



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS, ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y MODELADO MOLECULAR DE NUEVOS
DERIVADOS DE TIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA COMO POTENCIALES AGENTES
ANTITUMORALES**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. MIGUEL ADRIÁN MÁRQUEZ CADENA

TUTOR: DR. ALFONSO SEBASTIÁN LIRA ROCHA
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, ...MARZO 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	Dr. José Norberto Farfán García	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Mariano Martínez Vázquez	Instituto de Química, UNAM
Vocal	Dr. José Alfredo Vázquez Martínez	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez	UAEMorelos
Secretario	Dr. José Luis Medina Franco	Facultad de Química, UNAM

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio 121 del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección del Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha, con el apoyo económico otorgado por DGAPA-UNAM (IN221816) y CONACYT (beca número de registro 576648).

Parte de los resultados de este trabajo se presentaron en la XII Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, llevada a cabo del 7 al 11 de Marzo del 2016 en la ciudad de Silao, Guanajuato, en la modalidad cartel bajo el título "Síntesis y estudio *docking* de 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolinas con sustituyentes del tipo aminoalcohol como potenciales antitumorales", **Miguel Adrián Márquez-Cadena**, Rodrigo Aguayo-Ortiz, Alfonso Lira-Rocha.



Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha

Asesor del tema



Q. Miguel Adrián Márquez Cadena

Sustentante

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Química y al Posgrado en Ciencias Químicas por haber proporcionado los medios para hacer posible la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado (número de becario: **576648**).

Al Dr. Alfonso Lira Rocha por permitirme trabajar en su grupo de investigación, por su apoyo y las enseñanzas que recibí bajo su asesoría.

A los miembros del jurado, los Dres. José Norberto Farfán García, Mariano Martínez Vázquez, José Alfredo Vázquez Martínez, Gabriel Navarrete Vázquez y José Luis Medina Franco, por aceptar revisar este trabajo, así como por los consejos, correcciones y observaciones del mismo.

A los técnicos de la USAI y del Instituto de Química, por las facilidades otorgadas para la caracterización de los compuestos. Al M. en C. Rodrigo Aguayo Ortiz, por su valiosa ayuda en los estudios de acoplamiento molecular.

Se agradece el apoyo financiero ofrecido por DGAPA a través del proyecto PAPIIT IN221816 para la adquisición de los reactivos y materiales utilizados en este trabajo.

A todos mis amigos y compañeros del laboratorio 121.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	2
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
4. OBJETIVOS	7
4.1. Objetivo general.....	7
4.2. Objetivos particulares	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
5.1. Síntesis química.....	8
5.2. Análisis espectroscópico de los compuestos finales	12
5.3. Evaluación de la actividad citotóxica.	15
5.4. Modelado molecular.	16
5.4.1. Análisis conformacional.....	17
5.4.2. Análisis de las propiedades electrónicas y descriptores QSAR.	18
5.4.2.1. <i>Análisis de la magnitud y dirección del vector del momento dipolar.</i>	19
5.4.2.2. <i>Mapas de los orbitales HOMO y LUMO.</i>	19
5.4.2.3. <i>Potencial molecular electrostático.</i>	20
5.4.2.4. <i>Análisis del logP.</i>	20
5.4.3. Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR).....	21
5.4.4. Estudio de acoplamiento molecular (<i>Docking</i>).	21
6. CONCLUSIONES	24
7. PERSPECTIVAS	24
8. REFERENCIAS DE CONSULTA	24



1. INTRODUCCIÓN

La incidencia del cáncer y la mortalidad debida a esta enfermedad han aumentado a lo largo del último siglo de forma constante tanto en el mundo desarrollado como en vías de desarrollo, siendo una de las principales causas de muerte a nivel mundial y cuyo tratamiento requiere de una cuidadosa selección de una o más modalidades terapéuticas, de las cuales, la quimioterapia ha registrado avances sustanciales en los últimos años.

Uno de los principales problemas asociados a los agentes quimioterapéuticos es la toxicidad no específica de la mayoría de los medicamentos contra el cáncer. Con este panorama se hace evidente la necesidad de desarrollar fármacos más seguros y eficaces. En la búsqueda de mejores agentes antitumorales, más específicos y menos tóxicos, se han estudiado varios compuestos aromáticos tricíclicos, entre los cuales sobresalen las 9-anilinoacridinas cuya actividad es debida a su interacción con el DNA. Sin embargo, la habilidad de intercalación al DNA no asegura actividad antitumoral, por lo que se ha propuesto la interacción con otras dianas biológicas, tales como las DNA topoisomerasas, enzimas que modulan el estado topológico del DNA.

Recientemente, Lira-Rocha y col. han descrito la síntesis y evaluación de la actividad citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina –núcleo resultante del remplazo isostérico de un anillo bencenoide en el núcleo de acridina por un tiazol- en los que se ha estudiado el efecto de grupos con propiedades diferentes en diversas posiciones del triciclo y en el anillo de anilina, con el fin de evaluar los efectos electrónicos, estéricos y lipófilicos que pueden modular la interacción molécula-sitio de acción, **Figura 1**.

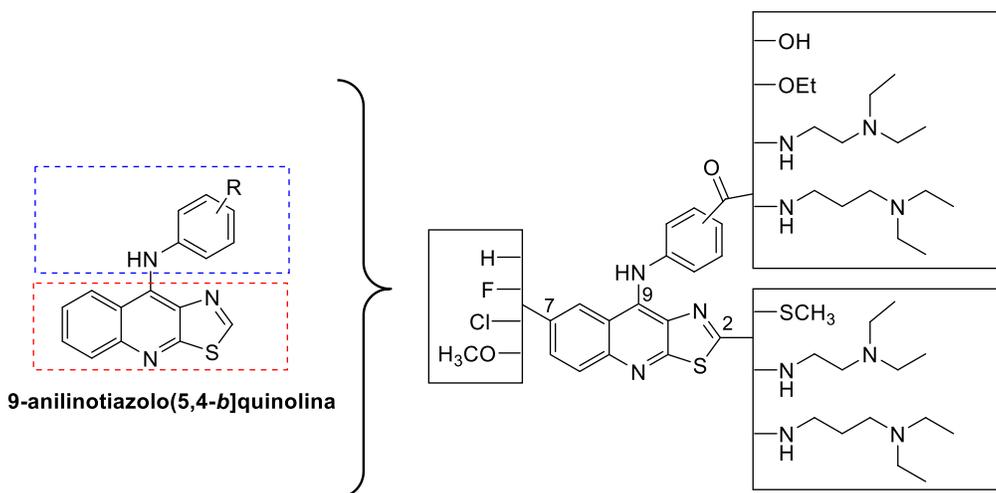


Figura 1. Generación de algunos de los derivados de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina explorados por Lira-Rocha y colaboradores.

En este contexto se ubica el presente trabajo, cuyo propósito fue determinar la influencia sobre la actividad biológica de sustituyentes de tipo 2-hidroxi-3-aminopropoxi presentes en el anillo de anilina. Estos compuestos se diseñaron para presentar cierta selectividad hacia enzimas tales como la topoisomerasa II. Asimismo, a los nuevos compuestos obtenidos se les determinó su actividad citotóxica en un panel de líneas celulares tumorales y se realizaron estudios de modelado molecular con el fin de conocer que parámetros electrónicos, conformacionales, etc. modulan su actividad biológica.



Con esto se pretende contribuir al enriquecimiento de una base de datos generada en el laboratorio E-121 de la Facultad de Química, por el grupo de investigación dirigido por el Dr. Alfonso Lira-Rocha, cuya línea de investigación está enfocada en los requerimientos estructurales para optimizar la actividad citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

2. ANTECEDENTES

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, así como un diverso grupo de enfermedades caracterizadas por la proliferación descontrolada de células neoplásicas, las cuales tienden a invadir los tejidos circundantes pudiendo esparcirse a otros tejidos y órganos del cuerpo por medio de un proceso conocido como metástasis, el cual es responsable del 90% de las muertes causadas por el cáncer.^[1]

El objetivo de la mayoría de los fármacos usados actualmente en la quimioterapia contra el cáncer es matar las células de los tumores malignos inhibiendo algunos de los mecanismos implicados en la división celular. Estos agentes causan la muerte celular por apoptosis, ya sea interfiriendo directamente con el DNA, o dirigiéndose hacia las proteínas que participan en la división celular.

Uno de los principales problemas asociados a los agentes quimioterapéuticos es la toxicidad no específica de la mayoría de los medicamentos contra el cáncer, pues los procesos que gobiernan la proliferación celular son comunes tanto en las células normales como en las cancerosas; así, ambas poblaciones celulares son susceptibles al daño por la quimioterapia, especialmente aquellas con rápido crecimiento como las de la médula ósea y la membrana mucosa. Por esta razón, los efectos adversos inmediatos más comunes de la quimioterapia incluyen náuseas y vómito, caída del cabello, reducción de la fertilidad, infecciones, entre otros. Los agentes quimioterapéuticos conocidos hasta la fecha adolecen de este defecto, y son muchos los investigadores que dedican sus esfuerzos a paliar este gran inconveniente que, hasta ahora, malogra las sugestivas aplicaciones que podrían darse a estas sustancias, las cuales podrían mejorar notablemente la calidad de vida del ser humano en la Tierra.

Aun así, se puede observar una mayor selectividad hacia las células cancerosas debido a que diversos tumores presentan una capacidad defectuosa para reparar los daños del DNA que les impide repoblar después del daño infligido.^[2]

Un tema común en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos consiste en abordar las limitaciones actuales en terapias contra el cáncer mediante el diseño de nuevos compuestos con mecanismos que se basan en fármacos exitosos. El hecho de que la quimioterapia contra el cáncer esté limitada por la toxicidad y resistencia hacia el fármaco pone de relieve la necesidad de comprender mejor el modo de acción de éste dentro de la célula. Además, existe una apremiante necesidad de nuevos compuestos que actúen a través de mecanismos diferentes y/o complementarios que se puedan combinar con agentes existentes para superar la resistencia.^[3]

Una clase de agentes anticancerígenos muy exitosos en la clínica son los fármacos cuya diana farmacológica es el DNA; en las células eucariontes estos fármacos suelen mostrar una elevada toxicidad derivada de su baja selectividad, lo cual ha llevado a esfuerzos en la búsqueda de nuevos agentes que puedan unirse a esta macromolécula y sus enzimas reguladoras.^[4] Por otra parte, hay buenas razones que indican que el DNA es un objetivo clínico prometedor. Actualmente, se encuentran en preparación



compuestos más selectivos y menos tóxicos y las estrategias para utilizar nuevos agentes que se dirijan a receptores moleculares, en combinación con fármacos que interaccionen con el DNA, mantendrán el interés en esta biomolécula como diana biológica.^[5]

Los modos de interacción con el DNA son múltiples, clasificándose en unión covalente (en muchos casos irreversible) y no covalente, que resulta ser una interacción reversible. Entre los modelos de unión reversible de moléculas con el DNA de doble hélice se encuentran aquellos mediados por interacciones con el surco mayor o menor, o bien por intercalación entre los pares de bases del DNA.^[6,7]

La intercalación al DNA se puede definir como el proceso por el cual aquellos compuestos que contengan sistemas de anillos aromáticos planos se insertan entre los pares de bases adyacentes de manera perpendicular al eje de la doble hélice sin alterar el patrón general de apareamiento de bases. Una vez insertado entre los pares de bases nitrogenadas, la estabilidad del compuesto aumenta por un cierto número de interacciones no covalentes.^[8, 9]

La intercalación induce cambios estructurales locales en el DNA que pueden conducir al retardo o inhibición de la transcripción y replicación y, por lo tanto, los intercaladores al DNA pueden ser mutagénicos. El proceso de intercalación conlleva una gran implicación terapéutica, razón por la cual, los intercalantes son utilizados frecuentemente como fármacos en tratamientos contra el cáncer.^[7,10] El proceso de intercalación de un fármaco es sólo el primer paso de una serie de eventos que conducen, eventualmente, a su actividad biológica. Los cambios estructurales inducidos en el DNA por la intercalación interfieren con el reconocimiento y función de sus enzimas asociadas, como las polimerasas, factores de transcripción, sistemas de reparación del DNA y, especialmente, las DNA topoisomerasas.

Las topoisomerasas modulan el estado topológico del DNA en la célula. Estas enzimas regulan el sub y sobre enrollamiento, y remueven los nudos y deformaciones del material genético creando cortes transitorios en el esqueleto de azúcar-fosfato de la doble hélice.^[11] Las células eucariontes codifican, principalmente, dos clases de topoisomerasas que se distinguen por sus mecanismos catalíticos, las topoisomerasas Tipo I y Tipo II.

La topoisomerasa II eucariótica es una enzima homodimérica que requiere ATP y Mg^{2+} para funcionar ^[12, 13] y ha sido identificada como la diana biológica de algunos de los fármacos más usados en la clínica contra el cáncer. Aunque el desarrollo de estos fármacos para su uso en la quimioterapia se ha basado en observaciones empíricas, la identificación de la topoisomerasa II como su diana, ahora provee de bases racionales para el análisis de su mecanismo molecular de citotoxicidad y resistencia a fármacos, y para el mejor diseño de regímenes terapéuticos de múltiples agentes.^[14, 15]

Existen dos isoformas de la Topo II, las formas α y β , las cuales, a pesar de sus similitudes, presentan distintos patrones de expresión y funciones fisiológicas en células de vertebrados.^[16-18] La topoisomerasa II α es esencial para la supervivencia de células con crecimiento activo y es capaz de desenrollar los cromosomas replicados durante el proceso de segregación de los cromosomas. Además, sus niveles de expresión cambian a lo largo del ciclo celular y alcanzan su punto máximo en las fases S tardía y G₂/M. La topo II α se localiza en las horquillas de replicación y permanece estrechamente asociada a los cromosomas durante la mitosis. En contraste, la expresión de la isoforma β es independiente del estatus proliferativo de las células y se encuentra disociada de los cromosomas durante la mitosis; además, se sabe que está relacionada con los problemas de toxicidad que provocan los fármacos que tienen como blanco esta isoforma, tales como cardiotoxicidad y potencial desarrollo de efectos adversos; por esta razón la



topoisomerasa II α ha sido considerada como un blanco más atractivo que la topoisomerasa II β para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos.

Muchos compuestos interfieren con las funciones de la DNA topoisomerasa de maneras distintas.^[19] Algunos agentes antitumorales estabilizan el intermediario covalente enzima-DNA formando el complejo ternario DNA-fármaco-enzima, y obstaculizan el religamiento de los cortes, resultando en un incremento de los niveles de escisión del DNA en la célula, causando daños severos al material genético. Estos fármacos actúan transformando a las topoisomerasas en toxinas letales para el DNA siendo mejor conocidos como “venenos”. Por otra parte, otros compuestos actúan inhibiendo la actividad catalítica de la enzima antes de la generación de las rupturas de doble hebra o en el último paso del ciclo catalítico después de la religación, por lo que se usa el término “inhibidores catalíticos” para estos agentes.^[20]

Los derivados de acridina son una de las clases más antiguas y exitosas de agentes bioactivos,^[21] siendo este tipo de molécula una de las estructuras intercaladoras más extensamente exploradas para el desarrollo de agentes anticancerígenos.^[22] Entre estos derivados destacan, por el número de estudios realizados, las 9-anilinoacridinas; particularmente, el derivado amsacrina (*m*-AMSA, **Figura 2**), introducido en la clínica en 1976 como un fármaco usado en el tratamiento de linfomas malignos y leucemia aguda,^[23] el cual ha atraído mucha atención por su capacidad de unión al DNA. La *m*-AMSA ha sido reconocida por mostrar una fuerte actividad antitumoral *in vitro*, *in vivo* y en pruebas clínicas.^[24] El principal mecanismo de acción de *m*-AMSA consiste en la formación de un complejo ternario con el DNA y la topoisomerasa II, manteniendo el complejo de escisión, y con ello inhibiendo el paso de religación de la doble hebra.^[25]

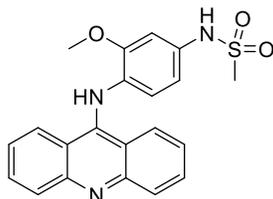


Figura 2. Amsacrina (*m*-AMSA)

El reemplazo bioisostérico constituye uno de los métodos más frecuentes de farmacomodulación.^[4] Se puede definir “bioisósteros” como todos aquellos *grupos o moléculas que poseen similitudes físicas y químicas y producen efectos biológicos muy similares*.^[26] Con base en el isosterismo, se han realizado modificaciones estructurales de moléculas patrón para optimizar su actividad farmacológica.

Al respecto, el núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina es el resultado del reemplazo bioisostérico de un anillo bencenoide de la acridina, por uno de tiazol (**Figura 3**). Dicho cambio estructural parece tener una influencia importante en las propiedades electrónicas y en sus propiedades de unión al DNA; razón por la cual, en 1997 Álvarez-Ibarra y su grupo de trabajo informaron la síntesis y evaluación biológica *in vitro* de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, considerándolos como potenciales agentes antitumorales.^[27] En dicho estudio, algunos compuestos mostraron una interesante actividad sobre las líneas celulares ensayadas: leucemia de ratón (P-388), carcinoma de pulmón humano (A-549) y tumor de colon humano (HT-29). De los resultados destacó la importancia de la presencia de una cadena flexible en la posición 2 o 9 con dos nitrógenos alcalinos con pKa en un intervalo de 7.5 – 10.

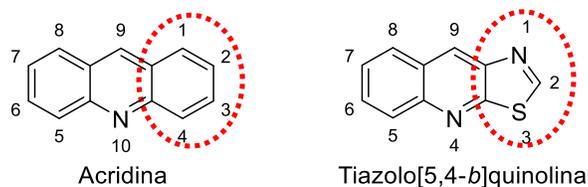


Figura 3. Reemplazo isostérico entre la acridina y la tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Recientemente, han sido descritos diversos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, por Lira-Rocha y col.,^[28-30] en los cuales, usando la hibridación molecular como estrategia en el diseño racional de fármacos, combinaron el patrón estructural de las 9-anilinoacridinas con el núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, generando un novedoso grupo de compuestos (**Figura 4**) que han resultado mostrar actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares cancerosas. De estos estudios se desprendió que la presencia de grupos formadores de puente de hidrógeno, los valores de la energía del LUMO y la magnitud y orientación del momento dipolar, son parámetros que influyen en la actividad citotóxica de los derivados tricíclicos 9-fenilamino sustituidos.

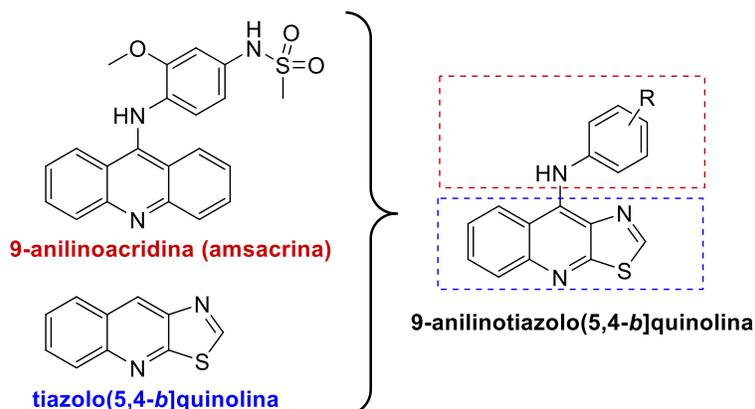


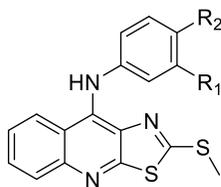
Figura 4. Generación de los híbridos de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, por Lira-Rocha y col.

Es importante considerar la naturaleza de los grupos funcionales en el anillo de anilina y en el núcleo tricíclico, ya que permiten la modulación de parámetros conformacionales, electrónicos y lipofílicos que inciden directamente en la actividad citotóxica de estos compuestos y que deben ser considerados en el diseño de nuevos derivados como potenciales antitumorales. El anillo de anilina de estos derivados híbridos ha sido un punto de exploración para incorporar sustituyentes alquilamino, los cuales, también han favorecido la actividad de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina sustituidos en esta posición. La idea de este patrón de sustitución surge a partir de las observaciones que sugieren que en el compuesto *m*-AMSA, esta parte de la molécula puede estar implicada en las interacciones con la enzima o el DNA.

Considerando este hecho, se realizó la síntesis de compuestos que poseían un residuo de alquilamino unido al anillo de anilina, **Tabla 1**. Con base en estos resultados, se corroboró que los grupos dietilaminoalquilamino favorecen la actividad citotóxica independientemente de su posición en la molécula dado que los derivados con el grupo carboxi o carboxi no fueron activos. Sin embargo, estos derivados presentan un grupo funcional amida que en cierta forma ancla la libre rotación de la cadena unida al anillo de anilina.



Tabla 1. Datos de citotoxicidad de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina reportados por Martínez-Vázquez.^[31]



Compuesto	Sustituyente		CI ₅₀ (μM)			
	R ₁	R ₂	HeLa	SW480	SW620	K562
IVa	CO ₂ Et	H	63.24 ± 14.8	SA	SA	75.92 ± 13.1
IVb	H	CO ₂ Et	59.38 ± 11.9	99.21 ± 11.6	84.36 ± 15.0	74.62 ± 9.64
Va	CO ₂ H	H	SA	SA	SA	SA
Vb	H	CO ₂ H	SA	SA	SA	SA
VIa	(CO)E	H	17.41 ± 3.99	12.84 ± 3.25	12.72 ± 1.93	11.39 ± 2.06
VIb	H	(CO)E	13.1 ± 3.74	8.47 ± 2.08	16.4 ± 4.04	8.05 ± 1.99
VIc	(CO)P	H	12.09 ± 2.98	11.84 ± 2.85	16.56 ± 3.41	10.99 ± 2.74
VId	H	(CO)P	9.78 ± 2.45	13.94 ± 2.08	15.73 ± 4.61	10.17 ± 3.91
Amsacrina			9.84 ± 2.62	19.75 ± 3.66	16.73 ± 3.75	14.63 ± 4.2

E = NH(CH₂)₂NEt₂; P = NH(CH₂)₃NEt₂. SA = Sin Actividad

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*Hacia la búsqueda del mecanismo de acción de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.*

Como se ha mencionado previamente, la topoisomerasa II α ha sido considerada como un blanco más atractivo que la topoisomerasa II β para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos. En este contexto, se han diseñado y sintetizado muchos compuestos con potencial actividad anticancerígena, entre los ejemplos exitosos Younghwa, Youngjoo y colaboradores han concentrado sus esfuerzos en optimizar el diseño de xanten-9-onas (compuestos que recientemente han mostrado ser candidatos potenciales como fármacos anticancerígenos) con el fin de perfeccionar la actividad catalítica inhibitoria hacia la topo II α de manera selectiva, reducir la probable toxicidad causada por las rupturas de doble hebra del DNA, así como evaluar el modo de acción de este tipo de compuestos.^[32-37]

En resumen, esta clase de compuestos constan de un núcleo tricíclico de xanten-9-ona sustituido en posición 3 por una cadena lateral de 3-amino-2-hidroxi-propoxilo. Las diversas modificaciones realizadas sobre esta estructura se llevaron a cabo sobre dicha cadena lateral y consistieron en variaciones del grupo amino (**Figura 5**). Los resultados obtenidos hasta el momento, por medio de diversos estudios biológicos, dan indicio que algunos compuestos han resultado exitosos como nuevos inhibidores catalíticos de la topoisomerasa II α dirigidos hacia el sitio de unión del ATP de esta enzima.

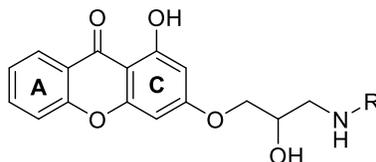


Figura 5. Estructura de los derivados de xanten-9-ona evaluados por Younghwa, Youngjoo y col.



Por otra parte, estudios de biología molecular *in vitro* llevados a cabo en células HeLa, empleando el derivado selecto de tiazolo[5,4-*b*]quinolina (D3CIP, **Figura 6**) con el objetivo de proponer un posible mecanismo de acción citotóxica de este tipo de compuestos sugieren que, a pesar de la semejanza estructural, este derivado no presentó un modo de acción similar al de su bioisómero, la *m*-AMSA. A diferencia de los resultados obtenidos con el fármaco *m*-AMSA, con los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina no se observó una estabilización de los complejos covalentes con la Topo II y el DNA, así como intercalación en la doble hélice del DNA; con esto, se asume que no comparten la misma diana farmacológica, sin excluir como paso importante en el mecanismo de acción la interacción con el DNA.^[38]

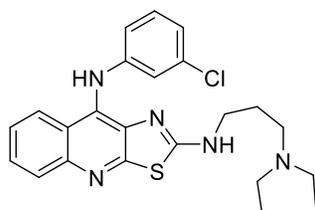


Figura 6. Estructura del D3CIP

Se sabe que la actividad citotóxica sobre líneas celulares humanas de cáncer mejora sensiblemente para el caso del D3CIP así como de otros derivados que, igualmente, cuenten con una cadena lateral en la posición C-2 del sistema tricíclico que cuente con dos nitrógenos básicos y con cierta flexibilidad conformacional. Lo anterior se puede explicar por la posible formación de interacciones intermoleculares entre los nitrógenos de la cadena con los grupos funcionales de la diana biológica. Asimismo, como se ha mencionado, este tipo de sustituyentes también han favorecido la actividad de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina sustituidos en el anillo de anilina.

Con base en esto, en este trabajo se diseñó un conjunto once compuestos diseñados para inhibir selectivamente la enzima topoisomerasa II α , tomando como base el núcleo de 9-aminotiazolo[5,4-*b*]quinolina ligado en posición 9 a un grupo anilino que cuente con una cadena de aminoalcohol formada a partir de la apertura de un epóxido.

Este diseño de los compuestos propuestos se justifica por el hecho de que los derivados de xanten-9-ona, al igual que los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, comparten las características de ser compuestos tricíclicos, planos y de poseer cadenas laterales con flexibilidad conformacional y con grupos de átomos que puedan interactuar de forma no covalente con grupos funcionales de la macromolécula objetivo.

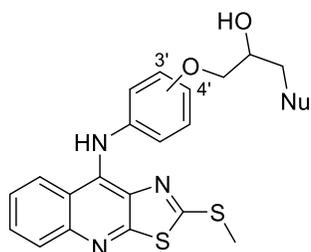
4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Obtención de derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina con una cadena lateral que posea tanto una función amina como una función alcohol para ser probados en líneas celulares de cáncer, como parte de un estudio preliminar, previo a ensayos que involucren pruebas de selectividad.

4.2. Objetivos particulares

- Sintetizar y caracterizar diversos derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina con una cadena de aminoalcohol que tengan la siguiente estructura:



donde Nu = N(CH₂CH₃)₂ (a)
NH(CH₂)₂CH₃ (b)
N(CH₂)₅ (c)
N(CH₂CH₂CH₃)₂ (d)
NH(CH₂)₅CH₃ (e)
NHCH₂CH₂OH (f)
NHCH₂C₆H₅ (g)

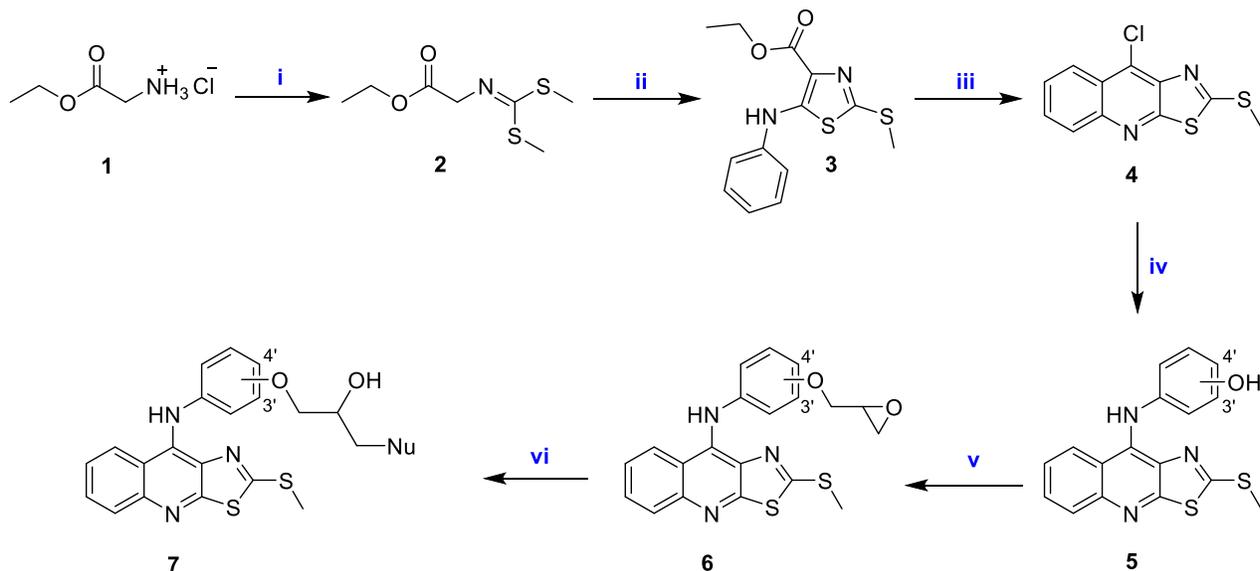
- Determinar la viabilidad celular *in vitro* de los compuestos obtenidos en un panel de cuatro líneas celulares tumorales mediante el método MTT.
- Partiendo de la premisa de que la actividad biológica debe estar relacionada con su estructura molecular, realizar estudios de modelado molecular de los derivados propuestos para determinar algunos parámetros fisicoquímicos e intentar describir matemáticamente la relación existente entre la actividad biológica y las propiedades moleculares calculadas.
- Con el fin de conocer el modo de unión teórico de estos compuestos con dos enzimas propuestas, realizar estudios de acoplamiento molecular sobre dichas macromoléculas.

Hipótesis. La incorporación de cadenas con grupos que puedan participar en enlaces tipo puente de hidrógeno en el anillo de anilina incrementará la actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Síntesis química.

La ruta de síntesis propuesta inicialmente para obtener los productos finales se muestra en el **Esquema 1**.



Esquema 1. (i) 1. TEA, CS₂, (CH₃)₂SO₄. 2. K₂CO₃, CH₃I. (ii) *t*-BuOK, C₆H₅NCS. (iii) POCl₃/PPA, 130 °C, 4h. (iv) H₂N-C₆H₄OH, *n*-BuOH, HCl (cat.), reflujo, 9 h. (v) epichlorhidrina, base. (vi) amina, r.t. Nu = amina

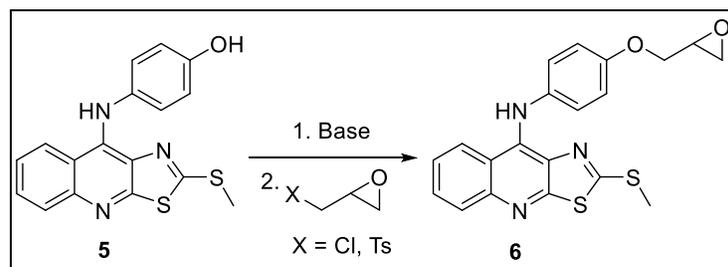


Esta ruta consiste en una síntesis lineal en la cual, a partir del compuesto **4** se irían añadiendo los fragmentos necesarios para llegar al producto esperado. Cabe mencionar que el paso **v** contempla la incorporación de un epóxido en forma de mezcla racémica.

Los compuestos intermediarios **2** al **4** fueron obtenidos por medio de métodos previamente publicados y su caracterización se llevó a cabo por cromatografía en capa fina y punto de fusión comparativos.^[39]

La síntesis de los isómeros *meta* y *para* del intermediario **5** a partir del compuesto **4** y el aminofenol correspondiente, se llevó a cabo en *n*-butanol como medio de reacción. Los rendimientos obtenidos en estas reacciones fueron buenos, lo que indica una muy buena regioselectividad en esta reacción.

Para la síntesis de los intermediarios **6**, (**Esquema 2**) se ensayaron diferentes condiciones en las cuales se utilizaron diversos disolventes polares.



Esquema 2. Síntesis del intermediario **6**

A pesar de los intentos realizados para obtener y aislar de forma cuantitativa el intermediario **6** (isómero *para*), los resultados fueron desfavorables (**Tabla 2**).

Tabla 2. Condiciones ensayadas para la síntesis del intermediario **6**.

Prueba	Disolvente	Base	Epóxido	Resultado	% Rendimiento ^b
1	Acetona	Cs ₂ CO ₃	ClCH ₂ C ₂ H ₃ O	3 productos	N.D.
2	Acetona	K ₂ CO ₃	ClCH ₂ C ₂ H ₃ O	3 productos	N.D.
3	Agua	KOH	ClCH ₂ C ₂ H ₃ O	3 productos	<5 %
4	DMF anhidra	KOH	ClCH ₂ C ₂ H ₃ O	2 productos	<5 %
5 ^a	DMF anhidra	KOH	ClCH ₂ C ₂ H ₃ O	2 productos	<5 %
6	DMF anhidra	KOH	TsOCH ₂ C ₂ H ₃ O	2 productos	<10 %
7	DMF anhidra	NaH	TsOCH ₂ C ₂ H ₃ O	2 productos	15 %

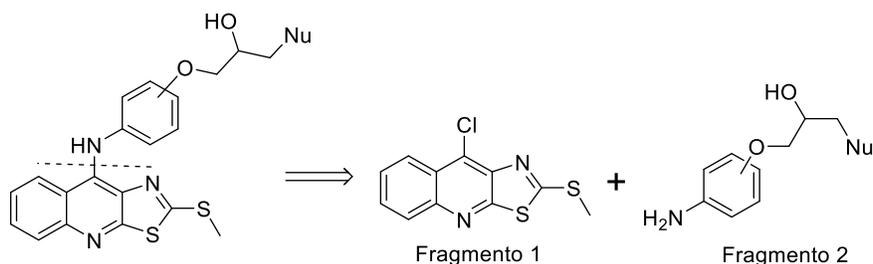
^atemperatura de reacción: 0 °C, ^bPurificado por cromatografía en columna. N.D.: No determinado.

Durante la reacción realizada a temperatura ambiente ocurría la formación de dos productos más polares que el producto esperado (uno de los cuales, se presume que resulta de la apertura del epóxido por parte del nucleófilo) y la materia prima no lograba consumirse completamente, estando presente en la mezcla de reacción en cantidad apreciable. La disminución de la temperatura de reacción a 0 °C, con el propósito de promover la regioselectividad de la reacción, no condujo cambios perceptibles. La variación de la relación molar, duplicando la cantidad de epóxido, tampoco permitió que el fenol se consumiera completamente. Con el uso del tosilato de glicidol como electrófilo no se consiguió una diferencia apreciable.



Durante el proceso de purificación por cromatografía en columna, el intermediario **6** resultaba ser inestable, observándose la formación de diversos productos que no estaban presentes antes del proceso. En efecto, los rendimientos conseguidos en las pruebas fueron muy bajos, menores al 10 %. Finalmente, el empleo del crudo de reacción anterior para generar los compuestos finales condujo a mezclas con una gran cantidad de componentes muy difíciles de aislar usando cromatografía en columna.

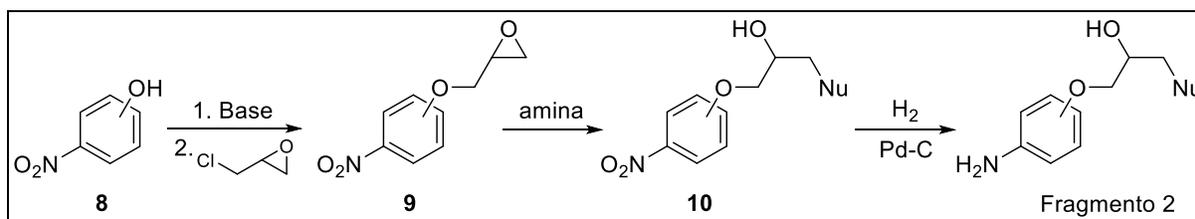
Por lo anterior, fue necesario replantear el esquema de síntesis de las moléculas finales considerando un proceso convergente, en el cual se sintetizarían por separado dos fragmentos de la molécula para acoplarlos en la etapa final. (**Esquema 3**) Con esto, se reduciría considerablemente la cantidad necesaria del intermediario **4** y mejoraría con ello el rendimiento final de la síntesis.



Esquema 3. Esquema retrosintético modificado de las moléculas objetivo. Nu = amina

La síntesis del Fragmento 2 seguía contemplando la apertura del epóxido a partir de un derivado del aminofenol. Debido al carácter nucleofílico del grupo amino de la anilina, se tomaron en cuenta las precauciones para mantener este grupo funcional protegido.

Inicialmente, se consideró mantener la amina protegida por un grupo acetilo; sin embargo, el proceso de desprotección requirió de condiciones drásticas de pH y temperatura (HCl 2N a 100 °C) resultando, en ocasiones, en la formación de subproductos no deseados, en una conversión incompleta de la materia prima o en la posible oxidación de la anilina durante el tratamiento de la reacción. Por esta razón, se decidió recurrir al derivado nitrado, el cual no presentó inconvenientes en su uso, requiriéndose condiciones suaves de reacción, tiempos cortos y una formación de subproductos prácticamente nula al momento de la desprotección (**Esquema 4**).



Esquema 4. Esquema de síntesis del fragmento 2. Nu = amina.

La reacción entre el nitrofenol y epiclorhidrina para obtener el intermediario **9**, se llevó a cabo en agua como medio de reacción, en un reactor de microondas y se requirió un tiempo menor de 15 minutos.^[40] Dado el sistema bifásico en el que se realizó la reacción, se empleó un catalizador de transferencia de fase (en este caso, cloruro de trioctil metil amonio, TOMAC). La formación de los isómeros *meta* y *para* se confirmó por métodos espectroscópicos y espectrometría de masas.

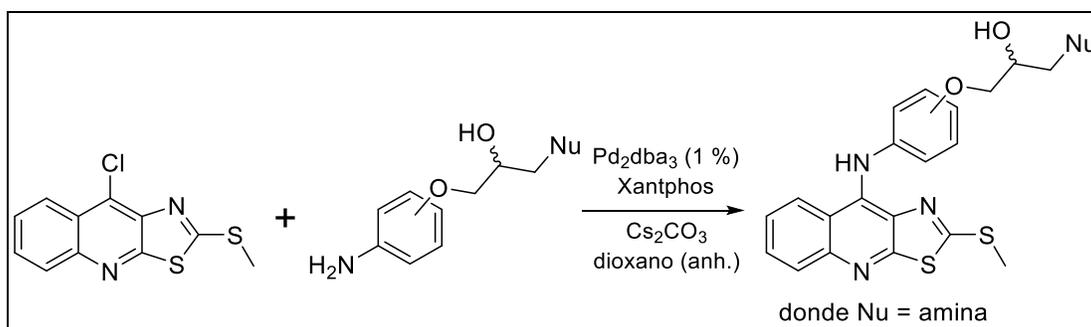


La apertura del epóxido por parte de las aminas empleadas se llevó a temperatura ambiente, durante un tiempo de 1 a 6 horas, hasta que se consumiera la materia prima. En general, las reacciones procedieron de forma limpia, obteniéndose únicamente el producto deseado.

En el siguiente paso, el compuesto nitrado se sometió a hidrogenación catalítica con Pd/C al 10 %, durante un tiempo de una hora. Al término de la reacción, se observó la presencia de un solo producto más polar, vía cromatografía en capa fina, razón por la cual se utilizó inmediatamente en la siguiente reacción, sin purificación alguna, con el propósito de evitar la oxidación del mismo.

El acoplamiento entre los fragmentos 1 y 2 para obtener los compuestos finales se llevó a cabo en isopropanol como disolvente y a temperatura de reflujo. En esta reacción fue necesario el empleo de HCl en cantidades subestequiométricas para promover la reacción. No obstante, los rendimientos de las reacciones fueron de malos a regulares, aún después de tiempos prolongados de reacción (28 horas), sin observarse un consumo importante de las materias primas. Lo anterior sugiere que existe un importante efecto estérico que dificultó la reacción con las anilinas que presentaban las cadenas de aminoalcohol. Aun así se logró la obtención de los derivados con las anilinas *para* sustituidas en rendimientos moderados.

Para los compuestos con las anilinas *meta* sustituidas se aplicó el acoplamiento cruzado carbono-nitrógeno tipo Buchwald-Hartwig entre ambos fragmentos, empleando Pd₂dba₃ (1 mol %) como precursor catalítico en presencia de Xantphos como ligante auxiliar,^[41,42] no obstante, el rendimiento de las reacciones no fue óptimo, incluso después de 24 horas de reacción a reflujo; asimismo, se observó, por medio de cromatografía en capa fina, la formación de diversos subproductos no deseados (**Esquema 5**), aunque sí se obtuvieron los compuestos en bajo rendimiento.



Esquema 5. Síntesis de los compuestos finales por medio de catálisis homogénea mediada por Pd.

Con lo anterior, se logró la síntesis de los siguientes once compuestos:

- 7aa** 4', Nu = N(CH₂CH₃)₂
- 7ab** 4', Nu = NH(CH₂)₂CH₃
- 7ac** 4', Nu = N(CH₂)₅
- 7ad** 4', Nu = N(CH₂CH₂CH₃)₂
- 7ae** 4', Nu = NH(CH₂)₅CH₃
- 7ag** 4', Nu = NHCH₂C₆H₅
- 7ba** 3', Nu = N(CH₂CH₃)₂
- 7bb** 3', Nu = NH(CH₂)₂CH₃
- 7bc** 3', Nu = N(CH₂)₅
- 7bf** 3', Nu = NHCH₂CH₂OH
- 7bg** 3', Nu = NHCH₂C₆H₅

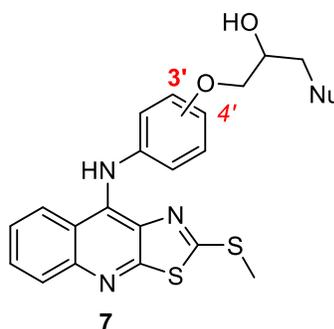


Figura 7. Compuestos finales obtenidos



5.2. Análisis espectroscópico de los compuestos finales.

La elucidación estructural de todos los derivados propuestos se realizó mediante el análisis de sus espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN ^1H y RMN ^{13}C). La asignación de las señales en los espectros de RMN ^1H para los compuestos finales se realizó con base en el desplazamiento químico, el desdoblamiento de la señal y su constante de acoplamiento. La **Tabla 3** muestra el patrón general.

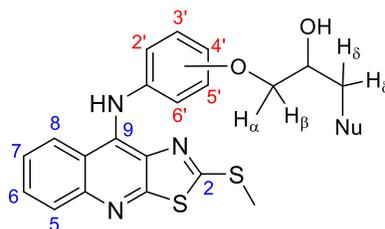


Figura 8. Numeración empleada en la asignación de señales en RMN ^1H .

Tabla 3. Señales generales en RMN ^1H de los compuestos sintetizados.

Tipo de señal	H-8	H-5	H-6	H-7	9-NH	SCH ₃
<i>J</i> (Hz)	dd ^a	dd	ddd	ddd	s ^b	s
δ (ppm)	8.4, 1.2	8.4, 1.2	8.2, 6.8, 1.2	8.2, 6.8, 1.2	-	-
δ (ppm)	8.00 – 7.9	7.75 – 7.65	7.65 – 7.50	7.25 – 7.15	> 7.2	2.30 – 2.60 ^d

^a dd: señal doble de doble, ^b s: señal simple, ^d su desplazamiento químico está influido por el disolvente en que se analizaron las muestras.

En la zona alifática de los espectros, además de las señales correspondientes a los protones de la amina incorporada, se observa un arreglo de señales pertenecientes al grupo 2-hidroxiopropoxilo (-OCH₂CH(OH)CH₂). Estas señales corresponden a un sistema de acoplamiento doble de tres protones no equivalentes tipo *ABX*. La presencia del carbono asimétrico adyacente a los grupos CH₂ es la responsable de los diferentes entornos químicos de estos protones diastereotópicos; por tal motivo, cada protón del grupo metileno presenta una señal con desplazamiento químico diferente y con un desdoblamiento tipo doble de doble, (**Figura 9**).

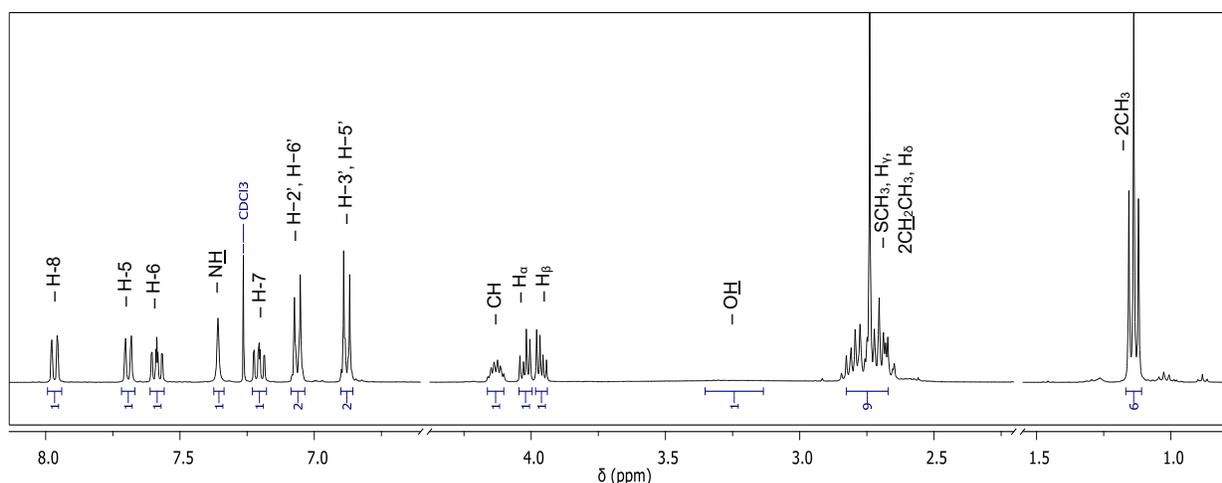


Figura 9. Ejemplo de espectro de RMN ^1H (compuesto **7aa**).



Las señales de los protones del metileno más cercanas al anillo de la anilina (H_{α} , H_{β}) se localizan a campo más bajo (4.20 – 3.90 ppm) que las señales del metileno (H_{γ} , H_{δ}) adyacente al átomo de nitrógeno (2.60 – 2.30 ppm), puesto que experimentan una mayor efecto de desprotección por parte del átomo de oxígeno vecino al anillo aromático. Asimismo, dado que el protón metino interactúa con 4 protones no equivalentes, su señal aparece como una señal múltiple compleja.

Caracterización de los compuestos finales:

9-[(4-(3-(diethylamino)-2-hidroxiopropoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7aa). Sólido amarillo. 23 % rendimiento. p.f.: 86 – 88 °C. **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3)** δ : 7.97 (dd, $J = 8.6, 0.7$ Hz, 1H) H-8; 7.69 (dd, $J = 8.6, 0.8$ Hz, 1H) H-5; 7.59 (ddd, $J = 8.4, 6.8, 1.4$ Hz, 1H) H-6; 7.36 (s, 1H) NH; 7.21 (ddd, $J = 8.4, 6.8, 1.4$ Hz, 1H) H-7; 7.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.88 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H) H-3', H-5'; 4.13 (m, 1H) CH; 4.02 (m, 1H) H_{α} ; 3.96 (m, 1H) H_{β} ; 3.23 (br, 1H) CHOH ; 2.99 – 2.40 (m, 9H) SCH_3 , H_{γ} , $2\text{CH}_2\text{CH}_3$, H_{δ} ; 1.14 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H) 2CH_3 . **RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3)** δ : 165.4, 160.6, 155.7, 147.7, 139.1, 136.2, 134.0, 128.8, 128.7, 125.0, 123.9, 123.4, 117.8, 115.0 (C_{Arom}); 70.5, 65.6, 56.2, 47.5 (Cadena lateral); 15.3 (SCH_3), 11.4. **EM (IE):** m/z (%) 468 [M^+ , 25], 338 (7), 86 (100).

9-[(4-(2-hidroxi-3-(propilamino)propoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7ab). Sólido amarillo. 20 % rendimiento. p.f.: 65 – 68 °C. **RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)** δ : 9.25 (s, 1H) NH; 8.38 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H) H-8; 7.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H) H-5; 7.69 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H) H-6; 7.47 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H) H-7; 7.12 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H) H-3', H-5'; 5.94 (br, 1H) CHOH ; 4.29 – 4.17 (br, 1H) H_{α} ; 3.96 (d, 2H) CH, H_{β} ; 3.14 (dd, $J = 12.9, 3.1$ Hz, 1H) H_{γ} ; 2.97 (dd, $J = 12.9, 3.1$ Hz, 1H) H_{δ} ; 2.90 (dt, $J = 7.9$ Hz, 2H) NHCH_2 ; 2.42 (s, 3H) SCH_3 ; 1.68 (ct, $J = 7.5, 7.3$, 2H) CH_2CH_3 ; 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H) CH_3 . **EM (IE):** m/z (%) 454 [M^+ , 26], 339 (100), 116 (22).

9-[(4-(2-hidroxi-3-(piperidin-1-il)propoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7ac). Sólido amarillo. 27 % rendimiento. p.f.: 56 – 59 °C. **RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)** δ : 9.19 (s, 1H) NH; 8.35 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H) H-8; 7.86 (dd, $J = 8.5, 1.0$ Hz, 1H) H-5; 7.68 (ddd, $J = 8.3, 6.8, 1.2$ Hz, 1H) H-6; 7.46 (ddd, $J = 8.2, 6.8, 1.3$ Hz, 1H) H-7; 7.10 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.91 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H) H-3', H-5'; 5.9 – 5.10 (br, 1H) CHOH ; 4.25 – 4.05 (br, 1H) H_{α} ; 3.97 – 3.85 (m, 2H) CH, H_{β} ; 3.05 – 2.60 (br, 5H*) 2H-2', 2H-6', H_{δ} ; 2.41 (s, 3H) SCH_3 ; 1.74 – 1.54 (br, 4H) 2H-3', 2H-5'; 1.53 – 1.36 (br, 2H) 2H-4'. **EM (IE):** m/z (%) 480 [M^+ , 29], 339 (16), 142 (44), 98 (100).

9-[(4-(3-(dipropilamino)-2-hidroxiopropoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7ad). Sólido amarillo. 15 % rendimiento. p.f.: 71 – 73 °C. **RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3)** δ : 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H) H-8; 7.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H) H-5; 7.59 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H) H-6; 7.37 (s, 1H) NH; 7.22 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H) H-7; 7.05 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H) H-3', H-5'; 5.30 (s, 1H) CHOH ; 4.63 – 4.53 (m, 1H) H_{α} ; 4.15 (dd, $J = 9.3, 4.2$ Hz) CH; 3.93 (t, 1H) H_{β} , 3.37 – 2.94 (m, 6H) H_{γ} , 2NCH_2 , H_{δ} ; 2.74 (s, 3H) SCH_3 ; 1.90 (tc, 4H) $2\text{CH}_2\text{CH}_3$; 1.03 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H) 2CH_3 . **RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3)** δ : 165.7, 160.7, 154.9, 147.6, 138.8, 136.8, 134.2, 128.9, 128.8, 124.9, 123.7, 123.5, 117.9, 115.0 (C_{Arom}); 69.4, 64.8, 59.0, 56.3, 17.1 (Cadena lateral); 15.3 (SCH_3), 11.2. **EM (IE):** m/z (%) 496 [M^+ , 8], 396 (5), 338 (9), 114 (100)



9-[[4-(3-(hexilamino)-2-hidroxiopropoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (**7ae**). Sólido amarillo. 40 % rendimiento. p.f.: 88 – 90 °C. **RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 9.24 (s, 1H) NH; 8.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H) H-8; 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H) H-5; 7.68 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H) H-6; 7.46 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H) H-7; 7.11 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H) H-3', H-5'; 5.84 (s, 1H) CHOH; 4.20 (br, 1H) H_α; 3.95 (m, 2H) CH, H_β; 3.11 (dd, *J* = 12.4, 2.4 Hz, 1H) H_γ; 3.04 – 2.72 (m, 3H) 2NCH₂, H_δ; 2.41 (s, 3H) SCH₃; 1.63 (br, 2H) NHCH₂CH₂; 1.26 (br, 6H) (CH₂)₃CH₃; 0.86 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H) CH₃. **RMN ¹³C (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 162.3, 161.4, 161.0, 155.2, 147.0, 139.5, 136.3, 130.6, 129.6, 128.5, 125.0, 124.3, 124.2, 118.9, 114.8 (C_{Arom}); 70.8, 65.7, 50.3, 47.9, 31.2, 26.2, 26.0, 22.4 (Cadena lateral); 14.8 (SCH₃), 14.3. **EM (IE): *m/z* (%)** 496 [M⁺, 26], 339 (100), 158 (54), 114 (17).

9-[[4-(3-(bencilamino)-2-hidroxiopropoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (**7ag**). Aspecto: Sólido amarillo. 23 % rendimiento. p.f.: 99 – 103 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)** δ: 7.97 (dd, *J* = 8.6, 0.7 Hz, 1H) H-8; 7.68 (d, *J* = 8.6, 0.8 Hz, 1H) H-5; 7.58 (ddd, *J* = 8.4, 6.8, 1.4 Hz, 1H) H-6; 7.40 – 7.27 (m, 6H) C₆H₅, NH; 7.20 (ddd, *J* = 8.4, 6.8, 1.4 Hz, 1H) H-7; 7.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H) H-2', H-6'; 6.83 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H) H-3', H-5'; 4.20 – 4.15 (m, 1H) CH; 3.94 (dd, 3H) H_α, H_β, CHOH; 2.98 – 2.83 (m, 5H) H_γ, NCH₂, H_δ; 2.73 (s, 3H) SCH₃. **RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃)** δ: 165.5, 160.6, 155.5, 147.7, 139.0, 137.9, 136.3, 134.0, 128.8, 128.8, 128.7, 128.5, 127.7, 124.9, 123.8, 123.4, 117.8, 115.1 (C_{Arom}); 70.6, 67.8, 53.3, 50.8 (Cadena lateral); 15.3 (SCH₃). **EM (IE): *m/z* (%)** 502 [M⁺, 27], 339 (100), 164 (24), 91 (55).

9-[[3-(3-(dietilamino)-2-hidroxiopropoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (**7ba**). Sólido amarillo. p.f.: 57 – 58 °C. **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)** δ: 8.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H) H-8; 7.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H) H-5; 7.62 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H) H-6; 7.34 (s, 1H) NH; 7.30 (m, 1H) H-7; 7.18 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H) H-5'; 6.82 – 6.27 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 5.30 (s, 1H) OH; 4.07 – 3.71 (m, 3H) H_α, CH, H_β; 2.76 (s, 3H) SCH₃; 2.72 – 2.42 (m, 6H) H_γ, 2CH₂, H_δ; 1.03 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H) 2CH₃. **RMN ¹³C (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 166.4, 160.8, 159.7, 147.5, 144.3, 137.7, 135.2, 129.8, 129.0, 128.8, 125.2, 123.9, 118.8, 113.5, 109.7, 107.3 (C_{Arom}); 70.6, 65.8, 55.8, 47.2 (Cadena lateral); 15.3 (SCH₃), 11.9. **EM (IE): *m/z* (%)** 468 [M⁺, 14], 338 (9), 86 (100).

9-[[3-(2-hidroxi-3-(propilamino)propoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (**7bb**). Sólido amarillo. 25 % rendimiento. p.f.: 61 – 65 °C. **RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 9.34 (s, 1H) NH; 8.59 (br, 1H) NHCH₂; 8.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H) H-8; 7.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H) H-5; 7.73 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H) H-6; 7.52 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H) H-7; 7.18 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H) H-5'; 6.63 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 5.83 (br, 1H) CHOH; 4.20 – 4.11 (m, 1H) H_α; 3.89 (m, 2H) H_β, CH; 3.08 (dd, *J* = 12.2, 1.4 Hz, 1H) H_γ; 2.98 – 2.74 (m, 3H) H_δ, NHCH₂; 2.52 (s) SCH₃; 1.63 (dq, *J* = 14.2, 7.2 Hz, 2H) CH₂CH₃; 0.89 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H) CH₃. **RMN ¹³C (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 163.2, 162.1, 158.9, 146.9, 144.6, 137.9, 132.8, 129.7, 129.4, 128.6, 124.8, 124.6, 120.2, 114.0, 108.5, 107.6 (C_{Arom}); 70.3, 65.5, 50.1, 49.4, 19.4 (Cadena lateral); 15.1 (SCH₃), 11.5. **EM (IE): *m/z* (%)** 454 [M⁺, 6], 339 (100). **EM (IE): *m/z* (%)** 454 [M⁺, 5], 339 (100).

9-[[3-(2-hidroxi-3-(piperidin-1-il)propoxi)fenil]amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (**7bc**). Aspecto: Sólido amarillo. 13 % rendimiento. **RMN-¹H (300 MHz, DMSO-d₆)** δ: 9.26 (s, 1H) NH; 8.30 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H) H-8; 7.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H) H-5; 7.71 (ddd, *J* = 8.3, 8.2, 1.3 Hz, 1H) H-6; 7.50 (ddd, *J* = 8.3, 8.2, 1.3



Hz, 1H) H-7; 7.15 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H) H-5'; 6.69 – 6.52 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 4.79 (br, 1H) CHOH ; 3.95 – 3.84 (m, 2H) H_α , CH; 3.76 (m, 1H) H_β ; 2.49 (s) SCH_3 ; 2.43 – 2.24 (m, 6H) H_γ , 2H-2', 2H-6', H_δ ; 1.46 – 1.25 (m, 6H) 2H-3', 2H-4', 2H-5'. **EM (IE):** m/z (%) 480 [M^+ , 15], 98 (100).

9-[(3-(2-hidroxi-3-((2-hidroxi)etil)amino)propoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7bf). Aspecto: Sólido amarillo. 38 % rendimiento. p.f.: 75 – 78 °C. **RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6)** δ : 9.37 (s, 1H) NH; 8.68 (br, 1H) NHCH_2 ; 8.34 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H) H-8; 7.92 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H) H-5; 7.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H) H-6; 7.51 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H) H-7; 7.16 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H) H-5'; 6.63 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 5.84 (br, 1H) CHOH ; 5.24 (br, 1H) CH_2OH ; 4.21 (m, 1H) H_α ; 3.90 (m, 2H) H_β , CH; 3.68 (br, 2H) CH_2OH ; 3.16 (dd, $J = 12.5, 1.7$ Hz, 1H) H_γ ; 3.00 (m, 3H) H_δ , NHCH_2 ; 2.51 (s) CH_3 . **RMN- ^{13}C (300 MHz, DMSO- d_6)** δ : 163.2, 162.1, 158.9, 146.9, 144.6, 137.9, 132.8, 129.7, 129.3, 128.6, 124.7, 124.6, 120.2, 114.0, 108.5, 107.7 (C_{Arom}); 70.3, 65.4, 56.8, 50.2, 49.9 (Cadena lateral); 15.1 (SCH_3). **EM (IE):** m/z (%) 456 [M^+ , 7], 425 (20), 339 (100).

9-[(3-(3-(bencilamino)-2-hidroxi)propoxi)fenil)amino]-2-(metiltio)-tiazolo[5,4-b]quinolina (7bg). Aspecto: Sólido amarillo pálido. 13 % rendimiento. p.f.: 79 – 80 °C. **RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6)** δ : 9.29 (s, 1H) NH; 8.31 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H) H-8; 7.94 (dd, $J = 8.6, 1.2$ Hz, 1H) H-5; 7.73 (ddd, $J = 8.4, 7.0, 1.1$ Hz, 1H) H-6; 7.52 (ddd, $J = 8.3, 5.6, 1.1$ Hz, 1H) H-7; 7.34 – 7.13 (m, 6H) C_6H_5 , H-5'; 6.68 – 6.54 (m, 3H) H-2', H-4', H-6'; 5.76 (s, 1H) NHCH_2 ; 5.09 (br, 1H) CHOH ; 3.94 – 3.79 (m, 3H) H_α , H_β , CH; 3.74 (s, 2H) CH_2Ph ; 2.62 (ddd, $J = 27.9, 12.2, 5.3$ Hz, 1H) H_γ , H_δ ; 2.50 (s) SCH_3 . **RMN ^{13}C (300 MHz, DMSO- d_6)** δ : 163.2, 162.2, 159.4, 147.0, 144.6, 140.5, 138.0, 132.8, 129.8, 129.4, 128.7, 128.7, 128.7, 127.3, 124.8, 124.6, 120.2, 113.8, 108.8, 107.7 (C_{Arom}); 71.1, 68.4, 53.3, 52.0 (Cadena lateral); 15.2 (SCH_3).

5.3. Evaluación de la actividad citotóxica.

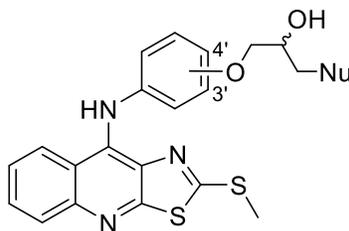
Los ensayos de citotoxicidad de los compuestos finales, fueron realizados por el M. en C. José Solano Becerra del Departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM. La actividad citotóxica de los derivados obtenidos se determinó por medio de un perfil dosis-respuesta gradual (1, 10, 30, 60 y 100 μM) mediante el método de MTT modificado. El ensayo se realizó a 48 horas de exposición *in vitro* con las líneas celulares SW-620, SW-480 (adenocarcinoma colorrectal), HeLa (cáncer cervicouterino) y K-562 (leucemia humana mielógena). Los valores de CI_{50} (μM) se obtuvieron mediante análisis de correlación no lineal; estos resultados representan el promedio de tres experimentos independientes \pm la desviación estándar utilizando concentraciones de 1, 10, 30, 60 y 100 μM de los derivados sintetizados. Asimismo, se usó el compuesto *m*-AMSA como compuesto de referencia.

Los valores de actividad de todos los compuestos evaluados (**Tabla 4**) se consideran buenos ($\text{CI}_{50} < 20$ μM); siendo el compuesto **7ae** el único que presenta una mayor actividad citotóxica que *m*-AMSA en todas las líneas celulares y el compuesto más activo de todos. Este compuesto resultó ser aproximadamente doblemente más activo que *m*-AMSA. Asimismo, destaca el compuesto **7ag**, al ser más activo que el compuesto de referencia en 3 líneas celulares. Resalta el hecho de que el compuesto **7ae**, el más activo, cuenta con una cadena con un extremo terminal poco polar y con muchos grados de libertad, mientras que el compuesto menos activo (**7bf**) cuenta con un grupo hidroxilo al final de la cadena lo que le otorga una



mayor área polar superficial a la molécula. Por lo que es posible que las características de lipofilia de los compuestos sean un factor importante en la capacidad de las moléculas de atravesar las membranas biológicas e interactuar con su receptor.

Tabla 4. Actividad citotóxica (Cl_{50} , μM) de los compuestos sintetizados.



Compuesto	Nu	Cl_{50} (μM) (<i>in vitro</i>)			
		HeLa	SW-480	SW-620	K-562
7aa	4' N(CH ₂ CH ₃) ₂	17.89 ± 2.62	7.11 ± 1.05	11.3 ± 1.75	8.47 ± 1.4
7ab	4' NH(CH ₂) ₂ CH ₃	16.61 ± 2.4	11.93 ± 1.31	10.83 ± 1.86	10.55 ± 1.83
7ac	4' N(CH ₂) ₅	14.85 ± 2.11	7.94 ± 2.03	8.93 ± 0.93	9.84 ± 1.28
7ad	4' N(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	15.8 ± 3.01	10.1 ± 2.8	11.86 ± 1.09	12.6 ± 2.94
7ae	4' NH(CH ₂) ₅ CH ₃	5.75 ± 1.34	4.1 ± 0.45	6.81 ± 1.08	3.99 ± 0.27
7ag	4' NHCH ₂ C ₆ H ₅	11.65 ± 2.41	7.51 ± 0.35	12.92 ± 3.05	6.81 ± 1.11
7ba	3' N(CH ₂ CH ₃) ₂	14.83 ± 2.91	8.88 ± 1.61	13.08 ± 2.86	9.06 ± 0.94
7bb	3' NH(CH ₂) ₂ CH ₃	10.12 ± 0.96	8.71 ± 1.2	12.85 ± 1.09	9.79 ± 1.18
7bc	3' N(CH ₂) ₅	18.64 ± 2.11	16.5 ± 1.36	15.06 ± 2.4	14.06 ± 2.05
7bf	3' NH(CH ₂) ₂ OH	20.7 ± 2.1	12.1 ± 1.91	16.47 ± 2.61	12.63 ± 2.03
7bg	3' NHCH ₂ C ₆ H ₅	10.76 ± 2.73	9.45 ± 1.09	14.67 ± 2.77	11.92 ± 2.96
<i>m</i> -AMSA		14.64 ± 0.99	9.25 ± 2.01	12.07 ± 2.63	8.33 ± 1.32

Cl_{50} = Concentración necesaria para inhibir el 50 % de crecimiento celular.

Estos resultados parecen apoyar la hipótesis de que las cadenas laterales en el anillo de anilina con grupos funcionales que pueden formar enlaces por puente de hidrógeno le confieren buena citotoxicidad al compuesto, pues todos los compuestos demostraron tener mayor actividad que los compuestos previamente evaluados sin cadena lateral en el anillo de anilina. Por otra parte, resulta interesante realizar este estudio utilizando cada enantiómero de cada compuesto por separado, en lugar de la mezcla racémica.

5.4. Modelado molecular.

Los estudios de modelado molecular se realizaron en una PC de 4.5 Gb de memoria RAM, utilizando el programa *Spartan'08*. Las moléculas se construyeron a partir de fragmentos convencionales y se pre-optimizó su geometría.

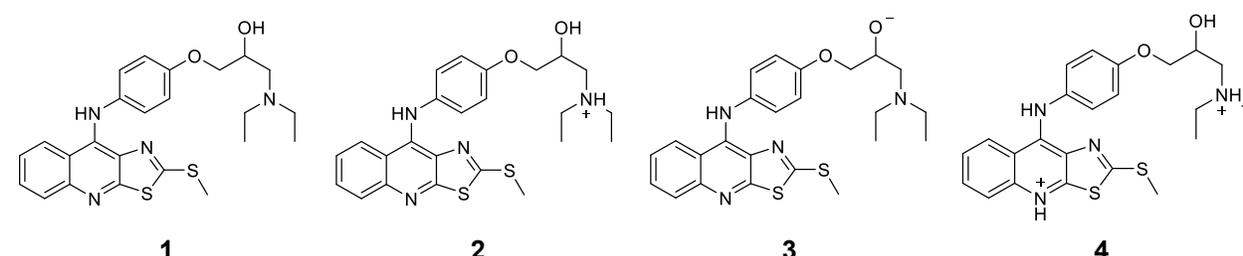


5.4.1. Análisis conformacional.

Se realizó el análisis conformacional de ambos enantiómeros de cada una de los compuestos finales protonados en el átomo de nitrógeno de la cadena lateral. El análisis se llevó a cabo mediante un protocolo de búsqueda sistemática, utilizando el campo de fuerza MMFF y rotando todos los enlaces sp^3 cada 30° .

Se ha demostrado que la basicidad de la cadena lateral es importante para la actividad citotóxica, ya que cuando dicha propiedad disminuye, los compuestos son menos activos. Lo que condujo a proponer que a pH fisiológico sea la forma protonada de la amina la responsable de este comportamiento. De acuerdo con el diagrama de predominio de especies calculado con MarvinSketch,^[43] resumido en la **Tabla 5**, donde se muestra el porcentaje de abundancia de cada especie en el intervalo de pH de 6.60 a 7.80, se observa que la especie predominante es aquella con el nitrógeno de la amina de la cadena lateral protonado. Por esto, se decidió llevar a cabo el estudio conformacional con las moléculas protonadas.

Tabla 5. Predominio de especies del compuesto **7aa** en el intervalo de pH 6.60 – 7.80.^[43]



pH	% de 1	% de 2	% de 3	% de 4
6.60	0.2	99.8	0.0	0.0
6.80	0.3	99.7	0.0	0.0
7.00	0.6	99.4	0.0	0.0
7.20	0.9	99.1	0.0	0.0
7.40	1.4	98.6	0.0	0.0
7.60	2.2	97.8	0.0	0.0
7.80	3.4	96.6	0.0	0.0

El estudio conformacional de las moléculas aisladas revela la conformación mayoritaria que adopta la cadena lateral, de acuerdo a su distribución de Boltzmann. Con base en esto, todas las moléculas que cuentan con una amina secundaria en la cadena de aminoalcohol adoptan una conformación en donde los grupos hidroxilo y éter guardan una relación sinclinal con respecto al grupo amonio, lo que favorece la formación de interacciones por puente de hidrógeno entre los oxígenos y los protones del amonio (**Figura 10(a)**). Con esto, se propone una posible conformación de silla reforzada por los enlaces de hidrógeno (**Figura 10(b)**).



Figura 10. Conformaciones observadas en el modelado molecular.



Por otra parte, en aquellos compuestos que cuentan con una amina terciaria (dietilamina, piperidina y dipropilamina) se observan dos tipos de conformaciones: en los compuestos *para* sustituidos la conformación mayoritaria es aquella en la que el grupo ariloximetilo y amonio guardan una relación antipleriplanar y los grupos OH y amonio una relación sinclinal; ello permite la formación de un enlace por puente de hidrógeno intramolecular entre estos últimos (**Figura 11(a)**). Sin embargo, con los compuestos *meta* sustituidos se observa la preferencia por formar una interacción por puente de hidrógeno entre el oxígeno del ariloximetilo y el protón del grupo amonio, los cuales adoptan una relación sinclinal entre ambos (**Figura 11(b)**). Estas observaciones permitirían predecir la conformación adoptada por diversas moléculas propuestas de este tipo.



Figura 11. Formación de puente de hidrógeno intermolecular de los derivados con amina terciaria.

5.4.2. Análisis de las propiedades electrónicas y descriptores QSAR.

Con el fin de establecer una relación cuantitativa entre la actividad biológica y la estructura molecular, se optimizó la geometría del conformero seleccionado de cada molécula y de manera simultánea se calcularon sus correspondientes descriptores QSAR. Las geometrías de los conformeros más estables fueron optimizadas con el método semiempírico AM1. Se obtuvieron, entre otros, los siguientes parámetros: energía de formación, energía de los orbitales frontera (HOMO y LUMO), momento dipolar, área y volumen molecular, área polar superficial (PSA), log P, así como gráficos de isotencial del potencial molecular electrostático. La elección de dichos descriptores se justifica por las interacciones de tipo electrostáticas y electrónicas, así como lipofílicas que pueden presentar los compuestos con la diana biológica. Dichas propiedades se resumen en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Parámetros calculados con AM1 para los compuestos finales sintetizados.

Compuesto	E (au)	E (HOMO) (eV)	E (LUMO) (eV)	Área (Å ²)	Volumen (Å ³)	PSA (Å ²)	Log P	Momento Dipolar (debye)
7aa	7.05	-9.79	-3.56	495.00	471.49	56.386	4.84	23.95
7ab	6.63	-10.02	-3.41	475.86	451.63	62.110	4.47	19.53
7ac	6.90	-9.78	-3.49	495.10	476.60	56.955	4.89	23.26
7ad	6.46	-9.78	-3.45	531.65	507.53	55.558	5.81	21.03
7ae	5.70	-10.06	-3.33	538.09	507.19	62.915	5.72	16.54
7ag	8.26	-10.04	-3.51	521.47	499.64	63.259	5.37	17.08
7ba	6.87	-10.32	-3.26	490.07	470.59	52.893	4.84	11.81
7bb	6.55	-10.57	-3.50	475.77	451.97	62.147	4.47	9.03
7bc	6.70	-10.29	-3.21	492.45	476.27	53.217	4.89	12.54
7bf	4.82	-10.33	-3.31	459.77	440.15	78.557	3.12	13.04
7bg	8.32	-10.35	-3.48	520.48	499.87	60.616	5.37	10.67



A continuación, se describen algunos parámetros analizados y las diferencias y similitudes entre los diferentes compuestos. Asimismo, sólo se muestran algunos ejemplos representativos.

5.4.2.1. Análisis de la magnitud y dirección del vector del momento dipolar.

En estudios previos se ha puesto énfasis en la importancia que presenta el vector del momento dipolar de este tipo de moléculas, puesto que puede jugar un rol considerable en la actividad citotóxica de los compuestos intercaladores. ^[44] De acuerdo a los resultados, la magnitud del momento dipolar es mayor en los compuestos *para* sustituidos que sus correspondientes isómeros *meta* sustituidos. Por otra parte, la disposición general del vector dipolo no muestra una variación significativa pues, en todas las moléculas, éste se encuentra orientado en dirección al anillo central del núcleo tricíclico, (**Figura 12**). Por lo tanto, la dirección del vector, en esta situación, no puede ser considerada como un patrón de correlación dentro de las moléculas sintetizadas con la actividad biológica obtenida.

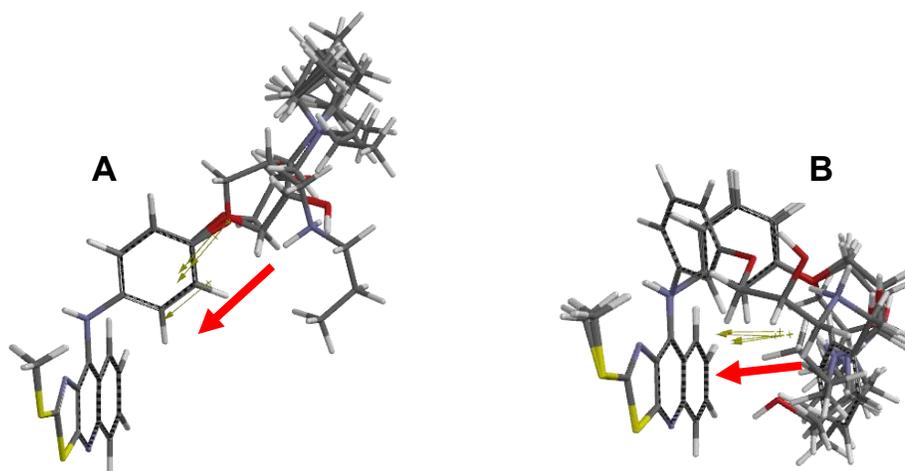


Figura 12. Agrupación de los compuestos de acuerdo a la orientación del vector de momento dipolar. (A) Compuestos *para* sustituidos. (B) Compuestos *meta* sustituidos.

5.4.2.2. Mapas de los orbitales HOMO y LUMO.

Dado que el complejo macromolécula–ligante se puede estabilizar a través de las interacciones de los orbitales moleculares frontera, se calcularon los valores de energía del HOMO y LUMO. Sin embargo, no se observa una correlación entre los valores de energía de dichos orbitales con la naturaleza de los sustituyentes en los que difieren.

Respecto a los mapas de distribución del orbital LUMO, se observa que la cadena lateral es la que contribuye principalmente al orbital, en especial la parte del 2-hidroxipropoxilo. Esta distribución del orbital LUMO podría jugar un papel importante en el reconocimiento y direccionalidad de las interacciones intermoleculares de estas moléculas con el sitio de unión de la diana farmacológica. No obstante, esta observación aplica para todos los compuestos, excepto para los *meta* sustituidos con los sustituyentes dietilamino, propilamino y piperidinil, en los cuales, el orbital LUMO se distribuye a través del núcleo tricíclico, (**Figura 13**).

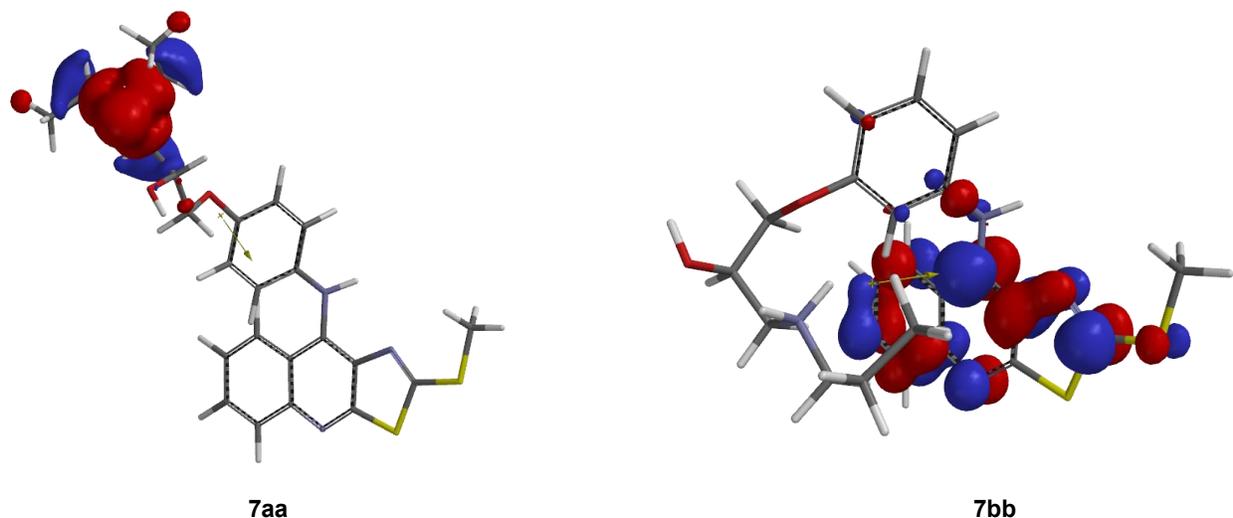


Figura 13. Gráficos de LUMO de los compuestos 7aa, 7bb.

5.4.2.3. Potencial molecular electrostático.

El análisis de los mapas de isotopotencial permite generalizar la existencia de ciertas zonas conservadas donde se concentra la densidad electrónica en todos los compuestos protonados, las cuales se ubican en la periferia de los átomos de nitrógeno del triciclo y, en algunos casos, en el átomo de nitrógeno en la posición 9. Como se ha mencionado, dada la naturaleza electrónica semejante de los diversos sustituyentes, las variaciones son discretas. Esta observación permite suponer que esta parte de la molécula participaría como nucleófilo, o bien, como donador de densidad electrónica en interacciones de transferencia de carga al interactuar con la macromolécula, en contraste con la parte de la cadena de aminoalcohol, la cual se ve como una región deficiente en electrones en los mapas del PME, (Figura 14).

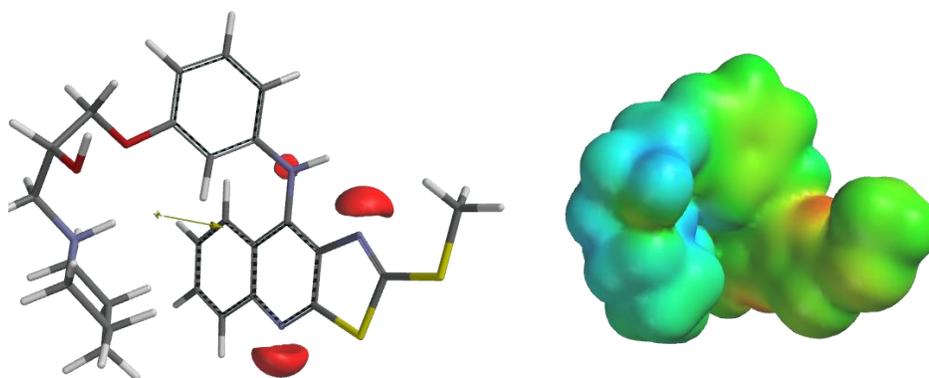


Figura 14. Mapas de isotopotencial (-83.68 kJ/mol) y potencial molecular electrostático del compuesto 7bc.

5.4.2.5. Análisis del logP.

El logP es un parámetro muy utilizado en la obtención de modelos matemáticos de correlación entre la estructura química y la actividad biológica al estar relacionado con la capacidad de los compuestos de atravesar membranas biológicas.



Se observa una clara tendencia entre la magnitud del logP calculado y la amina presente en la cadena lateral, estos valores aumentan de 3.12 a 5.81, siguiendo el orden: 2-hidroxietilamino < propilamino < dietilamino < piperidinil < bencilamino < hexilamino < dipropilamino. Además, se observó que el compuesto **7bf**, el cual resultó presentar la menor actividad sobre las líneas celulares, presenta el valor de logP más bajo de todos los compuestos estudiados (5.72). Asimismo, el compuesto **7ae**, el que presentó la mejor actividad, tiene el segundo mayor valor de logP (3.12). A pesar de esto, no se observó una correlación clara al considerar los demás compuestos.

5.4.3. Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR).

Con el propósito de establecer una posible relación cuantitativa estructura-actividad citotóxica (QSAR), se analizaron los descriptores moleculares obtenidos en los estudios de modelado molecular (**Tabla 6**), mediante el programa Build QSAR[®][45] para cada línea celular evaluada. Todos los parámetros obtenidos fueron analizados en función de la actividad citotóxica, expresada como pCl₅₀ (log 1/Cl₅₀).

Sin embargo, dada la poca cantidad de compuestos, el incluir dos o más descriptores en el modelo podría conducir a conclusiones erróneas o con poco poder predictivo. Por tal motivo, se intentó buscar un descriptor que pudiese correlacionar lo mejor posible. Sin embargo, los modelos obtenidos para cada descriptor no fueron adecuados, de acuerdo a los parámetros estadísticos considerados, siendo así que no se observó una relación lineal con los datos de actividad biológica. En este caso, es muy probable que no exista una relación lineal; por tal motivo es necesario considerar modelos QSAR no lineales, así como incrementar la biblioteca de compuestos relacionados para contar con un modelo más robusto y que permita explicar mejor los resultados obtenidos.

5.4.4. Estudio de acoplamiento molecular (*docking*).

Con el objetivo de conocer el modo de interacción de este tipo de compuestos con macromoléculas objetivo, se realizaron estudios de acoplamiento molecular en el homodímero de la Topoisomerasa humana II β en complejo con DNA y amsacrina (código de pdb 4G0U) [46] y en el dominio de unión del ATP de topoisomerasa humana II α (código de pdb 1ZXM).[47] Las coordenadas de las macromoléculas se recuperaron de Protein Data Bank. Todas las moléculas de agua y los ligantes fueron removidos mientras que se añadieron átomos de hidrógeno.[48] Para este estudio se eliminó el ion de Mg²⁺. Se eliminó la subunidad B de la proteína 1ZXM a manera de conservar únicamente una de ellas (la subunidad A). Finalmente, las macromoléculas se utilizaron sin una minimización previa de energía. El receptor y los ligantes se prepararon de acuerdo a protocolos establecidos.[49] Usando la interfaz gráfica AutoDock Tools 1.5.6 (ADT), los átomos de hidrógeno no polares se fusionaron al carbono al que estaban unidos y se detectaron los centros de torsión, así como los enlaces rotables.

Con ADT, se generaron las mallas de búsqueda (grid). La región de búsqueda de cada malla fue de 60x60x60 Å. El acoplamiento molecular se llevó a cabo en AutodockTools-1.5.6 usando un algoritmo genético tipo Lamarckiano con un tamaño de población de 150, 2.5×10^6 evaluaciones y 50 corridas. El número máximo de generaciones fue de 27 000. En ambos casos, el tipo de *docking* fue rígido-flexible (macromolécula-ligante). Se seleccionaron las conformaciones energéticamente más favorables del conjunto de conformaciones más abundante (mayor número de clústers). El protocolo de *docking* se validó



por medio de la reproducción del modo de unión del ligante co-cristalizado con la enzima bajo estudio: amsacrina (enzima 4G0U) y AMP-PNP (enzima 1ZXM).

Para el estudio con la enzima 4G0U se seleccionaron los compuestos **7aa**, **7ab**, **7ba**, **7bb** y **7bf** como ambos enantiómeros. El isómero *R* del compuesto **7ab** presentó la menor energía de unión, mientras que su isómero *S* resultó tener la mayor energía, (**Tabla 7**).

Tabla 7. Resultados del estudio de acoplamiento molecular con la enzima 4G0U.

Compuesto	Clusters	Energía de Unión (kcal/mol)
S-7aa	4/10	-9.25
R-7aa	4/10	-9.49
R-7ab	3/10	-10.63
S-7ab	4/10	-9.05
R-7ba	5/10	-9.58
S-7ba	3/10	-9.58
R-7bf	3/10	-9.26
S-7bf	8/10	-10.27
R-7bb	6/10	-9.25
S-7bb	6/10	-9.95
m-AMSA	6/10	-9.08

En todas las moléculas que se utilizaron para el estudio, se observa que el núcleo tricíclico es la parte de la molécula que se intercala mayoritariamente entre las bases del DNA, mientras que la cadena lateral, parece interactuar con aminoácidos de la proteína o bien con los grupos fosfato del DNA (**Figura 15**). Además, en la mayoría de los casos, se observa superposición entre los núcleos tricíclicos de tiazolo[5,4-*b*]quinolina y el núcleo de acridina de la amsacrina con la que se validó el protocolo de *docking*, por lo que la interacción con la macromolécula es similar.

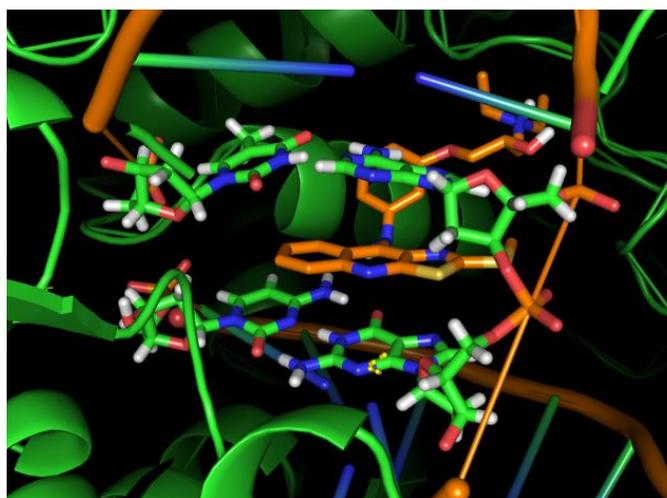


Figura 15. Interacción del compuesto **R-7ab** con la macromolécula **4G0U**. El compuesto y las bases nitrogenadas del DNA se representan como barras. El compuesto **R-7ab** se muestra de color naranja.



Por otra parte, para el estudio con la enzima 1ZXM se seleccionó el compuesto más activo (**7ae**), el menos activo (**7af**) así como el compuesto **7aa** como ambos enantiómeros. El isómero *R* del compuesto **7ae** presentó la menor energía de unión, mientras que su isómero *S* resultó tener la mayor energía, (**Tabla 8**). Todos los compuestos analizados parecen interactuar con los aminoácidos del sitio activo de la enzima (el sitio de unión al ATP) por interacciones por puente de hidrógeno, (**Figura 16a**). No obstante, al comparar la pose de los compuestos analizados con el ligante AMP-PNP, no se observa superposición entre el sistema tricíclico de tiazolo[5,4-*b*]quinolina con el anillo púrico; así, únicamente los residuos ASN91 e ILE141 están en contacto cercano con todos los compuestos estudiados.

Tabla 8. Resultados del estudio de acoplamiento molecular con la enzima 4G0U.

Compuesto	Clusters	Energía de Unión (kcal/mol)	Energía de Unión mínima (kcal/mol)	Interacciones de puente de hidrógeno
<i>R</i> -7aa	25/50	-6.19	-9.55	OH medio con ASN 150
<i>S</i> -7aa	21/50	-6.81	-9.97	S de tiazol con SER149
<i>R</i> -7ae	26/50	-7.03	-10.64	S de tiazol con TYR 165
<i>S</i> -7ae	31/50	-5.64	-10.34	OH medio con ASN 191
<i>R</i> -7bf	29/50	-5.71	-9.21	NH de anilina con ILE141
<i>S</i> -7bf	36/50	-5.62	-10.25	OH terminal con ASN 191
AMP-PNP	16/50	-4.38	-7.22	

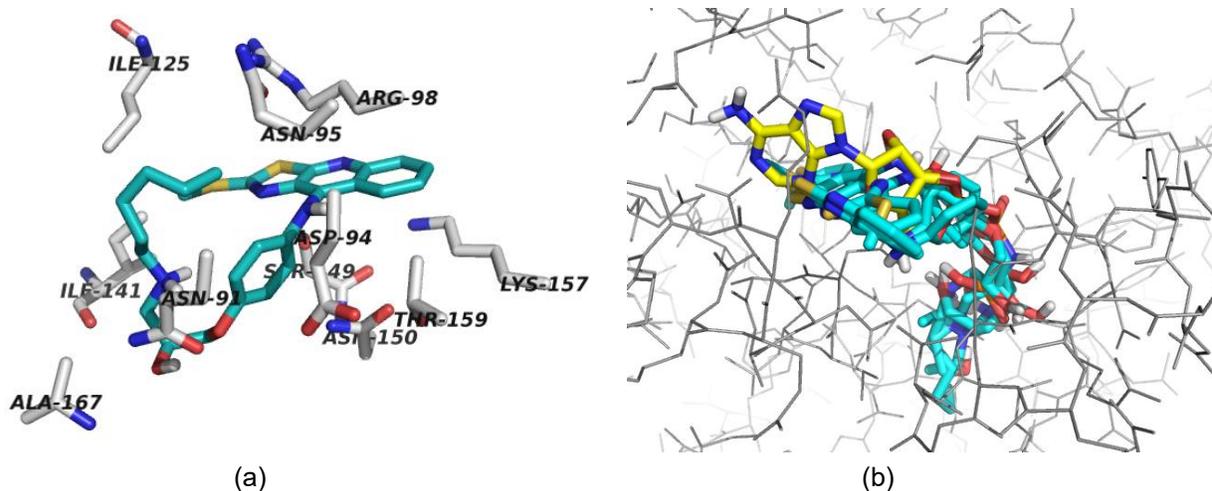


Figura 16. (a) Interacción entre compuesto **S-7ae** y el sitio de unión al ATP del dominio de ATPasa de la topo II α . (b) Superposición de los compuestos analizados (azul) y el ligante AMP-PNP (amarillo) en el sitio de unión al ATP.



6. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron once nuevos compuestos derivados de 9-anilino-tiazolo[5,4-*b*]quinolina y se evaluaron sobre 4 líneas celulares de cáncer humano.
- Se propuso una ruta de síntesis de los compuestos finales. No obstante, los rendimientos obtenidos en el último paso, en general, fueron malos, lo que condujo a una disminución del rendimiento global. Fue necesario modificar la ruta inicial por una ruta de síntesis convergente.
- El análisis de la actividad citotóxica observada en estos compuestos permite concluir que la incorporación de sustituyentes flexibles de tipo 3-(2-hidroxi-3-(amino)propoxi) en el anillo de anilina proporciona citotoxicidad a todos los compuestos, algunos de los cuáles mostraron mayor actividad que el compuesto de referencia (*m*-AMSA), de entre los cuales destacó el compuesto **7ae** al ser 2.5 veces más activo que el compuesto de referencia.
- El estudio de modelado molecular reveló que dadas las semejanzas existentes entre los sustituyentes incorporados, no se apreciaron diferencias significativas en lo concerniente a la orientación del vector dipolo, así como los mapas de isotencial y de orbitales LUMO que permitan establecer una relación con la actividad biológica observada.
- Se propusieron dos posibles macromoléculas sobre las cuales se les realizó el estudio teórico de acoplamiento molecular con algunas moléculas sintetizadas. Este estudio sugiere que los derivados obtenidos de tiazolo[5,4-*b*]quinolina podrían interactuar por medio de un mecanismo de intercalación con el DNA (usando la macromolécula 4G0U); por otra parte, también podrían interactuar con el sitio activo de la enzima topo II α (macromolécula 1ZXM).

7. PERSPECTIVAS

- Dado el potencial interés que presentan los derivados sintetizados, así como otros compuestos semejantes, es necesario optimizar el último paso de reacción para la obtención de estas moléculas o bien, encontrar nuevas rutas de síntesis que permitan reducir el número de pasos y conseguir mejores rendimientos.
- Con base en los resultados obtenidos, es recomendable incrementar la biblioteca de este tipo de compuestos optimizando el diseño de los mismos. También, al demostrar que estos compuestos presentaron actividad favorable, es recomendable realizar la síntesis (o bien la resolución de la mezcla racémica) y la evaluación biológica de cada isómero por separado, pues se espera que esta actividad no sea la misma.
- Con el fin de conocer el mecanismo biológico de acción, es necesario realizar más estudios biológicos, entre ellos, ensayos que permitan cuantificar la actividad inhibitoria específica hacia la topo II α humana y evaluar el daño al DNA.

8. REFERENCIAS DE CONSULTA

1. Zong, A.; Cao, H.; Wang, F. *Carbohydr. Polymers* **2012**, *90* (4), 1395–1410.
2. Corrie, P.G., *Medicine* **2011**, *39* (12), 717–722.
3. Cheung-Ong, K.; Giaever, G.; Nislow, C. *Chem. Biol.* **2013**, *20* (5), 648–659.
4. Delgado-Cirilo, A., Minguillón-Llombart, Joglar-Tamargo, *Introducción a la Química Terapéutica*. 2° ed. **2003**, Díaz de Santos. 479–495.



5. Price, P.; Sikora, K.; Ildige, T. *CRC Press, Taylor & Francis Group*, 5° Ed. **2008**, 10–13.
6. Strekowski, L.; Wilson, B. *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mut.* **2007**, 623, 3–13.
7. Mukherjee, A.; Sasikala, W.; Tatyana, K. *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* **2013**, Academic Press, 92, 1–62.
8. Avendaño, C.; J.C. Menéndez, *Chapter 7 - DNA Intercalators and Topoisomerase Inhibitors*, in *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, **2008**, Elsevier: Amsterdam. 199–228.
9. Ferguson, L.R.; Denny, W. *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mut.* **2007**, 623, 14–23.
10. Martínez, R.; Chacon-García, L. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12 (2), 127–151.
11. McClendon, A.K.; Osheroff, N. *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mut.* **2007**, 623, 83–97.
12. Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C. *Chem. Biol.* **2010**, 17 (5), 421–433.
13. Burden, D.; Osheroff, N. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Structure and Expression* **1998**, 1400, 139–154.
14. D'Arpa, P.; Liu, L. *Biochim. Biophys. Acta - Reviews on Cancer* **1989**, 989 (2), 163–177.
15. Nitiss, J.L., *Nat. Rev. Cancer* **2009**, 9 (5), 338–350.
16. Fortune, J.M.; Osheroff, N. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **2000**, Academic Press. 221–253.
17. Velez-Cruz, R.; Osheroff, N. *Encyclopedia of Biological Chemistry. Vol 1*. Editores: Lennarz, W.; Lane, D. Elsevier Science, **2004**, 806–811.
18. Austin, C.A.; Marsh, K. *BioEssays* **1998**, 20 (3), 215–226.
19. Capranico, G.; Binaschi, M. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Structure and Expression* **1998**, 1400, 185–194.
20. Andoh, T.; Ishida, R. *Biochim. Biophys. Acta - Gene Structure and Expression* **1998**, 1400(1–3), 155–171.
21. Rescifina, A.; Zagni, C.; Varrica, M.; Pistara, V.; Corsaro, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 74, 95–115.
22. Lang, X.; Li, L.; Chen, Y.; Wu, Q.; Liu, H.; Gao, C.; Jiang, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21 (14), 4170–4177.
23. Ketron, A.; Denny, W.; Graves, D.; Osheroff, N. *Biochemistry* **2012**, 51 (8), 1730–1739.
24. Nowak, K.; Wysocki, S. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM* **2004**, 682 (1–3), 191–199.
25. Nelson, E.; Tewey, K.; Liu, L. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81 (5) 1361–1365.
26. Thornber, C.W., *Chem. Soc. Rev.* **1979**, 8 (4), 563–580.
27. Alvarez-Ibarra, C.; Fernandez, R.; Quiroga, M.; Carbonell, A.; Giralt, E. *J. Med. Chem.* **1997**, 40 (5), 668–676.
28. Rodríguez-Loaiza, P.; Quintero, A.; Rodríguez-Sotres, R.; Solano, J.; Lira-Rocha, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39 (1), 5–10.
29. Loza-Mejía, M.; Maldonado-Hernández, K.; Rodríguez-Hernández, F.; Rodríguez-Sotres, R.; González-Sánchez, I.; Quintero, A.; Solano, J.; Lira-Rocha, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16 (3), 1142–1149.
30. Loza-Mejía, M.; Olvera-Vázquez, S.; Maldonado-Hernández, K.; Guadarrama, T.; González, I.; Rodríguez, F.; Solano, J.; Rodríguez-Sotres, R.; Lira-Rocha, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17 (9), 3266–3277.
31. Martínez-Vázquez, R., *Síntesis y evaluación citotóxica de derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina con grupos dietilaminoalquilamino*. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, **2012**.
32. Woo, S.; Jung, J.; Lee, C.; Kwon, Y.; Na, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17 (5), 1163–1166.
33. Na, Y., *J. Pharm. Pharmacol.* **2009**, 61 (6), 707–712.
34. Woo, S.; Kang, D.; Nam, J.; Ha, E.; Lee, E.; Kwon, Y.; Na, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45 (9), 4221–4228.
35. Jun, K.-Y.; Lee, E.; Jung, M.; Lee, O.; Lee, E.S.; Park, H.; Na, Y.; Kwon, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46 (6), 1964–1971.
36. Park, S. E.; Chang, I.; Lee, E.; Lee, E.S.; Na, Y.; Kwon, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 139–145.
37. Park, S.; Hong, E.; Kwak, S.; Jun, K.; Lee, E.; Kwon, Y.; Na, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 123, 211–225.
38. Paez-Franco, J.; González-Sánchez, I.; Gutiérrez-Najera, N.; Lira-Rocha, A.; Cerbon, M.; Rodríguez-Sotres, R. *J. Cell. Biochem.* **2016**, 9999, 1–10.
39. López-Rodríguez, A.K., *Síntesis, actividad citotóxica y relación estructura-actividad de derivados de 2-[(1-azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino-tiazolo[5,4-b]quinolina*. Tesis de Maestría, UNAM, México, **2011**.
40. Khadilkar, B.M.; Bendale, P. *Synth. Commun.* **1997**, 27 (12), 2051–2056.
41. Surry, D.S.; Buchwald, S. *Chemical Science* **2011**, 2 (1), 27–50.
42. Sunesson, Y.; Lime, E.; Nilsson, S.; Meadows, R.; Norrby, P. *J. Org. Chem.* **2014**, 79 (24), 11961–11969.
43. Marvin 5.4.0.1, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>), **2010**.
44. Loza-Mejía, M.A.; Castillo, R.; Lira-Rocha, A. *J. Mol. Graph. Modell.* **2009**, 27 (8), 900–907.
45. de Oliveira, D.B.; Gaudio, A. *Quant. Struct-Act. Rel.* **2000**, 19 (6), 599–601.
46. Wu, C.C.; Li, Y.; Wang, Y.; Li, T.; Chan, N. *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41 (22), 10630–40.
47. Wei, H.; Ruthenburg, A.; Bechis, S.; Verdine, G. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280 (44), 37041–7.
48. Battistutta, R.; Mazzorana, M.; Cendron, L.; Moro, S.; Pinna, L. *Chembiochem* **2007**, 8 (15), 1804–1809.
49. Morris, G.; Goodsell, D.; Halliday, R.; Huey, R.; Hart, W.; Belew, R.; Olson, A. *J. Comput. Chem.* **1998**, 19 (14), 1639–1662.