



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**Síntesis de nuevos compuestos que incorporan el sistema
(1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano y su aplicación en síntesis
asimétrica y en química medicinal**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. MANUEL LÓPEZ ORTIZ

Dr. José Ignacio Regla Contreras
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

FES Zaragoza, Cd.Mx.

Agosto 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.

Agradecimientos

- **CONACyT**

Por la beca número 227111 otorgada para la realización de mis estudios de Doctorado. Asimismo por el apoyo con el proyecto 101855 para la realización de este trabajo.

- **Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM**

Por la oportunidad para realizar mis estudios de doctorado.

- **Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM**

Por el apoyo realizado para la realización de los ensayos farmacológicos del análogo diazabíclico de ranolazina.

- **Laboratorio de Hematopoyesis, UMIEZ, FES Zaragoza, UNAM**

Por el apoyo con la evaluación anticancerígena del híbrido de Erlotinib y Tandutinib.

- **Instituto de Química UNAM**

Por el apoyo con la realización de toda la espectroscopia de este trabajo.

Lugar donde se desarrollo este trabajo

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Síntesis de Fármacos L-9 Primer piso de la Unidad Multidisciplinaria de investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ) de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II.

Productos

Publicación:

- López-Ortiz, M; Monsalvo, I; Demare, P; Paredes, C; Mascher, D; Hernández, C; Hernández, M; Regla, I..Synthesis of Ranolazine derivatives containing the (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane moiety and their evaluation as vasodilating agents. *Chemical Biology & Drug Design*; **2014**, 83(6): 710-720.

Congresos:

- X Congreso de Investigación de la FES Zaragoza-UNAM, México, D.F.; 14 de octubre, **2014**. Síntesis de nuevos derivados de Ranolazina que incorporan el sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (Cartel).



Contenido

RESUMEN.....	7
PARTE 1. SÍNTESIS DE ORGANOCATALIZADORES.....	8
1.1. Síntesis de Compuestos Enantiopuros.....	8
1.1.1. Síntesis enantioselectiva estequiométrica.....	8
1.1.2. Catálisis asimétrica.....	8
1.1.3. Organocatálisis.....	9
1.1.4. Catálisis mediante enlaces de hidrógeno.....	12
1.1.4.2. Tioureas como catalizadores.....	12
1.1.5. Sistema diazabicyclo heptano.....	20
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
1.3. OBJETIVOS.....	23
1.4. METODOLOGIA.....	23
1.4.1. Síntesis de los compuestos 10-13.....	24
1.4.2. Síntesis de los compuestos 14-17.....	25
1.4.3. Síntesis de las tioureas 1-4.....	25
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
1.5.1. Síntesis (1S,4S)-2-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano.....	26
1.5.2. Síntesis de las tioureas 1-4.....	26
1.5.3. Caracterización de las tioureas.....	28
1.5.4. Evaluación de las tioureas 1- 4 como catalizadores asimétricos.....	31
1.6. CONCLUSIONES.....	34
PARTE 2. SÍNTESIS DE COMPUESTOS CARDIOVASCULARES.....	35
2.1. Cardiopatía Isquémica.....	35
2.1.1. Clasificación.....	35
2.1.2. Incidencia.....	36
2.1.3. Tratamiento.....	36
2.1.4. Ranolazina.....	37
2.1.5. Sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano.....	39



2.2. OBJETIVO	42
2.2.1. Objetivo general.....	42
2.2.2. Objetivos particulares	42
2.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	43
2.3.1. Síntesis de Ranolazina (Rac-7).....	43
2.3.2. Síntesis del Análogo [(S,S,S)-(S,S,R)]-28	46
2.3.3. Síntesis de (S,S,S)-28 y (S,S,R)-28	48
2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
2.4.1. Tabla de Resultados	50
2.4.2. Ranolazina	51
2.4.3. [(S,S,S)-(S,S,R)]-10 y [(S,S,S)-(S,S,R)]-28	54
2.4.4. Evaluación farmacológica	57
2.5. CONCLUSIONES	60
PARTE 3. SÍNTESIS DE COMPUESTOS ANTICANCERÍGENOS	61
3.1. Cáncer	61
3.1.1. Tumor	62
3.1.2. Estadísticas del cáncer.....	62
3.1.3. Tratamiento general de cáncer.....	64
3.1.4. Cáncer de pulmón	69
3.1.4.3. Inhibidores de las tirosina-cinasas	72
3.1.4.3.2. Factores de crecimiento epidérmico	72
3.1.5. Síntesis de quinazolininas y quinazolinonas.....	74
3.1.5.1. Síntesis de quinazolininas de Niementowski	75
3.1.5.2. Síntesis de 2-arilquinazolininas.....	75
3.1.5.3. Síntesis de quinazolinonas 2-sustituidas.....	76
3.1.5.4. Síntesis de quinazolinonas vía inserción de ter-butil-isocianuro	76
3.1.6. Quinazolininas y el cáncer	77
3.1.5.3. Síntesis de Erlotinib y Tandutinib	78
3.1.6. Sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (DBH)	79
3.1.7. Fármacos híbridos.....	81
3.2. OBJETIVO	82



3.3. METODOLOGÍA	82
3.3.1. Síntesis general	83
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	88
3.5. CONCLUSIONES	95
REFERENCIAS	96
ANEXO.....	102
ARTICULO.....	152



Abreviaturas

°C	Grado centígrado
μM	Micromolar
AcOEt	Atetato de etilo
Ar	Arilo
ATP	Trifosfato de adenosina
Bn	Bencilo
Boc	Terbutoxicarbonilo
C	Carbono
Cat	Catalizador
Cbz	Benciloxicarbonil
CCF	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CI	Cardiopatía isquémica
D ₂ O	Agua deuterada
DBH	(1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano
DCM	Diclorometano
DIPEA	Diisopropiletilamina
ee	Exceso enantiomérico
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
EI+	Impacto electrónico
EM	Espectrometría de masas
Et	Etilo
EtOH	Etanol
EtOH	Etanol
FAB+	Fast atom bombardment
FDA	Agencia de fármacos y Alimentos de los Estados Unidos de América
g	Gramo
H	Hidrógeno
h	Hora
Hex	Hexano
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
Hz	Hercio
IE	Impacto electrónico
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IPA	Isopropanol



iPr	Isopropilo
J	Constante de acoplamiento
L-NAME	Ester metílico de <i>L</i> - nitro arginina
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energía
M	Molar
m/z	Relacion masa-carga
MBH	Morita-Baylis Hillman
Me	Metilo
MeOH	Metanol
MeOH	Metanol
mg	Miligramo
MHz	Megahercio
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milimetro
MsCl	Cloruro de Mesilo
MTBE	Metil terbutil éter
nm	Nanometro
NO	Oxido nítrico
Ns	Nosilo (nitrobencensulfonil)
Ph	Fenilo
PM	Peso Molecular
ppm	Partes por millón
psi	Libras por pulgada cuadrada
Py	Piridina
rac	Mezcla racémica
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno
secBu	secButilo
S _N Ar	Sustitución nucleofílica aromática
SOMO	Orbital molecular ocupado por solo un electrón
Ta	Temperatura ambiente
TBS	Terbutil dimetil sililo
t-Bu	Terbutilo
TFA	Acido trifluoroacético
TFAA	Anhidrido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
Tol	Tolueno
TsCl	Cloruro de Tosilo



Síntesis de nuevos compuestos que incorporan el sistema (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano y su aplicación en síntesis asimétrica y en química medicinal



RESUMEN

El sistema (1*S*,4*S*) -2,5-diazabicyclo [2.2.1] heptano (DBH), descrito por primera vez en 1966, es una diamina quiral de simetría C₂ con un equilibrio conformacional restringido. Este sistema bicyclico tiene algunas de las cualidades típicas de un catalizador asimétrico tales como: ser una diamina con una estructura rígida y dos centros estereogénicos, además de la capacidad de coordinación. A pesar de su potencial como catalizador, hay pocas publicaciones sobre la aplicación de este sistema en la síntesis asimétrica. También se ha utilizado como el equivalente estructural de piperazina en la síntesis de algunos análogos de fármacos diazabicyclicos y en algunos casos ha mostrado buenos resultados en términos de su actividad antineoplásica, antiinflamatoria y analgésica.

Esta tesis describe la síntesis de nuevas tioureas que incorporan el sistema DBH y su aplicación como organocatalizadores en diferentes reacciones de adición de Michael, encontrándose una pobre inducción asimétrica. Simultáneamente, se realizó la síntesis de un nuevo análogo diazabicyclico de Ranolazina, y su evaluación biológica mostró un mayor efecto relajante que el de la ranolazina original. Actividad que fue mediada por dos mecanismos diferentes. También se sintetizó un híbrido diazabicyclico de erlotinib y tandutinib, y se evaluó biológicamente como agente anticancerígeno en varias líneas celulares de cáncer, mostrando un efecto menor que el erlotinib.



PARTE 1. SÍNTESIS DE ORGANOCATALIZADORES

1.1. Síntesis de Compuestos Enantiopuros

Los compuestos enantiopuros son los más importantes constituyentes de una amplia variedad de medicamentos, agroquímicos, saborizantes y fragancias. En la actualidad la Agencia de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos de América (FDA por sus siglas en inglés) sólo aprueba nuevos fármacos quirales en forma de su enantiómero activo, debido a que esta clase de compuestos interactúa con receptores biológicos para ejercer su actividad; sólo el enantiómero que tiene la capacidad de unirse con el receptor presentará la actividad farmacológica deseada, y en el caso de sabores y fragancias los enantiómeros presentan diferentes aromas o sabores. Son ejemplos de ello el limoneno, la talidomida, el naproxeno y la penicilamina.¹, Por esta razón es necesario buscar métodos de síntesis eficientes para obtener compuestos enantioméricamente puros. Entre los métodos que permiten obtener sustancias quirales enantiopuras destacan:

1.1.1. Síntesis enantioselectiva estequiométrica

En este tipo de síntesis, cada molécula del reactivo quiral genera una molécula de producto quiral. Este procedimiento suele ser impráctico, ya que requiere que el sustrato sea un compuesto quiral, lo que obliga a contar con un acervo de quiralidad (chiral pool), y ello a su vez implica partir de compuestos que se obtienen en la naturaleza.

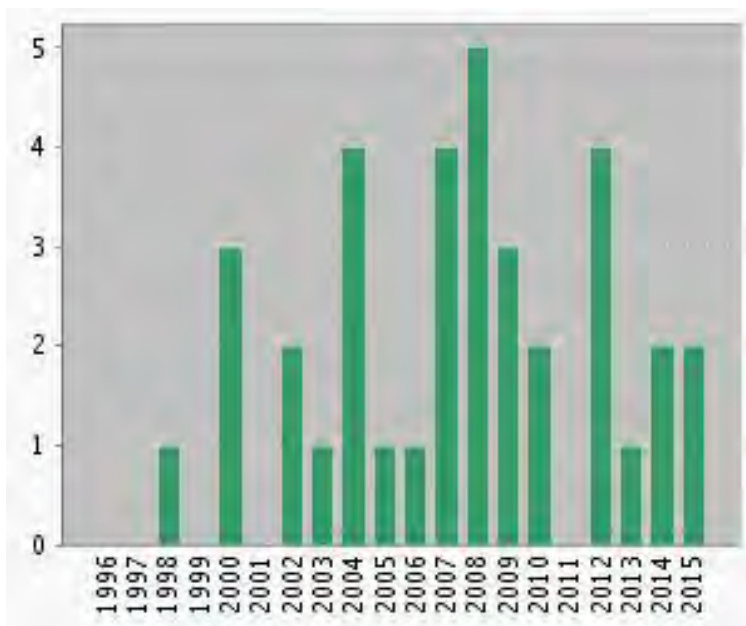
1.1.2. Catálisis asimétrica

Con este método se alcanza un aumento de la quiralidad debido a que una molécula de catalizador quiral puede generar cientos o miles de moléculas quirales. Este procedimiento es más práctico, pues permite aprovechar los reactivos requeridos de manera más eficiente y sustentable.²

Existen diversos catalizadores apropiados para este método, como las enzimas que se conocen desde mediados del siglo XIX, los catalizadores organometálicos



desarrollados desde la segunda mitad del siglo XX y los organocatalizadores que han tenido un auge en la última década.



Gráfica 1.1. Publicaciones referentes a tioureas como catalizadores obtenido de la Web Of Science

1.1.3. Organocatálisis

Es el empleo de pequeñas moléculas orgánicas para catalizar reacciones orgánicas. Si bien sus primeras aplicaciones partieron de compuestos aquirales que en consecuencia generaron productos racémicos, años más tarde se descubrió que los organocatalizadores enantioméricamente puros no sólo promueven la reacción sino que pueden inducir enantioselectividad.^{1,3} Debido a ello, en la última década el desarrollo en este campo ha sido muy amplio. Además, ofrecen diversas ventajas comparado con los otros catalizadores. Destacan:


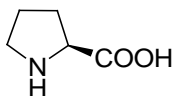
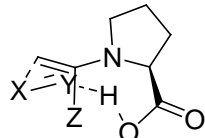
- No requiere de condiciones inertes como los compuestos organometálicos, que usualmente son sensibles a la humedad y al oxígeno.
- No es necesario usar disolventes anhidros.
- Las moléculas orgánicas pequeñas presentan mayor estabilidad, a diferencia de las enzimas, que generalmente se degradan a temperaturas superiores a los 37 grados centígrados.



- Bajo costo en comparación con las enzimas, algunos metales de transición y complejos con propiedades catalíticas.
- Son fácilmente accesibles, ya sea aprovechando sustancias naturales abundantes (acervo quiral) como los aminoácidos y los carbohidratos, o porque su preparación es sencilla.
- Amplia variedad de aplicaciones, ya que pueden actuar sobre una gran cantidad de sustratos.
- Protección del medio ambiente al evitar el empleo de metales que pueden ser intolerables en la producción de fármacos, alimentos y derivados agroquímicos.

Debido al éxito de la organocatálisis, en los últimos años surgieron diversos mecanismos de activación para los diferentes catalizadores. McMillan³ propone la clasificación de la Tabla 1, donde se observan los catalizadores más representativos para cada modo de activación, así como algunos ejemplos de reacciones en que se aplican.


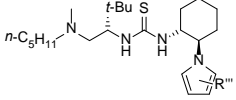
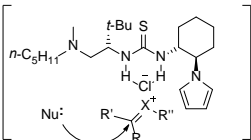
Tabla 1.1. Tipos de organocatalizadores y sus vías de activación

Sustrato	Catalizador	Modo de activación	Ejemplos de nuevas variantes de reacción
<p>Catalizadores vía enaminas</p>  <p>+ X=Y</p> <p>R= Alquilo, arilo X=C,N,O,S Y=Atomo orgánico genérico Z= Alquilo, H</p>			<ul style="list-style-type: none">• Condensación aldólica• α-Alquilación intramolecular• Reacción de Mannich• Reacción de Michael• α-Aminación• α-Oxigenación• α-Halogenación



<p>Catálisis mediante enlaces de hidrógeno</p> <p>X=O, NR R, R', R''=Alquilo, arilo</p>		<p>Activación LUMO</p>	<ul style="list-style-type: none">• Reacción de Strecker• Reacción de Mannich• Cianosilación de cetonas• Reacción de Biginelli• Reacción de Pictet-Spengler• Aminación reductiva
<p>Catálisis de iminio</p> <p>R= Alquilo, Arilo</p>		<p>Activación LUMO</p>	<ul style="list-style-type: none">• Reacción de Friedel-Crafts• Reacción de Diels-Alder• Reacción <i>exo</i>-selectiva Diels-Alder• Reacción Mukaiyama-Michael• Aminación Conjugada• Oxigenación conjugada• Cyclopropanación• Epoxidación• Aziridinación
<p>Activación SOMO</p> <p>R = alquil, aril</p>		<p>Activación SOMO</p>	<ul style="list-style-type: none">• α-Alilación• α-Enolación• α-Vinilación• α-Heteroarilación



Contraíón catálisis  X= O, NR R, R', R'', R''' = alquil, aril		Activación LUMO 	<ul style="list-style-type: none">• Reacción de Pictet-Spengler• Reacción de adición de Oxocarbenio
--	---	---	--

1.1.4. Catálisis mediante enlaces de hidrógeno

La importancia de los enlaces de hidrógeno en los sistemas químicos y biológicos ha sido ampliamente destacada en los últimos años. Esta interacción es de gran importancia en los sistemas biológicos como el plegamiento de las proteínas o la transferencia y expresión de la información genética. Siendo este tipo de interacciones débiles como unidad, sin embargo cuando se juntan varias de éstas adquieren gran fuerza.⁴

1.1.4.1. Enlace de hidrógeno

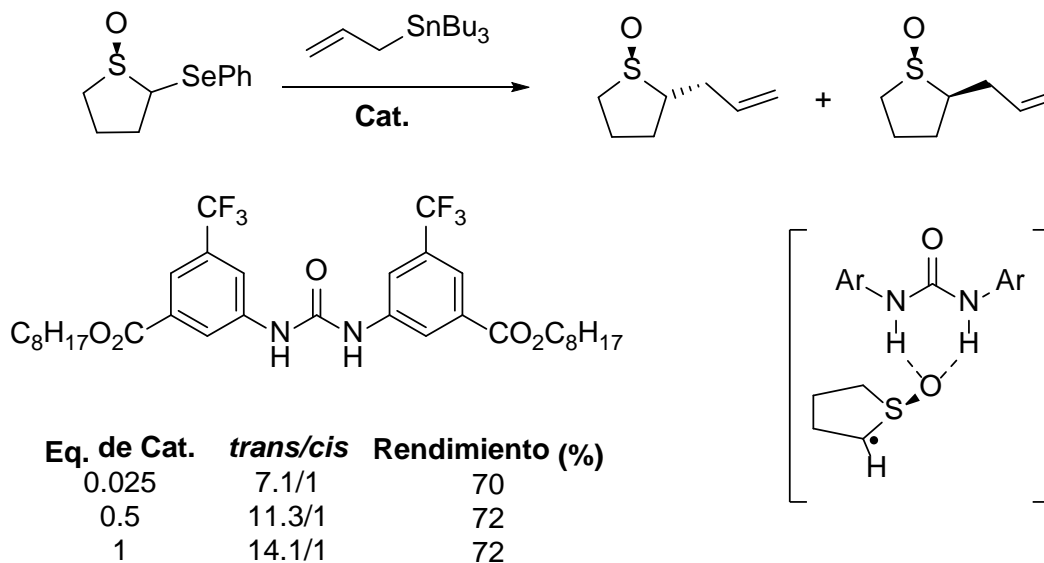
El término enlace de hidrógeno fue establecido por Huggins⁵ en 1936 en referencia al fenómeno de la asociación entre moléculas que contienen enlaces polares **X-H**, electrones desapareados de átomos **Z** de otras moléculas, caracterizados por sus relativamente altas energías de interacción. Estas interacciones conectan átomos **X** y **Z** a través de interacciones electrostáticas y se hacen más fuertes al aumentar el momento dipolar de **H-X**, o bien por la disponibilidad del par de electrones libres del átomo donador. Este tipo de interacciones son de gran importancia debido a que promueven la catálisis de diversas reacciones que tienen la capacidad de funcionar como ácidos de Bronsted o Lewis.

1.1.4.2. Tioureas como catalizadores

El interés de las tioureas como organocatalizadores se inició cuando Etter y col.⁶ descubrieron que las diaril ureas con sustituyentes electroattractores podían tener interacción con diferentes grupos funcionales mediante enlaces de hidrógeno y cocrystalizaban con una amplia gama de aceptores de protones.

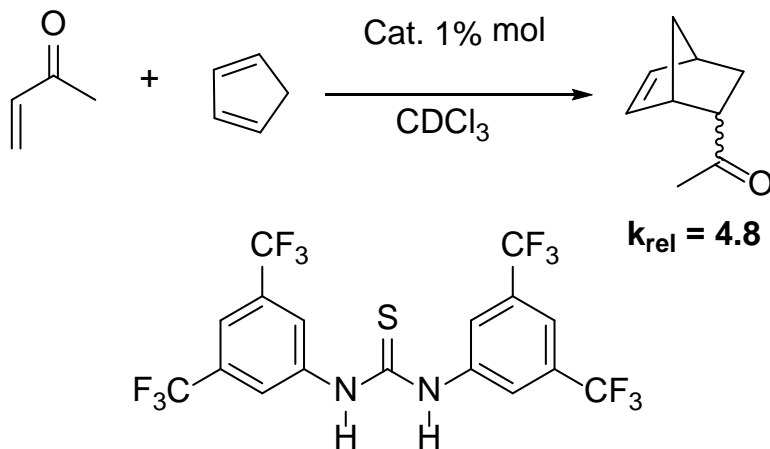


En este hecho se inspiraron Curran y col.⁷ para la aplicación de las tioureas como catalizadores, en uno de los primeros reportes que describen la alilación de sulfóxidos catalizada con la urea mostrada en el Esquema 1.1. Curran propone que la formación de enlaces de hidrógeno con la urea que estabilizan los estados de transición y al aumentar cantidades de la urea en el seno de la reacción se observaba el aumento en la diastereoselectividad.



Esquema 1.1. Reacción de alilación esteroesselectiva

Porsteriamente Wittkopp y col. reportaron que el uso de grupos electroattractores fuertes en el arilo de la tiourea, que aceleran las reacciones de tipo Diels-Alder.⁸



Esquema 1.2. Ejemplo de tioureas con grupos electroattractores fuertes en el arilo.



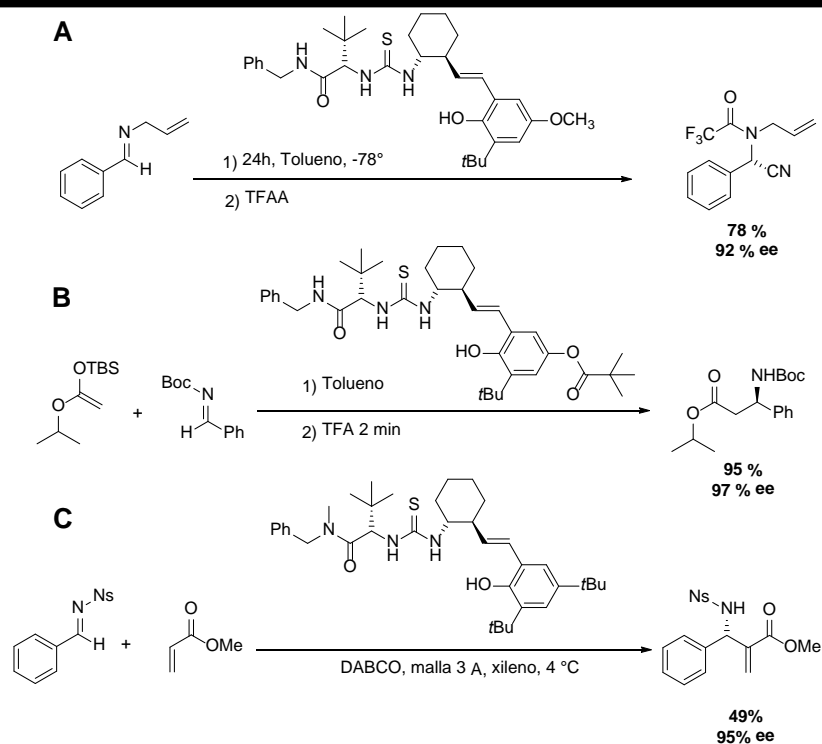
Este tipo de activación bidentada fue propuesta por diversos autores con otros compuestos y se observó que de igual manera promueven o aceleran diversas reacciones. Sin embargo las tioureas presentan diversas ventajas en comparación con otros compuestos como son:

- La acidez de la tiourea (pK_a 21) es mayor a la de la urea (pK_a 26).
- Tienen alta solubilidad en una gran variedad de disolventes orgánicos.
- No se observa autoasociación entre sus moléculas.

Por estas ventajas, el uso de las tioureas como organocatalizadores es amplio, teniendo hoy en día una amplia variedad de aplicaciones en diversas reacciones en síntesis asimétrica.

1.1.4.2.1. Tiourea de Jacobsen

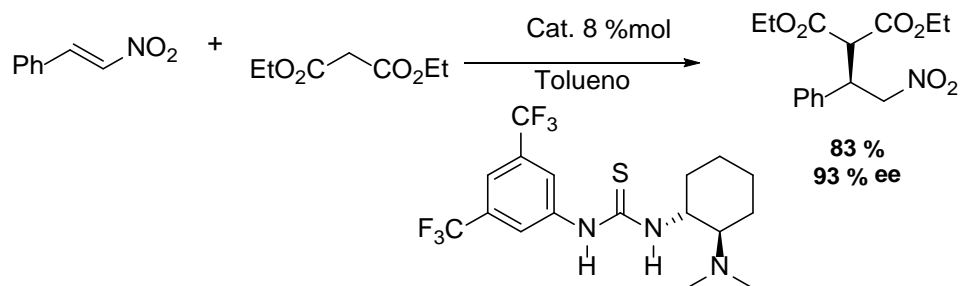
Entre los primeros reportes del uso de tioureas en reacciones asimétricas se encuentran los trabajos de Jacobsen y col.⁹ Son ellos los pioneros en el campo de estos organocatalizadores. Descubrieron que el uso de tioureas quirales catalizaban reacciones sin la necesidad de un metal en el medio de reacción. A partir de este descubrimiento encuentran el uso diversas tioureas como catalizadores en reacciones de tipo Strecker, Mannich y aza-Morita-Baylis-Hillman asimétricas (Esquema 1.3).^{10,11}



Esquema 1.3. Aplicaciones de las tioureas quirales

1.1.4.2.2. Tiourea bifuncional de Takemoto

La adición de nucleófilos a nitroolefinas son reacciones apreciadas debido a la funcionalidad que se les puede dar a estos productos. Takemoto y col.¹² reportaron el uso de tioureas en este tipo de reacciones obteniendo rendimientos moderados y altos excesos enantioméricos (Esquema 1.4)

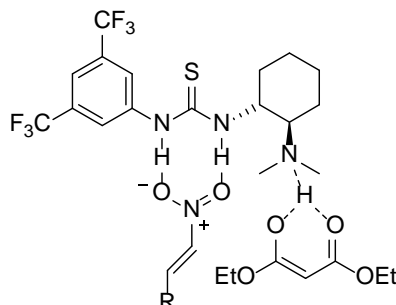


Esquema 1. 4. Adición de nucleófilos a nitroolefinas catalizadas por la tiourea de Takemoto.

Takemoto fue el primero en definir el término bifuncional para este tipo de organocatalizadores debido a que presentan una doble función: la de activar al electrófilo y al nucleófilo mediante enlaces de hidrógeno para de este modo controlar



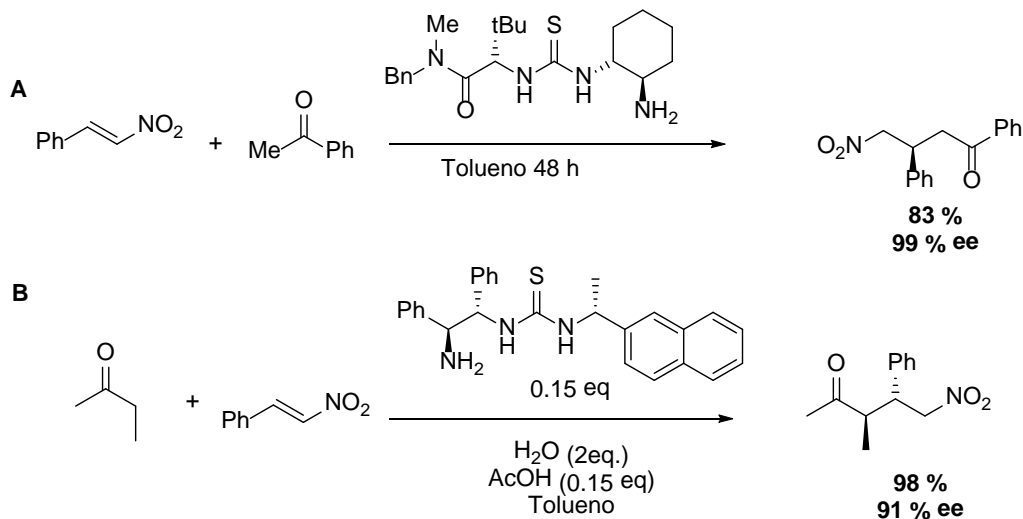
la inducción asimétrica. Además, los estudios de difracción de rayos X revelan que la tiourea y el grupo amino se encuentran en la misma cara del plano, lo que facilita la adición del nucleófilo por una de las caras del electrófilo. Esquema 1.5



Esquema 1.5. Mecanismo de adición estereoselectivo catalizado con una tiourea.

1.1.4.2.3. Adición de cetonas a nitroalcanos catalizadas por tioureas bifuncionales

La aplicación de tioureas en reacciones de adición asimétrica de compuestos carbonílicos a nitroolefinas ha tenido un gran auge debido a la utilidad que presentan estos aductos, primordialmente por su versatilidad para ser transformados en diferentes grupos funcionales, que pueden ser utilizados como intermediarios de síntesis.¹³ Jacobsen¹⁴ y Tsogoeva,¹⁵ pioneros en el desarrollo de tioureas bifuncionales reportaron la adición de cetonas a nitroolefinas encontrando rendimientos buenos y excesos enantioméricos altos con un amplio número de sustratos.

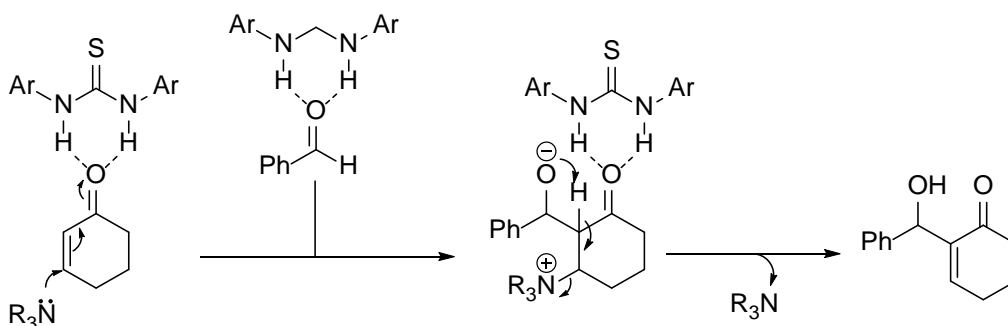


Esquema 1.6. Aplicaciones de las tioureas en reacciones de adición tipo Michael.



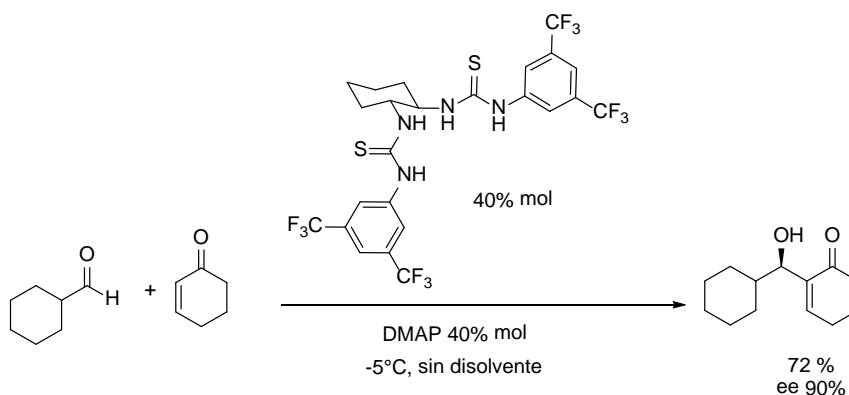
1.1.4.2.4. Reacción de Morita-Baylis Hillman

La reacción de Morita-Baylis Hillman (MBH) ha sido estudiada en los últimos años debido a que permite obtener una amplia variedad de alcoholes alílicos funcionalizados y es una de las reacciones donde la organocatálisis ha mostrado mejores resultados en comparación con los catalizadores metálicos.¹⁶ Nasagawa y col.,¹⁷ pioneros en el uso de tioureas para esta reacción, utilizaron la tiourea de Schneider y propusieron el modelo mostrado en el Esquema 1.7.



Esquema 1.7. Modelo de Nasagawa y colaboradores

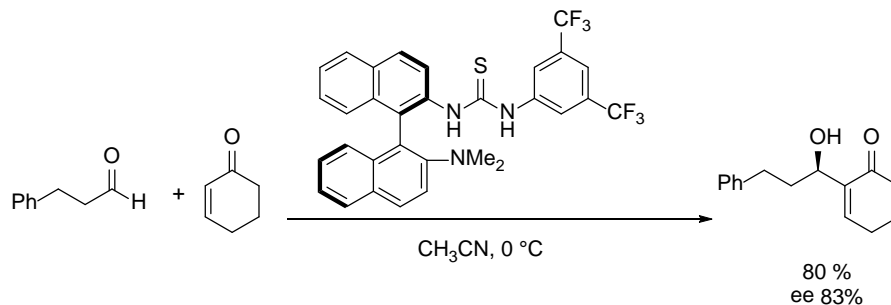
Posteriormente diseñaron una bistiourea quiral con el fin de tener en la misma molécula, un grupo que active a la cetona, otro que active al aldehído y además indujera enantioselectividad con buenos rendimientos y excesos enantioméricos moderados, como se muestra en el Esquema 1.8.



Esquema 1.8. Aplicación de bistioureas quirales.



Por otra parte, Wang y col.¹⁸ desarrollaron una tiourea bifuncional quiral que contiene una amina terciaria, que evita la necesidad de usar una base en la reacción (Esquema 1.9).

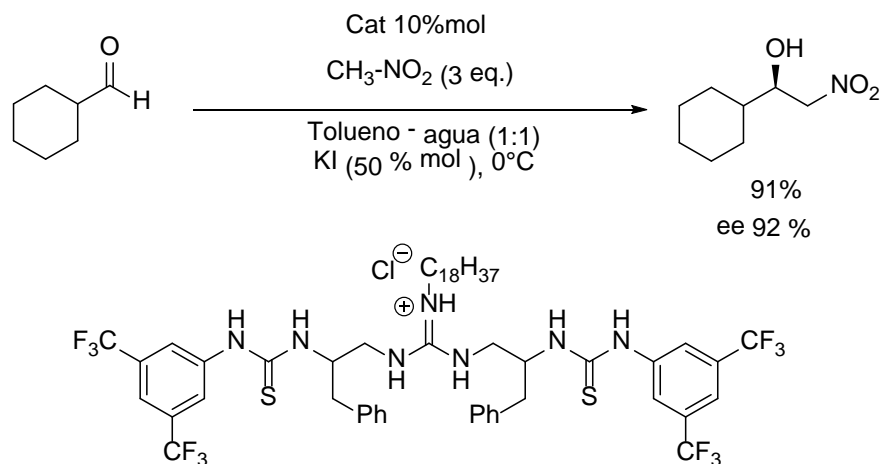


Esquema 1.9. Aplicación de una tiourea bifuncional.

1.1.4.2.5 Reacción de Henry

Una manera de formar enlaces C-C es generar β -nitroalcoholes mediante la reacción de Henry, que presentan la ventaja de ser transformados en otros grupos funcionales que se pueden aplicar en importantes procesos industriales.¹⁹ Debido a esto, el desarrollo de catalizadores asimétricos aplicables en esta reacción ha tenido un importante auge,^{20, 21} donde las tioureas también han tenido contribuciones importantes para la producción de nitroalcoholes quirales.

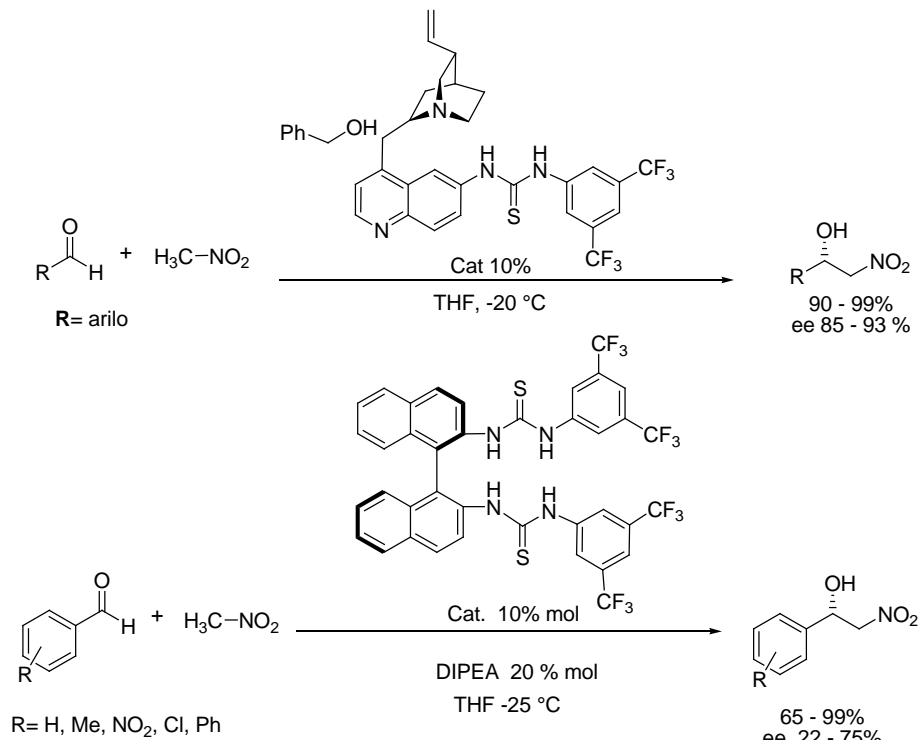
Nasagawa y colaboradores^{22,23} prepararon una guanidino-tiourea y la evaluaron en la reacción de Henry utilizando aldehídos alifáticos, obteniendo rendimientos y excesos enantioméricos moderados, como se muestra en el Esquema 1.10.



Esquema 1.10. Uso de guanidin-tiourea en la reacción de Henry

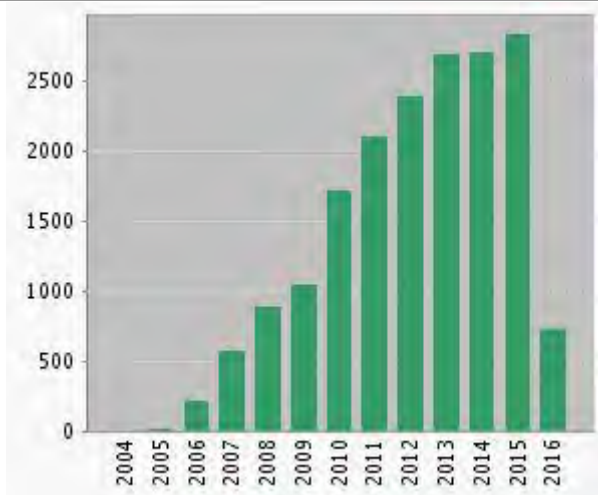


Tras los trabajos de Nasagawa, diversos grupos de investigación han descrito la aplicación de tioureas como catalizadores para la reacción de Henry reportando buenos rendimientos y exesos enantioméricos variados (Esquema 1.11).



Esquema 1.11. Aplicación de tioureas como catalizadores

En los últimos años, el uso de tioureas como organocatalizadores ha tenido un alto impacto, y en la última década el incremento en los trabajos de su empleo como organocatalizadores ha sido considerable; en 2015 se encontraron más de 2500 publicaciones, que demuestran que las tioureas cada vez tienen más aplicaciones.



Gráfica 1.2. Publicaciones referentes a tioureas como organocatalizadores obtenido de la Web Of Science

1.1.5. Sistema diazabicyclo heptano

El sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (DBH), descrito por primera vez en 1966,²⁴ es una diamina quiral con simetría C_2 y equilibrio conformacional restringido. Este compuesto ha sido utilizado como equivalente estructural de la piperazina en la síntesis de algunos análogos diazabicyclicos de fármacos y en algunos casos ha rendido buenos resultados en cuanto a su actividad antineoplásica,^{25, 26, 27} antiinflamatoria,^{28,29,30} y analgésica.^{31,32,33}

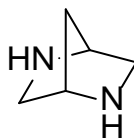
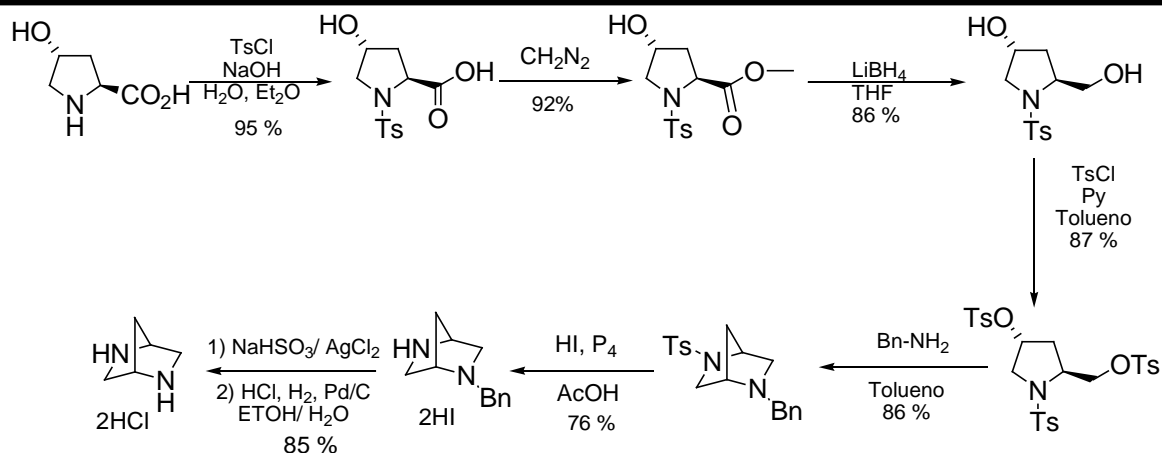


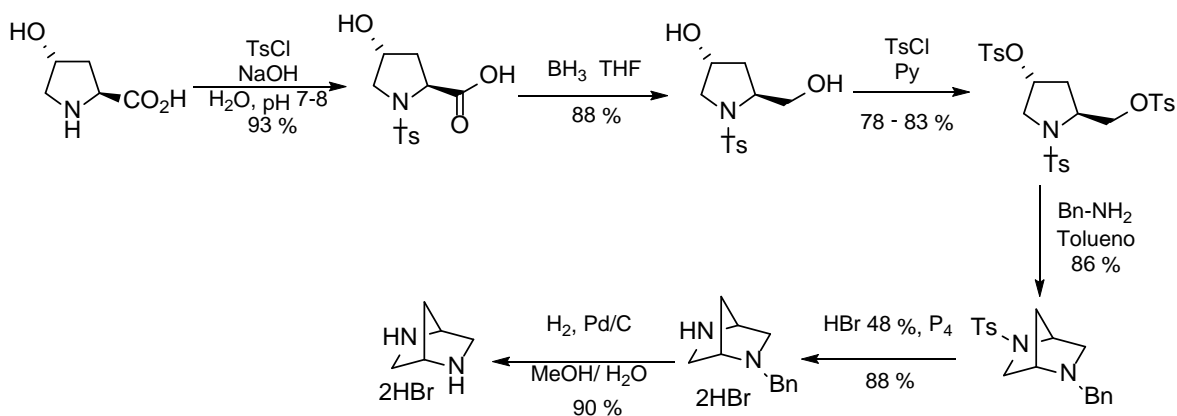
Figura 1.1. Estructura del (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano

La primera síntesis de este compuesto fue publicada en 1966 por Portoghese y col.²³ Partieron de la *trans*-4-hidroxi-*L*-prolina, la cual, por protección de nitrógeno, esterificación, reducción del éster, tosilación, ciclación con bencilamina y posterior destosilación e hidrogenólisis, produjo el sistema diazabicyclo con un rendimiento global de 36% (Esquema 1.12).



Esquema 1.12. Síntesis del (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano por Portoghese

Una modificación de esta metodología fue publicada por Jordis³⁴ en 1990. Consiste en la reducción directa del ácido carboxílico con borano-THF, además de evitar el uso de ácido yodhídrico para la *N*-destosilación del bicyclo, como se muestra en el Esquema 1.13. Esta estrategia tiene un rendimiento global de 46%

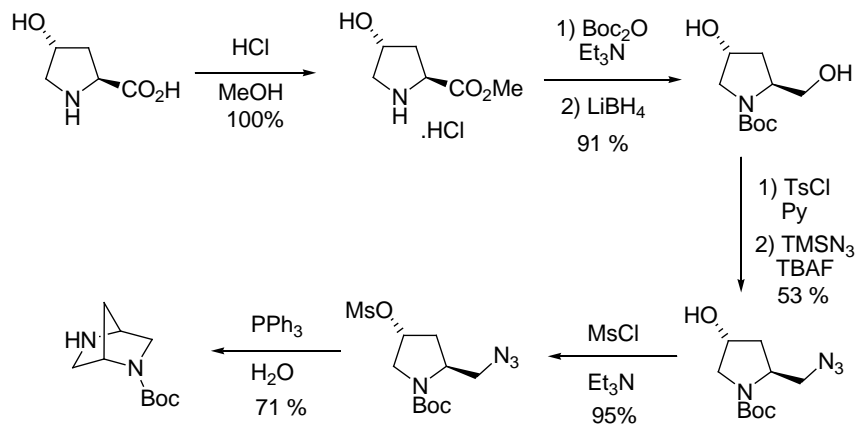


Esquema 1.13. Síntesis del (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano por Jordis.

En años recientes se han desarrollado diversas estrategias basadas en las dos anteriores y modificando algunas condiciones para obtener los bicyclos funcionalizados.³⁵ Pero fue hasta 2013 que Beinat y col.³⁶ publicaron la síntesis del sistema diazabicyclo mediante la transformación del alcohol primario de diol *N*-Boc protegido a la azida que por posterior funcionalización del alcohol secundario, reducción de la azida y ciclización les produjo el diazabicyclo *N*-boc protegido. Esta



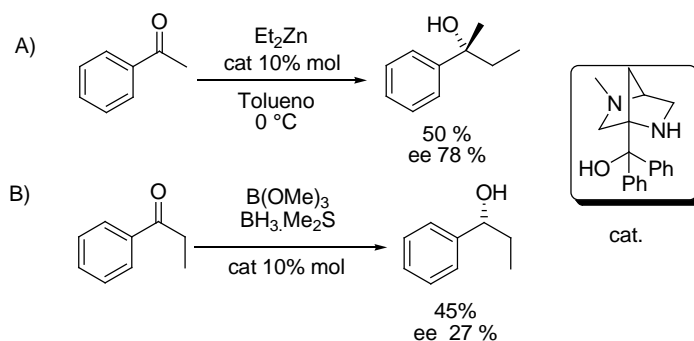
estrategia tiene como ventaja tener uno de los nitrógenos protegidos para poder preparar derivados diazabíclicos de manera más sencilla (Esquema 1.14).



Esquema 1.14. Síntesis del (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano por Beinat.

1.1.5.1 Sistema diazabicyclo[2.2.1]heptano en síntesis asimétrica

Este sistema tiene las cualidades necesarias de un catalizador asimétrico como son: ser una diamina con estructura rígida, dos centros estereogénicos, además de la capacidad de coordinación, no obstante su potencial, existen pocas publicaciones acerca de la aplicación de éste en síntesis asimétrica. Jordis en 1999³⁷ publicó la síntesis de un compuesto diazabíclico aplicado a reacciones de adición de dietilzinc a benzaldehído, obteniendo excesos enantioméricos considerables. Posteriormente reportaron la aplicación del mismo diazabicyclo en reacciones de reducción estereoselectiva de cetonas, generando la correspondiente borolidina *in situ* con la diamina; demostrando que había inducción asimétrica moderada como se muestra en el Esquema 1.15.³⁸



Esquema 1.15. Reacciones de reducción estereoselectiva de cetonas.



1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la demanda de compuestos enantiopuros para la industria química, es necesario desarrollar una nueva generación de catalizadores asimétricos con ventajas estructurales que favorezcan la inducción asimétrica. El desarrollo de nuevas tioureas bifuncionales que incorporen el sistema diazabicyclo heptano podría dar pauta a una nueva generación de catalizadores que mejoren a los ya existentes.

1.3. OBJETIVOS

- Sintetizar y caracterizar las tioureas **1-4** mostradas en la Figura 1.2, que incorporan el sistema (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano
- Evaluar los compuestos **1-4** como catalizadores asimétricos en diversas reacciones de adición tipo Michael.

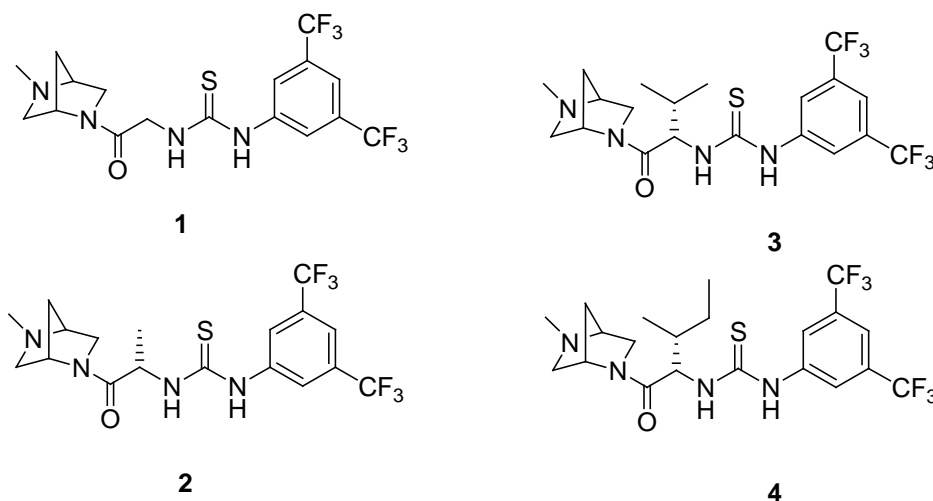


Figura 1.2. Estructura de la de las tioureas propuestas

1.4 METODOLOGIA

Los reactivos y materias primas necesarios para la síntesis provienen de Aldrich. La pureza de los disolventes requeridos fue grado reactivo y fueron destilados previamente.

El curso de las reacciones se monitoreó por cromatografía en capa fina, empleando como fase estacionaria gel de sílice (cromatofolios ALUGRAM® SIL-G/UV254 Macherey-Nagel) y como reveladores radiación ultravioleta 254/366 nm y vapores de

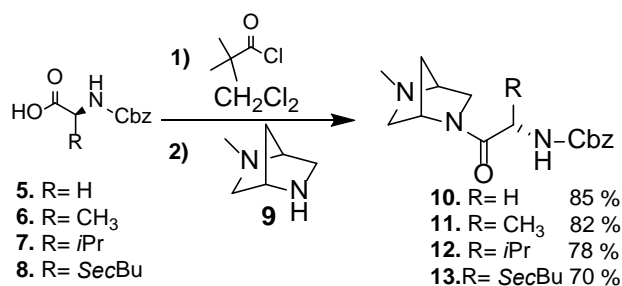


yodo. Para las columnas de cromatografía, se empleó como fase estacionaria gel de sílice de malla 70 – 230 (0.063 – 0.2 mm).

Los productos se caracterizaron por espectroscopia de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , mediante un equipo JEOL Eclipse a 300 y 400 MHz, empleando tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de masas fueron determinados en un equipo JEOL mod. JMS – SX102A.

La cuantificación de exceso enantiomérico se realizó en un cromatógrafo de líquidos Waters 600E con un detector UV Waters 486, utilizando una columna Chiralcel OJ-H y los cálculos fueron realizados utilizando el programa Chrom Perfect Spirit.

1.4.1. Síntesis de los compuestos 10-13

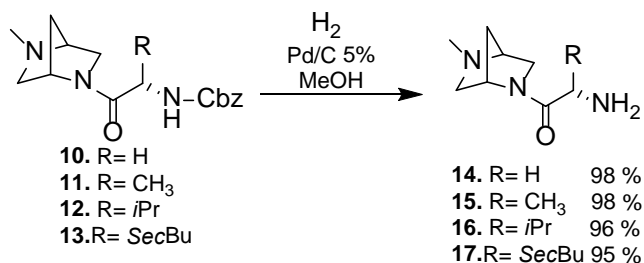


Esquema 1.16. Síntesis de los compuestos **10-13**.

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética, se adicionaron 4 mmoles del aminoácido Cbz protegido **5-8** (Esquema 1.16) y 8 mmoles de trietilamina en 30 mL de diclorometano seco. Esta solución se enfrió entre 0-5 °C. Se adicionaron 1.1 eq de cloruro de pivaloilo y se agitó durante media hora a la misma temperatura. Posteriormente se adicionaron 4 mmoles de *(1S,4S)*-2-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (**9**) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h verificando el término de la reacción por CCF (DCM-MeOH 9:1). La mezcla se lavó con salmuera (3 x 10 mL), se secó sobre Na₂SO₄, se evaporó hasta sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna.



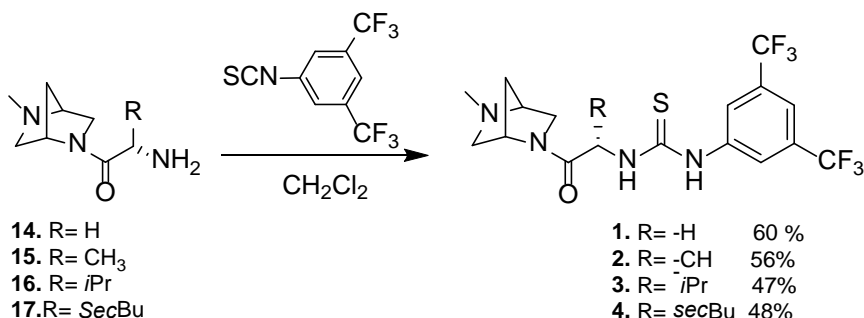
1.4.2. Síntesis de los compuestos 14-17



Esquema 1.17. Síntesis de los compuestos 14-17.

En un frasco de hidrogenación de vidrio de 250 mL, se disolvieron 2 mmoles de la amina **10-13** (Esquema 1.17) en 20 mL de metanol y se adicionaron 50 mg de Pd(OH)₂/C al 20%. El frasco de hidrogenación se purgó tres veces con nitrógeno, se presurizó con hidrogeno a 50 psi y se agitó durante 1h verificando el término de la reacción por CCF (DCM-MeOH 9:1). La mezcla se filtró sobre Solka-Floc para eliminar el catalizador y se concentró hasta sequedad. El residuo fue usado inmediatamente en la siguiente reacción.

1.4.3. Síntesis de las tioureas 1-4



Esquema 1.18. Síntesis de las tioureas 1-4.

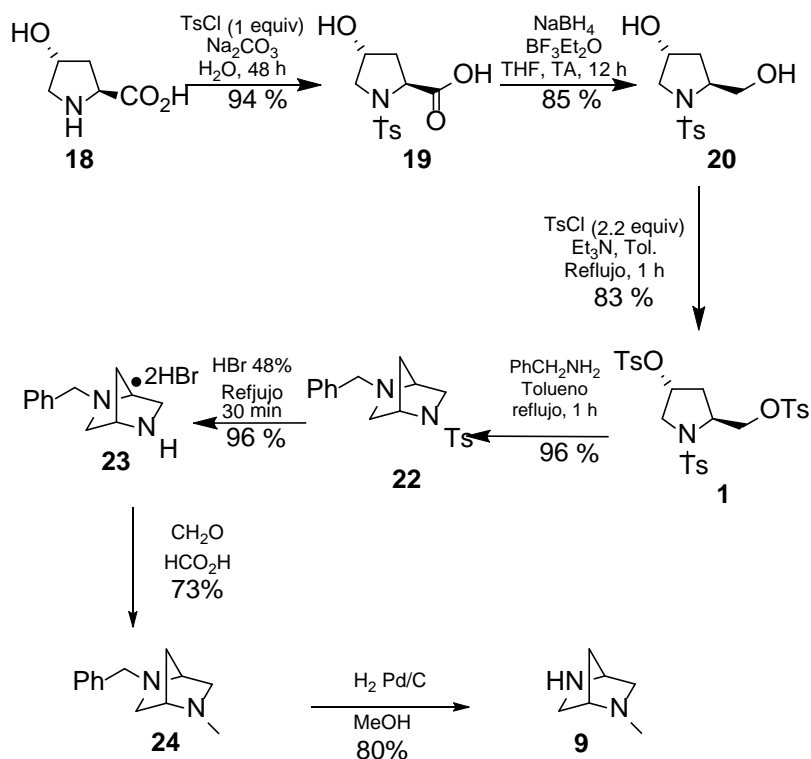
En un matraz de 100 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 3 mmoles de la correspondiente amina **14-17** (Esquema 1.18) y 3 mmoles de isotiocianato de (3,5-bistrifluorometil)-fenilo en 20 mL de diclorometano. La mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Se siguió el curso de la reacción mediante CCF (DCM-MeOH 8:2), posteriormente se concentró hasta sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna.



1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1. Síntesis (1S,4S)-2-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano.

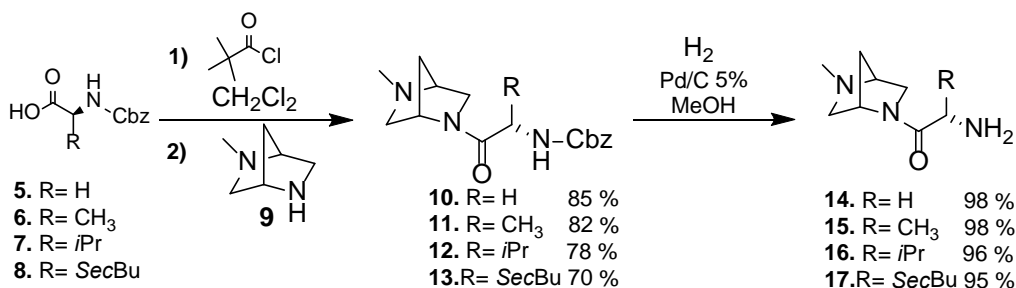
La síntesis del (1S,4S)-2-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano, precursor clave en la síntesis de las tioureas **3-7** (Figura 1.2) se llevó a cabo siguiendo la metodología publicada por Melgar y col.³⁹ (Esquema 1.19). Se obtuvo un rendimiento global de 36% a partir de la *trans*-4-hidroxi-L-prolina (**1**).



Esquema 1.19. Síntesis de (1S,4S)-2-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (**8**) a partir de la *trans*-4-hidroxi-L-prolina (**1**).

1.5.2. Síntesis de las tioureas 1-4

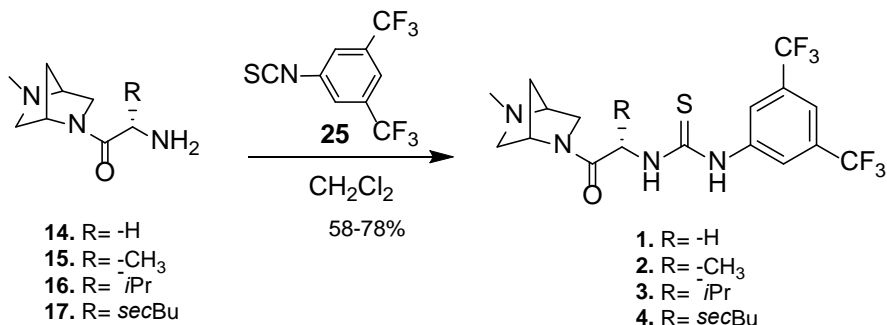
La síntesis de las tioureas **1-4** se llevó a cabo a partir del anhídrido mixto de la Cbz-glicina (carbobenciloxiglicina) y la posterior reacción con el diazabicyclo **9**, como se muestra en el Esquema 17. Ello permitió obtener la amina protegida que por hidrogenólisis produjo la diamina **14**. La optimización de este método permitió obtener las diaminas **14-17** necesarias para la preparación de las tioureas **1-4** (Esquema 1.20).



Esquema 1.20. Síntesis de los compuestos **14-17**

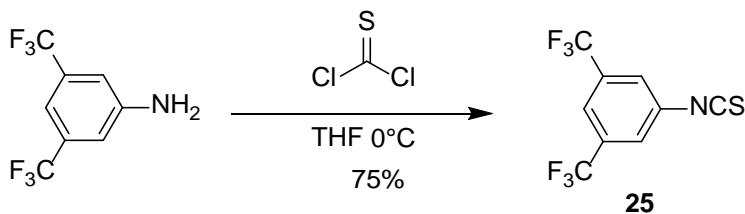
Debido a que los compuestos **10-17** presentaban descomposición y los espectros de RMN mostraron señales complejas que no permitieron la asignación clara de las señales, sólo se realizó la caracterización de las tioureas.

La síntesis de las tioureas **1-4** se llevó a cabo por reacción de las diaminas **14-17** con bis-3,5(trifluorometil)-fenil isotiocianato a temperatura ambiente como se muestra en el Esquema 1.21.



Esquema 1.21. Reacción de las diaminas **14-17** con bis(trifluorometil)-fenil isotiocianato.

Debido al alto costo del bis-3,5-(trifluorometil)-fenil isotiocianato **25**, materia prima necesaria para la síntesis de las tioureas **1-4**, se realizó la síntesis de éste a partir de la bis-trifluorometilanilina como se describe en el esquema 1.22.⁴⁰

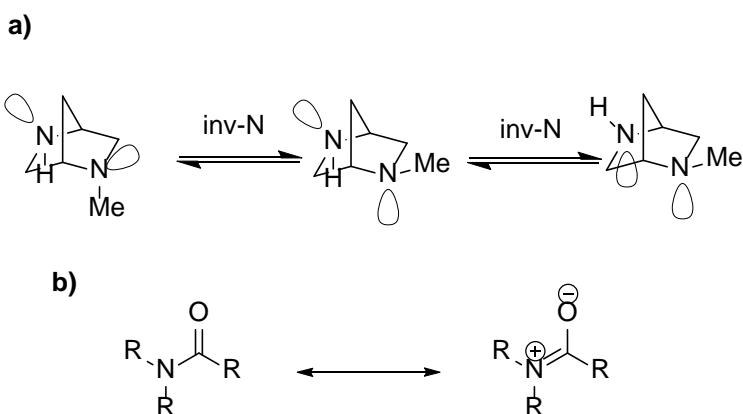




Esquema 1.22. Síntesis del bis-3,5-(trifluorometil)-fenil isotiocianato **25**.

1.5.3. Caracterización de las tioureas

La caracterización de las tioureas **1-4** se llevó a cabo mediante espectrometría de masas y análisis elemental debido a que, al realizar los espectros de RMN, se observaron señales muy complejas que no permitieron la elucidación de los correspondientes compuestos. Este fenómeno puede deberse al efecto de las formas canónicas de la amida (Esquema 1.23), que provocan un desdoblamiento de las señales de los hidrógenos presentes en la molécula. A este efecto se suma el equilibrio endo-exo presente en el sistema diazabíclico, debido a la inversión piramidal del nitrógeno, que puede influir del mismo modo que el efecto de la amida.



Esquema. 1.23. a) Efecto endo-exo del sistema diazabícicloheptano b) Estructuras canónicas del grupo amida.

Para caracterización mediante espectrometría de masas, se buscaron fragmentos que definieran el ión molecular, así como fragmentos que definieran la estructura del grupo tiourea, el trifluorometilfenilo, el fragmento del aminoácido del que provienen y el sistema DBH como se muestra en la Figura 1.3.

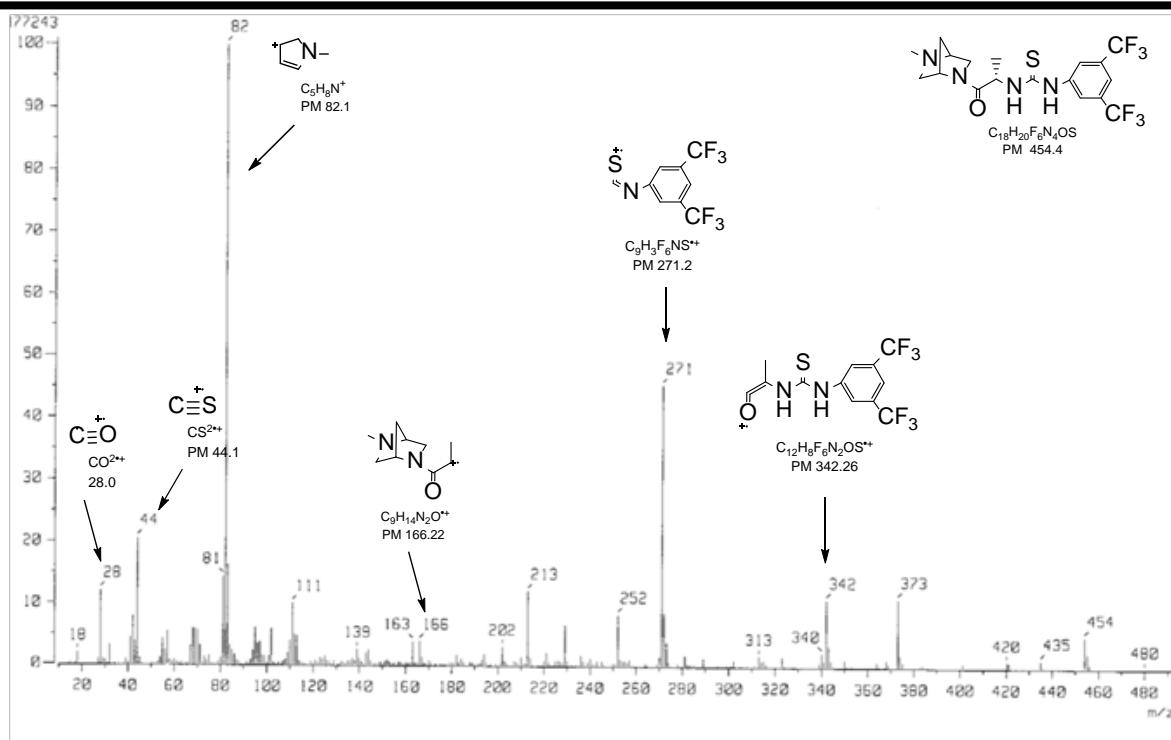
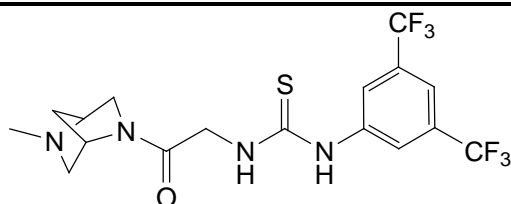


Figura 1.3. Fragmentos de la tiourea **2** encontrado en el espectro de masas.

Tabla 1.2. Propiedades del compuesto **1**.



1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-(2-((1S,4S)-5-metil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-2-oxoetil)tiourea (**1**)

Cristales ligeramente amarillos con p. f. 92-96 °C .

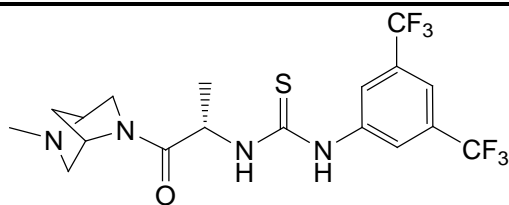
Rendimiento 60%

EM (IE) m/z (%) (M⁺) 440(12), 359(50), 329(10), 271(100), 213(55), 111(30), 82(100).

IR_{vmax} KBr (cm⁻¹): 3308, 3064, 2969, 2875, 1616, 1544, 1471, 1383, 1274, 1171, 1122, 950, 880, 680.



Tabla 1.3. Propiedades del compuesto **2**.



1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-((S)-1-((1S,4S)-5-metil-2,5-diaza-biciclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-oxopropan-2-il)tiourea (**2**)

Cristales incoloros con p.f. de 151-153°C

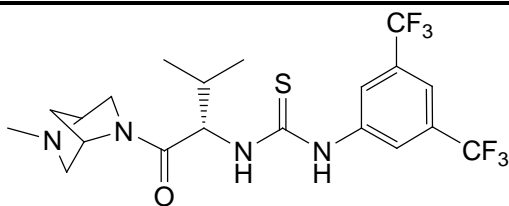
Rendimiento 56%

EM (IE) m/z (%): (M⁺)454, 373 (10), 342 (15), 271 (30), 213 (15), 166 (5), 82 (100), 44 (20), 28 (12)

IR ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3308, 3262, 3058, 2977, 2869, 1615, 1539, 1473, 1382, 1331, 1274, 1168, 1120, 985, 877, 697, 678.

Análisis Elemental: C, 47.58; H, 4.44; F, 25.08; N, 12.33; O, 3.52; S, 7.05

Tabla 1.4. Propiedades del compuesto **3**.



1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-((S)-3-metil-1-((1S,4S)-5-metil-2,5-diaza-biciclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-oxobutan-2-il)tiourea (**3**)

Cristales incoloros con p.f. de 155-157°C

Rendimiento 47%

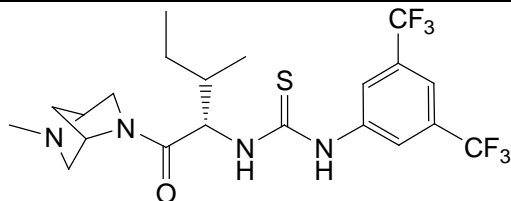
EM (IE) m/z (%):(M⁺) 482, 401 (5), 370 (20), 271 (45), 213 (15), 195 (5), 82 (100), 44 (5), 28 (20).

IR ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3313, 2965, 2854, 2792, 1637, 1610, 1585, 1546, 1471,



1382, 1166, 1120, 963, 876, 697, 677.

Tabla 1.5. Propiedades del compuesto 4.



1-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-((2S,3R)-3-metil-1-((1S,4S)-5-metil-2,5-diaza-biciclo[2.2.1]heptan-2-il)-1-oxopentan-2-il)tiourea (**4**)

Cristales incoloros con p.f. de 92-94°C

Rendimiento 48%

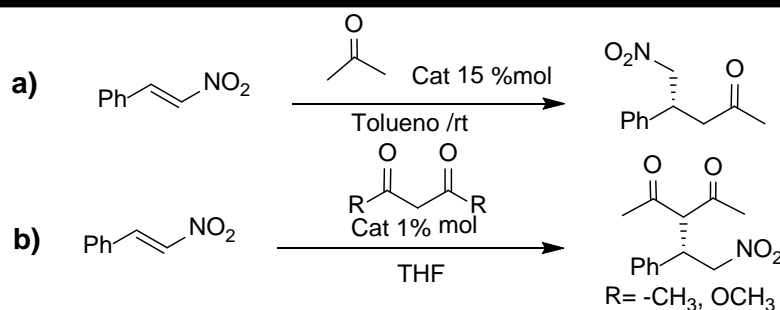
EM (FAB +) m/z (%):(M⁺ +1) 497 (75), 385 (30), 357 (10), 272 (10), 113 (95), 82 (100), 69 (15), 42 (15).

IR ν_{max} KBr (cm⁻¹):3303, 3095, 3055, 2967, 161, 1542, 1467, 1383, 1275, 1174, 1126, 954, 879, 722, 699, 679.

1.5.4. Evaluación de las tioureas 1- 4 como catalizadores asimétricos

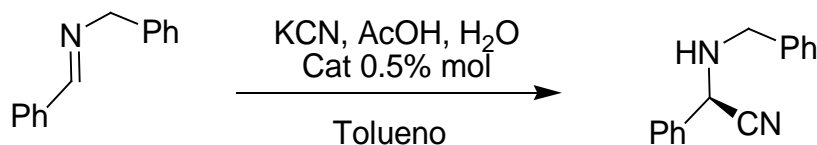
Estas tioureas fueron evaluadas como inductores asimétricos en los siguientes tipos de reacción:

1. Reacciones de adición de tipo Michael⁴¹ descritas en el Esquema 1.24. Se observó en todos los casos la formación de un producto principal, que fue aislado y caracterizado para cada reacción; sin embargo, al intentar realizar la cuantificación del exceso enantiomérico mediante HPLC quiral, los productos sufrieron descomposición parcial en la columna utilizada (Chiralcel OD-H), impidiendo el análisis.



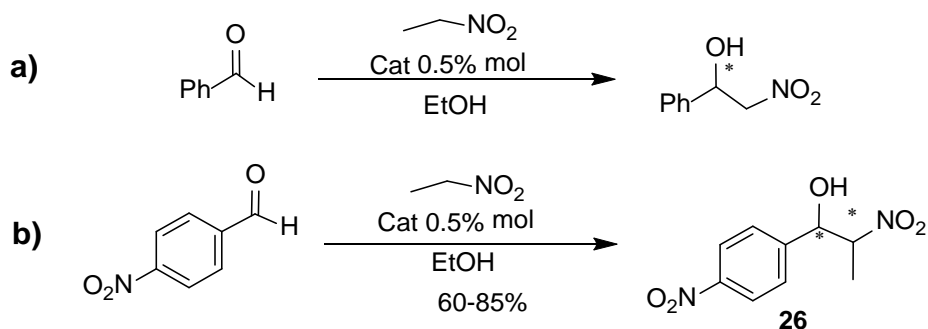
Esquema 1.24. Reacciones de adición de tipo Michael

2. Reacción asimétrica de Strecker,⁴² Se intentó la adición de ácido cianhídrico sobre la imina bencílica del benzaldehído, como se ilustra en el Esquema 1.25. Bajo todas las condiciones probadas se observó una mezcla compleja de productos de reacción, de la cual no fue posible aislar ningún producto puro.



Esquema 1.25. Reacción asimétrica de Strecker

3. Reacción de Henry.^{43, 44} Como se muestra en el Esquema 1.26, al utilizar benzaldehído como sustrato, se observó una reacción incompleta que generó una mezcla compleja de productos de reacción; sin embargo, al utilizar *p*-nitrobenzaldehído como sustrato, se observó una reacción completa y se logró la obtención del compuesto **26**.



Esquema 1.26. Reacción de Henry catalizada por las tioureas diazabílicas

Para cuantificar el exceso enantiomérico del compuesto **26**, se desarrolló un método por cromatografía de líquidos de alta resolución (Figura 1.3). Probando las columnas



quirales Chiralcel OD-H, Chiralcel AD-H y Chiralcel OJ-H con diferentes fases, se encontró una buena separación con la columna Chiralcel OJ-H con la fase hexano-etanol 8:2 con un flujo de 0.8 mL/min.

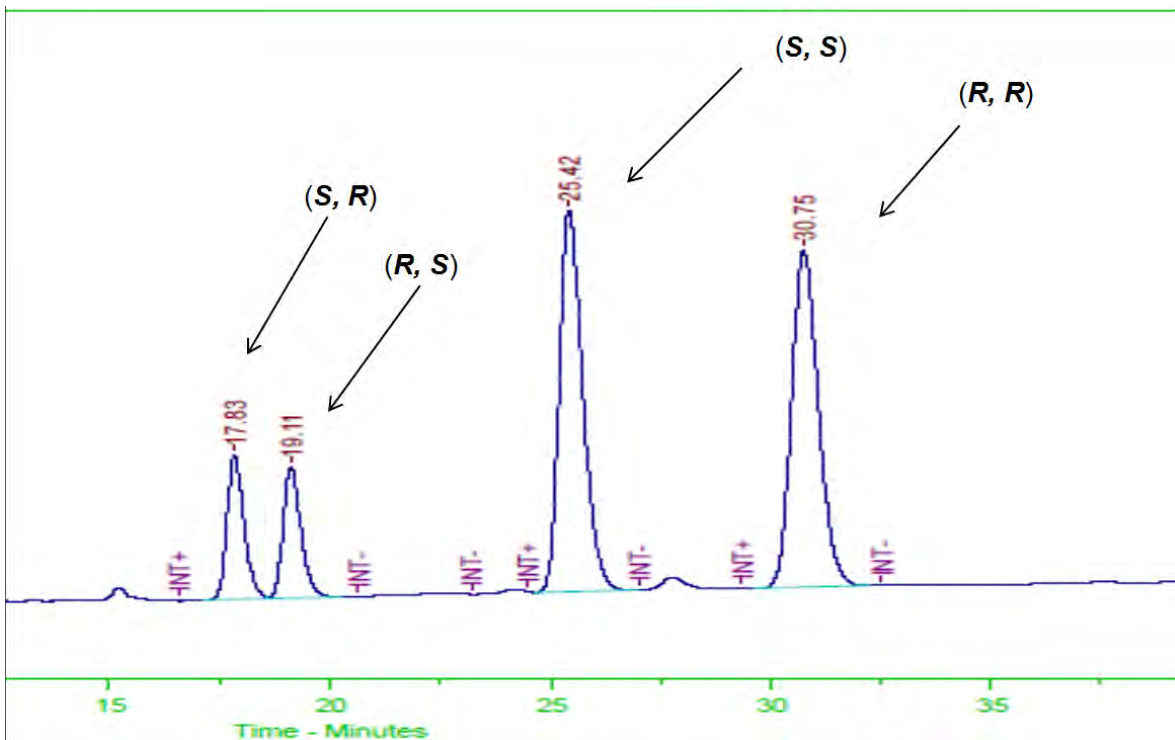


Figura 1.3. Cromatograma del compuesto 26.

Sin embargo, en todas las muestras sólo se observó un exceso diastereomérico (Tabla 1.6). La escasa inducción asimétrica puede deberse al efecto endo-exo del sistema diazabíclico, el cual evitó la formación de un estado de transición que permitiera la interacción estereoespecífica de las moléculas en la adición.

Tabla 1.6. Resultados de la evaluación de las tioureas 1-4 en la reacción de Henry

Catalizador	Rendimiento (%)	Exceso diastereomérico
1	85	60
2	78	5
3	75	5
4	60	5



1.6 CONCLUSIONES

Al evaluar las tioureas **1** a **4** como organocatalizadores en las reacciones de adición tipo Michael de nitroetano a 4-nitrobenzaldehído, se encontró muy baja inducción asimétrica debido a que el sistema diazabíclico en la estructura de las tioureas presenta equilibrio endo-exo debida a la inversión piramidal del nitrógeno en el estado de transición que impide la adición estereoespecífica.



PARTE 2. SÍNTESIS DE COMPUESTOS CARDIOVASCULARES

2.1. Cardiopatía Isquémica

La cardiopatía isquémica (CI) es un padecimiento que consiste en un desequilibrio en la demanda de oxígeno y nutrientes en los tejidos del corazón. Las causas son variadas; sin embargo, la principal suele ser la obstrucción temporal de las arterias coronarias (ateroesclerosis). La manera más frecuente de tratar este padecimiento se basa en un cambio en la dieta para controlar niveles de triglicéridos y colesterol aunado a un tratamiento farmacológico con “agentes betabloqueadores”, logrando reducir la deficiencia de oxígeno al corazón, lo cual reduce el riesgo de que se presenten episodios isquémicos y mejora en la calidad de vida del paciente; sin embargo, existe un número creciente de pacientes que presentan tolerancia a los tratamientos farmacológicos disponibles para este tipo de síndrome.⁴⁵

2.1.1. Clasificación

Existen tres tipos de cardiopatías isquémicas: Angina de pecho crónica estable, angina inestable e isquemia coronaria silenciosa.

- *Angina de pecho crónica estable*

Se manifiesta como un malestar doloroso localizado en el pecho o en sus áreas adyacentes debido a la baja en el suministro de oxígeno, pero sin generar necrosis en el tejido del miocardio; este padecimiento es acompañado por síntomas como mareos, debilidad y angustia. El malestar dura entre 5 y 20 minutos y puede ser provocado por esfuerzos, respiración profunda, movimiento del torso o del brazo izquierdo y desaparece con reposo.

- *Angina inestable*

Consiste en la presencia de dolor en el área donde se localiza el corazón; el dolor no está relacionado con el ejercicio y puede haber o no antecedentes de infarto.



Aunque el dolor es semejante al de la angina de pecho crónica estable, la angina inestable se caracteriza por una mayor intensidad y duración; el tratamiento con reposo sólo produce mejoría temporal e incompleta, lo cual requiere de un tratamiento farmacológico específico para eliminar los síntomas.

- *Isquemia coronaria silenciosa*

Existen dos tipos de isquemia coronaria silenciosa: la denominada tipo 1, la cual se presenta en pacientes con daño grave en las arterias coronarias, y la tipo 2, que se presenta en pacientes con angina crónica, inestable o variable. Ambos tipos presentan episodios de isquemia indolora.⁴⁶

2.1.2. Incidencia

En los últimos años, la cardiopatía isquémica es la primera causa de muerte en los países desarrollados, donde causó la muerte de 6.3 millones de personas en 1990, y se prevé que para 2020 los índices de incidencia en muchos países en vías de desarrollo sean similares.⁴⁷

En México, es la segunda causa de mortalidad debido al estilo de vida de sus habitantes. Su incidencia podría aumentar en los siguientes años, ya que enfermedades, como la obesidad, diabetes mellitus e hipertensión son cada vez más frecuentes y son factores de riesgo para el desarrollo de la cardiopatía isquémica.⁴⁸ El 70% de los pacientes que presentan angina son varones y se encuentran entre los 50 y 70 años. Los factores de riesgo asociado a este padecimiento son, entre los más comunes, el tabaquismo, diabetes mellitus, obesidad y estrés.⁴⁹

2.1.3. Tratamiento

El tratamiento depende del tipo de cardiopatía isquémica y de la combinación con otros padecimientos que presente el paciente, que debe ser valorado individualmente con respecto a cuatro áreas:

1. *Corrección de los factores de riesgo coronario*

Valoración y tratamiento de los padecimientos vinculados a la cardiopatía isquémica.

2. *Medidas generales y corrección del estilo de vida*



Se refiere a la mejora en el tipo de alimentación y la implementación de medidas que mejoren el funcionamiento del sistema cardiovascular (disminuir el estrés, realizar ejercicio, etc.).

3. *Angioplastia coronaria o cirugía de puente coronario*

Procedimientos quirúrgicos correctivos.

4. *Medicación farmacológica*

Nitroglicerina: Induce la relajación del músculo cardíaco, lo que provoca vasodilatación de las arterias coronarias y de la red venosa.⁴⁸

Bloqueadores de canales de calcio: Impiden la entrada de calcio en las células del corazón. Esto disminuye el estrechamiento de las arterias coronarias y el esfuerzo que realiza el corazón, lo que reduce sus necesidades de oxígeno.

Beta bloqueadores: Bloquean los efectos de la adrenalina en el cuerpo, en particular el efecto estimulante sobre el corazón, provocando que el corazón lata despacio y con menos fuerza, requiriendo menos oxígeno.

Cirugía: En caso de angina inestable o angina estable que se resiste al tratamiento con medicamentos, puede conseguir corregir la obstrucción de los vasos coronarios, bien mediante *by-pass* (derivación) o, en algunos casos, mediante angioplastia coronaria.

2.1.4. *Ranolazina*

La ranolazina es un fármaco introducido en los Estados Unidos de América en la década pasada para su empleo en el tratamiento de las CI. Fue aprobado por la FDA en junio de 2006 para el tratamiento de angina de pecho crónica debido a los prometedores resultados en ensayos clínicos, que demostraron que este fármaco presenta una mayor actividad anti-anginosa y anti-isquémica que los fármacos hasta entonces utilizados.⁵⁰ Actualmente se administra como diclorhidrato en forma racémica por vía oral, en dosis que van de 90 a 120 mg por día y por vía intravenosa, 50 a 250 µg por dosis.⁵¹



2.1.4.1. Propiedades

El diclorhidrato de ranolazina [*N*-(2,6-dimetilfenil)-4-[2-hidroxi-3-(2-metoxifenoxi)propil]-1-piperazinileacetamida 2HCl] (Figura 2.1) es un compuesto cristalino blanco soluble en agua, con punto de fusión de 164-166 °C.⁵²

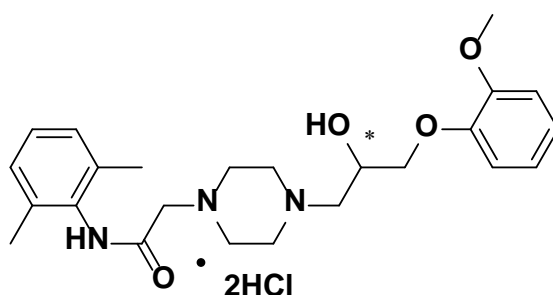
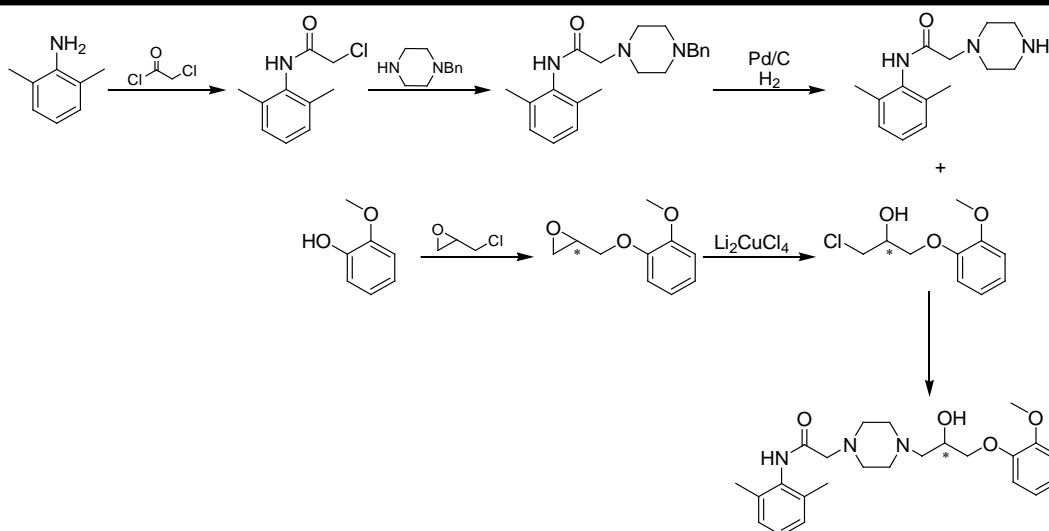


Figura 2.1. Estructura de ranolazina 27.

2.1.4.2. Método de síntesis

La revisión de rutas sintéticas para la ranolazina, realizada mediante SciFinder, evidenció un resultado de más de 30 fuentes, donde la mayoría son patentes con alrededor de diez años de antigüedad. Existen pocos reportes en revistas indexadas; la mayoría describe la obtención de los enantiómeros a través de resoluciones enzimáticas. Entre estas publicaciones se encontró un método sencillo de preparación del racemato y los enantiómeros de ranolazina, publicado por Riise y col.⁵³ Emplearon como material de partida a la 2,6-dimetilanilina, que mediante una serie de reacciones generó la ranolazina racémica con buen rendimiento (Esquema 2.1).



Esquema 2.1. Síntesis del racemato de ranolazina reportado por Riise y col.⁵³

2.1.4.3. Mecanismo de acción

Aunque el mecanismo de acción de la ranolazina no ha sido completamente descrito, hay evidencia de que inhibe la corriente tardía de sodio en las células del músculo cardíaco, provocando un incremento en la entrada de Ca^{2+} a través de las bombas de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, esto tendría como consecuencia una inestabilidad eléctrica y una disfunción mecánica del músculo cardíaco que provocan una disminución en la contracción y un aumento en la presión diastólica.⁵⁴

La ranolazina también podría tener otro mecanismo de acción: se ha sugerido que puede inhibir parcialmente la oxidación de ácidos grasos, lo cual provocaría un cambio en el metabolismo al dirigirlo hacia el aprovechamiento de glucosa durante la isquemia, aunque no se sabe qué influencia tendría este efecto a favor de la actividad anti-anginosa de la ranolazina.⁵⁰

2.1.5. Sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano

Una de las áreas más estudiadas y desarrolladas de la química orgánica ha sido la heterocíclica, debido a las propiedades estructurales y biológicas que induce la presencia de heteroátomos en las moléculas cíclicas. El sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano, descrito por primera vez en 1966,²⁴ es estructuralmente



equivalente a una piperazina pero con equilibrio conformacional restringido. El sistema diazabicclico ha sido incorporado en algunas moléculas de carácter medicinal, como ciertas quinolinas con actividad antibacteriana. Tal es el caso de la danofloxacina, un análogo diazabicclico de la ciprofloxacina (Figura 2.2).^{35 55,56,,57}

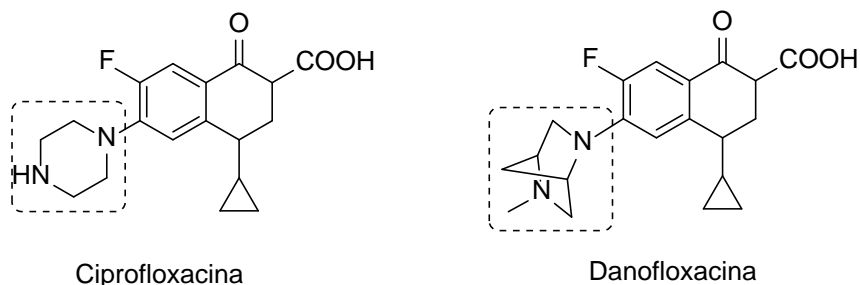


Figura 2.2. Estructuras químicas de la ciprofloxacina y danofloxacina, esta última sustituye el fragmento de la piperazina por el sistema diazabicclico.

Otro compuesto que integra el sistema diazabicclico en su estructura es el análogo de la dietilcarbamazina, el cual presenta actividad antifilárica (Figura 2.3).⁵⁸

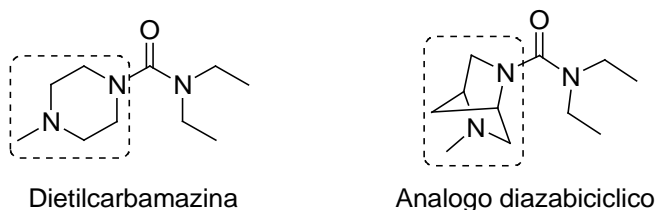
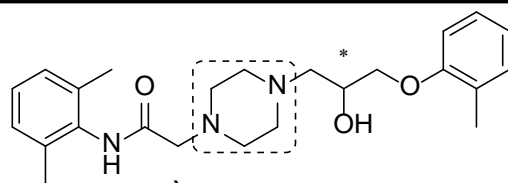
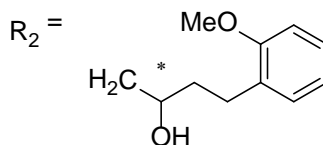
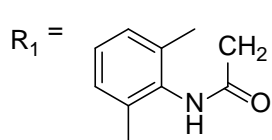
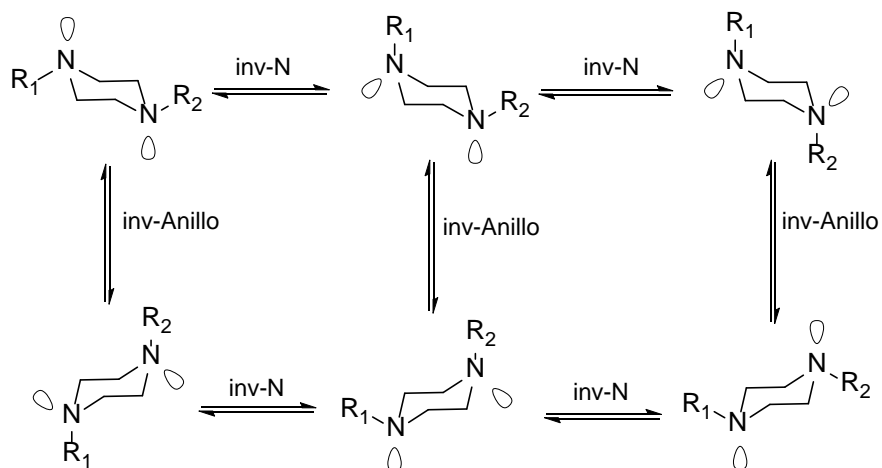


Figura 2.3. Estructuras de la dietilcarbamazina y su análogo diazabicclico.

La ranolazina (Esquema 2.2a), cuenta con un anillo de piperazina, el cual sufre cambios de conformación como resultado de dos tipos distintos de procesos: la inversión piramidal de los sustituyentes del nitrógeno (*inv-N*) y la inversión del anillo (*inv-Anillo*) (Esquema 2.2b).⁵⁹



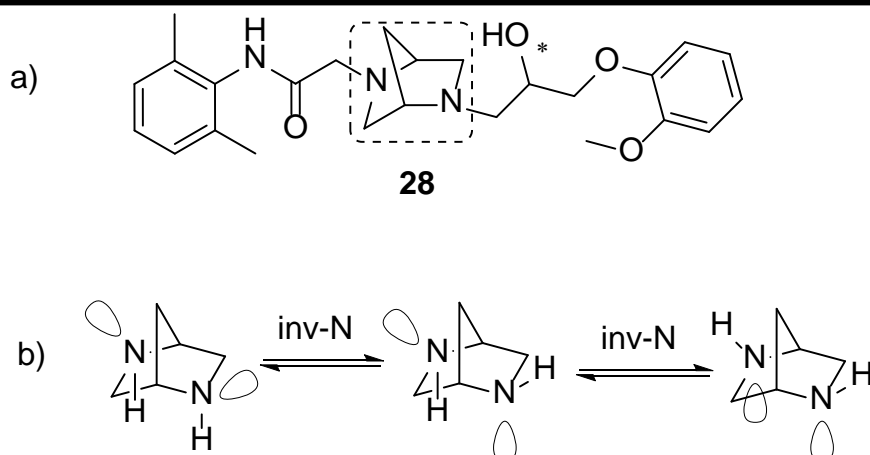
a) Ranolazina



b)

Esquema 2.2. a) Estructura química de la ranolazina, fármaco utilizado en el tratamiento de angina de pecho, que incorpora un anillo central de piperazina. b) equilibrio conformacional de la ranolazina.

El sistema diazabicyclo no sufre la inversión del anillo debido al puente de metileno que le confiere rigidez, aunque sigue presentando la inversión piramidal del nitrógeno (Esquema 2.3a), además de integrar dos centros estereogénicos. Con base en estas características, el diseño de compuestos que integren el sistema diazabicyclo en sustitución del fragmento de la piperazina es la puerta a un campo amplio de investigación.^{39,60} Un ejemplo es el nuevo análogo diazabicyclíco de la ranolazina sintetizado como uno de los objetivos de este proyecto (Esquema 2.3b).



Esquema 2.3. (a) Estructura química del análogo bicíclico de la ranolazina **28** (b) Equilibrio conformacional del sistema diazabíclico.

2.2. OBJETIVO

2.2.1. Objetivo general

Sintetizar y enviar a evaluación farmacológica la mezcla epimérica del análogo diazabíclicos de ranolazina en los que se sustituya el fragmento de piperazina por el sistema (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano **28**, así como los epímeros puros (**S,S,S**)-**28** y (**S,S,R**)-**28**.

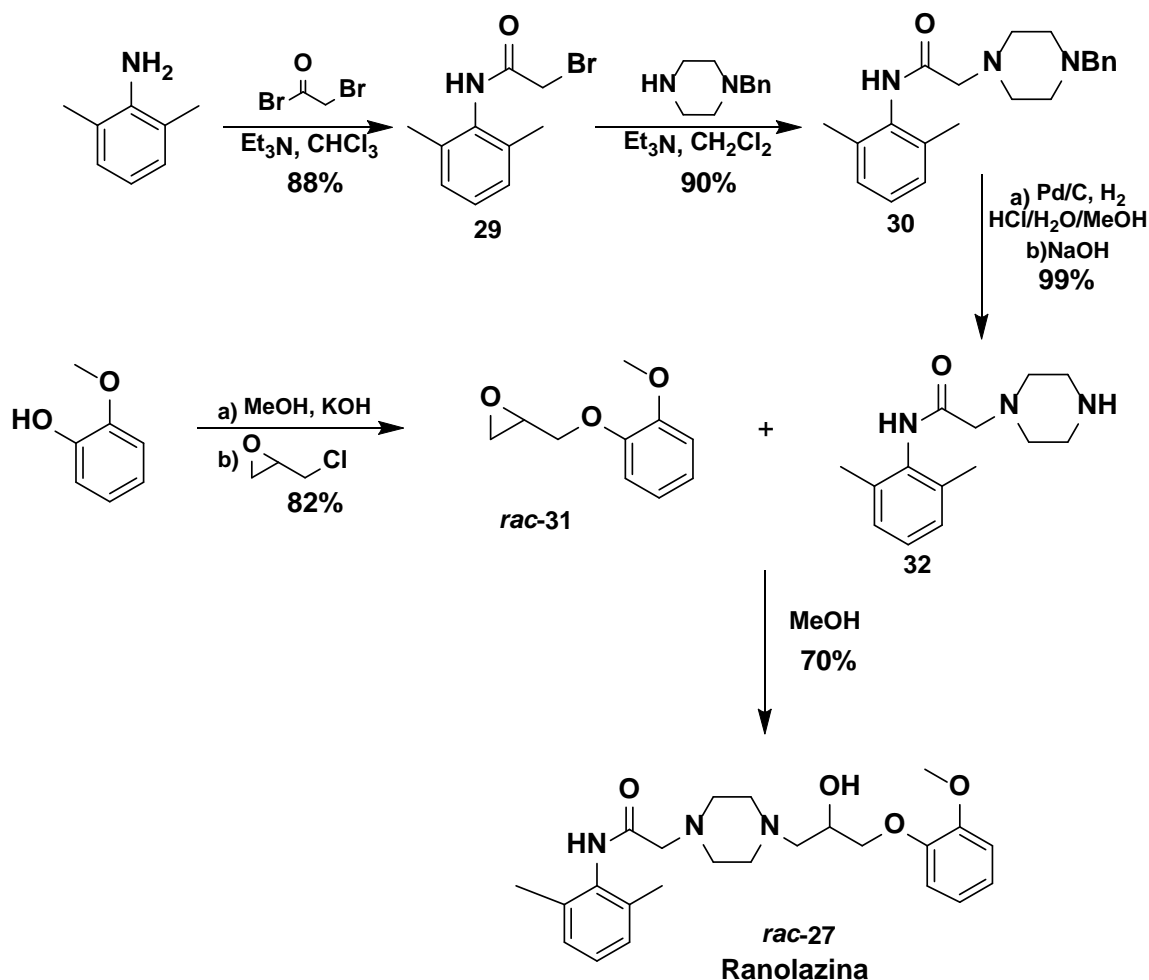
2.2.2. Objetivos particulares

1. Sintetizar (\pm)-ranolazina **27**.
2. Sintetizar la mezcla epimérica de un análogo de ranolazina en el que se sustituya el fragmento de piperazina por el sistema (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano **{[(S,S,S)-(S,S,R)]- }-28**.
3. Sintetizar los epímeros análogos de ranolazina (**S,S,S**)-**28** y (**S,S,R**)-**28** en los que se sustituye el fragmento de piperazina por el sistema (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano.
4. Caracterizar y enviar a evaluación farmacológica los compuestos puros.



2.3. PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1. Síntesis de Ranolazina (Rac-7)



Esquema 2.4. Síntesis de Ranolazina para su empleo como referencia en la evaluación farmacológica de los análogos diazabíclicos.

2-Bromo-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**29**)

En un matraz de 500 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 19.19 g (158.4 mmol) de 2,6-dimetilanilina en 200 mL de cloroformo y se adicionaron 22.1 mL (16.02 g, 158.4 mmol, 1 equivalente) de trietilamina. Se enfrió la mezcla a $-10\text{ }^\circ\text{C}$; se dejó agitar durante 15 minutos y se adicionaron durante 2 horas 13.8 mL (31.97 g, 158.4 mmol, 1 equivalente) de bromuro de 2-bromoacetilo disuelto en 80 mL de



cloroformo. Terminada la adición, se dejó agitando durante 15 minutos, se verificó el término de la reacción por CCF (Hexano/MTBE 7:3) y se lavó con agua (3 x 50 mL) y HCl 1 N (2 x 20 mL), verificando pH ácido en la fase acuosa. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo sólido se recrystalizó de metanol obteniendo 33.8 g (88.25%) del compuesto **2**, como cristales blancos. Pf: 158-160 °C; IR (KBr, cm^{-1}) v: 3212, 3041, 2973, 1637, 1527, 1469, 1213, 1119, 758, 512; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.22 (s, 6H), 4.03 (s, 2H), 7.05-7.13 (m, 3H), 7.78 (br, 1H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.2, 29.0, 127.8, 128.3, 132.9, 135.3, 164.0.

2-(4-Bencilpiperazin-1-il)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**30**)

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 1.76 g (7.3 mmol) del compuesto **29**, 1.12 mL de trietilamina (0.81 g, 8 mmol) y 1.29 g de N-bencilpiperazina (7.3 mmol) en 25 mL de cloruro de metileno; se dejó con agitación durante 24 h, verificando el término de la reacción por CCF (AcOEt/MeOH/ NH_4OH 85:15:10). Se lavó con agua (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad. El residuo sólido se recrystalizó de hexano para obtener 2.21 g del compuesto **30**, como cristales blancos (90%). Pf: 114-116 °C.

2-(Piperazin-1-il)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**32**)

En un frasco de hidrogenación de 500 mL se disolvieron 6.24 g (18.5 mmol) del compuesto **30** en 37 mL (37 mmol) de HCl 1 N, se adicionaron 63 mL de agua, 100 mL de metanol y 624 mg de Pd/C al 10%. Se hidrogenó a 60 psi hasta que cesó el consumo de hidrógeno, aproximadamente en 2 h, verificando el término de la reacción por CCF (CHCl_3 /MeOH/ NH_4OH 8:2:1). Se adicionaron 37 mL (37 mmol) de NaOH 1N, se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 25 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 4.53 g del compuesto **32**, como cristales blancos (99%). Pf: 125-126 °C. El producto se empleó en el siguiente paso sin previa purificación.



(±)-2-[(2-Metoxifenoxi)metil]oxirano (**rac-31**)

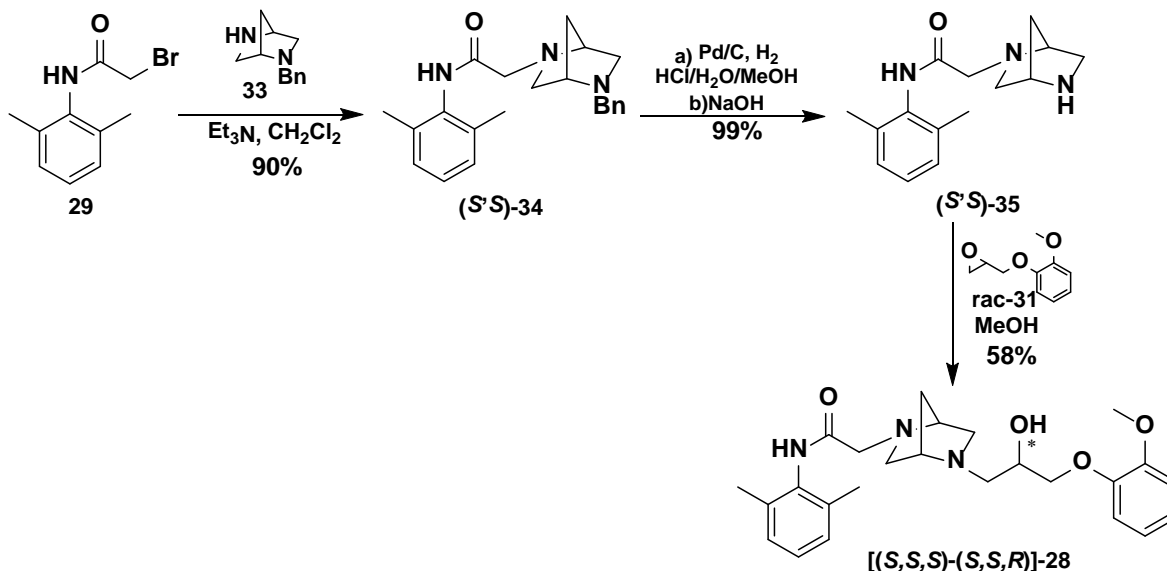
En un matraz de 250 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 6.17 g (110 mmol) de hidróxido de potasio en 100 mL de metanol y se adicionaron 12.41 g (100 mmol) de guayacol, se agitó durante 30 minutos y se concentró a presión reducida. Se adicionaron 124.1 mL (10 equivalentes) de (±)-epiclorohidrina y se mantuvo con agitación a temperatura ambiente por 24 h, verificando el término de la reacción por CCF (Hex/AcOEt 8:2). La mezcla de reacción se destiló (30 °C/0.005 mmHg); el residuo se resuspendió en 100 mL de acetato de etilo y se lavó con agua (3 x 50 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida, obteniendo 16 g de crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (360 g de gel de sílice flash, Hex/AcOEt 9:1) obteniendo 14.77 g (82%) de **rac-31** como un sólido ligeramente amarillo. Pf: 38-40 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 2.73 (dd, 1H, J₂ = 5.1 Hz, J₁ = 2.4 Hz), 2.86-2.89 (m, 1H), 3.35-3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, J₂ = 11.4 Hz, J₁ = 5.4 Hz), 4.23 (dd, 1H, J₂ = 11.4 Hz, J₁ = 3.6 Hz), 6.88-6.95 (m, 4H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 44.8, 50.1, 55.8, 70.1, 112.0, 114.3, 120.8, 121.8, 148.0, 149.6.

(±)-Ranolazina (**rac-27**)

En un matraz de 250 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 4.36 g (17.64 mmol) del compuesto **32** y 3.18 g (17.64 mmol) de **rac-31** en 100 mL de metanol; la mezcla se calentó a reflujo por 6 h, verificando el término de la reacción por CCF (Hex/AcOEt 8:2 para **rac-31** y CHCl₃/MeOH/NH₄OH 8:2:1). Se concentró a presión reducida y se recristalizó de acetato de etilo, se obtuvieron 5.3 g de producto puro (70%) como un sólido blanco. Pf 164-166 °C RMN ¹H (300 MHz): δ 2.05 (s, 6H), 2.33 (d, 2H), 3.59 (br, 2H), 3.67 (br, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.98 (m, 2H), 4.17 (br, 2H), 4.39 (m, 1H), 6.9-7.12 (m, 7H); RMN ¹³C (300 MHz): δ 18.07, 50.12, 50.33, 56.51, 57.96, 59.31, 64.69, 71.01, 113.33, 114.49, 122.43, 123.23, 129.08, 129.31, 132.94, 136.72, 147.78, 149.18, 165.83; Espectrometría de Masas (EM) (EI⁺) (% m/z): 427 [ión molecular (C₂₄H₃₃N₃O₄), 3%], 321, 379, 260 [pico base (C₁₅H₂₂N₃O), 100%].



2.3.2. Síntesis del Análogo [(S,S,S)-(S,S,R)]-28



Esquema 2.5. Síntesis del análogo diazabíciclico de ranolazina **28**.

2-{5-Bencil-(1*S*,4*S*)-2,5-diazabíciclo[2.2.1]heptan-2-il}-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida **(S,S)-34**

En un matraz de 250 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 4.84 g (20 mmol) del compuesto **29**, 3.77 g (20 mmol) de 2-bencil-(1*S*,4*S*)-2,5-diazabíciclo[2.2.1]heptano **33** y 2.79 mL (2.02 g, 20 mmol) de trietilamina en 100 mL de diclorometano; se agitó durante 24 h, verificando el término de la reacción por CCF (AcOEt/MeOH/NH₄OH 85:15:10). Se lavó con agua (3 x 50 mL), la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad. Se recristalizó de hexano para obtener 6.29 g (90%) de **(S,S)-34** como cristales blancos. Pf: 126-128 °C; $[\alpha]_D^{20} = +2.6$ (c 1, MeOH); IR (KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3240, 2972, 2844, 1662, 1496, 762, 721, 696, 501; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 1.73 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 1.86 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 2.23 (s, 6H), 2.73-2.78 (m, 2H), 2.81 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 3.05 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 3.33 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.4 (s, 2H), 3.45 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.72 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 7.05-7.10 (m, 3H), 7.21-7.37 (m, 5H), 8.72 (br, 1H); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 18.5, 33.9, 57.7, 58.1, 58.4, 59.4, 61.5, 63.8, 126.9, 127.1, 128.1, 128.3, 128.4, 133.7, 135.1, 139.4, 169.4; HRMS (FAB⁺): m/z Calculada para C₂₂H₂₈N₃O [M+H]⁺: 350.2232, encontrada: 350.2216.



2-{5-*H*-(1*S*,4*S*)-2,5-Diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il}-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida ((*S,S*)-35****

En un frasco de hidrogenación de 500 mL se disolvieron 6.48 g (18.5 mmol) de (**(*S,S*)-34**) en 37 mL de HCl 1 N; se adicionaron 63 mL de agua, 100 mL de metanol y 648 mg de Pd/C al 10%. Se hidrogenó a 60 psi por 2 h, se verificó el término de la reacción por CCF (CHCl₃/MeOH/NH₄OH 8:2:1). Se adicionaron 37 mL de NaOH 1N, se extrajo con diclorometano (3 x 25 mL), la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 4.76 g (99%) de (**(*S,S*)-35**) como cristales blancos. pf: 131-132 °C; $[\alpha]_D^{20} = +25.1$ (c 1, MeOH); IR (KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3208, 2962, 2856, 1658, 1492, 767, 518; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 1.68 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 1.83 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 2.22 (s, 6H), 2.76 (d, 1H, J = 10.2 Hz), 2.84 (br, 1H), 2.96 (dd, 1H, J₂ = 10.5 Hz, J₁ = 2.1 Hz), 3.01 (dd, 1H, J₂ = 9.9 Hz, J₁ = 2.4 Hz), 3.13 (dd, 1H, J₂ = 10.5 Hz, J₁ = 0.6 Hz), 3.31 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.42 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.47 (s, 1H), 3.65 (s, 1H), 7.05-7.09 (m, 3H), 8.65 (br, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 18.5, 36.0, 49.7, 57.1, 59.2, 62.7, 63.2, 127.1, 128.1, 133.6, 135.0, 169.2; HRMS (FAB⁺): m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O [M+H]⁺: 260.1763, encontrado: 260.1773.

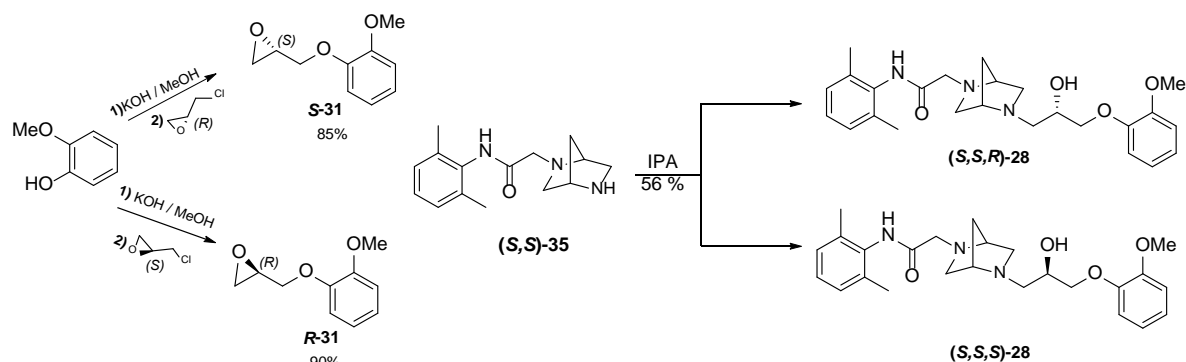
2-((1*S*,4*S*)-5-[3-(2-Metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil]-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida [((*S,S,S*)-(*S,S,R*)-28**)]**

En un matraz esférico de 100 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 4.7 g (18 mmol) de (**(*S,S*)-35**) y 3.2 g (18 mmol) de **rac-31** en 40 mL de metanol; la mezcla se calentó a reflujo por 12 h, verificando el término de la reacción por CCF (Hex/AcOEt 8:2 para **rac-31** y CHCl₃/MeOH/NH₄OH 8:2:1 para (**(*S,S*)-35**) y [(**(*S,S,S*)-(*S,S,R*)-28**)]). Se concentró hasta sequedad, se adicionaron 35.2 mL de HCl 1 N y se lavó con acetato de etilo (3 x 20 mL). Se adicionaron 35.2 mL (35.2 mmol) de NaOH 1 N, se extrajo con acetato de etilo (3 x 25), la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad. El residuo fue recristalizado de acetato de etilo para obtener 6.1 g (77%) de [(**(*S,S,S*)-(*S,S,R*)-28**)] como polvo blanco. Pf: 135-136 °C; IR (KBr, cm⁻¹) ν_{max} : 3253, 2864, 1633, 1504, 1253, 1230, 1025, 769, 734; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 1.76-1.82 (m, 2H), 2.23 (s, 6H), 2.61-2.89 (m, 4H), 2.93 (dd, 1H, J₂ = 9.9 Hz, J₁ = 2.4 Hz), 3.01 (dd, 1H, J₂ = 10.2 Hz, J₁ = 4.5 Hz),



3.31 (d, 1H, $J = 16.5$ Hz), 3.41 (s, 2H), 3.42 (d, 1H, $J = 16.5$ Hz), 3.59 (br, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.93-4.07 (m, 3H), 6.87-6.95 (m, 4H), 7.05-7.09 (m, 3H), 8.64 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.5, 34.3, 34.9, 55.8, 57.3, 57.5, 58.0, 58.6, 58.7, 59.4, 63.0, 63.2, 63.6, 67.7, 72.0, 72.1, 111.9, 114.7, 120.9, 121.8, 127.1, 128.2, 133.7, 135.0, 148.2, 149.8, 169.1.

2.3.3. Síntesis de (**S,S,S**)-28 y (**S,S,R**)-28



Esquema 2.6. Síntesis de los análogos (**S,S,S**)-28 y (**S,S,R**)-28

(2S)-2-[(2-Metoxifenoxi)metil]oxirano (**S**)-31

En un matraz esférico de 25 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 200 mg (3.55 mmol) de hidróxido de potasio en 3 mL de metanol y se adicionaron 400 mg (3.22 mmol) de guayacol, se agitó durante 30 minutos, y se concentró a presión reducida. Se adicionaron 4 mL (10 equivalentes) de (*R*)-epiclorohidrina y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 24 h, verificando el término de la reacción por CCF (Hex/AcOEt 8:2). Se destiló al alto vacío (30 °C/0.005 mmHg); el residuo se suspendió en 5 mL acetato de etilo y se lavó con agua (3 x 3 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida, obteniendo 510 mg de crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (6 g de gel de sílice flash, Hex/AcOEt 9:1) obteniendo 476 mg (82%) de (**S**)-31 como un aceite incoloro que solidificó. Pf: 55-56 °C; $[\alpha]_D^{20} = +15.9$ (c 1, MeOH), RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.72 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 2.6$ Hz), 2.87 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 4.1$ Hz), 3.35-3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 5.5$ Hz), 4.23



(dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 3.6$ Hz), 6.85-6.98 (m, 4H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 44.8, 50.1, 55.8, 70.4, 112.0, 114.4, 120.8, 121.9, 148.0, 149.7.

(2R)-2-((2-Metoxifenoxi)metil)oxirano (R**)-31**

En un matraz esférico de 25 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 250 mg (4.4 mmol) de hidróxido de potasio en 3 mL de metanol y se adicionaron 500 mg (4 mmol) de guayacol, se agitó durante 30 minutos, y se concentró a presión reducida. Se adicionaron 4 mL (10 equivalentes) de (S)-epiclorohidrina y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 24 h, verificando el término de la reacción por CCF (Hex/AcOEt 8:2).. Se destiló el exceso de (S)-epiclorohidrina al alto vacío (30 °C/0.005 mmHg); posteriormente el residuo se suspendió en 5 mL AcOEt y se lavó con agua (3 X 3 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida, obteniendo 654 mg de crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (13 g de sílice flash, hexano/AcOEt 9:1) obteniendo 555 mg (90%) de (**R**)-31 como un sólido ligeramente amarillo. Pf: 56-57 °C; $[\alpha]_D^{20} = -14$ (c 1, MeOH), RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.72 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 2.6$ Hz), 2.87 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 4.3$ Hz), 3.35-3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 5.5$ Hz), 4.23 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 3.6$ Hz), 6.85-6.98 (m, 4H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 44.8, 50.2, 55.8, 70.2, 112.0, 114.4, 120.8, 121.9, 148.0, 149.7.

2-((1S,4S)-5-[(2S)-3-(2-Metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil]-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (S,S,S**)-28**

En un matraz esférico de 25 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 545 mg (2.1 mmol) de (**S,S**)-35 y 378 mg (2.1 mmol) de (**S**)-31 en 10 mL de Isopropanol; la mezcla se calentó a reflujo por 12 h. Se concentró hasta sequedad, obteniendo 850 mg de crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (17 g de sílice flash, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) obteniendo 748 mg (81%) de (**S,S,S**)-28 como un sólido blanco. Pf: 142-143 °C; $[\alpha]_D^{20} =$ (c 1, MeOH); +8.57 (c 1, MeOH); IR (KBr, cm^{-1}) ν_{max} : 3388, 3254, 2865, 2805, 1634, 1505, 1253, 1026, 769, 734, 608, 457 RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.77 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 1.82 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 2.22 (s, 6H), 2.75-2.89 (m, 4H), 2.92 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 3.03 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 3.29 (d, 1H, $J = 15$



Hz), 3.42 (d, 1H, J = 15 Hz), 3.44 (d, 2H, J = 18 Hz), 3.83 (s, 3H), 3.97-4.03 (m, 3H), 4.18 (br, 1H), 6.86-6.97 (m, 4H), 7.08-7.09 (m, 3H), 8.66 (br, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 18.6, 34.3, 55.9, 57.7, 58.5, 58.8, 59.4, 63.5, 63.6, 67.6, 72.0, 112.0, 114.6, 121.0, 121.9, 127.3, 128.3

2-((1*S*,4*S*)-5-((2*S*)-3-(2-Metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-il)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**S,S,R**)-**28**

En un matraz esférico de 25 mL provisto de agitación magnética se disolvieron 545 mg (2.1 mmol) de (**S,S**)-**35** y 378 mg (2.1 mmol) de (**R**)-**31** en 10 mL de Isopropanol; se calentó a reflujo por 12 h. Se concentró hasta sequedad, obteniendo 815 mg de crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (16 g de sílice flash, CH₂Cl₂/MeOH 95:5) obteniendo 766 mg (83%) de (**S,S,R**)-**28** como un polvo blanco. Pf: 110-112 °C; [α]_D²⁰ = +3.58 (c 1, MeOH); IR (KBr, cm⁻¹) ν_{\max} : 3257, 2990, 2861, 1645, 1504, 1252, 1228, 770, 731.; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 1.78 (dd, 2H, J₂ = 15 Hz, J₁ = 9 Hz), 2.22 (s, 6H), 2.72-2.90 (m, 5H), 3.01 (d, 1H, J = 9 Hz), 3.30 (d, 1H, J = 15 Hz), 3.40-3.42 (m, 3H), 3.42 (d, 2H, J = 15 Hz), 3.84 (s, 3H), 3.97-4.04 (m, 3H), 6.87-6.97 (m, 4H), 7.07-7.09 (m, 3H), 8.64 (br, 1H); RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ, ppm): 18.51, 34.31, 55.82, 57.56, 58.69, 58.79, 59.41, 63.28, 63.64, 67.75, 72.12, 112.03, 114.82, 120.84, 121.88, 127.12, 128.17, 133.71, 135.71, 148.30, 149.86, 169.17; HRMS (FAB⁺): m/z calculado para C₂₅H₃₄N₃O₄ [M+H]⁺: 440.2549, encontrado: 440.2566.

2.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.4.1. Tabla de Resultados

Tabla 2.1 Rendimientos, apariencia y puntos de fusión de los compuestos preparados.

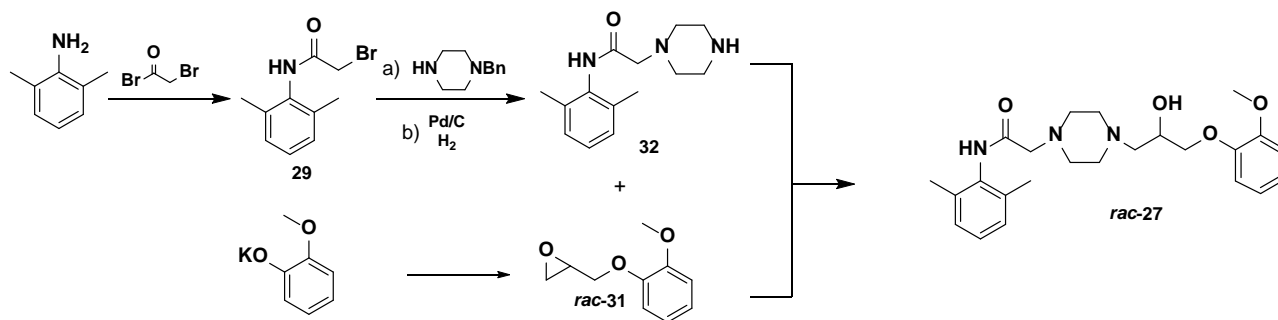
Compuesto	Rendimiento (%)	Apariencia	Punto de fusión (°C)
29	88	Cristales blancos	158-160
30	90	Cristales blancos	114-116
32	99	Sólido amorfo blanco	125-126



<i>rac-31</i>	82	Sólido blanco	38-40
(S)-31	82	Sólido blanco	55-56
(R)-31	90	Sólido blanco	56-57
<i>rac-27</i>	90	Sólido amorfo blanco	164-166
(S,S)-34	90	Cristales blancos	126-128
(S,S)-35	99	Cristales blancos	131-132
[(S,S,S)-(S,S,R)]-28	77	Sólido amorfo blanco	135-136
(S,S,S)-28	81	Sólido amorfo blanco	142-143
(S,S,R)-28	83	Sólido blanco	110-112

2.4.2 Ranolazina

Para realizar los ensayos farmacológicos de los compuestos obtenidos para este trabajo, fue necesario emplear (\pm)-ranolazina (***rac-27***) como compuesto de referencia. Debido a que en México no se encuentra comercialmente disponible, fue necesario prepararlo mediante una modificación de la ruta sintética reportada por Riise y col.⁵³ como se muestra en el Esquema 2.7.

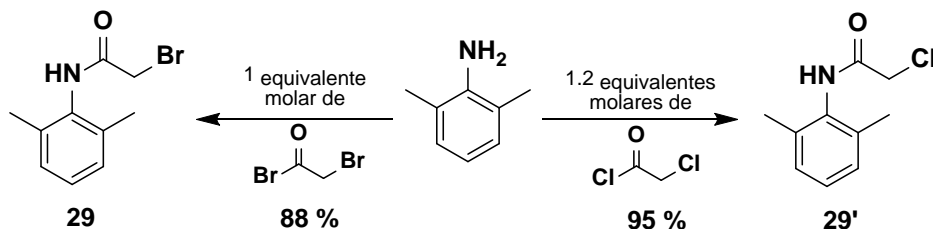


Esquema 2.7. Síntesis modificada para la Ranolazina (***rac-27***)

El primer paso fue obtener 2-(piperazin-1-il)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**32**). Para ello se sintetizó la 2-bromo-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida (**29**) mediante la reacción del bromuro de bromoacetilo con 2,6-dimetilanilina, obtenido con un rendimiento de 88%. Comparado con lo publicado por Moen,¹² que emplea 20% de exceso de



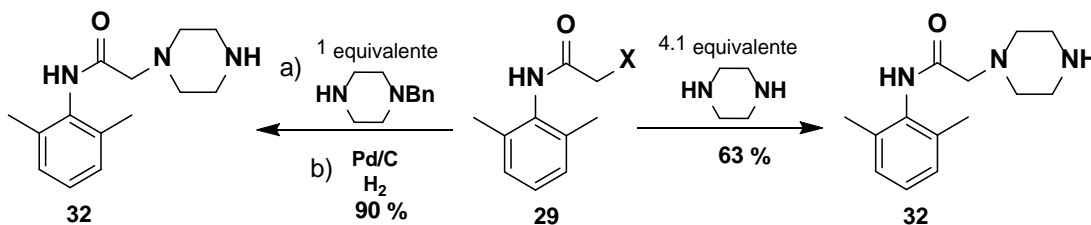
cloruro de cloroacetilo y obtiene 95% de rendimiento de la cloroamida **29'** (Esquema 2.8). El cambio de agente acilante tuvo la ventaja de reducir la cantidad a un equivalente molar y mantener el rendimiento en un nivel aceptable (Esquema 2.8), obteniendo la bromoamida **29** con un mejor grupo saliente.



Esquema 2.8. Comparación de métodos de síntesis de las acetamidas.

El compuesto **29** fue caracterizado por $^1\text{HRMN}$ y el intercambio con D_2O en este análisis permitió la identificación inequívoca del hidrógeno enlazado al nitrógeno de la amida.

El bromo presente en el compuesto **29** fue desplazado mediante una reacción tipo $\text{S}_{\text{N}}2$ con *N*-bencilpiperazina, para generar la diamina *N*-bencilada intermediaria que por posterior hidrogenólisis produjo **32** con un rendimiento del 90%. Las ventajas de este método, en comparación con el reportado por, Riise y col⁵³ fueron el empleo de cantidades equimolares de reactivos y un rendimiento de 90%, contra el reportado de 63%, aún con un paso adicional de hidrogenólisis (Esquema 2.9).

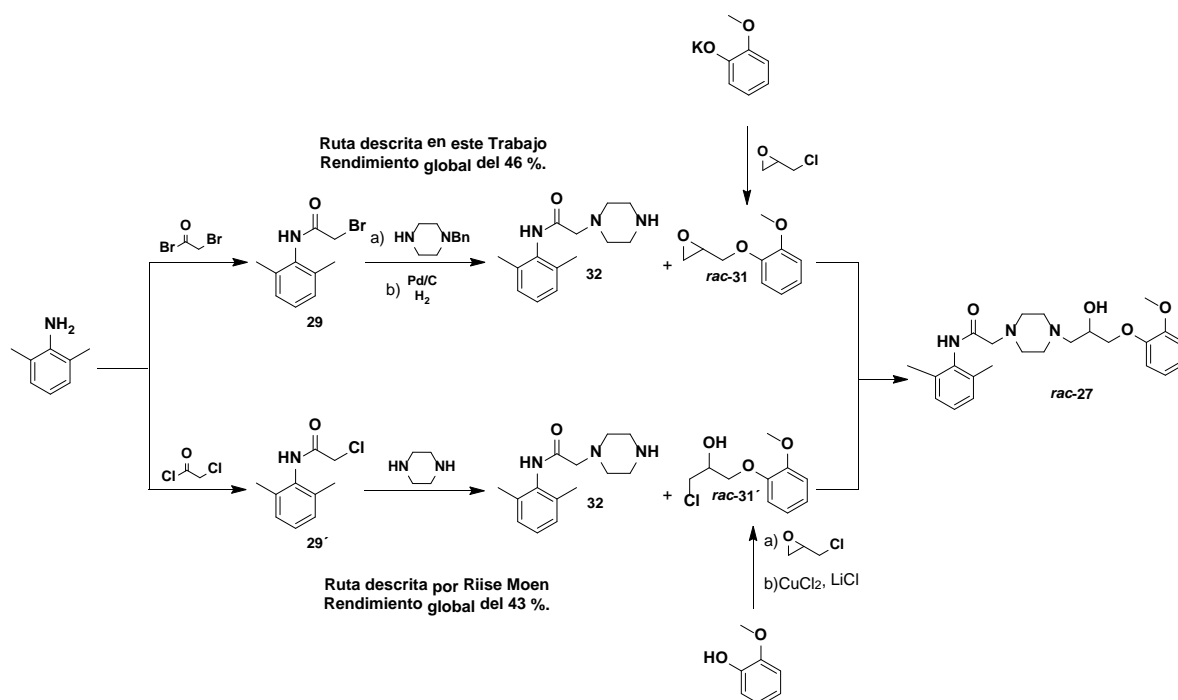


Esquema 2.9. Comparación de métodos de síntesis para el compuesto 4.

La diamina **32** se llevó sin aislar a la segunda etapa de la síntesis de *rac*-**27**, que consistió en obtener (\pm)-2-[(2-metoxifenoxi)metil]oxirano (*rac*-**31**) mediante la apertura del oxirano de la (\pm)-epiclorohidrina por el 2-metoxietil-fenolato de potasio formado *in situ* a través de la reacción de 2-metoxietil fenol con hidróxido de potasio, con lo que se obtuvo *rac*-**31** con un rendimiento de 82% (Esquema 2.10). La caracterización de *rac*-**31** se realizó mediante la comparación del punto de fusión descrito en la literatura.



La tercera etapa en la estrategia sintética consistió en la apertura del oxirano **rac-31**, mediante la diamina **29**, para producir la (±)-ranolazina (**rac-27**) con un rendimiento de 70% (Esquema 2.10). El rendimiento global reportado por Moen,¹² en cinco pasos de síntesis para la obtención de **rac-27**, es de 43%, mientras que el obtenido en este trabajo fue de 46% (Esquema 2.10).



Esquema 2.10. Comparación de estrategias sintéticas para la obtención de ranolazina (**rac-27**).

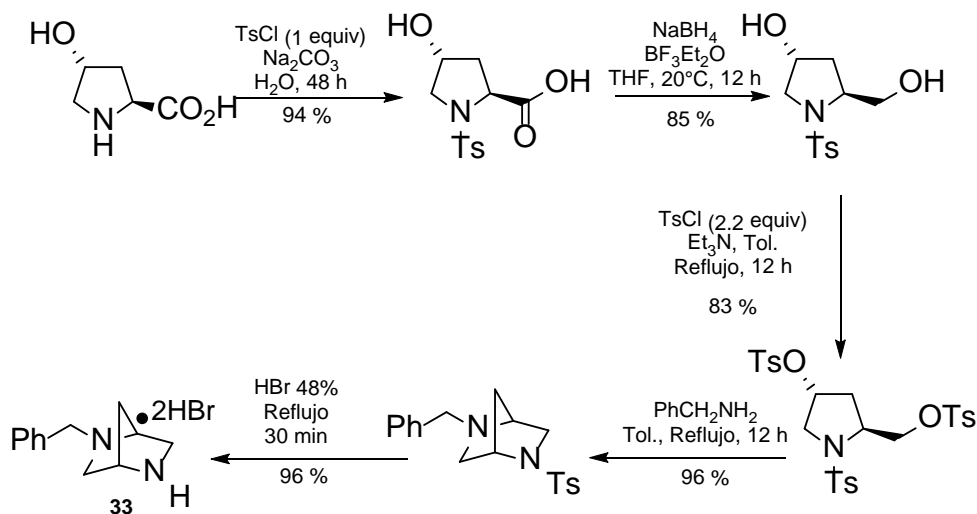
La ranolazina (**rac-27**) se caracterizó mediante **RMN** ¹H (300 MHz): δ 2.05 (s, 6H), 2.33 (d, 2H), 3.59 (br, 2H), 3.67 (br, 2H), 3.73 (s, 2H), 3.98 (m, 2H), 4.17 (br, 2H), 4.39 (m, 1H), 6.9-7.12 (m, 7H); **RMN** ¹³C (300 MHz): δ 18.07, 50.12, 50.33, 56.51, 57.96, 59.31, 64.69, 71.01, 113.33, 114.49, 122.43, 123.23, 129.08, 129.31, 132.94, 136.72, 147.78, 149.18, 165.83; Espectrometría de Masas (**EM**) (EI⁺) (% m/z): 427 [ión molecular (C₂₄H₃₃N₃O₄), 3%], 321, 379, 260 [pico base (C₁₅H₂₂N₃O), 100%].

Las ventajas del método desarrollado en este trabajo son: a) Un moderado incremento en el rendimiento global de la (±)-ranolazina empleando el mismo número de pasos, b) el empleo de cantidades estequiométricas en cuatro de los cinco pasos realizados para la obtención de la (±)-ranolazina.



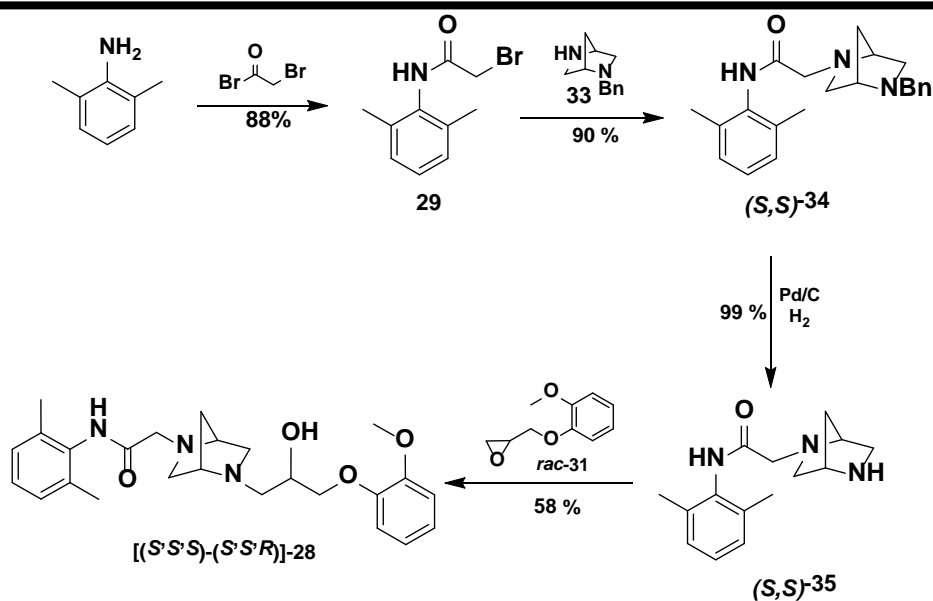
2.4.3. [(S,S,S)-(S,S,R)]-10 y [(S,S,S)-(S,S,R)]-28

Para la preparación del compuesto diazabíclico [(S,S,S)-(S,S,R)]-28 se sintetizó el (1S,4S)-2-bencil-2,5-diazabíciclo[2.2.1]heptano **33**, análogo rígido de *N*-bencilpiperazina, partiendo de *trans*-hidroxi-L-prolina, según el método publicado por Melgar y col.⁶¹ obteniendo un rendimiento global del 61% (Esquema 2.11).



Esquema 2.11. Ruta de síntesis de (1S,4S)-2-bencil-2,5-diazabíciclo[2.2.1]heptano **33**.

Para la obtención de la mezcla epimérica del análogo diazabíclico [(S,S,S)-(S,S,R)]-28 (Esquema 2.12), se partió de la bromoacetamida **29**. Ésta, mediante el desplazamiento del bromuro con (1S,4S)-2-bencil-2,5-diazabíciclo[2.2.1]heptano, generó la diamina diazabíclica (S,S)-8 con rendimiento de 90%. La diamina (S,S)-9 se preparó de forma cuantitativa mediante la hidrogenólisis. La obtención de [(S,S,S)-(S,S,R)]-28 se logró mediante la apertura nucleofílica del oxirano en *rac*-**31** con la diamina (S,S)-35, con un rendimiento de 58%. La síntesis global de [(S,S,S)-(S,S,R)]-28, partiendo de 2,6-dimetilanilina, se logró con un rendimiento de 37.3%.



Esquema 2.12. Ruta de síntesis de [(S,S,S)-(S,S,R)]-28.

Las señales observadas en el espectro de RMN ¹H para [(S,S,S)-(S,S,R)]-28 (Figura 2.4) que hicieron posible la caracterización del mismo fueron: el doble de dobles que aparece en 1.7 (hidrógeno 9 figura 2.4) ppm corresponde a los hidrógenos del puente de metileno del sistema diazabíclico presente en la molécula; la señal simple en 2.2 (hidrogenos 1 y 2 figura 2.4) ppm corresponde a los hidrógenos de los dos metilos del anillo aromático en el nitrógeno de la acetamida; la señal múltiple que aparece entre 2.7 y 2.9 ppm corresponde a los hidrógenos de de los metilenos en posición alfa a los centros asimétricos del sistema diazabíclico y al metileno de la cadena de propilo enlazado al nitrógeno del diazabíciclo (hidrógenos 5,7,10 figura 2.4) ; la señal múltiple que aparece entre 3.2 y 3.4 ppm corresponden a los hidrógenos del metileno de la acetamida y los hidrógenos del metileno de la cadena de propilo (hidrogenos 3 y 13 figura 2.4); la señal simple de los hidrógenos del metoxilo (hidrógenos 14 figura 2.4) aparece en 3.83 ppm; la señal múltiple que aparece entre 4.0 y 4.1 ppm corresponde a los hidrógenos del metileno de la cadena de propilo entre el carbono asimétrico y el oxígeno del arilo junto con el hidrógeno del mismo carbono asimétrico; los hidrógenos del sistema aromático provenientes del fenol aparecen entre 6.87 y 6.95 ppm; los hidrógenos del sistema aromático unido al nitrógeno de la acetamida aparecen en 7.09 ppm; el hidrógeno ácido de la acetamida aparece en 8.68 ppm. El



espectro de RMN ^{13}C permitió observar el carbonilo de la amida, el cual aparece en 169.2 ppm.

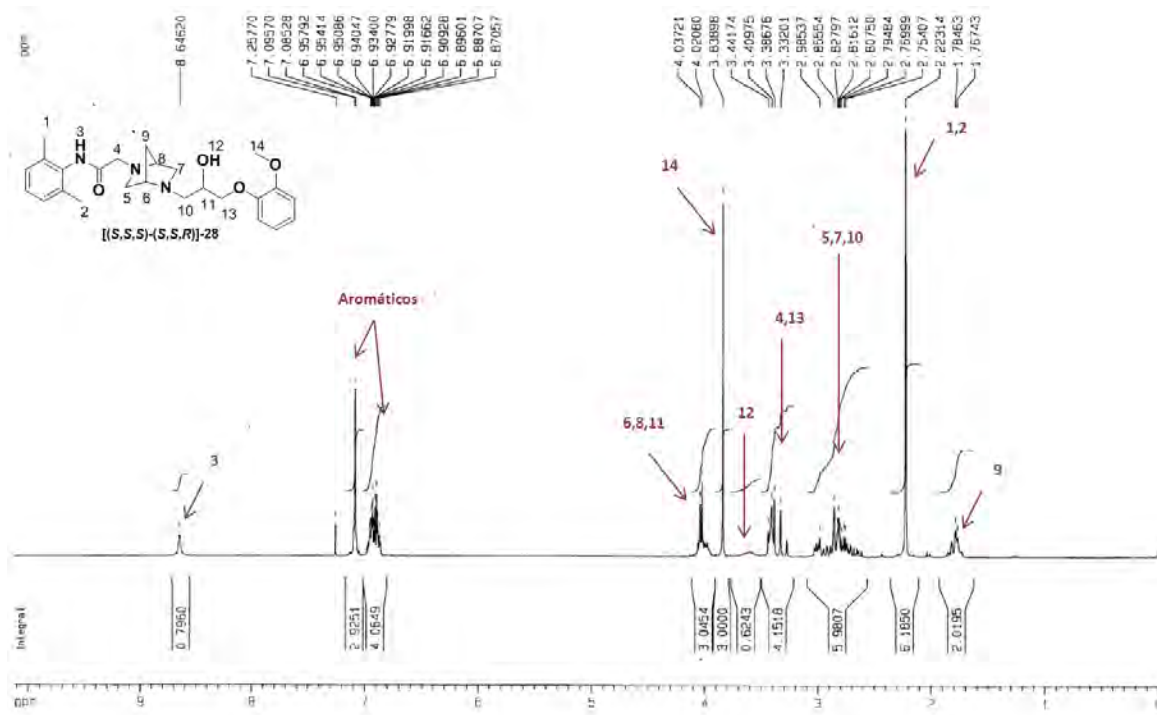
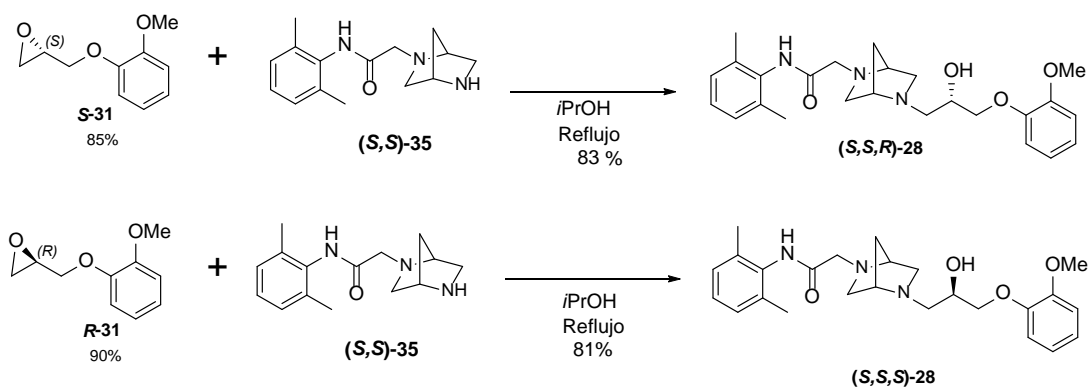


Figura 2.4. Espectro de RMN ^1H de [(S,S,S)-(S,S,R)]-28

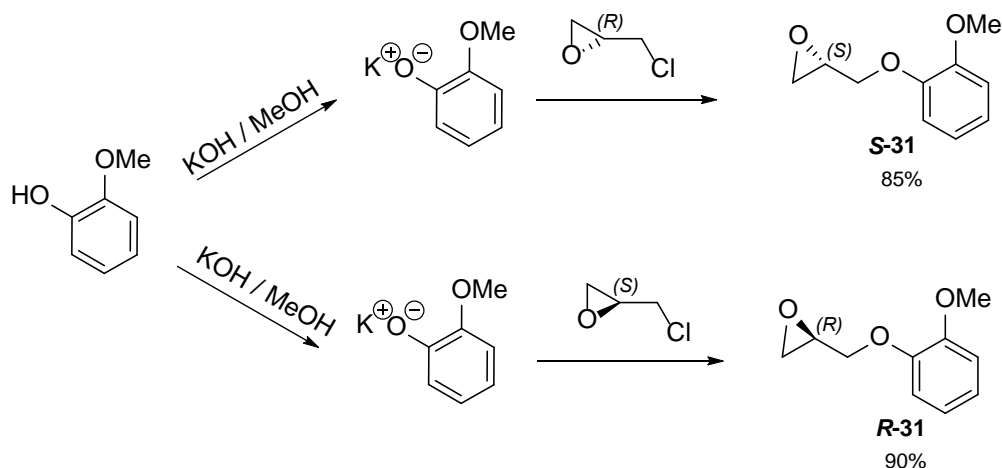
Para la preparación de los epímeros **(S,S,S)-28** y **(S,S,R)-28** se utilizaron los epóxidos quirales **S-31** y **R-31**, que por reacción con la acetamida **(S,S)-35** en isopropanol, produce cada uno de los epímeros con rendimientos aceptables



Esquema 2.13. Síntesis de los epímeros **(S,S,S)-28** y **(S,S,R)-28**

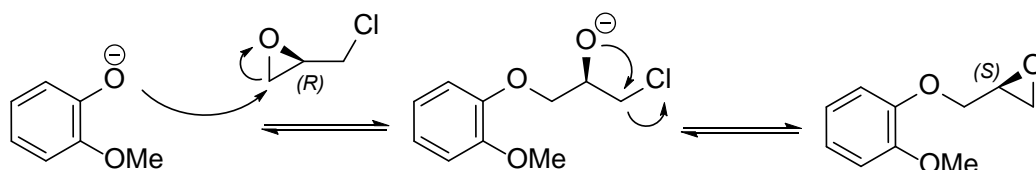


La síntesis de los epóxidos **S-31** y **R-31** se realizó mediante la reacción del fenolato proveniente de la reacción del guayacol con hidróxido de potasio y las correspondientes epiclorhidrinas quirales (esquema 2.14).



Esquem 2.14. Síntesis de los epóxidos **S-31** y **R-31**

En la preparación de los epóxidos quirales se observa inversión de configuración en el carbono asimétrico, esto puede explicarse debido al mecanismo de reacción de la epiclorhidrina en el cual Baldwin y col.⁶¹ y Nakanishi y col.⁶² proponen en sus publicaciones el ataque nucleofílico sobre el epóxido, seguido de una posterior ciclación mediante la sustitución del cloro por parte del alcóxido intermedio.



2.4.4. Evaluación farmacológica

La evaluación farmacológica de **[(S,S,S)-(S,S,R)]-28 (S,S,S)-28** y **(S,S,R)-28** fue realizada en el laboratorio de fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM bajo la dirección de la Dra. Cristina Paredes Carvajal. La evaluación se realizó en anillos de aorta provenientes de ratas Wistar macho adultas. Para cada experimento se utilizaron 2 anillos de 2 mm de ancho, uno con endotelio y otro sin endotelio, el cual fue removido mediante fricción manual. Ambos anillos fueron suspendidos, en una



cámara de órgano aislado (0.5 mL), entre un par de ganchos de acero inoxidable, uno fijo a la pared de la cámara y el otro fijado a un transductor isométrico de fuerza (Grass, modelo FT03). Los anillos fueron perfundidos continuamente (1 mL/min) con solución de Tyrode oxigenada (95% O₂, 5% CO₂); el pH fue ajustado a 7.2 y la temperatura fue mantenida a 37°C. Al inicio de cada experimento, se evaluó la respuesta a la fenilefrina (10⁻⁵ M) y al carbacol (10⁻⁵ M). La relajación inducida por el carbacol en los anillos precontraídos con fenilefrina se tomó como evidencia de que dichos anillos tienen preservado el endotelio, mientras que la ausencia de relajación confirmó la ausencia de endotelio funcional.

Para investigar el posible efecto relajante de los compuestos **[(S,S,S)-(S,S,R)]-28**, **(S,S,S)-28** y **(S,S,R)-28**, se analizaron, sobre los anillos precontraídos con fenilefrina (10⁻⁵ M), los efectos de estos compuestos a concentraciones acumulativas incrementantes (10⁻⁶-10⁻⁴ M). Estos efectos fueron analizados en ausencia o en presencia de indometacina (10⁻⁶ M) o el éster metílico de L- nitro arginina L-NAME (300 μM).

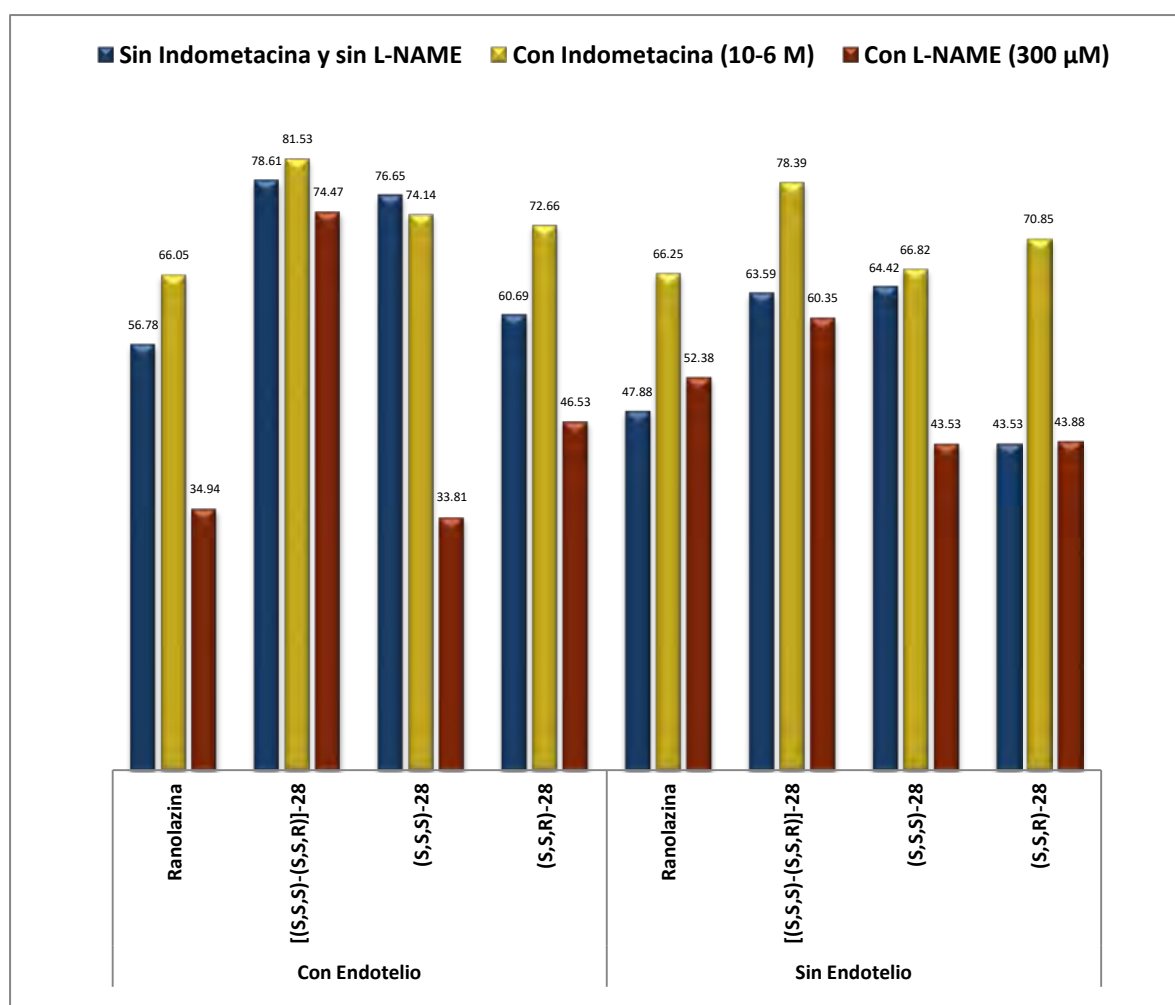
Los resultados registrados en la Gráfica 2.1 mostraron que la mezcla epimérica **[(S,S,S)-(S,S,R)]-28** tiene un mayor efecto relajante que la ranolazina. En los anillos de aorta con endotelio. Al inhibir la liberación de Oxido nítrico NO con L-NAME se observa una reducción en la relajación producida por ranolazina demostrando que en su efecto participa la liberación de NO endotelial; en contraste, al inhibir la ciclooxigenasa con indometacina el efecto se observa ligeramente aumentado, lo que da evidencia que su actividad también depende de la inhibición de un prostanóide vasoconstrictor. Al evaluar el efecto de indometacina y L-NAME sobre la mezcla epimérica **[(S,S,S)-(S,S,R)]-28** se observa que no hay efecto al inhibir la liberación de NO y un efecto al inhibir la ciclooxigenasa, lo que evidencia la inhibición de un prostanóide vasoconstrictor. Al evaluar el efecto en anillos sin endotelio se observa que **[(S,S,S)-(S,S,R)]-28** tiene un efecto relajante mayor a ranolazina y la adición de indometacina aumenta en ambos casos la relajación, lo que implica que el efecto es



mediado por liberación de un prostanoides vasoconstrictor independiente del endotelio.

La evaluación farmacológica de cada uno de los epímeros mostró que ambos compuestos presentan actividad relajante por la liberación de NO; sin embargo, el compuesto **(S,S,R)-28** induce además la liberación de un prostanoides vasoconstrictor de la vía de la ciclooxigenasa.

Gráfica 2.1. Efecto relajante sobre anillos de aorta de rata expresado en % de relajación





2.5. CONCLUSIONES

Se demostró que el reemplazo del anillo de piperazina en la ranolazina por el sistema diazabíclico conduce a compuestos con mayor actividad relajante que la propia ranolazina, actividad probablemente mediada por la liberación de óxido nítrico endotelial, que actúa directamente sobre el músculo liso vascular, además de inducir la liberación de un prostanoide vasoconstrictor de la vía de la ciclooxygenasa, el cual es enmascarado por el efecto relajante producido por el mismo compuesto.



PARTE 3. SÍNTESIS DE COMPUESTOS ANTICANCERÍGENOS

3.1. Cáncer

Las células normales del cuerpo crecen, se dividen formando nuevas células y mueren de manera ordenada. El cáncer es un término genérico que abarca un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Una característica del cáncer es la multiplicación descontrolada de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir otros órganos del cuerpo, en un proceso conocido como metástasis. El crecimiento sin control y la invasión a otros tejidos es lo que hace que las células se conviertan en cancerosas. Independientemente de hacia dónde se propague el cáncer, siempre se le da el nombre del lugar donde se originó. Los diferentes tipos de cáncer se pueden comportar de manera muy distinta. Por ejemplo, el cáncer de pulmón y el cáncer de seno son dos enfermedades muy diferentes. Crecen a velocidades distintas y responden a distintos tratamientos. Por esta razón, las personas requieren un tratamiento específico para cada tipo particular de cáncer. El cáncer se desarrolla por la interacción de factores ambientales, inmunológicos y genéticos específicos de cada individuo y se puede clasificar a partir del tejido y el tipo de célula en el cual se origina.

Carcinomas. Son aquellos tumores que se originan a partir de células epiteliales.

Sarcomas. Inician en hueso, cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos u otros tipos de tejido conectivo o de sostén.

Leucemias. Empiezan en las células que dan origen a la sangre.

Linfomas. En células del sistema inmunológico.

Cánceres del sistema nervioso central. Comienzan en tejido cerebral y/o la médula espinal.



3.1.1. Tumor

A diferencia de las células sanas, las células cancerosas continúan multiplicándose por un cúmulo de causas aún desconocidas, en las que pueden influir factores genéticos y exógenos (estilo de vida, medio ambiente, infecciones virales, etc.). Esta continua división celular produce acumulación de células o bultos anormales, que son llamados tumores. Un tumor es cualquier alteración de crecimiento celular que produzca un aumento de volumen. En términos simples, un tumor es cualquier masa causada por un aumento en el número de células que lo componen. Los tumores en general se caracterizan en dos tipos: benignos o no cancerosos, y malignos o cancerosos:

Tumor benigno: es una masa celular producida por una alteración en el crecimiento celular, que no invade los tejidos de su alrededor, no se disemina a otras partes del cuerpo y generalmente no necesita operarse, aunque su continuo crecimiento aumenta la presión en el área, afectando a otros órganos cercanos, por lo que a largo plazo es necesaria la cirugía para su extracción.

Tumor maligno: las células que lo forman tienen capacidad para extenderse a otras áreas del organismo. lo que puede poner la vida en peligro. A esta diseminación o propagación se le denomina metástasis. Comúnmente se extirpa, pero algunas veces vuelve a crecer.

La malignidad o benignidad del tumor radica en que los tumores benignos se limitan o encapsulan, y no invaden ni producen metástasis. La mayoría de los cánceres forman tumores, pero algunos, debido al tipo de las células que las originan, no hacen daño al organismo.

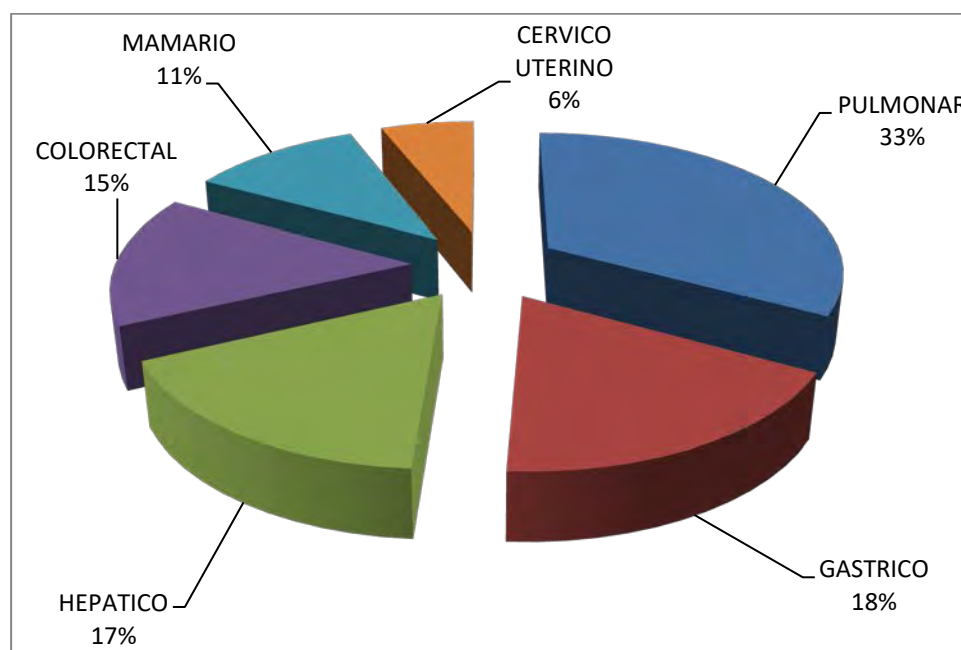
3.1.2. Estadísticas del cáncer

3.1.2.1. Estadísticas de cáncer a escala mundial

El cáncer es una de las principales causas de muerte a escala mundial. Sólo en 2012 se reportaron 8,2 millones de muertes y se registraron 14 millones de casos nuevos relacionadas con el cáncer. Se estima que el cáncer aumentará a 22 millones



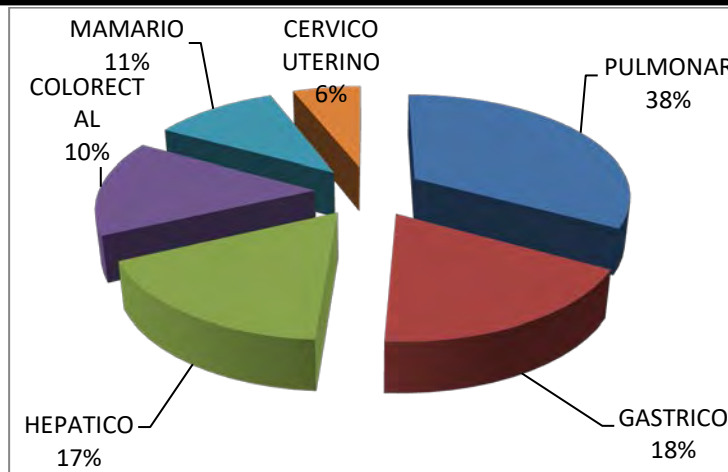
de casos en las siguientes dos décadas. Más de 60 por ciento de los nuevos casos de cáncer en el mundo tienen lugar en África, Asia, Sudamérica y Centroamérica. Los cánceres con mayor incidencia son el de pulmón, mama, gástrico, y colonorectal (Gráfica 3.11).⁶³



Gráfica 3.1. Estadísticas del cáncer a nivel mundial.

3.1.2.2. Estadísticas a Nivel Nacional

El cáncer es la tercera causa de muerte en México, y según estimaciones de la Unión Internacional Contra el Cáncer, cada año se suman más de 128,000 casos de mexicanos. En 2009, la tasa de mortalidad por cáncer en México fue de 65 por cada 100,000 habitantes, según las cifras más recientes, del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). El cáncer de pulmón, gástrico y hepático son los de mayor mortalidad en México (Gráfica 3.2).



Gráfica 3.2. Datos estadísticos de cáncer en México.

3.1.3. Tratamiento general de cáncer

El plan de tratamiento es elegido por los pacientes en interacción con el médico, con base en factores tales como el estado general de salud del paciente, el tipo y la etapa del cáncer, y las preferencias personales. Las alternativas generales incluyen uno o más tratamientos, tales como cirugía, quimioterapia, radioterapia o terapia farmacológica dirigida.

3.1.3.1. Cirugía

La cirugía es la extirpación del tumor y del tejido circundante mediante una operación. Es el tipo más antiguo de terapia contra el cáncer, y en la actualidad sigue siendo un tratamiento eficaz. Se usa con frecuencia para extirpar todo el tejido canceroso o parte de éste después del diagnóstico.

3.1.3.2. Radioterapia

La radioterapia es el uso de un tipo de radiación como rayos X, rayos gamma, electrones, protones, neutrones, iones de carbono, partículas alfa y partículas beta. La radioterapia lesiona o destruye las células en el área que recibe tratamiento para dañar su material genético y hacer imposible que crezcan y se dividan. Aunque la radiación daña tanto las células cancerosas como las normales, estas últimas



tienden a recuperarse de los efectos de la radiación y a funcionar adecuadamente. El objeto de la radioterapia es destruir el mayor número posible de células cancerosas y limitar el daño que sufre el tejido sano. En algunos casos, el objeto de la radioterapia es la destrucción completa de un tumor o la reducción de su tamaño.

3.1.3.3. Quimioterapia

La quimioterapia consiste en el uso de fármacos para eliminar las células cancerosas. Estos fármacos pueden administrarse por vía intravenosa o por vía oral. Normalmente se administra una combinación de fármacos en una serie de tratamientos que duran semanas o meses, con periodos de descanso entre uno y otro para que el paciente pueda recuperarse. Generalmente se administra después de la cirugía para eliminar las células cancerosas que podrían haber quedado y también puede administrarse antes de la cirugía con el fin de reducir el tamaño del tumor y facilitar su extirpación.⁶⁴

Dependiendo de cuándo se administre la quimioterapia podemos hablar de:

- **Quimioterapia neoadyuvante:** Se administra en primer lugar, antes de cualquier tratamiento local como la radioterapia o la cirugía. El objetivo es disminuir el tamaño del tumor, lo que permite realizar tratamientos locales menos agresivos.
- **Quimioterapia concomitante:** Se administra de forma simultánea a la radioterapia. Permite mejorar la eficacia del tratamiento.
- **Quimioterapia adyacente:** se realiza posterior a la cirugía, para prevenir la enfermedad.

Las células normales también son propensas a verse afectadas por la quimioterapia, lo que ocasiona ciertos efectos secundarios. Estos dependen del tipo y dosis de los medicamentos administrados, así como de la duración del tiempo que se administran. Algunos efectos secundarios comunes incluyen:^{65,66}

- Úlceras en la boca
- Pérdida del apetito



-
- Náuseas y vómitos
 - Diarrea o estreñimiento
 - Baja de defensas en el sistema inmune
 - Facilidad para que se formen moretones o surjan sangrados (debido a la reducción del número de plaquetas)
 - Cansancio (debido a la disminución en los glóbulos rojos)
 - Caída del cabello.

3.1.3.4. Terapia complementaria

Las terapias complementarias son una serie de diversas modalidades de tratamiento, que tienen una serie de términos pobremente definidos, como por ejemplo, alternativas no probadas, no científicas, naturales y tradicionales. Por lo general, el término terapias complementarias se refiere a las terapias que no se utilizan bajo la atención de un médico.

3.1.3.5. Tratamientos alternativos

La medicina alternativa o medicina natural son términos que designan diversos procedimientos o terapias empleados con el fin de curar a las personas; no pertenecen al campo de la medicina convencional por la falta de evidencias científicas de su eficacia. En muchas de ellas su efectividad no ha sido probada consistentemente. Tales procedimientos no son reconocidos institucionalmente en la gran mayoría de los países. No se ha demostrado en estudios clínicos que estos tratamientos sean seguros ni eficaces. Algunos de estos métodos pueden ser peligrosos, o tienen efectos secundarios con riesgo para la vida.

3.1.3.6. Terapia dirigida

Las terapias dirigidas, también llamadas terapias target por su nombre en inglés, son tratamientos más novedosos para el cáncer que apuntan contra ciertas anomalías específicas en las células cancerosas. Para comprender la terapia dirigida, es necesario comprender cómo se desarrollan las células cancerosas. Las células son



los elementos fundamentales de todos los tejidos del cuerpo. El cáncer comienza cuando mutan genes específicos en células sanas. Estos contienen la información genética que indican a las células cómo producir proteínas, muchas de las cuales ayudan a que una célula funcione con normalidad. Si los genes mutan, las proteínas también cambiarán, provocando que las células no lleven a cabo diversos procesos, como la muerte celular programada o apoptosis. Esto hace que las células crezcan de manera descontrolada y formen una masa denominada tumor.^{67,68}

Al estudiar las células cancerosas y la forma en que reaccionan a su entorno, investigaciones han revelado que las mutaciones génicas específicas contribuyen al desarrollo de tipos de cáncer específicos.⁶⁹ A partir de esta información, se han desarrollado medicamentos que:

- Bloquean o desactivan las señales que indican a las células cancerosas que crezcan y se dividan.
- Activan o promueven procesos que provocan la muerte celular natural.
- Administran sustancias tóxicas selectivas para las células cancerosas con el fin de destruirlas.

Una vez identificado el blanco, el siguiente paso es formular una terapia que lo afecte de forma que interfiera con su habilidad de promover el crecimiento o la supervivencia de las células cancerosas. La mayoría de las terapias dirigidas son pequeñas moléculas o anticuerpos. Los compuestos de moléculas pequeñas se diseñan para blancos que están ubicados dentro de las células porque tales sustancias tienen la habilidad de entrar en ellas con relativa facilidad. Su objetivo es eliminar las células cancerosas sin afectar a las células normales (Figura 3.1).⁷⁰

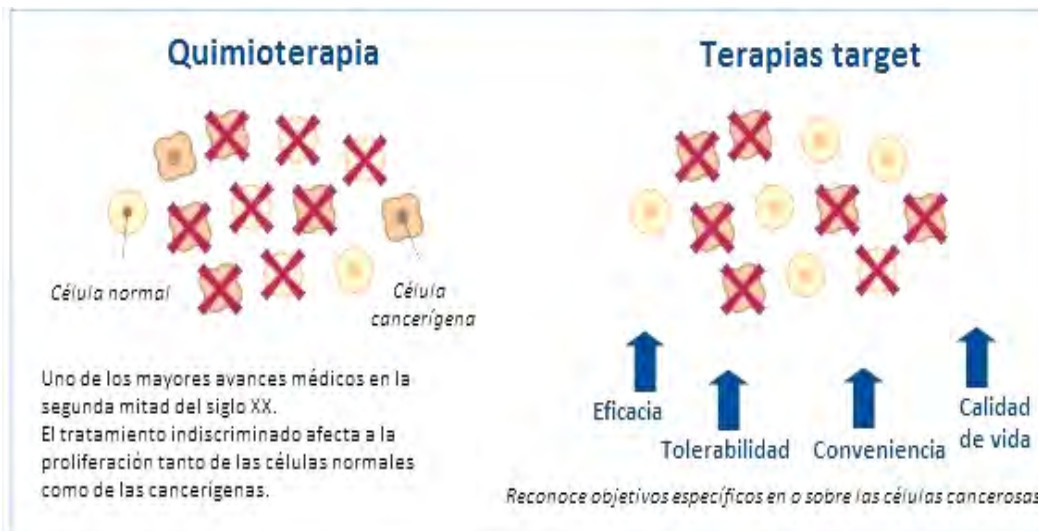


Figura 3.1. Diferencias entre la quimioterapia y las terapias dirigidas.

Algunas terapias dirigidas solamente funcionan en pacientes que tienen ciertas mutaciones genéticas en las células cancerosas. Por ello, en el laboratorio se analizan las células cancerosas para determinar si estos fármacos podrían ser útiles.⁷¹

3.1.3.6.1. Tipos de terapias dirigidas

Existen diversas terapias dirigidas para el tratamiento del cáncer. Estas terapias se dividen en terapias hormonales, inhibidoras de transducción de señales, moduladores de la expresión de genes, inductores de apoptosis, inhibidores de apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, inmunoterapias y moléculas para depositar toxinas.

3.1.3.6.2. Inhibidores de la transducción

Los inhibidores de la transducción intervienen en los mecanismos de señalización celular. Estos compuestos intervienen mediante la unión a diversos receptores celulares, iniciando señales que promueven el crecimiento y la supervivencia celular. Este tipo de terapias es aplicado cuando las células cancerosas tienen sobreexpresado algún receptor, lo que asegura selectividad ante células normales.



3.1.4. Cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón es un conjunto de enfermedades resultantes del crecimiento maligno de células del tracto respiratorio, en particular del tejido pulmonar, y es uno de los tipos de cáncer más frecuentes a escala mundial. Suele originarse a partir de células epiteliales, y puede derivar en metástasis e infiltración a otros tejidos del cuerpo. Los síntomas más frecuentes suelen ser dificultad respiratoria, tos, incluyendo tos con sangre en ocasiones, y pérdida de peso, así como dolor torácico, ronquera e hinchazón en el cuello y la cara.

La carcinogénesis pulmonar o cáncer pulmonar es el resultado final de la acción de múltiples factores que de forma aislada, aditiva o sinérgica, lesionan irreversiblemente el epitelio bronquial. El principal agente ambiental implicado en la carcinogénesis es el tabaco, por ende la causa más común de cáncer de pulmón es el tabaquismo, siendo 95% de pacientes con cáncer de pulmón fumadores y ex fumadores. En las personas no fumadoras, la aparición del cáncer de pulmón es resultado de una combinación de factores genéticos, exposición al gas radón, asbesto y contaminación atmosférica, incluyendo humo secundario (fumadores pasivos).^{72, 73}

3.1.4.1. Tipos de cáncer de pulmón

El cáncer pulmonar se divide en cáncer pulmonar de células no pequeñas y cáncer de pulmonar de células pequeñas. Estos nombres se basan en el aspecto de las células al microscopio, como muestra la Figura 3.2. El cáncer de pulmón de células no pequeñas es mucho más frecuente que el cáncer de pulmón de células pequeñas.

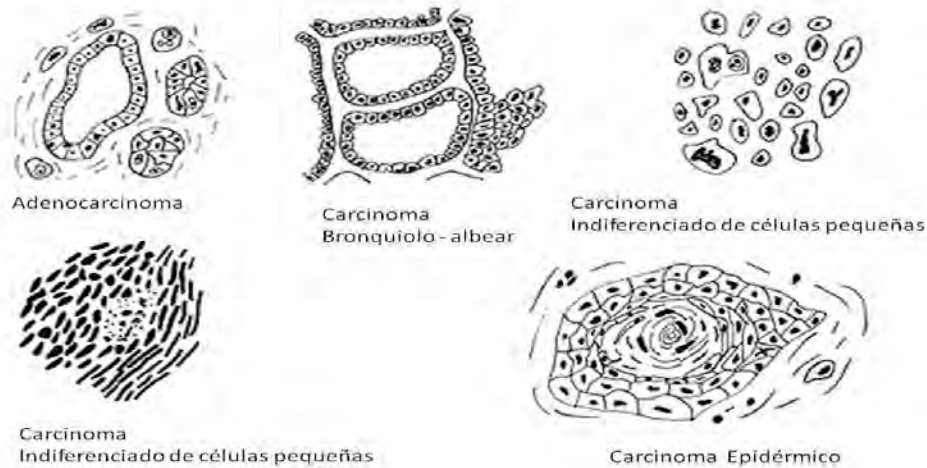


Figura 3.2. *Diferentes tipos de células pulmonares cancerosas.*

Cáncer pulmonar de células no *pequeñas*

Este cáncer se divide en diversas formas. Los tres tipos de cáncer de pulmón más importantes son el carcinoma de células escamosas, el adenocarcinoma y el carcinoma de células grandes. El diagnóstico de estos cánceres se realiza de manera similar pero su tratamiento puede variar.⁷⁴

Cáncer de células *pequeñas*

También conocido como cáncer de células en grano de avena, carcinoma de células avenoides y carcinoma indiferenciado de células pequeñas. Se denomina así por el tamaño de las células cancerosas observadas con un microscopio. Aproximadamente de 10 a 15% de todos los cánceres de pulmón son microcíticos (células pequeñas). Tiende a crecer y diseminarse más rápido y puede causar síntomas más pronto que el cáncer de células no pequeñas (Figura 3.3).

El carcinoma microcítico de pulmón es un tumor extraordinariamente agresivo, muchas veces con metástasis en el momento del diagnóstico. Este tumor se trata casi siempre con quimioterapia, y a veces se realizan tratamientos combinados con quimioterapia y radioterapia. El cáncer de pulmón microcítico a menudo se origina en



los bronquios, cerca del centro del pecho, y tiende a propagarse ampliamente a través del cuerpo muy temprano en el curso de la enfermedad.

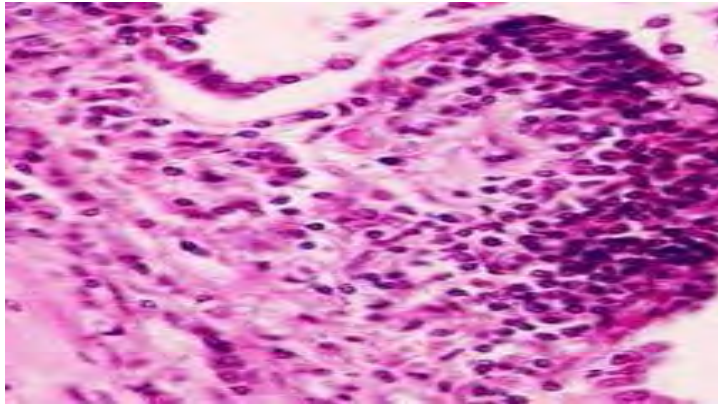


Figura 3.3. Cáncer de tipo microcítico.

3.1.4.2. Tratamiento para el cáncer de pulmón

El tratamiento del cáncer de pulmón depende de diferentes factores. El médico tendrá en cuenta la edad, el estado general de salud, los antecedentes médicos personales, el tipo de tumor (microcítico o no microcítico), el estadio de la enfermedad, la tolerancia a los posibles efectos secundarios de cada uno de los tratamientos y los deseos del paciente. Se pueden emplear distintas modalidades terapéuticas: la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia.

Igual que otros tipos de cáncer, el cáncer pulmonar se puede tratar con cirugía, quimioterapia, terapia de radiación o la combinación de ellas. Su tratamiento depende de su tipo y extensión. La cirugía ofrece la mejor oportunidad para curar un cáncer pulmonar y es el tratamiento que se elige para la etapa temprana en un cáncer de células no pequeñas; pero no es muy efectiva para cánceres en etapas avanzadas. Se lleva a cabo cuando el tumor está confinado al pulmón y cuando el procedimiento se puede realizar de forma segura. La cirugía involucra la extracción del cáncer y los nódulos linfáticos del tórax. La quimioterapia y la terapia de radiación son pocas veces un remedio. Las terapias dirigidas son usadas eficazmente hoy en día para el tratamiento de esta enfermedad.



3.1.4.3. Inhibidores de las tirosina-cinasas

Las cinasas (también llamadas quinasas en algunos países de América Latina) son un tipo de proteínas involucradas en el proceso de fosforilación, que consiste en transferir grupos fosfatos desde ATP a un sustrato específico o diana. Las tirosina cinasas actúan sobre una proteína activándola o desactivándola, por ello ocupan un lugar central en los mecanismos de señalización celular.⁷⁵

Las tirosina-cinasas juegan un papel crítico en la regulación de los procesos celulares, fundamentalmente en el desarrollo celular, diferenciación, proliferación, supervivencia, crecimiento, apoptosis, la forma celular, adhesión, migración, control del ciclo celular, angiogénesis, respuestas a estímulos extracelulares, señalización de neurotransmisores, la activación de las plaquetas, transcripción y la captación de la glucosa. Dado su papel fundamental en la homeostasis normal, quizá no sea sorprendente que han sido implicados en varios trastornos humanos incluyendo anomalías de desarrollo, inmunodeficiencia, diabetes, arteriosclerosis, psoriasis, enfermedad renal, trastornos neurológicos, leucemias y tumores sólidos.

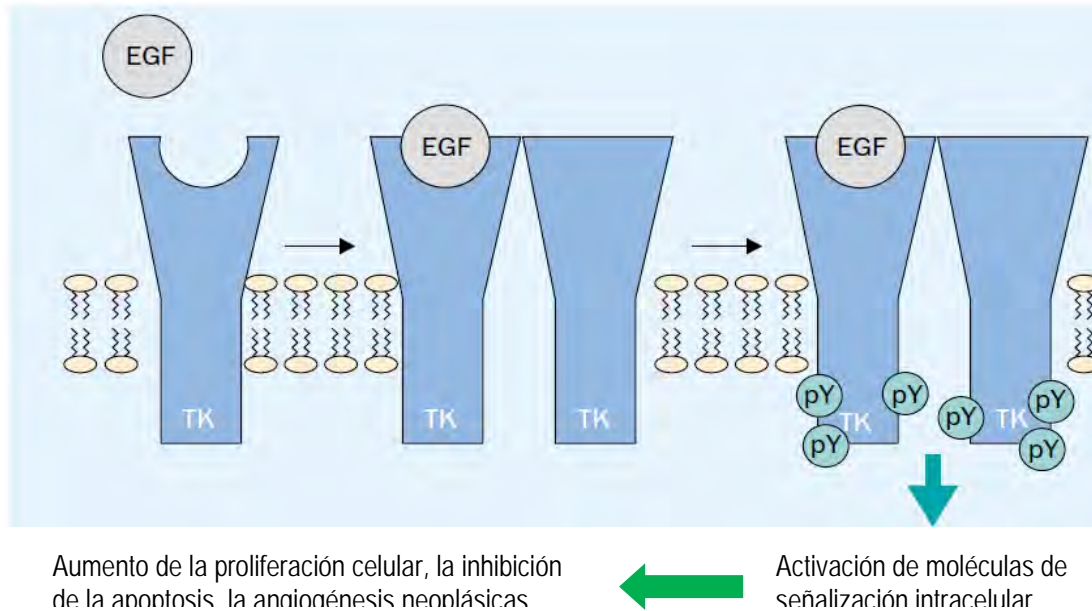
En los últimos años, diversos compuestos inhibidores de cinasas han sido aprobados por la FDA para el tratamiento de distintos tipos de cáncer. Además se han desarrollado más de 40 inhibidores de proteína cinasas que se encuentran en fase de ensayos clínicos.^{76, 77}

3.1.4.3.2. Factores de crecimiento epidérmico

El factor de crecimiento epidérmico (EGF), es una sustancia de naturaleza proteica que junto con las hormonas y los neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación intercelular y utilizan el mismo receptor EGFR, que tiene capacidad mitogénica sobre una amplia variedad de células epiteliales, hepatocitos y fibroblastos. Esta actividad es importante en la cicatrización de heridas, situación en la que los macrófagos, los queratinocitos y otras células inflamatorias que migran a la zona dañada segregan EGF, que se distribuye ampliamente en secreciones tisulares y fluidos. Está implicado en la proliferación, así como en procesos de transformación



tumoral y diversas enfermedades en los casos en que estos factores actúan de modo alterado o en los que sus receptores actúan de manera anómala (Esquema 3.1).^{78, 79}



Esquema 3.1. Mecanismo de acción de los receptores de EGFR en la proteína y la activación de las fosforilación.

3.1.4.3.3. Factor de Crecimiento Epidérmico y cáncer de pulmón

El EGFR regula vías del ciclo celular y en la práctica clínica es una diana específica para los fármacos. Juega un papel crucial en la regulación de procesos celulares fundamentalmente como el metabolismo, la proliferación celular, la diferenciación celular y la muerte celular. Estas proteínas transmembrana se activan después de la unión con factores de crecimiento peptídicos de la familia de estas proteínas. La evidencia sugiere que el EGFR está implicado en la patogénesis y progresión de diferentes tipos de carcinoma. La amplificación del gen EGFR y las mutaciones del dominio de EGFR han demostrado que se producen en pacientes con carcinoma. En los últimos años se han desarrollado y aprobado para uso clínico, diversos inhibidores de tirosina-quinasas (Figura 3.4) y por ende se ha llevado al desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer; tal es el caso del Erlotinib Gefitinib, y el Tandutinib (Figura 3.4).^{80, 81}

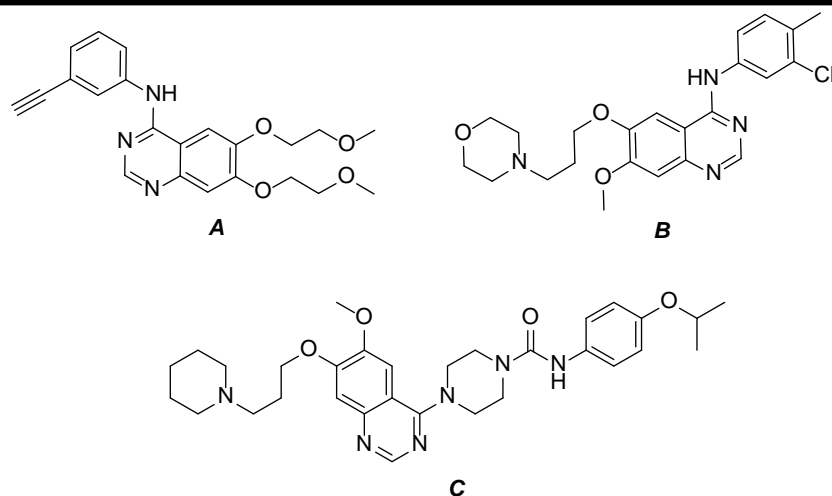


Figura 3.4. A) Erlotinib utilizado para el cáncer de pulmón, B) Gefitinib sirve para la metástasis de cáncer de páncreas avanzado. C) Tandutinib estudiado para cáncer de riñon

3.1.5. Síntesis de quinazolinas y quinazolinonas

La quinazolina (Figura 3.5) es un sistema heterocíclico formado por dos anillos aromáticos fusionados, uno de benceno y otro de pirimidina, sus derivados suelen ser considerados compuestos quinazólicos. Derivados de la quinazolina han sido empleados en varios campos de la terapéutica médica. (Algunas quinazolinonas se muestran en la Figura 3.4.)

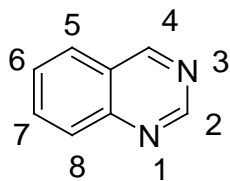


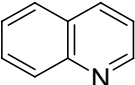
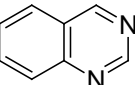


Figura 3.5. Estructura de la quinazolina.

La introducción de un átomo de nitrógeno en un anillo aromático tiende a hacer a estos compuestos menos volátil. Cuando existen dos nitrógenos en el anillo (Figura 3.5), cada uno de ellos con idéntica afinidad electrónica, el valor del momento dipolar aumenta, haciendo que la protonación se lleve a cabo en los dos nitrógenos, por lo tanto su basicidad es menor (Tabla 3.1).^{82, 83}

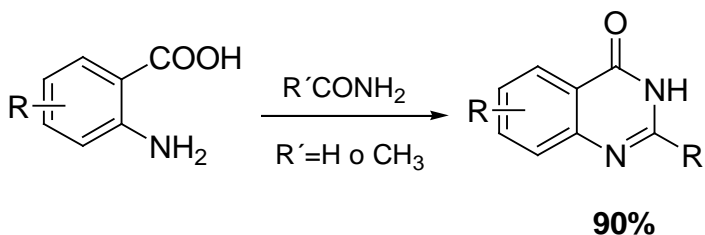


TABLA 3.1. De comparación de propiedades fisicoquímicas

ESTRUCTURA	NOMBRE QUIMICO	SOLUBILIDAD	pKa	PUNTO DE EBULLICIÓN
	Benceno	inmiscible en agua	43	80°C
	Piridina	miscible en agua	5.16	115°C
	quinolina	miscible en agua	4.85	258-260 °C
	Quinazolina	miscible en agua	3.51	241°C

3.1.5.1. Síntesis de quinazolinas de Niementowski

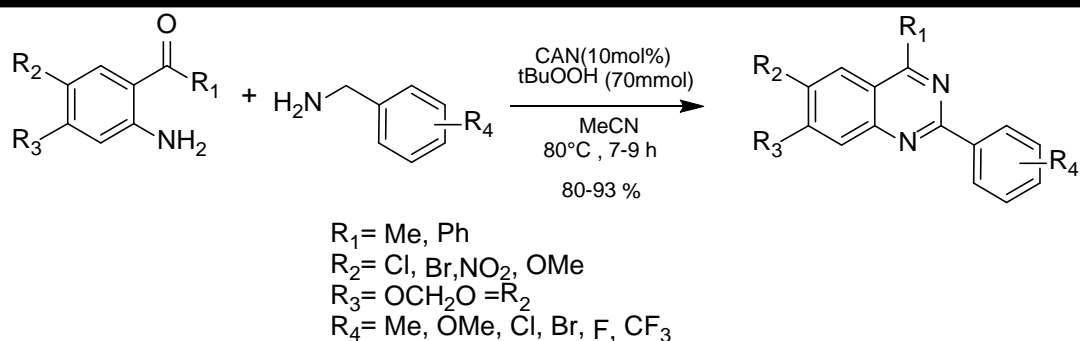
La síntesis de quinazolinas de Niementowski emplea derivados del ácido antranílico y amidas, que al condensarse permite obtener derivados de quinazolinona (Esquema 3.6).^{84, 85 86}



Esquema 3.6. Síntesis de quinazolinonas utilizando el ácido antranílico.

3.1.5.2. Síntesis de 2-arylquinazolinas

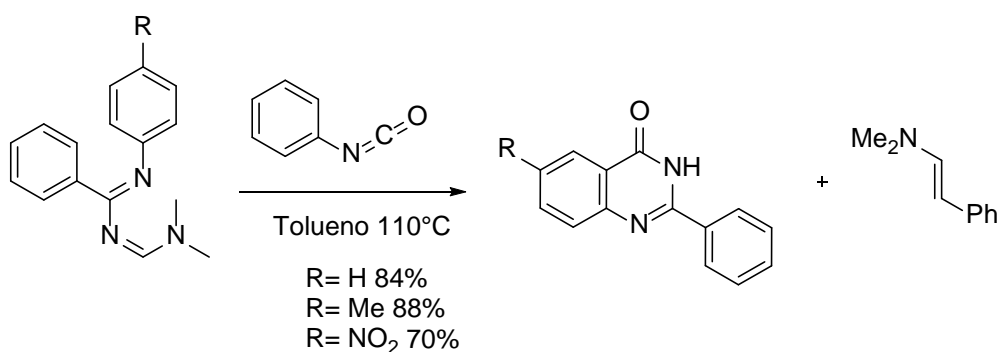
En el Esquema 3.7 se muestra una fácil y eficaz síntesis de 2-arylquinazolinas que emplea 2-aminofenilcetonas, bencilaminas y catálisis con nitrato cérico amoniacal en acetonitrilo.⁸⁷



Esquema 3.7. Síntesis de quinazolinonas utilizando arilaminas.

3.1.5.3. Síntesis de quinazolinonas 2-sustituidas

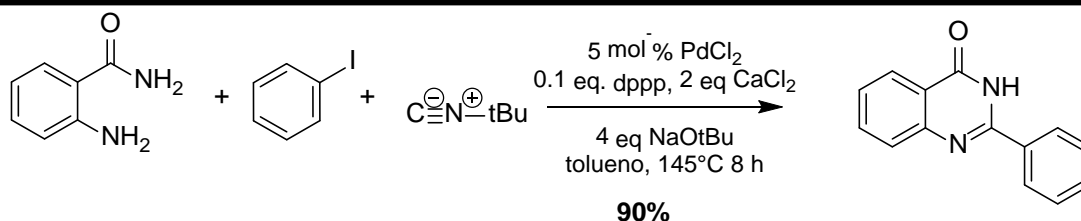
La ciclación de 1-aryl-4-dimetilamino-2-fenil-1,3-diaza-1,3-butadienos y fenil isocianato fue reportada por Croce y col,⁸⁸ la reacción la llevaron a cabo bajo una atmósfera de nitrógeno en tolueno a reflujo, para producir quinazolinonas 2-sustituidas con buenos rendimientos (Esquema 3.8).



Esquema 3.8. Síntesis de Croce utilizando fenilisocianato.

3.1.5.4. Síntesis de quinazolinonas vía inserción de ter-butil-isocianuro

La reacción de 2-aryl-aminobenzamidas, halogenuros de arilo, y ter-butil-isocianuro catalizada con paladio es un método eficiente para la preparación de 4(3H)-quinazolina (Esquema 3.9).⁸⁹



Esquema 3.9. Síntesis de quinazolinonas utilizando paladio como catalizador.

3.1.6. Quinazolininas y el cáncer

Las quinazolininas han sido objeto de un amplio estudio durante muchos años debido a la amplia variedad de propiedades biológicas como hipnóticos, sedantes, antimaláricos, antipiréticos, antipsicóticos, analgésicos, anticonvulsivos, antitusígenos, antibacterianos, hipoglucemiantes, antiinflamatorios, antitumorales, entre otras (Figura 3.5). Debido a este hecho, las quinazolininas son estructuras privilegiadas en el campo de la química medicinal. Diversos fármacos contienen en su estructura una quinazolinina, tal es el caso de los inhibidores de la tirosina cinasa como el Erlotinib y Tivantinib, que son una alternativa en el tratamiento de diversos tipos de cánceres. Actualmente el Erlotinib es un tratamiento de elección contra el cáncer de pulmón.⁹⁰

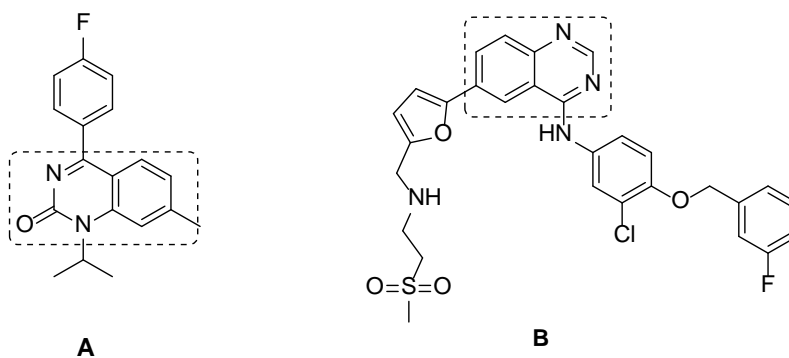


Figura 3.5. Algunos medicamentos que incorporan a las quinazolininas, **A)** Fluproquazone antipirético, **B)** Lapanitineb antitumoral.

El Erlotinib (Figura 3.4) es usado para el tratamiento del cáncer de pulmón que se propaga a tejidos cercanos. Este medicamento pertenece a una clase llamada inhibidores de la tirosina-cinasa, que actúan bloqueando la acción de una proteína

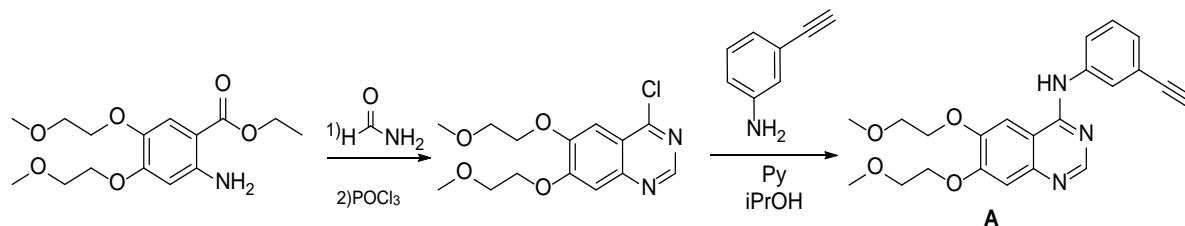


anormal que les indica a las células cancerosas que deben multiplicarse. Esto ayuda a retardar o detener la propagación de dichas células. Por otro lado el Tandutinid (Figura 3.4) fue usado en el tratamiento de diversos tipos de cáncer siendo un excelente candidato en el tratamiento de cáncer cerebral, renal y leucemia mieloide; sin embargo, fue discontinuado durante la fase clínica II.

3.1.5.3. Síntesis de Erlotinib y Tandutinib

3.1.5.3.1. Síntesis de Erlotinib

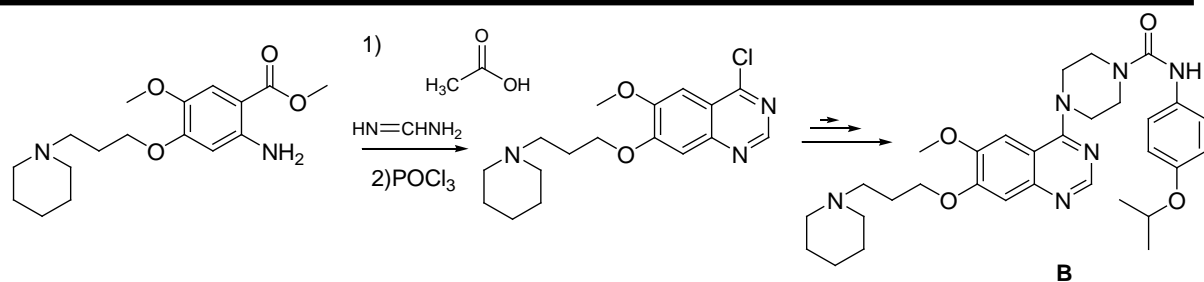
Algunas de las estrategias sintéticas para la preparación de Erlotinib emplean un intermediario quinazolinico 4-cloro sustituido. Petr Knesl y col.⁹¹ realizaron la síntesis de la correspondiente cloroquinazolina (Esquema 3.10) con un rendimiento de 85%.



Esquema 3.10. Reacción de obtención de la cloroquinazolina clave para la síntesis de Erlotinib.⁹¹

3.1.5.3.2. Síntesis del Tandutinib

Para la síntesis del Tandutinib se emplea una estrategia similar a la descrita, con el empleo de un intermediario 4-cloroquinazolinico. Petr Knesl y col.⁹⁴ realizaron la síntesis de la correspondiente cloroquinazolina (Esquema 3.11) con un rendimiento de 85%.



Esquema 3.11 Reacción reportada por Knesl y col. para síntesis del intermediario clave Cloroquinazolina, la cual por varios pasos de síntesis produce Tandutinib. **B**.

3.1.6. Sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (DBH)

Una de las áreas más estudiadas y desarrolladas de la química orgánica ha sido la química heterocíclica, debido a las propiedades químicas y biológicas promovidas por la presencia de heteroátomos en moléculas cíclicas. El sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano, descrito por primera vez en 1966, es estructuralmente equivalente a una piperazina (Figura 3.6 A), pero con equilibrio conformacional restringido; por un lado, la piperazina presenta dos tipos de inversiones, la inversión piramidal de los sustituyentes del nitrógeno (*inv.-N*) y la inversión del anillo (*inv.-Anillo*) (Figura 3.6A) El sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano no sufre la inversión del anillo, debido al puente de metileno que le confiere rigidez, aunque sigue presentando la inversión piramidal del nitrógeno, además de integrar dos centros estereogénicos (Figura 3.6B).³⁹ Esta propiedad abre un amplio campo de investigación, ya que existen diversos fármacos que contienen en su estructura a la piperazina; por lo que el desarrollo de análogos diazabicyclicos de estos fármacos podría contribuir al descubrimiento de nuevos compuestos con una mayor actividad o con menores efectos adversos.

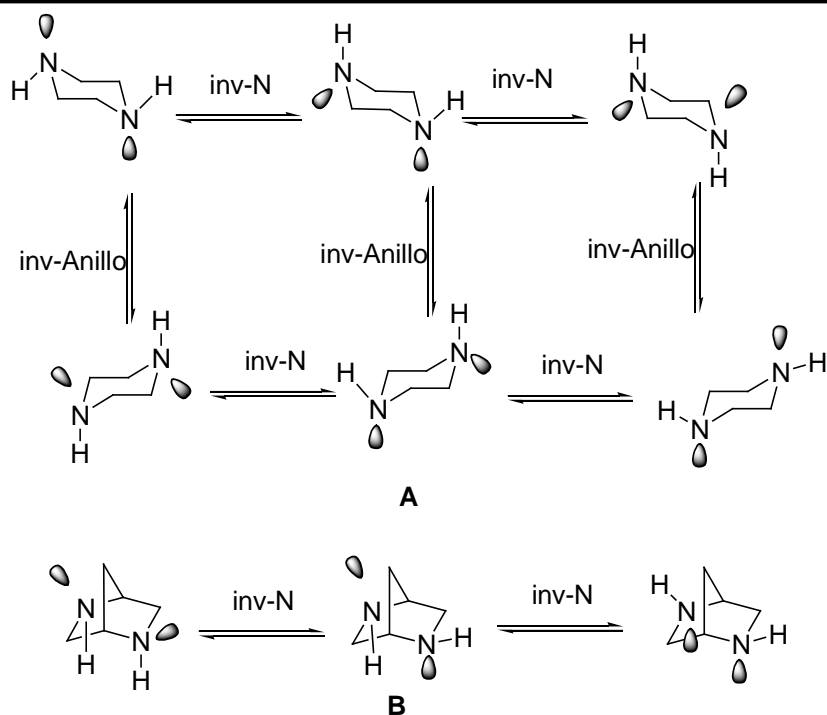


Figura 3.6. Equilibrio conformaciones de la **A)** piperazina y Equilibrio conformaciones del sistema **B)** (1S,4S)-2,5-diazabicyclo [2.2.1] heptano.

La importancia del nitrógeno como heteroátomo se debe a las interacciones de su par libre de electrones con los receptores biológicos. Por esta razón, los heterociclos nitrogenados representan más de 89% de los fármacos. Algunas de las aplicaciones del sistema diazabicyclo[2.2.1]heptano en la química medicinal, es como el homólogo de la piperazina. Algunos ejemplos destacados del intercambio de la piperazina por el sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano son aquellos que incluyen los antibióticos como la danofloxazina, que es administrado en medicina veterinaria (Figura 3.7).³⁵

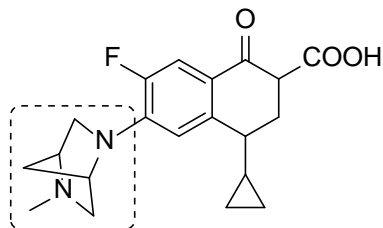


FIGURA 3.7. Estructura de la danofloxacin.



3.1.7. Fármacos híbridos

Durante el siglo pasado, el descubrimiento de nuevos fármacos fue realizado mediante búsqueda aleatoria, de ahí que su desarrollo fue limitado. En la actualidad, el descubrimiento de nuevos fármacos se lleva a cabo mediante la síntesis racional, que toma en cuenta la diana o sitio de acción. Dentro del diseño racional se encuentran los fármacos híbridos, que son la fusión de dos fármacos conocidos con el objetivo de ser usados en el tratamiento de dos padecimientos distintos, mejorar la selectividad o potenciar la actividad sobre un sitio de acción. Los fármacos híbridos se clasifican dependiendo de la manera en que están unidos entre sí. Dos fármacos pueden estar unidos de manera directa o a través de un espaciador o enlazador.⁹²

- *Fármacos híbridos enlazados de manera directa.* Se caracterizan por estar conectados mediante un grupo funcional, frecuentemente un grupo éster, amida o carbamato que puede ser hidrolizado enzimáticamente durante su metabolismo a los compuestos originales. Tal es el caso de la estramustina utilizada en el tratamiento de cáncer de prostata (Figura 3.8).
- *Fármacos híbridos unidos por un espaciador.* Dos fragmentos unidos mediante un fragmento espaciador, que puede ser o no hidrolizable química o enzimáticamente: Un ejemplo de estos híbridos es la NO-aspirina (Figura 3.8), que tiene el mismo efecto que la aspirina pero presenta un menor daño gástrico.⁹³
- *Fármacos híbridos fusionados o superpuestos.* Se obtienen por superposición estructural de dos fármacos o fragmentos de éstos. Se diferencian significativamente de los compuestos de los que provienen y mantienen las propiedades farmacofóricas .

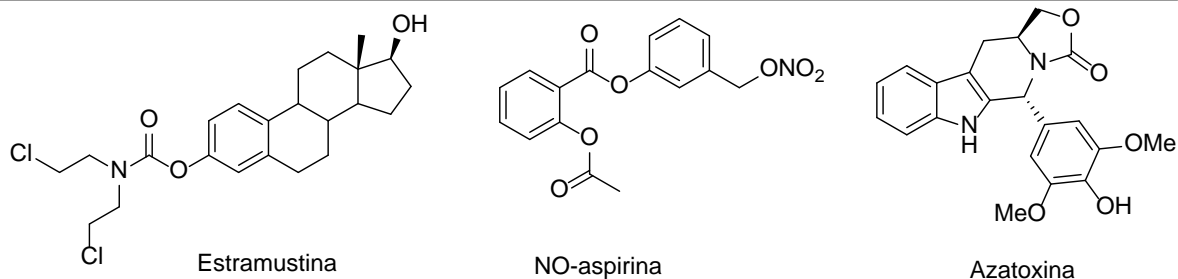


Figura 3.8. Ejemplos de compuestos híbridos con actividad biológica

3.2. OBJETIVO

Sintetizar un nuevo híbrido que incorpore fragmentos estructurales de Erlotinib y Tandutinib, que contenga como anillo central el sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (Figura 3.9).

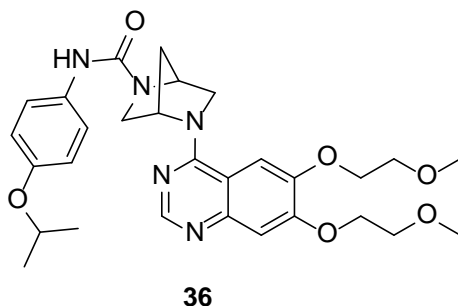


Figura 3.9. Estructura del Híbrido diazabicyclo de Erlotinib y Tandutinib **36** (la conformación del bicyclo mostrada en esta figura solo es para fines ilustrativos).

3.3. METODOLOGÍA

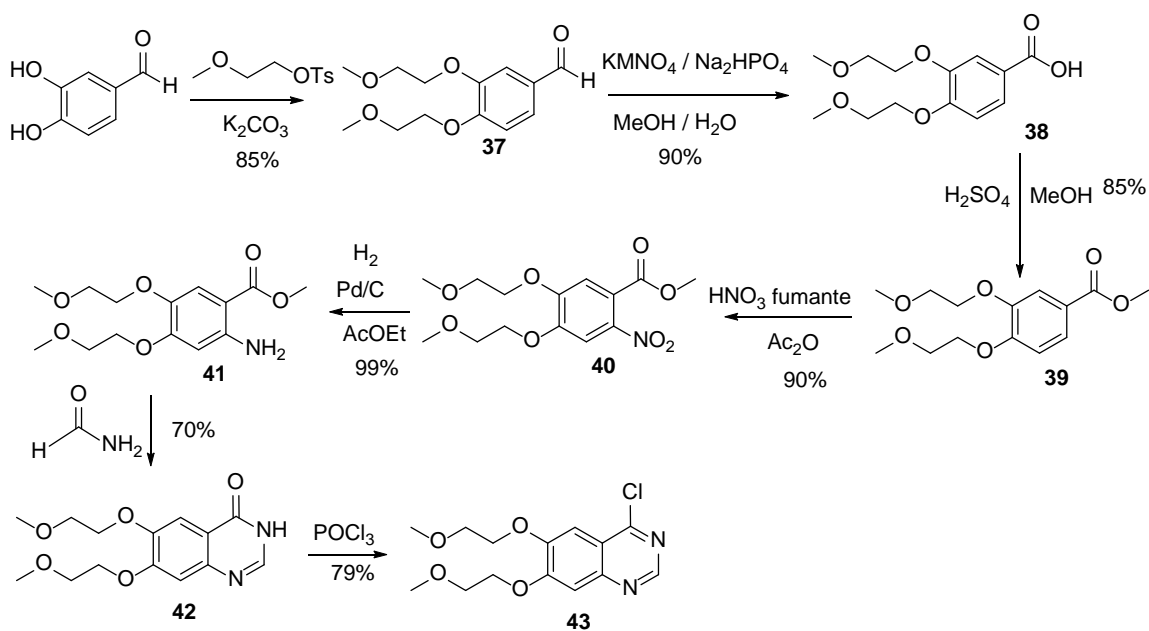
Los reactivos necesarios para la síntesis fueron adquiridos de Aldrich. Los disolventes empleados fueron grado reactivo. El curso de las reacciones se monitoreó por cromatografía en capa fina, empleando como fase estacionaria gel de sílice (cromatofolios ALUGRAM® SIL-G/UV254 Macherey-Nagel) y como reveladores radiación ultravioleta 254/366 nm y vapores de yodo. Para las columnas de cromatografía, se empleó como fase estacionaria gel de sílice de malla 230-400 (0.063 – 0.2 mm). Los productos se caracterizaron por espectroscopia de resonancia



magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , la cual se realizó en un equipo JEOL Eclipse a 300 y 400 MHz, empleando tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de masas fueron determinados en un equipo JEOL mod. JMS – SX102A.

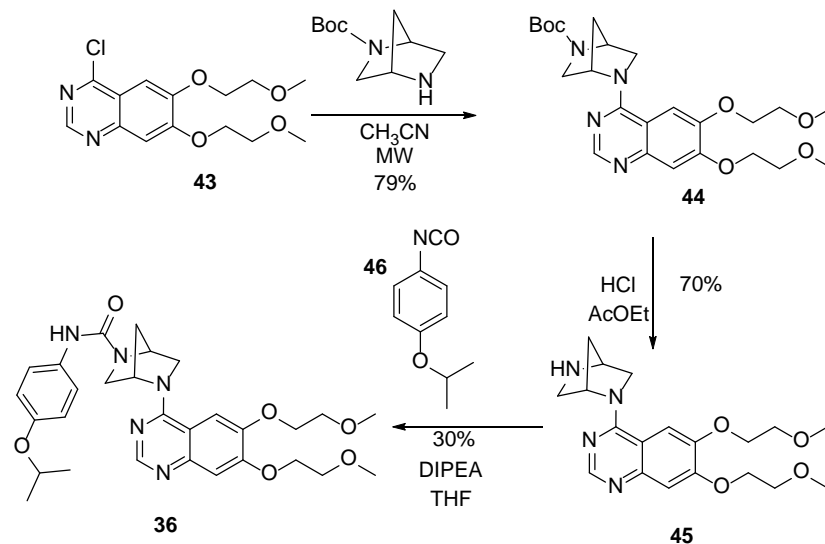
3.3.1. Síntesis general

Para la síntesis del híbrido de Erlotinib y Tandutinib se partió del 3,4-dihidroxibenzaldehído. Éste, mediante la reacción de eterificación de ambos fenoles empleando el 2-metoxietanol-4-metilbencensulfonato en acetona a reflujo en presencia de carbonato de potasio, produjo el compuesto **37**. Su posterior oxidación con permanganato de potasio permitió la obtención del ácido **38**, el cual se esterificó con metanol y ácido sulfúrico para producir el éster **39**. Posteriormente, se llevó a cabo la nitración para introducir el grupo nitro en la posición 2 del anillo aromático y obtener el compuesto **40**. Éste se hidrogenó en presencia de $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ para generar la amina **41**, que por posterior reacción con formamida produjo la quinazolinona **42**, que fue tratada con oxiclورو de fósforo para producir la cloroquinazolina **43** (Esquema 3.12).





Posteriormente, la cloroquinazolina **43** se hizo reaccionar con el (1*S*,4*S*)-2-terbutoxicarbonil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano en una reacción de sustitución nucleofílica aromática S_NA promovida por microondas como fuente de calor, posteriormente se realizó la remoción del Boc para finalmente hacer reaccionar el compuesto **45** con el isocianato **46** para generar el híbrido **36** (Esquema 3.13).



Esquema 3.13. Ruta sintética para el híbrido de Erlotinib y Tandutinib

3.3.1.1. Preparación del 3,4-bis(2-metoxietoxi)benzaldehído (**37**)

En un matraz de 250 mL provisto con agitación magnética se suspendieron 2.04 g (14.76 mmol) de 3,4-dihidroxibenzaldehído, 6.82g (29.62 mol) de 4-metilbencensulfonato de 2-metoxietilo y 8.74g (59.07 mmol) de carbonato de potasio en 70 mL de acetona,. Esta mezcla se calentó a reflujo durante 24 horas, verificado el término de la reacción por CCF (cromatografía en capa fina). La mezcla fue filtrada y el sólido obtenido se lavó con 20 mL de acetona. El filtrado fue evaporado a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía en columna (20 partes de sílice y como fase móvil heptano-acetato de etilo (8:2) obteniendo 2.05 g del compuesto **37** con un rendimiento de 85%.



3.3.1.2. Preparación del ácido 3,4-bis(2-metoxietoxi)benzoico (**38**)

En un matraz 250 mL provisto con agitación magnética se disolvieron 2 g (7.04 mmol) del compuesto (**37**) en 100 mL de metanol y se adicionó una solución de 2 g (5.58 mmol) de bifosfato de sodio en 100 mL de agua y posteriormente se adicionaron lentamente 1.2 g (7.59 mmol) de permanganato de potasio; la mezcla se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente, verificando el término de la reacción por CCF. La mezcla se filtró sobre Celita, se lavó con 20 mL de agua y el filtrado se acidificó hasta pH 2; el sólido obtenido se filtró y se lavó con 10 mL de agua, se secó hasta peso constante, obteniendo 1.7 g del compuesto **38** con un rendimiento de 90%.

3.3.1.3. Preparación del 3,4-bis(2-metoxietoxi)benzoato de metilo. (**39**)

En un matraz provisto con agitación magnética se disolvieron 1.5 g (6.23 mmol) de **38**, 0.5 mL (6.23 mmol) de ácido sulfúrico en 15 mL de metanol y se calentó a reflujo durante 48 h, verificando el término de la reacción por CCF. Se enfrió a 25°C, se neutralizó con NaHCO₃. La suspensión resultante se filtró, el sólido se lavó con 10 mL de metanol y el filtrado se concentró a sequedad, obteniendo 1.7 g del éster **39** con un rendimiento de 85%.

3.3.1.4. Preparación del metil 4,5-bis(2-metoxietoxi)-2-nitrobenzoato (**40**)

En un matraz provisto con agitación magnética se disolvieron 1.7 g (7.75 mmol) del compuesto **39**, en 2.95 mL de anhídrido acético, en un baño de hielo. A la mezcla se adicionaron 158 µL (5 mmol) de ácido nítrico fumante, dejando agitar durante 10 minutos. Posteriormente se calentó a 70°C durante 48 horas, verificando el término de la reacción mediante CCF. La mezcla se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio, observando la formación de un precipitado el cual se filtró y se secó hasta peso constante, obteniendo 1.6 g del nitroéster **40** con un rendimiento de 90%.



3.3.1.5. Preparación del 2-amino-4,5-(2-metoxietoxi) benzoato de metilo (**41**)

En un frasco de hidrogenación de 250 mL se disolvieron 1.6 g (4.85 mmol) del nitroéster **40**, en 50 mL de metanol, se agregaron 75 mg de Pd(OH)₂/C al 20%. Se hidrogenó a 60 psi, hasta consumo total de hidrógeno, se verificó el término de la reacción por CCF. La mezcla se filtró sobre Celita y se concentró a sequedad, obteniendo 1.9 g del aminoéster **41** con un rendimiento de 99%.

3.3.1.6. Preparación de la 6,7-bis-(2-metoxietoxi)-quinazolin-4(3H)-ona (**42**)

En un matraz provisto con agitación magnética se disolvieron 1.9 g (6.34 mmol) del aminoéster **41** con 3.3 g (31.73 mmol) de formamida, se calentó a 120°C, durante 2 días verificando el curso de reacción mediante CCF. La mezcla se vertió sobre 100 g agua y se extrajo con diclorometano (5 x 30 mL) La fase orgánica se concentró a sequedad y posteriormente se recristalizó de acetato de etilo, obteniendo 1 g de la quinazolona **42** con un rendimiento del 70%

3.3.1.7. Preparación de 4-cloro-6,7-(2-metoxietoxi)quinazolinona (**43**)

En matraz provisto con agitación magnética se disolvió 1g (4.01 mmol) de la quinazolinona **42**, en 2.5 mL (4.0112 mmol) de oxiclورو de fosforo. La mezcla se calentó a 70°C durante 3 horas, siguiendo el curso de la reacción por CCF. Al término de la reacción se vertió en 10 g de hielo, se adicionó hidróxido de amonio hasta pH 11 y se extrajo con diclorometano (3 x 30 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró hasta sequedad obteniendo 700 mg de la cloroquinazolona **43** con un rendimiento de 79%.

3.3.1.8. Preparación de ter-butil (1*S*,4*S*)-2-terbutoxicarbonil-5-(6,7-bis-(2-metoxietoxi)quinazolin-4-il)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-carboxilato (**44**)

En un tubo de teflón del equipo de microondas se disolvieron 938 mg (3 mmol) compuesto **43**, 785 μL (4.5 mmol) *N,N*-diisopropiletilamina, 1g (3 mmol) del (1*S*,4*S*)-2-terbutoxicarbonil-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano, en 20 mL de dimetilformamida esta mezcla se calentó a 130°C durante 80 min verificando el



término de la reacción mediante CCF 8:2 (AcOEt:MeOH). La mezcla de reacción fue vertida en 100 mL de salmuera y se extrajo con diclorometano (3 x 60 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró hasta sequedad, obteniendo 2.10 g de producto crudo, el cual se purificó por cromatografía en columna (AcOEt: Hexano 1:1 en 20 partes sílice) y se recristalizó de Éter: Hexano (1:1) obteniendo 800 mg del compuesto **44** con un rendimiento de 79%.

3.3.1.9. Preparación de 2-((**1S,4S**)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano)-6,7-bis-(2-metoxietoxi) quinazolina (**45**)

En un matraz bola con agitación magnética se agregaron 800 mg del compuesto, **44**, 8 mL de una solución de HCl en AcOEt al 3% y se dejó agitar a temperatura ambiente por 24 horas; se verificó el término de la reacción por CCF (DCM: MeOH: NH₄OH (9:1:1)). Se agregó una solución de NH₄OH hasta pH 11 y, se filtraron las sales. Se lavó con diclorometano (3 x 5mL), se concentró hasta sequedad y se recristalizó de acetona obteniendo 700 mg del compuesto **45** con un rendimiento del 70%.

3.3.1.10. Preparación de (1S, 4S)-5-(6,7-bis-(2metoxietoxi)-quinazolin-4-il)-N-(4-isopropoxifenil)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano-2-(4-isopropoxi)carboximida (**36**).

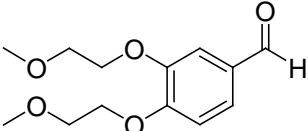
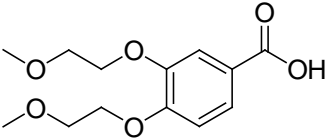
En un matraz bola provisto con agitación magnética se disolvieron 700 mg (3.30 mol) del compuesto **45** en 20 mL de THF. Desde un embudo de adición se agregó lentamente una mezcla de 500 mg (3.30 mmol) de isocianato (**46**) y 1.98 mL (14.19 mol) DIPEA. Terminada la adición, se dejó a 80°C durante otras 17 horas; al cabo de este tiempo, se verificó el término de la reacción por CCF empleando como fase móvil AcOEt. Se concentró hasta sequedad, se purificó por cromatografía en columna de 20 partes de sílice fase 8:2 (AcOEt: MeOH), se obtuvieron 300 mg del compuesto **36** con un rendimiento de 30%.

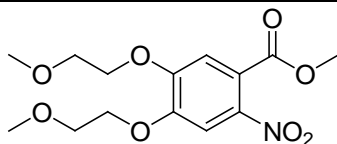


3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos por cada uno de los compuestos obtenidos .

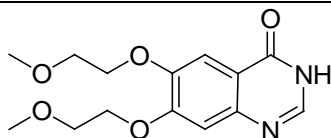
Tabla 3.2. Propiedades de los compuestos

 <chem>CCOCOC1=CC=C(C=C1)C=O</chem>
Líquido ligeramente amarillo. RMN¹H(300 MHz) δ (ppm): 3.42(s,6H), 3.77(m, 4H), 4.18(m, 4H), 6.96(d, 1H, J = 12 Hz), 7.4(m, 2H,), 9.79(s, 1H). RMN ¹³C(300 MHz) δ (ppm): 59.1, 59.2, 111.7,112.46, 126.7, 130.2, 149.1,154.3, 190.8
 <chem>CCOCOC1=CC=C(C=C1)C(=O)O</chem>
Sólido Blanco P.f. 177-180°C RMN ¹H(300 MHz) δ (ppm): 3.46(s,3H), 3.47(s, 3H), 3.81(m, 4H), 4.22(m, 4H), 6.92-6.94(d, 1H J=8.7 Hz), 7.62-7.63(d, 1H J= 1.8Hz), 7.72-7.75 (dd, 1H J= 2.1, 8.4 Hz),10.94(b,1H). RMN ¹³C(300 MHz) δ (ppm): 59.14, 59.20, 68.38, 68.61, 70.67, 70.79, 112.45, 115.13, 122.08, 124.81, 148.20, 153.51, 171.42.



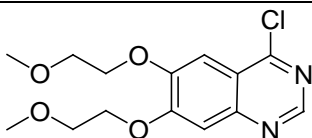
Líquido ligeramente amarillo

RMN¹H(200 MHz) δ (ppm):3.40(s, 6H), 3.74-3.78(m, 4H), 3.85(s, 3H), 4.17(m, 4H)



Sólido ligeramente amarillo

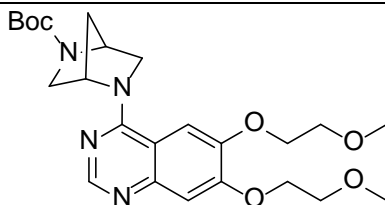
Pf. 200-203 °C



Sólido Blanco

P.f. 215-220° C

RMN¹H(300 MHz) δ (ppm): 3.38(s, 6H),3.72-3.75 (m, 4H), 4.16-4.18(m, 4H), 7.05(s, 1H), 7.43(s, 1H)



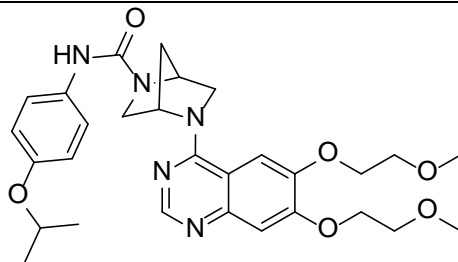
Líquido viscoso ligeramente amarillo

RMN¹H(300 MHz) δ (ppm): 1.41-1.45 (d, 9H), 1.82-2.00(m,2H), 2.13-2.17(m, 1H), 3.47(s, 7H), 3.61-3.64(d, 1H J= 10.5 Hz), 3.70-3.72(m, 1H), 3.80-3.89(m, 5H), 4.14-4.15(d, 1H J=8.4), 4.21-4.29(m; 4H), 4.57(d, 1H J=42.9), 5.18-5.3(m, 1H), 7.2(s, 1H), 7.4(s,1H), 8.49(s, 1H).

RMN ¹³C(300 MHz) δ (ppm): 28.18, 28.53, 36.08, 36.79, 52.68, 56.89, 57.63, 59.43, 59.98, 67.0, 69.0, 70.0, 71.0, 107.25, 107.98, 108.68, 110.42, 147.18,



147.33, 149.14, 153.37, 154.08, 154.26, 159.36.



Sólido Blanco

Pf. 235-237 °C

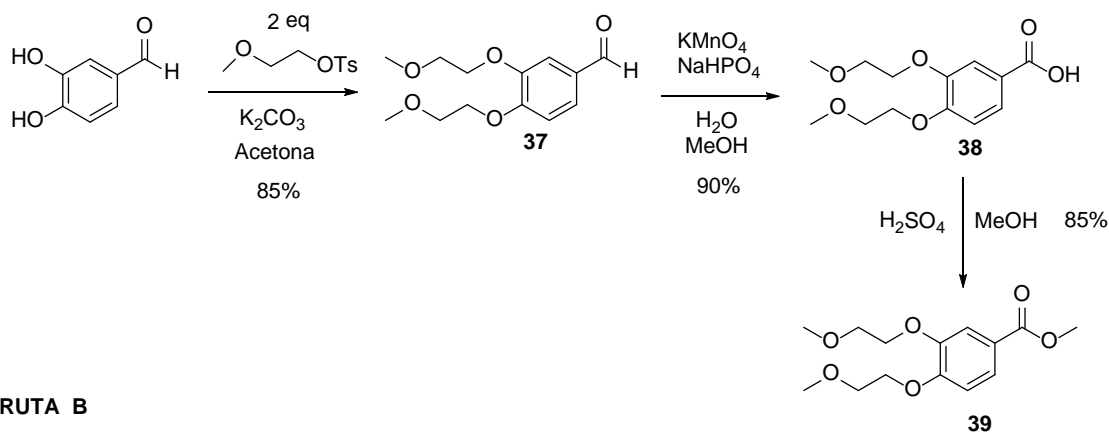
RMN¹H(300 MHz) δ (ppm): 8.49 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.18 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.44 (h, 1H), 4.30 – 4.11 (m, 6H), 3.97 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.87 – 3.74 (m, 6H), 3.62 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H), 3.46 (s, 6H), 2.18 – 1.93 (m, 2H), 1.28 (d, $J = 6.1$ Hz, 6H).

RMN ¹³C(300 MHz) δ (ppm): 162.35, 159.40, 154.36, 154.11, 154.02, 153.08, 149.03, 147.33, 131.64, 122.08, 116.52, 110.45, 108.53, 106.90, 71.20, 70.53, 70.44, 69.36, 68.17, 60.20, 59.66, 59.34, 59.29, 57.09, 52.19, 36.05, 22.10.

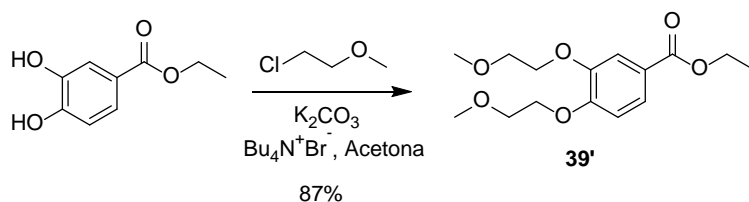
Para la síntesis del éster **39**, Knesl y col.⁹⁴ usaron el 3,4-dihidrobenzoato de etilo como material de partida para la síntesis de la quinazolinona **43**; sin embargo, para este trabajo se partió del 3,4-dihidrobenzaldehído disponible en el laboratorio, el cual, por reacción de Williamsom se introdujo las cadenas de 2-metoxietilo a los fenoles usando el 4-metil-benzensulfonato de 2-metoxietilo preparado previamente. La posterior oxidación de **37** con permanganato de potasio produjo el ácido **38** que por esterificación con metanol en medio ácido generó el éster metílico **39** necesario para la síntesis de los compuestos planteados, obteniendo rendimientos aceptables comparados con los que reportan Knesl y col.⁹⁴ (Esquema 3.14).



RUTA A

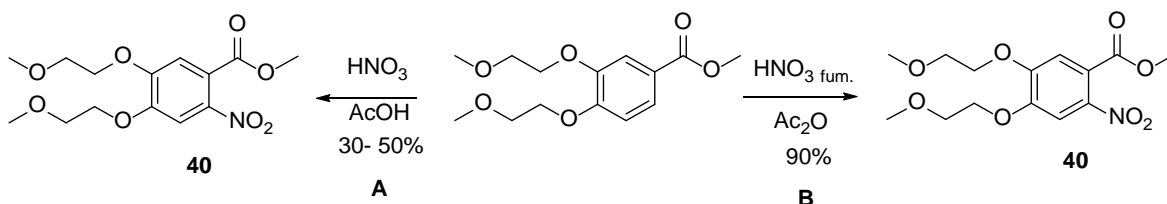


RUTA B



Esquema 3.14. Ruta A: Síntesis desarrollada en el presente trabajo, **Ruta B:** Síntesis reportada por Knesl y col.⁹⁴

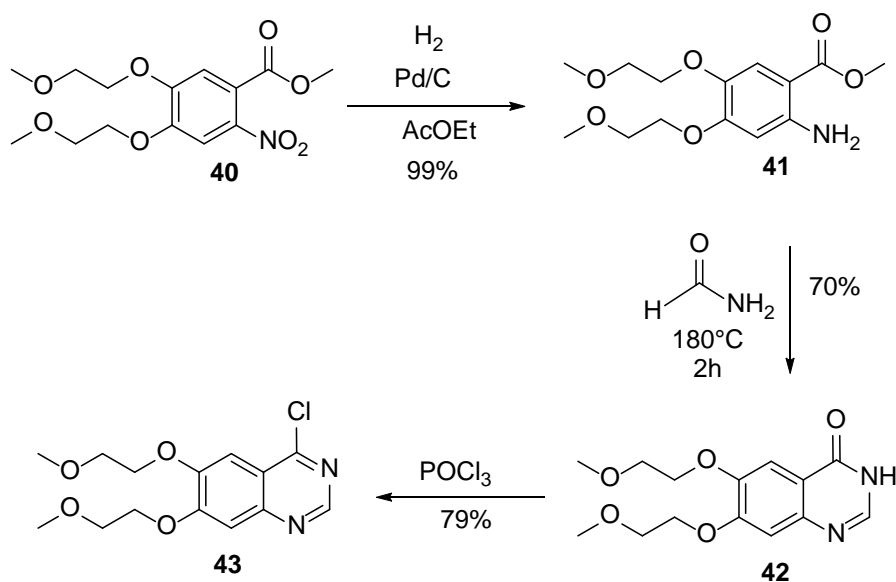
Una vez obtenido **39**, se realizaron diversas pruebas para la nitración en la posición 2 del anillo aromático, ya que al reproducir las condiciones publicadas (Esquema 3.15 Ruta A) se obtuvieron bajos rendimientos, además de mezclas complejas de reacción que dificultaron su purificación. Se encontró que las condiciones que permitieron obtener **40** con buenos rendimientos fueron el uso de la mezcla de ácido nítrico fumante en anhídrido acético a 60°C (Esquema 3.15 Ruta B). Además, una vez verificado el término de la reacción, fue vertida en agua y neutralizada rápidamente con $NaHCO_3$, lo que permitió aislar el nitroéster **40** fácilmente. (Esquema 3.15).



Esquema 3.15. A) Síntesis reportada por Knesl y col.⁹⁴, **B)** Síntesis desarrollada en este trabajo.

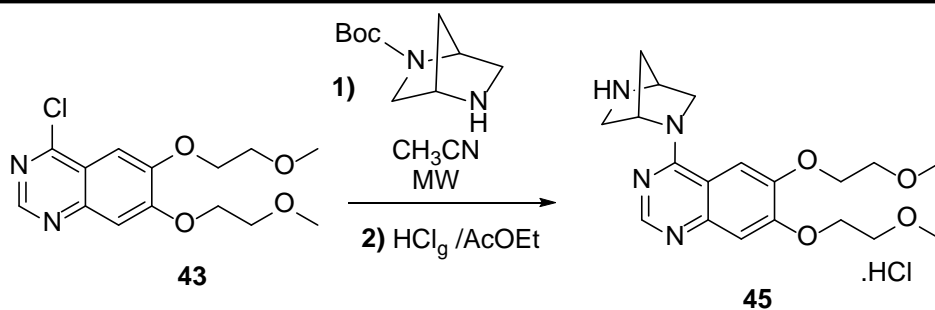


Posteriormente se realizó una reducción del grupo nitro mediante hidrogenación empleando Pd/C al 5% para obtener **41** y tomando en cuenta que este tipo de aminas tienden a oxidarse rápidamente, se realizó la ciclación con formamida de manera inmediata, obteniendo de esta manera un rendimiento considerable de la quinazolinona **42**, la cual por medio de una cloración con oxiclórico de fósforo a 120°C permitió obtener la cloroquinazolina **43**. (Esquema 3.16)



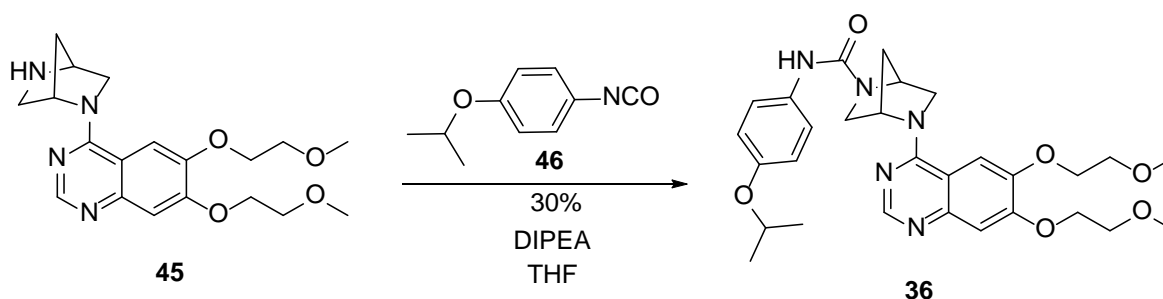
Esquema 3.16. Obtención de quinazolina **43**.

La sustitución del cloro de la quinazolina **43**, por el sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano (Esquema 3.17) se intentó en un principio empleando calentamiento convencional; sin embargo, se obtuvieron bajos rendimientos y mezclas complejas de reacción. Por este motivo, se empleó una metodología a base de microondas como fuente de calentamiento, con lo que se logró mejorar los rendimientos y disminuir la proporción de productos colaterales para llegar así a la obtención de **44**, el cual, por posterior desprotección con cloruro de hidrógeno, permitió obtener la quinazolina **45**.



Esquema 3.17. Introducción del (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano a la cloroquinazolina **43**.

Finalmente la quinazolina **45** se hizo reaccionar con el isocianato **46**, lo que permitió la formación del producto esperado **36** (Esquema 3.17). Sin embargo en los diversos experimentos los rendimientos fueron mayores al 30 %.



Esquema 3.18. Síntesis del Híbrido **36**.

La caracterización del híbrido **36** se realizó mediante RMN ¹H, RMN¹³C con ayuda de los experimentos en dos dimensiones HETCOR y COSY, donde se asignaron las señales correspondientes al sistema bicíclico, la quinazolinona, y las cadenas alifáticas como se muestra en la Figura 3.10

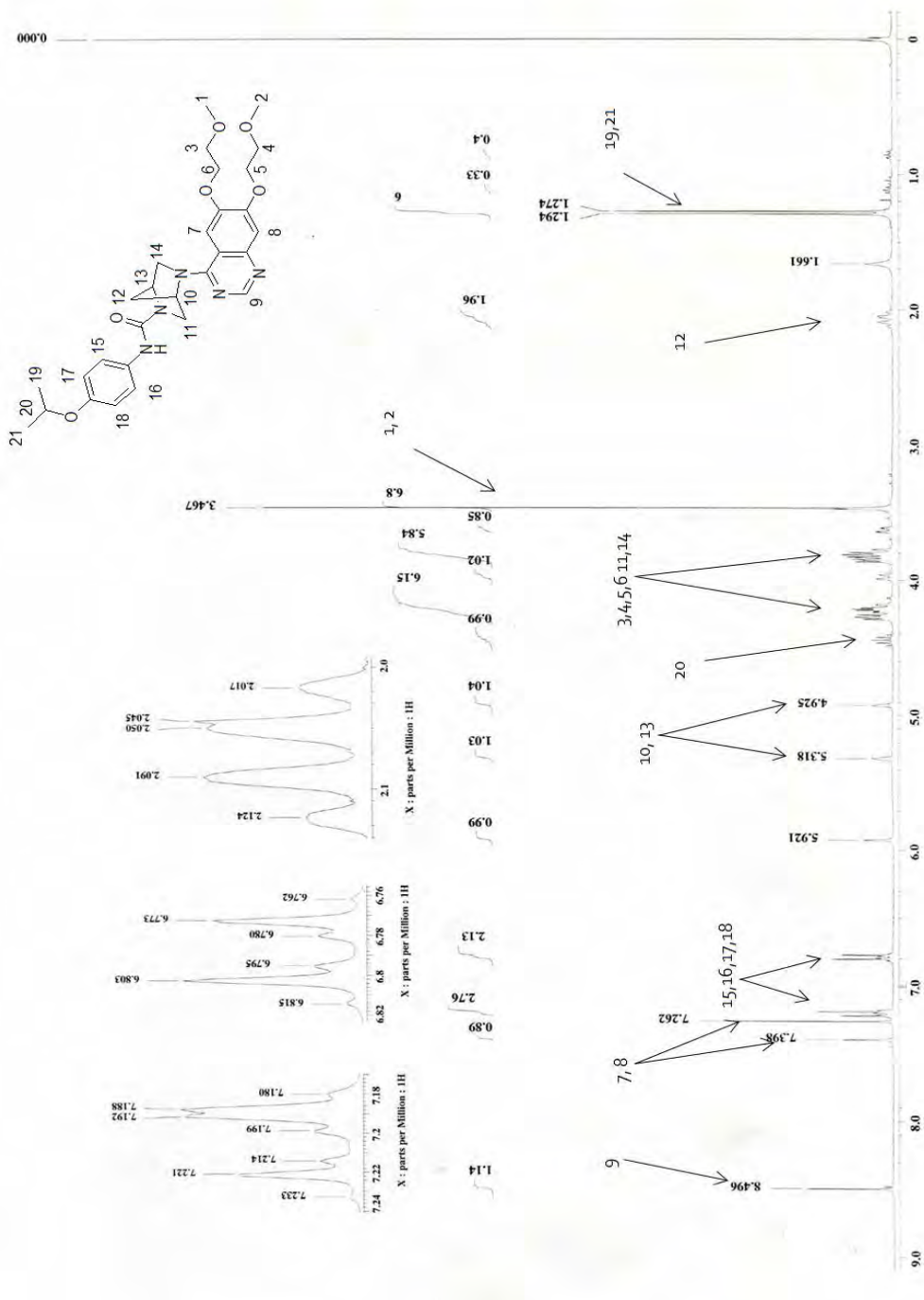


Figura 3.10. Espectro de RMN ^1H del híbrido 36.



Para mejorar la solubilidad del compuesto **36** y facilitar su estudio farmacológico, se preparó su correspondiente tartrato, que se envió para su evaluación farmacológica en diversas líneas celulares encontrando que el híbrido **36** muestra menor actividad antiproliferativa en comparación con el erlotinib (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Resultados de los ensayos preliminares en diversas líneas celulares.

Linea Celular	Erlotinib	Híbrido
	IC50 uM	IC50 uM
Leucemia mieloide U937	7.98	28.65
Leucemia mieloide crónica K562	13.01	31.55
Leucemia mieloide aguda HL60	15.77	32.73
Leucemia macrofágica aguda J774	53.05	69.32
Cáncer de mama MC7	67.88	84.65
Cáncer de pulmón A549	8.8	137.31

3.5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que un híbrido obtenido al reemplazar al anillo de piperazina en la estructura del Tandutinib por el sistema (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptano e introducir un fragmento de Erlotinib, conduce a un compuesto que mantiene la actividad anticancerígena de ambos fármacos, pero una baja actividad en líneas celulares de cáncer de pulmón. Sin embargo, este nuevo compuesto mostró mayor actividad en otras líneas celulares.



REFERENCIAS

- ¹ Stinson, S.C; Chiral drugs; Chem. Eng. News, **2000**, 78 , 79.
- ² Juaristi, E.; Organocatalizadores quirales y su aplicación en síntesis asimétrica *Educ. quím.*, **2011**, 22(1), 12-14.
- ³ MacMillan D. W. C. The advent and development of organocatalysis; Nature **2008**, 455,304-308.
- ⁴ Prins, L. J.; Reinhoudt, D. N.; Timmerman, P.; Noncovalent Synthesis Using Hydrogen Bonding; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2382 – 2426.
- ⁵ Huggins, M. L.; Hydrogen Bridges In Organic Compounds; *J. Org. Chem.*, 1936, 01 (5), 407–456.
- ⁶ Etter, M.C.; Panuto, T. W.; 1,3-Bis(m-nitrophenyl)urea: an exceptionally good complexing agent for proton acceptors; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5896-5897.
- ⁷ Curran, D. P.; Kuo, L. H.; Altering the Stereochemistry of Allylation Reactions of Cyclic .alpha.-Sulfinyl Radicals with Diarylureas; *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3259–3261.
- ⁸ Wittkopp, A.; Schreiner, P. R.; Metal-Free, Noncovalent Catalysis of Diels – Alder Reactions by Neutral Hydrogen Bond Donors in Organic Solvents and in Water; *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 2 407-414.
- ⁹ Sigman, M. S.; Jacobsen E. N.; Schiff Base Catalysts for the Asymmetric Strecker Reaction Identified and Optimized from Parallel Synthetic Libraries; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120,4901-4902.
- ¹⁰ Raheem, I. T.; Jacobsen, E. N.; Highly Enantioselective Aza-Baylis–Hillman Reactions Catalyzed by Chiral Thiourea Derivatives; *Adv. Synth. Catal.* **2005**, 347, 1701 – 1708.
- ¹¹ Wenzel, A. G.; Jacobsen, E. N.; Asymmetric Catalytic Mannich Reactions Catalyzed by Urea Derivatives: Enantioselective Synthesis of β -Aryl- β -Amino Acids; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 12964-12965
- ¹² Okino, T.; Hoashi, Y.; Takemoto, Y.; Enantioselective Michael Reaction of Malonates to Nitroolefins Catalyzed by Bifunctional Organocatalysts; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 42, 12672-12673.
- ¹³ Berner, M. O.; Tedeschi, L.; Enders, D.; Asymmetric Michael Additions to Nitroalkenes; *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 1877-1894
- ¹⁴ Huang, H.; Jacobsen, E. N.; Highly Enantioselective Direct Conjugate Addition of Ketones to Nitroalkenes Promoted by A Chiral Primary Amine–Thiourea Catalyst; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7170-7171
- ¹⁵ Tsogoeva, S. B.; Wei, S.; Highly enantioselective addition of ketones to nitroolefins catalyzed by new thiourea–aminebifunctional organocatalysts; *Chem. Commun.*, **2006**, 1451–1453
- ¹⁶ Masson, G.; Housseman, C.; Zhu, J.; The enantioselective Morita-Baylis-Hillman reaction and its aza counterpart; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 4614 – 4628
- ¹⁷ Sohtome, Y.; Tanatani, A.; Hashimoto, Y.; Nagasawa, K.; Development of bis-thiourea-type organocatalyst for asymmetric Baylis–Hillman reaction; *Tet. Lett.* **2004**, 45, 5589–5592
- ¹⁸ Wang, J.; Li, H.; Yu, X.; Zu, L.; Wang W.; Chiral Binaphthyl-Derived Amine-Thiourea Organocatalyst-Promoted Asymmetric Morita–Baylis–Hillman Reaction; *Org. Lett.*; **2005**, 7 19, 4293–4296.
- ¹⁹ Taquemoto, Y.; Development of Chiral Thiourea Catalysts and Its Application to Asymmetric Catalytic Reactions; *Chem. Pharm. Bull.*, **2010**, 58,5, 593-601



- ²⁰ Boruwa, J.; Gogoi, N.; Saikia, P. P.; Barua, N. C.; Catalytic asymmetric Henry reaction; *Tet. Asymm.*, **2006**, *17*, 3315–3326
- ²¹ Palomo, C.; Oiarbide, M.; Laso, A.; Recent Advances in the Catalytic Asymmetric Nitroaldol (Henry) Reaction; *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 2561–2574
- ²² Sohtome, Y.; Hashimoto, Y.; Nagasawa, K.; Guanidine-Thiourea Bifunctional Organocatalyst for the Asymmetric Henry (Nitroaldol) Reaction; **2005**, *Adv. Synth. Catal.*, *347*, 1643-1648
- ²³ Sohtome, Y.; Hashimoto, Y.; Nagasawa, K.; Diastereoselective and Enantioselective Henry (Nitroaldol) Reaction Utilizing a Guanidine-Thiourea Bifunctional Organocatalyst.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 2894–2897
- ²⁴ Portuguese, P.; Mikhail, A.; Bicyclic Bases. Synthesis of 2,5-Diazabicyclo[2.2.1]heptanes; *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*; 1059-1052.
- ²⁵ Wang, X.; Berger, D.M.; Salaski, E.J.; Torres, N.; Hu, Y.; Levin, J.I.; Powell D., Wojciechowicz D., Collins K., Frommer E.; Discovery of highly potent and selective type I B-Raf kinase inhibitors; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, 6571-6574.
- ²⁶ Wang, X.; Berger, D.M.; Salaski, E.J.; Torres, N.; Dutia, M., Hanna C., Hu Y., Levin J. I., Powell D., Wojciechowicz D., Collins K., Frommer E., Lucas J.; Indazolyipyrazolopyrimidine as Highly Potent B-Raf Inhibitors with in Vivo Activity; *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 7874-7878.
- ²⁷ Hamblett, C.L.; Methot, J.L.; Mampreian, D.M.; Sloman, D.L.; Stanton, M.G.; Kral, A.M.; Fleming, J.C.; Cruz, J.C.; Chenard, M.; Ozerova, N.; Hitz, A.M.; Wang, H.; Deshmukh, S.V.; Nazef, N.; Harsch, A.; Hughes, B.; Dahlberg, W.K.; Szewczak, A.A.; Middleton, R.E.; Mosley, R.T.; Secrist, J.P.; Miller, T.A.; The discovery of 6-amino nicotinamides as potent and selective histone deacetylase inhibitors.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 5300-5309.
- ²⁸ Penning, T.D.; Chandrakumar, N.S.; Chen, B.B.; Chen, H.Y.; Desai, B.N.; Djuric, S.W.; Docter, S.H.; Gasielki, A.F.; Haack, R.A.; Miyashiro, J.M.; Russell, M.A.; Yu, S.S.; Corley, D.G.; Durley, R.C.; Kilpatrick, B.F.; Parnas, B.L.; Askonas, L.J.; Gierse, J.K.; Harding, E.I.; Highkin, M.K.; Kachur, J.F.; Kim, S.H.; Krivi, G.G.; Villani-Price, D.; Pyla, E.Y.; Smith, W.G.; Structure–Activity Relationship Studies on 1-[2-(4-Phenylphenoxy)ethyl]pyrrolidine (SC-22716), a Potent Inhibitor of Leukotriene A₄ (LTA₄) Hydrolase.; *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 721-735.
- ²⁹ Ye, B.; Bauman, J.; Chen, M.; Davey, D.; Khim, S.K.; King, B.; Kirkland, T.; Kochanny, M.; Liang, A.; Lentz, D.; May, K.; Mendoza, L.; Phillips, G.; Selchau, V.; Schlyer, S.; Tseng, J.L.; Wei, R.G.; Ye, H.; Parkinson, J.; Guilford, W.J.; Synthesis of *N*-alkyl glycine amides as potent inhibitors of leukotriene A₄ hydrolase.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 14, 3891-3894.
- ³⁰ Buckley, G.M.; Fosbeary, R.; Fraser, J.L.; Gowers, L.; Higuero, A.P.; James, L.A.; Jenkins, K.; Mack, S.R.; Morgan, T.; Parry, D.M.; Pitt, W.R.; Rausch, O.; Richard, M.D.; Sabin, V. IRAK-4 inhibitors. Part III: A series of imidazo[1,2-*a*]pyridines.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 3656-3660.
- ³¹ Toma, L.; Quadrelli, P.; Bunnelle, W.H.; Anderson, D.J.; Meyer, M.D.; Cignarella, G.; Gelain, A.; Barlocco, D.; 6-Chloropyridazin-3-yl Derivatives Active as Nicotinic Agents: Synthesis, Binding, and Modeling Studies.; *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 4011- 4017.
- ³² López-Ortíz, M.; Herrera-Solís, A.; Luviano-Jardón, A.; Reyes-Prieto, N.; Castillo, I.; Monsalvo, I.; Demare, P.; Méndez-Díaz, M.; Regla, I.; Prospéro-García, O.; Chemoenzymatic synthesis and cannabinoid activity of a new diazabicyclic amide of phenylacetylricinoleic acid.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, *20*, 11, 3231-3234.
- ³³ Wroblowski, B.; Wigglesworth, M.J.; Szekeres, P.G.; Smith, G.D.; Rahman, S.S.; Nicholson, N.H.; Muir, A. I.; Hall, A.; Heer, J.P.; Garland, S.L.; Coates, W.J; The Discovery of a Selective, Small Molecule Agonist for the Mas-Related Gene X1 Receptor.; *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 818-825.
- ³⁴ Jordis; U.; Sauter, F.; Siddiqi, S. M.; Küenburg, B.; Bhattacharya, K.; Synthesis of (1*R*,4*R*)- and



(1*S*,4*S*)-2,5-Diazabicyclo[2.2.1]heptanes and Their *N*-Substituted Derivatives; *Synthesis*, **1990**, 925-930.

³⁵ Bouzard, D.; Di Cesare, P.; Essiz, M.; Jacquet, J. P.; Kiechel, J. P.; Remuzon, P.; Weber, A.; Oki, T.; Masuyoshi, M.; Fluoronaphthyridines and quinolones as antibacterial agents. 2. Synthesis and structure-activity relationships of new 1-tert-butyl 7-substituted derivatives.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1344-1352.

³⁶ Beinat, C.; Banister, S. D.; McErlean, C. S. P.; Kassiou, M.; A practical synthesis of (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptanes.; *Tetrahedron Letters*, **2013**, *54*, 5345–5347

³⁷ Jordis, U.; Kesselgruber, M.; Nerdinger, S.; Mereiter, K.; New 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptanes and their application in the asymmetric addition of diethylzinc to benzaldehyde.; *Mendeleev Commun.*, **1999**, *9*, 4, 147–148

³⁸ Jordis, U.; Kesselgruber, M.; Nerdinger, S.; New C-substituted (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane derivatives. Preparation utilizing the directed metalation strategy. Application in enantioselective catalysis.; *Arkivoc* **2001**, *2*, 69-81

³⁹ Melgar-Fernández, R.; González-Olvera, R.; Olivares-Romero, L.; González-López, V.; Romero-Ponce, L.; Ramírez-Zárata, R.; Demare, P.; Regla, I.; Juaristi E.; Synthesis of Novel Derivatives of (1*S*, 4*S*)-2,5-Diazabicyclo [2.2.1] heptane and their Evaluation as Potential Ligands in Asymmetric Catalysis.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, (*4*); 655-672.

⁴⁰ Kotke, M., Schreiner P., R.; Generally Applicable Organocatalytic Tetrahydropyranlation of Hydroxy Functionalities with Very Low Catalyst Loading.; *Synthesis*, **2007**, *5*, 779-790.

⁴¹ Pu, X. ; Peng, F. ; Zhang, H. ; Shao, Z.; Doubly stereocontrolled asymmetric conjugate addition of acetylacetone to nitroolefins catalyzed by bifunctional tertiary amine–thiourea catalysts derived from both acyclic α -amino acids and carbohydrates.; *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 21, 3655-3661.

⁴² Zuend, S. ; Coughlin M., Lalonde M., Jacobsen E. ; Scaleable catalytic asymmetric Strecker syntheses of unnatural α -amino acids.; *Nature*, **2009**, *461*, 968-970.

⁴³ Kowalczyk, R. ; Skarzewski, J.; Asymmetric nitroaldol reaction catalyzed by copper–diamine complexes: selective construction of two contiguous stereogenic centers.; *Tetrahedron Asymmetry*, **2009**, *20*, 2467-2473.

⁴⁴ Selvakumar, S.; Sivasankaran, D.; Singh, V. K.; Enantioselective Henry reaction catalyzed by C₂-symmetric chiral diamine–copper(II) complex.; *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 3156-3162.

⁴⁵ Halabe, J.; Lifshitz, A.; Lopez, B.; Ramiro, M.; *El internista, medicina interna para internistas*. 1^{ra} ed., México, McGraw-Hill, **1997**; 258-264

⁴⁶ Feltes, R.; *Manual CTO de medicina y cirugía*. 7^{ta} ed., España, McGraw-Hill, **2007**; 62-69.

⁴⁷ Arribas, B.; Gabriel, R.; *Cardiovascular Risk Factors*, **2000**, *9*(4); 258-262.

⁴⁸ Naranjo G. *Revista diabetes mellitus*, Universal, Noviembre **2006**; consulta en línea 06 de Julio de 2016: <http://mellitmagazines.blogspot.com/2006/11/prevn-aumento-de-casos-de-cardiopata.html>.

⁴⁹ Halabe, J.; Lifshitz, A.; Lopez B, Ramiro, M.; *El internista, medicina interna para internistas*. 1^{ra} ed., México, McGraw-Hill, **1997**; 258-264 pp.

⁵⁰ Abrams, J.; Jones, A.; Kirkpatrick, P. *Nature reviews Drug Discovery*, Junio **2006**, *5*; 243-245.

⁵¹ Asif, M.; Siddiqui, A.; Keam, S. J.; *Drugs* **2006**, *66*, 5, 693-710

⁵² O'Neil, M. J.; *et al.* (Ed.) *The Merck Index*. 13th ed., Merck: USA, **2001**.



- ⁵³ Riise, A.; Karstad, R.; Anthonson, T. Chemo-enzymatic synthesis of both enantiomers of the anti-anginal drug ranolazina., *Biocatalysis and Biotransformation*, January-february **2005**, 23(1); 45-51.
- ⁵⁴ Tamargo, J.; Amorós, I.; Barana, A.; González, M.; Dolz, P.; Gómez, R.; Caballero, R.; Delpón, E.; *Rev Esp Cardiol Supl.* **2010**; 10 41B-54B
- ⁵⁵ Remuzon, P.; Bouzard, D.; Guiol, C.; Jacquet, J.; Fluoronaphthyridines as antibacterial agents. 6. Synthesis and structure activity relationships of new chiral 7-(1-, 3-, 4-, and 6-methyl-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl)naphthyridine analogs of 7-[(1R,4R)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl]-1-(1,1-dimethylethyl)-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid. Influence of the configuration on blood pressure in dogs. A quinolone-class effect.; *J Med Chem.* **1992**, 35; 2898-2909.
- ⁵⁶ Remunzon, P.; Massoudi, M.; Bouzard, D.; Jacquet, J.; Preparation of (1R,4R)-1-Methyl-2-(p-toluenesulfonyl)-5-phenylmethyl-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane, Intermediate in a Synthesis of New Naphthyridones; *Heterocycles*, **1992**, 34; 679-684.
- ⁵⁷ McGuirk, P.; Mann, D.; Elliott, N.; Chang, P.; Cisek, E.; Synthesis and structure-activity relationships of 7-diazabicycloalkylquinolones, including danofloxacin, a new quinolone antibacterial agent for veterinary medicine.; *J Med Chem.*, **1992**, 35; 611-620.
- ⁵⁸ Sturm, P.; Henry, D.; Antifilarial agents. Diazabicyclooctanes and diazabicycloheptanes as bridged analogs of diethylcarbamazine.; *J Med Chem*, **1974**, 17; 481-487.
- ⁵⁹ Gilchrist, T.L.; *Heterocyclic Chemistry*. 2th ed, Wilmington, Addison-Wesley Iberoamericana, **1999**.
- ⁶⁰ González-Olvera, R.; Demare, P.; Regla, I.; Juaristi, E.; Application of (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane derivatives in asymmetric organocatalysis: the Biginelli reaction *ARKIVOC*, **2008** (vi); 61-72
- ⁶¹ McClure, D. E.; Arison, B. H.; Baldwin, J. J.; Mode of Nucleophilic Addition to Epichlorohydrin and Related Species: Chiral Aryloxymethyloxiranes; *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 3666-3668.
- ⁶² Ohishi, Y.; Nakanishi, T.; Reaction of Epichlorohydrin with Hydroxybenzo[b]furan; *Chem. Pharm. Bull.* **1983**; 31, 3418-3423.
- ⁶³ Diario Oficial de la Federación [DOF]. (2011, 9 de junio). Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2011, Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama. Diario Oficial de la Federación. Recuperado el 3 de septiembre de **2015**, de: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5194157&fecha=09/06/2011.
- ⁶⁴ Barleon, B.; Siemeister, G.; Martiny-Baron, G.; Weindel, K.; Herzog, C.; Marmé, D.; Vascular endothelial growth factor up-regulates its receptor *fms*-like tyrosine kinase 1 (FLT-1) and a soluble variant of FLT-1 in human vascular endothelial cells. *Cáncer Res*, **1997**, 57, 5421-5425.
- ⁶⁵ Devries, C.; Escobedo, J.A.; Ueno, H.; Houck, K.; Ferrara, N.; Williams, L.T.; The *fms*-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science*, **1992**; 255:989-991.
- ⁶⁶ Bianco, R.; Melisi, D.; Ciardiello, F.; Tortora, G.; Key cancer cell signal transduction pathways as therapeutic targets. *Eur J Cancer*, **2006**, 42, 290-294.
- ⁶⁷ Manning, G., Whyte, D. B., Martinez, R., Hunter, T., Sudarsanam S.; The protein kinase complement of the human genome; *Science*, **2002**, 298, 1912-1934.
- ⁶⁸ Reif M.S., Socinski M.A., Rivera M.P. ; Evidence-based medicine in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Clin Chest Med*, **2000**; 1,107-120.
- ⁶⁹ Kurzrock. R.; Markman, M.; Targeted Cancer Therapy; Humana Press, **2008**, 125-156.
- ⁷⁰ Ghobria, I. M.; Witzig, T. E.; Adjei, A. A.; *CA Cancer J Clin*, **2005**, 55,178-194
- ⁷¹ Sawyers, C.; Targeted cancer therapy; *Nature*, **2004**, 432, 294-297.
- ⁷² Tsao, A.S.; Scagliotti, G.V.; Bunn, P.A.; Carbone, D.P.; Warren, G.W.; Bai, C.; Koning, H.J.; Yousaf-Khan, U.; McWilliams, A.; Tsao, M.S.; Adusumilli, P.S.; Rami-Porta, R.; Asamura, H.; Van Schil, P.E.; Darling, G.E.; Ramalingam, S.S.; Gomez D.R.; Rosenzweig, K. E.; Zimmermann, S.; Peters, S.;



Ignatius, O.S.; Reungwetwattana, T.; Jänne, P. A.; Mok, T. S.; Wakelee, H. A.; Pirker, R.; Mazières, J.; Brahmer, J.R.; Zhou, Y.; Herbst, R.S.; Papadimitrakopoulou, V.A.; Redman, M. W.; Wynes, M.W.; Gandara, D.R.; Kelly R.J.; Hirsch F.R.; Pass, H.I.; Scientific Advances in Lung Cancer 2015; *Journal of Thoracic Oncology*, **2016**, 11, 5, 613-638.

⁷³ Sánchez-Céspedes, M.; Dissecting the genetic alterations implicated in lung carcinogenesis. *Lung Cancer*, **2003**, 40, 2, 111-121.

⁷⁴ Osada, H.; Takahashi, T.; Genetic alterations of multiple tumor suppressors and oncogenes in the carcinogenesis and progression of lung cancer. *Oncogene*, **2002**, 21, 7421-7434.

⁷⁵ Todaro, G.J.; Fryling, C.; De Larco, J.E.; Transforming growth factors produced by certain human tumour cells: polypeptides that interact with epidermal growth factor receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **1980**, 77, 5258-5262.

⁷⁶ Eberhard, D.A.; Johnson, B.E.; Amler, L.C.; Goddard, A. D.; Heldens, S.L.; Herbst, R.S.; Ince W.L.; Janne, P. A.; Januario, T.; Johnson, D.H.; Klein, P.; Miller, V.A.; Ostland, M.A.; Ramies D.A.; Sebisano, D.; Stinson, J. A.; Zhang, Y.R.; Seshagiri, S.; Hillan, K. J.; Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J. Clin. Oncol.*, **2005**, 23,5900–5909.

⁷⁷ Yaari, S.; Jacob-Hirsch, J.; Amariglio, N.; Haklai, R.; Rechavi, G.; Kloog, Y.; Disruption of cooperation between Ras and MycN in human neuroblastoma cells promotes growth arrest. *Clin. Cancer Res.*; **2005**, 11:4321–30.

⁷⁸ Cornejo, U.R.; Epidermal growth factor and mammary epithelial differentiation, *Int. J. Morphol.* **2011**, 29, 3, 821-824.

⁷⁹ Gutkind, J.S.; The pathways connecting G protein-coupled receptors to the nucleus through divergent mitogenactivated protein kinase cascades. *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273.1839-1842.

⁸⁰ Matsuno, K.; Ichimura, M.; Nakajima, T.; Tahara, K.; Fujiwara, S.; Kase, H.; Ushiki, J.; Giese, N.A.; Pandey, A.; Scarborough, R.M.; Lokker, N.A.; Yu, J.C.; Irie, J.; Tsukuda, E.; Ide, S.; Oda, S.; Nomoto, Y.; Potent and Selective Inhibitors of Platelet-Derived Growth Factor Receptor Phosphorylation. 1. Synthesis, Structure-Activity Relationship, and Biological Effects of a New Class of Quinazoline Derivatives, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 3057-3066.

⁸¹ Lo, H.; Nuclear Mode of the EGFR Signaling Network: Biology, Prognostic Value, and Therapeutic Implications; *Discov. Med.*, **2010** 10,50, 44–51.

⁸² Albert, A.; *Adv. Heterocycl. Chem.*, **1976**, 20, 117-143.

⁸³ J. Elguero, C. Marzin, A. R. Katritzky and P. Linda, *Adv. Heterocycl. Chem, Suppl. 1*, **1976**, 296-301.

⁸⁴ Patil, J. P.; Amrutkar, S.V.; Ranawat, M.S.; Synthesized microwave assisted synthesis of Quinazoline using different bases. *J. Pharma. Sci. & Res.*, **2009**, 45, 52-54.

⁸⁵ Xiaobo, Y.; Hongxia, L.; Hua, F.; Renzhong, Q.; Yuyang, J.; Yufen, Z.; Efficient Copper-Catalyzed Synthesis of 4-Aminoquinazoline and 2,4-Diaminoquinazoline Derivatives, *Synlett*, **2010**, 101-106

⁸⁶ Connolly, D. J.; Cusack, D.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J.; Synthesis of quinazolinones and quinazolines; *Tetrahedron*, **2005**, 61,10153–10202.

⁸⁷ Karnakar, K.; Shangkar, J.; Murthy, S.N.; Ramesch, K.; Nageshwar, Y.V.D.; *Synlett*, **2011**, 1089-1096.

⁸⁸ Croce, P. D.; Ferracioli, R.; La Rosa, C. Reactivity of 1-Aryl-4-dimethylamino-2-phenyl-1,3-diaza-1,3-butadienes towards Dienophiles, 1,3-Dipoles and Carbanions; *Heterocycles* **1997**,45, 1309.

⁸⁹ Jiang X., Tang T., Wang J.M., Chen Z., Zhu Y.M., Ji S. J.; *J. Org. Chem.*, **2014**, 79, 5082-5087.



⁹⁰ Wang, D.; Gao F.; Quinazoline derivatives: Synthesis and bioactivities; *Chemistry Central Journal* **2013**, 7, 95.

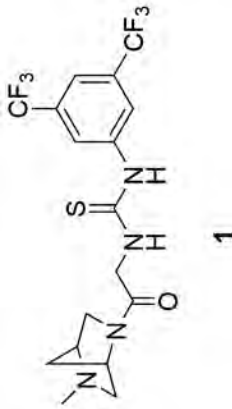
⁹¹ Knesl, P.; Rösling, D.; Jordis, U.; Improved Synthesis of Substituted 6,7-Dihydroxy-4-quinazolineamines: Tandtutinib, Erlotinib and Gefitinib; *Molecules*; **2006**, 11, 286-297.

⁹² Gediya, L.K.; Njar, V.C.; Promise and challenges in drug discovery and development of hybrid anticancer drugs; *Expert Opin. Drug Discov.*, **2009** 4,11, 1099-1111.

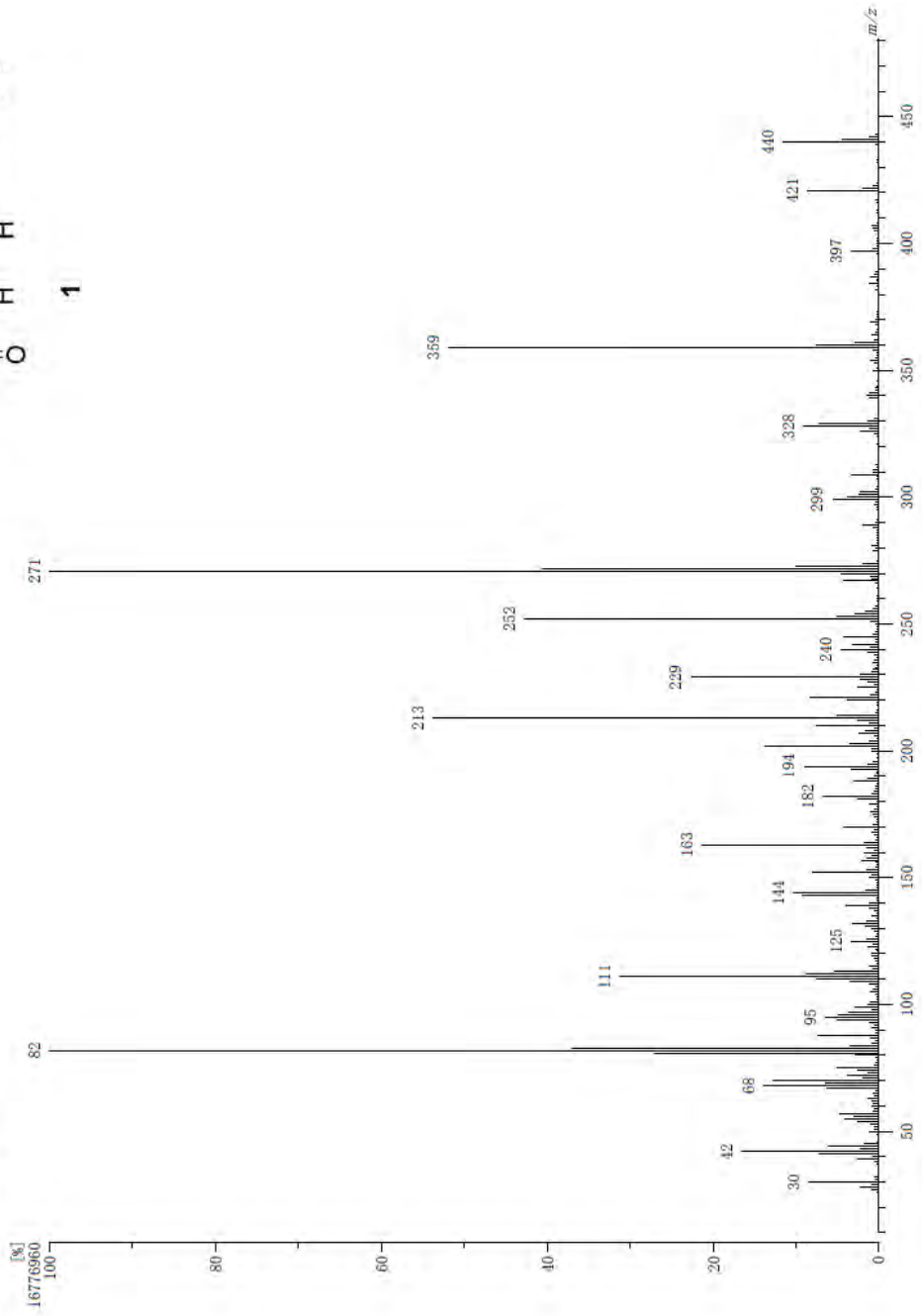
⁹³ Turnbull, C.M.; Rossi, A.G.; Megson, I.L.; Therapeutic effects of nitric oxide-aspirin hybrid drugs; *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **2006**, 10, 6, 911-922.



Anexo



Sample : 727 MLO-511 MSStation
Note : Operadora Carmen Garcia, Javier Perez
Inlet : Direct
Ion Mode : ESI
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.63 min Scan# : (13.18) Temp : 3276.7 deg.C
BP : m/z 82 Int : 1589.98 (16776960)
Output m/z range : 10 to 490 Cut Level : 0.00 %

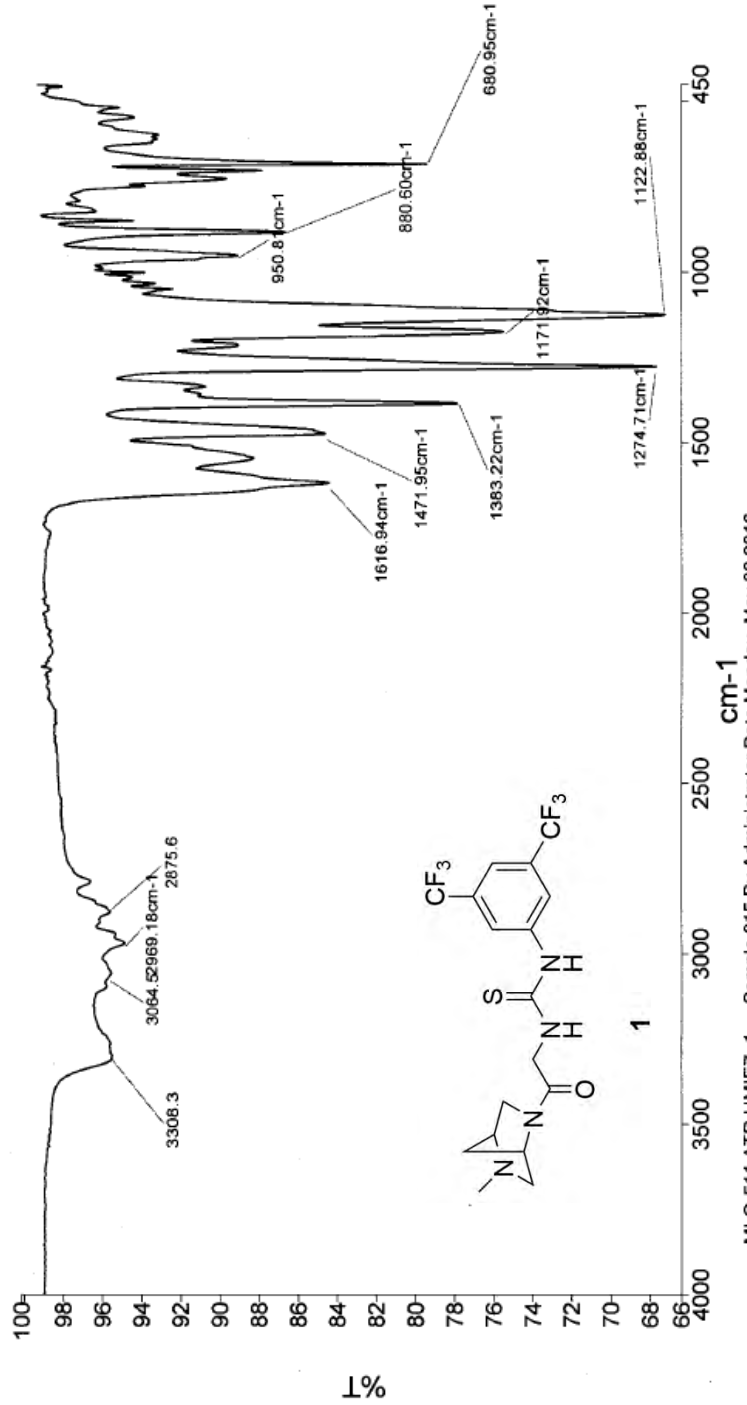




PerkinElmer Spectrum Version 10.4.4
Monday, May 02, 2016 3:32 PM

Analyst
Date

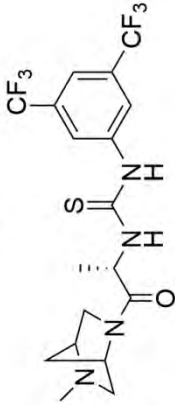
Administrator
Monday, May 02, 2016 3:32 PM



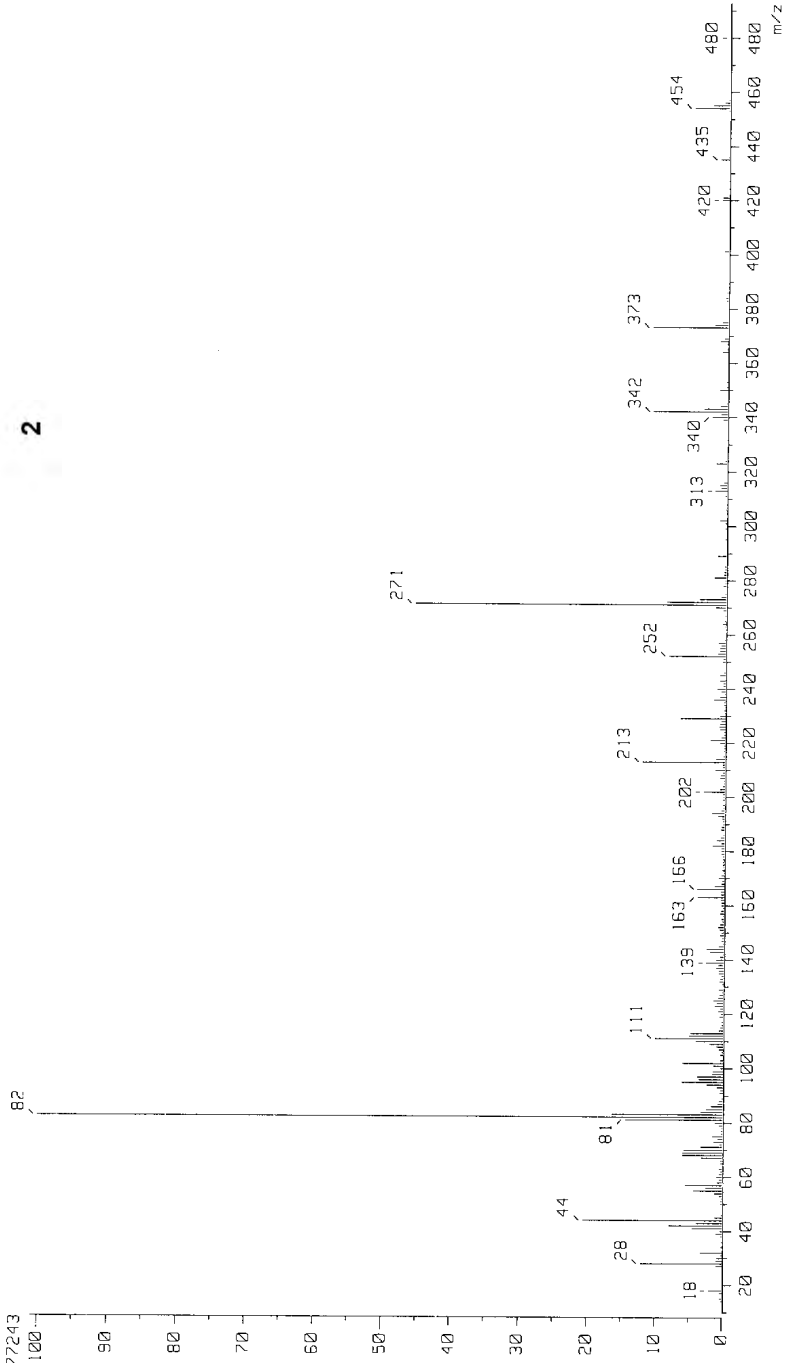
MLO-511 ATR UMIEZ_1 Sample 015 By Administrator Date Monday, May 02 2016



[Mass Spectrum]
Data : Dr-Regla-Ignacio-075 Date : 18-May-2010 12:22
Sample: 431_2EI_4ME-108_JeolJAX505HA
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.07 min Scan# : (23,34)
BP : m/z 82.0000 Int. : 1122.97
Output m/z range : 10.0000 to 492.9000
Cut Level : 0.00 %



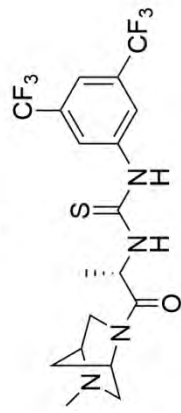
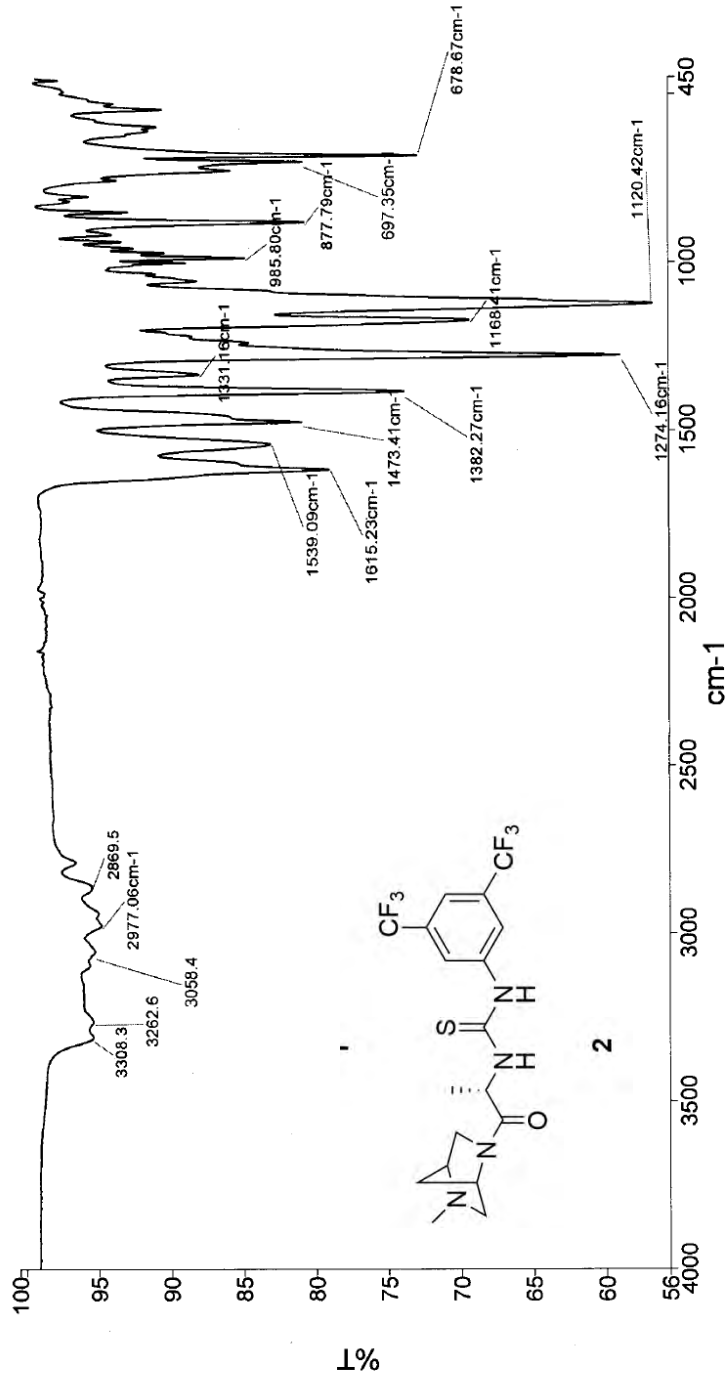
2





Monday, May 02, 2016 6:36 PM

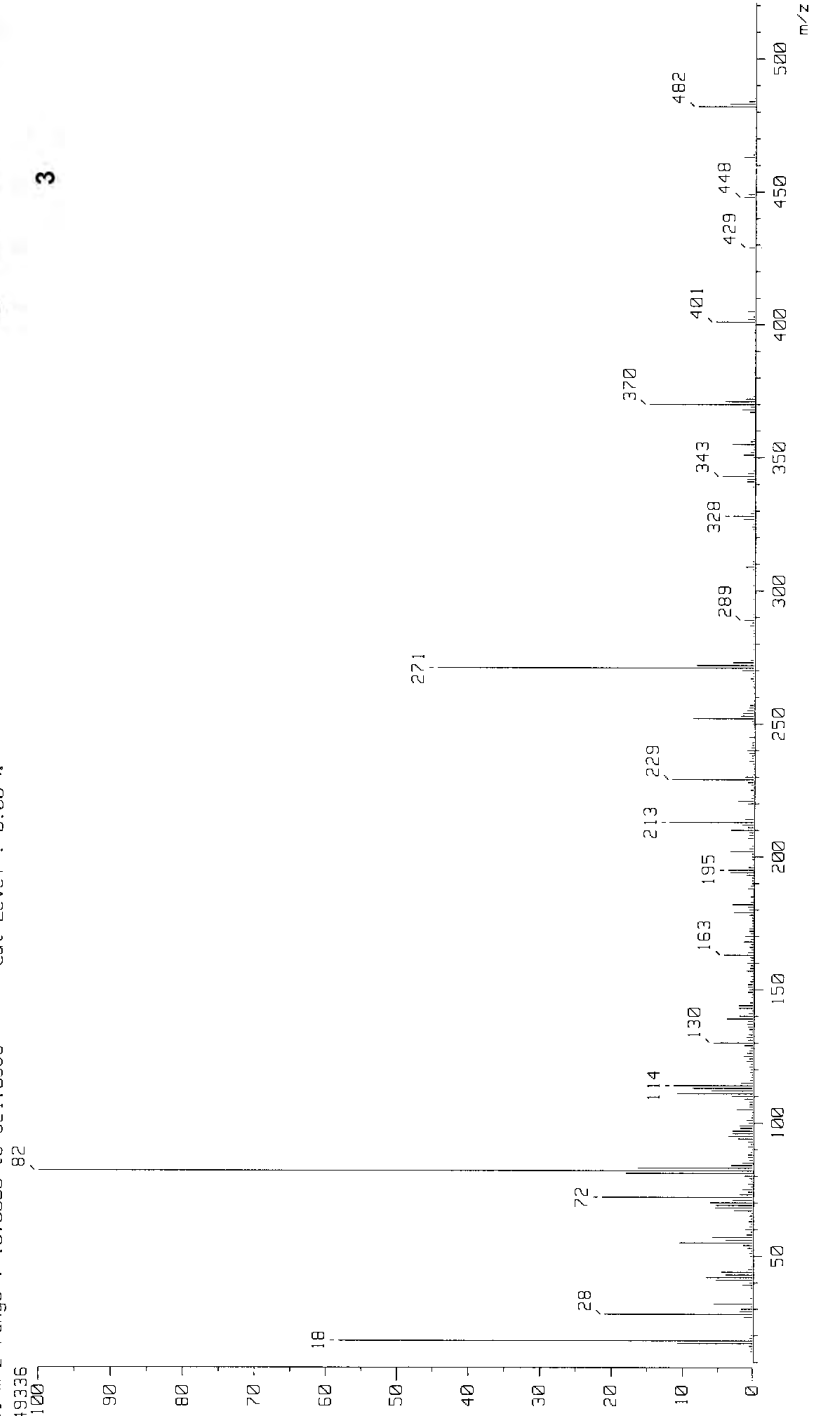
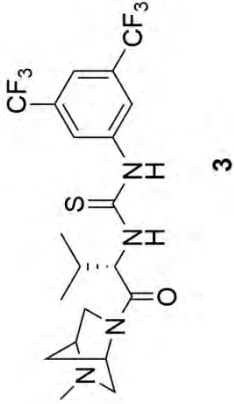
Analyst Administrator
Date Monday, May 02, 2016 6:36 PM



2



[Mass Spectrum]
Data : Dr-Regla-Ignacio-74 Date : 18-May-2010 11:45
Sample: 430 2EI MLO-506 JeolFX505HR
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 1.55 min Scan# : (32,49)
BP : m/z 82.0000 Int. : 824.87
Output m/z range : 10.0000 to 521.0386 Cut Level : 0.00 %
8649336

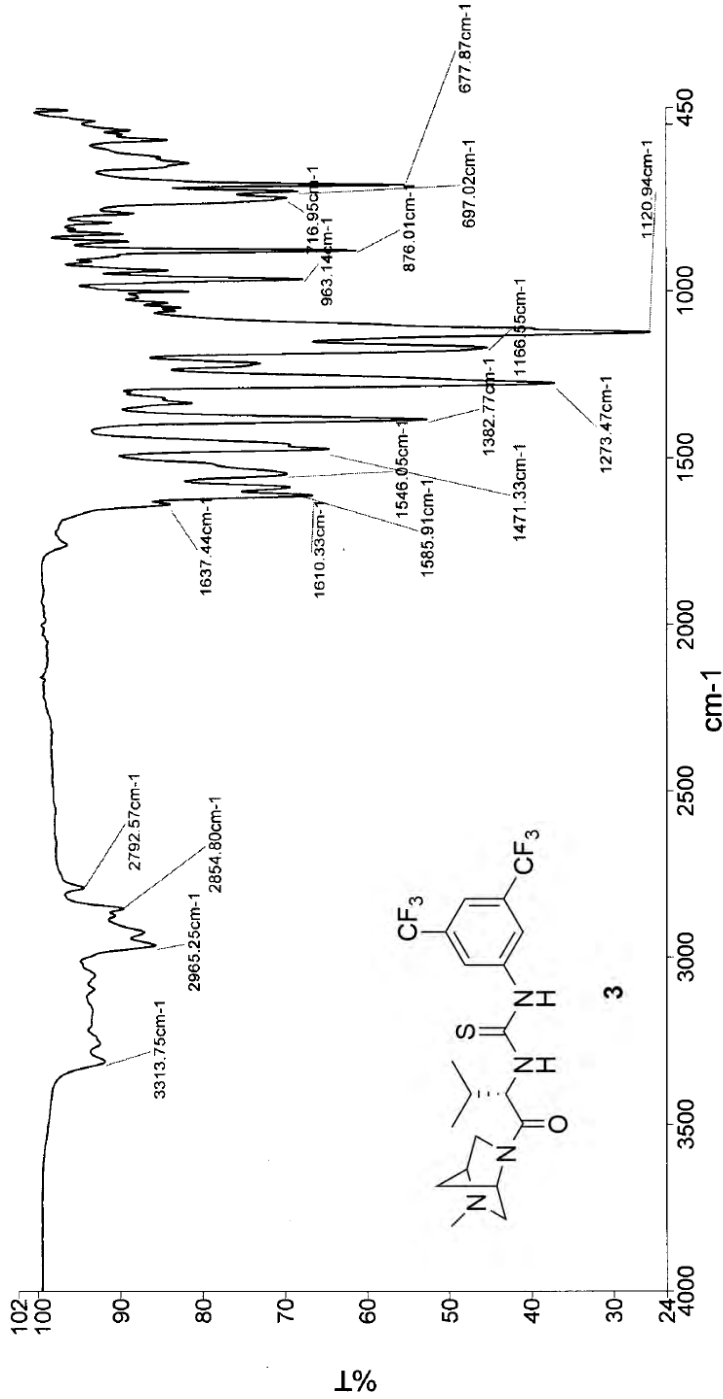




PerkinElmer Spectrum Version 10.4.4
Monday, May 02, 2016 1:31 PM

Analyst
Date

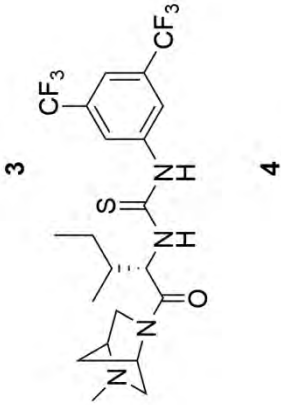
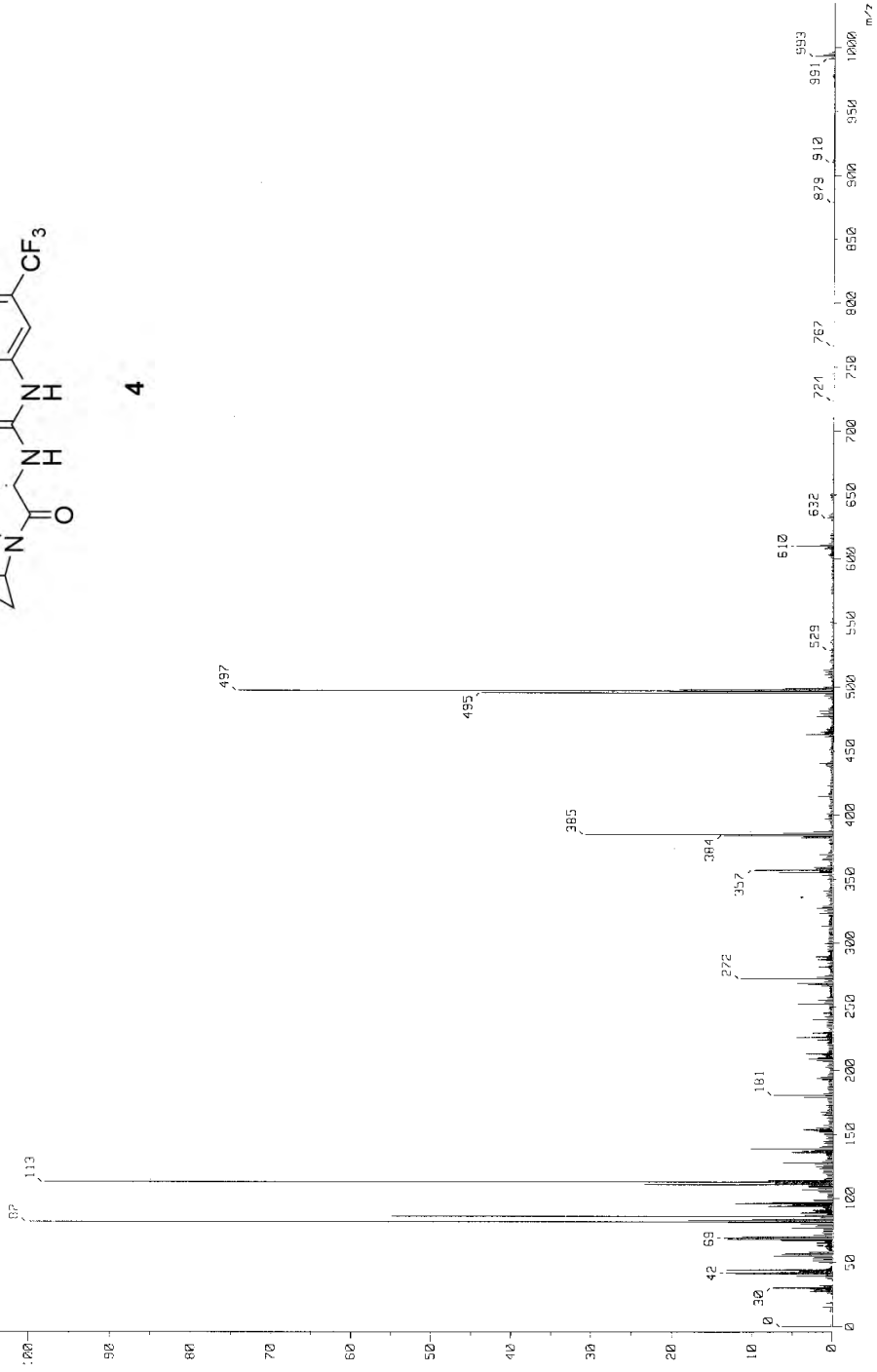
Administrator
Monday, May 02, 2016 1:31 PM



ACN-104 ATR-M LOPEZ UMIEZ_1 Sample 008 By Administrator Date Monday, May 02 2016



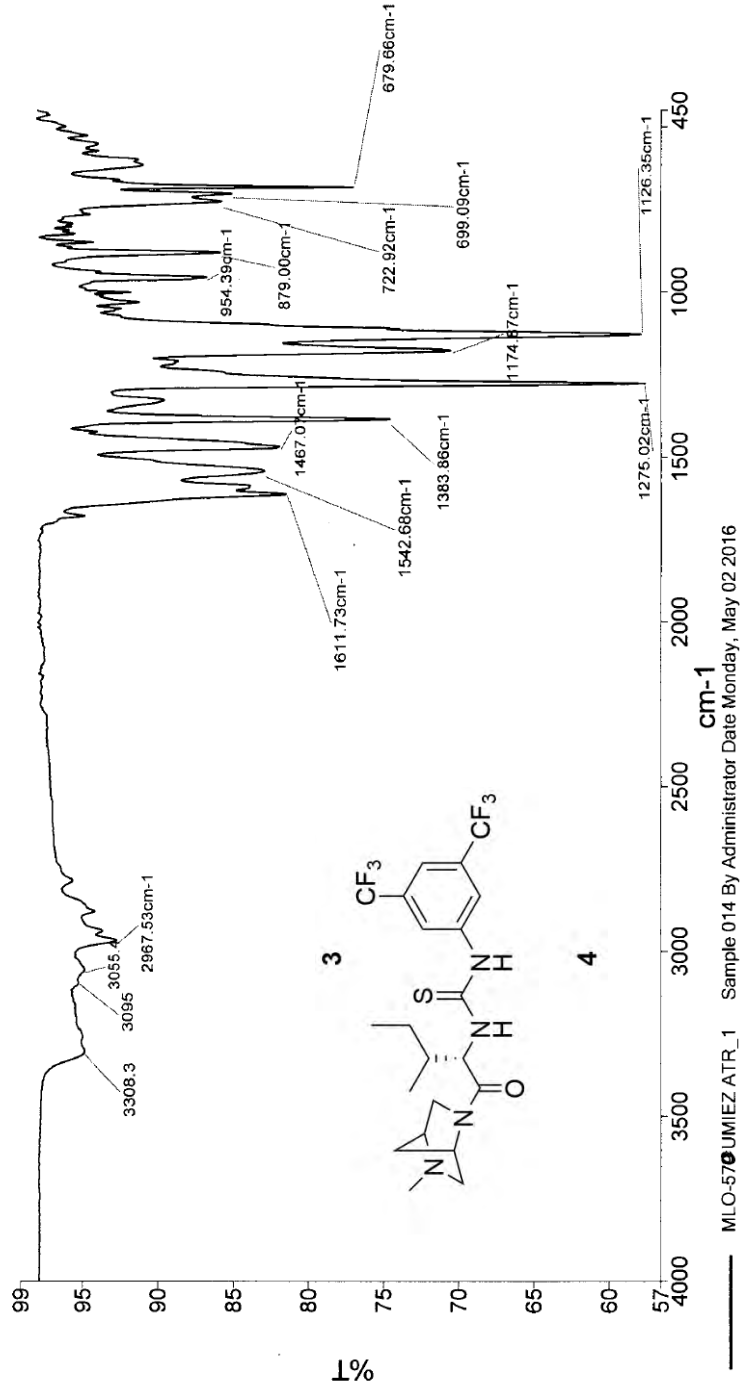
[Mass Spectrum]
Date : 17-May-2014 14:12
File : I:\-gnac-08reglab05\
Sample: 432 MLO-521
Note : -Louis-Velasco
Inlet : Direct Ion Mode : FBE+
Spectrum Type : Normal Ion (MF-Linsor)
RT : 1.51 min Scan# : 1415
BP : m/z 82.0000 Int. : 343.25
Output m/z range : 0.0000 to 1034.713
3807721 Cut Level : 0.00 %





Administrator
Monday, May 02, 2016 3:25 PM

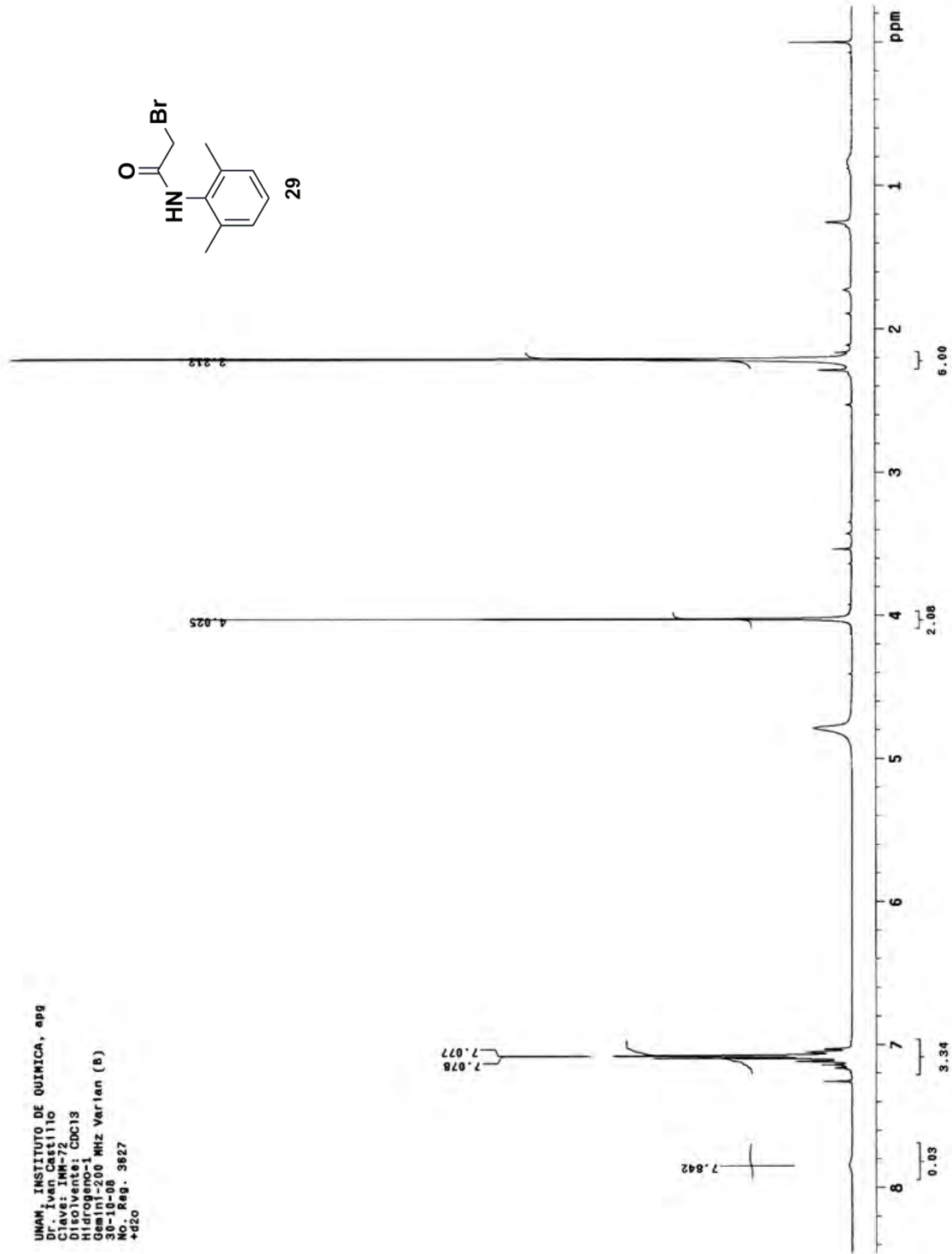
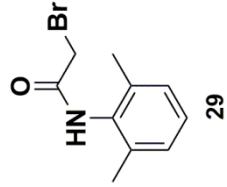
Administrator
Monday, May 02, 2016 3:25 PM

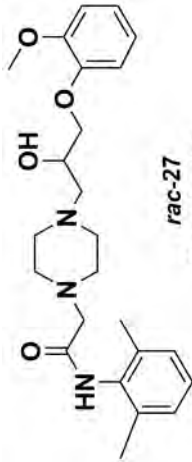


MLO-570UMIEZ ATR_1 Sample 014 By Administrator Date Monday, May 02 2016



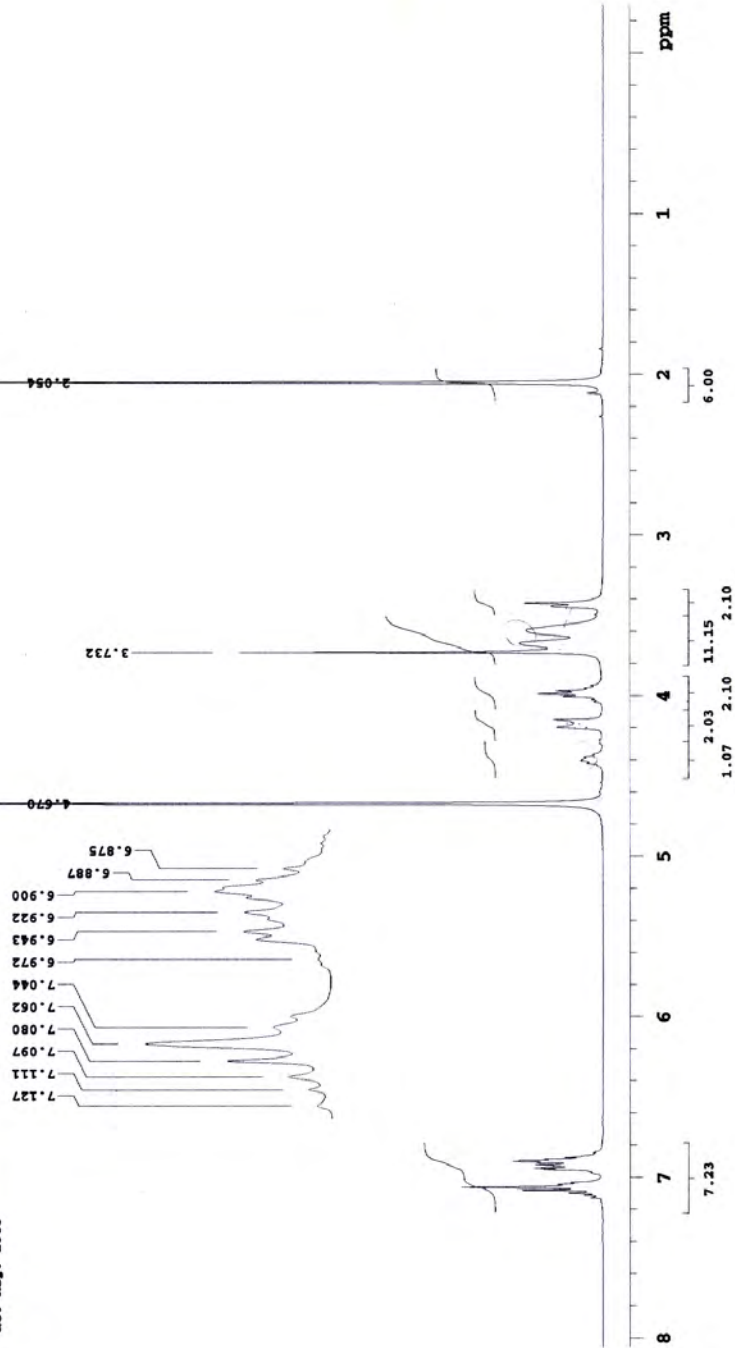
UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
Ciudad de México, Castillo
Clave: IQM-72
Disolvente: CDCl₃
Hidrogeno-1
Gemini-200 MHz Varian (B)
30-10-08
No. Reg. 3827
*d20





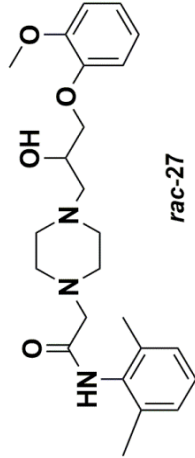
rac-27
Ranolazina

UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, APQ
Dr. Ignacio Regla
Clave: IMQ-244
Disolvente: D2O
Hidrogeno-1
Unity-300 MHz Varian (D)
22-04-09
No. Reg. 1040

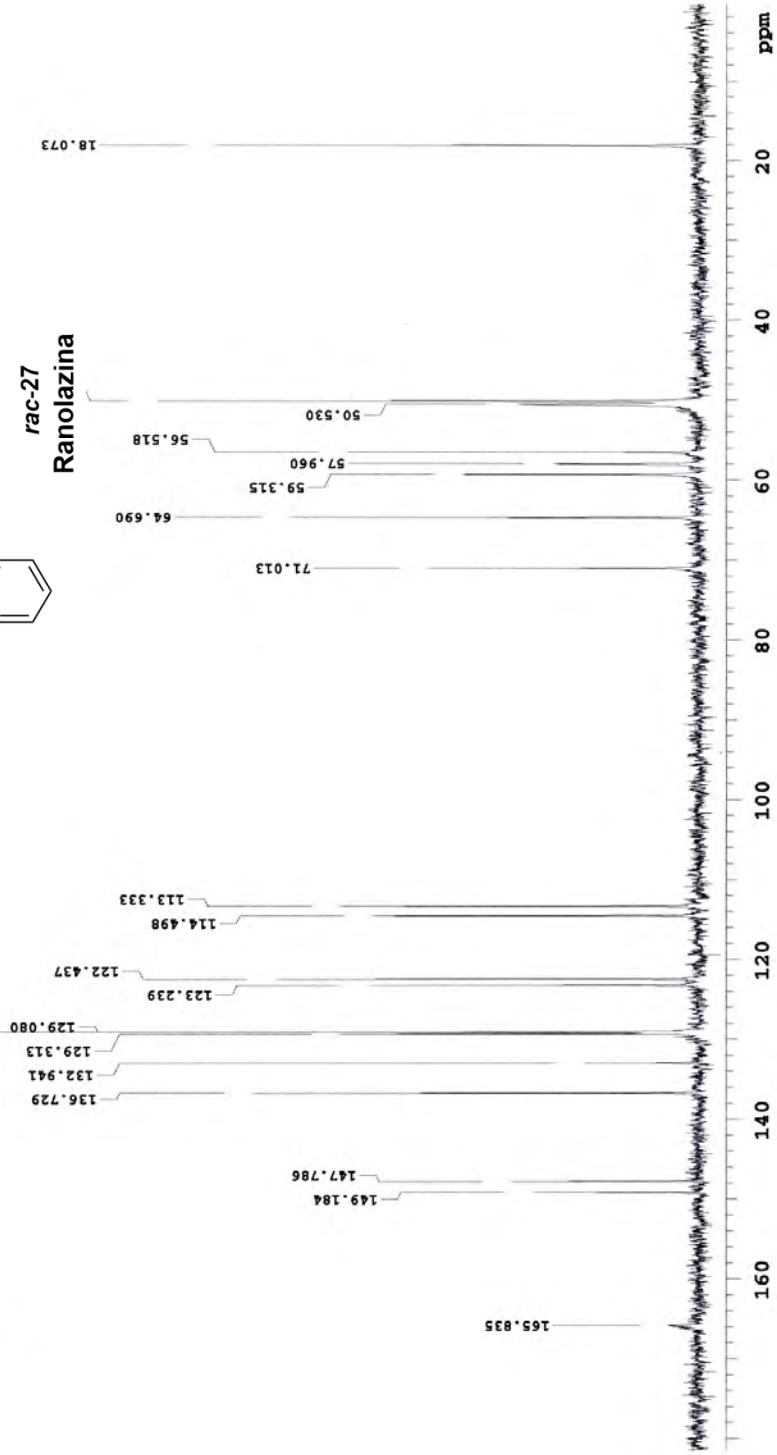


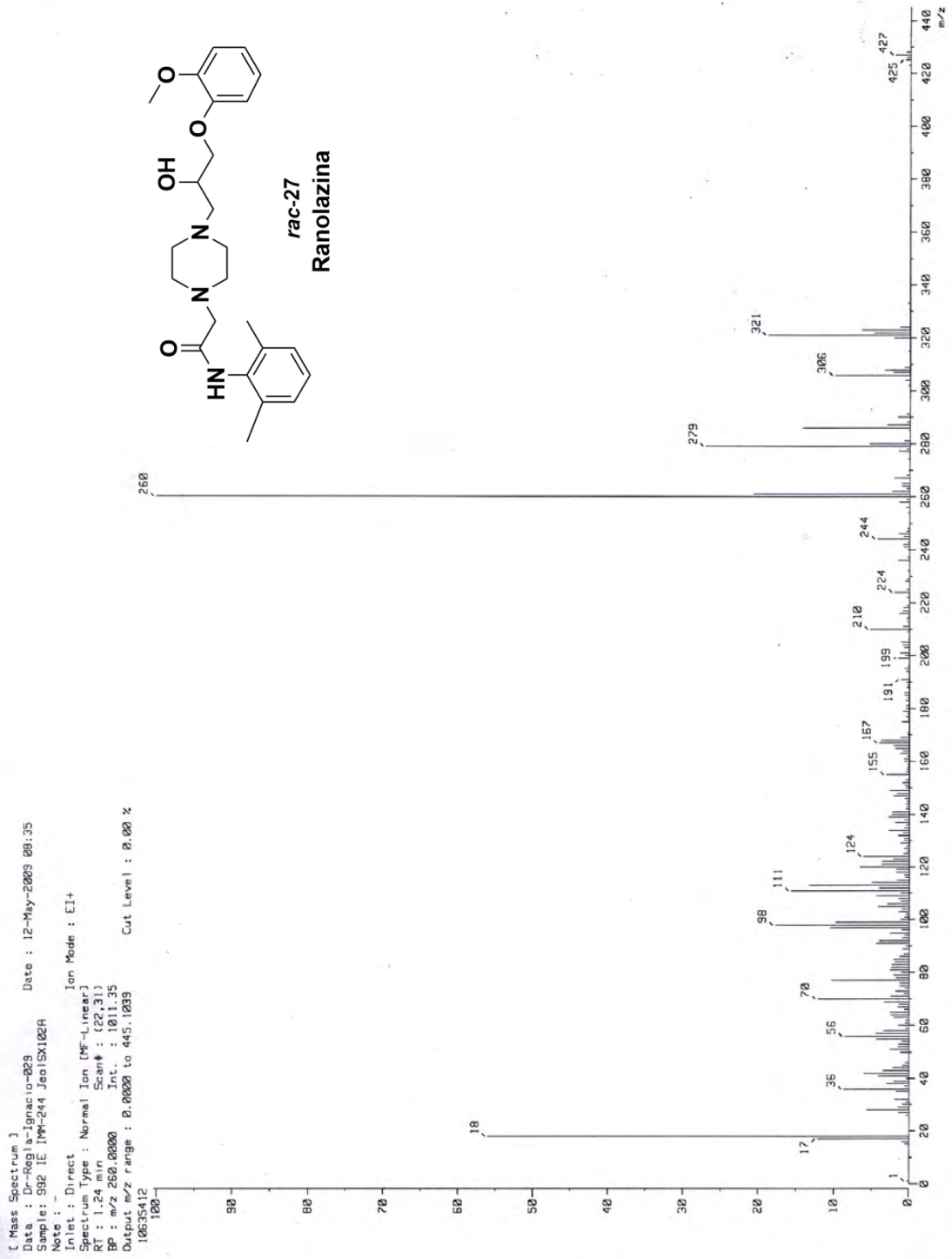


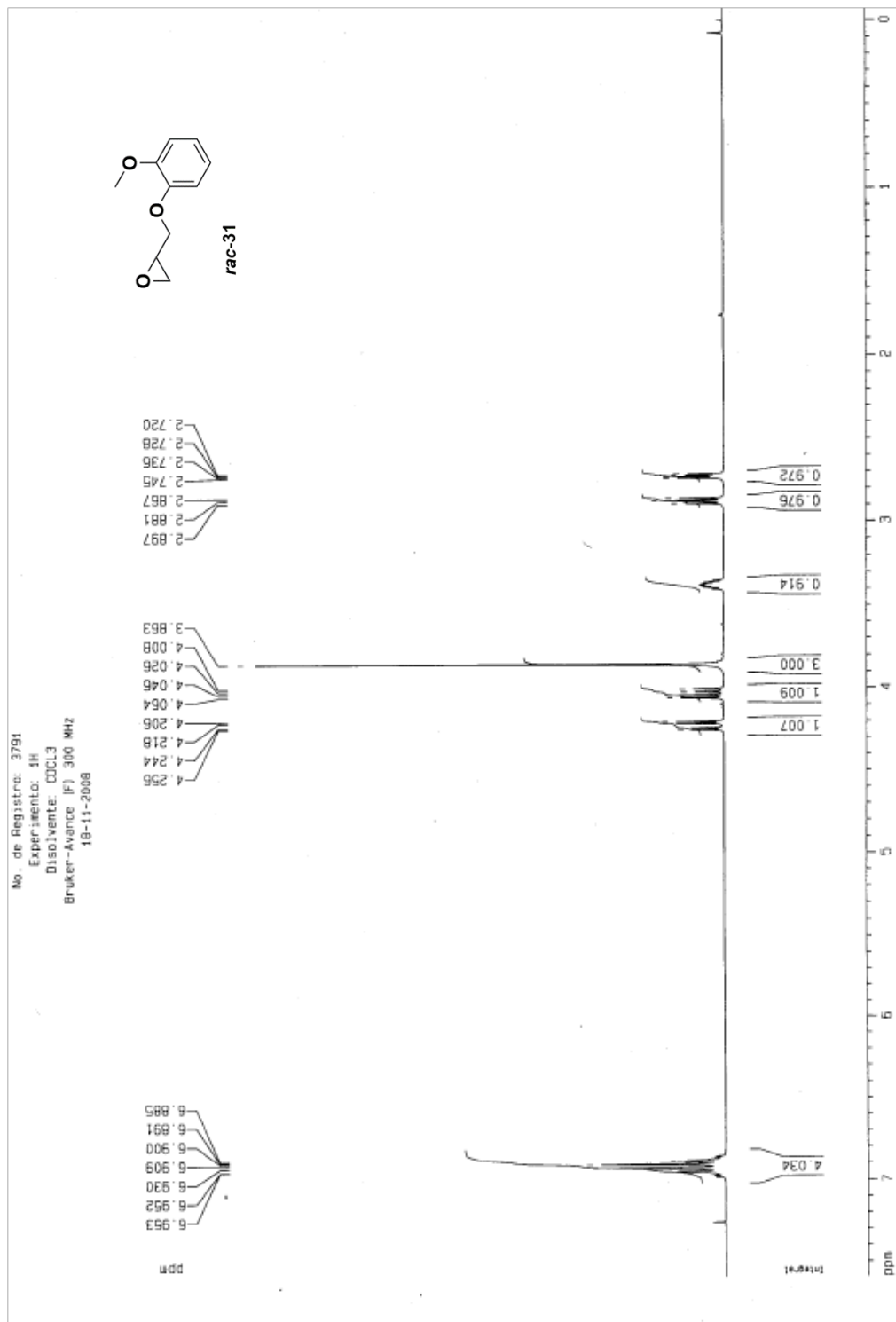
UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg
Dr. Ignacio Regia
Clave: IMM-244
Disolvente: D2O
Carbóno-13
Unity 75 MHz, Varian (D)
22-04-09
No. Reg. 1040

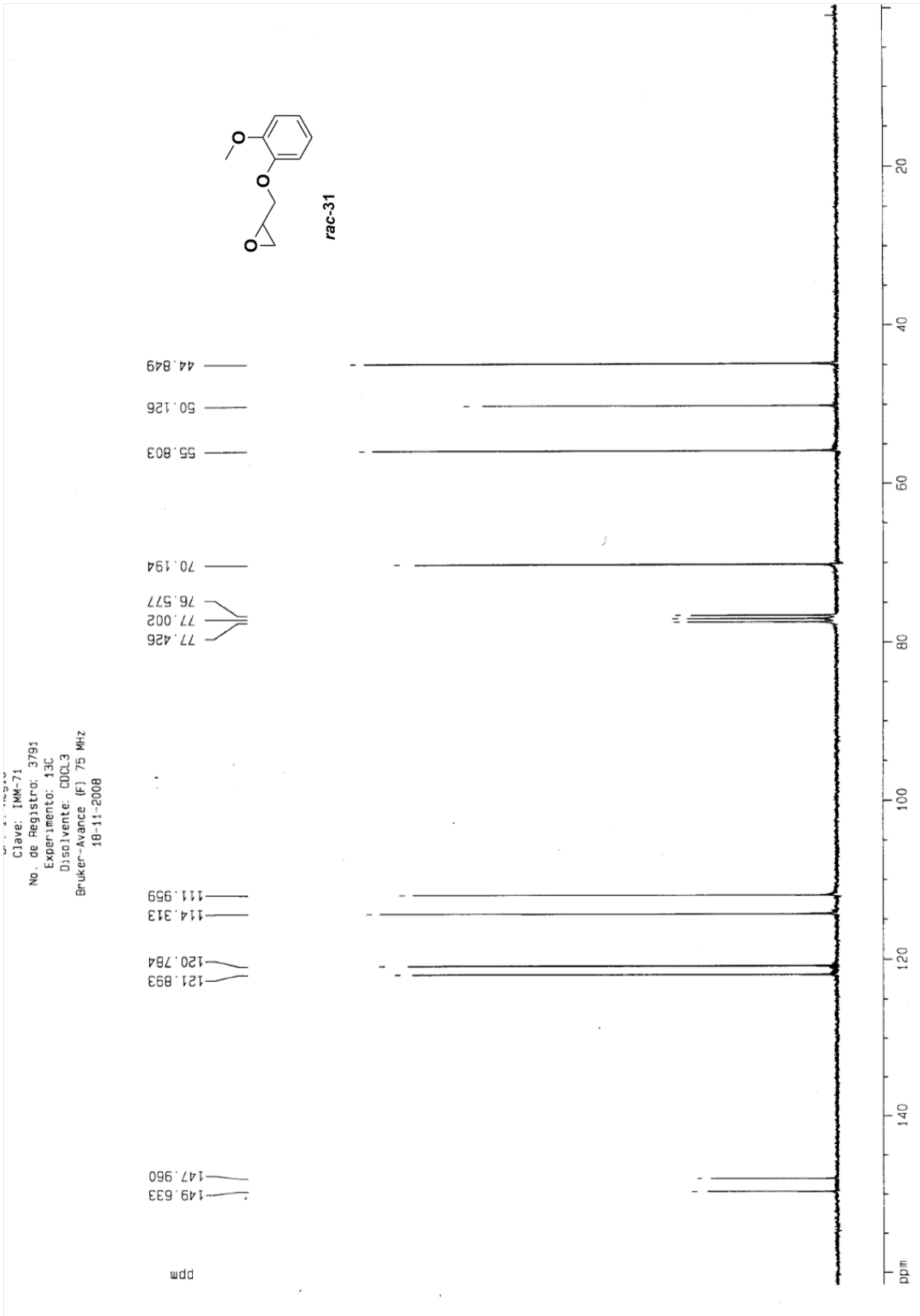


rac-27
Ranolazina











UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg

Dr. Ignacio Regla

Clave: IMM-205

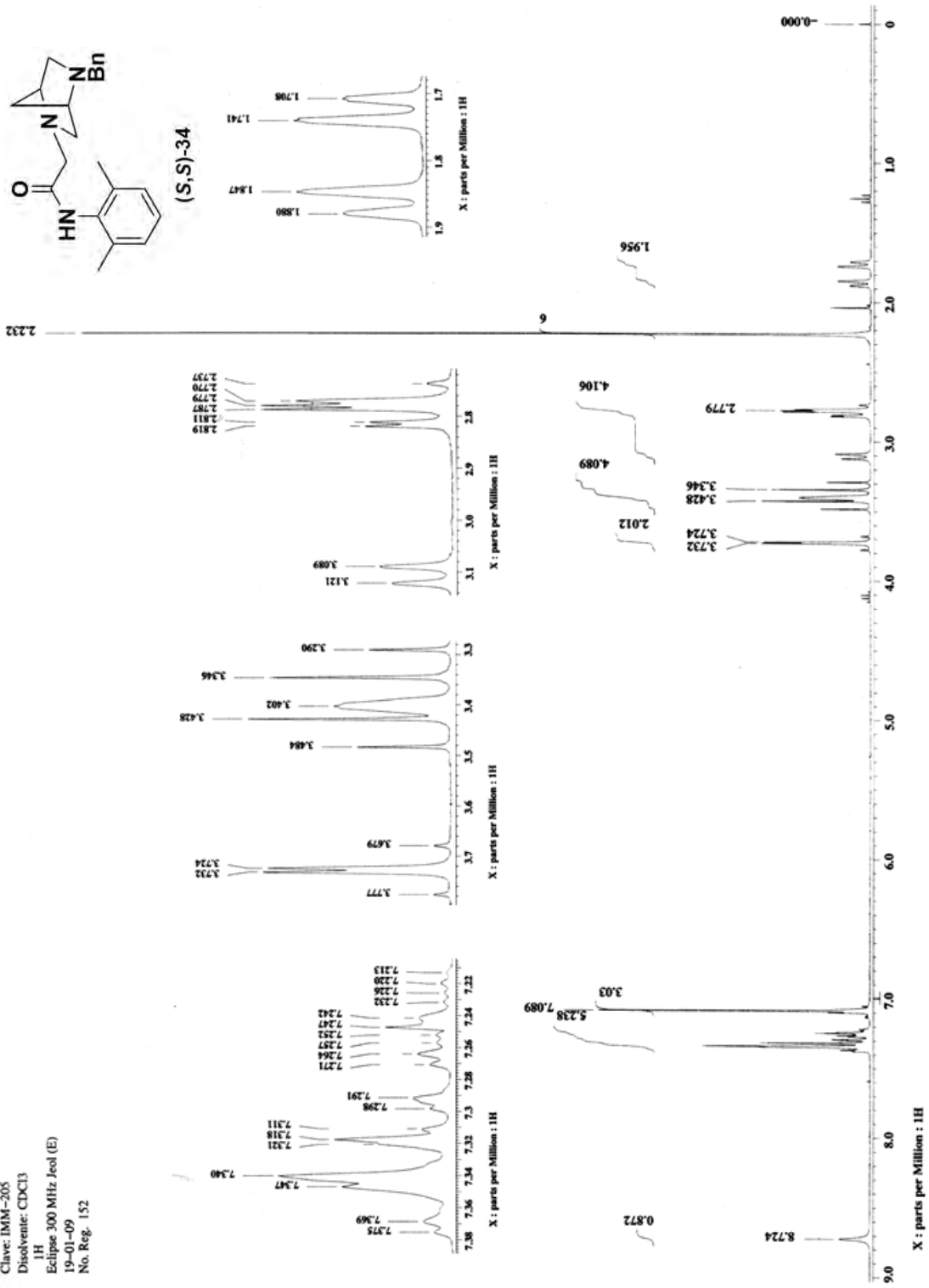
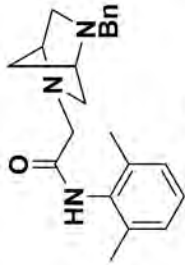
Disolvente: CDCl₃

¹H

Eclipse 300 MHz Jeol (E)

19-01-09

No. Reg. 152





UNAM, INSTITUTO DE QUIMICA, apg

Dr. Ignacio Regla

Clave: IMM-205

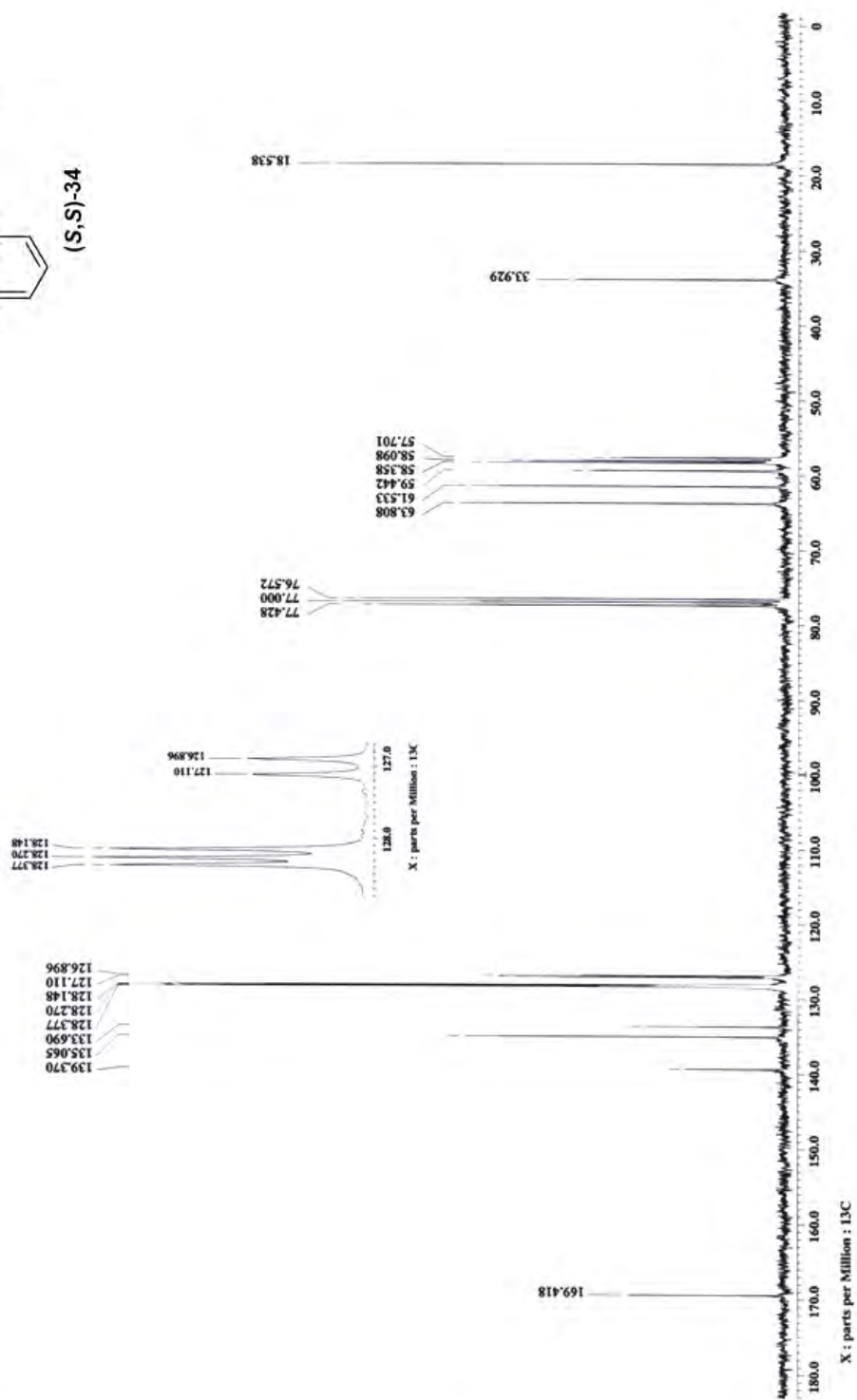
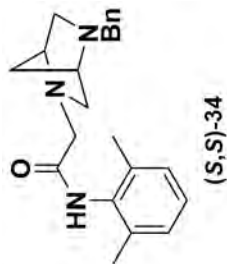
Disolvente: CDCl₃

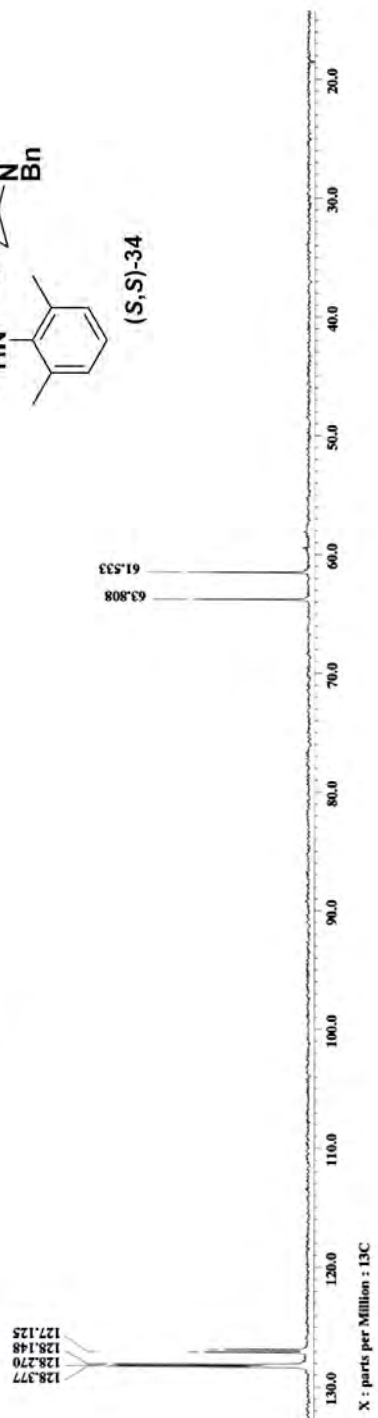
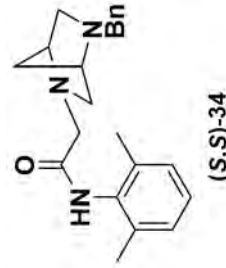
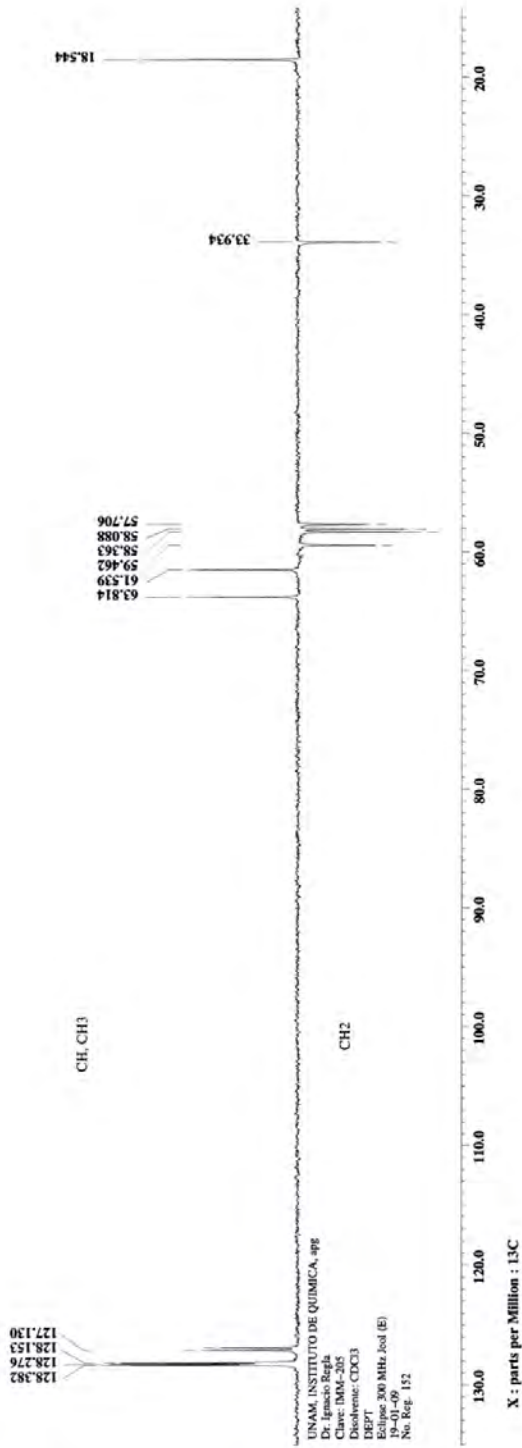
¹³C

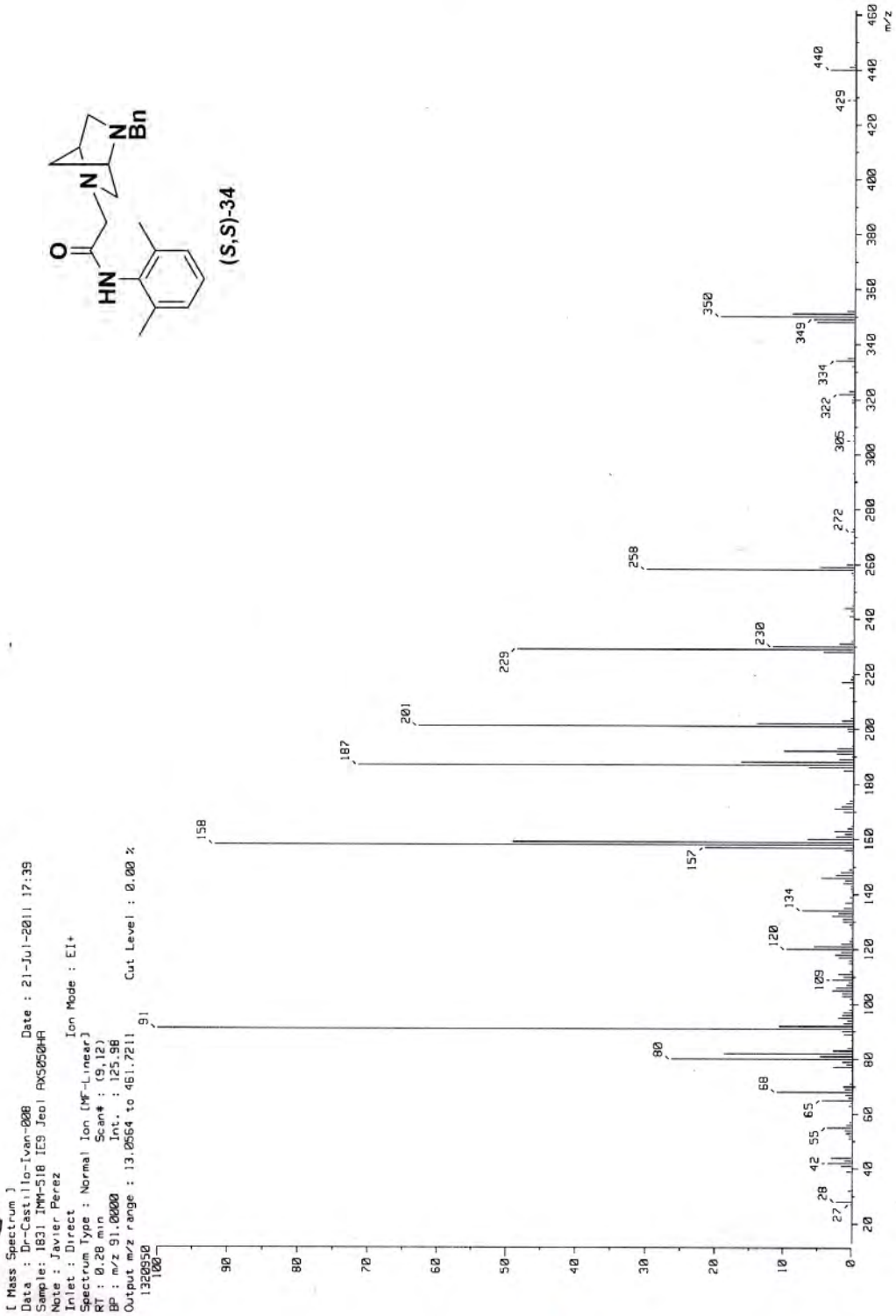
Eclipse 300 MHz Jeol (E)

19-01-09

No. Reg. 152

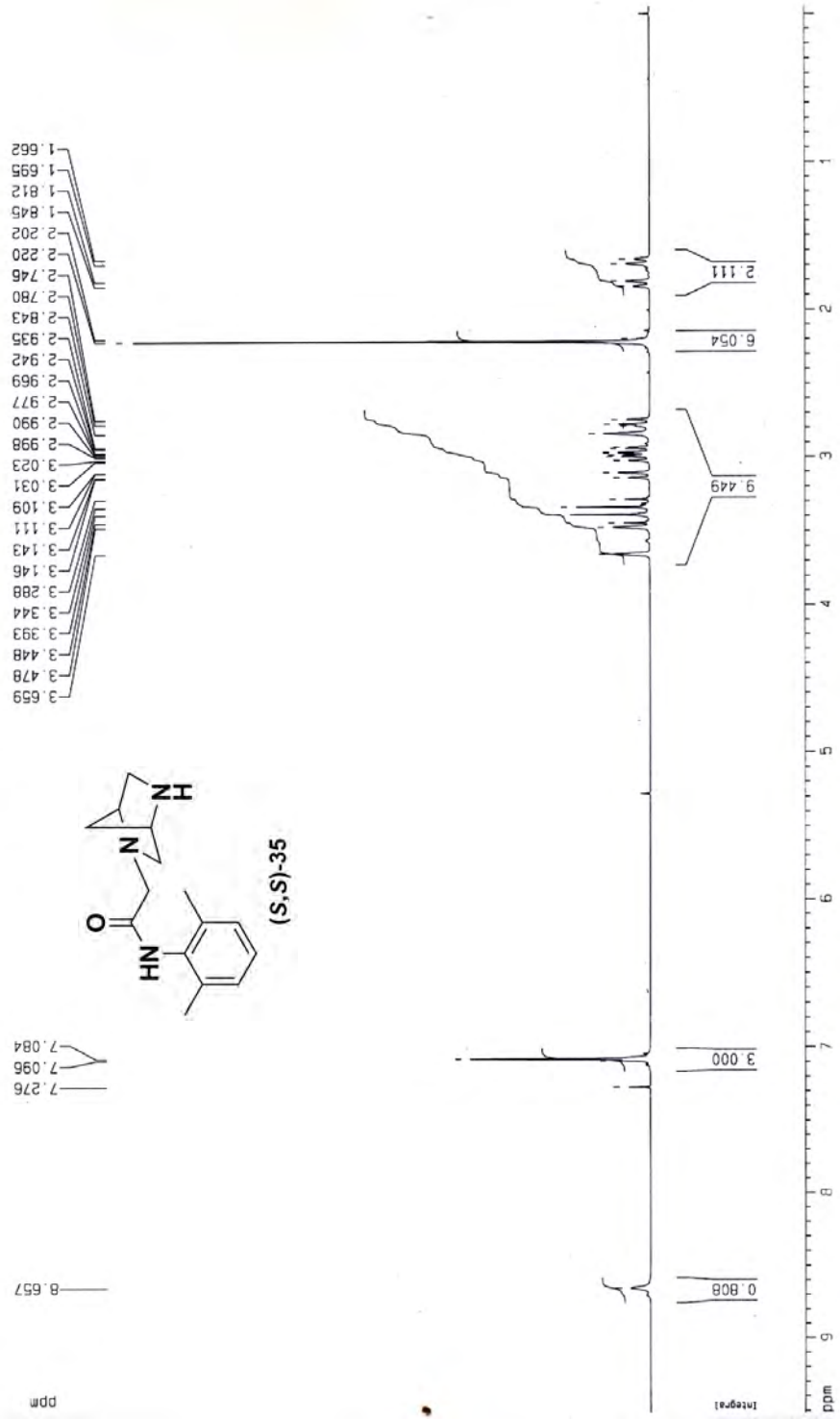






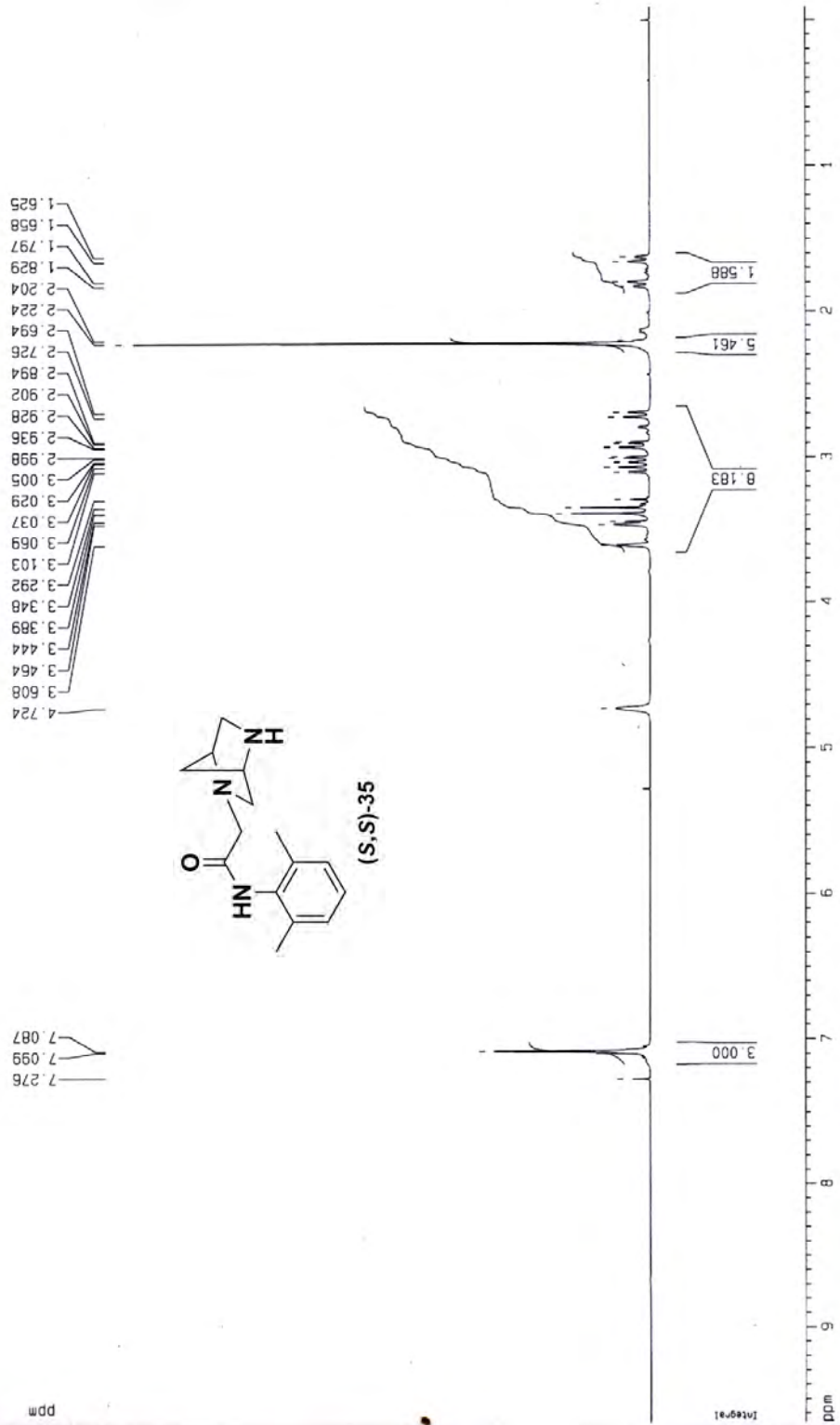


Instituto de Química UNAM (IQUM)
Dr. I. Regla
Clave: IMM-75
No. de Registro: 3792
Experimento: 1H
Disolvente: CDCl₃
Bruker-Avance (F) 300 MHz
18-11-2008



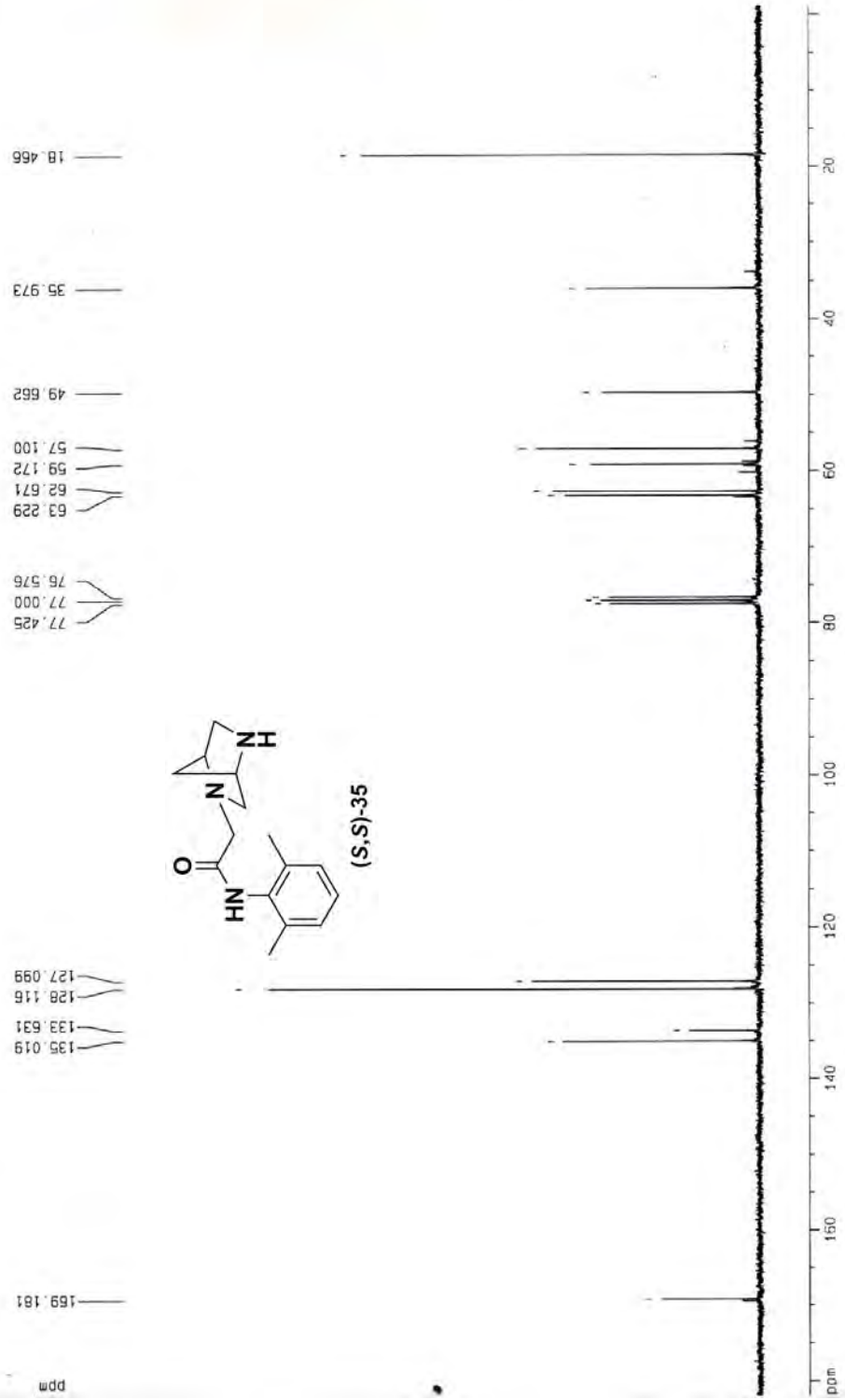


Instituto de Química UNAM (806)
Dr. I. Regla
Clave: IMM-75
No. de Registro: 3792
Experimento: 1H
Disolvente: COCL3 + D2O
Bruker-Avance (F) 300 MHz
18-11-2008



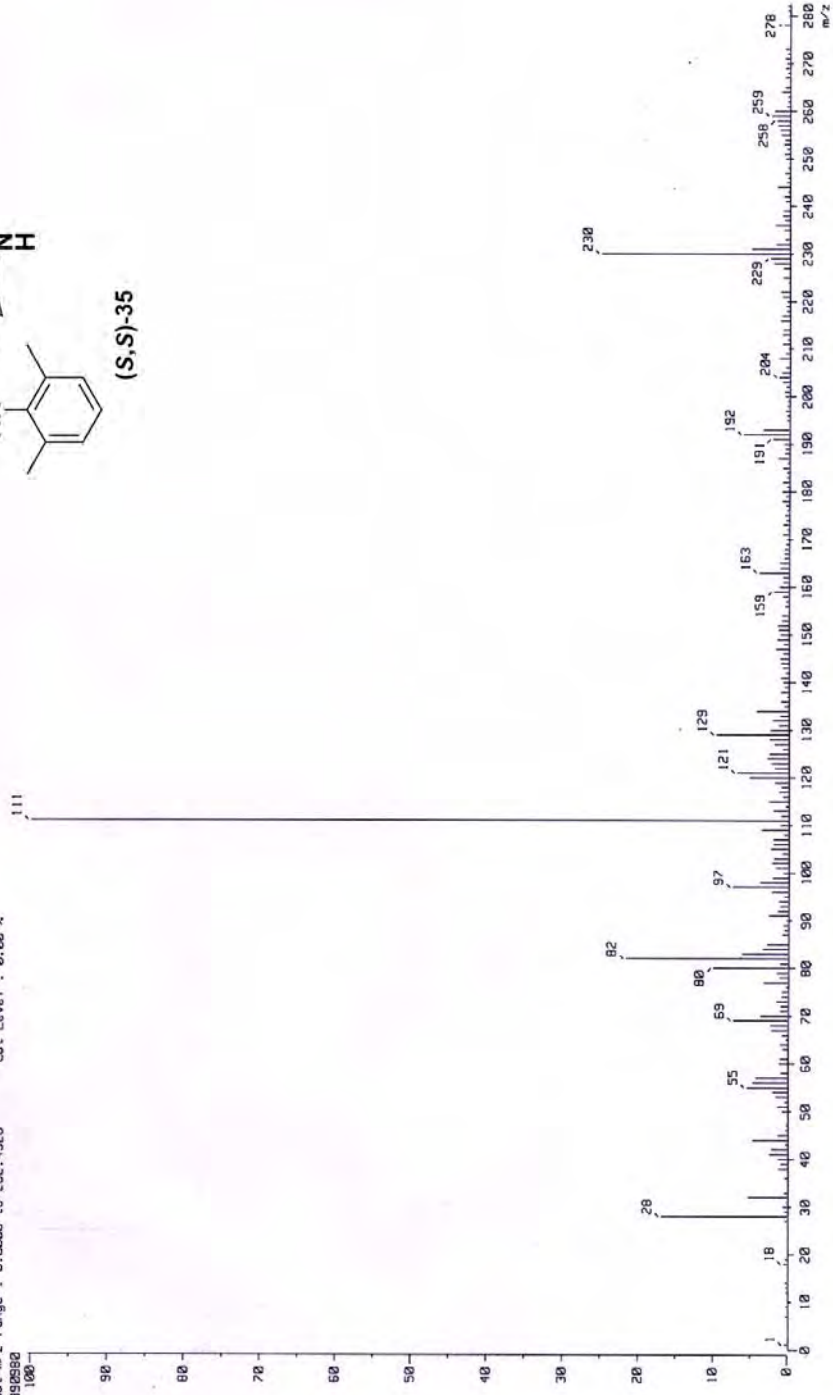
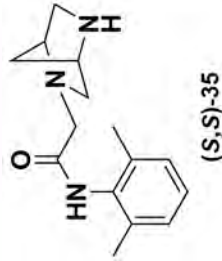


Instituto de Química UNAM (BGC)
Dr. T. Regla
Clave: IM-75
No. de Registro: 3792
Experimento: 13C
Disolvente: CDCl₃
Bruker-Avance (F) 75 MHz
18-11-2008





[Mass Spectrum]
Data : Dr-Hernandez-Marcos-066 Date : 24-Jan-2012 13:15
Sample: 164_1M+150 IE16 JeolFX505H
Note : Javier Perez
Inlet : Direct Ion Mode : E1+
Spectrum Type : Normal Ion [M⁺-Linear]
RT : 8.22 min Scan# : 15 81
BP : m/z 111.0000 Int. : 455.10
Output m/z range : 8.0000 to 262.4926
4898982 Cut Level : 0.00 %





Instituto de Química UNAM NZ

Dr. Ignacio Regla

Clave: 1M-76

CDCl₃

Bruker-Avance 300MHz-F

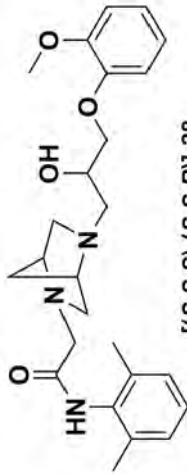
¹H

No. Registro: 3841

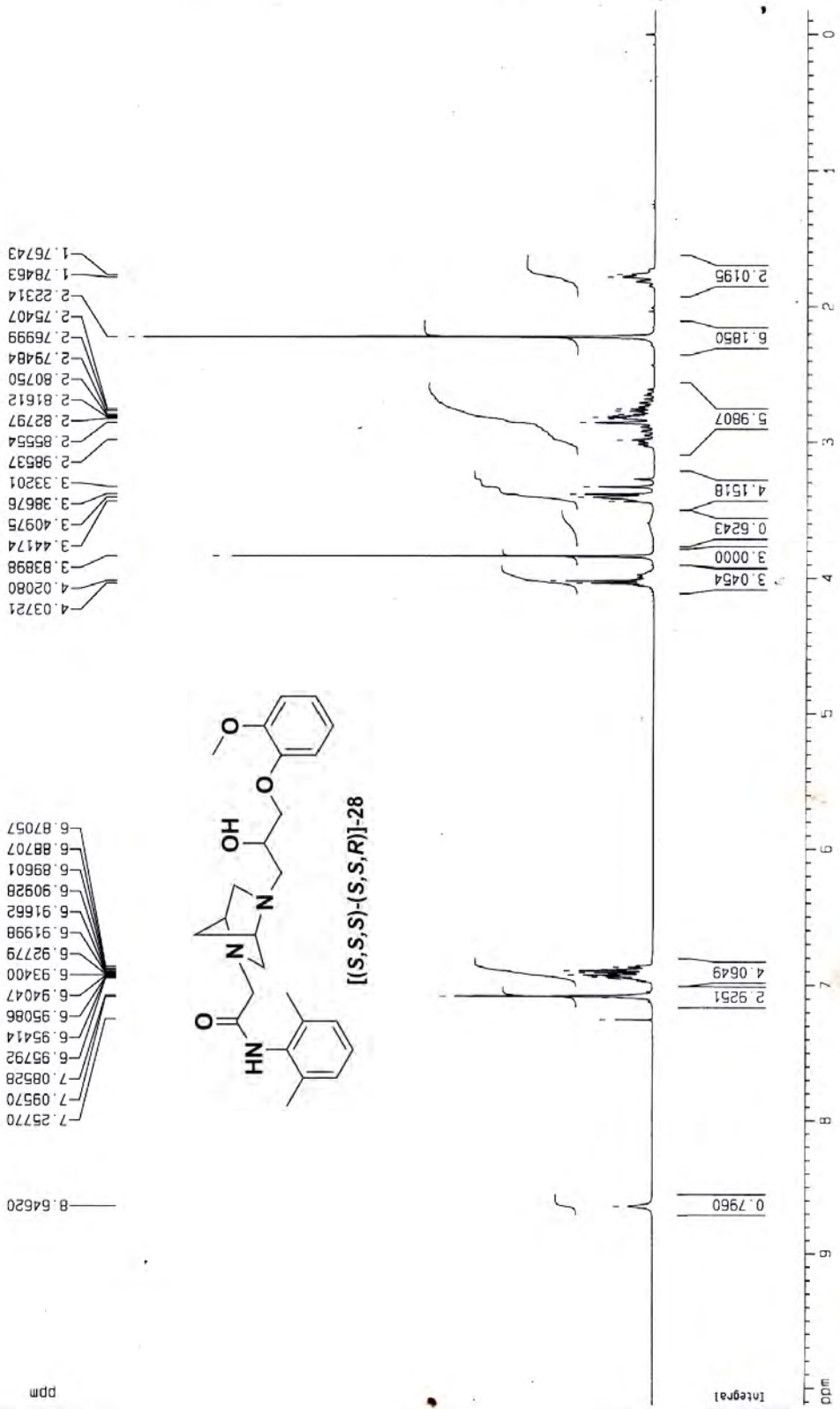
21-11-08

7.25770
7.09570
7.08528
6.95792
6.95414
6.95086
6.94047
6.93400
6.92779
6.91998
6.91662
6.90928
6.89601
6.88707
6.87057

4.03721
4.02080
3.83898
3.44174
3.40975
3.38676
3.33201
2.98537
2.85554
2.82797
2.81612
2.80750
2.79484
2.76999
2.75407
2.22314
1.78463
1.76743



[(S,S,S)-(S,S,R)]-28





Instituto de Química UNAM NZ

Dr. Ignacio Regla

Clave: IMN-76

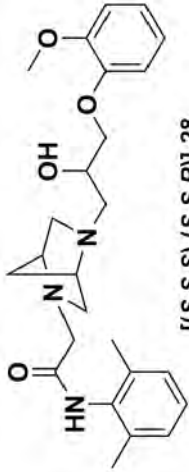
CDC13

Bruker-Avance 300MHz-F

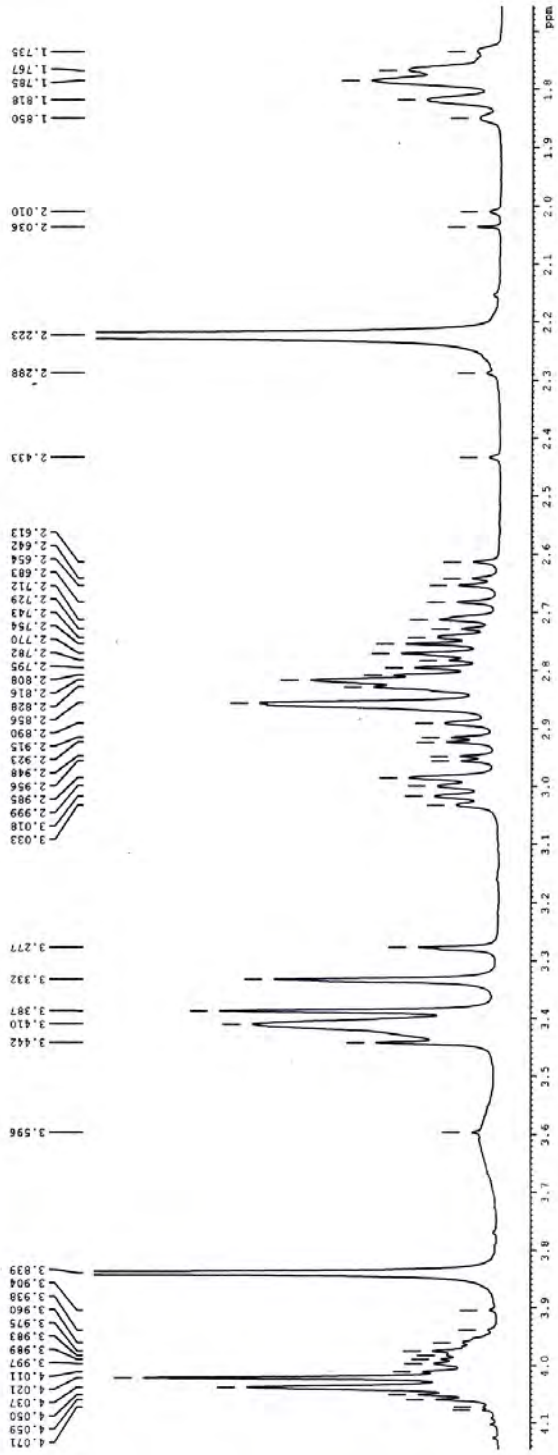
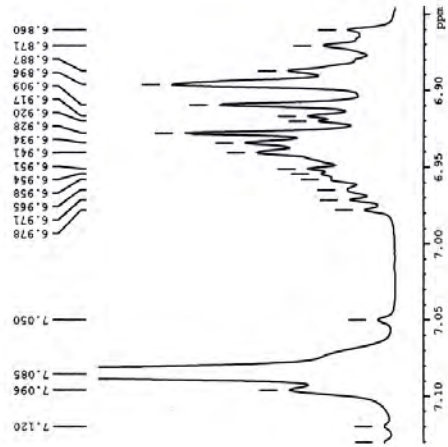
¹H

No. Registro: 3841

21-11-08



[(S,S,S)-(S,S,R)]-28

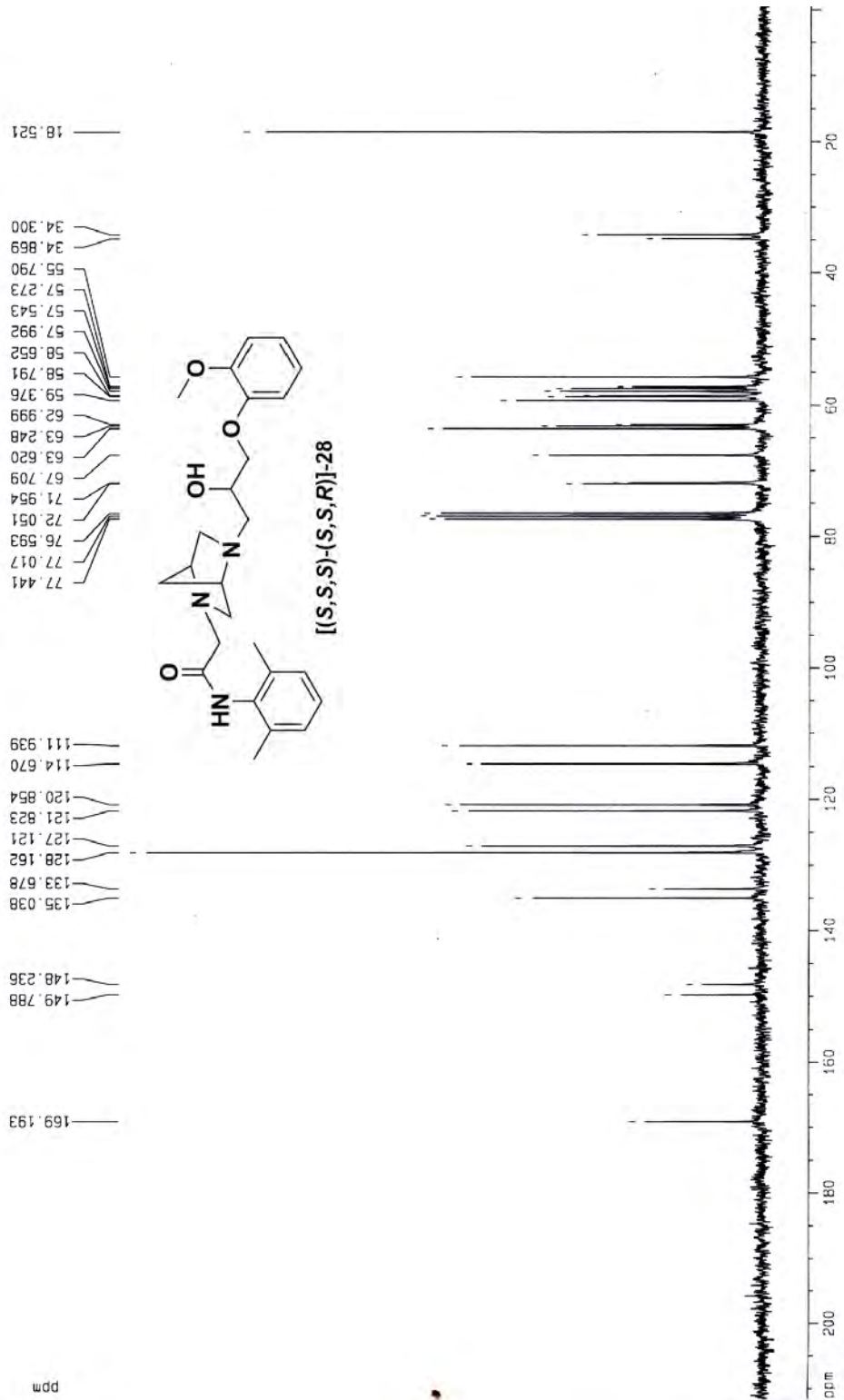




Instituto de Química UNAM MZ
Dr. Ignacio Regia
Clave: INM-76

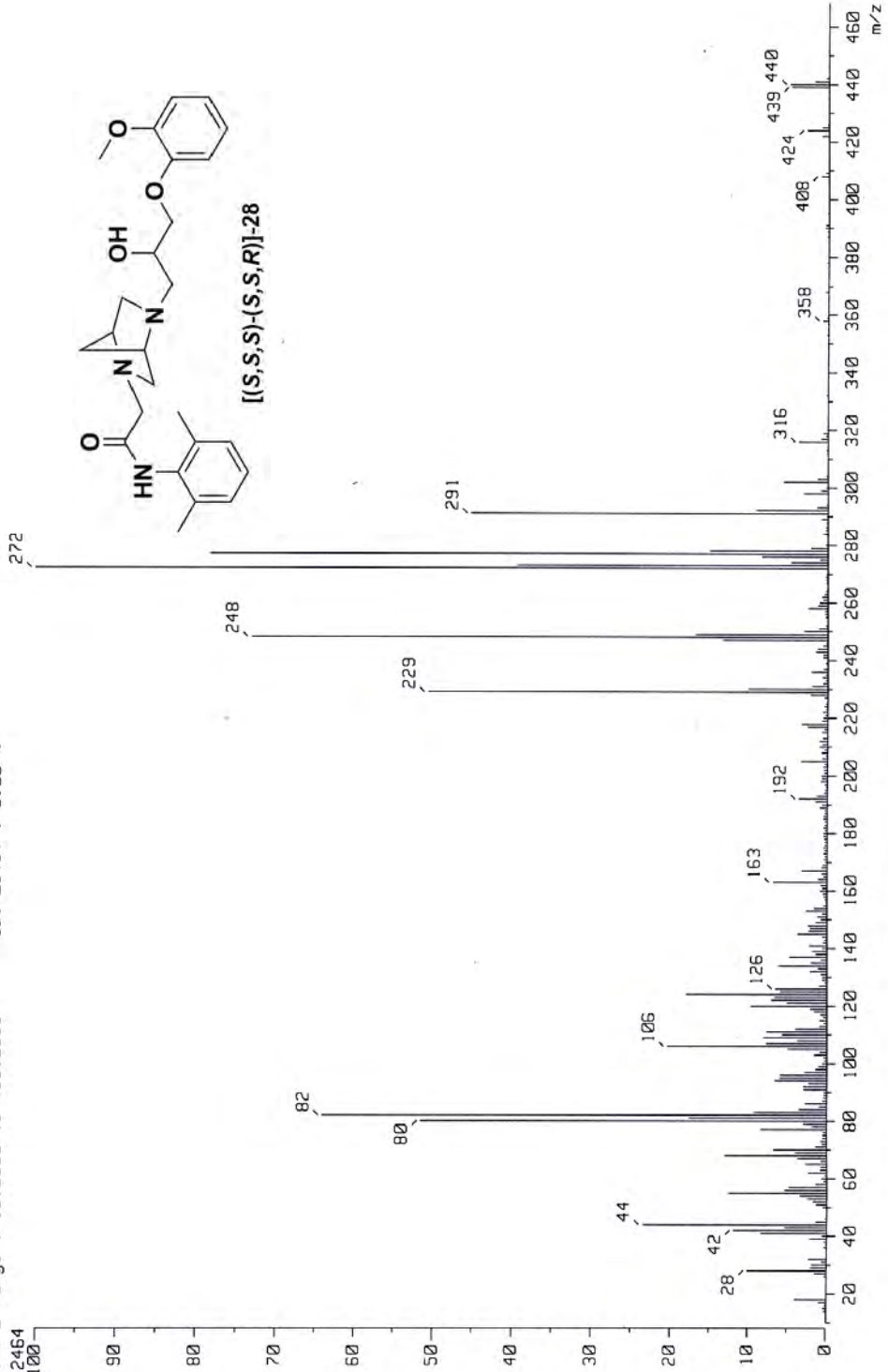
CDC13
Bruker-Avance 300MHz-F
13C

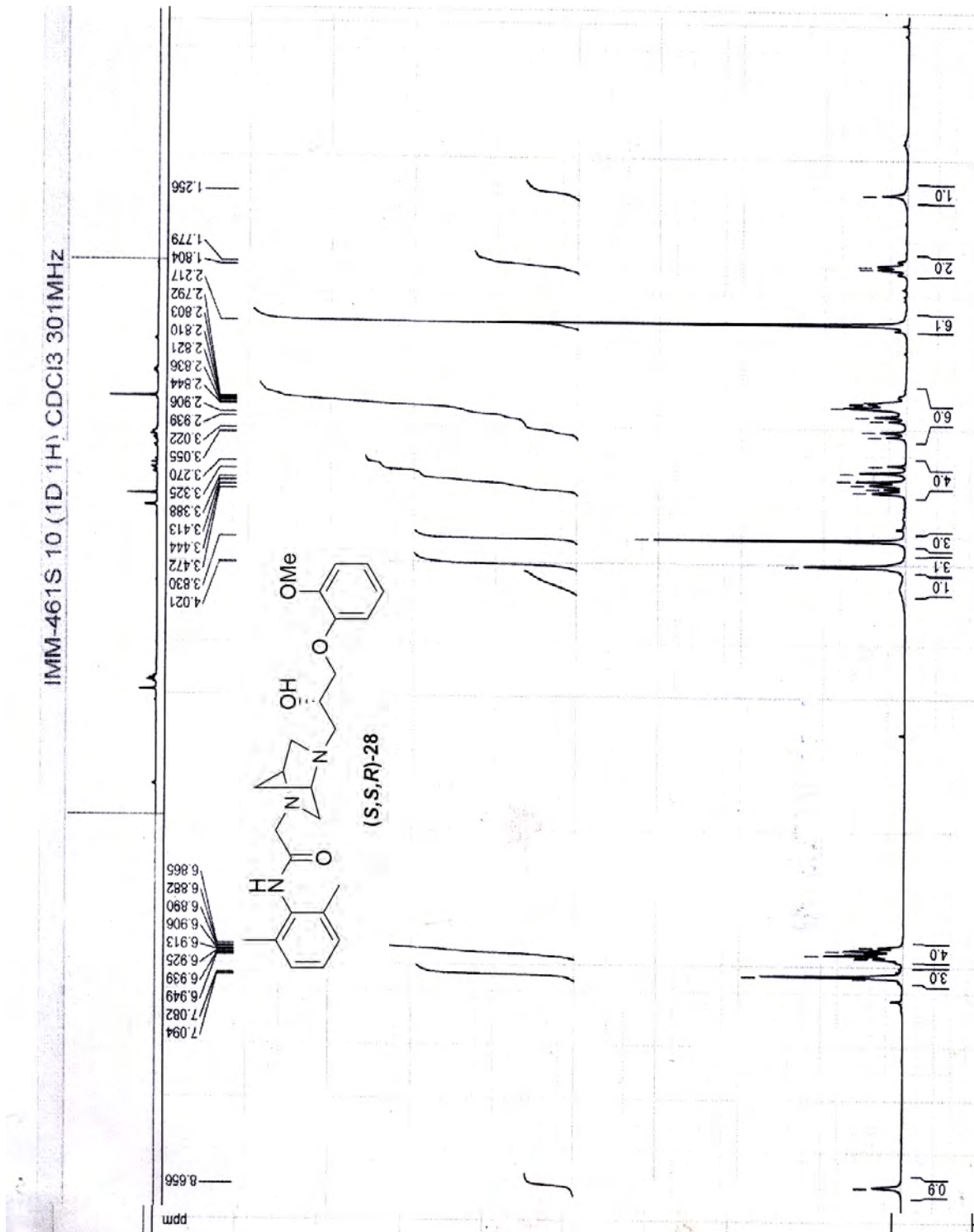
No. Registro: 3841
21-11-08





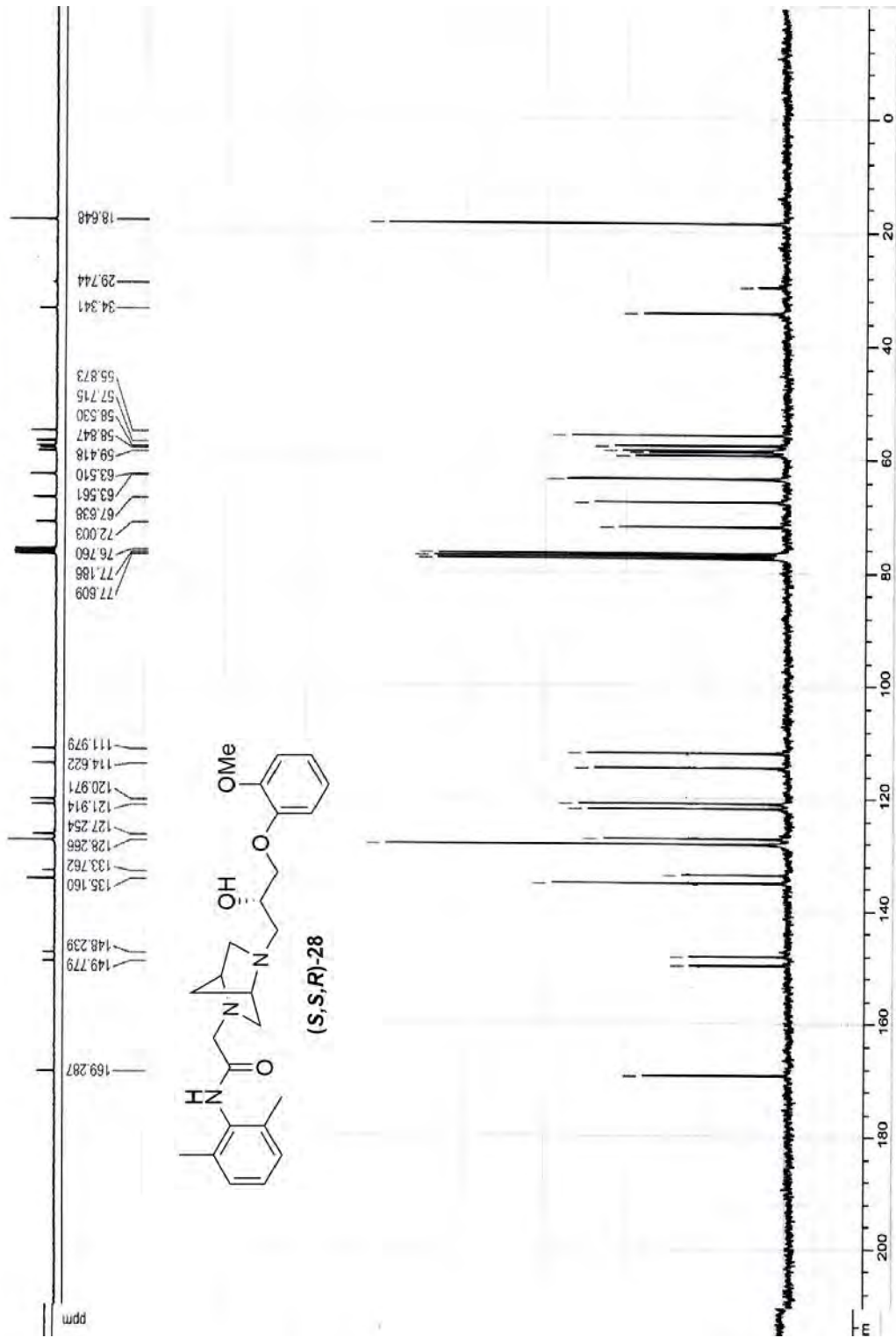
[Mass Spectrum]
Data : Dr-Regia-Ignacio-013 Date : 20-Nov-120 10:20
Sample: 2751 M242 IMM-76 JeeIRX505HA
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.52 min Scan# : (11,18)
BP : m/z 272.0000 Int. : 1444.10
Output m/z range : 10.0000 to 468.2938
15142464

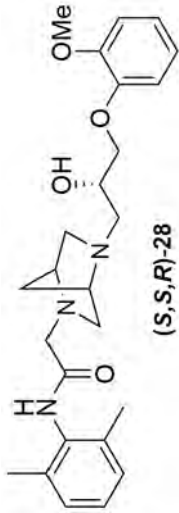




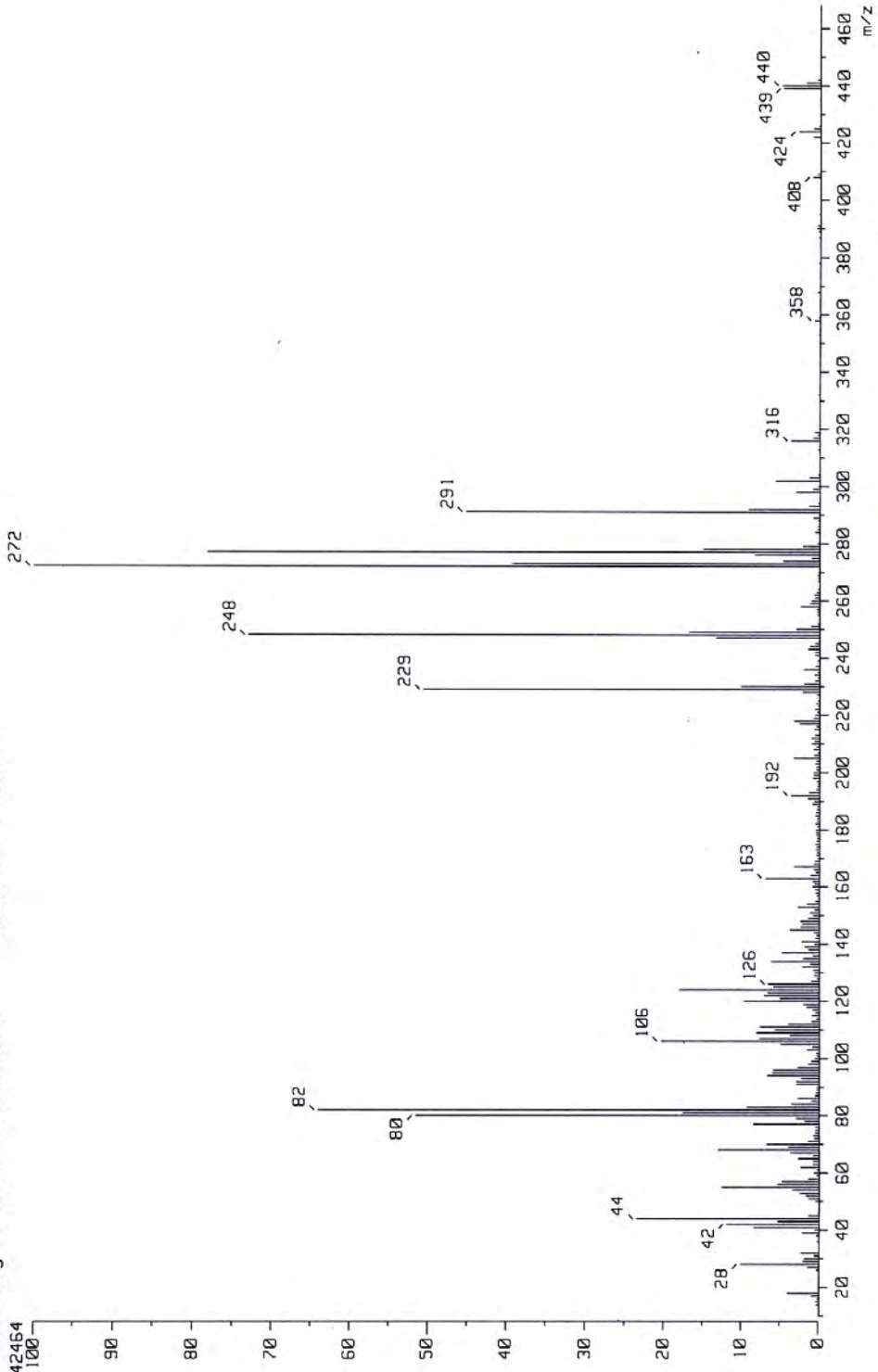


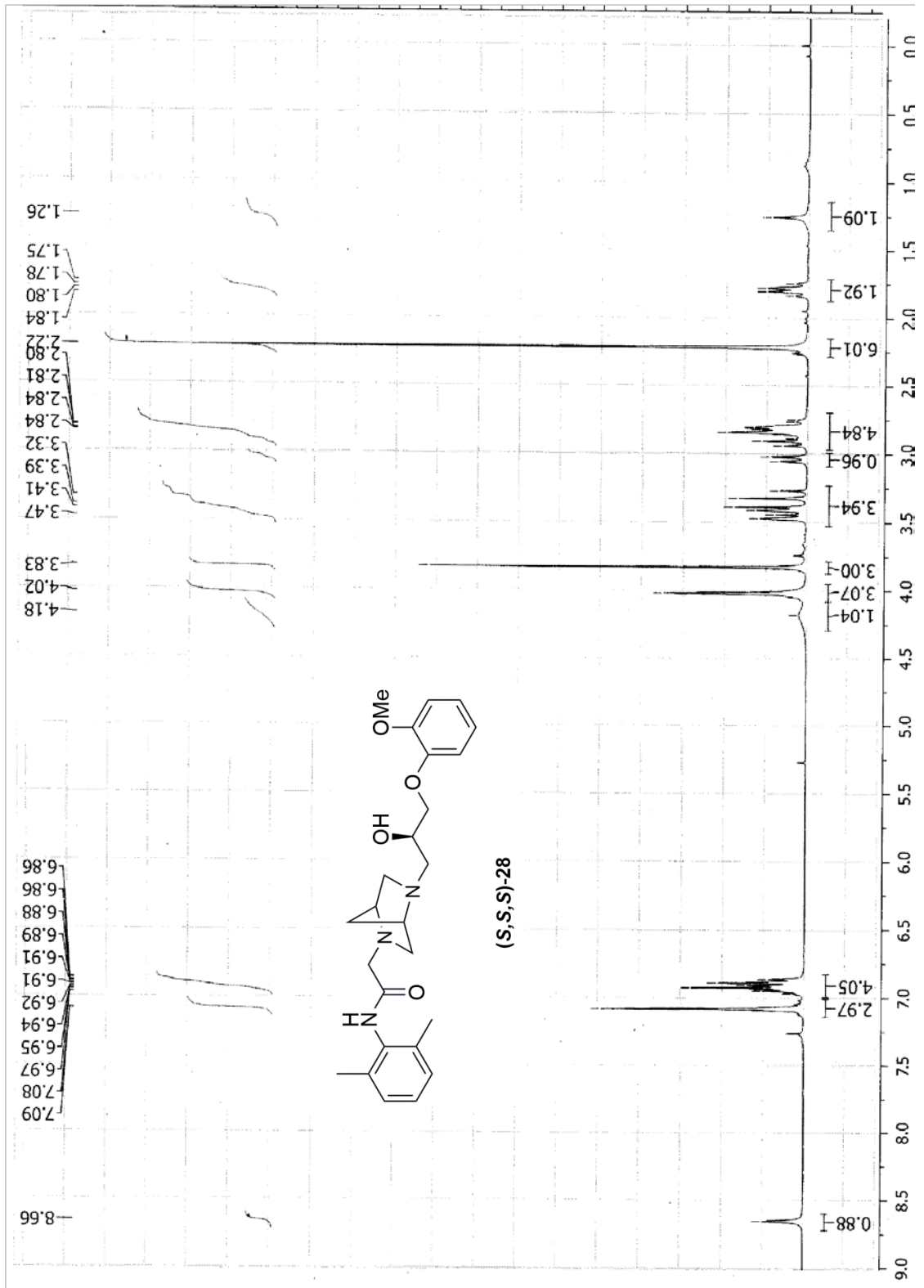
IMM-461S 11 (1D 13C) CDCl3 301MHz

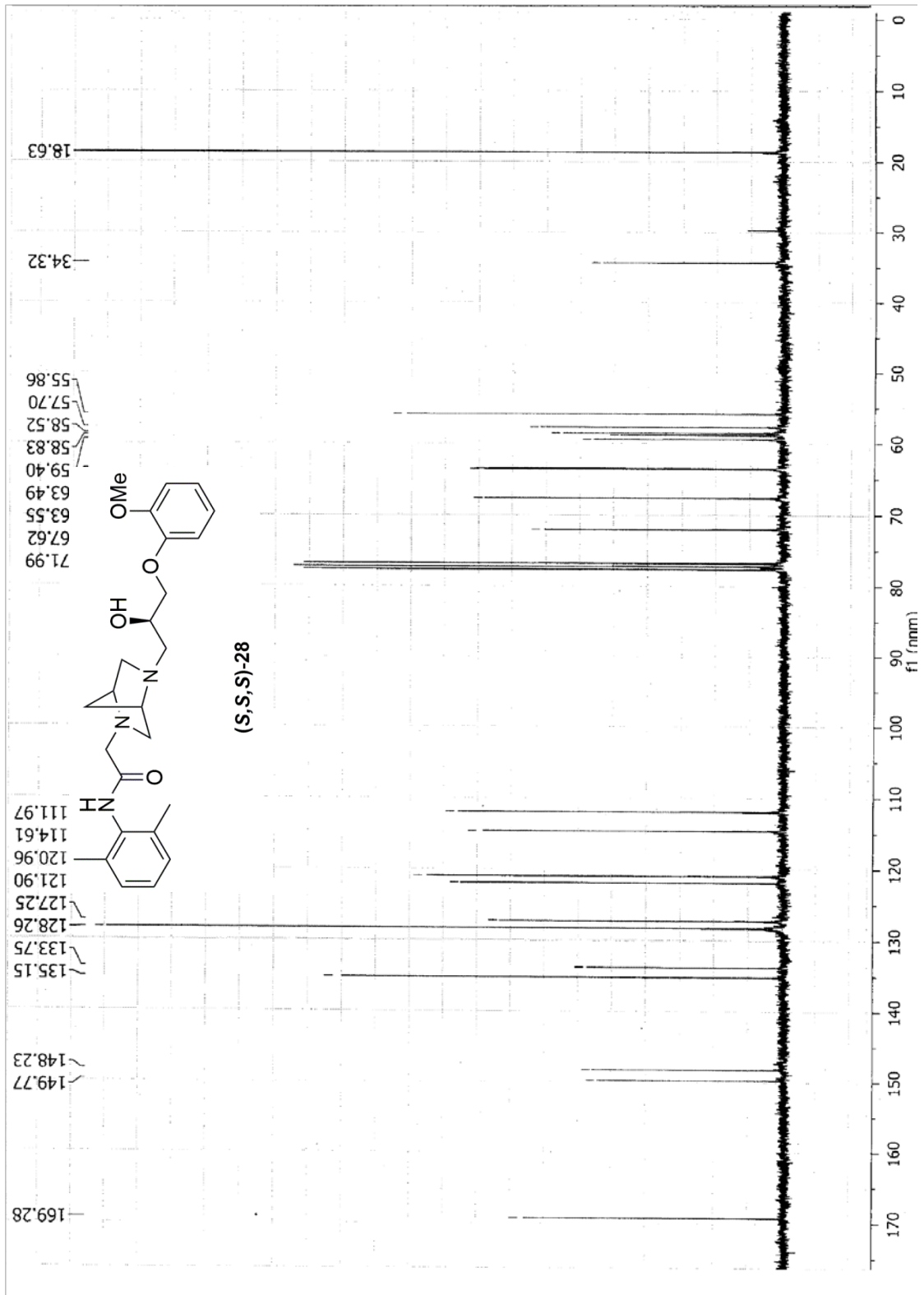


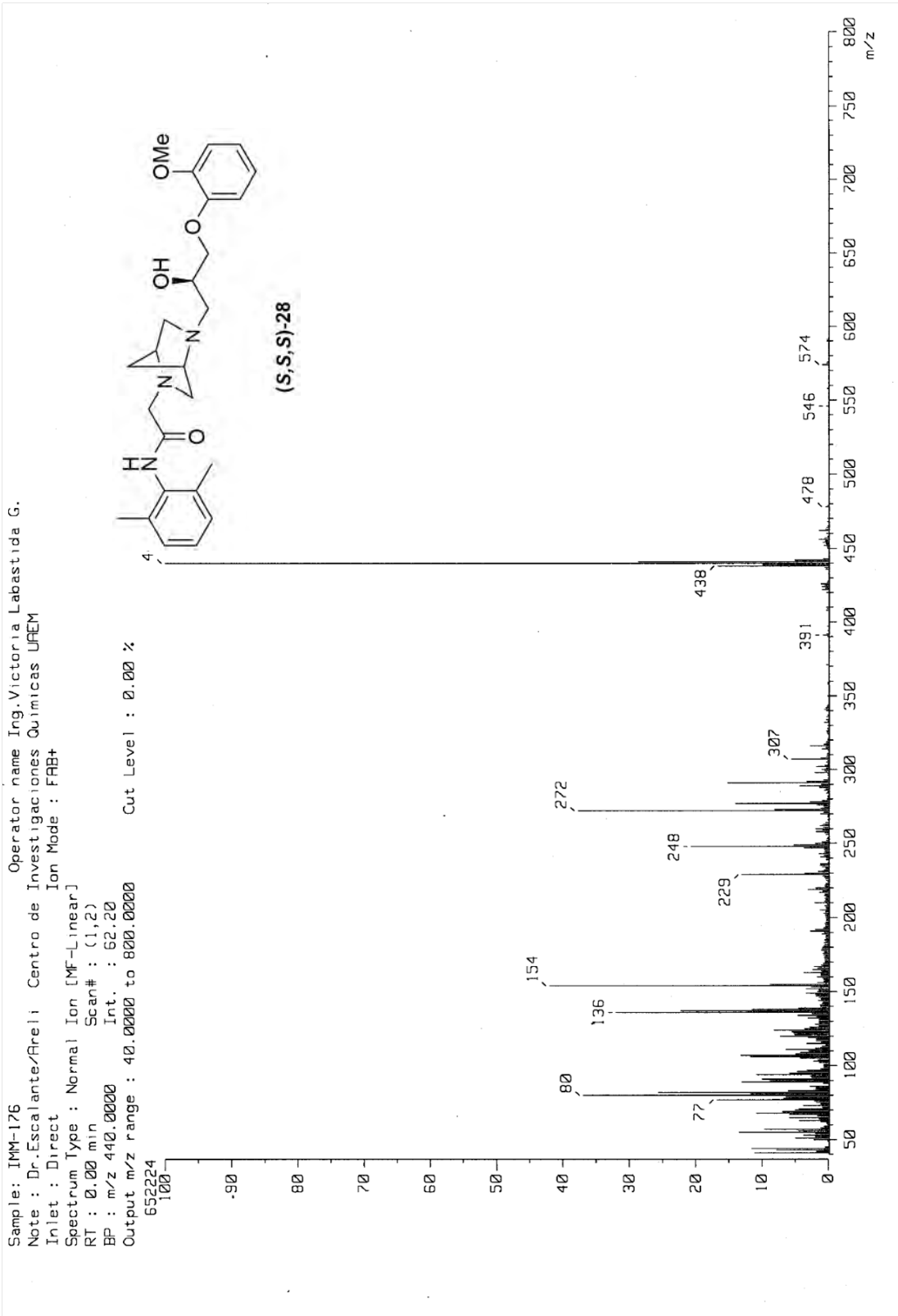


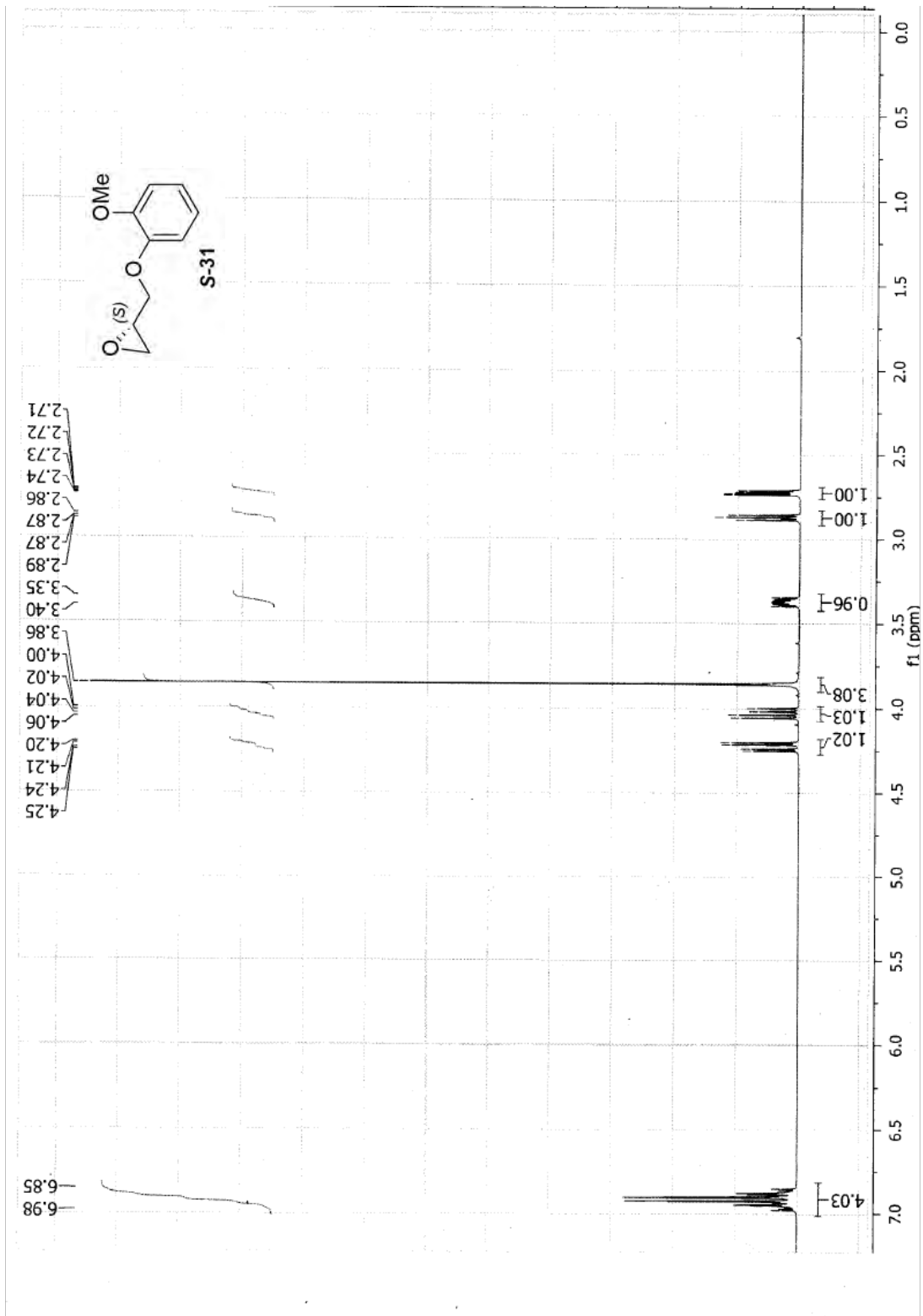
[Mass Spectrum]
Data : Dr-Regla-Ignacio-013 Date : 20-Nov-120 10:20
Sample: 2751 M242 IMM-76 JeolRX505HF
Note : Javier-Perez
Inlet : Direct Ion Mode : EI+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 0.52 min Scan# : (11,18)
BP : m/z 272.0000 Int. : 1444.10
Output m/z range : 10.0000 to 468.2938
15142454

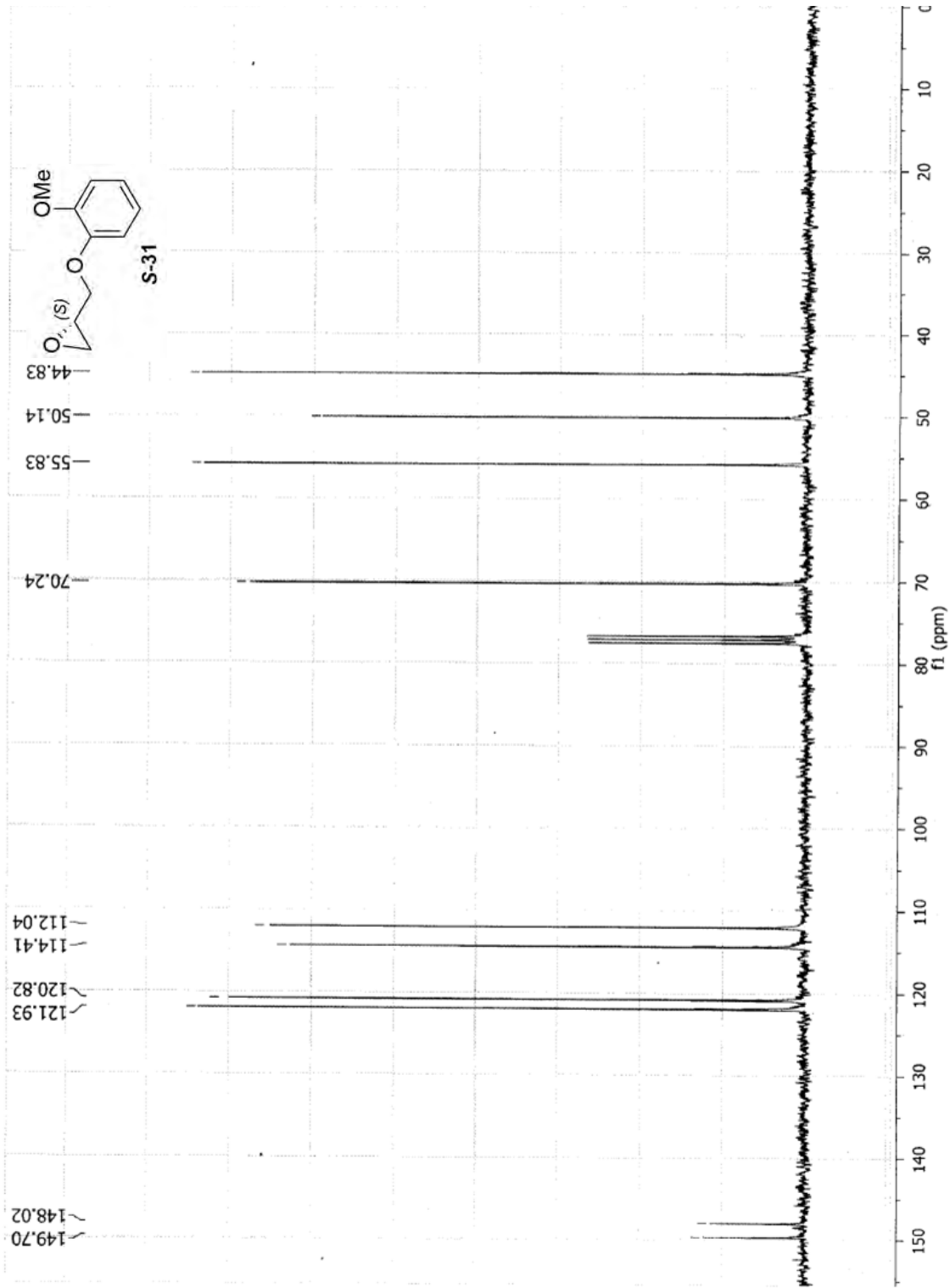


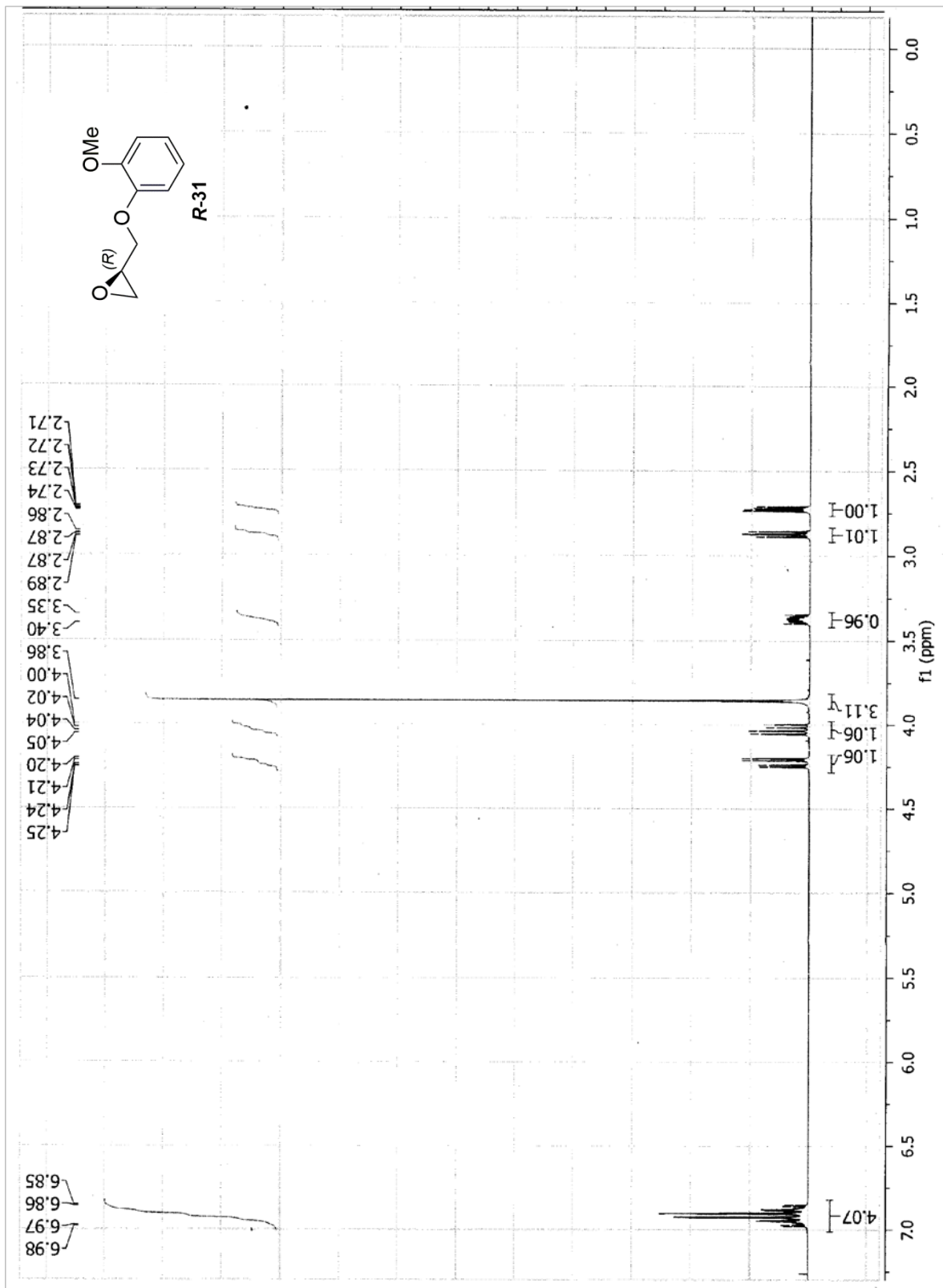


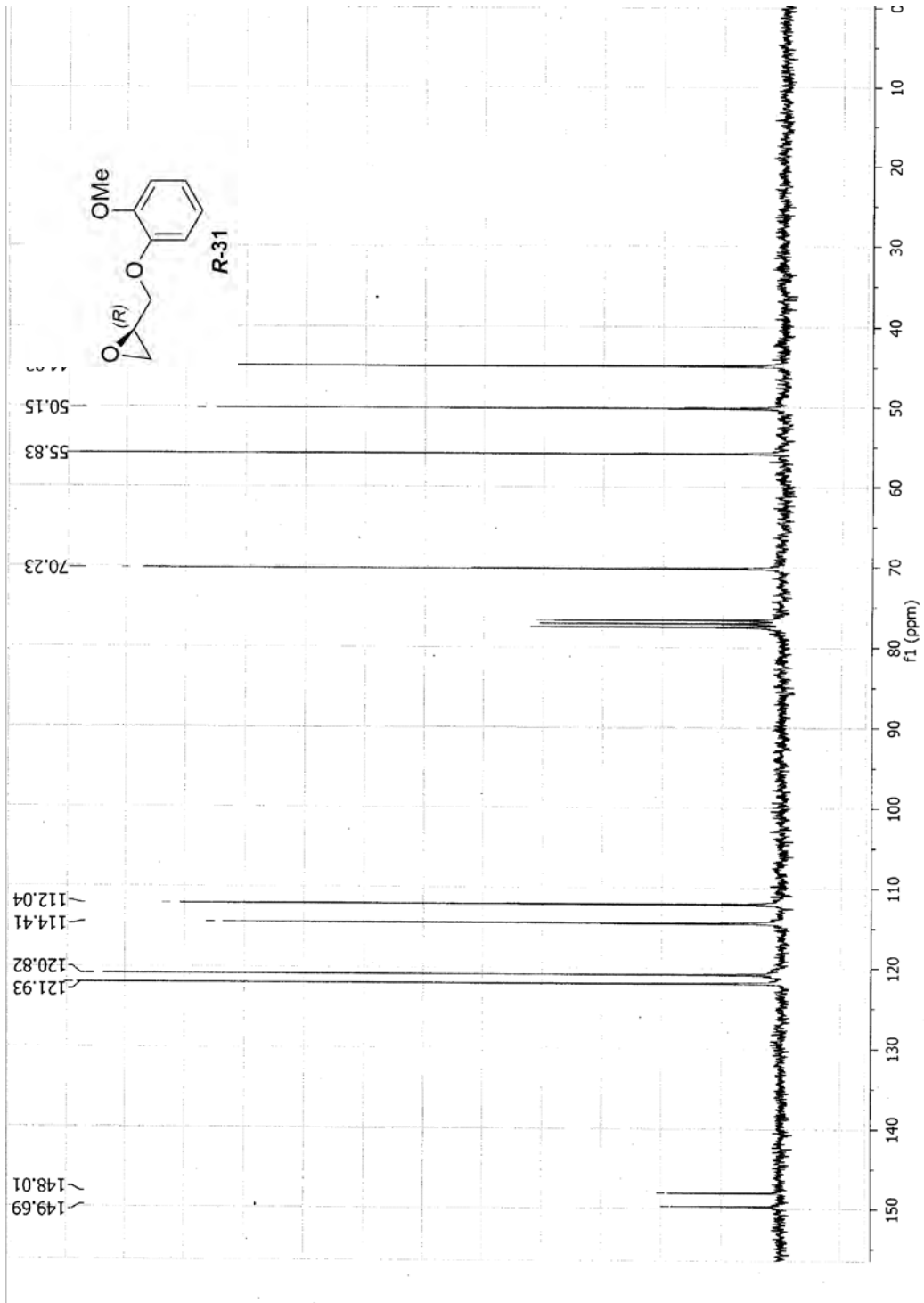


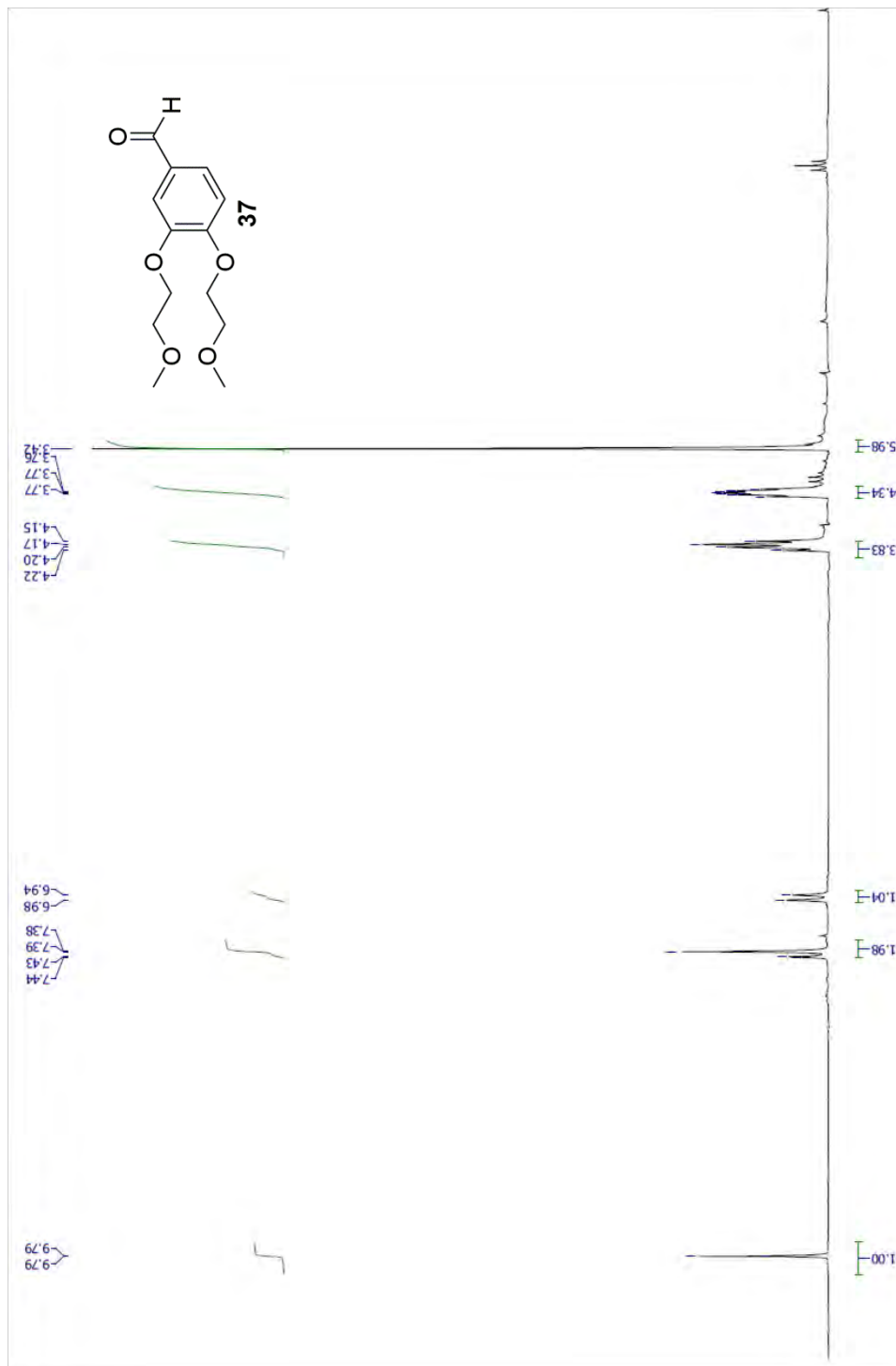


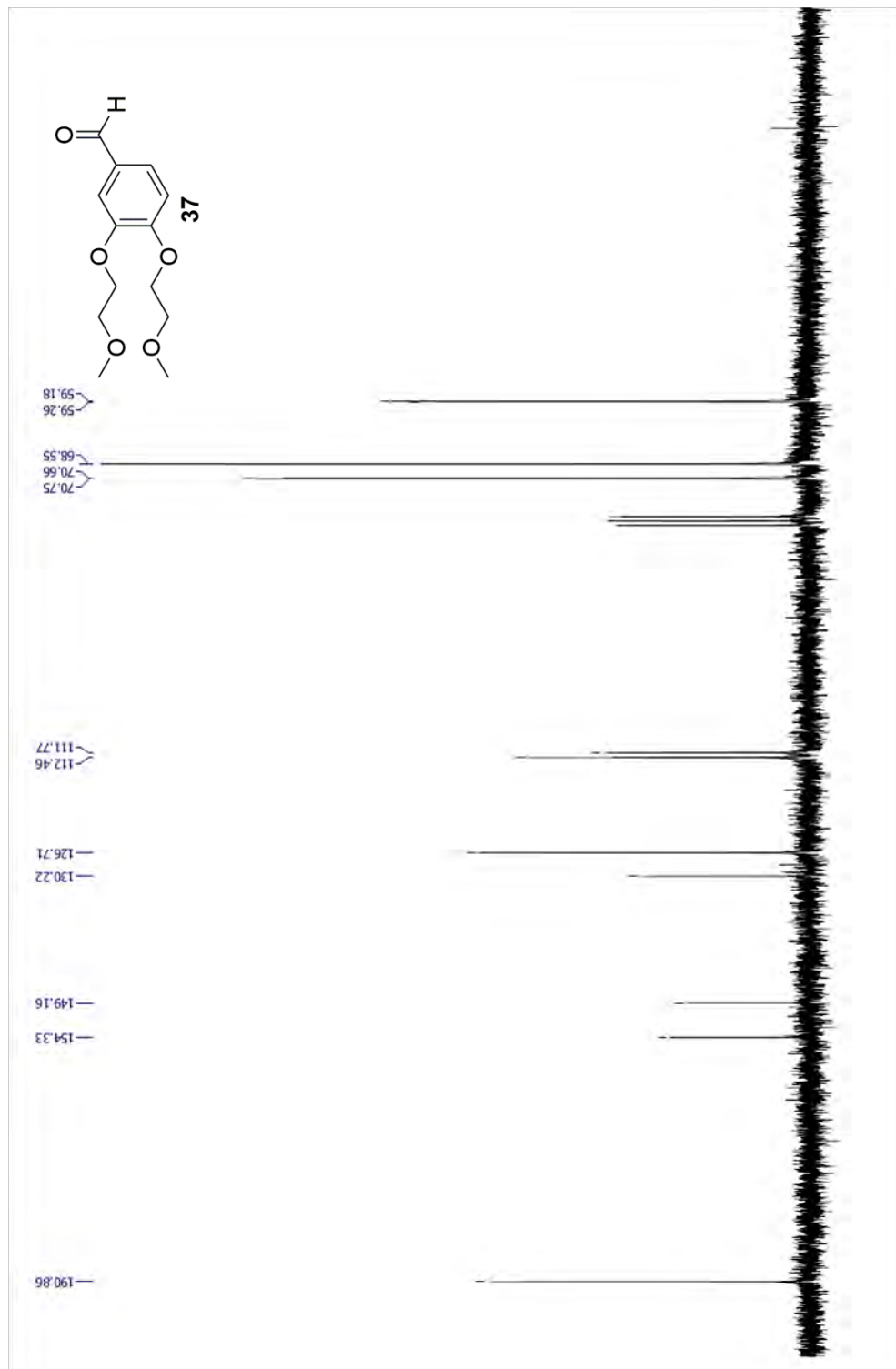


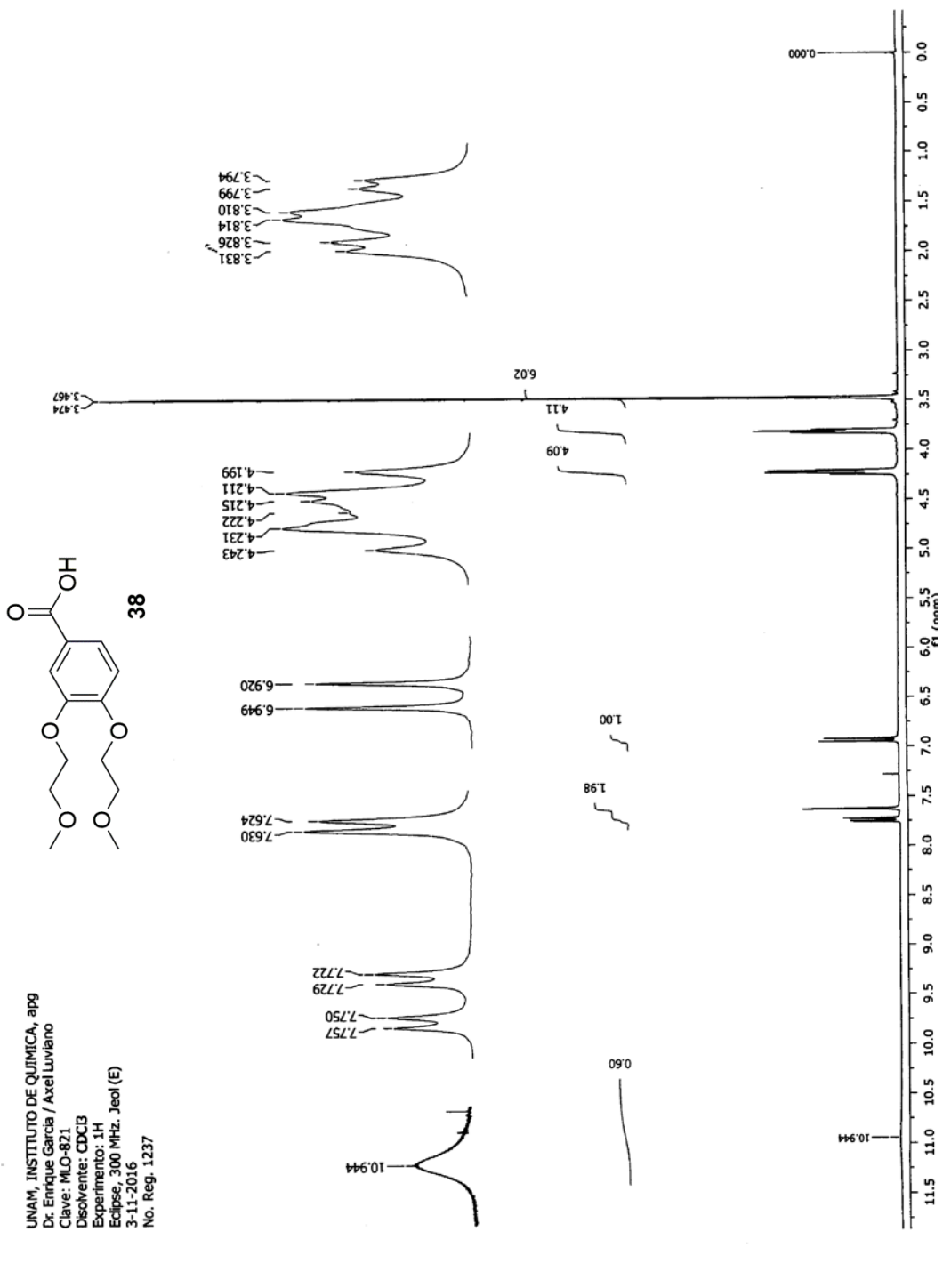


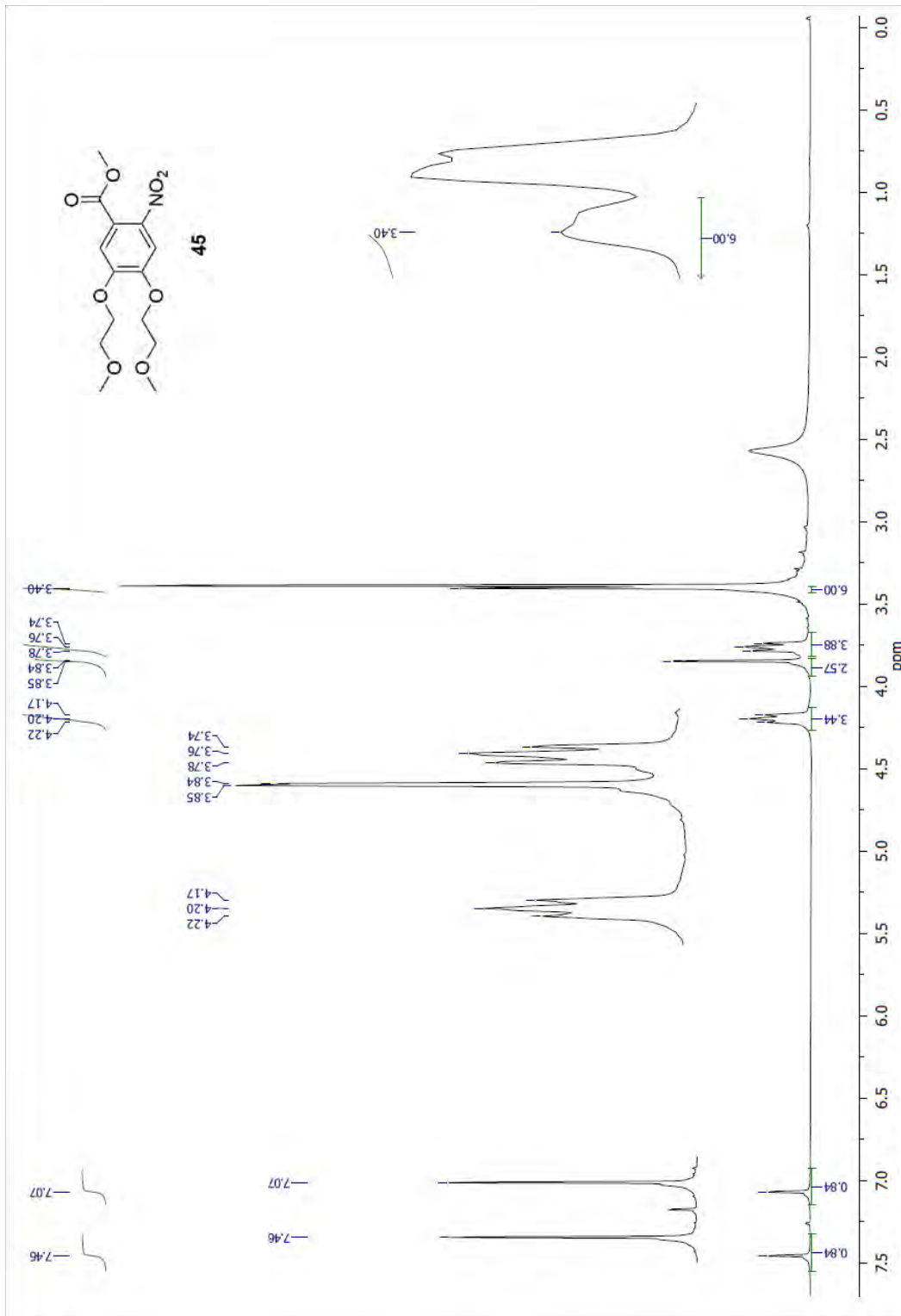


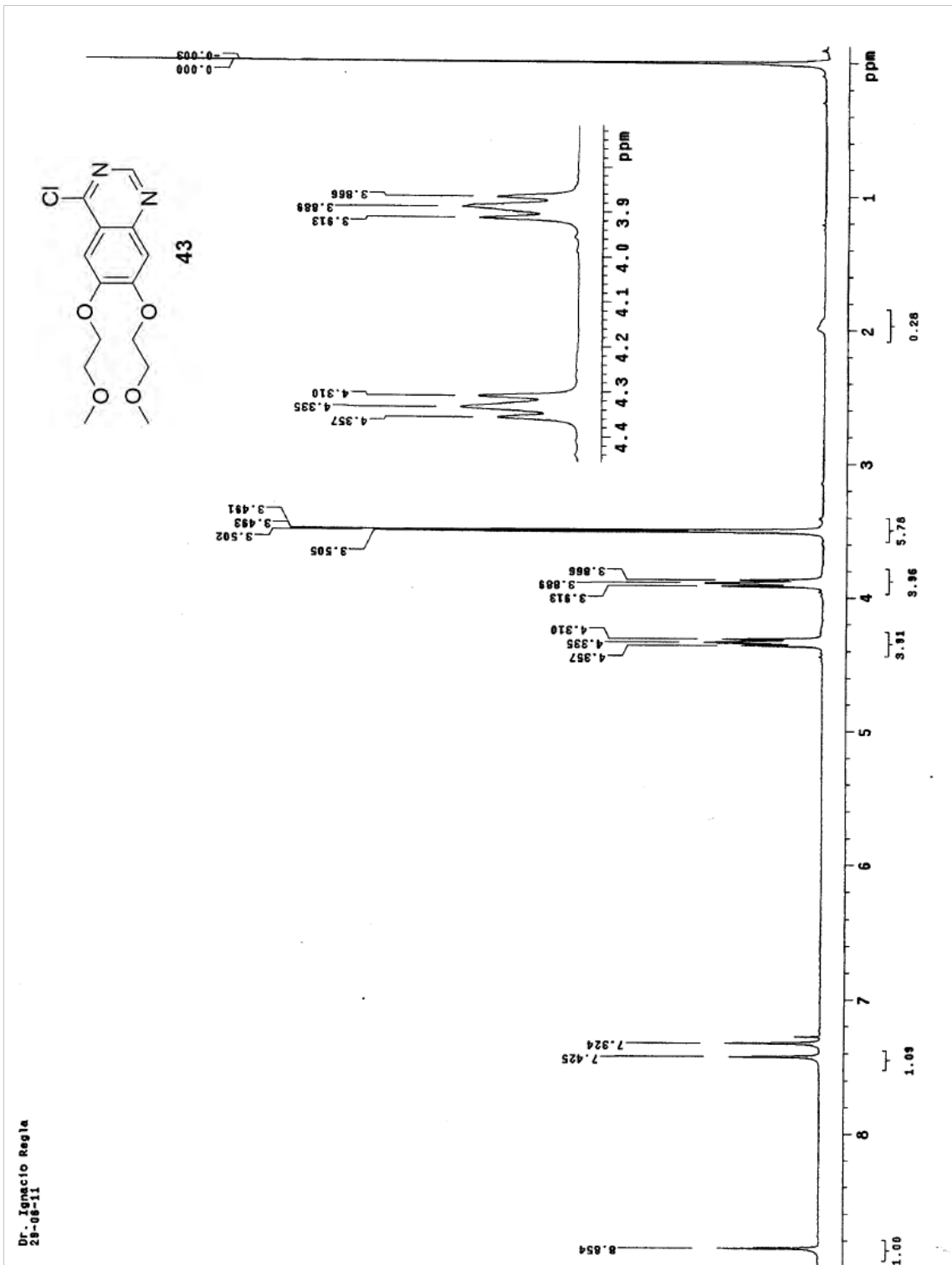


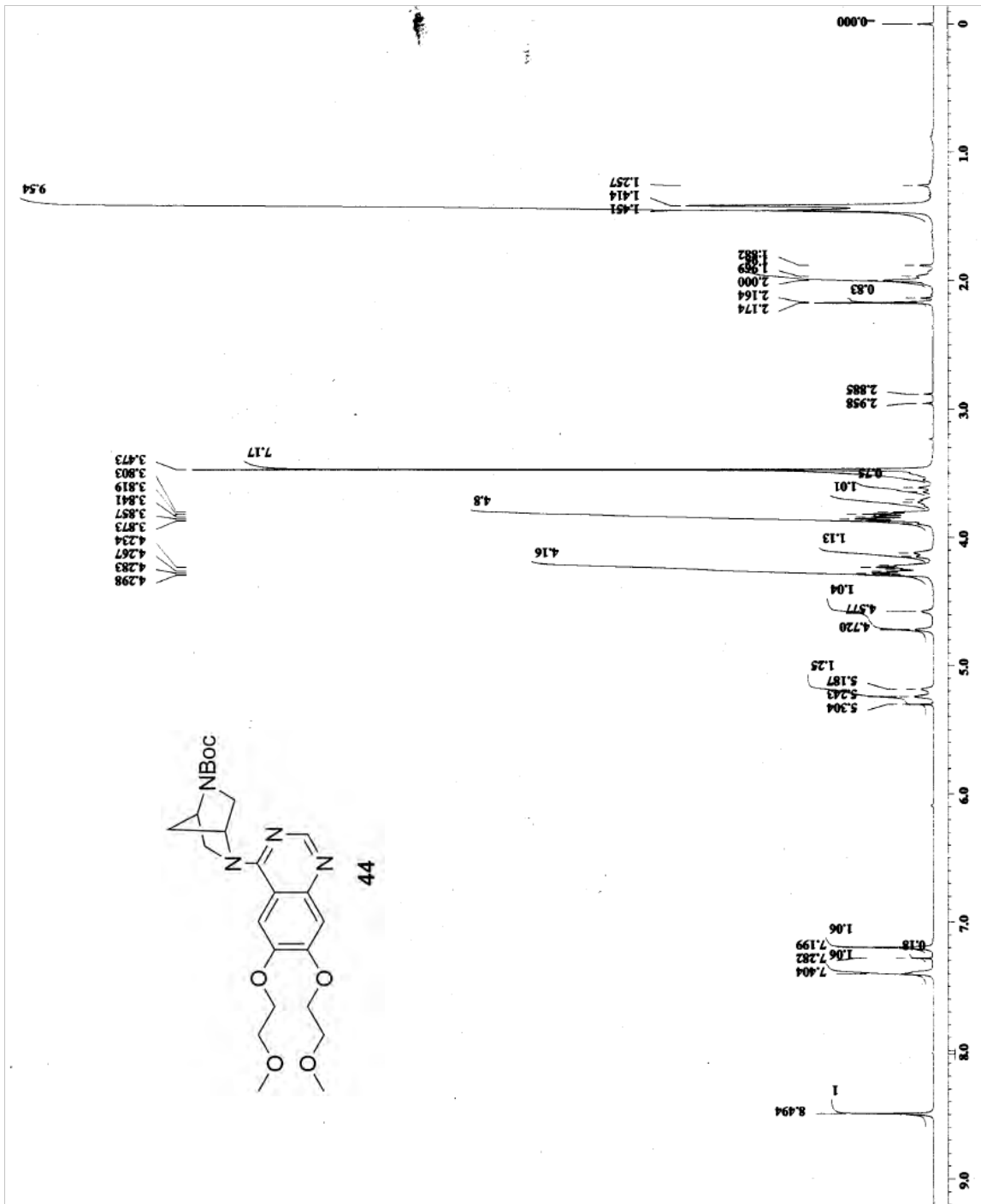


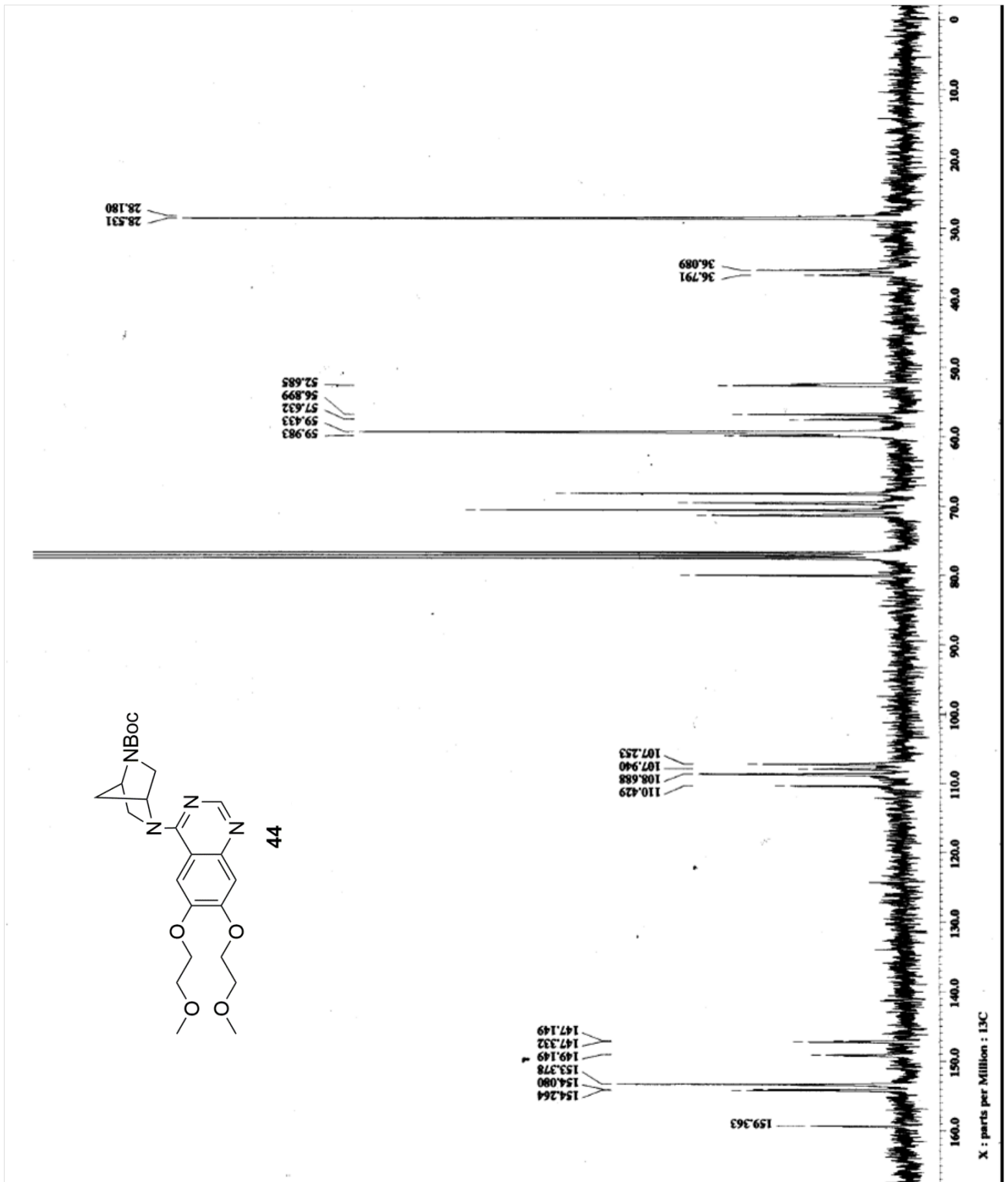


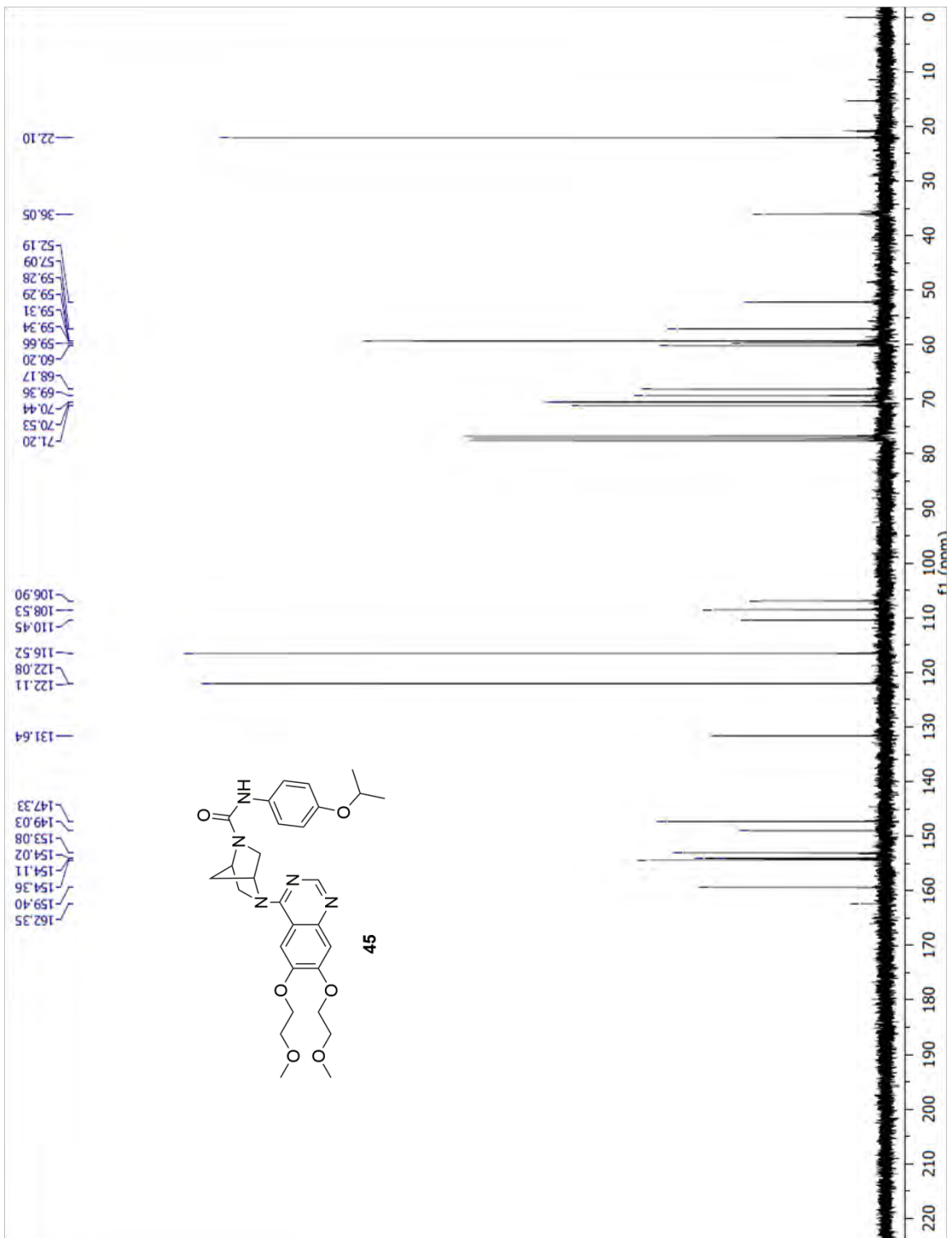


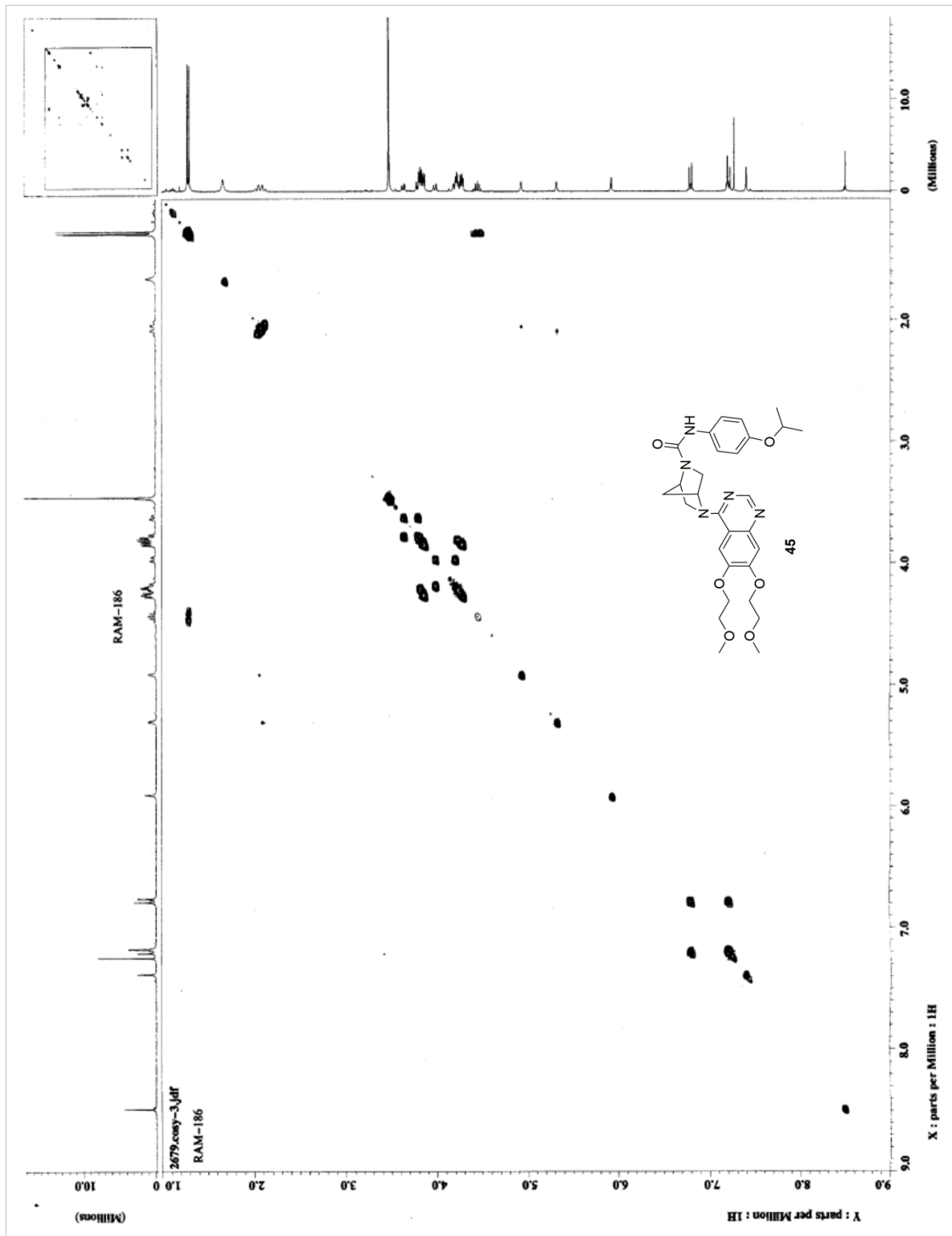


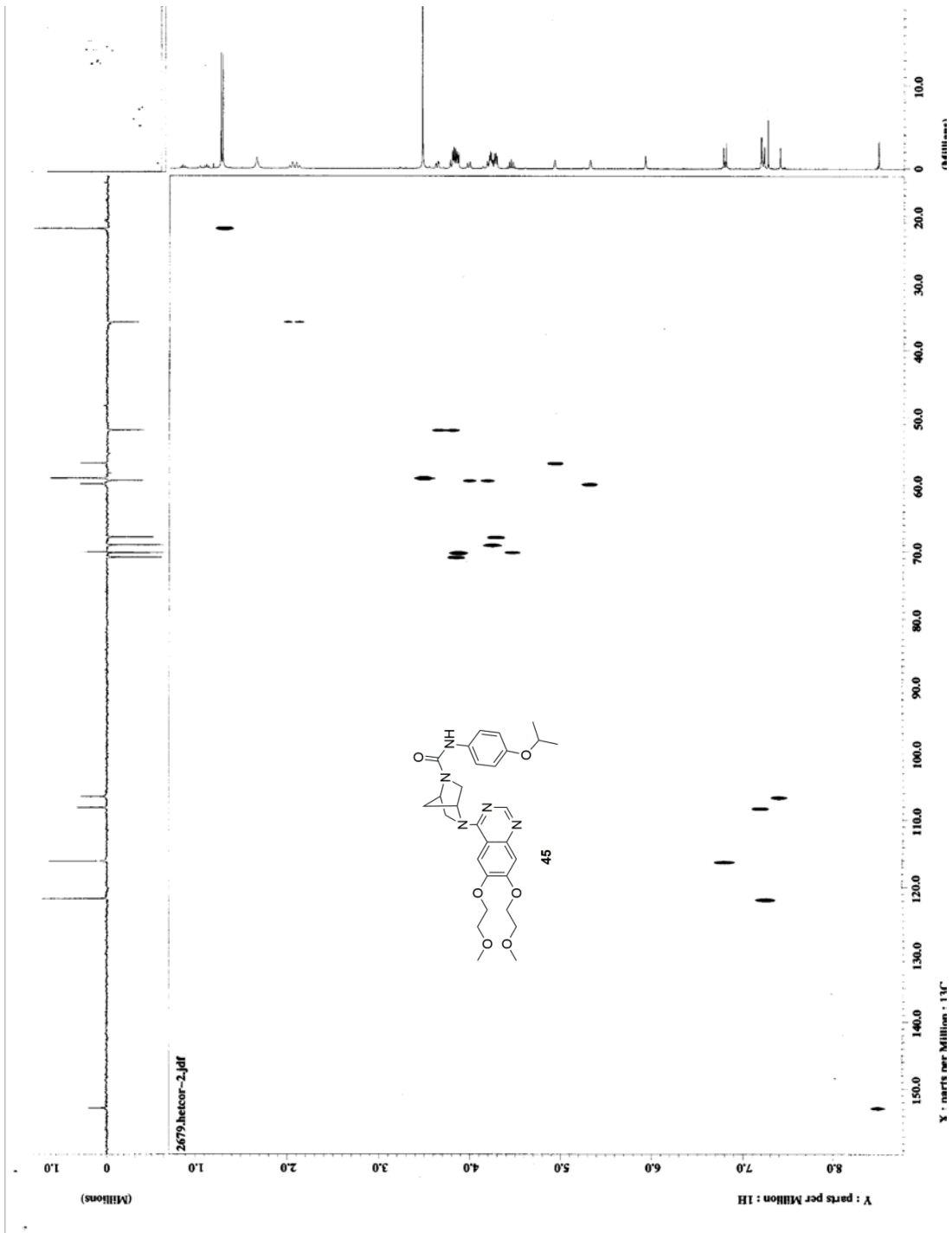














Artículo



Synthesis of Ranolazine Derivatives Containing the (1*S*,4*S*)-2,5-Diazabicyclo[2.2.1]Heptane Moiety and Their Evaluation as Vasodilating Agents

Manuel López-Ortiz¹, Ivan Monsalvo¹, Patricia Demare¹, Cristina Paredes², Dieter Mascher², Carlos Hernández², Marcos Hernández³ and Ignacio Regla^{1,*}

¹Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Batalla del 5 de Mayo y Fuerte de Loreto, Iztapalapa, 09230, México, D.F., México

²Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F., México

³Instituto de Química, UNAM, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F., México

*Corresponding author: Ignacio Regla, regla@unam.com

Two diazabicyclic analogues of ranolazine, (S,S,S)-5 and (S,S,R)-5, and their epimeric mixture were synthesized. Furthermore, their vasomotor effects on rat aorta rings precontracted with phenylephrine were analyzed. These compounds showed vasodilating effects significantly greater than ranolazine. The vasodilating activities of these analogues have two components, one that depends on the endothelium, due to the release of NO, and another one due to a direct effect on the vascular smooth muscle. The compounds [(S,S,S)(S,S,R)]-5 and (S,S,R)-5 induce, in a manner similar to ranolazine, the release of a prostanoid from the cyclooxygenase pathway, whose vasoconstrictor effect is masked by the predominant vasodilation induced by these compounds.

Key words: chemical structure, chirality relationship to biology, drug discovery, ranolazine

Received 24 August 2013, revised 20 November 2013 and accepted for publication 6 January 2014

Ranolazine (Figure 2A) is a compound employed in the treatment for chronic stable angina pectoris. It was approved by the FDA in 2006 and was the first drug authorized over 20 years in USA for this disease (1). The mechanism of action of this drug involves the inhibition of the entrance of Na⁺ through the Na⁺ slow channels, thus avoiding the intracellular overload of Ca²⁺ and avoiding damage to the myocardial cells, dysfunction, and instability of the electrical activity (2). Recently, Paredes-Carbajal and co-workers (3) reported that this drug has a vasodilating effect on rat aorta rings, which is mostly endothelium independent.

The (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane (DBH) system, described for the first time in 1966 (4), is structurally equivalent to a piperazine, but it has a conformationally restricted equilibrium. This system has been incorporated to some compounds of medicinal character, that is, benzothiazoles A and B, with antianginal activity (Figure 1; 5).

In the search for improving the quality of life of patients with cardiovascular diseases, the development of more efficient pharmacological treatments takes a greatly important role due to the need of new and more active cardiovascular drugs with fewer side-effects.

In WO 01/62744 A2, Zablocki *et al.* (6) described the preparation of a wide number of ranolazine analogues, including some bicyclic compounds such as (S,S,S)-5, although they do not include any physical or spectroscopic data, nor the pharmacological assessment. Our research group, which has found interesting results in the substitution of the piperazine ring on diverse drugs by the diazabicyclic moiety (7), synthesized and evaluated the pharmacological activity, as antianginal agents, of the epimeric mixture of the ranolazine analogue in which the piperazine ring is replaced by the (1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane moiety (Figure 2B), and of both epimers of this compound (Figure 2C).

Experimental Section

Synthesis

General experimental conditions

All starting materials were purchased from Aldrich, while the solvents used were purified by distillation prior to use. Solvent mixtures employed in chromatography were reported as volume-to-volume ratios.

Melting points were determined in open capillaries in a Buchi SMP 20 melting point apparatus. The products were characterized by ¹H and ¹³C NMR in a 300-MHz JEOL Eclipse equipment using tetramethylsilane as an internal standard and CDCl₃ as a solvent; the chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm) from tetramethylsilane; the signals were assigned according to the following

Figure 1: Chemical structures of diazabicyclic benzothiazoles A and B.

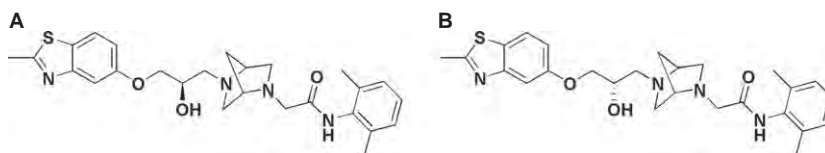
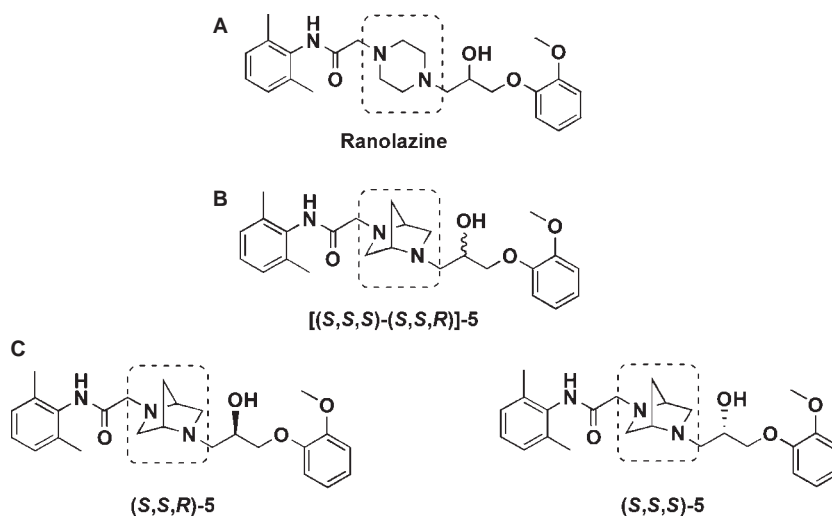


Figure 2: (A) Ranolazine, (B) epimeric mixture of the ranolazine analogue **5**, and (C) epimers of ranolazine analogue.



abbreviations: s = singlet, d = doublet, dd = doublet of doublets, t = triplet, m = multiplet, br = broad singlet.

High-resolution mass spectra (HRMS) were determined in a MStation JMS-700 equipment. The infrared spectra were obtained in an infrared Bruker tensor 27 spectrometer. Optical rotations were determined in a Perkin-Elmer 341 polarimeter using a 1-dm cell length. Measurements were carried out using the sodium D-line (589 nm), at a sample compartment temperature of 20 °C and a concentration of 1% m/v. The specific rotations are reported along with the solvent used.

2-Bromo-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide (**2**)

In a 500-mL round-bottom flask equipped with magnetic stirrer, 19.2 g (158 mmol) of **1** was dissolved in 200 mL of CHCl_3 and 25.2 mL (16 g, 158 mmol) of Et_3N was added. The reaction mixture was cooled to -10°C , stirred for 15 min and then 14.1 mL (32 g, 158 mmol) of bromoacetyl bromide, previously dissolved in 80 mL of CHCl_3 , was added slowly (for 2 h). Stirring was continued for 15 min, and the mixture was washed with water (3×50 mL) and with 1N HCl (2×20 mL) until acidic pH in the aqueous phase. The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated under reduced pressure on a rotary evaporator. A solid product weighing 39 g was obtained and crystallized in five parts of MeOH to give 33.8 g (88% yield) of **2** as white crystals. Mp: 158–160 °C; IR (KBr per cm) ν : 3212, 3041, 2973, 1637, 1527, 1469, 1213, 1119, 758, 512; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.22 (s, 6H), 4.03 (s, 2H), 7.05–7.13 (m, 3H), 7.78 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.2, 29.0, 127.8, 128.3, 132.9, 135.3, 164.0.

2-[5-Benzyl-(1*S*,4*S*)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl]-*N*-(2,6-dimethylphenyl) acetamide [(*S,S*)-**3**]

In a 250-mL round-bottom flask equipped with magnetic stirring were dissolved 5 g (21 mmol) of **2**, 3.9 g (21 mmol) of 2-benzyl-DBH, and 3.3 mL (2.5 g, 21 mmol) of Et_3N in 100 mL of CH_2Cl_2 ; the mixture was then stirred for 24 h. It was rinsed with water (3×50 mL); the organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated under reduced pressure to give 7.8 g of crude product which was heated under reflux, with stirring, in hexane (40 mL) for 1 h, allowed to cool to room temperature and filtered to give 6.5 g (90% yield) of (*S,S*)-**3** as white crystals. Mp: 126–128 °C; $[\alpha]_D^{20} = +2.6$ (c 1, MeOH); IR (KBr, cm^{-1}) ν_{max} : 3240, 2972, 2844, 1662, 1496, 762, 721, 696, 501; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.73 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 1.86 (d, 1H, $J = 9.9$ Hz), 2.23 (s, 6H), 2.73–2.78 (m, 2H), 2.81 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 3.05 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz), 3.33 (d, 1H, $J = 16.8$ Hz), 3.4 (s, 2H), 3.45 (d, 1H, $J = 16.8$ Hz), 3.72 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz), 7.05–7.10 (m, 3H), 7.21–7.37 (m, 5H), 8.72 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.5, 33.9, 57.7, 58.1, 58.4, 59.4, 61.5, 63.8, 126.9, 127.1, 128.1, 128.3, 128.4, 133.7, 135.1, 139.4, 169.4; HRMS (FAB⁺): m/z calculated for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 350.2232, found: 350.2216.

2-[(1*S*,4*S*)-5-*H*-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl]-*N*-(2,6-dimethylphenyl) acetamide [(*S,S*)-**4**]

In a 500-mL hydrogenation flask, 6.5 g (19 mmol) of (*S,S*)-**3** was dissolved in 38 mL (38 mmol) of 1N HCl; then 62 mL of H_2O , 100 mL of MeOH and 650 mg of 10% Pd/C were added. Hydrogenation at 60 psi was carried out for 2 h. MeOH was evaporated under vacuum and 38 mL (38 mmol)

of 1N NaOH was added; the mixture was extracted with CH_2Cl_2 (3 × 25 mL); the organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated under reduced pressure to obtain 4.8 g (99% yield) of **(S,S)-4** as white crystals. Mp: 131–132 °C; $[\alpha]_D^{20} = +25.1$ (c 1, MeOH); IR (KBr per cm) ν_{max} : 3208, 2962, 2856, 1658, 1492, 767, 518; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.68 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 1.83 (d, 1H, J = 9.9 Hz), 2.22 (s, 6H), 2.76 (d, 1H, J = 10.2 Hz), 2.84 (br, 1H), 2.96 (dd, 1H, $J_2 = 10.5$ Hz, $J_1 = 2.1$ Hz), 3.01 (dd, 1H, $J_2 = 9.9$ Hz, $J_1 = 2.4$ Hz), 3.13 (dd, 1H, $J_2 = 10.5$ Hz, $J_1 = 0.6$ Hz), 3.31 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.42 (d, 1H, J = 16.8 Hz), 3.47 (s, 1H), 3.65 (s, 1H), 7.05–7.09 (m, 3H), 8.65 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.5, 36.0, 49.7, 57.1, 59.2, 62.7, 63.2, 127.1, 128.1, 133.6, 135.0, 169.2; HRMS (FAB⁺): m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}$ [M+H]⁺: 260.1763, found: 260.1773.

General procedure for the synthesis of compounds 7

In a round-bottom flask, equipped with a magnetic stirrer, a 0.7 M solution of **6** in epichlorohydrin was stirred at room temperature for 24 h. The excess epichlorohydrin was distilled off (30 °C/0.005 mmHg); the residue was suspended in AcOEt and rinsed with water. The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated on a rotary evaporator, affording the crude product which was purified by column chromatography (20 parts of flash silica, hexane/AcOEt 9:1).

(±)-2-[(2-Methoxyphenoxy)methyl]oxirane (rac-7). According to the general procedure, from 30 mL of 0.7 M solution of **6** (21 mmol) in (±)-epichlorohydrin was obtained 3.5 g of **rac-7**, as a light yellow solid (95% yield). Mp: 38 °C, [Lit. (9) Mp: 38–40 °C]; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.73 (dd, 1H, $J_2 = 5.1$ Hz, $J_1 = 2.4$ Hz), 2.86–2.89 (m, 1H), 3.35–3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 5.4$ Hz), 4.23 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 3.6$ Hz), 6.88–6.95 (m, 4H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 44.8, 50.1, 55.8, 70.1, 112.0, 114.3, 120.8, 121.8, 148.0, 149.6.

(S)-2-[(2-Methoxyphenoxy)methyl]oxirane [(S)-7]. According to the general procedure, 4.9 mL of 0.7 M solution of **6** (3.4 mmol) in (R)-epichlorohydrin afforded 530 mg of **(S)-7**, as a slightly yellow solid (86% yield). Mp: 55–56 °C; $[\alpha]_D^{20} = +15.9$ (c 1, MeOH), {Lit. (8) Mp: 59–60 °C; $[\alpha]_D^{20} = +13.0$ (c 0.61, EtOH)}; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.72 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 2.6$ Hz), 2.87 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 4.1$ Hz), 3.35–3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 5.5$ Hz), 4.23 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 3.6$ Hz), 6.85–6.98 (m, 4H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 44.8, 50.1, 55.8, 70.4, 112.0, 114.4, 120.8, 121.9, 148.0, 149.7.

(R)-2-[(2-Methoxyphenoxy)methyl]oxirane [(R)-7]. According to the general procedure, from 4.9 mL of 0.7 M solution of **6** (3.4 mmol) in (S)-epichlorohydrin there was

obtained 555 mg of **(S)-7**, as a light yellow solid (90% yield). Mp: 56–57 °C; $[\alpha]_D^{20} = -14.2$ (c 1, MeOH), {Lit. (8) Mp: 59–60 °C; $[\alpha]_D^{20} = -12.9$ (c 0.53, EtOH)}; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 2.72 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 2.6$ Hz), 2.87 (dd, 1H, $J_2 = 4.9$ Hz, $J_1 = 4.3$ Hz), 3.35–3.40 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 4.03 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 5.5$ Hz), 4.23 (dd, 1H, $J_2 = 11.4$ Hz, $J_1 = 3.6$ Hz), 6.85–6.98 (m, 4H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 44.8, 50.2, 55.8, 70.2, 112.0, 114.4, 120.8, 121.9, 148.0, 149.7.

General procedure for the synthesis of analogues 5

In a round-bottom flask were dissolved **(S,S)-4** and the corresponding oxirane **7** in MeOH. The reaction mixture was stirred under reflux for 12 h, it was concentrated under reduced pressure on the rotary evaporator, one equivalent of 1N HCl was added, and the aqueous solution was washed with AcOEt. One equivalent of 1N NaOH was added to the aqueous solution and it was extracted with AcOEt; the organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated on the rotary evaporator to obtain the crude product, which was recrystallized from AcOEt or purified by column chromatography (20 parts of flash silica, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) to afford the pure product.

2-[(1S,4S)-5-[3-(2-methoxyphenoxy)-2-hydroxypropyl]-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl]-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamide {[(S,S,S)(S,S,R)-5]}. According to the general procedure, 6.1 g (13.9 mmol) of **[(S,S,S)(S,S,R)-5]** was obtained from 4.7 g (18 mmol) of **(S,S)-4** and 3.2 g (18 mmol) of **rac-7**, as a white powder (77% yield). The reaction was purified by recrystallization with AcOEt. Mp: 135–136 °C; IR (KBr, cm^{-1}) ν_{max} : 3253, 2864, 1633, 1504, 1253, 1230, 1025, 769, 734; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.76–1.82 (m, 2H), 2.23 (s, 6H), 2.61–2.89 (m, 4H), 2.93 (dd, 1H, $J_2 = 9.9$ Hz, $J_1 = 2.4$ Hz), 3.01 (dd, 1H, $J_2 = 10.2$ Hz, $J_1 = 4.5$ Hz), 3.31 (d, 1H, J = 16.5 Hz), 3.41 (s, 2H), 3.42 (d, 1H, J = 16.5 Hz), 3.59 (br, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.93–4.07 (m, 3H), 6.87–6.95 (m, 4H), 7.05–7.09 (m, 3H), 8.64 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.5, 34.3, 34.9, 55.8, 57.3, 57.5, 58.0, 58.6, 58.7, 59.4, 63.0, 63.2, 63.6, 67.7, 72.0, 72.1, 111.9, 114.7, 120.9, 121.8, 127.1, 128.2, 133.7, 135.0, 148.2, 149.8, 169.1.

2-[(1S,4S)-5-[(2S)-3-(2-methoxyphenoxy)-2-hydroxypropyl]-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptan-2-yl]-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamide [(S,S,S)-5]. According to the general procedure, 748 mg (1.7 mmol) of **(S,S,S)-5** was obtained from 548 mg (2.1 mmol) of **(S,S)-4** and 378 mg (2.1 mmol) of **(S)-7**, as a white powder (81% yield). The reaction was purified by column chromatography. Mp: 142–143 °C; $[\alpha]_D^{20} = +8.57$ (c 1, MeOH); IR (KBr, cm^{-1}) ν_{max} : 3388, 3254, 2865, 2805, 1634, 1505, 1253, 1026, 769, 734, 608, 457; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.77 (d, 1H, J = 9 Hz), 1.82 (d, 1H, J = 9 Hz), 2.22 (s, 6H), 2.75–2.89 (m, 4H), 2.92 (d, 1H, J = 9 Hz), 3.03 (d, 1H, J = 9 Hz), 3.29 (d, 1H, J = 15 Hz), 3.42 (d, 1H, J = 15 Hz), 3.44 (d,

2H, $J = 18$ Hz), 3.83 (s, 3H), 3.97–4.03 (m, 3H), 4.18 (br, 1H), 6.86–6.97 (m, 4H), 7.08–7.09 (m, 3H), 8.66 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.6, 34.3, 55.9, 57.7, 58.5, 58.8, 59.4, 63.5, 63.6, 67.6, 72.0, 112.0, 114.6, 121.0, 121.9, 127.3, 128.3, 133.8, 135.2, 148.2, 149.8, 169.3; HRMS (FAB⁺): m/z calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 440.2549, found: 440.2539.

2-((1*S*,4*S*)-5-[(2*S*)-3-(2-methoxyphenoxy)-2-hydroxypropyl]-2,5-diazabicyclo [2.2.1]heptan-2-yl)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamide [(*S*,*S*,*R*)-5]. According to the general procedure, 766 mg (1.7 mmol) of (*S*,*S*,*R*)-5 was obtained from 548 mg (2.1 mmol) of (*S*,*S*)-4 and 378 mg (2.1 mmol) of (*R*)-7, as a white powder (83% yield). The reaction was purified by column chromatography. Mp: 110–112 °C; $[\alpha]_D^{20} = +3.58$ (c 1, MeOH); IR (KBr per cm) ν_{max} : 3257, 2990, 2861, 1645, 1504, 1252, 1228, 770, 731; ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 1.76 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 1.80 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 2.22 (s, 6H), 2.72–2.90 (m, 5H), 3.01 (d, 1H, $J = 9$ Hz), 3.30 (d, 1H, $J = 15$ Hz), 3.40–3.42 (m, 3H), 3.42 (d, 2H, $J = 15$ Hz), 3.84 (s, 3H), 3.97–4.04 (m, 3H), 6.87–6.97 (m, 4H), 7.07–7.09 (m, 3H), 8.64 (br, 1H); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 18.5, 34.3, 55.8, 57.6, 58.7, 58.8, 59.4, 63.3, 63.6, 67.8, 72.1, 112.0, 114.8, 120.8, 121.9, 127.1, 128.2, 133.7, 135.7, 148.3, 149.9, 169.2; HRMS (FAB⁺): m/z calculated for $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 440.2549, found: 440.2566.

Biological assays

General experimental conditions

Glucose was acquired from Merck (Darmstadt, Germany). Ranolazine was prepared according to a procedure described in the literature (9). All the other compounds were acquired from Sigma (St. Louis, MO, USA). Indomethacin was dissolved in a 4% sodium carbonate solution. Ranolazine, L-phenylephrine hydrochloride, carbachol (carbamoylcholine chloride), and the hydrochloride of N^ω -nitro-L-arginate methyl were dissolved in deionized water.

The experiments were carried out on Wistar male adult rats from de strain. The animals were killed by cervical dislocation and immediate exsanguination. The thoracic aorta was extracted by means of a thoracotomy and taken to a dissection chamber that contained Tyrode solution, continuously aerated. The connective tissue that surrounded the vessel was eliminated under a microscope with extreme caution so as not to touch the innermost of the vessel in order to avoid damaging the endothelium. There were obtained small rings approximately 2 mm wide.

Two rings were selected (the endothelium was damaged mechanically in one of them), and they were mounted in a perfusion chamber between two stainless steel hooks; one of each pair of hooks was attached to the perfusion chamber, and the other was attached to an isometric force transducer (Grass FT03). Once the preparations were mounted

in such device, basal tension of 2 g was applied and was allowed to stabilize for a 60-min period at a temperature of 37 °C. In this way, it was possible to maintain under the same experimental conditions both rings and simultaneously record the effects produced on the vascular smooth muscle and those in which the endothelium was involved.

As a model to study the release of NO, the relaxation effect of carbachol (10^{-5} M) was utilized in the rings with the intact endothelium and precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), which when contrasted with the response to carbachol of rings without endothelium is a reliable physiological indicator of the release of NO.

Perfusion system

A peristaltic pump with polyethylene tubing was employed to conduct the Tyrode and test solutions to the perfusion chamber. The perfusion solutions continuously aerated with carbogen entered through the bottom of the chamber whose volume was 0.5 mL and were drained to the outside by overflow, through fluting on the upper edge of the chamber, and provided with a cellulose wick which avoided sudden changes in volume.

Temperature control

The polyethylene tubes that conducted the perfusion solution passed, forming a spiral, through a thermostatic system adjusted to bring the temperature of the solution in the perfusion chamber to the desired value.

Recording system

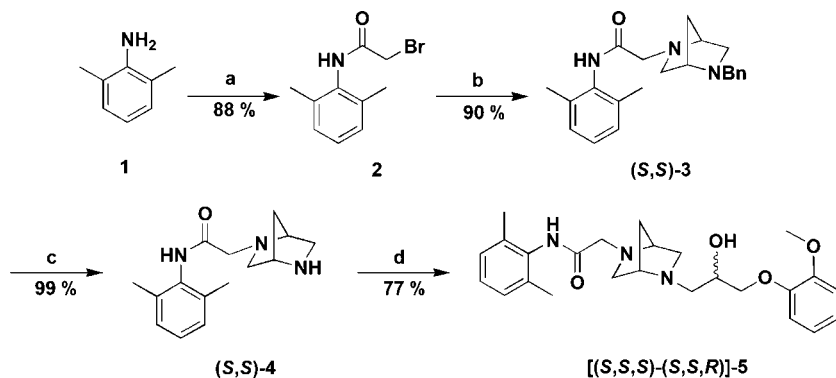
The tension developed by each ring was picked up by an isometric force transducer (Grass FT03), and the signal was taken to a polygraph Grass model 79.

Results and Discussion

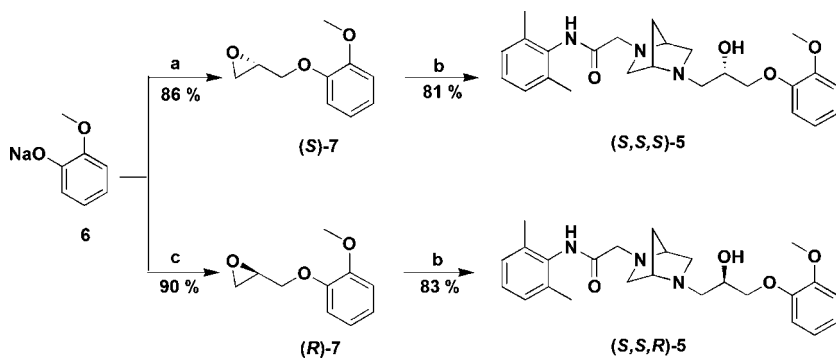
Chemistry

The synthesis of the epimeric mixture of the target diazabicyclic analogue is described in Scheme 1. Acetamide (*S*,*S*)-4 was prepared from the aniline **1**, which in the presence of bromoacetyl bromide yielded the bromoacetamide **2**; this upon reaction with 2-benzyl-DBH [prepared according to Melgar-Fernandez *et al.* (10)] afforded the protected diamine (*S*,*S*)-3, which produced, by palladium-catalyzed hydrogenolysis, the intermediate (*S*,*S*)-4, which reacted with racemic epoxide **7** to give the epimeric mixture of (*S*,*S*,*S*)-5 and (*S*,*S*,*R*)-5.

The synthesis of pure diastereoisomers (*S*,*S*,*S*)-5 and (*S*,*S*,*R*)-5 is described in Scheme 2. The epoxides (*S*)-7 and (*R*)-7 were obtained by the reaction of (*R*)-epichlorohydrin and (*S*)-epichlorohydrin, respectively, with sodium 2-methoxyphenolate (**6**). The condensation of (*S*,*S*)-4 with (*S*)-7



Scheme 1: Reagents: (A) bromoacetyl bromide, Et₃N, CH₂Cl₂; (B) 2-benzyl-DBH, Et₃N, CH₂Cl₂; (C) H₂, Pd/C, MeOH; **rac-7**, MeOH.



Scheme 2: Reagents: (A) (*R*)-epichlorohydrin; (B) (**(S,S)-4**), MeOH; (C) (*S*)-epichlorohydrin.

and (**(R)-7**) afforded the respective pure epimers (**(S,S,S)-5** and **(S,S,R)-5**.

Pharmacology

The pharmacological evaluation of compounds **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**, **(S,S,S)-5** and **(S,S,R)-5** was carried out on aorta rings from adult male Wistar rats. For each experiment, two 2-mm rings were used, one with endothelium and another without endothelium, which was removed by manual friction.

Both rings were suspended in a miniature organ bath (vol. 0.5 mL), between a pair of stainless steel hooks, one attached to the wall of the chamber and the other attached to an isometric force transducer (Grass, model FT03). The rings were continuously perfused (1 mL/min) with an oxygenated Tyrode solution (95% O₂, 5% CO₂); the pH was adjusted to 7.2, and the temperature was maintained at 37 °C.

At the start of each experiment, the response to phenylephrine (10⁻⁵ M) and carbachol (10⁻⁵ M) was evaluated. The relaxation induced by carbachol on the precontracted rings with phenylephrine was taken as evidence that those rings have the endothelium preserved, while the absence of relaxation confirmed the absence of a functional endothelium.

To investigate a possible relaxant action of the epimeric compound **5** and the mixture of them, the effects of these

compounds at cumulatively increasing concentrations (10⁻⁶–10⁻⁴ M) on phenylephrine (10⁻⁵ M)-precontracted rings were analyzed. These effects were analyzed in the absence and in the presence of either indomethacin (10⁻⁶ M) or L-NAME (300 μM).

Data analysis: The relaxations induced by these compounds are expressed as the percent of the maximal tension induced by phenylephrine (10⁻⁵ M). IC₅₀ (–log of the mean molar concentration of the compound producing 50% of the maximal response) was determined with the software package GRAPH PAD PRISM (v.5; San Diego, CA, USA). Data are expressed as mean ± DS for tension development and as mean ± SE for IC₅₀ values.

Comparisons of means were made by one-way analysis of variance (ANOVA), and differences between the groups were evaluated using Student–Newman–Keuls method [Graph Pad Prism (v.5) software; St. Louis MO, USA]; p value of 0.05 or less was considered significant.

Effects of compound **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**

In precontracted rings with phenylephrine (10⁻⁵ M), at successively increasing concentrations (10⁻⁶–10⁻⁴ M) of **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**, a relaxation effect was produced that depended on the concentration and partially on the presence of the endothelium.

The maximum relaxation response was observed with 10⁻⁴ M (78.61 ± 5.79% in the rings with endothelium and

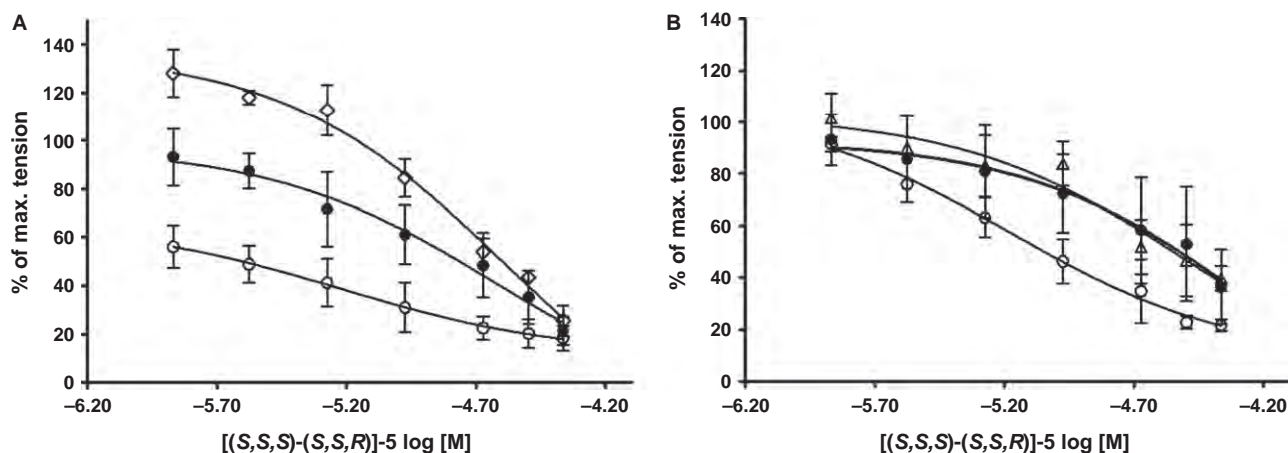


Figure 3: Concentration–response curve at successively increasing concentrations to **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the precontracted aorta rings with phenylephrine (10^{-5} M), to **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** (10^{-6} – 10^{-4} M) (●), in the presence of indomethacin (10^{-6} M) (○), and in the presence of L-NAME (300 μ M) (□). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

Table 1: IC_{50} and maximum tension in rat aorta rings induced by ranolazine, **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**, **(S,S,S)-5** and **(S,S,R)-5** in the presence and absence of indomethacin and L-NAME

Experiment	Compounds	With endothelium		Without endothelium	
		IC_{50} (log[M])	Max. Tension (%)	IC_{50} (log[M])	Max. Tension (%)
1	Ranolazine	4.61 \pm 0.05	56.78 \pm 6.81	4.27 \pm 0.02	47.88 \pm 4.70
2	Ranolazine + A	5.39 \pm 0.17 ^a	66.05 \pm 10.70	4.61 \pm 0.04 ^a	66.25 \pm 4.45 ^a
3	Ranolazine + B	3.98 \pm 0.09 ^{a,b}	34.94 \pm 9.88 ^{a,b}	4.42 \pm 0.03 ^{a,b}	52.38 \pm 9.76
4	[(S,S,S)-(S,S,R)]-5	4.78 \pm 0.03 [*]	78.61 \pm 5.79 [*]	4.55 \pm 0.03 [*]	63.59 \pm 14.40
5	[(S,S,S)-(S,S,R)]-5 + A	5.47 \pm 0.09 ^a	81.53 \pm 5.28	5.00 \pm 0.02 ^a	78.39 \pm 2.22
6	[(S,S,S)-(S,S,R)]-5 + B	4.53 \pm 0.04 ^{a,b}	74.47 \pm 6.33	4.53 \pm 0.049 ^{b,*}	60.35 \pm 4.76 ^b
7	(S,S,S)-5	4.85 \pm 0.03 [*]	76.65 \pm 3.42 [*]	4.55 \pm 0.05	64.42 \pm 12.15
8	(S,S,S)-5 + A	4.75 \pm 0.04 ^{a,*}	74.14 \pm 9.67	4.46 \pm 0.09	66.82 \pm 8.57
9	(S,S,S)-5 + B	3.96 \pm 0.09 ^{a,b}	33.81 \pm 15.14 ^{a,b}	4.09 \pm 0.12 ^{a,b}	45.72 \pm 12.37 ^b
10	(S,S,R)-5	4.47 \pm 0.07	60.69 \pm 3.42	4.25 \pm 0.02	43.53 \pm 11.64
11	(S,S,R)-5 + A	5.09 \pm 0.12 ^a	72.66 \pm 8.28	4.69 \pm 0.02 ^a	70.85 \pm 4.50 ^a
12	(S,S,R)-5 + B	4.21 \pm 0.05 ^{a,b,*}	46.53 \pm 3.08 ^{a,b}	4.17 \pm 0.03 ^{a,b,*}	43.38 \pm 7.53 ^b

IC_{50} : log of the mean molar concentration that causes 50% of the relaxation induced by ranolazine, **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**, **(S,S,S)-5**, and **(S,S,R)-5** (10^{-6} – 10^{-4} M). Maximum tension developed in response to phenylephrine (10^{-5} M). A: indomethacin (10^{-6} M). B: L-NAME (300 μ M). The percentage data from the maximum relaxation are presented as the mean \pm DS. The IC_{50} data are presented as the mean \pm ES. ^{a,b}denotes significant differences between the same group (^a versus. in absence of A or B, ^b versus A) ($p < 0.05$). *Denotes significant differences between the groups in their respective conditions ($p < 0.05$). $n = 5$ for all of the groups.

63.59 \pm 14.40% in the rings without endothelium; these values were not significantly different; Figures 3A,B, experiments 4–6, Table 1). Indomethacin (10^{-6} M) displaced the concentration–response curve to the left (experiment 5, Table 1).

In the rings with endothelium, in the presence of L-NAME (300 μ M), when the concentrations were between 10^{-6} and 10^{-5} M of **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5**, an additional increase in the tension induced by phenylephrine was observed (experiment 6, Table 1). These results show that **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** has primordially a direct relaxation effect over the vascular smooth muscle and also acts on the endothelium releasing NO as well as a vasoconstrictor prostanoid.

When comparing the concentration–response curve of **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** with that of ranolazine, it was found that the one from compound **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** is displaced to the left (IC_{50} 4.78 \pm 0.03 versus 4.61 \pm 0.05, respectively, experiments 1 and 4, Table 1). In the aortic rings with endothelium, **[(S,S,S)-(S,S,R)]-5** produced a maximum relaxation of greater magnitude than ranolazine (78.61 \pm 6.33% versus 56.78 \pm 6.81%, respectively, Figure 4A, experiments 1 and 4, Table 1).

In the presence of indomethacin (10^{-6} M), the relaxation responses induced by this compound on the aortic rings with or without endothelium were not significantly different to the ones from ranolazine in similar experimental

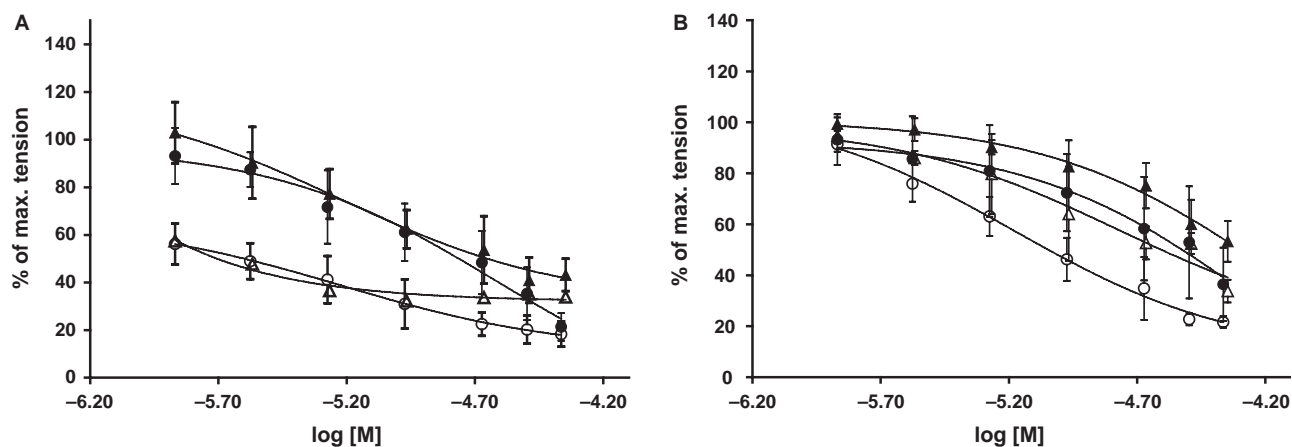


Figure 4: Concentration–response curve to [(S,S,S)-(S,S,R)]-5 and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M) to [(S,S,S)-(S,S,R)]-5 (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (▲), in the absence (closed symbols) and in the presence of indomethacin (10^{-6} M) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

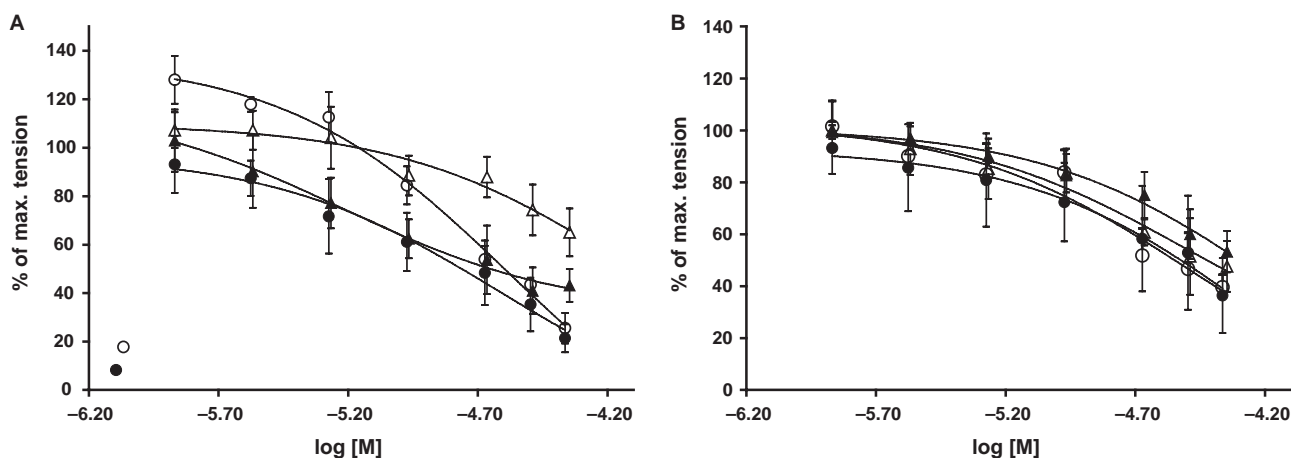


Figure 5: Concentration–response curve to [(S,S,S)-(S,S,R)]-5 and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response to the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M) to [(S,S,S)-(S,S,R)]-5 (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (▲), in the absence (closed symbols) and in the presence of L-NAME (300 μ M) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

conditions (Figure 4A,B, experiments 2 and 5, Table 1). The inhibition of the synthesis of NO with L-NAME (300 μ M) decreased the maximum relaxation induced by ranolazine, but not the one induced by [(S,S,S)-(S,S,R)]-5. These results show that the relaxation induced by this compound depends less on the synthesis of NO than the one induced by ranolazine, even though the relaxation effect is greater (Figure 5A,B, experiments 3 and 6, Table 1).

Effects of compound (S,S,S)-5

In phenylephrine-precontracted rings, (S,S,S)-5 induced a relaxation dependent on the concentration and partially dependent on the presence of the endothelium ($76.65 \pm 3.42\%$ in the rings with endothelium and $64.42 \pm 12.15\%$

in the rings without endothelium, Figure 6A,B, experiment 7, Table 1).

No effect whatsoever was observed when blocking cyclooxygenase with indomethacin (10^{-6} M; Figure 6A,B, experiment 8, Table 1). In the rings with endothelium, the maximum relaxation induced by this compound decreased significantly by the addition of L-NAME (300 μ M; $76.65 \pm 3.42\%$ versus $33.81 \pm 15.14\%$, respectively, Figure 7A,B experiment 9, Table 1). These results suggest that the relaxation induced by this compound is in part caused by the release of endothelial nitric oxide.

When comparing the effects of (S,S,S)-5 with those of ranolazine, it was observed that the compound (S,S,S)-5 induces on the aortic rings with endothelium a vasodilation

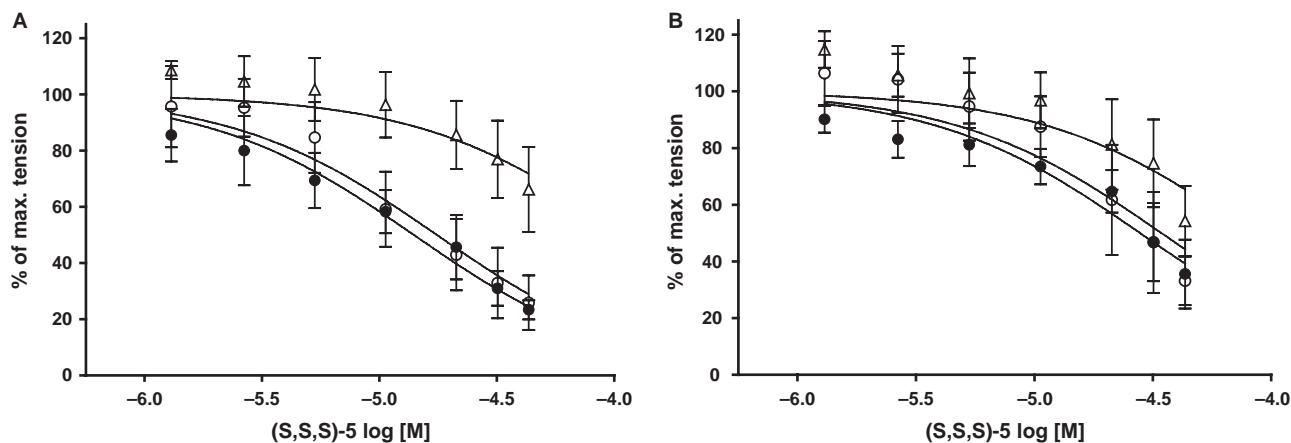


Figure 6: Concentration–response curve to **(S,S,S)-5** at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aorta rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,S)-5** (10^{-6} – 10^{-4} M) (●), in the presence of indomethacin (○) and in the presence of L-NAME (300 μ M) (Δ). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

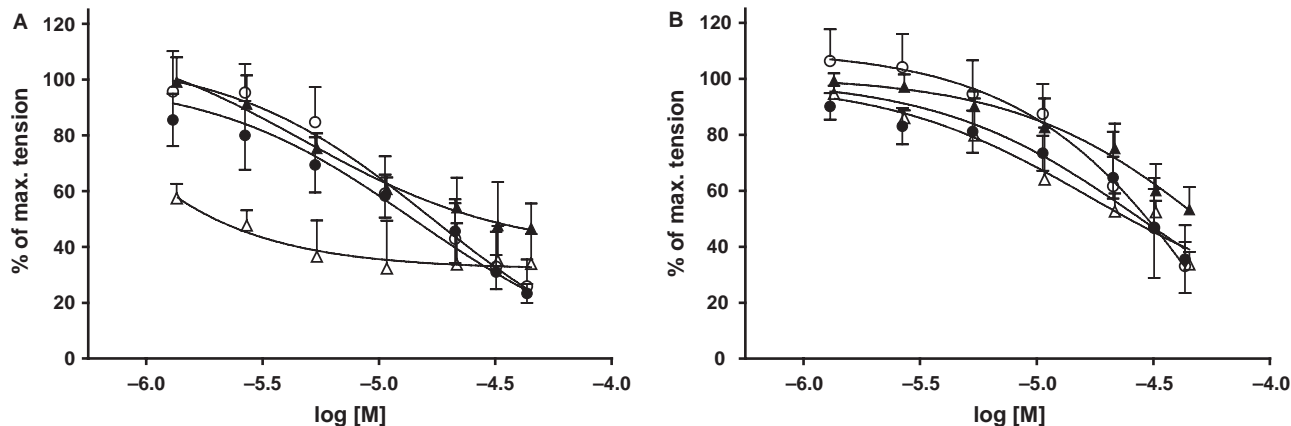


Figure 7: Concentration–response curve to **(S,S,S)-5** and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,S)-5** (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (\blacktriangle), in the absence (closed symbols) and in the presence of indomethacin (10^{-6} M) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

of greater magnitude than the one from ranolazine ($76.65 \pm 3.42\%$ versus $56.80 \pm 6.81\%$, respectively, Figure 6A, experiments 1 and 7, Table 1). In the rings with endothelium, when cyclooxygenase was blocked with indomethacin (10^{-6} M), only the ranolazine curve was displaced to the left (Figure 7A,B, experiments 2 and 8, Table 1).

In the rings with endothelium, L-NAME (300 μ M) decreased the maximum relaxation induced by **(S,S,S)-5** as well as the induced by ranolazine (Figure 8A, experiments 3 and 9, Table 1). These results suggest that compound **(S,S,S)-5** shares with ranolazine the effect of inducing the release of endothelial NO, but not the synthesis of some vasoconstricting prostanoid. On the other hand, these results show that in the relaxation induced by

(S,S,S)-5, there is a greater participation of the endothelial NO synthesis/release than in the one induced by ranolazine.

Effects of compound **(S,S,R)-5**

In the aortic rings precontracted with phenylephrine, **(S,S,R)-5** produced a relaxation response dependent on the concentration and partially on the presence of endothelium ($60.69 \pm 3.42\%$ in the rings with endothelium and $43.53 \pm 11.64\%$ in the rings without endothelium, Figure 9A,B, experiment 10, Table 1). The addition of indomethacin (10^{-6} M) produced a displacement of the concentration–response curve to the left (IC_{50} , 4.47 ± 0.07 versus 5.09 ± 0.02 , in the rings with endothelium and 4.25 ± 0.02 versus 4.69 ± 0.02 in the rings without

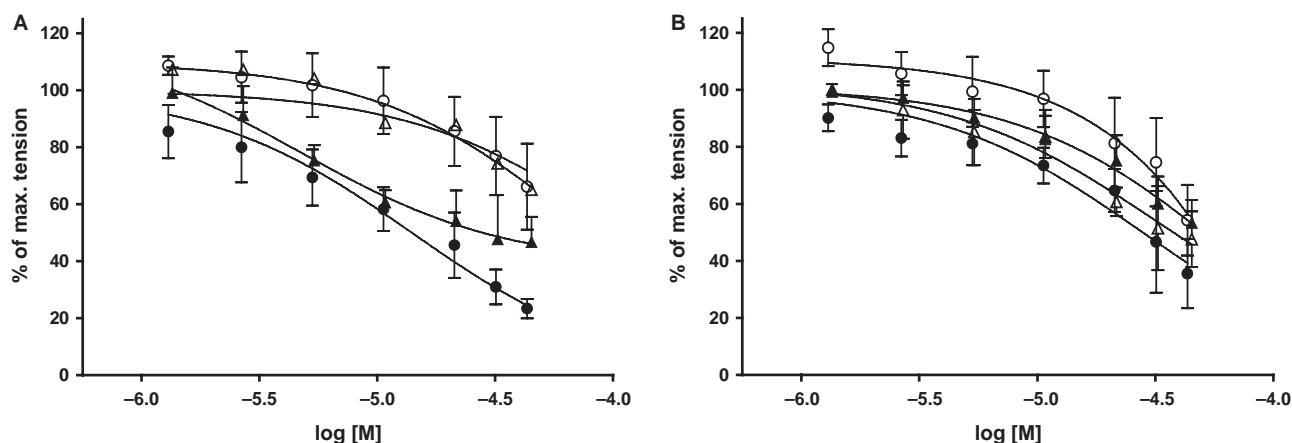


Figure 8: Concentration–response curve to **(S,S,S)-5** and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,S)-5** (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (▲), in the absence (closed symbols) and in the presence of L-NAME ($300 \mu\text{M}$) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$

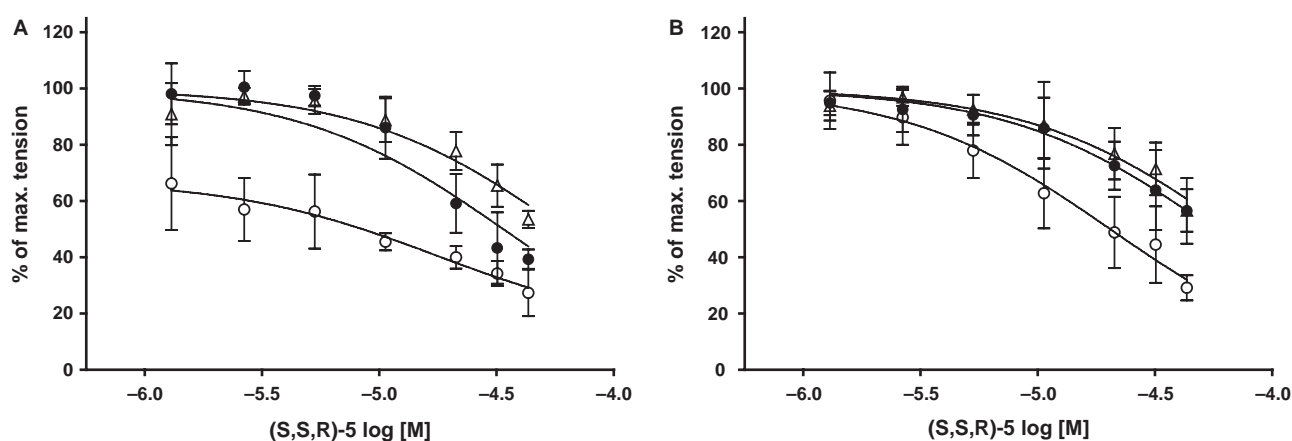


Figure 9: Concentration–response curve to **(S,S,R)-5** at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response to aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,R)-5** (10^{-6} – 10^{-4} M) (●), in the presence of indomethacin (10^{-6} M) (○) and in the presence of L-NAME ($300 \mu\text{M}$) (Δ). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

endothelium) and an increase in the magnitude of the maximum relaxation ($60.69 \pm 3.42\%$ versus $72.66 \pm 8.28\%$, in the rings with endothelium and $43.53 \pm 11.64\%$ versus $70.85 \pm 5.50\%$, in the rings without endothelium, Figure 9A,B, experiment 11, Table 1).

In the rings with endothelium, L-NAME ($300 \mu\text{M}$) decreased the maximum relaxation induced by this compound ($60.69 \pm 3.42\%$ versus $46.53 \pm 3.08\%$, respectively, Figure 9A, experiment 12, Table 1). These results suggest that the relaxation induced by **(S,S,R)-5** is attributable to a direct effect on the vascular smooth muscle as well as to the discharge of endothelial NO and that this compound induces, in addition, the release of some vasoconstricting prostanoid.

When comparing the effects of compound **(S,S,R)-5** with those of ranolazine, it was observed that **(S,S,R)-5** induces

on the aortic rings a maximum vasodilation similar in magnitude to that of ranolazine ($60.69 \pm 3.42\%$ versus $56.80 \pm 6.81\%$ in the rings with endothelium and $43.53 \pm 11.64\%$ versus $46.67 \pm 46.67 \pm 8.01\%$ in the rings without endothelium, experiments 1 and 10, Table 1).

When blocking cyclooxygenase with indomethacin (10^{-6} M), no significant differences were observed with regard to the concentration–relaxation curves of ranolazine in similar experimental conditions (Figure 10A,B, experiments 2 and 11, Table 1).

In the rings with endothelium, L-NAME ($300 \mu\text{M}$) partially inhibited the relaxation induced by **(S,S,R)-5** as well as the one induced by ranolazine ($60.69 \pm 3.42\%$ versus 46.53 ± 3.08 and $56.80 \pm 6.81\%$ versus $34.94 \pm 9.88\%$, Figure 11A, experiments 3 and 12, Table 1). These results

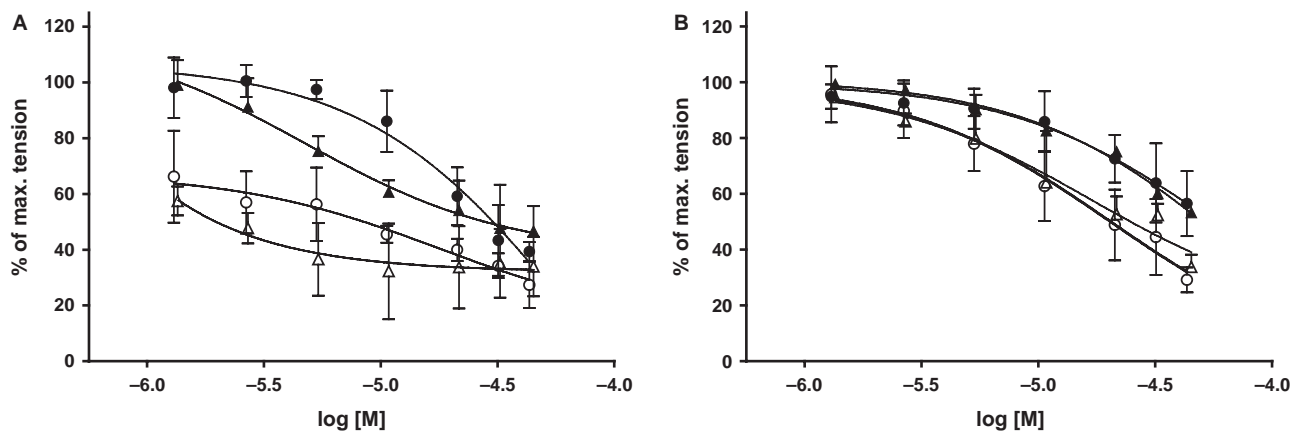


Figure 10: Concentration–response curve to **(S,S,R)-5** and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,R)-5** (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (▲), in the absence (closed symbols) and in the presence of indomethacin (10^{-6} M) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

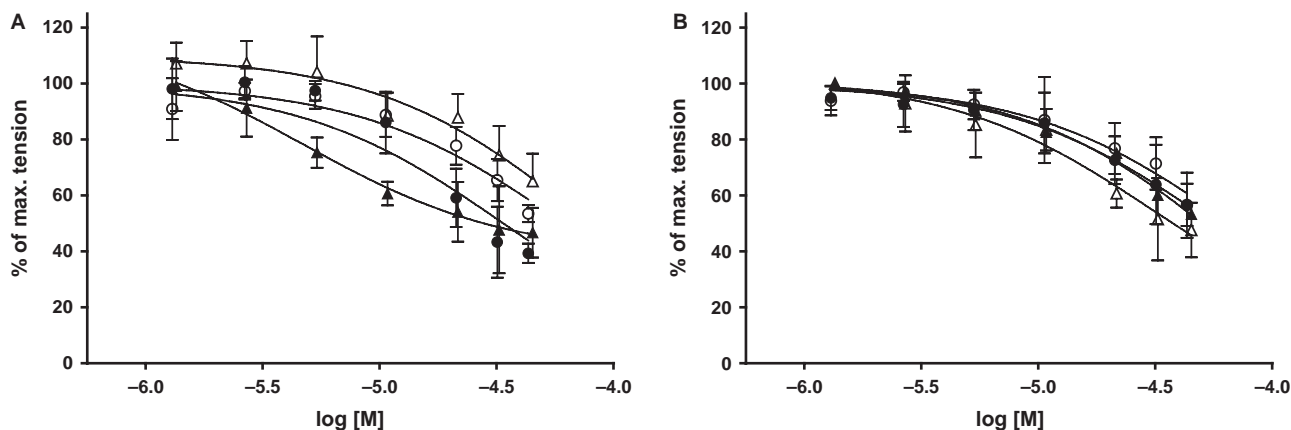


Figure 11: Concentration–response curve to **(S,S,R)-5** and ranolazine at successively increasing concentrations, in aorta rings with endothelium (A) and without endothelium (B). The curves represent the relaxation response of the aortic rings precontracted with phenylephrine (10^{-5} M), to **(S,S,R)-5** (●) and ranolazine (10^{-6} – 10^{-4} M) (▲), in the absence (closed symbols) and in the presence of L-NAME ($300 \mu\text{M}$) (open symbols). The data are expressed as the mean \pm DS, $n = 5$.

suggest that **(S,S,R)-5** shares with ranolazine the effect of inducing the release of endothelial NO.

Conclusions

The diazabicyclic analogues of ranolazine [**(S,S,S)(S,S,R)-5**, **(S,S,S)-5**, and **(S,S,R)-5**], were synthesized from commercially available starting materials and applying simple synthetic strategies.

In view of the pharmacological results obtained, it can be stated that the epimeric mixture [**(S,S,S)(S,S,R)-5**] has a vasodilating effect induced by two components, one due to the release of endothelial NO and another due to a

direct effect on the vascular smooth muscle in addition to inducing the release of some vasoconstricting prostanoid from the cyclooxygenase pathway, which is independent of the endothelium.

The compounds **(S,S,S)-5** and **(S,S,R)-5** have a vasodilating effect induced by two components, one due to the release of endothelial NO and another one due to a direct effect on the vascular smooth muscle. On the other hand, **(S,S,R)-5** induces the release of some vasoconstricting prostanoid from the cyclooxygenase pathway. Comparing these effects to those of ranolazine, it may be concluded that both the epimeric mixture [**(S,S,S)(S,S,R)-5**] and compound **(S,S,S)-5** have a higher vasodilating efficiency due to the participation of NO in the endothelium.



Acknowledgments

This work was financed by CONACyT through the project No. 101855. M. L-O and I.M. thank CONACyT for the scholarship grants. The authors thank Ma. de los Ángeles Peña, Elizabeth Huerta, and Rocío Patiño-Maya from the Instituto de Química at UNAM, for obtaining the NMR and IR spectra, María Gregoria Medina-Pintor from the Centro de Investigaciones Químicas at the Universidad Autónoma del Estado de Morelos for obtaining the HRMS. The authors thank Constantino Ramírez-Miranda, Tania Ramírez-Morales, and Ana Lilia Ocampo-Belmont for their technical skills.

References

- Abrams J., Jones A., Kirkpatrick P. (2006) Ranolazine. *Nat Rev Drug Discov*;5:453–455.
- Siddiqui M.A., Keam S.J. (2006) Ranolazine. A review of its use in chronic stable angina pectoris. *Drugs*;66:693–710.
- Paredes-Carbajal C., Monsalvo I., Hernández-Díaz C., Regla I., Demare P., Mascher D. (2013) Effects of ranolazine on vasomotor responses of rat aortic rings. *Arch Med Res*;44:8–12.
- Portoguese P., Mikhail A. (1966) Bicyclic bases. Synthesis of 2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptanes. *J Org Chem*;31:1059–1062.
- Elzein E., Shenk K., Ibrahim P., Marquardt T., Kerwar S., Meyer S., Ahmed H., Zeng D., Chu N., Soohoo D., Wong S., Leung K., Zablocki J. (2004) Novel inhibitors of fatty acid oxidation as potential metabolic modulators. *Bioorg Med Chem Lett*;14:973–977.
- Zablocki J., Elzein E., Nudelman G., Marquardt T., Varkhedkar V., Ibrahim P.N., Palle V.P., Blackburn B.K., Substituted Piperazine Compounds. Palo Alto, CA: CV Therapeutics Inc.
- Murineddu G., Asproni B., Pinna G., Curzu M.M., Dore A., Pau A., Deligia F., Pinna G.A. (2012) Synthesis of biologically active bridged diazabicycloheptanes. *Curr Med Chem*;19:5342–5363.
- Bredikhin A.A., Strunskaya E.I., Zakharychev D.V., Krivolapov D.B., Litvinov I.A., Bredikhina Z.A. (2005) Solid state properties of 1,2-epoxy-3-(2-methoxyphenoxy)propane—valuable intermediate in non-racemic drug synthesis. *Tetrahedron Asymmetry*;16:3361–3366.
- Riise-Moen A., Karstad R., Anthonsen T. (2005) Chemo-enzymatic synthesis of both enantiomers of the anti-anginal drug ranolazine. *Biocatal Biotransformation*;23:45–51.
- Melgar-Fernández R., González-Olvera R., Olivares-Romero L., González-López V., Romero-Ponce L., Ramírez-Zárate R., Demare P., Regla I., Juaristi E. (2008) Synthesis of novel derivatives of (1S,4S)-2,5-diazabicyclo[2.2.1]heptane and their evaluation as potential ligands in asymmetric catalysis. *European J Org Chem*;4:655–672.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Appendix S1. MS, IR, ¹H NMR and ¹³C NMR spectra of all synthesized compounds.