillo alquílico, esto permitiría la formación de nuevas interacciones con blancos biológicos como la CDK's. Para llevar a cabo la formación de lactamas a partir de una ciclohexanona, la reacción de Schmidt ^[101] y la transposición de Beckmann ^[102] son los protocolos más comunes y favorables.

La reacción de Schmidt involucra al ácido hidrazóico o bien una azida alquílica que reacciona con un electrófilo. Este electrófilo puede ser un ácido carboxílico para obtener aminas, un aldehído para obtener nitrilos y formamidas o bien una cetona para obtener amidas. Todas estas reacciones parten de una adición nucleofílica de la azida al electrófilo en cuestión. Normalmente es catalizada en medio ácido, dónde se forman los iones syn- y anti-iminodiazonio, seguido de un reacomodo dónde ocurre la migración del sustituyente anti-, todo esto promovido por la pérdida favorable de nitrógeno. ^[103] En el caso de la reacción de Schmidt para cetonas, con ácido hidrazóico el mecanismo involucra un paso intermediario donde ocurre una deshidratación. El resultado final del proceso en todos los casos es la inserción de un NH entre un carbonilo y un grupo R. ^[104] Con esta reacción se logra el corte de un enlace carbono-carbono y la formación de un enlace carbono-nitrógeno (**Esq. 7**).



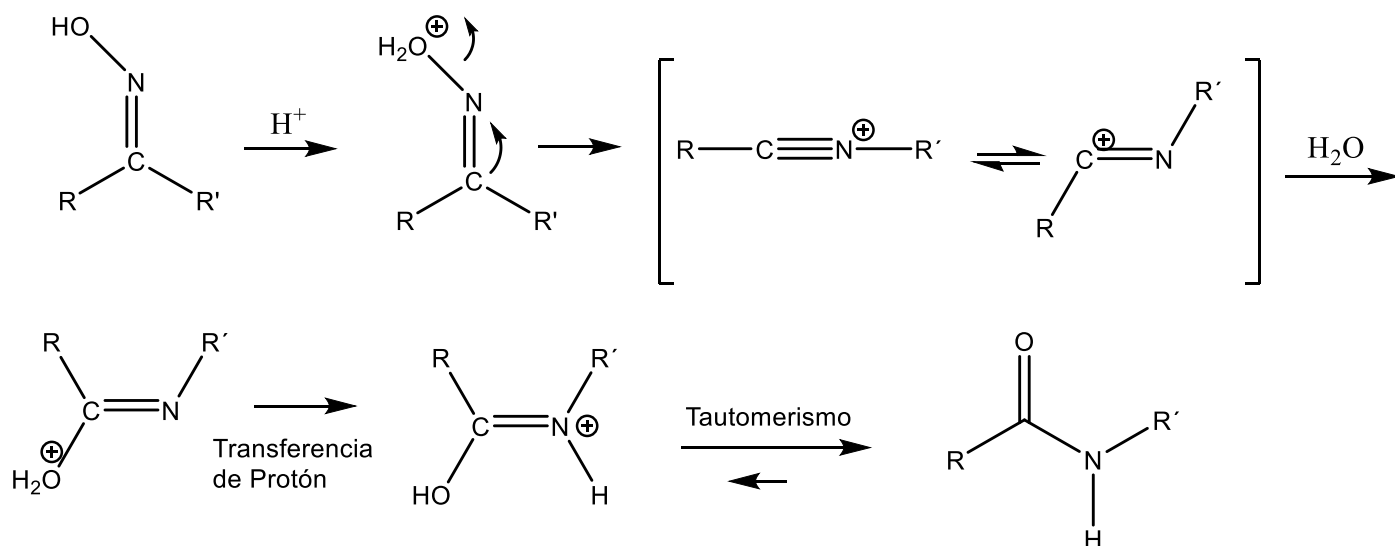
Esquema 7. Reacción de Schmidt para cetonas.

Las ventajas de este método con respecto a otros es que la transformación ocurre en un solo paso. Sin embargo, las condiciones son más drásticas ya que se requieren fuertes ácidos de Lewis o fuertes ácidos próticos. Cuando se utiliza un medio ácido no es posible aislar el isocianato. En algunos casos se presenta la reacción secundaria de formación del nitrilo, entre otras reacciones que pueden ocurrir con moléculas lábiles en ácido. ^[105]

Se ha observado que en cetonas asimétricas es posible obtener la mezcla de isómeros, aunque en cetonas alquílicas y arílicas, el grupo arilo es el que generalmente migra frente al nitrógeno, excepto cuando el grupo alquilo es voluminoso. Cuando esta reacción se lleva a cabo en cetonas cíclicas es posible obtener la lactama. ^[105] Esta reacción se ha llevado a cabo en presencia de manera clásica con azida de sodio y ácido sulfúrico, con ácido polifosfórico ^[106] y con TiCl_4 . ^[105] Otra variación utiliza *p*-toluensulfonato de piridinio, con trimetilsilil azida para formar el silil enol éter de la cetona cíclica y con luz UV fotoliza el producto para obtener la lactama. ^[107]

Con la transposición de Beckmann ^[102] es posible obtener amidas a partir de una cetona, cuando ésta es una cetona cíclica se obtiene una lactama de manera similar a la reacción de Schmidt. En primer lugar, debe construirse una oxima, para ello se utiliza hidroxilamina en presencia de una base. Posteriormente la oxima es tratada con un ácido de Lewis, un ácido prótico o anhídridos de ácido y a través de un reacomodo se obtiene una amida (**Esq.8**).

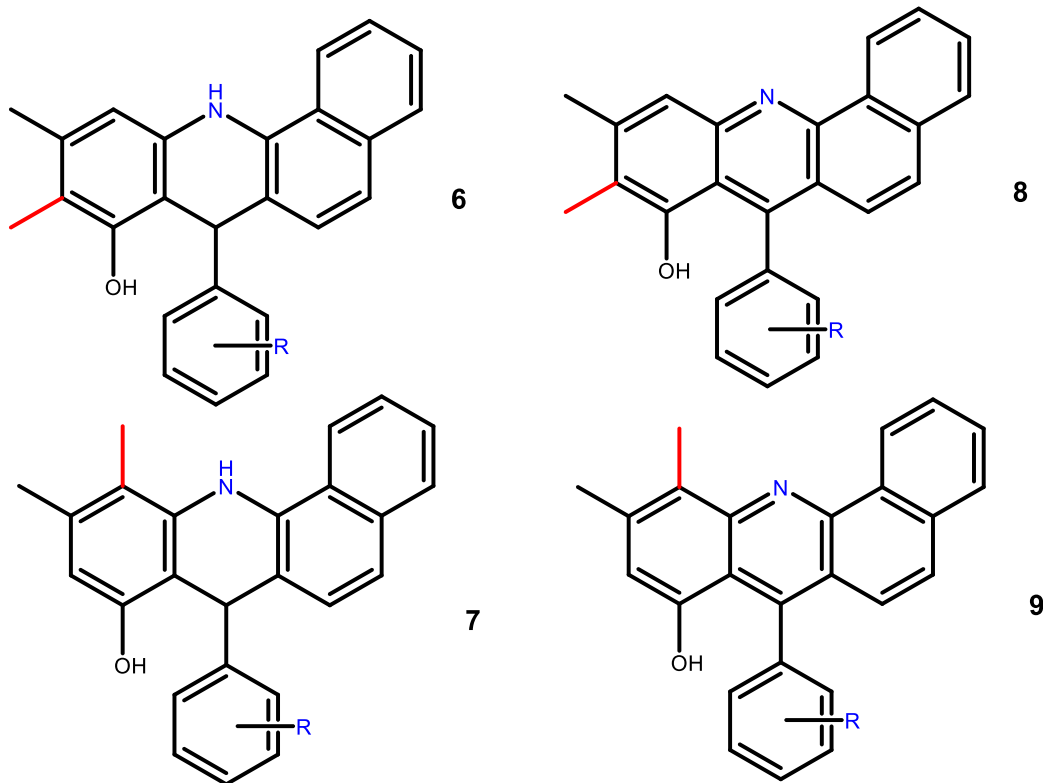
Para realizar esta reacción se han utilizado diferentes reactivos como PCl_5 , ácido sulfúrico, ácido fórmico, SOCl_2 , sílica gel, POCl_3 , BiCl_3 y ácido polifosfórico entre otros. En el caso de las cetonas cíclicas es posible convertirlas en lactamas en un solo paso utilizando $\text{NH}_2\text{OHSO}_2\text{OH}$ y ácido fórmico. Al igual que en la reacción de Schmidt para las cetonas alquílicas y arílicas, es generalmente el grupo arilo el que migra. ^[105]



Esquema 8. Transposición de Beckmann

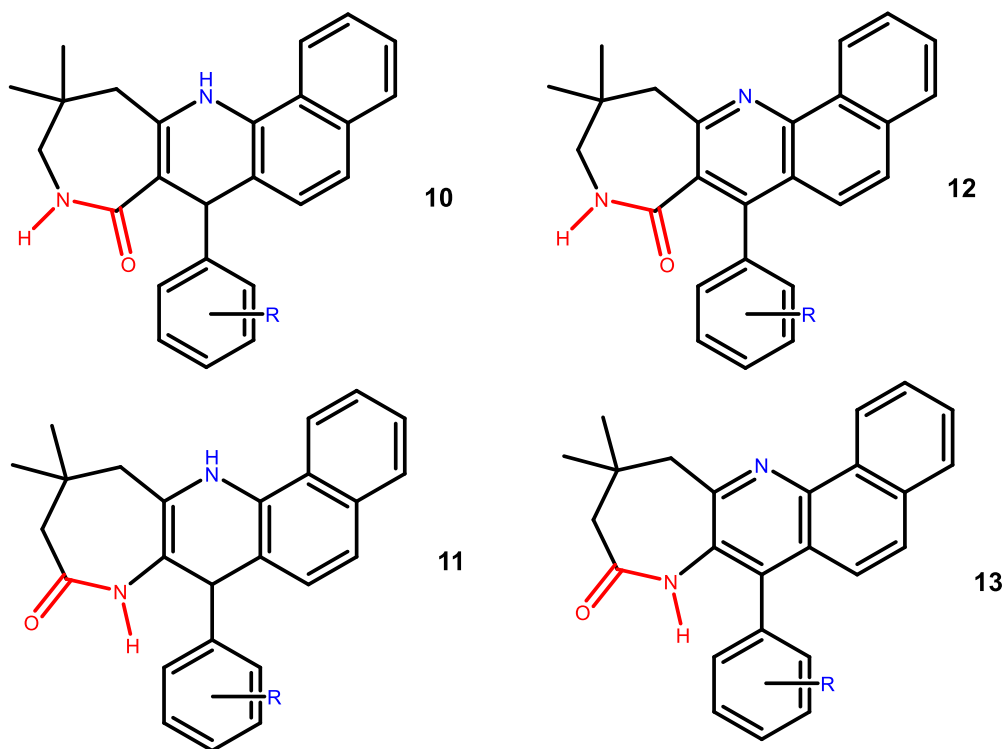
Ambas reacciones han sido utilizadas para la construcción de compuestos similares a **4** y **5**, como lo son las pirroloazepinonas y las benzoazepinonas. Para llevar a cabo esta síntesis se ha utilizado la reacción de Schmidt con trimetilsilil azida en ácido trifluoroacético^[108] y TMSN_3 en FeCl_3 .^[109] También se ha utilizado la transposición de Beckmann con NH_2OH y ácido clorhídrico seguido de acetato de sodio y ácido polifosfórico.^[110]

- 3) Explorar la reacción de aromatización de cetonas cíclicas para obtener los nuevos compuestos 7-(R-fenil)-9,10-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol (**6**), 7-(R-fenil)-10,11-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol (**7**), 7-(R-fenil)-9,10-dimetil-benz[*c*]acridin-8-ol (**8**) y 7-(R-fenil)-10,11-dimetil-benz[*c*]acridin-8-ol (**9**).



R= H, 2-Cl, 4-Cl, 2-OCH₃, 4-OCH₃, 2-NO₂, 4-NO₂, 2-OH, 4-OH, 2-OH(3-OCH₃), 4-OH(3-OCH₃).

- 4) Explorar la reacción Schmidt para llevar a cabo la construcción de lactamas y así obtener los nuevos compuestos 7-R-fenil-11,11-dimetil-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona (**10**), 7-(R-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9*H*-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona (**11**), 7-R-fenil-11,11-dimetil-9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona (**12**) y 7-R-fenil-11,11-dimetil-8,10,11,12-tetrahidro-9*H*-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona (**13**).



R= H, 2-Cl, 4-Cl, 2-OCH₃, 4-OCH₃, 2-NO₂, 4-NO₂, 2-OH, 4-OH, 2-OH(3-OCH₃), 4-OH(3-OCH₃).

3.3 Hipótesis

- 1) Los compuestos **4** y **5** tienen en su estructura una cetona cíclica que puede aromatizarse para formar los productos **6**, **7**, **8** y **9**. Un sistema coplanar extendido de anillos aromáticos unidos mejorará las interacciones con el ADN y por ende la actividad anticancerígena en estos compuestos.
- 2) Los compuestos **4** y **5** tienen en su estructura un anillo de 6 miembros que puede expandirse para formar una lactama y dar lugar a los compuestos **10**, **11**, **12** y **13**. Un sistema extendido de heterociclos unidos con grupos funcionales biológicamente activos en otros blancos biológicos como las azepinonas, incrementará la actividad anticancerígena en estos compuestos.

3.4 Estrategia sintética

La estrategia planteada para desarrollar este estudio fue dividida en 3 partes:

1. La funcionalización del compuesto inicial **4**.

2. El estudio de docking de los compuestos propuestos y la selección de aquellos con mayor posibilidad de actividad anticancerígena.
3. La exploración de las síntesis de los compuestos seleccionados.

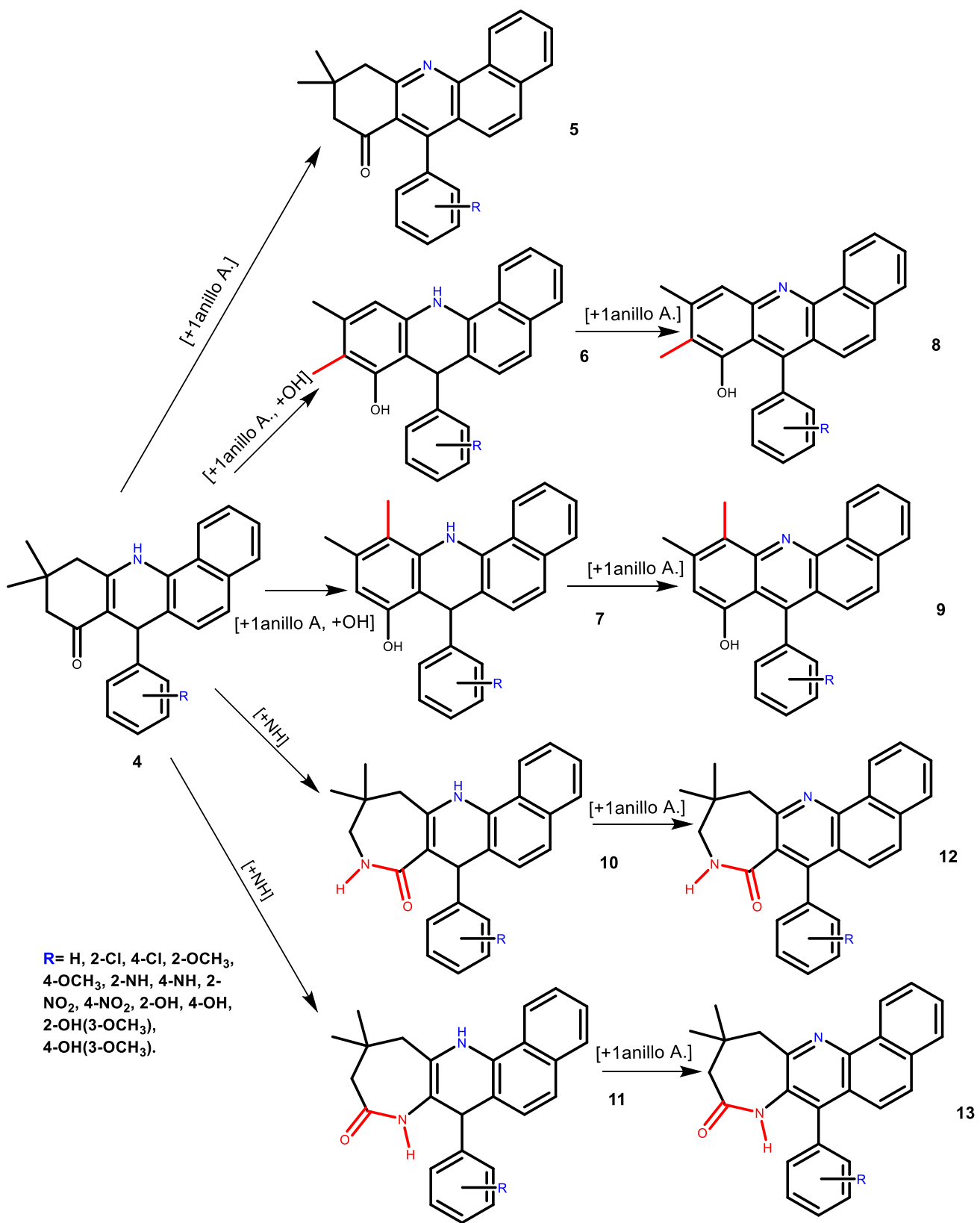
Parte 1.

Se seleccionó un compuesto inicial que cumpliera con las características necesarias para presentar actividad biológica. Esto quiere decir, que en su estructura estuvieran presentes grupos funcionales clave para las interacciones con enzimas y con el ADN. También se consideró que fuera una molécula de fácil obtención sintética y que fuera posible incrementar su actividad biológica al agregar nuevos grupos funcionales en su estructura. El compuesto **4** fue seleccionado como compuesto inicial. Este compuesto tiene un esqueleto de anillos alquílicos y aromáticos, tiene en su estructura una parte alquílica, y los grupos funcionales cetona y N-H del heterociclo. Además de un sustituyente fenilo que sale del esqueleto principal. Los anillos aromáticos en el esqueleto son importantes para intercalarse en el ADN, los sustituyentes laterales son importantes para la interacción con enzimas como las topoisomerasas y los grupos funcionales para interaccionar con otros blancos biológicos.

Partiendo de este compuesto se propusieron 3 modificaciones en su estructura que pudieran incrementar su actividad como fármaco anticancerígeno. La primera consiste en agregar grupos funcionales en el anillo sustituyente, de manera que pueda formar otro tipo de interacciones más allá de la parte central del esqueleto. La segunda consiste en aumentar la aromaticidad y planaridad del compuesto, aumentando el número de anillos aromáticos en el esqueleto de la molécula. Y la última consiste en utilizar el grupo cetona para dar lugar grupos funcionales más reactivos como alcoholes, aminas o amidas que incrementen las interacciones con el ADN o bien con otro tipo de enzimas como la CDK's. Se propusieron 9 compuestos. **(Esq. 9)**

Parte 2.

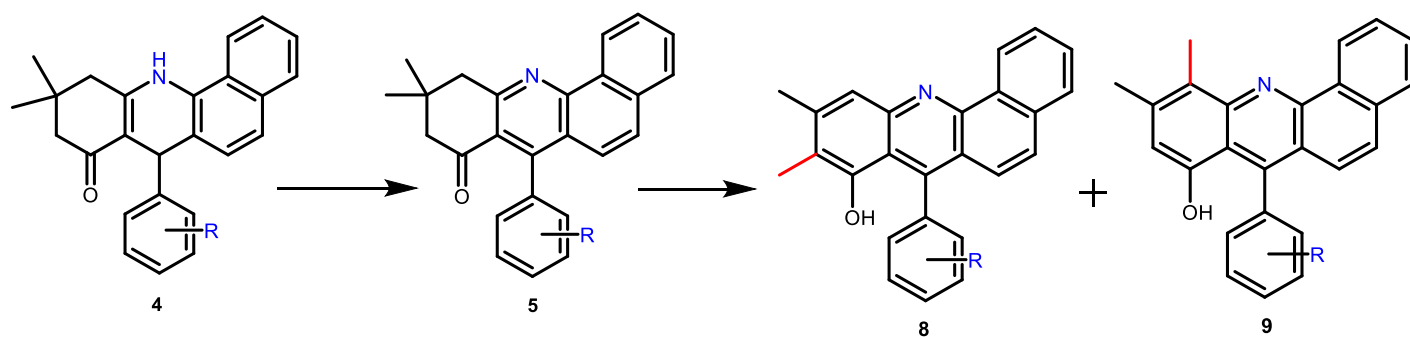
Consiste en la selección de los compuestos con mayor posibilidad de actividad anticancerígena a partir de las energías de unión y poses del ligante calculadas en los receptores elegidos durante el estudio de docking. Los receptores elegidos fueron ADN, la enzima topoisomerasa II y la enzima CDK-1.



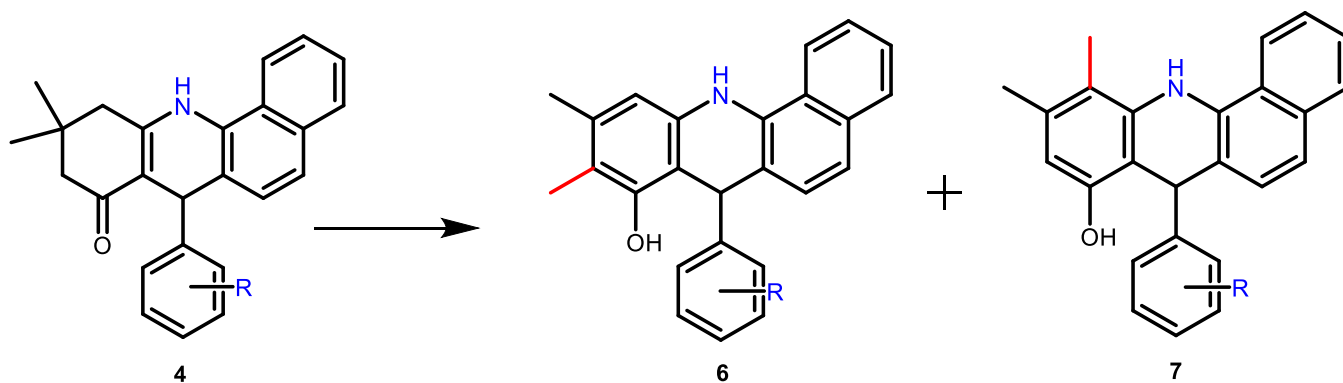
Esq.9 Funcionalización del compuesto 4 a partir de anillos aromáticos y grupos funcionales

Parte 3.

Se presentan las rutas sintéticas propuestas para obtener todos los compuestos, aunque la exploración sintética estará enfocada a aquellos compuestos que resultaron más prometedores en el análisis de docking.

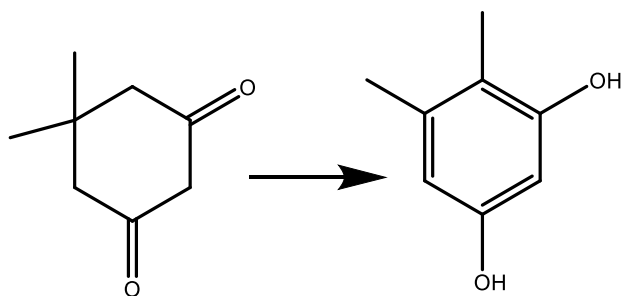


Esq. 10 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 8 y 9.



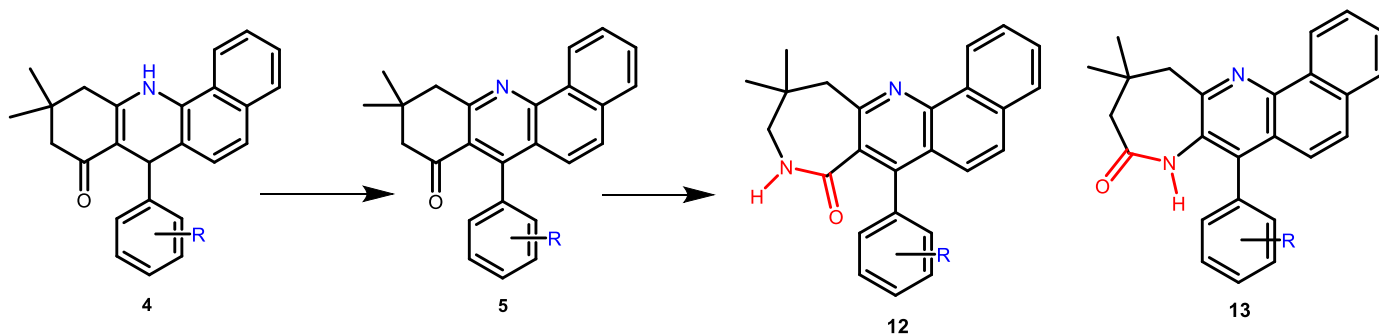
Esq. 11 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 6 y 7.

Partiendo de la materia prima 4 se puede obtener el compuesto 5 con una oxidación que aromatice el heterociclo central. A continuación, con una transposición [1,2] de metilo se propone obtener los isómeros 8 y 9 (**Esq.10**). Debido a que hay dos posiciones hacia las cuales puede ocurrir la migración del metilo, se deben estudiar si hay condiciones que nos permitan favorecer el regiocontrol. Se propone que a partir del compuesto 4, si se realiza la transposición directamente, se obtengan los isómeros 6 y 7 (**Esq. 11**). Para estudiar las condiciones en que se lleva a cabo esta transposición se pueden estudiar los intermediarios presentes en la reacción de aromatización de la 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (**Esq.6**).

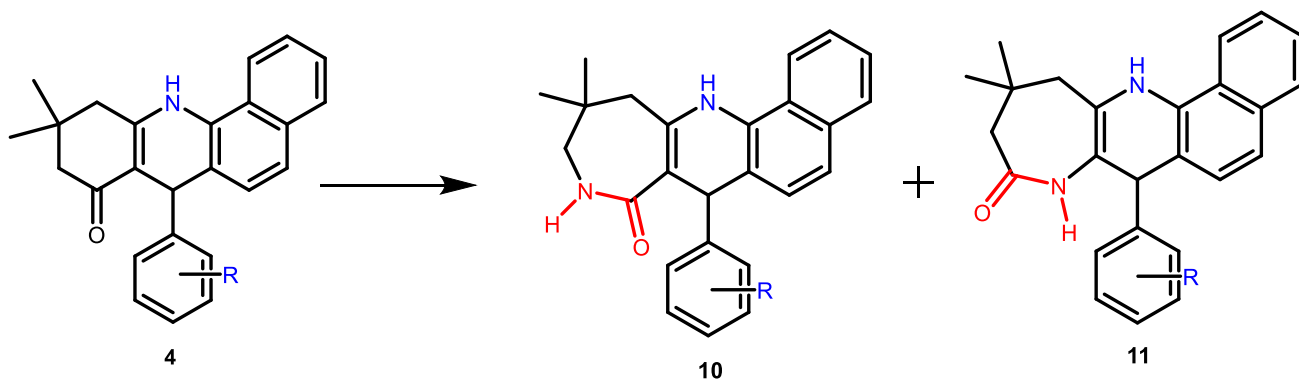


Esq. 6 Aromatización de 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona.

Nuevamente partiendo de la materia prima 4 se puede obtener el compuesto 5 con una oxidación que aromatice el heterociclo central. A continuación, con una reacción de Schmidt se propone expandir el anillo de la ciclohexanona para formar una lactama y obtener los isómeros 12 y 13. La reacción de Schmidt puede dar como resultado dos productos en diferentes proporciones por lo que es importante estudiar si hay condiciones que nos permitan favorecer el regiocontrol. Se propone que a partir del compuesto 4, si se realiza la expansión directamente, se obtengan los isómeros 10 y 11 (**Esq. 13**).



Esq. 12 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 12 y 13.



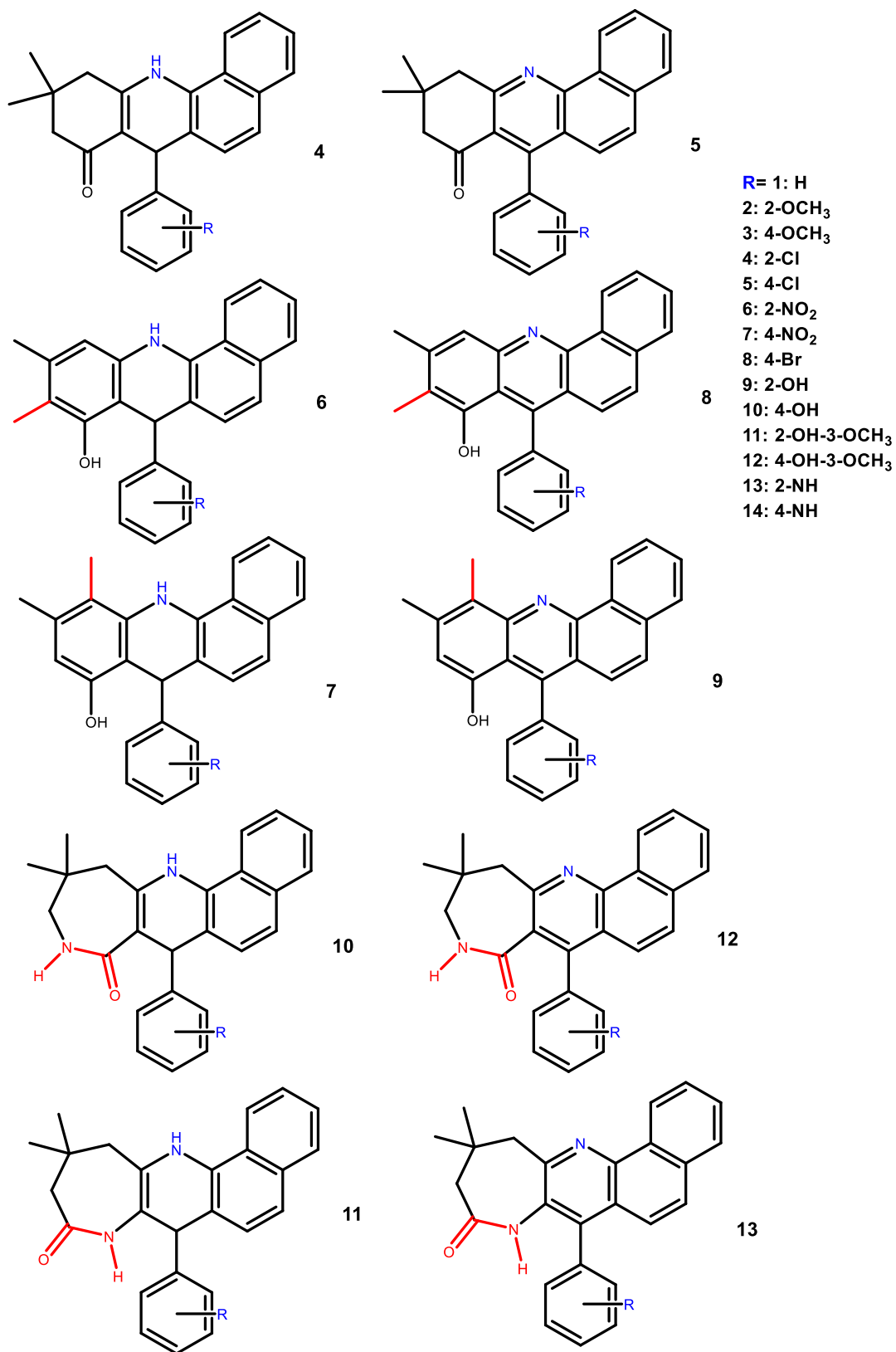
Esq. 13 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 10 y 11.

4. Resultados y discusión

4.1 Resultados del estudio de Docking

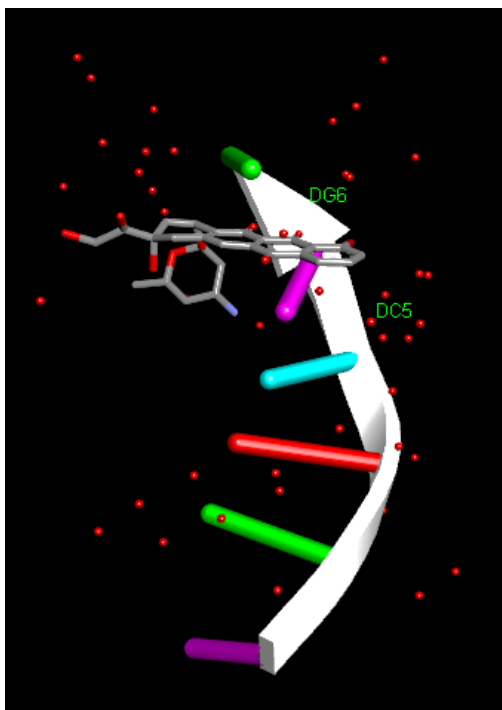
Utilizando el programa Molecular FORECASTER 2014 y el programa Molecular Operating Environment (MOE) 2015.1001 se realizó el docking de los compuestos **4-13** con sus diferentes sustituyentes (H, OCH₃, OH, Cl, NH, Br, NO₂, (OH)(3-OCH₃)) (**Esq.1**). Se analizó cuáles de estos 140 compuestos presentan una mayor afinidad al ADN, actuando como intercalantes, cuáles de ellos presentan interacciones con la enzima topoisomerasa II y cuáles de ellos podrían ser inhibidores de la enzima CDK-1. Para ello se utilizaron los archivos PDB 1D37, correspondiente a media hebra de ADN con un fármaco intercalante, el PDB 4G0U, correspondiente al complejo de la enzima humana topoisomerasa II con ADN y con el inhibidor amsacrina y el PDB 5HQ0 correspondiente al complejo de la enzima humana CDK1-ciclina B con un inhibidor.

Primeramente, se realizó el autodocking con el ligante específico de cada estructura cristalina estudiada en cada uno de los programas. El resultado obtenido se determinó como el 100% de afinidad y contra este valor fueron comparados los *scores* de los compuestos analizados. Posteriormente se analizaron las interacciones entre el receptor y cada uno de los ligantes utilizando el visualizador Discovery Studio 4.5. A continuación, se presentan los compuestos con mejores resultados de *score* para cada familia en cada una de las estructuras cristalinas analizadas, así como el análisis de las interacciones presentes en los sitios activos. Se explicarán los resultados para cada receptor con el programa que ofreció más información para cada caso.



Esquema 14. Estructuras en las cuales se realizó el docking.

1D37: Media hebra de ADN con un fármaco intercalante



En la **Tabla 1** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 1D37 utilizando el programa Molecular Forecaster. Resaltado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la hebra de ADN.

De manera general se identificaron los sustituyentes que mejoran la afinidad de los compuestos al ADN. Específicamente los grupos funcionales NO₂, OH, OCH₃ y NH₂, es decir, aquellos grupos que pueden formar interacciones por puente de hidrógeno. Por el contrario, valores bajos de afinidad se obtienen cuando no hay ningún sustituyente presente o cuando estos no pueden formar puentes de hidrógeno como es el caso de Cl y Br. Es también importante mencionar que con los sustituyentes en posición 2 se obtienen valores mayores de afinidad ya que los grupos que pueden formar puentes de hidrógeno se encuentran lo suficientemente cerca de las bases nitrogenadas.

Se observó que los compuestos con el anillo heterocíclico aromatizado (**5, 8, 9**) tienen una mejor afinidad al ADN. Sin embargo, para el caso de las azepinonas (**12,13**) esto no se cumple. Los compuestos derivados de 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**5**) y de

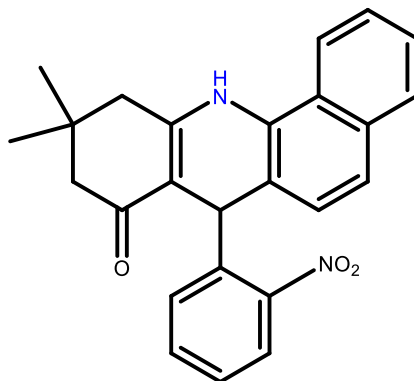
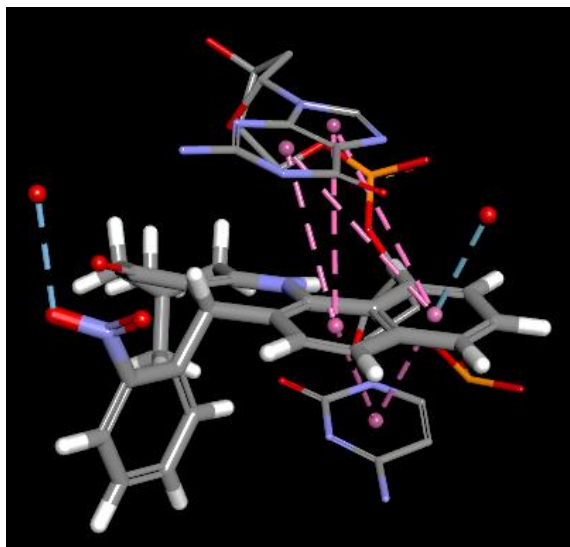
7-(R-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h]quinolin-9-ona (**11**) son los que presentan mayor afinidad y una menor energía de unión a la hebra de ADN.

Tabla 1. Resultados de docking en Molecular Forecaster para el PDB 1D37, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-23.091	100.00			
4.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-15.975	69.18	5.6 (2-NO₂)	-17.23	74.62
4.6 (2-NO₂)	-15.479	67.03	5.9 (2-OH)	-15.984	69.22
4.7 (4-NO₂)	-15.239	66.00	5.2 (2-OCH₃)	-15.705	68.01
6.10 (4-OH)	-15.395	66.67	8.6 (2-NO₂)	-17.094	74.03
6.3 (4-OCH₃)	-15.299	66.26	8.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-14.968	64.82
6.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-14.619	63.31	8.2 (2-OCH₃)	-14.925	64.64
7.14 (4-NH₂)	-14.45	62.58	9.6 (2-NO₂)	-15.952	69.08
7.6 (2-NO₂)	-13.443	58.22	9.7 (4-NO₂)	-14.381	62.28
7.3 (4-OCH₃)	-12.967	56.16	9.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-14.332	62.07
10.2 (2-OCH₃)	-15.667	67.85	12.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-15.64	67.73
10.7 (4-NO₂)	-14.065	60.91	12.2 (2-OCH₃)	-15.484	67.06
10.14 (4-NH₂)	-14.006	60.66	12.9 (2-OH)	-13.516	58.53
11.9 (2-OH)	-18.754	81.22	13.11 (2-OH)(3-OCH₃)	-15.838	68.59
11.6 (2-NO₂)	-16.924	73.29	13.2 (2-OCH₃)	-14.681	63.58
11.12 (4-OH)(3-OCH₃)	-14.961	64.79	13.13 (2-NH₂)	-14.191	61.46

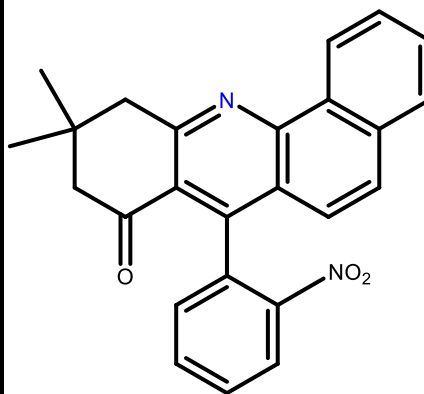
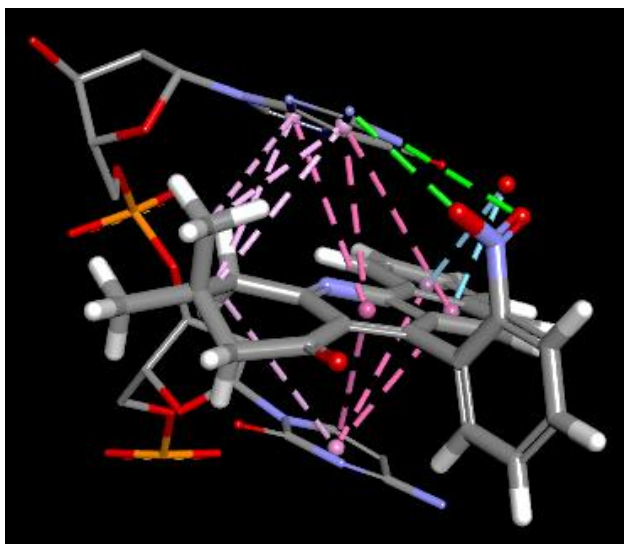
A continuación, se presenta el análisis detallado de los sitios activos y las interacciones del receptor 1D37 con los 10 compuestos con sustituyente 2-NO₂.

Compuesto 4.6 7-(2-NO₂-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



Este compuesto solamente presenta interacciones π - π (morado) entre los 2 anillos aromáticos del ligante y los anillos aromáticos de la guanina y la citosina, teniendo distancias entre 3.75 – 5.17 Å. Se observa al grupo NO₂ interaccionando con una molécula de H₂O cercana al sitio activo.

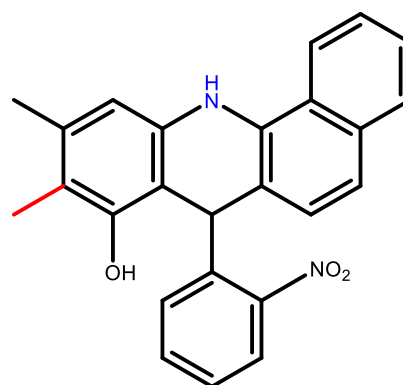
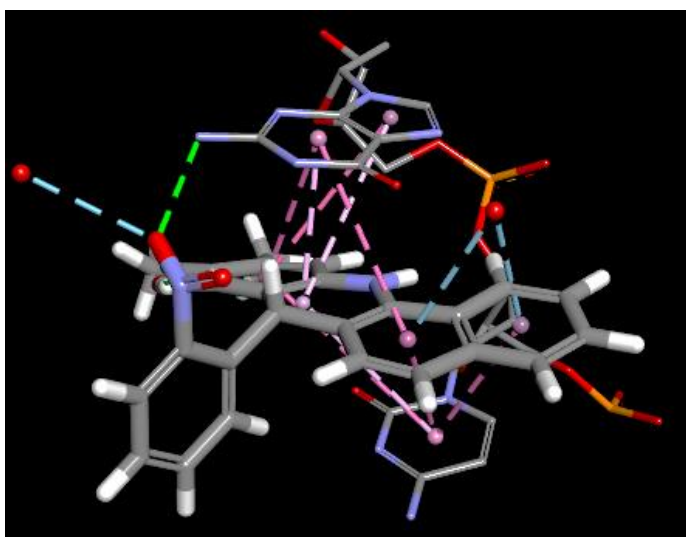
Compuesto 5.6 7-(2-NO₂-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



Este es el segundo compuesto que presentó una mejor afinidad en la hebra de ADN, presenta interacciones π - π (morado) entre los 3 anillos aromáticos del ligante y los anillos aromáticos de la guanina y la citosina, teniendo distancias entre 3.75 – 5.00 Å. Presenta también interacciones π -alquilo (lila) entre los metilos y metilenos del ciclo no aromático del ligante y los anillos

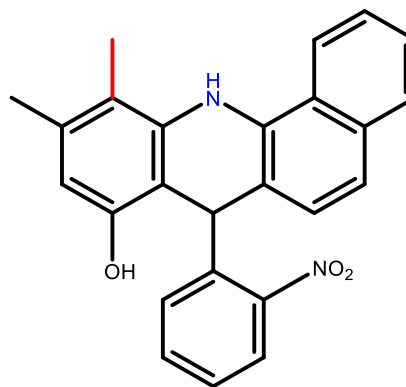
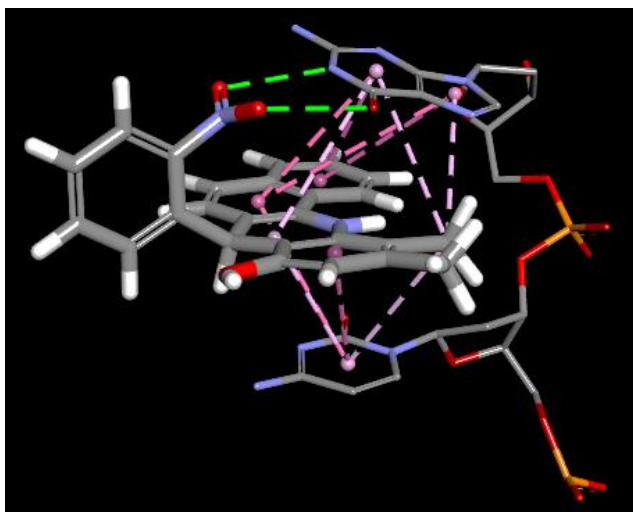
aromáticos de los nucleótidos, teniendo distancias entre 4.09- 5.42Å. A diferencia del compuesto anterior, en éste se observó una fuerte contribución de las interacciones de puente de hidrógeno NO-HN (verde) de 2.91 Å y 2.98 Å entre la guanina y el grupo NO₂ del ligante, estas son posibles gracias al ángulo de 180° del anillo sustituyente que acerca el grupo NO₂ a la guanina permitiendo esta interacción.

Compuesto 6.6 7-(2-NO₂-fenil)-9,10-dimetil-7,12-dihidrobenz[c]acridin-8-ol



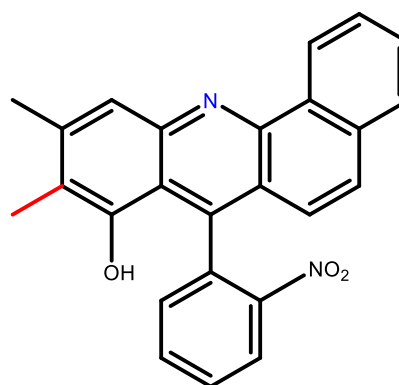
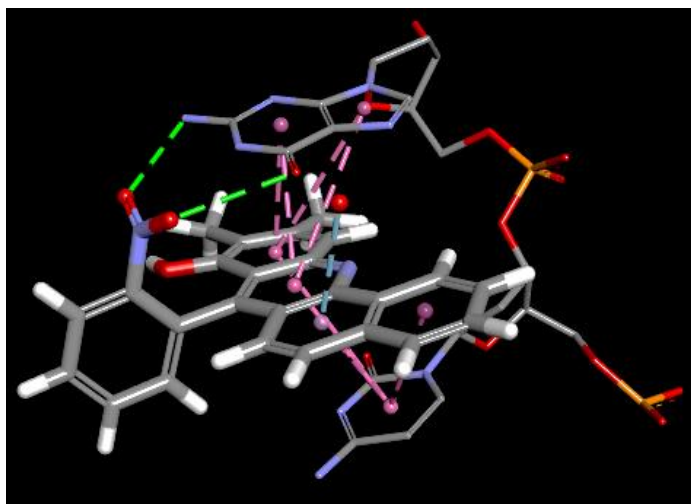
En este compuesto se observan las interacciones π - π (morado) de 3 anillos aromáticos de a 3.78-5.34 Å con la guanina y citosina. Sin embargo, la parte central del anillo heterocíclico solo presenta interacciones π -alquílicas (lila) de 3.63-4.46 Å, a pesar de tener un grupo NH capaz de formar interacciones por puente de hidrógeno, estas no se presentan. A diferencia de los compuestos 4, que tampoco tienen el anillo heterocíclico aromático, en estos compuestos si se observa que el grupo NO₂ forma un puente de hidrógeno (verde) de 3 Å, ya que el anillo lateral aromático fija la posición y el ángulo del sustituyente R-fenil suficientemente cerca para que se lleve a cabo la interacción. Sin embargo, solamente se forma 1 puente de hidrógeno, lo cual explicaría porque los compuestos 5 presentan una mejor afinidad con el ADN que los compuestos 6.

Compuesto 7.6 **7-(2-NO₂-fenil)-10,11-dimetil-7,12-dihidrobenzo[*c*]acridin-8-ol**



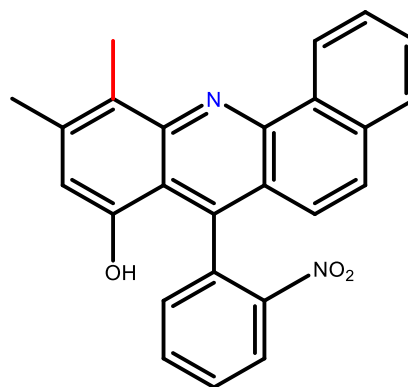
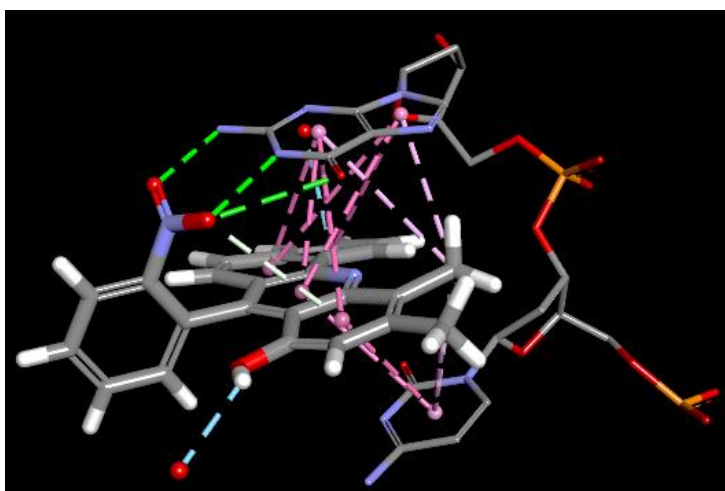
En este compuesto se observa que la parte central del anillo heterocíclico presenta interacciones π -alquílicas (lila) de 3.63-4.46 Å, el grupo NH no presenta ninguna interacción. Se observa al igual que en los compuestos 5, la formación de dos puentes de hidrógeno de 2.9 y 2.94 Å con el grupo NO₂ y la guanina. También están presentes las interacciones π - π (morado) de 3 anillos aromáticos de 4.02-5.69 Å con la guanina y citosina, éstas tienen una distancia mayor que las que presentan los compuestos 5 y 6, debido a que el espacio ocupado por el metilo en posición 11 aleja al intercalante del sitio activo. Este desplazamiento del intercalante, junto con la pérdida de la interacción π - π más corta en el heterociclo explicaría que el compuesto 5 tuviera una mejor afinidad al ADN.

Compuesto 8.6 **9,10-dimetil-7-(2-NO₂-fenil)- benzo[*c*]acridin-8-ol**



Éste es el compuesto que tuvo la tercera mejor afinidad en la hebra de ADN, presenta interacciones π - π (morado) entre los 4 anillos aromáticos del ligante y los anillos aromáticos de la guanina y la citosina, teniendo distancias entre 3.68 – 4.98 Å. No presenta ninguna interacción π -alquilo, esto debido a que los metilos se encuentran coplanares a los anillos aromáticos y quedan muy alejados de los pares de bases. Se observó una fuerte contribución de las interacciones de puente de hidrógeno NO-HN (verde) de 3.02 Å y 3.09 Å entre la guanina y el grupo NO₂ del ligante. Se esperaría que este compuesto al tener más interacciones π - π tuviera una mejor afinidad por el ADN, sin embargo, se observa que justamente es por la presencia de estas interacciones a lo largo de toda la molécula, que el anillo sustituyente y el grupo NO₂ se desplazan del centro de la guanina, lo que lleva a interacciones de puente de hidrógeno más alejadas. Esto en cambio no ocurre en los compuestos 5, donde la primera interacción π - π se da en el heterociclo que es colocado justo en el centro de la guanina, por lo que se acorta la distancia de las interacciones por puente de hidrógeno.

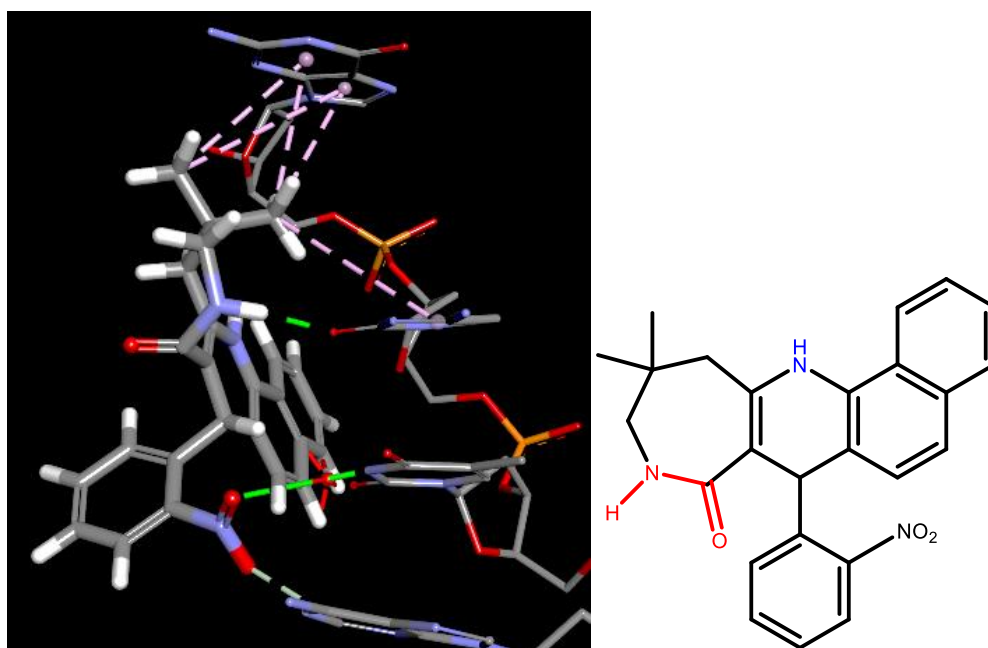
Compuesto 9.6 10,11-dimetil-7-(2-NO₂-fenil)- benzo[*c*]acridin-8-ol



Este compuesto presenta interacciones π - π (morado) entre los 4 anillos aromáticos del ligante y los anillos aromáticos de la guanina y la citosina, teniendo distancias entre 3.88 – 5.37 Å, de nuevo se observa que estas interacciones están más separadas por la presencia del metilo en posición 11. De hecho, este metilo se encuentra suficientemente cerca de las bases nitrogenadas de manera que presenta también interacciones π -alquilo, aun cuando los metilos se encuentran coplanares a los anillos aromáticos, los átomos se encuentran separados entre 3.86 y 4.79 Å. Se

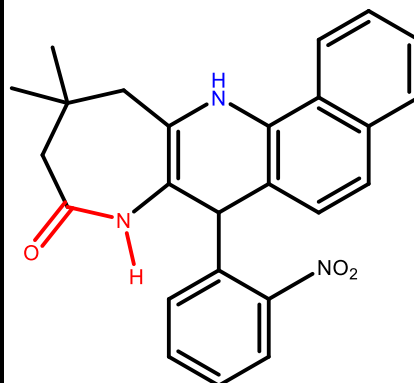
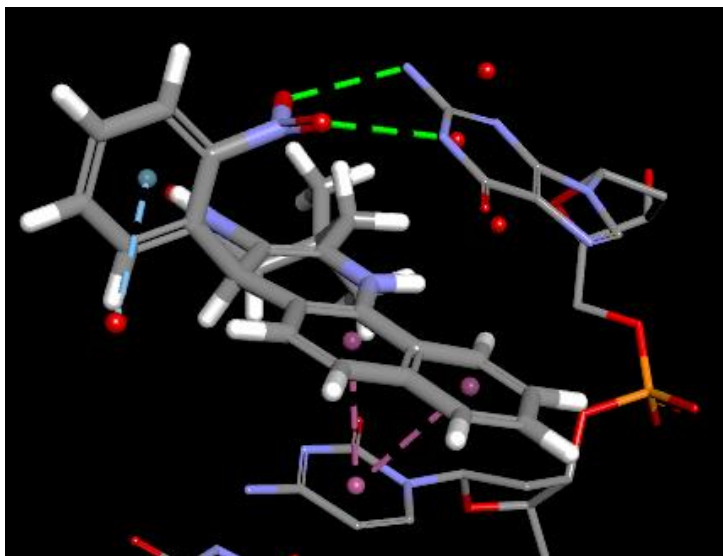
observó de forma similar al compuesto 5 una fuerte contribución de las interacciones por puente de hidrógeno (verde) de 3.00, 3.24 y 2.95 Å entre la guanina y el grupo NO₂ del ligante, pero estas interacciones se encuentran más distanciadas por la posición del metilo, lo que explica que el compuesto 5 presente una mejor afinidad.

Compuesto 10.6 11,11-dimetil-7-(2-NO₂-fenil)-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



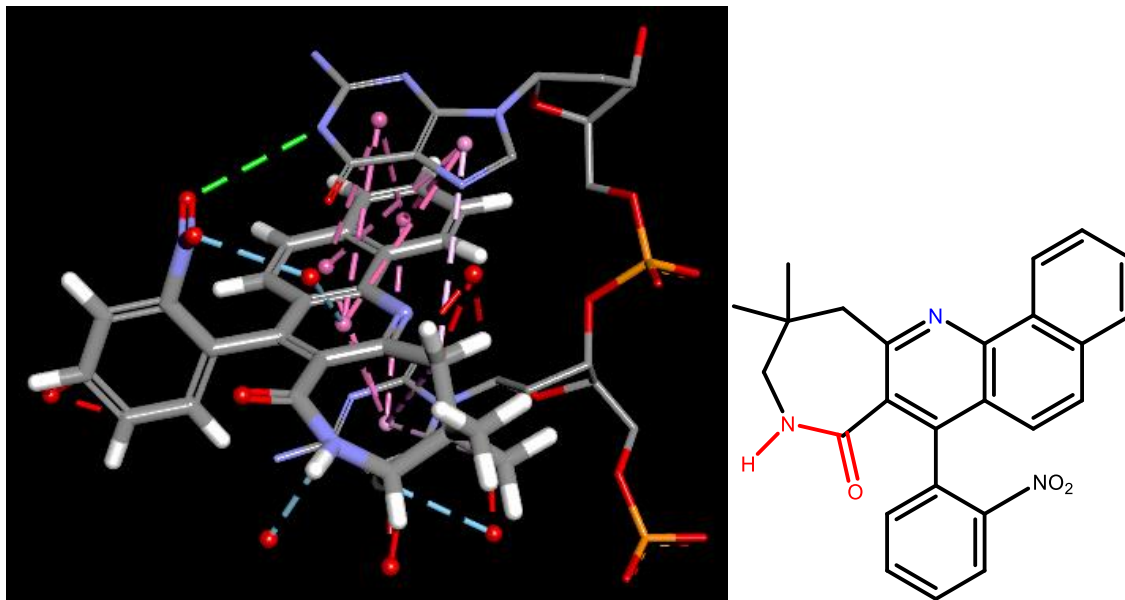
Como se puede observar, este tipo de compuestos no se intercala en el ADN, la molécula se coloca de forma lateral presentando interacciones π -alquílicas y de puente de hidrógeno. Es posible que al solamente contar con dos anillos aromáticos estos no ofrezcan suficientes interacciones π - π para colocar a la molécula entre los pares de bases. Si bien hubo compuestos de esta familia que sí se intercalaron, la mayoría encontró una mejor energía al colocarse lateralmente. Un comportamiento similar se observa en algunos compuestos 4, lo cual coincide con que sean compuestos con pocos anillos aromáticos.

Compuesto 11.6 7-(2-NO₂-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona



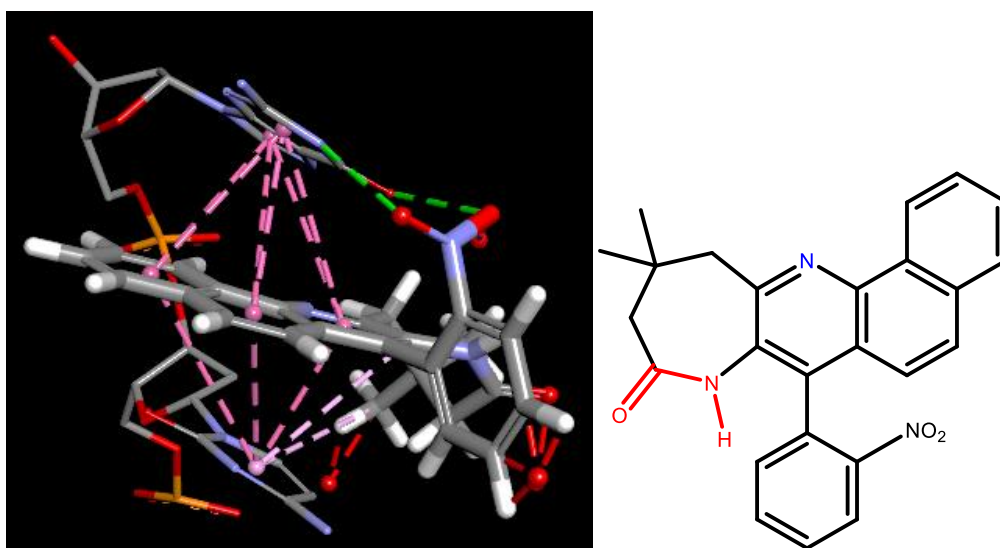
En este compuesto se observan solamente dos interacciones π - π (morado) de 3.88 y 3.94Å y dos interacciones de puente de hidrógeno (verde) de 2.94Å. Este tipo de compuestos, como por ejemplo el 11.9, también presenta enlaces de puente de hidrógeno muy cortos (2.1 Å) con la citosina inferior y el NH del heterociclo central, así como interacciones con el H₂O en la parte del anillo de la lactama. Esta familia de compuestos presentó las mejores afinidades al ADN, si bien esto puede deberse a la afinidad que presenta con las aguas presentes en el sitio activo y no tanto por sus interacciones con el ADN. Esto puede ser benéfico para aumentar la solubilidad del producto en medio acuoso y que el transporte en la célula sea más eficiente, pero no tan favorable para permanecer en el sitio activo.

Compuesto 12.6 11,11-dimetil-7(2-NO₂-fenil)-9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



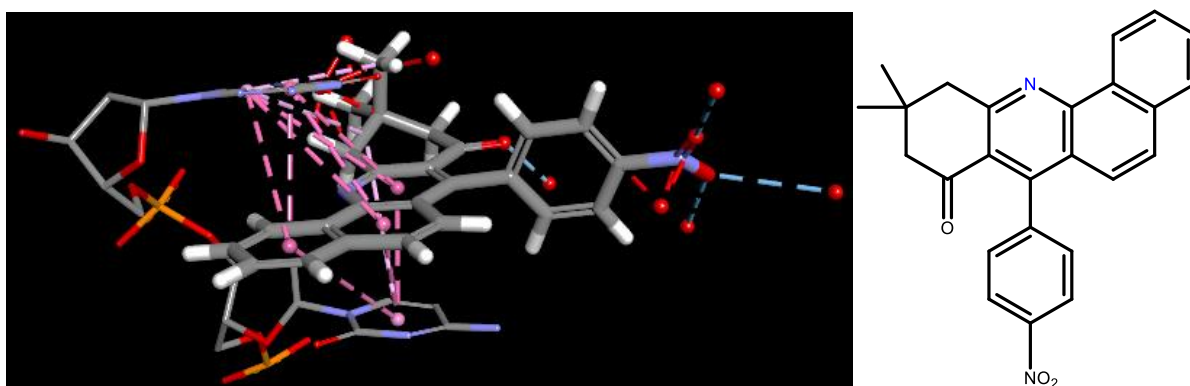
En este compuesto se observan las interacciones π - π de los tres anillos aromáticos con las bases nitrogenadas de 3.68-4.83 Å. Se observa también un puente de hidrógeno con el grupo NO₂ de 3.37 Å. Hay también la participación de las interacciones π -alquílicas entre los metilos y las bases nitrogenadas de 4.93-5.05 Å. El anillo de la lactama presenta interacciones con el H₂O (azul). Los compuestos de esta familia se colocan al revés de los anteriores, dejando en la abertura mayor el anillo de la lactama, lo cual se refleja en las distancias mayores de las interacciones importantes como el puente de hidrógeno, esto explicaría porque obtienen bajas afinidades con el ADN.

Compuesto 13.6 11,11-dimetil-7-(2-NO₂-fenil)-8,10,11,12-tetrahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h]quinolin-9-ona



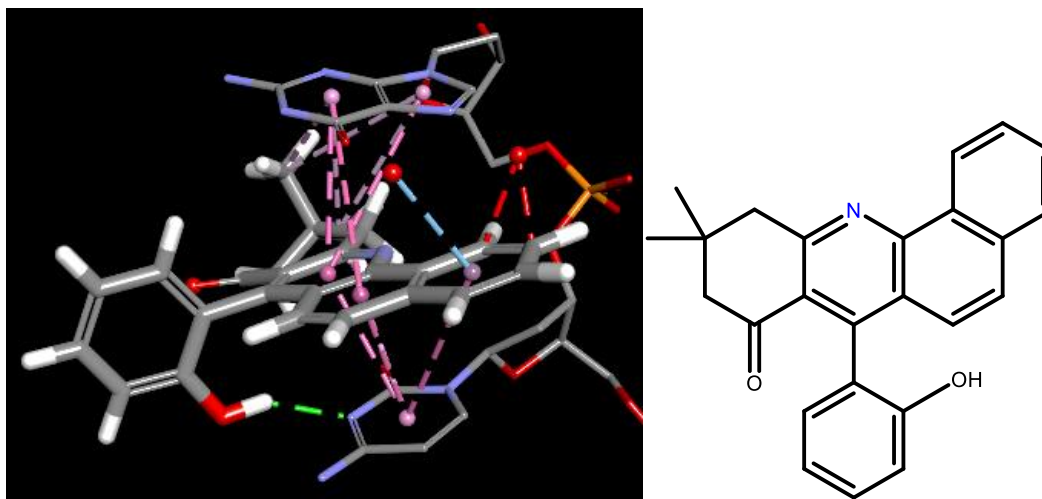
Los compuestos 12 y 13 tienen afinidades muy similares. En estos compuestos se observan las interacciones π - π de los 3 anillos aromáticos con las bases nitrogenadas de 3.67-4.94 Å. Hay dos puentes de hidrógeno con el grupo NO₂ de 2.98 y 3.03 Å. Hay también interacciones π -alquílicas entre los metilos y las bases nitrogenadas de 4.60-4.73 Å. Al igual que los compuestos 12, los compuestos de esta familia se colocan al revés, dejando en la abertura mayor el anillo de la lactama, lo cual se refleja en las distancias mayores de las interacciones importantes como el puente de hidrógeno.

Compuesto 5.7 7-(4-NO₂-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9H)-ona



Es importante resaltar que cuando el sustituyente se encuentra en la posición 4, no es posible que interaccione con las bases nitrogenadas para formar puentes de hidrógeno.

Compuesto 5.9 7-(2-OH-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



Es también importante mencionar que dependiendo el sustituyente serán los puentes de hidrógeno que se formen. En el caso de los sustituyentes NO₂ y OCH₃, forman 1 o 2 puentes de hidrógeno con los NH de la guanina. En cambio, los sustituyentes OH, NH₂ y 2-OH(3-OCH₃) forman puentes de hidrógeno con el N o el C=O de la citosina.

En la **Tabla 2** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 1D37 utilizando el programa MOE. Resultado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la hebra de ADN.

Los valores de score obtenidos en diferentes programas no son comparables debido a que cada programa utiliza diferentes algoritmos y métodos para calcularlos. En cuanto a las poses de los ligantes en el sitio activo, no hay mucha similitud entre los dos programas. Por otro lado, los resultados de afinidad si lo son y tanto en MOE como en el programa Forecaster coinciden que las mejores afinidades se obtienen con los compuestos derivados de 7-(*R*-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**5**).

En ambos programas también coincide que los compuestos con pocos anillos aromáticos como los compuestos **4**, **7** y **10** se coloquen no entre los pares de bases, sino a lo largo de la cadena de ADN. Esto nos ofrece gran información con respecto a cuáles deben ser las características de un fármaco intercalante, con solamente dos anillos unidos y aun cuando sean 3 anillos, pero estos no se encuentren unidos entre sí, es probable que no se intercalen en el ADN correctamente.

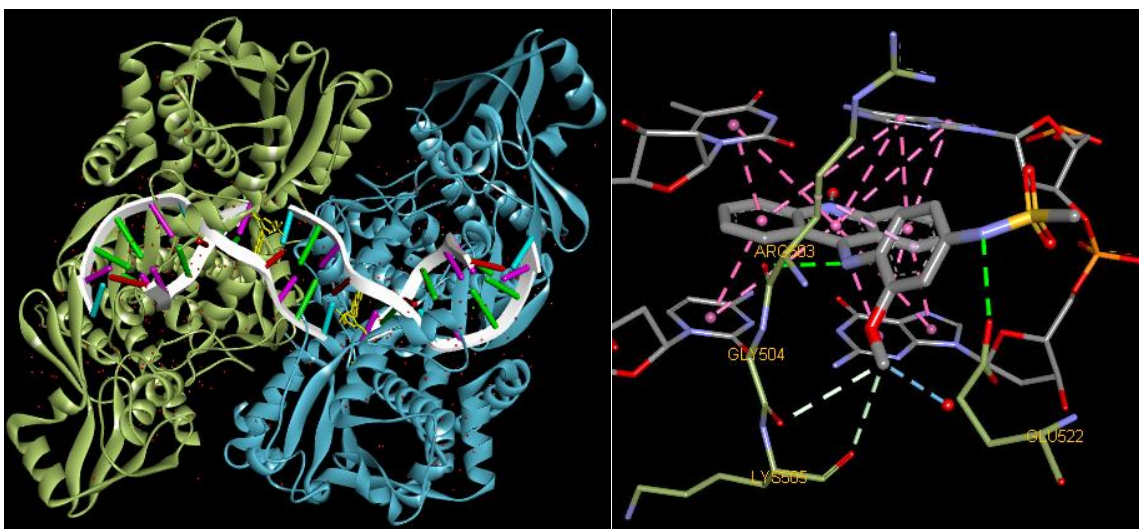
Tabla 2. Resultados de docking en MOE para el PDB 1D37, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-8.016	100			
4.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-6.975	87.02	5.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-7.281	90.82
4.3 (4-OCH ₃)	-6.823	85.12	5.3 (4-OCH ₃)	-7.008	87.42
4.4 (2-Cl)	-6.730	83.96	5.14 (4-NH ₂)	-6.9754	87.01
6.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-6.699	83.57	8.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-6.702	83.61
6.4 (2-Cl)	-6.502	81.11	8.6 (2-NO ₂)	-6.664	83.13
6.7 (4-NO ₂)	-6.492	80.98	8.3 (4-OCH ₃)	-6.628	82.68
7.9 (2-OH)	-6.512	81.23	9.6 (2-NO ₂)	-6.798	84.81
7.10 (4-OH)	-6.458	80.55	9.2 (2-OCH ₃)	-6.765	84.38
7.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-6.437	80.30	9.3 (4-OCH ₃)	-6.601	82.34
10.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-6.884	85.87	12.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-6.839	85.31
10.3 (4-OCH ₃)	-6.877	85.78	12.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-6.836	85.28
10.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-6.875	85.76	12.4 (2-Cl)	-6.465	80.65
11.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-7.039	87.81	13.6 (2-NO ₂)	-6.998	87.30
11.13 (2-NH ₂)	-6.971	86.96	13.10 (4-OH)	-6.583	82.12
11.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-6.760	84.33	13.13 (2-NH ₂)	-6.494	81.01

Se observa en ambos programas que la afinidad mejora en los compuestos oxidados **5, 8, 9**, pero no es igual para el caso de las azepinonas **12 y 13** que tienen mejor afinidad al no estar oxidadas. Igualmente, en los dos programas se observa que los compuestos **10** no se intercalan correctamente y en el caso de los compuestos **11** la afinidad mejora por el puente de hidrógeno alrededor de 2-2.5 Å, que forma el NH del heterociclo central con la citosina inferior.

Finalmente, en ambos programas se observó que la afinidad mejora considerablemente con los grupos funcionales NO₂, OH, OCH₃ y NH, aquellos grupos que pueden formar interacciones por puente de hidrógeno ya sea con la citosina o guanina.

4G0U: complejo de la enzima humana topoisomerasa II con ADN y con el inhibidor amsacrina



En la estructura cristalina con el ligante amsacrina se observan en el sitio activo solamente interacciones π - π (morado) con el ADN. Con la topoisomerasa II el ligante forma puentes de hidrógeno (verde) con el residuo glutamato 522 y arginina 503, presenta interacciones alquílicas (lila, blanco) con la lisina 505, la glicina 504 y la arginina 503.

En la **Tabla 3** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 4G0U utilizando el programa MOE. Resaltado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la hebra de ADN.

Nuevamente se identificó que los grupos funcionales NO₂, OH, OCH₃ y NH, pueden formar interacciones por puente de hidrógeno que mejoran la afinidad de los compuestos al ADN y a la enzima topoisomerasa II. Contrariamente a los resultados con la estructura cristalina anterior, en este docking se obtuvieron mejores resultados con los sustituyentes en posición 4, esto debido a las interacciones de puente de hidrógeno que se forman con la topoisomerasa II.

Tabla 3. Resultados de docking en MOE para el PDB 4G0U, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

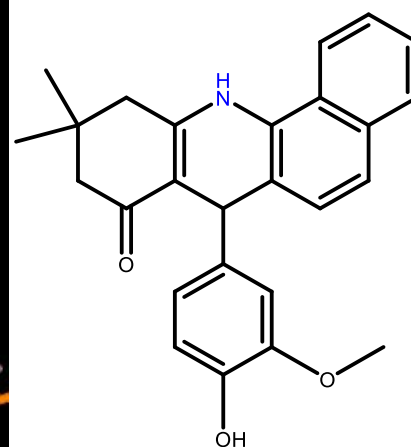
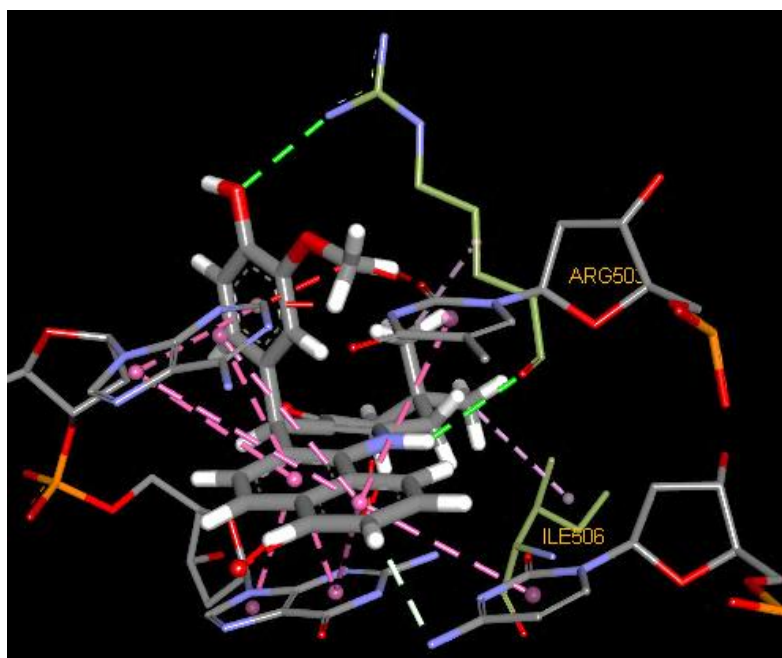
Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-9.556	100			
4.3 (4-OCH ₃)	-9.427	98.65	5.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.314	97.47
4.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.334	97.67	5.7 (4-NO ₂)	-9.308	97.41
4.8 (4-Br)	-9.204	96.31	5.3 (4-OCH ₃)	-9.132	95.56
6.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.755	102.08	8.7 (4-NO ₂)	-10.159	106.31
6.6 (2-NO ₂)	-9.455	98.95	8.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-10.004	104.69
6.7 (4-NO ₂)	-9.137	95.61	8.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-9.828	102.84
7.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.726	101.77	9.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.778	102.32
7.7 (4-NO ₂)	-9.123	95.47	9.7 (4-NO ₂)	-9.776	102.30
7.6 (2-NO ₂)	-9.106	95.29	9.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-9.588	100.34
10.6 (2-NO ₂)	-9.214	96.42	12.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-9.639	100.87
10.3 (4-OCH ₃)	-9.145	95.69	12.9 (2-OH)	-9.205	96.32
10.8 (4-Br)	-9.130	95.54	12.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.163	95.88
11.2 (2-OCH ₃)	-8.706	91.10	13.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-9.667	101.16
11.6 (2-NO ₂)	-8.684	90.88	13.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-9.663	101.12
11.9 (2-OH)	-8.624	90.24	13.7 (4-NO ₂)	-9.579	100.24

Se observó que los compuestos con el anillo heterocíclico aromatizado (**8, 9, 12 y 13**) tienen una mejor afinidad al ADN. Se obtuvieron afinidades mayores al 100% en los compuestos con mayor número de anillos aromáticos (**6, 7, 8, 9, 12 y 13**). Los compuestos derivados de 7-(R-fenil)-9,10-dimetil-benz[c]acridin-8-ol (**8**) y 7-(R-fenil)-10,11-dimetil-benz[c]acridin-8-ol (**9**) son los que

presentan mayor afinidad y una menor energía de unión a la hebra de ADN y la enzima topoisomerasa II.

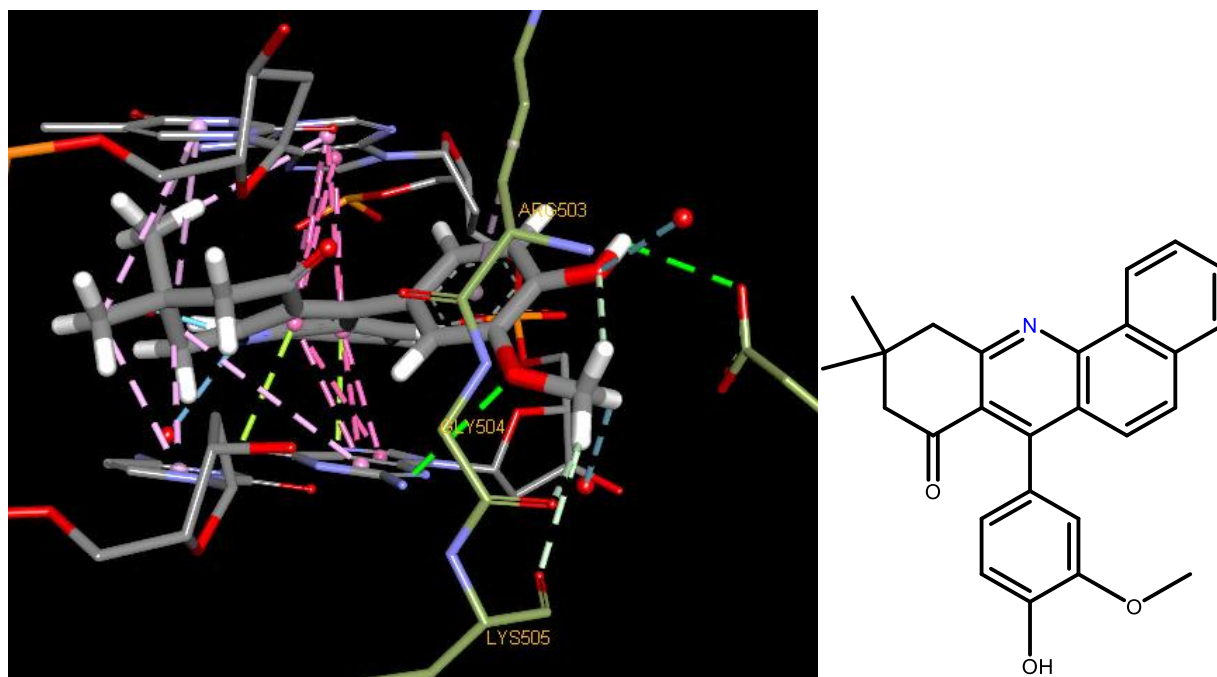
A continuación, se presenta el análisis detallado de los sitios activos y las interacciones del receptor 4G0U con los 10 compuestos con sustituyente 4-vainillina o (4-OH)(3-OCH₃).

Compuesto 4.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



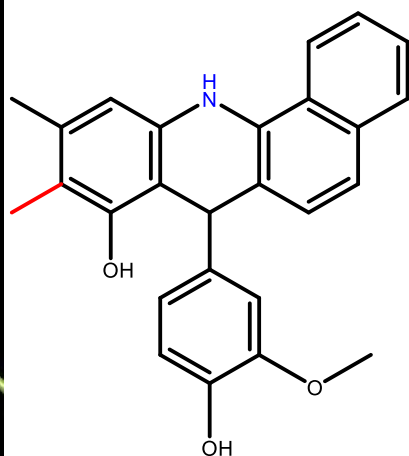
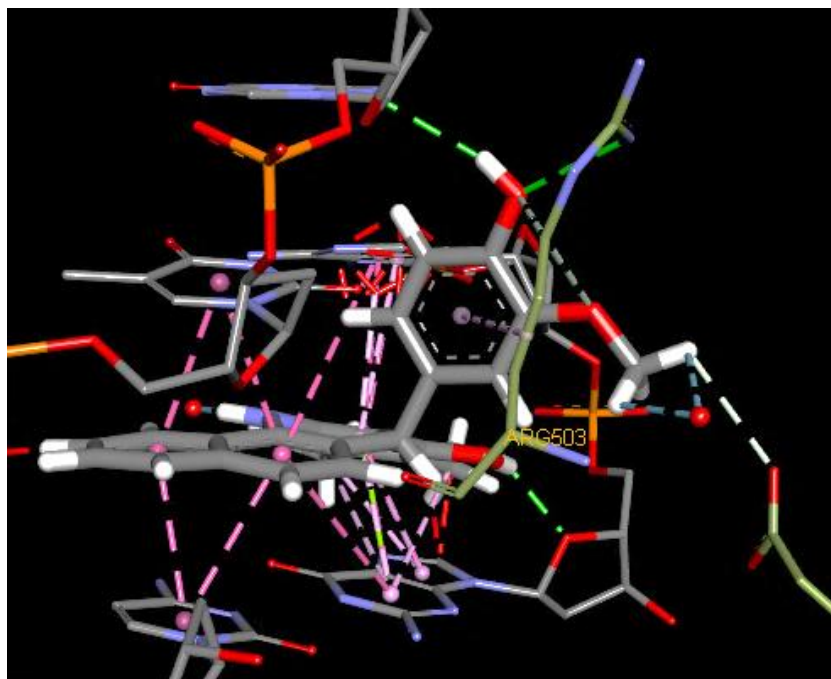
Este compuesto presenta interacciones π - π (morado) solamente entre los 2 anillos aromáticos del ligante y los anillos aromáticos de la adenina, la timina, la guanina y la citosina, teniendo distancias entre 3.24 – 5.80 Å. Se observa al grupo OH en el anillo sustituyente formando un puente de hidrógeno (verde) con la arginina 503 de 2.86Å y de igual forma al NH del heterociclo de 2.76Å. Hay interacciones alquílicas (lila) entre los metilos y la isoleucina 506 de 4.33 y 5.03Å. Se observa que solo la mitad de la molécula correspondiente a los anillos aromáticos se intercala en el ADN, mientras que los anillos alquílicos salen para interaccionar con la enzima.

Compuesto 5.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



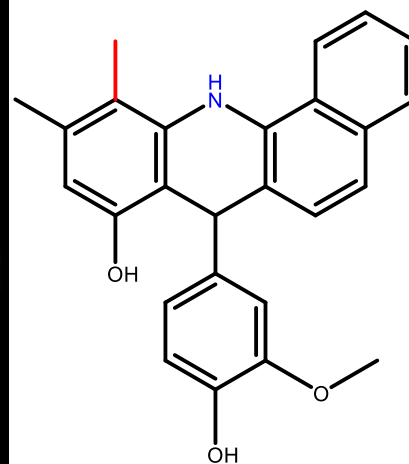
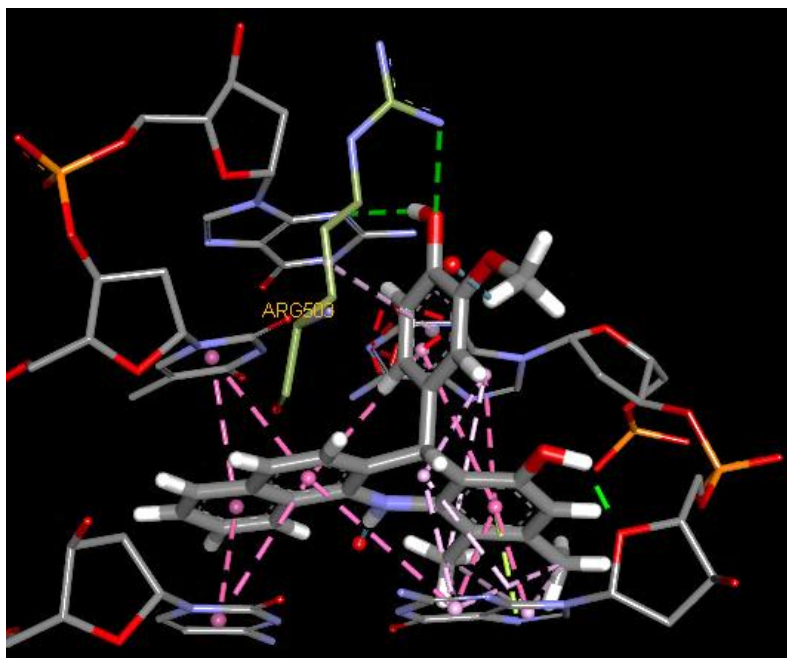
En este compuesto se observa que la adición de un anillo aromático sitúa a la molécula completamente entre los pares de bases e incrementa la afinidad. Se observan las interacciones π - π (morado) entre los 3 anillos aromáticos del ligante y 2 bases nitrogenadas (adenina y guanina), teniendo distancias entre 3.05-5.94 Å. Presenta también interacciones π -alquilo (lila) entre los metilos y metilenos del ciclo no aromático del ligante y las otras 2 bases en el ADN (timina y citosina), teniendo distancias entre 3.45- 5.23Å. El grupo -OCH₃ interacciona con la guanina a 3.32 Å, incrementando la afinidad del compuesto como intercalante. A diferencia del compuesto anterior, este compuesto presentó interacciones con más residuos de la enzima. Se observaron interacciones π -alquílicas con la arginina 503 y C-H con la glicina 504 y la lisina 505. Se observó solamente una interacción de puente de hidrógeno OH-O=C (verde) de 2.65 Å entre el OH del anillo sustituyente y el glutamato 522, la pérdida de un puente de hidrógeno podría explicar la menor afinidad de los compuestos 5 con respecto a los compuestos 4.

Compuesto 6.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-9,10-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol



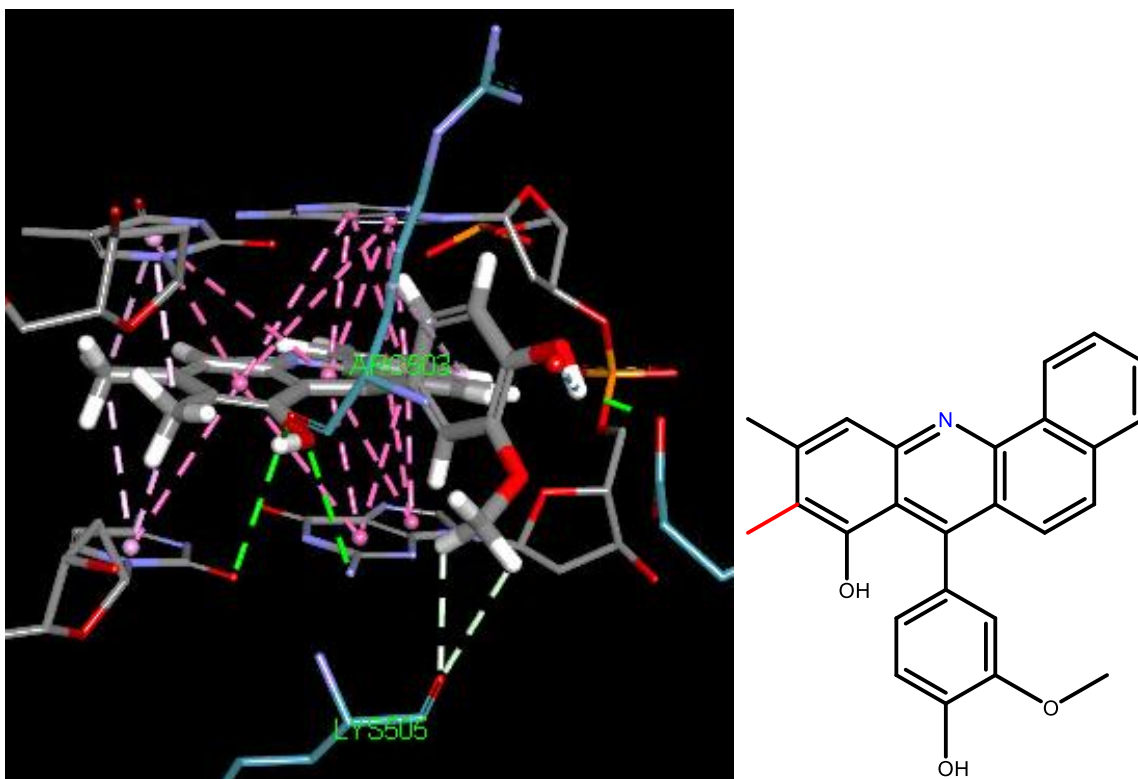
En este compuesto se observan las interacciones π - π (morado) de 3 anillos aromáticos de 3.35-5.40 Å con las 4 bases nitrogenadas (ATCG). La parte central del anillo heterocíclico y los metilos presentan interacciones π -alquílicas (lila) de 3.46-4.70. El grupo NH del heterociclo interacciona con un agua en el centro activo a 1.89 Å. A diferencia de los compuestos 4 que tampoco tienen el anillo heterocíclico aromático, en estos compuestos si se observa que el compuesto se intercala entre las 4 bases nitrogenadas y a diferencia de los compuestos 5 presenta interacciones π - π con todas ellas, lo cual incrementa la afinidad. El anillo sustituyente presenta interacciones de puente de hidrógeno (verde), en el grupo OH con la arginina 503 y con una base nitrogenada de 3.08 y 2.67 Å, se forma otro puente de hidrógeno entre el OH en posición 8 y un nucleótido de 2.04 Å. Se observaron interacciones π -alquílicas con la arginina 503 y C-H con el glutamato 522.

Compuesto 7.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-10,11-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol



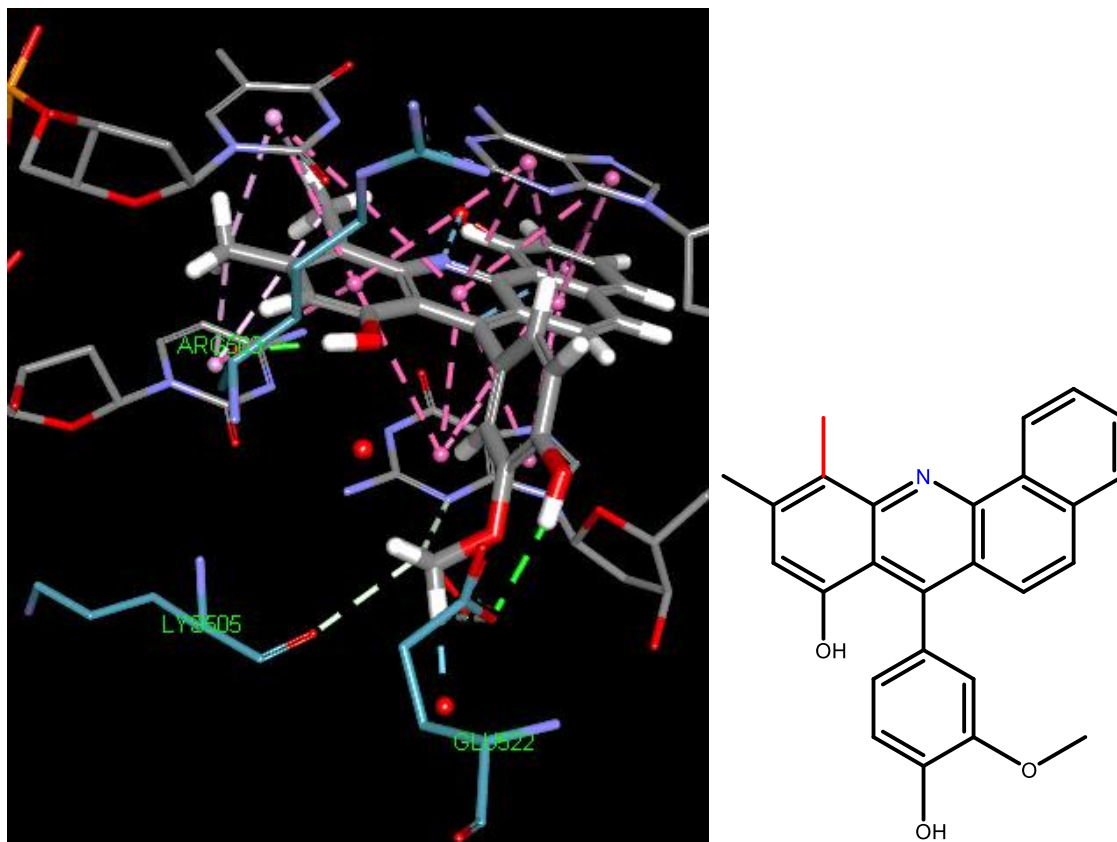
En este compuesto se coloca una posición muy similar a su isómero 6 por lo que presenta prácticamente las mismas interacciones. Se observa que la parte central del anillo heterocíclico y los metilos presentan interacciones π -alquílicas (lila) de 3.30-4.87 Å. También están presentes las interacciones π - π (morado) de 3 anillos aromáticos de a 3.40-5.13 Å con las 4 bases nitrogenadas. El anillo sustituyente presenta interacciones de puente de hidrógeno (verde) el grupo OH con la arginina 503 y con una base nitrogenada de 2.90 y 2.57 Å, se forma otro puente de hidrógeno entre el OH en posición 8 y un nucleótido de 1.93 Å. Se observaron interacciones π -alquílicas con la arginina 503. A diferencia de su isómero no presentó interacciones con el glutamato 522. Se observó también que este isómero debido al espacio ocupado por el metilo en posición 11 aleja al intercalante del sitio activo, lo cual se comprueba con el aumento en la interacción con el agua a 2.03 Å.

Compuesto 8.12 9,10-dimetil-7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)- benzo[*c*]acridin-8-ol



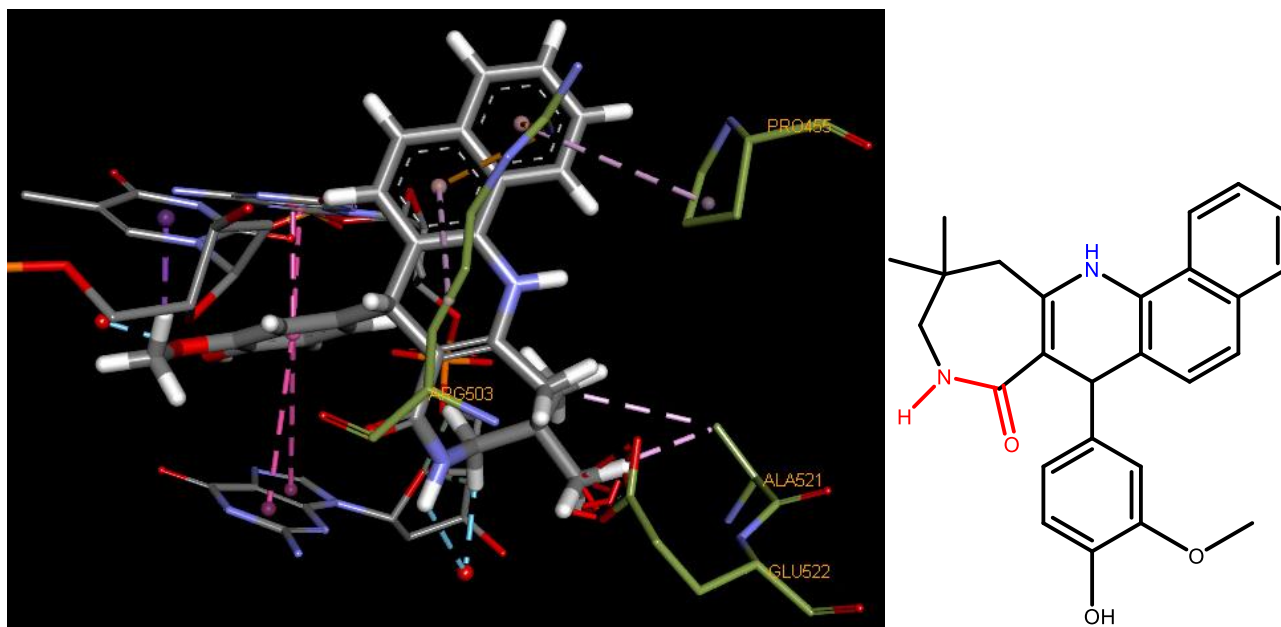
Este es el compuesto que presentó la mejor afinidad en la hebra de ADN y la enzima topoisomerasa superando incluso al ligante original. Presenta interacciones π - π (morado) entre los 4 anillos aromáticos del ligante y las 4 bases nitrogenadas, teniendo distancias entre 3.31 – 5.95 Å. Presenta interacciones π -alquilo (lila) entre los metilos coplanares y la timina y citosina de 3.38-3.86 Å. Se observó una fuerte contribución de las interacciones de puente de hidrógeno (verde) del OH en posición 8 con las bases inferiores de 2.98 y 3.12 Å, así como con la arginina 503 de 1.97 Å. En el anillo sustituyente el OH forma un puente de hidrógeno de 1.93 Å con el glutamato 522, hay una interacción π -alquímica con la arginina 503 y el metilo interacciona con la lisina 505. Presenta interacciones casi con los mismos residuos que la estructura original, además de sumar las interacciones π -alquílicas y de puente de hidrógeno con el ADN que seguramente son las que incrementan la afinidad con respecto al inhibidor amsacrina.

Compuesto 9.12 **10,11-dimetil-7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)- benzo[*c*]acridin-8-ol**



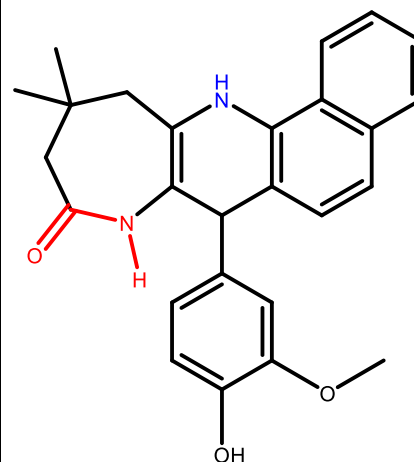
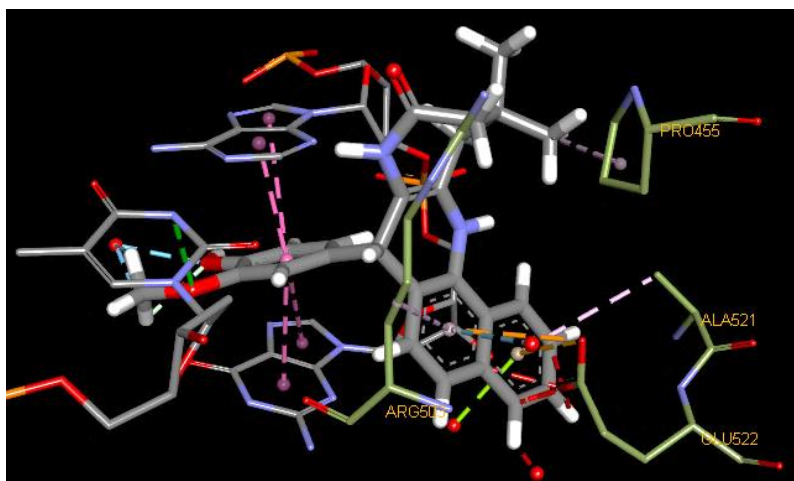
Al igual que su análogo no oxidado, este compuesto se coloca en una posición muy similar a su isómero 8, presentan afinidades similares en la hebra de ADN y la enzima topoisomerasa superando también al ligante original. Presenta interacciones π - π (morado) entre los 4 anillos aromáticos del ligante y las 4 bases nitrogenadas, teniendo distancias entre 3.53 – 5.78 Å. Presenta interacciones π -alquilo (lila) entre los metilos coplanares y la timina y citosina de 3.26-4.36 Å. En el anillo sustituyente el OH forma un puente de hidrógeno de 2.28 Å con el glutamato 522 y el metilo interacciona con la lisina 505. A diferencia de su isómero presenta interacciones de puente de hidrógeno (verde) del OH en posición 8 solamente con la arginina 503 de 1.94 Å y no presenta las interacciones π -alquílicas. Esto debido a la presencia del metilo en posición 11 que aleja al intercalante del sitio activo.

Compuesto 10.12 11,11-dimetil-7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



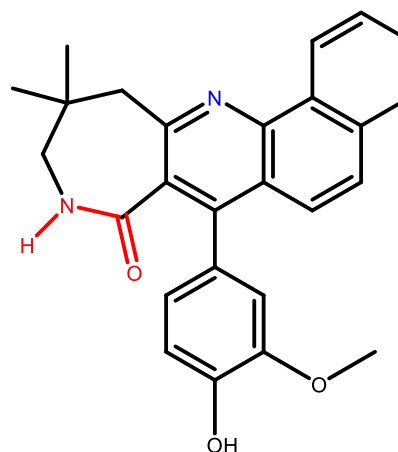
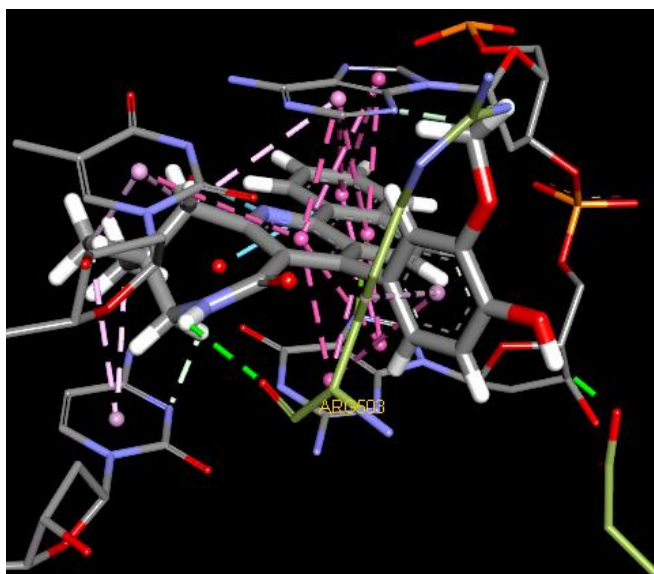
Como se puede observar, este tipo de compuestos no se intercala en el ADN, la molécula se coloca de forma lateral presentando interacciones π -alquílicas con la topoisomerasa II. La parte que interacciona con el ADN es la del anillo sustituyente. Similar a los resultados obtenidos en la otra estructura cristalina, al solamente contar con dos anillos aromáticos estos no ofrecen suficientes interacciones π - π para colocar a la molécula entre los pares de bases. Si bien hubo compuestos de esta familia que sí se intercalaron, la mayoría encontró una mejor energía al colocarse lateralmente.

Compuesto 11.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona



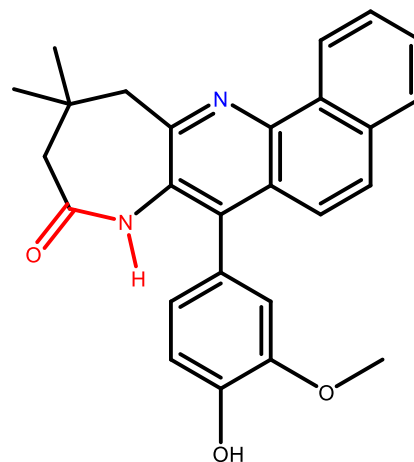
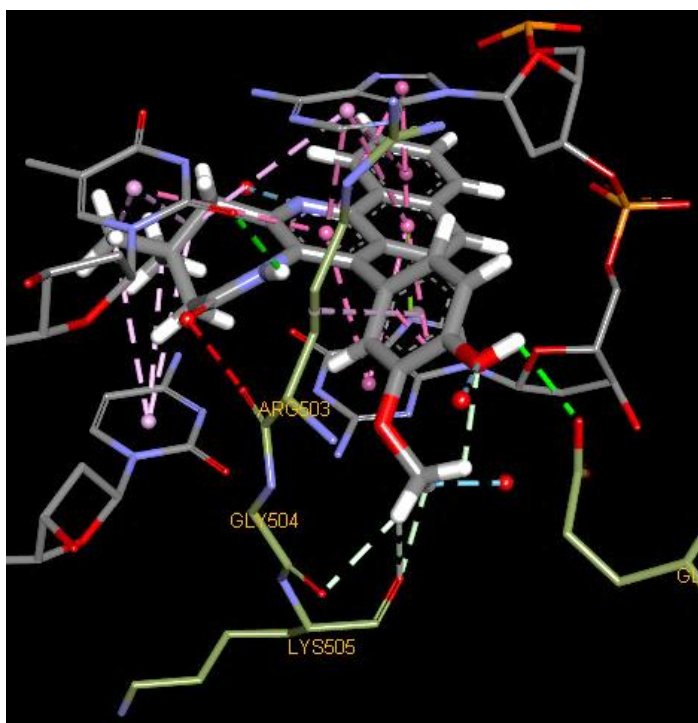
Al igual que su isómero 10, este tipo de compuestos no se intercala en el ADN correctamente, la molécula se coloca de forma lateral presentando interacciones π -alquílicas con la topoisomerasa II. La parte que interacciona con el ADN es la del anillo sustituyente donde los grupos OH y OCH₃ forman puentes de hidrógeno con las bases. De nuevo, la falta de anillos aromáticos no permite la intercalación en el ADN.

Compuesto 12.12 11,11-dimetil-7((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-9,10,11,12-tetrahidro-8H-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



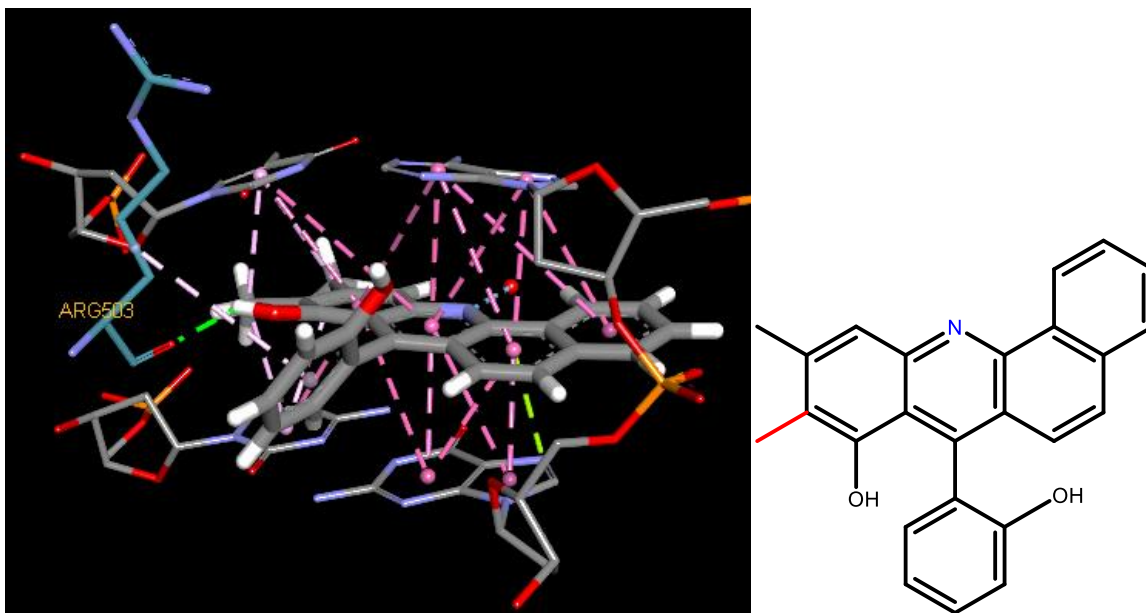
En este compuesto se observan las interacciones π - π de los tres anillos aromáticos con solamente 3 bases nitrogenadas de 3.57-5.66 Å. El incremento en el número de anillos aromáticos hace que el compuesto se intercale en el ADN. El anillo de la lactama presenta interacciones π -alquílicas de 3.14-4.24 Å. El anillo de la lactama presenta interacciones de puente de hidrógeno (verdes) con la arginina 503 de 2.65 Å y el OH en el grupo sustituyente con el glutamato 522 de 1.82 Å.

Compuesto 13.12 11,11-dimetil-7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-8,10,11,12-tetrahidro-9H-azepino[3,2-*b*] benzo[*h*]quinolin-9-ona



Este compuesto presentó la tercera mejor afinidad y las interacciones que presenta son similares a las de los compuestos 8 y 9. Se observan las interacciones π - π de los tres anillos aromáticos con solamente 3 bases nitrogenadas de 3.48-5.84 Å. El anillo de la lactama presenta interacciones π -alquílicas de 3.28-4.84 Å. El anillo de la lactama presenta interacciones de puente de hidrógeno (verdes) con timina de 2.49 Å y el OH en el grupo sustituyente con el glutamato 522 de 2.38 Å. Hay también interacciones alquílicas (blanco) con la glicina 504 y la lisina 505 y π -alquílicas con la arginina 503.

Compuesto 8.9 **9,10-dimetil-7-(2-OH-fenil)- benzo[*c*]acridin-8-ol**



En el caso de los compuestos con el grupo sustituyente en posición 2, no presentan interacciones con la topoisomerasa II y en el caso de los compuestos con el heterociclo aromático tampoco presentan interacciones con el ADN.

En la **Tabla 4** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 4G0U, utilizando el programa Molecular Forecaster. Resaltado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la hebra de ADN.

Como ya se mencionó anteriormente, los valores de score obtenidos en diferentes programas no son comparables, debido a que cada programa utiliza diferentes algoritmos y métodos para calcularlos. Por otro lado, los resultados de afinidad si lo son y, tanto en MOE como en el programa Forecaster, se incrementó la afinidad de los compuestos en comparación con la estructura cristalina anterior, pero solamente en MOE se obtuvieron afinidades mayores al 100%. Para ambos programas las mejores afinidades se obtienen con los compuestos derivados de 7-(*R*-fenil)-9,10-dimetil-benz[*c*]acridin-8-ol (**8**). Y aunque en el programa Forecaster no destaca el isómero (**9**), sí lo hacen los derivados de 7-(*R*-fenil)-10,11-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol (**7**). En cuanto a las poses de los ligantes en el sitio activo, para esta estructura cristalina, si hay una gran similitud entre los dos programas.

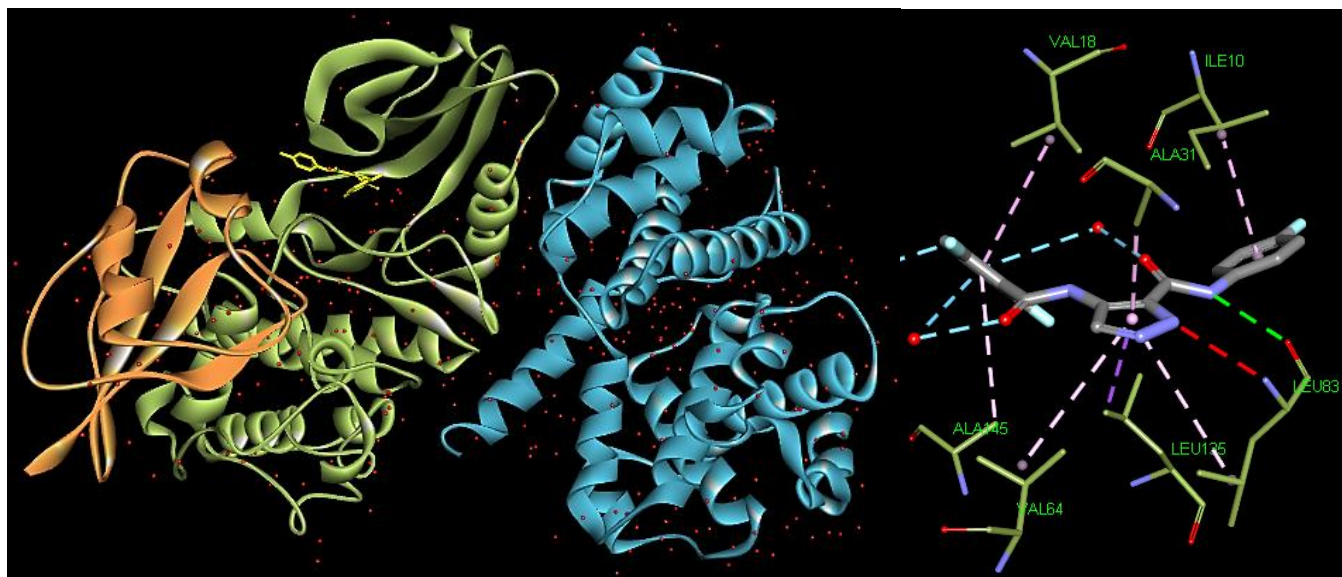
Tabla 4. Resultados de docking en Forecaster para el PDB 4G0U, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-25.073	100.00			
4.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.097	88.13	5.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-23.228	92.64
4.7 (4-NO ₂)	-20.844	83.13	5.13 (2-NH ₂)	-20.253	80.78
4.3 (4-OCH ₃)	-20.795	82.94	5.10 (4-OH)	-19.362	77.22
6.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.004	87.76	8.7 (4-NO ₂)	-23.971	95.60
6.3 (4-OCH ₃)	-21.157	84.38	8.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.873	91.23
6.9 (2-OH)	-20.999	83.75	8.10 (4-OH)	-22.142	88.31
7.7 (4-NO ₂)	-23.583	94.06	9.14 (4-NH ₂)	-22.46	89.58
7.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.846	91.12	9.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-22.399	89.34
7.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-22.552	89.95	9.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.088	88.09
10.7 (4-NO ₂)	-21.986	87.69	12.14 (4-NH ₂)	-21.985	87.68
10.13 (2-NH ₂)	-20.039	79.92	12.11 (2-OH)(3-OCH ₃)	-21.425	85.45
10.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-19.417	77.44	12.7 (4-NO ₂)	-19.027	75.89
11.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-24.055	95.94	13.13 (2-NH ₂)	-23.239	92.69
11.3 (4-OCH ₃)	-24.043	95.89	13.12 (4-OH)(3-OCH ₃)	-22.165	88.40
11.10 (4-OH)	-22.762	90.78	13.10 (4-OH)	-21.483	85.68

Se observa en ambos programas que, en general, la afinidad mejora en los compuestos oxidados **5, 8, 9, 12 y 13**. También coinciden en que los compuestos con pocos anillos aromáticos, como los compuestos **4, 5, 10 y 11**, no se colocan entre los pares de bases como intercalantes, sino a lo largo de la cadena de ADN interaccionando principalmente con la topoisomerasa. Es por ello que a pesar de los buenos resultados de afinidad obtenidos por los compuestos **11**, estos no pueden ser considerados como buenos fármacos intercalantes. Esta información coincide con los resultados de la estructura 1D37, en ambos análisis se demuestra que son necesarios al menos 3 anillos aromáticos en la estructura de un compuesto para que pueda intercalarse en el ADN. Si estos anillos se encuentran unidos entre sí, la afinidad del compuesto incrementa.

Finalmente, en ambos programas se observó que la afinidad mejora considerablemente con los grupos funcionales NO₂, OH, OCH₃ y NH, aquellos grupos que pueden formar interacciones por puente de hidrógeno con las bases nitrogenadas y con la topoisomerasa II, para lo cual es fundamental que los sustituyentes se encuentren en posición 4. De una manera similar el grupo OH en posición 8 de los compuestos **6,7,8, y 9**; así como la amida en los compuestos **12 y 13** es fundamental para las interacciones con el ADN y la topoisomerasa II.

PDB 5HQ0: Complejo de la enzima humana CDK1-ciclina B-CKS2 con un inhibidor



En la estructura cristalina con el inhibidor se observan en el sitio activo interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos valina 18, isoleucina 10, alanina 31, leucina 125, valina 64 y alanina 145. La interacción más importante y fundamental para llevar a cabo la inhibición de esta enzima es el puente de hidrógeno (verde) de 2.92 Å con el residuo leucina 83. Es importante también para otros inhibidores de enzimas similares la interacción con el residuo glutamato 81.

En la **Tabla 5** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 5HQ0 utilizando el programa Molecular Forecaster. Resaltado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la enzima CDK-1.

Se identificó que los grupos funcionales NO_2 , OH , OCH_3 y NH_2 , son importantes para formar interacciones por puente de hidrógeno y mejorar la afinidad de los compuestos con la enzima CDK1. No hubo una preferencia por la posición de estos sustituyentes. No se observó tampoco que el número de anillos aromáticos influyera en la energía de score.

Los compuestos derivados de 11,11-dimetil-7-(R-fenil)-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona (**10**) son los que presentan mayor afinidad y una menor energía de unión a la enzima CDK-1. Sin embargo, este tipo de compuestos no presenta la

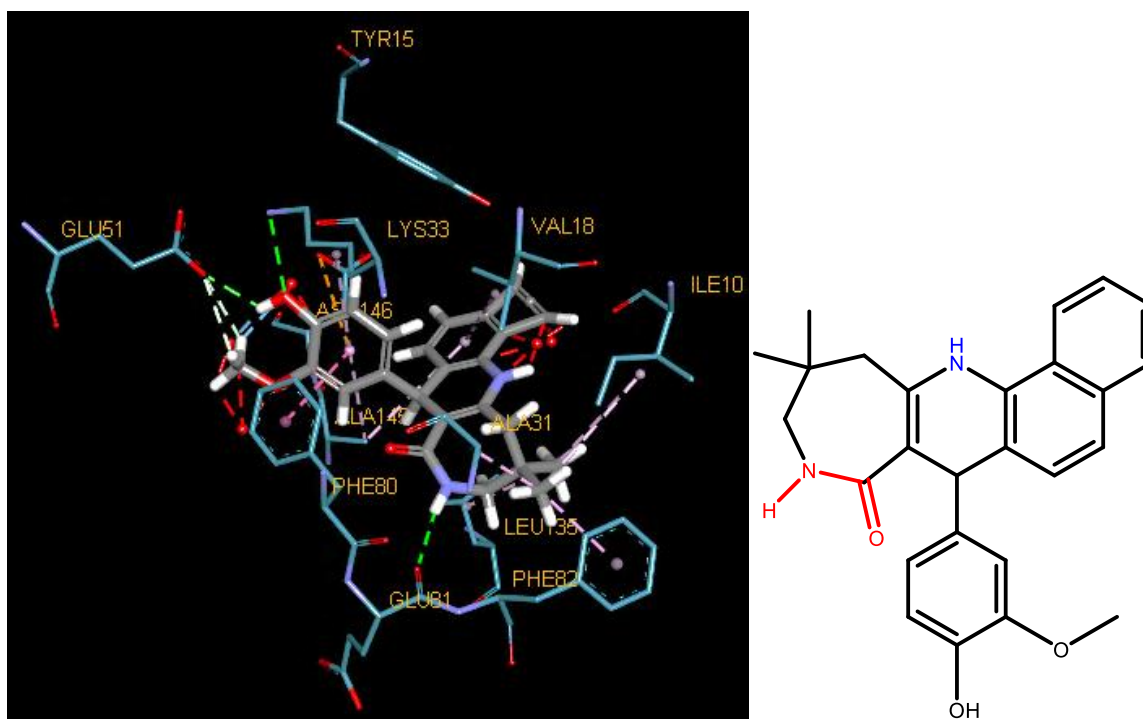
interacción de puente de hidrógeno con la leucina 83, por lo que no pueden ser considerados como inhibidores. Solamente el compuesto 5.10 presentó esta interacción.

Tabla 5. Resultados de docking en Forecaster para el PDB 5HQ0, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-26.418	100.00			
4.8 (4-Br)	-16.751	63.41	5.10 (4-OH)	-18.858	71.38
4.13 (2-NH2)	-15.748	59.61	5.12 (4-OH)(3-OCH3)	-16.147	61.12
4.14 (4-NH2)	-15.696	59.41	5.11 (2-OH)(3-OCH3)	-15.253	57.74
6.3 (4-OCH3)	-16.631	62.95	8.7 (4-NO2)	-17.892	67.73
6.9 (2-OH)	-15.486	58.62	8.14 (4-NH2)	-15.948	60.37
6.11 (2-OH)(3-OCH3)	-15.391	58.26	8.6 (2-NO2)	-15.94	60.34
7.7 (4-NO2)	-19.725	74.67	9.7 (4-NO2)	-18.283	69.21
7.12 (4-OH)(3-OCH3)	-17.449	66.05	9.10 (4-OH)	-16.768	63.47
7.9 (2-OH)	-17.414	65.92	9.14 (4-NH2)	-16.526	62.56
10.12 (4-OH)(3-OCH3)	-19.833	75.07	12.7 (4-NO2)	-18.374	69.55
10.11 (2-OH)(3-OCH3)	-18.683	70.72	12.11 (2-OH)(3-OCH3)	-16.409	62.11
10.10 (4-OH)	-18.517	70.09	12.14 (4-NH2)	-16.045	60.74
11.7 (4-NO2)	-18.93	71.66	13.10 (4-OH)	-17.179	65.03
11.12 (4-OH)(3-OCH3)	-17.511	66.28	13.11 (2-OH)(3-OCH3)	-16.91	64.01
11.3 (4-OCH3)	-17.012	64.40	13.5 (4-Cl)	-16.902	63.98

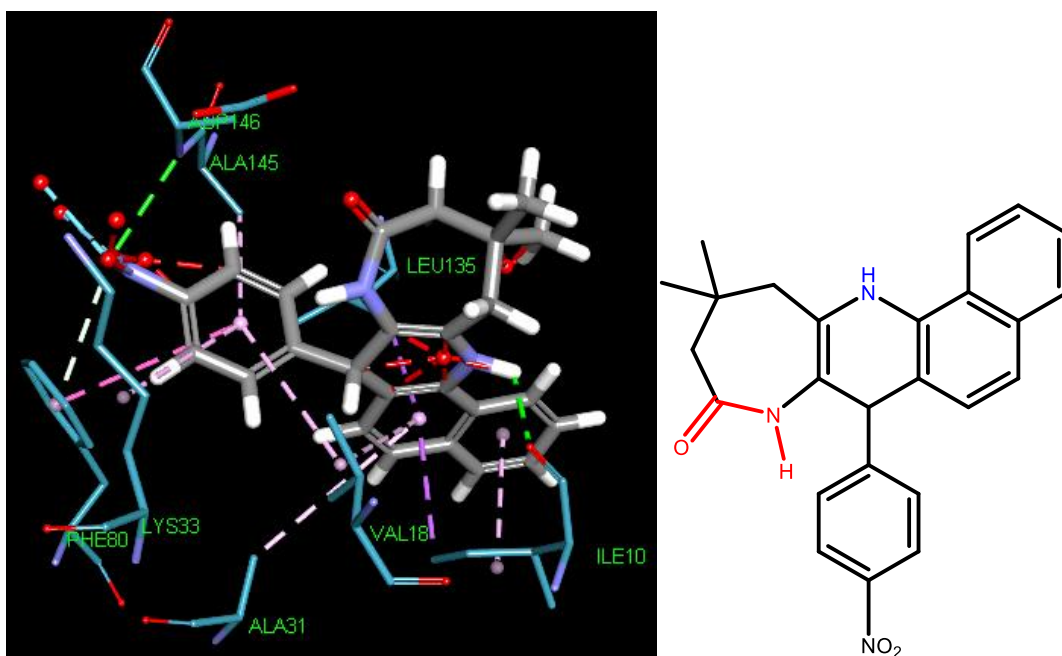
A continuación, se presenta el análisis detallado de los sitios activos y las interacciones del receptor 5HQ0 con 3 compuestos representativos.

Compuesto 10.12 11,11-dimetil-7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8H-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



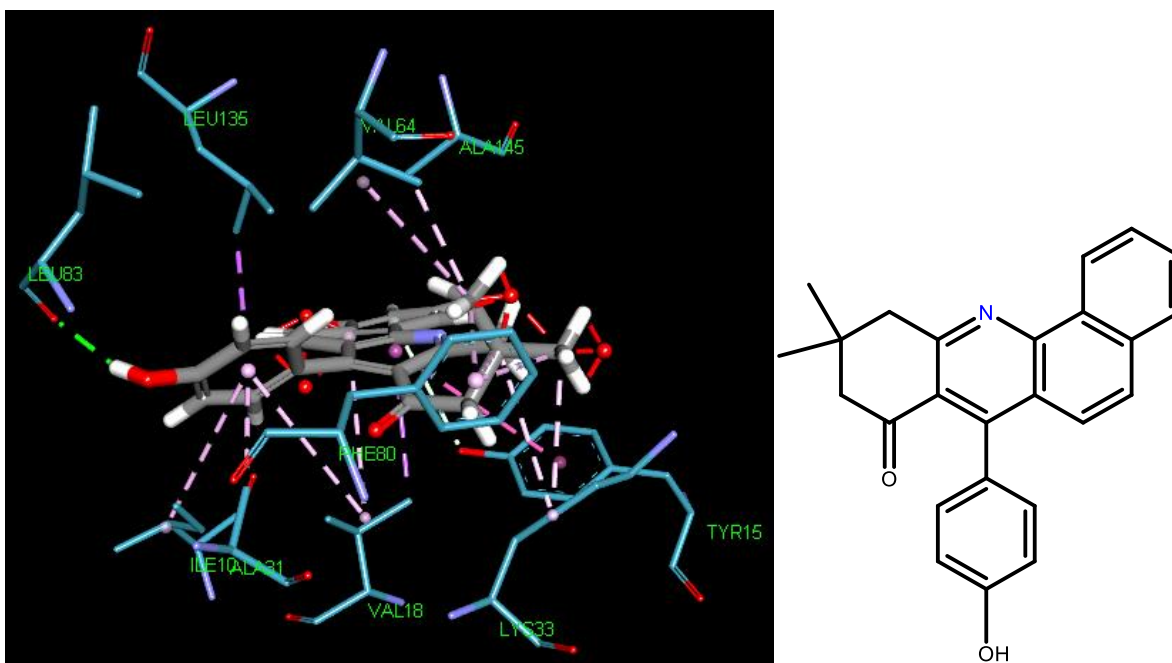
Este compuesto presentó la menor energía de score en la enzima CDK-1, pero no presenta la interacción con la leucina 83. De hecho, se puede ver que interacciona con residuos distintos a los del inhibidor de la estructura cristalina. Hay tres interacciones de puente de hidrógeno (verde) con el glutamato 51 de 2.61 Å, con la lisina 33 de 2.88 Å y con un residuo importante para la inhibición de estas enzimas, el glutamato 81 de 2.25 Å. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos isoleucina 10, fenilalanina 82, alanina 31, leucina 135, valina 18, alanina 145 y lisina 33. Y una interacción π -aniónica (naranja) con la asparagina 146.

Compuesto 11.7 7-(4-NO₂-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h]quinolin-9-ona



Este compuesto presentó la tercera mejor energía de score en la enzima CDK-1, tampoco presenta la interacción con la leucina 83. En el sitio donde se coloca este residuo se puede ver que interacciona con residuos distintos a los del inhibidor de la estructura cristalina y con residuos similares, esto indica que esta cercano al sitio activo, pero es probable que no actúe como inhibidor. Hay dos interacciones de puente de hidrógeno (verde) con la asparagina 146 de 3.00 Å y con la isoleucina10 de 2.23 Å. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos isoleucina 10, alanina 31, leucina 135, valina 18, alanina 145 y lisina 33. Y una interacción π - π (morado) con la fenilalanina 80.

Compuesto 5.10 7-(4-NO₂-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona



Este compuesto presentó la cuarta menor energía de score en la enzima CDK-1 y es el único compuesto que presenta la interacción de puente de hidrógeno con la leucina 83 de 2.01Å. De hecho, se puede ver que interacciona con casi todos los residuos del inhibidor de la estructura cristalina. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos isoleucina 10, fenilalanina 80, alanina 31, leucina 135, valina 18, alanina 145, tirosina 15, valina 64 y lisina 33. Este compuesto sí podría actuar como inhibidor de la enzima CDK-1.

En la **Tabla 6** se presentan los mejores resultados obtenidos de score y porcentaje de afinidad para cada familia de compuestos evaluados en el PDB 5HQ0 utilizando el programa MOE. Resaltado en color naranja se encuentran los valores más altos de afinidad a la enzima CDK-1.

Al igual que el programa Forecaster, se observó que los grupos funcionales NO₂, OH, OCH₃ y NH₂, son importantes para formar interacciones por puente de hidrógeno y mejorar la afinidad de los compuestos con la enzima CDK1. No hubo una preferencia por la posición de estos sustituyentes.

Tabla 6. Resultados de docking en MOE para el PDB 5HQ0, resaltado en color naranja los valores mayores de % afinidad y score.

Compuesto	Score	%Afinidad	Compuesto	Score	%Afinidad
Autodock	-8.420	100			
4.7 (4-NO2)	-8.007	95.10	5.2 (2-OCH3)	-7.881	93.60
4.3 (4-OCH3)	-7.981	94.79	5.7 (4-NO2)	-7.876	93.54
4.11 (2-OH)(3-OCH3)	-7.927	94.16	5.12 (4-OH)(3-OCH3)	-7.857	93.32
6.12 (4-OH)(3-OCH3)	-8.357	99.26	8.11 (2-OH)(3-OCH3)	-8.099	96.20
6.7 (4-NO2)	-8.156	96.87	8.7 (4-NO2)	-7.778	92.38
6.3 (4-OCH3)	-8.124	96.49	8.6 (2-NO2)	-7.776	92.36
7.12 (4-OH)(3-OCH3)	-8.814	104.69	9.2 (2-OCH3)	-7.910	93.95
7.14 (4-NH2)	-8.243	97.90	9.12 (4-OH)(3-OCH3)	-7.887	93.67
7.11 (2-OH)(3-OCH3)	-8.228	97.73	9.14 (4-NH2)	-7.880	93.59
10.3 (4-OCH3)	-8.469	100.58	12.11 (2-OH)(3-OCH3)	-8.281	98.36
10.11 (2-OH)(3-OCH3)	-8.142	96.70	12.3 (4-OCH3)	-8.099	96.20
10.6 (2-NO2)	-8.114	96.37	12.7 (4-NO2)	-7.931	94.20
11.12 (4-OH)(3-OCH3)	-8.423	100.05	13.12 (4-OH)(3-OCH3)	-8.381	99.55
11.7 (4-NO2)	-8.387	99.61	13.11 (2-OH)(3-OCH3)	-8.244	97.91
11.3 (4-OCH3)	-8.380	99.53	13.10 (4-OH)	-7.972	94.68

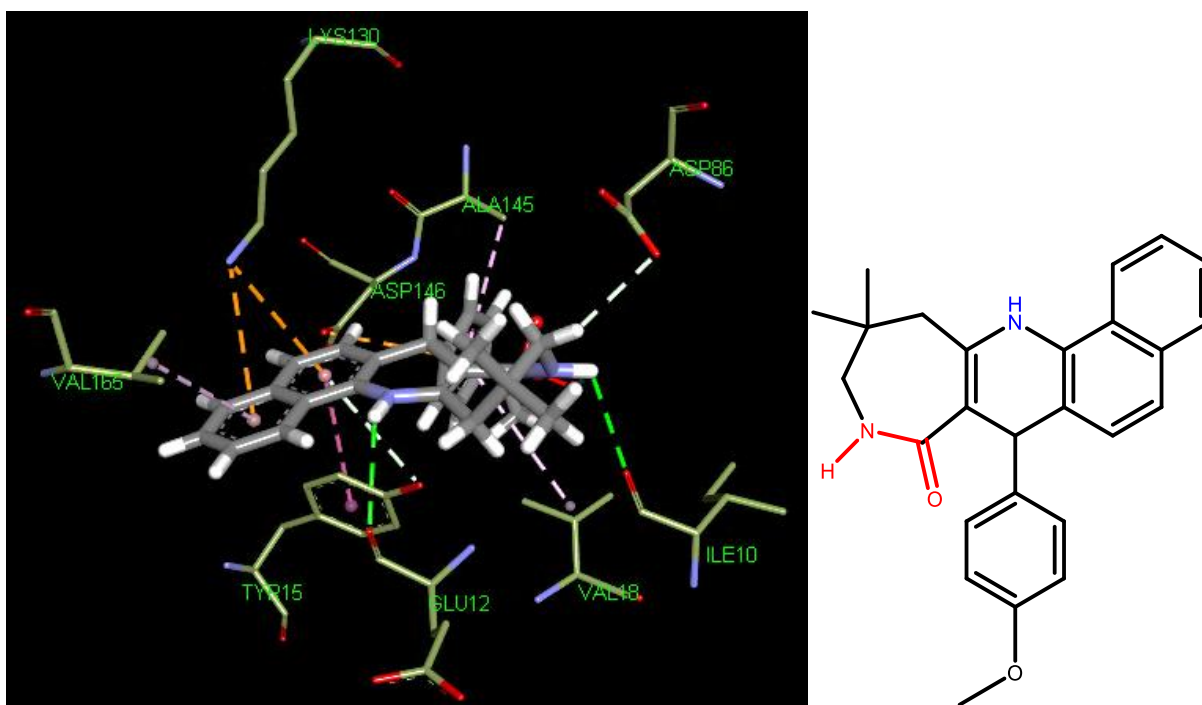
En MOE si se observó que los compuestos con el heterociclo no aromático (**4, 6, 7, 10 y 11**) favorecían una menor energía de score.

En MOE los compuestos derivados de 7-(R-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona (**11**) son los que presentan mayor afinidad y una menor energía de unión a la enzima CDK-1. Pero al igual que en Forecaster, este tipo de compuestos

no presentan la interacción de puente de hidrógeno con la leucina 83, por lo que no pueden ser considerados como inhibidores. Solamente el compuesto 7.7 presentó esta interacción.

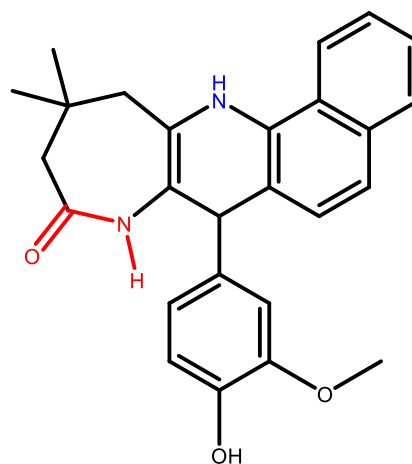
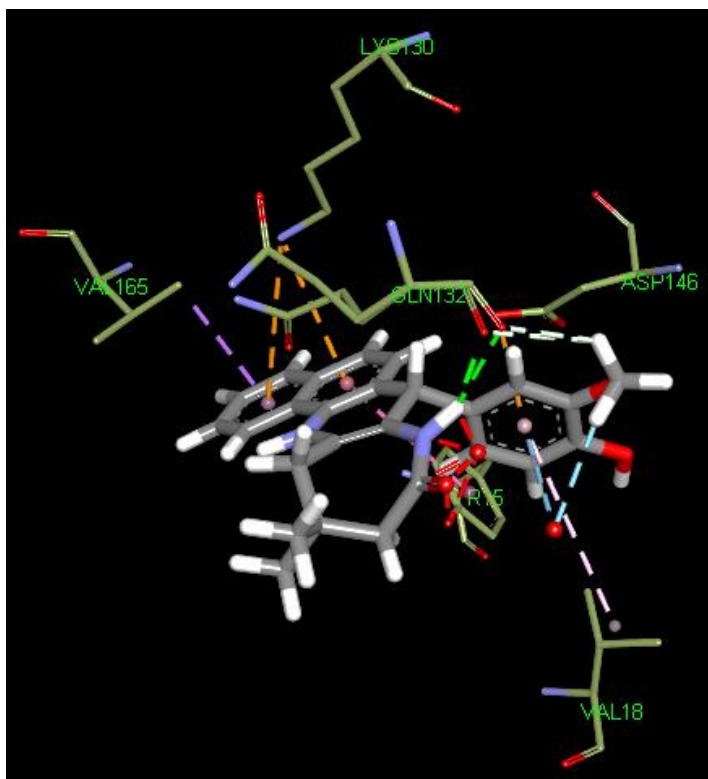
A continuación, se presenta el análisis detallado de los sitios activos y las interacciones del receptor 5HQ0 con 3 compuestos representativos.

Compuesto 10.3 11,11-dimetil-7-(4-OCH₃-fenil)-7,9,10,11,12,13-hexahidro-8*H*-azepino[4,3-*b*]benzo[*h*]quinolin-8-ona



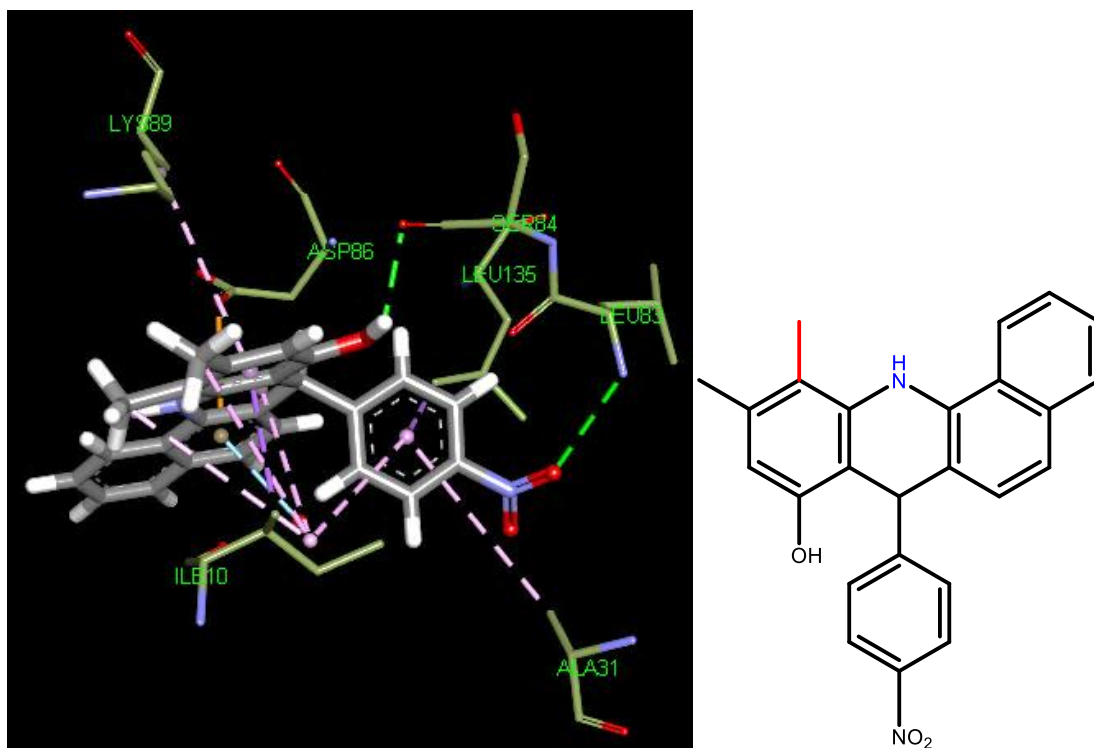
Este compuesto presentó la segunda menor energía de score en la enzima CDK-1, pero no presenta la interacción con la leucina 83. El sitio dónde se coloca está alejado del sitio activo, se puede ver que interacciona con residuos distintos a los del inhibidor de la estructura cristalina. Hay dos interacciones de puente de hidrógeno (verde) con el glutamato 12 de 3.01 Å, con la isoleucina 10 de 3.00 Å. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos valina 165, valina 18, alanina 145, asparagina 86, tirosina 15 y lisina 33. También hay interacciones π -aniónicas (naranja) con la asparagina 146 y la lisina 130.

Compuesto 11.12 7-((4-OH)(3-OCH₃)-fenil)-11,11-dimetil-7,8,10,11,12,13-hexahidro-9H-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona



Este compuesto presentó la tercera mejor energía de score en la enzima CDK-1, tampoco presenta la interacción con la leucina 83. En el sitio donde se coloca este residuo es distinto al sitio activo por lo que es probable que no actúe como inhibidor. Hay una interacción de puente de hidrógeno (verde) con la glutamina 132 de 1.92 Å. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos valina 165 y valina 18. También hay interacciones π -aniónicas (naranja) con la asparagina 146 y la lisina 130. Y una interacción π - π (morado) con la tirosina 15.

Compuesto 7.7 7-(4-NO₂-fenil)-10,11-dimetil-7,12-dihidrobenz[*c*]acridin-8-ol



Este compuesto no destaca entre las menores energías de score obtenidas en el docking realizado en MOE para la enzima CDK-1, tiene 91.42% de afinidad. Sin embargo, es el único compuesto que presenta la interacción de puente de hidrógeno con la leucina 83 de 3.10 Å, presenta otro puente de hidrógeno de 2.23 Å con la serina 84. Hay interacciones π -alquílicas (lila) con los residuos isoleucina 10, alanina 31, leucina 135 y lisina 89. También hay interacciones π -aniónicas (naranja) con la asparagina 86. Este compuesto sí podría actuar como inhibidor de la enzima CDK-1.

En ambos programas los compuestos con afinidades mayores fueron los que contenían el anillo con la lactama (10 y 11), lo cual coincide con la hipótesis inicial de que este tipo de estructura interacciona favorablemente con la enzima CDK-1. Pero al ahondar en las posiciones de estos compuestos se observó que estos no se colocaban en el sitio activo de la enzima, por lo que no pueden ser considerados como posibles inhibidores de CDK-1.

En general se observó que la mayoría de los compuestos analizados no se colocan en el sitio activo, sino un poco más afuera y alejado de él. Esto puede deberse entre otras cosas al tamaño de las moléculas y a la planaridad y rigidez en su estructura.

Solamente dos compuestos interaccionaron adecuadamente en el sitio activo, el compuesto 5.10 (Forecaster) es el que interacciona con los mismos residuos que el inhibidor ya conocido en el mismo lugar que este. Por otro lado, el compuesto 7.7 (MOE) presenta dos interacciones de puente de hidrógeno en residuos muy cercanos al sitio activo lo cual incrementa la afinidad en este. Este resultado no coincidió para ambos programas, además de que ningún otro compuesto similar a ellos mostró las mismas interacciones, por lo que es difícil de asegurar que alguno de ellos funcionará como inhibidor de la enzima CDK-1.

En conclusión, con los resultados obtenidos con los dos programas de docking en las tres estructuras cristalinas, se observó que, de acuerdo a la hipótesis propuesta en este trabajo, los compuestos con mayor número de anillos aromáticos son aquellos que tienen una mejor afinidad al ADN como lo son los compuestos 8 y 9. Se identificó que son necesarios al menos 3 anillos aromáticos en una molécula para colocarse adecuadamente como intercalante en la cadena de ADN, sobre todo considerando las interacciones que puedan ocurrir con las enzimas que desempeñan una función sobre el ADN como lo son las topoisomerasas, polimerasas, helicasas, etc.

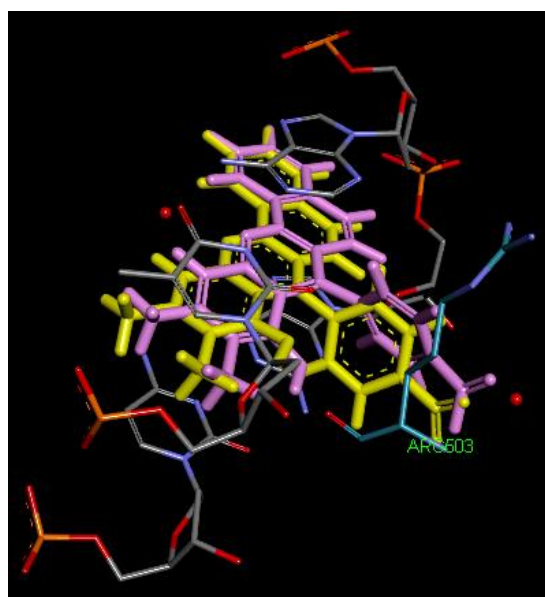
Uno de los factores más importantes que más contribuye a la afinidad de las moléculas tanto al ADN como a las enzimas son los grupos funcionales situados en el anillo sustituyente NO_2 , OH , OCH_3 y NH , ya que pueden formar interacciones por puente de hidrógeno en el sitio activo. En el caso de los intercalantes se identificó que los sustituyentes en posición 2 favorecen las interacciones con las bases nitrogenadas del ADN. Pero en la posición 4 favorecen las interacciones con la enzima topoisomerasa II y posiblemente también con otras enzimas con funciones en el ADN. De manera similar el grupo OH en posición 8 de los compuestos 6-9 o la amida de los compuestos 10-13 incrementan las interacciones con el ADN.

El otro factor importante es el impedimento estérico, se observó que, por ejemplo, en el caso de los compuestos 7 y 9, la presencia de un metilo en posición 11 disminuye la cercanía con las

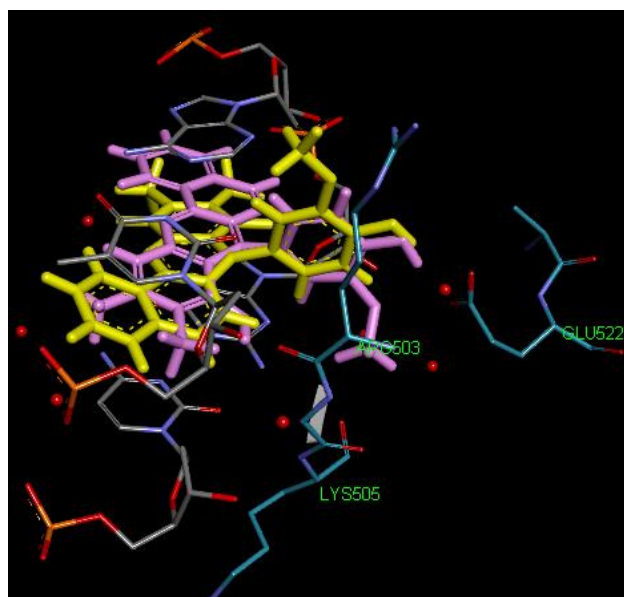
bases nitrogenadas, mientras que sus isómeros 6 y 8 con el metilo en posición 9 aumentaba la afinidad al poder adentrarse más al sitio activo.

Contrario a lo que se esperaba en la hipótesis de este trabajo, los compuestos con un anillo de lactama (10-13) en su estructura, no presentaron actividad como inhibidores de CDK-1 al no interaccionar con el sitio activo de esta enzima. Sin embargo, si se quisieran realizar más investigaciones sobre fármacos con dos blancos biológicos el compuesto 5.10 y sobretodo el compuesto 7.7 pueden servir como fármacos modelo, ya que ambos presentaron buena actividad como posibles intercalantes de ADN, inhibidores de topoisomerasa II e inhibidores de CDK-1.

Tomando en cuenta solamente la actividad como intercalantes de ADN e inhibidores de topoisomerasa II, ambos programas de docking coinciden que los mejores compuestos son el 8.7 y 8.12, a los cuales sería de gran interés evaluar su actividad biológica.



A) Compuesto 8.7 (4-NO₂)



B) Compuesto 8.12 (4-OH) (3-OCH₃)

En rosa la pose obtenida por Forecaster y en amarillo la pose obtenida en MOE.

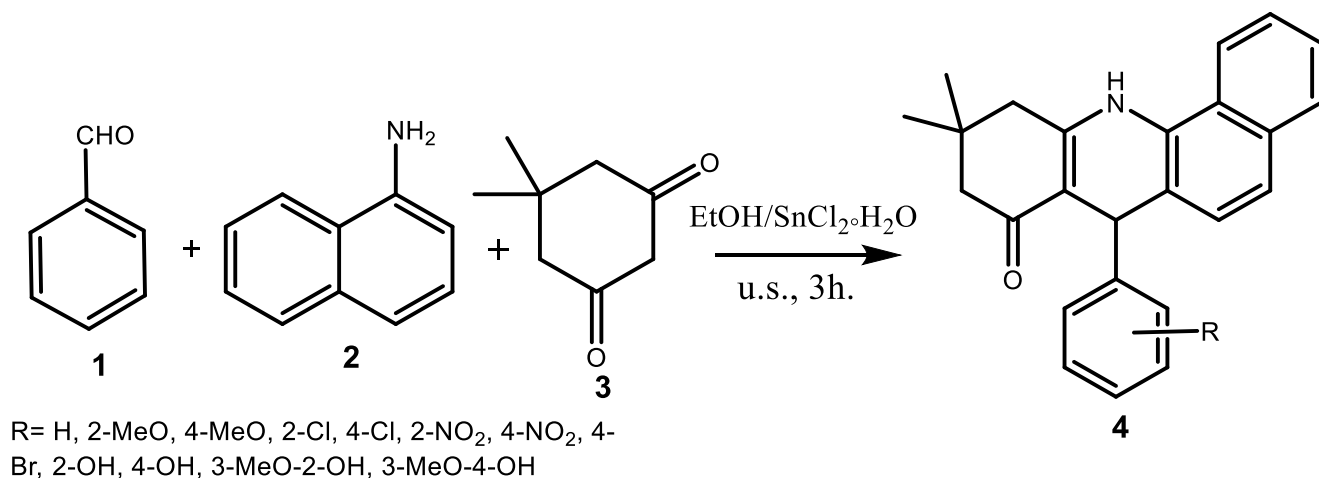
En cuanto al desempeño de los programas de docking, en general los resultados de afinidad coinciden y la información que se obtuvo de ambos programas fue complementaria para llevar a cabo el análisis. Realizar el docking con los mismos compuestos en 3 estructuras distintas,

permitió evaluar las funciones de estos en diferentes escenarios biológicos, logrando así obtener mayor información de su posible actividad biológica.

Las poses obtenidas para los compuestos en estos programas no coincidieron para los PDB 1D37 y 5HQ0, pero para el PDB 4G0U se obtuvieron prácticamente las mismas poses en todos los ligantes. Se obtuvo información más detallada del programa Forecaster para las estructuras pequeñas como lo es el PDB 1D37, pero para estructuras grandes como el PDB 4G0U fue con el programa MOE que se obtuvo mayor información.

4.2 Resultados experimentales

4.2.1 Construcción de los compuestos 4: 7-(R-fenil)-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona.



Esquema 2. Síntesis de compuestos 7-(R-fenil)-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona.

Para la primera parte de la síntesis propuesta, la primera reacción implicaba la construcción de las tetrahidrobenz[*c*]acridinas **4**, para lo cual se propuso llevar a cabo una reacción multicomponente de condensación utilizando dimedona, α -naftilamina y diferentes benzaldehídos.

Esta reacción ha sido reportada con anterioridad bajo distintas condiciones, se probaron algunas de ellas con el fin de tener una metodología optimizada para obtener la materia prima de las síntesis subsecuentes en el menor tiempo de trabajo y con los mayores rendimientos. El resumen de los experimentos efectuados se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7. Experimentos para la síntesis de 4.

Caso	Catalizador	Condiciones	Tiempo de Reacción	Rendimiento	Notas
1 ^[81]	Ninguno	Reflujo 100°C	4-6 h	60%	Se complica trabajar la reacción.
2 ^[71]	L-prolina	Agitación 25 °C	3-4 h	85-90%	
3 ^[83]	SnCl ₂ ·2H ₂ O	Sonicación	3 h	95-99%	
4	L-prolina	Sonicación	4 h	70%	Se complica trabajar la reacción.
5	L-prolina y SnCl ₂ ·2H ₂ O	Sonicación	2.5 h	95-99%	Precipitado a los 45min.

Estas metodologías se realizaron con benzaldehído y 4-OCH₃benzaldehído.

Primeramente, se descartaron los casos 1 y 4 debido a los bajos rendimientos obtenidos y a la difícil separación del producto y el medio de reacción. Para aislar el producto en ambos casos fue necesario extraerlo con bastantes lavados de Acetato de Etilo, mientras en las demás metodologías el producto fue fácilmente aislado por una filtración. Se esperaba que la prolina en sonicación incrementara los rendimientos, pero al contrario de esto, se obtuvieron rendimientos menores. Es posible que debido a las altas temperaturas que se obtienen con las ondas ultrasónicas la prolina se descomponga antes llevar a cabo la catálisis.

Se observó que al utilizar un catalizador el tiempo de reacción disminuye considerablemente, además de que las condiciones necesarias para obtener el producto son más suaves. Tanto la L-prolina como el cloruro de estaño II facilitan la adición del aldehído a la dimedona, pero no interfieren con el segundo paso de la adición de la naftilamina. Esto se observa con mayor énfasis en el caso 5 dónde se utilizaron ambos catalizadores y a los 45 minutos precipitó un sólido,

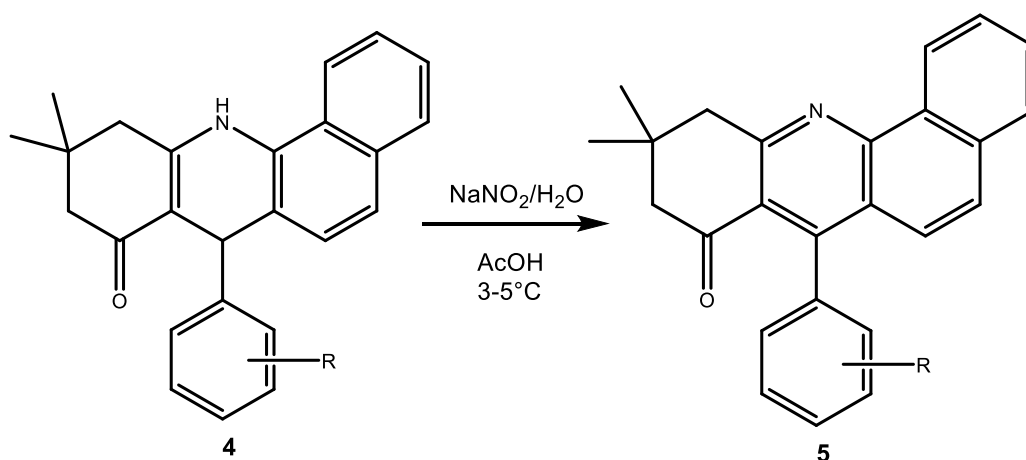
posiblemente este primer intermediario. Mientras que en los demás experimentos la precipitación de este sólido se observaba alrededor de las 2 horas de reacción.

Los mejores rendimientos y los menores tiempos se obtuvieron con la metodología 5, no obstante, se decidió utilizar la metodología 3, ya que se ahorra 1 catalizador y se obtenían los mismos rendimientos en tiempos similares.

La condensación de la dimedona, el benzaldehído y la α -naftilamina es lograda entre 2 y 4 horas al utilizar el catalizador SnCl_2 . Esta reacción se llevó a cabo con 12 benzaldehídos: 2-Cl benzaldehído, 4-Cl benzaldehído, 2-OMe benzaldehído, 4-OMe benzaldehído, 2- NO_2 benzaldehído, 4- NO_2 benzaldehído, 4-Br benzaldehído, 2-OH benzaldehído, 4-OH benzaldehído, o-vainillina, p-vainillina y benzaldehído. Para todos los compuestos se obtuvo un rendimiento entre 74-99%. Para purificar los compuestos obtenidos se intentó en un inicio por recristalización con DMF-Dioxano, agua-acetona, etanol y etanol-agua, pero los rendimientos eran muy bajos. Posteriormente se purificó por cromatografía en columna utilizando sílica, pero las condiciones ácidas y oxidantes de la sílica aromatizan el producto volviendo imposible la separación. Por lo que finalmente fue posible llevar a cabo la purificación de estos compuestos por cromatografía en columna utilizando alumina neutra, se obtuvieron en todos los casos sólidos blancos.

De manera general los productos presentan señales de IR (cm^{-1}) en: 3325-3290 correspondientes al enlace N-H, 3080-3040 correspondientes al enlace C-H en los anillos aromáticos, 2960-2950 correspondientes al enlace C-H en los metilos, 2928-2925 correspondientes a los metilenos (C-H), 1735-1700 correspondientes al doble enlace C=O en la cetona cíclica, 1257-1259 del enlace C-N correspondiente al heterociclo de nitrógeno. Para RMN- ^1H (ppm) presenta señales en: 0.99 (s, 3H) perteneciente a un CH_3 , 1.07 (s, 3H) perteneciente al otro CH_3 , 2.16-2.29 (dd, 2H) perteneciente a un CH_2 de la cetona cíclica, 2.61-2.74 (dd, 2 H) perteneciente al CH_2 de la cetona cíclica, 5.17 (s, 1 H) perteneciente al CH del heterociclo central, 6.63-7.77 (m, 8H) correspondiente a los hidrógenos aromáticos, 8.45 (d, 1H) correspondiente al H aromático en posición 1 y 9.26 (s, 1 H) perteneciente a NH.

4.2.2 Construcción de los compuestos 5: 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9*H*)-ona .



R= H, 2-MeO, 4-MeO, 2-Cl, 4-Cl, 2-NO₂, 4-NO₂, 4-Br, 2-OH, 4-OH, 3-MeO-2-OH, 3-MeO-4-OH.

Esquema 4. Síntesis de 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9*H*)-onas.

A continuación, se realizó la aromatización de los compuestos **4**. Fue necesario un agente oxidante para llevar a cabo la aromatización en estos compuestos, el más común y el único reportado es el trióxido de cromo. Se buscaron nuevas propuestas con reactivos oxidantes que fueran más amigables con el ambiente, estas se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Experimentos para la síntesis de 5.

Caso	Agente oxidante	Condiciones	Tiempo de Reacción	Rendimiento
1 ^[81]	CrO ₃ /AcOH	25°C	45-90 min	20-35%
2	MnSO ₄ •H ₂ O/Oxone/H ₂ O	25°C	1-4h	NA
3	NaNO ₂ /AcOH	3-5°C	1-2h	40-60%

Estas metodologías se realizaron con los compuestos 4.3 (4-OMe), 4.5 (4-Cl) y 4.7 (4-NO₂).

Cortés y sus colaboradores reportaron las condiciones del caso 1 con anterioridad, donde se genera ácido crómico in situ, este reactivo es un ácido de Lewis y un poderoso oxidante. Bajo estas condiciones se logró obtener los compuestos 5. Sin embargo, fueron necesarias grandes cantidades de anhídrido crómico y se obtuvieron bajos rendimientos. Por otro lado, durante la reacción se generan residuos de cromo IV y III que tienen efectos negativos en los mantos acuíferos, en los suelos y en grandes cantidades provocan daños genéticos como el cáncer.

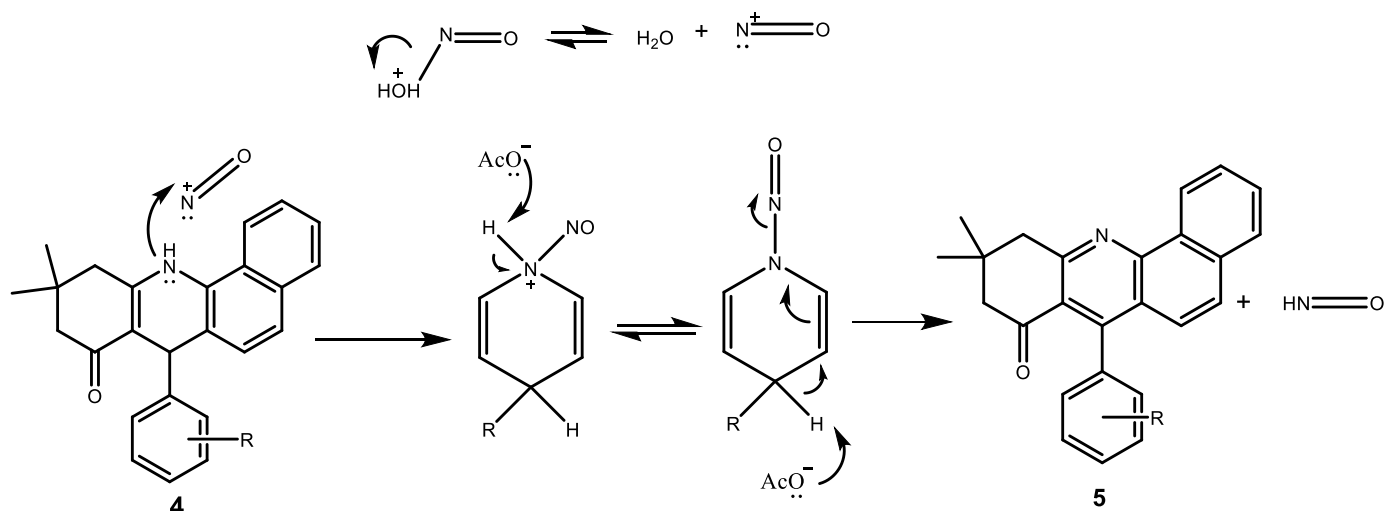
Por estas razones es que se decidió probar otras alternativas para llevar a cabo la aromatización de los compuestos 4. Para el caso 2 se utilizó sulfato de magnesio y Oxone en medio acuoso, pensando en que estos reactivos son menos costosos y no dañan al medio ambiente. Desafortunadamente, esta opción fue descartada ya que no se obtuvo el producto bajo estas condiciones.

Finalmente, se seleccionó la metodología 3, utilizando nitrito de sodio disuelto en agua y medio ácido fue posible aromatizar el heterociclo central en 2 horas a baja temperatura y agitación y así obtener los compuestos 5. Con esta opción se obtuvieron los mejores rendimientos y además se utilizaron reactivos que no contaminan al medio ambiente.

Una vez optimizada la metodología se llevó a cabo esta reacción con todos los compuestos 4 con sus diferentes sustituyentes. Los productos finales fueron purificados por cromatografía en columna de sílice y se obtuvieron sólidos cristalinos blancos en todos los casos.

En general, se obtuvieron los mejores rendimientos para los compuestos cuyo sustituyente en el anillo aromático (R) se encuentra en posición 4. Para explicar estos resultados se propone el siguiente mecanismo de reacción (**Esq.15**).

Como se observa en el mecanismo, es necesario que una base, en este caso el acetato abstraiga el protón en la posición 4 del heterociclo. Para los compuestos con un sustituyente en (R) en posición 2, el acceso al protón queda impedido por el sustituyente, dificultando que la base se acerque al sitio reactivo. Es por ello que es necesario más tiempo para efectuar la reacción y se obtienen menores rendimientos.



Esq. 15 Mecanismo de reacción de la aromatización de 4 con $\text{NaNO}_2/\text{AcOH}$

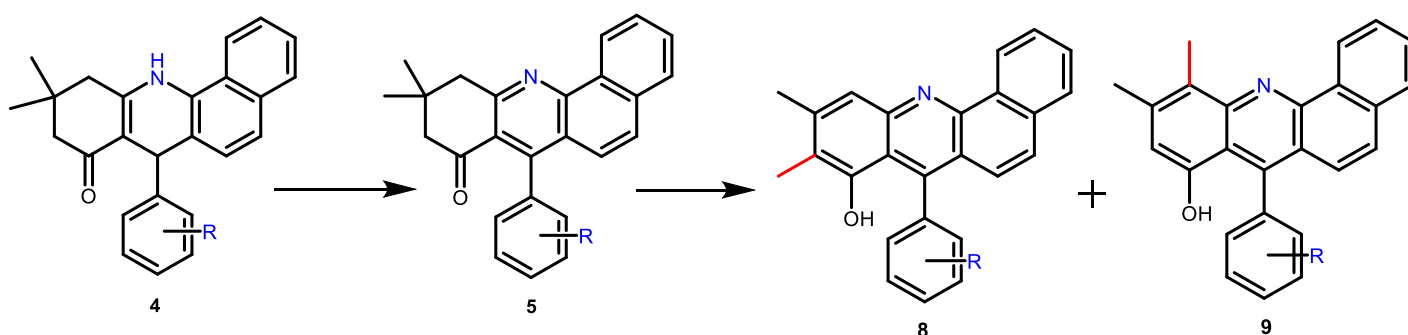
De la familia de compuestos sintetizada, 5 de ellos, los compuestos 5.6 (2- NO_2), 5.9 (2-OH), 5.10 (4-OH), 5.11 (2-OH-3- OCH_3) y 5.12 (3- OCH_3 -4-OH) se reportan por primera vez en este trabajo.

Los productos fueron caracterizados por espectroscopia de infrarrojo, espectroscopia de masas o resonancia magnética nuclear de protón y carbono. De manera general los productos presentan señales de IR (cm^{-1}) en: 3050-3070 correspondientes a los anillos aromáticos (C-H), 2955-2950 correspondientes a los metilos (C-H), 2933-2930 correspondientes a los metilenos (C-H) y 1685 correspondiente a la cetona cíclica (C=O). Para RMN- ^1H (ppm) presenta señales en: 1.19 (s, 6H) perteneciente a los dos CH_3 , 2.59 (s, 2H) perteneciente a un CH_2 de la cetona cíclica, 3.39 (s, 2 H) perteneciente al otro CH_2 de la cetona cíclica, 7.04-7.87 (m, 9H) correspondiente a los hidrógenos aromáticos, 9.35 (m, 1H) correspondiente al H aromático en posición 1.

4.2.3 Exploración encaminada a la construcción de los compuestos 8 y 9.

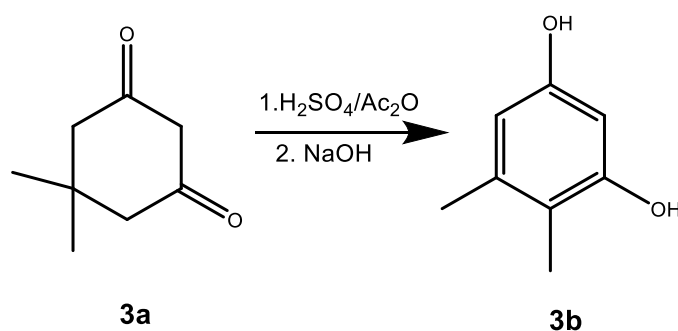
Según los resultados de docking los compuestos con mayor afinidad al ADN son los compuestos 8 y 9, ya que estos tienen un esqueleto de anillos aromáticos completamente. Para sintetizarlos se propuso partir de los compuestos 4 o 5 y realizar una aromatización en el anillo de la

ciclohexanona. Esto podría lograrse de manera similar a lo que se reporta para el caso de las dicetonas cíclicas como lo es la dimedona.



Esq. 10 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 8 y 9.

Se exploró esta reacción con la 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona, que es una de las materias primas para obtener **4**, con la finalidad de obtener una metodología optimizada y aislar los intermediarios participantes. Esto nos permitiría dilucidar el mecanismo que se sigue en la reacción, además de conocer mejor las condiciones de la misma, todo esto con el objetivo de proponer con bases sólidas las condiciones en las cuales se podría trasladar esta reacción a los compuestos **4** o **5**.



Esquema 6. Aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.

La aromatización de la dimedona **3a** para obtener el compuesto 4,5-dimetil-1,3-dihidroxibenceno se realizó de acuerdo a tres metodologías, estas se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Experimentos realizados para la síntesis de 3b.

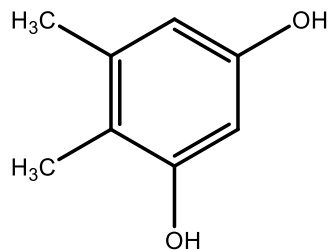
Caso	Reactivos	Condiciones	Tiempo de reacción	de Rendimiento
1 ^[96]	H ₂ SO ₄ /Ac ₂ O	Reflujo 100°C	3h	80%
2 ^[99]	H ₂ SO ₄ /TFAA	Reflujo 100°C	12h	50%
3 ^[100]	TMOF/I ₂	Agitación a 25°C	6h	Mezcla de productos.

Se llevó a cabo la aromatización del anillo de la cetona cíclica, utilizando ácido sulfúrico, anhídrido acético y calentamiento a reflujo. Para obtener el producto 4,5-dimetil-1,3-diacetoxibenceno (**3e**). Posteriormente se realizó una hidrólisis y se obtuvo el producto **3b** con 80% de rendimiento.

Se probaron otras dos alternativas buscando obtener mejores rendimientos. Las condiciones del caso 2 parecían una buena opción, ya que la hidrólisis se realizaba en el mismo medio de reacción sin necesidad de trabajar la reacción. Sin embargo, con esta metodología se obtuvo un menor rendimiento y el tiempo de reacción se incrementaba bastante. Se intentaron las condiciones del caso 3, utilizando trimetilortoformiato y yodo, se esperaba obtener el producto 4,5-dimetil-1,3-dimetoxibenceno que después se hidrolizaría para obtener a 3b. Esta opción fue descartada ya que se obtenía además del producto deseado la α -yodocetona, ^[100] lo que disminuía el rendimiento de la reacción.

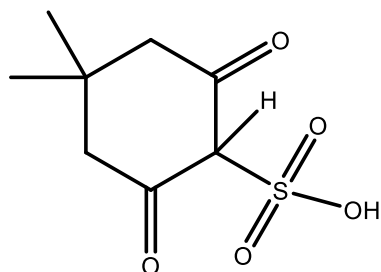
Para profundizar el estudio de esta reacción y poder proponer un mecanismo, se llevó a cabo la metodología 1 y se lograron separar algunos de los intermediarios formados. Para aislar los intermediarios en la reacción se tomaron alícuotas durante el transcurso de ésta. Se observó la precipitación de un sólido a los 20 minutos después de la adición del ácido sulfúrico, este sólido fue filtrado y analizado **3e**. Se controló el avance de la reacción cada media hora, se observó la formación de un subproducto mayoritario a las 2h de haber comenzado la temperatura de reflujo, este fue separado por cromatografía en columna **3c**. Finalmente, antes de realizar la hidrólisis se separó el compuesto 4,5-dimetil-1,3-diacetoxibenceno **3d**.

Una vez separados, se caracterizaron el producto final y los intermediarios:



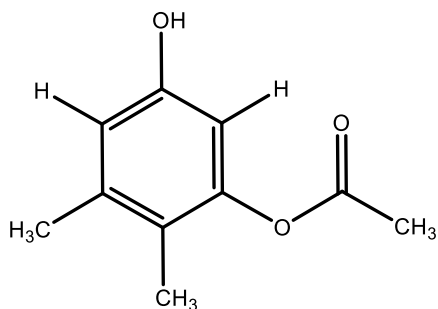
Compuesto 3b: 4,5-dimetil-1,3-dihidroxibenceno

En el espectro de IR (cm^{-1}) se observó la banda característica del enlace O-H en 3406, la banda del estiramiento C-H aromático en 3074, la banda del estiramiento C-H para los metilos en 2928, y la banda para el enlace C-O en fenoles en 1203. El espectro de RMN- H^1 (ppm) presenta señales en 2.07 perteneciente al metilo en posición 4 (s, 3H), en 2.21 perteneciente al metilo en posición 5 (s, 3H), en 4.72 correspondientes a los OH (s, 2H), y en 6.20 (d, 1H) y 6.27 (d, 1H), pertenecientes a los hidrógenos aromáticos. El espectro de masas indicó el ion molecular en 138.



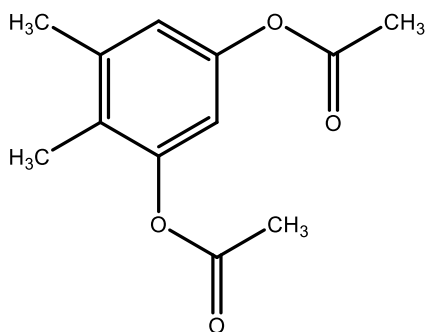
Compuesto 3c: ácido 4,4,-dimetil-2,6-dioxociclohexano-1-sulfónico

Este intermediario se caracterizó por RMN- H^1 (ppm) en dos disolventes. En CDCl_3 se observe la señal en 1.15 (s, 6H) correspondiente a los dos metilos, la señal en 2.41 (s, 4H) correspondiente a los metilenos, la señal en 5.97 (s, 1H) correspondiente al metino y en 8.35 (s,1H) correspondiente al OH.



Compuesto 3d: 5-hidroxi-2,3-dimetilfenil acetato

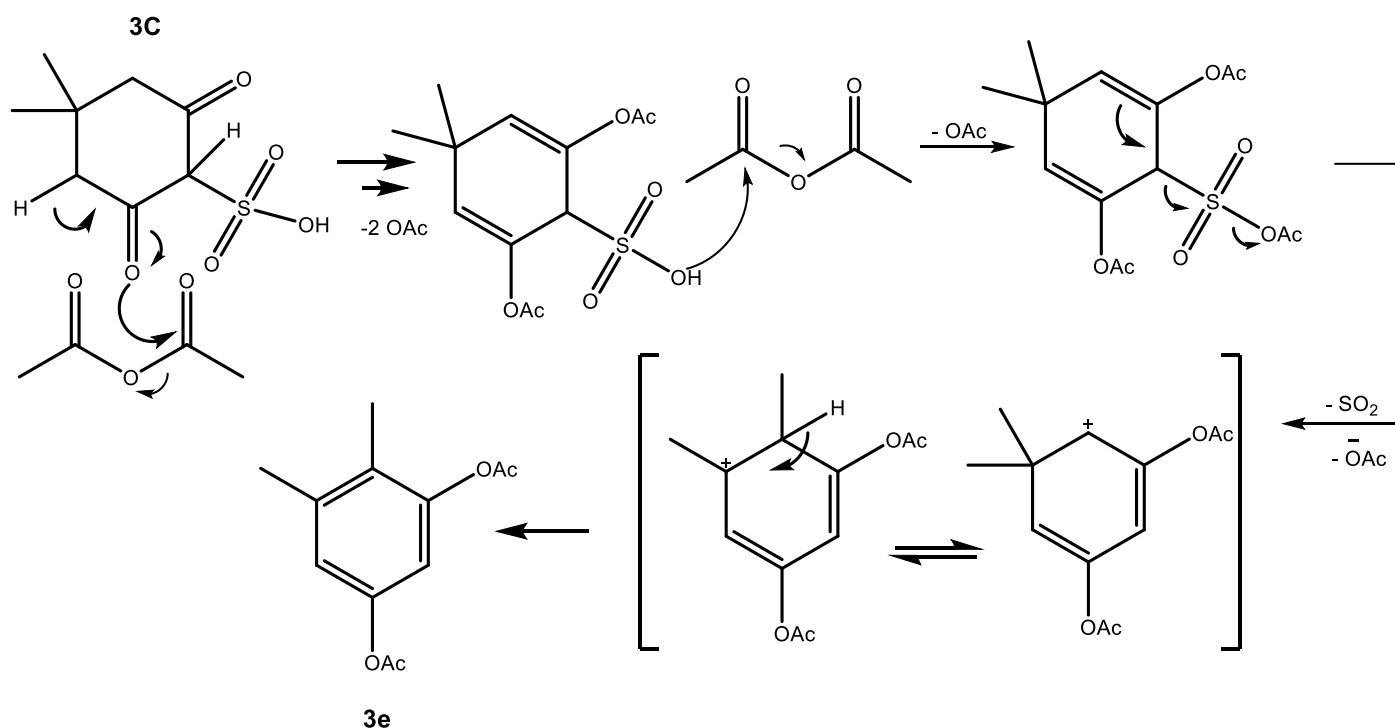
El espectro de IR (cm^{-1}) presenta la banda característica del enlace O-H en 3396, la banda de los aromáticos no se observa porque la banda del OH es muy ancha y la cubre, se observa la banda del enlace C-H de metilos en 2925, la banda para ésteres en 1756 (C=O), y las bandas para los enlaces C-O en 1206 (fenol), 1127 y 1072. El espectro de RMN- H^1 (ppm) presenta una señal en 1.98 (s, 3H) perteneciente al metilo en posición 2, en 2.24 (s, 3H) perteneciente al metilo en posición 3, en 2.31 (s, 3H) perteneciente al acetato y en 6.56 (d, 1H) y 6.38 (d, 1H) correspondientes a los hidrógenos aromáticos. El Espectro de Masas indicó el ion molecular en 180.



Compuesto 3e: 4,5-dimetil-1,3-diacetoxibenceno

En el espectro de IR (cm^{-1}) se identificó la banda en 2932, correspondiente al enlace C-H de los metilos, en 1758 correspondiente a los carbonilos (C=O) y las bandas correspondientes a los enlaces C-O de los ésteres en 1185, 1120, 1074 y 1021. En el espectro de RMN- H^1 (ppm) se identificó la señal en 2.09 (s, 3H), correspondiente al metilo en posición 4, en 2.31 (s, 3H) correspondiente al metilo en posición 5, en 2.33 (s, 3H) correspondiente al acetato en posición 1, en 2.36 (s, 3H) correspondiente al acetato en posición 3, y en 6.86 (d, 1H) y 6.74 (d, 1H) correspondientes a los hidrógenos aromáticos. El espectro de masas mostró el ion molecular en 222.

Tomando en cuenta los intermediarios aislados se propone el siguiente mecanismo para la reacción de aromatización de la dimedona (**Esq. 16**).

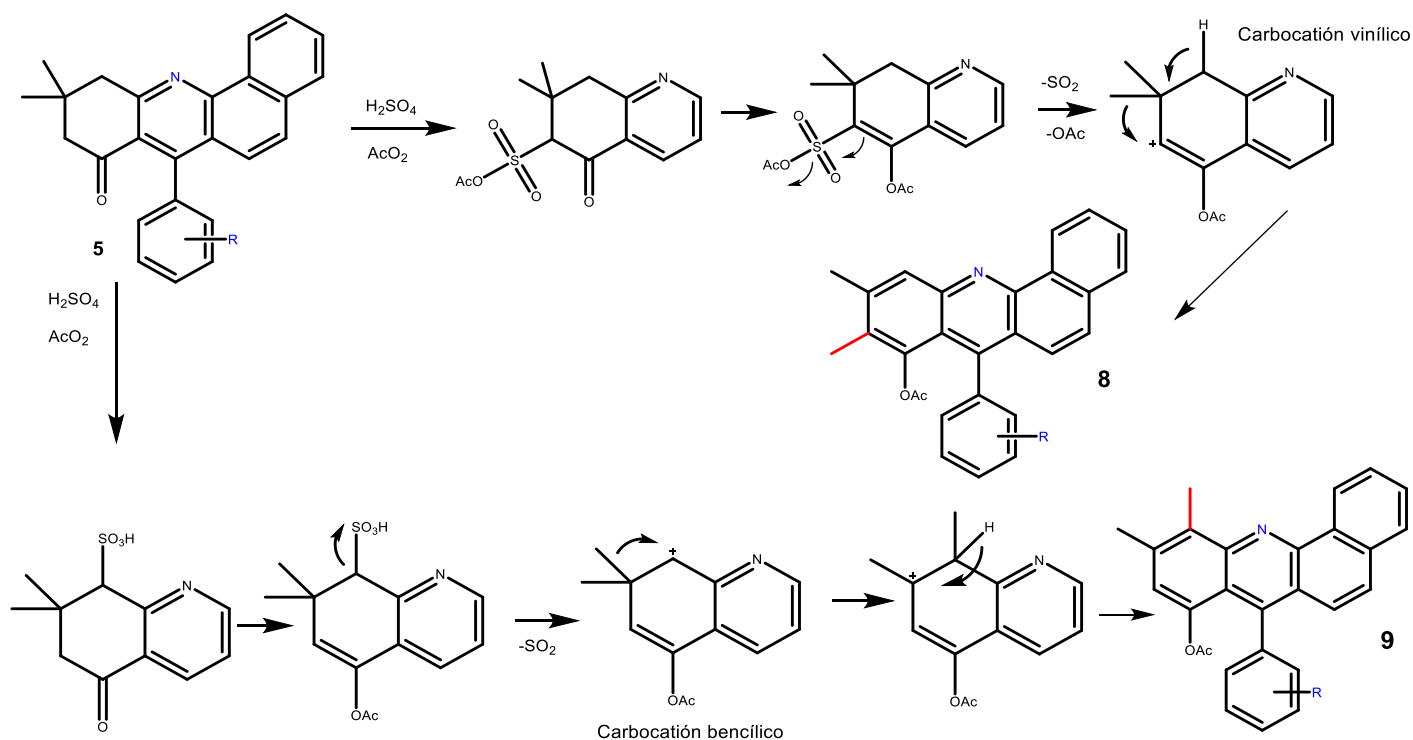


Esq. 16 Mecanismo para la aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.

Al haber un exceso de anhídrido acético los enoles se forman al acetilarse las cetonas, pero es posible también formar el enol simplemente protonando las cetonas, lo que daría lugar al compuesto **3d**. Kablaoui ^[96] había propuesto un mecanismo sobre esta reacción donde el ácido sulfúrico se adicionaba entre los metilos y una cetona. Al obtenerse el intermediario **3c** se descarta este mecanismo y se confirma que éste se adiciona entre las dos cetonas ya que esta posición es la que presenta los hidrógenos más ácidos.

El objetivo de este estudio de exploración fue poder proponer un mecanismo más acertado de esta reacción en los compuestos **5**. El primer problema que surge es que la acidez de los metilenos en el compuesto **5** es menor al de la dimedona, esto nos lleva a pensar que tal vez el anhídrido acético no sea capaz de abstraerlos. El segundo problema que se presenta en este caso, es elegir que protones son más ácidos, los que se encuentran en el carbono α al anillo aromático o los del carbono α al carbonilo y por ende es difícil predecir hacia dónde ocurriría la migración del metilo.

Sin embargo, al desarrollar el posible mecanismo en ambas posiciones en una se obtiene como intermediario un carbocatión bencílico secundario y en la otra un carbocatión vinílico (**Esq. 17**). La estabilidad del carbocatión bencílico nos lleva a pensar que ésta sería la posición hacia dónde migraría el metilo, por lo que se espera obtener en mayor proporción el compuesto **9**.



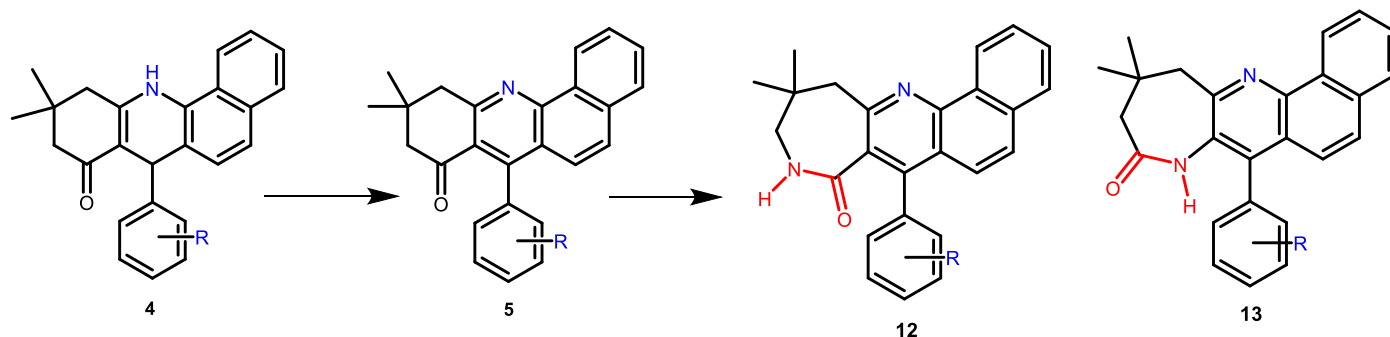
Esq. 17 Mecanismo propuesto para la reacción de aromatización en los compuestos **5**.

4.2.4 Exploración encaminada a la construcción de los compuestos **12** y **13**.

De acuerdo con los resultados del docking, los compuestos **12** y **13** con un anillo de lactama y todos los demás anillos de la molécula aromáticos, son buenas opciones como fármacos anticancerígenos debido a su actividad en el ADN.

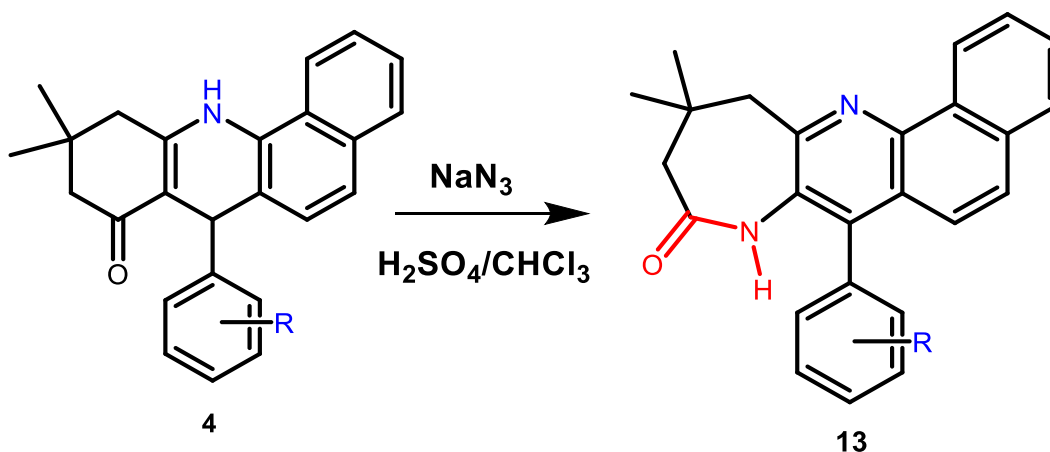
Para empezar a explorar la síntesis de estos compuestos, se propuso la reacción de Schmidt para construir el anillo de lactama en la materia prima **4**. Se esperaba obtener una mezcla de los isómeros **10** y **11**, con una mayor proporción del compuesto **11** ya que en las cetonas cíclicas

asimétricas normalmente se prefiere la migración arílica o del carbono α más sustituido frente al nitrógeno. Si este paso funcionaba bien, se procedería a aromatizar el heterociclo central o bien intentar esta reacción directamente en los compuestos **5** y así obtener los compuestos **12** o **13**.



Esq. 12 Ruta de síntesis lineal propuesta para la construcción de los compuestos 12 y 13.

Como primera opción se utilizaron las condiciones originales de esta reacción con azida de sodio y ácido sulfúrico en calentamiento. Se obtuvo un solo producto con 30% de rendimiento, y a diferencia de lo que se esperaba, el producto obtenido fue **13**. Es decir, en un solo paso se aromatizó el compuesto y se formó la lactama. Esto resulta ser muy favorable ya que se ahorra un paso de la metodología propuesta originalmente (**Esq. 18**).



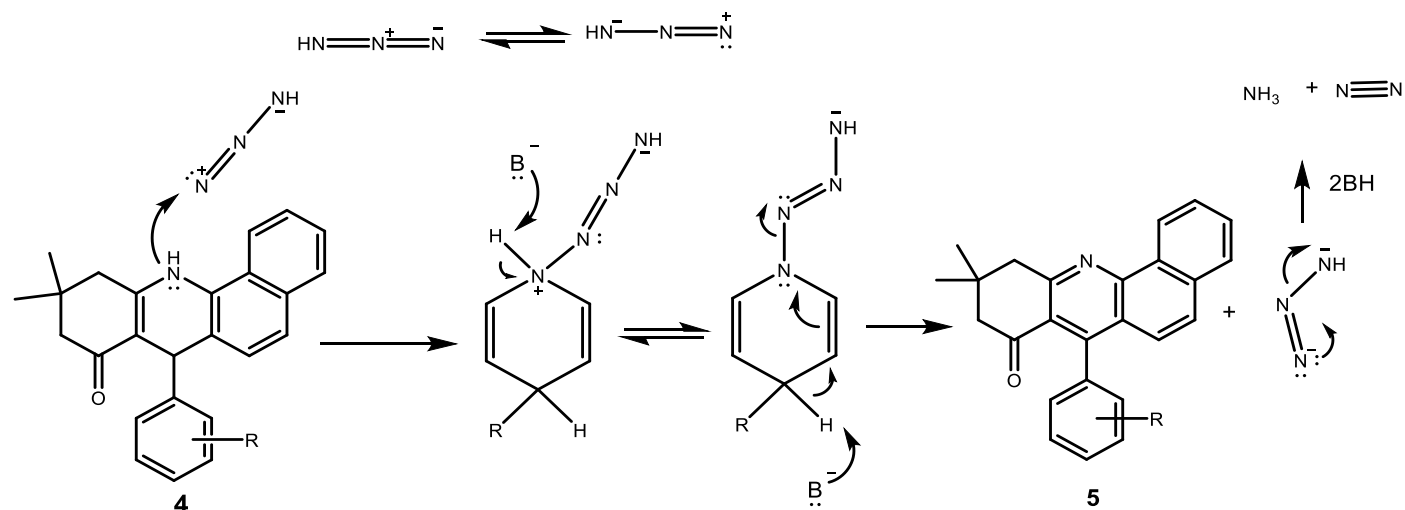
Esq. 18 Síntesis de 11,11-dimetil-7-fenil-8,10,11,12-tetrahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h]quinolin-9-ona.

Buscando incrementar el rendimiento de la reacción, se propusieron otras dos metodologías con condiciones más suaves, utilizando ácidos más débiles o bien con menor temperatura de reacción. Los experimentos realizados se detallan en la Tabla 10.

Tabla 10. Experimentos para la síntesis de 13.

Casos	Reactivos	Condiciones	Tiempo de reacción	Rendimiento
1 [101]	NaN ₃ /H ₂ SO ₄	Reflujo 100°C	1-2h	30%
2	NaN ₃ /TFA/CHCl ₃	Agitación 25°C	12h	Producto 5
3	NaN ₃ /H ₂ SO ₄ /CHCl ₃	Agitación 25°C	4h	50%

Para el caso 2 se utilizó ácido trifluoroacético en cloroformo y agitación. Tras 12 horas de reacción se observó la formación de un producto que no era el esperado. Se obtuvo el compuesto **5**, bajo estas condiciones se había aromatizado el heterociclo solamente y no hubo formación de la lactama. Es posible que esto se deba al ácido utilizado, el TFA al ser un ácido más débil no pudiera protonar la cetona y formar el carbocatión sobre el cual se realizaría la expansión de Schmidt. Por otro lado, el obtener el producto **5** nos rectificaba que en medio ácido y en presencia de la azida de sodio era posible llevar a cabo la aromatización de **4**. El mecanismo que se propone para esta reacción es similar al propuesto anteriormente para la reacción con NaNO₂ y explicaría porque en el caso 1 y 3 se obtuvieron los compuestos **13** no solo con la lactama sino también con el heterociclo aromatizado.



Esq. 19 Mecanismo propuesto para la aromatización con NaN₃ en medio ácido.

Se decidió entonces regresar al ácido sulfúrico, pero esta vez utilizando como disolvente cloroformo y solamente en agitación a temperatura ambiente (caso 3). Tras 4 horas de reacción se obtuvo nuevamente el producto **13**, logrando incrementar el rendimiento a 50%. Después de purificar por columna de cromatografía el producto, se obtuvo un sólido blanco que fue caracterizado por RMN y EM.

Con el espectro de resonancia se comprobó que el isómero obtenido era **13**, ya que ambas señales para los metilenos en 2.04 (s, 2H) y 2.95 (s, 2H) y la señal para el enlace N-H en 10.06 (s, 1H) fueron todas singuletes. De haberse obtenido el isómero **12** la señal del metileno adyacente al N-H y la señal del enlace N-H presentarían multiplicidad al acoplamiento. Esto coincide con lo esperado inicialmente, ya que este isómero es el resultado de la migración arílica en la transposición de Schmidt, normalmente este isómero se obtiene en mayor proporción debido a que el anillo aromático estabiliza la carga positiva de los iones nitrilio en los intermediarios. Además de que normalmente se prefiere la migración del carbono α más sustituido, ya que cuando se forma el ion diazonioiminio este se orienta hacia el sustituyente menos voluminoso.

Esta reacción se llevó a cabo con el compuesto 4.3 cuyo sustituyente es 4-OCH₃, se observó que durante la reacción este fue hidrolizado y al final se obtuvo el compuesto 13.10 con el sustituyente 4-OH, la señal para el metoxilo no se presenta en el espectro de RMN y se comprobó con la espectroscopia de masas al obtener el ión molecular 384. Con la metodología presentada, se espera poder obtener la familia de compuestos **13** con los diferentes sustituyentes en el anillo aromático R.

5. Conclusiones

Se propuso una serie de nuevos compuestos a partir de la funcionalización del compuesto 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**4**) y a partir de su estudio teórico de docking en tres diferentes receptores se identificó que los que presentan una mayor afinidad al ADN son los compuestos **8** y **9**.

A partir del estudio de docking se encontró que los factores que contribuyen a la afinidad de las moléculas tanto al ADN como a las enzimas son: la presencia de grupos funcionales que puedan formar interacciones por puente de hidrógeno en el sitio activo, el número de anillos aromáticos en la molécula y la posición de los sustituyentes ya que algunas posiciones favorecen las interacciones con el sitio activo por la cercanía, mientras en otras el impedimento estérico aleja a las moléculas del sitio activo.

Contrario a lo que se esperaba en la hipótesis de este trabajo, los compuestos con un anillo de lactama en su estructura (**10-13**) no presentaron actividad como inhibidores de la enzima CDK-1.

Tomando en cuenta solamente la actividad como intercalantes de ADN e inhibidores de topoisomerasa II, los compuestos 8.7 y 8.12 presentan la mayor posibilidad de funcionar como fármacos anticancerígenos.

Se logró optimizar obteniendo buenos rendimientos la síntesis de los compuestos 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**4**) y 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenz[*c*]acridin-8(9*H*)-ona (**5**), se sintetizó una familia de 12 compuestos para cada uno.

Se exploró el mecanismo de la reacción de aromatización de cetonas cíclicas logrando aislar algunos intermediarios claves para estudiar el mecanismo de reacción. Se propuso una metodología para obtener los compuestos 7-(R-fenil)-9,10-dimetil-benz[*c*]acridin-8-ol (**8**) y 7-(R-fenil)-10,11-dimetil-benz[*c*]acridin-8-ol (**9**).

Utilizando las condiciones de la reacción de Schmidt se sintetizó el compuesto 7-OH-fenil-11,11-dimetil-8,10,11,12-tetrahidro-9*H*-azepino[3,2-*b*]benzo[*h*]quinolin-9-ona (**13.10**) logrando la expansión del anillo y la aromatización del heterociclo en un solo paso a partir de la materia prima **4.3**. Con la metodología propuesta se espera poder obtener la familia de compuestos **13**.

6. Sección Experimental

6.1 Metodología de los cálculos teóricos

El estudio de docking se llevó a cabo en dos programas: Molecular Forecaster suite 2014 (FITTED Front-end v. 2.0) y Molecular Operating Environment (MOE 2015.10). Los receptores utilizados en ambos programas fueron descargados de Protein Data Bank. Se utilizaron los archivos PDB 1D37 correspondiente a media hebra de ADN con un fármaco intercalante, el PDB 4G0U correspondiente al complejo de la enzima humana topoisomerasa II con ADN y con el inhibidor amsacrina y el PDB 5HQ0 correspondiente al complejo de la enzima humana CDK1-Ciclina B con un inhibidor.

Molecular Forecaster

Los ligantes se dibujaron en ChemBioDraw Ultra y utilizando el programa Molecular Forecaster se prepararon para el docking con el procedimiento preestablecido en el programa (CONVERT/SMART). A las estructuras cristalinas en formato PDB se añadieron los hidrógenos y se optimizaron igualmente con el procedimiento preestablecido (PREPARE/PROCESS). Para realizar el docking se utilizó FITTED v. 2.0 y se seleccionó la opción de docking a pequeñas moléculas con ADN o proteínas según fuera el caso. Para todos los cálculos se tomaron en cuenta las aguas cristalográficas, seleccionando un docking flexible y no covalente. Se seleccionaron 3 corridas para cada ligante tanto de optimización como de docking. En todos los casos se validó el procedimiento realizando el auto-docking con el ligante propio de cada estructura cristalina confirmando que el ligante y la pose del docking coincidieran en un rango menor a 2 Å.

Del resultado obtenido para cada compuesto se seleccionó la mejor pose tomando como criterio la menor energía ($U = k \text{cal/mol}$) de cada optimización y el Score obtenido de esta posición del ligante se comparó con el resto de los ligantes evaluados. Se calculó el porcentaje de afinidad para cada ligante evaluado comparando el score calculado con el score obtenido del ligante original de cada estructura cristalina. Para cada caso se evaluaron las interacciones de los ligantes en el sitio de unión con el receptor utilizando el visualizador Discovery Studio 4.5 Client.

Moe

Los ligantes fueron construidos en MOE utilizando *Builder Tool* y se minimizó su energía (Amber 12:EHT). Las estructuras cristalográficas en formato PDB fueron procesadas utilizando *Quickprep*, que se encarga de corregir errores en la proteína, añadir hidrógenos y calcular las cargas parciales. Se eliminaron todas las aguas exceptuando aquellas cercanas al sitio activo. El sitio activo fue definido en el caso de los PDB 1D37 y 5HQ0 a 4.5 Å del ligante en cada estructura cristalina. En el caso del PDB 4G0U el sitio activo fue definido a 9 Å del ligante. El estudio de docking se llevó a cabo utilizando el procedimiento preestablecido con el algoritmo de posing *Triangle Matcher* y la función de scoring *London dG*. Las poses finales fueron reevaluadas con *Induced Fit* utilizando la opción de las cadenas laterales flexibles y la función de scoring *GBVI/WSA dG*.

En todos los casos se validó el procedimiento realizando el auto-docking con el ligante propio de cada estructura cristalina confirmando que el ligante y la pose del docking coincidieran en un rango menor a 2 Å.

Del resultado obtenido para cada compuesto se seleccionó la mejor pose tomando como criterio la menor energía de score (U= kcal/mol) de cada optimización. El Score obtenido de esta posición del ligante se comparó con el resto de los ligantes evaluados. Se calculó el porcentaje de afinidad para cada ligante evaluado comparando el score calculado con el score obtenido del ligante original de cada estructura cristalina. Para cada caso se evaluaron las interacciones de los ligantes en el sitio de unión con el receptor utilizando en MOE los mapas de interacciones en 2D y el visualizador Discovery Studio 4.5 Client.

6.2 Metodología Experimental

Los reactivos utilizados fueron adquiridos con proveedores comerciales (Sigma Aldrich, Merck, JT Baker).

Los disolventes Hexano y Acetato de etilo fueron utilizados previamente tratados con hidróxido de sodio y carbonato de potasio respectivamente y posteriormente destilados.

Las cromatografías en columna se realizaron usando gel de sílice Merck F250 o bien Óxido de aluminio neutro JT Baker.

El avance de las reacciones se monitoreó por cromatografía en capa fina con cromatofolios (Merck, grosor 200µm, en soporte de aluminio); utilizando mezclas eluyentes de Hexano y Acetato de etilo. Como revelador se utilizó luz UV.

Las reacciones en sonicación se realizaron en un baño ultrasónico Branson 1510 R-MT con una frecuencia de 40kHz.

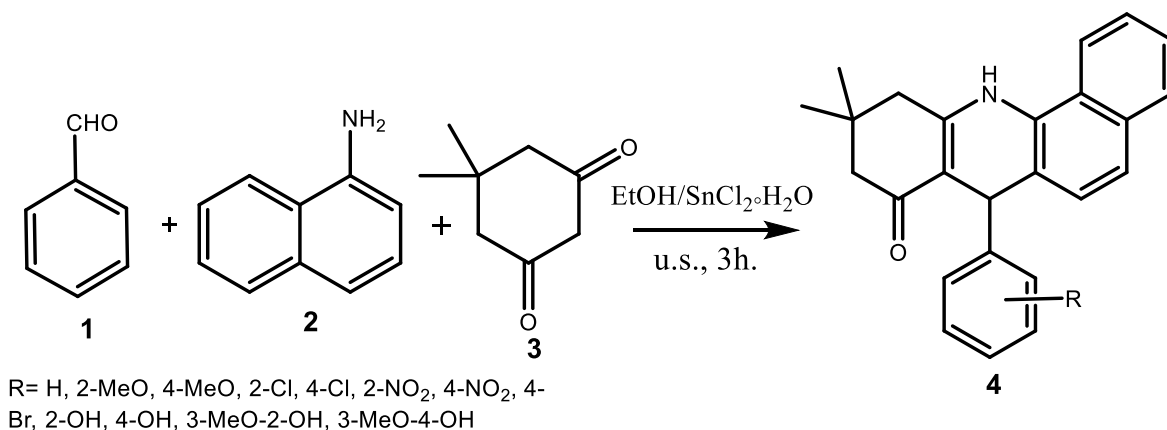
Los puntos de fusión fueron determinados con un aparato Melt-Temp II y no están corregidos.

Los espectros de RMN fueron obtenidos en un espectrómetro Varian VNMRS-400 para C¹³ y en un espectrofotómetro Varian 400-MR para H¹ en soluciones de cloroformo deuterado o dimetilsulfóxido deuterado, utilizando tetrametilsilano como estándar interno.

Los espectros de IR fueron determinados en un espectrofotómetro de FITR Perkin Elmer-Spectrum RXI con un rango de 4000 a 400 cm⁻¹ y con una resolución espectral mínima de 0.8 cm⁻¹, mediante una reflectancia total atenuada.

Los espectros de masas se obtuvieron con un espectrómetro de masas Leco Pegasus 4D.

Modelo general de síntesis para los compuestos 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-7,10,11,12-tetrahidrobenz[c]acridin-8(9H)-ona (4)



Esquema 2. Síntesis de compuestos 7-(R-fenil)-7,10,11,12-tetrahidrobenz[c]acridin-8(9H)-ona.

En un matraz pera de 100mL se disolvieron dimedona (1mmol), α -naftilamina (1 mmol) y el benzaldehído correspondiente (1 mmol) en 10mL de etanol. Se adicionó ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (0.2 mmol), la mezcla fue irradiada durante 3 o 4 h en un baño ultrasónico. El avance de la reacción se controló por cromatografía en placa fina. Al terminar la reacción se añadieron 15 mL de agua con hielo. El sólido amarillo precipitado se filtró. El producto se purificó por cromatografía de columna utilizando alumina y una mezcla de eluyentes Hexano: Acetato de etilo por gradientes, empezando en 90/10 hasta 80/20, obteniendo un sólido cristalino amarillo tenue.

Compuesto	Sustituyente R	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento	Punto de fusión (°C)
4.1	H	3	99.2%	258-260
4.2	2-OMe	4	95.2%	263-265
4.3	4-OMe	3	96.6%	210-212
4.4	2-Cl	3	91.2%	265-267
4.5	4-Cl	2	95.7%	285-288
4.6	2-NO ₂	4	98.7%	228-230
4.7	4-NO ₂	3	98.9%	281-283
4.8	4-Br	4	74.3%	274-276
4.9	2-OH	3	96.7%	219-221
4.10	4-OH	4	94.5%	283-285
4.11	2-OH(3-OCH ₃)	3	94.7%	297-299
4.12	4-OH(3-OCH ₃)	3	92.3%	270-272

Datos espectroscópicos:

Compuesto 4.1. IR (ATR, cm^{-1}): 3293, 3058, 2955, 2925, 1708, 1567, 1489, 1366, 1259, 754, 698; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 0.98 (s, 3H, CH_3), 1.06 (s, 3H, CH_3), 2.14-2.24 (dd, 2H, CH_2), 2.62-2.75 (dd, 2H, CH_2), 5.19 (s, 1 H, CH), 6.51-7.69 (m, 9H, Ar-H), 7.80 (d, 1H, Ar-H), 8.46 (d, 1H, Ar-H), 9.23 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: 353 m/z (19%), 351 (100%), 322 (35%), 295 (65%), 276 (63%), 267 (52%).

Compuesto 4.2. IR (ATR, cm^{-1}): 3331, 3061, 2956, 2853, 1688, 1597, 1516, 1489, 1385, 1242, 1150, 1027, 751; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.97 (s, 3H, CH_3), 1.06 (s, 3H, CH_3), 2.20-2.31 (dd, 2H, CH_2), 2.63-2.78 (dd, 2H, CH_2), 3.86 (s, 3H, CH_3O), 5.63 (s, 1 H, CH), 6.50-7.61 (m, 8H, Ar-H), 7.76 (d, 1H, Ar-H), 8.42 (d, 1H, Ar-H), 9.14 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: 383 m/z (8%), 381 (12%), 350 (100%), 276 (16%).

Compuesto 4.3. IR (ATR, cm^{-1}): 3348, 3002, 2956, 2869, 1590, 1493, 1372, 1252, 1174, 1036, 831, 808, 766, 748; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3), 2.02-2.25 (dd, 2H, CH_2), 2.61-2.74 (dd, 2H, CH_2), 3.69 (s, 3H, CH_3O), 5.15 (s, 1 H, CH), 6.71-7.69 (m, 8H, Ar-H), 7.79 (d, 1H, Ar-H), 8.45 (d, 1H, Ar-H), 9.22 (s, 1H, NH).

Compuesto 4.4. IR (ATR, cm^{-1}): 3209, 3059, 2957, 2869, 1716, 1586, 1494, 1369, 1250, 1148, 1035, 748; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.96 (s, 3H, CH_3), 1.06 (s, 3H, CH_3), 2.14-2.27 (dd, 2H, CH_2), 2.65-2.77 (dd, 2H, CH_2), 5.72 (s, 1 H, CH), 6.54-7.76 (m, 8H, Ar-H), 7.87 (d, 1H, Ar-H), 8.44 (d, 1H, Ar-H), 9.23 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: m/z 387 (3%), 351 (30%), 350 (100%), 276 (14%), 265 (16%), 207 (64%).

Compuesto 4.5. IR (ATR, cm^{-1}): 3333, 3065, 2958, 2871, 1603, 1570, 1489, 1372, 1260, 1148, 1089, 1013, 756; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.09 (s, 3H, CH_3), 2.06-2.24 (dd, 2H, CH_2), 2.61-2.73 (dd, 2H, CH_2), 5.24 (s, 1 H, CH), 6.84-7.72 (m, 8H, Ar-H), 7.81 (d, 1H, Ar-H), 8.36 (d, 1H, Ar-H), 9.27 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: m/z 387 (4%), 389 (8%), 327 (32%), 281 (20%), 253 (26%), 149 (100%), 135 (74%).

Compuesto 4.6. IR (ATR, cm^{-1}): 3318, 3061, 2957, 2870, 1683, 1593, 1523, 1493, 1368, 1258, 1150, 756; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.94 (s, 3H, CH_3), 1.03 (s, 3H, CH_3), 2.02-2.17 (dd, 2H, CH_2), 2.57-2.69 (dd, 2H, CH_2), 5.84 (s, 1 H, CH), 6.61-8.07 (m, 8H, Ar-H), 8.51 (d, 1H, Ar-H), 9.30 (s, 1H, NH); RMN- ^{13}C (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 26.9, 29.6, 32.6, 35.0, 50.12, 108.0, 119.9, 121.8, 122.8, 123.3, 123.7, 126.4, 126.5, 127.2, 127.7, 128.7, 131.5, 131.8, 133.1, 133.5, 142.9, 148.1, 152.2, 193.8.

Compuesto 4.7. IR (ATR, cm^{-1}): 3323, 3077, 2952, 2928, 1734, 1589, 1492, 1382, 1337, 1258, 1149, 1060, 799; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.96 (s, 3H, CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3), 2.07-2.27 (dd, 2H, CH_2), 2.66-2.76 (dd, 2H, CH_2), 5.40 (s, 1 H, CH), 7.26-7.23 (d, 1H, Ar), 7.45-7.61 (m, 6H, Ar-H), 7.81-7.83 (d, 1H, Ar-H), 8.05-8.08 (d, 1H, Ar-H), 8.48-8.51 (d, 1H, Ar-H), 9.37 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: m/z 398 (28%), 367 (16%), 340 (20%), 276 (100%), 266 (19 %), 207 (18%).

Compuesto 4.8. IR (ATR, cm^{-1}): 3329, 3060, 2957, 2870, 1731, 1598, 1568, 1486, 1371, 1259, 1148, 1009, 802, 755; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.96 (s, 3H, CH_3), 1.05 (s, 3H, CH_3), 2.01-2.24 (dd, 2H, CH_2), 2.61-2.73 (dd, 2H, CH_2), 5.19 (s, 1 H, CH), 6.83-7.56 (m, 8H, Ar-H), 7.81 (d, 1H, Ar-H), 8.43 (d, 1H, Ar-H), 9.27 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: m/z 431 (70%), 429 (58%), 402 (18%), 375 (20%), 294 (38%), 276 (100%), 266 (52%), 297 (62%).

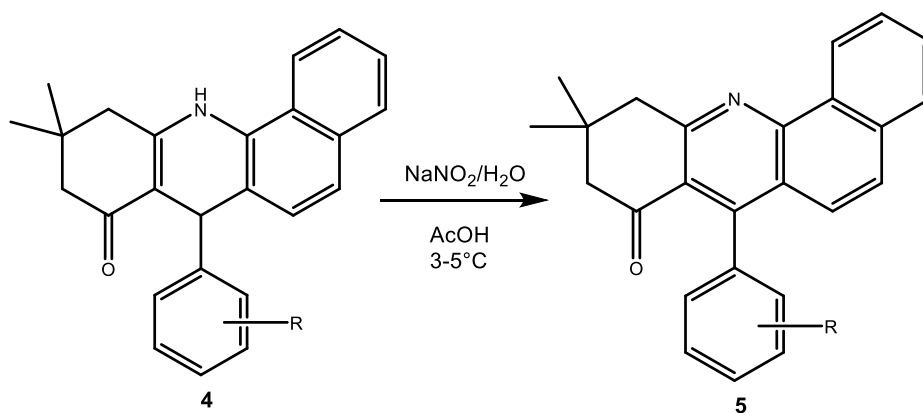
Compuesto 4.9. IR (ATR, cm^{-1}): 3223, 3056, 2957, 2927, 1644, 1609, 1579, 1487, 1369, 1272, 1233, 1147, 1034, 846, 830, 800, 754; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 1.0 (s, 3H, CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3), 2.04-2.27 (dd, 2H, CH_2), 2.48-2.68 (dd, 2H, CH_2), 5.84 (s, 1 H, CH), 6.56-7.86 (m, 8H, Ar-H), 8.47 (d, 1H, Ar-H), 8.92 (d, 1H, Ar-H), 9.31 (s, 1H, NH), 13.03 (s, 1H, OH).

Compuesto 4.10. IR (ATR, cm^{-1}): 3336, 3060, 2958, 2889, 1590, 1510, 1487, 1372, 1256, 1169, 1150, 1027, 770, 750; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 0.99 (s, 3H, CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3), 2.06-2.25 (dd, 2H, CH_2), 2.60-2.74 (dd, 2H, CH_2), 5.06 (s, 1 H, CH), 6.50-7.81 (m, 8H, Ar-H), 8.06 (d, 1H, Ar-H), 8.46 (d, 1H, Ar-H), 9.18 (s, 1H, NH).

Compuesto 4.11. IR (ATR, cm^{-1}): 3378, 3053, 2956, 2926, 1716, 1632, 1581, 1517, 1462, 1367, 1268, 1183, 1084, 764, 740; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 1.00 (s, 3H, CH_3), 1.06 (s, 3H, CH_3), 2.01-2.27 (dd, 2H, CH_2), 2.48-2.66 (dd, 2H, CH_2), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 5.55 (s, 1 H, CH), 6.51-7.52 (m, 8H, Ar-H), 7.86 (d, 1H, Ar-H), 8.01 (d, 1H, Ar-H), 8.48 (s, 1H, OH), 9.13 (s, 1H, NH).

Compuesto 4.12. IR (ATR, cm^{-1}): 3329, 3053, 2955, 2940, 1596, 1511, 1490, 1371, 1259, 1148, 1123, 1032, 767; RMN- ^1H (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 1.08 (s, 3H, CH_3), 1.13 (s, 3H, CH_3), 2.08-2.27 (dd, 2H, CH_2), 2.67-2.80 (dd, 2H, CH_2), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 5.13 (s, 1 H, CH), 6.89-7.61 (m, 8H, Ar-H), 7.85 (d, 1H, Ar-H), 8.48 (d, 1H, Ar-H), 8.65 (s, 1H, OH), 9.25 (s, 1H, NH).

Modelo general de síntesis para los compuestos 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9*H*)-onas (5)



R= H, 2-MeO, 4-MeO, 2-Cl, 4-Cl, 2-NO₂, 4-NO₂, 4-Br, 2-OH, 4-OH, 3-MeO-2-OH, 3-MeO-4-OH.

Esquema 4. Síntesis de 7-(R-fenil)-10,10-dimetil-10,11-dihidrobenc[*c*]acridin-8(9*H*)-onas.

En un matraz de fondo redondo de 20mL se disolvieron 0.1g (1Eq.) de **4** en 0.78mL de ácido acético, se colocó la disolución en un baño de hielo a 3-5°C en agitación. Se adicionaron lentamente 0.04g (2Eq.) de NaNO₂ disueltos en 0.33mL de agua. La mezcla se agitó durante 2.5hr a esta temperatura. Se monitoreo la reacción por cromatografía en placa fina, al término de esta se añadió agua fría. Se realizaron extracciones con 8 lavados de 5mL de Acetato de etilo, a la fase orgánica se le realizaron 3 lavados con 5mL de una disolución saturada de bicarbonato de sodio y luego dos veces con 5mL de una disolución saturada de cloruro de sodio. Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró el producto en el rotavapor obteniendo un aceite café. El producto se purificó con una columna de cromatografía utilizando 10.5g sílice utilizando como eluyente Hexano: Acetato de etilo 90/10. Se obtuvo un sólido cristalino blanco en todos los casos.

Compuesto **Sustituyente R** **Rendimiento**

5.1	H	50.1%
5.2	2-OCH ₃	25.1%
5.3	4-OCH ₃	60.1%
5.4	2-Cl	31.1%
5.5	4-Cl	58.2%
5.6	2-NO ₂	40.1%
5.7	4-NO ₂	41.1%
5.8	4-Br	38.2%
5.9	2-OH	49.1%
5.10	4-OH	45.1%
5.11	2-OH(3-OCH ₃)	40.1%
5.12	4-OH(3-OCH ₃)	43.2%

Datos espectroscópicos:

Compuesto 5.1. RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 1.20 (s, 6H, CH₃), 2.59 (s, 2H, CH₂), 3.44 (s, 2H, CH₂), 7.20-7.22 (m, 2H, Ar-H), 7.31 (d, 1H, Ar-H), 7.49-7.55 (m, 3H, Ar-H), 7.63 (d, 1H, Ar-H), 7.73-7.77 (m, 2H, Ar-H), 7.85 (m, 1H, Ar-H), 9.45 (m, 1H, Ar-H). RMN-C¹³ (400MHz, CDCl₃): 28.4, 32.5, 48.3, 54.2, 123.2, 123.9, 124.9, 125.7, 127.3, 127.4, 127.7, 128.12, 128.14, 129.5, 130.4, 134.2, 138.0, 160.5, 198.1.

Compuesto 5.2. IR (ATR, cm⁻¹): 3059, 2923, 2854, 1726, 1600, 1455, 1245, 1079, 757; RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 1.12 (s, 6H, CH₃), 2.52 (s, 2H, CH₂), 3.33 (s, 2H, CH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.87-7.81 (m, 9H, Ar-H), 9.33 (m, 1H, Ar-H).

Compuesto 5.3. IR (ATR, cm⁻¹): 3373, 3066, 2950, 2933, 1693, 1547, 1288, 1240, 1033, 838, 803, 761; RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 1.19 (s, 6H, CH₃), 2.59 (s, 2H, CH₂), 3.39 (s, 2H, CH₂), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 7.04-7.87 (m, 9H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H); RMN-C¹³ (400MHz, CDCl₃): 28.4, 32.5, 48.5, 54.4, 55.3, 113.6, 114.3, 123.5, 124.1, 125.2, 125.6, 127.1, 127.2, 127.6, 129.3, 129.5, 130.0, 130.6, 131.9, 134.2, 147.9, 149.9, 158.0, 160.5, 198.5. EM (IE) 70eV: m/z 381 (100%), 352 (21%), 325 (47%), 282 (27%).

Compuesto 5.4. IR (ATR, cm^{-1}): 3347, 3049, 2953, 2927, 1680, 1548, 1470, 1352, 1301, 1237, 1050, 800, 750, 641; RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.19 (s, 6H, CH_3), 2.59 (s, 2H, CH_2), 3.42 (s, 2H, CH_2), 7.16-7.89 (m, 9H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H).

Compuesto 5.5. IR (ATR, cm^{-1}): 3373, 3065, 2955, 2933, 1693, 1547, 1479, 1243, 1089, 837, 766; RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.19 (s, 6H, CH_3), 2.58 (s, 2H, CH_2), 3.40 (s, 2H, CH_2), 7.13-7.87 (m, 9H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H); RMN- C^{13} (400MHz, CDCl_3): 28.3, 32.5, 48.4, 54.2, 123.1, 123.5, 125.7, 127.3, 127.6, 127.7, 128.5, 129.5, 129.6, 130.5, 133.5, 134.2, 136.5, 148.6, 160.5, 198.2. EM (IE) 70eV: m/z 385 (100%), 356 (36%), 329 (46%), 294 (38%), 266 (64%).

Compuesto 5.6. IR (ATR, cm^{-1}): 3356, 3049, 2957, 2938, 1685, 1547, 1523, 1350, 1303, 1240, 1084, 763, 740; RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.21 (s, 6H, CH_3), 2.56 (s, 2H, CH_2), 3.41 (s, 2H, CH_2), 7.02-7.84 (m, 8H, Ar-H), 8.40 (m, 1H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H).

Compuesto 5.7. RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.21 (s, 6H, CH_3), 2.60 (s, 2H, CH_2), 3.42 (s, 2H, CH_2), 7.11-7.14 (d, 1H, Ar-H), 7.37-7.40 (m, 2H, Ar-H), 7.65 (d, 1H, Ar-H), 7.75-7.79 (m, 2H, Ar-H), 7.84-7.89 (m, 1H, Ar-H), 8.40 (m, 2H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H); EM (IE) 70eV: m/z 396 (100%), 367 (30%), 340 (60%), 266 (64%).

Compuesto 5.8. IR (ATR, cm^{-1}): 3373, 3064, 2954, 2930, 1694, 1547, 1479, 1285, 1242, 1078, 836, 764, 669; RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.19 (s, 6H, CH_3), 2.59 (s, 2H, CH_2), 3.39 (s, 2H, CH_2), 7.07-7.88 (m, 9H, Ar-H), 9.40 (m, 1H, Ar-H).

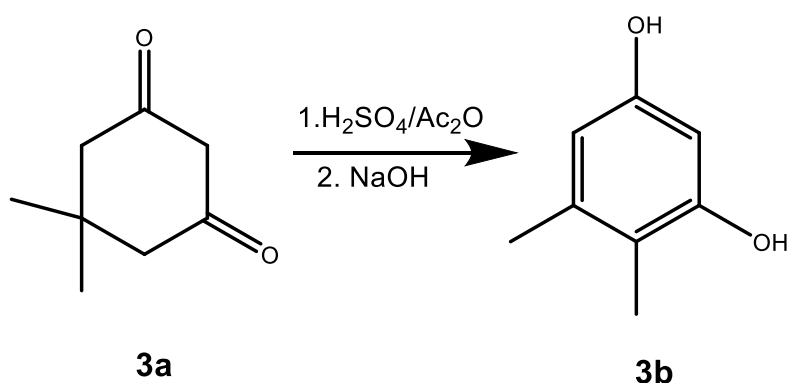
Compuesto 5.9. RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.21 (s, 6H, CH_3), 2.70 (s, 2H, CH_2), 3.57 (s, 2H, CH_2), 7.29-7.33 (m, 2H, Ar-H), 7.79-7.96 (m, 7H, Ar-H), 8.94 (s, 1H, OH), 9.70 (s, 1H, Ar-H). RMN- C^{13} (400MHz, CDCl_3): 28.3, 29.7, 33.1, 52.3, 125.6, 127.3, 127.9, 128.1, 146.8, 160.0, 196.4.

Compuesto 5.10. RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.20 (s, 6H, CH_3), 2.69 (s, 2H, CH_2), 3.47 (s, 2H, CH_2), 7.77-7.94 (m, 9H, Ar-H), 8.94 (s, 1H, OH), 9.55 (s, 1H, Ar-H). RMN- C^{13} (400MHz, CDCl_3): 28.4, 33.1, 47.0, 52.4, 124.9, 125.4, 125.6, 125.9, 127.3, 127.9, 129.4, 134.7, 135.5, 160.2, 198.2.

Compuesto 5.11. RMN- H^1 (400MHz, CDCl_3): 1.21 (s, 6H, CH_3), 2.69 (s, 2H, CH_2), 3.49 (s, 2H, CH_2), 7.78-7.95 (m, 9H, Ar-H), 8.89 (s, 1H, OH), 9.57 (s, 1H, Ar-H). RMN- C^{13} (400MHz, CDCl_3): 28.4, 29.7, 33.1, 52.4, 125.6, 125.9, 127.7, 127.9, 128.1, 129.6, 130.0, 134.5, 135.0, 160.8.

Compuesto 5.12. RMN- H^1 (400MHz, $CDCl_3$): 1.39 (s, 6H, CH_3), 2.67 (s, 2H, CH_2), 3.34 (s, 2H, CH_2), 7.74-7.92 (m, 8H, Ar-H), 8.80 (s, 1H, OH), 9.37 (s, 1H, Ar-H). RMN- C^{13} (400MHz, $CDCl_3$): 28.4, 33.1, 47.0, 52.5, 124.9, 125.5, 125.6, 125.9, 127.3, 127.9, 129.4, 130.5, 134.8, 135.5, 148.9, 160.2, 198.1.

Modelo general de síntesis para 4,5-dimetil-1,3-dihidroxibenceno



Esquema 6. Aromatización de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.

En un matraz de 25mL de fondo redondo, en atmósfera de nitrógeno, se colocó 1 g de 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona y se disolvió en 11 mL de anhídrido acético. Se adicionaron 0.420 mL (1.1 Eq) de ácido sulfúrico concentrado a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo y se colocó en agitación durante 3h. Al terminar la reacción se adicionaron 20mL de agua fría y se dejó en agitación durante 30min. para destruir el anhídrido acético sobrante. Se extrajo el producto con lavados de éter etílico (5x10mL), la fase orgánica se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de sodio (5x5mL) y luego con una disolución saturada de cloruro de sodio (3x5mL). Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró en el rotavapor obteniendo un aceite café. El producto se purificó por cromatografía de columna con 10g de sílice utilizando un sistema de elución de gradiente Hexano-Acetato de etilo 98/2 – 90/10. Se obtuvieron 1.27g (80%) del sólido blanco correspondiente a 4,5-dimetil-1,3-diacetoxibenceno (**3e**).

Para la hidrólisis se disolvieron 0.500g de 3d en 1ml de Etanol y se añadieron 0.480g de NaOH disueltos en 5ml de H₂O. La mezcla se agitó y calentó a temperatura de reflujo durante 2h. Al finalizar la reacción se añadió agua con hielo y se neutralizó el medio con una disolución 1:1 de HCl. El producto se extrajo con lavados de éter dietílico (5x10ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró el producto en el rotavapor. El producto se purificó con una columna de cromatografía con 10g de sílice y utilizando como eluyente Hexano: Acetato de etilo 90/10 y 50/50. Se obtuvo el producto 4,5-dimetilresorcinol (**3b**) con un 85% de rendimiento.

Para aislar los intermediarios en la reacción se tomaron alícuotas mientras esta se llevaba a cabo. En el caso del intermediario **3c**, el ácido 4,4,-dimetil-2,6-dioxociclohexano-1-sulfónico se obtuvo separando el sólido precipitado a los 20 minutos después de la adición del ácido sulfúrico. Para obtener el intermediario **3d**, 5-hidroxi-2,3-dimetilfenil acetato, se tomó una alícuota a las 2h de haber comenzado la temperatura de reflujo y se purificó en una columna de cromatografía con 1.5g de sílice y eluyente Hexano: Acetato de etilo 98/2.

Datos espectroscópicos:

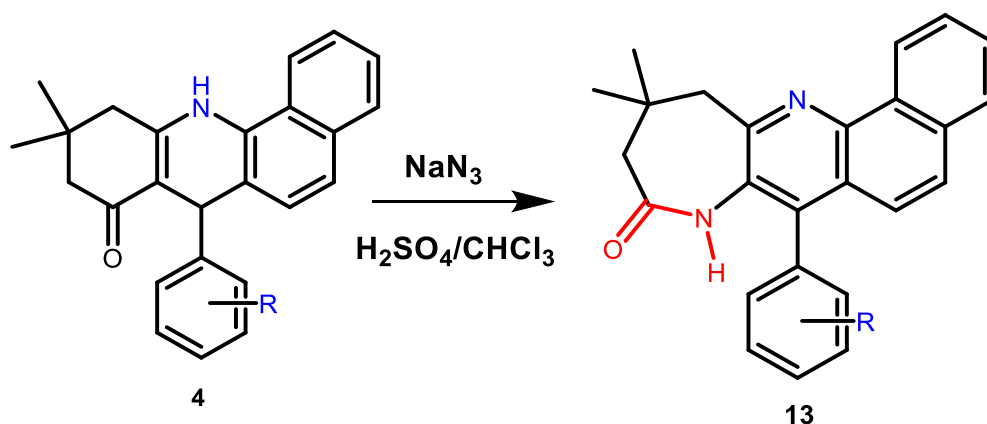
Compuesto 3b: IR (ATR, cm⁻¹): 3406, 3074, 2928, 1712, 1642, 1370, 1203, 1076, 971, 803. RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 2.07 (s, 3H, CH₃), 2.21 (s, 3H, CH₃), 4.72 (s, 2H, OH), 6.20 (d, 1H, Ar-H), 6.27 (d, 1H, Ar-H); EM (IE) 70eV: m/z 138 (80%), 123 (100%), 109 (15%), 95 (15%).

Compuesto 3c: RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 1.15 (s, 6H, CH₃), 2.41 (s, 4H, CH₂), 5.97 (s, 1H, CH), 8.35 (s, 1H, OH). RMN-H¹ (400MHz, DMSO-d₆): 0.98 (s, 6H, CH₃), 2.24 (s, 4H, CH₂).

Compuesto 3d: IR (ATR, cm⁻¹): 3396, 2925, 1756, 1621, 1368, 1206, 1127, 1072, 1015, 886, 853; RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 1.98 (s, 3H, CH₃), 2.24 (s, 3H, CH₃), 2.31 (s, 3H, OCOCH₃), 6.56 (d, 1H, Ar-H), 6.38 (d, 1H, Ar-H); EM (IE) 70eV: m/z 180 (18%), 138 (100%), 123 (85%), 109 (8%).

Compuesto 3e: IR (ATR, cm⁻¹): 2932, 1758, 1185, 1120, 1074, 1021, 901; RMN-H¹ (400MHz, CDCl₃): 2.09 (s, 3H, CH₃), 2.31 (s, 3H, CH₃), 2.33 (s, 3H, OCOCH₃), 2.36 (s, 3H, OCOCH₃), 6.86 (d, 1H, Ar-H), 6.74 (d, 1H, Ar-H); EM (IE) 70eV: m/z 222 (6.5%), 180 (15%), 138 (100%), 123 (18%), 109 (4%).

Modelo general de síntesis para el compuesto 11,11-dimetil-7-fenil-8,10,11,12-tetrahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h] quinolin-9-ona (13).



Esq. 18 Síntesis de 11,11-dimetil-7-fenil-8,10,11,12-tetrahidro-9H-azepino[3,2-b]benzo[h] quinolin-9-ona.

En un matraz bola de 25ml se colocaron 0.1g del compuesto **4.3** y 0.035g de NaN_3 (2eq), la mezcla se disolvió en 5ml de CHCl_3 y se agitó en un baño de hielo. A continuación, se añadió 1ml (1eq) de H_2SO_4 lentamente. Se colocó una trampa con NaOH. Se retiró el baño de hielo y se agitó durante 4 horas. Se controló el avance de la reacción con cromatografía en placa fina. Al término de la reacción se añadieron 20ml de agua y se extrajo el producto con lavados de acetato de etilo (8x10ml), luego se lavó la fase orgánica con disolución saturada de bicarbonato de sodio (5x5ml) para neutralizar. Y finalmente con disolución saturada de cloruro de sodio (2x5ml). Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró en el rotavapor obteniendo un sólido amarillo. Se purificó el producto por cromatografía de columna utilizando óxido de aluminio y un sistema de elución en gradiente Hexano-Acetato de etilo 90/10- 70/30. Se obtuvo un sólido blanco cristalino con 50% de rendimiento.

Datos espectroscópicos:

Compuesto 13.10 RMN- ^1H (400MHz, CDCl_3): 1.16 (s, 6H, CH_3), 2.04 (s, 2H, CH_2), 2.95 (s, 2H, CH_2), 7.68-8.03 (m, 9H, Ar-H), 9.16 (m, 1H, Ar-H). 10.06 (s, 1H, NH); EM (IE) 70eV: 355 (2%), 290 (52%), 247 (100%), 208 (24%), 180 (16%), 149 (40%).

Bibliografía

1. Gupta S P: Quantitative Structure-Activity Relationship Studies on Anticancer Drugs, *Chem. Rev.*, **1994**, 94, 6, 1507–1551.
2. Cholewiński G, Dzierzbicka K, Koodziejczyk AM: Natural and synthetic acridines/acridones as antitumor agents, *Pharmacological Reports*, **2011**, 63, 305-336.
3. Sarbjit S, Jail G, Veeraswamy G, Tong-Shin C, Kyeong L, Yongseok C: Recent Advances in Anticancer Chemotherapeutics based upon Azepine Scaffold, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, **2016**, 16, 539-557.
4. Kitchen DB, Decornez H, Furr JF, Bajorath J: Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nature Reviews*, **2004**, 3, 935-949.
5. Gilad Y, Senderowitz H: Docking studies on DNA intercalators, *Journal of Chemical Information and modeling*, **2014**, 54, 1, 96-107.
6. Baginski M, Fogolari F, Briggs JM: Electrostatic and Non-Electrostatic Contributions to the Binding Free Energies of Anthracycline Antibiotics to DNA, *J. Mol. Biol.* **1997**, 274, 253-267.
7. Lerman LS: Structural Considerations in the Interaction of DNA and Acridines, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 18-30.
8. Denny WA: Acridine derivatives as chemotherapeutic agents. *Curr Med Chem*, **2002**, 9, 1655–1665.
9. Chen KT, Fico R, Canellakis ES: Diacridines, Bifunctional Intercalators. Chemistry and Antitumor Activity, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1978**. 21, 9, 868-874.
10. Cholody MW, Horowska B, Paradziej-Lukowicz J, Martelli S, Konopa J: Structure-Activity Relationship for Antineoplastic Imidazoacridinones: Synthesis and Antileukemic Activity in Vivo *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1028-1032.
11. Ferlin MG, Marzano C, Chiarelto G, Baccichetti F, Bordin F: Synthesis and antiproliferative activity of some variously substituted acridine and azacridine derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, **2000**, 35, 827–837.
12. Legna SS, Gutterman JU, Hall SW, Benjamin RS, Burgess MA, Valdivieso M, Bodey GP: Phase 1 Clinical Investigation of 4'-(9-Acridylamino)methanesulfonamide (NSC 249992), a New Acridine Derivative, *Cancer Research*, **1978**, 38, 3712-3716.

13. Stefańska B, Bontemps-Gracz MM, Antonini I, Martelli S, Arciemiuk M, Piwkowska A, Rogacka D, Borowski E: 2,7-Dihydro-3H-pyridazino[5,4,3-kl]acridin-3-one derivatives, novel type of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines. Synthesis and biological evaluation. *Bioorg Med Chem*, **2005**, 13, 1969–1975.
14. Denny WA, Atwell GJ, Baguley BC, Wkelint LPG: Potential Antitumor Agents. 44. Synthesis and Antitumor Activity of New Classes of Diacridines: Importance of Linker Chain Rigidity for DNA Binding Kinetics and Biological Activity, *J. Med. Chem.* **1985**,28, 1568-1574.
15. Denny WA, Baguley BC: Dual topoisomerase I/II inhibitors in cancer therapy. *Curr Top Med Chem*, **2003**, 3, 339–353.
16. Wang WG, Ho WC, Dicker DT, MacKinnon C, Winkler JD, Marmorstein R, El-Deiry WS: Acridine derivatives tuted acridines as G-quadruplex telomere targeting agents. Effects of extensions of the 3,6- and 9-side chains on quadruplex binding, telomerase activity, and cell proliferation. *J Med Chem*, **2006**, 49, 582–599.
17. Demeunynck M: Antitumour acridines, *Expert Opin. Ther. Patents*, **2004**, 14, 1, 55-70.
18. Vispé S, Vandenberghe I, Robin M, Annereau JP, Créancier L, Pique V, Galy JP, Kruczynski A, Barret JM, Bailly C: Novel tetra-acridine derivatives as dual inhibitors of topoisomerase II and the human proteasome, *Biochemical pharmacology*, **2007**, 73, 1863-1872.
19. Wang W, El-Deiry WS: Restoration of p53 to limit tumor growth. *Curr Opin Oncol*, **2008**, 20, 90–96.
20. Todd AK, Adams A, Thorpe JH, Denny WA, Cardin CJ: Major groove binding and “DNA-induced” fit in the intercalation of a derivative of the mixed topoisomerase I/II poison N-(2-(dimethylamino) ethyl) acridine-4-carboxamide (DACA) into DNA: X-ray structure complexed to d(CG(5-BrU) ACG)₂ at 1.3-ANG resolution. *J Med Chem*, **1999**, 42, 536–540.
21. Dittrich C, Coudert B, Paz-Ares L, Caponigro F, Salzberg M, Gamucci T, Paoletti X, Hermans C, Lacombe D, Fumoleau P: Phase II study of XR 5000 (DACA), an inhibitor of topoisomerase I and II, administered as a 120-h infusion in patients with non-small cell lung cancer, *European Journal of Cancer*, **2003**, 39, 330–334.
22. Peng Y, Qing Y, Xuhong Q: Novel DNA bis-intercalators of isoquinolino[4,5-bc]acridines: design, synthesis and evaluation of cytotoxic activity, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 11895-11901.
23. Tan W, Li Y, Chen M, Wang Y: Berberine hydrochloride: anticancer activity and nanoparticulate delivery system, *International Journal of Nanomedicine*, Dovepress, **2011**, 6, 1773-1777.

24. Sun Y, Xun K, Wang K, Chen Y: A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs, *Anti-Cancer Drugs* **2009**, 20, 9, 757–769.
25. Balakrishna A, Kumar H: Evaluation of Synergetic Anticancer Activity of Berberine and Curcumin on Different Models of A549, Hep-G2, MCF-7, Jurkat, and K562 Cell Lines, Corporation BioMed Research International, Hindawi Publishing, **2015**, 1-7.
26. Pierpaoli E, Damiani E, Orlando F, Lucarini G, Bartozzi B, Lombardi P, Salvatore C, Geroni C, Donati A, Provinciali M: Antiangiogenic and antitumor activities of berberine derivative NAX014 compound in a transgenic murine model of HER2/neu-positive mammary carcinoma, *Carcinogenesis*, **2015**, 36, 10, 1169–1179.
27. Makhey D, Yu C, Liu A, Liu LF, LaVoie EJ: Substituted Benz[a]acridines and Benz[c]acridines as Mammalian Topoisomerase Poisons, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2000**, 8, 1171-1182.
28. Pickard A J, Liu F, Bartenstein T F, Haines L G, Levine K E, Kucera G L, Bierbach U: Redesigning the DNA-Targeted Chromophore in Platinum–Acridine Anticancer Agents: A Structure–Activity Relationship Study, *Chemistry*, **2014**, 20, 49, 16174–16187.
29. Arris CE, Et.al.: Identification of Novel Purine and Pyrimidine Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors with Distinct Molecular Interactions and Tumor Cell Growth Inhibition Profiles, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2797-2804.
30. Malumbres M, Pevarello P, Barbacid M, Bischoff JR: CDK inhibitors in cancer therapy: what is next?, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2007**, 29, 1, 16-21.
31. Crews CM, Mohan R: Small-molecule inhibitors of the cell cycle, *Current Opinion in Chemical Biology*, **2000**, 4, 47–53.
32. Ho A, Dowdy SF: Regulation of G1 cell-cycle progression Ho and Dowdy Regulation of G1 cell-cycle progression by oncogenes and tumor suppressor genes, *Current Opinion in Genetics & Development*, **2002**, 12, 47–52.
33. Dai Y, Grant S: Cyclin-dependent kinase inhibitors, *Current Opinion in Pharmacology*, **2003**, 3, 362–370.
34. Cordon-Cardo C: Mutation of Cell Cycle Regulators Biological and Clinical Implications for Human Neoplasia, *American Journal of Pathology*, **1995**, 147, 3, 545-560.
35. Collins I, Garrett MD: Targeting the cell division cycle in cancer: CDK and cell cycle checkpoint kinase inhibitors, *Current Opinion in Pharmacology*, **2005**, 5, 366–373.
36. Fuster JJ, Et. Al.: Control of cell proliferation in atherosclerosis: insights from animal models and human studies, *Cardiovascular Research*, **2010**, 86, 254–264.

37. Ashok L, Singh K: Synthesis and Antimicrobial Activity of Azepine Analogue, *J. Nepal Chem. Soc.*, **2012**, 29, 44-47.
38. Schang LS: Cyclin-dependent kinases as cellular targets for antiviral drugs, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2002**, 50, 6, 779-792.
39. Dewald HA, Lobbestael S, Butler DE: Pyrazolodiazepines. 2. 4-Aryl-1,3-dialkyl-6,8-dihydropyrazolo[3,4-e][1,4]diazepin-7(1H)-ones as antianxiety and anticonvulsant agents, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1977**, 20, 12, 1562–1569.
40. Wolf B, Griffiths RR: Physical dependence on benzodiazepines: differences within the class, *Drug Alcohol Depend*, **1991**, 29, 2, 153-156.
41. Mula M: New Antiepileptic Drugs: Molecular Targets, *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, **2009**, 9, 2, 79-86.
42. Knockaert M, Greengard P, Meijer L: Pharmacological inhibitors of cyclin-dependent kinases, *Trends in Pharmacological Sciences*, **2002**, 23, 9, 417-425.
43. Zaharevitz DW, Gussio R, Leost M, Senderowicz AM, Lahusen T, Kunick C, Meijer L, Sausville EA: Discovery and Initial Characterization of the Paullones, a Novel Class of Small-Molecule Inhibitors of Cyclin-dependent Kinases, *Cancer Research*, **1999**, 59, 2566–2569.
44. Wan Y, Hur W, Cho CY, Liu Y, Adrian FJ, Lozach O, Bach S, Mayer T, Fabbro D, Meijer L, Gray NS: Synthesis and target identification of hymenialdisine analogs, *Chem Biol*, **2004**, 11, 247-259.
45. Kitchen DB, Decornez H, Furr JF, Bajorath J: Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nature Reviews*, **2004**, 3, 935-949.
46. Brooijmans N, Kuntz ID: Molecular Recognition and Docking Algorithms, *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, **2003**, 32, 335-373.
47. Mohammad Amani A, Gholamzadeh S, Zarenezhad M, Malekpour M, Javidnezhad E: DFT and Molecular Docking Studies on Biological Active Acridines: The Interaction with Bovine Serum Albumin, *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, **2015**, 1, 2, 78-85.
48. Deligkaris C, Ascone AT, Sweeney KJ, Quentin Greene AJ: Validation of a computational docking methodology to identify the non-covalent binding site of ligands to DNA, *Mol. BioSyst.*, **2014**, 10, 2106-2125.
49. Al-Rashida M, Ahsen S: In search of a docking protocol to distinguish between DNA intercalators and groove binders: genetic algorithm vs. shape-complementarity based docking methods, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 72394-72404.

50. Laco GS, Collins JR, Luke BT, Kroth H, Sayer JM, Jerina DM, Pommier Y: Human Topoisomerase I Inhibition: Docking Camptothecin and Derivatives into a Structure-Based Active Site Model, *Biochemistry* **2002**, 41, 1428-1435.
51. Read M, Et. Al.: Structure-based design of selective and potent G quadruplex-mediated telomerase inhibitors: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2001**, 98, 9, 4844-4849.
52. Muhammad HN, Damayanti S, Tjahjono DH: Interactions of Porphyrin-Acridine Hybrids to DNA Duplexes and Quadruplex: In Silico Study, 3rd International Conference on Computation for Science and Technology, **2014**.
53. Holt AP, Chaires JB, Trent JO: Molecular Docking of Intercalators and Groove-Binders to Nucleic Acids Using Autodock and Surflex, *J. Chem. Inf. Model.*, **2008**, 48, 1602–1615.
54. Abdel-Nasser M.A. Alaghaz, Et. Al.: Synthesis, spectroscopic characterization, potentiometric studies, cytotoxic studies and molecular docking studies of DNA binding of transition metal complexes with 1,1-diaminopropane–Schiff base, *Journal of Molecular Structure*, **2013**, 1035, 83–93.
55. Hideaki Yamaguchi, Et. Al.: Structural insight into the ligand-receptor interaction between glycyrrhetic acid (GA) and the high-mobility group protein B1 (HMGB1)-DNA complex, *Bioinformation*, **2012**, 8, 23, 1147-1153.
56. Perveen F, Qureshi R, Ansari FL, Kalsoom S, Ahmed S: Investigations of drug–DNA interactions using molecular docking, cyclic voltammetry and UV–Vis spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, **2011**, 1004, 67–73.
57. Yaozong Li, Et. Al.: Accuracy Assessment of Protein-Based Docking Programs against RNA Targets, *J. Chem. Inf. Model.*, **2010**, 50, 1134–1146.
58. Rakesh Kumar Gupta, Et. Al.: DNA/Protein Binding, Molecular Docking, and in Vitro Anticancer Activity of Some Thioether-Dipyrrinato Complexes, *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 13984–13996.
59. Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2016**.
60. Paul Labute: The Generalized Born/Volume Integral Implicit Solvent Model: Estimation of the Free Energy of Hydration Using London Dispersion Instead of Atomic Surface Area, *J Comput Chem*, **2008**, 29, 1693–1698.

61. Corbeil CR, Williams CI, Labute P: Variability in docking success rates due to dataset preparation, *J Comput Aided Mol Des*, **2012**, 26, 775–786.
62. Therrien E, Englebienne P, Arrowsmith AG, Mendoza-Sanchez R, Corbeil CR, Weill N, Campagna-Slater V, Moitessier N: Integrating medicinal chemistry, organic/combinatorial chemistry, and computational chemistry for the discovery of selective estrogen receptor modulators with FORECASTER, a novel platform for drug discovery: *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2012**, 52, 1, 210-224.
63. Corbeil CR, Englebienne P, Moitessier N: Docking ligands into flexible and solvated macromolecules. 1. Development and validation of FITTED 1.0, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2007**, 47, 2, 435-449.
64. Corbeil CR, Moitessier N: Docking ligands into flexible and solvated macromolecules. 3. Impact of input ligand conformation, protein flexibility, and water molecules on the accuracy of docking programs, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2009**, 49, 4, 997-1009.
65. Moitessier N, Therrien E, Hanessian S: A Method for Induced-Fit Docking, Scoring, and Ranking of Flexible Ligands. Application to Peptidic and Pseudo-peptidic α -secretase (BACE 1) Inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 5885-5894.
66. Qiu D, Shenkin PS, Hollinger FP, Still WC: The GB/SA Continuum Model for Solvation. A Fast Analytical Method for the Calculation of Approximate Born Radii, *J. Phys. Chem. A*, **1997**, 101, 3005-3014.
67. Bachmann GB, Picha GM: Synthesis of Substituted Aminobenzacridines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 1599-1602.
68. Spalding DP, Chapin EC, Mosher HS: Heterocyclic basic compounds. XV. Benzacridine derivatives, *J. Org. Chem.*, **1954**, 19, 3, 357–364.
69. Armstrong RW, Combs AP, Tempest PA, Brown SD, Keating TA: Multiple-Component Condensation Strategies for Combinatorial Library Synthesis, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, 29, 123-131.
70. Lutz Weber: The Application of Multi-Component Reactions in Drug Discovery, *Current Medicinal Chemistry*, **2002**, 9, 2085-2093.
71. Heravi M R P, Aghamohammadi P: L-Proline-catalysed one-pot synthesis of tetrahydrobenzo[c]acridin-8(7H)-ones at room temperature, *C. R. Chimie*, **2012**, 15, 448–453.

72. Lu P, Wang Y: Heterocyclic Synthesis via Cascade Reactions Based on Ketenimines, *Synlett*, **2010**, 2, 165–173.
73. Venkatesan K, Pujari SS, Srinivasan KV: Proline-Catalyzed Simple and Efficient Synthesis of 1,8-Dioxo-decahydroacridines in Aqueous Ethanol Medium, *Synthetic Communications*, **2009**, 39, 228–241.
74. Hantzsch A: Condensationprodukte aus Aldehydammoniak und Ketonartigen Verbindungen, *Chemische Berichte*, **1881**, 14, 2, 1637-1638.
75. Biginelli P: Ueber Aldehyduramide des Acetessigathers. *Ber.* **1891**, 24, 1317- 2962.
76. Mannich C: Eine Synthese von β -Ketonbasen, *Arch. Pharm.*, **1917**, 255-261.
77. Dömling A, Ugi I: The Seven-Component Reaction, *Angew. Chem. Int.*, **1993**, 32, 4, 563-564.
78. Nadaraj V, Kalaivani S, Selvi ST: One-pot multicomponent synthesis of some novel acridines. *Indian J Chem Sect B*, **2007**, 46, 1703–1706.
79. Vetrivel N , Senniappan T S, Maharajan A: Synthesis of Benzo[a]acridones using a microwave reactor, *Rasayan J Chem*, **2015**, 8, 2, 203 -206.
80. Wang XS, Zhang MM, Zeng ZS, Shi DQ, Tu SJ, Wie XY, Zong ZM: A clean procedure for synthesis of benzo[c]acridine derivatives: reaction of N-arylidene-naphthalen-1-amine with 5,5-dimethyl-1,3-cyclohexadione in aqueous medium. *ARKIVOC*, **2006**, ii, 117–123.
81. Cortés E, Ávila J G, Toscano R A: Synthesis and spectra of 7-(o- and p-R-phenyl)-10,10-dimethyl-8,9,10,11-tetrahydrobenzo[c]acridin-8-ones. Structure correction of 1,2,3,4-tetrahydro-2,2-dimethyl-5-aryl-6-aza-7,8-benzophenanthren-4-ones, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **1998**, 25, 3, 895–899.
82. Shujiang Tu, Et. Al.: An Efficient One-pot Synthesis of Polyhydrobenzoacridine-1-one Derivatives under Microwave Irradiation without Catalyst, *J. Heterocyclic Chem.*, **2006**, 43, 1621-1627.
83. Zang H, Zhang Y, Mo Y, Cheng B: Ultrasound-promoted one-pot synthesis of 7-aryl-7,10,11,12-Tetrahydrobenzo[c]acridin-8(9H)-one Derivatives, *Synthetic Communications*, **2011**, 41, 3207-3214.
84. Heravi MM, Et. Al.: Catalytic aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines by ferric perchlorate in acetic acid, *Tetrahedron Letters*, **2005**, 46, 2775–2777.

85. Nakamichi N, Kawashita Y, Hayashi M: Activated Carbon-Promoted Oxidative Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines and 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines Using Molecular Oxygen, *Synthesis*, **2004**, 7, 1015–1020.
86. Bagley MC, Lubinu MC: Microwave-Assisted Oxidative Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines using Manganese Dioxide, *Synthesis*, **2006**, 8, 1283–1288.
87. Nasr-Esfahani M, Moghadam M, Valipour G: Rapid and Efficient Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines with Potassium Peroxomonosulfate Catalyzed by Manganese(III) Schiff Base Complexes, *J. Iran. Chem. Soc.*, **2008**, 5, 2, 244-251.
88. Momeni AR, Aliyan H, Mombeini H, Massah AR, Naghash HJ: Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines with Urea-Hydrogen Peroxide/Maleic Anhydride, *Z. Naturforsch.*, **2006**, 61b, 331–333.
89. Paul S, Sharma S, Gupta M, Choudhary D, Gupta R: Oxidative Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines by SiO₂/P₂O₅-SeO₂ under Mild and Heterogeneous Conditions, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2007**, 28, 2, 336-338.
90. Nikoorazm M: A new method for the oxidation of 1, 4-dihydropyridine derivatives by guanidinium nitrate in the presence of silica sulfuric acid under mild, heterogeneous and metal-free conditions, *Scientia Iranica C*, **2013**, 20, 3, 603–606.
91. K. N. Gusak, N. G. Kozlov, and A. B. Tereshko: Oxidation of 4,7-Phenanthroline Derivatives, *Russian Journal of Organic Chemistry*, 40, 9, **2004**, 1322–1328.
92. Waring AJ, Zaidi JH, Pilkington JW: Dienone-Phenol Rearrangements of Bicyclic Cyclohexa-2,5-dienones; Confirmation of a Multistage Mechanism, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1981**, 1, 1454-1459
93. Bansal RK, *Organic Reaction Mechanisms*, Tata McGraw Hill, **2006**, 3rded, New Delhi, 345-347.
94. Wang A: *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*, Dienone-Phenol Rearrangement, John Wiley & Sons, Inc, **2009**, 900-904.
95. Doering W von E, Beringer F M: Sulfonic Acids in the Rearrangement and Aromatization of Some Cyclic Ketones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 6, 2221–2226.
96. Kablaoui MS: The Aromatization of Cyclic Ketones. Novel Synthesis of Substituted Dihydroxybenzenes, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 25, 3696-3698.

97. McKinney DC, Zhou F, Eyermann CJ, Ferguson AD, Prince DB, Breen J, Giacobbe RA, Lahiri S, Verheijen JC: 4,5-Disubstituted 6-Aryloxy-1,3-dihydrobenzo[c][1,2]oxaboroles Are Broad-Spectrum Serine β -Lactamase Inhibitors ACS Infect. Dis. **2015**, 1, 310–316.
98. Xing H L, Ming-Shan J, Zhi-Qiu Q, Xiu-Wei L, Yu-Xia S, Zu-Min G, Yang Z, Song-Hong W, Ying-Zi W, Dao-Quan W: Synthesis of 2-amino-6-oxocyclohexenylsulfonamides and their activity against *Botrytis cinerea*, Pest Manag Sci, **2011**, 67, 986–992.
99. Nelson, P H, Nelson J P: Synthesis of tetra- and pentasubstituted Benzenes from Dimedone and Derivatives, Synthesis, **1992**, 1287-1291.
100. Yadav J S, Kondaji G, Shiva Ram Reddy M, Srihari P: Facile synthesis of α -iodo carbonyl compounds and α -iodo dimethyl ketals using molecular iodine and trimethylorthoformate, Tetrahedron Letters, **2008**, 49, 3810–3813.
101. Schmidt, KF: Über den Imin-Rest, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series), **1924**, 57, 4, 704–723.
102. Beckmann E: Zur Kenntniss der Isonitrosoverbindungen, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, **1886**, 19, 988–993.
103. Tapia RA, Centella C: A Regioselective Synthesis of Tetrahydrobenzodiazepin-5-ones via the Schmidt Rearrangement of Quinolones, Synthetic Communications, **2004**, 34, 15, 2757–2765.
104. Grecian S, Aubé J: Organic Azides: Syntheses and Applications, Schmidt Rearrangement Reactions with Alkyl Azides, John Wiley & Sons, **2010**, 191-310.
105. Michael B. Smith: March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, John Wiley & Sons, Inc., **2013**, 7th Edition 1611-1616.
106. Conley RT: Schmidt Reactions in Polyphosphoric Acid. I. Rearrangement of Ketones, J. Org. Chem., **1958**, 23, 9, 1330–1333.
107. Evans PA, Modi DP: Novel Approach to Lactams via (Triisopropylsilyl)azidoalcohol Formation and Photoinduced Schmidt Rearrangement, J. Org. Chem. **1995**, 60, 6662-6663.
108. Kaye PT, Mphahlele MJ: Benzodiazepine Analogues. Part 8.1 Trimethylsilyl Azide Mediated Schmidt Rearrangement of Thioflavanone and Thiochromanone Precursors, Synthetic Communications, **1995**, 25, 10, 1495-1509.

109. Yadav JS, Subba Reddy BV, Subba Reddy UV, Praneeth K: Azido-Schmidt reaction for the formation of amides, imides and lactams from ketones in the presence of FeCl₃, *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49, 4742–4745.
110. Martinez R, Avila Zarraga JG, Ramirez MT, Pérez A, Martinez A: Tetrahydropyrrolo[3,2-c]azepin-4-ones as a new class of cytotoxic compounds, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2006**, 14, 4007–4016.