



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE DERIVADOS DE
TIAZOLO[5,4-*b*]QUINOLINA-9-ANILINO DISUSTITUIDOS-2-
DIETILAMINOALQUILAMINO CON POSIBLE ACTIVIDAD
ANTITUMORAL”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

ITZEL CORTÉS GARCÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2019





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 Alfonso Sebastián Lira Rocha

VOCAL: Profesora Elizabeth Reyes López

SECRETARIO: Profesor Pedro Josué Trejo Soto

1er. SUPLENTE: Profesor José Luis Medina Franco

2° SUPLENTE: Profesora Claudia Inés Rivera Cárdenas

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 121, Conjunto E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha

SUSTENTANTE:

Cortés García Itzel

Parte de los resultados de este trabajo de tesis fue presentado en:

50° Congreso Mexicano de Química y 34° Congreso Nacional de Educación Química, celebrado del 07 al 10 de octubre del 2015, en la Ciudad de Querétaro, Querétaro, México, obteniendo mención honorífica.

“Síntesis y actividad citotóxica de nuevos derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina 9-anilindisustituidos” en el área “Química Medicinal (QMED)” modalidad de cartel estudiantil. Itzel Cortés-García, M. en C. Blanca A. Vega-Alanis, M. en C. José Solano Becerra, Dr. Alfonso Lira-Rocha. Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM.



ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	IX
ABREVIATURAS.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Generalidades.....	3
2.2. Desarrollo del cáncer.....	4
2.3. Tipos de cáncer.....	5
2.4. Tratamiento.....	6
2.4.1. Quimioterapia.....	6
2.5. Clasificación de los fármacos antitumorales.....	7
2.5.1. Citotóxicos o quimioterapéuticos.....	7
2.5.1.1. Agentes alquilantes.....	8
2.5.1.2. Antimetabolitos.....	9
2.5.1.3. Antibióticos anitumorales.....	9
2.5.1.4. Fármacos de unión a tubulina.....	10
2.5.1.5. Inhibidores de la Topoisomerasa.....	11
2.6. Topoisomerasa.....	12
2.7. Derivados de acridina.....	13
2.8. Búsquedas de nuevos fármacos contra cáncer.....	14



2.8.1. Bioisosterismo.	14
2.8.2. Derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	20
4. HIPÓTESIS.	24
5. OBJETIVOS.	25
5.1. Objetivo general.	25
5.2. Objetivos particulares.	25
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS.	27
6.1. Síntesis química.	27
6.1.1. Reducción de nitrocompuestos.	28
6.1.2. Derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil) [1,3]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina. .	28
6.1.3. Derivados de 2-[2-(N,N-dietilamino)etilamino]-9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolina y 2-[2-(N,N-dietilamino)propilamino]-9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolina.	31
6.1.4. Derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina utilizados para la evaluación potenciométrica.	32
6.2. Análisis espectroscópico y espectrométrico.	33
6.2.1. Espectroscopía de infrarrojo.	33
6.2.2. Resonancia magnética nuclear.	35
6.3. Evaluación de la actividad citotóxica.	40
6.3.1. HeLa (cáncer cervicouterino).....	44
6.3.2. SW-480 (adenocarcinoma colorrectal).	45
6.3.3. SW-620 (adenocarcinoma colorrectal).	46
6.3.4. K-562 (leucemia mielogena humana).....	47



6.4. Modelado molecular.	49
6.4.1. Cálculo de las propiedades electrónicas.	51
6.4.1.1. Análisis de la magnitud y dirección del vector del momento dipolar.	52
6.4.1.2. Energía de los orbitales HOMO y LUMO.	53
6.4.1.3. Potencial molecular electrostático.	54
6.4.1.4. Área polar superficial.	55
6.4.1.5. Log P.	55
6.5. Relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR). ...	56
6.5.1. Línea celular SW620.	56
6.5.2. Línea celular SW480.	58
6.5.3. Línea celular HeLa.....	59
6.5.4. Línea celular K562.....	60
6.6. Estudios de acoplamiento molecular (docking).	61
6.6.1. Validación de la metodología.....	61
6.7. Evaluación potenciométrica.	65
6.7.1. Influencia del pka en la actividad biológica.....	67
6.7.1.1. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular SW620.	67
6.7.1.2. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular SW480.	68
6.7.1.3. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular K562.	69
6.7.1.4. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular HeLa.	70
6.7.2. Obtención de carga electrostática para compuestos de la serie VII'.	72
7. METODOLOGÍAS.	75



7.1. Materiales y métodos.	75
7.2. Análisis cromatográfico.	75
7.3. Evaluación del pka de los derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	76
7.4. Evaluación de la actividad citotóxica	78
7.5. Modelado molecular.	79
7.6. Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR).	79
7.7. Estudio de acoplamiento molecular (Docking).	79
7.8. Metodología sintética.	81
7.8.1. N-[(Etoxicarbonil)metil] iminoditiocarbamato de dimetilo.	82
7.8.2. 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol.	83
7.8.3. 9-cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	84
7.8.4. 9-cloro-2-(metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	85
7.8.5. Método general para la obtención de anilinas disustituidas (VIIIa-VIIh).	86
7.8.6. Método general para la obtención de derivados de 9-anilino-2- (metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	88
7.8.7. Síntesis de derivados de 2-[2-(N,N-dietilamino)etilamino]-9- anilino[tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina y de 2-[2-(N,N-dietilamino)propilamino]-9- anilino[tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	93
7.8.8. Método general para la síntesis de derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina utilizados para evaluación potenciométrica.	102
8. CONCLUSIONES.	103
9. BIBLIOGRAFÍA.	105
ANEXO I.	110



ANEXO II.	133
ANEXO III.....	140

ÍNDICE DE TABLAS

1. Actividad citotóxica de los compuestos reportados por Álvarez Ibarra.	16
2. Actividad citotóxica de algunos de los derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina reportados por Loza-Mejía.	18
3. Actividad citotóxica de los derivados de 9-(anilino disustituidos)-2-metiltiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina reportados por Vega-Alanis.	21
4. Características físicas de diversas anilinas.	28
5. Características físicas de derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	30
6. Características físicas de derivados de 2-[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)etilamino]-9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolina y 2-[2-(<i>N,N</i> -dietilamino)propilamino]-9-anilino[5,4- <i>b</i>]quinolina.	31
7. Características físicas de derivados de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina usados para evaluación potenciométrica.	33
8. Bandas relevantes en IR (cm ⁻¹) de los compuestos de la serie VI.	34
9. Espectroscopia IR (cm ⁻¹) de los compuestos de la serie VII.	35
10. Señales obtenidas mediante RMN 1H en los compuestos de la serie VII. ..	38
11. Actividad citotóxica (CI ₅₀ , μM) de los compuestos de las series VII usando m-AMSA como referencia.	40
12. Microespecies presentes contra pH.	50



13. Descriptores moleculares calculados mediante método semiempírico PM3 para los compuestos de la serie VII.	51
14. Valores de energía libre de unión y tamaño de clúster de los compuestos de la serie VII.	62
15. Principales interacciones polares de los compuestos de la serie VII.	63
16. Valores de pH, pka calculado y teórico del nitrógeno terciario terminal e índice de citotoxicidad relativo (ICx) de los derivados en las cuatro líneas celulares evaluadas.	66
17. Relación entre el pka y el ICx para compuestos de la serie VII'.....	71
18. Relación entre el pka y el ICx para compuestos de la serie VII'.....	71
19. Cargas electrostáticas en los átomos de nitrógeno de los compuestos de la serie VII'.	72
20. Valores de pka y carga electrostática del nitrógeno 5 en la serie VII'.	74
21. Concentraciones de las disoluciones empleadas.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Modificación estructural del anillo de acridina.	2
2. Híbridos de 9-anilino tiazolo[5,4-b]quinolina 2 y 7 sustituidos.	2
3. Número estimado de muertes por 10 de los tipos más comunes de cáncer, ambos sexos, alrededor del mundo en 2012.	3
4. Etapas de la carcinogénesis.	4
5. Características de las células cancerosas.	5
6. Fragmentación del DNA mediante la alquilación de la guanina.	8



7. Ejemplos de antimetabolitos usados en la clínica.	9
8. Ejemplos de antibióticos antitumorales usados en la clínica.	10
9. Ejemplos de compuestos antitumorales usados en la clínica que se unen a la tubulina.	10
10. Principales interacciones en el complejo ternario etopósido-ADN-Topo2. ..	11
11. Mecanismo de acción de la topoisomerasa II y puntos en los que algunos agentes exógenos pueden interrumpir su función.	13
12. Amsacrina.	14
13. Reemplazo bioisostérico del núcleo de acridina.	15
14. Híbrido de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	17
15. Diagrama de Craig.	19
16. Sustituyentes explorados en la posición 2 del núcleo de tiazolo[5,4- <i>b</i>]quinolina.	21
17. Reducción del MTT a formazán mediante la enzima succinato deshidrogenasa.	39
18. Oxidación del grupo metiltilio.	42
19. Valores energéticos de los estados de ttransición de la reacción entre el compuesto V y ka amina aromática. a) sustitución en posición 9. b) sustitución en posición 2.	45
20. Numeración empleada en la asignación de las señales de la serie VII.	51
21. Índice de citotoxicidad para la serie VII	55
22. Índice de citotoxicidad (<i>ICx</i>) de los compuestos de la serie VII. Cáncer cervicouterino HeLa.	56
23. Índice de citotoxicidad (<i>ICx</i>) de los compuestos de la serie VII. Adenocarcinoma colorrectal SW-480.	58



24. Índice de citotoxicidad (<i>ICx</i>) de los compuestos de la serie VII. Adenocarcinoma colorrectal SW-620.	59
25. Índice de citotoxicidad (I.C.) de los compuestos de la serie VII. Leucemia mielogena humana K-562.	60
26. Índice de citotoxicidad relativo (<i>ICx</i>) de los compuestos del grupo D v/s algunos de los compuestos de la serie VII . Ambos con cadena de tipo <i>N</i> , <i>N</i> - dietilaminoetilamino.	61
27. Índice de citotoxicidad relativo (<i>ICx</i>) de los compuestos del grupo D v/s algunos de los compuestos de la serie VII . Ambos con cadena de tipo <i>N</i> , <i>N</i> - dietilaminopropilamino.	62
28. Diagrama de microespecies presentes contra pH.	63
29. Momento dipolar para los compuestos de la serie VII.	65
30. Distribución de los orbitales HOMO (a) y LUMO (b) respectivamente para el compuesto VII I.....	66
31. Mapa de isotencial a 83.68 kJ/mol y potencial molecular electrostático para el compuesto VII I.	67
32. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular SW620, obtenida de la ecuación 1.	69
33. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular SW480, obtenida de la ecuación 1.	70
34. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular HeLa, obtenida de la ecuación 1.	71
35. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular K562, obtenida de la ecuación 1.	72
36. Interacción proteína-ligando (Topo II β -ADN-m-AMSA) en 2D usando PoseView.	74



37. Modo de unión del compuesto VII i al complejo Topo II β -ADN usando Poseview.	76
38. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular SW-620.	78
39. Relación entre la longitud de la cadena lateral, el pka y el IC ₅₀	79
40. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular SW480.	80
41. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular K562.	81
42. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular HeLa.	82
43. Conformación de la cadena lateral en el compuesto VII' A (izquierda) y VII' D (derecha).	85

INDICE DE ESQUEMAS

1. Ruta de síntesis para los derivados de tiazolo[5,4-b] quinolina.	28
2. Síntesis de diversos derivados de tiazolo[5,4-b] quinolina utilizados para evaluación potenciométrica.	36



LISTA DE ABREVIATURAS

- A-549** Línea celular de carcinoma de pulmón humano
- AcOH** Ácido acético
- ADT** AutoDock Tools
- ATP** Trifosfato de adenosina
- ATR** Reflectancia total atenuada
- BuOH** Butanol
- c** Señal cuádruple
- CCF** Cromatografía de capa fina
- CI50** Concentración inhibitoria 50, concentración necesaria para inhibir el 50 % del crecimiento celular
- d** Señal doble
- dd** Señal doble de doble
- ddd** Señal doble de doble de doble
- δ** Desplazamiento químico
- DMF** *N,N'*-dimetilformamida
- DMSO** Dimetilsufóxido
- DMSO-d6** Dimetilsufóxido hexadeuterado
- DNA** Ácido desoxirribonucleico
- EMIC** N-[(etoxicarbonil)metil]carbonoditioimidato de dimetilo
- HeLa** Línea celular de cáncer cervicouterino
- HOMO** Orbital molecular ocupado más alto



- HT-29** Línea celular de tumor de colon humano
- ICx** Índice de citotoxicidad relativo
- IR** Infrarrojo
- J** Constante de acoplamiento
- K-562** Línea celular de leucemia humana mielógena
- logP** Logaritmo del coeficiente de partición
- LUMO** Orbital molecular desocupado más bajo
- M** Señal múltiple
- m-AMSA** Amsacrina
- MMFF** Campo de Fuerza Merck Molecular
- MTT** Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5.difeniltetrazolio
- N/D** No determinado
- P-388** Línea celular de leucemia de ratón
- PDB** Banco de datos de proteínas
- PPA** Ácido polifosfórico
- PSA** Área polar superficial
- q** Señal quintuple
- QSAR** Relación cuantitativa estructura-actividad
- Rf** Factor de retención
- RMN- ¹H** Resonancia magnética nuclear de protón
- RNA** Ácido ribonucleico
- s** Señal simple
- S.A.** Sin actividad
- SW-480** Línea celular de adenocarcinoma colorrectal
- SW-620** Línea celular de adenocarcinoma colorrectal



t Señal triple

t. a. Temperatura ambiente

t-BuOK Tert-butóxido de potasio

TEA Trietilamina

THF Tetrahidrofurano



1. INTRODUCCIÓN

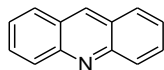
El Cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo¹.

Según la OMS los tumores de pulmón, próstata, colorrectal, estómago e hígado son los más comunes entre los varones, mientras que en las mujeres son los de mama, colorrectal, pulmón, cuello del útero y estómago. Se prevé que, a nivel mundial, la mortalidad por cáncer aumentará un 45% entre 2007 y 2030 (pasará de 7,9 millones a 11,5 millones de defunciones), debido en parte al crecimiento demográfico y al envejecimiento de la población.

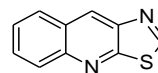
En la actualidad los tratamientos principales para el cáncer son la radioterapia, la cirugía y la quimioterapia, este último es el tratamiento de primera opción para diversos tipos de cáncer; sin embargo, muestra inconvenientes debido a su baja selectividad, ya que las células normales son también susceptibles a los efectos citotóxicos de los agentes quimioterapéuticos causando efectos secundarios desagradables y perjudiciales. Asimismo, la eficacia del agente quimioterapéutico depende del tipo de cáncer, las células cancerosas pueden presentar resistencia a los quimioterapéuticos, etc.

Un fármaco utilizado actualmente contra la leucemia linfática aguda y la leucemia mieloide es la Amsacrina, un derivado de la acridina clasificado como agente intercalador, ya que forma un complejo ternario con el ADN y la Topoisomerasa II. Sin embargo, este fármaco presenta reacciones adversas que van desde náusea, vómitos hasta leucopenia y mielosupresión

Con el propósito de obtener un bioisostero de la Amsacrina que presente una menor toxicidad, Álvarez-Ibarra y col.² modificaron estructuralmente el triciclo de acridina cambiando un anillo de benceno por uno de tiazol (*Figura 1*).



Núcleo de acridina

Núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina*Figura 1.* Modificación estructural del anillo de acridina.

Lira-Rocha y col.³ han explorado el diseño de nuevos agentes citotóxicos, para lo cual han evaluado rutas de síntesis de derivados de tiazolo [5,4-*b*] quinolinas. Estos derivados presentan diversos sustituyentes en las posiciones 2, 7 y 9 del anillo tricíclico, generando una serie de compuestos que presentan actividad citotóxica sobre líneas tumorales humanas (*Figura 2*), incluso mejor que la Amsacrina.

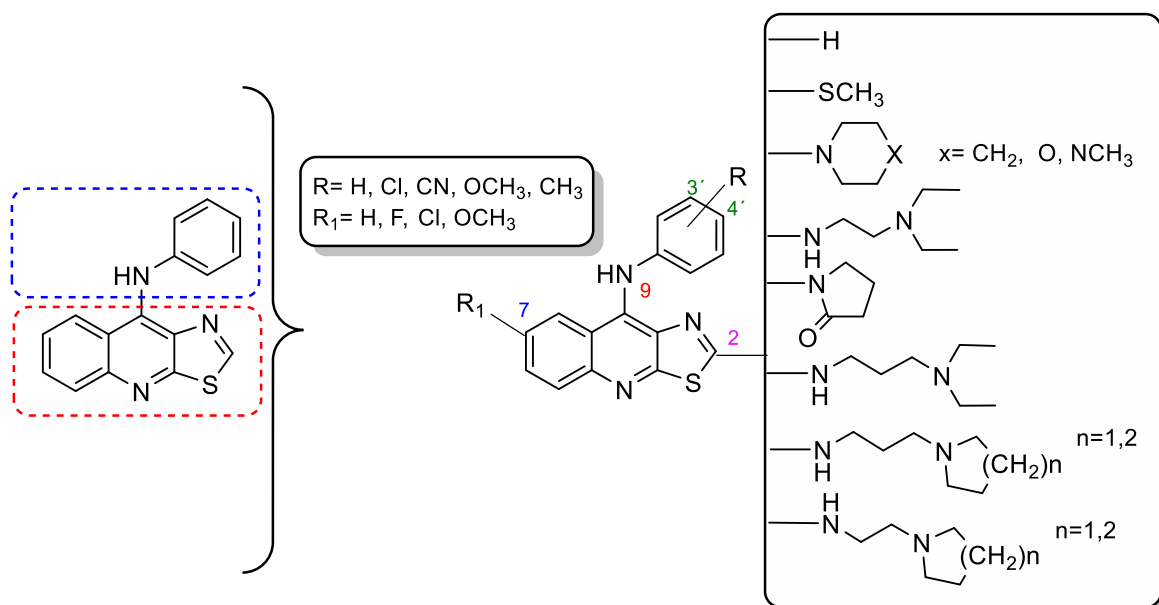


Figura 2. Híbridos de 9-anilino tiazolo[5,4-*b*]quinolina 2 y 7 sustituidos sintetizados por Lira-Rocha y col.

Debido a lo anterior, en el presente trabajo se pretende sintetizar una serie de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina que permitan establecer parámetros estructurales que coadyuven a optimizar la actividad citotóxica.



2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades.

El *Cáncer* es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo. Una característica del cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos, proceso conocido como metástasis.⁴

Es un padecimiento multifactorial y se desarrolla como una función de la edad, el medio ambiente, la dieta y la composición genética. Al llegar a la sexta década, los seres humanos se enfrentan a un aumento exponencial del riesgo de desarrollar cáncer.⁵

De acuerdo con GLOBOCAN (proyecto que forma parte de la OMS para la estimación de diversas cifras acerca del cáncer) este padecimiento es la principal causa de muerte a escala mundial. Durante el año 2012, 14.1 millones de casos nuevos de cáncer fueron diagnosticados, 8.2 millones de personas murieron por cáncer y 32.6 millones de personas habían llegado a la marca de 5 años de supervivencia al cáncer (*Figura 3*). Se anticipa que para el año 2025 se diagnosticarán 19.3 millones de nuevos casos de cáncer al año.⁶

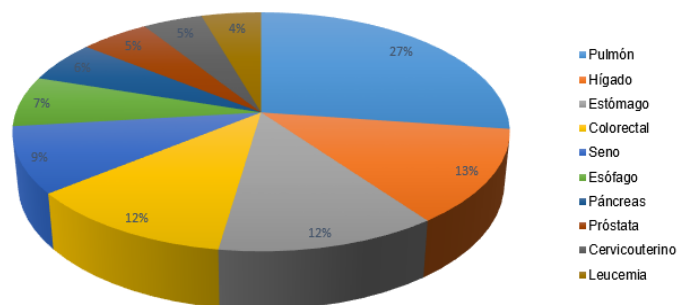


Figura 3. Número estimado de muertes por 10 de los tipos más comunes de cáncer, ambos sexos, alrededor del mundo en 2012.



2.2. Desarrollo del cáncer.

La carcinogénesis se define como la producción de carcinoma, es decir la generación de neoplasmas los cuales son crecimientos nuevos y típicamente anormales, generalmente incontrolados y que se hacen progresivamente más serios con el tiempo.⁷

Es un proceso que consta de varios pasos donde se observan alteraciones genéticas que incluyen mutaciones puntuales, aberraciones cromosómicas (translocaciones, deleciones y amplificaciones) y cambios que afectan la estructura de la cromatina y están asociadas con un control epigenético disfuncional, como son las metilaciones en el ADN o la acetilación de histonas. Estos cambios propician que las células normales adquieran ciertas características que les permiten transformarse en células cancerosas.^{5, 8}

Este proceso puede dividirse en tres etapas: *iniciación*, *promoción* y *progresión* (Figura 4). La *iniciación* es el primer paso, una limitada exposición al agente carcinogénico produce una latente pero heredable alteración en la célula permitiendo su proliferación y desarrollo subsecuente en una neoplasia. La *promoción* es un proceso irreversible e implica la proliferación de las células y la *progresión*, que es un proceso irreversible, donde se observa el desarrollo de una célula iniciada a una neoplasia maligna, la cual posee la capacidad de invadir tejidos.⁹

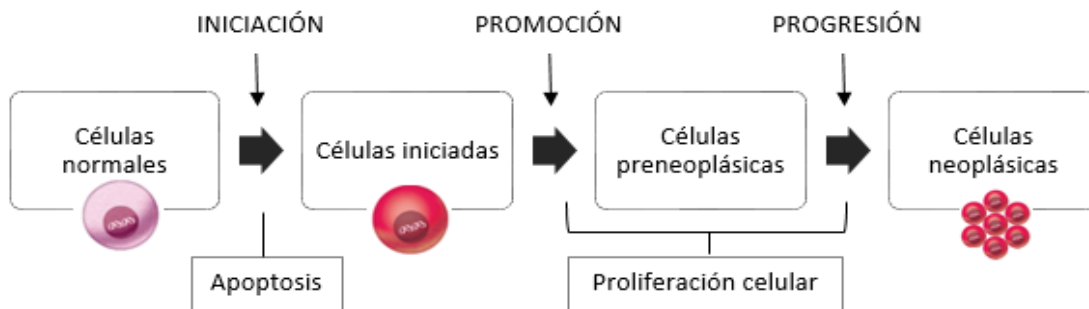


Figura 4. Etapas de la carcinogénesis



A medida que las células somáticas evolucionan progresivamente hacia un estado neoplásico, adquieren un conjunto de características distintivas, las cuales permiten organizar y comprender la diversidad de las enfermedades neoplásicas.

Hanahan y Weinberg describen dichas características compartidas por las células neoplásicas (*Figura 5*), las cuales son: evasión de los supresores de crecimiento, el mantenimiento de la señalización proliferativa, la invasividad y la metástasis, el potencial replicativo ilimitado, inducción de la angiogénesis, resistencia a la muerte celular y los diferentes fenotipos de estrés celular que presentan las células cancerígenas. ¹⁰



Figura 5. Características de las células cancerosas

Estas características permiten reconocer a los tumores como algo más que masas insulares de células tumorales proliferando, ya que son tejidos complejos compuestos de distintos tipos de células que participan en interacciones heterópicas unas con otras.

2.3. Tipos de cáncer.

Dependiendo de la célula de origen, el cáncer se puede clasificar en diferentes tipos, incluyendo carcinomas, sarcomas, cánceres del sistema nervioso central (SNC) y del sistema hematopoyético.



Los *carcinomas* surgen de las células epiteliales, las cuales forman los revestimientos de las glándulas y las superficies de los órganos.

Los *sarcomas* son cánceres que surgen de las células que forman el tejido conectivo, como fibroblastos, huesos, músculos y adipocitos.

El cáncer *hematopoyético* incluye diversos tipos de leucemia, linfomas y mielomas que se derivan de glóbulos blancos, incluyendo células B y T y células plasmáticas.

El cáncer del *sistema nervioso* se clasifica como neuroectodérmico debido al origen ectodérmico de este tejido. Ejemplos de cáncer que surgen de células en el sistema nervioso incluyen glioma y meduloblastoma.^{11, 12}

2.4. Tratamiento.

Actualmente, existen numerosos tratamientos para el cáncer, tales como cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia, terapia hormonal, terapia génica y terapia dirigida. Todos estos tienen como objetivo matar o remover a las células tumorales.

La cirugía es a menudo la primera línea de tratamiento que se considera si se puede extirpar el tumor sólido del cuerpo. Antes o después de la cirugía, suele emplearse la radioterapia, la quimioterapia o tratamientos en sinergia para reducir el tumor. El tipo de tratamiento a elegir varía y depende de diversos factores, por ejemplo, el tipo de cáncer, etapa o extensión en la que se encuentre, estado de salud del paciente, efectos secundarios, etc.¹³

2.4.1. Quimioterapia.

Habitualmente se usa la palabra quimioterapia para referirnos a los tratamientos farmacológicos contra el cáncer, el objetivo es destruir selectivamente las células tumorales y detener su proliferación.¹⁴



El término quimioterapia fue acuñado por Paul Ehrlich cerca de la década de los 1920' en la búsqueda de compuestos para el tratamiento de infecciones bacterianas.¹⁵

El descubrimiento del gran potencial de la quimioterapia citotóxica se remonta a la Primera Guerra Mundial, con los soldados que eran tratados por los efectos de la exposición al gas mostaza. Las mostazas nitrogenadas fueron los primeros compuestos probados en estudios clínicos y produjeron regresiones en pacientes con linfoma.¹⁶

Desafortunadamente, la capacidad de la quimioterapia para destruir las células cancerosas depende de la capacidad de dañar el ADN y de la inhibición de algunos de los mecanismos implicados en la división celular, por lo cual se considera que es la más citotóxica ya que los compuestos antitumorales desarrollados mediante este procedimiento son citostáticos o citotóxicos para cada célula en división, incluyendo células normales, y por esta razón estos fármacos son inespecíficos.

2.5. Clasificación de los fármacos antitumorales.

Generalmente, los fármacos antitumorales se dividen en tres grupos: citotóxicos o quimioterapéuticos, inmunoterapéuticos y fármacos hormonales.

2.5.1. Citotóxicos o quimioterapéuticos.

Los agentes quimioterapéuticos son el pilar de la terapia contra el cáncer, causan la muerte celular por apoptosis, ya sea por interferir directamente con el ADN o por interferir con la orientación de las proteínas clave necesarias para la división celular. Desafortunadamente, también pueden ser tóxicas para las células normales en división, en particular aquellas con una alta proliferación, como la médula ósea y las mucosas.¹⁷

Generalmente, son clasificados en diversos grupos: por su especificidad en el ciclo celular, por sus propiedades bioquímicas, por la diana biológica a la cual van



dirigidos. Dentro de la clasificación por propiedades bioquímicas encontramos a los agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos, agentes que causan daño a los microtúbulos e inhibidores de las topoisomerasas.¹⁸

2.5.1.1. Agentes alquilantes.

Los agentes alquilantes son agentes electrofílicos altamente reactivos que atacan al ADN y proteínas. Su modo de acción es mediante la intercalación en las hebras de ADN. Pueden ser clasificados como agentes alquilantes monofuncionales, implicando reacciones con una sola hebra de ADN o bifuncionales las cuales se entrecruzan con ambas hebras. La replicación y transcripción del ADN son evitadas por medio de estos entrecruzamientos¹⁹ (Figura 6). Cuando se hallan en el interior de las células, forman intermediarios inestables y reaccionan con sitios capaces de donar electrones como los grupos sulfhidrido de las proteínas, sulfhidrido del glutatión y otros sitios ricos en electrones de los ácidos nucleicos como los grupos N-2 y N-7 de la guanina o el O-6 de esta misma base y el N-3 de la adenina.²⁰

Algunos ejemplos de agentes alquilantes son: cisplatino, ciclofosfamida, clorambucilo, carmustina, etc.

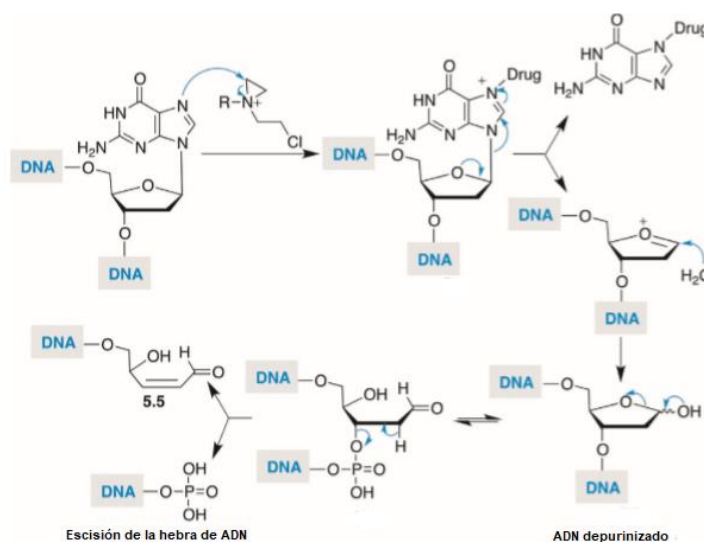


Figura 6. Fragmentación del DNA mediante la alquilación de la guanina.²¹



2.5.1.2. Antimetabolitos.

Son una clase de fármacos anticancerígenos (*Figura 7*) definidos como compuestos análogos a las bases púricas o pirimidínicas, nucleósidos o nucleótidos, moléculas necesarias para llevar a cabo diversos procesos metabólicos.²²

Tienen dos métodos de acción: pueden inhibir a las enzimas principales involucradas en la síntesis de ADN o mediante la unión al ADN y ARN, causando así el rompimiento de las hebras o la terminación prematura, dando como resultado muerte celular, diferenciación o alteración de las funciones.²³

Debido a su mecanismo de acción los antimetabolitos son activos en la fase S y tienen muy poca actividad en la fase G_0 , por lo tanto son más activos en tumores con alta fracción de crecimiento.

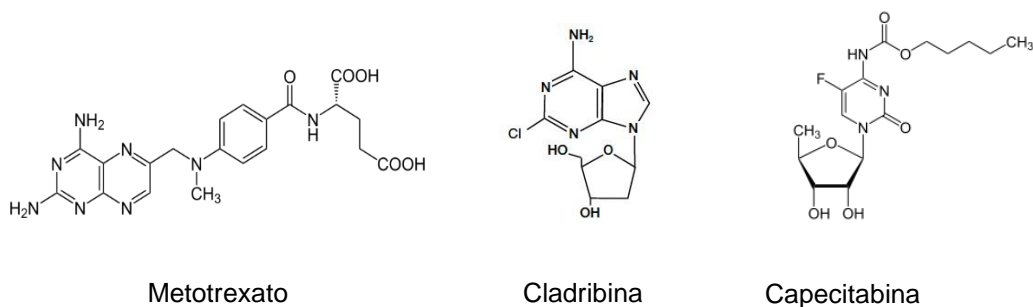


Figura 7. Ejemplos de antimetabolitos.

2.5.1.3. Antibióticos antitumorales.

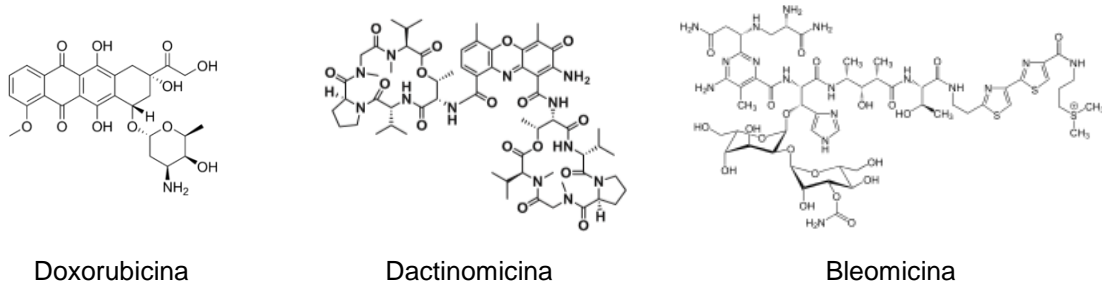
Son sustancias de origen natural, actúan durante múltiples fases del ciclo celular y se consideran ciclo-específicas. Algunos ejemplos son:

Antraciclinas: Doxorubicina, Daunorubicina, Epirubicina, etc. Actúan inhibiendo a la Topoisomerasa II, también pueden intercalarse en el ADN y formar metabolitos que interactúan con muchas moléculas intracelulares.

Cromomicinas: Dactinomicina. Se une al ADN e inhibe la transcripción del ARN. Este medicamento se clasifica como un agente alquilante.



Otros: Bleomicina, Mitomicina. La mitomicina es considerada un agente alquilante y la Bleomicina actúan mediante la inducción de rompimientos de las cadenas de ADN.¹⁸



Doxorubicina

Dactinomicina

Bleomicina

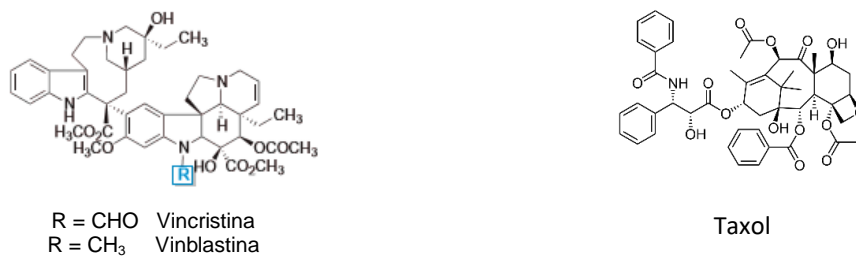
Figura 8. Ejemplos de antibióticos antitumorales.

2.5.1.4. Fármacos de unión a la tubulina.

Los microtubulos son proteínas polares poliméricas cilíndricas compuestas de dímeros de α - y β -tubulina. Participan en el mantenimiento de la estructura celular ya que forman el citoesqueleto en las células eucariotas, en la división celular y en el transporte ya que forman parte de los cilios y flagelos.²⁴

Se dividen en dos grupos: alcaloides de la vinca (representados por vincristina y vinorelbina) los cuales se unen en la subunidad β de los dímeros de tubulina provocando la despolimerización de los microtúbulos y bloqueando específicamente las células en mitosis (detención en metafase).

El otro grupo son los taxoides (representados por la familia de los taxanos), éstos actúan deteniendo a las células en la fase G2 de la mitosis mediante la estabilización de los microtúbulos del huso deteniendo así la mitosis²⁵ (Figura 9).



R = CHO Vincristina

R = CH₃ Vinblastina

Taxol

Figura 9. Ejemplos de compuestos antitumorales que se unen a la tubulina.



2.5.1.5. Inhibidores de la Topoisomerasa.

Las ADN topoisomerasas son una clase de enzimas que controlan los estados topológicos del ADN durante la replicación, transcripción, recombinación y durante el remodelado de la cromatina. Existen dos tipos de topoisomerasas: tipo I y tipo II. Algunos fármacos actúan sobre ambos tipos de enzimas.

Los inhibidores de topo I son capaces de inhibir su actividad catalítica y a su vez son divididos en veneno *para topoisomerasa* y *supresores*, esto de acuerdo a su mecanismo de unión.²⁶

Por otra parte, los compuestos que alteran la actividad catalítica de Topo II también pueden ser divididos en dos grandes grupos: el primero, que incluye a la mayoría de los agentes clínicamente activos (etopósido, doxorubicina y mitoxantrona) aumentan los niveles de complejos covalentes de Topo2-ADN bloqueando la transcripción y replicación para posteriormente inducir a la célula a apoptosis, a éstos se les denomina venenos (*Figura 10*). El segundo grupo inhibe la actividad catalítica de la enzima y por lo tanto se les denomina inhibidores (irinotecan y topotecan).²⁷

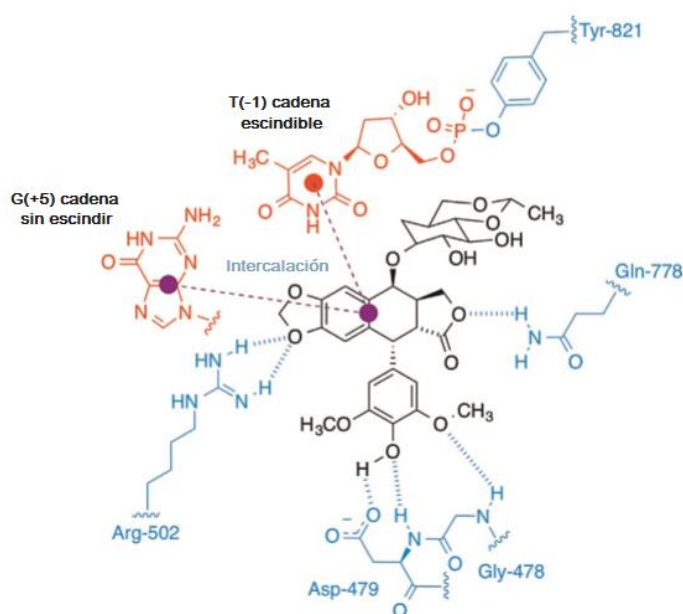


Figura 10. Principales interacciones en el complejo ternario etopósido-ADN-Topo 2.²⁸



2.6. Topoisomerasas.

Las topoisomerasas, como se mencionó anteriormente, son las responsables del control de la topología del ADN y juegan un papel importante en el metabolismo del mismo. Su actividad es un elemento esencial de la replicación y segregación cromosómica. Existen dos clases de topoisomerasas: tipo I y II.

Las topoisomerasas de tipo I están clasificadas en tres subfamilias (IA, IB, and IC), se encargan de modificar el superenrollamiento del ADN mediante la ruptura transitoria de una sola hebra de ADN dúplex.²⁹

Las topoisomerasas de tipo II son enzimas homodiméricas con dos isoformas: topoll α y topoll β , requieren Mg^{2+} y ATP. Poseen tres dominios, uno de ellos conserva una región de unión al ATP, el segundo posee el residuo activo de tirosina y el tercero es una región variable entre especies cuya función se cree es el reconocimiento del ADN.^{30, 31}

El mecanismo de la topoisomerasa II (*Figura 11*) se puede resumir en seis pasos:

1. La enzima tiene preferencia por las regiones de cruce de dos hebras de ADN conocidas como segmento G y T
2. Hay una escisión de unos de los segmentos de ADN (segmento G), esta reacción requiere la presencia de Mg^{2+} u otros iones metálicos divalentes.
3. Se genera un espacio debido a la escisión y por ahí pasa otro ADN de doble cadena (Segmento T) para después ser liberado, esta reacción requiere dos moléculas de ATP, el paso de la cadena ocurre más rápido si una de las moléculas de ATP se encuentra hidrolizada.
4. Ocurre la religación de los extremos rotos del segmento G.
5. La segunda molécula de ATP se hidroliza lo cual permite la liberación del ADN a través del hueco formado en la enzima.
6. La enzima puede comenzar otra ronda de catálisis ya que sufre un cambio conformacional.³²

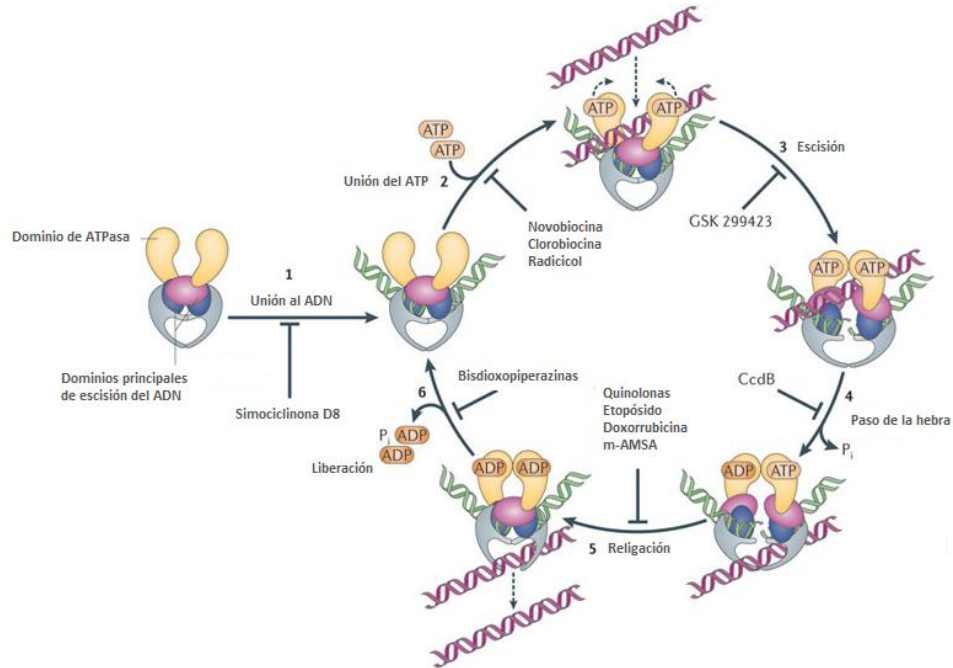


Figura 11. Mecanismo de acción de la topoisomerasa II y puntos en los que algunos agentes exógenos pueden interrumpir su función.³³

2.7. Derivados de acridina.

En 1870 Graebe y Caro identificaron una sustancia estable, cristalina y básica que era una impureza del antraceno que se aislaba del alquitrán de la hulla. Debido a su efecto irritante sobre la piel fue nombrada como acridina.³⁴ Las acridinas fueron usadas en un principio como agentes antibacteriales y antiparasitarios durante la Primera y Segunda Guerras Mundiales.

Estructuralmente hablando, son compuestos tricíclicos lineales aromáticos que están formados por una piridina y dos anillos de benceno fusionados, los cuales son capaces de intercalarse entre los pares de bases del ADN.^{35, 36}

Dentro de los compuestos más estudiados se encuentran los derivados de 9-anilinoacridinas; particularmente, hablaremos de la amsacrina o m-AMSA.



La m-AMSA (*Figura 12*) es un derivado de 9-anilinoacridina; que en posición 9 tiene un sustituyente *N*-(4-amino-3-metoxifenil)metansulfonamida. Es considerada el primer fármaco sintético antineoplásico contra leucemia linfática y mieloide que tiene como diana biológica a la Topoisomerasa II. Este fármaco y otras anilinoacridinas relacionadas están clasificadas como agentes intercalantes ya que disminuyen la religación del ADN mediante la formación de complejos ternarios covalentes con la topoisomerasa.^{37, 38} Una vez que se intercala en la hélice de ADN causa una distorsión de la misma lo cual inhibe la transcripción y replicación. La capacidad de intercalarse se debe al sistema aromático planar de la molécula.

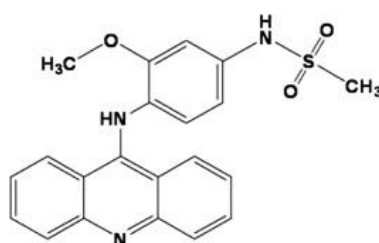


Figura 12. Amsacrina

La citotoxicidad de la amsacrina está incrementada durante la fase S del ciclo celular debido a que los niveles de Topoisomerasa se encuentran elevados.³⁹

Dado los resultados que presentó la Amsacrina, se utilizó como molécula patrón, por lo que una gran variedad de análogos de 9-anilinoacridina fueron sintetizados y sometidos a pruebas de actividad citotóxica. Mediante relaciones estructura-actividad se ha concluido que el grupo electrodonador en el anillo de anilino es importante, ya que influye marcadamente sobre la actividad antitumoral.

2.8. Búsqueda de nuevos fármacos contra el cáncer.

2.8.1. Bioisosterismo.

La modificación molecular representa una gran estrategia en la búsqueda de nuevos compuestos activos. Mediante tal proceso, las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas pueden ser mejoradas. La hibridación



molecular y bioisosterismo son dos de las técnicas más usadas para realizar tales modificaciones moleculares.⁴⁰

Los bioisosteros son compuestos con estructura molecular, volumen, distribución electrónica y propiedades físicas similares. Posteriormente, el término bioisosterismo fue empleado para designar grupos funcionales estructuralmente relacionados que presentan propiedades biológicas similares.

Entonces los reemplazos bioisósteros se hacen en ciertas moléculas para obtener fármacos deseados y que conserven la acción farmacológica inicial.⁴¹

2.8.2. Derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina.

Con el fin de brindar al paciente una mejor calidad de vida durante su tratamiento, diversos grupos de investigadores se han dado a la tarea de buscar agentes antitumorales más específicos y menos citotóxicos. Álvarez-Ibarra y col. en 1997 modificaron estructuralmente el triciclo de acridina cambiando un anillo de benceno por uno de tiazol (*Figura 13*).⁴²



Figura 13. Reemplazo bioisostérico del núcleo de acridina.

El cambio estructural mostró influencia en las propiedades electrónicas y de unión al ADN por lo cual se sintetizaron distintos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. Estas moléculas se evaluaron *in vitro* en tres líneas celulares: leucemia de ratón (P-388), carcinoma de pulmón humano (A-549) y cáncer de colon humano (HT-29). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.



Estos derivados presentan sustituyentes de tipo metiltilio, metisulfonilo y *N,N*-dialquilaminoalquilamino en las posiciones 2 y 9. Al realizar la evaluación citotóxica, se observó que algunos de los compuestos presentaron buena actividad.

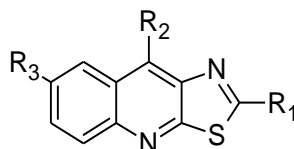


Tabla 1. Actividad citotóxica de los compuestos reportados por Álvarez-Ibarra.

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	CI ₅₀ [μM]		
				P-388	A-549	HT-29
1	SCH ₃	OH	H	>70.2	>70.2	>70.2
2	SCH ₃	OH	CH ₃	>66.9	>66.9	>66.9
3	SCH ₃	OH	F	>66.1	>66.1	>66.1
4	SO ₂ CH ₃	OH	H	32.4	32.4	32.4
5	SO ₂ CH ₃	OH	CH ₃	>60.4	>60.4	>60.4
6	SO ₂ CH ₃	OH	F	6.0	6.0	6.0
7	α	OH	H	5.76	7.22	7.22
8	α	OH	CH ₃	3.3	5.6	3.3
9	α	OH	F	1.65	2.9	5.0
10	SCH ₃	β	H	6.0	6.0	6.0
11	SCH ₃	β	CH ₃	5.4	5.4	5.4
12	SCH ₃	γ	H	12.1	12.1	12.1

Donde: α= NH(CH₂)₂NEt₂, β= NH(CH₂)₃NEt₂, γ= MeN(CH₂)₃NMe₂

De los resultados obtenidos se dedujeron ciertas características que le confieren actividad a la molécula:

- La posición 7 debe tener un sustituyente que induzca una densidad de carga positiva.
- El sustituyente de la posición 2 o 9 debe ser una cadena que posea dos nitrógenos básicos, así como poseer libertad conformacional.

Partiendo del trabajo anterior, mediante la combinación del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina con el patrón estructural de las 9-anilino acridinas Lira-Rocha y colaboradores generaron un grupo novedoso de sustancias, las 9-anilino tiazolo[5,4-*b*]quinolinas (Figura 14), la modificación dio lugar a moléculas que han presentado buena actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares tumorales.

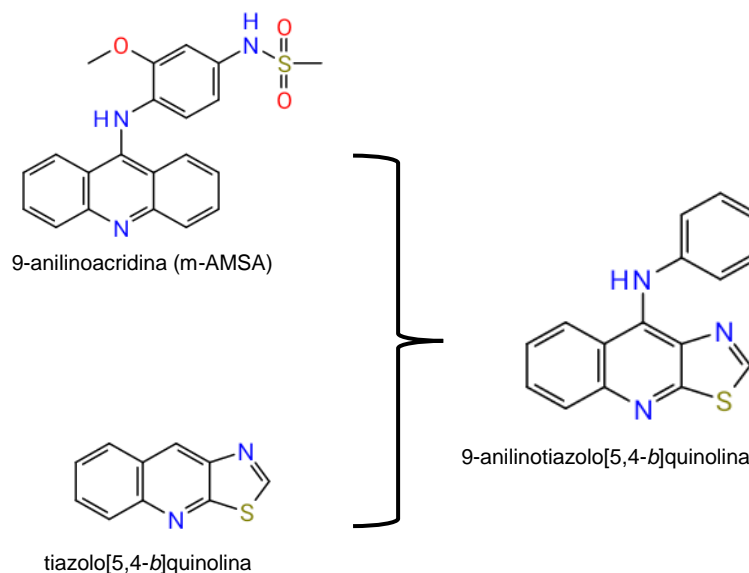


Figura 14. Híbrido de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Dentro del grupo de trabajo se han explorado diversas sustituciones en el núcleo de 9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina; tanto en la posición 2 y 7 del núcleo tricíclico así como en diversas posiciones del anillo de anilino que se encuentra en la posición 9. Esto con el fin de observar que tipo de sustituyentes y en cual posición de la molécula son favorables para la actividad biológica.

Algunas de las sustituciones que fueron estudiadas inicialmente se muestran en la Tabla 2.

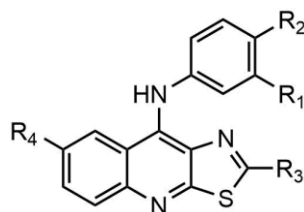


Tabla 2. Actividad citotóxica de algunos de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina reportados por Loza-Mejía.³

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	HeLa	CI ₅₀ (μM) (<i>in vitro</i>)		
						SW480	SW620	K-562
1	H	H	SCH ₃	H	>80	>80	>80	>80
2	Cl	H	SCH ₃	H	69.37	>80	>80	80.26
3	H	Cl	SCH ₃	H	>80	>80	>80	79.45
4	Me	H	SCH ₃	H	>80	>80	>80	>80
5	H	Me	SCH ₃	H	>80	>80	>80	>80
6	OMe	H	SCH ₃	H	25.34	66.65	26.58	22.17
7	H	OMe	SCH ₃	H	>80	>80	>80	77.2
8	CN	H	SCH ₃	H	7.75	28.68	43.75	8.01
9	H	CN	SCH ₃	H	>80	>80	>80	>80
10	H	H	<i>E</i>	H	15.96	37.7	21.6	16.8
11	Cl	H	<i>E</i>	H	9.12	14.33	17.78	12.19
12	H	Cl	<i>E</i>	H	10.16	12.56	12.20	7.26
13	Me	H	<i>E</i>	H	11.93	11.07	18.93	13.05
14	H	Me	<i>E</i>	H	10.94	10.33	13.92	9.05
45	OMe	H	<i>E</i>	H	19.2	11.5	20.0	23.5
16	H	OMe	<i>E</i>	H	13.60	12.04	16.38	10.87
17	CN	H	<i>E</i>	H	13.33	13.10	14.62	12.48
18	H	CN	<i>E</i>	H	15.18	14.18	16.49	8.36
19	H	H	<i>P</i>	H	6.27	6.90	16.56	7.52
20	Cl	H	<i>P</i>	H	7.46	7.91	10.17	9.84
21	H	Cl	<i>P</i>	H	8.82	4.92	7.48	3.36
22	Me	H	<i>P</i>	H	11.50	10.75	9.04	9.05
23	H	Me	<i>P</i>	H	10.49	13.25	19.81	11.73
24	OMe	H	<i>P</i>	H	11.54	15.22	20.58	13.92
25	H	OMe	<i>P</i>	H	11.10	10.48	7.41	9.91
26	CN	H	<i>P</i>	H	19.21	11.53	19.65	12.88
27	H	CN	<i>P</i>	H	24.18	22.70	29.15	12.88
28	Cl	H	<i>P</i>	F	9.78	8.42	12.70	8.06
29	H	Cl	<i>P</i>	F	8.83	8.95	11.97	10.92
<i>m</i> -AMSA	-	-	-	-	9.5	27.7	16.7	19.9

Donde *E*=NH(CH₂)₂NEt₂, *P*= NH(CH₂)₃NEt₂.



De los datos de la tabla anterior se deduce que:

- a. La incorporación de una cadena de tipo dietilaminoalquilamino logra un aumento en la actividad citotóxica de la molécula, también se observa que la longitud de la cadena no es decisiva en cuanto a un aumento en el valor de la CI_{50} .
- b. La ausencia de un sustituyente en la posición 2 del núcleo tricíclico no es favorable para la actividad citotóxica.
- c. Los grupos electroattractores que se encuentran en el anillo de 9-anilino favorecen la actividad citotóxica
- d. El grupo electroattractor que se encuentra en la posición 7 del núcleo tricíclico es favorable para la actividad.



3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De las series de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina generadas por el grupo de trabajo de Lira-Rocha y col., se pueden resumir ciertos factores a considerar para la obtención de compuestos más eficaces así como para aumentar la base de datos que ya se posee:

- *Importancia en la selección del patrón de sustitución del anillo de anilino de series análogas de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.*

Trabajos previos han demostrado la importancia de un grupo anilino en posición 9 así como el patrón de sustitución en dicho anillo. La presencia de un grupo electronegativo o electroattractor en el anillo de anilino capaz de formar puentes de hidrógeno aumenta la actividad citotóxica, siendo la posición 3' la más favorecida.

Para la adecuada selección del patrón de sustitución influyeron dos factores, principalmente. Primero, se utilizó un diagrama de Craig (*Figura 15*) el cual es una representación bidimensional de las propiedades electrónicas y lipofílicas de diversos grupos funcionales y algunos átomos.

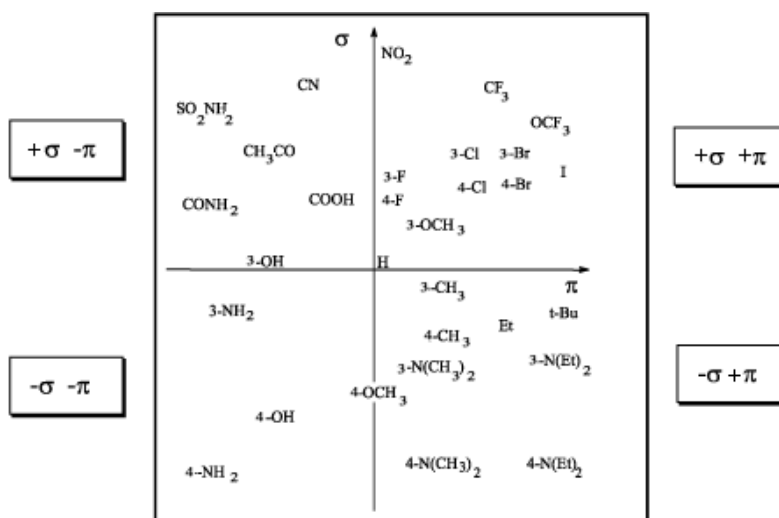


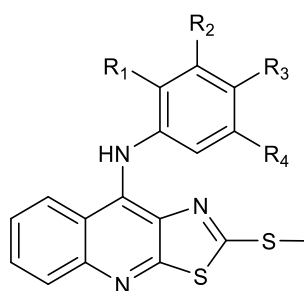
Figura 15: Diagrama de Craig.



Se asignaron sustituyentes con naturaleza electrónica variada para observar la influencia de la naturaleza del sustituyente. Dentro de los grupos electrodonadores encontramos al OCH_3 y al CH_3 , como electroattractor al Cl , CF_3 y F .

En segundo lugar, se consideró el trabajo previo reportado por Vega-Alanis, en el cual se reporta la síntesis y actividad citotóxica de derivados de 2-metilthiazolo[5,4-*b*]quinolina 9-anilino-disustituidos (*Tabla 3*).

Tabla 3. Actividad citotóxica de los derivados de 9-(anilino disustituidos)-2-metilthiazolo[5,4-*b*]quinolina reportados por Vega-Alanis.⁴³



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	CI ₅₀ ± D.E. (μM)			
					HeLa	K562	Sw480	SW620
1	Cl	H	Cl	H	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
2	CH ₃	H	Cl	H	S.A.	S.A.	S.A.	S.A.
3	OCH ₃	H	Cl	H	S.A.	S.A.	S.A.	S.A.
4	Cl	H	H	OCH ₃	38.5±8.47	35.92±7.56	62.9±14.5	47.8±12.0
5	H	Cl	CN	Cl	8.09±10.51	S.A.	S.A.	S.A.
6	H	CH ₃	Cl	H	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
7	H	Cl	Cl	H	80.5±13.7	S.A.	S.A.	S.A.
8	H	Cl	H	Cl	80.9±16.8	S.A.	79.3±18.8	S.A.
9	H	OCH ₃	H	OCH ₃	80.7±12.9	S.A.	S.A.	S.A.
10	H	CH ₃	H	CH ₃	76.8±14.7	59.27±14.8	60.3±15.1	S.A.
m-AMSA	-	-	-	-	6.06±1.33	3.98±0.88	7.27±1.67	7.99±1.98

N.E.= No evaluado; S.A.= Sin actividad a la concentración evaluada.



Se observa una baja o nula actividad citotóxica, sin embargo, resulta interesante evaluar la actividad de estos compuestos pero que ahora posean en la posición dos del sistema tricíclico una cadena de tipo $N'N'$ -dietilaminoalquilamino.

También podemos observar que aquellos compuestos que poseen sobre el anillo de anilino sustituyentes voluminosos y con una alta electronegatividad presentan una Cl_{50} de buena a regular.

- *Incorporación de un grupo dietilamino alquilamino en posición 2*

Por otro lado, distintos sustituyentes han sido evaluados en la posición 2 del sistema tricíclico. Se sabe que compuestos de tipo heterociclos saturados generan una disminución en la actividad. (Figura 16)

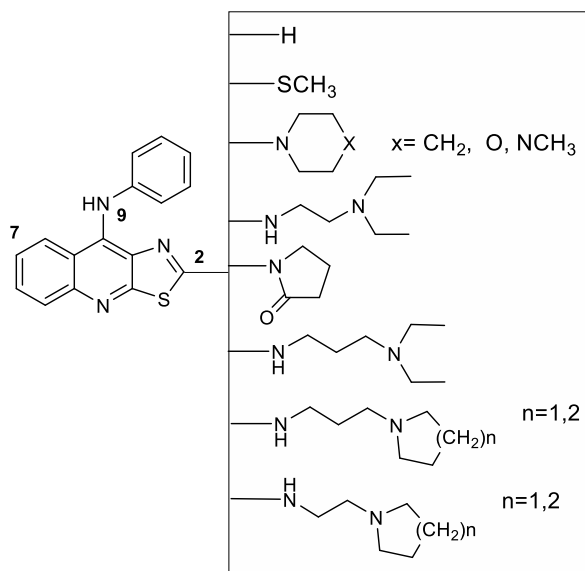


Figura 16. Sustituyentes explorados en la posición 2 del núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

Por el contrario, al incorporar una amina alifática en la posición C-2 del sistema tricíclico la cual presente libertad conformacional, así como dos nitrógenos básicos, se observa una mejora considerable en la actividad citotóxica de los derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. Esto se puede atribuir a la posible formación de interacciones electrostáticas entre los nitrógenos de la cadena que, a pH fisiológico se encontrara en su forma protonada, y los grupos fosfato de la hipotética diana biológica.



A su vez se pretende estudiar la importancia de la longitud de la cadena sobre la actividad biológica, ya que se espera que, a mayor longitud, y por ende mayor lipofilia, la molécula pueda atravesar membranas biológicas con mayor facilidad.



4. HIPÓTESIS.

- Si la presencia de un patrón de monosustitución en el anillo de anilino de los derivados de 2-[2-(*N,N*-dietilamino)alquilamino]-9-anilino[5,4-*b*]quinolina es poco favorable para la actividad citotóxica, entonces un patrón de disustitución en el anillo de anilino originará compuestos con mejor actividad citotóxica.
- La serie homóloga superior de los compuestos de tipo *N,N*-dimetilaminoalquilamino (es decir, la serie de derivados de tipo *N,N*-dietilaminoalquilamino) presentará una mejora en la actividad citotóxica.
- Grupos electroattractores presentes en el anillo de anilino favorecerán la actividad citotóxica debido a una mejor interacción con el sitio receptor.



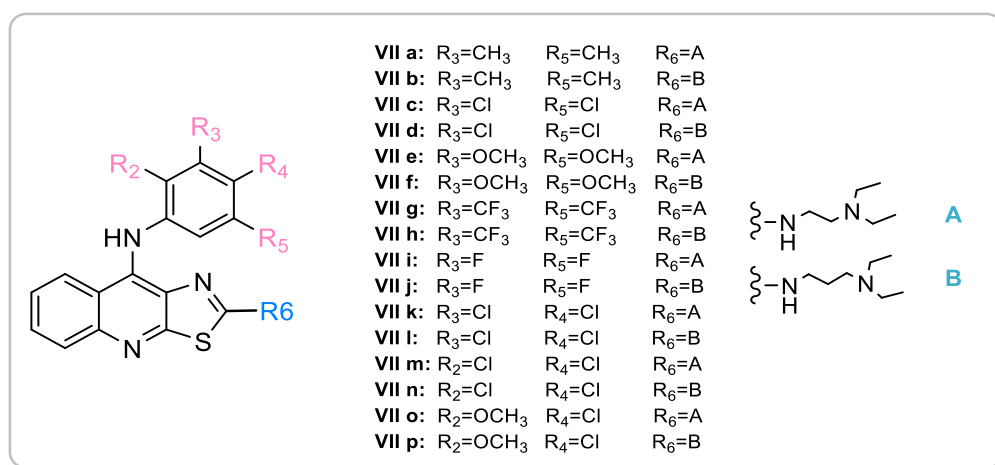
5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar derivados de 9-anilino[5,4-*b*]quinolina y determinar la influencia de un grupo dietilaminoalquilamino en la posición 2, y de diversos tipos de sustituyentes en el anillo de anilino sobre la actividad citotóxica en células tumorales.

5.2. OBJETIVOS PARTICULARES

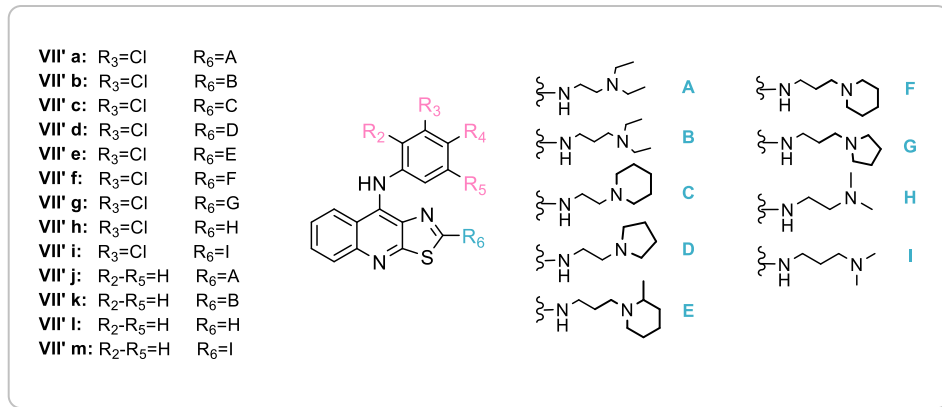
1. Sintetizar 18 nuevos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina-9-anilino disustituídos y con un grupo dietilaminoalquilamino en posición 2.



2. Caracterizar los compuestos por medio de sus constantes físicas y espectroscópicas (IR y RMN ¹H).
3. Determinar la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados en cuatro líneas celulares tumorales: HeLa (cáncer cervicouterino), K-562 (leucemia mielógena humana), SW620 y SW480 (cáncer de colon) mediante el ensayo MTT.



4. Determinar la influencia de diversos sustituyentes de tipo *N,N*-dietilaminoalquilamino y azacicloalquilalquilamino en el pka del nitrógeno terciario de la cadena lateral sobre la actividad citotóxica.





6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.1. Síntesis química.

La síntesis de los compuestos se realizó de acuerdo a la ruta mostrada en el esquema 1 (sección 6.3). Para la obtención de los compuestos I al IV, se siguió el procedimiento previamente reportado a partir de clorhidrato de glicinato de etilo⁴³, y su caracterización se realizó por el análisis comparativo en CCF y punto de fusión

La oxidación del grupo metiltio del compuesto **IV** a la sulfona correspondiente se realizó en presencia de H₂O₂ al 30% y AcOH glacial utilizando Na₂WO₄·2H₂O como catalizador, tal proceso se muestra en la figura 17. Esta oxidación mejora la susceptibilidad al ataque nucleofílico de la anilina sobre la posición 9 del núcleo tricíclico, además se aprovecha la excelente cualidad como grupo saliente que posee la sulfona para la incorporación posterior de la amina alifática.⁴⁵

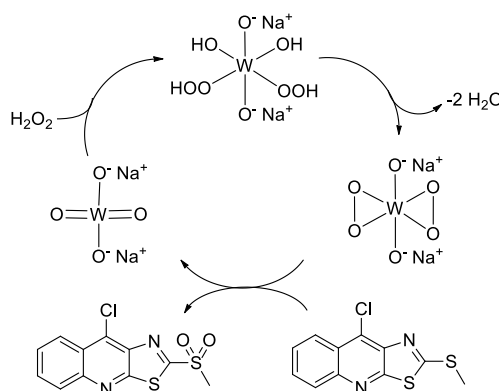


Figura 17. Oxidación del grupo metiltio.

Al realizar la CCF se observó una mancha correspondiente a la sulfona y otra mancha que se presume es el sulfóxido, en la siguiente reacción ambas manchas no se observan en la cromatoplaça, por lo que se evidencia, a su vez, la capacidad que posee el sulfóxido como grupo saliente. Si se excede el tiempo de reacción se observa la aparición de una tercera mancha de color anaranjado en el punto de aplicación, mancha que corresponde al N-óxido.



Al finalizar la reacción se obtuvo un sólido fino de color crema, éste se caracterizó por medio de CCF comparativa. (Sistema hexano/acetato de etilo 8:2).

6.1.1. Reducción de nitrocompuestos.

Algunas de las anilinas que se usaron en las reacciones para obtener los derivados de la serie **VI** fueron adquiridas de manera comercial, las no comerciales se prepararon a partir del correspondiente compuesto nitrado.

Se utilizó ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) (6 mEq.) como agente reductor, el compuesto nitrado correspondiente (1 mEq) y una mezcla de etanol agua como medio de reacción, los rendimientos obtenidos oscilan entre un 70 y 80 %.

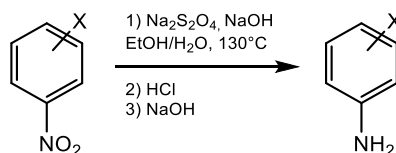


Tabla 4. Características físicas de diversas anilinas.

Compuesto	R_2	R_4	Características físicas			
			Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)	R_f (Hexano/acetato de etilo 8:2)	Aspecto
VIII a	Cl	Cl	86	63-65	0.83	Cristales color gris
VIII b	OCH_3	Cl	90	67-69	0.85	Cristales color ámbar

6.1.2. Derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil) [1,3]tiazolo[5,4-b]quinolina. (VIa-VIIn)

Utilizando el compuesto **V** y la anilina correspondiente se sintetizaron los compuestos de la serie **VI (VIa-VIIn)**. Se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) como medio de reacción y catálisis ácida. La reacción llevada a cabo es del tipo Sustitución



Nucleofílica Aromática por adición-eliminación (S_{NAr} A-E). El tratamiento de reacción consistió en filtrar el sólido obtenido, posteriormente re-suspenderlo para ajustar su pH con una disolución de Na_2CO_3 al 10% y finalmente concentrarlo a presión reducida.

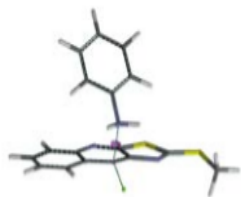
Los rendimientos obtenidos se encuentran el 85 y 93 %. Se intentó la incorporación de las anilinas utilizando *n*-butanol como medio de reacción, ya que esa técnica se encuentra reportada en el grupo de trabajo, sin embargo, al utilizar DMSO se redujo la aparición de impurezas.

Solamente en los casos de las anilinas disustituidas con átomos muy electronegativos los tiempos de reacción fueron mayores a los normales. Lo que se atribuye a la disminución de la nucleofilia del grupo amino por efecto inductivo de este tipo de sustituyentes.

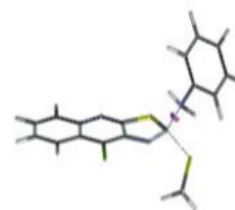
El compuesto 9-anilino-2-(metilsulfonyl)[1,3]tiazolo[5,4-*b*]quinolina posee dos sitios susceptibles de una sustitución nucleofílica aromática (S_{NAr}): las posiciones 2 y 9. Sin embargo, el monitoreo de la reacción mostró la formación de un único producto, lo que posteriormente se confirmó por medio del análisis espectroscópico.

Este fenómeno se puede explicar en términos de la teoría de Pearson de ácidos y bases duros y blandos (HSAB). La posición 2 del núcleo tricíclico funciona como ácido duro, haciendo que sea susceptible a ser atacado por bases duras, es decir por las aminas alifáticas. La posición 9 del núcleo funciona como ácido blando, siendo susceptible a ataques nucleofílicos por parte de las aminas aromáticas.⁴⁴

Asimismo, López-Rodríguez⁴⁴ mediante un estudio teórico de los estados de transición del ataque nucleofílico por parte de la anilina en las posiciones 2 y 9 del núcleo tricíclico, mostró que es energéticamente más favorable el ataque en la posición 9 que en la posición 2 (*Figura 18*).



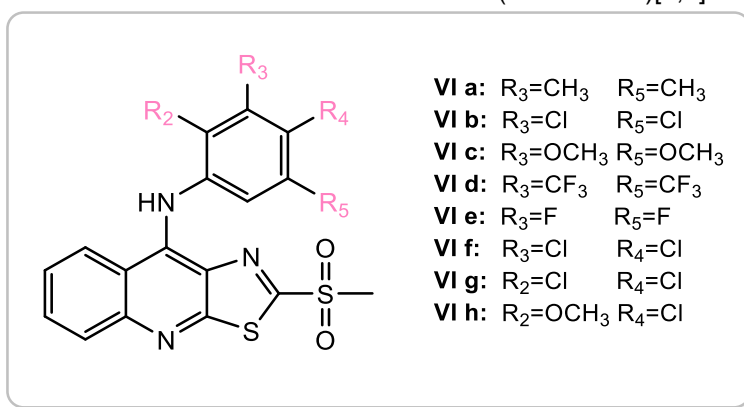
a) 127 kcal/mol



b) 144 kcal/mol

Figura 18. Valores energéticos de los estados de transición de la reacción entre el compuesto V y la amina aromática. a) sustitución en posición 9. b) sustitución en posición 2.

Tabla 5. Características físicas de derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4-*b*]quinolina.



Compuesto	Características físicas			
	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)	R _f (sistema Cloroformo/MetOH 9:1)	Aspecto
VI a	93	231	0.85	Sólido amarillo oscuro
VI b	90	225	0.87	Sólido amarillo claro
VI c	92	243	0.85	Sólido amarillo oscuro
VI d	90	245	0.86	Sólido naranja claro
VI e	88	229	0.83	Sólido amarillo claro
VI f	89	237	0.84	Sólido amarillo claro
VI g	89	241	0.85	Sólido amarillo oscuro
VI h	85	235	0.87	Sólido amarillo oscuro

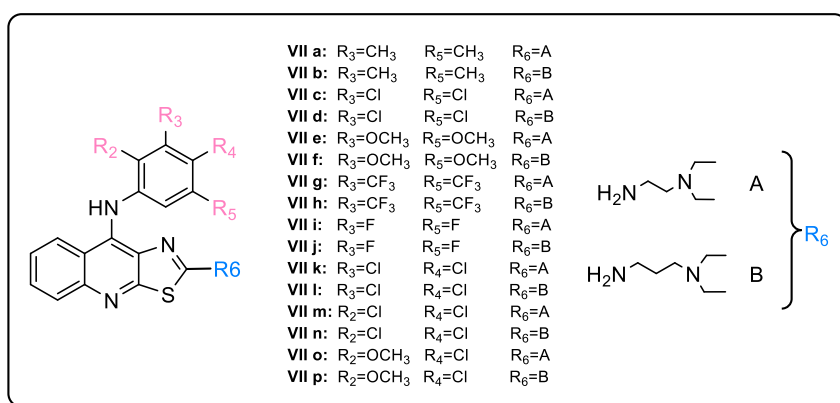


6.1.3. Derivados de 2-[2-(*N,N*-dietilamino)etilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina y 2-[2-(*N,N*-dietilamino)propilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina. (VIIa- VIIp)

La obtención de los compuestos finales, por desplazamiento del grupo sulfonilo mediante una amina alifática también implica una sustitución nucleofílica aromática (SN_{Ar}) (adición-eliminación) sin embargo, esta vez se da en la posición 2 del núcleo tricíclico.

Se utilizó DMF como medio de reacción, lo cual permite que se lleven a cabo reacciones de tipo SN_2 . En algunas ocasiones se obtenía un líquido viscoso de color ámbar, para lo cual fue necesario triturar con éter diisopropílico hasta la aparición de un sólido blanco. En otros casos se requirió realizar una cromatografía en columna abierta como método de purificación utilizando el sistema II como medio de elución.

Tabla 5. Características físicas de derivados de 2-[2-(*N,N*-dietilamino)etilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina y 2-[2-(*N,N*-dietilamino)propilamino]-9-anilinothiazolo[5,4-*b*]quinolina (VIIa-VIIp).



Compuesto	Características físicas			Aspecto
	Rendimiento (%)	Punto de fusión	R_f (sistema III)	
VIIa	86	146	0.57	Sólido color crema
VIIb	94	153	0.53	Sólido color crema
VIIc	89	162	0.60	Sólido color blanco
VII d	91	159	0.61	Sólido color crema



Características físicas				
Compuesto	Rendimiento (%)	Compuesto	Rendimiento (%)	Compuesto
VIIe	90	142	0.55	Sólido color blanco
VII f	91	154	0.54	Sólido color blanco
VII g	87	158	0.60	Sólido color crema
VII h	90	160	0.60	Sólido color blanco
VIII i	96	150	0.58	Sólido color crema
VII j	93	140	0.57	Sólido color blanco
VII k	87	130	0.59	Sólido color crema
VIII l	85	133	0.61	Sólido color crema
VII m	86	137	0.60	Sólido color crema
VII n	90	142	0.59	Sólido color blanco
VII o	91	140	0.58	Sólido color crema
VII p	89	145	0.56	Sólido color blanco

6.1.4. Derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina utilizados para la evaluación potenciométrica. (VII'a-VII'm)

Para la realización de la evaluación potenciométrica se sintetizaron una serie de compuestos con sustituyentes de distintas naturaleza. Las características físicas de tales compuestos se enlistan en la Tabla 7.

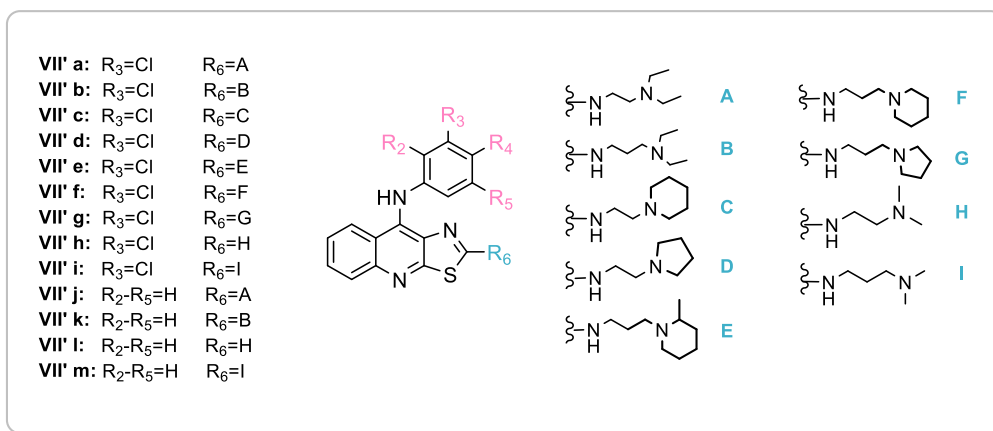




Tabla 7. Características físicas de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina usados para evaluación potenciométrica.

Compuesto	Características físicas			
	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)	R _f (Sistema III)	Aspecto
VII' a	86	55-58	0.61	Sólido amarillo
VII' b	92.8	55-58	0.61	Sólido verde limón
VII' c	58.5	95-96	0.33	Sólido amarillo claro
VII' d	53.07	109-111	0.45	Sólido amarillo claro
VII' e	60	73-76	0.74	Sólido amarillo claro
VII' f	62.6	105-106	0.70	Sólido amarillo claro
VII' g	61.5	120-122	0.30	Sólido color crema
VII' h	78.9	130	0.23	Sólido color crema
VII' i	80.1	120	0.11	Sólido color crema
VII' j	85.1	75-77	0.49	Sólido color beige
VII' k	92.4	72-75	0.5	Sólido color beige
VII' l	70.2	162	0.13	Sólido color crema
VII' m	77.5	98	0.40	Sólido color crema

Dentro de esta serie podemos encontrar aminas alifáticas y alicíclicas en la cadena lateral así como anilinas con y sin sustituyentes en la posición 9 del núcleo tricíclico.

6.2. Análisis espectroscópico y espectrométrico.

La elucidación estructural de los compuestos de la serie VI y VII se llevó a cabo mediante Espectroscopia de Infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Los espectros de los compuestos se encuentran en la sección de anexos.

6.2.1. Espectroscopia de infrarrojo.

Mediante la espectroscopia de infrarrojo por método ATR se logró determinar las bandas características correspondientes a los grupos funcionales presentes en las moléculas.



- La banda característica a las vibraciones de estiramiento del enlace Ar-NH-Ar presente en las aminas secundarias se encuentra alrededor de 3300-3300 cm^{-1} .
- Señales intensas en la región de 3080 -2847 cm^{-1} que pertenecen a las vibraciones de estiramiento simétrico y/o asimétrico de los enlaces C-H.
- Alrededor de 1300 y 1140 cm^{-1} se encuentra la banda que corresponde a la sulfona.
- Entre 1630 y 1480 cm^{-1} encontramos bandas asociadas al núcleo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina, estas pertenecen a las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H del sistema aromático.
- Cerca de 750 cm^{-1} una banda correspondiente al enlace C-S-C del tiazol.

En la tabla 8 se resumen las bandas características de los compuestos de la serie VI (VIa-VIh).

Tabla 8. Bandas relevantes en IR (cm^{-1}) de los compuestos de la serie VI.

Compuesto	Frecuencia (cm^{-1})						
	R	Ar-NH-R	C-H sat. e insat.	SO ₂ CH ₃	Aromaticidad -C=C-	C-S-C	Otras bandas
VI a	3',5' CH ₃	3373	3061, 3027, 3004, 2918, 2857	1312, 1148	1610, 1599, 1578, 1560, 1534, 1490	752	
VI b	3',5' Cl	3376	3086, 3049, 3015, 2953, 2919, 2850	1309, 1141	1617, 1594, 1573, 1551, 1520, 1485	752	571 (C-Cl)
VI c	3',5' OCH ₃	3376	3066, 3007, 2995, 2922, 2847	1301, 1140	1599, 1578, 1559, 1539, 1493	752	1203 (O-CH ₃)
VI d	3',5' CF ₃	3371	3077, 3036, 3015, 2956, 2921, 2850	1304, 1142	1619, 1604, 1579, 1559, 1530	754	712 (C-F ₃)
VI e	3',5' F	3370	3077, 3037, 3015, 2931	1304, 1141	1621, 1603, 1579, 1556, 1528	754	1117 (C-F)
VI f	3',4' Cl	3371	3004, 3022, 2954, 2921, 2851	1310, 1140	1618, 1595, 1570, 1553, 1517, 1486	750	595 (C-Cl)



Compuesto	Frecuencia (cm ⁻¹)						
	R	Ar-NH-R	C-H sat. e insat.	SO ₂ CH ₃	Aromaticidad -C=C-	C-S-C	Otras bandas
VI g	2',4' Cl	3368	3051, 3025, 3022, 2911	1322, 1141	1631, 1603, 1554, 1513, 1487, 1458	756	599 (C-Cl)
VI h	2' OCH ₃ , 4' Cl	3370	3064, 3005, 2913, 2856	1311, 1147	1618, 1595, 1550, 1495	750	1210 (O-CH ₃)

En la siguiente tabla se muestran las bandas características de la serie VII. (VIIa-VIIp):

Tabla 9. Espectroscopía IR (cm⁻¹) de los compuestos de la serie VII.

Compuesto	Frecuencia (cm ⁻¹)			
	Ar-NH-Ar	C-H sat. e insat.	Aromaticidad -C=C-	C-S-C
VIIa	3197	2967, 2930, 2811	1596, 1560, 1493, 1470	758
VIIb	3236	3021, 2969, 2874,	1596, 1562, 1497, 1472	762
VIIc	3199	2968, 2932, 2871, 2840	1605, 1578, 1552, 1506, 1497	758
VII d	3236	2970, 2876, 2818	1605, 1587, 1559, 1499	760
VII e	3183	2964, 2930, 2832	1595, 1555, 1494, 1478	758
VII f	3032	2977, 2950, 2874, 2833, 2814	1593, 1567, 1558, 1492	761
VII g	3272	2978, 2933, 2876	1622, 1603, 1561, 1498	750
VII h	3271	2977, 2932, 2826	1634, 1601, 1592, 1552, 1491	765
VII i	3220	2979, 2932, 2854	1620, 1602, 1558, 1524, 1497	754
VII j	3071	2955, 2930, 2871, 2821	1634, 1602, 1593, 1552, 1520	765
VII k	3303	2973, 2868, 2840, 2806	1596, 1575, 1551, 1496, 1473	758
VII l	3053	2962, 2932, 2873, 2824	1593, 1577, 1560, 1550, 1496	759



	Frecuencia (cm ⁻¹)			
	Compuesto	Ar-NH-Ar	C-H sat. e insat.	Aromaticidad -C=C-
VII m	3199	2968, 2962, 2871, 2839	1595, 1559, 1493	758
VII n	3207	3062, 2981, 2850	1606, 1590, 1562, 1486	741
VII o	3183	2963, 2929, 2832	1596, 1574, 1551, 1495	758
VII p	3370	3005, 2914, 2856	1605, 1590, 1561	740

6.2.2. Resonancia Magnética Nuclear

La numeración en la asignación de señales para los compuestos de la serie VII se muestra a continuación.

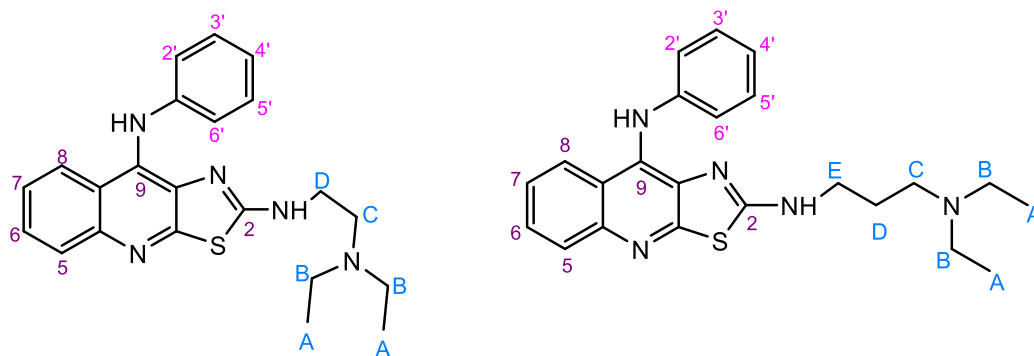


Figura 19. Numeración empleada en la asignación de las señales de la serie VII.

La asignación de señales se llevó a cabo mediante sus desplazamientos químicos y desdoblamiento de la señal. Las señales de los protones del anillo de anilino presentan un desplazamiento variable debido a los distintos sustituyentes, sin embargo las señales de los protones del tricyclo de tiazolo[5,4-*b*]quinolina permiten obtener un patrón de señales característico.



- H5, señal doble de doble entre 8.22 - 8.00 ppm, integra para un protón.
- H6, señal doble de doble de doble entre 7.65 - 7.52 ppm, integra para un protón.
- H7, señal doble de doble de doble entre 7.52 – 7.41 ppm, integra para un protón.
- H8 señal doble de doble entre 7.84 – 7.93 ppm que integra para un protón.
- H-9, señal simple entre 8.46 – 9.06 ppm, su desplazamiento se encuentra influenciado por los sustituyente que presente el anillo de anilino, integra para un protón.
- 2-NH, señal ancha que a veces se desdobra en triplete entre 8.35 – 8.50 ppm, integra para un protón.

La asignación de señales para las aminas de tipo *N,N*-dietilaminoetilamino es la siguiente:

- Señal triple que corresponde a los metilos (A) entre 0.79 – 0.90 ppm, integra para seis protones.
- Señal cuádruple entre 2.30 – 2.35 ppm correspondiente al metileno (B). integra para cuatro protones.
- Señal múltiple correspondiente al metileno (C) entre 2.45 -2.55 ppm que integra para dos protones.
- Señal múltiple para el metileno identificado como (D) entre 3.25 – 3.31 ppm. Esta señal se puede encontrar traslapada algunas ocasiones con la señal del agua presente en el compuesto o en el disolvente. Integra para dos protones.



Mientras tanto, la asignación de señales para las aminas de tipo *N,N*-dietilaminopropilamino es la siguiente:

- Señal triple correspondiente a los metilos (A) entre 0.79 – 0.90 ppm. Integra para seis protones.
- Señal múltiple para los protones señalados como (B) y (C) correspondientes a los metilenos, entre 2.30 – 2.45 ppm. La señal del DMSO puede encontrarse traslapada. Integra para seis protones.
- Señal quíntuple correspondiente al metileno central (D) 1.63 – 1.78 ppm. Integra para dos protones.
- Señal múltiple correspondiente al metileno marcado como (E) entre 3.25 - 3.35 ppm. Integra para dos protones.

A si mismo existen señales para compuestos con grupos CH₃ sobre el anillo de anilino, observamos señal simple en 2.14 ppm. Y señales para compuestos con sustituyentes OCH₃, las cuales son señales simples localizadas entre 3.81 – 3.71 ppm. En la Tabla 12 se muestran las señales para los sustituyentes del anillo de anilino.

Tabla 10. Señales obtenidas mediante RMN 1H en los compuestos de la serie VII (VIIa-VIIp).

Compuesto	Sustituyentes en el anilino	Desplazamiento de las señales.
VIIa	3',5' CH ₃	H2' y H6' d en 6.44 ppm, H4' s en 6.45 ppm
VIIb	3',5' CH ₃	H2' y H6' d en 6.44 ppm, H4' s en 6.45 ppm
VIIc	3',5' Cl	H2' y H6' d en 6.71-6.70 ppm, H4' s en 6.86 ppm
VII d	3',5' Cl	H2' y H6' d en 6.73 ppm, H4' s en 6.86 ppm
VIIe	3',5' OCH ₃	H2' y H6' d en 5.96 ppm, H4' s en 5.97 ppm
VII f	3',5' OCH ₃	H2' y H6' d en 6.26 ppm, H4' s en 6.32 ppm



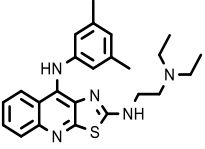
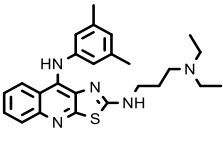
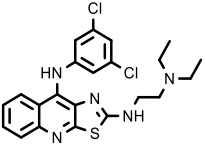
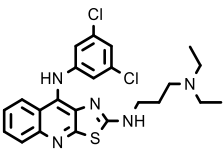
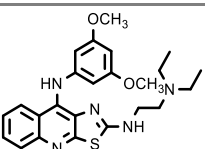
Compuesto	Sustituyentes en el anilino	Desplazamiento de las señales.
VIIg	3',5' CF ₃	H2' y H6' d en 7.29 ppm, H4' s en 7.33 ppm
VIIh	3',5' CF ₃	H2' y H6' d en 6.35-6.37 ppm, H4' t 6.46-6.51 ppm
VIIi	3',5' F	H2' y H6' d en 7.32 ppm, H4' s en 7.38 ppm
VIIj	3',5' F	H2' y H6' s en 6.44-6.45 ppm, H6' s en 6.54 ppm
VIIk	3',4' Cl	H6' s en 6.70-6.74 ppm, H2' y H5' d 6.90-6.91 ppm
VIII	3',4' Cl	H6' s en 6.94 ppm, H2' y H5' d 6.73-6.76 ppm
VIIIm	2',4' Cl	H3' s en 6.65 ppm, H5' m en 6.70-6.74 ppm H6' d en 6.90-6.91 ppm
VIIIn	2',4' Cl	H3' d en 7.01-7.03 ppm, H5' m en 7.28-7.29 ppm H6' d en 7.32-7.33 ppm
VIIlo	2' OCH ₃ , 4' Cl	H6' y H3' d en 7.03-7.06 ppm, H5' c en 6.92-6.94 ppm
VIIlp	2' OCH ₃ , 4' Cl	H5' d en 6.56-6.58 ppm, H6' d en 6.78-6.80, H3' d en 7.05 ppm



6.3 Evaluación de la actividad citotóxica.

La evaluación citotóxica de los derivados obtenidos se determinó mediante la técnica denominada MTT. Como referencia se empleó el compuesto *m*-AMSA. Los valores de actividad citotóxica se muestran en la Tabla 11.

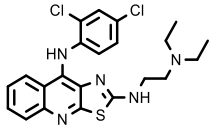
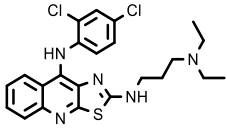
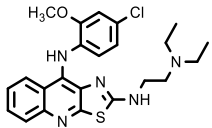
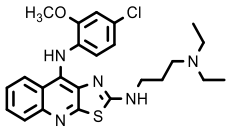
Tabla 11. Actividad citotóxica (CI₅₀, μM) de los compuestos de las serie VII usando *m*-AMSA como referencia (SEM = ±)

Compuesto	Sustituyentes					CI ₅₀ (μM) (<i>in vitro</i>)			
	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	HeLa	SW480	SW620	K-562
 VIIa	H	CH ₃	H	CH ₃	A	10.21±2.56	8.71±0.7	16.95±2.37	10.21±3.82
 VIIb	H	CH ₃	H	CH ₃	B	17.1±3.08	9.04±1.64	12.36±1.22	10.7±3.61
 VIIc	H	Cl	H	Cl	A	2.91±0.81	3.5±3.19	2.16±0.5	1.91±0.27
 VIId	H	Cl	H	Cl	B	4.4±1.32	5.13±3.52	7.36±1.4	2.4±0.67
 VIIe	H	OCH ₃	H	OCH ₃	A	25.8±3.91	10.05±2.8	15.69±2.8	18.8±4.2



	Sustituyentes					CI50 (μM) (<i>in vitro</i>)			
	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	HeLa	SW480	SW620	K-562
 VIIf	H	OCH ₃	H	OCH ₃	B	15.98±3.77	9.7±3.07	20.6±0.83	9.98±3.77
 VIIg	H	CF ₃	H	CF ₃	A	14.02±2.08	10.1±0.58	9.71±2.01	9.72±1.08
 VIIh	H	CF ₃	H	CF ₃	B	3.93±1.18	4.99±1.1	5.05±2.01	3.65±1.02
 VIIi	H	F	H	F	A	4.96±0.66	6.24±1.83	5.04±0.76	5.06±1.27
 VIIj	H	F	H	F	B	11.3±2.14	6.13±0.31	9.62±2.05	9.43±1.84
 VIIk	H	Cl	Cl	H	A	7.12±2.7	7.81±1.51	6.25±1.24	4.62±1.23
 VIII	H	Cl	Cl	H	B	5.64±0.82	3.48±2.01	5.93±1.81	3.6±0.47



Compuesto	Sustituyentes					CI ₅₀ (μM) (<i>in vitro</i>)			
	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	HeLa	SW480	SW620	K-562
 VII m	Cl	H	Cl	H	A	5.71±0.78	4.22±2.6	4.31±0.27	4.01±1.6
 VII n	Cl	H	Cl	H	B	4.07±1.34	5.3±0.85	4.84±1.03	4.85±0.49
 VII o	OCH ₃	H	Cl	H	A	5.61±1.04	6.86±2.03	4.05±1.51	4.99±1.81
 VII p	OCH ₃	H	Cl	H	B	29.46±8.97	40.5±9.98	43.07±8.08	31.65±6.23

A=NH(CH₂)₂NEt₂, B= NH(CH₂)₃NEt₂.

La determinación de la actividad citotóxica de todos los compuestos novedosos se realizó en distintas etapas del presente estudio, por tal motivo y para poder realizar un análisis global se usó el índice de citotoxicidad relativo (*IC_x*), el cual está dado por la relación *CI*₅₀ de la amsacrina y la *CI*₅₀ del compuesto, un valor mayor a 1 indica que el compuesto es más activo que la m-AMSA:

$$\text{Índice de citotoxicidad (IC}_x\text{)} = \frac{CI_{50} \text{ Amsacrina}}{CI_{50} \text{ compuesto}}$$



Con fines comparativos se muestra en la figura 20 el ICx relativo para los derivados de la serie **VII** en las cuatro líneas celulares evaluadas:

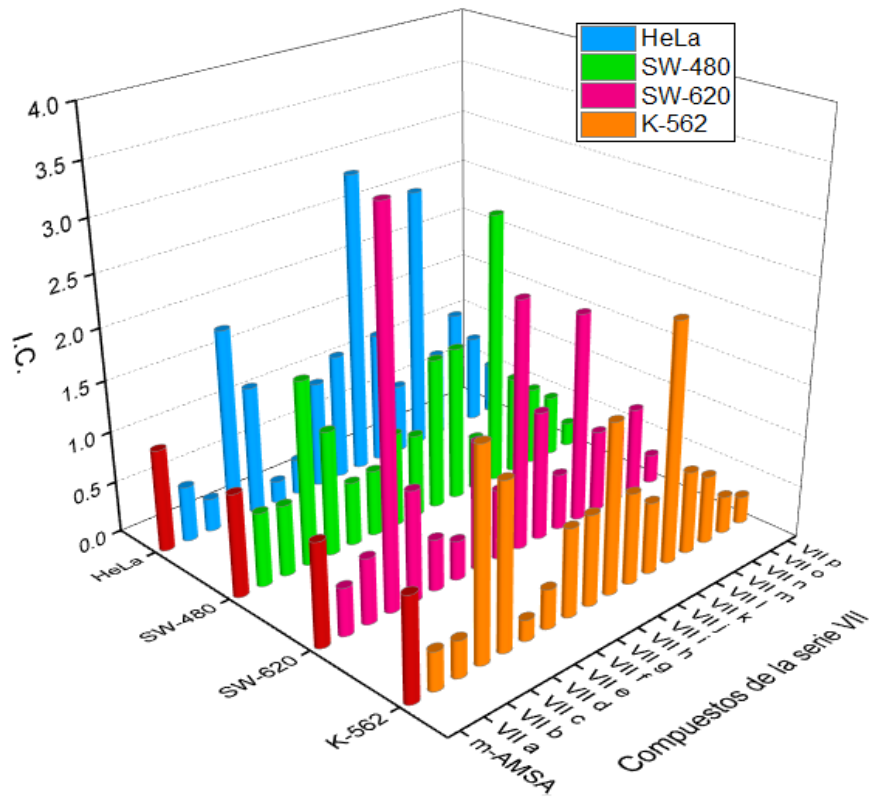


Figura 20. Índice de citotoxicidad para la serie **VII**.

A grandes rasgos, se observa que los derivados **VII c**, **VII i** y **VII l** son los que presentan mayor actividad que el compuesto referencia, es decir, un ICx mayor a 1.

Sin embargo, para un mejor análisis, los compuestos fueron divididos en grupos por línea celular evaluada a fin de evidenciar las características que les confieren una mejor actividad citotóxica.



6.3.1 HeLa (cáncer cervicouterino)

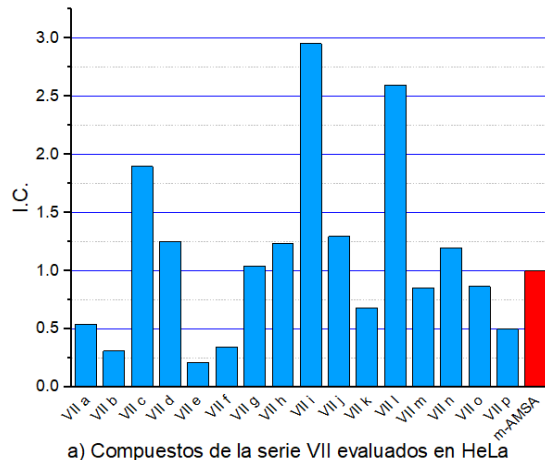


Figura 21. Índice de citotoxicidad (IC_x) de los compuestos de la serie VII A y B. Cáncer cervicouterino HeLa.

De la figura anterior se pueden deducir los siguientes puntos:

Los compuestos **VII a, b, e y f** presentan un IC_x menor al de la referencia, estos derivados presentan sustituyentes de tipo CH_3 y OCH_3 en el anilino, es decir tienen carácter de electrodonadores. Los compuestos **VII o y p** tiene un metoxilo en la posición 2' y un átomo de Cl en la posición 4', a pesar de estar sustituido con un átomo electronegativo tiene un índice menor, probablemente tenga una menor interacción con el sitio blanco debido a la posición en la que se encuentra tal átomo.

Los compuesto **VII m y n** tienen dos átomos de Cl, cada uno en las posiciones 2 y 4, en este caso el compuesto con la cadena propil (VII n) tiene un IC_x apenas mayor al de la referencia, sin embargo se observa la importancia del patrón de sustitución en el anillo de anilina.

Los compuestos **VIII g y h** poseen como sustituyentes CF_3 en las posiciones 3' y 5' del anillo de la anilina. El IC_x es similar al que presenta la referencia, siendo el compuesto **VII h** con la cadena propil, el que presenta un valor apenas por encima al de m-AMSA.

Destacan los derivados **VII c, d, g, h y i**, ya que muestran un índice de citotoxicidad mucho mayor que la referencia. Los derivados **VII c y d** presentan dos



átomos de Cl, cada uno en las posiciones 3' y 5' del anillo de anilino. A su vez, los derivados **VII g y h** poseen dos átomos de flúor en las mismas posiciones, resultando ser el compuesto con un mayor *ICx* de la serie sobre dicha línea celular. Mientras que los derivados **VII k y l** tienen dos átomos de Cl en las posiciones 3' y 4'. Por lo tanto, los sustituyentes que favorecen la actividad biológica son aquellos que tienen una alta electronegatividad.

No se observa una relación proporcional entre la longitud de la cadena lateral y el *ICx*, ya que en algunos casos los compuestos con cadena etilendiamino resultaron con un *ICx* mayor que aquellos que poseen una cadena propilendiamino. Por lo tanto no es posible definir una relación entre homólogos superiores.

6.3.2 SW-480 (adenocarcinoma colorrectal)

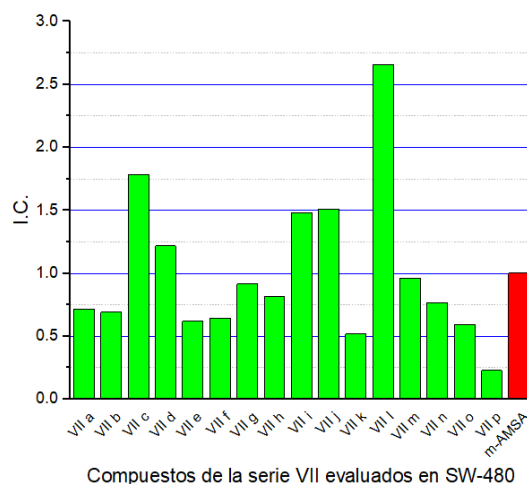


Figura 22. Índice de citotoxicidad (*ICx*) de los compuestos de la serie VII A y B. Adenocarcinoma colorrectal SW-480.

Para el caso de esta línea celular los compuestos VII a, b, e, f, g, h, k, n, o y p presentan un *ICx* menor al de la m-AMSA; todos estos compuestos tienen sustituyentes de carácter electrodonador como CH₃ y OCH₃ o bien tienen sustituyentes en las posiciones 2' y 4' del sustituyente de anilino. Lo anterior pone



de manifiesto la importancia de la posición 3' como elemento modulador de la citotoxicidad.

Los compuestos **VII g y h** tiene un IC_{50} menor al de la referencia, sin embargo tiene como sustituyentes en las posiciones 3' y 5' un grupo CF_3 . Lo que se puede atribuir a que la diana biológica en esta línea celular sea diferente a la de Hela y por lo tanto los requerimientos estructurales sean diferentes. Para el caso de esta línea celular sobresalen los valores de los derivados **VII c, d, i, j, y l** los cuales tienen un IC_{50} mayor que el de la Amsacrina. Estas moléculas poseen átomos de Cl y F en las posiciones 3', 5' (VII c, d, i, j) y átomos de Cl en 3', 4' (VII l), del sustituyente de anilino.

En esta línea celular el compuesto que destacó fue el (**VII l**) el cual tiene una cadena propil en la posición 2 del anillo tricíclico. El patrón de disustitución de esta molécula incluye átomos de Cl en las posiciones 3' y 4' del sustituyente de anilino. De nuevo resalta la importancia de poseer un átomo electronegativo en la posición 3'. Tampoco se observa una correlación entre la longitud de la cadena alifática lateral y la citotoxicidad.

6.3.3 SW-620 (adenocarcinoma colorrectal)

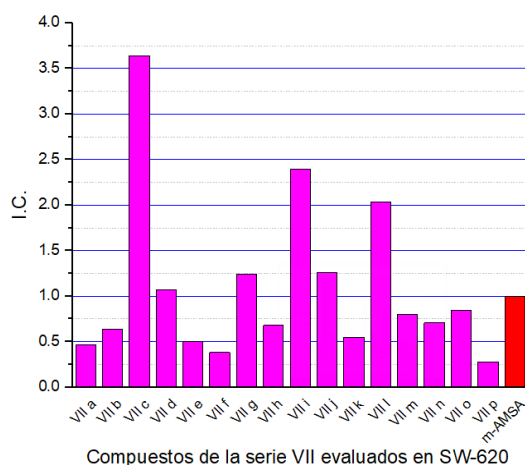


Figura 23. Índice de citotoxicidad (IC_{50}) de los compuestos de la serie VII A y B. Adenocarcinoma colorrectal SW-620.



Los resultados esquematizados en la figura anterior presentan la misma tendencia que aquellos evaluados en la línea celular SW-480. El compuesto que destaca es **VII c**, su *IC₅₀* es mayor por un factor de 3.5. Posee como sustituyentes en las posiciones 3' y 5' átomos de Cl.

En esta línea celular tampoco se observa la relación entre homólogos superiores por lo que no podemos relacionar la longitud de la cadena con la citotoxicidad.

6.3.4 K-562 (leucemia mielogena humana)

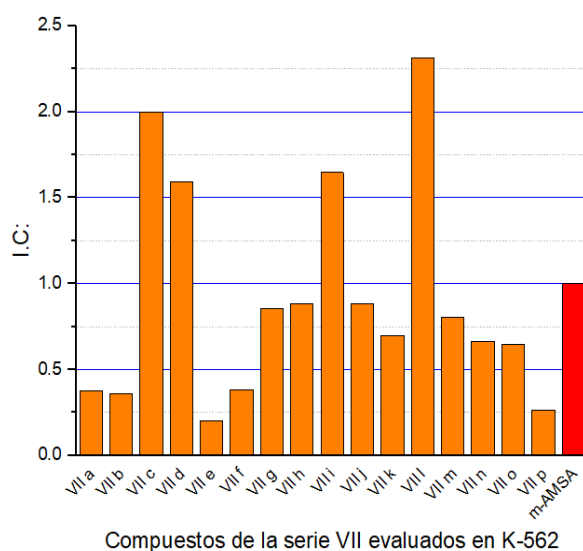


Figura 24. Índice de citotoxicidad (I.C.) de los compuestos de la serie VII A y B. Leucemia mielogena humana K-562.

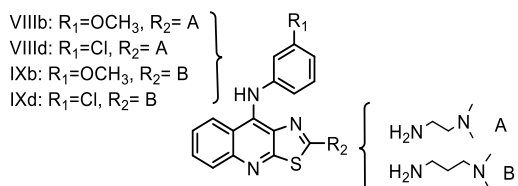
Finalmente, para la línea celular K-562 se observan tendencias similares en cuanto a requisitos estructurales: los compuestos con mayor *IC₅₀* presentan en posiciones 3' y 5' ó 3' y 4' átomos electronegativos y de naturaleza electrodonadora, destacando el compuesto VII i.

Para poder determinar si la incorporación de una anilina disustituida en posición 9 y una amina alifática en posición 2 ayudan a aumentar la actividad citotóxica, se utilizaron algunos de los datos obtenidos por Vega-Alanis⁴³ y González-Méndez⁴⁶.



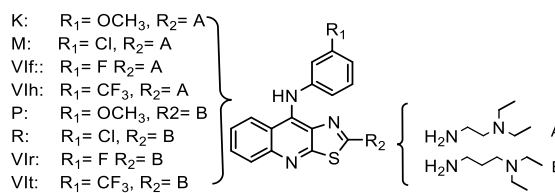
De acuerdo a las características estructurales, podemos separar los compuestos en dos grupos principales, como se observa a continuación:

Grupo A



Compuesto	HeLa	K562	SW620	SW480
VIII b ⁴³	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
VIII d ⁴³	0.37	0.43	0.89	0.37
IX b ⁴³	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
IX d ⁴³	0.74	0.58	1.41	1.07

Grupo B



Compuesto	HeLa	K562	SW620	SW480
K ⁴³	0.85	1.29	0.81	1.05
M ⁴³	1.04	1.93	0.94	1.54
VI f ⁴⁶	0.92	1.03	1.40	1.07
VI h ⁴⁶	1.44	1.11	1.89	2.00
P ⁴³	0.89	1.82	2.26	1.48
R ⁴³	1.27	3.50	1.64	2.02
VI r ⁴⁶	1.18	2.40	2.75	2.51
VI t ⁴⁶	3.39	1.88	4.65	4.11

Como se puede observar, el grupo A tiene aminas de tipo *N,N*-dimetilminoalquilamino mientras que el grupo B posee aminas de tipo *N,N*-dietilaminoalquilamino sin embargo, la comparación no resultaría adecuada debido a la falta de datos del grupo C.

Al comparar los datos del del grupo B con los resultados obtenidos en el presente trabajo obtenemos las Figuras 25 y 26.

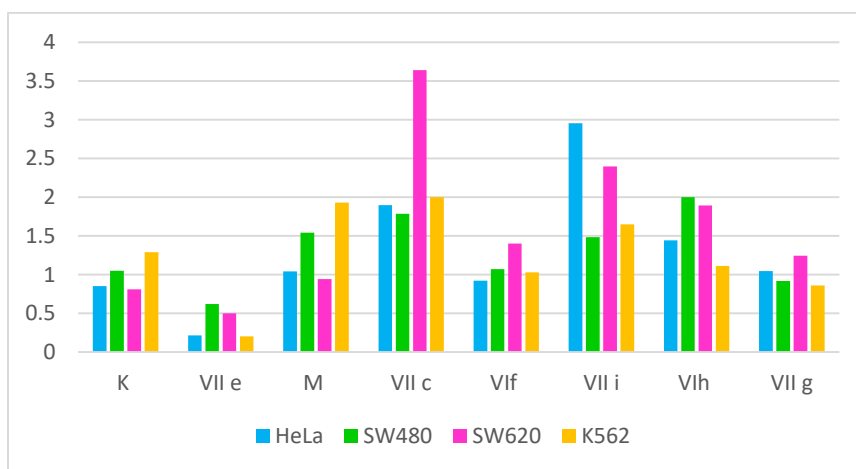


Figura 25. Índice de citotoxicidad relativo (ICx) de los compuestos del grupo D v/s algunos de los compuestos de la serie VII. Ambos con cadena de tipo *N*,ietilaminoetilamino.

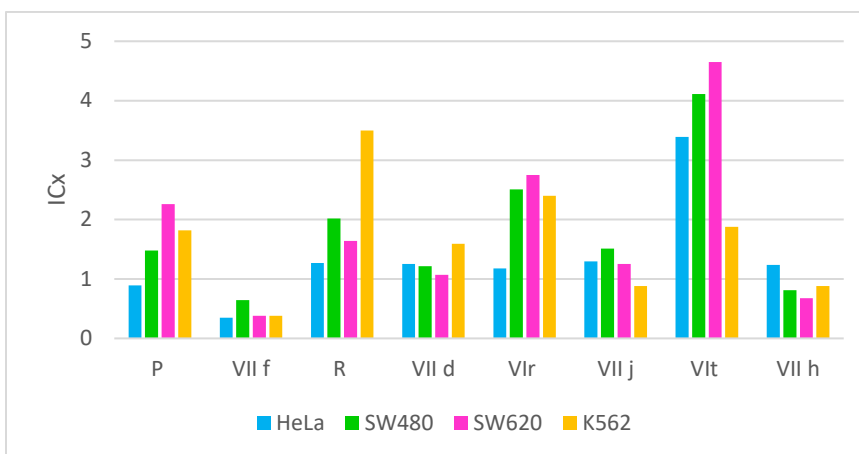


Figura 26. Índice de citotoxicidad relativo (ICx) de los compuestos del grupo D v/s algunos de los compuestos de la serie VII. Ambos con cadena de tipo N, N-dietilaminopropilamino.

No se cuenta con todos los análogos de los compuestos de la serie VII, es decir aquellos en su forma monosustituida, sin embargo los compuestos existentes muestran cierta tendencia. El patrón de disustitución favoreció únicamente a aquellos compuestos con cadenas N,N-dietilaminoetilamino y con sustituyentes como Cl y F. Mientras que para la cadena de tipo N, N-dietilaminopropilamino no se observa una mejora en cuanto al ICx si se sustituye la amina monosustituida por una disustituida.

6.4 MODELADO MOLECULAR

La actividad biológica se encuentra estrechamente relacionada con la estructura molecular, por lo tanto entender el modo de acción de moléculas activas a nivel molecular tiene gran interés científico y práctico. Al proponer cambios específicos a las estructuras podemos incrementar su actividad biológica.⁴⁷

Se ha demostrado que la basicidad de la cadena lateral es un punto farmacofórico, ya que al disminuir esta propiedad, se observa una disminución en la actividad biológica de la molécula, por lo tanto se propuso que a pH fisiológico el nitrógeno terciario de la cadena lateral se encuentra protonado. Para este propósito



se realizó el diagrama de predominio de especies utilizando el programa MarvinSketch, los datos obtenidos se encuentran en la Figura 28 y la Tabla 12. Podemos observar que en el intervalo de pH de 6.2 a 6.8 la forma protonada de la molécula es la que se encuentra en mayor proporción.

Por tal motivo, los estudios de modelado molecular se realizaron con la amina en su forma ionizada.

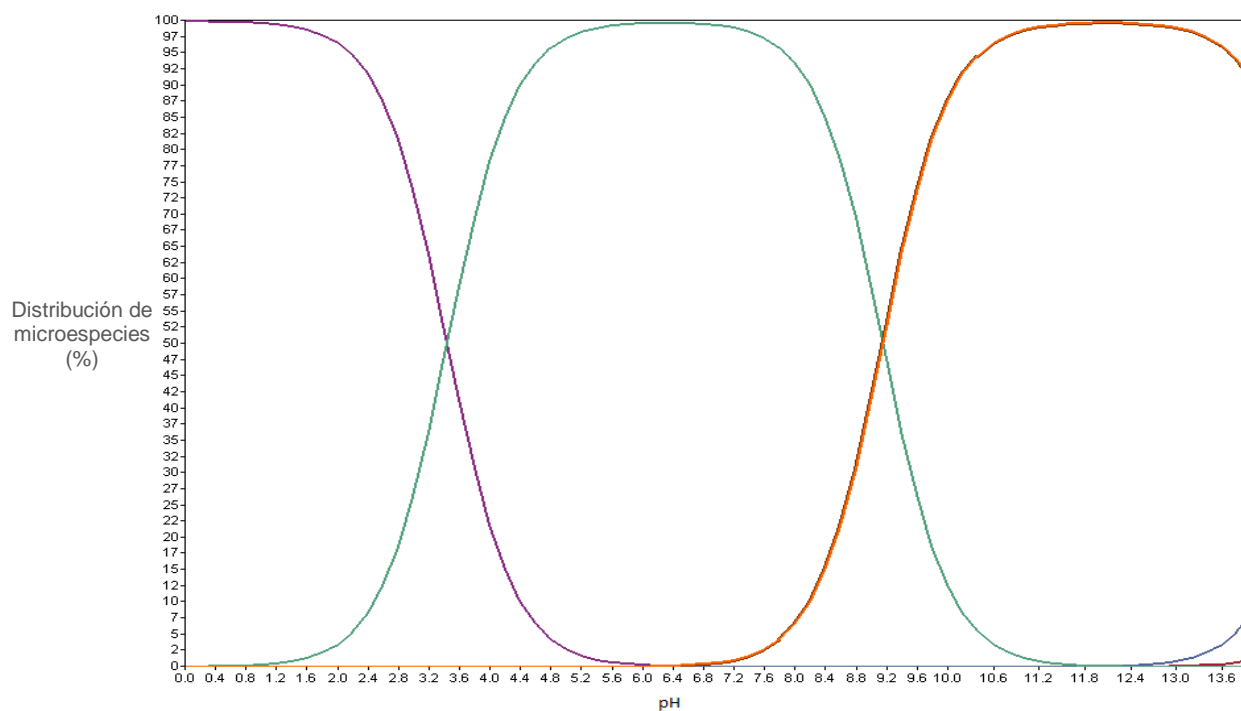
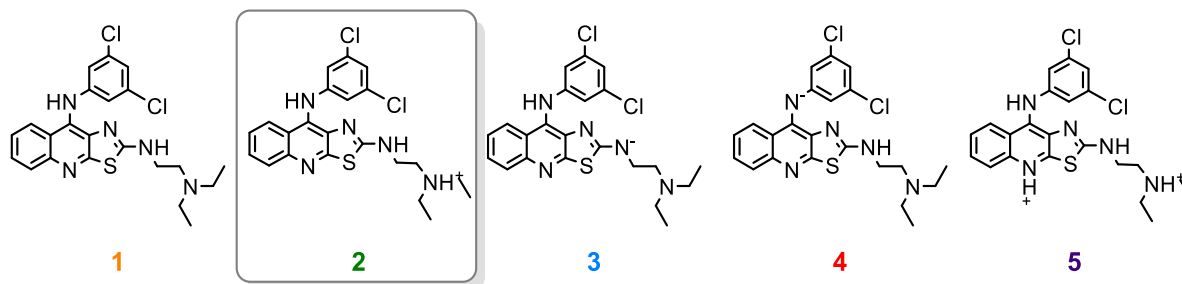


Figura 27. Diagrama de microespecies presentes contra pH. ⁴⁸

Tabla 12. Microespecies presentes a diferentes valores de pH.



pH	1%	2%	3%	4%	5%
6	0.07	99.65	0	0	0.28
6.2	0.11	99.71	0	0	0.18



pH	1%	2%	3%	4%	5%
6.4	0.17	99.71	0	0	0.11
6.6	0.28	99.65	0	0	0.07
6.8	0.44	99.52	0	0	0.04
7	0.69	99.28	0	0	0.03
7.2	1.09	98.89	0	0	0.02
7.4	1.72	98.27	0	0	0.01
7.6	2.69	97.3	0	0	0.01

6.4.1 Cálculo de las propiedades electrónicas.

Para obtener los parámetros que relacionen la actividad con la estructura química se llevaron a cabo cálculos computacionales en las moléculas de la serie VII con el software Spartan'10[®] tal como se describe en la sección 6.6.

Los parámetros obtenidos fueron: energía de formación, energía de los orbitales de frontera (HOMO y LUMO), momento dipolar, área molecular, volumen molecular, área polar superficial (PSA), ovalidad, polarizabilidad y log P. Los valores de dichas propiedades se listan en la Tabla 15.

Tabla 13. Descriptores moleculares calculados mediante método semiempírico PM3 para los compuestos de la serie VII.

Comp	E (kcal/mol)	E HOMO (eV)	E LUMO (eV)	Momento dipolar (Debye)	Volumen (Å ³)	PSA (Å ²)	Ovalidad	Log P
VII a	905.45	-11.15	-4.01	7.14	446.03	34.755	1.60	5.53
VII b	882.17	-11.16	-4.00	6.41	463.37	34.440	1.62	5.81
VII c	936.28	-11.53	-4.16	7.34	437.62	37.083	1.61	5.67
VII d	914.67	-11.38	-4.09	6.10	454.41	35.163	1.62	5.95
VII e	658.21	-11.39	-4.08	7.16	464.98	50.736	1.62	4.30
VII f	638.30	-11.23	-3.94	6.27	482.53	48.962	1.66	4.58
VII g	-304.34	-11.75	-4.35	9.50	476.64	37.324	1.68	6.40
VII h	-323.12	-11.53	-4.33	6.97	493.47	34.747	1.68	6.68



Comp	E (kcal/mol)	E HOMO (eV)	E LUMO (eV)	Momento dipolar (Debye)	Volume n (Å ³)	PSA (Å ²)	Ovalidad	Log P
VII i	634.53	-11.62	-4.24	7.69	421.14	37.097	1.59	4.87
VII j	611.38	-11.44	-4.18	6.49	437.81	35.192	1.60	5.15
VII k	940.05	-11.37	-4.15	7.37	473.17	37.059	1.60	5.67
VII l	927.44	-11.18	-4.11	5.78	454.11	34.277	1.61	5.95
VII m	932.60	-11.45	-4.15	6.94	436.92	36.458	1.60	5.67
VII n	914.44	-11.28	-4.10	6.84	454.53	34.660	1.62	5.95
VII o	875.33	-10.97	-3.67	8.74	452.72	43.422	1.65	4.99
VII p	781.89	-11.19	-4.01	5.88	468.66	42.229	1.64	5.27

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

El momento dipolar es un factor importante relacionado con la actividad biológica de los compuestos intercaladores. Por tal motivo se calcularon tanto la magnitud como la dirección del momento dipolar de los compuestos sintetizados (*Figura 28*).

Con respecto a la magnitud del momento dipolar podemos apreciar que aquellos compuestos que poseen una cadena de tipo dietilaminopropilamino tienen valores mayores que aquellos con una cadena de tipo dietilaminoetilamino.

En cuanto a la dirección del momento dipolar no puede ser considerada como un parámetro que contribuya a relacionar las moléculas sintetizadas con su actividad biológica ya que este se encuentra orientado hacia el sustituyente de anilino en la mayor parte de las moléculas.

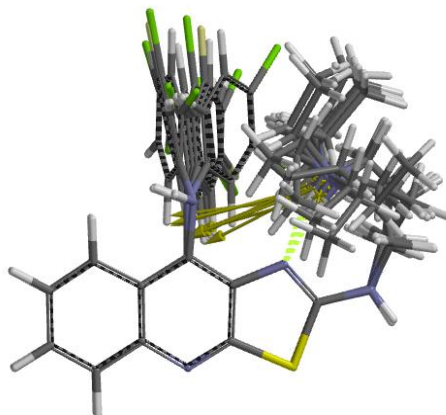


Figura 28. Momento dipolar para los compuestos de la serie VII.

6.4.1.2 Energía de los orbitales HOMO y LUMO

Algunas de las propiedades más importantes de las moléculas están determinadas por los orbitales de frontera HOMO y LUMO. El orbital HOMO puede ser considerado como el orbital externo dador de electrones (nucleófilo) cuando una molécula actúa como base mientras que el orbital LUMO es el orbital interno aceptor de electrones (electrófilo) cuando una molécula actúa como ácido de Lewis.

Los complejos formados entre el ADN y el agente intercalante presentan interacciones entre sus orbitales HOMO y LUMO, respectivamente, por lo cual se obtuvieron los valores de dichos parámetros. Se sabe que el proceso de intercalación es favorecido por las interacciones entre los orbitales HOMO de las bases nitrogenadas del ADN y los orbitales LUMO del agente intercalante. Entre menor sea el valor del orbital LUMO será más eficiente la intercalación DNA-ligante.

Los datos de la Tabla 16 muestran que los compuestos que presentan un valor menor del orbital LUMO son los compuestos **VIIc, g, h, i, j, k, y m**, los cuales tienen sustituyentes electroattractores en las posiciones 3' y 5', sin embargo la variación entre los valores de toda la serie **VII** no es significativa, por lo tanto no debe ser tomado como único valor a considerar para explicar la actividad biológica.



La localización del orbital HOMO se encuentra a lo largo del sistema tricíclico y sobre el sustituyente de anilino, mientras que el mapa de distribución del orbital LUMO muestra que el triciclo contribuye principalmente al orbital (*Figura 29*).

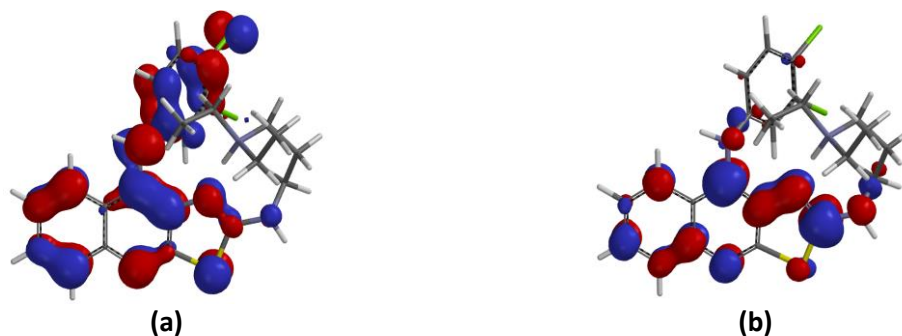


Figura 29. Distribución de los orbitales HOMO (a) y LUMO (b) respectivamente para el compuesto VII I.

6.4.1.3 Potencial molecular electrostático

El análisis de los mapas de potencial electrostático permite observar las zonas donde se encuentra concentrada la densidad electrónica en los compuestos. En los compuestos que se encuentran en su forma protonada esta zona se ubica principalmente sobre la superficie de los átomos de nitrógeno del núcleo tricíclico (*Figura 30*).

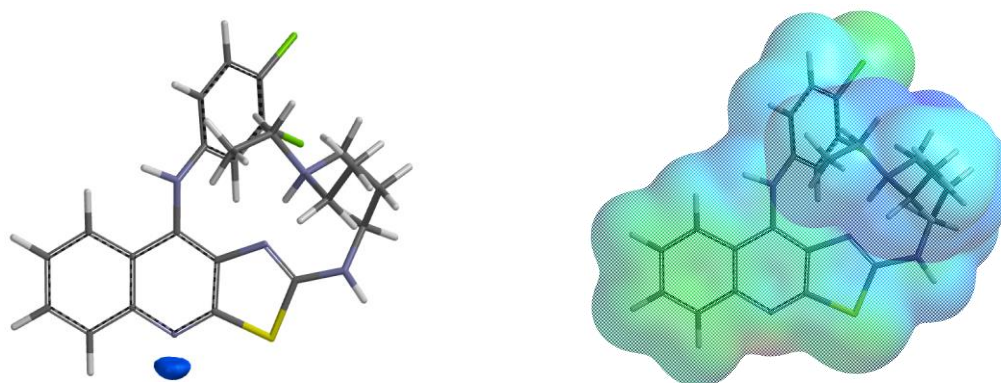


Figura 30. Mapa de isotopotencial a 83.68 kJ/mol y potencial molecular electrostático para el compuesto VII I.



6.4.1.4 Área polar superficial (PSA)

El área apolar superficial es la suma de las superficies de los átomos polares en una molécula. Este parámetro sirve para caracterizar el transporte de fármacos a través de membranas biológicas.

Al analizar los valores de PSA obtenidos con las actividades biológicas de los compuestos no se encuentra relación entre el sustituyente de anilino con el valor de tal parámetro, sin embargo, se observa que aquellos con valores de 42 a 50 Å² tuvieron menor actividad, lo cual indica que el PSA podría ser un factor importante a considerar.

6.4.1.5 Log P

La lipofilia es una de las propiedades moleculares fundamentales y un parámetro importante en el diseño de fármacos. El log P es un parámetro ampliamente utilizado en ecuaciones que relacionen la estructura-actividad de una molécula ya que determina su grado de lipofilia.

Los valores de Log P calculados para los compuestos se encuentran en un rango de 4.30 a 6.68, como sabemos para que sea posible la administración oral el descriptor no debe superar el valor de 5, sin embargo en moléculas utilizadas en el tratamiento de cáncer esta regla no se cumple. Además, no se observa correlación entre los valores de log P calculados con la actividad biológica de los compuestos, por ejemplo, el compuesto (**VII e**) presenta el valor de log P más bajo (4.30), sin embargo también es de los compuestos con menor actividad. Otro compuesto con un valor de log P pequeño (4.87) es el (**VII i**) siendo éste uno de los compuestos con mayor actividad.



6.5 Relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR)

Mediante los descriptores obtenidos en los estudios de modelado molecular (Tabla 16) se pretende establecer modelos que relacionen la estructura química y actividad biológica de las moléculas sintetizadas. Los datos se analizaron mediante el programa Build QSAR y la actividad biológica queda expresada como índice de citotoxicidad relativo a la Amsacrina (IC_x). Este análisis se realizó para cada línea celular evaluada. Los parámetros estadísticos evaluados en cada ecuación de correlación son los siguientes:

Número de compuestos (**n**)

Coefficiente de correlación múltiple (**R**)

Error estándar de la estimación (**s**)

Prueba de Fisher al 95 % de confianza (**F**)

Coefficiente cuadrado de predicción de correlación (**Q²**)

6.5.1 Línea celular SW620

Mediante la matriz de correlación se obtuvieron los parámetros empleados en la construcción de la ecuación. La ecuación obtenida es la siguiente:

$$\text{IC}_x = - 1.9629 (\pm 3.0150) \text{ LUMO} - 0.0275 (\pm 0.0238) \text{ Volumen} + 0.0059 (\pm 0.0970) \text{ PSA} \quad \text{Ec. 1} \\ + 5.4041 (\pm 15.6670)$$

$$(n= 16; R= 0.653; s= 0.757; F= 2.980; p= 0.0739; Q^2= 0.104)$$

La correlación de la actividad pronosticada contra la actividad observada se muestra en la Figura 31.

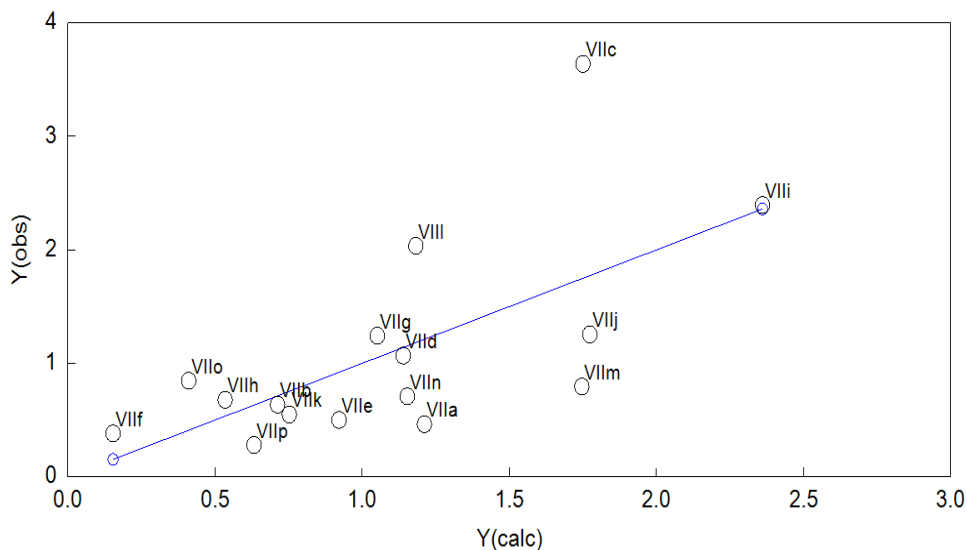


Figura 31. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular SW620, obtenida de la ecuación 1.

Este modelo está compuesto por tres descriptores: LUMO, volumen y PSA. El parámetro R indica el grado de correlación entre las variables, este parámetro debe ser cercano a la unidad, en este caso el valor es de 0.693. El parámetro Q^2 , que representa la validación interna del modelo, tiene un valor de 0.215, debido a que el valor debe ser mayor a 0.5 no podemos afirmar que el modelo sea predictivo. En cuanto al valor de F, el obtenido de la ecuación es mayor al obtenido a partir de tablas ($8.252 > 3.49$) por lo tanto la ecuación es una solución real entre los resultados.

El descriptor LUMO nos habla de la importancia de las propiedades electrónicas de la molécula que le permiten interactuar con la posible diana biológica

En cuanto al descriptor volumen, podemos observar que contribuye negativamente al índice de citotoxicidad, lo cual se ve reflejado en los derivados con un menor ICx (VIIp y VIIf) y con mayores valores de este parámetro.

El descriptor PSA ha sido reportado anteriormente como un factor importante para la actividad citotóxica, ya que se encuentra ligado a la permeabilidad.⁴⁶ Aquellos compuestos con valores altos de PSA tendrán un menor ICx.



6.5.2. Línea celular SW480

La ecuación y la gráfica de actividad pronosticada contra actividad observada (Figura 32) obtenidas fueron las siguientes:

$$ICx = -0.9287 (\pm 2.1559) \text{ LUMO} - 0.0135 (\pm 0.0170) \text{ Volumen} - 0.0213 (\pm 0.0693) \text{ PSA} + 4.1872 (\pm 11.2029) \quad \text{Ec. 1}$$

(n= 16; R= 0.6; s= 0.541; F= 2.187; p =0.1425; Q²= 0.124)

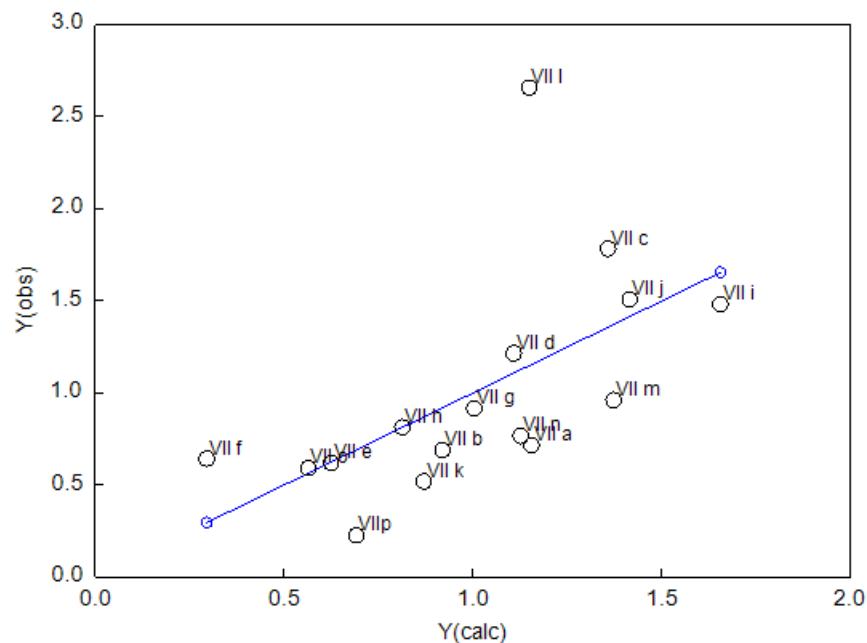


Figura 32. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular SW480, obtenida de la ecuación 1.

Los descriptores utilizados para formar la ecuación en esta línea celular fueron, al igual que en la anterior ecuación: LUMO, volumen y PSA.

El valor de R indica parcialmente una buena correlación entre las variables ya que se acerca al valor de 1, mientras que el valor del parámetro Q² no se aproxima al valor ideal propuesto en la literatura de 0.5, por lo que no se puede afirmar que el modelo sea predictivo. El valor de F del modelo es menor al valor registrado tablas.



6.5.3. Línea celular HeLa.

Para el caso de la línea celular Hela ecuación obtenida fue la siguiente:

$$ICx = - 2.0535 (\pm 2.1727) \mathbf{LUMO} - 0.0228 (\pm 0.0183) \mathbf{Volumen} + 3.1201 (\pm 11.9170) \quad \text{Ec. 1}$$

(n= 16; R= 0.675; s= 0.625; F= 5.443; p= 0.0192; Q²= 0.117)

La ecuación anterior está conformada por dos parámetros, LUMO y volumen, ambos parámetros contribuyen negativamente con la actividad citotóxica. En cuanto a los parámetros estadísticos, el valor de R es cercano a 1, mientras que el parámetro Q² no se acerca al valor reportado de 0.5. El valor de F de la ecuación es menor al valor de tablas.

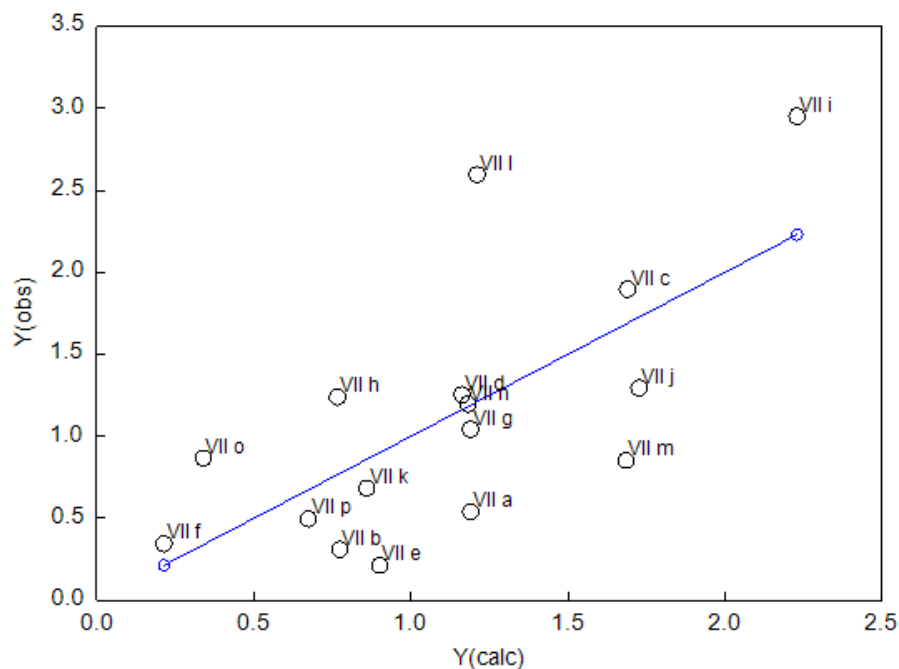


Figura 33. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular HeLa, obtenida de la ecuación 1.



6.5.4. Línea celular K562.

La ecuación obtenida es la siguiente:

$$\text{ICx} = -0.6899 (\pm 2.2752) \text{ LUMO} - 0.0181 (\pm 0.0171) \text{ Volumen} + 0.3643 (\pm 0.5957) \text{ Log P} \quad \text{Ec. 1} \\ + 4.3347 (\pm 11.3384) \\ (n= 16; R= 0.631; s= 0.555; F= 2.652; p= 0.0962; Q^2= 0.131)$$

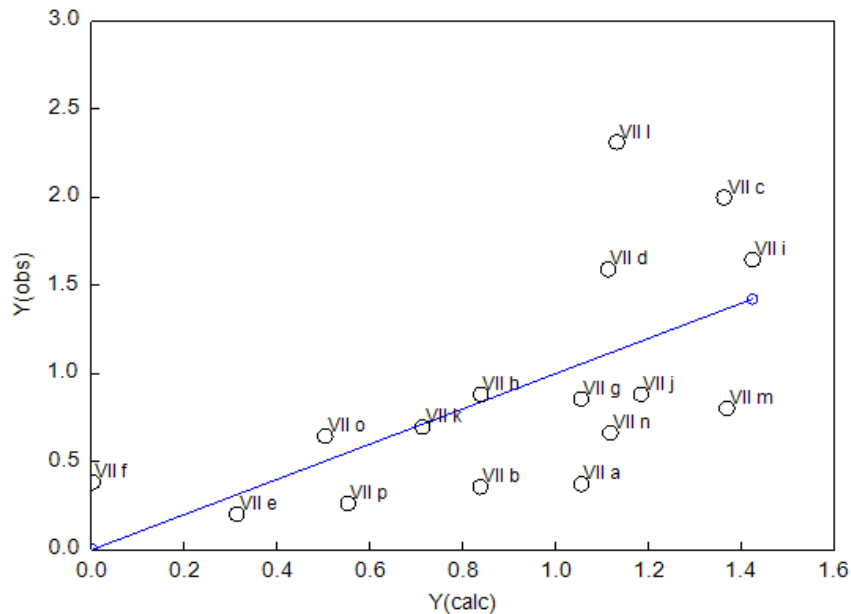


Figura 34. Actividad pronosticada vs actividad observada en la línea celular K562, obtenida de la ecuación 1.

Los 3 descriptores utilizados en la ecuación son: LUMO, volumen y Log P.

En este caso el valor de R es 0.631 y como ya se mencionó anteriormente, indica una correlación entre las variables. El valor de Q² no corresponde al valor de la literatura, por lo tanto no se puede asegurar la validación interna del modelo. A su vez, valor de F es menor al valor reportado en tablas. La pobre correlación del modelo podría modificarse al evaluar descriptores distintos.



6.6 Estudios de acoplamiento molecular (molecular docking)

El acoplamiento molecular (docking) es un método de cribado virtual el cual consiste en el análisis computacional de una base de datos de compuestos, este análisis permite probar las hipótesis planteadas, identificar y seleccionar candidatos que posean la actividad deseada y de esta manera acelerar el descubrimiento de nuevos fármacos.⁴⁹

6.6.1 Validación de la metodología

Para realizar la validación del docking es necesario llevar a cabo la unión del ligando co-cristalizado con la macromolécula y calcular el valor de RMSD o desviación de la raíz cuadrada media. El valor de RMSD ha sido utilizado a menudo para medir la calidad de reproducción de una pose de unión conocida mediante un método computacional como el docking. El valor de este parámetro debe encontrarse por debajo de 1.5 Å.

Para el caso de la m-AMSA, se calculó el valor de RMSD cual fue de 0.0 Å, esto indica que hay una buena reproducción de la pose correcta y por tanto que el acoplamiento está validado.

El *docking* de los compuestos de la serie **VII** se realizó con las moléculas en su forma protonada ya que, a pH fisiológico, es la especie predominante. Para elegir adecuadamente el modo de unión del compuesto se tomó en cuenta la energía libre de unión y el tamaño del clúster.



Tabla 14. Valores de energía libre de unión y tamaño de clúster de los compuestos de la serie VII.

Compuesto	ΔG (kcal/mol)	Tamaño del cluster	Compuesto	ΔG (kcal/mol)	Tamaño del cluster
VII a	-10.41	17	VII i	-12.12	28
VII b	-11.93	14	VII j	-12.05	18
VII c	-11.41	30	VII k	-12.49	28
VII d	-11.09	13	VII l	-12.83	25
VII e	-12.84	24	VII m	-11.27	37
VII f	-12.43	21	VII n	-11.39	17
VII g	-11.97	12	VII o	-12.14	12
VII h	-11.74	15	VII p	-10.86	16
m-AMSA	-11.20	38			

Tamaño del cluster/50

Los valores mostrados anteriormente señalan buena estabilidad en cuanto a la formación del complejo con la Topo II y el ADN, sin embargo no hay relación entre los valores de energía libre y la actividad citotóxica. Entre menor sea el valor de la energía libre el complejo formado será más estable y supondría una mejor actividad citotóxica, sin embargo, los compuestos **VII e** y **VII f** resultan ser poco activos. Posiblemente muestran el valor más bajo debido a los puentes de hidrógeno que forman los grupos OCH_3 del anillo de anilino.

En cuanto a las interacciones del complejo entre la m-AMSA, el ADN y la TopoII β , nos sirven como base para localizar los posibles sitios de unión entre la supuesta diana y las moléculas sintetizadas. En la Figura 35 podemos observar las principales interacciones intramoleculares del complejo TopoII-ADN-m-AMSA.

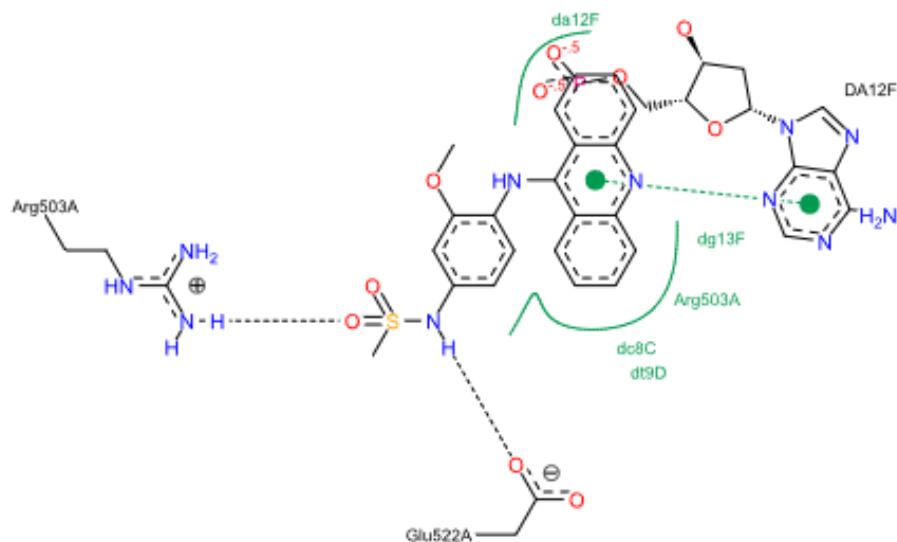


Figura 35. Interacción proteína-ligando (Topo II β -ADN-m-AMSA) en 2D usando PoseView⁵⁰

En cuanto a las interacciones obtenidas mediante el estudio de docking de los compuestos sintetizados, éstas se listan en la Tabla 15.

Tabla 15. Principales interacciones polares de los compuestos de la serie VII.

Compuesto	Interacciones polares
VII a	N-quinolina con O6-guanina 9-NH con O4-desoxirribosa NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII b	9-NH con Arg 503 NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII c	N-quinolina con O6-guanina 9-NH con O4-desoxirribosa NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII d	9-NH con Arg 503 NH(α) con O4-desoxirribosa y N9-guanina NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII e	OCH ₃ -anilino con Arg 503 N-quinolina con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII f	OCH ₃ -anilino con N7-adenina 9-NH con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII g	N-quinolina con O6-guanina 9-NH con O4-desoxirribosa NH(α) y NH(β) con po ₄ ²⁻
VII h	N-quinolina con O6-guanina 9-NH con O4-desoxirribosa N-tiazol con N9-guanina y PO ₄ ²⁻ NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻



Compuesto	Interacciones polares
VII i	N-quinolina con O6-guanina 9-NH con O4-desoxirribosa N-tiazol con N9-guanina y O4-desoxirribosa NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII j	N-quinolina con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII k	N-quinolina con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII l	N-quinolina con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII m	9-NH con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII n	9-NH con O6-guanina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII o	9-NH con O6-guanina OCH ₃ -anilino con N7-adenina NH(α) y NH(β) con PO ₄ ²⁻
VII p	9-NH con Arg 503 OCH ₃ -anilino con N2-guanina NH(α) con O4-desoxirribosa NH(β) con PO ₄ ²⁻
m-AMSA	NHSO ₂ CH ₃ con Glu 522 9-NH con Arg 503 NHOOCH ₃ con Arg 503

Como podemos observar, las principales interacciones de la cadena lateral son puentes de hidrogeno con los oxígenos de los grupos fosfato del ADN, mientras que el núcleo tricíclico se intercala entre las bases del ADN mediante interacciones de tipo π - π . Los compuestos que mantienen interacciones con residuos de la enzima son **VII b, d, e y p**, todos éstos interactúan mediante un puente de hidrogeno entre la Arginina 503 y el NH del anilino, a excepción del compuesto **VII e**, en el cual interacciona uno de los metoxilos del anillo de anilino.

A modo de ejemplo se ilustra en la Figura 36 el modo de unión del compuesto **VII i** al complejo Topo II-ADN.

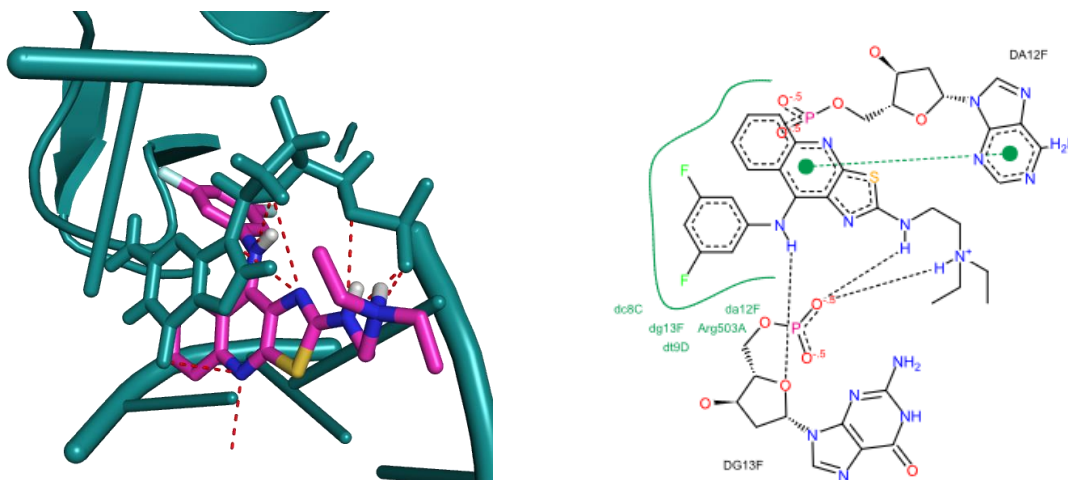


Figura 36. Modo de unión del compuesto VII i al complejo Topo IIβ-ADN usando Poseview.⁵⁰

6.7. Evaluación potenciométrica.

El concepto de pka de los fármacos y su relación con los procesos de absorción es de suma importancia en la práctica clínica, ya que el grado de ionización tiene una influencia muy grande sobre la absorción, distribución y eliminación del fármaco.

El pka de un fármaco es el pH al cual la sustancia tiene la mitad de sus moléculas ionizadas o disociadas y la otra mitad no disociada. En algunos casos sólo la forma ionizada del fármaco presenta actividad por lo que el pka es un factor importante.

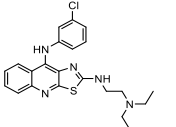
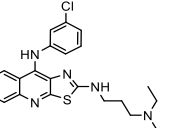
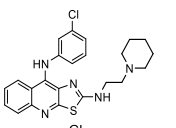
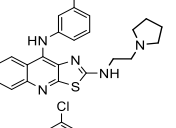
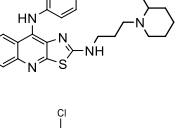
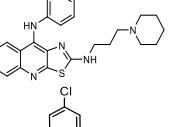
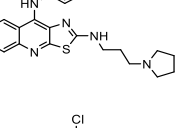
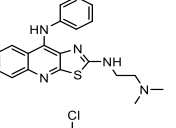
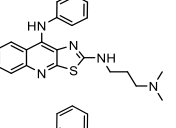
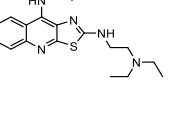
Siendo el pka de la molécula un factor tan significativo, se evaluó el pH de una solución de concentración conocida de los diversos compuestos, para establecer una posible correlación entre la basicidad del grupo amino terciario y la actividad citotóxica. La metodología empleada se describe en la sección 6.3.8.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 16; el pka de la molécula se calculó mediante los datos obtenidos experimentalmente así como utilizando el

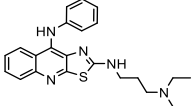
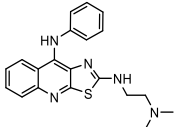
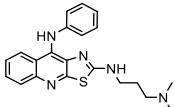


programa MarvinSketch, también se lista el índice de citotoxicidad de cada compuesto (*ICx*).

Tabla 16. Valores de pH, pka calculado y teórico del nitrógeno terciario terminal e índice de citotoxicidad relativo (*ICx*) de los derivados en las cuatro líneas celulares evaluadas.

Compuesto	pH exp.	$\alpha\%$	pka exp.	pka teórico*	<i>ICx</i> SW620	<i>ICx</i> SW480	<i>ICx</i> HeLa	<i>ICx</i> K562	
	VII' A	4.54	0.0067	8.7	9.16	0.97 ¹	1.63 ¹	1.04 ¹	1.93 ¹
	VII' B	8.37	0.000001	16.36	9.94	1.64 ¹	2.02 ¹	1.27 ¹	3.5 ¹
	VII' C	4.15	0.066	7.93	8.43	0.92 ²	2.17 ²	0.79 ²	1.87 ²
	VII' D	3.29	0.122	6.20	8.55	1.16 ²	1.80 ²	0.65 ²	3.50 ²
	VII' E	2.67	0.72	4.8	8.94	2.49 ²	2.87 ²	1.56 ²	3.96 ²
	VII' F	5.69	0.00095	10.71	8.68	0.36 ²	0.60 ²	0.17 ²	0.39 ²
	VII' G	8.27	1.18x10 ⁻⁶	16.19	8.80	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
	VII' H	3.29	0.085	6.35	8.61	0.89 ¹	0.37 ¹	0.37 ¹	0.43 ¹
	VII' I	1.99	2.47	3.59	9.40	1.41 ¹	1.07 ¹	0.74 ¹	0.58 ¹
	VII' J	7.5	5.27x10 ⁻⁴	12.77	9.16	0.77 ¹	1.24 ¹	0.6 ¹	0.73 ¹



Compuesto	pH exp.	$\alpha\%$	pka exp.	pka teórico*	ICx SW620	ICx SW480	ICx HeLa	ICx K562
 VII' K	8.0	3.12×10^{-5}	14.50	9.94	1.37 ¹	2.74 ¹	0.94 ¹	2.21 ¹
 VII' L	6.3	9.82×10^{-4}	11.30	8.61	0.13 ¹	S.A. ¹	S.A. ¹	S.A. ¹
 VII' M	6.9	2.37×10^{-4}	12.52	9.40	0.32 ¹	0.21 ¹	0.20 ¹	0.14 ¹

N.A. No evaluado. S.A. Sin actividad. * Obtenidos utilizando el programa MarvinSketch⁴⁸. ¹= Ref. 43. ²= Ref. 44.

6.7.1. Influencia del pka en la actividad biológica

6.7.1.1. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular SW620.

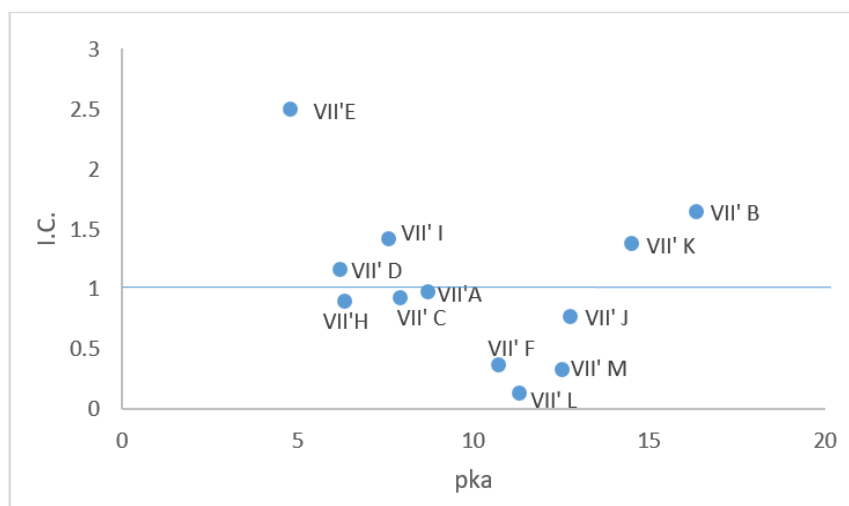


Figura 37. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular SW-620.

Podemos observar en la Figura 37 que los compuestos D, E, I, K y B presentan un valor de ICx mayor a 1, los compuestos B y K exhiben un pka de entre 14 y 16 aproximadamente y resultaron tener un ICx mayor que el de la referencia, estos compuestos tienen cadenas de tipo dietilaminopropilamino en la posición 2 del núcleo tricíclico. El compuesto B además posee un átomo de cloro en la posición 3'



del anillo de anilino, lo cual resalta la importancia de un grupo electroattractor en esta posición. El compuesto E tiene una amina cíclica (2-metil-piperidina), este compuesto es el que presenta el mayor IC_x .

Si bien todos los compuestos no presentan una correlación lineal, se observa una tendencia entre L, M, J, K, y B (Figura 38). Tanto el pK_a como el IC_x aumentan conforme aumenta la longitud de la cadena, el compuesto B además, presenta un átomo de cloro en la posición 3' del anillo de anilino. El aumento en el valor de pK_a se traduce en un aumento en la basicidad de la molécula, aparentemente esto da lugar a compuestos con mayor IC_x . Habría que analizar una colección de compuestos mayor para afirmar que la longitud de la amina en la posición 2 influye en la actividad citotóxica.

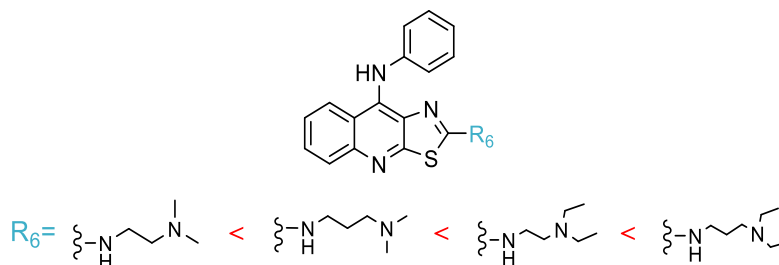


Figura 38. Relación entre la longitud de la cadena lateral, el pK_a y el IC_x .

6.7.1.2. Relación entre el pK_a y el IC_x en la línea celular SW480.

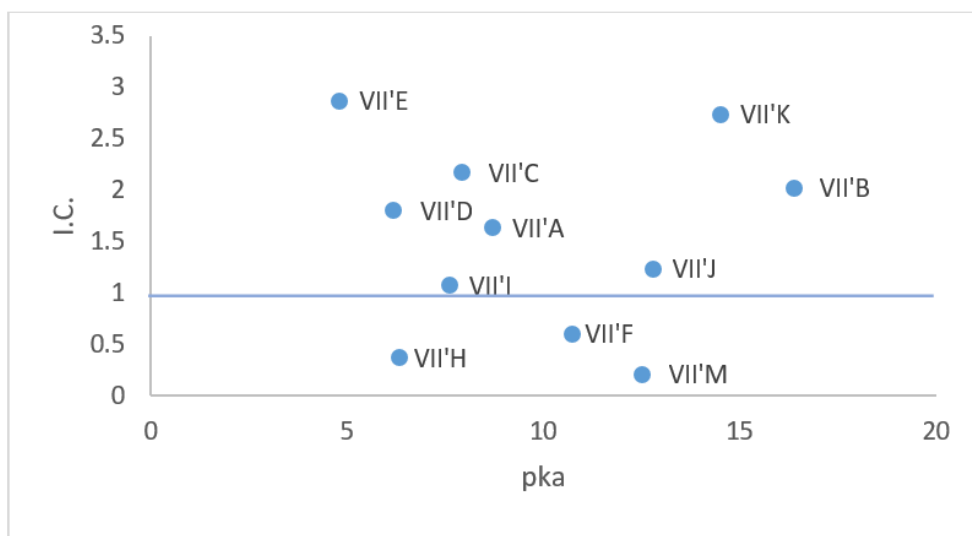


Figura 39. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pK_a en la línea celular SW480.



Para el caso de la línea celular SW480 (Figura 39), los compuestos que presentan un ICx mayor al de la m-AMSA son: E, D, C, I, A, J, K y B. Los compuestos J, B y K tienen un ICx mayor al de la referencia y además son los que poseen los mayores valores de pka , como podemos observar en la tabla 18, tienen cadenas de tipo dietilaminoalquilamino. Los compuestos C y D tienen en la posición 2 una amina aromática y aunque tienen un ICx alto con respecto a la referencia, el valor de pka se encuentra entre 6 y 8. El compuesto E muestra un valor de ICx cercano a 3, no obstante posee el menos valor de pka de toda la serie. En esta línea celular no se observa claramente una relación entre el pka del grupo amino terminal y el ICx . El compuesto G no fue evaluado y el compuesto L no mostro actividad.

6.7.1.3. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular K562.

En esta línea celular los compuestos B y K continúan presentando un mayor valor de pka , el compuesto B presenta un átomo de Cl en la posición dos del anillo de anilino confirmando el requerimiento estructural para el aumento en el ICx .

El compuesto E continua presentando el mayor valor de ICx sin embargo el valor de pka es el más bajo, este compuesto tiene una amina aromática. Se observa una tendencia similar a las de la línea celular SW620 en la cual se observa que el incremento en la longitud de la cadena lateral influye en los valores de pka obtenidos. El compuesto G no fue evaluado y el compuesto L no mostro actividad.

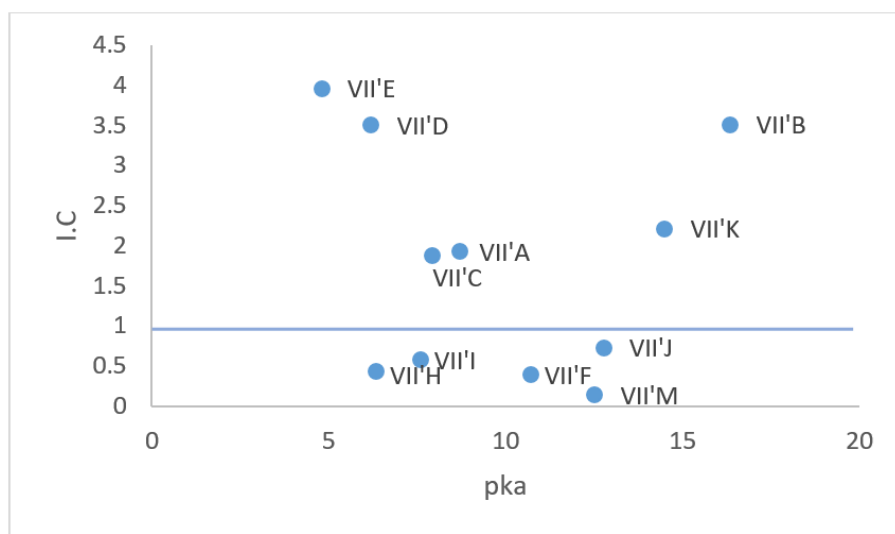


Figura 40. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular K562.



6.7.1.4. Relación entre el pka y el ICx en la línea celular HeLa.

En la línea celular HeLa podemos observar la misma tendencia (figura 41) que en las gráficas anteriores donde el compuesto E tiene el mayor ICx pero con el valor de pka menor y donde los compuestos k y B presentan los valores más altos de pka y valores de moderados a buenos de ICx. El compuesto G no fue evaluado y el compuesto L no mostro actividad.

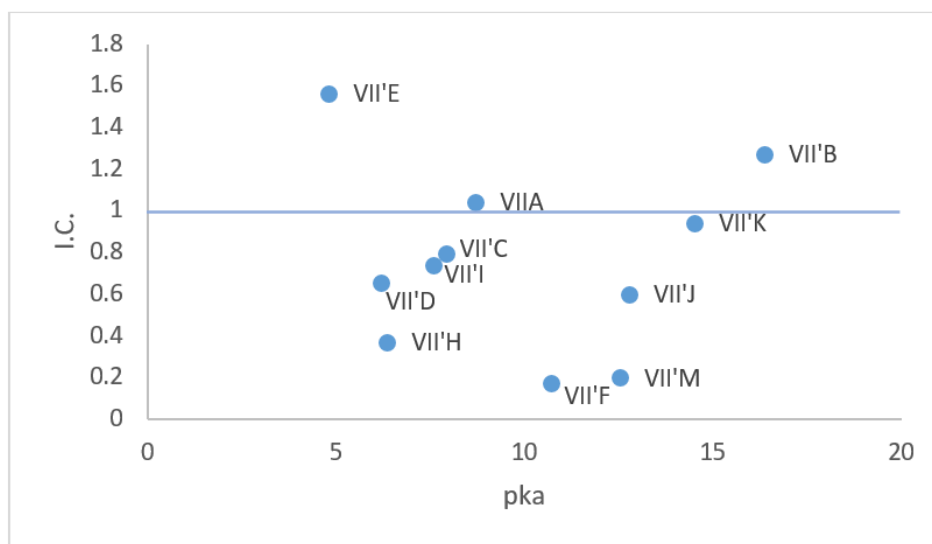


Figura 41. Relación entre el índice de citotoxicidad y el valor del pka en la línea celular HeLa.

Como se mencionó anteriormente si se analizan los compuestos únicamente en cuanto a la longitud de la cadena lateral podemos observar que, para algunos compuestos, el pka aumenta conforme lo hace el número de carbonos de la cadena lateral. Por lo tanto se buscó otra manera de correlacionar los compuestos.

Se trató de encontrar una correlación entre las moléculas que presentan un átomo de cloro en la posición 3' del anillo de anilino contra aquellas que no lo poseen. Sin embargo al analizar moléculas con un átomo de cloro en la posición 3' del anillo de anilino contra aquellas que no poseen sustituyentes se encuentra lo siguiente:



Tabla 17. Relación entre el pka y el ICx para compuestos de la serie VII'.

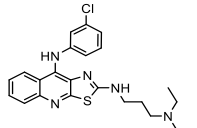
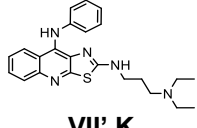
Compuesto	pka	ICx SW620	ICx SW480	ICx HeLa	ICx K562
 VII' I	7.60	1.41	1.07	0.74	0.58
 VII' M	12.52	0.32	0.21	0.20	0.14

Ambos compuestos presentan una cadena de tipo dimetilaminopropilamino en la posición 2 del anillo tricíclico sin embargo el valor de pka del compuesto M es mayor que el del compuesto VII' I, lo que indica que la cadena lateral del compuesto VII' M tiene un carácter más básico. Pese a lo anterior, el compuesto con mayor ICx es el I

El átomo de cloro podría influir en la basicidad de la molécula, probablemente al ser un átomo electronegativo mayor será su capacidad para adquirir una carga negativa, lo que dará lugar a un ácido más fuerte y por lo tanto a un menor valor de pka.

Con los compuestos VII'H, L, A y J ocurre algo similar ya que en este par de compuestos se observa una relación similar a los compuestos anteriores. Aquel que posee un átomo de cloro sobre el anillo de anilino tiene un valor menor de pka y mayores valores en cuanto ICx en todas las líneas celulares. Los compuestos VII' B y VII' K se analizan a continuación:

Tabla 18. Relación entre el pka y el ICx para compuestos de la serie VII'.

Compuesto	pka	ICx	ICx	ICx	ICx
		SW620	SW480	HeLa	K562
 VII' B	16.36	0.97 ¹	1.63 ¹	1.04 ¹	1.93 ¹
 VII' K	14.50	1.37 ¹	2.74 ¹	0.94 ¹	2.21 ¹



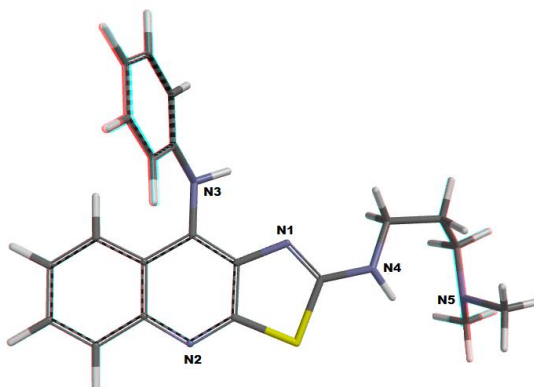
En este caso el valor de pka del compuesto VII' K es menor que el del compuesto VII' B sin embargo estos valores no difieren tanto como en los compuestos anteriores. En cuanto a valores de IC_x resultan mejor los del compuesto VII'K aunque no posee el átomo de cloro en el anillo de anilino. Probablemente se necesitaría realizar cálculos específicos para saber si el átomo de cloro llega a influir en la basicidad de la cadena lateral, así como una mayor colección de compuestos.

6.7.2. Obtención de carga electrostática para compuestos de la serie VII'.

Para encontrar una mejor correlación entre la estructura de las moléculas y el pka fue necesario calcular la carga electrostática de los átomos de nitrógeno presentes en la molécula, particularmente de los nitrógenos de la cadena lateral.

Primeramente se realizó el análisis conformacional por un protocolo de búsqueda sistemática utilizando el campo de fuerza de mecánica molecular (MMFF), posteriormente se efectuó la determinación del conformero más estable utilizando la energía y la distribución de Boltzman. Una vez elegido el conformero más estable se optimizó su geometría mediante un método semiempírico PM3 y se obtuvieron los valores de las cargas electrostáticas. En la tabla 19 se muestran los valores obtenidos de dicho descriptor.

Tabla 21. Cargas electrostáticas en los átomos de nitrógeno de los compuestos de la serie VII' en su forma neutra.





Compuesto	N1	N2	N3	N4	N5
VII' a	-0.562	0.549	-0.575	-0.438	-0.219
VII' b	-0.607	-0.540	-0.568	-0.468	0.086
VII' c	-0.560	-0.547	-0.588	-0.423	-0.176
VII' d	-0.544	-0.550	-0.581	-0.368	-0.294
VII' e	-0.592	-0.543	-0.563	-0.427	0.192
VII' f	-0.587	-0.543	-0.568	-0.413	0.169
VII' g	-0.612	-0.534	-0.573	-0.431	0.076
VII' h	-0.548	-0.542	-0.587	-0.425	-0.145
VII' i	-0.593	-0.536	-0.572	-0.466	-0.151
VII' j	-0.555	-0.552	-0.578	-0.412	-0.227
VII' k	-0.581	-0.547	-0.586	-0.477	-0.358
VII' l	-0.509	-0.559	-0.601	-0.435	-0.045
VII' m	-0.571	-0.545	-0.596	-0.454	-0.112

A grandes rasgos, las cargas electrostáticas el átomo de Nitrógeno 5 muestran variaciones debido a que cada compuesto presenta un sustituyente distinto en la posición 2. El nitrógeno 4 también presenta valores altos si se comparan con los valores obtenidos por los nitrógenos 1, 2 y 3, esto por efecto del sustituyente.

Algunos de los valores del nitrógeno 5 son positivos (**VII' B, E, F y G**) esto es debido a la conformación que adopta la cadena lateral, es decir, si la cadena adopta una forma de gancho es posible la formación de un puente de hidrogeno intramolecular entre el nitrógeno β y el nitrógeno α (Figura 42).

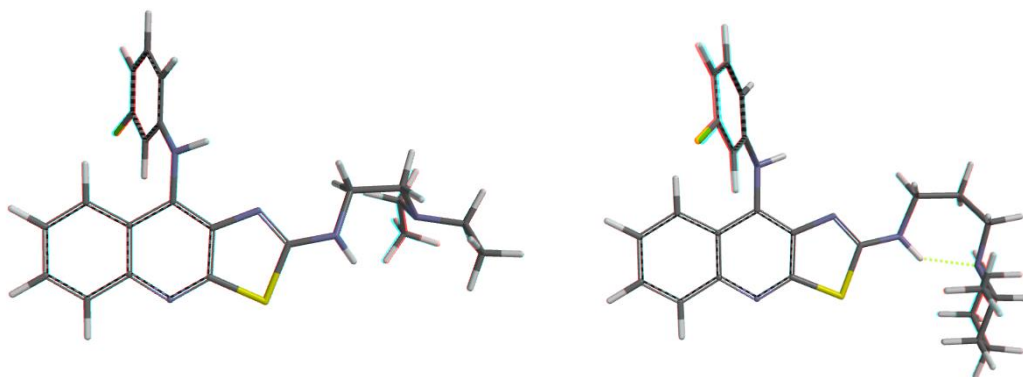


Figura 42. Conformación de la cadena lateral en el compuesto VII' A (izquierda) y VII' D (derecha).

Sin embargo al relacionar la carga del N5 con los valores de pka observamos lo siguiente:



Tabla 20. Valores de pka y carga electrostática del nitrógeno 5 en la serie VII'.

Compuesto	N5	pka
VII' a	-0.219	8.7
VII' b	0.086	16.36
VII' c	-0.176	7.93
VII' d	-0.294	6.20
VII' e	0.192	4.8
VII' f	0.169	10.71
VII' g	0.076	16.19
VII' h	-0.145	6.35
VII' i	-0.151	3.59
VII' j	-0.227	12.77
VII' k	-0.358	14.50
VII' l	-0.045	11.30
VII' m	-0.112	12.52

De los compuestos que presentan valores positivos de las cargas electrostáticas del nitrógeno 5 se puede observar que el pka aumenta conforme disminuyen los valores de la carga del N5, siendo el compuesto VII' B el que resalta más entre estos cuatro (pka= 16.36 y eN5= 0.086)

Este posee una cadena de tipo *N, N*-dietilaminopropilamino en la posición 2 y un átomo de cloro en la posición 3'. Probablemente se requeriría de una serie más amplia de compuestos los cuales posean grupos electroattractores sobre el anillo de anilino así como cadenas laterales con cierta longitud.



7. Metodologías.

7.1. Materiales y métodos.

Las materias primas que se utilizaron para la síntesis fueron adquiridas de manera comercial en grado reactivo por medio de Sigma-Aldrich®.

La evaporación de los disolventes se realizó en un evaporador rotatorio marca IKA HB10 Basic. Para la destilación a presión reducida se ocupó una bomba para vacío marca FELISA modelo FE-1405 con capacidad máxima de 0.1 mmHg.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no se encuentran corregidos.

Los espectros de Infrarrojo se registraron en un espectro de FT-IR/ FT-FIR *spectrum 400* de Perkin Elmer mediante la técnica de reflectancia atenuada (ATR) con un accesorio universal *ATR Sampling* de Perkin Elmer; las unidades se reportan en cm^{-1} .

Los espectros de RMN ^1H fueron realizados en un equipo Varian-MR (400MHz) en el laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI), de la Facultad de Química de la UNAM. Se usó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna y como disolvente dimetilsulfoxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$).

7.2. Análisis cromatográfico.

El avance de reacción, así como la pureza de los compuestos obtenidos fueron analizados por medio de cromatografía en capa fina analítica CCF en placas recubiertas con gel de sílice 60 F_{254} (Aldrich).

Las placas fueron reveladas por medio de una lámpara de luz ultravioleta a las longitudes de 254 y 365 nm. También se utilizaron vapores de yodo como agente revelador.

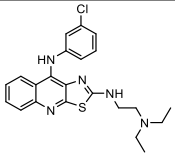
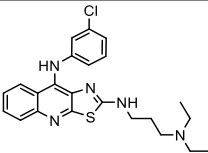
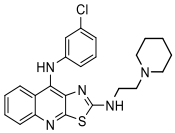
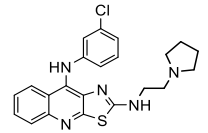
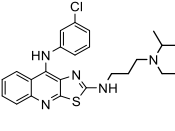
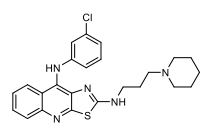
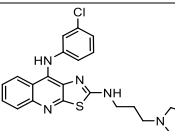
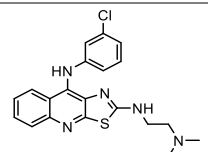
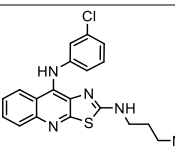
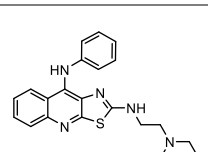
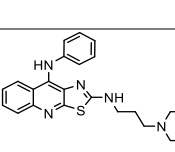
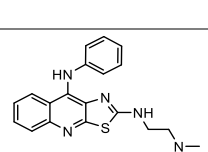
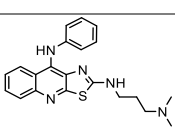


7.3 Evaluación del pKa de los derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina.

La determinación de los valores de pKa del nitrógeno terciario de la cadena lateral de los diversos derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina fue realizada por el Dr. Alejandro Baeza Reyes, del laboratorio de microelectroquímica analítica de la Facultad de Química de la UNAM.

Se prepararon disoluciones de los compuestos mezclando una masa conocida con 0.5 mL de metanol RA, tal como se muestra en la Tabla 21.

Tabla 21. Concentraciones de las disoluciones preparadas.

Compuesto	Estructura	Masa (g)	C (mol/L)	Compuesto	Estructura	Masa (g)	C (mol/L)
VIIa' A		0.0106	0.4206	VIIb' B		0.0110	0.4224
VIIc' C		0.0112	0.4272	VIIId' D		0.0107	0.4217
VIIe' E		0.0080	0.2950	VIIg' F		0.0058	0.2139
VIIh' G		0.0119	0.4529	VIIi' H		0.0143	0.6005
VIIj' I		0.0110	0.4137	VIIk' J		0.0011	0.006
VIII' K		0.0064	0.032	VIIIm' L		0.0091	0.051
VIIIn' M		0.0099	0.053				



Posteriormente se determinó el pH potenciométricamente utilizando un microsensor de estado sólido de W (Aldrich®) y un microsensor de referencia de Ag-KCl. Se calibró utilizando disoluciones decimoles estándar de pH conocido en metanol, HClO₄, ácido salicílico, ácido oxálico, y nitrato de amonio. Los resultados de las mediciones anteriores se presentan en la tabla 18, sección 6.7.

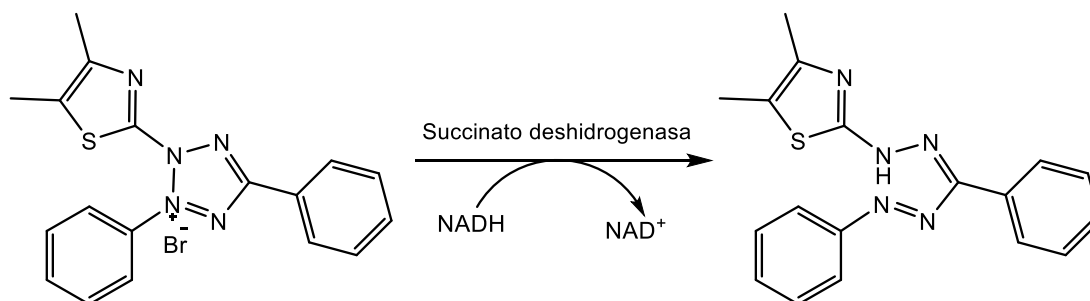
7.4. Evaluación de la actividad citotóxica.

Los ensayos de la actividad citotóxica fueron realizados por el M. en C. José Solano Becerra del Departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM.

Los compuestos se evaluaron sobre un panel de cuatro líneas celulares:

- HeLa (cáncer cervicouterino)
- K-562 (leucemia mielógena humana)
- SW620 y SW480 (adenocarcinoma colorrectal)

Se utilizó un ensayo dosis respuesta gradual (1, 10, 30, 60 y 100 μM) mediante el método MTT. El fundamento de éste es que el MTT o Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol se reduce a formazán a nivel mitocondrial sólo cuando las reductasas mitocondriales están activas; dependerá, por lo tanto, directamente del número de células viables (*Figura 43*). Posteriormente, el formazán se solubiliza y se obtiene una solución de color azul-violeta determinándose su concentración por colorimetría con un espectrofotómetro.



Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

Formazán

Figura 43. Reducción del MTT a formazán mediante la enzima succinato deshidrogenasa.

Las determinaciones se realizaron a 48 horas de exposición *in vitro*, obteniéndose así una CI_{50} , la cual representa el promedio de tres experimentos independientes \pm la desviación estándar.



7.5. Modelado molecular.

Se realizó el cálculo de propiedades electrónicas de la serie de los compuestos novedosos en su forma protonada. Las moléculas se construyeron a partir de fragmentos convencionales y se pre-optimizó su geometría. El análisis conformacional fue llevado a cabo utilizando MMFF como campo de fuerza. Los enlaces sp^3 de la molécula fueron rotados cada 30° .

Para obtener una correcta correlación entre estructura y actividad, el conformero más estable fue elegido dependiendo del valor de energía y distribución de Boltzman. La geometría del conformero más estables fue optimizada con el método semiempírico PM3. Posteriormente se obtuvieron parámetros como la energía de formación, energía de los orbitales de frontera (HOMO y LUMO), momento dipolar, área molecular, volumen molecular, área polar superficial (PSA), ovalidad y log P.

7.6. Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR)

Los descriptores obtenidos en el estudio de modelado molecular fueron analizados con el programa Build-QSAR en cada línea celular evaluada. La variable dependiente fue el IC_{50} a la Amsacrina. Los modelos QSAR[®] se generaron con el método de regresión lineal múltiple.

7.7. Estudio de acoplamiento molecular (Docking)

El acoplamiento molecular se llevó a cabo mediante el programa AutoDockTools, se realizaron estudios de acoplamiento al homodímero de la topoisomerasa 2 β humana en complejo con la m-AMSA y el DNA. La estructura del complejo se obtuvo de Protein Data Bank (ID: 4G0U). Las moléculas de agua, los ligantes y los iones Mg^{2+} fueron removidos y mediante la interfaz gráfica AutoDockTools-1.5.6 (ADT) se adicionaron hidrógenos no polares, se detectaron centros de torsión y enlaces rotables.



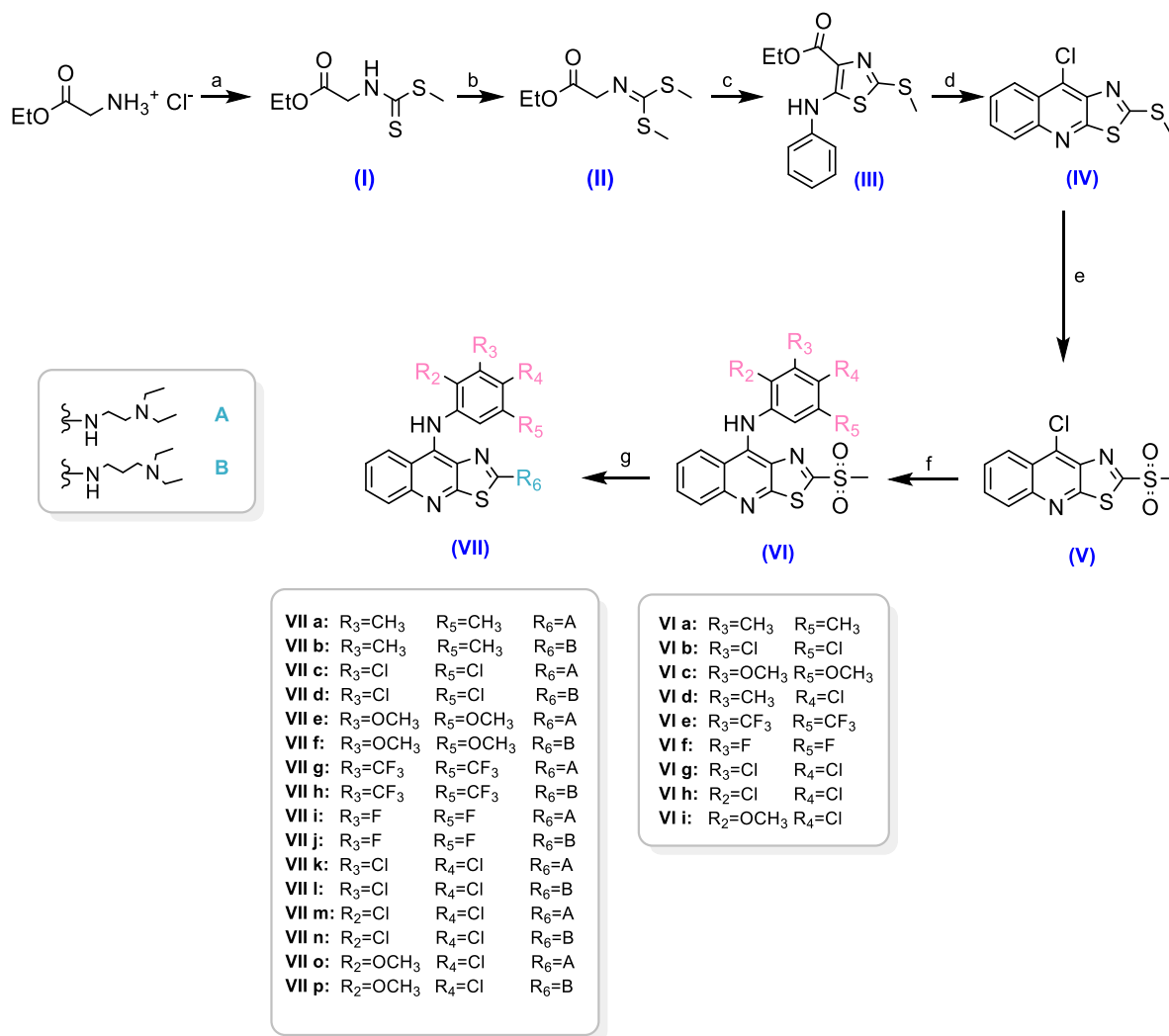
Los ligantes fueron preparados y guardados en formato MOL2. Posteriormente, el acoplamiento molecular se llevó a cabo con ADT, se generaron las mallas de búsqueda las cuales eran de 60x60x60 Å. Las coordenadas del sitio de unión de la m-AMSA fueron utilizadas para centrar la rejilla preestablecida, se empleó un Algoritmo genético Lamarckiano como método de búsqueda con un tamaño de población de 150, 2.5×10^6 evaluaciones y 50 corridas.

Las conformaciones fueron seleccionadas de acuerdo la energía libre de unión y al tamaño del *cluster*. La visualización se realizó con el programa PyMol versión 1.8. La validación del método consistió en la unión del ligando co-cristalizado con la macromolécula y finalmente se calculó el valor de RMSD



7.8. Metodología sintética

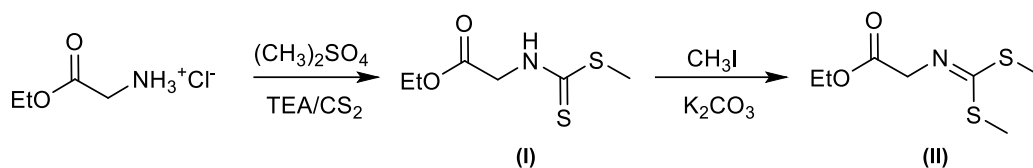
La ruta sintética que se aplicó para la obtención de los compuestos propuestos se indica en el Esquema 1.



Esquema 1. a) 1. CS_2/TEA , 40°C ; 2. MeI, reflujo. b) MeI/ K_2CO_3 , acetona, reflujo. c) 1. *t*-BuOK/THF anhidro, -75°C ; 2. $\text{C}_6\text{H}_5\text{-NCS}$, -75°C , temp. ambiente. d) PPA/ POCl_3 , $130\text{-}135^\circ\text{C}$. e) H_2O_2 , AcOH, Na_2WO_4 f) $\text{NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{R}$, HCl cat, DMSO/temp. ambiente g) amina/DMF, temp. ambiente.



7.8.1. *N*-[(Etoxicarbonil)metil] iminoditiocarbamato de dimetilo (II).



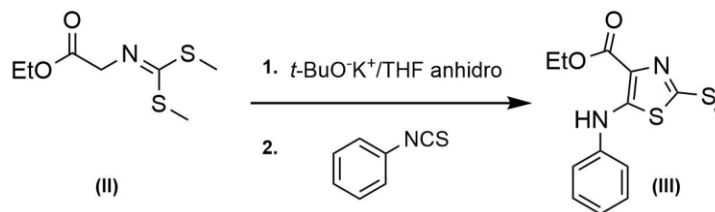
En un matraz de tres bocas, acondicionado con termómetro, embudo de adición y refrigerante, se mezclaron 200 mL de cloroformo con 50 g (0.361 mol) de clorhidrato de glicinato de etilo. La suspensión se agitó vigorosamente hasta disolución total por medio de agitación mecánica. Posteriormente, se adicionaron 83.5 mL (0.75 mol) de trietilamina, seguido de la adición de 21.6 mL (0.361 mol) de disulfuro de carbono. La mezcla de reacción fue calentada a 40 °C durante una hora.

Transcurrido ese tiempo se adicionaron 34 mL (0.353 mol) de sulfato de dimetilo a la mezcla de reacción. El sistema se mantuvo bajo agitación y calentamiento durante una hora más y posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con agua destilada. Se separó la fase orgánica y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniendo un líquido viscoso color amarillo (compuesto I).

El líquido obtenido se diluyó en acetona y se colocó en un matraz de tres bocas acondicionado de la forma que se indicó previamente. A esta mezcla fue añadida, por goteo, una solución de 48 g de carbonato de potasio en 38 mL de agua. Posteriormente, se añadieron 22 mL (0.353 mol) de yoduro de metilo y la mezcla se calentó a 40°C durante 3 horas. Pasado este tiempo, se retiró la mezcla de reacción del sistema de calentamiento y se dejó enfriar a temperatura ambiente manteniendo la agitación durante 18 horas. Trascurrido este tiempo, se concentró la mezcla a presión reducida, obteniendo nuevamente un líquido viscoso color ámbar de consistencia oleosa. Dicho líquido se purificó por destilación a presión reducida y se colectó la fracción que destiló entre 145-160 °C. Se obtuvieron 68 g (0.328 mol) (90.9%) de un aceite incoloro (compuesto II) el cual se torna amarillo por la exposición a la luz, con un *R_f* de 0.55 (sistema Hexano/Acetato de etilo 8:2)



7.8.2. 4-(Etoxicarbonil)-5-(fenilamino)-2-(metiltio)tiazol (III)

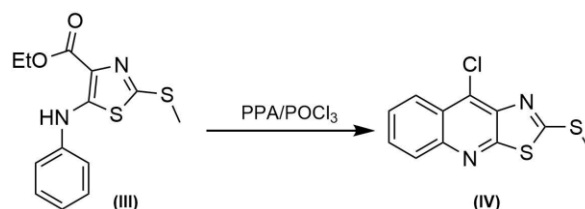


En un matraz bola de tres bocas Ace tipo europeo, acondicionado con un termómetro para bajas temperaturas, condiciones anhidras y atmósfera de nitrógeno, se mezclaron 6.34 g (56.6 mmol) de *tert*-butoxido de potasio con 200 mL de tetrahidrofurano anhidro. La suspensión formada se enfrió a -75°C mediante un baño de hielo seco-acetona. A continuación, se transfirió una disolución de 8 g del compuesto II en 25 mL (38.64 mmol) de tetrahidrofurano anhidro por goteo y mediante una cánula. Al concluir la adición se dejó agitar durante 90 minutos la solución, manteniendo la temperatura a -75°C . Posteriormente, se añadió una disolución de 4.8 mL (38.64 mmol) de fenilisotiocianato en 15 mL de tetrahidrofurano anhidro por goteo y mediante una cánula, manteniendo la temperatura a -75°C . La agitación se mantuvo durante 50 minutos más y se retiró el sistema de enfriamiento.

Al acercarse la temperatura a -10°C , se formó un precipitado amarillo. La suspensión formada se dejó bajo agitación magnética durante 16 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, la suspensión se vertió lentamente en 1600 mL de agua con agitación constante, formándose un precipitado blanco, el cual se colectó mediante filtración al vacío. El crudo se recristalizó con etanol, obteniendo un sólido blanco cristalino, el cual se colectó y secó por filtración al vacío. Se obtuvieron 10.5 g (36 mmol, 93.3%) del compuesto III, con un punto de fusión de 160°C , y un R_f de 0.64 (sistema Hexano/Acetato de etilo 8:2).



7.8.3. 9-cloro-2-(metiltio)tiazolo[5,4-*b*]quinolina (IV)

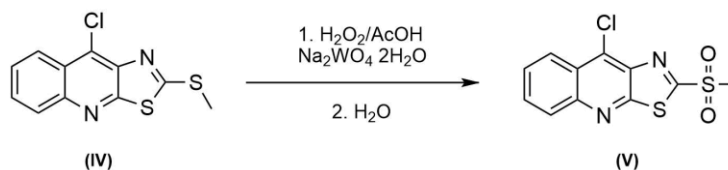


En un matraz bola de una boca, acondicionado a reflujo y con trampa de humedad, se adicionaron 710 mg de ácido polifosfórico, 2.94 g (10 mmol) del compuesto **III**, y 3 mL (11.7 mmol) de oxiclورو de fósforo. Se calentó la mezcla de reacción hasta una temperatura de 120-125°C y se mantuvo a esa temperatura y bajo agitación mecánica durante cuatro horas. Transcurrido ese tiempo, se añadieron 10 mL de etanol frío a la mezcla de reacción, formándose un precipitado color amarillo oscuro. La suspensión se vertió sobre 100 mL de agua y se neutralizó empleando una solución saturada de bicarbonato de sodio.

Se filtró a vacío el precipitado amarillo de la suspensión por medio de filtración al vacío. El sólido obtenido se recristalizó con metanol obteniendo 1.6 g (6 mmol, 60%) del compuesto **IV**, con un punto de fusión de 184-186°C y un R_f de 0.72 (sistema Hexano/Acetato de etilo 8:2).



7.8.4. 9-cloro-2-(metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4-*b*]quinolina (V)

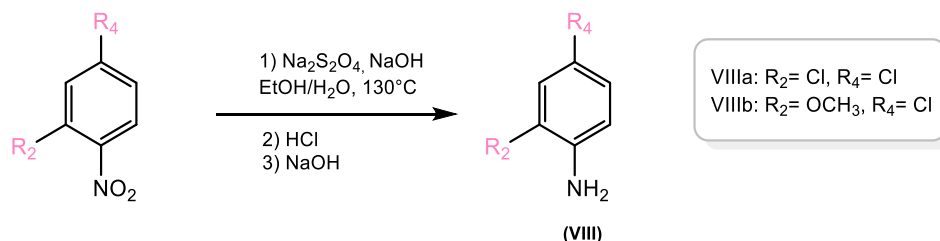


En un matraz de fondo redondo de una boca se suspendieron 0.3 g (1.12 mmol) del compuesto **IV** en 3 mL de ácido acético glacial, a continuación, se añadieron 20 mg de tungstato de sodio dihidratado y se agitó la mezcla durante 15 minutos.

Transcurrido ese tiempo se añadieron, por goteo, 4 mL de peróxido de hidrógeno al 30 % y se mantuvo la reacción bajo agitación magnética vigorosa y a temperatura ambiente. El avance de la reacción se monitoreo mediante CCF. Al observar que la materia prima se consumió por completo, se vertió la suspensión en 30 mL de una mezcla agua-hielo y se mantuvo en agitación constante. El precipitado formado se neutralizó utilizando una solución de bicarbonato de sodio concentrada, se separó y secó por filtración al vacío, obteniendo 0.280 g (0.63 mmol, 93 %) del compuesto (V) con un punto de fusión de 206° C y un R_f de 0.90 (sistema cloroformo/metanol 9:1).



7.8.5. Método general para la obtención de anilinas disustituidas (VIIIa-VIIh).



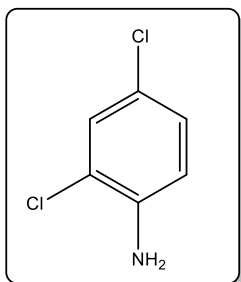
Para la síntesis de los compuestos de la serie **VI** se requirió de la preparación de algunas anilinas, ya que no se encontraban disponibles comercialmente.

En un matraz de una boca se colocaron 1 mmol del nitrocompuesto correspondiente y 6 mmol de hidrosulfito de sodio, se suspendieron con 5 ml de una mezcla etanol-agua-NaOH. La mezcla de reacción se calentó hasta 130°C durante una hora. El avance de reacción se monitoreo mediante CCF (sistema III).

Al término de la reacción, ésta se dejó enfriar y se ajustó el pH a 2 con una solución al 10% de HCl, se filtró el precipitado formado y se recuperaron las aguas madres, las cuales se llevaron a un pH de 8 utilizando una solución de NaOH al 10%. El precipitado se filtro y secó a presión reducida.



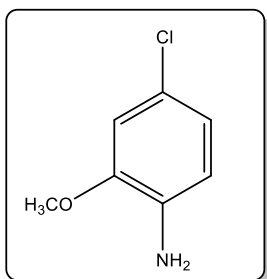
2,4-dicloroanilina (**VIII a**)



Se siguió la metodología descrita en la sección 7.3.5. utilizando el compuesto correspondiente (192 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 146 mg (0.9 mmol, 90%) del compuesto **VIII a**, el cual son cristales cafes. **Punto de fusión:** 239 °C. **R_f:** 0.55 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2).

(Espectro 1) **IR (ATR, cm⁻¹):** 3418, 3320, 809 (**AR-NH₂**) 3237, 3190, 2957, 2926, 1870, 1728, 1619, 1428, (**aromáticos**).

4-cloro-2-metoxianilina (**VIII b**)

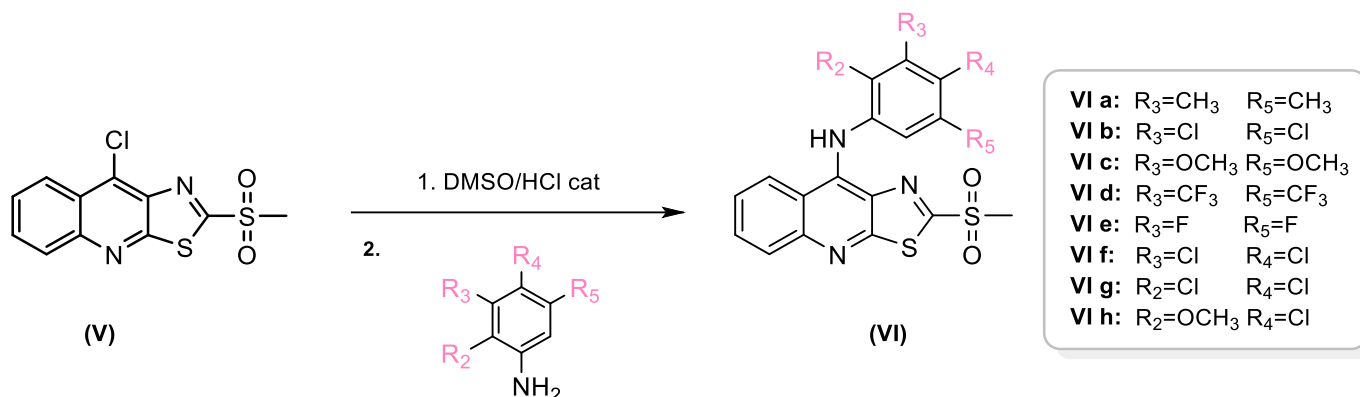


Se siguió la metodología descrita en la sección 7.3.5. utilizando el compuesto correspondiente (188 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 139 mg (0.88 mmol, 88%) del compuesto **VIII a**, el cual son cristales cafes. **Punto de fusión:** 126 °C. **R_f:** 0.53 (sistema Hexano/Acetato de Etilo

8:2). (Espectro 2) **IR (ATR, cm⁻¹):** 3435, 3305, 809 (**AR-NH₂**), 3186, 3017, 2962, 2931, 2909, 2836, 1814, 1730, 1614, 1585, 1462, 1441 (**aromáticos**); 1226 (**O-CH₃**)

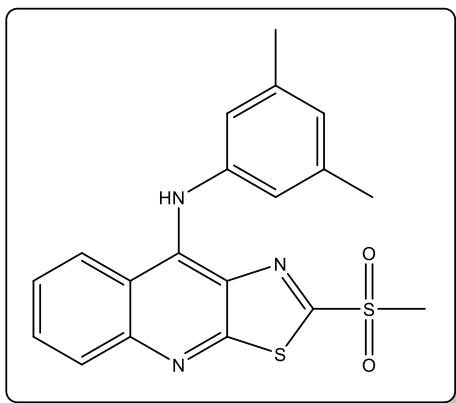


7.8.6. Método general para la obtención de derivados de 9-anilino-2-(metilsulfonil)[1,3]tiazolo[5,4-*b*]quinolina.

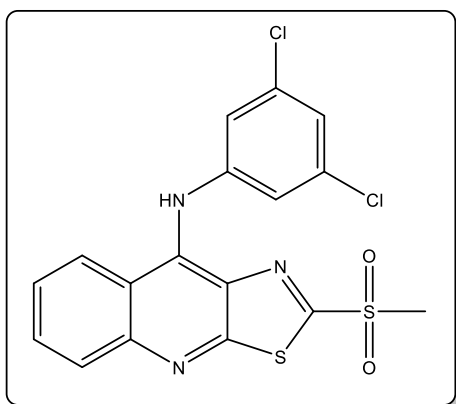


En un matraz de fondo redondo de una boca se suspendieron 1 mmol (300 mg) del compuesto (**V**) en 5 mL de DMSO, se añadieron 3 gotas de ácido clorhídrico al 10 % y se dejó agitando la mezcla durante 15 minutos. Posteriormente, se añadieron 0.75 mmol de la anilina con el patrón de sustitución deseado y se dejó la mezcla de reacción agitando vigorosamente a temperatura ambiente durante un periodo de 4 a 6 horas, dependiendo de la anilina usada. El avance de reacción se monitoreo por medio de CCF (sistema Hexano/Acetato de etilo 8:2).

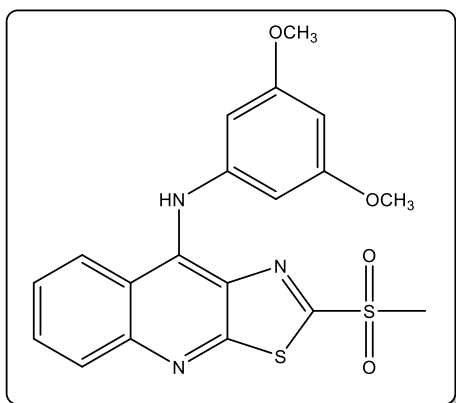
Una vez terminada la reacción, se vertió sobre 30 ml de una mezcla hielo-agua formándose un precipitado amarillo. El precipitado formado se filtró a vacío, se lavó con agua destilada y se secó por succión.

9[(3,5-dimetilfenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (**VI a**)

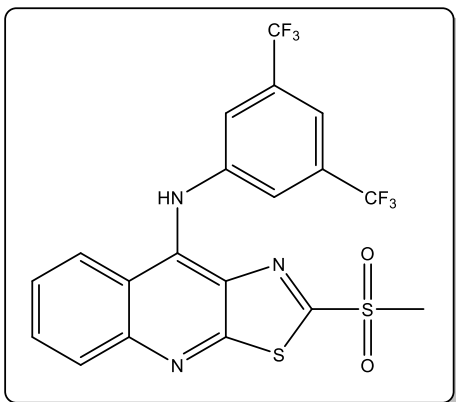
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 358.1 mg (0.93 mmol, 93%) del compuesto **VI a**, el cual es un sólido amarillo oscuro. **Punto de fusión:** 231 °C. **Rf:** 0.85 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 1):** 3373 (N-H), 3061, 3027, 3004, 2918, 2857 (C-H sat. e insat.), 1610, 1599, 1578, 1560, 1534, 1490 (aromáticos), 1312, 1148 (SO₂CH₃), 752 (C-S-C).

9[(3,5-diclorofenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (**VI b**)

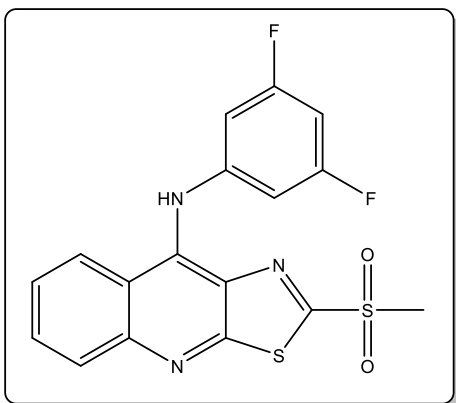
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 383.5 mg (0.90 mmol, 90%) del compuesto **VI b**, el cual es un sólido amarillo claro. **Punto de fusión:** 225 °C. **Rf:** 0.87 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 2):** 3376 (N-H), 3086, 3049, 3015, 2593, 2919, 2850, (C-H sat. e insat.), 1617, 1594, 1573, 1551, 1520, 1485 (aromáticos), 1309, 1141 (SO₂CH₃), 752 (C-S-C).

9[(3,5-dimetilfenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (**VI c**)

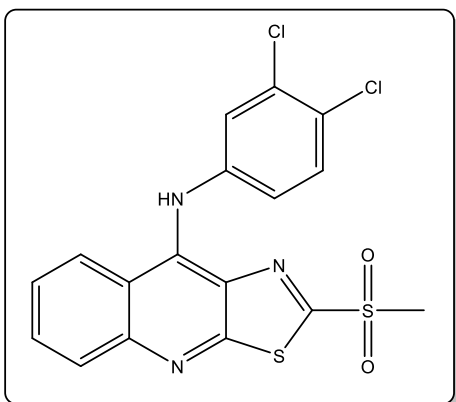
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 384 mg (0.92 mmol, 92%) del compuesto **VI c**, el cual es un sólido amarillo oscuro. **Punto de fusión:** 243 °C. **Rf:** 0.85 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 3):** 3376 (N-H), 3066, 3007, 2995, 2922, 2847 (C-H sat. e insat.), 1599, 1578, 1559, 1539, 1493 (aromáticos), 1301, 1140 (SO₂CH₃), 752 (C-S-C).

9[(3,5-ditri fluorometilfenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (**VI d**)

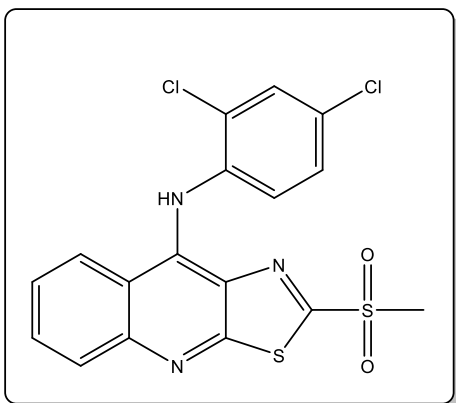
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 441 mg (0.90 mmol, 90%) del compuesto **VI d**, el cual es un sólido naranja claro. **Punto de fusión:** 245°C. **Rf:** 0.86 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 4):** 3371 (N-H), 3077, 3036, 3015, 2956, 2921, 2850 (C-H sat. e insat.), 1619, 1604, 1579, 1559, 1530 (aromáticos), 1304, 1142 (SO₂CH₃), 754 (C-S-C).

9[(3,5-difluorofenil)]amino-2-(metilsulfonyl)thiazolo[5,4-*b*]quinolina. (VI e)

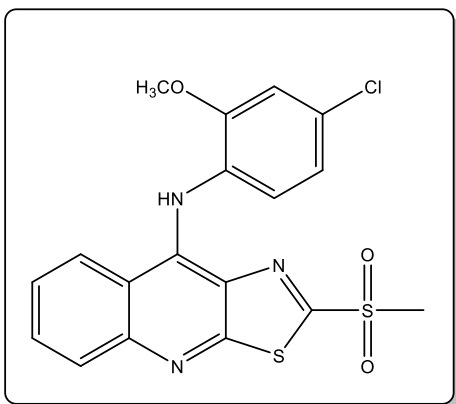
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 346mg (0.88 mmol, 88%) del compuesto **VI e**, el cual es un sólido amarillo claro. **Punto de fusión:** 229°C. **R_f:** 0.83 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 5):** 3370 (N-H), 3077, 3037, 3015, 2931 (C-H sat. e insat.), 1621, 1603, 1579, 1556, 1528 (aromáticos), 1304, 1141 (SO₂CH₃), 754 (C-S-C).

9[(3,4-diclorofenil)]amino-2-(metilsulfonyl)thiazolo[5,4-*b*]quinolina. (VI f)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 379mg (0.89 mmol, 89%) del compuesto **VI a**, el cual es un sólido amarillo claro. **Punto de fusión:** 237°C. **R_f:** 0.84 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 6):** 3371 (N-H), 3004, 3022, 2954, 2921, 2851 (C-H sat. e insat.), 1618, 1595, 1570, 1553, 1517, 1486 (aromáticos), 1310, 1140 (SO₂CH₃), 750 (C-S-C).

9[(2,4-diclorofenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (VI g)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 379mg (89 mmol, 89%) del compuesto **VI g**, el cual es un sólido amarillo oscuro. **Punto de fusión:** 241°C. **R_f:** 0.85 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 7):** 3368 (N-H), 3051, 3025, 3022, 2911 (C-H sat. e insat.), 1631, 1603, 1554, 1513, 1487, 1458 (aromáticos), 1322, 1141 (SO₂CH₃), 756 (C-S-C).

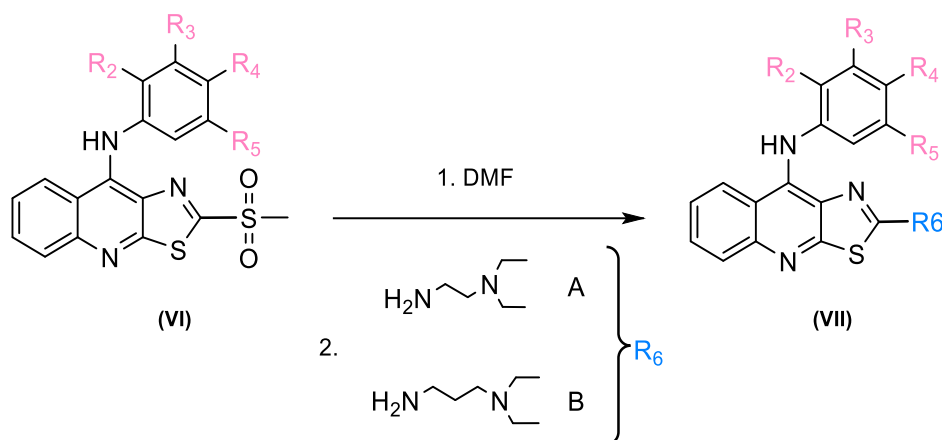
9[(2-metoxi,4-clorofenil)]amino-2-(metilsulfonil)tiazolo[5,4-*b*]quinolina. (VI h)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **V** (300 mg, 1 mmol). Del compuesto final se obtuvieron 358 mg (0.85 mmol, 85%) del compuesto **VI a**, el cual es un sólido amarillo oscuro. **Punto de fusión:** 235°C. **R_f:** 0.87 (sistema Hexano/Acetato de Etilo 8:2). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 8):** 3370(N-H), 3064, 3005, 2913, 2858 (C-H sat. e insat.), 1618, 1595, 1550, 1495

(aromáticos), 1311, 1147 (SO₂CH₃), 750 (C-S-C).

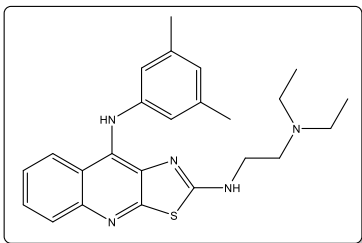


7.8.7. Síntesis de derivados de 2-[2-(*N,N*-dietilamino)etilamino]-9-anilino-5,4-*b*]quinolizina y de 2-[2-(*N,N*-dietilamino)propilamino]-9-anilino-5,4-*b*]quinolizina. (VIIa -VIIm).



VII a:	R ₃ =CH ₃	R ₅ =CH ₃	R ₆ =A
VII b:	R ₃ =CH ₃	R ₅ =CH ₃	R ₆ =B
VII c:	R ₃ =Cl	R ₅ =Cl	R ₆ =A
VII d:	R ₃ =Cl	R ₅ =Cl	R ₆ =B
VII e:	R ₃ =OCH ₃	R ₅ =OCH ₃	R ₆ =A
VII f:	R ₃ =OCH ₃	R ₅ =OCH ₃	R ₆ =B
VII g:	R ₃ =CF ₃	R ₅ =CF ₃	R ₆ =A
VII h:	R ₃ =CF ₃	R ₅ =CF ₃	R ₆ =B
VII i:	R ₃ =F	R ₅ =F	R ₆ =A
VII j:	R ₃ =F	R ₅ =F	R ₆ =B
VII k:	R ₃ =Cl	R ₄ =Cl	R ₆ =A
VII l:	R ₃ =Cl	R ₄ =Cl	R ₆ =B
VII m:	R ₂ =Cl	R ₄ =Cl	R ₆ =A
VII n:	R ₂ =Cl	R ₄ =Cl	R ₆ =B
VII o:	R ₂ =OCH ₃	R ₄ =Cl	R ₆ =A
VII p:	R ₂ =OCH ₃	R ₄ =Cl	R ₆ =B

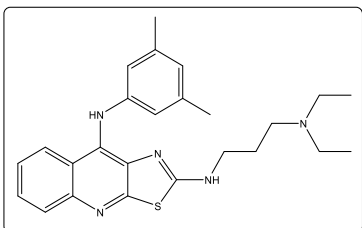
En un matraz bola se colocaron 0.6 mmol del compuesto (VI) (VIIa-VIIn) y se suspendieron en 3 mL de *N,N*-dimetilformamida. La mezcla se dejó agitando durante 10 minutos. Después se añadieron por goteo 1.6 mmol de la amina correspondiente y se dejó agitando durante un periodo de 4 a 6 horas a temperatura ambiente. Se formó una solución de color ámbar. La reacción se monitoreo por medio de CCF. Cuando ya no se detectó la presencia de materia prima la mezcla de reacción se vertió sobre 30 mL de una mezcla agua-hielo formándose un sólido color crema. El sólido se colectó por filtración a presión reducida y se purificó. El avance de reacción se monitoreo por medio de CCF (sistema cloroformo/metanol 8:2).

9-[(3, 5-dimetilfenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIa**)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VI a** (230 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del

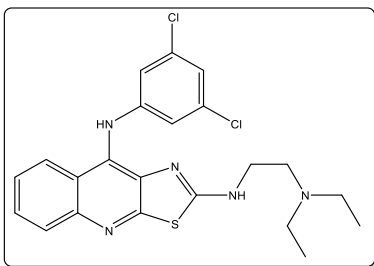
compuesto final (**VIIa**) se obtuvieron 216.5 mg (0.516 mmol, 86%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 146°C. **R_f:** 0.57 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 9):** 3197 (Ar-NH-R), 2967, 2930, 2811 (C-H sat. e insat.), 1596, 1560, 1493, 1470 (aromáticos), 1312, 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 10, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.93-0.96 (t, 6H) A; 1.63-1.70 (m, 2H) B; 2.17 (s, 6H) CH₃- anilino; 2.28-3.31 (m, 2H) D; 6.44 (s, 2H) H_{2'} y H_{6'}; 6.45 (s, 1H) H_{4'}; 7.37-7.41 (ddd, 1H) H₇; 7.52-7.56 (ddd, 1H) H₆; 7.84-7.86 (dd, 1H) H₈; 7.98-8.00 (dd, 1H) H₅; 8.25 (s, 1H) NH-anilino; 8.34-8.37 (t, 1H) NH-cadena lateral;

9-[(3, 5-dimetilfenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina.

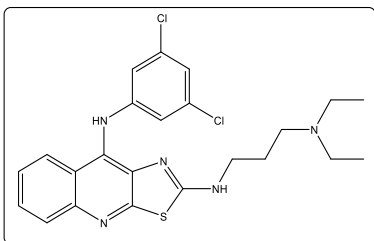
VIIb

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VI a** (230 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del

compuesto final (**VIIb**) se obtuvieron 244 mg (0.56 mmol, 94%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 153°C. **R_f:** 0.53 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 11):** 3236 (Ar-NH-R), 3021, 2969, 2874 (C-H sat. e insat.), 1596, 1562, 1497, 1472 (aromáticos), 762 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 12, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.93-0.96 (t, 6H) A; 1.63-1.70 (q, 2H) D; 2.14 (s, 6H) CH₃ anilino; 3.29-3.31 (m, 2H) E; 6.44 (d, 2H) H_{2'} y H_{6'}; 6.45 (s, 1H) H_{4'}; 7.37-7.41 (ddd, 1H) H₇; 7.52-7.56 (ddd, 1H) H₆; 7.84-7.86 (dd, 1H) H₅; 7.98 (dd, 1H) H₈; 8.25 (s, 1H) NH-anilino; 8.34-8.37 (t, 1H) NH-cadena lateral.

9-[(3, 5-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIc**)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIb** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VIIc**) se obtuvieron 246 mg (0.53 mmol, 89%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 162°C. **R_f:** 0.60 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 13):** 3199 (Ar-NH-R), 2968, 2932, 2871, 2840 (C-H sat. e insat.), 1605, 1578, 1552, 1506, 1497 (aromáticos), 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 14, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.79-0.83 (t, 6H) A; 2.31-2.34 (m, 4H) B; 2.45-2.46 (m, 2H) C; 3.20-3.25 (m, 2H) D; 6.70-6.71 (s, 2H) H2' y H6'; 6.86 (s, 1H) H4'; 7.48-7.52 (ddd, 1H) H7; 7.57-7.61 (ddd, 1H) H6; 7.87-7.89 (dd, 1H) H5; 8.10-8.12 (dd, 1H) H8; 8.57 (s, 1H) NH-cadena lateral; 9.09 (s, 1H) NH-anilino.

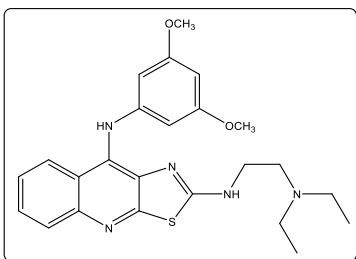
9-[(3, 5-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIId**)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIb** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VIIId**) se obtuvieron 259 mg (0.55 mmol, 91%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 159°C. **R_f:** 0.61 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 15):** 3236 (Ar-NH-R), 2970, 2876, 2818 (C-H sat. e insat.), 1605, 1587, 1559, 1499 (aromáticos), 760 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 16, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.90-0.94 (t, 6H) A; 2.37-2.46 (m, 6H) B y C; 1.61-1.68 (q, 2H) D; 3.25-3.29 (m, 2H) E; 6.73 (d, 2H) H2' y H6'; 6.86 (s, 1H) H4'; 7.49-7.53 (ddd, 1H) H7; 7.58-7.62 (ddd, 1H) H6; 7.89-7.91 (dd, 1H) H5; 8.09-8.11 (d, 1H) H8; 8.52-8.55 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.06 (s, 1H) NH-anilino.



9-[(3, 5-dimetoxifenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina.

(VIIe)

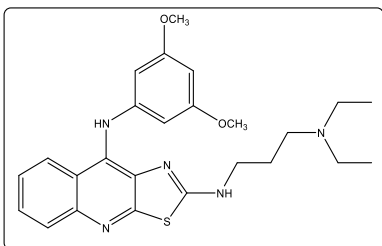


Se siguió la metodología general empleando el compuesto **Vlc** (250 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante lavados con éter diisopropílico. Del compuesto final (**VIIe**) se obtuvieron 244 mg (0.54 mmol,

90%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 142°C. **Rf:** 0.55 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 17):** 3183 (Ar-NH-R), 2964, 2930, 2832 (C-H sat. e insat.), 1595, 1555, 1494, 1478 (aromáticos), 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 18, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.89-0.92 (t, 6H) A; 2.40-2.46 (m, 4H) B; 2.52-2.56 (m, 2H) C; 3.34-3.35 (m, 2H) D; 3.62 (s, 6H) OCH₃; 5.96 (s, 2H) H2' y H6'; 5.97 (s, 1H) H4'; 7.41-7.45 (ddd, 1H) H7; 7.54-7.58 (ddd, 1H) H6; 7.85-7.87 (dd, 1H) H5; 8.01-8.03 (dd, 1H) H8; 8.30-8.33 (t, 1H) NH-cadena lateral; 8.42 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 5-dimetoxifenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina.

(VIIf)

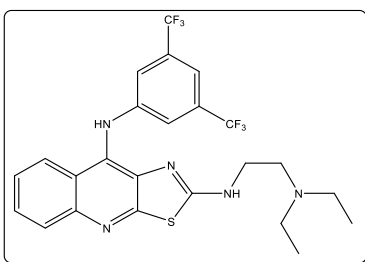


Se siguió la metodología general empleando el compuesto **Vlc** (250 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante lavados con éter diisopropílico. Del compuesto final (**VIIIf**) se obtuvieron 254 mg (0.55

mmol, 91%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 154°C. **Rf:** 0.54 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 19):** 3032 (Ar-NH-R), 2977, 2950, 2874, 2833, 2814 (C-H sat. e insat.), 1593, 1567, 1558, 1492 (aromáticos), 761 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 20, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.99-1.03 (t, 6H) A; 2.58-2.60 (m, 6H) B y C; 1.71-1.78 (q, 2H) D; 3.43-3.45 (m, 2H) E; 3.71 (s, 6H) OCH₃; 6.26 (d, 2H) H2' y H6'; 6.32 (s, 1H) H4'; 7.51-7.53 (ddd, 1H) H7; 7.63-7.65 (ddd, 1H) H6; 7.95-7.97 (dd, 1H) H5; 8.06-8.08 (d, 1H) H8; 8.46-8.50 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.33 (s, 1H) NH-anilino.



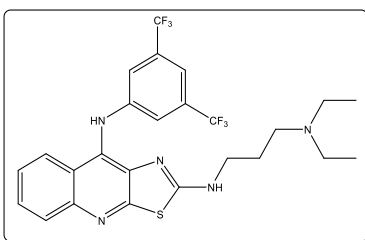
9-[(3, 5-ditri fluorometilfenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIg**)



Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VId** (295 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil.

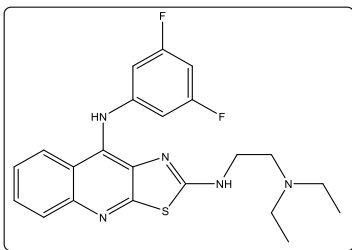
Del compuesto final (**VIIg**) se obtuvieron 275 mg (0.52 mmol, 87%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 142°C. **R_f:** 0.55 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 21):** 3272 (Ar-NH-R), 2978, 2933, 2876 (C-H sat. e insat.), 1622, 1603, 1561, 1498 (aromáticos), 750 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 22 DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.79-0.83 (t, 6H) A; 2.31-2.34 (m, 4H) B; 2.45-2.46 (m, 2H) C; 3.20-3.25 (m, 2H) D; 7.29 (s, 2H) H2' y H6'; 7.33 (s, 1H) H4'; 7.52-7.56 (ddd, 1H) H7; 7.61-7.65 (ddd, 1H) H6; 7.91-7.93 (dd, 1H) H5; 8.20-8.22 (dd, 1H) H8; 8.51 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.47 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 5-ditri fluorometilfenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIh**)

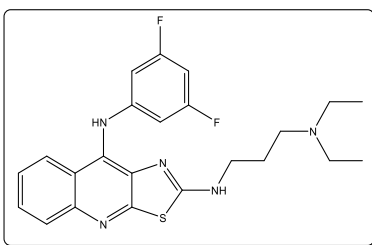


Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VId** (295 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil.

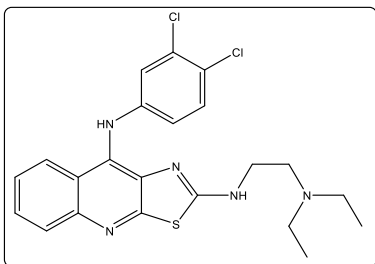
Del compuesto final (**VIIh**) se obtuvieron 292 mg (0.54 mmol, 90%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 160°C. **R_f:** 0.60 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 23):** 3271 (Ar-NH-R), 2977, 2932, 2862 (C-H sat. e insat.), 1634, 1601, 1592, 1552, 1491 (aromáticos), 765 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 24, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.79-0.83 (t, 6H) A; 2.37-2.41 (m, 6H) B y C; 1.56-1.63 (q, 2H) D; 3.20-3.25 (m, 2H) E; 6.35-6.37 (d, 2H) H2' y H6'; 6.46-6.51 (t, 1H) H4'; 7.50-7.51 (ddd, 1H) H7; 7.53-7.54 (ddd, 1H) H6; 7.91 (dd, 1H) H5; 8.06 (d, 1H) H8; 8.53 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.06 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 5-difluorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. **(VIIi)**

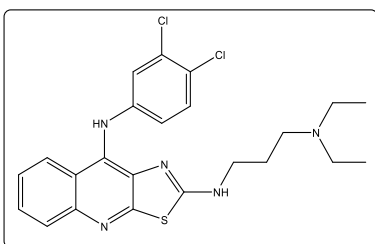
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **Vle** (235 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final **(VIIi)** se obtuvieron 246 mg (0.58 mmol, 96%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 150°C. **R_f:** 0.58 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 25):** 3220 (Ar-NH-R), 2979, 2932, 2854 (C-H sat. e insat.), 1620, 1602, 1593, 1552, 1520 (aromáticos), 754 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 26, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.85-0.93 (t, 6H) A; 2.31-3.34 (m, 4H) B; 2.45 (m, 2H) C; 3.22-3.25 (m, 2H) D; 7.32 (s, 2H) H2' y H6'; 7.38 (s, 1H) H4'; 7.54-7.58 (ddd, 1H) H7; 7.63-7.67 (ddd, 1H) H6; 7.93-7.95 (dd, 1H) H5; 8.21-8.24 (dd, 1H) H8; 9.57 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.93 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 5-difluorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. **(VIIj)**

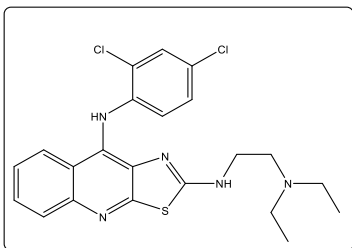
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **Vle** (235 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final **(VIIj)** se obtuvieron 246 mg (0.56 mmol, 93%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 140°C. **R_f:** 0.57 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 27):** 3071 (Ar-NH-R), 2955, 2930, 2871, 2821 (C-H sat. e insat.), 1634, 1602, 1593, 1552, 1520 (aromáticos), 765 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 28, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.89-0.92 (t, 6H) A; 2.37-2.41 (m, 6H) B y C; 1.60-1.67 (q, 2H) D; 3.26-3.31 (m, 2H) E; 6.44-6.45 (d, 2H) H2' y H6'; 6.54 (s, 1H) H4'; 7.50 (ddd, 1H) H7; 7.89 (ddd, 1H) H6; 7.91 (dd, 1H) H5; 8.06 (d, 1H) H8; 8.54 (t, 1H) NH-cadena lateral; 9.05 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 4-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIk**)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIf** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VIIk**) se obtuvieron 240 mg (0.52 mmol, 87%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 130°C. **R_f:** 0.59 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 29):** 3303 (Ar-NH-R), 2973, 2868, 2840, 2806 (C-H sat. e insat.), 1596, 1575, 1551, 1496, 1473 (aromáticos), 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 30, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.87-0.90 (t, 6H) A; 2.30-2.33 (m, 4H) B; 2.45-2.46 (m, 2H) C; 3.22-3.33 (m, 2H) D; 6.90-6.91 (d, 2H) H_{2'} y H_{5'}; 6.70-6.74 (s, 1H) H_{6'}; 7.50 (ddd, 1H) H₇; 7.60 (ddd, 1H) H₆; 7.88-7.90 (dd, 1H) H₅; 8.14-8.16 (dd, 1H) H₈; 8.45 (t, 1H) NH-cadena lateral; 8.97 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(3, 4-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VII l**)

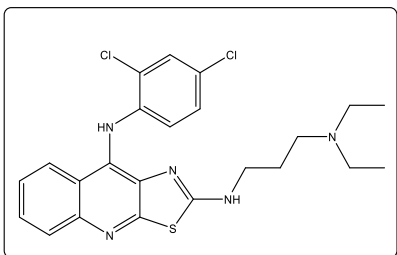
Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIf** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VII l**) se obtuvieron 265 mg (0.56 mmol, 93%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 133°C. **R_f:** 0.61 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 31):** 3053 (Ar-NH-R), 2962, 2932, 2873, 2824 (C-H sat. e insat.), 1593, 1577, 1560, 1550, 1496 (aromáticos), 759 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 32, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.89-0.92 (t, 6H) A; 2.31-2.41 (m, 6H) B y C; 1.56-1.63 (q, 2H) D; 3.21-3.26 (m, 2H) E; 6.73-6.76 (d, 2H) H_{2'} y H_{5'}; 6.94 (s, 1H) H_{6'}; 7.50 (ddd, 1H) H₇; 7.59 (ddd, 1H) H₆; 7.88-7.89 (dd, 1H) H₅; 8.11 (dd, 1H) H₈; 8.46-8.49 (t, 1H) NH-cadena lateral; 8.96 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(2, 4-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIIm**)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIg** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante lavados con éter diisopropílico. Del compuesto final (**VIIIm**) se obtuvieron 237 mg (0.51

mmol, 86%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 137°C. **R_f:** 0.60 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 33):** 3199 (Ar-NH-R), 2968, 2962, 2871, 2839 (C-H sat. e insat.), 1595, 1559, 1493 (aromáticos), 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 34, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.90-0.94 (t, 6H) A; 2.30-2.33 (m, 4H) B; 2.45-2.46 (m, 2H) C; 3.22-3.28 (m, 2H) D; 6.65 (s, 1H) H3'; 6.70-6.74 (m, 1H) H5'; 6.90-6.91 (d, 1H) H6'; 7.50 (ddd, 1H) H7; 7.57 (ddd, 1H) H6; 7.81-7.86 (dd, 1H) H5; 8.14-8.22 (dd, 1H) H8; 8.43 (s, 1H) NH-cadena lateral; 8.87 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(2, 4-diclorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina.

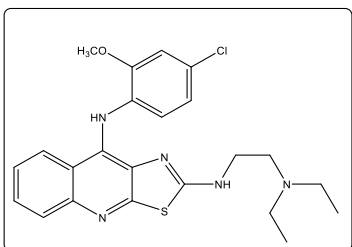
(VIIIn)

Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIg** (255 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante lavados con éter diisopropílico. Del compuesto final (**VIIIn**) se obtuvieron 256 mg (0.54 mmol, 90%) el cual es un

sólido color blanco. **Punto de fusión:** 142°C. **R_f:** 0.59 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 35):** 3207 (Ar-NH-R), 3062, 2981, 2850 (C-H sat. e insat.), 1606, 1590, 1562, 1486 (aromáticos), 741 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 36, DMSO- d₆) δ (ppm):** 0.89-0.91 (t, 6H) A; 2.37-2.41 (m, 6H) B y C; 1.72-1.78 (q, 2H) D; 3.22-3.26 (m, 2H) E; 7.01-7.03 (d, 1H) H3'; 7.28-7.29 (m, 1H) H5'; 7.32-7.33 (d, 1H) H6'; 7.59 (ddd, 1H) H7; 7.82 (ddd, 1H) H6; 8.01-8.03 (dd, 1H) H5; 8.16 (dd, 1H) H8; 8.46-8.49 (t, 1H) NH-cadena lateral; 8.94 (s, 1H) NH-anilino.



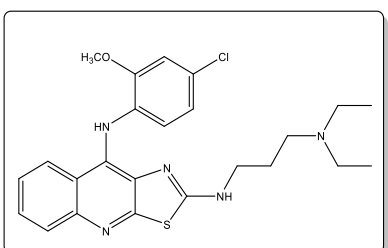
9-[(2-metoxi, 4-clorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)etilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina. (**VIIo**)



Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIh** (252 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VIIo**) se obtuvieron 249 mg (0.55 mmol, 91%) el cual es un sólido color crema. **Punto de fusión:** 140°C. **R_f:** 0.58 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 37):** 3183(Ar-NH-R), 2963, 2929, 2832 (C-H sat. e insat.), 1596, 1574, 1551, 1495 (aromáticos), 758 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 38, DMSO-d₆) δ (ppm):** 0.96-0.99 (t, 6H) A; 2.31-2.34 (c, 4H) B; 2.45-2.46 (m, 2H) C; 3.20-3.25 (m, 2H) D; 3.85 (s, 3H) OCH₃; 6.92-6.94 (d, 1H) H5'; 7.03-7.06 (d, 2H) H6' y H3'; 7.59-7.61 (ddd, 1H) H7; 7.80-7.84 (ddd, 1H) H6; 8.01-8.03 (dd, 1H) H5; 8.15-8.16 (dd, 1H) H8; 8.57 (sa, 1H) NH-cadena lateral; 8.89 (s, 1H) NH-anilino.

9-[(2-metoxi, 4-clorofenil)amino]-2-[2-(dietilamino)propilamino]tiazolo[5,4-b]quinolina.

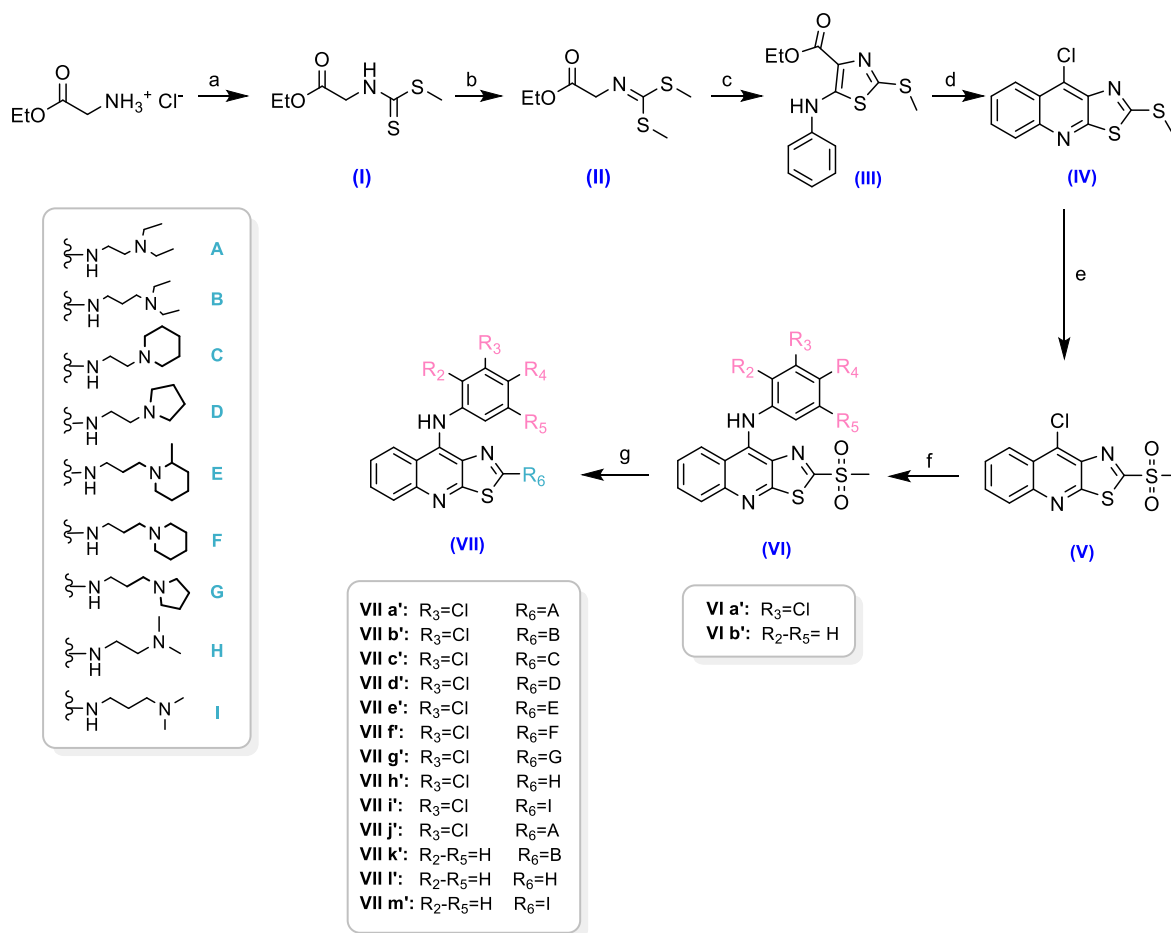
(**VIIp**)



Se siguió la metodología general empleando el compuesto **VIIh** (252 mg, 0.6 mmol). La reacción se dejó en agitación por una hora. El precipitado obtenido se purificó mediante columna cromatográfica utilizando una mezcla de cloroformo/metanol 9:1 como fase móvil. Del compuesto final (**VIIp**) se obtuvieron 251 mg (0.53 mmol, 89%) el cual es un sólido color blanco. **Punto de fusión:** 145°C. **R_f:** 0.56 (sistema cloroformo/metanol 9:1). **IR (ATR, cm⁻¹, espectro 39):** 3370 (Ar-NH-R), 3005, 2914, 2856 (C-H sat. e insat.), 1605, 1590, 1561 (aromáticos), 740 (C-S-C). **RMN ¹H (espectro 40, DMSO-d₆) δ (ppm):** 0.94-0.98 (t, 6H) A; 2.32-2.41 (m, 6H) B y C; 1.58-1.64 (q, 2H) D; 3.19-3.21 (m, 2H) E; 3.81 (s, 3H) OCH₃ – anilino; 6.56-6.58 (d, 1H) H5'; 6.78-6.80 (d, 1H) H6'; 7.05 (d, 1H) H3'; 7.40-7.42 (ddd, 1H) H7; 7.54-7.56 (ddd, 1H) H6; 7.84-7.86 (dd, 1H) H5; 7.98-8.05 (dd, 1H) H8; 8.31-8.33 (t, 1H) NH-cadena lateral; 8.75 (s, 1H) NH-anilino.



7.8.8. Método general para la síntesis de derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina utilizados para la evaluación potenciométrica.



Esquema 2. Síntesis de diversos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina. a) 1. CS_2/TEA , 40°C ; 2. MeI, reflujo. b) MeI/ K_2CO_3 , acetona, reflujo. c) 1. T-BuOK/THF anhidro, -75°C ; 2. $\text{C}_6\text{H}_5\text{-NCS}$, -75°C , temp. ambiente. d) PPA/ POCl_3 , $130-135^\circ\text{C}$. e) H_2O_2 , AcOH, Na_2WO_4 f) $\text{NH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{R}$, HCl cat, DMSO/temp. ambiente g) amina/DMF, temp. ambiente.

Los compuestos mostrados en el esquema 2 fueron sintetizados especialmente para la determinación de la influencia del pKa del nitrógeno terciario de la amina alifática en la posición 2 del núcleo tricíclico sobre la actividad biológica.

La síntesis de los derivados (VII' a-m) se encuentra descrita en las secciones 6.3.1 a 6.3.6. Los espectros de infrarrojo de los compuestos (VI a'), (VI b') y (VII a'-VII n') se encuentran reportados en la referencia 43 y 44.



8. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron 16 compuestos novedosos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina.
- Se sintetizaron 9 compuestos previamente reportados con cadenas laterales de tipo *N*, *N*-dialquilaminoalquilamino y azacicloalquilalquilamino.
- La estructura de los compuestos fue confirmada mediante punto de fusión, Rf y por métodos espectrofotométricos (IR y RMN).
- Los resultados de actividad citotóxica sugieren que grupos electroattractores sobre el anillo de anilino son factores importantes que pueden ayudar al aumento en la actividad citotóxica.
- La longitud de la cadena lateral de la posición 2 del núcleo tricíclico es un factor importante mas no esencial, ya que como podemos observar en los resultados de actividad biológica, algunos de los compuestos más activos (por ejemplo, el compuesto **VII i** en la línea celular HeLa y el compuesto **VII c** en la línea celular SW-620) presentan una cadena de tipo *N*, *N*-dietilaminoetilamino en la posición 2.
- Un patrón de disustitución sobre el anillo de anilino favorece el incremento en la actividad citotóxica siempre y cuando los sustituyentes sean grupos electroattractores y este acompañado de una amina alifática en la posición 2 del núcleo tricíclico.
- Con respecto al modelado molecular podemos decir que:
El orbital molecular LUMO se encuentra localizado sobre el sistema tricíclico de la molécula lo cual evidencia la intercalación entre los pares de bases del ADN.
- El estudio de acoplamiento molecular (docking) mostró la formación de un puente de hidrogeno entre las cadenas dietilaminoalquilamino y la supuesta diana biológica, así como intercalación entre los pares de bases del ADN.
- Del análisis QSAR se obtuvieron ecuaciones de correlación. Los descriptores PSA, LUMO y volumen resultaron poseer mayor correlación con la actividad



citotóxica. Lo anterior indica que la capacidad de las células de intercalarse al ADN así como factores relacionados con la polaridad están implicados en la actividad de los compuestos.

- El análisis potenciométrico de las moléculas de la serie VII' sugiere que el pka aumenta conforme aumenta el número de carbonos de la cadena lateral.
- Se necesita una mayor serie de compuestos para lograr observar la influencia de los sustituyentes del anillo de anilino sobre el pka y el ICx.
- Se necesitan evaluar otras características electrónicas o de lipofilia de la molécula mediante cálculos finos para lograr encontrar una relación mas evidente con el pka.



9. BIBLIOGRAFÍA.

1. Cáncer. (n.d.). Consultado septiembre 23, **2017**, obtenido de <http://www.who.int/topics/cancer/es/>
2. Álvarez-Ibarra, C.; Fernández-García, R.; et al. Synthesis and Antitumor Evaluation of New Thiazolo [5,4-*b*] quinoline derivates. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1997**; 40: 668-676.
3. J Loza Mejía, M.A. Síntesis, Modelado Molecular y Actividad Citotóxica in vitro de derivados de tiazolo [5,4-*b*] quinolina e imidazo [4,5-*b*]quinolina. **2009**; tesis presentada para obtener el grado de doctor en Ciencias, UNAM, México.
4. OMS | Cáncer. (n.d.). Consultado Octubre 3, **2017**, obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
5. Malarkey, D. E., Hoenerhoff, M., & Maronpot, R. R. **2013**. Carcinogenesis: Mechanisms and Manifestations. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition)*, 1, 107-146. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00005-4>
6. Estadísticas globales sobre el cáncer. (n.d.). Consultado Octubre 05, (**2016**), obtenido de <http://www.cdc.gov/spanish/cancer/international/statistics.htm>
7. Botelho, M. C., Teixeira, J. P., & Oliveira, P. A. (**2014**). Carcinogenesis. *Encyclopedia of Toxicology*, 1, 713–729. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00371-7>
8. Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (**2008**). *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. Pág. 2.
9. Mastorides, S. & Maronpot, R. (**2002**). Carcinogenesis *Handbook of Toxicologic Pathology (Second Edition)*, 1, (83-122). <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-330215-1.50006-5>



10. Hanahan, D., & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
11. Shields, M. (2017). *Chemotherapeutics. Pharmacognosy*. Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00014-7> (libro revisar páginas)
12. Salem, H., Attiya, G., & El-Fishawy, N. (2017). Classification of human cancer diseases by gene expression profiles. *Applied Soft Computing*, 50, 124-134. doi:10.1016/j.asoc.2016.11.026
13. Lluís, I. G., Artigas, N. G., & Marzo-Castillejo, M. (2015). Efectos adversos de la quimioterapia, las terapias dirigidas contra el cáncer y la hormonoterapia: ¿Qué debe saber el médico de familia? *FMC - Formación Médica Continuada En Atención Primaria*, 22(9), 482-493. doi:10.1016/j.fmc.2015.03.027
14. Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J. L., & Fleury-Souverain, S. (2011). Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta*, 85(5), 2265–2289. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.08.034>
15. Michael C. Perry. (2008). *The chemotherapy source book*. 4 ed. Lippincott Williams & Wilkins. Pp. 369-371.
16. Corrie, P. G. (2011). Cytotoxic chemotherapy: Clinical aspects. *Medicine*, 39(12), 717–722. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2011.09.012>
17. Fernando, J., & Jones, R. (2015). The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery (United Kingdom)*, 33(3), 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.01.005>
18. Vardanyan, R., & Hruby, V. (2016). *Synthesis of Best-Seller Drugs*. Pp. 573-643.
19. Finch, G. L., & Burns-Naas, L. A. (2014). *Cancer Chemotherapeutic Agents. Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition, Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00079-8>



20. Harrison, Manual de oncología. Mc Grow Hill. (2009)
21. Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (2008). *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*. Pág. 203.
22. Cole, P. D., Zebala, J. A., & Kamen, B. A. (2005). Antimetabolites: A new perspective. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 2(4), 337–342. <https://doi.org/10.1016/j.ddstr.2005.11.004>
23. Lind, M. J. (2016). Principles of systemic anticancer therapy. *Medicine (United Kingdom)*, 44(1), 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2015.10.009>
24. Swanson, R. A., & Castro-Obregón, S. (2014). Cell Death. In M. J. Aminoff & R. B. Daroff (Eds.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences* (second Edition). Pp. 634-636. Oxford: Academic Press.
25. Yan, J., Hu, J., An, B., Huang, L., & Li, X. (2017). Design, synthesis, and biological evaluation of cyclic-indole derivatives as anti-tumor agents via the inhibition of tubulin polymerization. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 663–675. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.056>
26. Sheng, C., Miao, Z., & Zhang, W. (2016). Chapter 1- Topoisomerase I Inhibitors Derived from Natural Products: Structure–Activity Relationships and Antitumor Potency. Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol.47, pp 1-28). Elsevier.
27. Nitiss, J. L. (2009). Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 9(MAy), 338–350. <https://doi.org/10.1038/nrc26072>
28. Song, D., Zhao, J., Su, C., Jiang, Y., & Hou, J. (2017). Etoposide induced NMI promotes cell apoptosis by activating the ARF-p53 signaling pathway in lung carcinoma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.010>



29. Champoux, J. J. (2013). *DNA Topoisomerases: Type I. Encyclopedia of Biological Chemistry* (2nd ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00245-0>
30. Potter, A. J., & Rabinovitch, P. S. (2005). The cell cycle phases of DNA damage and repair initiated by topoisomerase II-targeting chemotherapeutic drugs. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 572(1–2), 27–31. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.11.018>
31. Serre, M. (2007). Origin and evolution of DNA topoisomerases. *Biochimie*, 89, 427–446. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.12.009>
32. Gentry, A., & Osheroff, N. (2013). DNA Topoisomerases: Type II. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 163-168.
33. Z Vos, S. M., Tretter, E. M., Schmidt, B. H., & Berger, J. M. (2011). All tangled up : how cells direct, manage and exploit topoisomerase function. *Nature Publishing Group*, 12(12), 827–841. <https://doi.org/10.1038/nrm3228>
34. Schmidt, A., & Liu, M. (2015). *Recent Advances in the Chemistry of Acridines. Advances in Heterocyclic Chemistry* (Vol. 115). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2015.04.004>
35. Souibgui, A., Gaucher, A., Marrot, J., Bourdreux, F., Aloui, F., Ben Hassine, B., & Prim, D. (2014). New series of acridines and phenanthrolines: Synthesis and characterization. *Tetrahedron*, 70(18), 3042–3048. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2014.02.067>
36. Zhang, W., Zhang, B., Zhang, W., Yang, T., Wang, N., Gao, C., . Jiang, Y. (2016). Synthesis and antiproliferative activity of 9-benzylamino-6-chloro-2-methoxy-acridine derivatives as potent DNA-binding ligands and topoisomerase II inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 116, 59-70. [doi:10.1016/j.ejmech.2016.03.066](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.066)



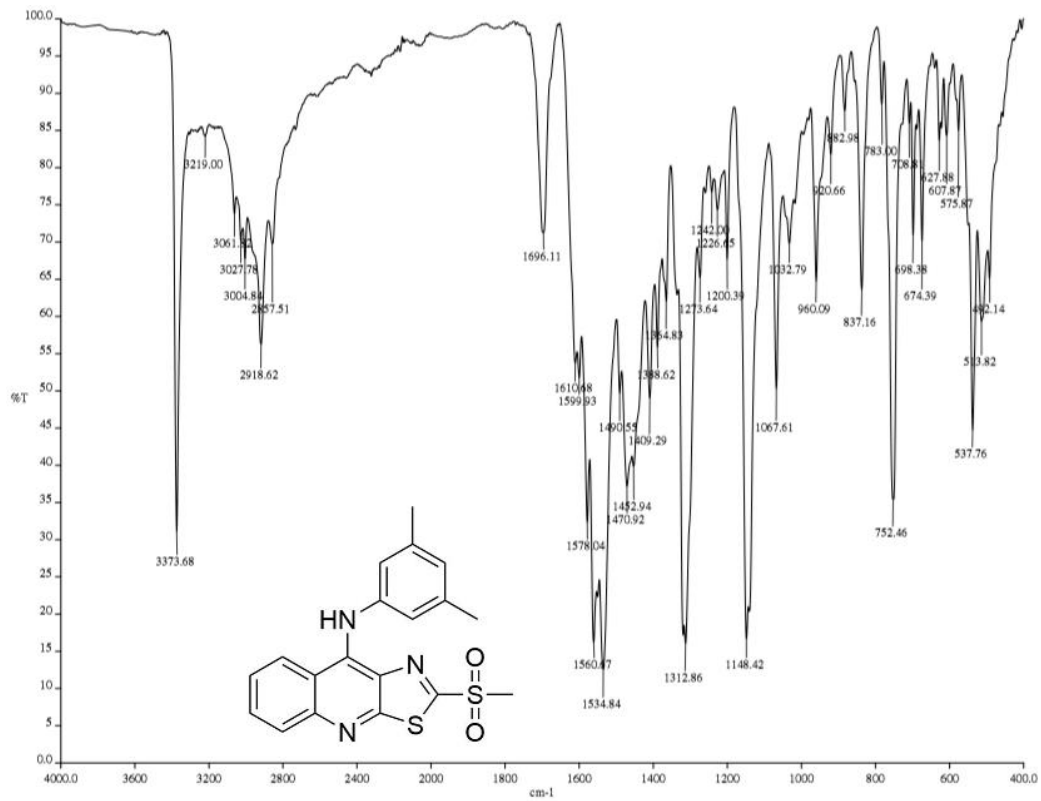
38. Sader, S., & Wu, C. **(2017)**. Computational analysis of Amsacrine resistance in human topoisomerase II alpha mutants (R487K and E571K) using homology modeling, docking and all-atom molecular dynamics simulation in explicit solvent. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, *72*, 209-219. doi:10.1016/j.jmgm.2016.11.019
39. Jangir, D. K., Dey, S. K., Kundu, S., & Mehrotra, R. **(2012)**. Assessment of amsacrine binding with DNA using UV-visible, circular dichroism and Raman spectroscopic techniques. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *114*, 38-43. doi:10.1016/j.jphotobiol.2012.05.005
40. Attia, S. M., Badary, O. A., Hamada, F. M., Hrab, M., Angelis, D., & Adler, I. **(2008)**. The chemotherapeutic agents nocodazole and amsacrine cause meiotic delay and non-disjunction in spermatocytes of mice. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *651*, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.10.011>
41. Massarico Serafim, R. A., Gonçalves, J. E., De Souza, F. P., De Melo Loureiro, A. P., Storpirtis, S., Krogh, R., Ferreira, E. I. **(2014)**. Design, synthesis and biological evaluation of hybrid bioisoster derivatives of N-acylhydrazone and furoxan groups with potential and selective anti-Trypanosoma cruzi activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *82*, 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.05.077>
42. Álvarez-Ibarra C, Fernández-Granda R, Quiroga ML, Carbonell A, Cárdenas F, Giralt E. Synthesis and Antitumor Evaluation of New Thiazolo[5,4-b]quinoline Derivates. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1997**; *40* (5):668-76.
43. Vega-Alanis, B. A., Síntesis, evaluación citotóxica y estudio de modelado molecular de nuevos derivados de tiazolo[5,4-*b*]quinolina 9-anilindisustituídos y 2-[2-(*n,n*-dimetilamino)alquilamino]-9-anilino tiazolo[5,4-*b*]quinolina con potencial actividad antitumoral. Tesis de maestría, UNAM, México, **2015**



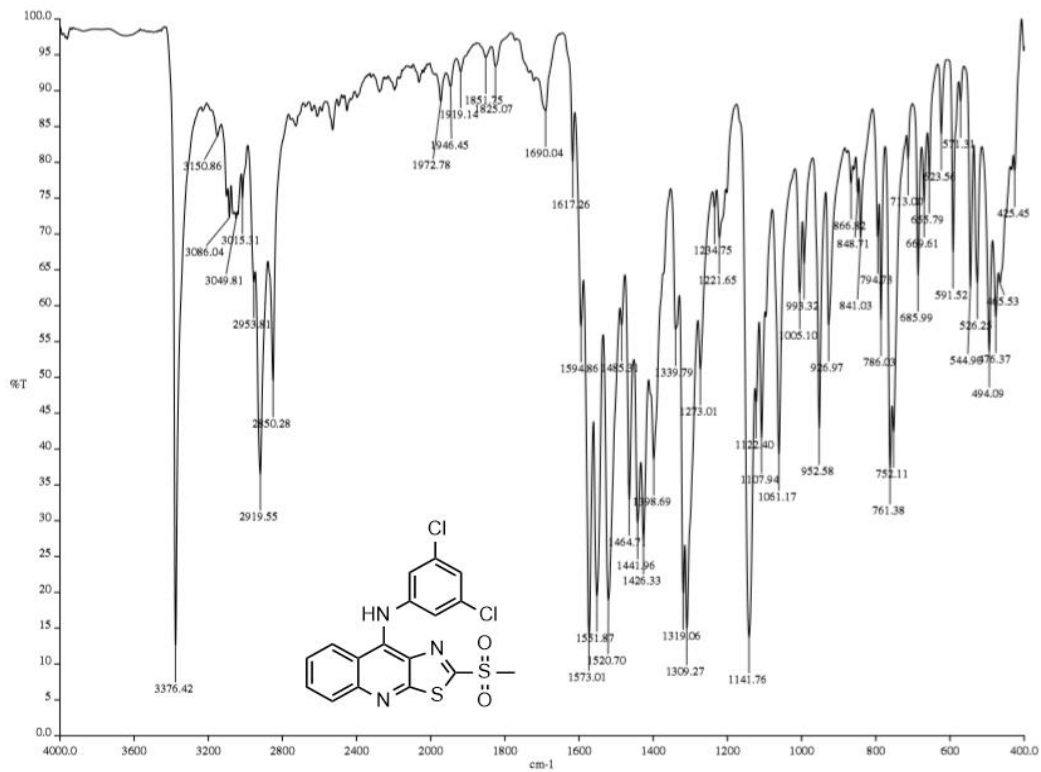
44. López-Rodríguez, A. K., Síntesis, actividad citotóxica y relación estructura actividad de derivados de 2-[(1-azacicloalquil)alquilamino]-9-anilino[5,4-b]quinolina. Tesis de Maestría, UNAM, México, **2011**.
45. Tinajero-Delgado, V., Síntesis alterna de nuevos derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina como potenciales antitumorales. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, **2014**.
46. González-Méndez, I., Síntesis, modelado molecular y actividad citotóxica in vitro de nuevos derivados de tiazolo[5,4-b]quinolina. Tesis de maestría, UNAM, México, **2015**.
47. Mccammon, J. A., Miao, Y., Amaro, R. E., Baudry, J., Chodera, J., & Smith, J. C. (**2018**). Biophysical Perspective Ensemble Docking in Drug Discovery, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.02.038>
48. Marvin 5.4.0.1, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>). **2010**.
49. Evangelista, W., Weir, R. L., Ellingson, S. R., Harris, J. B., Kapoor, K., Smith, J. C., & Baudry, J. (**2016**). Bioorganic & Medicinal Chemistry Ensemble-based docking : From hit discovery to metabolism and toxicity predictions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.07.064>
50. Zentrum für Bioinformatik: Universität Hamburg - Proteins Plus Server. Consultado noviembre 23, **2017**, obtenido de <http://poseview.zbh.uni-hamburg.de/>



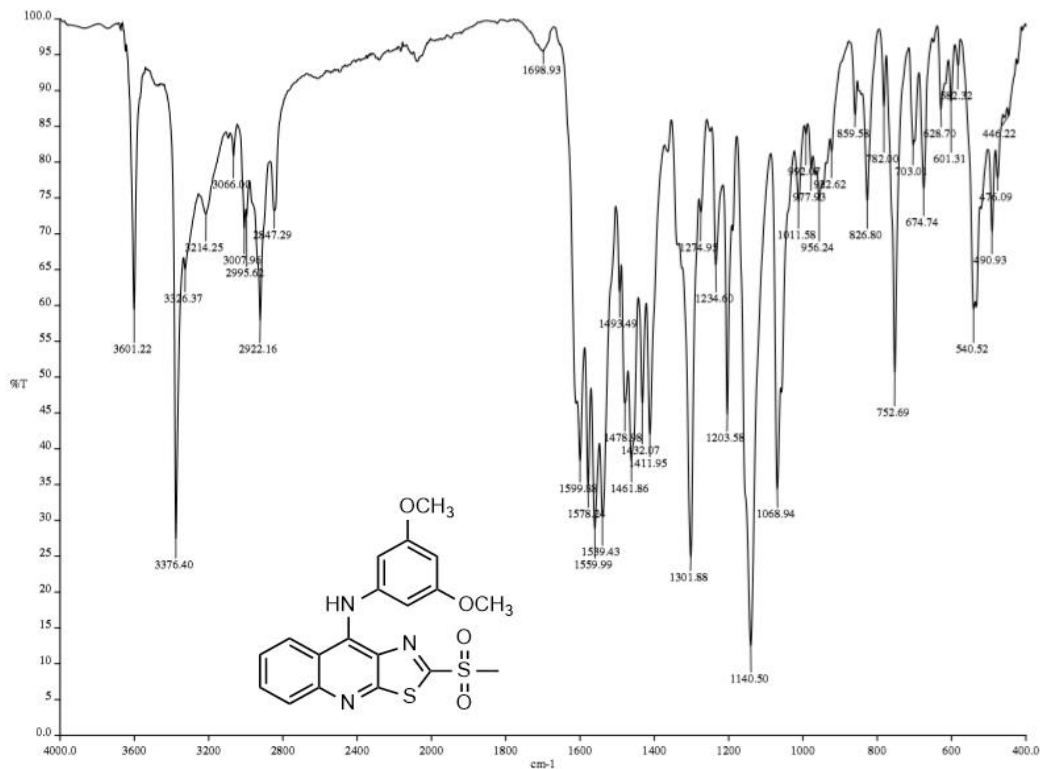
**ANEXO I. ESPECTROSCOPIA DE LOS COMPUESTOS DE LA SERIE VII (IR,
RMN 1H)**



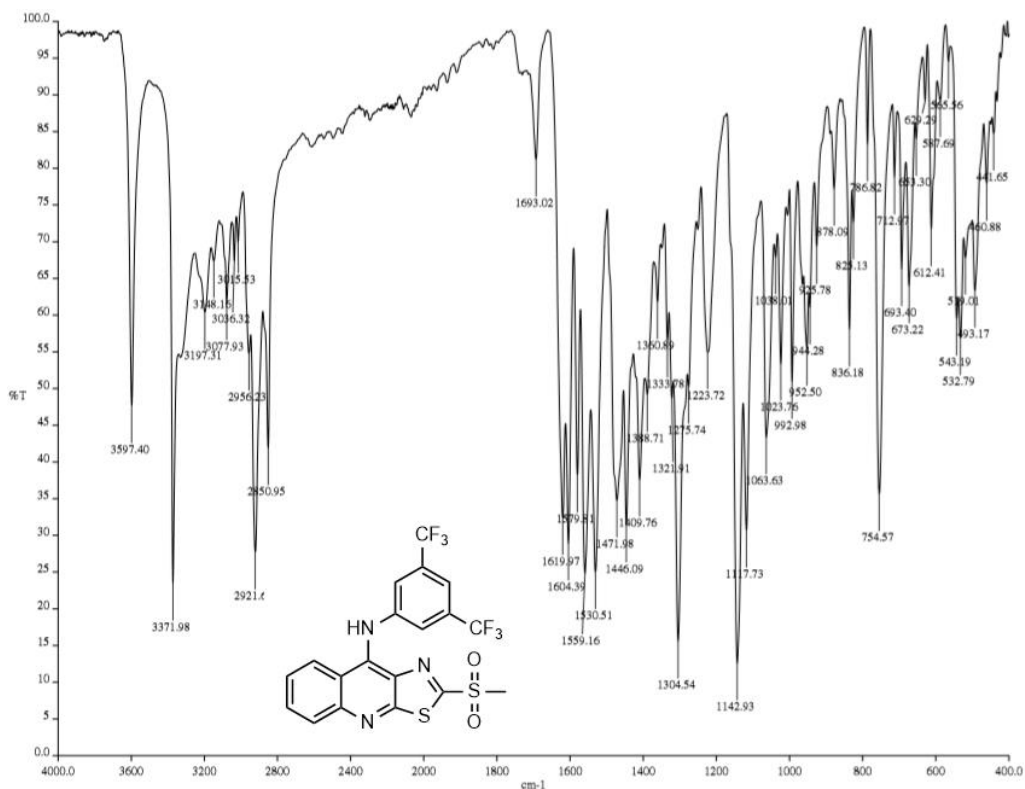
Espectro 1. Espectro IR del compuesto VIa.



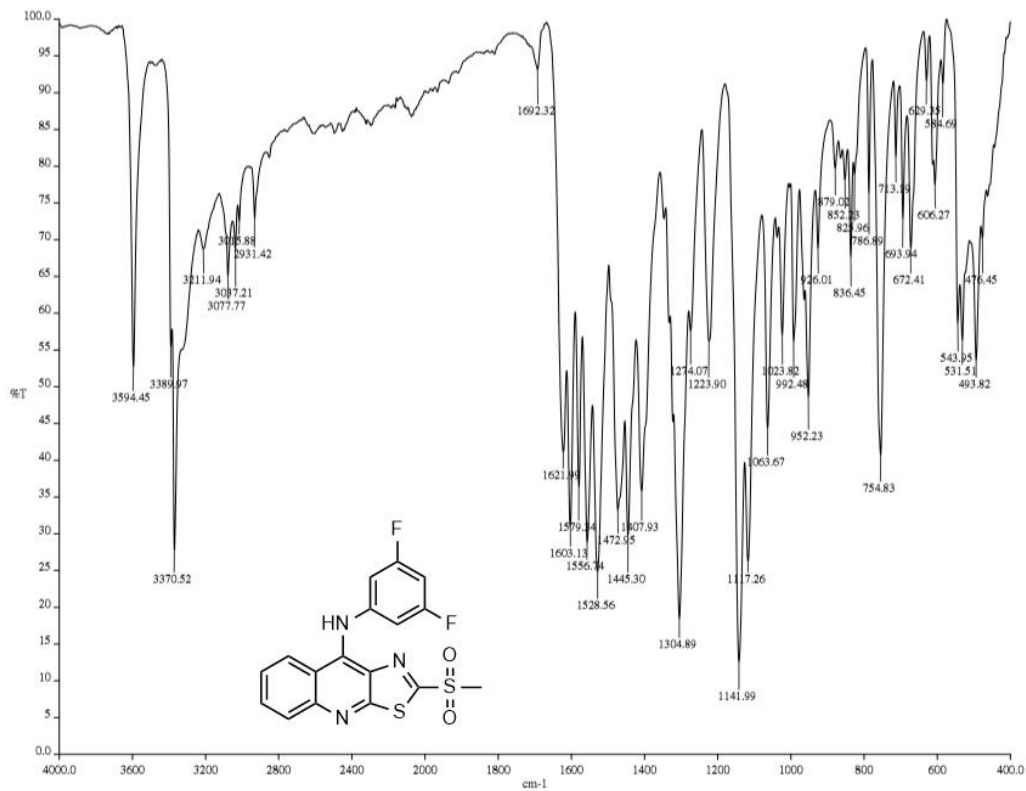
Espectro 2. Espectro IR del compuesto VIb.



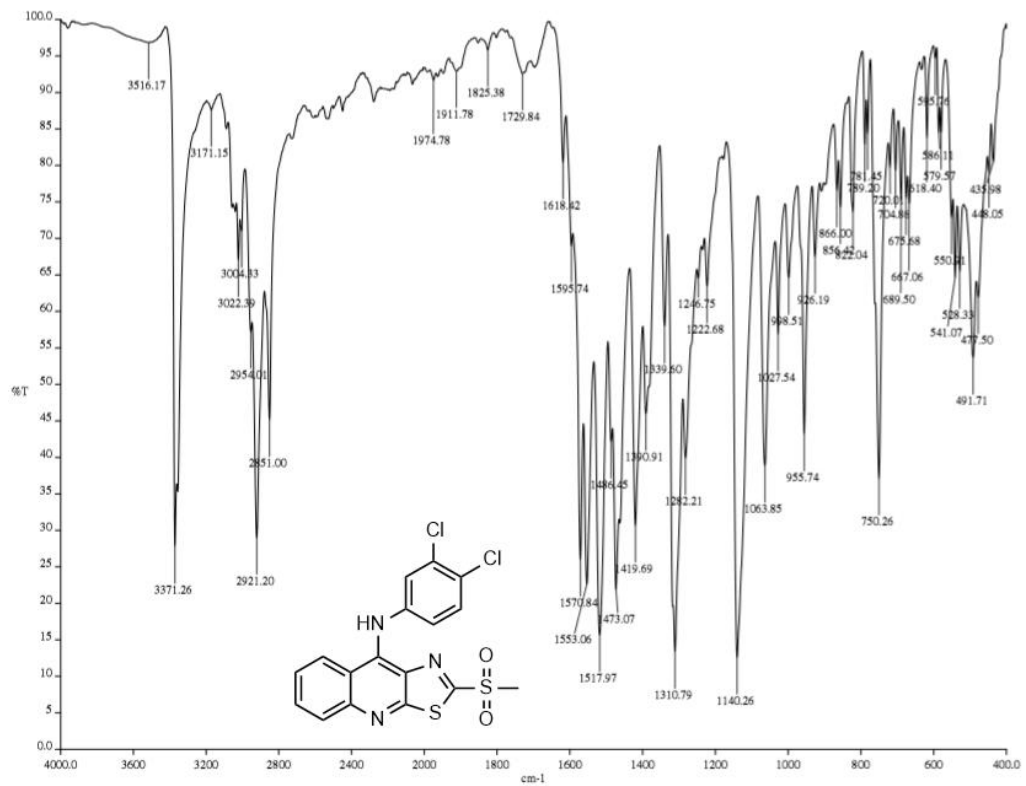
Espectro 3. Espectro IR del compuesto **VIc**.



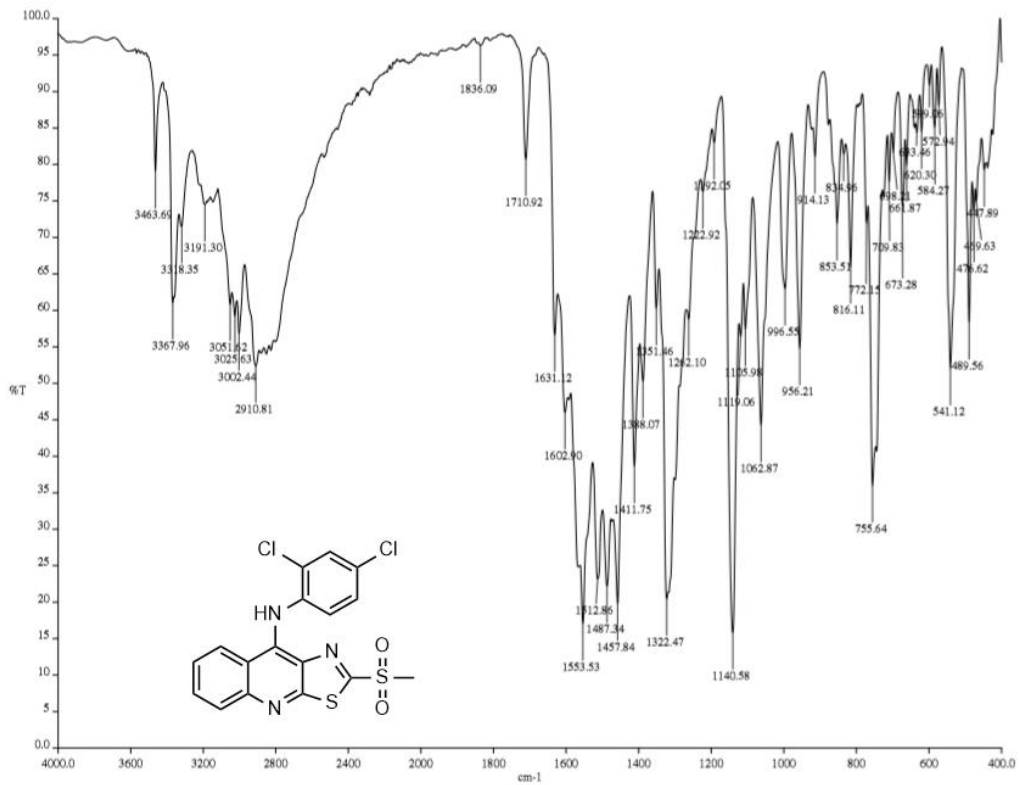
Espectro 4. Espectro IR del compuesto **VIId**.



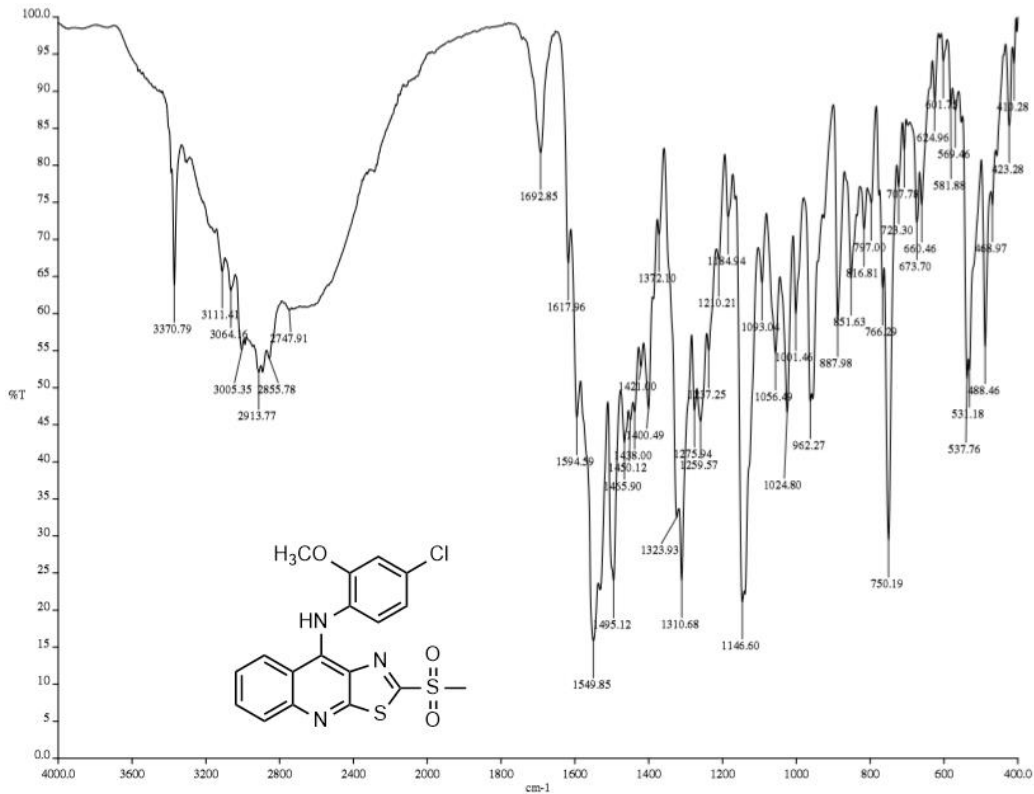
Espectro 5. Espectro IR del compuesto **VIe**.



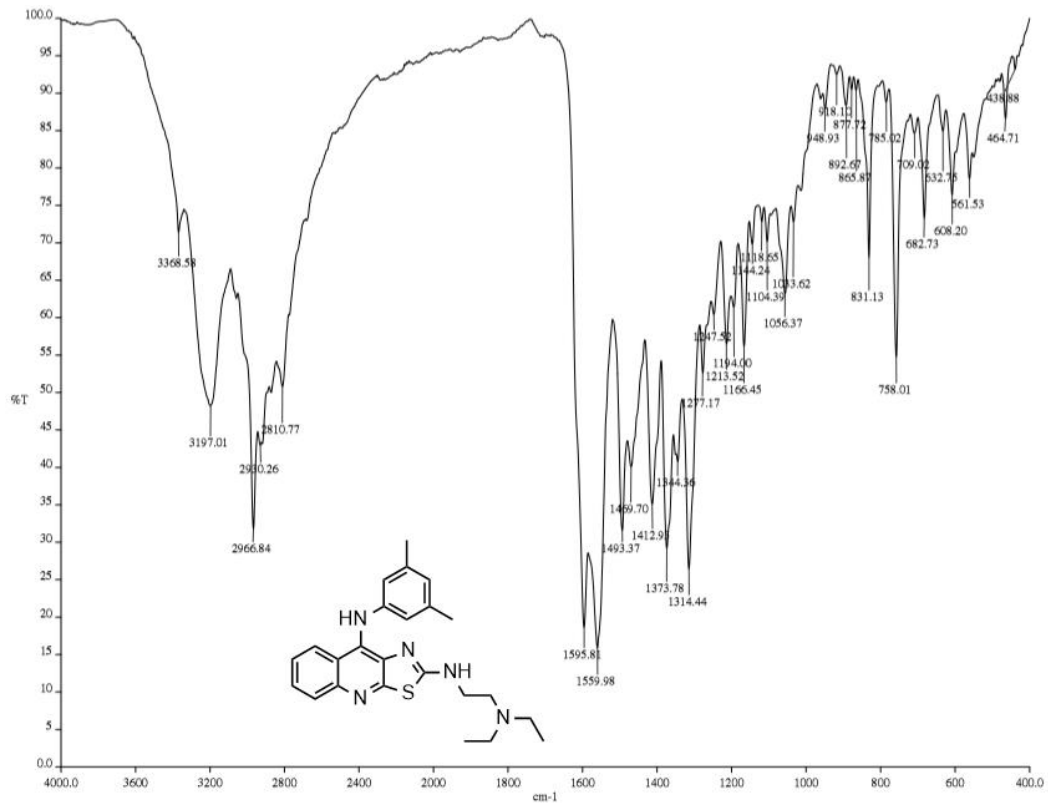
Espectro 6. Espectro IR del compuesto **VIg**.



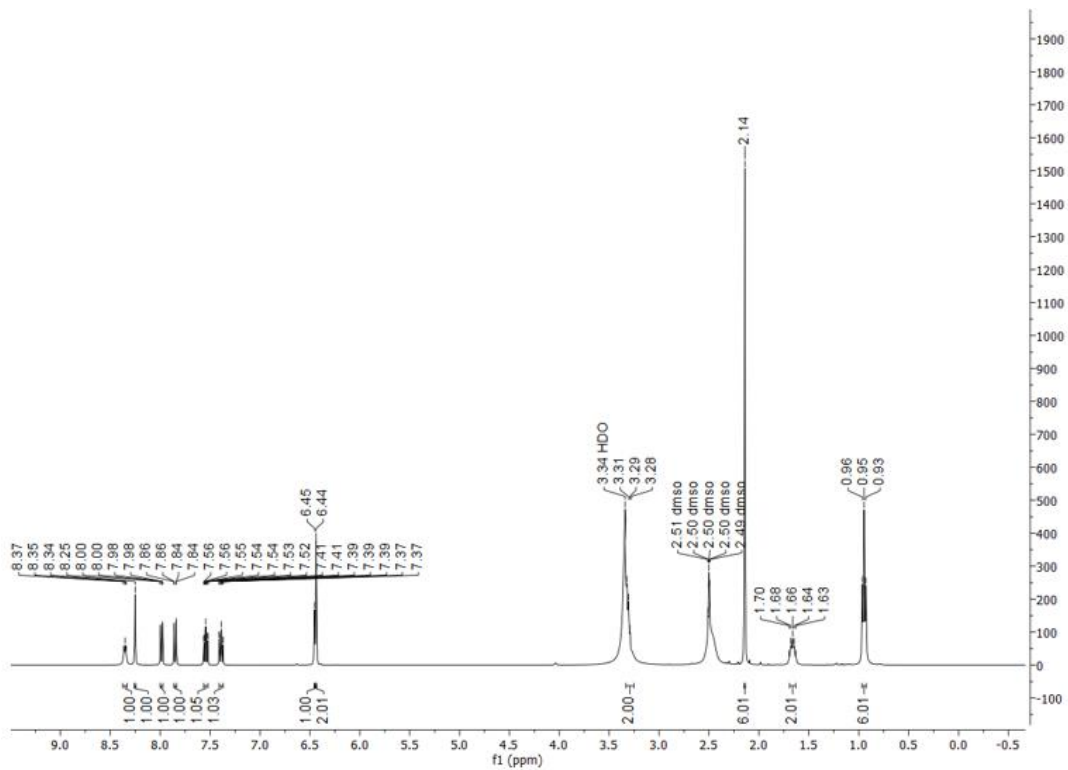
Espectro 7. Espectro IR del compuesto VIg.



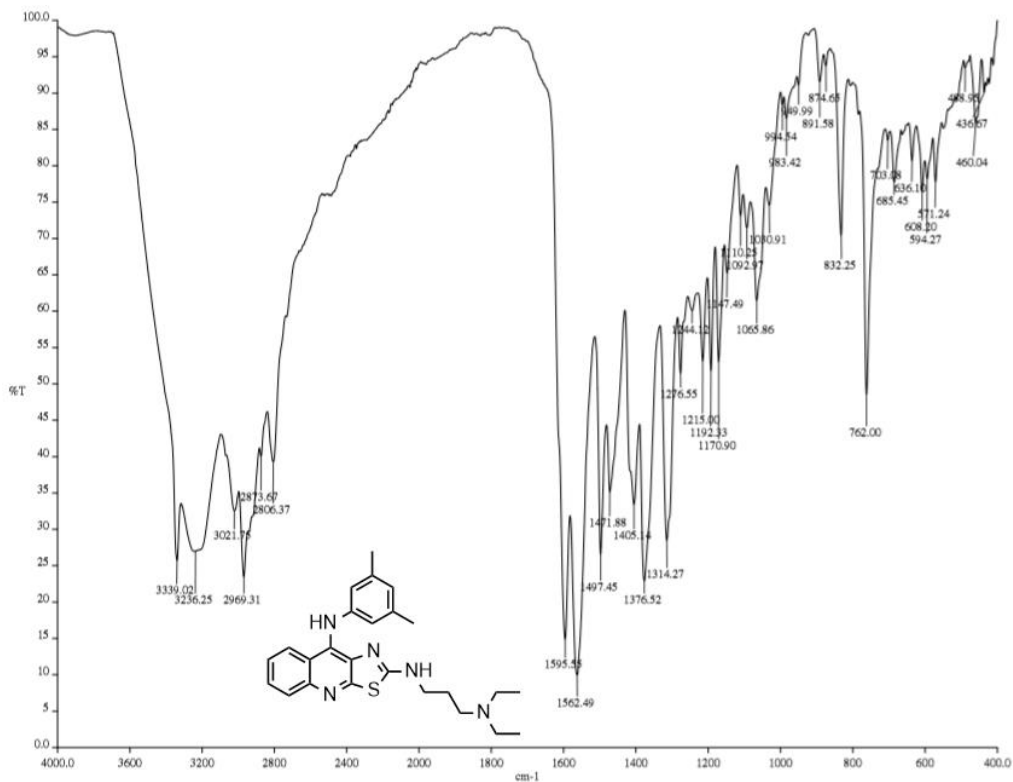
Espectro 8. Espectro IR del compuesto VIh.



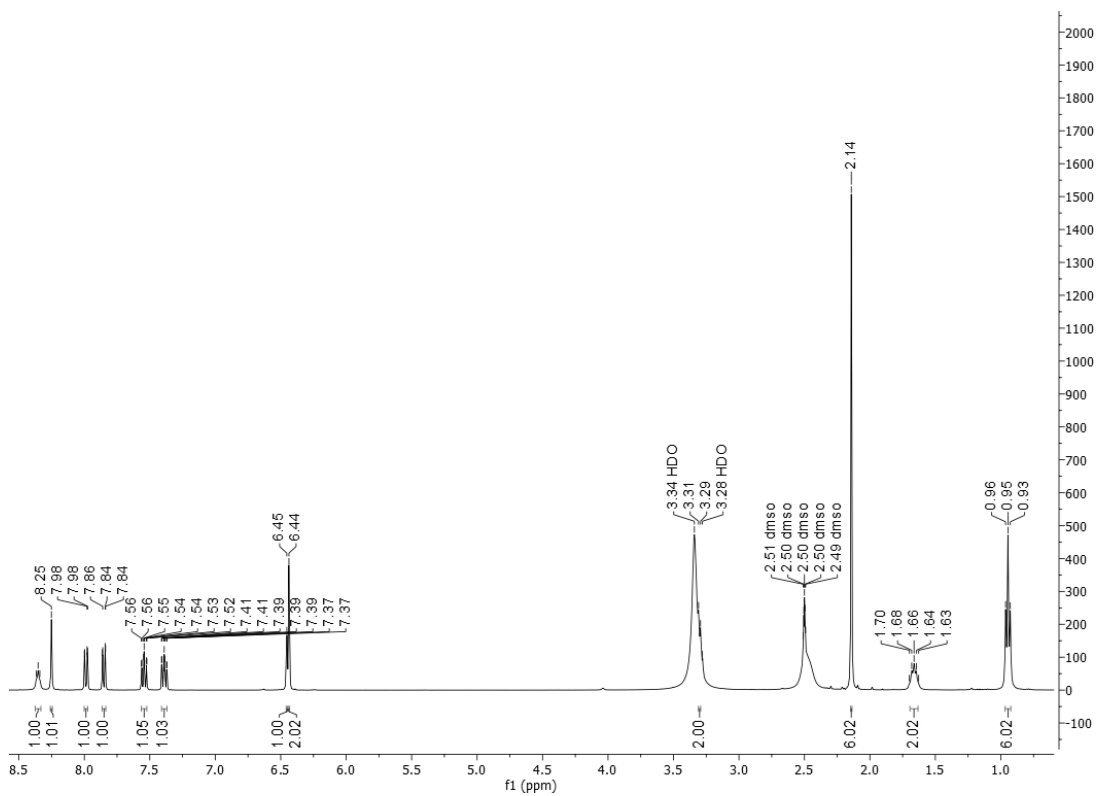
Espectro 9. Espectro IR del compuesto **VIIa**.



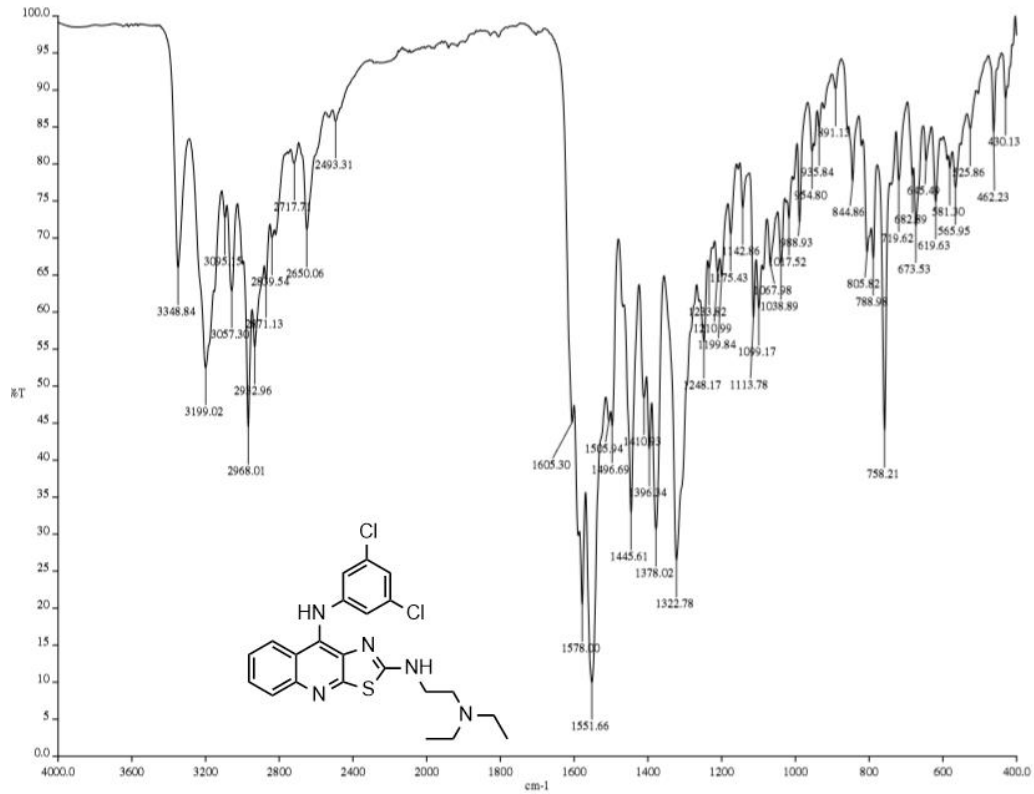
Espectro 10. Espectro de RMN del compuesto **VIIa**.



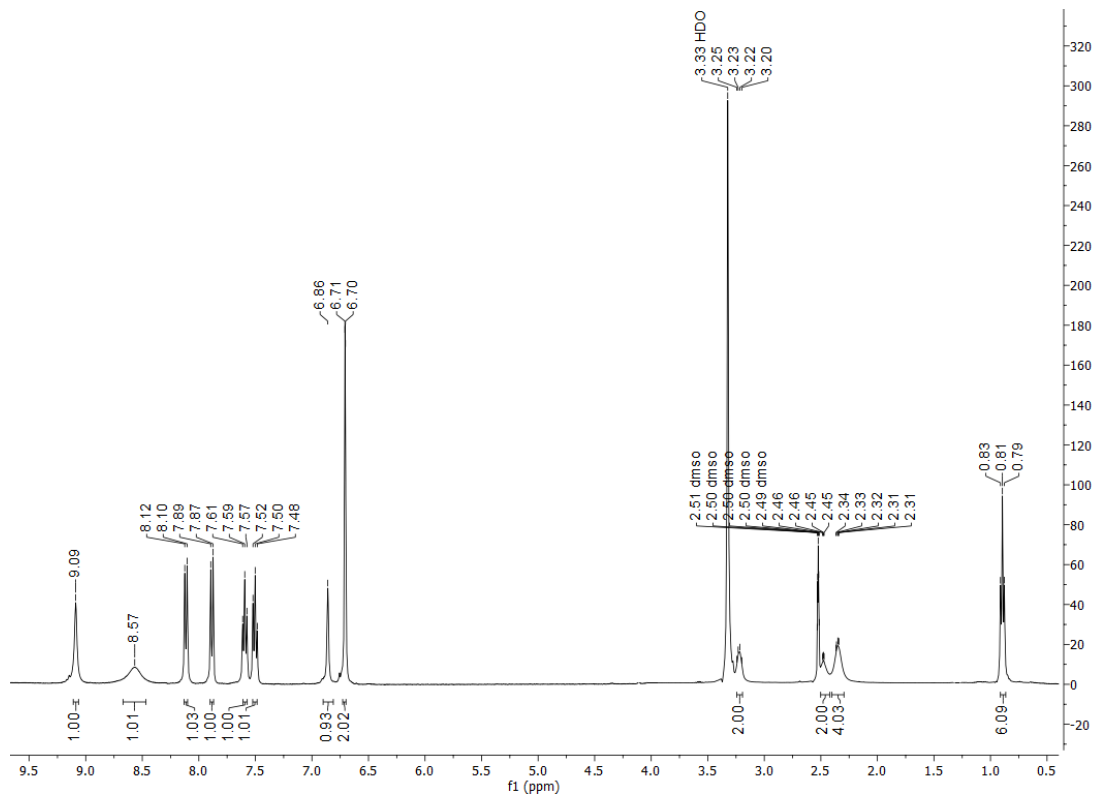
Especro 11. Espectro IR del compuesto VIIb.



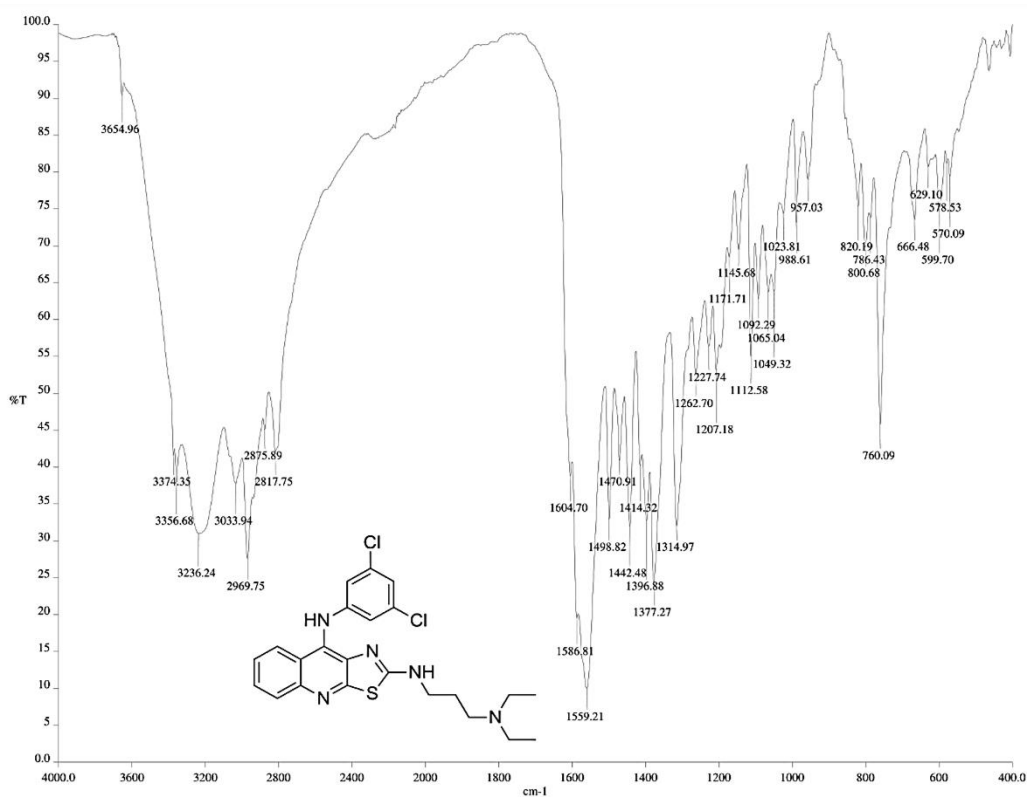
Especro 12. Espectro de RMN del compuesto VIIb.



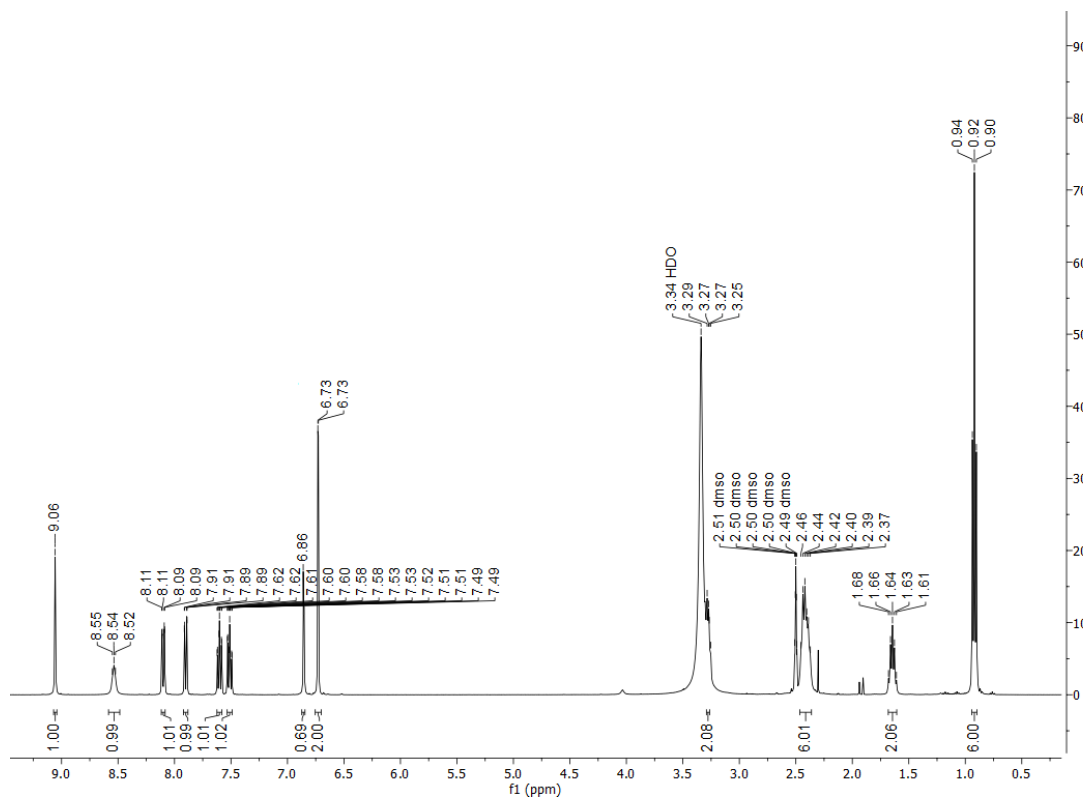
Spectro 13. Espectro IR del compuesto VIIc.



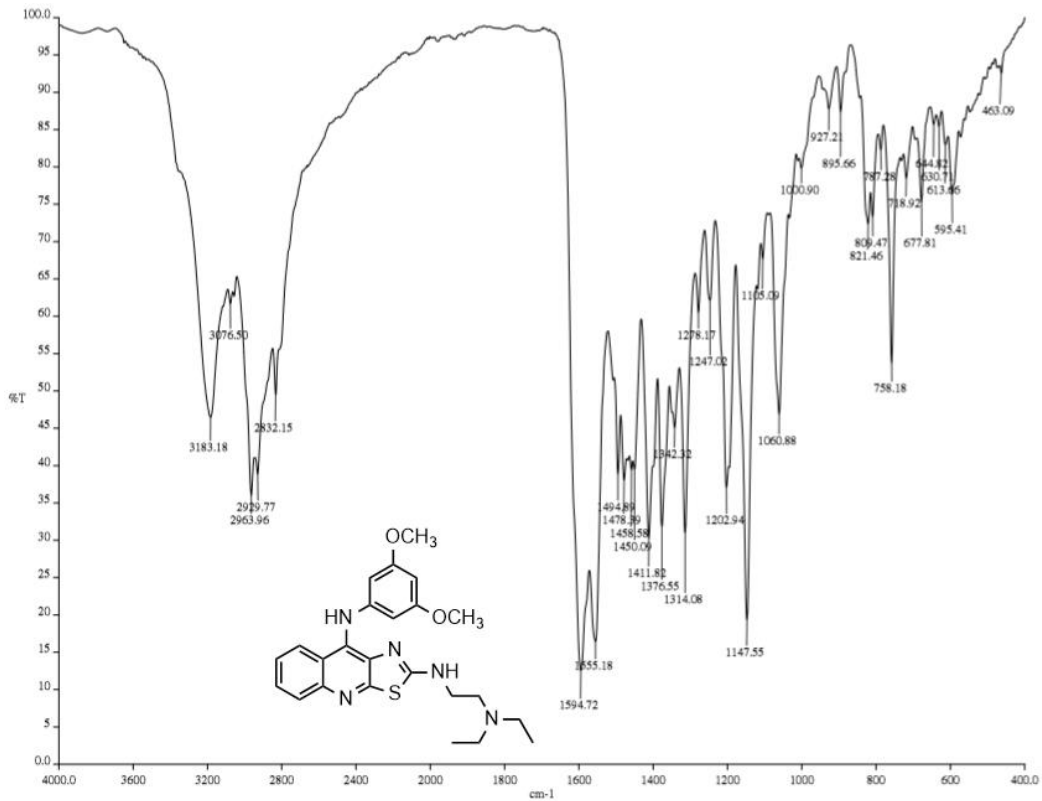
Spectro 14. Espectro de RMN del compuesto VIIc.



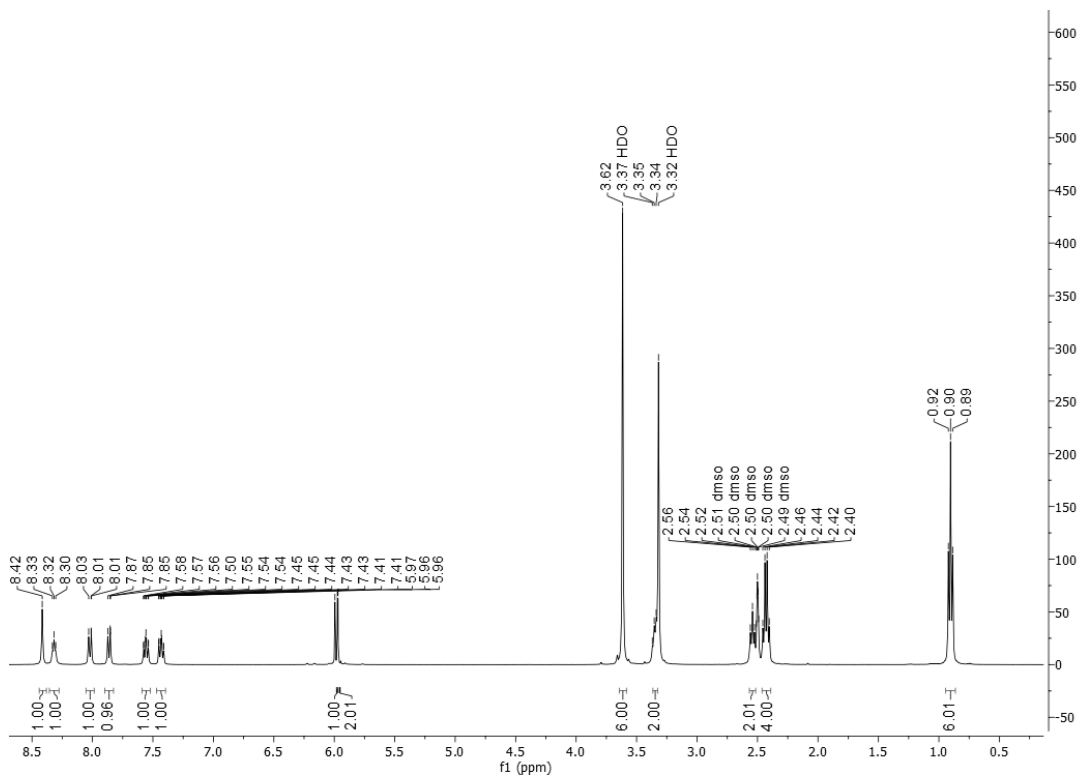
Spectro 15. Espectro IR del compuesto VIId.



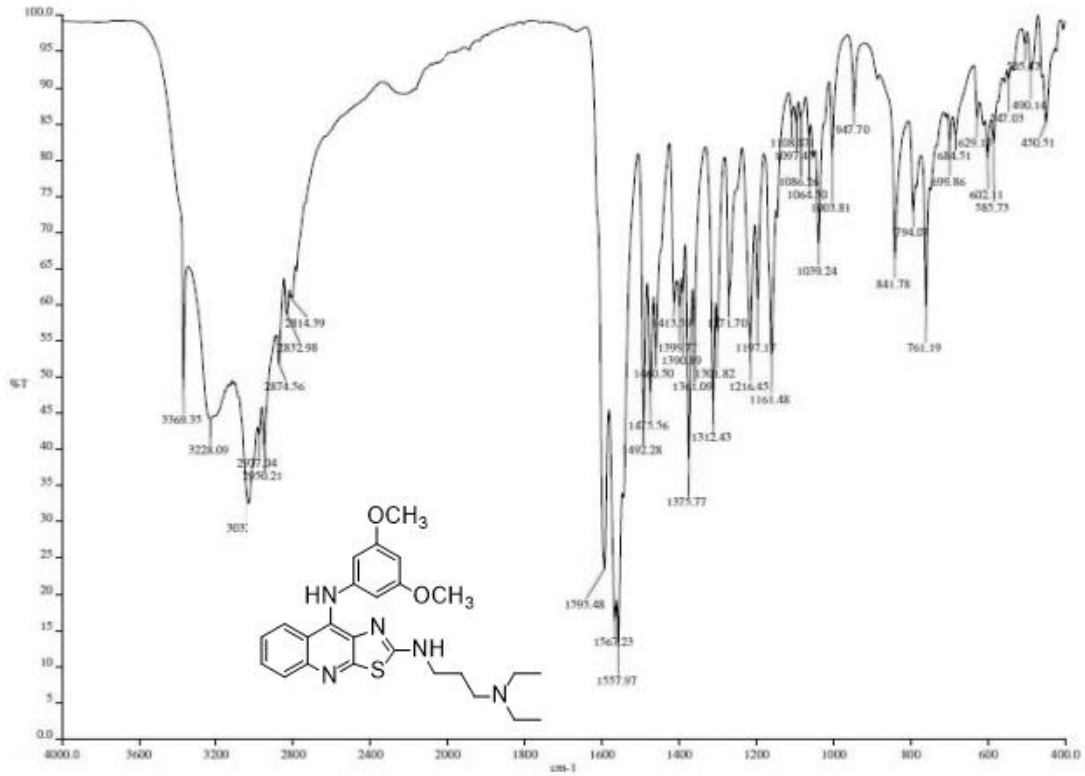
Spectro 16. Espectro de RMN del compuesto VIId.



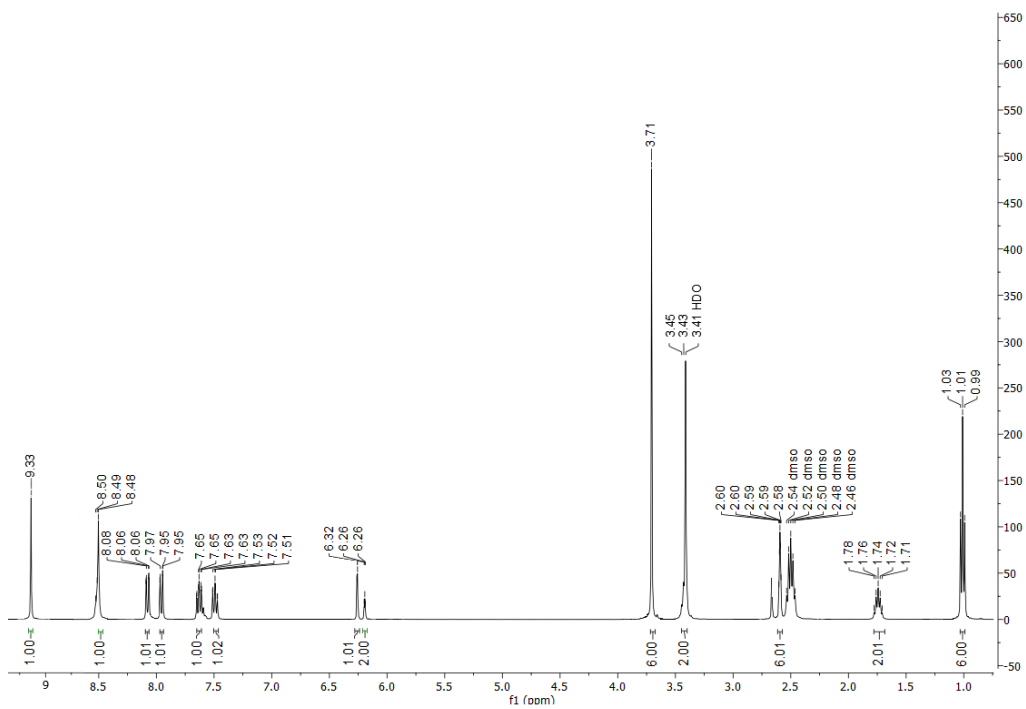
Spectro 17. Espectro IR del compuesto VIIc.



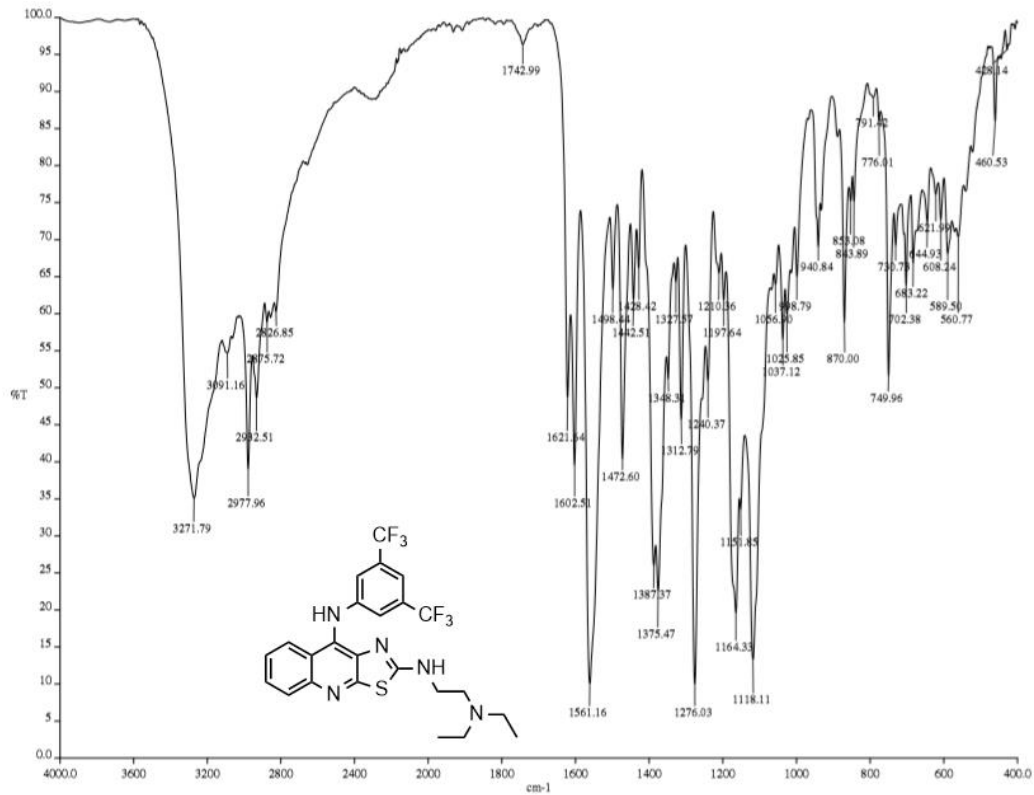
Spectro 18. Espectro de RMN del compuesto VIIc.



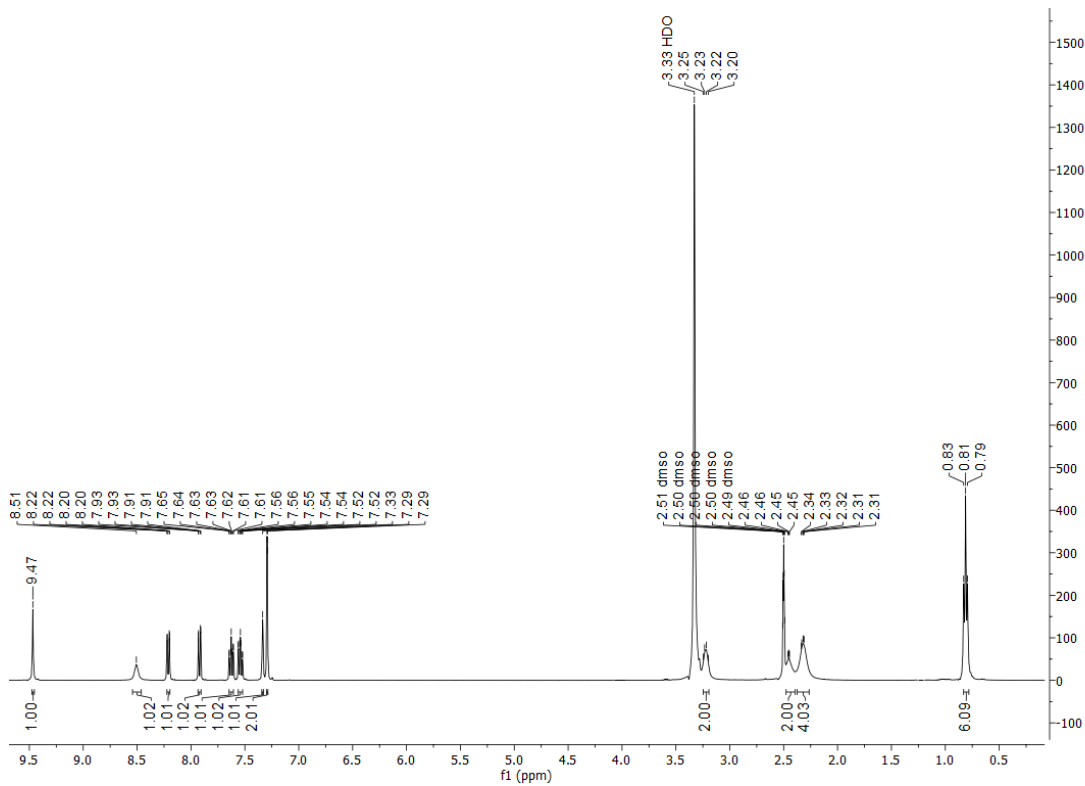
Espectro 19. Espectro IR del compuesto VII f.



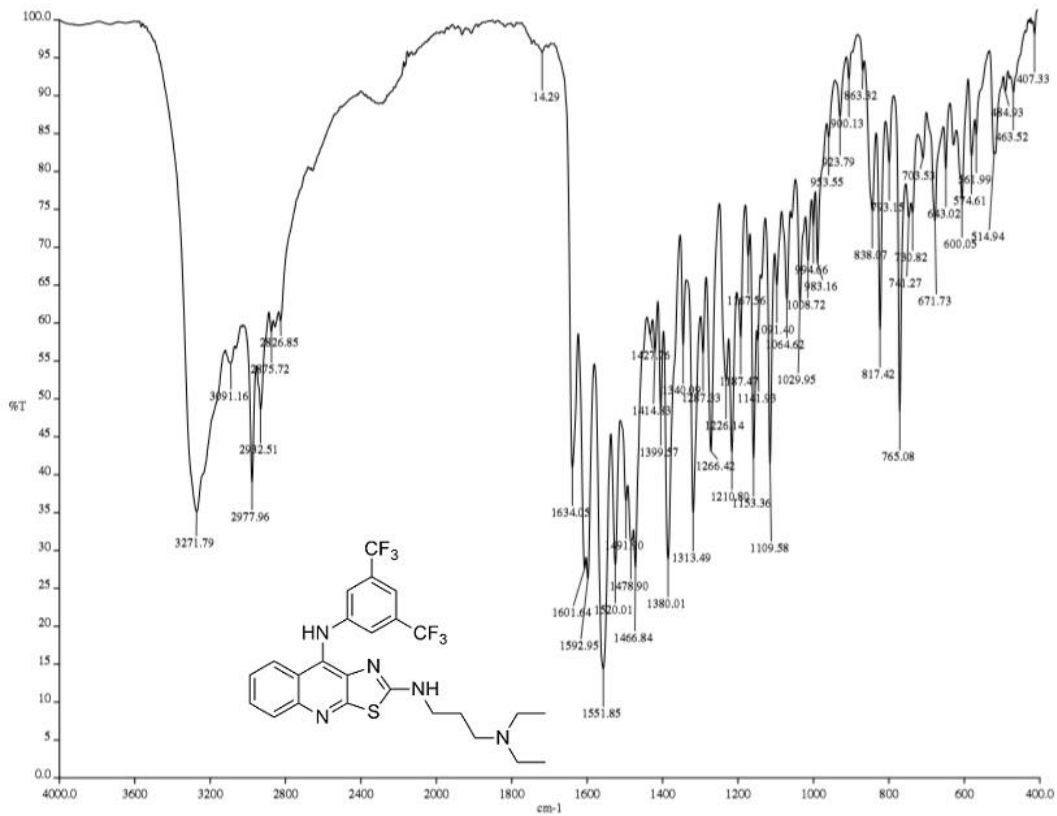
Espectro 20. Espectro de RMN del compuesto VII f.



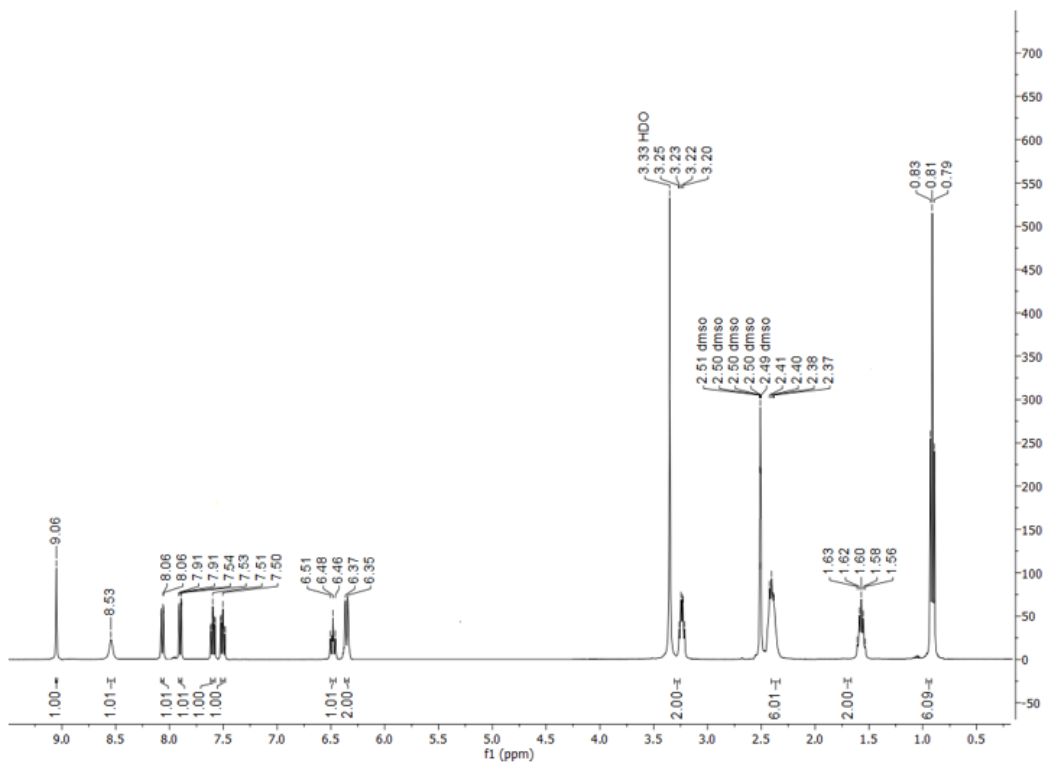
Spectro 21. Espectro IR del compuesto VIIg.



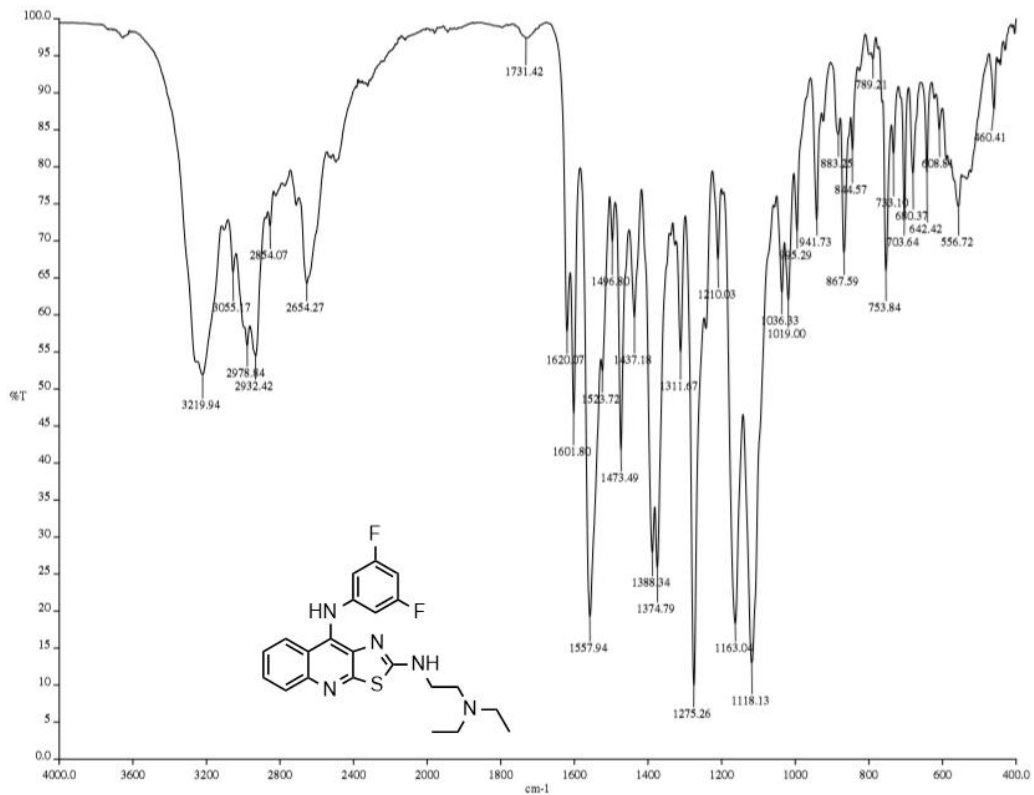
Spectro 22. Espectro de RMN del compuesto VIIg.



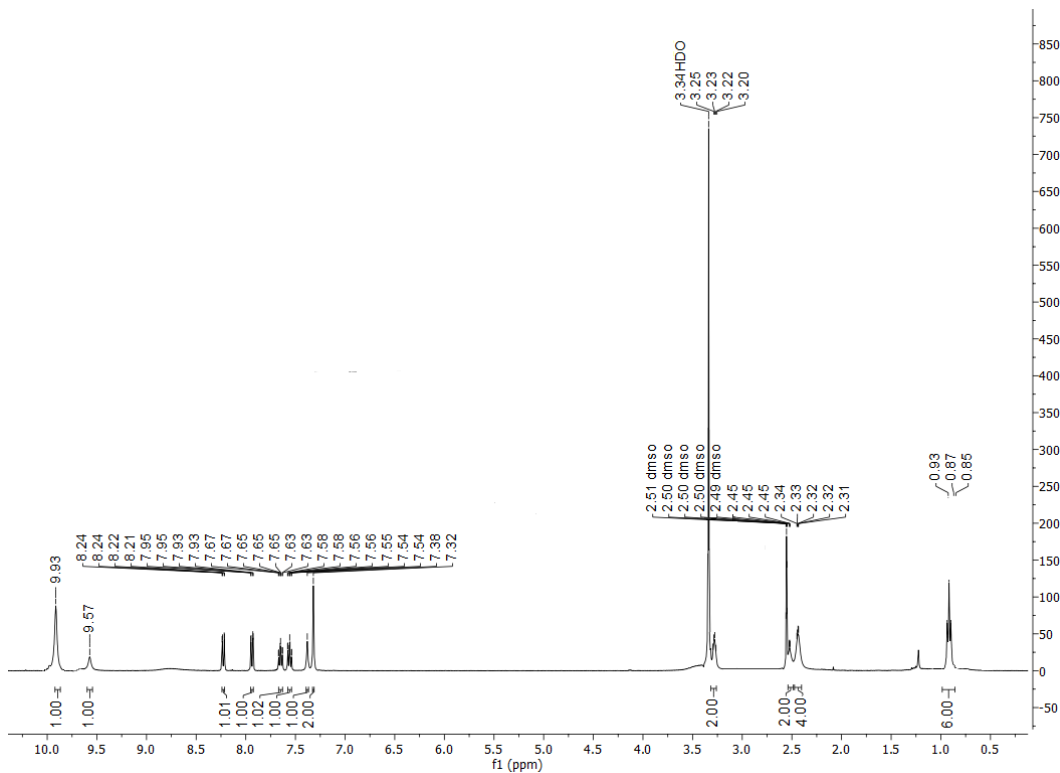
Espectro 23. Espectro IR del compuesto VIIh.



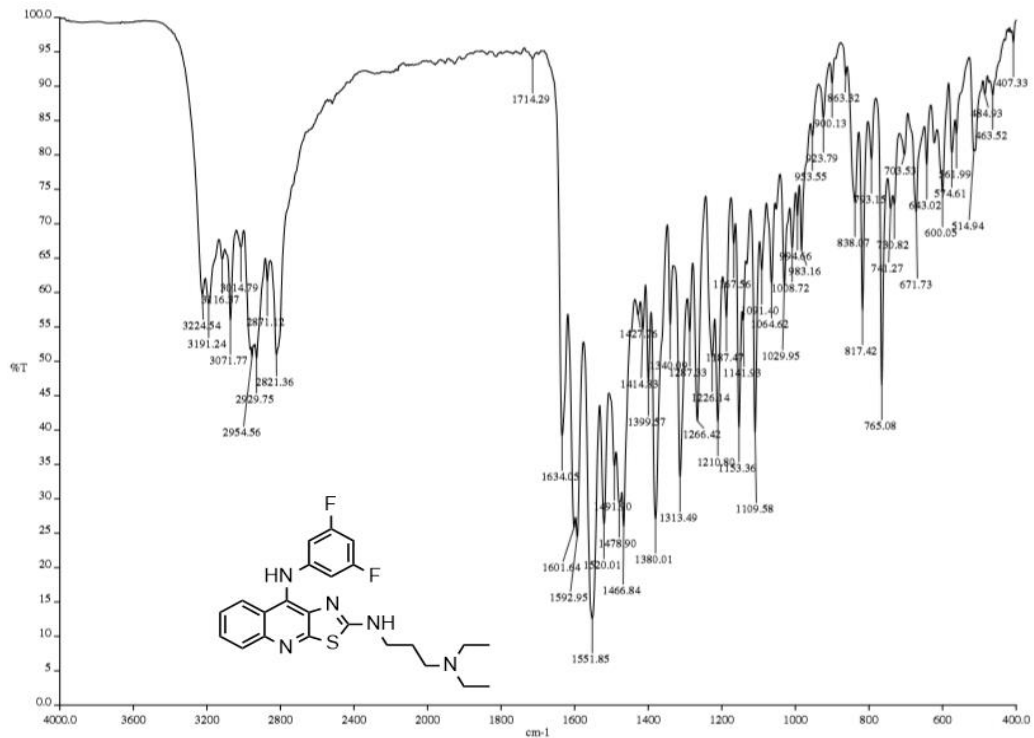
Espectro 24. Espectro de RMN del compuesto VIIh.



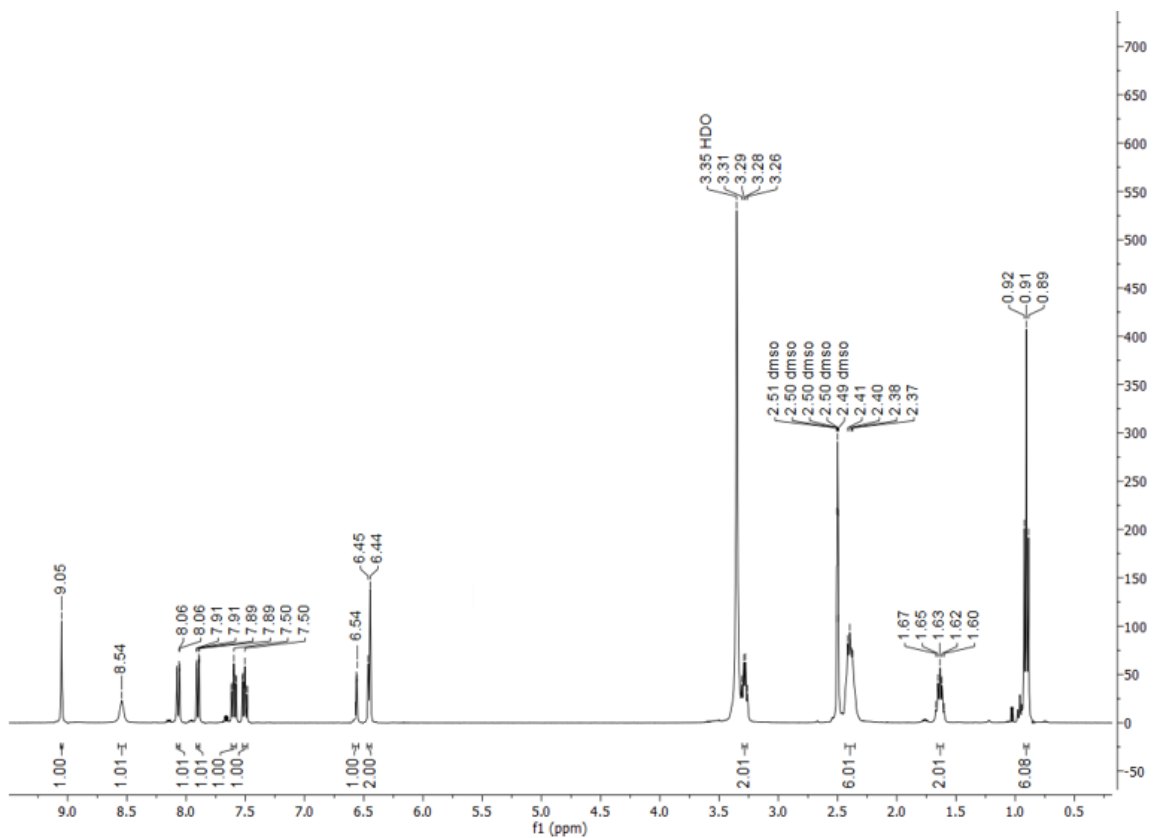
Espectro 25. Espectro IR del compuesto VIII.



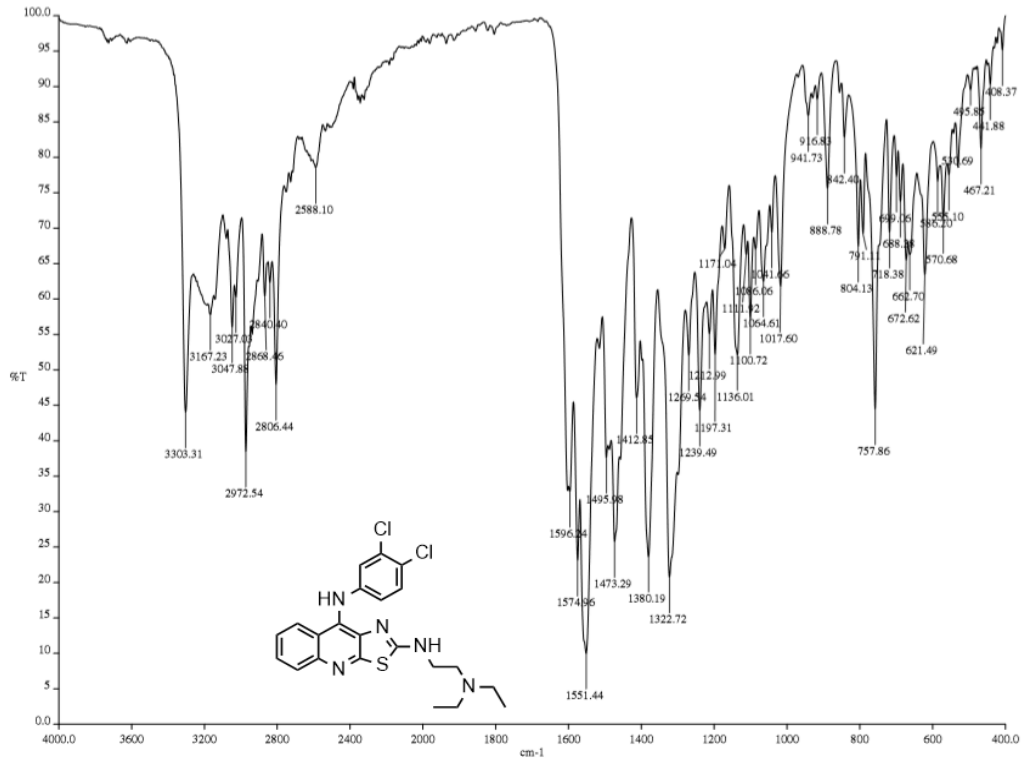
Espectro 26. Espectro de RMN del compuesto VIII.



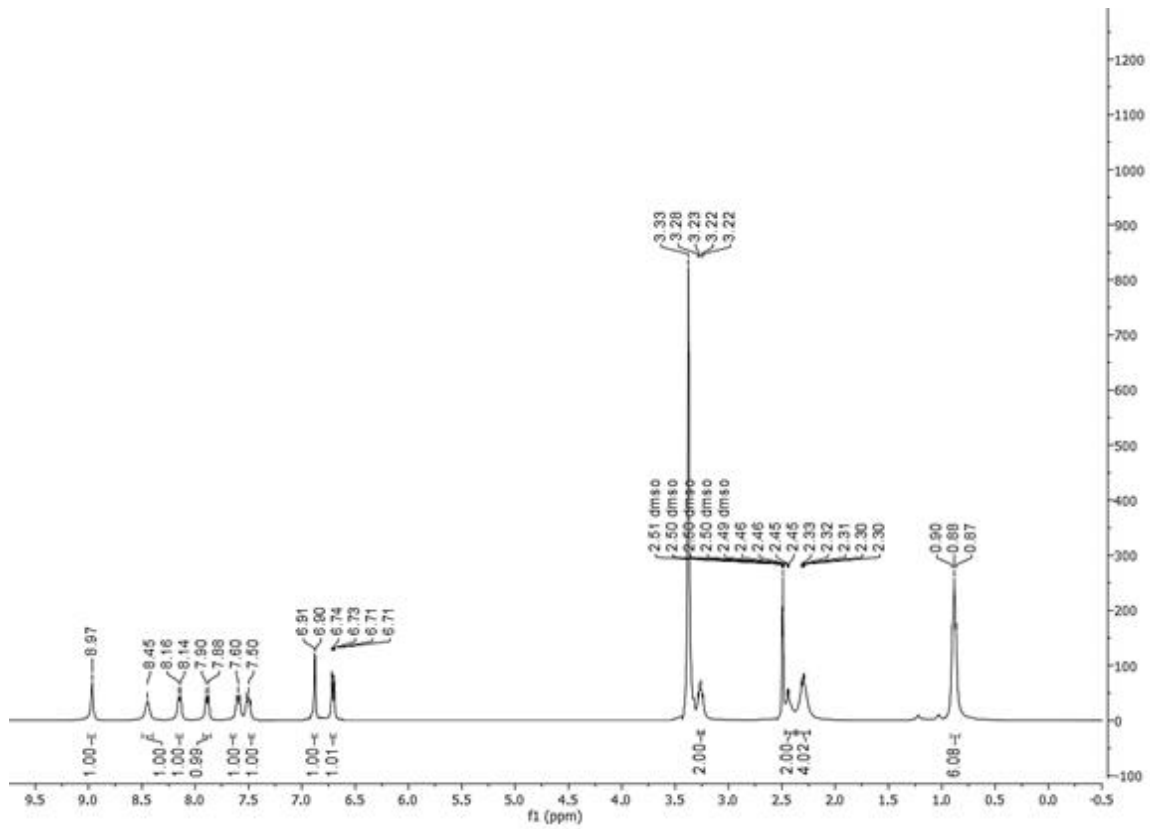
Espectro 27. Espectro IR del compuesto VIIj.



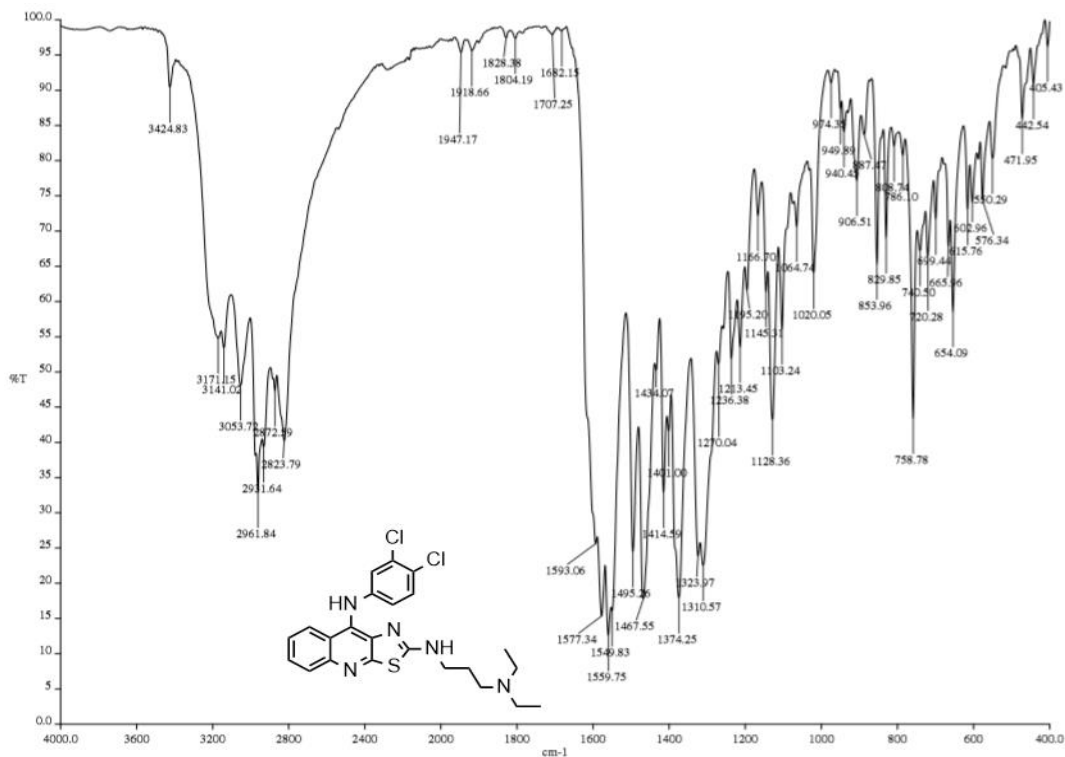
Espectro 28. Espectro de RMN del compuesto VIIj.



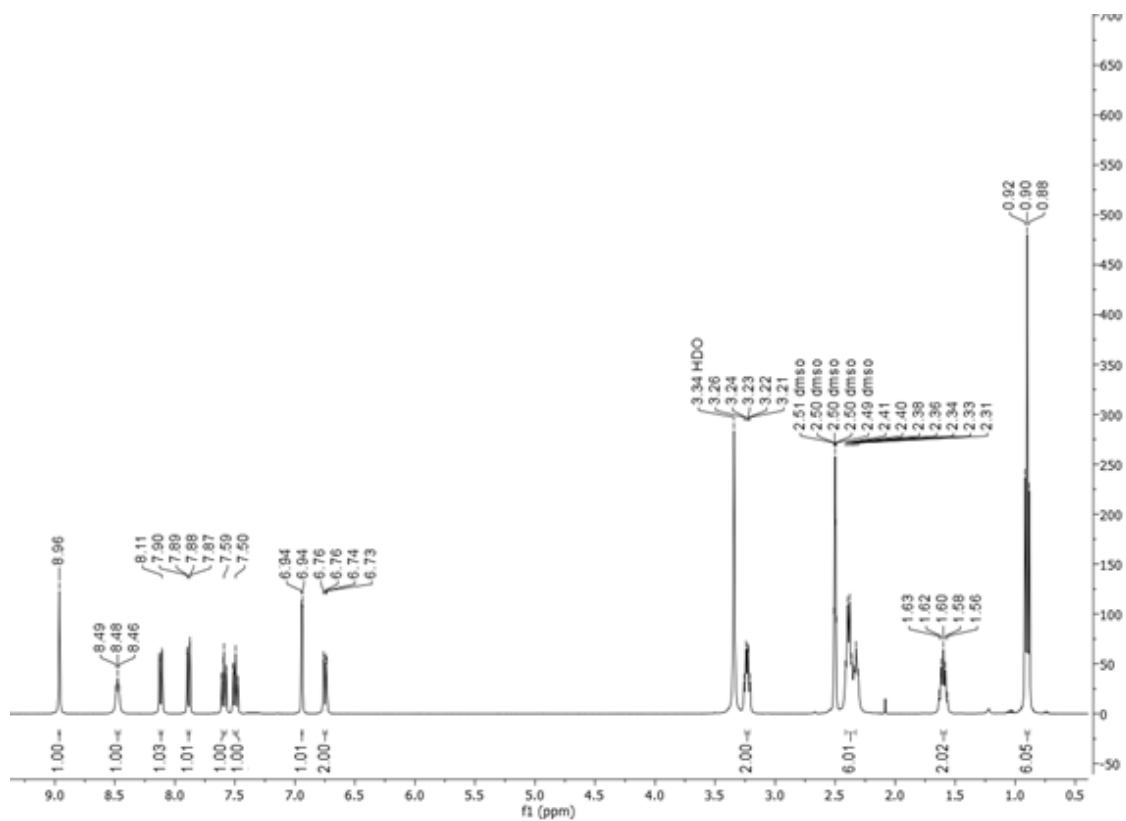
Espectro 29. Espectro IR del compuesto **VIIk**.



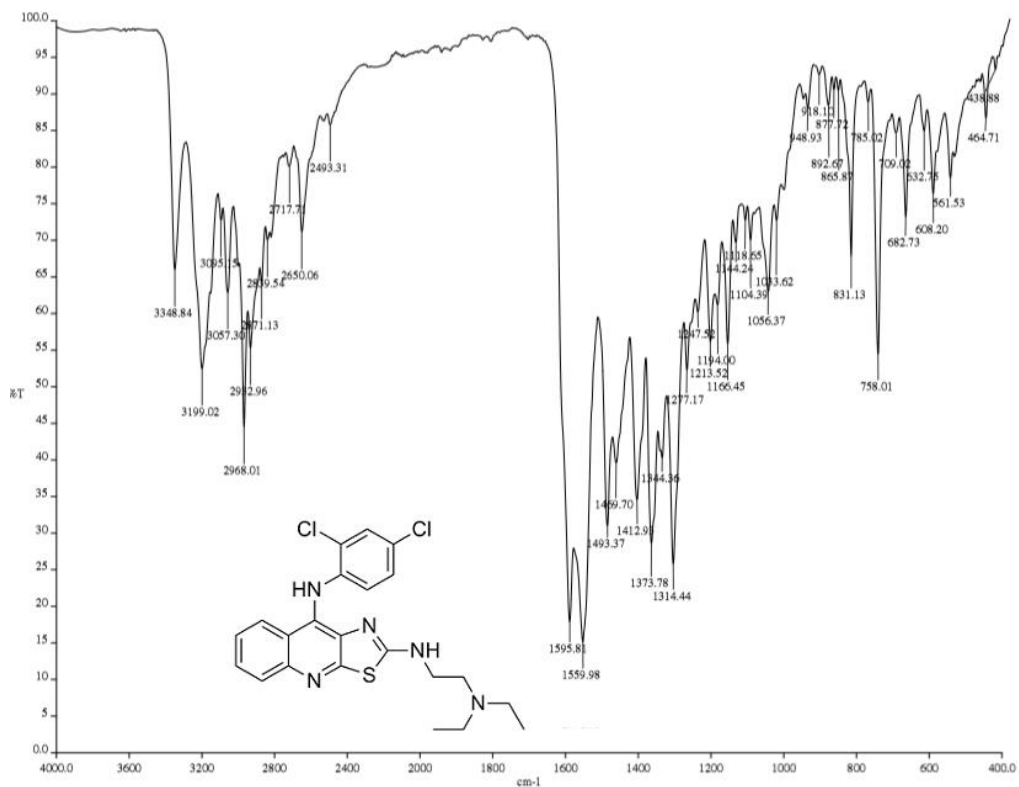
Espectro 30. Espectro de RMN del compuesto **VIIk**.



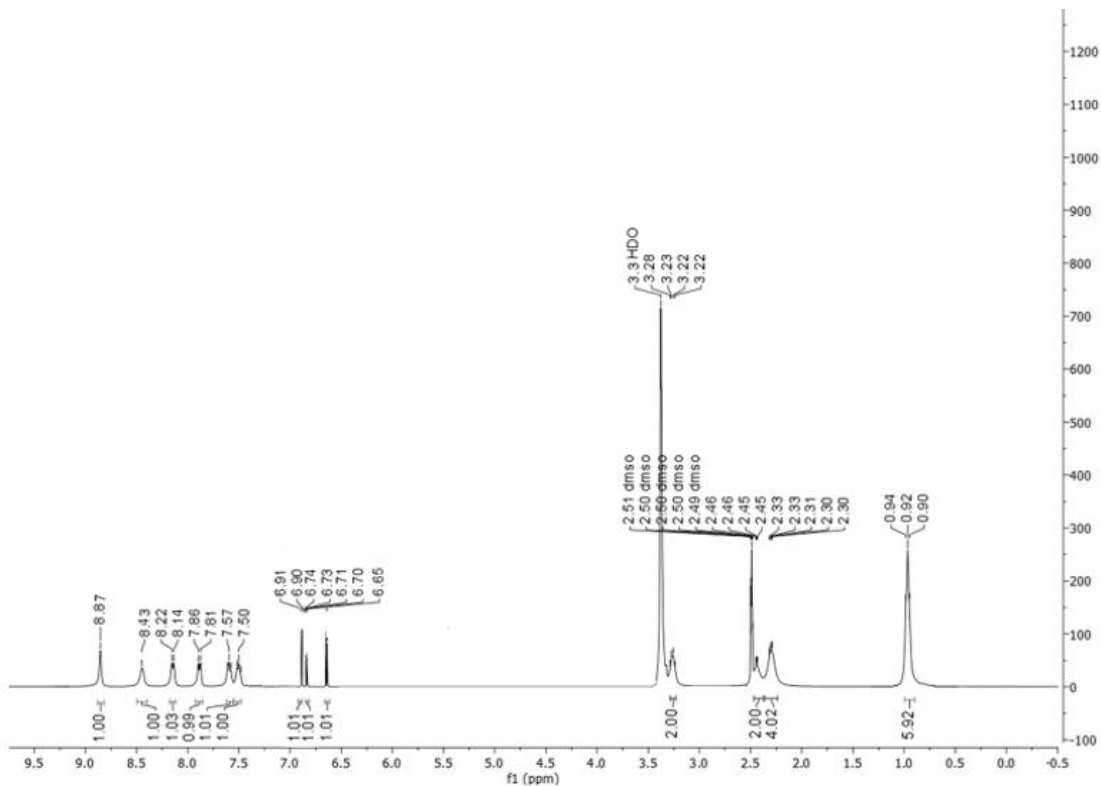
Espectro 31. Espectro IR del compuesto VIII.



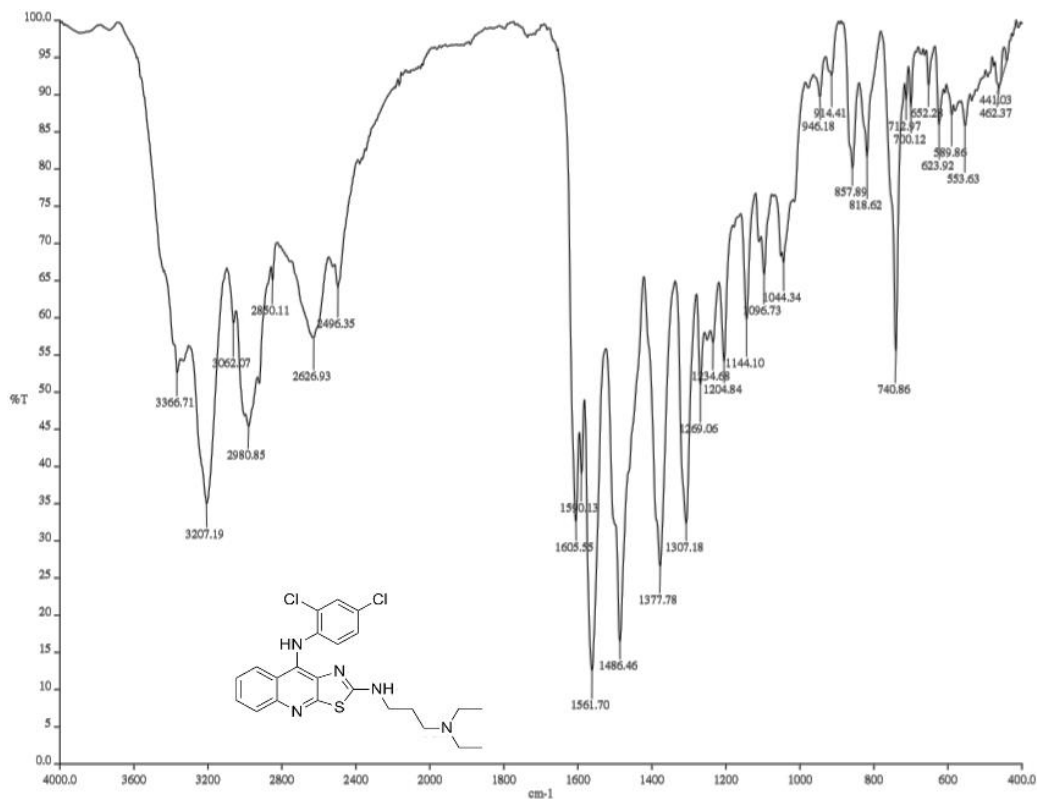
Espectro 32. Espectro de RMN del compuesto VIII.



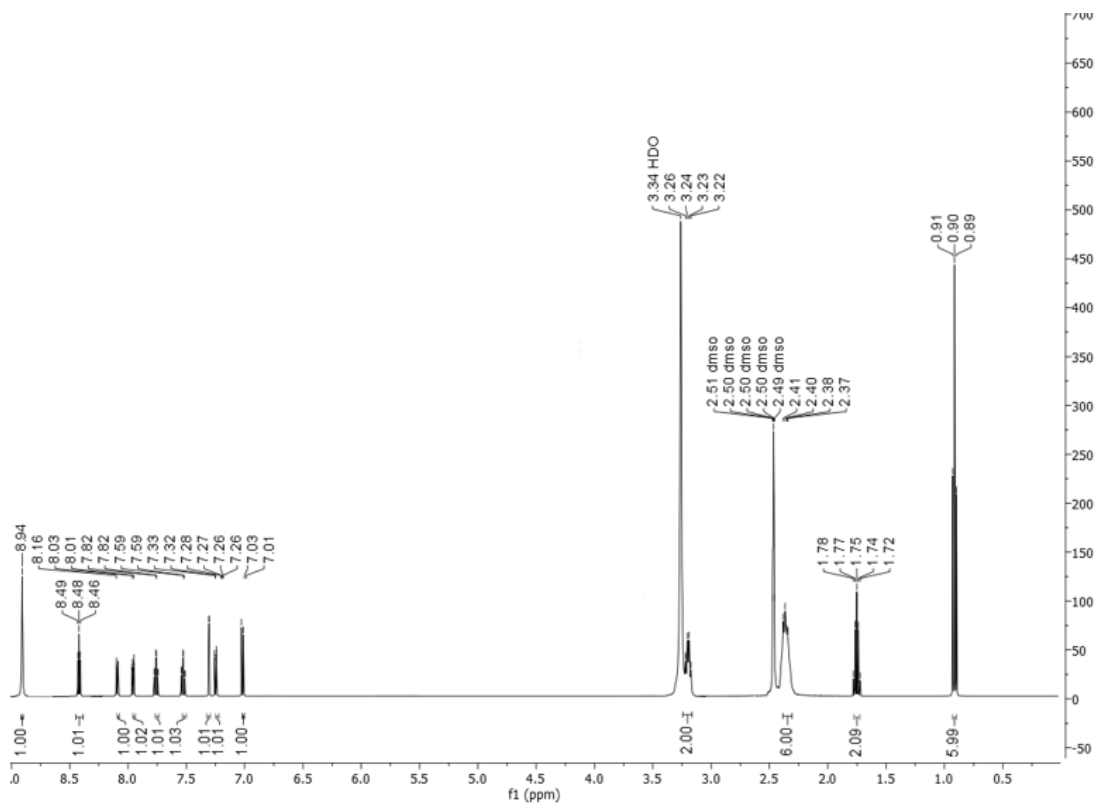
Espectro 33. Espectro IR del compuesto VIIIm.



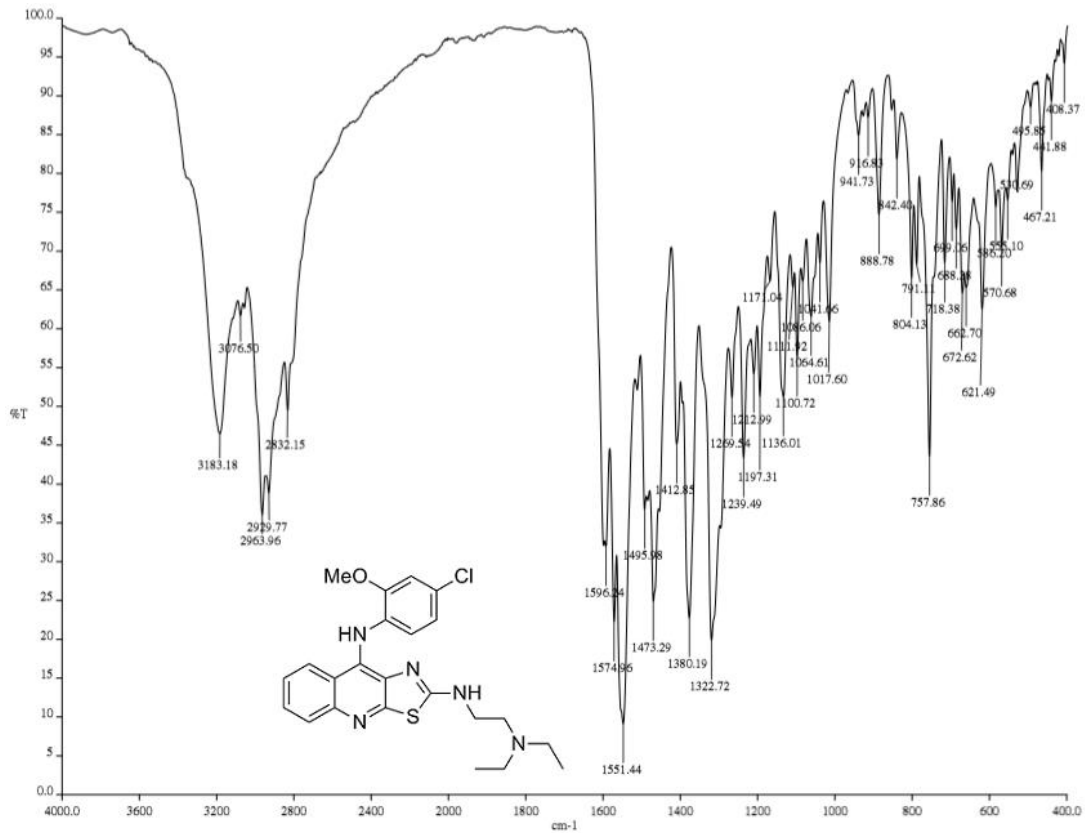
Espectro 34. Espectro de RMN del compuesto VIIIm.



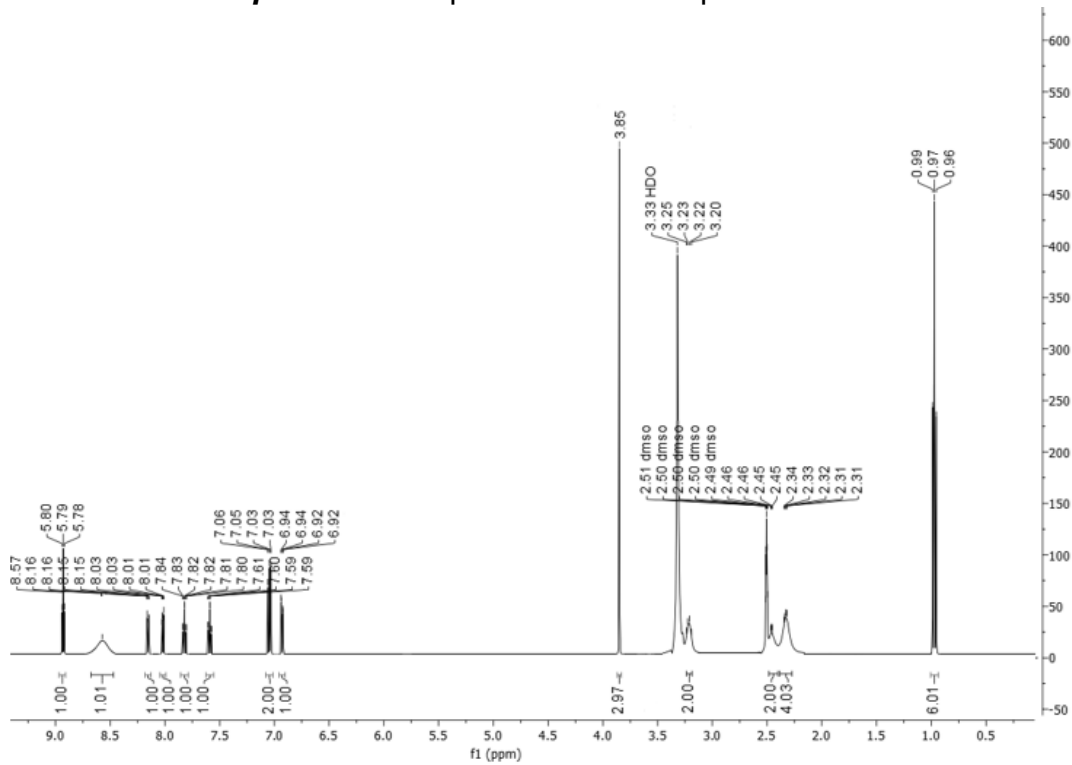
Spectro 35. Espectro IR del compuesto VIIIn.



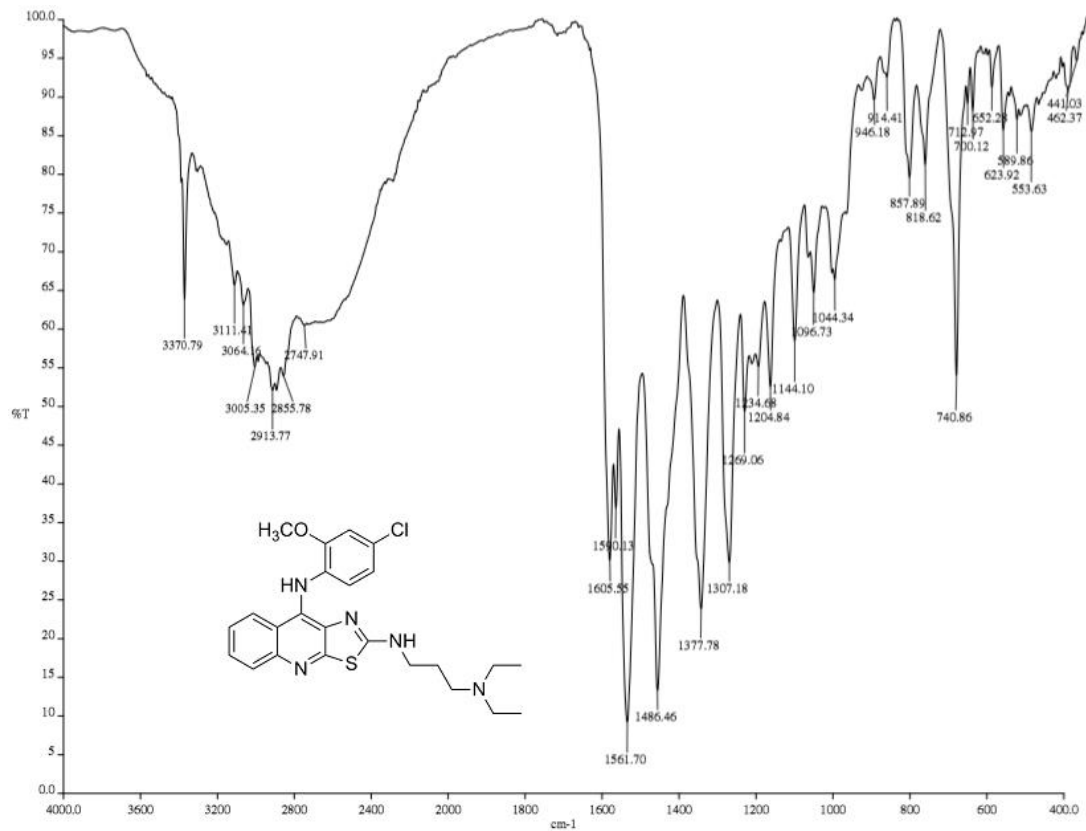
Spectro 36. Espectro de RMN del compuesto VIIIn.



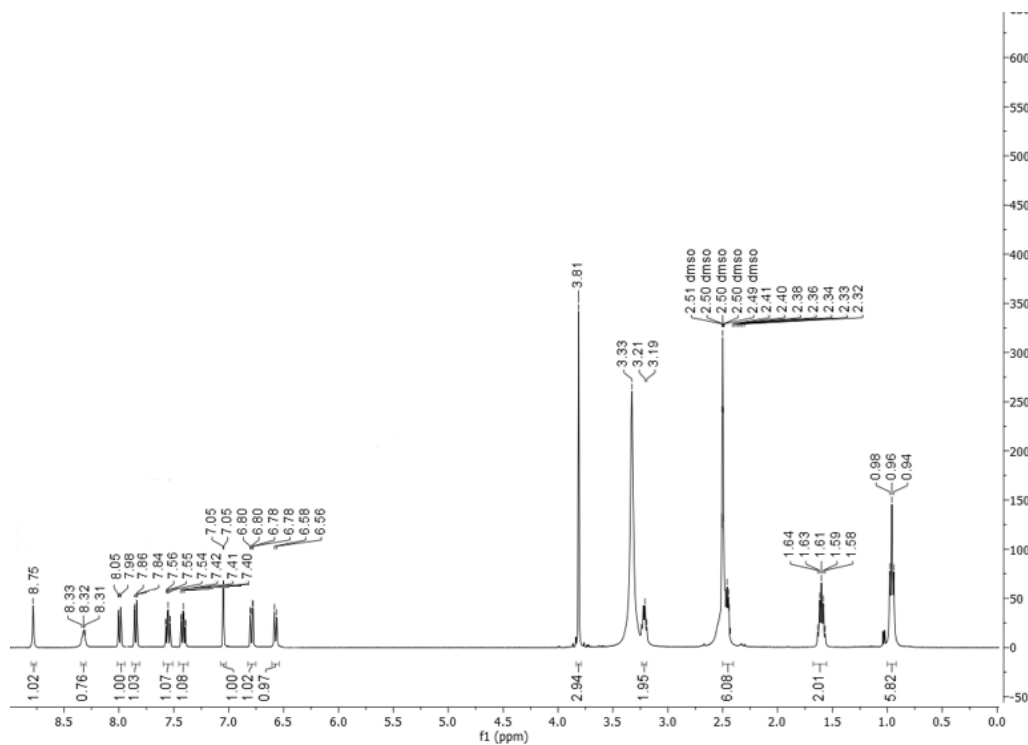
Spectro 37. Espectro IR del compuesto VIIo.



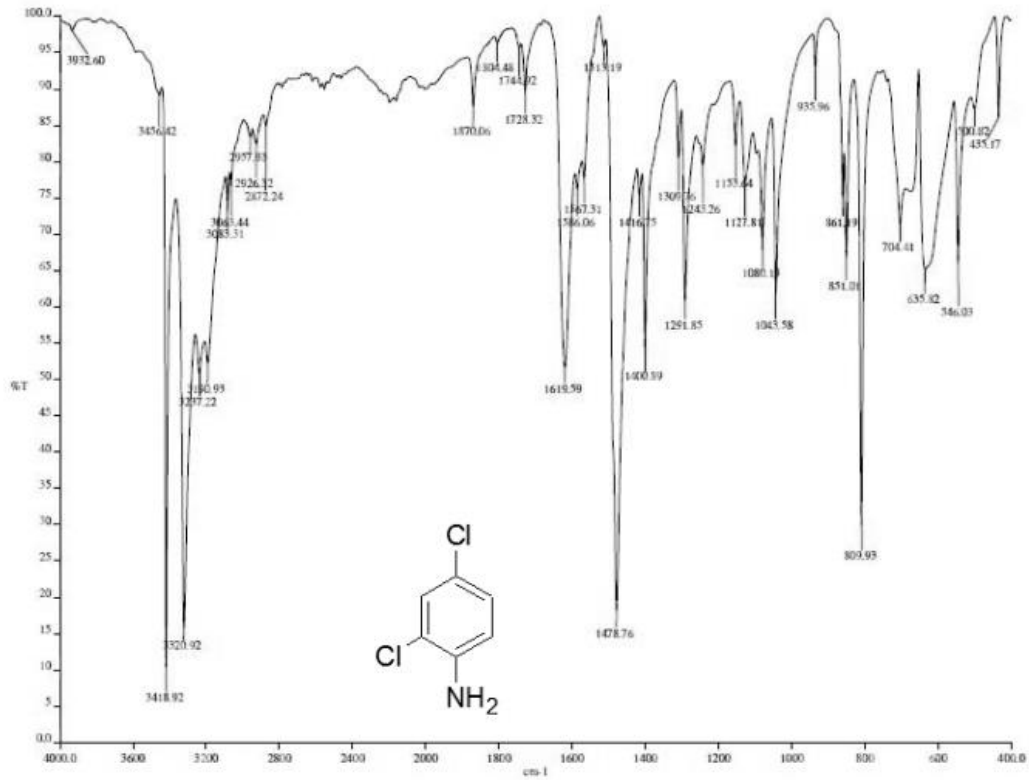
Spectro 38. Espectro de RMN del compuesto VIIo.



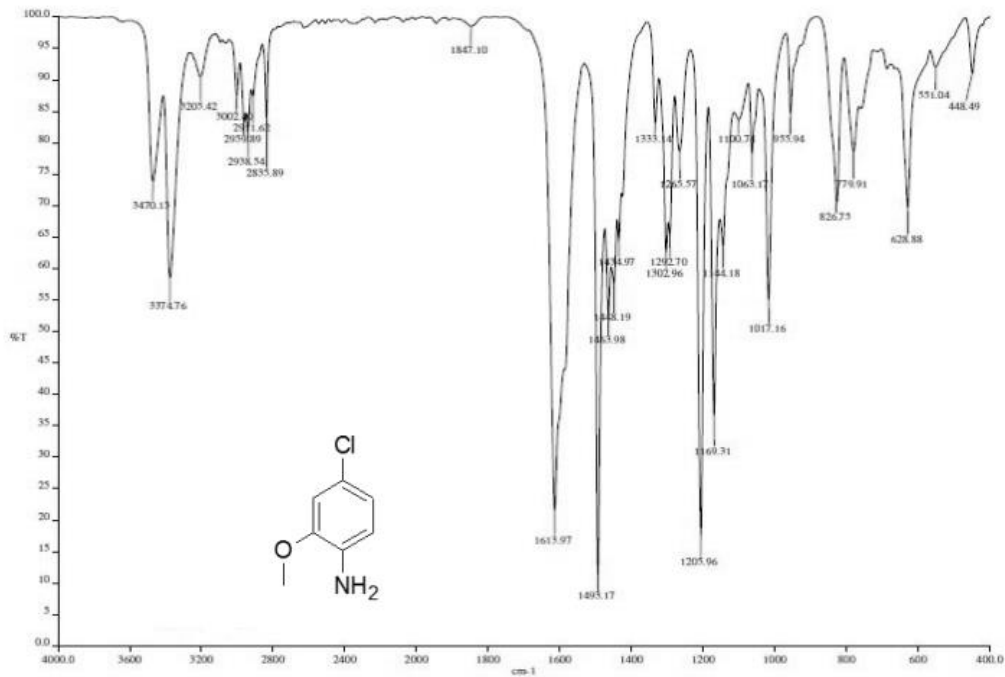
Spectro 39. Espectro IR del compuesto VIIp.



Spectro 40. Espectro de RMN del compuesto VIIp.



Spectro 41. Espectro IR del compuesto **VIIIa**.



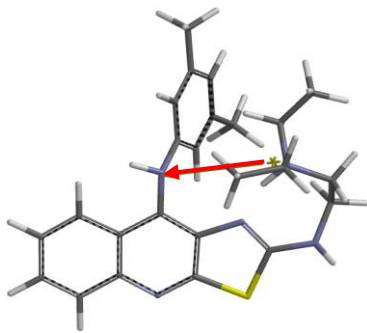
Spectro 42. Espectro IR del compuesto **VIIIb**.



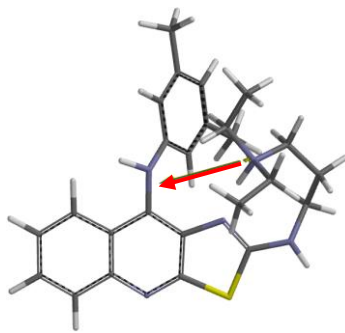
ANEXO II. IMÁGENES DE LOS COMPUESTOS ANALIZADOS COMO ENTIDADES AISALADAS.



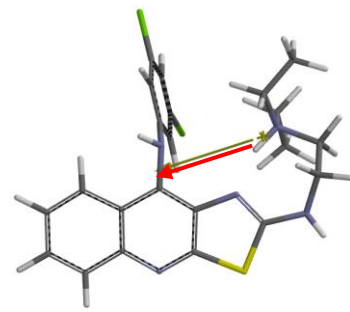
II.1.1 Orientación del vector momento dipolar.



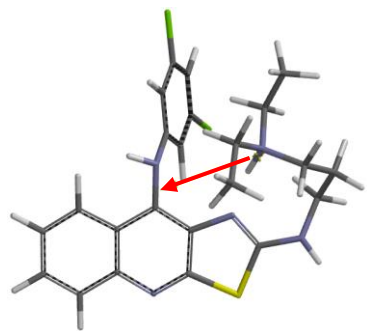
VII a



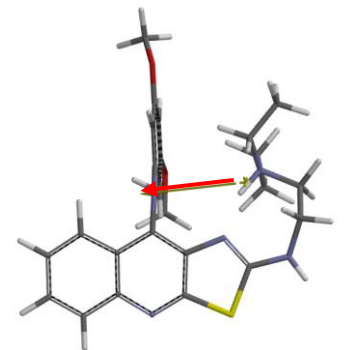
VII b



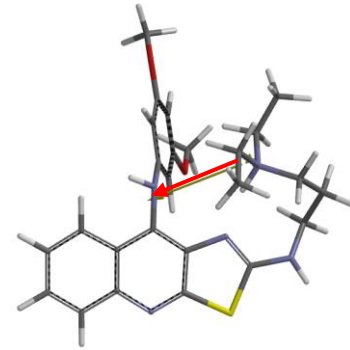
VII c



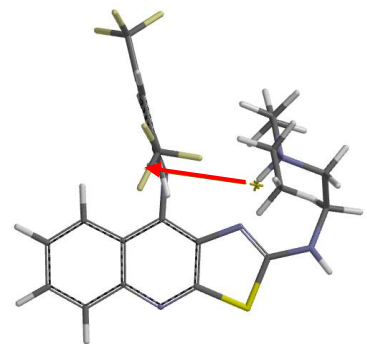
VII d



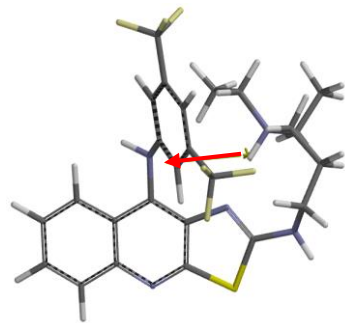
VII e



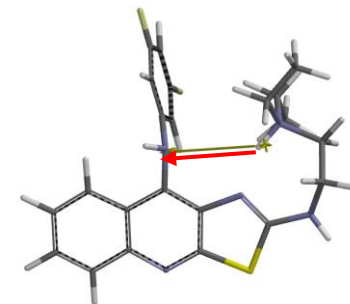
VII f



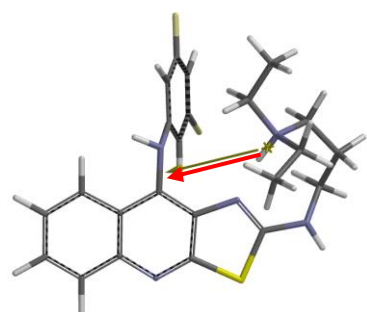
VII g



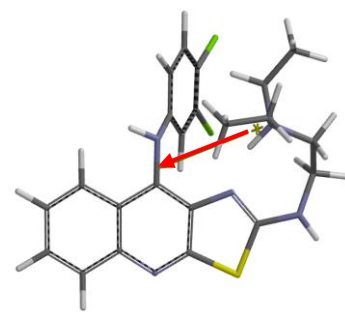
VII h



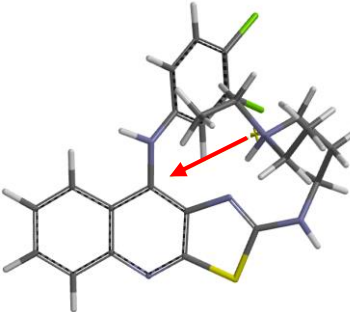
VII i



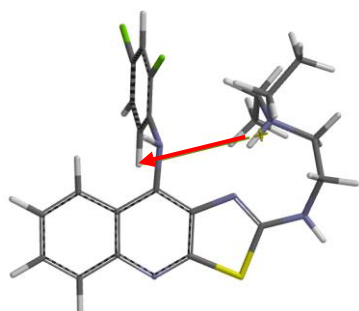
VII j



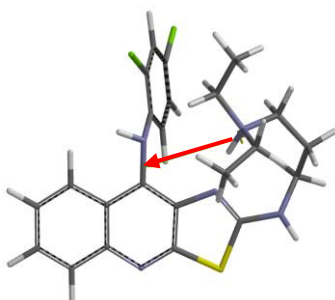
VII k



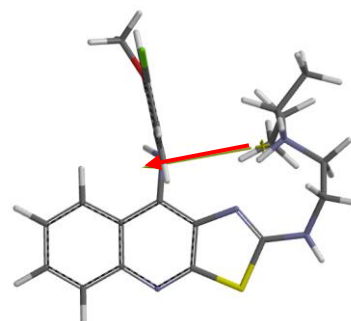
VII l



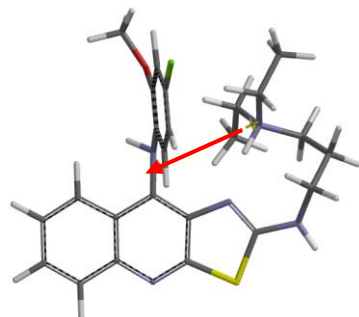
VII m



VII n

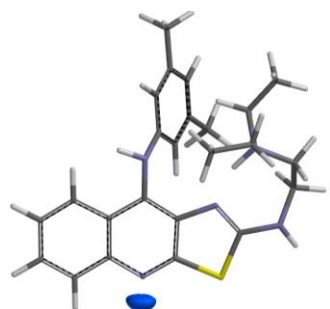


VII o

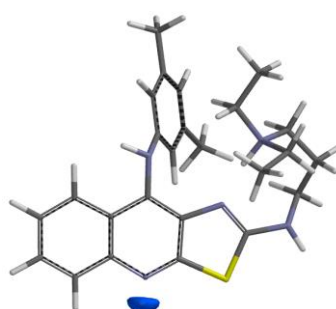


VII p

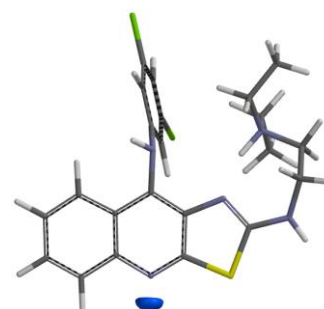
II.1.2 Distribución del potencial molecular electrostático.



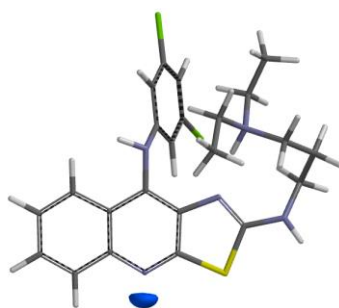
VII a



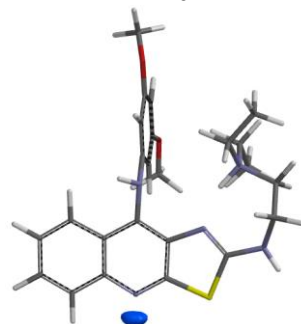
VII b



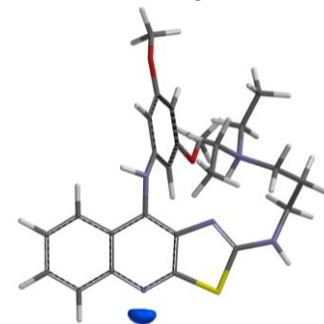
VII c



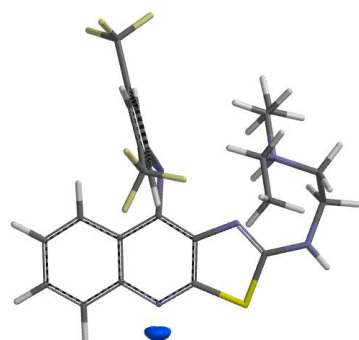
VII d



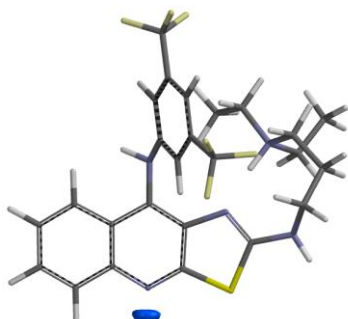
VII e



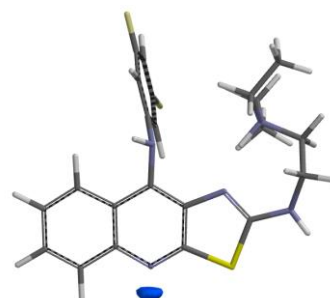
VII f



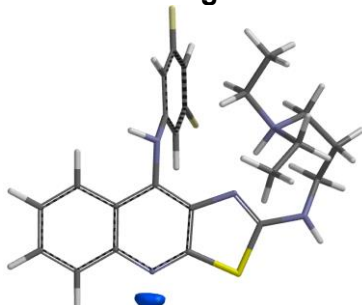
VII g



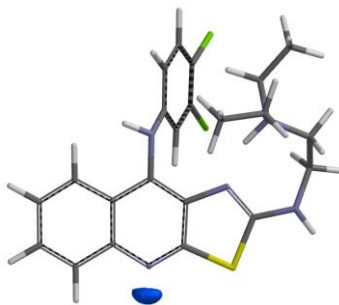
VII h



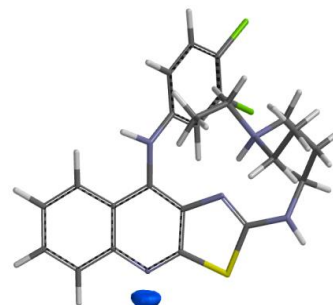
VII i



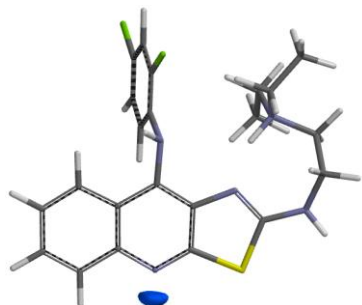
VII j



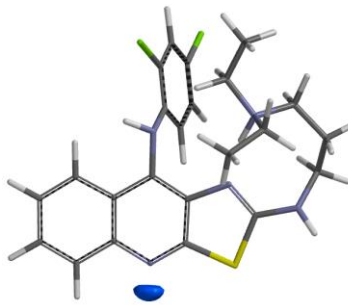
VII k



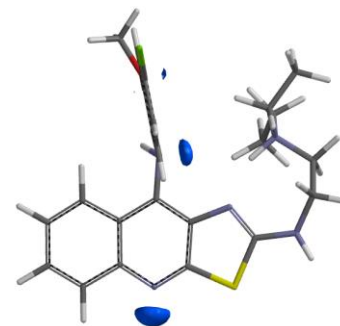
VII l



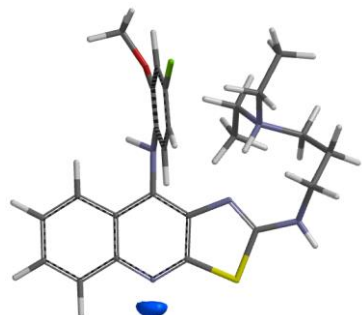
VII m



VII n



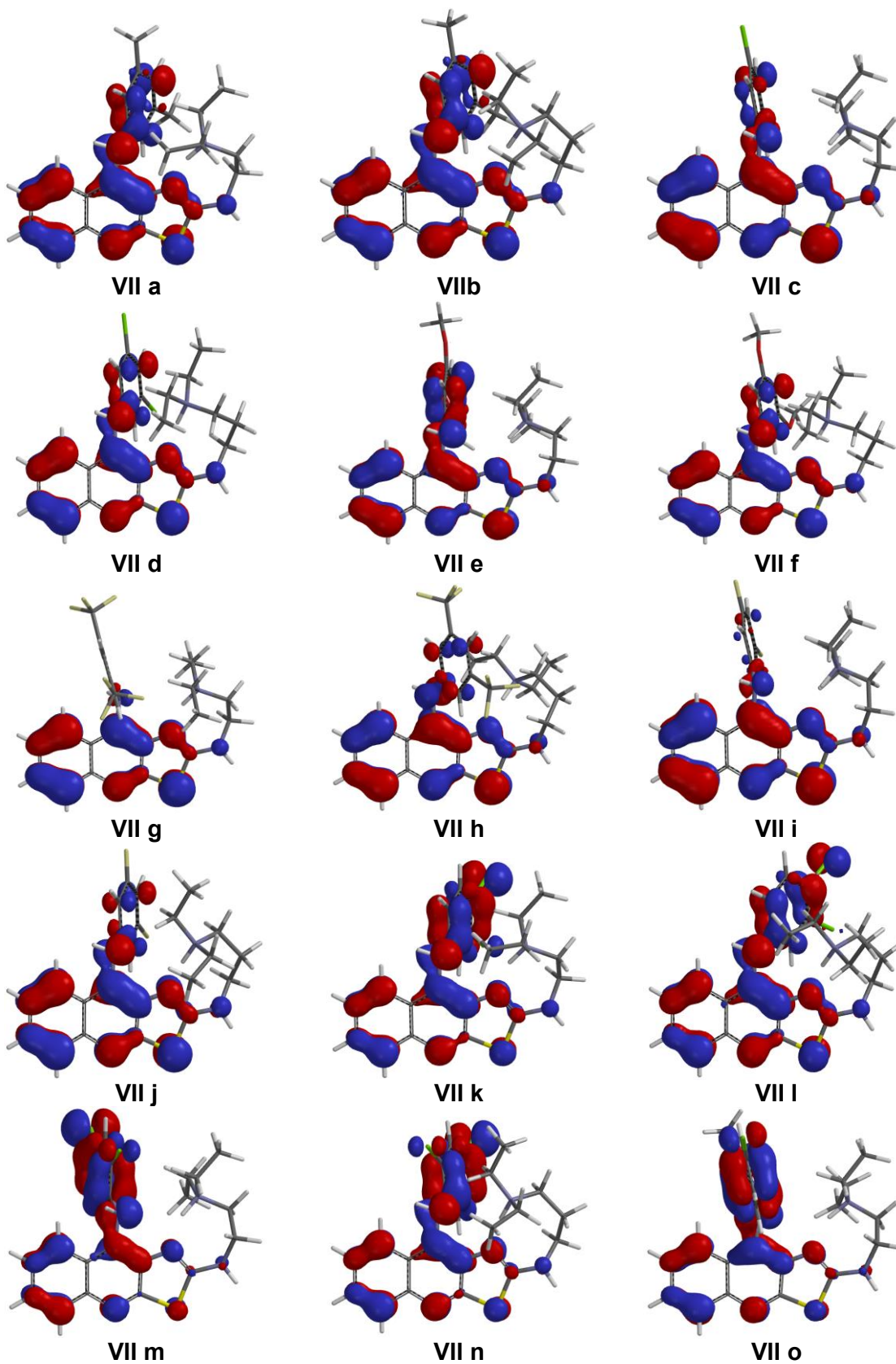
VII o

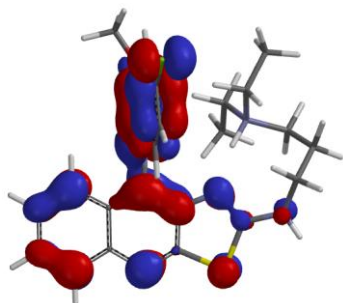


VII p



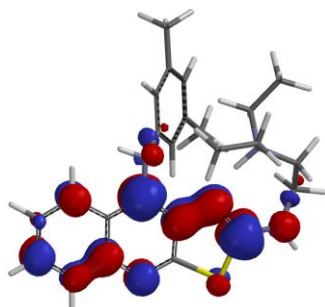
II.1.3 Distribución de los orbitales HOMO.



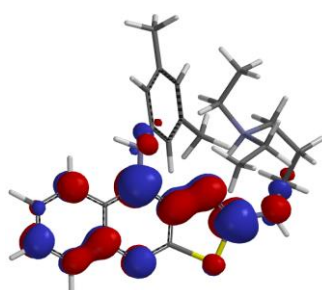


VII p

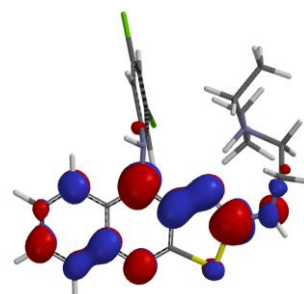
II.1.4 Distribución de los orbitales LUMO.



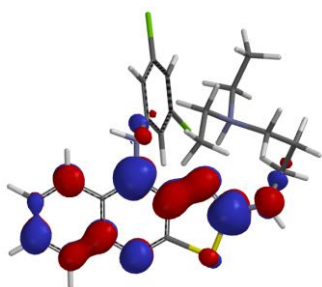
VII a



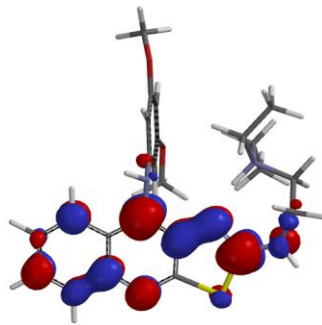
VII b



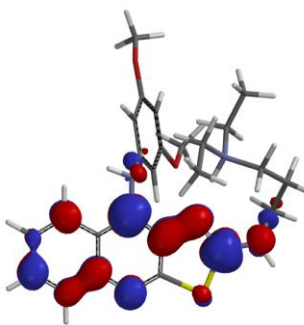
VII c



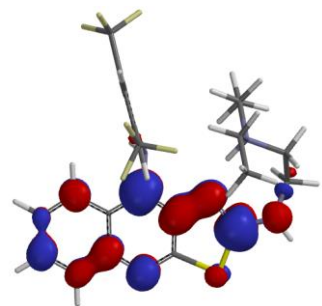
VII d



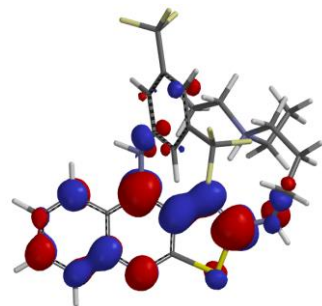
VII e



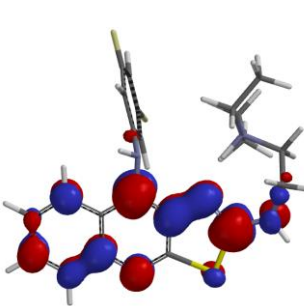
VII f



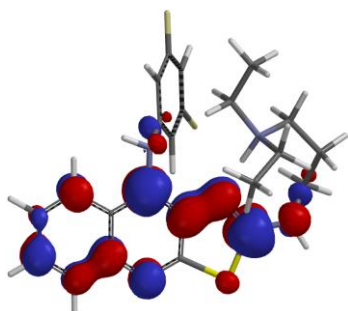
VII g



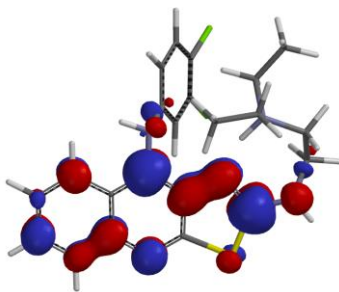
VII h



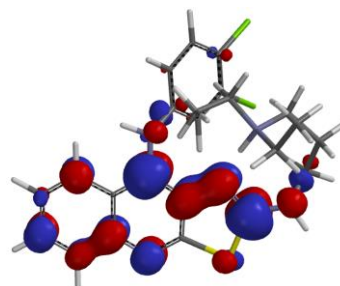
VII i



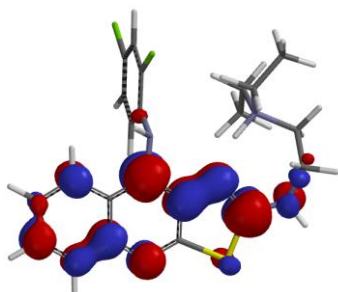
VII j



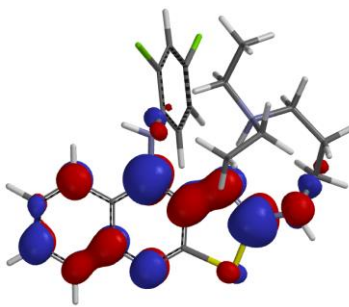
VII k



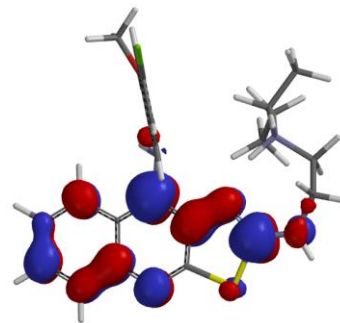
VII l



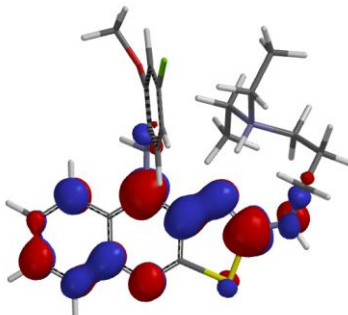
VII m



VII n



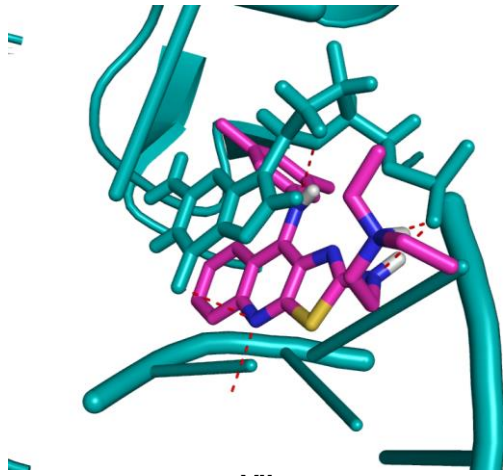
VII o



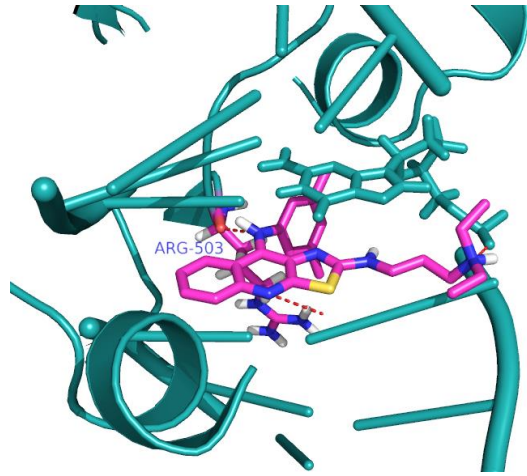
VII p



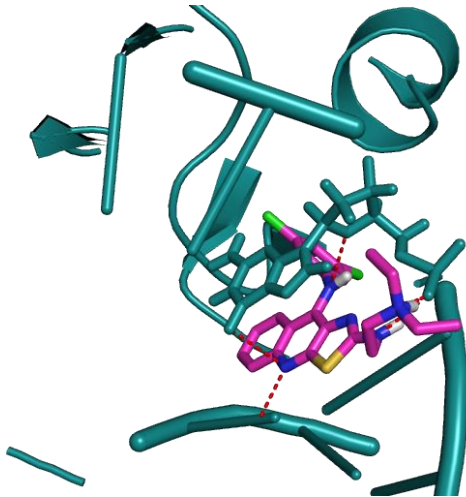
ANEXO III. Imágenes de los complejos Topo II-ADN-Inhibidor.



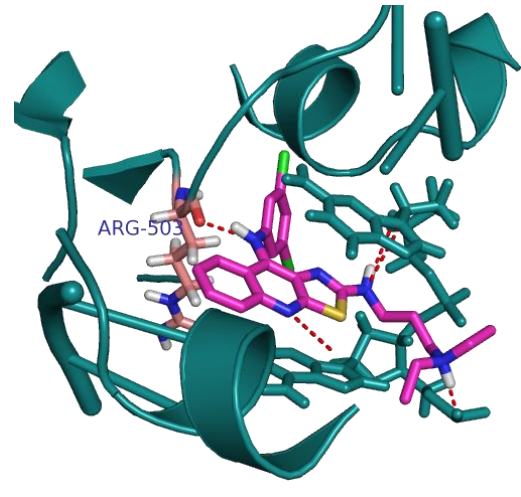
VII a



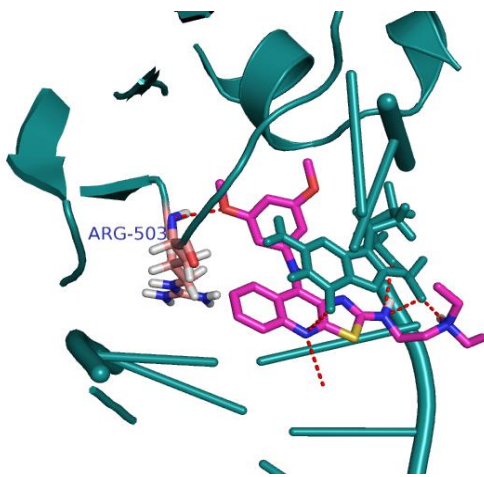
VII b



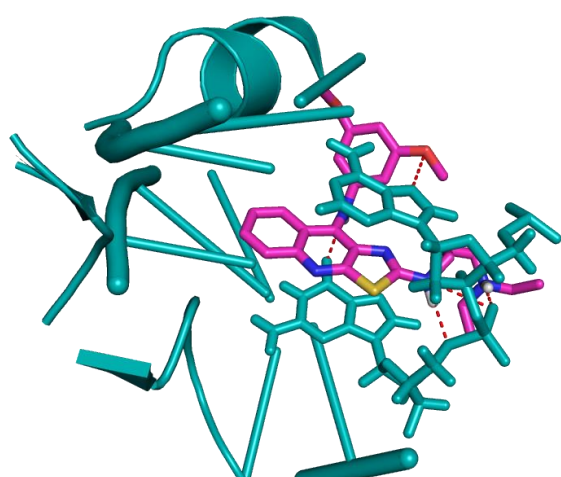
VII c



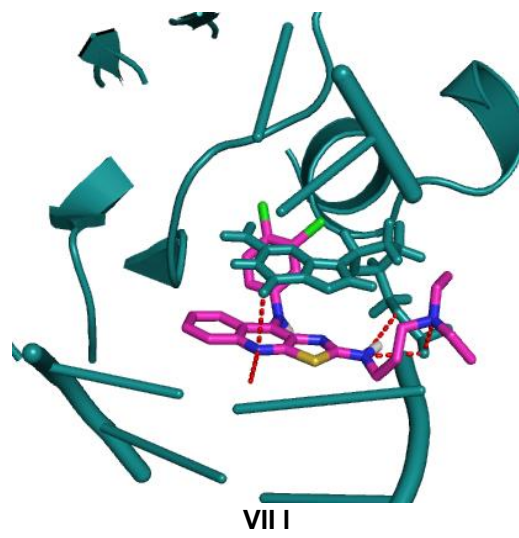
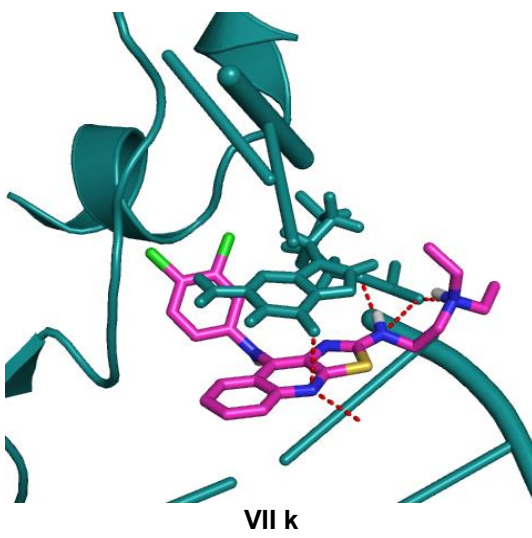
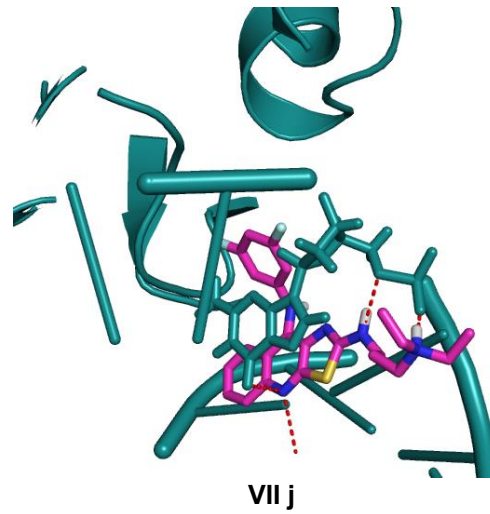
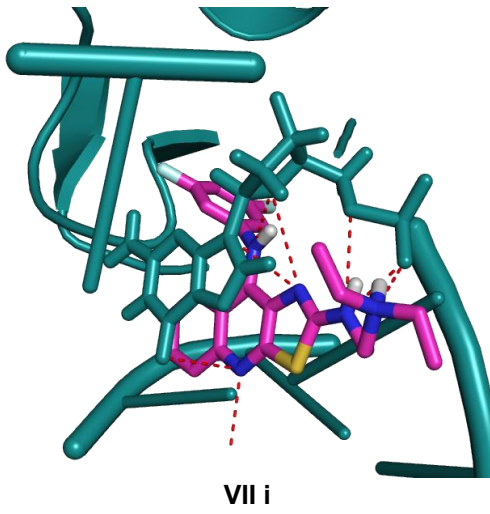
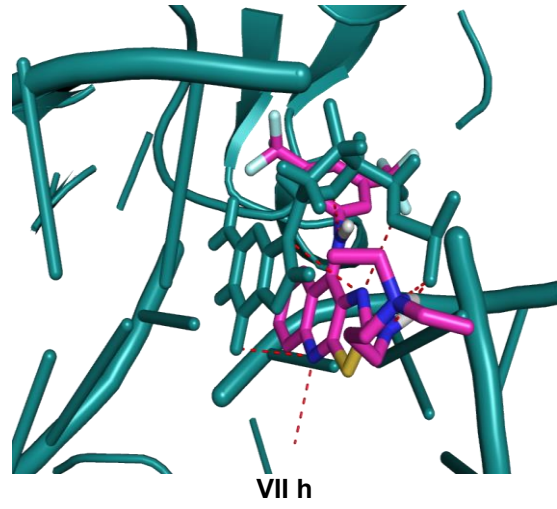
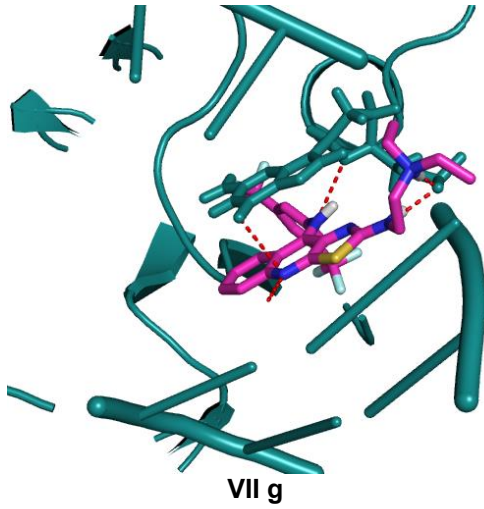
VII d

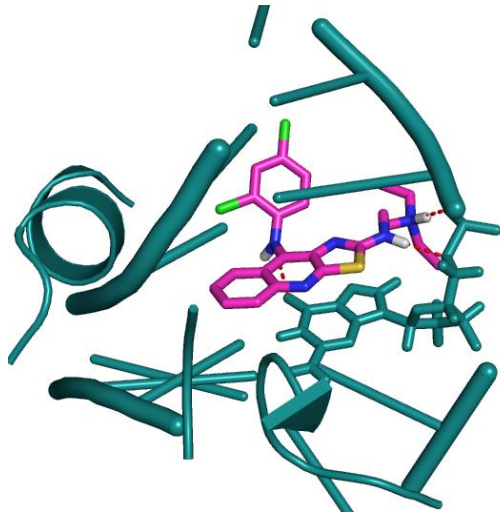


VII e

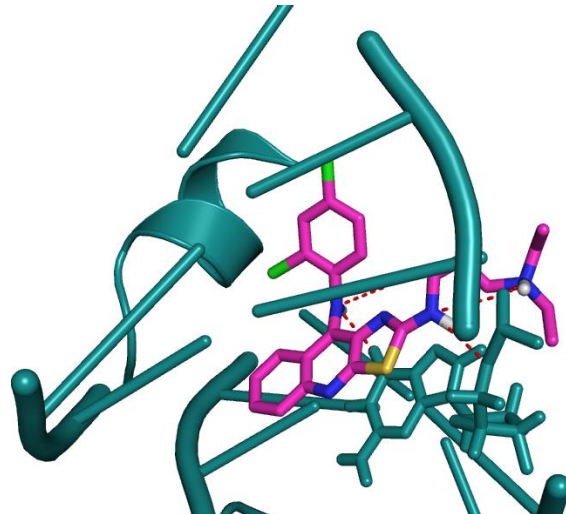


VII f

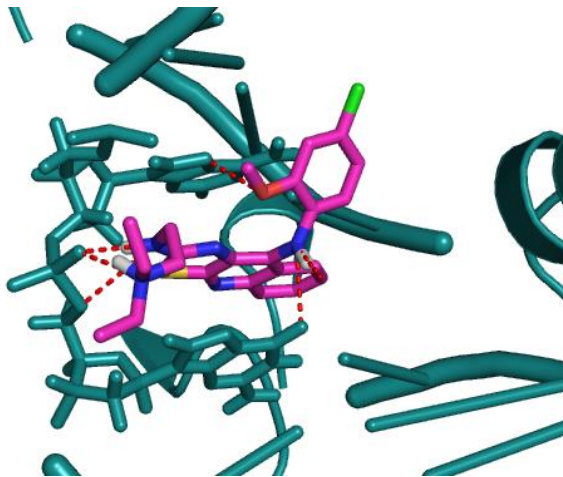




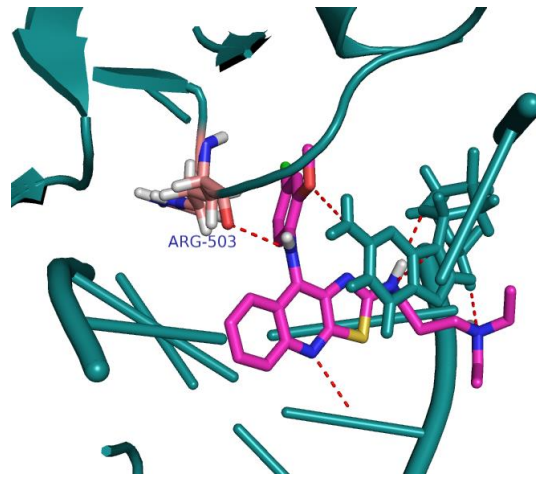
VII m



VII n



VII o



VII p