



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE DERIVADOS, TIPO AMIDAS Y AMINAS, DE
QUINAZOLIN-2,4,6-TRIAMINA DISEÑADOS COMO AGENTES
CITOTÓXICOS PARA CÉLULAS CANCERÍGENAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

SOL CASTREJÓN CARRILLO

DIRECTOR DE TESIS

DR. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., agosto 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: **Profesor:** Rafael Castillo Bocanegra
VOCAL: **Profesor:** Francisco Hernández Luis
SECRETARIO: **Profesor:** Martha Verónica Escárcega Bobadilla
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Juan Manuel Germán Acacio
2° SUPLENTE: **Profesor:** María Eugenia Mendoza Jasso

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Laboratorio L-121, Conjunto E,
Universidad Nacional Autónoma de México.

Dr. Francisco Hernández Luis

Asesor

M. en C. Audifás Salvador Matus Meza

Supervisor técnico

Sol Castrejón Carrillo

Sustentante

Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento a las siguientes instituciones por el apoyo recibido:

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** de la que me siento orgullosa de pertenecer. Gracias a todos mis profesores los cuales me brindaron apoyo, conocimiento y motivación.

A los miembros del jurado Dr. Francisco Hernández, Dr. Rafael Castillo y Dra. Martha Escárcega, por las valiosas aportaciones al presente trabajo. Gracias por su tiempo y dedicación al mejoramiento de mi informe.

Expreso mi agradecimiento a la Dirección General del Personal Académico UNAM por la beca otorgada para la realización de esta tesis y para la presentación de un trabajo en un congreso nacional dentro del proyecto **UNAM-DGAPA-PAPIIT IN218117**.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo proporcionado en la compra de materiales y reactivos para la realización de los experimentos realizados en este trabajo con el proyecto **CB-CONACyT 220664**.

A la Facultad de Química por el apoyo otorgado para el financiamiento de los ensayos in vitro en líneas celulares y apoyo en la compra y reparación de material de vidriería y pago del registro de espectros de RMN, masas e IR, dentro del programa **PAIP 5000 9136**.

A la Unidad de Servicios Analíticos (USAI) de la Facultad de Química UNAM y a su personal que realizó el registro de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (Rosa Isela del Villar Morales); Espectrometría de Masas (Georgina Artemisa Duarte Lisci); Espectroscopia de Infrarrojo (Marisela Patricia Gutiérrez Franco).



Índice general

Índice de figuras	iv
Índice de esquemas	vii
Índice de tablas	viii
Glosario	ix
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1 Cáncer	3
2.2 Carcinogénesis	3
2.2.1 Etapas de la Carcinogénesis	4
2.2.1.1 Iniciación	4
2.2.1.2 Promoción	4
2.2.1.3 Conversión maligna	4
2.2.1.4 Progresión	4
2.2.2 Metástasis	5
2.3 Mecanismo del cáncer	6
2.4 Problema	6
2.5 Causas	8
2.5.1 Predisposición genética	8
2.5.2 Carcinógenos físicos	8
2.5.3 Carcinógenos químicos	9
2.5.4 Carcinógenos biológicos	10
2.6 Tipos de cáncer	11
2.7 Tratamiento	11
2.7.1 Cirugía	12
2.7.2 Radioterapia	12
2.7.3 Terapia hormonal	13
2.7.4 Quimioterapia	14
2.7.4.1 Desventajas del tratamiento quimioterapéutico	17
2.5.4 Terapia dirigida	17
2.8 Quinazolininas	19



2.9 Antagonismo de folatos	22
2.9.1 Inhibición de DHFR	22
2.10 Diseño de moléculas biológicamente activas	24
2.10.1 Hibridación molecular	24
2.10.2 Diseño de moléculas análogas	25
2.11 Estrategias de síntesis	26
2.11.1 Síntesis asistida por Microondas	26
3. Planteamiento del problema	30
4. Hipótesis	30
5. Objetivos generales	31
5.1 Objetivos particulares	31
6. Metodología	32
6.1 Diseño de compuestos a sintetizar	33
6.2 Síntesis	36
6.2.1 Metodología experimental para los compuestos A1 - A4	36
6.2.2 Metodología experimental para los compuestos B1 - B2	39
6.3 Síntesis de intermediarios y compuestos finales asistida por Microondas	41
6.4 Caracterización espectroscópica y espectrométrica	42
6.5 Evaluación biológica	42
6.5.1 Determinación de viabilidad celular	42
7. Resultados y Discusión	44
7.1 Síntesis y caracterización espectroscópica y espectrométrica de los derivados de quinazolina	44
7.1.1 Compuesto A	45
7.1.2 Compuesto B	46
7.1.3 Compuesto I1	46
7.1.4 Compuesto I5	48
7.1.5 Compuesto A1	50
7.1.6 Compuesto A2	52
7.1.7 Compuesto A3	54
7.1.8 Compuesto A4	58
7.1.9 Compuesto B1	61



7.1.10 Compuesto B2	63
7.2 Síntesis asistida por microondas	65
7.3 Acoplamiento molecular	70
7.3.1 Preparación de proteínas	71
7.3.2 Docking	72
7.4 Evaluación biológica	80
8. Conclusiones	84
Apéndice I	85
Apéndice II	100
Bibliografía	131



Índice de figuras

Figura	Página
Figura 1. Etapas de la carcinogénesis. (Modificado de Weston). ³	5
Figura 2. Características de una célula cancerosa. (Traducido de Hanahan). ⁵	6
Figura 3. Estimación de la incidencia y mortalidad de los tipos de cáncer. Tasas estandarizadas por edad: ambos sexos.	7
Figura 4. Distribución de la mortalidad por cáncer en México en el año 2014. ⁷	7
Figura 5. Estructura de la quinazolina.	20
Figura 6. Estructuras con el núcleo de quinazolina y análogos en agentes quimioterapéuticos y terapias dirigidas contra cáncer. (a, b, c y d) Antagonistas de ácido fólico, (e) intercalante, (f) inhibidor de timidilato sintasa, (g, h, i y j) inhibidores de EGFR.	21
Figura 7. Reacción llevada a cabo por DHFR: reducción de dihidrofolato a tetrahidrofolato. (Modificado de Gilbert). ³⁶	22
Figura 8. Enlaces de hidrógeno conservados entre los aminoácidos en el sitio activo de la DHFR humana y el anillo de pirimidina. ⁴²	24
Figura 9. Ilustración de los dos principales mecanismos de calentamiento dieléctrico: polarización dipolar (dipolos alineados en el campo de microondas) y conducción iónica (los iones se mueven en el campo de microondas).	27
Figura 10. Ilustración gráfica de la introducción del calor y de la distribución de la temperatura en (a) una mezcla de reacción para (a) calentamiento convencional y (b) calentamiento por microondas.	29
Figura 11. Metodología dividida en etapas.	32
Figura 12. Formación de híbridos.	34
Figura 13. Estructura del ácido fólico.	34
Figura 14. Moléculas propuestas para síntesis.	35
Figura 15. Ácidos empleados para la formación de los compuestos A1 - A4 .	37
Figura 16. Aldehídos empleados para la obtención de los compuestos B1 - B2 .	40
Figura 17. Compuesto A . <i>N,N'</i> -(6-aminoquinazolin-2,4-diil)diacetamida.	45
Figura 18. Compuesto B . quinazolin-2,4,6-triamina.	46
Figura 19. Compuesto I1 . (2 <i>E</i>)- <i>N</i> -(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida.	47
Figura 20. Compuesto I5 . 6-{{(<i>E</i>)-[(2,4-dimetoxifenil)metiliden]amino}quinazolin-2,4-diamina.	48



Figura 21. Compuesto A1 . (2 <i>E</i>)- <i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida.	50
Figura 22. Señales correspondientes a los protones del compuesto A1 .	50
Figura 23. Compuesto A2 . (2 <i>E</i>)- <i>N</i> -(2,4-diamidoquinazolin-6-il)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enamida.	52
Figura 24. Señales correspondientes a los protones del compuesto A2 .	53
Figura 25. Compuesto A3 . (2 <i>E</i>)- <i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enamida.	55
Figura 26. Señales correspondientes a los protones del compuesto A3 .	55
Figura 27. Fragmentación propuesta para el compuesto A3 .	57
Figura 28. Compuesto A4 . (2 <i>E</i>)- <i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enamida.	58
Figura 29. Señales correspondientes a los protones del compuesto A4 .	59
Figura 30. Compuesto B1 . <i>N</i> ⁶ -[(2,4-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina.	61
Figura 31. Señales correspondientes a los protones del compuesto B1 .	61
Figura 32. Compuesto B2 . <i>N</i> ⁶ -[(2,5-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina.	63
Figura 33. Señales correspondientes a los protones del compuesto B2 .	63
Figura 34. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del ácido (2 <i>E</i>)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enoico activado con CDI.	66
Figura 35. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto I5 obtenido mediante síntesis tradicional.	67
Figura 36. Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto I5 obtenido mediante síntesis asistida por microondas.	68
Figura 37. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto A1 . Formación de puente de hidrógeno con los aminoácidos Pro 61 y Glu 30. Las moléculas de agua favorecen la interacción entre los aminoácidos Trp 24 y Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.	73
Figura 38. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto A2 . Formación de puente de Hidrógeno entre el aminoácido Glu 30, Ile 7, Arg 70 y Val 115. Las moléculas de agua favorecen la interacción con el aminoácido Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.	74
Figura 39. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto A3 . Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Glu 30 y Pro 61. Las moléculas de agua favorecen la interacción con el aminoácido Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.	74



Figura 40. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto A4 . Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Glu 30, Pro 61 y Asn 64. Las moléculas de agua favorecen la interacción con los aminoácidos Ser 59 y Trp 24 mediante formación de puentes de hidrógeno.	75
Figura 41. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto B1 . Formación de puente de hidrógeno con los aminoácidos Ile 7 y Glu 30.	75
Figura 42. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto B2 . Formación de puente de hidrógeno con el aminoácido Glu 30. Se observa una interacción tipo π - π entre el anillo de pirimidina de la TAQ y el aminoácido Phe 31.	76
Figura 43. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto A1 . Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Pro 770 y la amina en posición 2 de la TAQ. Se observa interacción tipo puente de hidrógeno con sistema π en la parte correspondiente a la TAQ con el aminoácido Leu 694.	77
Figura 44. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto A2 . Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Cys 773, Lys 692 y Met 769.	77
Figura 45. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto A3 . Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Asp 831, Lys 721, Thr 830, Leu 768 y Pro 770.	78
Figura 46. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto A4 . Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Asp 831 y Met 769.	78
Figura 47. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto B1 . Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Thr 766 y Met 769. Se observa interacción tipo puente de hidrógeno con sistema π en la parte correspondiente a la TAQ con el aminoácido Leu 694.	79
Figura 48. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto B2 . Formación de puentes de hidrógeno con el aminoácido Thr 766 a través de una molécula de agua.	79
Figura 49. Reacción de formación de formazán a partir de MTT.	80



Índice de esquemas

Esquema	Página
Esquema 1. Formación del compuesto A . (i) KOH, PrOH/EtOH, 90 °C, 7 h. (ii) Ac ₂ O, DMAP, 100 °C, 2 h. (iii) H ₂ , Pd/C, MeOH, t.a., 45 min.	37
Esquema 2. Activación de ácidos carboxílicos. (i) SOCl ₂ , CHCl ₃ , 0 °C → reflujo, 4 – 5 h.	38
Esquema 3. Protección del grupo fenol del ácido ferúlico. (i) Ac ₂ O, DMAP, t.a., 24 h.	38
Esquema 4. Formación de enlace amida para la obtención de los intermediarios I1-I4 . (i) NaHCO ₃ , Acetona, 4 - 7 h, t.a.	38
Esquema 5. Hidrólisis de grupos protectores para obtención de compuestos finales. (i) LiOH, MeOH, 60 °C, 3 – 5 h.	39
Esquema 6. Formación del compuesto B . (i) KOH, PrOH/EtOH, 90 °C, 7 h. (ii) H ₂ , Pd/C, MeOH, t.a., 1 h.	39
Esquema 7. Síntesis general de la serie de aminas. (i) MeOH, DMF-DMA, 40 °C, 24 h. (ii) MeOH, NaBH ₄ , 0 °C → t.a, 24 – 48 h.	40



Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Aminas heterocíclicas e hidrocarburos aromáticos policíclicos carcinogénicos	10
Tabla 2. Clasificación de los fármacos quimioterapéuticos. (Tabla elaborada a partir de las referencias ¹⁴ , ¹⁶ y ¹⁷)	14
Tabla 3. Terapias dirigidas. (Tabla elaborada a partir de las referencias ¹⁴ , ¹⁷ y ¹⁸)	18
Tabla 4. Predicción de la toxicidad de los compuestos por el programa OSIRIS Property Explorer	36
Tabla 5. Condiciones para la obtención de los intermediarios y compuestos finales mediante la síntesis asistida por microondas	41
Tabla 6. Datos generales de los compuestos intermediarios sintetizados	44
Tabla 7. Señales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto I1	47
Tabla 8. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto I5	49
Tabla 9. Datos generales de los compuestos finales sintetizados	49
Tabla 10. Señales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto A1	51
Tabla 11. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto A2	53
Tabla 12. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto A3	56
Tabla 13. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto A4	60
Tabla 14. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto B1	62
Tabla 15. Señales de RMN ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) del compuesto B2	64
Tabla 16. Rendimientos obtenidos de la síntesis tradicional y síntesis asistida por microondas	66
Tabla 17. Predicción de Espectros de Actividad para Sustancias (PASS)	70
Tabla 18. Resultados de predicción de SwissTargetPrediction	71
Tabla 19. Energías de unión en el acoplamiento molecular de los compuestos A1 - A4 y B1 - B2 sobre DHFR y EGFR	72
Tabla 20. Resultados del % de viabilidad celular	81
Tabla 21. Material y equipo utilizado en la parte experimental	85
Tabla 22. Sistemas de elución	86



Glosario

Ac₂O	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Arg	Arginina
ARN	Ácido ribonucleico
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
ATP	Adenosín-5'-trifosfato
ccf	Cromatografía de capa fina
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
CHCl₃	Cloroformo
Cys	Cisteína
Da	Daltons
DHF	Dihidrofolato
DHFR	Dihidrofolato reductasa
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF-DMA	Dimetilformamida-dimetilacetal
DMSO	Dimetilsulfóxido
dTMP	Desoxitimidina 5' monofosfato
dUMP	Desoxiuridina 5' monofosfato
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Epidermal Growth Factor Receptor)
EM	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
FAB	Bombardeo con átomos rápidos (Fast Atom Bombardment)
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
GHz	Gigahertz
Glu	Ácido glutámico
HA	Aminas heterocíclicas
HAP	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
HCl	Ácido clorhídrico
HCT-15	Línea celular de adenocarcinoma de colon



HER2	Receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano
Hsp	Proteínas de choque térmico
Hz	Hertz
IE	Impacto Electrónico
Ile	Isoleucina
IR	Infrarrojo
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (International Union of Pure and Applied Chemistry)
J	Constante de acoplamiento
k	Constante cinética
KOH	Hidróxido de potasio
Leu	Leucina
LiOH	Hidróxido de Litio
LogP	Logaritmo del Coeficiente de reparto
Lys	Lisina
M⁺	Ion molecular
m/z	Relación masa-carga
MAPK/ERK	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
MDA-MB-231	Línea celular de adenocarcinoma de mama
MeOH	Metanol
MH⁺	Ion pseudomolecular
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
NaBH₄	Borohidruro de sodio
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NF-κB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
Nrf2	Factor nuclear (derivado de eritroide 2)
OH[·]	Radical hidroxilo
Pd/C	Paladio en carbono
Phe	Fenilalanina
PI3K/Akt	Vía fosfatidilinositol 3 cinasa
PLC-g1	Fosfoinosítido fosfolipasa C gamma 1
ppm	Partes por millón



Pro	Prolina
PrOH	Propanol
PTR	Pteridin reductasa
Rf	Factor de retención en ccf
RMN	Resonancia magnética nuclear
SAR	Relación estructura-actividad (Structure-Activity Relationship)
SDH	Succinato-deshidrogenasa
Ser	Serina
SKOV-3	Línea celular de adenocarcinoma de ovario
SOCl₂	Cloruro de tionilo
STAT	Transductor de señales y activador de la transcripción
TAQ	2,4,6-triaminoquinazolina (quinazolin-2,4,6-triamina)
THF	Tetrahidrofolato
Thr	Treonina
Trp	Triptófano
TS	Timidilato sintasa
Tyr	Tirosina
UV	Ultravioleta
Val	Valina
VEGFR	Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular
Å	Ångstrom
δ	Desplazamiento químico en ppm
ΔG	Energía libre de Gibbs
ΔH	Variación de entalpía de reacción
ΔS	Variación de entropía de reacción



1. Introducción

Con el envejecimiento de la población mundial, la occidentalización de la dieta y la contaminación ambiental generalizada, el cáncer ha surgido como la principal amenaza para la vida humana en todo el mundo.

Para la mayoría de tipos de cáncer, la quimioterapia, ya sea sola o como un complemento a la radioterapia o la cirugía, sigue siendo el tratamiento de elección. La mayoría de los agentes anticancerígenos son fármacos citotóxicos de amplia acción. La heterogeneidad de los tumores, la falta de selectividad entre las células normales y las cancerosas, y el desarrollo de la resistencia a los fármacos son algunos de los principales obstáculos que dificultan el alcance de una cura definitiva para esta enfermedad.

A pesar de los progresos sustanciales en muchos aspectos de la investigación del cáncer, los tratamientos actuales tienen muchas desventajas, incluyendo baja eficacia y alto grado de toxicidad. En particular, muchos agentes quimioterapéuticos contra el cáncer son ellos mismos cancerígenos. Por lo tanto, existe una urgente necesidad de diseñar nuevas terapias contra el cáncer, que sean menos tóxicas y en última instancia más eficaces que los tratamientos actuales.

Se ha descrito que numerosos derivados de quinazolina tienen actividad anticancerosa. En este contexto, estos agentes han mostrado actividad inhibidora frente a dihidrofolato reductasa, timidilato sintasa y diversos receptores tirosina cinasa.

La dihidrofolato reductasa (DHFR) cataliza la reducción de dihidrofolato a tetrahidrofolato (THF) el cual es esencial para la síntesis de ADN. La importancia de esta reacción se demuestra por la eficacia de los medicamentos antifolatos utilizados para tratar el cáncer mediante la inhibición de DHFR, agotando así el THF y retardando la síntesis de ADN y así la proliferación celular.

Debido al papel fundamental que desempeña la DHFR en el metabolismo del folato para el tratamiento del cáncer, la DHFR se considera como blanco terapéutico.



En este trabajo se sintetizaron y caracterizaron seis derivados de quinazolin-2,4,6-triamina (TAQ) la cual ha presentado actividad inhibidora contra esta enzima, con el objetivo de mejorar su actividad y estabilidad química. La actividad citotóxica de los compuestos sintetizados se evaluó en tres líneas celulares tumorales.



2. Antecedentes

2.1 Cáncer

El cáncer es un proceso de pasos múltiples en el que las células se someten a profundos cambios metabólicos y de comportamiento, lo que lleva a la proliferación de una manera excesiva y prematura, para escapar de la vigilancia por el sistema inmunológico, y en última instancia para invadir tejidos distantes para formar metástasis. Este proceso resulta en la formación de una masa de células desregulado, ya que no obedecen las reglas del crecimiento celular normal. Una masa de este tipo puede ser asintomática durante un largo tiempo. Sin embargo, puede crecer para perturbar las funciones fisiológicas, dando lugar a múltiples síntomas, dependiendo de la ubicación, el tamaño de la masa y de la propagación de las células cancerosas en el organismo.¹

2.2 Carcinogénesis

La carcinogénesis puede resultar de cualquier combinación de daños químicos, físicos, biológicos y genéticos a células individuales. El patrón común a estos daños implica cambios en el genoma de la célula transformada o neoplásica. Tales cambios genéticos han sido evidenciados por prácticamente todos los tipos posibles de mutación descritos, incluyendo transiciones, transversiones, supresiones, reordenamientos cromosómicos, amplificación génica y mutagénesis por inserción.

En la neoplasia maligna, se pueden ver muchos tipos diferentes de alteraciones genéticas. Además, tales alteraciones genéticas pueden evolucionar de tipos simples a más complejos aumentando el número de mutaciones dentro de la misma célula neoplásica.²

La carcinogénesis puede dividirse conceptualmente en cuatro etapas: iniciación, promoción, conversión maligna y progresión tumoral.



2.2.1 Etapas de la carcinogénesis

2.2.1.1 Iniciación

Se inicia el proceso de carcinogénesis debido a la alteración del metabolismo, de la reparación de ADN y de la proliferación celular. La activación de protooncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores son los mecanismos principales en esta etapa.

2.2.1.2 Promoción

Comprende la expansión clonal selectiva de células iniciadas. Debido a que la tasa de acumulación de mutaciones es proporcional a la tasa de división celular, o al menos la velocidad a la que se reemplazan las células madre, la expansión clonal de las células iniciadas produce una mayor población de células que están en riesgo de cambios genéticos adicionales y malignos. Los promotores de tumores generalmente no son mutagénicos, no son carcinogénicos solos, y a menudo son capaces de mediar sus efectos biológicos sin activación metabólica.

2.2.1.3 Conversión maligna

Etapa donde se lleva a cabo la transformación de una célula preneoplásica en una que expresa el fenotipo maligno. Este proceso requiere más cambios genéticos. La conversión de estas células a ser de tipo maligno se acelerará en proporción a la tasa de división celular y la cantidad de células que se dividen en el tumor benigno o lesión preneoplásica. La probabilidad relativamente baja de conversión maligna se puede aumentar sustancialmente por la exposición de las células preneoplásicas a agentes que dañan el ADN, y este proceso puede ser mediado a través de la activación de protooncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores.

2.2.1.4 Progresión

La progresión tumoral comprende la expresión del fenotipo maligno y la tendencia de las células malignas para adquirir características más agresivas en el tiempo. Además, la metástasis puede implicar la capacidad de las células tumorales



que secretan proteasas, las cuales permiten la invasión más allá de la localización del tumor primario. Una característica del fenotipo maligno es la predisposición a la inestabilidad genómica y el crecimiento no controlado.³



Figura 1. Etapas de la carcinogénesis. (Modificado de Weston).³

2.2.2 Metástasis

La metástasis surge tras la propagación del cáncer en un sitio primario y la formación de nuevos tumores en órganos distantes. Ésta consiste en una serie de pasos secuenciales que incluyen el desprendimiento de células de un tumor primario en la circulación, la supervivencia de las células en la circulación, la detención en un nuevo órgano, la extravasación en el tejido circundante, la iniciación y el mantenimiento del crecimiento y la vascularización del tumor metastásico.

Los patrones de flujo sanguíneo del tumor primario determinan a qué órgano viajan las células primero. Ahí, los tamaños relativos de las células cancerosas y capilares conducen a la detención eficiente de la mayoría de las células cancerosas circulantes.

Después de que las células se han detenido en un órgano, su capacidad para crecer es dictada por interacciones moleculares de las células con el medio ambiente en el órgano.⁴



2.3 Mecanismo del cáncer

Para llegar a ser cancerosa, una célula tiene que adquirir cambios complementarios en 6 mecanismos básicos:

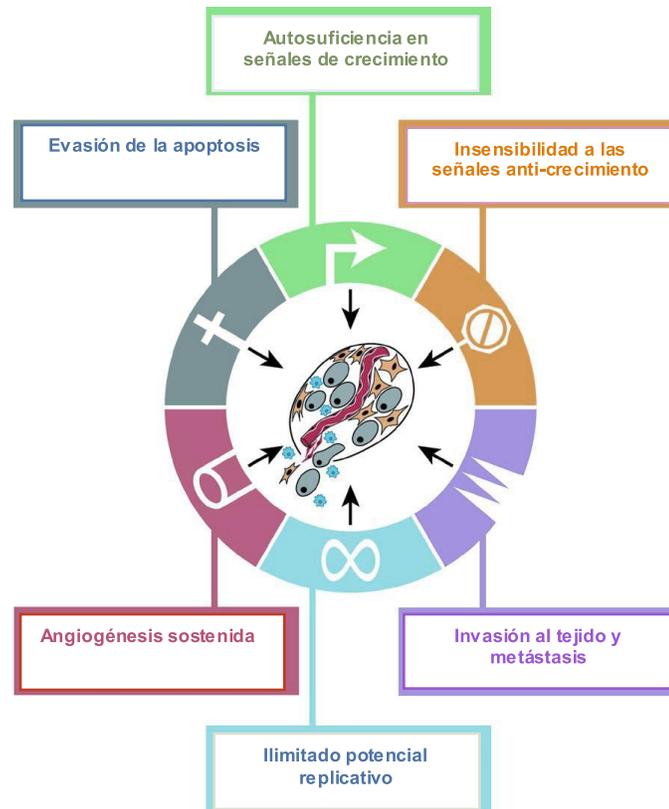


Figura 2. Características de una célula cancerosa. (Traducido de Hanahan).⁵

2.4 Problema

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; en 2012 hubo unos 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer. Los principales tipos de cáncer son: pulmonar, hepático, gástrico, colorrectal y mamario.⁶

Al comparar la incidencia con la mortalidad de acuerdo a cada tipo de cáncer, se observa que existen algunos que son más agresivos al tener una incidencia y mortalidad similar, como el caso del cáncer de pulmón, estómago, hígado, ovario, esófago y de páncreas.

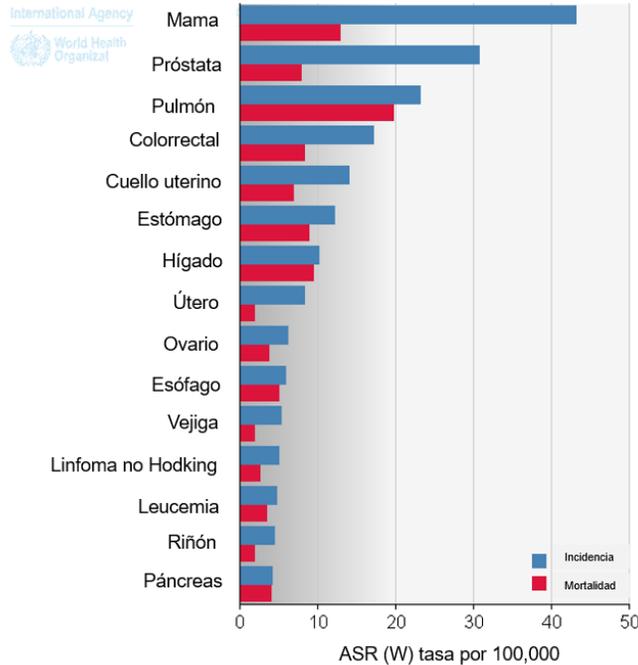


Figura 3. Estimación de la incidencia y mortalidad de los tipos de cáncer. Tasas estandarizadas por edad: ambos sexos en el mundo.⁶

Según el perfil oncológico de 2014 en México, realizado por la Organización Mundial de la Salud, el 11.8 % de las muertes de ese año fueron por cáncer. El cáncer de próstata fue el de mayor incidencia para los hombres y el cáncer de mama para las mujeres. Entre los factores de riesgo en adultos se encuentra el consumo de tabaco, la inactividad física y la obesidad.⁷

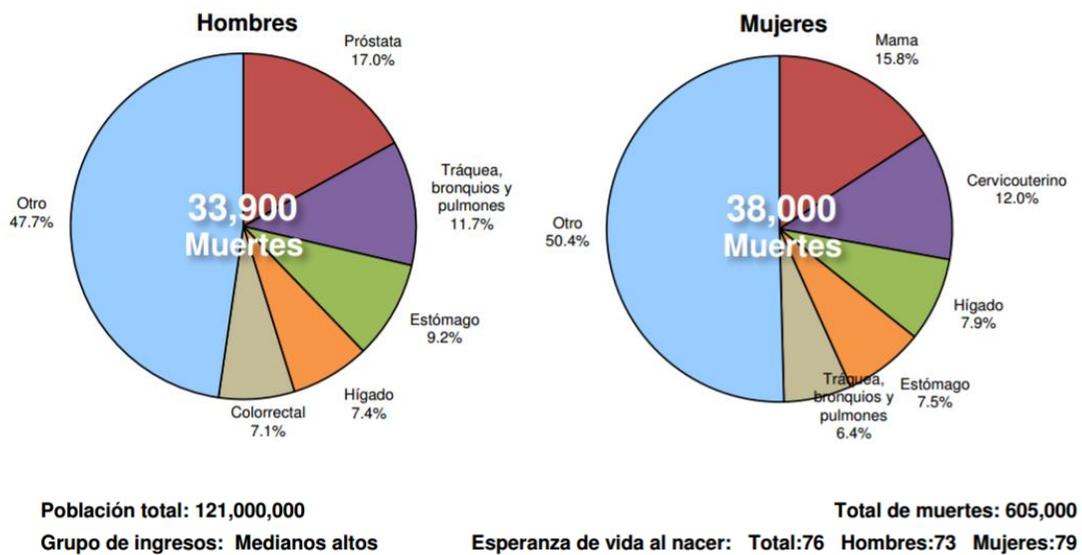


Figura 4. Distribución de la mortalidad por cáncer en México en el año 2014.⁷



2.5 Causas

El cáncer comienza en una célula. La transformación de una célula normal en tumoral es un proceso multifásico y suele consistir en la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Estas alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos y tres categorías de agentes externos: carcinógenos físicos, químicos y biológicos.⁶

2.5.1 Predisposición genética

Un aumento del riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer puede ser heredada en el material genético transmitido de generación en generación, que representa hasta un 4 % de todos los tipos de cáncer en el mundo.⁸

La mayoría de las principales mutaciones asociadas al cáncer se comportan como genes supresores de tumores fisiológicamente recesivos que son heredados predominantemente. Hasta el momento, sólo se han identificado tres oncogenes (RET, MET y CDK4) entre 31 loci de cáncer con patrones de herencia mendeliana que afectan 20 tipos diferentes de cáncer. Por ejemplo, el retinoblastoma, el tumor de Wilms y cáncer de piel en xenoderma pigmentoso se heredan como mutaciones dominantes, y la mayoría de los individuos que portan la mutación desarrollan la enfermedad durante la niñez.⁹

2.5.2 Carcinógenos físicos

Radiación ultravioleta e ionizante. La radiación ultravioleta (UV) en la luz solar es la principal causa de cáncer de piel. Algunos tipos de cáncer de piel, como el carcinoma de células escamosas, pueden atribuirse directamente a los daños causados por la exposición a UV-B. Sin embargo, la incidencia de cánceres cutáneos como el melanoma es más compleja, estando influenciada por factores genéticos y adicionales como el tipo y la frecuencia de la exposición a los rayos UV.



El gas radón, que es un producto de la desintegración natural del uranio de la tierra, se difunde en la atmósfera, donde es omnipresente. El radón es inerte en sí, pero sus productos de desintegración incluyen partículas alfa radiactivas que pueden alojarse en el pulmón, causando daños cerca de donde se depositan, provocando cáncer de pulmón.⁸

2.5.3 Carcinógenos químicos

Los productos químicos sintéticos, la contaminación, los aditivos alimentarios y los desechos industriales se encuentran dentro de esta categoría.

La nicotina y los componentes del humo del tabaco (hidrocarburos aromáticos policíclicos, nitrosaminas y algunos compuestos metálicos como el Cadmio, Cromo, Arsénico, Cobre, entre otros) promueven el desarrollo del cáncer. El consumo de tabaco es el factor de riesgo más importante, y es la causa más del 22% de las muertes mundiales por cáncer en general, y alrededor del 71% de las muertes mundiales por cáncer de pulmón.⁶

Aminas heterocíclicas (HA). Comprenden un grupo de compuestos químicos que se generan en alimentos con alto contenido de proteínas o aminoácidos que se someten a altas temperaturas. La creatina y los productos de la reacción de Maillard se relacionan con su formación.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). Compuestos formados por pirólisis o combustión incompleta de materia orgánica. El asado a la parrilla o al carbón de alimentos genera la mayor concentración de HAP, al igual que los procesos de ahumado, en donde éstos compuestos se concentran a nivel superficial. Algunos vegetales y productos derivados pueden contener HAP provenientes de la contaminación ambiental.¹⁰



Tabla 1. Aminas heterocíclicas e hidrocarburos aromáticos policíclicos carcinogénicos

Aminas heterocíclicas (HA)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	
2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]quinolina 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]quinoxalina 2-amino-1,4,8-trimetilimidazo[4,5-g]quinoxalina 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]piridina	Acenafteno Acenaftileno Antraceno Benzo[a]antraceno Benzo[a]pireno Benzo[e]pireno Benzo[b]fluoranteno Benzo[g,h,i]perileno Benzo[j]fluoranteno	Benzo[k]fluoranteno Criseno Dibenzo[a,h]antraceno Fluoranteno Fluoreno Indeno[1,2,3-c,d]pireno Fenantreno Pireno

Aflatoxina. Toxina generada por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, hongos que se encuentran en cultivos de cacahuate, maíz y trigo. La aflatoxina es un potente agente causante del cáncer (con mayor incidencia en cáncer de hígado) es muy soluble en lípidos, por lo que cuando se ingiere es rápidamente absorbida. Se biotransforma en un químico muy reactivo (epóxido), que ataca al ADN causando mutaciones.¹¹

2.5.4 Carcinógenos biológicos

Infecciones por virus, parásitos y bacterias. Algunos virus interrumpen las señales que controlan normalmente el crecimiento y proliferación celular. Algunas infecciones debilitan al sistema inmunológico, lo que produce que el cuerpo tenga menos capacidad de combatir otras infecciones que causan el cáncer, además, las infecciones también causan inflamación crónica que puede conducir al cáncer.¹² Entre los virus, bacterias y parásitos implicados en el cáncer se encuentran los siguientes:

- Virus de Epstein-Barr (VEB)
- Virus de la hepatitis B y virus de la hepatitis C (VHB y VHC)
- Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
- Virus del papiloma humano (VPH)
- Virus de leucemia/linfoma de células T humanas tipo 1 (HTLV-1)
- Herpesvirus asociado con el sarcoma de Kaposi (KSHV)



- Polyomavirus de células de Merkel (MCPyV)
- *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)
- *Opisthorchis viverrini*
- *Schistosoma hematobium*

2.6 Tipos de cáncer

El cáncer se puede agrupar según el tipo de célula en la que comienza. Hay cinco categorías principales:

- Carcinoma: cáncer que comienza en la piel o en los tejidos que recubren los órganos internos. Existen varios subtipos, incluyendo adenocarcinoma, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y carcinoma de células de transición.
- Sarcoma: cáncer que comienza en los tejidos conectivos o de apoyo, tales como hueso, cartílago, grasa, músculo o vasos sanguíneos.
- Leucemia: cáncer que se inicia en la sangre que forma el tejido, como la médula ósea, y produce un gran número de células sanguíneas anormales que se producen y entran en la sangre.
- Linfoma y mieloma: cáncer que comienzan en las células del sistema inmune.
- Cerebro y cáncer de la médula espinal: estos son conocidos como cáncer del sistema nervioso central.¹³

Existe una gran variedad de tratamientos para el cáncer, los cuales dependen del tipo de cáncer que se presente, así como lo avanzado que se encuentre. El pronóstico de los pacientes con cáncer está más influenciado por el tipo de cáncer, así como la etapa o la extensión de la enfermedad.

2.7 Tratamiento

La mayoría de los tipos de cáncer pueden ser tratados y algunos curados, dependiendo del tipo específico, ubicación y etapa. Una vez diagnosticado, el cáncer generalmente se trata con una combinación de cirugía, quimioterapia y radioterapia. A medida que la investigación se desarrolla, los tratamientos se están



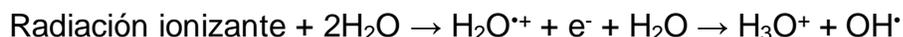
volviendo más específicos para diferentes variedades de cáncer. Ha habido un progreso significativo en el desarrollo de fármacos de terapia dirigida que actúan específicamente sobre anomalías moleculares detectables en ciertos tumores y que minimizan el daño a las células normales.

2.7.1 Cirugía

La cirugía es quizá el medio más eficaz para tratar el cáncer. Por desgracia, una gran proporción de pacientes con tumores sólidos tiene una enfermedad metastásica que no es posible extirpar. La cirugía de cáncer con fines curativos suele planificarse para lograr una escisión completa del tumor con un margen suficiente de tejido normal (el margen varía según el tumor y la anatomía), manipulando el tumor lo menos posible a fin de evitar la diseminación vascular y linfática y reduciendo al mínimo el riesgo quirúrgico.¹⁴

2.7.2 Radioterapia

La radiación es una forma física de tratamiento que daña todos los tejidos a su paso; su selectividad por células neoplásicas quizá se deba a defectos en la capacidad de estas células para reparar ADN con daño subletal y otros trastornos. La radiación causa rupturas en el ADN y genera radicales libres a partir del agua celular, que pueden lesionar las membranas, las proteínas y los organelos de las células. El incremento de los radicales de oxígeno constituye la base para la sensibilización de la radiación. Gran parte del daño celular inducido por la radiación proviene de la formación de radicales hidroxilo:



Los rayos X y los rayos gamma son las formas de radiación que más se utilizan contra el cáncer. Son ondas electromagnéticas que no tienen partículas y que, cuando son absorbidas, originan la expulsión de un electrón de una órbita; *ionización*. Los rayos X son generados por aceleradores lineales y los gamma por la desintegración de los núcleos atómicos de isótopos radiactivos como el Cobalto y el Radio. Estas ondas se comportan biológicamente como paquetes de energía y



reciben el nombre de fotones. Los haces de protones cada vez se encuentran más disponibles y pueden delimitar mejor la dosis al tumor en ciertas ubicaciones anatómicas. Sin embargo, salvo estos usos especializados, la radiación que utiliza partículas como neutrones, protones y mesones no se aplica mucho porque daña más tejido a causa de transferencia de energía lineal mayor y porque depende menos del oxígeno.¹⁴

2.7.3 Terapia hormonal

Los medicamentos que pertenecen a esta categoría son hormonas sexuales, o medicamentos similares a hormonas, que alteran la acción o la producción de hormonas femeninas o masculinas. Los tratamientos hormonales (primera forma de tratamiento dirigido) aprovecharon vías bioquímicas que sustentan las funciones y las acciones de los estrógenos y andrógenos, como base terapéutica para tratar pacientes con tumores de mama, próstata, útero y ovario.¹⁴

El mecanismo de estas hormonas para el tratamiento del cáncer no es el mismo que el de los medicamentos quimioterapéuticos convencionales, sino que evitan que la célula cancerosa use la hormona que necesita para crecer o evitan que el cuerpo produzca hormonas.¹⁵

Los ejemplos incluyen:

- Las hormonas antiestrógeno: fulvestrant, tamoxifeno y toremifeno.
- Inhibidores de la aromatasa: anastrozol, exemestano, letrozol.
- Progestinas: acetato de megestrol.
- Estrógenos.
- Antiandrógenos: bicalutamida, flutamida y nilutamida.
- Agonistas de la hormona luteneizante liberadora de hormonas: leuprolide y goserelin.



2.7.4 Quimioterapia

Aunque la quimioterapia abarca el uso de cualquier medicamento para tratar cualquier enfermedad, para la mayoría de las personas se refiere al uso de medicamentos para el tratamiento del cáncer. Otros dos términos que se usan con frecuencia para describir la quimioterapia como tratamiento del cáncer son terapia antineoplásica (contra el cáncer) y terapia citotóxica (que destruye las células).

El propósito de la quimioterapia en cáncer es la curación, paliación y/o control. Existen dos tipos de quimioterapia, la neoadyuvante y la adyuvante administrada antes y después de la cirugía o radiación respectivamente.

Los medicamentos quimioterapéuticos se pueden dividir en varios grupos basándose en factores tales como su mecanismo de acción, su estructura química y su relación con otros medicamentos, así como en la fase del ciclo celular en la que actúan. Como algunos medicamentos actúan en más de una forma, pueden pertenecer a más de un grupo.

Tabla 2. Clasificación de los fármacos quimioterapéuticos. (Tabla elaborada a partir de las referencias ¹⁴, ¹⁶ y ¹⁷)

Grupo	Subgrupo	Ejemplo	Mecanismo
Agentes alquilantes	Mostazas nitrogenadas	Melfalán Cloranbucilo	Forman productos intermediarios que se unen en forma covalente a los sitios de gran densidad de electrones.
	Oxazafosforaninas	Ciclofosfamida Ifosfamida	
	Alquilsulfonatos	Busulfán	
	Nitrosoureas	Carmustina (BCNU) Lomustina (CCNU)	Alquilan aminas, oxígenos o fosfatos reactivos en ADN.
	Triazenos	Dacarbazina Mitozolomida Temozolomida	Entre las respuestas celulares específicas están la detención del ciclo celular y los intentos de reparación de ADN.
	Aziridinas	Tiopeta Mitomicina C	
	Fármacos que metilan al ADN	Procarbazina Temozolomida Dacarbazina	
Metales pesados	Complejos de platino	Cisplatino Carboplatino Oxaliplatino	En el interior de la célula, los ligandos de cloruro, ciclohexano y oxalato de los tres análogos son desplazados por moléculas de agua y así se genera una molécula con carga positiva y fuertemente reactiva.



Antimetabolitos (Fase S)	Análogos de ácido fólico	Metotrexato Pemetrexed Raltitrexed Trimetrexato	La interferencia en el metabolismo de THF disminuye la capacidad celular para la transferencia de un solo carbono y las reacciones de metilación necesarias en la síntesis de ribonucleótidos purínicos y monofosfato de timidina con lo cual se inhibe la replicación de ADN. Los inhibidores como el metotrexato que tienen gran afinidad por DHFR, impiden la formación de THF y permiten que se acumule el sustrato inhibitor tóxico, poliglutamato de DHF después de la reacción bloqueada.
	Análogos de pirimidina	Fluorouracilo Citarabina Gemcitabina	Los análogos de dichos precursores penetran fácilmente en las células tumorales y se activan por enzimas intracelulares. Por ejemplo, 5-FU, es transformado en monofosfato de fluorodesoxiuridina, un desoxinucleótido que a su vez bloquea a la enzima timidilato sintasa, necesaria para la conversión fisiológica de dUMP en dTMP, un componente de ADN.
	Análogos de purina	Cladribina Clofarabina Fludarabina 6-mercaptopurina Pentostatina Tioguanina	Se incluyen sustituyentes con azufre en el anillo purínico. En muchos casos, los fármacos requieren una activación inicial. Son entonces capaces de inhibir la biosíntesis de nucleótidos por incorporación directa en el ADN.
Antibióticos citotóxicos	Antraciclinas	Doxorubicin Daunorubicin Epirubicin	Se intercalan con el ADN y alteran de manera directa la transcripción y la replicación. Forman un complejo tripartita con topoisomerasa II y ADN lo cual inhibe la religadura de las cadenas de ADN rotas y ello culmina en la apoptosis. Forman intermediarios de radicales semiquinonas que reaccionan con oxígeno para producir radicales aniónicos superóxido; estos a su vez generan peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo que atacan al ADN y oxidan las bases de ADN.
	Actinomicina D		El anillo fenoxasónico planar queda intercalado entre las pares de bases adyacentes de guanina - citosina del ADN, en tanto que las cadenas polipeptídicas se extienden a lo largo del surco menor de la hélice. Se forma un complejo de dactinomicina-ADN, que bloquea la transcripción del ADN por la ARN polimerasa.
	Bleomicina		Produce daño oxidativo a la desoxirribosa del timidilato y otros nucleótidos. La bleomicina desdobra al ADN al generar radicales libres.
	Mitocina C		Después de reducción química de la quinona y pérdida del grupo metoxilo en el interior de la célula por mecanismos enzimáticos o espontáneos, la



			mitomicina se torna un agente alquilante bifuncional o trifuncional. El fármaco inhibe la síntesis de ADN.
Inhibidores de la función de los microtúbulos (Fase M)	Alcaloides de la vinca	Vincristine Vinblastine Vindesine Vinorelbine	Se unen específicamente a la tubulina β y bloquean su polimerización con la tubulina α en los microtúbulos. Las células bloqueadas en fase de mitosis presentan cambios característicos de la apoptosis.
	Taxanos	Paclitaxel (Taxol) Docetaxel (Taxotere)	Se ligan específicamente a la subunidad de tubulina β de los microtúbulos y antagoniza el desensamblado de esta proteína clave del citoesqueleto y como resultado aparecen haces de microtúbulos y estructuras aberrantes derivadas de ellos en la fase mitótica del ciclo celular.
Inhibidores de la topoisomerasa	Inhibidores de la Topoisomerasa I (Fase S)	Camptotecina	Se liga en forma covalente con el ADN bicatenario a través de una reacción de transesterificación reversible; se genera un complejo intermediario en el cual la tirosina de la enzima se fija al extremo 3'-fosfato de la cadena de ADN y así se crea una fracción monocatenaria de ADN. Las camptotecinas se unen y estabilizan un complejo normalmente transitorio, susceptible de desdoblamiento de ADN-topoisomerasa I.
	Inhibidores de la Topoisomerasa II (Fases S y G2)	Etopósido Tenipósido	Forman un complejo ternario con topoisomerasa II y ADN y evitan que se reselle la rotura, que normalmente surge después de unirse la topoisomerasa con el ADN. La enzima permanece unida al extremo libre de la cadena rota de ADN, lo cual hace que se acumulen las roturas del ADN y termine la célula por morir.

Los factores que hay que considerar al seleccionar los medicamentos a usar en un régimen de quimioterapia incluyen:

- El tipo de cáncer.
- La etapa del cáncer.
- La edad y salud del paciente.
- Otros problemas médicos graves (como enfermedades del corazón, del hígado o de los riñones).
- Otros tipos de tratamientos contra el cáncer administrados anteriormente.



2.7.4.1 Desventajas del tratamiento quimioterapéutico

Hay una serie de problemas con el perfil de seguridad y la eficacia de los agentes quimioterapéuticos. Los agentes citotóxicos afectan predominantemente a las células que se dividen rápidamente, de modo que no se dirigen específicamente a las células cancerosas en la fase de reposo. También sólo influyen en la capacidad de una célula para dividirse y tienen poco efecto sobre otros aspectos de la progresión tumoral tales como invasión de tejido, metástasis o pérdida progresiva de la diferenciación. Finalmente, los agentes citotóxicos están asociados con una alta incidencia de efectos adversos. Los ejemplos más notables incluyen supresión de la médula ósea, alopecia, mucositis, náuseas y vómitos, leucopenia, cambios de peso, daños al corazón y cambios en el sistema nervioso, entre otros.^{14,15}

2.7.5 Terapia dirigida

Las estrategias para el descubrimiento de fármacos contra el cáncer han evolucionado en pasos con la explosión del conocimiento sobre las bases moleculares del cáncer. Muchos fármacos nuevos aprobados en fechas recientes o en etapas avanzadas de evaluación fueron diseñados para bloquear mutaciones fundamentales que causan un cáncer específico: receptores aberrantes de factores de crecimiento, pérdida de la regulación de las vías de señalización intracelular, defectos en la reparación de ADN y en la apoptosis y angiogénesis tumoral. Las herramientas primarias para la inhibición de estos objetivos son los anticuerpos monoclonales que atacan los receptores de la superficie celular o bien, moléculas pequeñas sintéticas que penetran a las células y modifican enzimas críticas. Dos de estas clases de fármacos tienen propiedades farmacológicas muy diferentes.¹⁷

Muchas terapias dirigidas contra el cáncer han sido aprobadas por la FDA para tratar tipos específicos de cáncer. Otras se investigan en estudios clínicos y muchas más están en estudio preclínico (estudios de investigación con animales).

Se han aprobado muchas terapias dirigidas diferentes para usarse en el tratamiento del cáncer. Estas terapias incluyen terapias hormonales, inhibidores de transducción de señales, moduladores de la expresión de genes, inductores



de apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, inmunoterapias y moléculas para depositar toxinas.^{15,18}

Tabla 3. Terapias dirigidas. (Tabla elaborada a partir de las referencias ^{14,17} y ¹⁸)

Grupo	Subgrupo	Ejemplo	Mecanismo
Inhibidores de la proteína cinasa de tirosina	Inhibidores de la cinasa BCR-ABL	Imatinib Dasatinib Nilotinib	Se unen a un segmento del dominio de cinasa que fija la enzima en un estado cerrado o no funcional, en el cual la proteína es incapaz de unirse al donador de sustrato/fosfato, el ATP.
Inhibidores de EGFR	Moléculas pequeñas	Gefitinib Erlotinib	El EGFR, también conocido como ErbB1 o HER1, es esencial para el crecimiento y diferenciación de las células epiteliales.
	Anticuerpos monoclonales	Cetuximab Panitumumab	Se unen al dominio de cinasa y antagonizan la función enzimática del EGFR. Impiden las vías de señalización MAPK, PI3K/Akt, y STAT.
Inhibidores de HER2/neu	Moléculas pequeñas	Trastuzumab	Tienen efectos antitumorales notables en pacientes con cáncer mamario positivo para HER2 y se han vuelto agentes terapéuticos esenciales en combinación con quimioterapia citotóxica para este cáncer.
	Anticuerpos monoclonales	Lapatinib	
Inhibidores de la Angiogénesis	Moléculas pequeñas	Pazopanib Sorafenib Sunitinib	La unión de VEGF a su receptor produce la actividad de tirosina cinasa VEGFR e inicia la vía de señalización mitógena y contra la apoptosis en las células endoteliales. La interacción entre el VEGF y su receptor crea varias oportunidades para la inhibición farmacológica de esta vía. Los anticuerpos dirigidos contra VEGF, dificultan la interacción de VEGF con su receptor, al nivel estérico.
	Anticuerpos monoclonales	Bevacizumab	
Inhibición del proteosoma	Moléculas pequeñas	Bortezomib	Se une a la subunidad beta 5 del núcleo 20S del proteosoma 26S y produce inhibición reversible de su actividad. Una consecuencia importante de la inhibición del proteosoma es su efecto sobre NF-κB, también altera la degradación de ubiquitina en el proteosoma de p21, p27, p53, y de otros reguladores clave del ciclo celular e iniciadores de la apoptosis.
Inhibidores de mTOR	Análogos de rapamicina	Rapamicina Temsirrolimús Everolimús	La vía PI3K/PKB(Akt)/mTOR responde a diversas señales de factores de crecimiento que modulan el crecimiento celular, traducción, metabolismo y apoptosis. La activación de la vía de PI3K se opone a la actividad de fosfatasa del supresor tumoral PTEN.



Las terapias dirigidas difieren de la quimioterapia en varias formas, por ejemplo, las terapias dirigidas actúan en blancos moleculares específicos que están asociados con el cáncer, mientras que la mayoría de las quimioterapias regulares actúan en todas las células que se dividen con rapidez, normales y cancerosas, además de que las terapias dirigidas son con frecuencia citostáticas (es decir, bloquean la proliferación de las células tumorales), mientras que las sustancias ordinarias de quimioterapia son citotóxicas (es decir, destruyen células tumorales).¹⁸

Entre las desventajas de la terapia dirigida se encuentra que las células cancerosas pueden volverse resistentes a los medicamentos y que existen algunos blancos para los cuales es difícil crear un medicamento, además de los efectos adversos presentados tales como diarrea y problemas en el hígado, problemas de coagulación de la sangre y cicatrización de heridas, presión arterial alta, fatiga, llagas en la boca, cambios en las uñas, pérdida de color del cabello y problemas en la piel.^{15,18}

Dentro de estas terapias (quimioterapéutica y dirigida) destaca el grupo de las quinazolininas.

2.8 Quinazolininas

Las quinazolininas se consideran como estructuras privilegiadas de diversa importancia fisiológica y utilidad farmacéutica. Poseen una gran variedad de efectos biológicos, entre los que se incluyen las actividades antibacterianas^{19,20}, antihiperlipidémicas, antiinflamatorias²¹, antihipertensivas, anticancerígenas²², antituberculosas, anti-*Leishmania*²³, antineoplásicas, antimaláricas²⁴, anti-VIH²⁵, antifúngicas, antivirales²⁶, antioxidantes, así como la inhibición del receptor EGFR²⁷, de la actividad timidato sintasa²⁸, tirosina cinasa²⁹, entre otros. Muchas quinazolininas contribuyeron a la búsqueda de un agente quimioterapéutico antitumoral definitivo.³⁰⁻³⁴

La quinazolinina es un heterociclo que pertenece a la familia benzodiazina con su nitrógeno heteroatómico situado en las posiciones 1 y 3. La evolución de las quinazolininas se inició sólo con el descubrimiento de la febrifugina, un "alcaloide



quinazolinona", que se aisló de la planta china Aseru (*Dichroa febrifuga Lour*) y se informó que poseen potencial antimalárico. Fue primero sintetizada por Gabriel en el año 1903 y fue aislado por primera vez de la planta china Aseru.^{34,35}

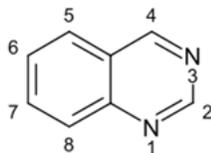
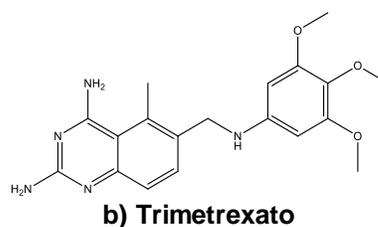
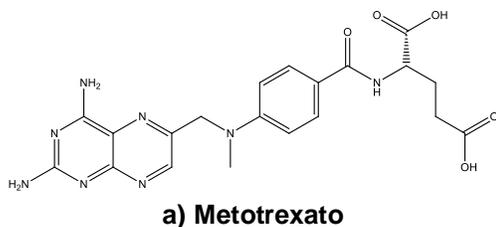


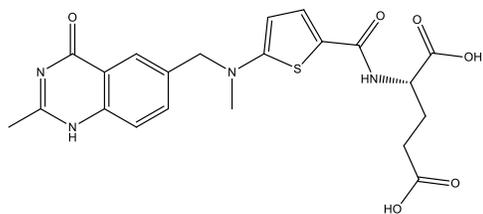
Figura 5. Estructura de la quinazolina.

El desarrollo reciente en la importancia medicinal de los derivados de la quinazolina ha requerido un fuerte esfuerzo internacional para el desarrollo de nuevas y mejores estrategias sintéticas para sus preparaciones. La quinazolina es un núcleo base (scaffold) que se encuentra en compuestos con actividades frente a numerosos trastornos farmacológicos.³⁴

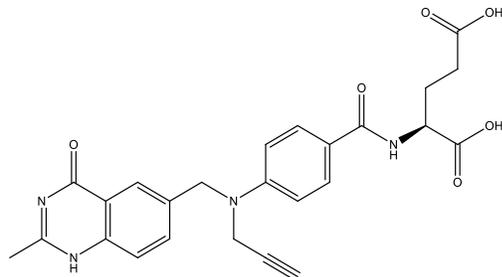
Varios derivados de quinazolina se comercializan para el tratamiento de algunas enfermedades, entre los que se encuentran: Prazosin (antihipertensivo), Proquazone (AINE), Febrifugine (antimalárico), Albaconazole (antifúngico), entre otros.³⁵

Como se mencionó anteriormente, en el tratamiento quimioterapéutico y dirigido del cáncer, existen derivados de quinazolina, los cuales ya han sido aprobados por la FDA, y otros se encuentran en investigación clínica Fase II y Fase III. A continuación, se mencionan aquellos derivados de quinazolina utilizados en el tratamiento del cáncer.

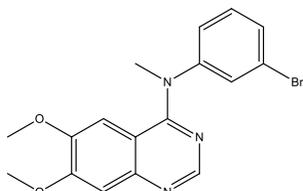




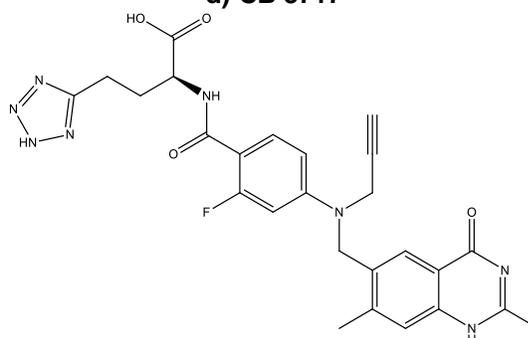
c) Raltitrexed



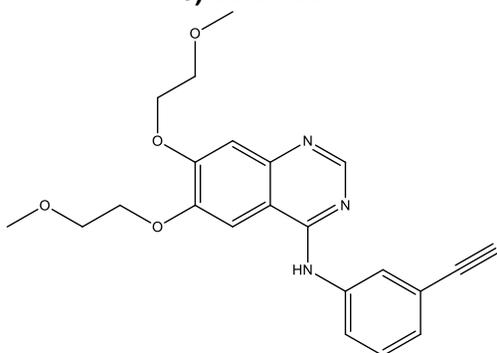
d) CB 3717



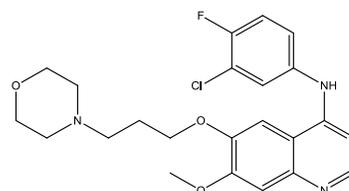
e) EBE-A22



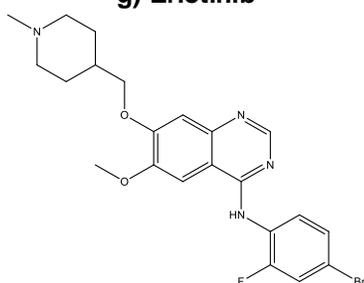
f) ZD 9331



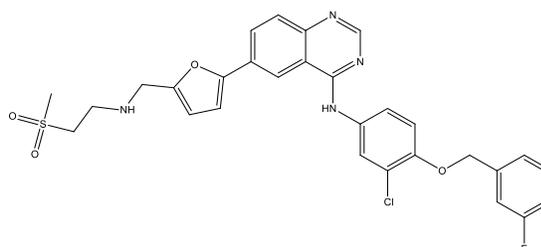
g) Erlotinib



h) Gefitinib



i) Vandetanib



j) Lapatinib

Figura 6. Estructuras con el núcleo de quinazolina y análogos en agentes quimioterapéuticos y terapias dirigidas contra cáncer. (a, b, c y d) Antagonistas de ácido fólico, (e) intercalante, (f) inhibidor de timidilato sintasa, (g, h, i y j) inhibidores de EGFR.

Se han encontrado algunos problemas en cuanto a resistencia y selectividad de los fármacos antes mencionados, por lo que se ha continuado con la investigación para el desarrollo de nuevos prototipos que reúnan mejores características para el tratamiento. Dentro de los blancos terapéuticos estudiados se encuentra la DHFR.



2.9 Antagonismo de folatos

2.9.1 Inhibición de DHFR

Un área que ha proporcionado los objetivos y terapias útiles para el cáncer y la infección microbiana es el metabolismo del folato y en particular las enzimas timidilato sintasa (TS) y la dihidrofolato reductasa (DHFR). Todas las células requieren actividades TS y DHFR, TS cataliza la conversión de dUMP a dTMP usando el cofactor N⁵, N¹⁰-metilentetrahidrofolato como C-donador y reductor, mientras DHFR mantiene al THF por la reducción dihidrofolato (DHF) dependiente de NADPH. La inhibición de cualquiera de estas enzimas limita el suministro de dTMP requerido para la síntesis de ADN, reduciendo de este modo la replicación lo que conduce a la muerte celular. Tanto TS y DHFR se han caracterizado y utilizado como dianas terapéuticas en quimioterapia, especialmente DHFR, que es el objetivo clásico para la terapia antibacteriana y antineoplásica.³⁶

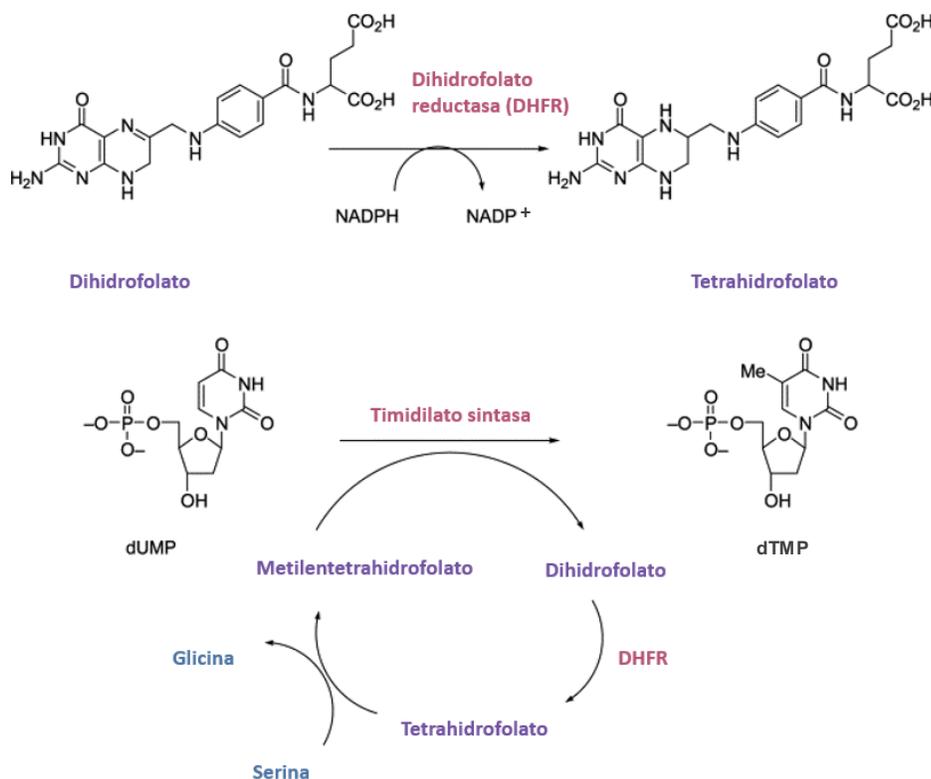


Figura 7. Reacción llevada a cabo por DHFR: reducción de dihidrofolato a tetrahidrofolato.

(Modificado de Gilbert).³⁷



En el año 1970, un grupo de investigadores se encargaron de sintetizar derivados de quinazolina como análogos del ácido fólico para tratar la leucemia.³⁸ Dos años después continuaron su investigación con la síntesis y evaluación de los derivados de quinazolin-2,4,6-triamina como antagonistas del ácido fólico y reportaron derivados con actividad antiparasitaria contra *Plasmodium berghei*, *P. Cynomolgi*, *Trypanosoma cruzi* y *Streptococcus faecalis* resistente a metotrexato.³⁹ Desde entonces, muchos grupos se dieron a la tarea de optimizar la actividad biológica y la selectividad de los derivados reportados.

Años después, otros grupos de investigación sugirieron a los derivados de quinazolin-2,4-diamina como estructuras de partida para el diseño de compuestos con actividad anti-*Trypanosoma* o anti-*Leishmania*. Se realizaron estudios teóricos en donde se observaron las diferencias entre la enzima DHFR en algunos parásitos como *L. major*, *T. cruzi* y *T. brucei* y la DHFR humana. La diferencia está en que el sitio activo de la enzima en parásitos tiene residuos más lipofílicos por lo que se realizaron modificaciones de los derivados de modo que en la posición 6 se incluyera una parte lipofílica para que interaccionara con los residuos de fenilalanina en *Leishmania*.

Con el fin de producir nuevas derivaciones potentes para fármacos anticancerosos, otros grupos de investigación, diseñaron una nueva serie de análogos de quinazolina para que se asemejara a las características estructurales del metotrexato y se ajustaran con grupos funcionales que creían que aumentaban la inhibición de la actividad DHFR de mamíferos.⁴⁰

A partir de estudios SAR se tomó nota colectivamente de que las posiciones 2, 4 y 6 son puntos importantes de relevancia biológica para mejorar las actividades de posible diseño de fármacos. Se han evaluado diversas posiciones 2,4,6-trisustituidas de derivados de quinazolina como colocación farmacofórica esencial para el aumento de la bioactividad.^{31,34}

Los derivados sustituidos con el grupo amina en las posiciones 2 y 4 en el anillo de pirimidina que forma parte de la quinazolina, presenta interacciones de tipo puentes



de hidrógeno con los aminoácidos Tyr 121, Ile 7, Val 115, Val 8 y Glu 30 de la DHFR humana, por lo que se propone mantener esa parte estructural en la consideración de nuevos derivados.

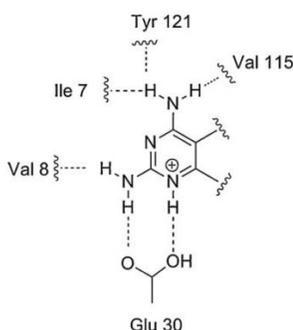


Figura 8. Enlaces de hidrógeno conservados entre los aminoácidos en el sitio activo de la DHFR humana y el anillo de pirimidina.⁴¹

Recientemente, el grupo de investigación del Dr. Francisco Hernández Luis y colaboradores, han propuesto nuevos derivados de quinazolin-2,4,6-triamina como sustancias activas contra *T. cruzi*.⁴²⁻⁴⁴ Actualmente, el equipo de trabajo estudia a los derivados de la quinazolin-2,4,6-triamina como posibles agentes antitumorales.

2.10 Diseño de moléculas biológicamente activas

En el área de la Química Farmacéutica existen varias estrategias para el diseño de nuevos prototipos a fármacos, entre los que se encuentran la hibridación molecular y la variación estructural para la obtención de análogos de fármacos conocidos, además del diseño asistido por computadora, entre otros.

2.10.1 Hibridación molecular

La hibridación molecular es una estrategia en el diseño racional de nuevos ligandos o prototipos basada en el reconocimiento de subunidades farmacofóricas en la estructura molecular de dos o más derivados con actividad que, a través de una fusión adecuada de las subunidades, conducen al diseño de nuevas estructuras híbridas que mantienen las características preseleccionadas de las plantillas originales.⁴⁵



Las moléculas híbridas se definen como entidades químicas con dos (o más de dos) dominios estructurales que tienen funciones biológicas diferentes y la doble actividad indica que una molécula híbrida actúa como dos farmacóforos distintos. Ambas entidades de la molécula híbrida no están necesariamente actuando sobre el mismo objetivo biológico. En el diseño de fármacos es la mejora de la actividad biológica de un fragmento de molécula mediante la adición de funciones químicas capaces de unirse a regiones adyacentes del sitio activo cuando se conoce la diana biológica.

Existen tres maneras posibles de interacción de las moléculas híbridas: las que presentan un único objetivo o diana, las que tienen dos dianas independientes (cada entidad de la molécula híbrida actúa con su objetivo) y por último se encuentra las que actúan en dos sitios de la misma diana (ambas entidades de la molécula híbrida actúan al mismo tiempo en dos objetivos conectados).⁴⁶

2.10.2 Diseño de moléculas análogas

El análogo de una molécula es aquel que comparte similitudes químicas y entre estos se encuentran tres categorías:

- 1) Análogos estructurales: análogos que poseen únicamente similitudes químicas.
- 2) Análogos funcionales: compuestos químicamente diferentes que presenten propiedades farmacológicas similares.
- 3) Análogos directos: análogos que poseen similitudes químicas y farmacológicas.

Los análogos directos corresponden a la categoría de fármacos a los que a menudo se hace referencia como fármacos "yo-también" (me-too). Por lo general, son versiones mejoradas de un medicamento "pionero" con ventajas farmacológicas, farmacodinámicas o biofarmacéuticas sobre el original. Éstos ofrecen un perfil de efectos adversos diferente, eficacia en pacientes que presentan resistencia además de la disminución en los costos de síntesis.



El diseño analógico directo implica modificaciones moleculares directas, tales como la síntesis de homólogos, vinílogos, isómeros, isómeros posicionales, isómeros ópticos, sistemas de anillos modificados y fármacos gemelos.^{47,48}

2.11 Estrategias de síntesis

2.11.1 Síntesis asistida por Microondas

El uso de la irradiación de microondas en síntesis orgánica se ha vuelto cada vez más popular dentro de los campos farmacéutico y académico, porque es una nueva tecnología que permite el descubrimiento y el desarrollo de fármacos.

La tecnología de microondas está emergiendo como una fuente de energía alternativa lo suficientemente potente como para lograr transformaciones químicas en minutos, en lugar de horas o incluso días. Por esta razón, la irradiación de microondas está experimentando un aumento exponencial en la aceptación como técnica para mejorar la síntesis química.⁴⁹

El calentamiento por microondas o calentamiento dieléctrico, es una alternativa al calentamiento por conducción/convección convencional, que permite aprovechar las propiedades de algunos compuestos de transformar la energía electromagnética en calor.

La irradiación por microondas es una irradiación electromagnética en el rango de frecuencia de 0.3 a 300 GHz, correspondiente a longitudes de onda comprendidas entre 1 mm y 1 m. Todos los hornos de microondas domésticos, así como los reactores de microondas disponibles para síntesis química operan a una frecuencia de 2.45 GHz (correspondiente a una longitud de onda de 12.25 cm).⁵⁰

Esta radiación de microondas no puede "inducir" reacciones químicas por absorción directa de la potencia de microondas; sin embargo, proporciona efectos térmicos únicos, que son altamente beneficiosos para la síntesis química.

La química de microondas se basa en el calentamiento eficiente de los materiales (en la mayoría de los casos disolventes) por los efectos de calentamiento dieléctrico.



La calefacción dieléctrica funciona mediante dos mecanismos principales: polarización dipolar y conducción iónica.

1) Polarización dipolar

Para que una sustancia pueda generar calor cuando se irradia con microondas debe ser un dipolo. Dado que el campo de microondas está oscilando, los dipolos en el campo se alinean con el campo oscilante. Esta alineación causa la rotación, lo que resulta en fricción y, finalmente, en energía térmica.

2) Conducción iónica

Durante la conducción iónica, las partículas disueltas (normalmente iones) oscilan hacia adelante y hacia atrás bajo la influencia de la irradiación de microondas. Esta oscilación causa colisiones de las partículas cargadas con moléculas o átomos vecinos, que son responsables en última instancia de crear energía térmica.^{50, 51}

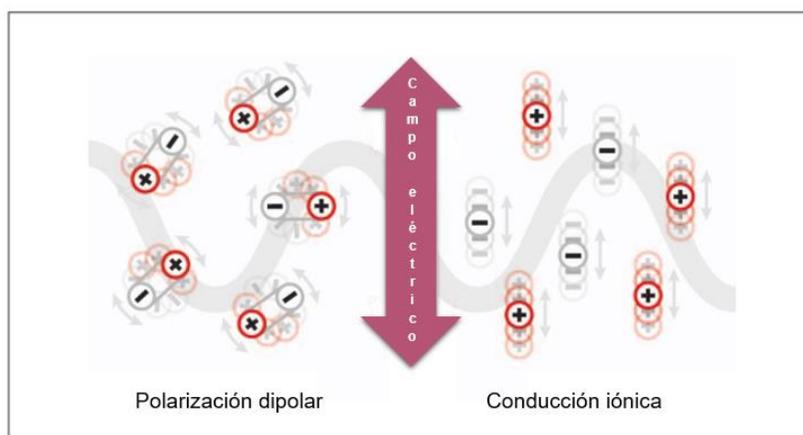


Figura 9. Ilustración de los dos principales mecanismos de calentamiento dieléctrico: polarización dipolar (dipolos alineados en el campo de microondas) y conducción iónica (los iones se mueven en el campo de microondas).

Tradicionalmente, la síntesis orgánica se lleva a cabo mediante reflujo de una mezcla de reacción usando un baño de aceite como fuente de calor. Sin embargo, esta manera de calentar una mezcla de reacción es comparativamente lenta e ineficiente en energía, puesto que primero se transfiere la energía térmica desde el



baño de aceite caliente a la superficie del recipiente de reacción y luego la superficie calienta el contenido del recipiente de reacción. Además, la superficie caliente puede conducir a un sobrecalentamiento local y a la descomposición de material sensible.

Por el contrario, la irradiación con microondas da como resultado un calentamiento interno eficiente mediante acoplamiento directo de energía de microondas con dipolos y/o iones que están presentes en la mezcla de reacción. Las microondas pasan a través de la pared del recipiente transparente a microondas (transmisión) y calientan la mezcla de reacción sobre una base molecular, por interacción directa con las moléculas (disolventes, reactivos, catalizadores, etc.). Debido a este calentamiento directo "en el núcleo" (sin calentamiento inicial de la superficie del recipiente), la irradiación de microondas da lugar a gradientes de temperatura invertidos en comparación con un sistema de calentamiento convencional.

Además, la conversión de energía electromagnética en energía térmica funciona de manera muy eficiente y da como resultado tasas de calentamiento extremadamente rápidas, no reproducibles con el calentamiento convencional. Debido al calentamiento rápido a la temperatura objetivo, se suprime la formación de subproductos. Esta es otra gran ventaja de la calefacción por microondas, ya que significa que se pueden lograr mayores rendimientos del producto y se simplifica el tratamiento.^{50,52,53}

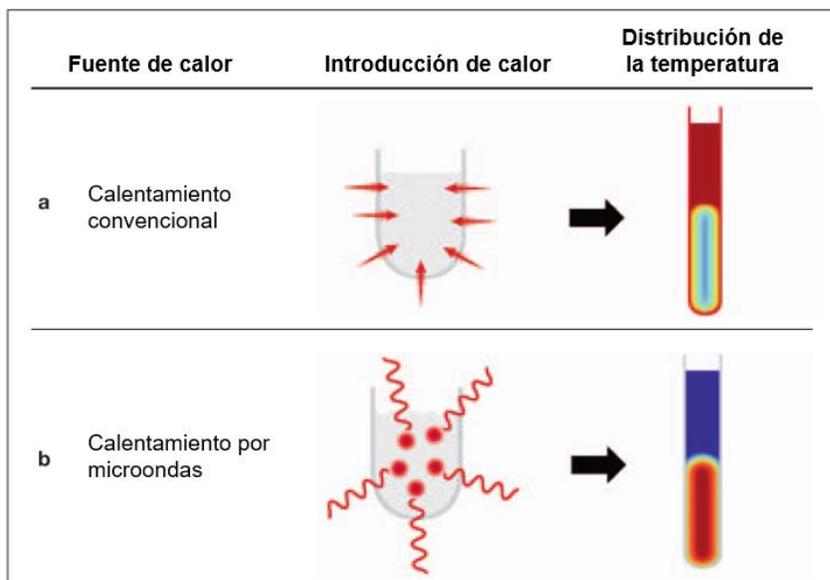


Figura 10. Ilustración gráfica de la introducción del calor y de la distribución de la temperatura en (a) una mezcla de reacción para (a) calentamiento convencional y (b) calentamiento por microondas.

Un número creciente de investigadores están adoptando la síntesis asistida por microondas como un medio para aumentar su productividad. Hoy en día se han estudiado y llevado a cabo muchas reacciones químicas con ayuda de la síntesis asistida por microondas, y se han reportado varias reacciones entre las que se encuentran: alquilación, sustitución aromática y nucleofílica, condensación, cicloadición, protección y desprotección, esterificación y transesterificación, síntesis de heterociclos, reacciones organometálicas, oxidación, reducción, transposiciones, adiciones nucleofílicas a grupo carbonilo, adiciones de Michael, entre otras.⁵²



3. Planteamiento del problema

El cáncer es una de las enfermedades más mortales en el mundo y podría convertirse en la causa más común de muertes en el futuro, ya que se prevé que los casos anuales de cáncer aumentarán de 14 millones en 2012 a 22 en las próximas dos décadas. Entre las causas del cáncer se encuentran factores externos (sustancias químicas, radiación, microorganismos infecciosos y tabaco), factores a los que la población está cada vez más expuesta. El cáncer puede ser tratado con terapia hormonal, cirugía, inmunoterapia, radiación y quimioterapia; Sin embargo, los efectos adversos, la disponibilidad de fármacos, así como la resistencia son limitaciones importantes.

Una de las dianas encontradas en las células cancerígenas es la DHFR, la cual a un nivel sobre-expresado les confiere resistencia a los fármacos existentes. Entre estos fármacos destaca el metotrexato y trimetrexato como inhibidores de esta enzima, los cuales poseen como núcleo base (scaffold) a la pteridina y quinazolina respectivamente, ambos con sustituyentes en la posición 6. A pesar de ser considerados como agentes quimioterapéuticos de elección, éstos han presentado inconvenientes durante el tratamiento, como resistencia y efectos adversos.

4. Hipótesis

Siendo la quinazolina una estructura privilegiada capaz de participar en la inhibición enzimática, nuevas entidades químicas derivadas de quinazolin-2,4-diamina sustituidas en la posición 6, presentarán actividad antineoplásica probablemente mediante la inhibición del metabolismo de folatos.



5. Objetivo general

Obtener derivados de quinazolin-2,4,6-triamina y enviar a evaluar su actividad *in vitro* en células cancerígenas.

5.1 Objetivos particulares

- a) Diseñar derivados de quinazolin-2,4,6-triamina con posible actividad antineoplásica.
- b) Sintetizar y caracterizar mediante parámetros espectroscópicos y espectrométricos los compuestos diseñados.
- c) Obtener los compuestos diseñados mediante la síntesis asistida por microondas.
- d) Enviar a evaluación biológica los compuestos sintetizados para obtener, de manera indirecta, la actividad citotóxica en diversas líneas celulares.



6. Metodología

Para alcanzar los objetivos planteados, el trabajo de tesis se dividió en cinco etapas, las cuales se esquematizan en el siguiente diagrama.

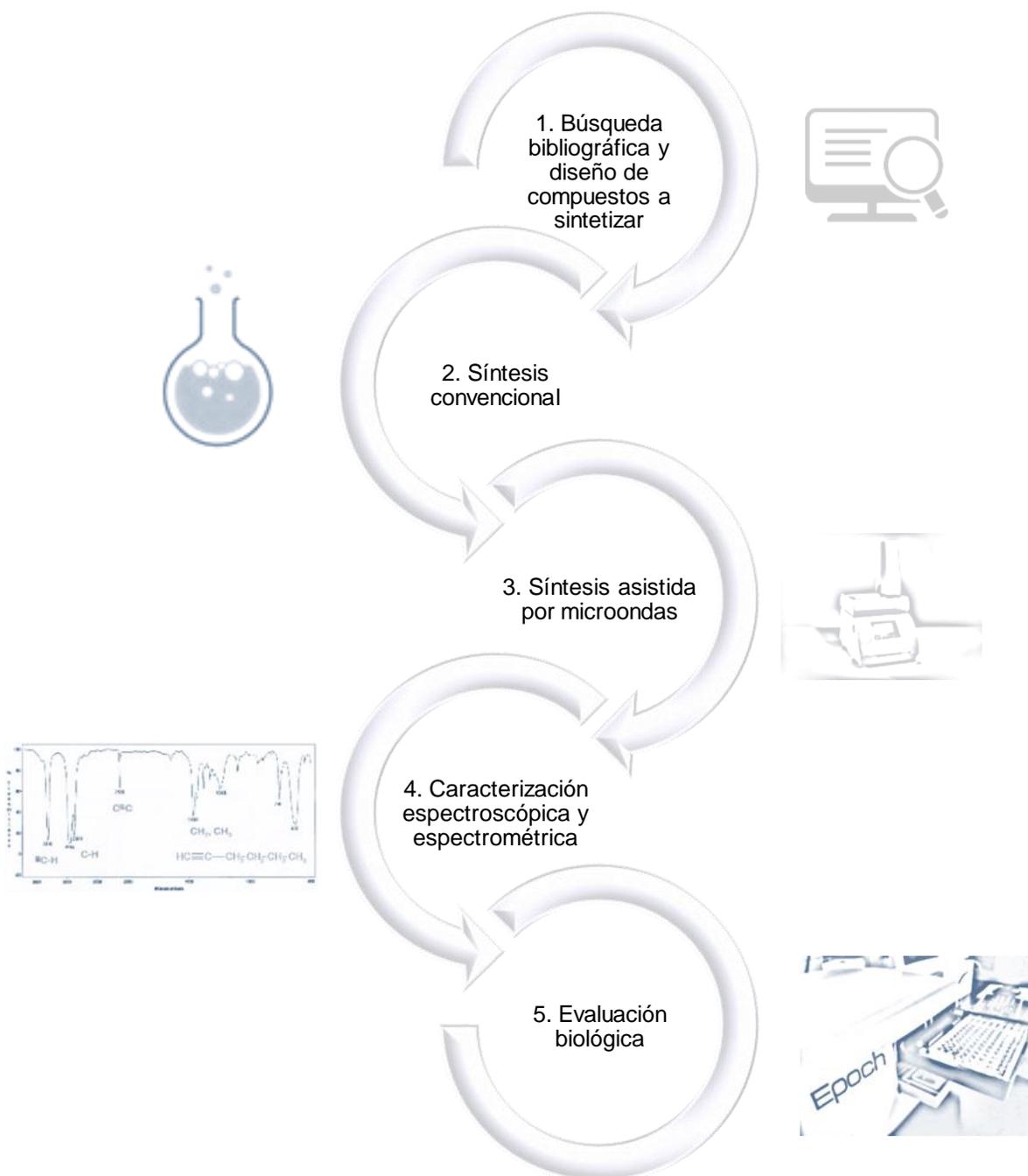


Figura 11. Metodología dividida en etapas.



6.1. Diseño de compuestos a sintetizar

Para este trabajo se realizó, lo que en Química Farmacéutica se conoce como búsqueda tradicional de prototipos, utilizando como criterio principal el uso de una estructura privilegiada: el núcleo de quinazolina; a la cual se le adicionaría otra porción estructural de características particulares con la intención de obtener moléculas calificadas como híbridas, por su potencial de acción en dos o más receptores celulares.

Se consideró la estrategia de hibridación molecular para obtener compuestos con fragmentos que interactúan con dianas independientes.

El fragmento A corresponde a la quinazolin-2,4,6-triamina (TAQ) en espera de que esta porción estructural sea la que interactúe con la DHFR humana, así como interactúa favorablemente con PTR y DHFR de protozoarios.

Para la selección de los fragmentos B, se consideró al ácido cinámico y a sus derivados, los cuales también han presentado actividad biológica, entre ellas, actividad anti-cáncer, antioxidante, anti-inflamatoria, antimicrobiana, anti-VIH así como inhibición enzimática⁵⁴⁻⁵⁹. Un estudio del mecanismo indicó que el ácido cinámico podría inducir la muerte celular apoptótica y la ruptura del citoesqueleto en células de melanoma humano.⁶⁰ En la revisión de los derivados del ácido cinámico en la investigación contra el cáncer, se encontró que muchos compuestos naturales y sintéticos tendrían una actividad anticancerígena creciente cuando los residuos de cinamoilo se introdujeran en forma de amidas o ésteres.⁵⁹

De acuerdo a lo anterior se consideró que el fragmento A y B se unieran mediante una acrilamida como enlazador (linker), con el objetivo de obtener híbridos que presenten un incremento en la actividad antitumoral, y posiblemente, ya que ambas partes no presentan toxicidad por sí solos, una reducción de los efectos colaterales.

Los ácidos seleccionados, además del ácido cinámico, contienen diferentes sustituyentes que pueden aportar características particulares a cada uno de los compuestos finales, ya que se incluyeron entre ellos, grupos electrodonadores y electroattractores.

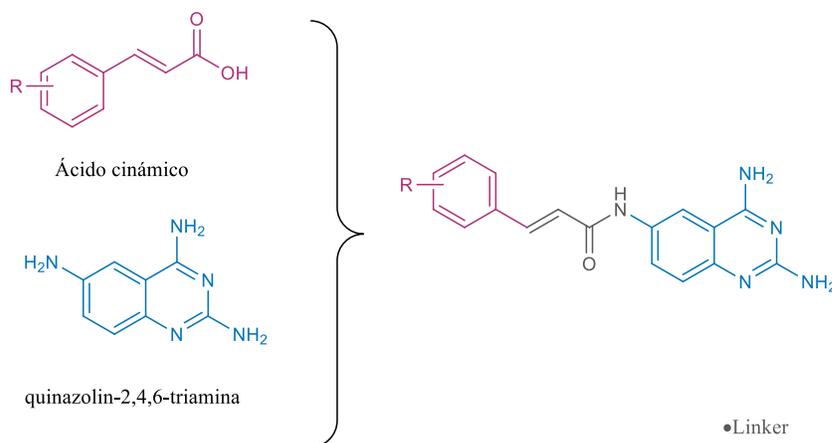


Figura 12. Formación de híbridos.

Por otra parte, con el fin de ampliar la investigación, se sintetizaron otros dos compuestos mediante la formación de una amina secundaria.

Entre los antagonistas del folato se encuentra el metotrexato y el trimetrexato, los cuales fueron diseñados como análogos del ácido fólico.

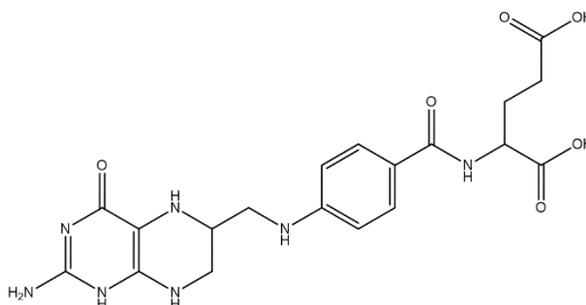


Figura 13. Estructura del ácido fólico.

Estos fármacos presentan algunas problemáticas como agentes quimioterapéuticos, principalmente mielosupresión y mucositis. Por lo que se consideró el criterio de diseño de análogos directos de estos fármacos para los compuestos con enlace amina, para conseguir obtener ventajas farmacológicas sobre éstos, y posiblemente un perfil de efectos adversos diferente, así como eficacia en pacientes que presentan resistencia.

Por lo tanto, se seleccionaron dos aldehídos con dos grupos metoxilo en distinta posición del anillo bencénico de cada derivado para obtener los compuestos finales **B1** y **B2**.

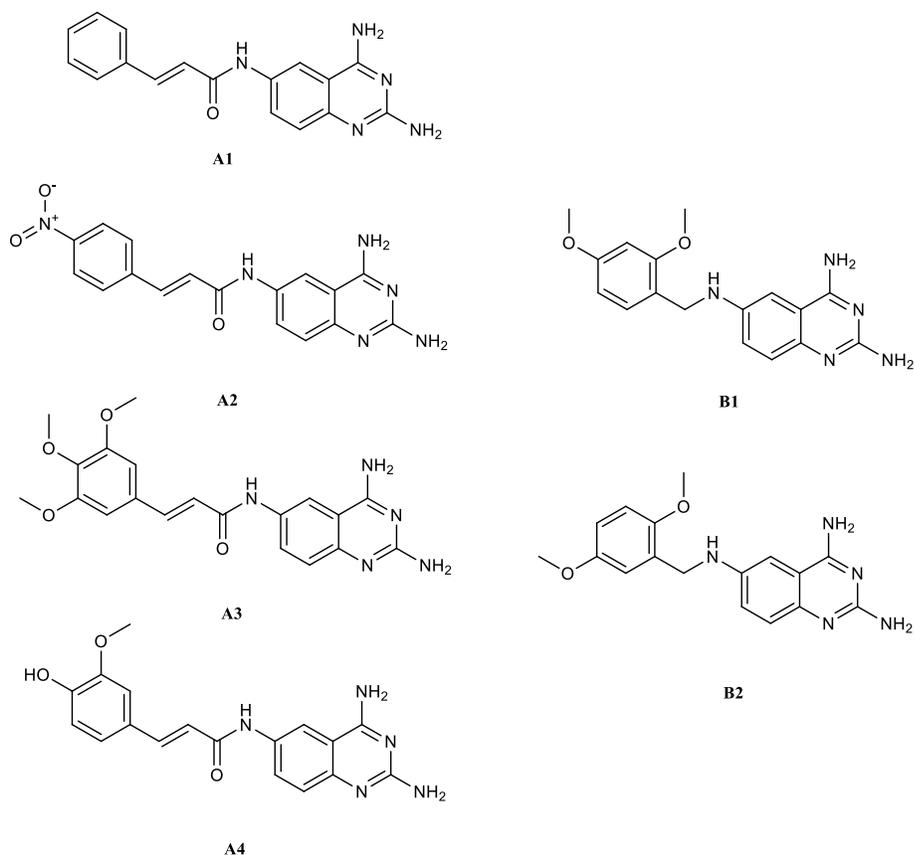
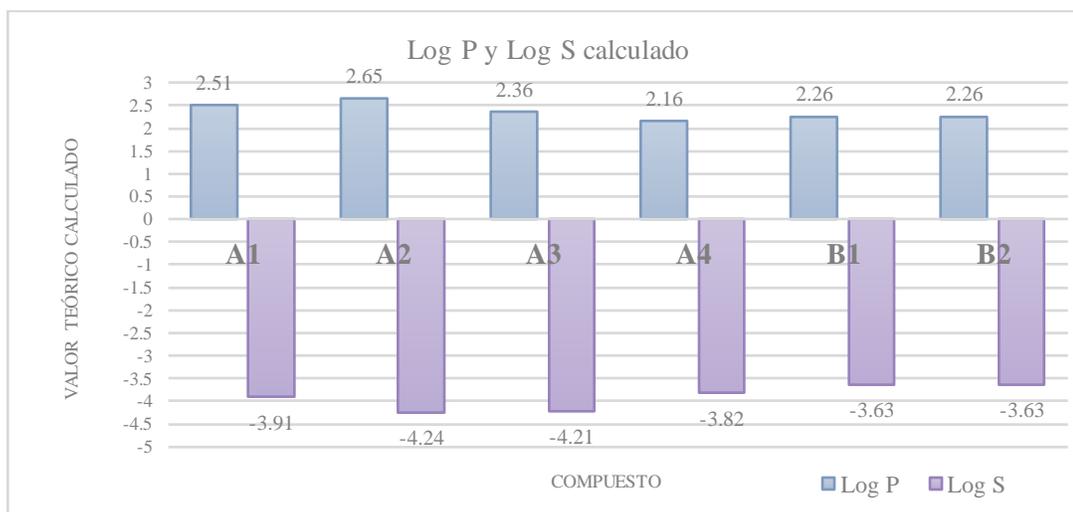


Figura 14. Moléculas propuestas para síntesis.

Posteriormente al conocer los compuestos por sintetizar, se estimaron algunos parámetros teóricos con el propósito de elucidar su posible carácter hidrofóbico, distribución en matrices biológicas, solubilidad y toxicidad de cada uno.



Gráfica 1. Cálculo de Log P y Log S con software ALOGPS 2.1.



Tabla 4. Predicción de la toxicidad de los compuestos por el programa OSIRIS Property Explorer

Compuesto	Mutagenicidad	Tumorigenicidad	Efectos irritantes	Efectos en sistema reproductor	
A1	●	●	●	●	•Riesgo alto •Riesgo medio •Riesgo bajo
A2	●	●	●	●	
A3	●	●	●	●	
A4	●	●	●	●	
B1	●	●	●	●	
B2	●	●	●	●	

Igualmente se aplicaron las Reglas de Lipinski para los compuestos a sintetizar y todos cumplen con tener una masa molecular menor a 500 Da, no más de 5 átomos donadores de enlaces de hidrógeno, no más de 10 átomos aceptores de enlaces de hidrógeno y un Log P menor a 5.

6.2 Síntesis

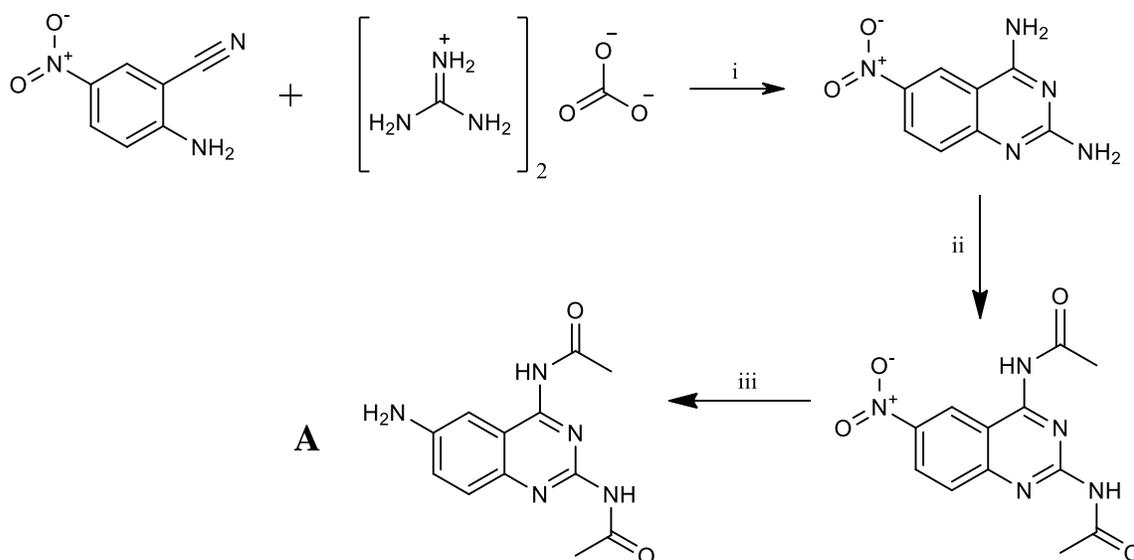
Para facilitar la comprensión de la síntesis realizada, se dividirá la parte experimental en dos apartados, el primero consiste en la explicación de la obtención de los compuestos **A1-A4**, que se caracterizan por su enlace amida, y el segundo apartado corresponderá a la metodología realizada para la síntesis de los compuestos **B1-B2**, que se caracterizan por el enlace amina.

6.2.1. Metodología experimental para los compuestos A1 – A4

La síntesis de los compuestos de interés mostrados en la Figura 14, se logró mediante una serie de reacciones que incluyeron la formación de intermediarios, algunos que corresponden al núcleo de quinazolina. Los esquemas de reacción que se muestran a continuación corresponden a las reacciones de forma general, ya que las modificaciones que existen entre los diferentes compuestos solo incluyen condiciones de tiempo y número de equivalentes.



En el Esquema 1 se muestra la síntesis de *N,N'*-(6-aminoquinazolin-2,4-diil)diacetamida, partiendo de 2-amino-5-nitrobenzonitrilo y llevando a cabo una serie de tres reacciones. La primera de ellas consistió en una ciclocondensación de 2-amino-5-nitrobenzonitrilo con carbonato de guanidina, en medio básico (a). Posteriormente, una reacción de acetilación con anhídrido acético en presencia de catalizador DMAP (b) y por último una reacción de hidrogenación catalítica heterogénea la cual dio lugar al compuesto **A** (c). La reacción de acetilación se llevó a cabo con el fin de proteger a los grupos amino en la posición 2 y 4 de la quinazolina.



Esquema 1. Formación del compuesto **A**. (i) KOH, PrOH/EtOH, 90 °C, 7 h. (ii) Ac₂O, DMAP, 100 °C, 2 h. (iii) H₂, Pd/C, MeOH, t.a., 45 min.

Por otra parte se llevó a cabo la formación de cloruros de ácido de los ácidos **Ac3** y **Ac4**, con el fin de activar al ácido carboxílico. La activación se realizó con SOCl₂. No fue necesaria la activación de **Ac1** y **Ac2** debido a que cada uno de ellos se obtuvo de forma comercial. (Esquema 2).

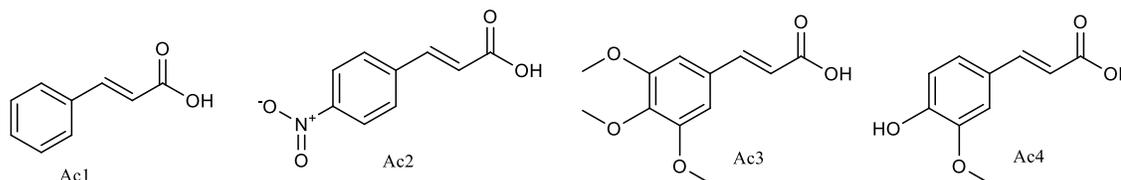
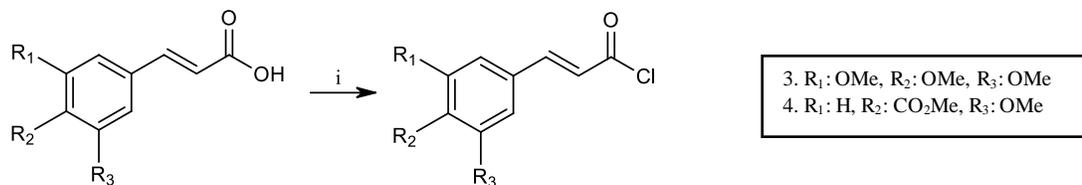


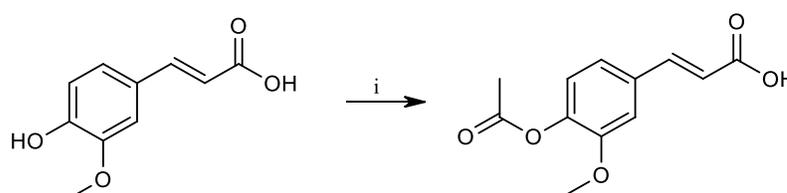
Figura 15. Ácidos empleados para la formación de los compuestos **A1** - **A4**.



Particularmente, el ácido **Ac1**, materia prima del compuesto **A4**, tuvo un tratamiento previo, ya que se protegió el grupo fenol mediante una acetilación con anhídrido acético, y DMAP como catalizador. (Esquema 3).

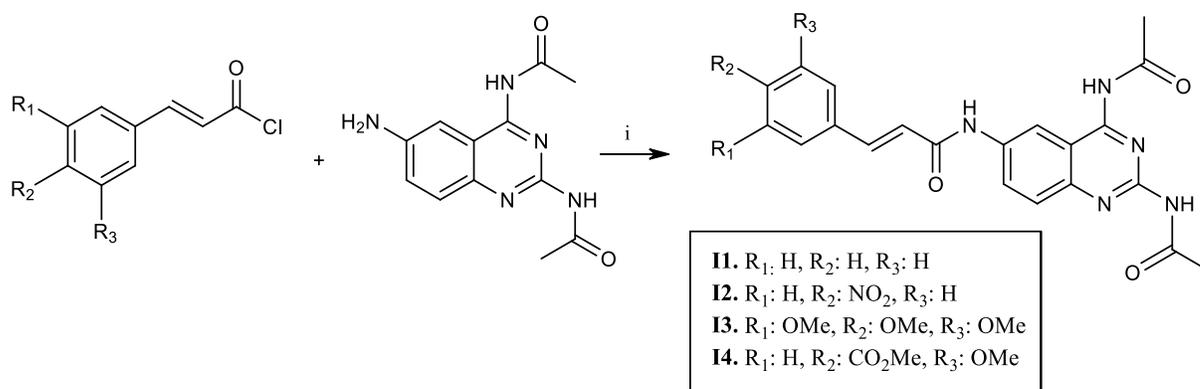


Esquema 2. Activación de ácidos carboxílicos. (i) SOCl₂, CHCl₃, 0 °C → reflujo, 4 – 5 h.



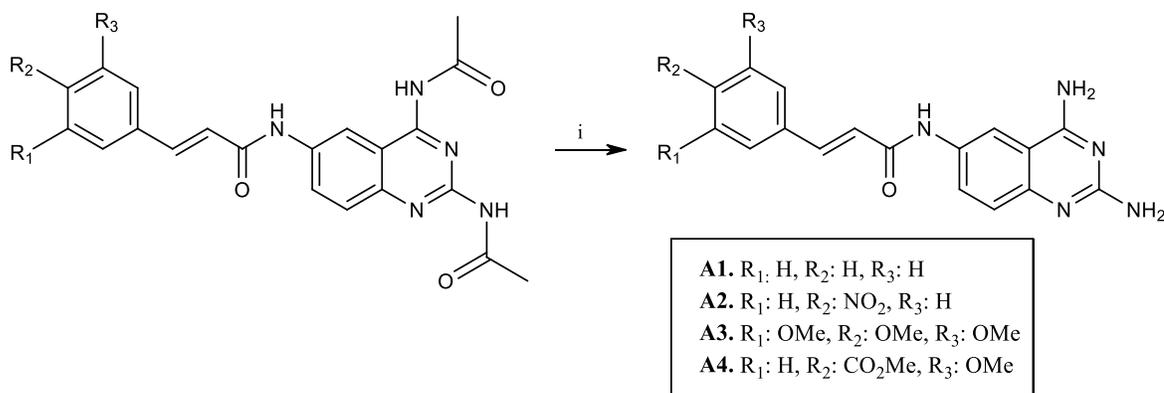
Esquema 3. Protección del grupo fenol del ácido ferúlico. (i) Ac₂O, DMAP, t.a., 24 h

Posteriormente, una vez que se obtuvieron los cloruros de ácido, se llevó a cabo una reacción de adición nucleofílica-eliminación entre las aminas y el cloruro de ácido, lo que dio lugar a la formación del enlace amida, entre el compuesto **A** y cada ácido activado, en condiciones básicas, obteniéndose así los intermediarios **I1-I4**.



Esquema 4. Formación de enlace amida para la obtención de los intermediarios I1-I4. (i) NaHCO₃, Acetona, 4 - 7 h, t.a.

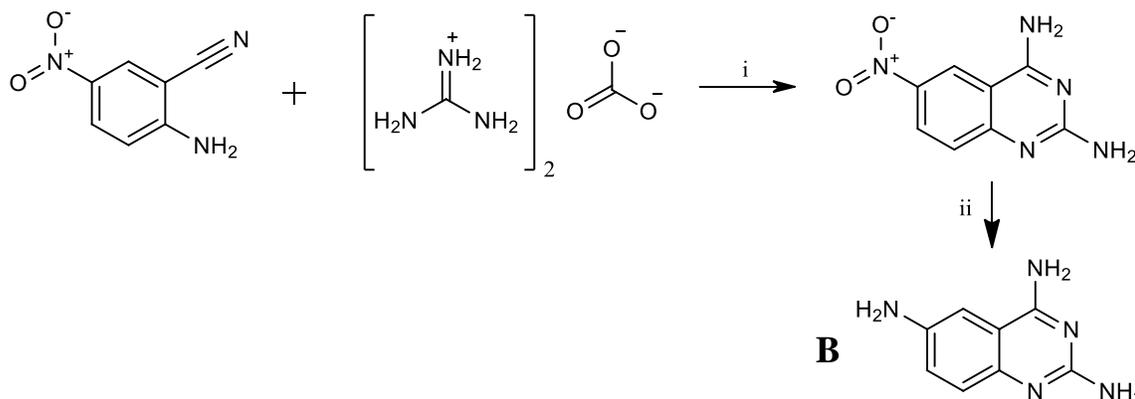
La hidrólisis selectiva de las amidas, que se formaron como protección de las aminas en la posición 2 y 4 de la parte del núcleo de quinazolina, dio origen a los compuestos finales **A1-A4**.



Esquema 5. Hidrólisis de grupos protectores para obtención de compuestos finales. (i) LiOH, MeOH, 60 °C, 3 – 5 h.

6.2.2. Metodología experimental para los compuestos B1-B2

Para la obtención de la segunda serie de compuestos se sintetizó la quinazolin-2,4,6-triamina, como se indica en el siguiente esquema. La diferencia entre los esquemas 1 y 6 es la protección de los grupos aminos en 2 y 4.



Esquema 6. Formación del compuesto **B**. (i) KOH, PrOH/EtOH, 90 °C, 7 h. (ii) H₂, Pd/C, MeOH, t.a., 1 h.

La obtención de la segunda serie de compuestos se llevó a cabo mediante una aminación reductiva. Primero se realizó la formación de iminas (entre un aldehído y la TAQ), conocidas también como bases de Schiff, y después una reducción de éstas para conseguir la formación de las aminas finales.

Los aldehídos se utilizaron sin ningún tratamiento previo. Para la formación de las iminas se empleó MeOH como disolvente y DMF-DMA para disminuir la cantidad de

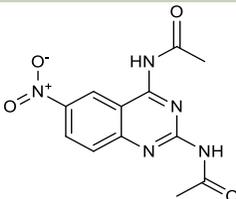
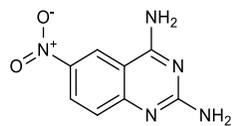
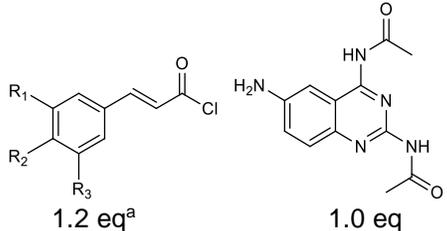


6.3. Síntesis de intermediarios y compuestos finales asistida por Microondas

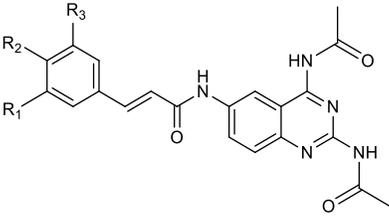
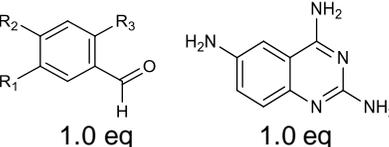
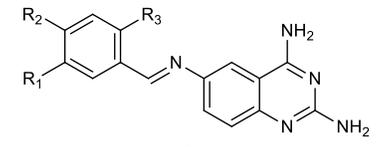
Para lograr uno de los objetivos planteados en este proyecto de tesis se utilizó un Microondas 300 con Autosampler MAS24 de la marca Anton Paar, en el que se probaron diferentes condiciones de microondas para obtener los compuestos deseados. Se utilizaron distintos tipos de viales según las indicaciones. Para la mayoría de las reacciones se utilizó el modelo G10 el cual es de borosilicato con una capacidad de 2 a 6 mL. Para las reacciones que necesitaban un medio básico (soluciones de hidróxido) se utilizó el vial SiC vessel que es de carburo de silicio y para los lotes más grandes se utilizó el vial G30 de borosilicato con una capacidad de 6 a 20 mL.

En la siguiente tabla se muestran las condiciones de reacción y de microondas para la obtención de los compuestos **A** y **B**, así como de los intermediarios y compuestos finales como objetivo del proyecto.

Tabla 5. Condiciones para la obtención de los intermediarios y compuestos finales mediante la síntesis asistida por microondas

Compuesto	Reactivos	Condiciones de reacción	Condiciones Microondas
A	 <p>1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial G30 con agitador magnético • 10 % Pd/C al 10% • 2.0 eq ciclohexeno • 10 mL acetona 	<p>160 °C 2 min</p>
B	 <p>1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial G10 con agitador magnético • 10 % Pd/C al 10% • 2.0 eq ciclohexeno • 6 mL MeOH 	<p>160 °C 2 min</p>
I1-I4	 <p>1.2 eq^a 1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial G10 con agitador magnético • 1.2 eq NaHCO₃ • 3 mL de acetona 	<p>90 °C 2 min</p>



<p>A1-A4</p>	 <p>1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial SiC vessel C10 con agitador magnético • 2.3 eq LiOH^b • 3 mL MeOH 	<p>90 °C 2 min^c</p>
<p>I5-I7</p>	 <p>1.0 eq 1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial G10 con agitador magnético • 3 mL MeOH • 3 gotas DMF-DMA 	<p>120 °C 10 min</p>
<p>B1-B3</p>	 <p>1.0 eq</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Vial SiC vessel C10 con agitador magnético • 3 mL MeOH • 3.0 eq NaBH₄ 	<p>70 °C 5 min</p>

^a A excepción del intermediario **I1** que necesitó 1.4 eq del cloruro de ácido correspondiente.

^b Se utilizaron 9.5 eq de LiOH para el compuesto **A4**.

^c Para la obtención del compuesto final **A4**, las condiciones fueron 100 °C 4 min.

El producto de cada una de las reacciones, tuvo el mismo tratamiento que el de la obtención por síntesis convencional.

6.4 Caracterización espectroscópica y espectrométrica

La elucidación estructural de todos los compuestos se realizó mediante el análisis de sus espectros de infrarrojo (IR), resonancia magnética de protón (RMN ¹H), resonancia magnética de carbono (RMN ¹³C) y espectrometría de masas (EM). Los datos de cada técnica se indican en el apéndice I.

6.5 Evaluación biológica

Para evaluar el posible efecto citotóxico de los compuestos sintetizados, se utilizó el ensayo colorimétrico MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol) que a continuación se describe.

6.5.1 Determinación de viabilidad celular

Para el estudio se utilizaron tres líneas celulares cancerígenas: HCT-15 (adenocarcinoma de colon), SKOV-3 (adenocarcinoma de ovario) y MDA-MB-231



(adenocarcinoma de mama). Se sembraron 8×10^3 células por pozo en un volumen de 100 μL de medio suplementado, en una placa de 96 pozos de fondo plano y se incubaron durante 24 horas a 37 °C en un incubador humidificado con 5 % de CO_2 para permitir la adherencia de las células a la placa. Posteriormente las células fueron expuestas a los compuestos (**A1 - A4, B1 - B2**) en un primer screening a una concentración de 50 μM durante 24 horas.

Para determinar la viabilidad celular se utilizó el método descrito por Mosmann⁶¹ con algunas modificaciones, tratando las células con 15 μL de MTT (5 mg/mL) durante 2 horas a 37 °C. Para disolver los cristales de formazán formados se adicionaron 100 μL de DMSO, se agitó en un orbital shaker a 150 rpm durante 10 minutos y se midió la absorbancia a 570 nm en un lector de microplacas (Epoch). Los experimentos fueron realizados por triplicado.

El porcentaje de viabilidad celular se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{Viabilidad celular} = (A_{\text{ct}}/A_{\text{cc}}) * 100$$

Donde:

A_{ct} : Absorbancia de la disolución de las células con tratamiento

A_{cc} : Absorbancia de la disolución de las células control

Las células control sólo contienen una disolución al % 0.2 v/v de DMSO.

La determinación de viabilidad celular para los compuestos sintetizados se realizó en la torre de investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.



7. Resultados y Discusión

El análisis de los resultados se dividirá en cuatro partes; la primera contempla la síntesis tradicional y caracterización espectroscópica de los compuestos obtenidos. En la segunda parte se realizará el análisis entre las dos metodologías de síntesis utilizadas (microondas y síntesis tradicional). La tercera parte consiste en el estudio teórico de los compuestos propuestos, específicamente, el acoplamiento molecular entre éstos y las dianas biológicas seleccionadas. Por último, en la cuarta sección, se presentarán los resultados respectivos a la evaluación biológica.

7.1 Síntesis y caracterización espectroscópica y espectrométrica de los derivados de quinazolina

Los compuestos **A** y **B** fueron obtenidos por métodos ya reportados y se caracterizaron mediante análisis por cromatografía en capa fina comparativa, punto de fusión (p.f.) comparativo y RMN ^1H , asignado los desplazamientos químicos (δ), constantes de acoplamiento (J) y multiplicidades correspondientes.^{42, 44}

Tabla 6. Datos generales de los compuestos intermediarios sintetizados

Compuesto	R.f.	Sistema de elución ^a	Aspecto y color	p.f. (°C) ^b	Rendimiento (%)
A	0.40	III	polvo amarillo claro	241.8 – 242.2	68.0
B	0.24	VI	polvo amarillo claro	254.9 – 261.5	87.9
I1	0.65	III	polvo amarillo claro	264.2 – 265.8	69.5
I2	0.71	II	polvo anaranjado	291.2 – 292.8	84.7
I3	0.64	III	polvo amarillo claro	218.2 – 219.9	87.0
I4	0.59	I	polvo amarillo claro	239.8 – 242.3	53.6
I5	0.28	V	polvo amarillo fuerte	203.8 – 206.1	77.7
I6	0.43	V	polvo amarillo	205.8 – 208.4	91.3

^a La composición de los sistemas de elución se encuentran en el apéndice I.

^b Punto de descomposición.

Con el propósito de ejemplificar los resultados de caracterización de los intermediarios obtenidos, se presenta la caracterización de un intermediario con el



tipo de enlace amida (**I1**) y uno para el enlace amina correspondiente (**I5**), por medio de los espectros de RMN ^1H obtenidos para cada uno de ellos.

Con fines ilustrativos, se enumeraron los hidrógenos de cada compuesto independiente de las reglas IUPAC.

7.1.1 Compuesto A

El compuesto **A** se obtuvo como un sólido amarillo claro y con características que se indican en la tabla 6. Una consideración importante es el tiempo de reacción de reducción del grupo nitro en posición 6, debido a que después de un tiempo determinado, ocurre una posible desacetilación en posición 2 y 4, del anillo de quinazolina.

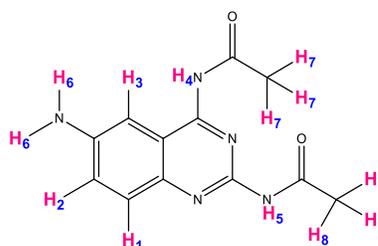


Figura 17. Compuesto **A**. *N,N'*-(6-aminoquinazolin-2,4-diil)diacetamida.

El espectro de RMN ^1H del compuesto **A**, mostró claramente las señales de los 13 protones de la molécula. Se observaron las señales que corresponden al H_1 , a 7.50 ppm como un doblete con una $J = 8.90$ Hz, característico de un acoplamiento orto con H_2 ; éste último mostró un doble de dobles a 7.29 ppm con $J = 9.0$ y 2.3 Hz correspondientes a un acoplamiento en orto y meta cada uno. La señal del H_3 fue un doblete con J de 2.4 Hz a 7.02 ppm. Los protones asignados H_4 y H_5 de los enlaces amida, muestran señales a 10.24 ppm y 10.50 ppm respectivamente. Los protones H_6 correspondientes al grupo amino se encuentran a 5.61 ppm como un singulete que integra para dos protones. Por último, a campo alto, en 2.20 y 2.33 ppm se observan dos singuletes que integran para tres protones cada uno, que corresponden a los grupos metilos (espectro 1).



7.1.2 Compuesto B

El compuesto **B** se obtuvo como un sólido amarillo claro y con características que se indican en la tabla 6. No es posible la purificación de este compuesto debido a que presenta inestabilidad por su tendencia a oxidarse, por lo que la síntesis se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura, luz y atmósfera controladas.

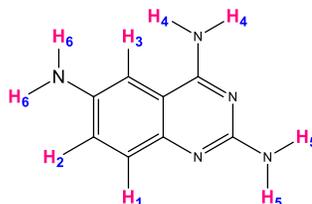


Figura 18. Compuesto **B**. quinazolin-2,4,6-triamina.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **B** se observaron las señales correspondientes de los 9 protones que conforman al núcleo de TAQ. Para el H_1 , corresponde la señal que se encuentra entre 6.97 ppm a 6.94 ppm, en donde se observa un doblete con una constante de acoplamiento de 9.05 Hz, indicativa de un acoplamiento en orto con el H_2 . Dentro de este intervalo, también se observa la señal traslapada del H_3 , con una constante de acoplamiento de 4.80 Hz, correspondiente a un acoplamiento en meta con el H_2 , aunque es más grande de la J esperada para este tipo de acoplamiento, probablemente por el efecto que tienen las aminas en el H_3 . También se observa un doble de dobles a 7.01 ppm, al que se le atribuye al H_2 , debido a su acoplamiento con H_1 en orto y H_3 en meta, con sus J correspondientes. Las señales para H_4 , H_5 y H_6 se observaron como singuletes que integran para dos protones cada uno, a 6.84, 5.49 y 4.77 ppm (espectro 2).

7.1.3 Compuesto I1

El intermediario **I1**, representa la formación del enlace amida, entre el cloruro de ácido correspondiente y la amina en posición 6 de la TAQ con los grupos amino en posición 2 y 4 protegidos. Para la obtención de este compuesto se buscaron las condiciones adecuadas con el propósito de disminuir los pasos de purificación.

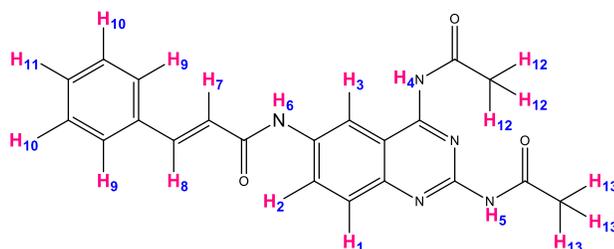


Figura 19. Compuesto **I1**. (2*E*)-*N*-(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida.

Durante la reacción de aminólisis se forma HCl, por lo que se decidió utilizar una base inorgánica (NaHCO₃) con el propósito de neutralizar al HCl generado, remover el protón del intermediario tetraédrico formado por la adición nucleofílica al grupo carbonilo, además de aumentar la nucleofilia del grupo amino de interés (el cual presenta baja reactividad debido a su aromaticidad y efecto resonante).

Tabla 7. Señales de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) del compuesto **I1**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	<i>J</i> (Hz)	Número de protones para los que integra
H1	7.74	d	9.1	1
H2	8.07	dd	9.1, 2.2	1
H3	8.52	d	2.1	1
H4	10.55	s	-	1
H5	10.46	s	-	1
H6	10.82	s	-	1
H7	7.65	d	15.5	1
H8	6.89	d	15.79	1
H9	7.66	dd	8.5, 1.4	2
H10-11	7.50 – 7.40	m	-	3
H12	2.25	s	-	3
H13	2.39	s	-	3

El espectro de RMN ¹H del compuesto **I1** mostró claramente para el anillo de quinazolina las señales que corresponden a los 19 protones de la molécula como se muestra en la tabla 7. Los protones H₄ y H₅ correspondientes a los grupos amida, se observaron como singuletes a campo bajo, integrando para un protón cada uno, señales que se esperaban después de la acetilación de los grupos amino del anillo de quinazolina. El protón H₆, se observó a 10.82 ppm, como un singulete. Éste fue considerado como clave para reconocer la formación del compuesto de interés mediante el enlace amida. Los protones H₇ y H₈, corresponden a los protones que



conforman al enlace conjugado, y se observaron como dobletes con $J = 15.54$ Hz y $J = 15.79$ Hz características del enlace doble. Los protones H_9 se mostraron a 7.66 ppm como un doble de dobles con $J = 8.54, 1.37$ Hz, integrando para los dos protones simétricos. Las señales de los protones H_{10} y H_{11} no se observaron claramente en el espectro, debido a que se presentó traslape de las señales y se registró como un multiplete (espectro 3).

7.1.4 Compuesto I5

El intermediario **I5** corresponde a la formación de la imina, formada a partir del aldehído **a11** y la amina primaria (**B**). Para esta reacción, no fue necesario agregar ácido como catalizador por la electrofilia presentada por el carbonilo. Así se evitó que el medio ácido protonara a la amina disminuyendo su nucleofilia. Para llevar a cabo esta reacción, no se realizó la protección de los grupos aminos en posición 2 y 4 de la TAQ, debido a que el grupo amino en posición 6 presenta mejor perfil nucleofílico. Se agregó DMF-DMA con el objetivo de favorecer el desplazamiento del equilibrio químico hacia la formación de productos.

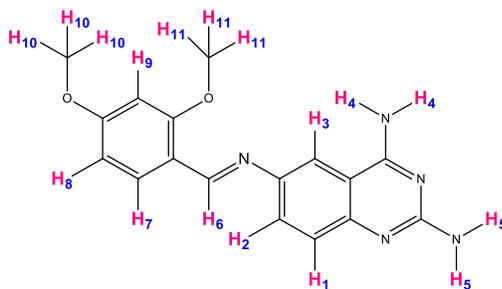


Figura 20. Compuesto **I5**. 6- $\{(E)\text{-}[(2,4\text{-dimetoxifenil)metiliden]amino}\}$ quinazolin-2,4-diamina.

En su espectro de RMN ^1H (espectro 4) se observan las señales mostradas en la tabla 8. El protón marcado como H_6 se observó como un singulete a 8.85 ppm, considerado como señal clave indicativa de la formación de la imina.



Tabla 8. Señales de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **I5**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra
H1	7.24	d	8.8	1
H2	7.49	dd	8.9, 1.9	1
H3	7.89	d	2.1	1
H4	7.44	s	-	2
H5	6.20	s	-	2
H6	8.85	s	-	1
H7	7.99	d	8.6	1
H8	6.65	d	7.8	1
H9	6.63	d	2.2	1
H10	3.89	s	-	3
H11	3.84	s	-	3

A continuación, se presentan los resultados de la síntesis y caracterización de los 7 compuestos finales obtenidos en este proyecto.

Tabla 9. Datos generales de los compuestos finales sintetizados

Compuesto	R.f.	Sistema de elución ^a	Aspecto y color	p.f. (°C) ^b	Rendimiento (%)
A1	0.39	V	polvo fino verde claro	276.9 – 278.7	50.0
A2	0.41	V	polvo fino rojo	320 ^b	78.8
A3	0.29	V	polvo fino amarillo claro	164.8 – 166.2	51.7
A4	0.55	VI	polvo fino amarillo claro	260 ^b	58.1
B1	0.59	VI	cristales amarillo claro	212.3 – 213.8	71.9
B2	0.35	V	cristales verde fuerte	177.7 – 180.4	60.5

^a La composición de los sistemas de elución se encuentran en el apéndice I.

^b Punto de descomposición.



7.1.5 Compuesto A1

El compuesto **A1** finalmente se obtuvo a partir de la desacetilación de los grupos amino en posición 2 y 4 de la quinazolina del compuesto **I1**.

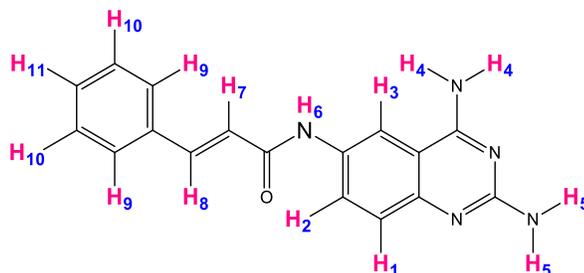


Figura 21. Compuesto **A1**. (2*E*)-*N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida.

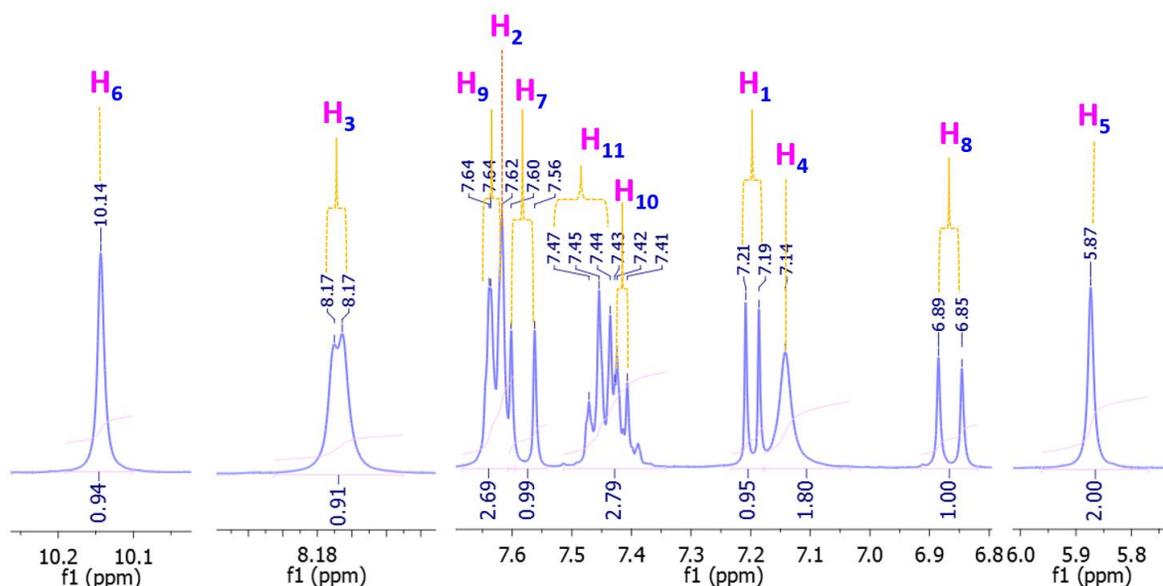


Figura 22. Señales correspondientes a los protones del compuesto **A1**.

En el espectro de RMN ^1H , se observaron las señales correspondientes a los 15 protones (H) del compuesto **A1**. Los H₁₋₅ pertenecen al núcleo de quinazolina. La señal de H₁₁, del cual se esperaba un triplete de dobles por tener dos protones vecinos (H₁₀) y acoplamiento en orto con H₁₀ y en meta con H₉, se mostró a un desplazamiento de 7.69–7.61 ppm con un traslape con el H₁₀. Los protones H₄ se observaron como un singulete ancho a 7.14 ppm, debido a que estos protones se encuentran unidos a un elemento electronegativo. Los protones H₇ y H₈, se observaron como dobletes con una *J* de 15.17 Hz característica de alquenos (protones acoplados en posición *trans*). La parte aromática que corresponde a los



protones H₉₋₁₁, presenta simetría, y se observaron como señales complejas y traslapadas. Para los H₉, se esperaba encontrar un doble de dobles, por su acoplamiento en orto con H₁₀ y en meta con H₁₁, sin embargo, estas señales están traslapadas con las correspondientes a H₂.

Tabla 10. Señales de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) del compuesto **A1**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra	Señal traslapada	J (Hz)	Número de protones correspondientes
H1	7.20	d	8.9	1			
H2	7.69 – 7.61	m	-	1	d	8.9	1
H3	8.17	d	1.8	1			
H4	7.14	sa	-	2			
H5	5.87	s	-	2			
H6	10.14	s	-	1			
H7	7.58	d	15.7	1			
H8	6.87	d	15.7	1			
H9	7.69 – 7.61	m	-	2	dd	8.0, 1.1	2
H10	7.48 – 7.40	m	-	2	dd	7.3, 1.5	2
H11	7.48 – 7.40	m	-	1	td	6.7, 1.6	1

En el espectro de RMN ¹³C se obtuvieron las 15 señales esperadas considerando la simetría del compuesto. Las señales correspondientes al enlace insaturado se presentaron a 139.75 ppm y 122.31 ppm, y se observó la señal del carbonilo de la amida a 163.28 ppm. A 162.24 ppm y 160.29 ppm se observaron las señales de los carbonos unidos a las aminas primarias de la TAQ.

En el espectro de infrarrojo se observaron señales a 3467 cm⁻¹ y 3319 cm⁻¹ correspondientes a la vibración de tensión simétrica y asimétrica del enlace N-H de las aminas primarias. A 3125 cm⁻¹ se observó otra señal fuerte y ligeramente ancha correspondiente a la tensión de N-H de la amida secundaria. El espectro también mostró una señal a 1658 cm⁻¹ de la vibración de tensión del enlace C=O de la amida, y en 1615 cm⁻¹ la vibración de deformación del enlace N-H de la amida. No se observó la banda de tensión entre 1625-1575 cm⁻¹ característica del enlace C-C del anillo aromático. A 3060 cm⁻¹ se observó la señal de la vibración de tensión del enlace sp².



En su espectro de masas obtenido mediante FAB (Bombardeo con átomos rápidos) se observó el pico base que corresponde a la especie MH^+ , $m/z = 306$ (100%), también se observó un pico a $m/z = 305$ (60%), que corresponde a la especie M^+ , por pérdida de un hidrógeno, el cual se ajusta al peso molecular del compuesto propuesto. La especie protonada frecuentemente se genera en este tipo de técnica y presenta una abundancia relativa que en la mayoría de las ocasiones representa al pico base del espectro, lo que es útil para identificar al ion molecular y en consecuencia asignar la masa del compuesto analizado. La generación de la especie MH^+ , se puede explicar por una interacción de la matriz y la muestra o con el agente ionizante.

7.1.6 Compuesto A2

El compuesto **A2** se obtuvo por desacetilación del intermediario **I2**. La formación de **I2** fue más rápida en comparación con los demás compuestos de enlace tipo amida, debido a que el cloruro de ácido contiene el grupo nitro, el cual al ser un grupo electroattractor favorece la propiedad electrofílica del carbonilo del cloruro de ácido correspondiente.

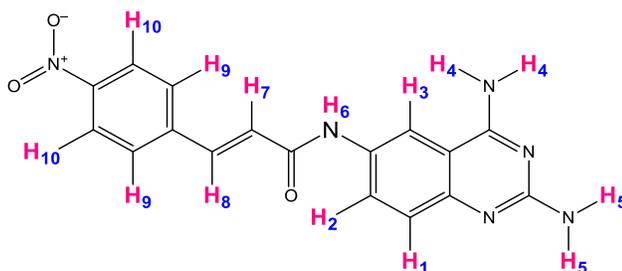


Figura 23. Compuesto **A2**. (2E)-N-(2,4-diamidoquinazolin-6-il)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enamida.

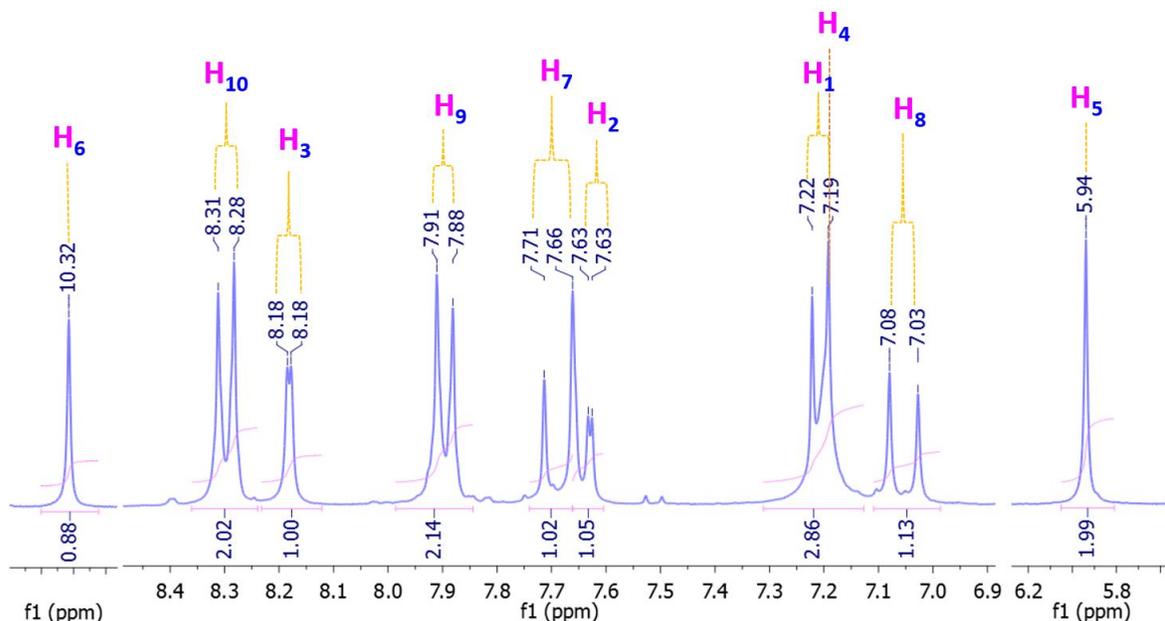


Figura 24. Señales correspondientes a los protones del compuesto **A2**.

En el espectro de RMN ^1H , se observaron las señales correspondientes a los 14 protones (H) del compuesto **A2**. En la figura 24, se puede observar el espectro del compuesto **A2**, en donde se muestra la presencia de un traslape de las señales de los protones asignados como H_1 y H_4 , en donde se esperaba un doblete para H_1 por su acoplamiento en orto con el protón H_2 , y un singulete ancho para los protones H_4 correspondientes a la amina primaria del anillo de quinazolina.

Tabla 11. Señales de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto **A2**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra	Señal traslapada	J (Hz)	Número de protones correspondientes
H1	7.21	d	8.9	3	d	8.9	1
H2	7.64	dd	9.5, 2.2	1			
H3	8.18	d	2.1	1			
H4	7.19	d	-	3	sa	-	2
H5	5.94	s	-	2			
H6	10.32	s	-	1			
H7	7.69	d	15.6	1			
H8	7.05	d	15.8	1			
H9	7.90	d	8.8	2			
H10	8.30	d	8.8	2			



En el espectro de RMN ^{13}C se obtuvieron las 15 señales, las cuales concuerdan con la simetría del compuesto. A 137.35 ppm y 124.72 ppm se presentaron las señales correspondientes al enlace insaturado y la señal del carbonilo de la amida a 162.57 ppm. A 162.26 ppm y 160.34 ppm se observaron las señales de los carbonos unidos a las aminas primarias de la TAQ.

En el espectro de infrarrojo se observaron señales a 3476 cm^{-1} y 3460 cm^{-1} correspondientes a la vibración de tensión simétrica y asimétrica del enlace N-H de las aminas primarias. A 3279 cm^{-1} se observó otra señal fuerte y ligeramente ancha correspondiente a la tensión de N-H del enlace amida secundaria. En 3104 cm^{-1} se observó la señal representativa de la vibración de tensión del doble enlace. Se observó una señal a 1655 cm^{-1} por la vibración de tensión del enlace C=O de la amida y a 1611 cm^{-1} por la tensión C=C de los anillos aromáticos. La presencia del grupo nitro presentó señales a 1510 cm^{-1} y 1342 cm^{-1} , correspondientes a su vibración asimétrica y simétrica del enlace N-O. Finalmente, se observó una señal a 828 cm^{-1} , representativa de la sustitución en para del anillo aromático de la parte del ácido acoplado al núcleo de quinazolina, por su vibración ar-C-H fuera del plano.

En su espectro de masas obtenido mediante FAB, se observó un pico a $m/z = 351$ (75%) que corresponde a la especie MH^+ , después se observa la pérdida de un protón lo que da origen a la especie M^+ $m/z = 350$ (25 %) cuyo peso molecular concuerda con el del compuesto **A2**, éste último se muestra poco intenso, debido a la insolubilidad del compuesto en la matriz utilizada.

7.1.7 Compuesto A3

La presencia de grupos electrodonadores dificultó la síntesis del compuesto **A3**, necesitando mayor tiempo de reacción para la formación del enlace amida. Finalmente, se obtuvo como un polvo fino amarillo claro como se indica en la tabla 9.

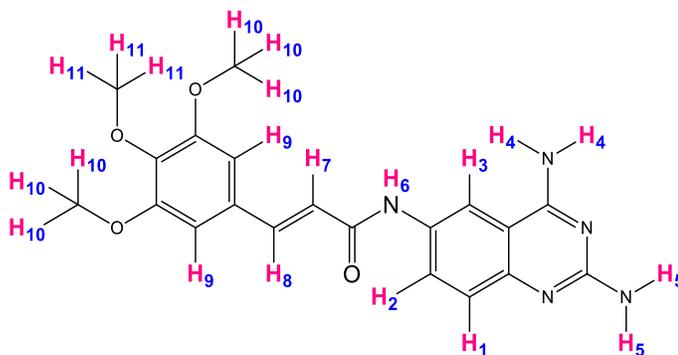


Figura 25. Compuesto **A3**. (2*E*)-*N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enamida.

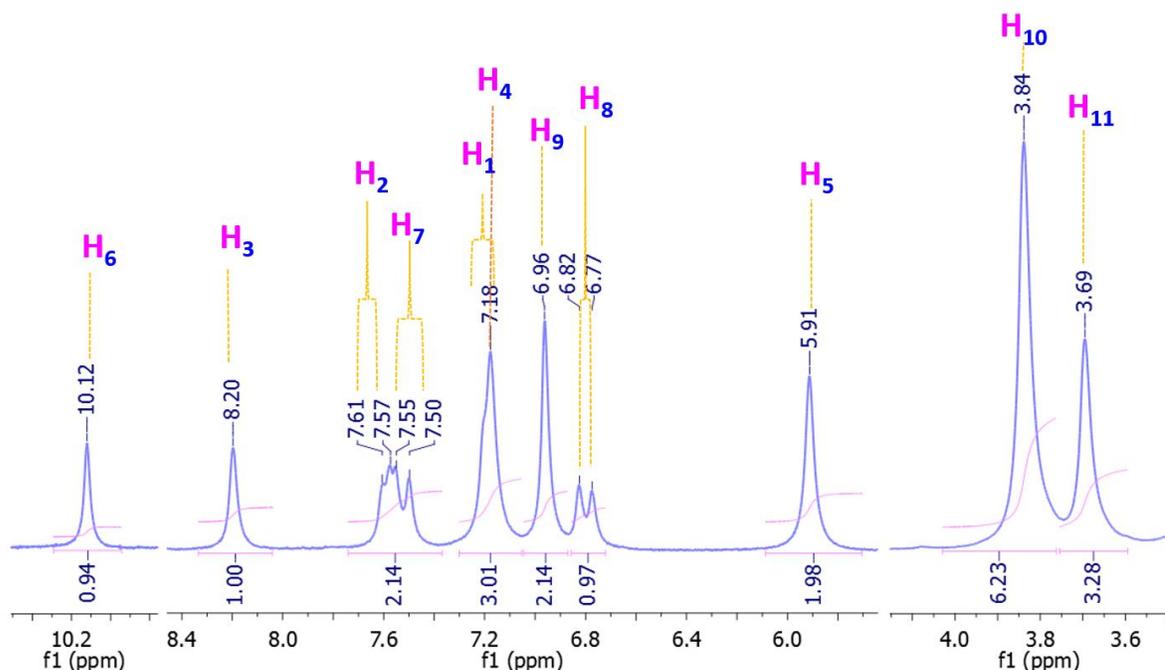


Figura 26. Señales correspondientes a los protones del compuesto **A3**.

En el espectro de RMN ^1H , se observaron las señales pertenecientes a los 21 protones del compuesto **A3**. Las señales observadas concuerdan con la simetría del compuesto. Los dobletes correspondientes a los protones H_2 y H_7 se encuentran traslapados, por lo que dificultó la asignación de las señales, aun así, se encontraron las constantes de acoplamiento respectivas que concuerdan con lo esperado. Para los protones H_1 y H_4 , los cuales también se encuentran traslapados, se esperaba observar un singulete con una integración para dos protones de la amina en posición 4 de la TAQ y un doblete correspondiente al protón H_1 por su acoplamiento con H_2 (con una constante de acoplamiento característica del acoplamiento en orto), en cambio se presenta un singulete ancho y deformado que integra para tres protones.



Debido a la simetría que presenta el compuesto, los protones H₁₀ se encuentran en una sola señal con una integración para los 6 protones. El doblete asignado para el protón H₈ no presenta traslape, y tiene una *J* de 15.3 Hz, esperada por su acoplamiento con el protón H₇ del doble enlace en configuración *trans*.

Tabla 12. Señales de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) del compuesto **A3**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	<i>J</i> (Hz)	Número de protones para los que integra
H1	7.19	d	6.4	1
H2	7.50	d	8.7	1
H3	8.20	s	-	1
H4	7.18	s	-	2
H5	5.91	s	-	2
H6	10.12	s	-	1
H7	7.52	d	15.6	1
H8	6.80	d	15.3	1
H9	6.96	s	-	2
H10	3.84	s	-	6
H11	3.69	s	-	3

En el espectro de RMN ¹³C se observaron las señales correspondientes al enlace insaturado a 139.21 ppm y 121.58 ppm, la señal del carbonilo de la amida a 163.79 ppm así como las señales de los metoxilos a 60.53 ppm y 56.28 ppm. A 162.49 ppm y 160.23 ppm se observaron las señales de los carbonos unidos a las aminas primarias de la TAQ.

En el espectro de infrarrojo obtenido para el compuesto **A3**, sólo se observó una señal a 3334 cm⁻¹ cuando se esperaban dos por tratarse la vibración de tensión del enlace N-H de aminas primarias. Esto posiblemente debido a la cantidad de agua en **A3**; situación reflejada en la observación de la tensión de 3400 cm⁻¹ a 2400 cm⁻¹ por un enlace O-H, como una señal muy ancha debido a la formación de puentes de hidrógeno. A 3170 cm⁻¹ se observó otra señal fuerte y ligeramente ancha correspondiente a la tensión de N-H del enlace amida secundaria. En 1614 cm⁻¹ se observó la señal representativa de la vibración de tensión del enlace C=O de la amida y a 1543 cm⁻¹ por la flexión del enlace N-H de la misma. A 3002 cm⁻¹ y 1583 cm⁻¹ se encontraron las señales correspondientes a la vibración de tensión del



enlace sp^2 y la tensión $C=C$ del anillo aromático, respectivamente. Finalmente, se observaron las señales a 1276 cm^{-1} y 1123 cm^{-1} , que representan la vibración de tensión asimétrica y simétrica $C-O-C$ correspondiente a los grupos metoxilos.

En su espectro de masas, obtenido por IE (impacto electrónico), se observó el pico base a $m/z = 221$ (100%) por la pérdida de $M-175$. El ion molecular $[M^+]$ se observó a $m/z = 395$ con una abundancia relativa del 45%, el cual corresponde a la masa molecular del compuesto.

A continuación, se muestra a manera de ejemplo, el mecanismo de fragmentación propuesto para el compuesto **A3**, en donde se presenta la formación del fragmento de TAQ (también observado en los demás compuestos).

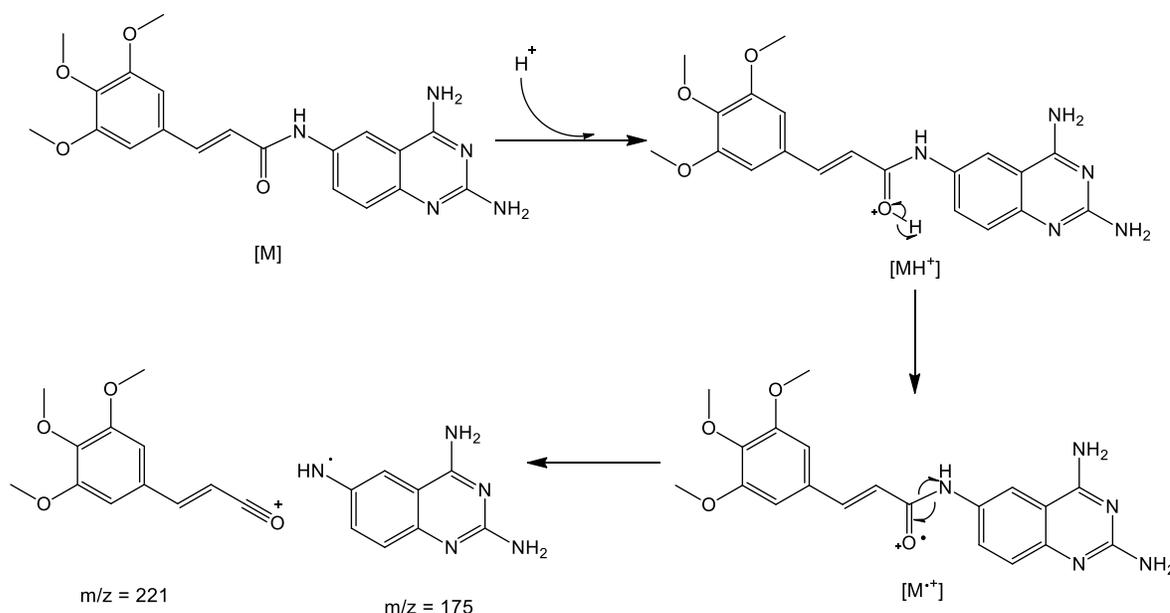


Figura 27. Fragmentación propuesta para el compuesto **A3**.



7.1.8 Compuesto A4

Para obtener este compuesto final se realizó una serie de reacciones previas (protección del fenol, activación del ácido carboxílico y la formación del enlace amida), las cuales necesitaron lapsos de tiempo largos, posiblemente por las características estructurales del compuesto como lo son los grupos electrodonadores. Debido a lo mencionado anteriormente, además de algunas características correspondientes a cada reacción, se obtuvieron productos con baja pureza, por lo que se intentó llevar a cabo la purificación de cada intermediario realizando algunas técnicas como la cromatografía en columna, recristalización por par de disolventes, extracción con disolventes orgánicos y cromatografía en capa fina (placa preparativa). Sin embargo, los intermediarios presentaban inestabilidad, obteniéndose bajos rendimientos después de la purificación o simplemente no se obtenía el producto deseado por alguna modificación durante el proceso (principalmente la desacetilación de las aminas, así como del hidroxilo fenólico). Se decidió continuar con la síntesis sin la purificación de los intermediarios además de realizar cada reacción de forma continua y en condiciones controladas para evitar la formación de impurezas.

Una vez que se obtuvo el compuesto **I4**, se realizó su desprotección mediante la hidrólisis de las amidas en posición 2 y 4 de la TAQ y del éster, con las mismas condiciones consideradas para la obtención de los productos **A1–A3**. Esta reacción se dificultó ya que se obtenían bajos rendimientos por la formación de subproductos al modificar las condiciones de reacción para lograr una desacetilación total.

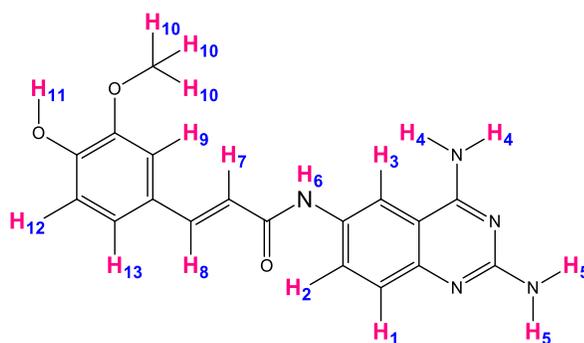


Figura 28. Compuesto **A4**. (2E)-N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enamida.



La síntesis asistida por microondas permitió la obtención del producto final **A4** al realizar la reacción de desacetilación por completo, evitando la formación de subproductos.

En el espectro de RMN ^1H , se observaron las señales correspondientes a los 17 protones del compuesto **A4**. En la figura 29 se puede observar que las señales de los protones asignados como $\text{H}_{4,9,12}$ y H_{13} se encuentran juntas por lo que dificulta la integración de cada señal. Aun así fue posible obtener las constantes de acoplamiento representativas. Para el protón H_2 , se obtuvo un doble de dobles poco perceptible, pero que concuerda con el acoplamiento en orto con el protón H_1 y el acoplamiento en meta con el protón H_3 , obteniéndose una J de 8.7 y 1.2 Hz respectivamente. También se observó un doblete pequeño con una J de 0.7 Hz, constantes bajas por el acoplamiento en meta. Se observaron claramente las señales correspondientes a los protones H_7 y H_8 que corresponden a los protones en *trans* del doble enlace las cuales coinciden con la J característica.

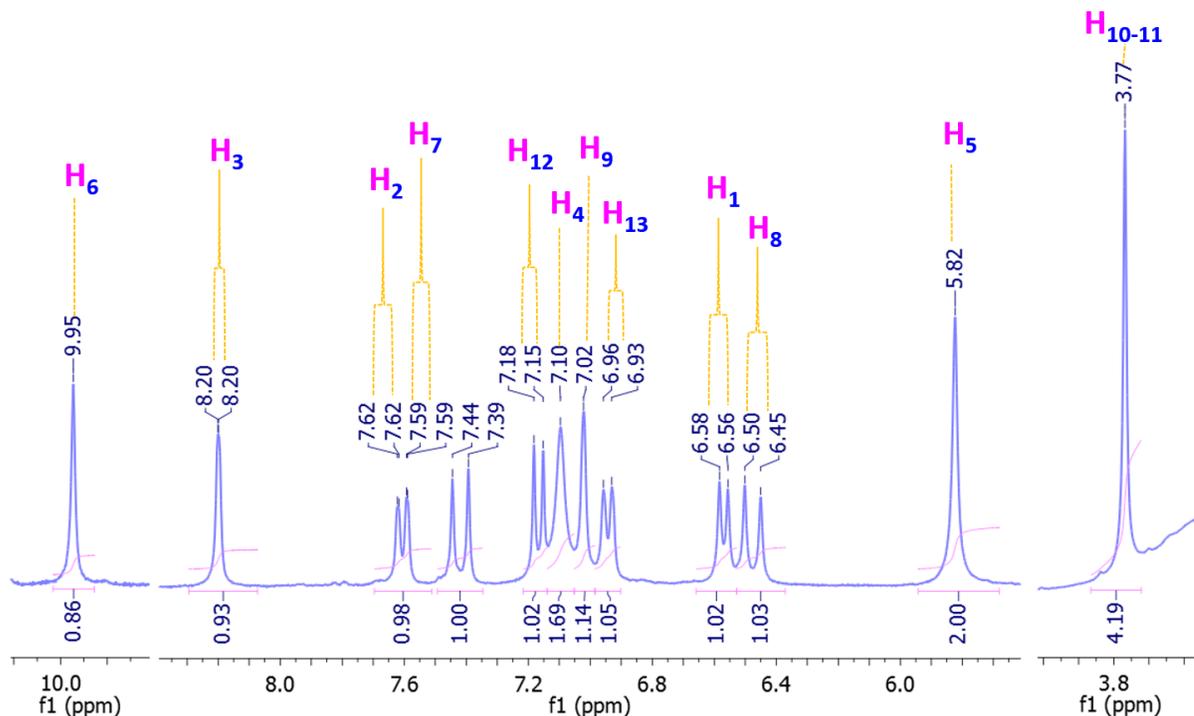


Figura 29. Señales correspondientes a los protones del compuesto **A4**.



Tabla 13. Señales de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto **A4**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra
H1	6.57	d	8.1	1
H2	7.61	dd	8.7, 1.2	1
H3	8.20	d	0.7	1
H4	7.10	sa	-	2
H5	5.82	s	-	2
H6	9.95	s	-	1
H7	7.42	d	15.4	1
H8	6.48	d	15.4	1
H9	7.02	s	-	2
H10-11	3.77	s	-	4
H12	7.17	d	8.9	1

En el espectro de infrarrojo se observó una señal a 3334 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión del enlace N-H característica de las aminas primarias (la otra señal no se presentó igual que el compuesto **A3**, posiblemente por la presencia de agua como se mencionó anteriormente). Las señales correspondientes a la amida se observaron a 3105 cm^{-1} por la tensión de N-H de amida secundaria, a 1614 cm^{-1} por la vibración de tensión del enlace C=O y a 1552 cm^{-1} correspondiente a la flexión del enlace N-H. A 1224 cm^{-1} y 1122 cm^{-1} se encontró la señal de la vibración de tensión asimétrica y simétrica del enlace C-O-C (arC-O-aIC) que corresponde a los grupos metoxilos. No se observó una señal definida entre 3600 cm^{-1} y 3200 cm^{-1} que indique la presencia de la tensión del enlace O-H del fenol ya que se encuentra una señal ancha y fuerte en esa parte del espectro debido a la formación de puentes de hidrógeno. La vibración de la tensión del enlace arC-OH característica de fenol se observó a 1152 cm^{-1} . Finalmente, se registró una señal a 1583 cm^{-1} por tensión del anillo aromático por la presencia del enlace arC=C.

En su espectro de masas obtenido mediante la técnica FAB, se observó el ion molecular a $m/z = 351$ con una abundancia relativa del 17%, el cual corresponde a la masa molecular del compuesto. La presencia de grupos amino e hidroxilo desestabiliza a los compuestos generando la fragmentación de la molécula, y por lo tanto, baja intensidad de las señales correspondientes al ion molecular.



Las señales de los espectros de RMN ^{13}C no se observaron con claridad por lo que no se reportarán para los compuestos **A4** y **B1**.

7.1.9 Compuesto B1

El compuesto **B1** se obtuvo mediante aminación reductiva. Para la síntesis de los compuestos **B1-B3** fue importante utilizar al compuesto **B** inmediatamente después de su obtención (no más de 24 h después de la síntesis), ya que este compuesto tiende a oxidarse fácilmente.

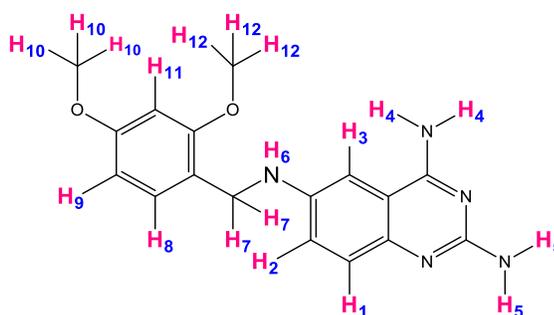


Figura 30. Compuesto **B1**. N^6 -[(2,4-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina.

La asignación de las señales de los 19 protones de **B1** se indica en la tabla 14.

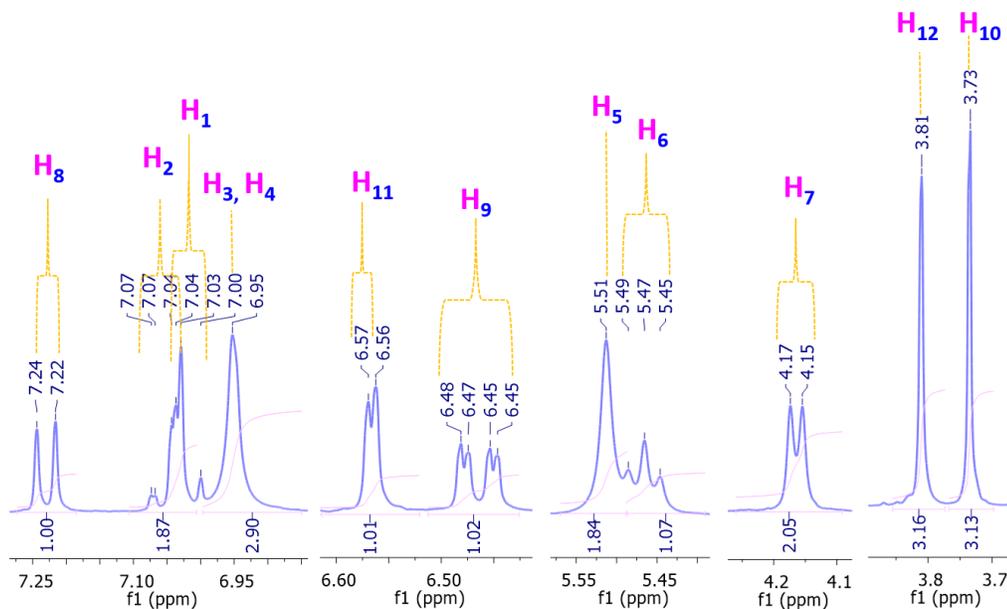


Figura 31. Señales correspondientes a los protones del compuesto **B1**.



La señal correspondiente al protón H₂ se observó traslapada con la del protón H₁, en donde se esperaba encontrar un doble de dobles para éste por su acoplamiento en orto con H₁ y en meta con H₃. El doblete pequeño correspondiente al protón H₃ se encuentra traslapado con el singulete ancho correspondiente a los protones H₄ de la amina, por lo que esa señal integró para tres protones. También se observaron las señales del protón H₅ y H₆, asignados para los protones de la amina primaria de la quinazolina (como singulete) y al protón de la amina secundaria por el metilo vecinal (triplete con $J = 5.9$ Hz) respectivamente. El espectro presenta las señales esperadas para los demás protones.

Tabla 14. Señales de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) del compuesto **B1**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra	Señal traslapada	J (Hz)	Número de protones correspondientes
H1	7.11 – 7.01	m	-	2	d	8.7	1
H2	7.11 – 7.01	m	-	2	dd	8.9, 1.2	1
H3	6.95	s	-	3	s	-	1
H4	6.95	s	-	3	s	-	2
H5	5.51	s	-	2			
H6	5.47	t	5.9	1			
H7	4.16	d	5.7	2			
H8	7.23	d	8.3	1			
H9	6.46	dd	8.1, 2.1	1			
H10	3.73	s	-	3			
H11	6.57	d	2.1	1			
H12	3.81	s	-	3			

En el espectro de infrarrojo se observaron las señales de la tensión asimétrica y simétrica del enlace N-H correspondiente a las aminas primarias a 3362 cm⁻¹ y 3315 cm⁻¹ y a 3159 cm⁻¹ de la amina secundaria. A 1613 cm⁻¹ y 1563 cm⁻¹ se encontraron las señales de flexión N-H de las aminas primarias y a 1500 cm⁻¹ de la amina secundaria. También se observaron las señales correspondientes a los grupos metoxilo a 1204 cm⁻¹ y 1040 cm⁻¹ por la vibración de tensión asimétrica y simétrica del enlace C-O-C (arC-O-alC).



El espectro de masas, obtenido mediante FAB para **B1**, presentó un pico a $m/z = 326$ con un 72 % de abundancia relativa el cual corresponde a la especie $[MH^+]$, también se observó el pico correspondiente al ion molecular $[M^+]$ a $m/z = 325$ que concuerda con la masa molecular del compuesto **B1**.

7.1.10 Compuesto B2

El compuesto **B2** se obtuvo como cristales de color verde fuerte con características que se mencionan en la tabla 9. A diferencia del compuesto **B1**, la formación del compuesto **B2** necesitó mayor cantidad de $NaBH_4$ para la reducción de la imina y mayor tiempo de reacción.

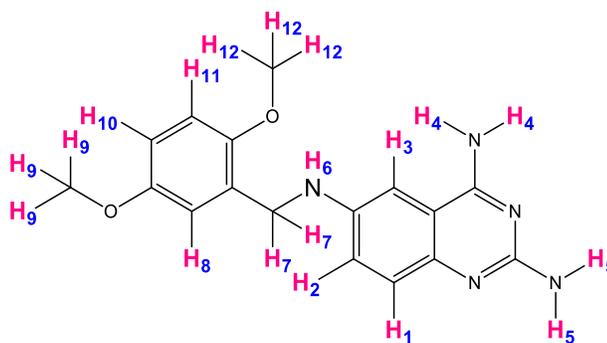


Figura 32. Compuesto **B2**. N^6 -[(2,5-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina.

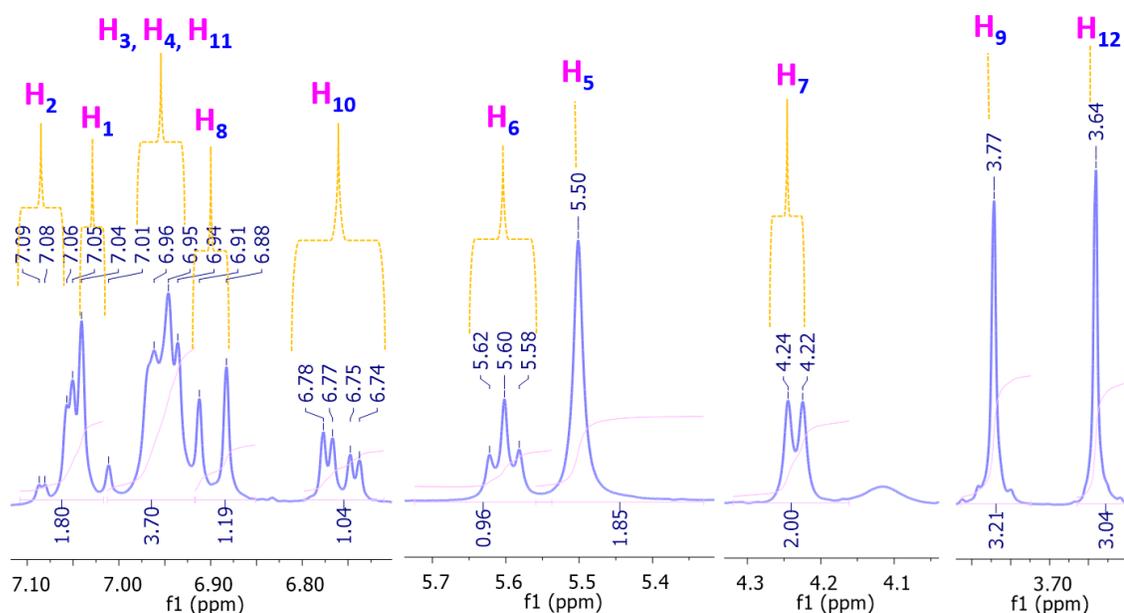


Figura 33. Señales correspondientes a los protones del compuesto **B2**.



La asignación de las señales correspondientes a los 19 protones en el análisis de RMN ^1H para el compuesto **B2** fue complejo (Figura 33), ya que se presentó el traslape de las señales a un δ de 7.11 - 6.9 ppm dificultando la interpretación; no obstante, la integración por señal da el número correspondiente de protones esperados. A diferencia de **B1**, el espectro de RMN ^1H mostró claramente la señal del porton H_6 como un triplete con una $J = 6.0$ Hz, señal esperada después de la reducción de la imina. Se presentó el mismo comportamiento de las señales que corresponden a H_1 y H_2 respecto al compuesto **B1**, ya que se encuentran traslapadas; aún así, las constantes de acoplamiento y la integración de las señales coincidió con lo observado.

Tabla 15. Señales de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto **B2**

Protón	Desplazamiento químico (δ en ppm)	Tipo de señal	J (Hz)	Número de protones para los que integra	Señal traslapada	J (Hz)	Número de protones correspondientes
H1	7.11 – 7.02	m	-	2	d	8.9	1
H2	7.11 – 7.02	m	-	2	dd	8.9, 2.3	1
H3	7.00 – 6.92	m	-	4	s	-	1
H4	7.00 – 6.92	m	-	4	s	-	2
H5	5.50	s	-	2			
H6	5.60	t	6.1	1			
H7	4.23	d	6.0	2			
H8	6.90	d	8.9	2			
H9	3.77	s	-	3			
H10	6.76	dd	8.8, 3.0	1			
H11	7.00 – 6.92	m	-	4	d	8.3	1
H12	3.64	s	-	3			

En el espectro de RMN ^{13}C se observaron las señales correspondientes al metilo unido a la amina a 42.31 ppm así como las señales de los grupos metoxilo a 60.53 ppm y 56.28 ppm. Las señales coinciden con el número de carbonos del compuesto **B2**.

En la espectroscopia de infrarrojo fue notoria la presencia de los grupos amino, por las señales a 3451 cm^{-1} y 3361 cm^{-1} correspondientes a la tensión del enlace N-H de las aminas primarias y 3095 cm^{-1} de la amina secundaria. A 1621 cm^{-1} ,



1568 cm^{-1} y 1503 cm^{-1} se observaron las señales de la flexión del enlace N-H de las aminas primarias y la secundaria, respectivamente. También se identificaron las señales de los grupos metoxilos a 1222 cm^{-1} y 1040 cm^{-1} por la vibración de tensión asimétrica y simétrica de C-O-C (arC-O-aIC).

En su espectro de masas obtenido mediante la técnica IE, se observó el pico base que corresponde al ion molecular $[M^+]$ $m/z = 325$ (100%), que coincide con la masa molecular del compuesto **B2** considerando la regla del nitrógeno.

7.2 Síntesis asistida por microondas

En este proyecto se buscaron las condiciones para llevar a cabo la obtención de los 6 compuestos propuestos por medio de la síntesis asistida por microondas.

La síntesis de los compuestos **A** y **B** se logró mediante la reducción del grupo nitro con H_2 y Pd/C. Para realizar esta reacción en microondas se utilizó al ciclohexeno como fuente de hidrógeno. La problemática que se presentó fue la precipitación de los productos, por lo que necesitaron de un tratamiento para ser separados del Pd/C, lo que afectó en su estabilidad y, por lo tanto, en su pureza.

No fue posible llevar a cabo la activación de los ácidos carboxílicos con cloruro de tionilo por medio de la síntesis asistida por microondas, debido a que los gases producidos (HCl y SO_2) son tóxicos además de que su producción eleva la presión dentro del tubo de microondas. Por esta situación se intentó activar los ácidos carboxílicos con agentes acoplantes como el CDI. La activación se llevó a cabo en 5 minutos a una temperatura de 75 °C en acetonitrilo. El producto que se aisló y se caracterizó por RMN ^1H se muestra en la figura 34; sin embargo, no se encontraron las condiciones adecuadas para llevar a cabo la formación de la amida para obtener el producto final. Se decidió realizar la síntesis de las amidas a partir de los ácidos activados con cloruro de tionilo.

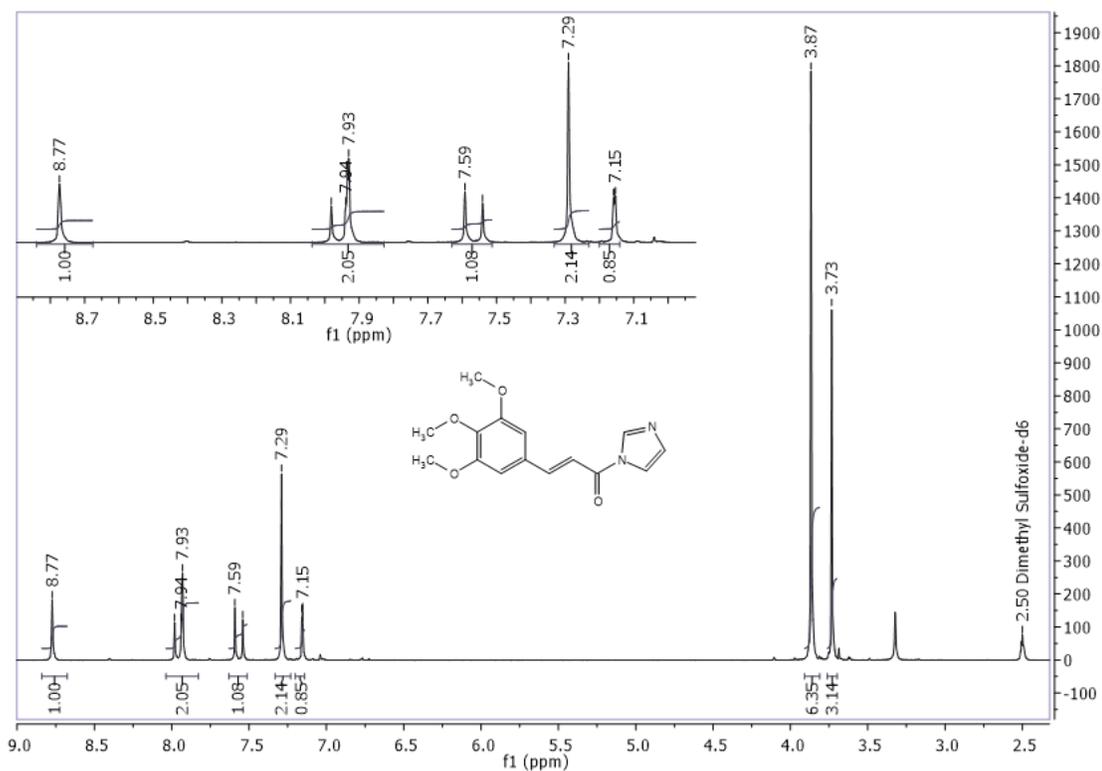


Figura 34. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del ácido (2E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enico activado con CDI.

Tabla 16. Rendimientos obtenidos de la síntesis tradicional y síntesis asistida por microondas

Compuesto	Síntesis tradicional (%)	Síntesis asistida por microondas (%)
A	68.0	35.3
B	87.9	20.5
I1	69.5	64.6
I2	84.7	73.0
I3	87.0	41.1
I4	53.6	69.3
I5	77.7	79.0
I6	91.3	45.6
A1	50.0	45.6
A2	78.8	60.0
A3	51.7	55.8
A4	58.1	58.1
B1	71.9	65.5
B2	60.5	66.8



Como se puede observar en la tabla 16, en la mayoría de productos los rendimientos son menores comparados con los obtenidos por medio de la síntesis por el método tradicional; sin embargo, no se puede realizar una comparación entre estas dos metodologías ya que se necesitarían otras consideraciones estadísticas. A pesar de ello, podemos decir que se logró el objetivo de reproducir la síntesis de los compuestos propuestos por medio de microondas, en donde se obtienen algunas ventajas como el ahorro de tiempo y energía, así como la obtención de compuestos más puros (algunos de ellos recrystalizaron en el tubo de reacción de microondas una vez finalizada la reacción). En la figura 35 se muestra el espectro de RMN ^1H del compuesto **15** después de su purificación mediante recrystalización MeOH/Agua, mientras que la figura 36 muestra el espectro RMN ^1H para el mismo compuesto directamente obtenido por síntesis asistida por microondas sin tratamiento de purificación.

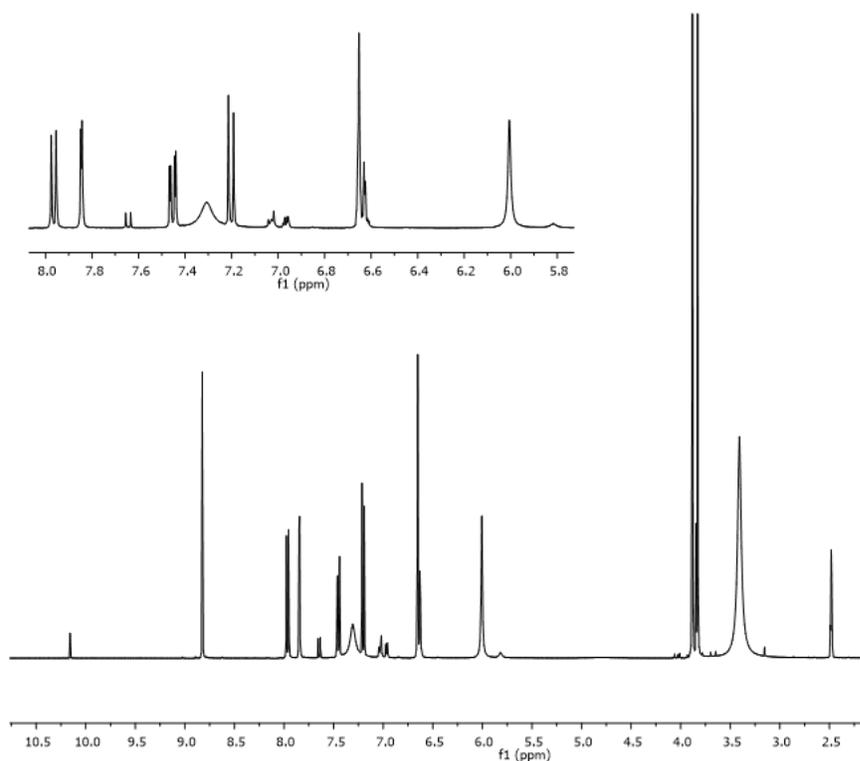


Figura 35. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **15** obtenido mediante síntesis tradicional.

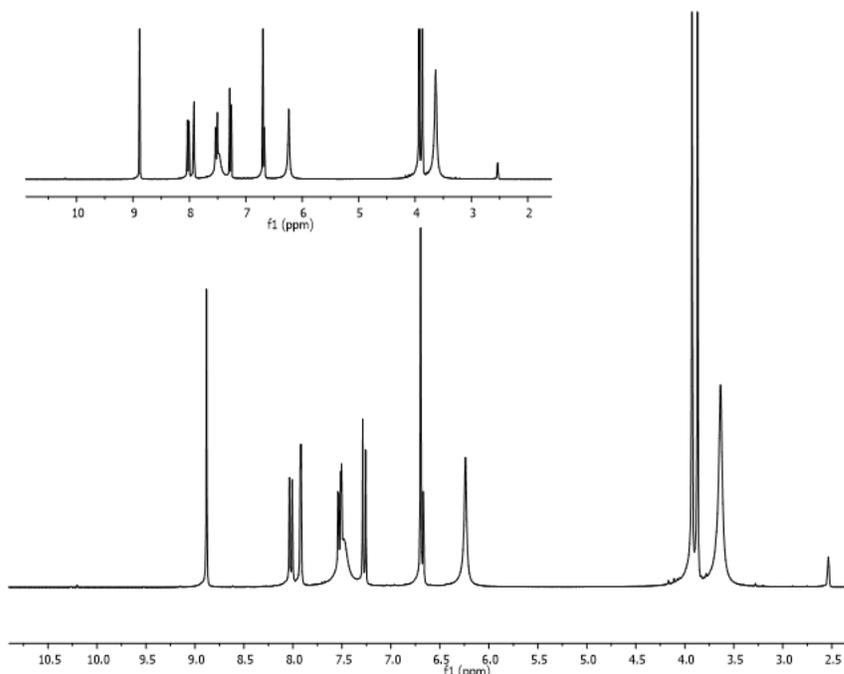


Figura 36. Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto **15** obtenido mediante síntesis asistida por microondas.

La aceleración de las reacciones por exposición a microondas resulta de interacciones radiación-materia que conducen a efectos térmicos y efectos específicos (no precisamente térmicos). Claramente, una combinación de estas dos contribuciones puede ser responsable de los efectos observados.

Los efectos térmicos (calentamiento dieléctrico) pueden resultar de la polarización dipolar como consecuencia de las interacciones dipolo-dipolo entre las moléculas polares y el campo electromagnético, lo cual origina la disipación de la energía en forma de calor como resultado de la agitación y la fricción intermolecular de las moléculas cuando los dipolos cambian su orientación mutua en cada alternancia del campo eléctrico a una frecuencia muy alta ($\nu = 2450$ MHz). Esta disipación de energía en el núcleo de los materiales permite una repartición más homogénea de la temperatura en comparación con el calentamiento tradicional.⁶²

Se puede considerar que los efectos no necesariamente térmicos tienen múltiples orígenes. Estos efectos pueden estar asociados a la ley de Arrhenius y pueden resultar de modificaciones en cada uno de los términos de esta



ecuación ($k = Ae^{-\Delta G^\ddagger/RT}$), como el aumento del factor pre-exponencial A que es representativo de la probabilidad de impactos moleculares. La eficacia de colisión puede ser efectivamente influenciada por la orientación mutua de moléculas polares implicadas en la reacción. Como este factor depende de la frecuencia de vibración de los átomos en la interfase de reacción, se podría postular que el microondas podría afectar esto.

La disminución en la energía de activación ΔG^\ddagger también podría ser un efecto. Cuando se considera la contribución de entalpía y entropía al valor de ΔG^\ddagger ($\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$), se puede predecir que la magnitud del término $-T\Delta S^\ddagger$ aumentaría en una reacción inducida por microondas, siendo esto más organizado en comparación con el calentamiento tradicional como consecuencia de la polarización dipolar.



7.3 Acoplamiento molecular

Con el objetivo de estudiar los perfiles de actividad biológica de los compuestos propuestos se utilizó el software Pass online, el cual predice la posible actividad biológica basada en la estructura.

Tabla 17. Predicción de Espectros de Actividad para Sustancias (PASS)

Compuesto	Actividad	Pa*
A1	Antiprotozoario (<i>Trypanosoma</i>)	0.672
	Antineoplásico	0.669
A2	Antiprotozoario (<i>Trypanosoma</i>)	0.799
	Antineoplásico	0.611
A3	Antineoplásico	0.755
	Antiprotozoario (<i>Trypanosoma</i>)	0.613
A4	Antineoplásico	0.686
	Antiprotozoario (<i>Trypanosoma</i>)	0.668
B1	Inhibidor de DHFR	0.676
	Antineoplásico	0.525
B2	Inhibidor de DHFR	0.692
	Antineoplásico	0.514
Gefitinib	Antagonista de ErbB-2	0.753
	Antineoplásico	0.618
Trimetrexato	Inhibidor de DHFR	0.811
	Antineoplásico	0.654

*Pa: **probabilidad de ser activo** (se asemeja a las estructuras de las moléculas, que son las más comunes en un sub-conjunto de compuestos activos).

La mayoría de los compuestos propuestos en este proyecto presentan probabilidad de ser antineoplásicos según el software utilizado, al igual que las moléculas de referencia seleccionadas.

También se utilizó la plataforma SwissTargetPrediction, una herramienta en línea para predecir los objetivos de pequeñas moléculas bioactivas en humanos. Este software identifica las moléculas más similares entre un conjunto de más de 300000 ligandos conocidos con la idea de que si dos moléculas bioactivas son similares es probable que compartan sus objetivos.



Tabla 18. Resultados de predicción de SwissTargetPrediction

Compuesto	Blanco	Probabilidad	# de compuestos similares (3D/2D)
A1	EGFR		486/147
	DHFR		534/98
A2	EGFR		306/106
	DHFR		506/66
A3	EGFR		27/100
	DHFR		77/104
A4	EGFR		29/128
	ErbB2		28/128
B1	DHFR		577/401
	EGFR		445/214
B2	DHFR		660/358
	EGFR		426/185
Gefitinib	EGFR		402/722
Trimetrexato	DHFR		564/358

Como se puede observar en la tabla 18, los compuestos propuestos podrían tener dos dianas biológicas, entre las que se encuentra la DHFR, enzima que se esperaba inhibir al diseñar las moléculas, además de la EGFR, blanco terapéutico en la terapia dirigida y en donde también se encuentran las quinazolinonas. Por lo tanto, se realizó el acoplamiento molecular entre los compuestos sintetizados y las enzimas DHFR y EGFR humanas.

7.3.1 Preparación de proteínas

Se recurrió al banco de datos de proteínas PDB, donde se descargó la estructura cristalográfica de la enzima DHFR (ID: 1KMS) y la EGFR (ID: 1M17) humanas. Su preparación se llevó a cabo con el programa Maestro 11 de Schrödinger, con el



cual se completaron las cadenas laterales faltantes, átomos de hidrógeno y se realizó una minimización restringida con el fin de relajar la estructura tras la adición de los átomos faltantes. Se eliminaron las moléculas de agua y los ligandos a través de WordPad.

7.3.2 Docking

Se utilizaron los programas Autogrid4 y Autodock4 para calcular el grid y realizar el acoplamiento respectivamente. Se consideró una caja de 76x76x76 con un espacio de 0.375 Å. Las coordenadas para el acoplamiento con DHFR fueron las siguientes: x: 18.614, y: 26.058, z: 35.198 y para EGFR: x: 20.730, y: -3.014, z: 57.679. Para el acoplamiento molecular se utilizó un algoritmo de tipo Lamarkiano con un tamaño de población de 100 conformaciones.

En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos del acoplamiento molecular de los compuestos **A1–A4** y **B1–B2** sobre las enzimas DHFR y EGFR.

Tabla 19. Energías de unión de **A1–A4** y **B1–B2** sobre DHFR y EGFR

Ligando	ΔG de unión (Kcal/mol)	
	DHFR	EGFR
A1	-10.52	-7.78
A2	-11.60	-9.05
A3	-10.90	-7.23
A4	-10.42	-7.43
B1	-10.16	-7.31
B2	-10.34	-7.36
SRI-9439*	-11.59	-
Erlotinib*	-	-8.12

*Ligando co-cristalizados con la proteína.

Las energías de unión muestran que los compuestos propuestos tienen mayor afinidad para DHFR que para EGFR, aun así, las energías son similares a la que presenta con el ligando co-cristalizado. Por otra parte se observa una energía ligeramente favorecida para el compuesto **A2**, el cual posee un grupo electroattractor. Para los compuestos **B1–B2** no se observa una diferencia entre la



posición de los grupos metoxilo en el anillo aromático sustituyente respecto a la energía de unión.

En las siguientes imágenes se presentan la visualización de las interacciones en el acoplamiento molecular, utilizando el programa MOE, en donde los residuos hidrofóbicos de aminoácidos están coloreados de color verde, mientras que los residuos polares son de color morado claro. Los residuos básicos se diferencian por un contorno azul y los ácidos por un contorno rojo. El área superficial accesible del ligando se ilustra con un círculo azul sobre el compuesto.

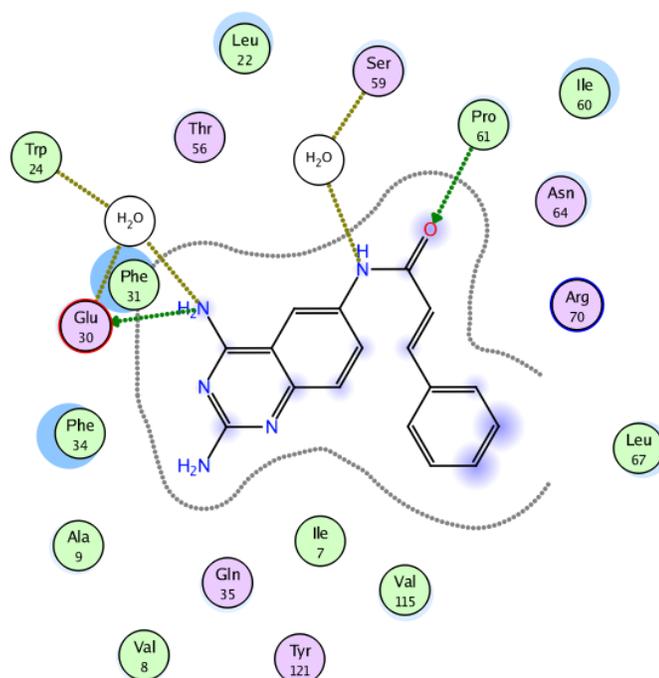


Figura 37. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **A1**. Formación de puente de hidrógeno con los aminoácidos Pro 61 y Glu 30. Las moléculas de agua favorecen la interacción entre los aminoácidos Trp 24 y Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.

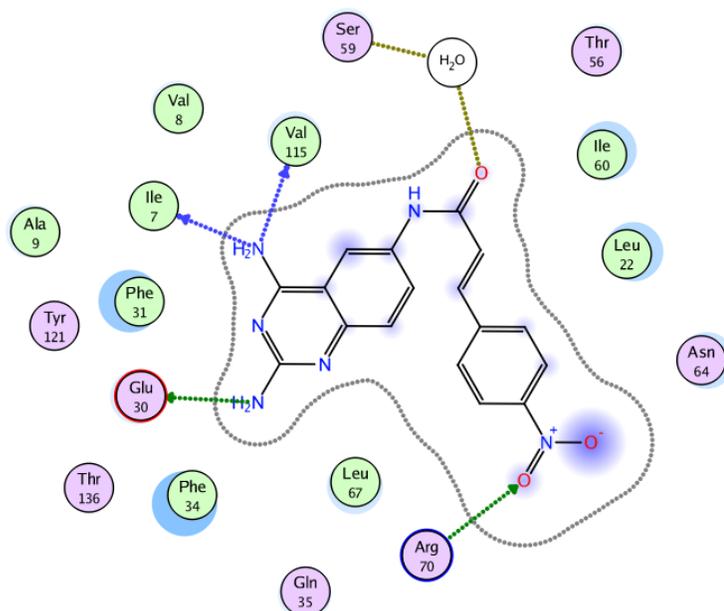


Figura 38. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **A2**. Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Glu 30, Ile 7, Arg 70 y Val 115. Las moléculas de agua favorecen la interacción con el aminoácido Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.

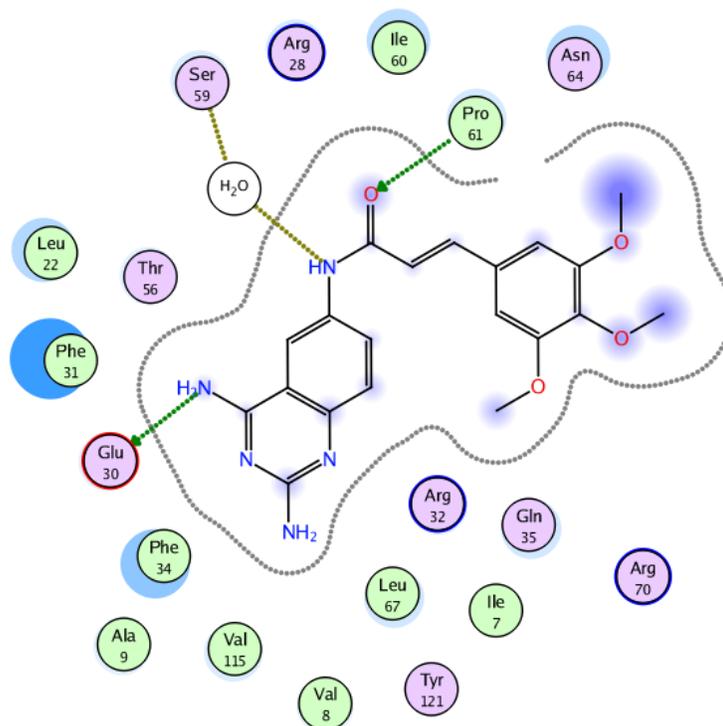


Figura 39. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **A3**. Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Glu 30 y Pro 61. Las moléculas de agua favorecen la interacción con el aminoácido Ser 59 mediante formación de puentes de hidrógeno.

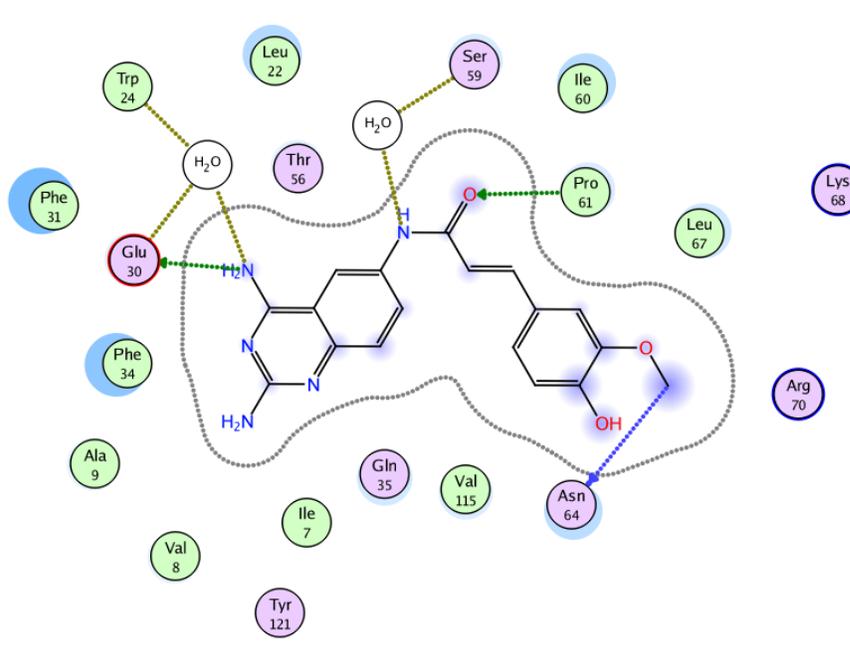


Figura 40. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **A4**. Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Glu 30, Pro 61 y Asn 64. Las moléculas de agua favorecen la interacción con los aminoácidos Ser 59 y Trp 24 mediante formación de puentes de hidrógeno.

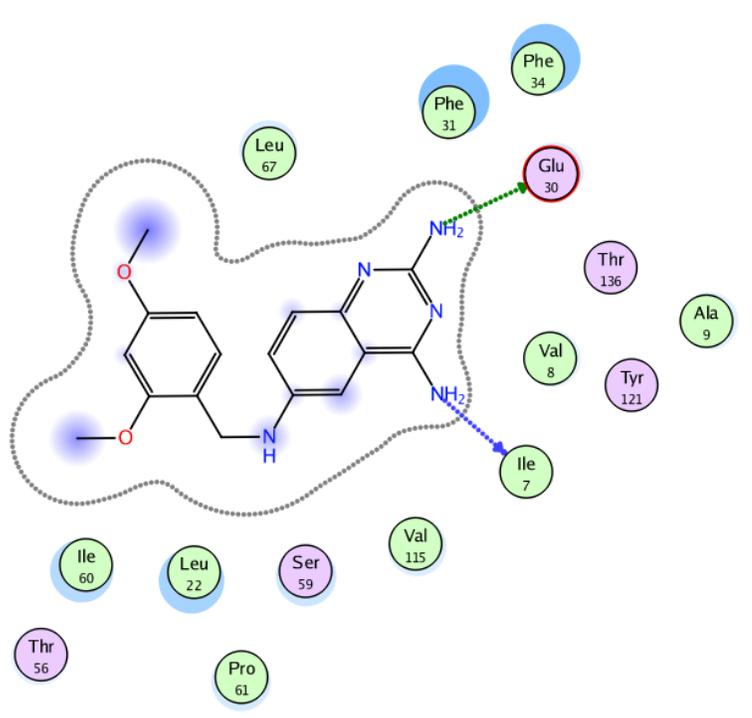


Figura 41. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **B1**. Formación de puente de hidrógeno con los aminoácidos Ile 7 y Glu 30.

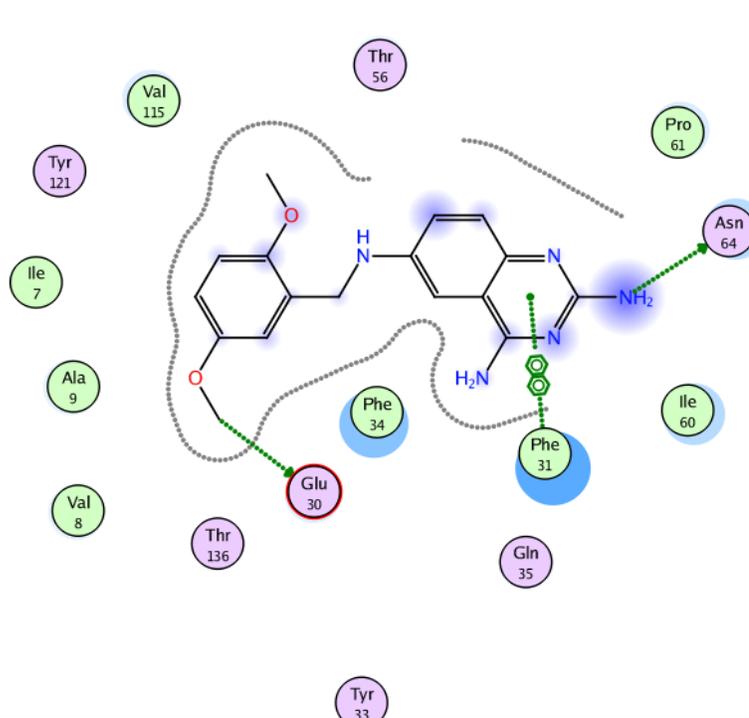


Figura 42. Acoplamiento molecular entre DHFR y el compuesto **B2**. Formación de puente de hidrógeno con el aminoácido Glu 30. Se observa una interacción tipo π - π entre el anillo de pirimidina de la TAQ y el aminoácido Phe 31.

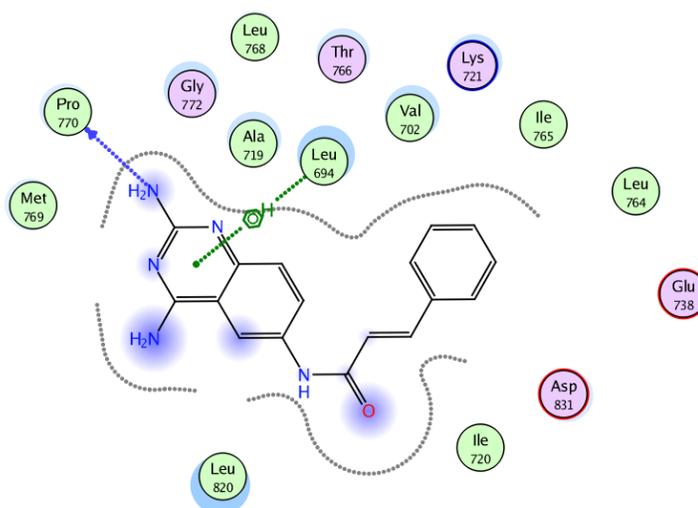


Figura 43. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **A1**. Formación de puente de hidrógeno entre el aminoácido Pro 770 y la amina en posición 2 de la TAQ. Se observa interacción tipo puente de hidrógeno con sistema π en la parte correspondiente a la TAQ con el aminoácido Leu 694.

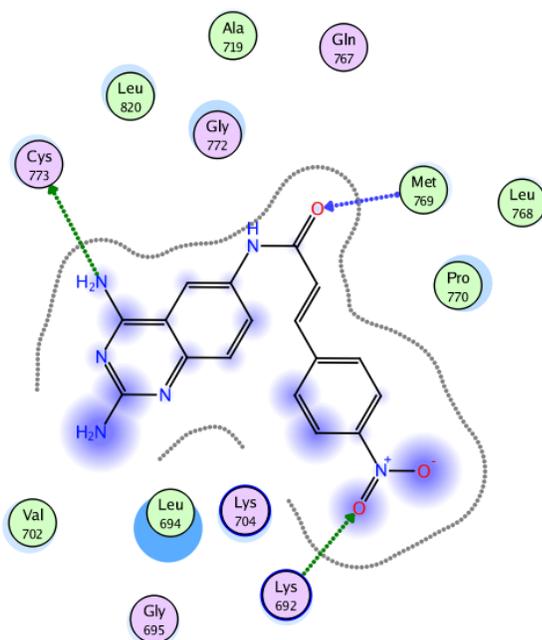


Figura 44. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **A2**. Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Cys 773, Lys 692 y Met 769.

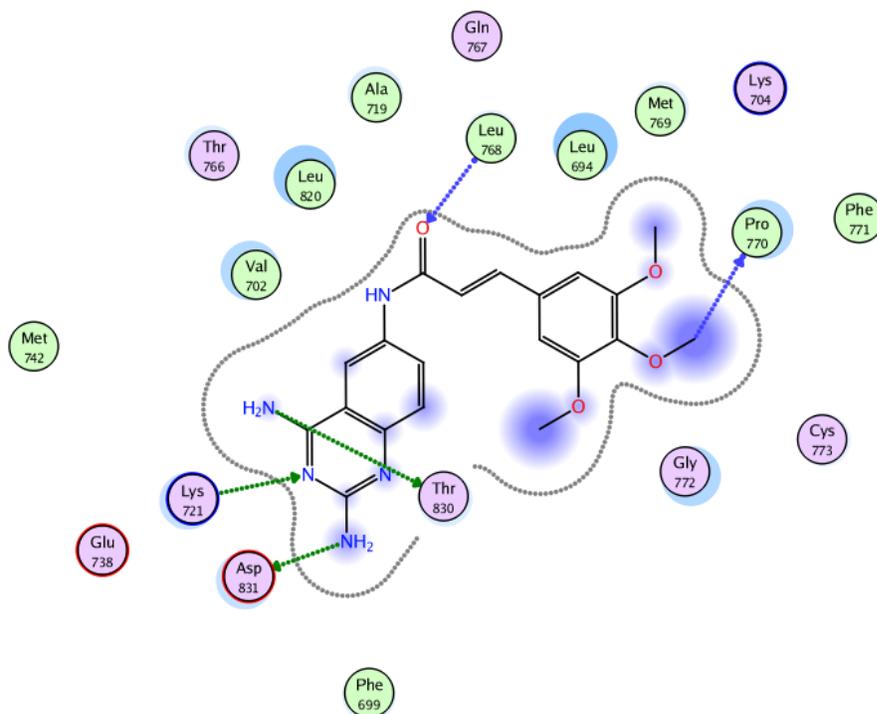


Figura 45. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **A3**. Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Asp 831, Lys 721, Thr 830, Leu 768 y Pro 770.

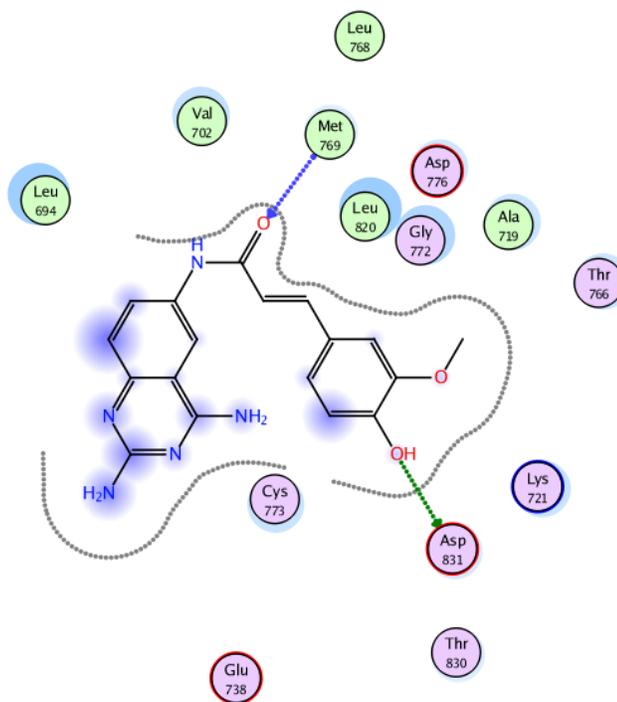


Figura 46. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **A4**. Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Asp 831 y Met 769.

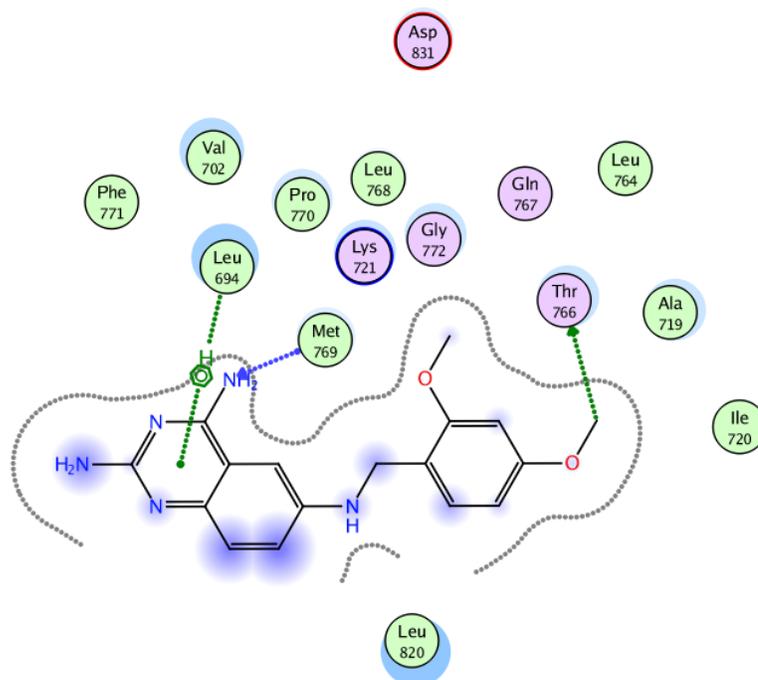


Figura 47. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **B1**. Formación de puentes de hidrógeno con los aminoácidos Thr 766 y Met 769. Se observa interacción tipo puente de hidrógeno con sistema π en la parte correspondiente a la TAQ con el aminoácido Leu 694.

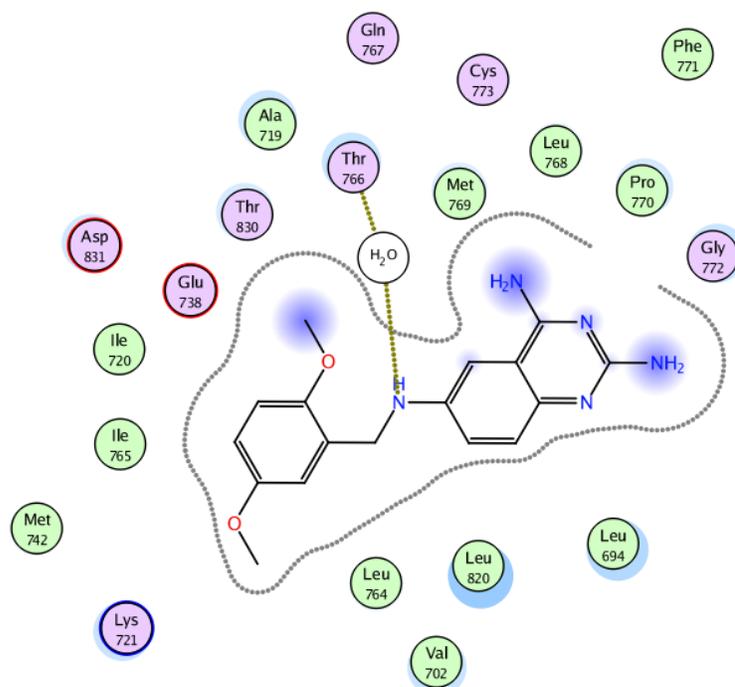


Figura 48. Acoplamiento molecular entre EGFR y el compuesto **B2**. Formación de puentes de hidrógeno con el aminoácido Thr 766 a través de una molécula de agua.



7.4 Evaluación biológica

La evaluación de la citotoxicidad de los 6 compuestos sintetizados se llevó a cabo mediante el ensayo colorimétrico MTT. Este ensayo se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa (SDH) en formazán, permitiendo determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas.

Este método es utilizado para medir la viabilidad celular, ya que la cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido, el cual es un compuesto de color azul que puede ser cuantificado a 570 nm.⁶³

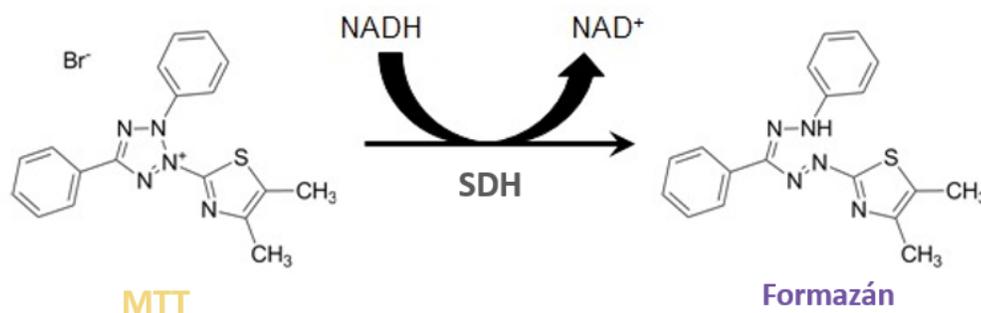


Figura 49. Reacción de formación de formazán a partir de MTT.

Todos los compuestos se evaluaron a una sola concentración de 50 μM . Como referencia se utilizó el cisplatino, fármaco quimioterapéutico utilizado para el tratamiento de numerosos tipos de cáncer, incluyendo el de vejiga, cabeza, cuello, pulmón, ovario, testicular y de mama. Su modo de acción se ha relacionado con su capacidad para intercalarse con las bases de purina en el ADN; interfiriendo con los mecanismos de reparación del ADN induciendo la apoptosis en las células cancerosas.



Tabla 20. Resultados del % de viabilidad celular

Compuesto	% de Viabilidad celular		
	SKOV-3	MDA-MB-231	HCT-15
A1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
A2	93.30 ± 1.29	62.54 ± 2.83	156.09 ± 3.77
A3	46.60 ± 6.78	44.06 ± 7.83	82.01 ± 4.29
A4	100.82 ± 6.78	88.29 ± 0.68	118.53 ± 9.27
B1	5.00 ± 6.04	0.55 ± 0.78	0.00 ± 0.00
B2	6.09 ± 5.41	1.67 ± 1.47	0.00 ± 0.00
Cisplatino	60.16 ± 3.34	43.68 ± 5.78	33.75 ± 1.16
Control absoluto	100.00 ± 3.18	100.00 ± 3.56	100.00 ± 5.24
Vehículo (DMSO)	99.29 ± 1.69	96.22 ± 2.58	106.40 ± 2.24

Los antagonistas de folato son una clase de compuestos terapéuticos que se utilizan como agentes anti-infecciosos, antineoplásicos y anti-inflamatorios. Hasta el momento, todos los fármacos de esta clase han sido inhibidores de la DHFR, una enzima clave en la síntesis de timidilato y, por lo tanto, del ADN. Las células que se dividen rápidamente como las células cancerígenas, necesitan abundante aporte de timidilato para la síntesis de ADN, por lo tanto, en quimioterapia anticancerígena se usan fármacos que tienen como diana la DHFR para bloquear la síntesis de nucleótidos y, por ende, la división celular.

Como se puede observar en la tabla 20, el compuesto **A1** presentó la mayor citotoxicidad de los compuestos evaluados al presentar un porcentaje del 0 % de viabilidad celular, mostrando mayor citotoxicidad que el fármaco de referencia, por lo que habría que evaluar su actividad a menores concentraciones, así como su toxicidad ya que podría ser un candidato como agente quimioterapéutico.

Los compuestos **B1** y **B2**, presentaron actividad citotóxica apreciable en las tres líneas celulares. No se observó una diferencia de la actividad biológica respecto al patrón de sustitución en el anillo bencénico, ya que los compuestos interaccionaron con los aminoácidos Ile 7, Glu 30 y Val 115 de la DHFR, entre los cuales solo difiere el tipo de interacción (puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas). Estudios previos han observado que la interacción con estos aminoácidos es importante en



la inhibición de la enzima.⁶⁴ El compuesto **A1** también presentó interacción con los aminoácidos mencionados, lo que podría sugerir que la actividad citotóxica de estos compuestos se debe a la interacción con la DHFR.

En los resultados de la prueba biológica cabe destacar el resultado obtenido para el compuesto **A3**, el cual presentó una disminución de la viabilidad celular considerable de las células tumorales, inclusive mayor que el Cisplatino, excepto en la línea celular HCT-15. Esto podría atribuirse a una posible interacción con EGFR. El receptor del factor de crecimiento epidérmico es una tirosina cinasa que desempeña un papel en la regulación de funciones esenciales en la célula, como la diferenciación, proliferación y apoptosis. Al inhibir al receptor EGFR se bloquean las vías la activación de PLC-g1, MAPK/ERK, PI3k/AKT y STAT implicadas en las funciones celulares mencionadas. El EGFR se ha observado por lo general sobre-expresado en muchos tipos de cáncer (las células SKOV-3 y MDA-MB-231 presentan la sobre-expresión de este receptor a diferencia de la línea celular HCT-15)⁶⁵, por lo tanto, su inhibición representa una estrategia útil en el tratamiento del cáncer. Como se presentó anteriormente, varios derivados de quinazolina como erlotinib, gefitinib, y lapatinib actúan como inhibidores de EGFR. El estudio de acoplamiento molecular del compuesto **A3** en el sitio de unión a ATP de EGFR presentó la interacción de tipo puentes de hidrógeno con algunos aminoácidos, entre los que se encuentran el Asp 831, Lys 721 así como la interacción hidrofóbica con el aminoácido Met 769. Se ha reportado que estos aminoácidos son importantes para la interacción de los inhibidores con el receptor.⁶⁶

El compuesto **A4** mostró un aumento en el % de viabilidad celular. Los estudios de acoplamiento molecular mostraron resultados favorables por lo cual se esperaba observar en la prueba biológica, un comportamiento que coincidiera con lo esperado. Una forma de explicar este resultado podría ser por un proceso de hormesis. Este efecto consiste en una respuesta dependiente de concentración y de tiempo, en donde la exposición a una dosis baja del compuesto, que es tóxico a dosis altas, induce una respuesta adaptativa o un efecto benéfico en la célula. Estudios recientes proponen que las vías de señalización celular y mecanismos



moleculares que median las respuestas horméticas, implican enzimas tales como cinasas, desacetilasas y factores de transcripción como NF- κ B y Nrf2. Como resultado, las células aumentan su producción de proteínas citoprotectoras y de restauración, incluyendo factores de crecimiento, enzimas antioxidantes y chaperonas (proteínas Hsp). No obstante, todavía no se conocen con exactitud todos los mecanismos y vías de transducción de señales por los cuales la respuesta hormética se lleva a cabo; así, la evidencia experimental sugiere que no existe un mecanismo único sino varias vías que son capaces de desencadenar la hormesis.⁶⁷

Por otra parte, el compuesto **A2** presentó la mayor energía de unión, además de interacciones con aminoácidos considerados importantes en el sitio activo de la DHFR, por lo que se esperaba un resultado experimental favorable, sin embargo, no se observó actividad citotóxica relevante en las células tratadas, probablemente por los problemas de solubilidad presentados lo que provocó que en la determinación precipitaran cristales del compuesto dentro del cultivo celular.

Al suponer que los compuestos propuestos pudieran ser absorbidos por difusión pasiva se aplicaron las reglas de Lipinski, las cuales consideran al LogP, átomos donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno y masa molecular de un compuesto.

El LogP de un compuesto determina su liposolubilidad y éste no debe ser superior a 5,0 ya que los valores de LogP altos causan mala absorción al igual que masas moleculares altas. De acuerdo al software ALOGPS 2.1, los 6 compuestos presentarían buena absorción considerando su LogP menor a 5.



8. Conclusiones

En este proyecto de tesis se obtuvieron 6 derivados de quinazolin-2,4,6-triamina mediante síntesis tradicional y síntesis asistida por microondas. Ambos métodos permitieron la obtención de los derivados propuestos con rendimientos moderados, en donde la diferencia principal se reflejó en los tiempos de reacción y en la pureza de los productos finales.

Los compuestos obtenidos fueron caracterizados por métodos espectroscópicos (IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C) y espectrométricos (EM).

De los resultados obtenidos en el acoplamiento molecular, así como en las pruebas biológicas para la serie **A1–A4**, se puede determinar que el diseño de híbridos constituidos por la quinazolin-2,4,6-triamina y derivados de ácido cinámico es un recurso válido para la búsqueda de compuestos con actividad citotóxica que probablemente interaccionen experimentalmente con DHFR y/o EGFR para ejercer su acción. Algunos inconvenientes, respecto a la solubilidad acuosa y posibles fenómenos horméticos, no permitieron observar los efectos de acuerdo a las características estructurales de los compuestos.

Los compuestos **B1–B2** mostraron mayor actividad citotóxica que el fármaco de referencia, no observándose diferencias en la afinidad obtenida en el estudio de acoplamiento molecular, así como en la actividad biológica respecto a la posición de los grupos metoxilo.

El compuesto **A3** presentó una actividad citotóxica considerable, similar al cisplatino, pero su comportamiento en las distintas líneas celulares podría ser indicativo de la posible diana biológica sobre la que actúa, pudiéndose tratar del receptor EGFR, el cual es diana en la terapia dirigida por su expresión en algunos tipos de cáncer.

Los resultados obtenidos del acoplamiento molecular ayudaron a determinar los aminoácidos importantes con los que interaccionan los compuestos sintetizados en ambas dianas biológicas.



Apéndice I. Parte Experimental

Tabla 21. Material y equipo utilizado en la parte experimental

Material/ Equipo	Especificaciones
Materias primas	Proveedor: Sigma Aldrich. Algunas se utilizaron con previo tratamiento de purificación.
Balanza Analítica	Adventurer, OHAUS
Equipo para hidrogenación	Marca Parr, modelo 3916 EG, adaptado a un tanque de hidrógeno de la casa INFRA.
Rotaevaporador	Evaporación de solvente a presión reducida. Marca IKA, RV 10, con baño calefactor IKA HB 10 y enfriador marca brinkmann.
Aparato de punto de fusión	Aparato digital para determinar punto de fusión. Marca Electrothermal, con capilares.
IR	Espectrofotómetro de FTIR / FIR Spectrum 400 de Perkin-Elmer
RMN	Espectrómetros de RMN de 7.2 T Marca Varian Modelo Unity Inova.
Masas	Espectrómetro de Masas marca Thermo, modelo DFS (doble sector) con entrada para sonda directa y acoplado a Cromatógrafo de Gases marca Thermo, modelo Trace GC Ultra (columna capilar DB5). Ionización Electrónica y Bombardeo con Átomos Rápidos
Microondas	Monowave EXTRA, Microwave Extraction Reactor, marca Anton Paar, acoplado a un autosampler MAS 24.

Los puntos de fusión reportados se midieron con el aparato Electrothermal y no están corregidos.

Los intermediarios y compuestos finales se nombraron de acuerdo al sistema de nomenclatura IUPAC.

Cromatografía

Para llevar a cabo el monitoreo del progreso de las reacciones, así como para verificar la pureza de los productos obtenidos, se utilizó la técnica de cromatografía

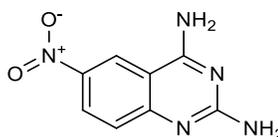


en capa fina. Las cromatoplasmas empleadas fueron ANaltech-Uniplate recubiertas con gel sílice GF 250, con indicador de fluorescencia.

Tabla 22. Sistemas de elución

Tipo de sistema	Composición
Sistema I	CHCl ₃ /MeOH (95:05)
Sistema II	CHCl ₃ /MeOH (90:10)
Sistema III	CHCl ₃ /MeOH (80:20)
Sistema IV	CHCl ₃ /MeOH (50:50)
Sistema V	MeOH
Sistema VI	1-Butanol/Ácido acético/Agua (80:20:0.5)

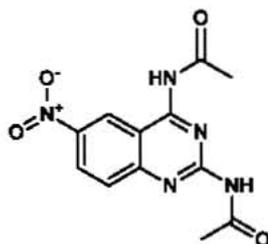
1. Síntesis de 6-nitroquinazolin-2,4-diamina



En un matraz bola de 250 mL se colocaron 5 g de 2-amino-5-nitrobenzonitrilo (0.0307 mol), 5.52 g de carbonato de guanidina (1.0 eq.) y 2.06 g KOH (1.2 eq.), inmediatamente se adicionaron 75 mL de una disolución de etanol/n-propanol (2:1). La mezcla de reacción se colocó a reflujo (90 °C). Después de una hora se agitó mecánicamente la mezcla, con el propósito de remover el sólido pegado en las paredes del matraz (agregando hasta 15 mL más de la mezcla de disolventes). Se detuvo el calentamiento y la agitación después de 7 h de reacción; el matrás se desmontó y la suspensión se separó por filtración en caliente con un embudo Büchner. El sólido se lavó con MeOH y agua, alternadamente, hasta obtener un filtrado incoloro a un pH neutro. Rendimiento= 79.4%. R.f.: 0.63 (Sistema IV), p.f = 354.2 – 362.1 °C (con descomposición).

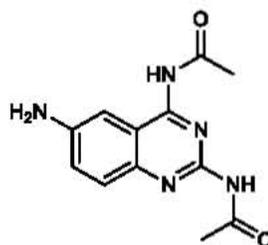


2. Síntesis de *N,N'*-(6-nitroquinazolin-2,4-diil)diacetamida



En un matraz bola de 250 mL se colocaron 0.9975 g de 6-nitroquinazolin-2,4-diamina (4.8617 mmol), 10 mL de anhídrido acético y 10% de DMAP. Se montó la reacción a 100 °C, con columna vigreux y agitación magnética durante 2 h. Posterior al tiempo de reacción, se retiró del calentamiento. Una vez que la mezcla de reacción se encontraba a temperatura ambiente, se vertió a un vaso de precipitados de 250 mL que contenía 100 mL de una mezcla Agua/Hielo 50:50. Se agitó mecánicamente hasta la formación de un sólido amarillo. La suspensión se separó por filtración al vacío y se realizaron lavados con agua hasta obtener un filtrado con pH neutro. Se obtuvieron 0.9465 g de un sólido amarillo opaco. Rendimiento= 67.3%. R.f.: 0.70 (Sistema II), p.f.= 269.4 – 270.6 °C.

3. Síntesis de *N,N'*-(6-aminoquinazolin-2,4-diil)diacetamida (A)

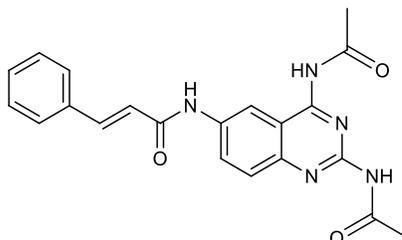


En una botella de hidrogenación PARR, se mezclaron 1.0 g de *N,N'*-(6-nitroquinazolin-2,4-diil)diacetamida, 0.10 g Pd/C (10%) y 140 mL de MeOH. La reducción se realizó a 60 lb/in², durante 45 min. Se retiró la botella PARR del hidrogenador e inmediatamente (debido a que precipita el producto), la suspensión se separó por filtración usando un embudo de filtro poroso, obteniéndose un filtrado verde, el cual se concentró y llevó a sequedad utilizando un rotaevaporador, protegido de la luz (se envolvió en papel aluminio) y a un baño de agua con una



temperatura no mayor a 35 °C. Se obtuvieron 0.68 g de un polvo amarillo claro. Rendimiento= 68.0%. R.f.: 0.40 (Sistema III), p.f.= 241.8 – 242.2 °C.

4. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida (I1)

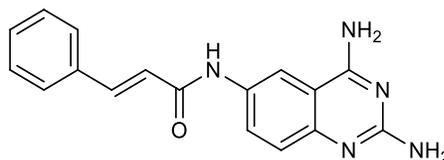


En un matraz bola de 100 mL, provisto de una columna vigreux y agitación magnética, se agregaron 0.3 g de **A** (1.1571 mmol, 1 eq.) y 0.1944 g de NaHCO₃ (1.2 eq), posteriormente se adicionaron 10 mL de acetona recién destilada. Se colocó en un baño de hielo durante 30 minutos. Por otra parte, se disolvieron 0.2698 g de cloruro de (2E)-3-fenilprop-2-enoilo (1.6194 mmol= 1.4 eq.) en 5 mL de acetona, la disolución se colocó en un embudo de separación y se intercambié por la columna vigreaux en la reacción, incluyendo una atmósfera de nitrógeno. Una vez transcurridos los primeros 30 min, se goteó la disolución con el cloruro de ácido correspondiente en agitación magnética constante, después de 30 min se retiró el baño de hielo. Trascorridas 6 h, Se concentró en un rotaevaporador, se agregaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente. El sólido se separó por filtración al vacío. Se obtuvieron 0.4382 g de un sólido amarillo. Rendimiento= 69.5%.

Para su purificación, se tomaron 0.1 g del producto obtenido, a los cuales se les adicionó una disolución de HCl pH=2. Se mantuvo en agitación magnética durante 30 min. Se colocó en un embudo de separación y se realizaron extracciones con acetato de etilo, el cual extrajo las impurezas. Se filtró la fase acuosa, obteniéndose un polvo amarillo claro. Se neutralizó con una disolución de NaHCO₃. Se obtuvieron 0.0420 g un sólido amarillo claro. Rendimiento= 42.0%. R.f.: 0.65 (Sistema III), p.f.= 264.2 - 265.8 °C.

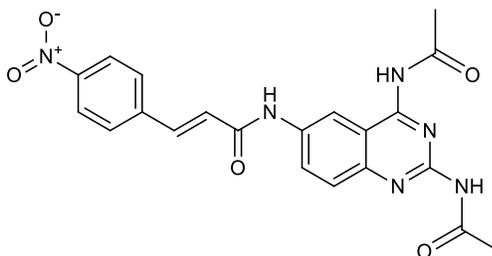


5. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-fenilprop-2-enamida (A1)



En un matraz bola de 100 mL, equipado con refrigerante, agitación magnética y parrilla de calentamiento, se colocaron 0.3 g de **I1**, a los cuales se les adicionaron 10 mL de MeOH. Aparte, en vaso de precipitados de 50 mL, se pesaron 0.0516 g de LiOH (2.3 eq.), los cuales se disolvieron en la mínima cantidad de agua. La disolución se transfirió al matraz de reacción y se colocó a 60 °C provista de atmósfera de nitrógeno, por un tiempo de 3 h. Después del tiempo de reacción, se apagó el calentamiento y la suspensión se filtró en caliente. El sólido obtenido se lavó con agua destilada. Se obtuvieron 0.1177 g de un polvo fino verde claro. Rendimiento= 50.0 %. R.f.: 0.39 (Sistema V), p.f.= 276.9 – 278.7 °C.

6. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enamida (I2)



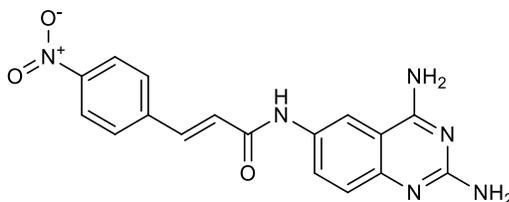
En un matraz bola de 100 mL, provisto de una columna vigreux y agitación magnética, se agregaron 0.3 g de **A** (1.1571 mmol, 1 eq.) y 0.1166 g de NaHCO₃ (1.2 eq), posteriormente se adicionaron 15 mL de acetona recién destilada. Se colocó en un baño de hielo durante 30 minutos. Por otra parte, se disolvieron 0.2938 g de cloruro de (2E)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enoilo (1.3885 mmol= 1.2 eq.) en 5 mL de acetona, la disolución se colocó en un embudo de separación y se intercambió por la columna vigreux en la reacción, incluyendo una atmósfera de nitrógeno. Una vez transcurridos los primeros 30 min, se goteó la disolución con el cloruro de acilo correspondiente y se mantuvo en agitación magnética, después de 30 min se retiró



el baño de hielo y se dejó a temperatura ambiente. Trascurridas 4 h, la mezcla de reacción ya mostraba un ligero cambio de color (de amarillo fuerte a anaranjado). Se concentró en un rotaevaporador. Al sólido obtenido se agregaron aproximadamente 50 mL de agua destilada, la suspensión se agitó mecánicamente y se filtró al vacío. Se obtuvieron 0.5108 g de un sólido anaranjado. Rendimiento= 84.7%.

Para su purificación se colocaron 0.1 g del producto obtenido en un vaso de precipitados de 50 mL con 3 mL de DMSO. La disolución anterior se agitó magnéticamente a temperatura ambiente, durante 1 h. Se detuvo la agitación y se filtró al vacío. El sólido contenido en el embudo de separación se lavó repetidamente con diclorometano. Se obtuvieron 0.056 g del producto puro, de color anaranjado. Rendimiento= 56.0 %. R.f.: 0.71 (Sistema II), p.f.= 291.2 – 292.8 °C.

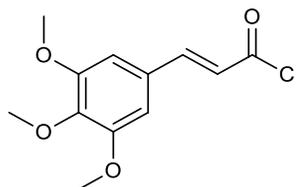
7. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diamidoquinazolin-6-il)-3-(4-nitrofenil)prop-2-enamida (A2)



En un matraz bola de 100 mL, equipado con refrigerante, agitación magnética y parrilla de calentamiento, se colocaron 0.3 g de **I2**, a los cuales se les adicionaron 8 mL de MeOH. Aparte, en vaso de precipitados de 50 mL, se pesaron 0.038 g de LiOH (2.3 eq.), y se disolvieron en la mínima cantidad de agua. La disolución se transfirió al matraz de reacción y se colocó a 60 °C provista de atmósfera de nitrógeno, durante 3 h. Después del tiempo de reacción, se apagó el calentamiento, se filtró en caliente, y se lavó con agua destilada. Se obtuvieron 0.1906 g de un polvo fino rojo. Rendimiento= 78.8 %. R.f.: 0.41 (Sistema V), p.f.= 320 °C (temperatura de descomposición).

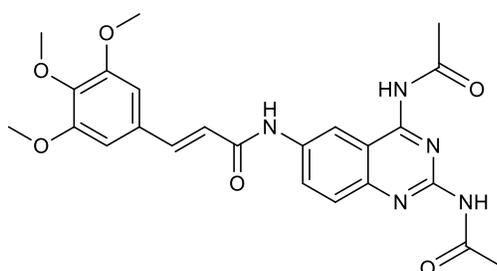


8. Síntesis de cloruro de (2E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enoilo



En un matraz bola de 100 mL, adaptado a una trampa con disolución de hidróxido de sodio, agitación magnética y calentamiento convencional, se agregaron 0.3 g (1.2593 mmol) de ácido (2E)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enoico, 3 mL de CHCl₃ anhidro y 0.5 mL (2.5706 mmol) de SOCl₂ recién destilado. La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 4 horas. Concluido ese tiempo, se adicionaron 15 mL de hexano anhidro y se destiló el disolvente con ayuda de una cabeza de destilación, el cual adaptó al matraz de reacción. Esto se realizó dos veces más. Antes de que finalizara la destilación, se retiró el calentamiento junto con la cabeza de destilación, se colocó el matraz directamente al vacío durante 12 h con ayuda de un adaptador y se protegió de la luz. Por último, se agregaron 3 mL más de hexano anhidro y el sólido se separó por filtración en un embudo Büchner. Se obtuvieron 0.2846 g de un sólido amarillo. Rendimiento= 88.0 %.

9. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enamida (I3)



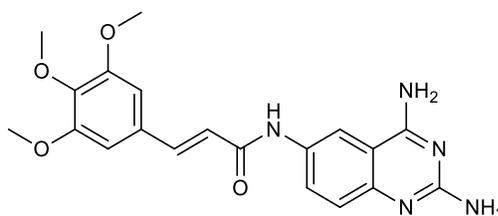
En un matraz bola de 100 mL, provisto de una columna vigreux y agitación magnética, se agregaron 0.1680 g de **A** (1 eq.) y 0.065 g de NaHCO₃ (1.2 eq), posteriormente se adicionaron 5 mL de acetona recién destilada. El sistema se colocó en un baño de hielo durante 15 minutos. Por otra parte, se disolvieron 0.2 g



de cloruro de (2*E*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enoilo (0.7792 mmol= 1.2 eq.) en 10 mL de acetona, la disolución se colocó en un embudo de separación y se intercambié por la columna vigreux en la reacción, incluyendo una atmósfera de nitrógeno. Una vez transcurridos los primeros 15 min, se goteó la disolución con el cloruro de acilo correspondiente y se mantuvo en agitación magnética, después de 30 min se retiró el baño de hielo y se dejó a temperatura ambiente. Transcurridas 4 h, la mezcla de reacción ya mostraba un ligero cambio de color (de amarillo fuerte a amarillo claro). La disolución se concentró en un rotaevaporador, y se agregaron aproximadamente 20 mL de agua destilada, se agitó mecánicamente y filtró al vacío. Se obtuvieron 0.325 g de un sólido amarillo claro, Rendimiento= 87.0%.

Para purificar al producto obtenido, se adicionó aproximadamente 20 mL de acetona, se colocó a 40 °C y agitó magnéticamente durante 15 min. La suspensión se filtró en caliente en un embudo Büchner. Se obtuvieron 0.2001 g del compuesto final, sólido amarillo claro. Rendimiento= 53.6%. R.f.: 0.64 (Sistema III), p.f.= 218.2 – 219.9 °C.

10. Síntesis de (2*E*)-*N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-enamida (**A3**)

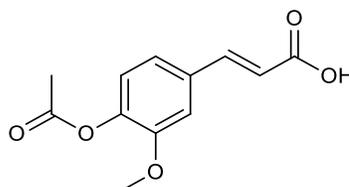


En un matraz bola de 100 mL, equipado con refrigerante, agitación magnética y parrilla de calentamiento, se colocaron 0.2 g de **I3**, a los cuales se les adicionaron 8 mL de MeOH. Aparte, en vaso de precipitados de 50 mL, se pesó 0.023 g de LiOH (2.3 eq.), los cuales se disolvieron en la mínima cantidad de agua. La disolución se transfirió al matraz de reacción y se colocó a 60 °C provista de atmósfera de nitrógeno, por un tiempo de 4 h. La apariencia de la mezcla de reacción se modificó a los 30 min, cambiando de una suspensión amarilla clara, a una solución de color amarillo. Después del tiempo de reacción se apagó el calentamiento. Una vez que



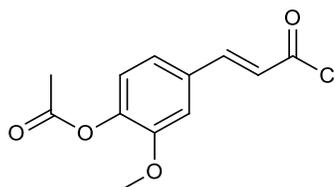
se encontraba a temperatura ambiente, se formó un precipitado amarillo opaco. El matraz se colocó nuevamente en un baño de aceite a 60°C durante 3 h. Finalmente, la suspensión se separó por filtración en caliente; el sólido obtenido se lavó con agua destilada. Se obtuvieron 0.085 g de un polvo fino amarillo claro. Rendimiento= 51.7 %. R.f.: 0.29 (Sistema V), p.f.=164.8 – 166.2 °C.

11. Síntesis de ácido (2E)-3-[4-(acetiloxi)-3-metoxifenil]prop-2-enoico



Se colocaron 1.0 g de ácido ferúlico (ácido (2E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enoico) equivalente a 1.5449 mmol, 0.1 g de DMAP (10%) y 10 mL de anhídrido acético en un matraz bola de 100 mL, equipado con agitación magnética, y columna vigreux. La reacción se llevó a cabo en un tiempo de 24 h, posteriormente se adicionó la mezcla de reacción en un vaso de precipitados de 250 mL con 100 mL de una mezcla Agua/Hielo 50:50. Se agitó mecánicamente hasta la formación de un sólido blanco, se dejó en agitación magnética durante 2 h. La suspensión se filtró en un embudo Büchner y se realizaron lavados con agua hasta conseguir un filtrado con pH neutro. Se obtuvieron 0.8050 g de un polvo blanco. Para reducir la humedad del producto obtenido, el sólido se colocó en un equipo Electrothermal Chem-Dry. Rendimiento= 66.2%. R.f.: 0.7 (Sistema III), p.f.= 168 - 195 °C.

12. Síntesis de acetato de 4-[(1E)-3-cloro-3-oxoprop-1-en-1-il]-2-metoxifenilo

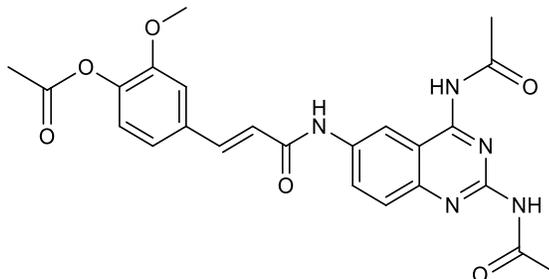


En un matraz bola de 100 mL, adaptado a una trampa con disolución de hidróxido de sodio, agitación magnética y calentamiento convencional, se agregaron 0.3 g (1.5449 mmol) de ácido (2E)-3-[4-(acetiloxi)-3-metoxifenil]prop-2-enoico, 3 mL de CHCl₃ anhidro y 0.5 mL (2.5706 mmol) de SOCl₂ recién destilado. La mezcla de



reacción se colocó a reflujo durante 5 horas. Concluido ese tiempo, se adicionaron 15 mL de hexano anhidro y se destiló el disolvente con ayuda de una cabeza de destilación, el cual se adaptó al matraz de reacción. Esto se realizó dos veces más. Antes de que finalizara la destilación, se retiró el calentamiento junto con la cabeza de destilación, y se colocó el matraz directamente al vacío durante 12 h con ayuda de un adaptador y se protegió de la luz. Por último, se agregaron 3 mL más de hexano anhidro y la suspensión se filtró en un embudo Büchner. Se obtuvieron 0.2860 g de un sólido color marrón claro. Rendimiento= 87.1%.

13. Síntesis de acetato de 4-[(1*E*)-3-[(2,4-diacetamidoquinazolin-6-il)amino]-3-oxoprop-1-en-1-il]-2-metoxifenilo (I4)



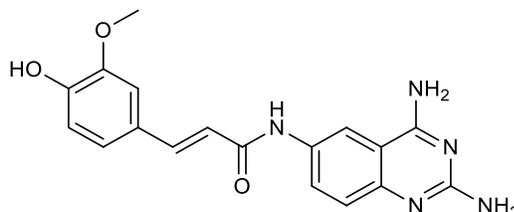
Inmediatamente después de la obtención del acetato de 4-[(1*E*)-3-cloro-3-oxoprop-1-en-1-il]-2-metoxifenilo, en un matraz bola de 100 mL, provisto de una columna vigreux y agitación magnética, se agregaron 0.1698 g de **A** (1 eq.) y 0.066 g de NaHCO₃ (1.2 eq), posteriormente se adicionaron 5 mL de acetona recién destilada. Se colocó en un baño de hielo durante 15 min. Por otra parte, se disolvieron 0.2 g de acetato de 4-[(1*E*)-3-cloro-3-oxoprop-1-en-1-il]-2-metoxifenilo (0.7853 mmol, 1.2 eq.) en 10 mL de acetona, la disolución se colocó en un embudo de separación y se intercambió por la columna vigreux en la reacción, incluyendo una atmósfera de nitrógeno. Una vez transcurridos los primeros 15 min, se goteó la disolución con el cloruro de acilo correspondiente y se mantuvo en agitación magnética, después de 30 min se retiró el baño de hielo y se dejó a temperatura ambiente. Trascurridas 3 h, se detuvo la agitación, se protegió de la luz y se guardó en refrigeración a 4°C. Después de 12 h, se montó nuevamente la reacción considerando las mismas



condiciones durante 2 h. Posteriormente, se detuvo la agitación y se filtró al vacío, obteniéndose un sólido amarillo claro. Se realizaron lavados con agua destilada.

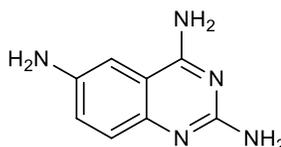
Rendimiento= 53.6%. R.f.: 0.59 (Sistema I), p.f.= 239.8 – 242.3 °C.

14. Síntesis de (2E)-N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)prop-2-enamida (A4)



En un vial Vial SiC vessel C10, con agitador magnético, se colocaron 0.15 g de **I4** y 0.071 g de LiOH (9.5 eq.), a los cuales se les adicionaron 5 mL de MeOH y 1 mL de agua. La reacción se llevó a cabo en un microondas 300 con Autosampler MAS24 de la marca Anton Paar, durante 4 min a 100 °C. Una vez finalizada la reacción, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, la suspensión obtenida se separó por filtración al vacío; el sólido obtenido se lavó con agua destilada. Se obtuvieron 0.071 g de un polvo fino amarillo claro. Rendimiento= 58.1 %. R.f.: 0.55 (Sistema VI), p.f.= 260 °C (temperatura de descomposición).

15. Síntesis de quinazolin-2,4,6-triamina (B)

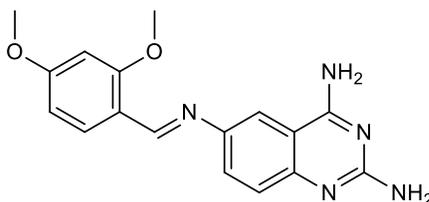


En una botella de hidrogenación Parr, se colocó una disolución de 3.0346 g de 6-nitroquinazolin-2,4-diamina, 0.10 g Pd/C (10%) y 220 mL de MeOH. La reducción se realizó a 60 lb/in², durante 1 h. Se retiró la botella Parr del hidrogenador e inmediatamente (debido a que el producto precipita) se filtró en un embudo de filtro poroso, obteniéndose un filtrado amarillo, el cual se concentró y llevó a sequedad utilizando un rotaevaporador, protegido de la luz y a un baño de agua con una



temperatura no mayor a 35 °C. Se obtuvieron 2.2775 g de un polvo amarillo claro. Rendimiento= 87.9%. R.f.: 0.24 (Sistema VI), p.f.= 254.9 – 261.5 °C.

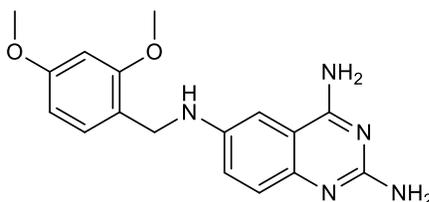
16. Síntesis de 6-*(E)*-[(2,4-dimetoxifenil)metiliden]amino}quinazolin-2,4-diamina (I5)



En un matraz bola de 100 mL, equipado con agitación magnética, parrilla de calentamiento y columna vigreux, se colocaron 0.5 g de **B** (2.85 mmol, 1 eq.), 15 mL de MeOH y 10 gotas de DMF-DMA, posteriormente se adicionaron 0.4742g de 2,4-dimetoxibenzaldehído (2.85 mmol, 1 eq.). La mezcla de reacción anterior se colocó a una temperatura de 40 °C durante 24 h, en donde se observaron cambios en la disolución (se disolvió a los 20 min y precipitó un sólido amarillo a las 2 h). Posteriormente se detuvo la agitación, así como el calentamiento, se concentró el MeOH en el rotaevaporador hasta un volumen aproximado de 5 mL. Se agregaron 10 mL de agua destilada y se agitó mecánicamente durante 5 min. El precipitado amarillo se separó por filtración y se lavó repetidas veces con agua y MeOH, alternadamente.

Se obtuvieron 0.7170 g de un polvo amarillo fuerte. Rendimiento= 77.7%. R.f.: 0.28 (Sistema V), p.f.= 203.8 – 206.1 °C.

17. Síntesis de *N*⁶-[(2,4-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina (B1)



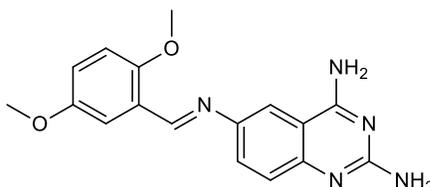
Para llevar a cabo la reducción de la imina correspondiente, se agregaron 0.3 g de **I5** (0.9278 mmol, 1 eq.) y 25 mL de MeOH, en un matraz bola de 100 mL.



Posteriormente, se adicionaron 0.1228 g de NaBH_4 (3.5 eq.) lentamente al matraz de reacción el cual se encontraba en un baño de hielo a 0°C . Se colocó en agitación magnética durante 5 min antes de remover el baño de hielo. La reacción se mantuvo en temperatura ambiente y agitación durante 24 h, donde se observó burbujeo y completa disolución. Por otra parte, se prepararon 20 mL de una disolución concentrada de NaHCO_3 . Al concluir el tiempo de reacción, se concentró directamente en un rotaevaporador hasta un volumen aproximado de 10 mL. En un vaso de precipitados de 200 mL se agregaron lentamente y con agitación mecánica constante el producto de reacción con la disolución de NaHCO_3 , en proporciones iguales. La suspensión se agitó 5 min más y se filtró al vacío. El sólido se lavó con MeOH y agua. Se obtuvieron 0.2171 g de un polvo verde claro. Rendimiento= 71.9 %.

Para su purificación se colocaron 0.0570 g del compuesto anteriormente obtenido en un vaso de precipitados de 25 mL y se agregaron aproximadamente 15 mL de metanol, en calentamiento y con agitación constante (hasta que se observó que fue completamente soluble). A continuación, se agregaron 0.006 g de carbón activado y 10 gotas de agua; el sistema se mantuvo en agitación y a reflujo durante 15 min. Al concluir el tiempo, la suspensión se filtró por gravedad en caliente. El filtrado se colocó en refrigeración durante 48 h. Finalmente, se filtraron al vacío los cristales formados. Se obtuvieron 0.0200 g de cristales amarillo claro. Rendimiento= 35.1 %. R.f.: 0.59 (Sistema VI), p.f.= $212.3 - 213.8^\circ\text{C}$.

18. Síntesis de 6-*(E)*-[(2,5-dimetoxifenil)metiliden]amino}quinazolin-2,4-diamina (I6)



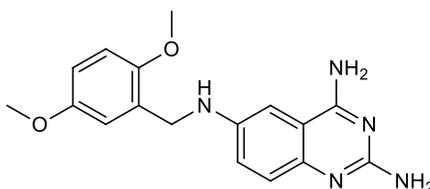
En un matraz bola de 100 mL, equipado con agitación magnética, parrilla de calentamiento y columna vigreux, se colocaron 0.5 g de **B** (2.85 mmol, 1 eq.), 15 mL de MeOH y 10 gotas de DMF-DMA, posteriormente se adicionaron 0.4742 g de



2,5-dimetoxibenzaldehído (2.85 mmol, 1 eq.). La mezcla de reacción anterior se colocó a una temperatura de 40 °C durante 24 h, en donde se observaron cambios en la disolución (se disolvió a los 20 min y precipitó un sólido amarillo a las 2 h). Posteriormente se detuvo la agitación, así como el calentamiento, se concentró el MeOH en rotaevaporador hasta un volumen aproximado de 5 mL. Se agregaron 10 mL de agua destilada y se agitó mecánicamente durante 5 min. El precipitado amarillo se separó por filtración al vacío y se lavó repetidas veces con agua y MeOH alternadamente.

Se obtuvieron 0.8420 g de un polvo amarillo. Rendimiento= 91.3%. R.f.: 0.43 (Sistema V), p.f.= 205.8 – 208.4 °C.

19. Síntesis de *N*⁶-[(2,5-dimetoxifenil)metil]quinazolin-2,4,6-triamina (B2)



Para llevar a cabo la reducción de la imina correspondiente, se agregaron 0.3 g de **16** (0.9278 mmol, 1 eq.) y 25 mL de MeOH, en un matraz bola de 100 mL. Posteriormente se adicionaron lentamente 0.3891 g de NaBH₄ (6 eq.) al matraz de reacción, el cual se encontraba en un baño de hielo a 0 °C. Se colocó en agitación magnética durante 5 min antes de remover el baño de hielo. La reacción se mantuvo en temperatura ambiente y agitación durante 24 h, donde se observó burbujeo. Al no presentar una solubilidad completa, se agregaron 20 mL más de MeOH y a las 2 horas se observó una completa disolución. Por otra parte, se prepararon 20 mL de una disolución concentrada de NaHCO₃. Al concluir el tiempo de reacción, se concentró directamente en un rotaevaporador hasta un volumen aproximado de 10 mL. En un vaso de precipitados de 200 mL se agregaron lentamente y con agitación mecánica constante el producto de reacción con la disolución de NaHCO₃, en proporciones iguales. La suspensión se agitó 5 min más y se filtró al vacío. El sólido

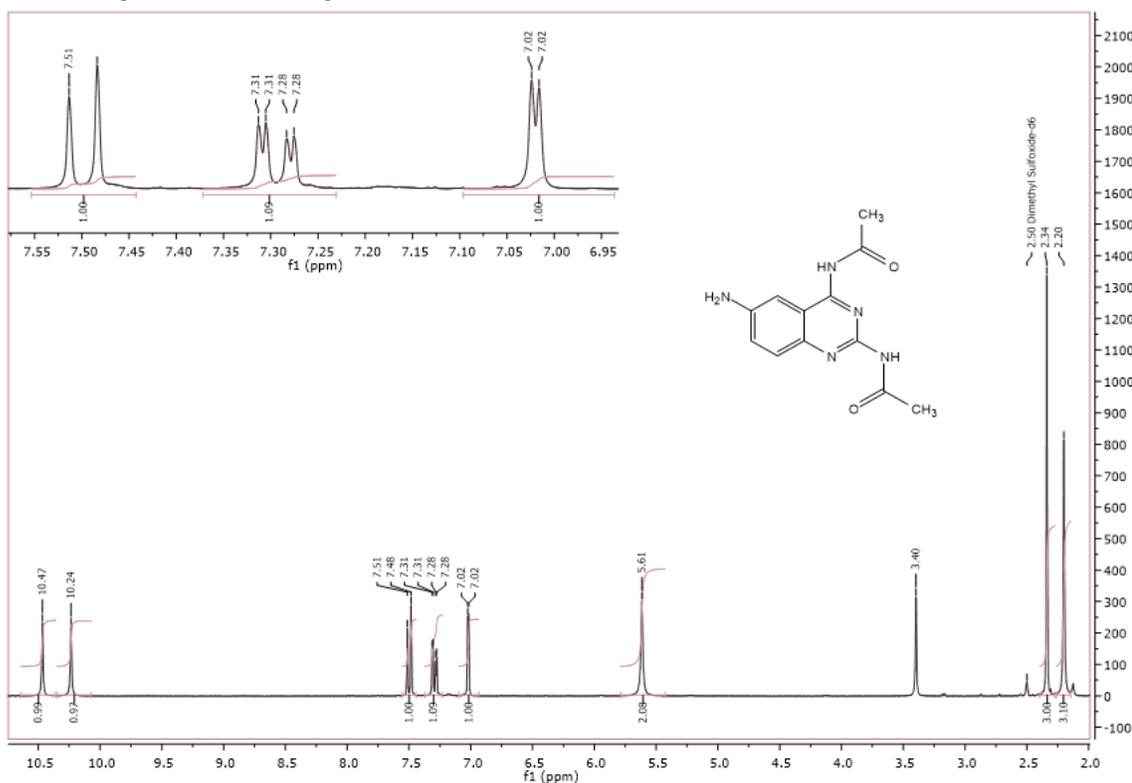


obtenido se lavó con MeOH y agua. Se obtuvieron 0.2171 g de un polvo verde. Rendimiento= 60.5 %.

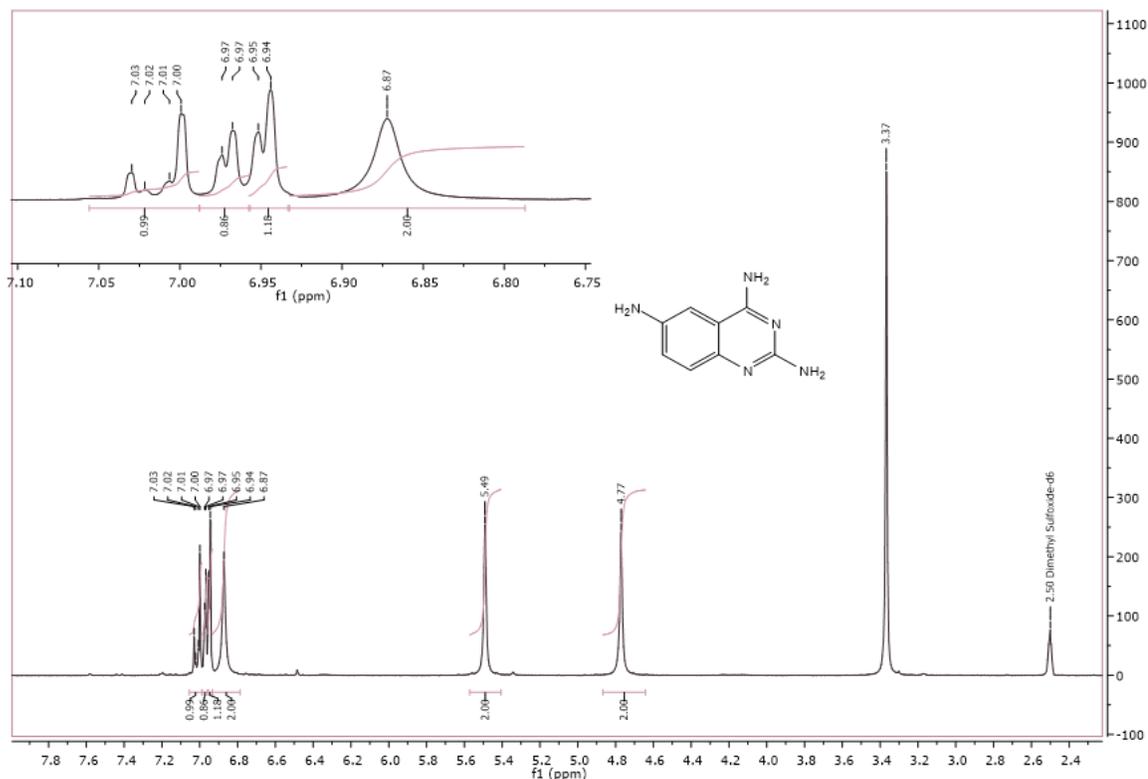
Para su purificación, se colocaron 0.1 g del compuesto anteriormente obtenido en un vaso de precipitados de 25 mL, se agregaron aproximadamente 10 mL de metanol en calentamiento y agitación constante (hasta que se observó que fue completamente disuelto). A continuación, se agregaron 0.01 g de carbón activado y 5 gotas de agua. La mezcla anterior se colocó en un matraz de bola de 50 mL y se mantuvo en reflujo durante 15 min. Al término del tiempo, la suspensión se filtró por gravedad en caliente. El filtrado se colocó en refrigeración durante 48 h para obtener cristales, los cuales se separaron por filtración. Se obtuvieron 0.0335 g de cristales color verde fuerte. Rendimiento= 33.5 %. R.f.: 0.35 (Sistema V), p.f.= 177.7 – 180.4 °C.



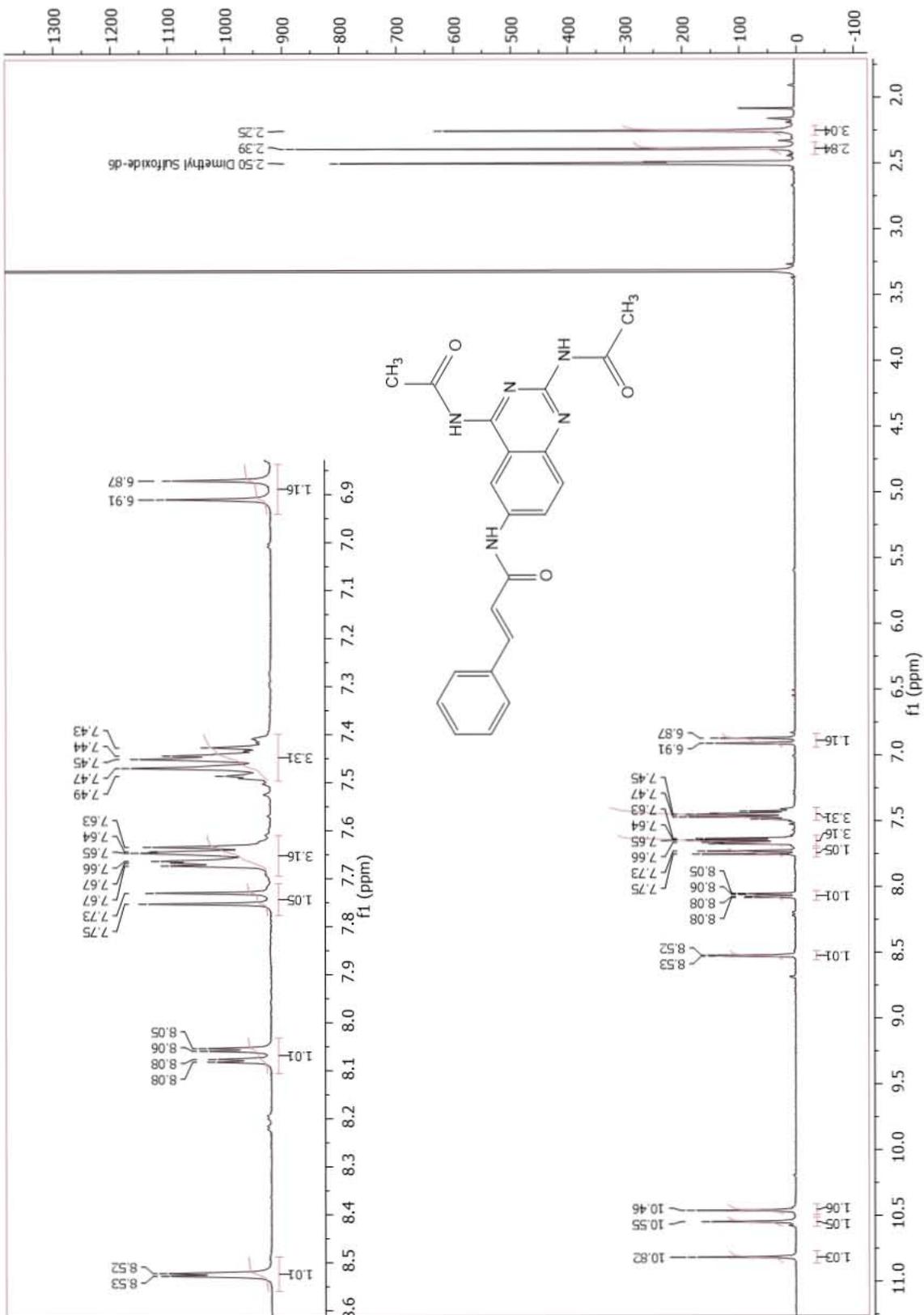
Apéndice II. Espectros



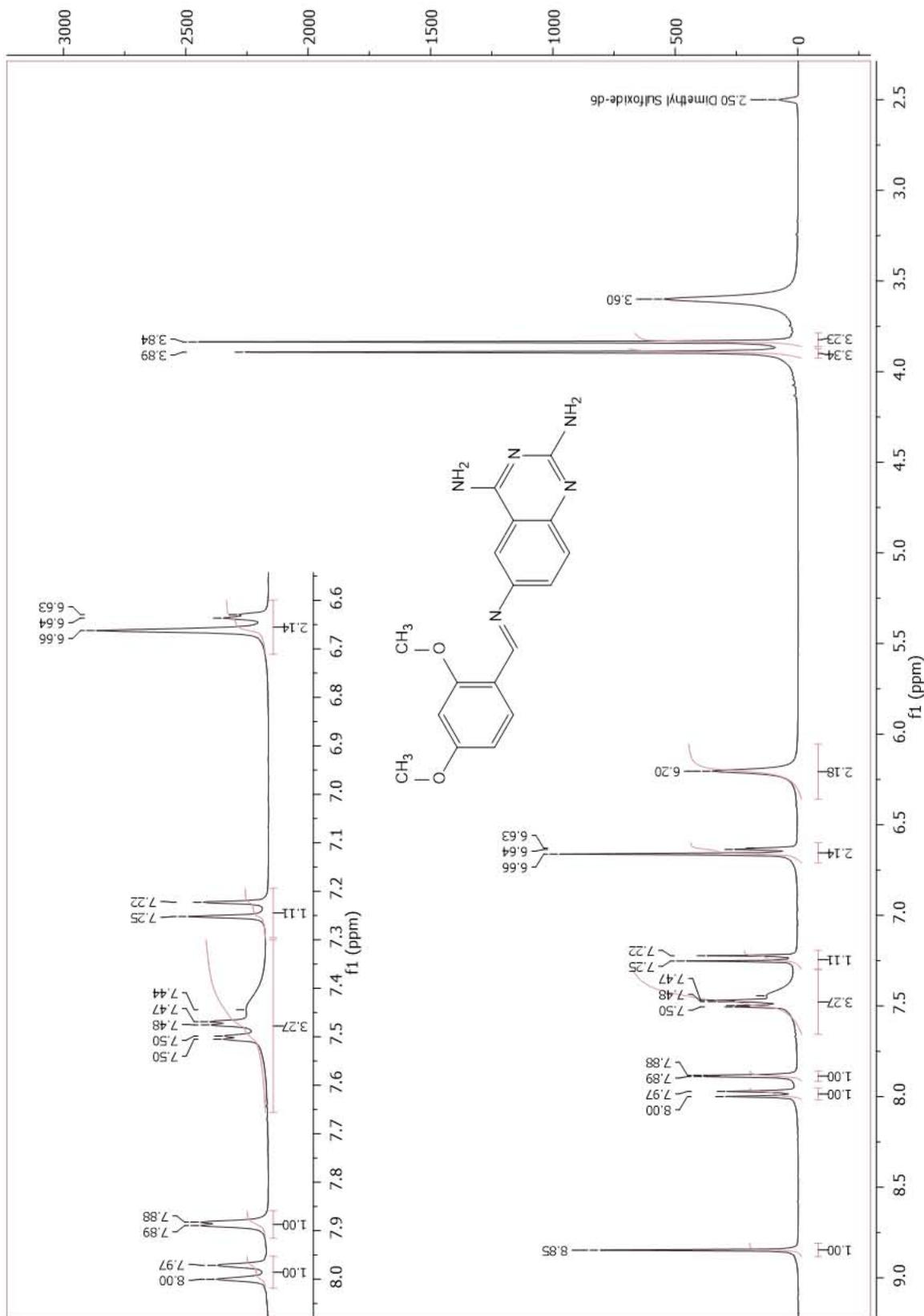
Espectro 1. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto A.



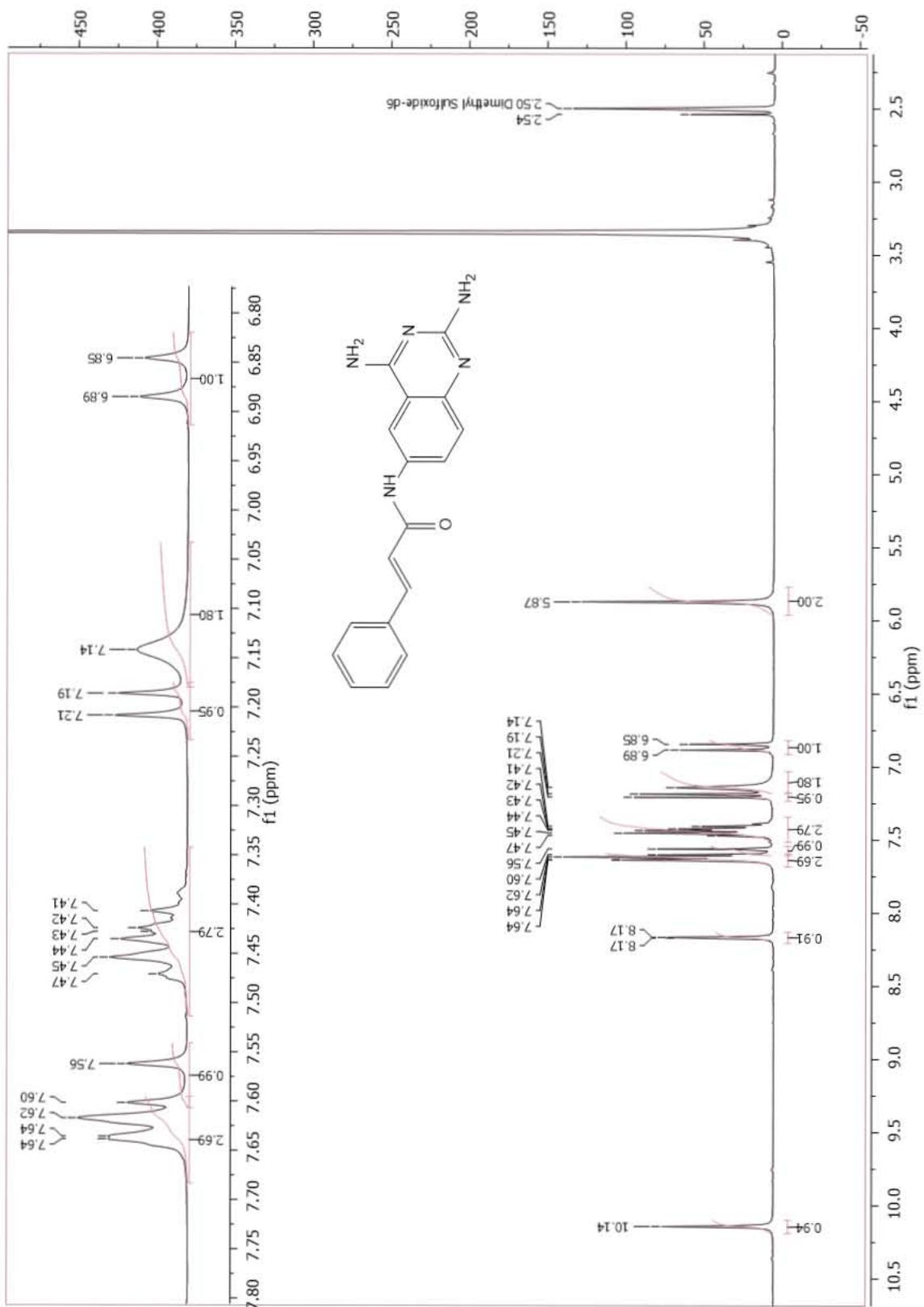
Espectro 2. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto B.



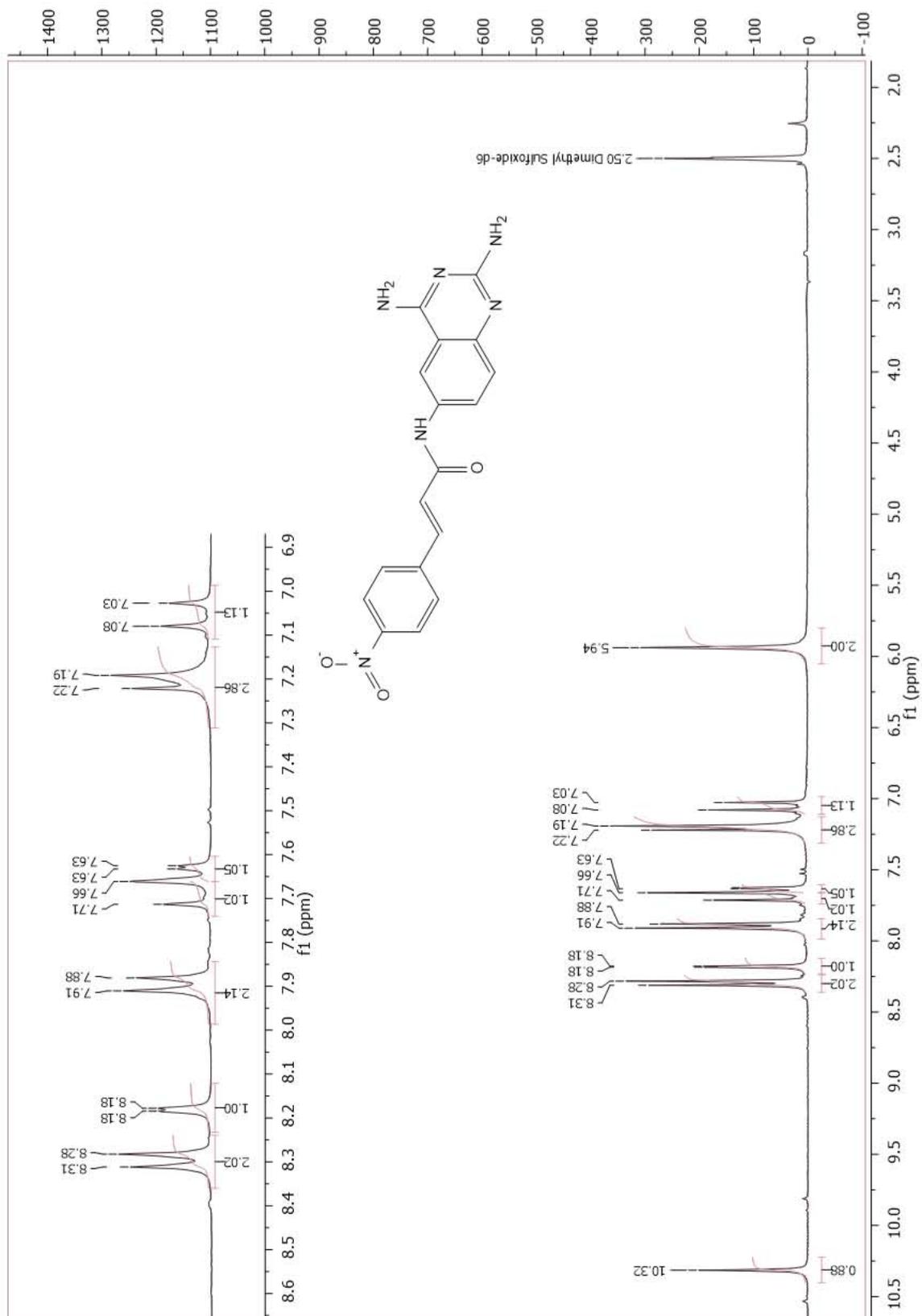
Espectro 3. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto 11.



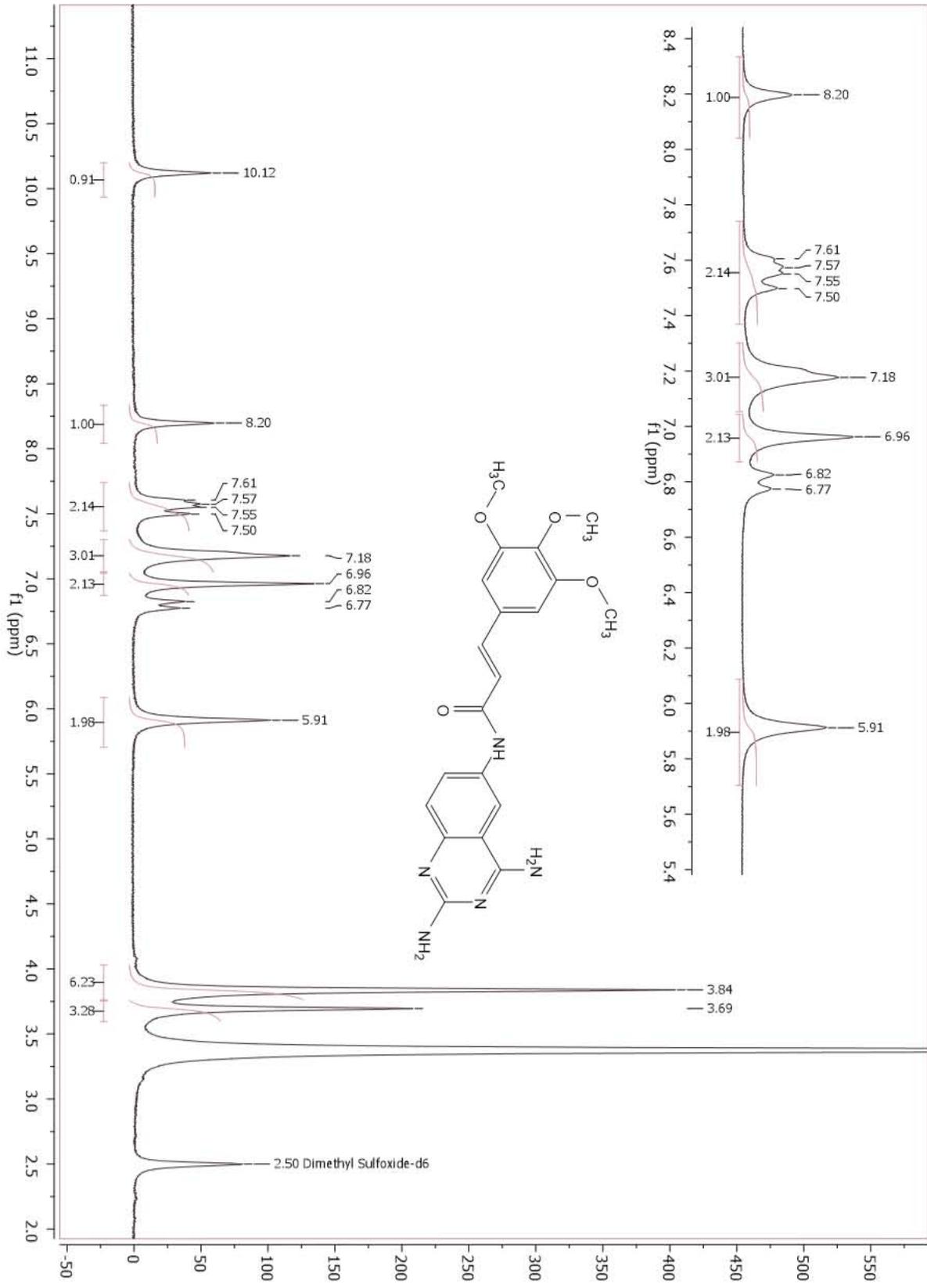
Espectro 4. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto **15**.

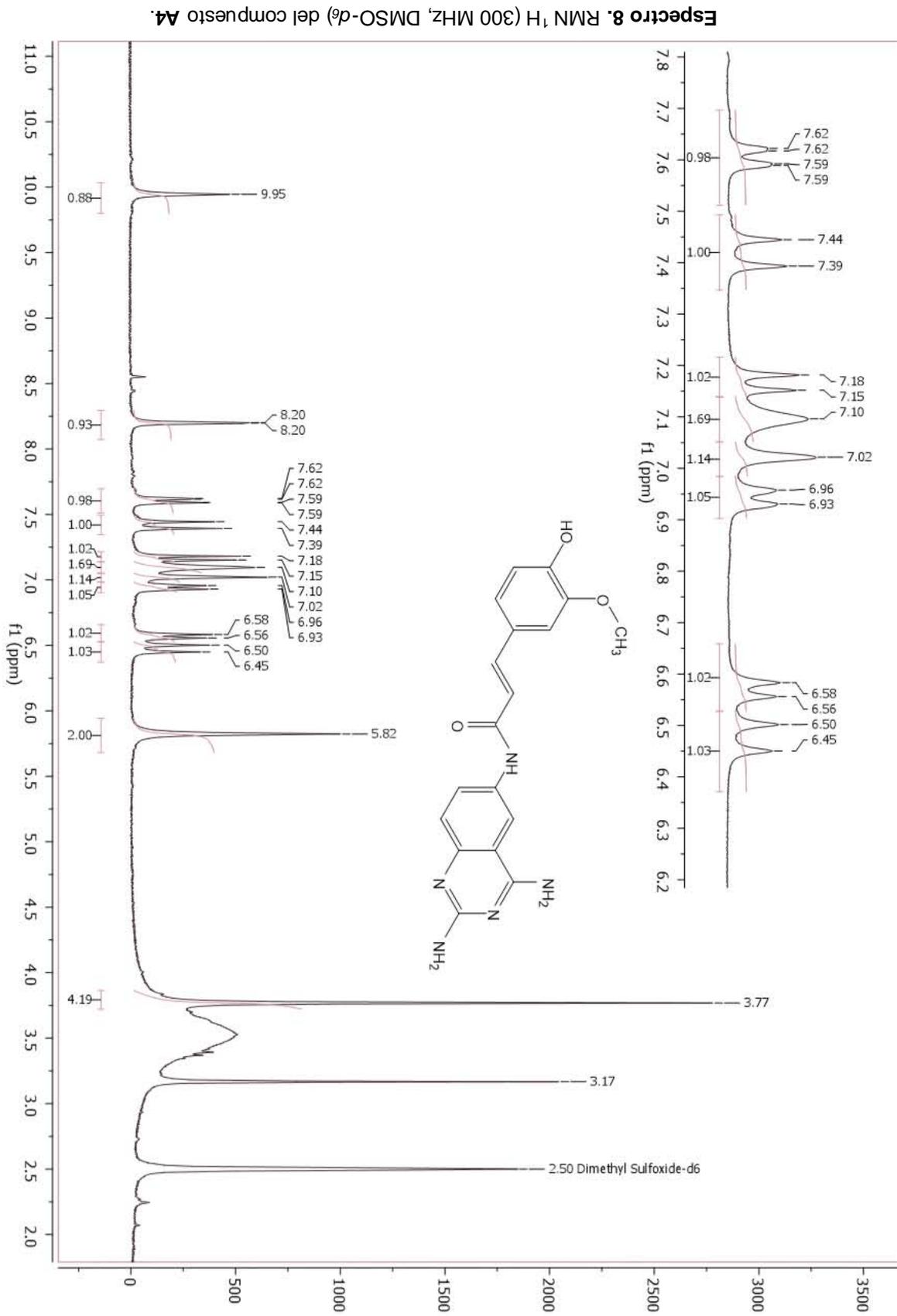


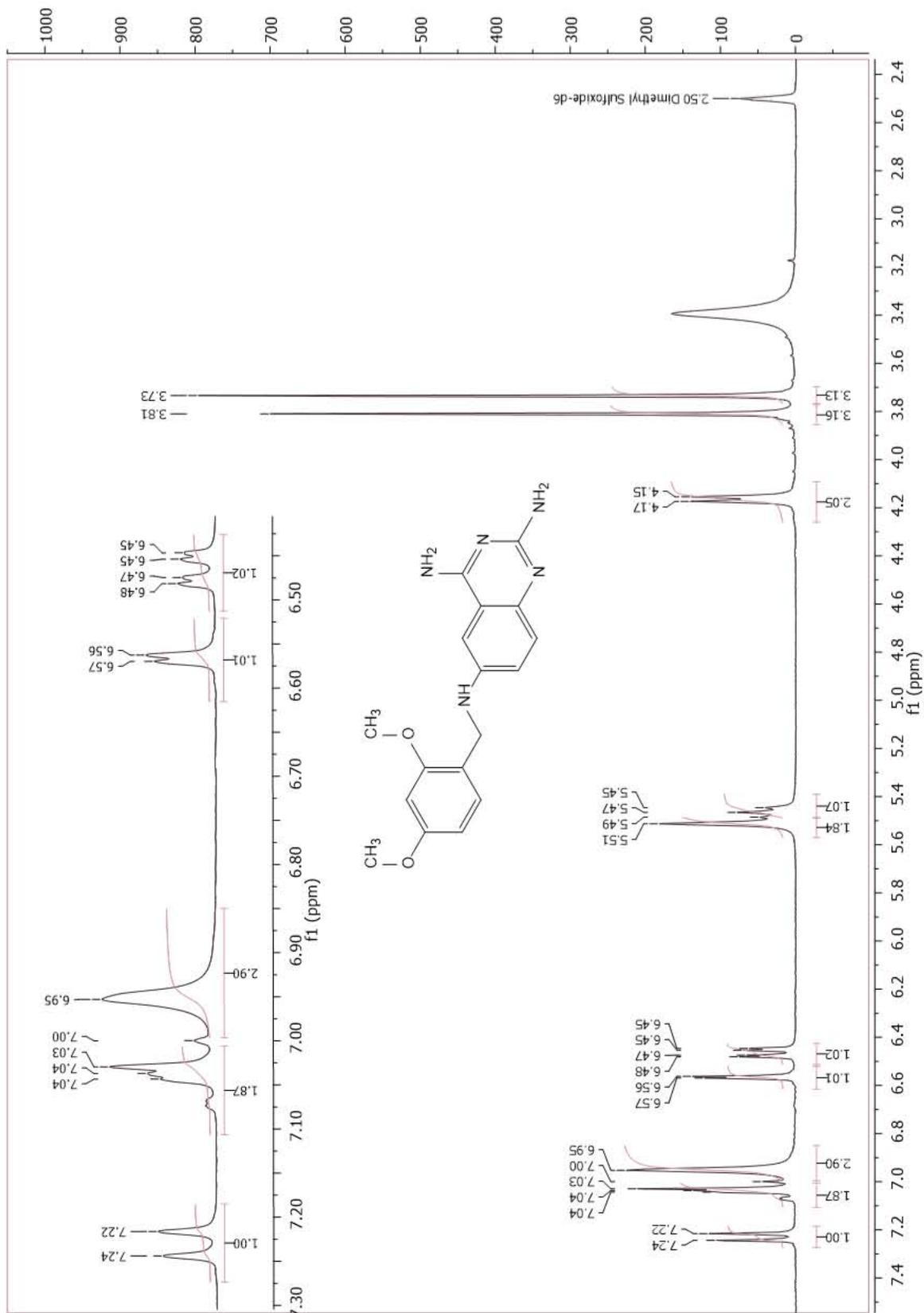
Espectro 5. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto A1.



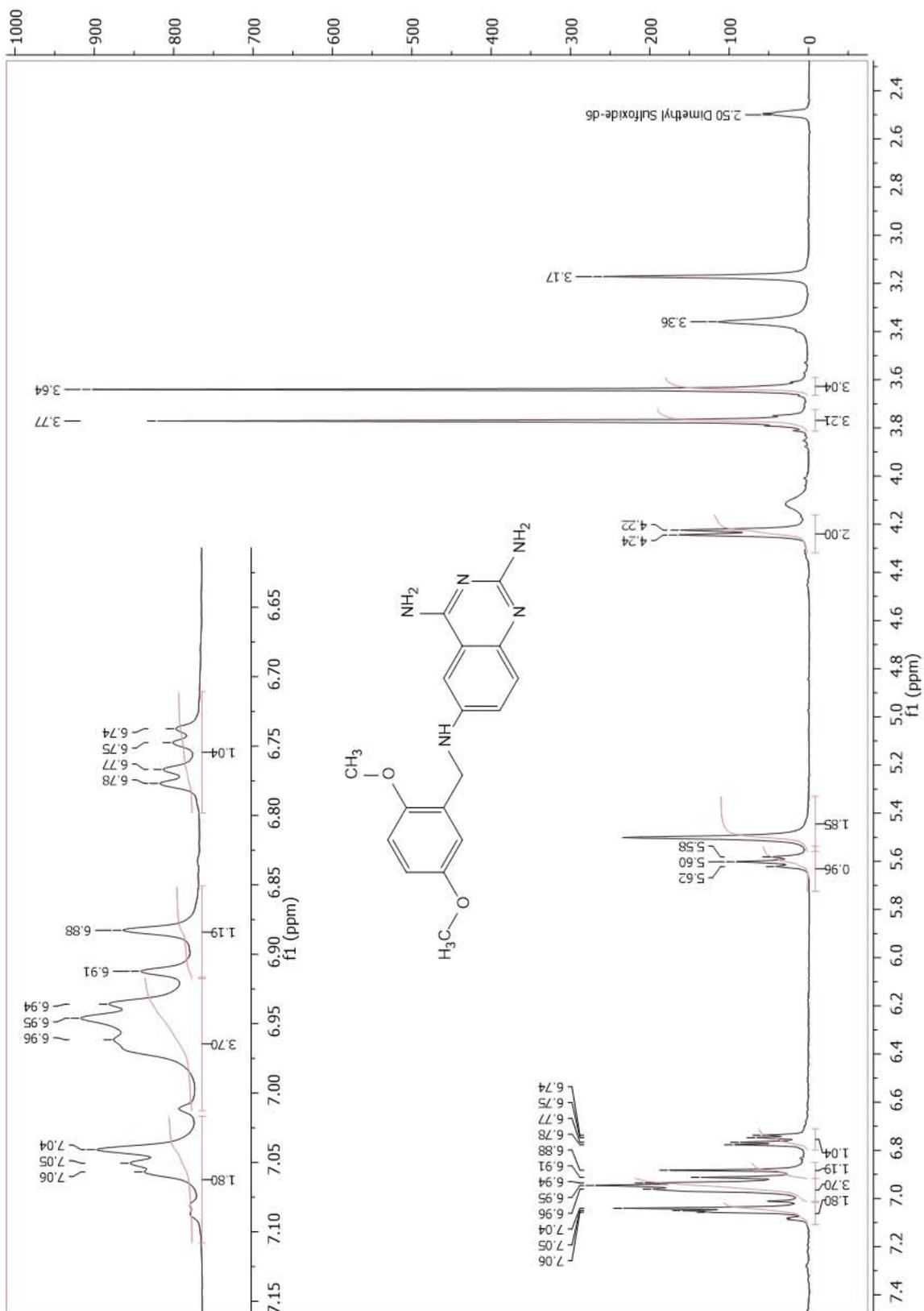
Espectro 6. RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **A2**.



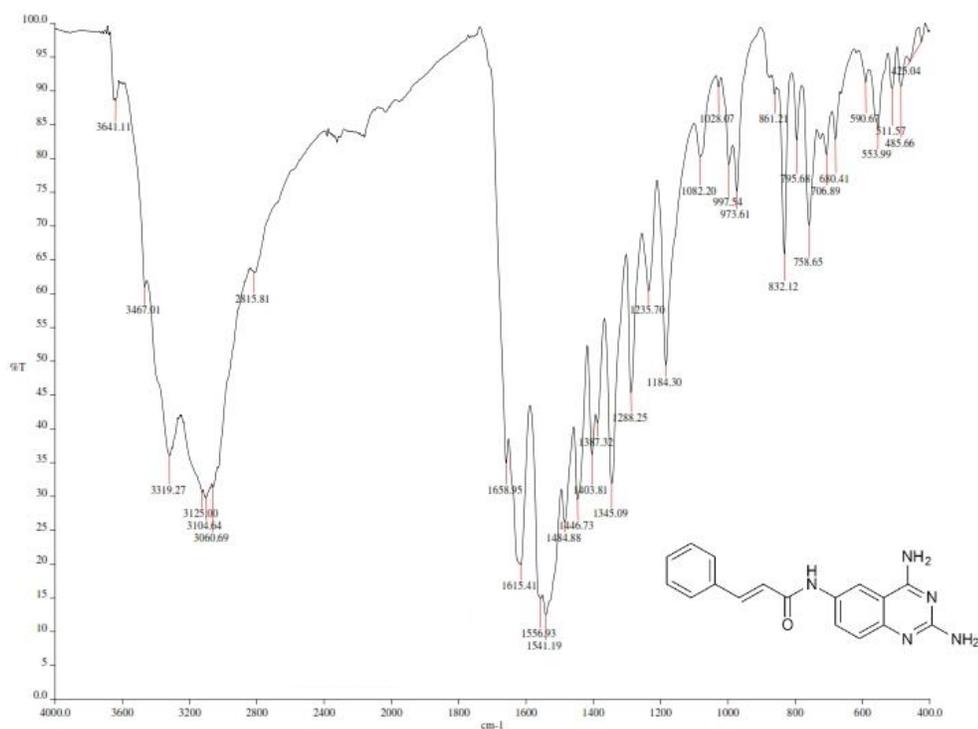




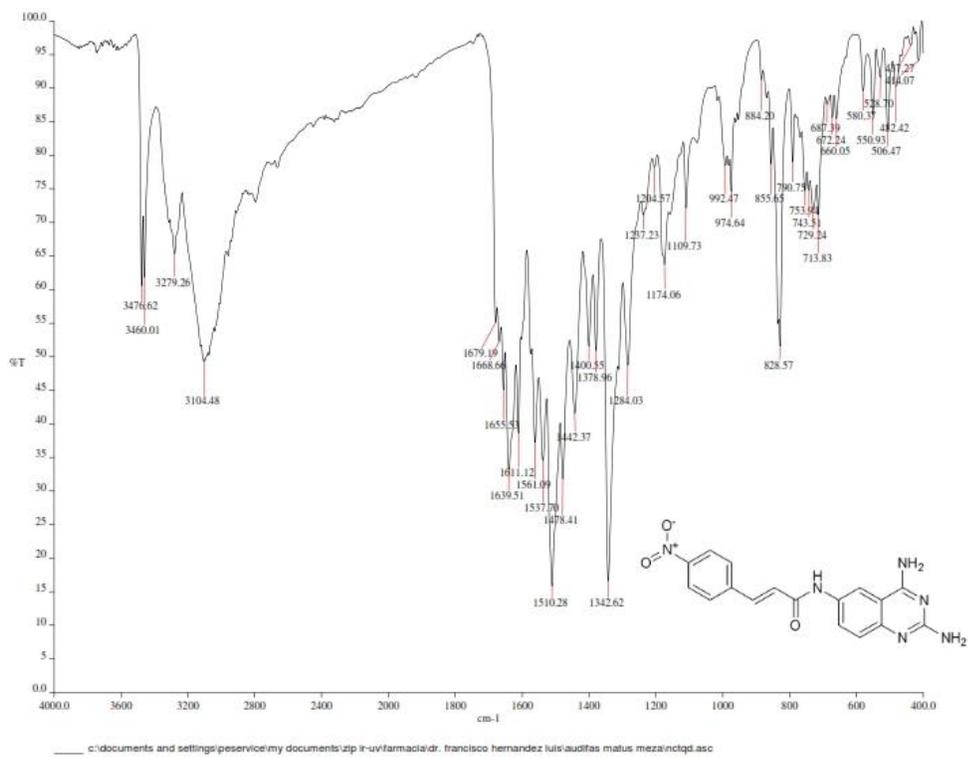
Espectro 9. RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) del compuesto **B1**.



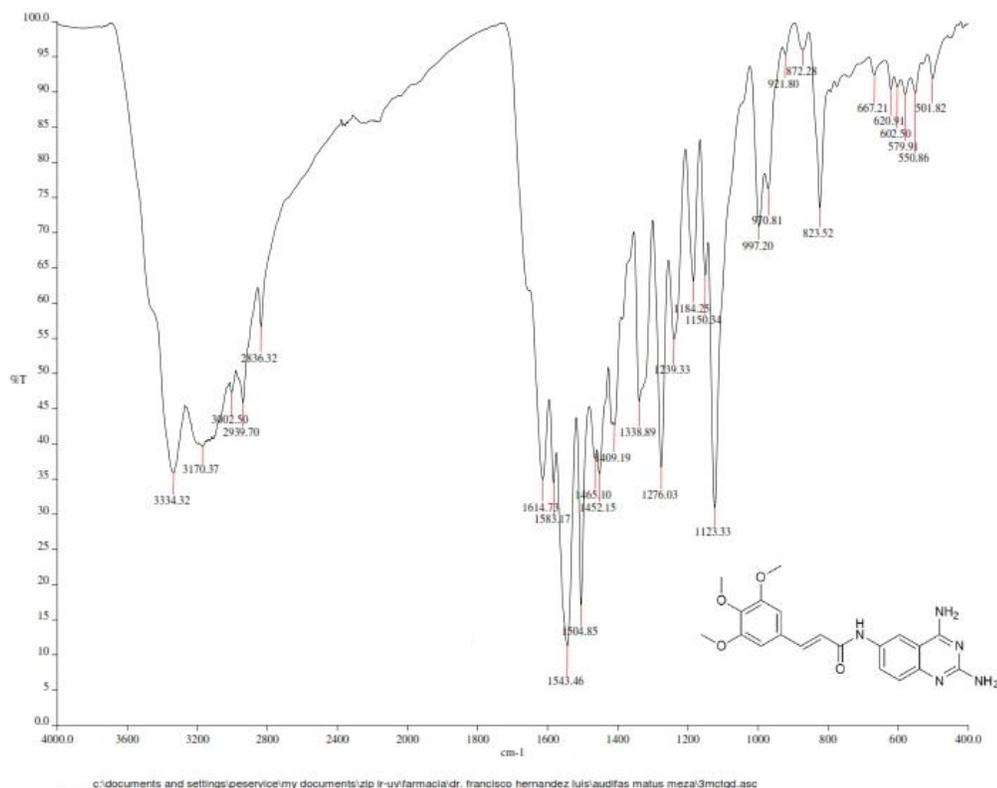
Espectro 10. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) del compuesto B2.



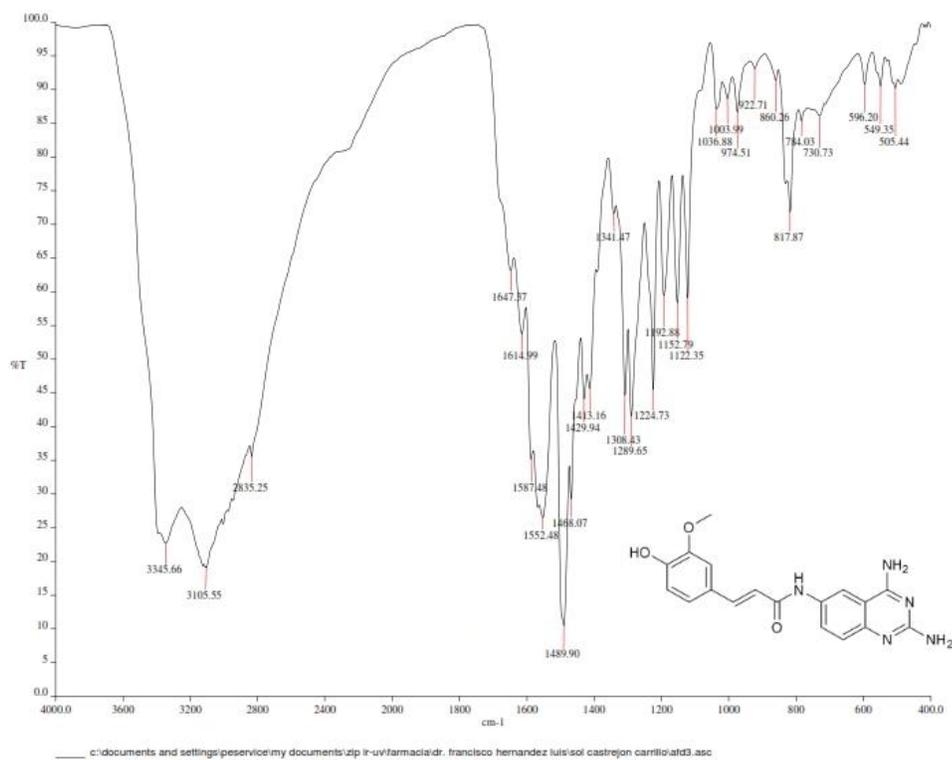
Espectro 11. IR del compuesto A1.



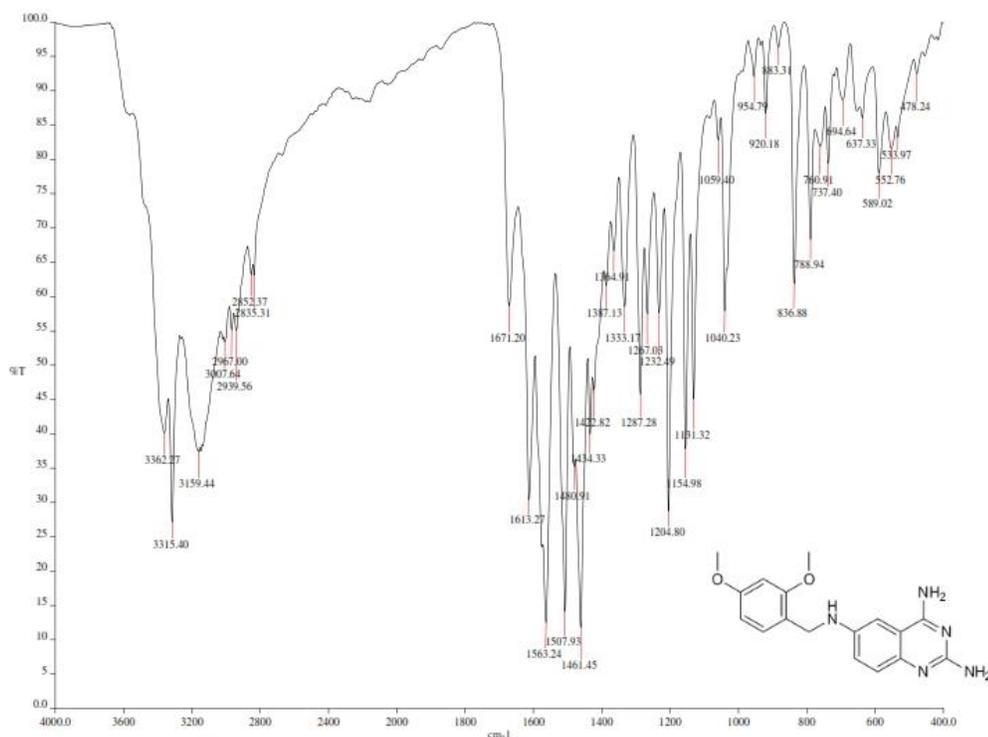
Espectro 12. IR del compuesto A2.



Espectro 13. IR del compuesto A3.

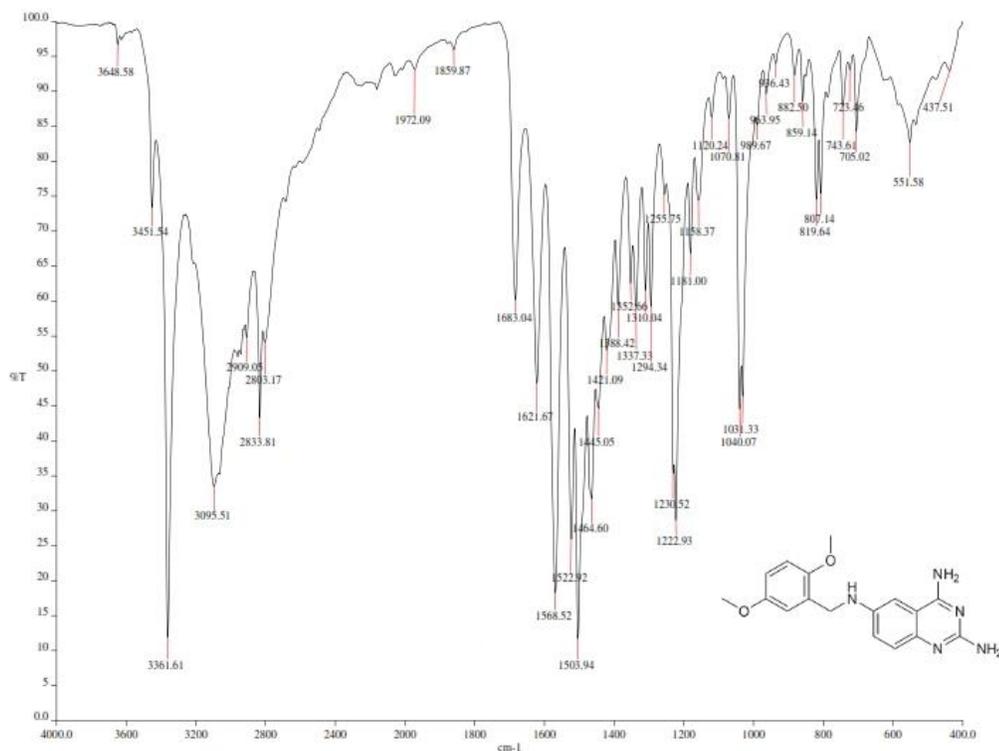


Espectro 14. IR del compuesto A4.



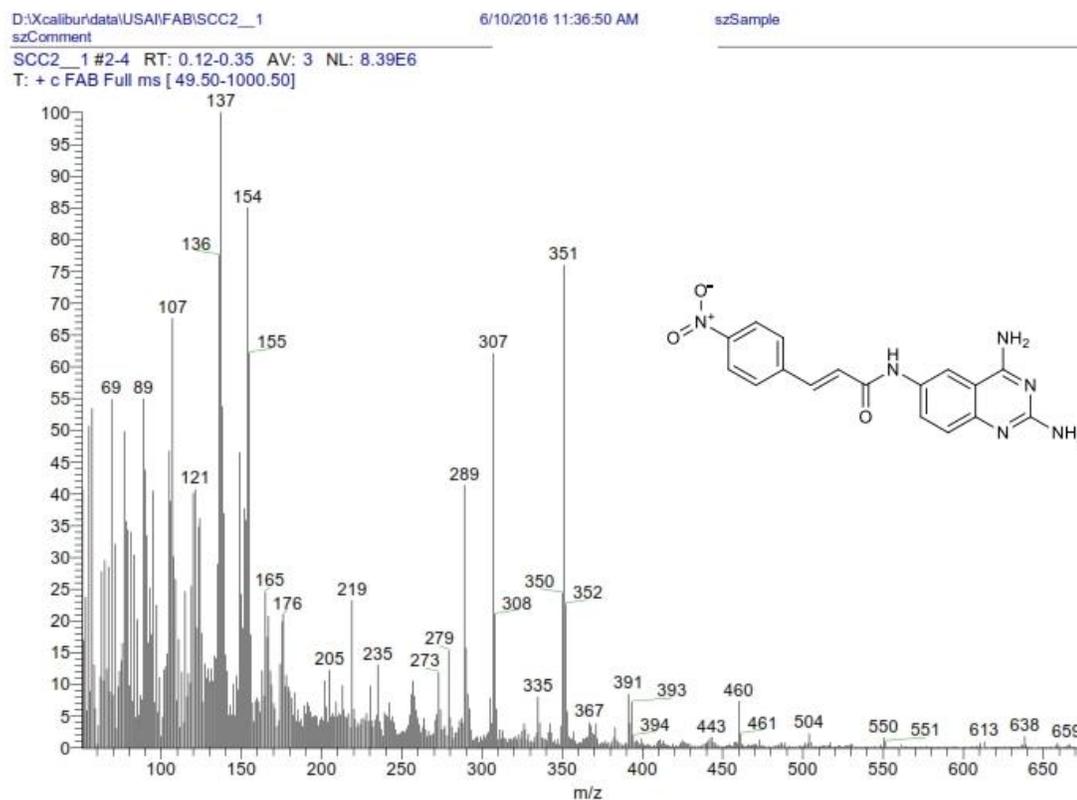
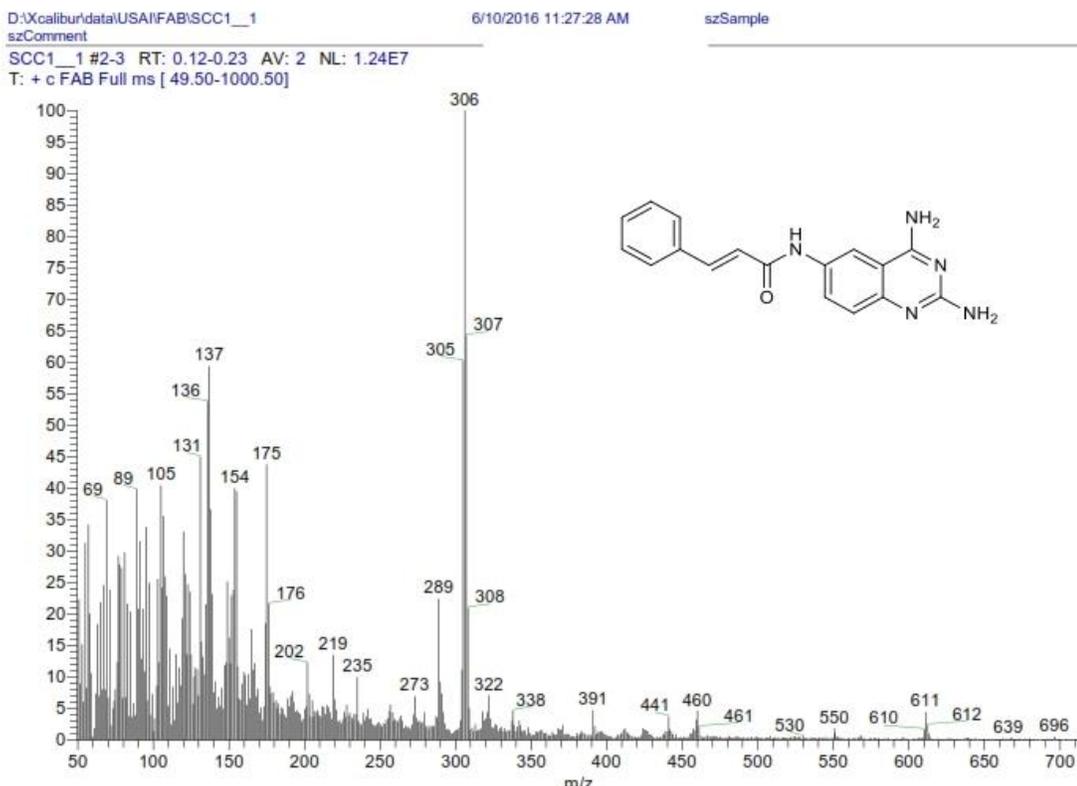
c:\documents and settings\peservice\my documents\ztp ir-uv\farmacia\dr. francisco hernandez luis\ol castrejon carrillo\24a3.asc

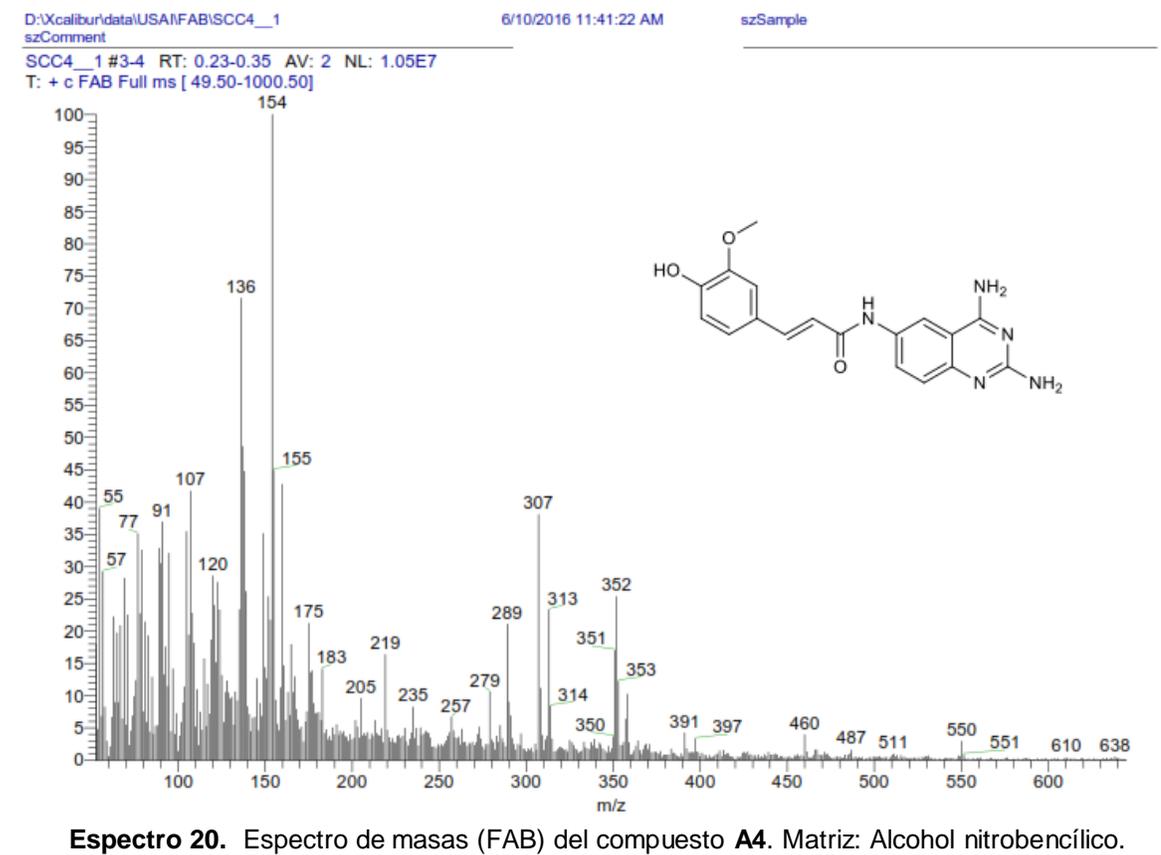
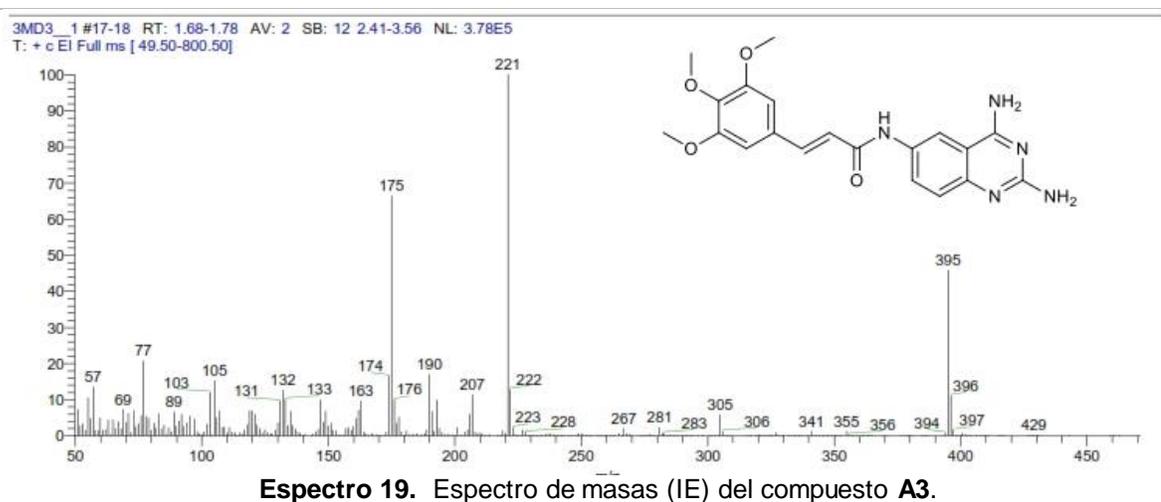
Espectro 15. IR del compuesto B1.



c:\documents and settings\peservice\my documents\ztp ir-uv\farmacia\dr. francisco hernandez luis\ol castrejon carrillo\25a3.asc

Espectro 16. IR del compuesto B2.







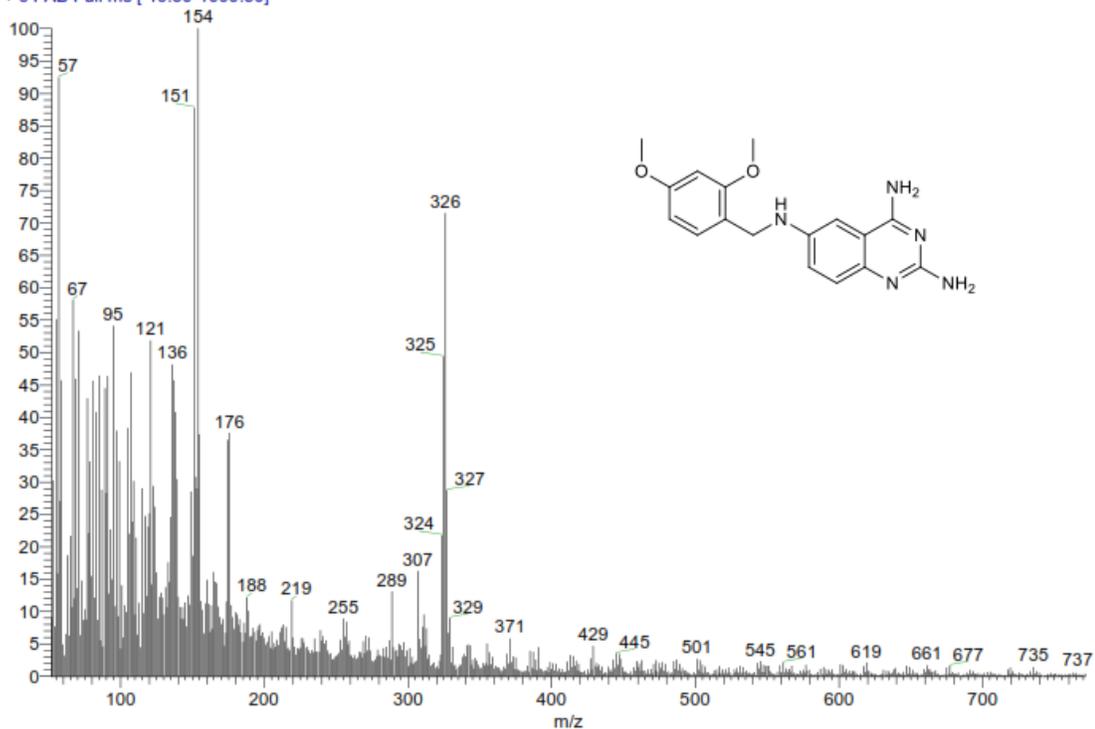
D:\Xcalibur\data\USA\FABISCC5_1
szComment

6/10/2016 11:45:50 AM

szSample

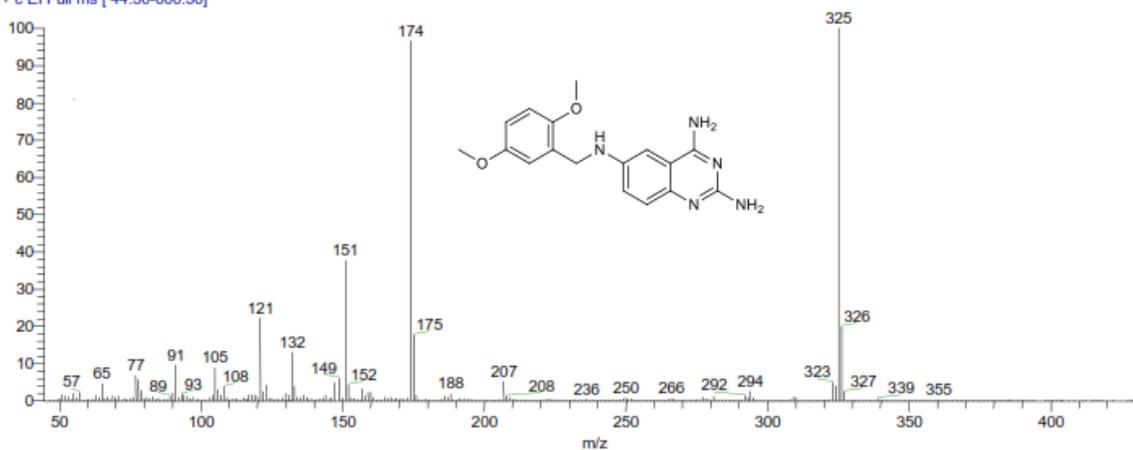
SCC5_1 #2-4 RT: 0.12-0.35 AV: 3 NL: 7.68E6

T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]

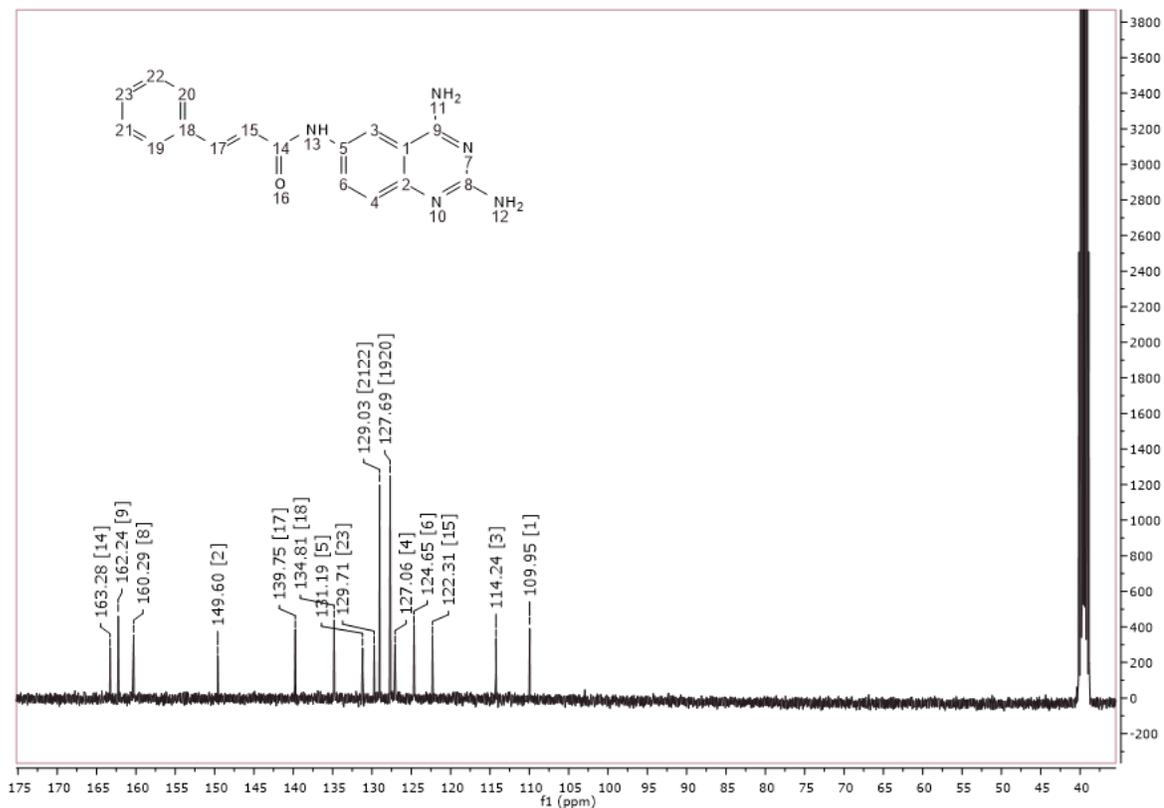


Espectro 21. Espectro de masas (FAB) del compuesto **B1**. Matriz: Alcohol nitrobenílico.

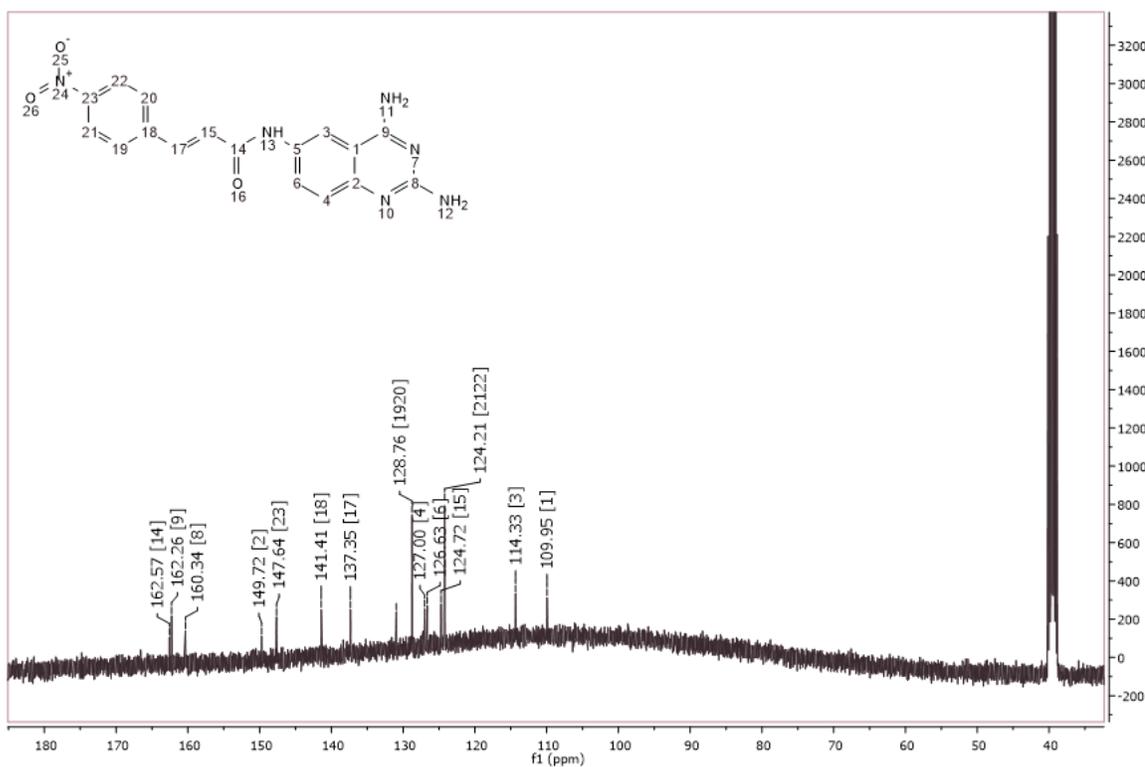
25A2_1 #20-21 RT: 1.86-1.96 AV: 2 NL: 6.20E6
T: + c EI Full ms [44.50-600.50]



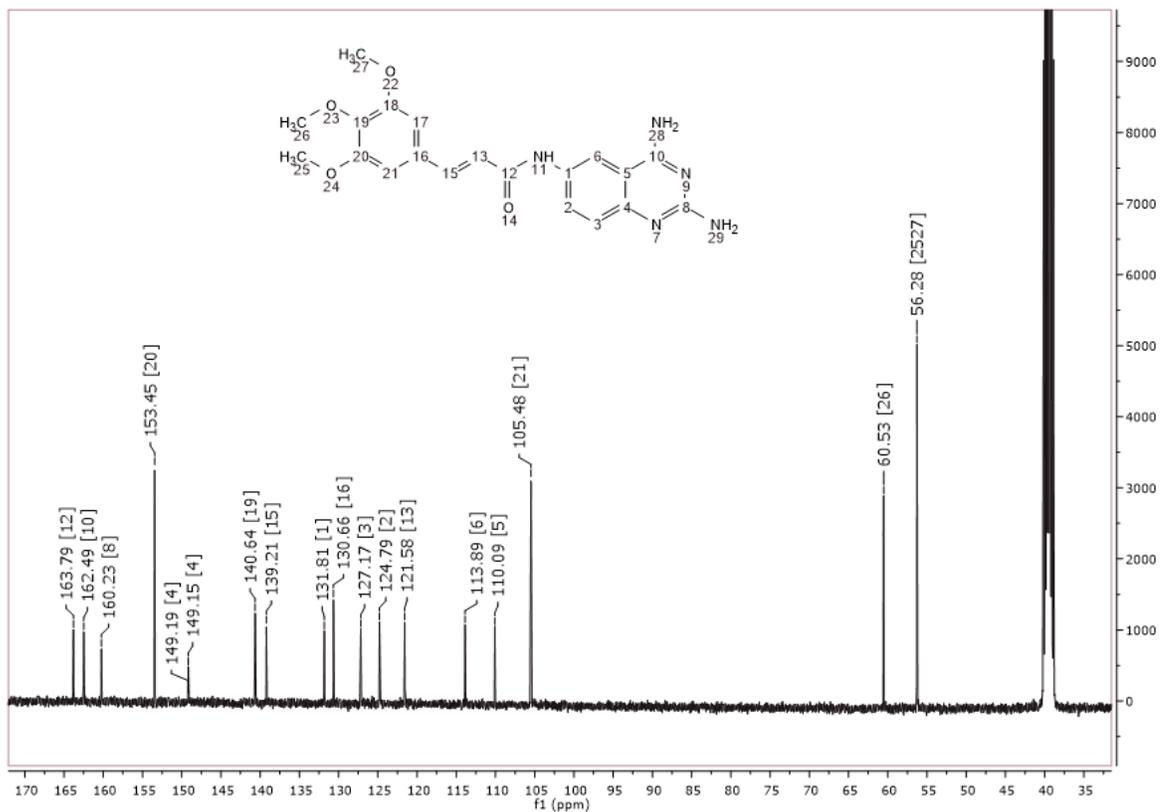
Espectro 22. Espectro de masas (IE) del compuesto **B2**.



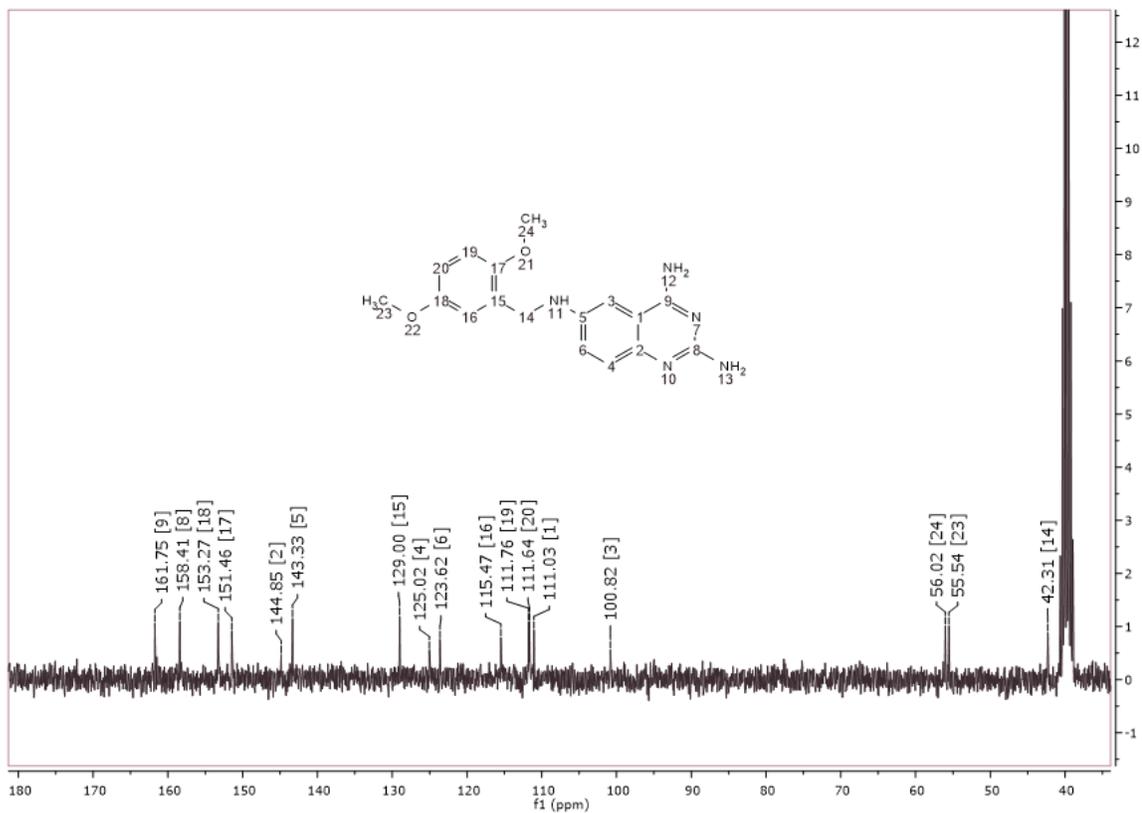
Espectro 23. RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **A1**.



Espectro 24. RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **A2**.



Espectro 25. RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **A3**.



Espectro 26. RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) del compuesto **B2**.



Bibliografía

- (1) Boyle, P.; Levin, B. (2008). *World Cancer Report, 2008*. International Agency for Research on Cancer. Francia. pp. 190 - 191.
- (2) Pitot, H. C.; Ph, D. *Am. Cancer Soc. Natl. Conf.* **1993**, 962–970.
- (3) Weston A, Harris CC. (2003). *Multistage Carcinogenesis*. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker.
- (4) Bardelli, A.; Saha, S.; Sager, J. A.; Romans, K. E.; Xin, B.; Markowitz, S. D.; Lengauer, C.; Velculescu, V. E.; Kinzler, K. W.; Vogelstein, B. *Clin. Cancer Res.* **2003**, 9 (15), 5607–5615.
- (5) Hanahan, D. & Weinberg, R. A. *Cell* **2000**, (100), 57–70.
- (6) OMS. (2014). Informe mundial sobre el cáncer.
[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>] Consultado en 2017.
- (7) OMS. Perfiles oncológicos de los países: México 2014.
[http://www.who.int/cancer/country-profiles/mex_es.pdf?ua=1] Consultado en 2017.
- (8) Institute of Medicine (US) Committee on Cancer Control in Low- and Middle-Income Countries; Sloan FA, Gelband H, editors. *Cancer Control Opportunities in Low- and Middle-Income Countries*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2007. 2, Cancer Causes and Risk Factors and the Elements of Cancer Control.
- (9) Frank, S. A. *Nat Rev Genet* **2004**, 5 (10), 764–772.
- (10) Calvo Carrillo M.C. (2013). *Toxicología de los alimentos*. McGraw Hill. Mexico. pp 179.
- (11) Donagh, P. D. M. C.; Judah, D. J.; Hayes, J. D.; Lian, L.; Neal, G. E.; Wolf, C. R.; Roberts, G. C. K. **1999**, 101, 95–101.
- (12) NIH. Agentes infecciosos. [<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas->



- prevencion/riesgo/germenes-infecciosos#mcpyv] Consultado en 2017.
- (13) Cancer Research UK. Types-of-Cancer
[<http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cance>] Consultado en 2017.
- (14) Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson J, Loscalzo J. (2012) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th edition. McGraw-Hill. New York. NY.
- (15) American Cancer Society. Tratamiento.
[<https://www.cancer.org/es/tratamiento.html>] Consultado en 2017.
- (16) Skeel, R. T.(2007). *Handbook of cancer chemotherapy*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA.
- (17) Goodman, L. S., Brunton, L. L., Chabner, B., & Knollmann, B. C. (2011). *Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill.
- (18) NIH. Hoja Informativa. Terapias Dirigidas
[<http://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/terapia-dirigida/hoja-informativa-terapias-dirigidas>] Consultado en 2017.
- (19) Ghorab, M. M.; Ismail, Z. H.; Radwan, A. a; Abdalla, M. *Acta Pharm.* **2013**, 63 (1), 1–18.
- (20) Vijayakumar, K.; Ahamed, A. J.; Thiruneelakandan, G. **2013**, 2013 (2), 7–12.
- (21) Giri, R. S.; Thaker, H. M.; Giordano, T.; Williams, J.; Rogers, D.; Sudersanam, V.; Vasu, K. K. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44 (5), 2184–2189.
- (22) Ahmed, M. F.; Belal, A.; Youns, M. *Med. Chem. Res.* **2015**, 24 (7), 2993–3007.
- (23) Enciso, E.; Sarmiento Sánchez, J. I.; López-Moreno, H. S.; Ochoa-Terán, A.; Osuna-Martínez, U.; Beltrán-López, E. *Mol. Divers.* **2016**, 20 (4), 821–828.
- (24) Jiang, S.; Zeng, Q.; Gettayacamin, M.; Tungtaeng, A.; Wannaying, S.; Lim,



- A.; Hansukjariya, P.; Okunji, C. O.; Zhu, S.; Fang, D. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49* (3), 1169–1176.
- (25) Deetz, M. J.; Malerich, J. P.; Beatty, A. M.; Smith, B. D. **2001**, *42*, 1851–1854.
- (26) Krishnan, S. K.; Ganguly, S.; Veerasamy, R.; Jan, B. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2011**, *15* (6), 673–681.
- (27) Wang, C.; Sun, Y.; Zhu, X.; Wu, B.; Wang, Q.; Zhen, Y.; Shu, X.; Liu, K.; Zhou, Y.; Ma, X. *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, *87* (4), 635–643.
- (28) Liu, S.; Liu, F.; Yu, X.; Ding, G.; Xu, P.; Cao, J.; Jiang, Y. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14* (5), 1425–1430.
- (29) Khalil, A. A.; Hamide, S. G. A.; Al-obaid, A. M.; El-subbagh, H. I. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2003**, *2*, 95–103.
- (30) Wang, D.; Gao, F. *Chem. Cent. J.* **2013**, *7* (1), 1.
- (31) Abdel Gawad, N. M.; Georgey, H. H.; Youssef, R. M.; El-Sayed, N. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45* (12), 6058–6067.
- (32) Ahmed, M. F.; AA. Hashim, A. *Res. Chem. Intermed.* **2016**, *42* (3), 1777–1789.
- (33) Ahmed, M. F.; Belal, A. *Res. Chem. Intermed.* **2016**, *42* (2), 659–671.
- (34) Ajani, O. O.; Aderohunmu, D. V.; Umeokoro, E. N.; Olomieja, A. O. *Bangladesh J. Pharmacol.* **2016**, *11* (3), 716.
- (35) Selvam, T.; Kumar, P.; Vijayaraj, P. *Res. Pharm.* **2011**, *1* (1), 1–21.
- (36) McLuskey, K.; Gibellini, F.; Carvalho, P.; Avery, M. A.; Hunter, W. N. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2004**, *60* (10), 1780–1785.
- (37) Gilbert, I. H. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **2002**, *1587* (2–3), 249–257.
- (38) J. Davoll and Johnson A. M. *J Chem Soc.* **1970**, 330–332.



- (39) John Davoll, A. M. Johnson, H. J. Davies, C. **1972**, *15* (Atcc 8043), 812–826.
- (40) Al-Rashood, S. T.; Aboldahab, I. A.; Nagi, M. N.; Abouzeid, L. A.; Abdel-Aziz, A. A. M.; Abdel-hamide, S. G.; Youssef, K. M.; Al-Obaid, A. M.; El-Subbagh, H. I. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14* (24), 8608–8621.
- (41) Algul, O.; Paulsen, J. L.; Anderson, A. C. *J. Mol. Graph. Model.* **2011**, *29* (5), 608–613.
- (42) Mendoza Martínez, C. *Síntesis, evaluación biológica y estudios in silico de moléculas diseñadas como híbridos contra Trypanosoma cruzi*. Tesis de Maestría. UNAM. México 2009.
- (43) Mendoza-Martínez, C.; Correa-Basurto, J.; Nieto-Meneses, R.; Márquez-Navarro, A.; Aguilar-Suárez, R.; Montero-Cortes, M. D.; Noguera-Torres, B.; Suárez-Contreras, E.; Galindo-Sevilla, N.; Rojas-Rojas, Á.; Rodríguez-Lezama, A.; Hernández-Luis, F. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *96*, 296–307.
- (44) Meza Matus, A. S. *Síntesis de derivados de la 2,4,6-triaminoquinazolina como posibles agentes antiparasitarios*. Tesis de Maestría. UNAM. México 2009.
- (45) Claudio Viegas-Junior, B. S. P.; Amanda Danuello, B. S. P.; Vanderlan da Silva Bolzani, B. S. P.; Eliezer J. Barreiro, B. S. P.; Carlos Alberto Manssour Fraga, B. S. P. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14* (17), 1829–1852.
- (46) Meunier, B. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *41* (1), 69–77.
- (47) Wermuth, C. G. *Drug Discov. Today* **2006**, *11* (7–8), 348–354.
- (48) János Fischer, C. Robin Ganellin. (2006). *Analogue-based Drug Discovery*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- (49) Hayes, B. *Aldrichimica Acta* **2004**, 66–76.
- (50) Jennifer M. Kremsner, A. S. *Basics, Equip. Appl. Examples* **2013**.
- (51) Larhed, M.; Hallberg, A. *Drug Discov. Today* **2001**, *6* (8), 406–416.



- (52) Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, 57 (45), 9225–9283.
- (53) Perreux, L.; Loupy, A. *Tetrahedron* **2001**, 57 (45), 9199–9223.
- (54) Yen, G. C.; Chen, Y. L.; Sun, F. M.; Chiang, Y. L.; Lu, S. H.; Weng, C. J. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2011**, 44 (3), 281–287.
- (55) Li, L.; Zhao, P.; Hu, J.; Liu, J.; Liu, Y.; Wang, Z.; Xia, Y.; Dai, Y.; Chen, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 93, 300–307.
- (56) Hoskins, J. A. *J. Appl. Toxicol.* **1984**, 4 (6), 283–292.
- (57) Adenocarcinoma, L.; Line, C.; Huang, Y.; Zeng, F.; Xu, L.; Zhou, J.; Liu, X.; Le, H. **2017**, 20, 499–507.
- (58) Pontiki, E.; Hadjipavlou-Litina, D.; Litinas, K.; Geromichalos, G. *Molecules* **2014**, 19 (7), 9655–9674.
- (59) De, P.; Baltas, M.; Bedos-Belval, F. *Curr. Med. Chem.* **2011**, 18 (11), 1672–1703.
- (60) Niero, E. L. D. O.; Machado-Santelli, G. M. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2013**, 32, 31.
- (61) Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65 (1–2), 55–63.
- (62) Perreux, L.; Loupy, A. *Tetrahedron*. **2001**, 57 (45), 9199–9223.
- (63) Riss TL, Moravec RA, Niles AL, et al. *Cell Viability Assays*. **2013**, Assay Guidance Manual. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>] Consultado en 2017.
- (64) Ahmed, M.F. & Belal, A. *Res Chem Intermed.* **2016**, 42 (2), 659-671.
- (65) Anderson, N. G.; Ahmad, T.; Chan, K.; Dobson, R.; Bundred, N. J. *Int. J. Cancer.* **2001**, 94 (6), 774–782.
- (66) Srivastava, V.; Kumar, A.; Mishra, B. N.; Siddiqi, M. I. *Bioinformation* **2008**, 3 (4), 180–188.
- (67) Mattson, M. P. *Ageing Res. Rev.* **2008**, 7 (1), 1–7.