



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**SÍNTESIS DE AMIDAS Y ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD
ANTIPROLIFERATIVA**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. SALOMÓN JACINTO GUTIÉRREZ



TUTOR: Dr. ROBERTO MARTÍNEZ

AÑO: 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

H. JURADO

Presidente:	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	FES-Cuautitlán, UNAM
Vocal:	M. en C. José Manuel Méndez Stivalet	Facultad de Química, UNAM
Vocal:	Dr. José Mario Ordóñez Palacios	CIQ-UAEMorelos
Vocal:	Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez	Instituto de Química, UNAM
Secretario:	Dr. Alejandro Cordero Vargas	Instituto de Química, UNAM

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio 2-11 del departamento de Química Orgánica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), bajo la dirección del Dr. Roberto Martínez. Se agradece el apoyo económico por parte del Conacyt (Proyecto 131295) y la beca de Ayudante de Investigador Nacional Nivel III.

Con cariño y amor a mis padres, Sr Antonino Jacinto y Sra. Teresa Gutiérrez, a mis hermanas Carmen y Elena, a Estrella gracias por todo su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) mi alma mater, por brindarme el honor de realizar mis estudios de posgrado y ser mi segundo hogar.

Al Dr. Roberto Martínez, por darme la oportunidad de formara parte de su grupo de investigación, por toda esa paciencia prestada hacia mí, por apoyarme en momentos difíciles y darme siempre una solución, por sus valiosos consejos y sobre todo por creer en mí.

A los miembros de mí H. Jurado, por sus valiosas y acertadas observaciones que contribuyeron a la mejora de mi tesis.

Al personal técnico del Instituto de Química de la UNAM: Teresa Ramírez Apan, Elizabeth Huerta, Ángeles Peña, Roció Patiño, Luis Velazco y Javier Pérez. Por la asistencia técnica.

Al personal de la biblioteca del Instituto de Química por sus atenciones.

Al M. en C. Rubén Omar Torres Ochoa, por compartir sus conocimientos y supervisar mi proyecto de maestría, además de ser un excelente compañero.

A mis compañeros del laboratorio: Cristina Canche, Rosa María Chávez, Marlene Hernández, Víctor Cardoso y Enrique González. Por su valiosa amistad, por todo lo que he aprendido de ellos y por colaborar conmigo en mi estancia de maestría.

Al M. en C. Mario García, por el apoyo técnico y su valiosa amistad.

A mis amigos del Instituto de Química: Carmela Crisóstomo, Maricela Morales, Edgar Bonilla, Ever Ble y Eduardo Peralta.

Presentaciones en Congresos:

Salomón Jacinto Gutiérrez, Roberto Martínez, Paul E. Reyes Gutiérrez, Rubén O. Torres Ochoa. “Síntesis de Amidas y estudio de su actividad antiproliferativa”. Presentado durante el 46° Congreso Mexicano de Química, 30° Congreso Nacional de Educación Química. Septiembre de 2011.

Salomón Jacinto Gutiérrez, Roberto Martínez, Paul E. Reyes Gutiérrez, Rubén O. Torres Ochoa. “Síntesis de Amidas y estudio de su actividad antiproliferativa”. Presentado durante la 7ª Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Abril de 2011.

Salomón Jacinto Gutiérrez, Roberto Martínez, Paul E. Reyes Gutiérrez, Rubén O. Torres Ochoa. “Síntesis de Amidas y estudio de su actividad antiproliferativa”. Presentado durante el Simposio Interno del Instituto de Química de la UNAM. Diciembre de 2011.

CONTENIDO

ABREVIATURAS	i
RESUMEN	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ATECEDENTES	3
2.1. El cáncer.	3
2.2. Amidas derivadas del triptofol con actividad citotóxica.	5
2.3. Relación estructura actividad SAR.	7
2.4. Amidas con actividad biológica.	9
2.5. Adición radical oxidativa-aromática intermolecular.	12
3. OBJETIVO	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(indol-2-il)acetamida (32).	15
4.2. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-cloroacetamida (37).	18
4.3. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-bromoacetamida (38).	19
4.4. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-yodoacetamida (39).	19
4.5. Síntesis del Carbonoditioato de <i>S</i> -(bencilcarbamoil)metil- <i>O</i> -etilo (53).	20
4.6. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(indol-2-il)acetamida (32).	21
4.7. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(pirrol-2-il)acetamida (33).	22
4.8. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(tiofen-2-il)acetamida (34).	22
4.9. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(furan-2-il)acetamida (61).	23
4.10. Síntesis de la Diazometil-2-furilcetona (63).	24
4.11. Reacción de homologación.	25
4.12. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-(piridin-2-il)acetamida (35).	26

4.13. Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-fenilacetamida (36).	27
4.14 Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-ciclohexilacetamida (40).	29
4.15 Síntesis de la <i>N</i> -bencilacetamida (41).	30
4.16 Síntesis de la <i>N</i> -bencilpropionacetamida (42).	30
4.17 Síntesis de la <i>N</i> -bencil-2-metilpropionacetamida (43).	30
5. PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD	32
5.1 Protocolo general para el ensayo de citotoxicidad.	33
5.2 Resultados del porcentaje (%) de inhibición.	34
5.3 Efecto de la modificación estructural del compuesto líder.	36
5.4 Estudio de toxicidad.	40
6. CONCLUSIONES	43
7. SECCIÓN EXPERIMENTAL	44
7.1. Detalles generales.	44
7.2. Metodologías y datos espectroscópicos.	45
7.2.1. 2-Etoxicarbonotioilacetato de etilo (48).	45
7.3. Metodología general para la reacción de adición radical oxidativa-aromática intermolecular.	45
7.3.1. 2-Indolacetato de etilo (49).	46
7.4. Metodologías para la reacción de amidación.	46
7.4.1. <i>N</i> -Bencil-2-(indol-2-il)acetamida (32).	46
7.4.2. Carbonoditioato de <i>S</i> -(bencilcarbamoil)metil- <i>O</i> -etilo (53).	47
7.4.4. <i>N</i> -Bencil-2-(pirrol-2-il)acetamida (33).	48
7.4.5. <i>N</i> -Bencil-2-(tiofen-2-il)acetamida (34).	48
7.5. Metodología para la formación de cloruros de ácidos.	48

7.6. Metodología para la formación de diazocetonas.	49
7.6.1. Diazometil-2-piridincetona. (63)	49
7.7. Metodología para la transposición de Wolff.	49
7.7.1. Metil-2-piridinacetato (74).	50
7.7.2. <i>N</i> -Bencil-2-(piridina-2-il)acetamida (35).	50
7.7.3. <i>N</i> -Bencil-2-cloroacetamida (37).	50
7.7.4. <i>N</i> -Bencil-2-bromoacetamida (38).	51
7.7.5. <i>N</i> -Bencil-2-yodoacetamida (39).	51
7.7.6. <i>N</i> -Bencil-2-fenilacetamida (36).	52
7.7.7. <i>N</i> -Bencil-2-ciclohexilacetamida (40).	52
7.8. Metodología para la preparación de amidas alifáticas.	53
7.8.1 <i>N</i> -Bencilacetamida (41).	53
7.8.2 <i>N</i> -Bencilpropionacetamida (42).	54
7.8.3 <i>N</i> -Bencil-2-metilpropionacetamida (43).	54

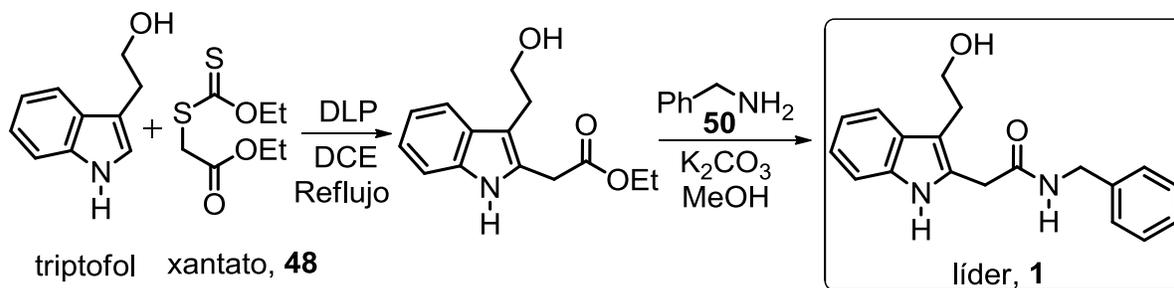
ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
BzOAg	Benzoato de plata
BnNH ₂	Bencilamina
°C	Grado Celsius
CCF	Cromatografía en capa fina
CC	Cromatografía en columna
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DLP	Peróxido de dilaurilo
DCE	1,2-Dicloroetano
DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida
DMAP	4-dimetilaminopiridina
cm ⁻¹	1/cm(cm=centímetros)
DMSO-d ₆	Sulfóxido de dimetilo deuterado
Eq	Equivalente
Et	Etil
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
g	Gramo
h	Hora
Hz	Hertz
IR	Espectrofotometría de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
mmol	Milimol
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitro
m/z	Relación masa carga
M ⁺	Ión molecular
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
Py	Piridina

Ph	Fenilo
RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RMN- ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono trece
S _N 2	Sustitución nucleofílica bimolecular
THF	Tetrahidrofurano
t.a.	Temperatura ambiente
TMS	Tetrametilsilano
Δ	Calentamiento
δ	Desplazamiento químico

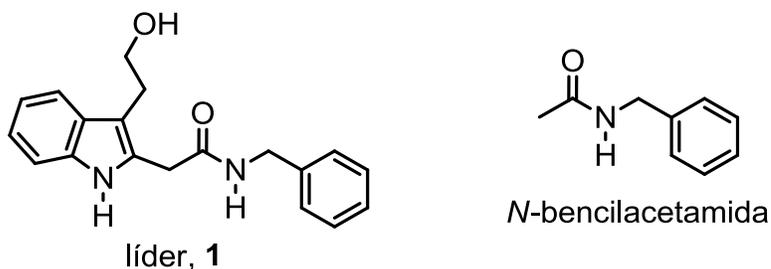
RESUMEN

En un trabajo generado en el 2010 por el grupo de investigación del Dr. Martínez se obtuvo la amida **1**, el cual presentó actividad citotóxica para la línea celular de leucemia humana. Para la síntesis de **1**, se empleó una reacción de adición radical oxidativa aromática intermolecular entre el triptofol y el xantato **48**, seguido de una reacción de amidación con la bencilamina.

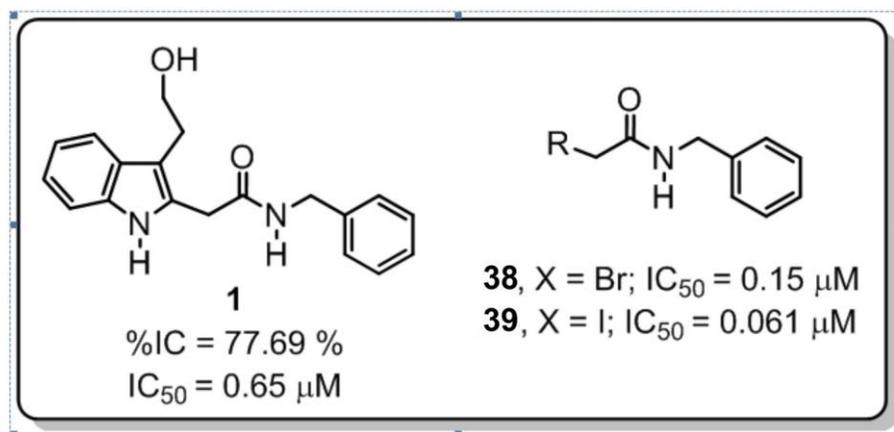


En la literatura se ha descrito una amplia cantidad de compuestos que contienen en su estructura el fragmento de la *N*-bencilacetamida con actividad biológica como: antiparasitarios, antibacteriales, antagonista de posibles causas contra el mal de Alzheimer y con actividad citotóxica entre otras.

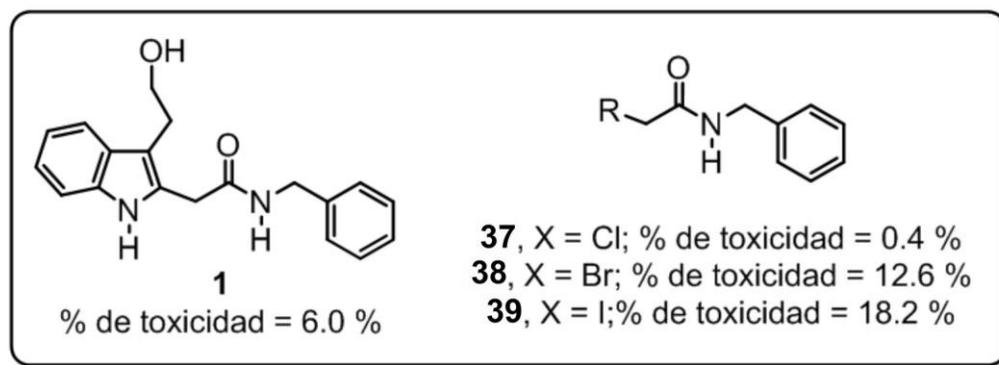
En el presente trabajo se realizó el estudio de relación estructura-actividad (SAR) del compuesto líder **1** con el objetivo de determinar que parte de la estructura de **1** le confiere actividad citotóxica; para ello se realizaron las siguientes modificaciones: se omitió el sustituyente 2-hidroxi-etilo de la posición 3 del indol, así como el anillo bencénico de este mismo grupo, también se sustituyó el fragmento del triptofol por grupos aromáticos (heterocíclicos), electronegativos (halógenos) y alifáticos de cadena abierta y cerrada, manteniendo el fragmento de la *N*-bencilacetamida y así evaluar su actividad citotóxica.



Los resultados indican que tanto el fragmento 2-hidroxi-etilo y el anillo benzénico del anillo del indol; son primordiales para la actividad citotóxica, por lo tanto el triptofol es fundamental para la actividad citotóxica del compuesto líder, además se logró obtener dos derivados halogenados de la *N*-benzilacetamida con actividad citotóxica mayor que el compuesto líder.



Se logró determinar el porcentaje (%) de toxicidad del compuesto líder **1** y de los derivados más activos, los cuales presentaron resultados que van entre el 0.4 y 18 % de toxicidad.



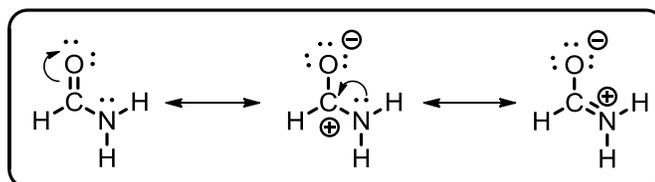
Finalmente la amida **39** fue la que presentó mayor actividad citotóxica para ésta serie, sin embargo también fue la que presentó mayor porcentaje (%) de toxicidad.

1. INTRODUCCIÓN

El grupo funcional amida está presente en una amplia variedad de compuestos naturales y sintéticos, este grupo es el resultado de la formación del enlace Carbono-Nitrógeno C-N entre un grupo carbonilo C=O y una amina NH₂R o NHR₂ primaria o secundaria.

Este tipo de enlaces están presentes también en biomoléculas, el cual se conoce como enlace peptídico, el cual es generado por la unión de los residuos iniciales y finales de los α -aminoácidos. Este proceso es fundamental para la formación de proteínas, las cuales juegan un papel primordial para prácticamente todos los procesos biológicos como: procesos enzimáticos, de transporte, almacenamiento (hemoglobina), protección inmunológica (anticuerpos), estructural (colágeno), hormonal, contráctiles y formación de toxinas.¹

Se ha documentado que el grupo amida se encuentra en más del 25% de los fármacos.² Posiblemente la causa principal del uso de las amidas sea debido a su carácter neutro, a causa de la estabilización por resonancia entre el par libre de electrones del nitrógeno con el grupo carbonilo, reduciendo con ello el carácter positivo del carbono del carbonilo, haciéndolo menos reactivo hacia un ataque por nucleófilos.³



Existen diversas formas para la preparación de amidas, donde el proceso fundamental es la formación del enlace O=C-N. La forma más simple es a partir de un derivado de un ácido carboxílico como pueden ser los cloruros de ácido. También pueden ser preparados a partir de anhídridos, ésteres o por hidrólisis de nitrilos.

¹ Wade, JR., L. G. Química Orgánica, 5ª ed. Pearson Prentice Hall S. A. Madrid, **2004**, 1114-1155.

² Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 55-68.

³ Carey, L. A. *Organic Chemistry*, 6th ed. McGrawHill College. **2005**, 890.

Para realizar el acoplamiento de forma directa a partir de un ácido carboxílico con una amina (primaria o secundaria); es necesario activar el ácido carboxílico con un agente auxiliar, con la finalidad de incrementar el carácter electrofílico del carbono del carbonilo, haciéndolo más susceptible al ataque nucleofílico por parte de la amina. Entre los agentes activantes se encuentran los derivados de carbodiimida como: dicitohexil-carbodiimida (DCC), diisopropil-carbodiimida (DCI), el clorhidrato de la 1-(3-Dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC o WSC·HCl).⁴

Para la formación de amidas a partir de ésteres, es común transformar estos compuestos a otros intermediarios más reactivos, como lo pueden ser los derivados de azidas, tales como: acil azidas o acetil azidas,⁵ a partir de hidrazina, de difenilfosforil azida (DPPA).⁶

Otros agentes activantes para ésteres son: *p*-nitrofenol (PNP), pentafluorofenol (PFP),⁷ triclorofenol,⁸ hidroxibenzotriazol (BtHO),⁹ *N*-hidroxisuccinimida (HPSu) etc.

⁴ Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.

⁵ Curtius, Th. *Ber. or Chem. Ber.* **1902**, *35*, 2226-3228.

⁶ Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203-6205.

⁷ Kisfaludy, L.; Schön, I.; Szirtes, T.; Nyéki, O.; Lów, M. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *19*, 1785-1786.

⁸ Bentley, P. H.; Gregory, H.; Laird, A. H.; Morley, J. S. *J. Chem. Soc., Suppl.* **1964**, 6130-6138.

⁹ Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.

2. ANTECEDENTES

2.1 El cáncer

El cáncer es considerado como una de las principales causas de muerte a nivel mundial, de acuerdo a cifras reportadas, se estima que tan solo en el 2008 causó 7.6 millones de defunciones lo que representó un 13 % del total de defunciones en ese año.¹⁰ Entre los casos de cánceres que más muertes causan por año están los de: pulmón, estómago, hígado, colon y mama.

Algunas de las cifras a causa de esta enfermedad son los siguientes:

- pulmonar (1.37 millones de defunciones)
- gástrico (736 000 defunciones)
- hepático (695 000 defunciones)
- colorrectal (608 000) defunciones
- mamario (458 000 defunciones)
- cervicouterino (275 000 defunciones).

De estas cifras se sabe que más del 70% de los decesos tuvieron lugar en países de ingresos bajos y en vías de desarrollo. La OMS estima que el número de defunciones debido al cáncer a nivel mundial para el año 2030 será superior a 13.1 millones.¹¹

El cáncer surge cuando las células de alguna parte del cuerpo comienzan a crecer sin control; a pesar de que existen diversos tipos de cánceres todos comienzan por el crecimiento incontrolado de células anormales. El comportamiento de las células normales es crecer, dividirse y morir de forma ordenada, hasta alcanzar la edad adulta; posterior a esta etapa en la mayoría de los tejidos en células normales únicamente se dividen, con la finalidad de reemplazar a las células que se encuentran desgastadas, moribundas o dañadas; sin embargo, en las células cancerosas a diferencia de las células normales continúan creciendo, se dividen e incrementan su tiempo de vida. Esto generalmente es consecuencia por algún tipo de daño generado en el ADN, ya sea por herencia o como consecuencia de factores ambientales, el fumar y al estilo de vida.¹²

¹⁰ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index>.

¹¹ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>.

¹² <http://www.cancer.org/>

La propagación del cáncer ocurre cuando las células cancerosas viajan a través del torrente sanguíneo a otras partes del cuerpo, donde comienzan a desarrollar nuevos tumores (metástasis). Existen diversos tratamientos^{13, 14} para combatir esta enfermedad y por lo regular son tratamientos que involucran la combinación de más de una alternativa entre los que se encuentran:

- Cirugía
- Radioterapia
- Quimioterapia
- Braquiterapia
- Crioablación (Crioterapia)
- Inmunoterapia
- Hormonoterapia

Uno de los tratamientos que más se emplea en combinación con alguna de las otras alternativas es la quimioterapia, la cual consiste en administrar medicamentos por vía oral o por inyección intravenosa. Entre los fármacos que se utilizan en la quimioterapia se clasifican en varios grupos de acuerdo a su funcionamiento, su estructura química y su relación a otros medicamentos. Saber de qué manera actúan los fármacos permite predecir algunos posibles efectos secundarios. Entre la clasificación de fármacos usados en quimioterapia¹⁵ se encuentran los:

Agentes alquilantes: los cuales son fármacos que dañan directamente el ADN, este tipo de fármacos no son específicos pues actúan en todas las fases del ciclo celular lo cual pueden causar daño a la médula ósea a largo plazo.

Antimetabolitos: son fármacos muy similares a las sustancias químicas naturales presentes en las reacciones bioquímicas de las células, pero lo suficientemente diferente como para interferir con la multiplicación y el funcionamiento normal de las células.

Las antraciclinas: son antibióticos antitumorales que interfieren con las enzimas involucradas en la replicación del ADN, actúan en todas las fases del ciclo celular, sin embargo pueden dañar de forma permanente el corazón en dosis altas.

¹³ <http://www.infocancer.org.mx/contenidos.php?idsubcontenido=275>.

¹⁴ <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento>.

¹⁵ <http://www.cancer.org/Treatment/TreatmentsandSideEffects/TreatmentTypes/Chemotherapy/ChemotherapyPrinciplesAnIn-depthDiscussionoftheTechniquesanditsRoleinTreatment/chemotherapy-principles-types-of-chemo-drugs>.

Inhibidores de la topoisomerasa: estos fármacos actúan con las enzimas denominadas topoisomerasas, que ayudan a separar las hebras del ADN para poder ser copiadas. Se utilizan para tratar algunos cánceres como: leucemia, pulmón, ovario, gastrointestinal.

Inhibidores de la mitosis: estos fármacos intervienen durante la fase M del ciclo celular, se utilizan para tratar distintos tipos de cánceres incluyendo el de mama, pulmón, mielomas, linfomas y leucemias.

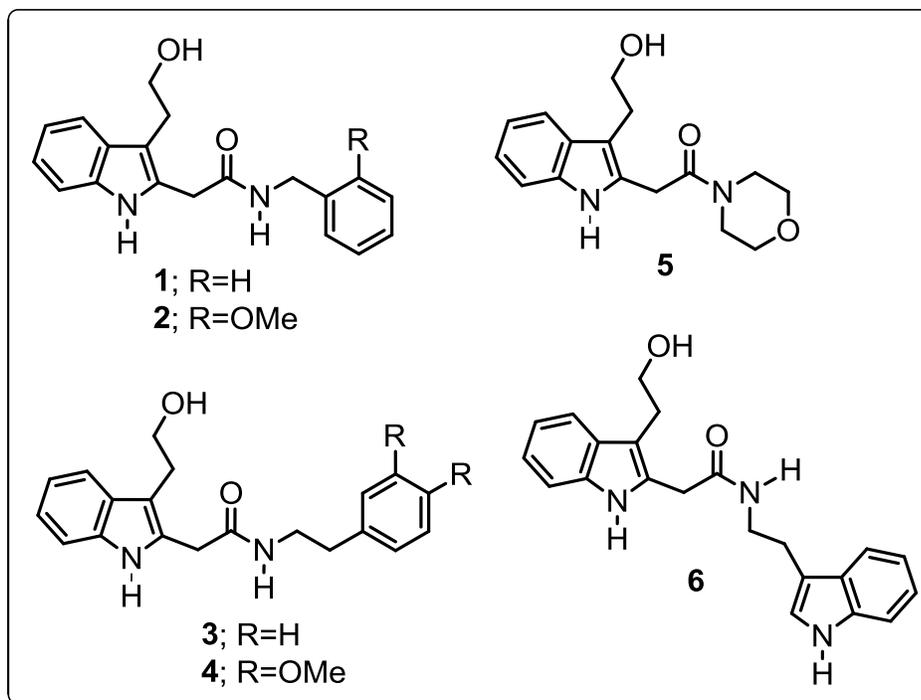
Los corticosteroides: son hormonas naturales que son usados como medicamentos que son útiles en el tratamiento de algunos tipos de cánceres como: linfoma, leucemia y mieloma múltiple. Los corticosteroides son utilizados para prevenir las náuseas y los vómitos a causa de la quimioterapia.

2.2. Amidas derivadas de triptofol con actividad citotóxica.

Aunado a esto en el 2010 Martínez y colaboradores¹⁶ sintetizaron una serie de amidas con actividad citotóxica derivadas de triptofol. Esta serie se probó en seis líneas celulares neoplásicas. Donde el compuesto **1** fue el más activo de esta serie, especialmente para la línea de leucemia humana (K562), el cual presentó una $IC_{50} = 0.65 \pm 0.09 \mu M$.

Los resultados de los estudios de porcentaje de inhibición y concentración inhibitoria 50 (IC_{50}) se presentan en la Tabla 1 y 2 respectivamente. Ambos estudios se realizaron en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química de la UNAM.

¹⁶ Jacinto-Gutiérrez, S., Tesis de Licenciatura, UNAM. 2010.



Los estudios del porcentaje (%) de inhibición se realizaron a una concentración de 50 μ M.

Tabla 1. Porcentaje (%) de inhibición del crecimiento celular.

Compuesto	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
1	100	71.54	77.69	88.2	7.96	100
2	70.52	sa	60.59	Sa	11.37	2.5
3	3.85	sa	15.18	Sa	3.4	7.88
4	sa	sa	20.05	Sa	10.52	sa
5	5.48	sa	38.71	Sa	sa	6.25
6	sa	5	17.33	Sa	1.87	16.29

U251=glía de sistema nervioso central, PC-3=próstata, K562=leucemia, HCT-15=colon, MCF-7=mama y SKLU=pulmón. pd: pendiente, sa: sin actividad.

Los compuestos que presentaron un porcentaje de inhibición mayor al 50% (**1** y **2**). Se determinó su concentración inhibitoria 50 (**IC**₅₀) como se observa en la tabla 2.

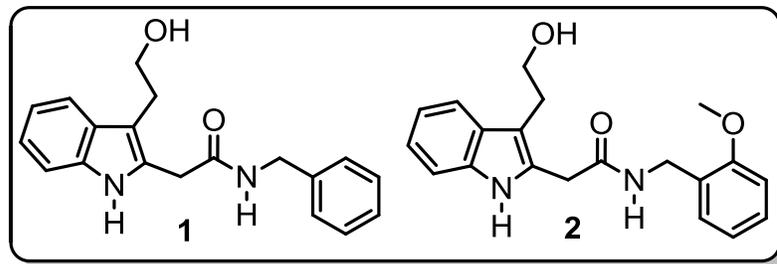
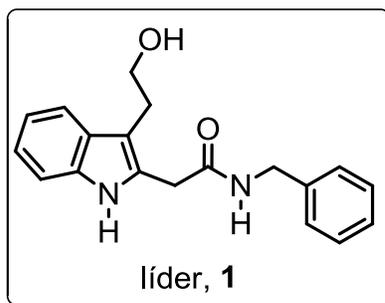


Tabla 2. Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀).

Compuesto	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
1	4.15±0.39	4.78±0.01	0.65±0.09	1.44±0.18	-----	2.65±0.3
2	34.0±2.3	-----	22.94±2.4	-----	-----	-----

U251= glía de sistema nervioso central, PC-3 = próstata, K562 = leucemia, HCT-15 = colon, MCF-7 = mama y SKLU = pulmón.

Con la obtención de un compuesto con actividad biológica como **1**, este puede ser considerado como un compuesto líder y abre la pauta para poder ser evaluado en un estudio de relación estructura actividad, para evaluar el efecto que producen estos cambios sobre la actividad citotóxica y así poder diseñar algún derivado de **1** con mayor actividad citotóxica.



2.3. Relación Estructura-Actividad (SAR).

El estudio *relación estructura-actividad* (SAR) por sus siglas en ingles *structure-activity relationship*) se enfoca al descubrimiento de fármacos en base a la observación de compuestos con estructura similar a uno que es farmacológicamente activo. Donde la actividad puede ser mejor, similar o inferior al compuesto original. También se busca que los efectos secundarios del compuesto original sean menos adversos.

La posible relación que pudiese generar la estructura de un compuesto sobre la actividad, comúnmente se conoce como relación estructura-actividad.¹⁷ Un estudio SAR de un compuesto activo con otros compuestos análogos a éste, puede ser usado para determinar la parte activa responsable de la actividad biológica. A este sitio se le denomina farmacóforo, el cual de acuerdo a la IUPAC es *el ensamble estérico y electrónico característico que es necesario para asegurar la optima interacción supramolecular con un blanco biológico específico para activar o bloquear su respuesta biológica.*¹⁸

La forma y tamaño de las moléculas pueden ser modificadas de diversas formas, como pueden ser:

- Cambiando el número de metilenos en cadenas y en anillos.
- Incrementando o reduciendo el número de insaturaciones.
- Introduciendo o removiendo un anillo en el sistema.
- Sustitución o incorporación de nuevos grupos funcionales.

Con estas consideraciones no solo es posible modificar el tamaño y la forma de un compuesto, sino también se incrementa la lipofilicidad, la flexibilidad o la rigidez de la molécula y principalmente la potencia.

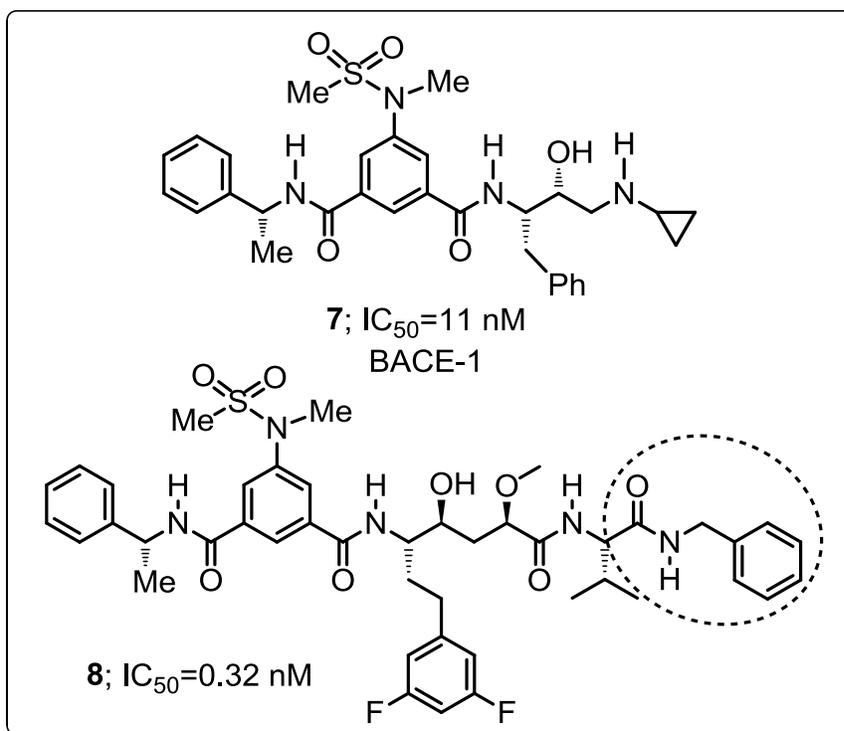
¹⁷ Gareth, T. *Medicinal Chemistry: an Introduction*. 2007, 3, 75-111.

¹⁸ Wermuth, Camille G. *The Practice of Medicinal Chemistry*. 2008, 28, 572-586.

2.4. Amidas con actividad biológica.

Existen diversos compuestos que contienen el fragmento de *N*-bencilacetamida en su estructura, a continuación se muestran algunos compuestos con actividad biológica importante.

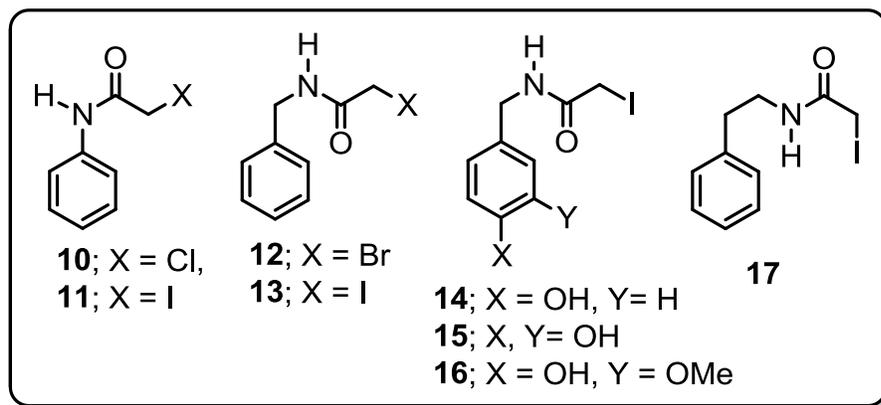
En el 2004 Stachel y colaboradores^{19, 20} realizaron la síntesis y el estudio SAR del compuesto **7**, que es un potente inhibidor de las β -secretasas (Bace-1), fragmento de la proteína precursora del amiloide beta (APP), generadora de depósitos (A β) amiloidal, que es considerado como la posible causa de la enfermedad de Alzheimer.²¹ Por otro lado, en el 2010 Björklund describió²² un diseño de fármacos basado en la estructura del compuesto **1**. Este autor logró sintetizar y probar la actividad inhibitoria contra la enzima Bace-1, obteniendo mejores resultados con el compuesto **8** que presentó una $IC_{50} = 0.32$ nM.



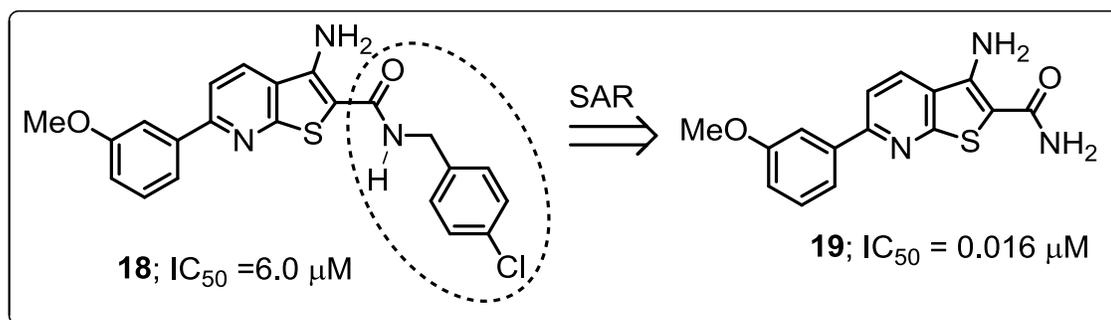
¹⁹ Stachel, S. J.; Coburn, C. A.; Steela, T. G.; Jones, K. G.; Loutzenhiser, E. F.; Gregro, A. R.; Rajapakse, H. A.; Lai, M. T.; Crouthamel, M. C.; Xu, M.; Tugusheva, K.; Linerberger, J. E.; Pietrak, B. L.; Espeseth, A. S.; Shi, X. P.; Dodson, E. C.; Holloway, M. K.; Munshi, S.; Simon, A.; Kou, L.; Vacca, J. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6447-6450.

²⁰ Barrow, J. C.; Rittle, K. E.; Ngo, P. L.; Selnick, H. G.; Graham, S. L.; Pitznerberger, S. M.; McGaughey, G. B.; Colussi, D.; Lai, N. T.; Huang, Q.; Tugusheva, K.; Espeseth, A. S.; Simon, A. J.; Munshi, S. K.; Vacca, J. P. *ChemMedChem.* **2007**, *2*, 995-999.

Otro grupo de amidas que han sido documentadas con actividad biológica, fueron las α -haloacetamidas **10-17**, descritas por Contelles,²³ las cuales presentaron actividad contra *Mycobacterium tuberculosis*, bacteria responsable de la mayoría de los distintos tipos de tuberculosis, siendo los compuesto **13** y **14** los que presentaron mayor actividad antimicrobiana.



Zeng²⁴ describió la síntesis y el estudio de la relación estructura-actividad de derivados de la tienopiridina **18**, donde el compuesto **19** presentó actividad citotóxica contra el carcinoma hepatocelular (cáncer de hígado) con una IC_{50} de 0.016 μ M.



Esquema 1.

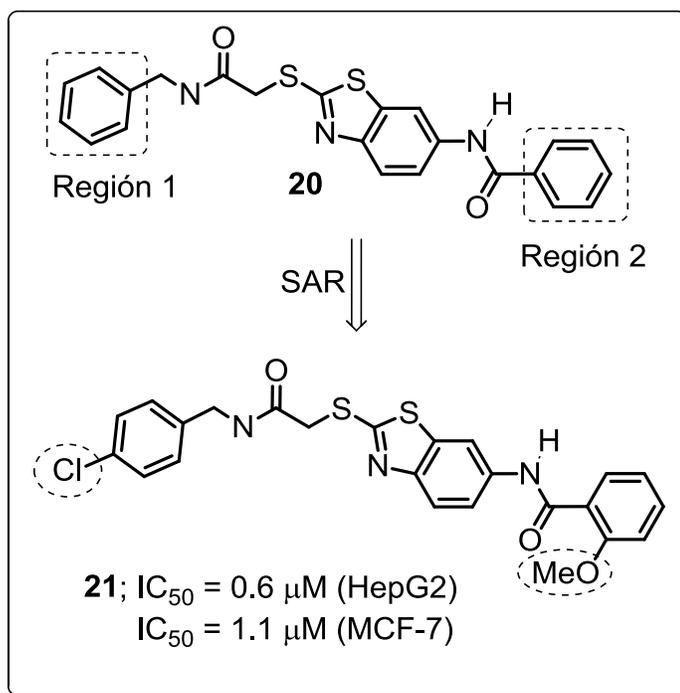
²¹ Hardy, J.; Allsop, D. *Trends Pharmacol Sci.* **1991**, *12*, 383-388.

²² Björklund, C.; Oscarson, S.; Benkestock, K.; Borkakoti, N.; Jansson, K.; Linderberg, J.; Vrang, L.; Hallberg, A.; Rosenquist, A.; Samuelsson, B. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1458-1464.

²³ Contelles, J. M.; Gómez-Sánchez, E. *Arch. Pharm- Chemistry in Life Sciences.* **2005**, *338*, 562-563.

²⁴ Zeng, X. X.; Zheng, R. L.; Zhou, T.; He, H. H.; Liu, J. Y.; Zheng, Y.; Tong, A. P.; Xiang, M. L.; Song, X. R.; Yang, S. Y.; Yu, L. T.; Wei, Y. Q.; Zhao, Y. L.; Yang, L.; Song, X. R.; Yang, S. Y.; Yu, L. T.; Wei, Y. Q.; Zhao, Y. L.; Yang, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6282-6285.

Por otra parte Wang y colaboradores²⁵ describieron un estudio SAR del compuesto **20**, donde estudiaron las regiones marcadas con 1 y 2. Las modificaciones de ambas regiones mostraron que la presencia de un átomo de cloro, en la posición *para* de la región 1 y un grupo electrodonador como el metoxilo, en la posición *orto* de la región 2, aumentaban la actividad (compuesto más activo **21**).

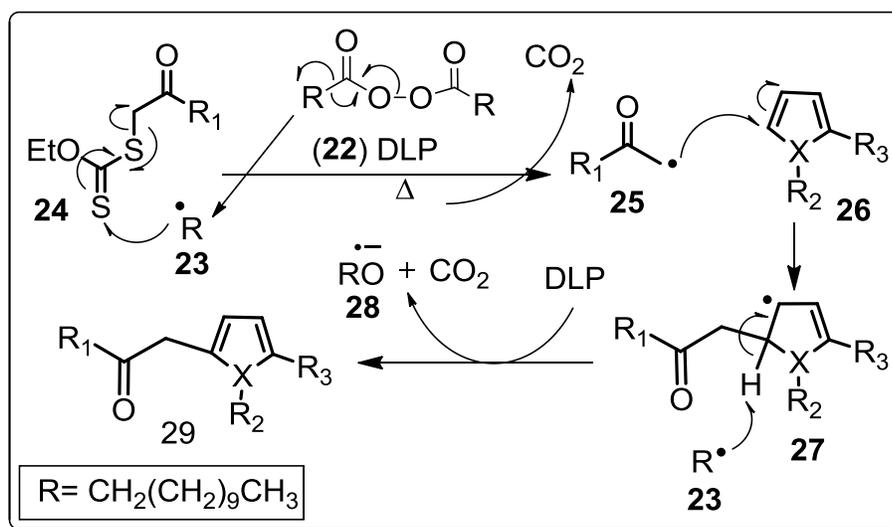


Esquema 2.

²⁵ Wang, Z.; Shi, X. H.; Wang, J.; Zhou, T.; Xu, Y. Z.; Huang, T. T.; Li, Y. F.; Zhao, Y. L.; Yang, L.; Yang, S. Y.; Yu, L. T.; Wei, Y. Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1097-1107.

2.5. Adición radical oxidativa-aromática intermolecular.

Retomando el compuesto **1**, cabe señalar que la parte fundamental para su síntesis, involucró una reacción de adición radical oxidativa-aromática intermolecular como la que describieron Miranda y col.²⁶ en el 2003, la cual es una alternativa práctica y eficiente para realizar sustituciones en la posición 2 de sistemas heterocíclicos de cinco miembros como el indol y pirrol, vía radicales libres procedentes de xantatos,²⁷ utilizando peróxido de dilaurilo como agente iniciador y oxidante. La versatilidad de esta metodología consiste en que para poder llevar a cabo este tipo de sustituciones, no es necesario tener al indol sustituido en la posición 3 o tener protegido el NH del indol o del pirrol. La reacción inicia con la ruptura homolítica del peróxido de dilaurilo, generando así dos moléculas de CO₂ y dos radicales alquilos (**23**). Uno de los cuales se adiciona a uno de los azufres del xantato (**24**), para generar un nuevo radical acetilo (**25**), el cual se adiciona en la posición dos del sistema heterocíclico (**26**), para generar con ello el radical conjugado (**27**). Para la rearomatización del sistema se plantean dos hipótesis; una consiste en que un radical alquílico (**23**) abstrae el hidrogeno en C-2 de **27**. La otra hipótesis consiste en la oxidación del radical **27** al carbocatión y a la formación del anión radical (**28**) correspondiente, debido a una transferencia radicalaria. Finalmente por la eliminación del protón en C-2 se regenera el sistema heteroaromático **29**.



Esquema 3.

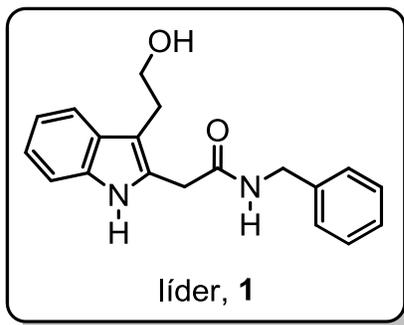
En base a los antecedentes se decidió plantear los siguientes objetivos.

²⁶ Osornio, Y. M.; Cruz-Almanza, R.; Jimenez-Montaña. V.; Miranda, L. D. *Chem. Commun.* **2003**, 2316.

²⁷ Zard, S. Z. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 672.

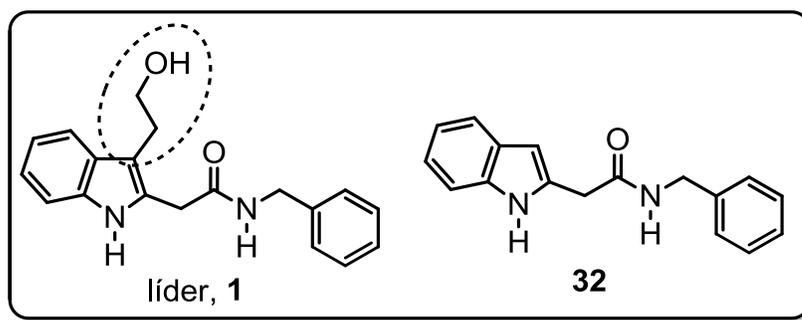
3. OBJETIVO

El objetivo principal de este trabajo es determinar que parte de la estructura del compuesto líder **1** es responsable de la actividad citotóxica.

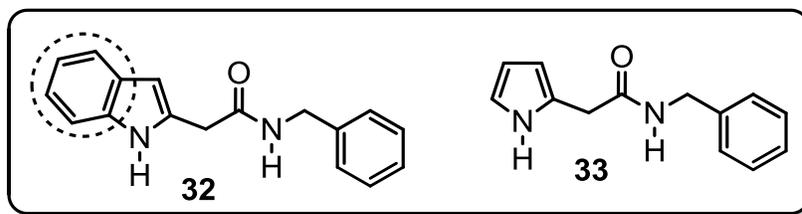


Para ello se realizaron las siguientes modificaciones estructurales de **1**.

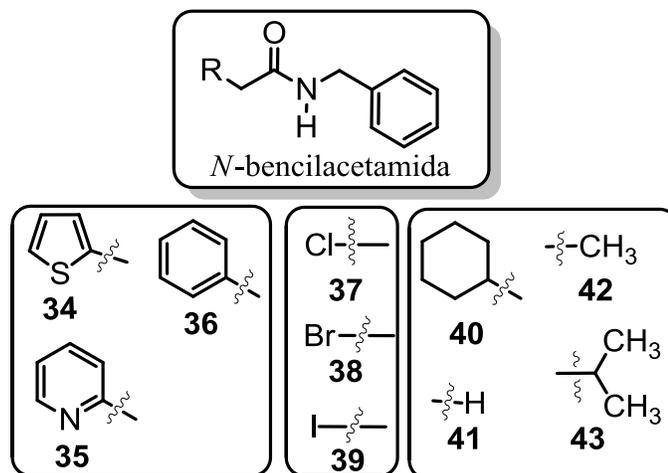
Primero se decidió omitir el sustituyente 2-hidroxietilo de la posición 3 del anillo del indol, para así saber si dicho sustituyente es importante para la actividad citotóxica.



En una segunda modificación se contempló omitir además del sustituyente en la posición 3 del anillo del indol, el anillo bencénico unido al anillo de pirrol y así saber si tanto el anillo bencénico como el sustituyente en 3, son importantes para la actividad citotóxica.



Finalmente mantener el fragmento de la *N*-bencilacetamida de **1** y sustituir el fragmento del triptofol por otros grupos aromáticos, electronegativos (halógenos) y grupos alifáticos.



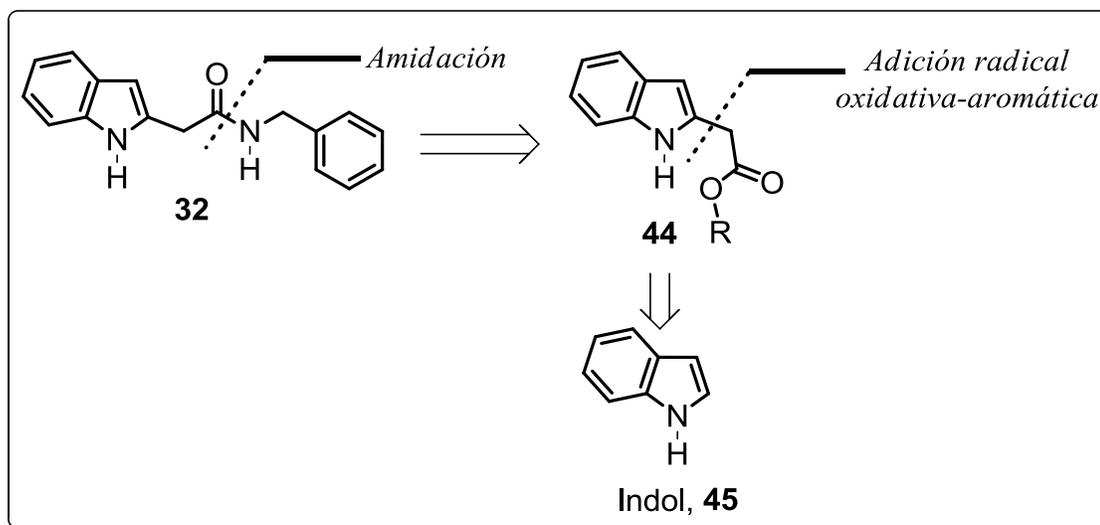
Se determinará la actividad citotóxica de estas amidas en las líneas celulares: **MCF-7** (mama), **K-562** (leucemia humana), **U-251** (Glía de SNC), **PC-3** (Próstata), **SKLU-1** (Pulmón) y **HCT-15** (Colon).

También se contempla determinar la concentración inhibitoria 50 (**IC₅₀**) y el porcentaje (%) de toxicidad (viabilidad) para los compuestos más activos, además de **1**.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

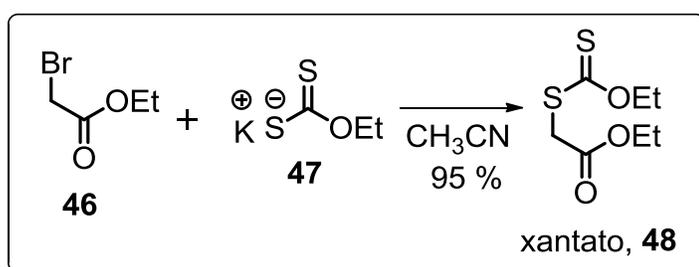
4.1. Síntesis de la *N*-bencil-2-(indol-2-il)acetamida. (32)

El análisis retrosintético que se planteó para la síntesis del compuesto **32** se muestra en el esquema 4, donde el paso clave es la alquilación en la posición 2 del indol, *vía* una reacción de adición radical oxidativa-aromática.²⁶



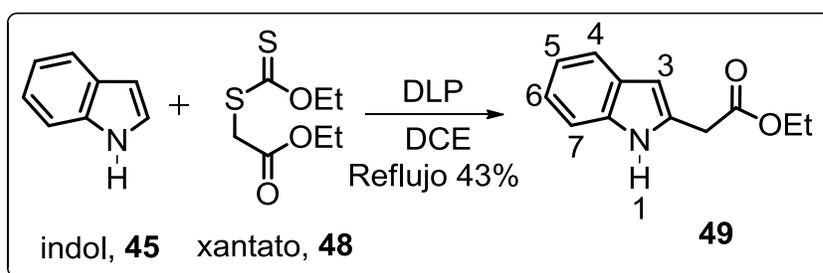
Esquema 4.

La síntesis inició con la preparación del xantato **48**, el cual se preparó a partir del 2-bromoacetato de etilo (**46**) y la sal de potasio del ditiocarbonato de *O*-etilo (**47**), en acetonitrilo a temperatura ambiente, *vía* una sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2) (Esquema 5).



Esquema 5.

Una vez obtenido el xantato **48**, se procedió a realizar la reacción radical oxidativa aromática sobre la posición 2 del indol **45** (Esquema 6). Para ello se utilizó 1 eq del indol (**45**), 1.2 eq del xantato (**48**), 1.5 eq de DLP (**22**) como agente iniciador y oxidante y dicloroetano como disolvente, obteniendo el éster **49** con un rendimiento del 43 %. Este compuesto se caracterizó por RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃), el cual mostró en 1.28 ppm un triplete con $J = 7$ Hz, que integra para tres hidrógenos, correspondientes al metilo del -OEt. En 3.81 ppm un singlete que integra para dos hidrógenos correspondientes al metileno que se encuentra α al carbonilo. En 4.21 ppm un cuadruplete, que integra para dos hidrógenos correspondientes al metileno del etilo con una $J = 7$ Hz. En 6.34 ppm una señal simple correspondiente al hidrógeno de la posición tres del indol. En 7.03 - 7.18 ppm un multiplete con integración para dos protones, correspondiente a los protones de la posición 5 y 6 del anillo del indol. En 7.34 ppm un doblete con $J = 7.4$ Hz, correspondiente al hidrógeno de la posición 4 del anillo bencénico. En 7.56 ppm un doblete con $J = 7.4$ Hz que integra para un hidrógeno, correspondiente al protón que se encuentra en la posición 7 del sistema indólico y finalmente en 8.68 ppm un singlete del NH. El resto de la espectroscopía coincide con lo que se reporta en la literatura.²⁸

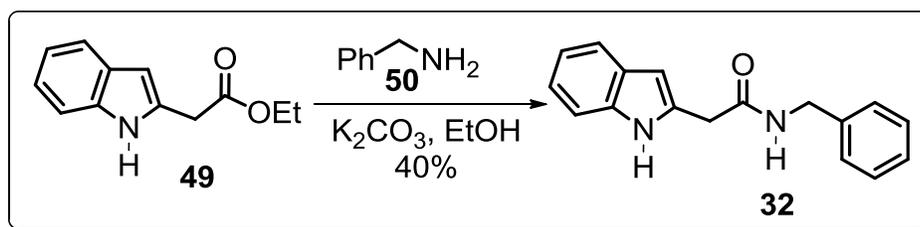


Esquema 6.

La reacción de amidación se realizó utilizando 1 eq del éster **49**, 1.2 eq de bencilamina (**50**) y 9 eq de K₂CO₃, en EtOH anhidro a temperatura ambiente durante 48 h,²⁹ obteniendo la amida **32**, con un rendimiento del 40 %.

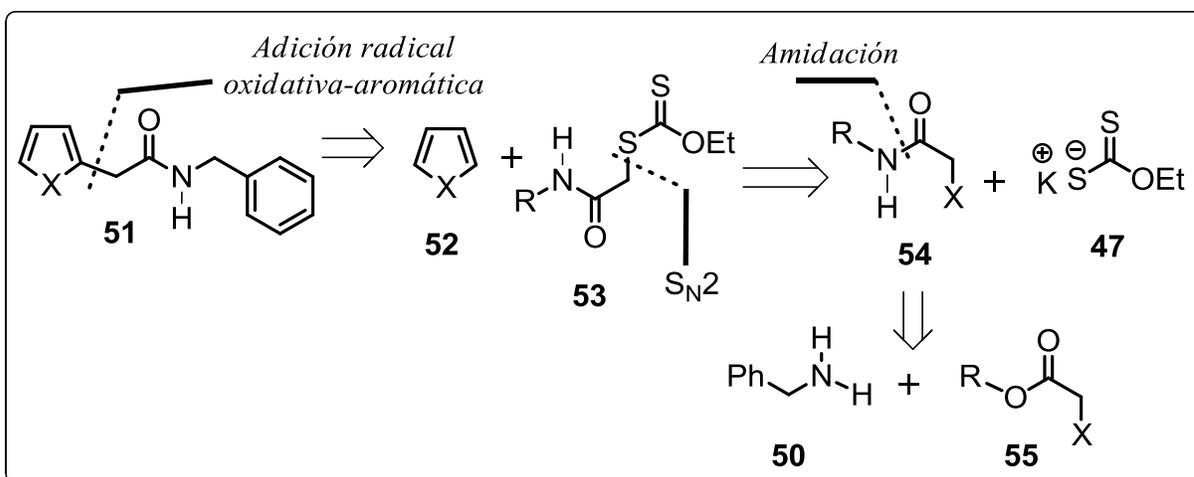
²⁸ Kapur, A.; Kumar, Singh, L.; Singh, P.; Elango, M.; Subramanian, V.; Gupta, V.; Kanwal, P.; Ishar, M. P. S. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 4593-4603.

Se caracterizó por RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃), el cual mostro las siguientes señales: en 3.73 ppm un señal simple, que integra para dos protones correspondientes al metileno α a al carbonilo. En 4.42 un doblete con *J* = 5.8 Hz. Que corresponden al metileno adyacente al NH. En 6.09 ppm un singulete ancho y de baja intensidad del NH de la amida. En 6.33 ppm un singulete perteneciente al hidrógeno de la posición 3 del anillo del indol. En el intervalo de 7.04 a 7.35 ppm se tiene un una señal múltiple que integra para 8 hidrógenos, pertenecientes a 5 del anillo bencénico y 3 del anillo del indol. En 7.53 ppm un doblete con *J* = 7.6 Hz. Perteneciente al hidrógeno de la posición 7 del anillo del indol. Finalmente en 8.89 ppm una señal simple ancha y de baja intensidad del NH del indol. Además se corroboró con su espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃), el cual coincide con el número de 17 carbonos. En el espectro de IR (CHCl₃, cm⁻¹) se obtuvieron las bandas de vibración del NH en 1520.16 cm⁻¹, en 1666.76 cm⁻¹ del carbonilo de amida, en el intervalo de 1800 a 2000 cm⁻¹ se observan sobretonos de señales aromáticas del anillo de bencénico, en 2929.53 cm⁻¹ estiramiento del CH sp². Finalmente en 3308.34 cm⁻¹ y en 3308.34 cm⁻¹ bandas de los dos NH. En el espectro de espectrometría de masas por impacto electrónico se obtuvo el ion molecular de 264 unidades de masa, el cual corresponde al peso molecular de la amida **32**.



La alquilación en la posición 2 de sistemas heterocíclicos *vía* radicales libres, se trató de aplicar a otros sistemas heterocíclicos de cinco miembros como el pirrol, el furano y el tiofeno. Para ello se llevaron a cabo diversos experimentos, sin embargo sólo se obtuvieron mezclas de difícil separación y descomposición del xantato (**49**). Por ello se decidió plantear otra estrategia de síntesis como el que se ilustra esquema 8.

²⁹ Reyes-Gutiérrez, P. E.; Torres-Ochoa, R. O.; Martínez, R.; Miranda, L. D. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 1388-1396.

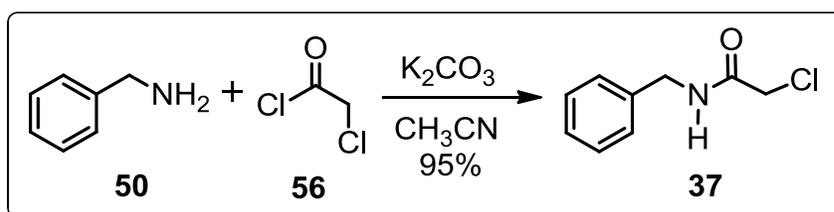


Esquema 8.

En esta nueva propuesta se decidió contemplar la alquilación como el último paso de síntesis, de manera que primero se sintetizaría el xantato (**53**), el cual podría ser preparado a partir de la amida halogenada **54** y el ditiocarbonato de *O*-etilo **47**, que a su vez **54** provendría de una reacción de amidación entre **50** y **55**.

4.2. Síntesis de la *N*-bencil-2-cloroacetamida. (**37**)

Para la síntesis de la amida **37** se empleó la metodología descrita por Yang.³⁰ A partir de 1 eq de la bencilamina (**50**), 1.2 eq de cloruro de cloroacetilo (**56**) y 1.5 eq de K_2CO_3 en acetonitrilo como disolvente (Esquema 9), después de 2 h de reflujo la amida **37** se obtuvo con un rendimiento del 95%.



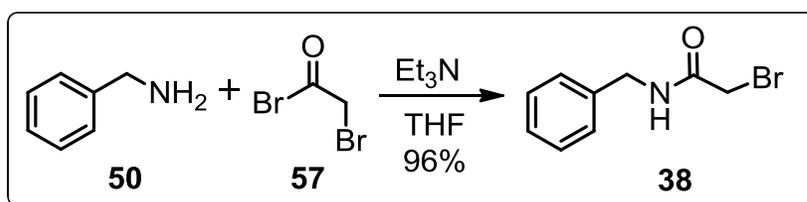
Esquema 9.

El producto se caracterizó por RMN-¹H (200 MHz, $CDCl_3$), que mostró las señales siguientes: en 4.10 ppm un singulete que integra para dos hidrógenos correspondientes a los protones del metileno α al carbonilo. En 4.51 ppm un doblete que integra para dos protones correspondientes al metileno adyacente al nitrógeno de la amida con una constante de

acoplamiento de $J = 5.8$ Hz. En 6.88 ppm una señal de intensidad baja, característica del hidrógeno unido al átomo de nitrógeno y finalmente en 7.4 - 7.2 ppm un multiplete, que integra para cinco protones, correspondientes a los protones aromáticos del anillo aromático. El resto de la espectroscopía coincide con lo que se reporta en la literatura.³¹

4.3. Síntesis de la *N*-bencil-2-bromoacetamida. (38)

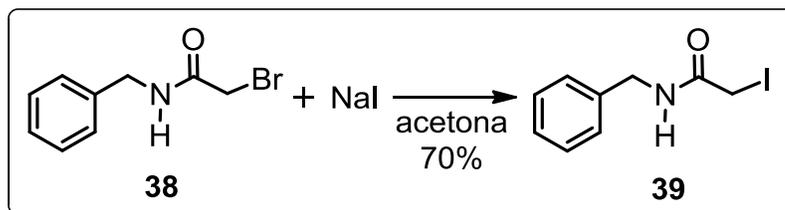
Para la obtención de la amida bromada se usó 1 eq de **50**, 1.1 eq del bromuro de bromoacetilo (**57**) y 1.2 eq de Et₃N en THF como disolvente. El compuesto **38** se obtuvo con un rendimiento del 96 %, después de 1.5 h de agitación, a temperatura ambiente. Los datos espectroscópicos de **51** coinciden con los descritos en la literatura.³²



Esquema 10.

4.4. Síntesis de la *N*-bencil-2-yodoacetamida. (39)

La formación de la amida yodada **39** se obtuvo mediante la reacción de Finkelstein,³³ a partir de 1 eq de **38**, 5 eq de NaI en acetona durante 40 min a reflujo (Esquema 11), el producto se obtuvo en forma de cristales amarillos con un p.f. de 118-120 °C y con un rendimiento del 70%.



Esquema 11.

³⁰ Yang, H.; Fang, L.; Li, Z. B.; Ren, F. K.; Wang, L. Y.; Tian, X.; Shin, D. S.; Zuo, H. *Medicinal Chemistry Research*. **2011**, *20*, 93–100.

³¹ Harte, H. J.; Gunlaugsson, T. *Tetrahedron Lett*. **2006**, *47*, 6321-6324.

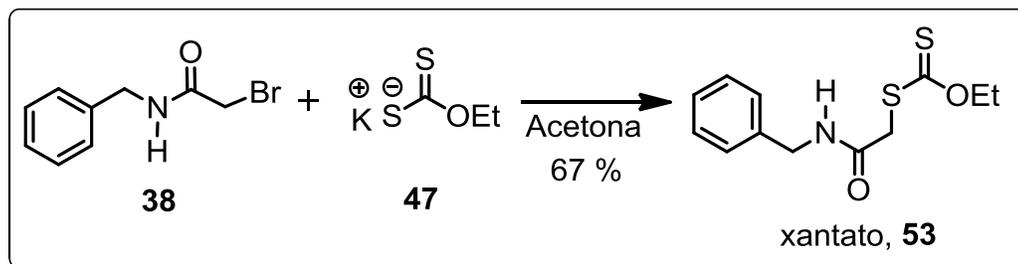
³² Kwie, Ho A. F.; Briet, M.; Soupaya, D.; Hoffmann, P.; Maturano, M.; Rodriguez, F.; Blonski, C.; Lherbet, C.; Baudoin-Dehoux, C. *Chem Biol Drug Design*. **2010**, *77*, 86-92.

³³ Finkelstein, H. *Chem. Ber*. **1910**, *43*, 1528-1532.

La yodoacetamida (**39**) se caracterizó por RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) cuyo espectro mostró las siguientes señales: en 3.72 ppm, una señal simple con integración para dos protones, correspondientes al metileno α al carbonilo. En 4.46 ppm, un doblete con *J* = 5.6 Hz, correspondiente al metileno (CH₂) bencílico. En 6.42 ppm, un singulete ancho del NH y finalmente en el intervalo de 7.30 - 7.40 ppm, un multiplete con integración para 5H correspondientes al anillo aromático. El resto de los datos espectroscópicos coinciden con lo que se documenta en la literatura.³⁴

4.5. Síntesis del Carbonoditioato de *S*-(bencilcarbamoil)metil-*O*-etilo. (**53**)

La preparación del xantato **53**, se obtuvo de acuerdo a la metodología que describe Torres-Muro.³⁵ Realizando una sustitución nucleofílica bimolecular S_N2 (Esquema 12) entre el compuesto halogenado **38** y la sal del xantato **47**, en acetona como disolvente. La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. El xantato se obtuvo como un sólido blanco con p.f. de 78 - 80 °C y un rendimiento del 67%.



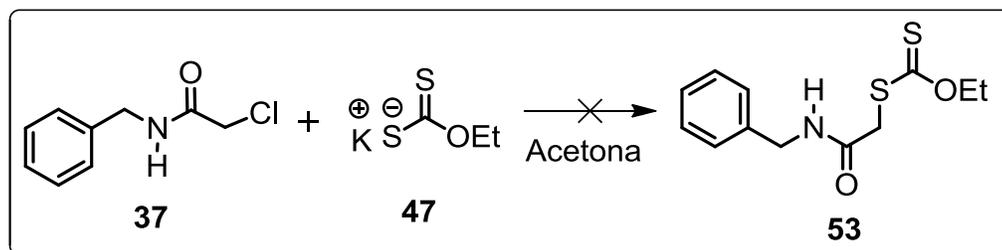
Esquema 12.

El xantato **53** se caracterizó mediante el análisis de su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃), el cual mostró que en 1.39 ppm un triplete con *J* = 7 Hz correspondiente al metilo del -OEt. En 3.89 ppm un singulete correspondiente al metileno α al carbonilo. En 4.47 ppm un doblete con *J* = 5.8 Hz perteneciente al metileno adyacente al nitrógeno de la amida. En 4.65 ppm un cuadruplete con *J* = 7 Hz, debido al metileno de OEt. En 6.65 ppm se observó una señal ancha y de baja intensidad correspondiente al NH y finalmente en el intervalo de 7.31 - 7.26 ppm, una señal múltiple correspondiente a los protones aromáticos.

³⁴ Williams, Keith, D. Jr.; Meadows, Core, W.; Bori, I. D.; Hawkrigde, A. M.; Comins, D. L.; Muddiman, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2122-2123.

³⁵ Torres-Muro, J. Quintero, L.; Sartillo-Piscil, F. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7691-7694.

Este mismo procedimiento se realizó con la amida halogenada de cloro **37**, sin embargo no se obtuvo el producto **53**; en ninguno de los dos experimentos realizados, uno a temperatura ambiente y otro a reflujo (Esquema 13). Debido a que el bromo es mejor grupo saliente que el cloro.

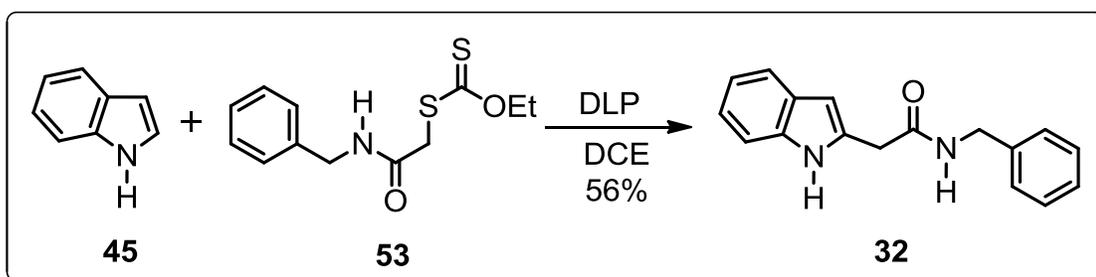


Esquema 13.

4.6. Síntesis de la *N*-bencil-2-(indol-2-il)acetamida. (32)

Una vez preparado el xantato **53**, se procedió a probar la utilidad de este xantato para la reacción de adición radical oxidativa-aromática intermolecular. Antes de probar este xantato en otros compuestos aromáticos; se decidió utilizarlo con el indol (**45**), con la ventaja de poder verificar el avance de la reacción con una referencia estándar del producto, ya que la amida proveniente del indol ya había sido sintetizada (Esquema 7).

La reacción se llevó a cabo empleando 1 eq de **45**, 1.2 eq del xantato **53** y 2 eq de DLP en DCE. Después de calentar a reflujo la mezcla de reacción por 8.5 h se obtuvo **32** con un rendimiento de 56% (Esquema 14).

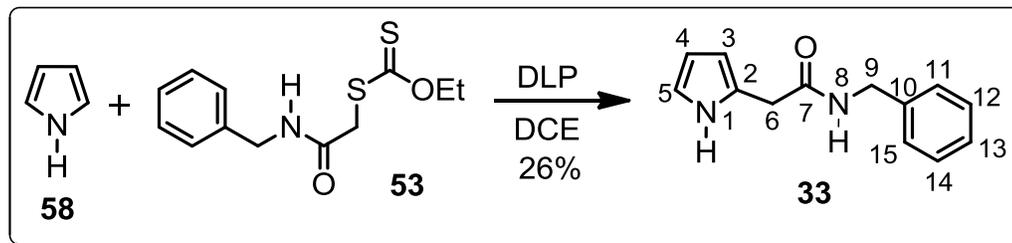


Esquema 14.

En base a este resultado se decidió probar esta misma reacción para alquilar los heterociclos de cinco miembros como se muestra en el análisis retrosintético del Esquema 8.

4.7. Síntesis de la *N*-bencil-2-(pirrol-2-il)acetamida. (33)

La alquilación del pirrol (**58**) (Esquema 15) se llevo a cabo empleando 1 eq de **58**, 1.2 eq de **53**, 1.2 eq de DLP y en calentamiento a reflujo por 5.5 h, produjo **33** con un rendimiento del 26%. Su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) presentó las siguientes señales: en 3.58 ppm un singulete, que integra para dos protones, correspondientes al metileno de C-6. En 4.40 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 5.8$ Hz, perteneciente al metileno de C-9. En 6.02 ppm una señal ancha y de baja intensidad, característico del NH de la amida. En el intervalo de 6.12 a 6.16 ppm un multiplete con integración para dos protones, correspondientes a los protones en C-3 y C-4 del pirrol. En 6.74 ppm otra señal múltiple perteneciente al protón de la posición C-5 del pirrol. En el intervalo de 7.17 - 7.31 ppm una señal múltiple, que integra para cinco protones, del anillo bencénico. Finalmente en 8.95 ppm una señal ancha correspondiente al NH del anillo del pirrol. En el espectro de IR (CHCl₃, cm⁻¹) se observan las siguientes bandas: en 1519.48 cm⁻¹ una banda mediana y ancha correspondiente al NH. En 1668.97 cm⁻¹ una banda larga y ancha correspondiente al carbonilo de la amida. En 2928.50 cm⁻¹ una banda corta y ancha perteneciente al anillo aromático. Finalmente en 3321.97 cm⁻¹ y 3441.79 cm⁻¹ dos bandas cortas y anchas correspondientes a la vibración de los NH. En el espectro de espectrometría de masas se obtuvo el ion molecular de 214 unidades de masas, el cual coincide con el peso molecular de la amida **33** (214.26 g/mol).

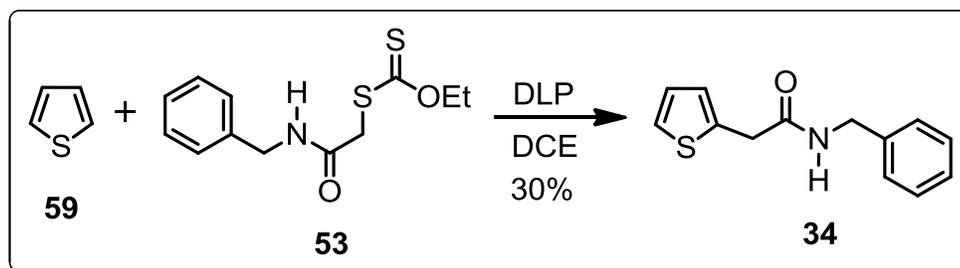


Esquema 15.

4.8. Síntesis de la *N*-bencil-2-(tiofen-2-il)acetamida. (34)

Para la alquilación del tiofeno (**59**), se hicieron reaccionar 1 eq de **59**, 1.2 eq de **53** y 5.7 eq de DLP, en calentamiento a reflujo por 10.5 h para obtener el tiofeno **34** alquilado, con un rendimiento del 30%. Su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) presentó las siguientes señales: en 3.83 ppm un singulete que integra para dos protones, correspondiente al metileno α al carbonilo. En 4.44 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 5.8$ Hz (2H),

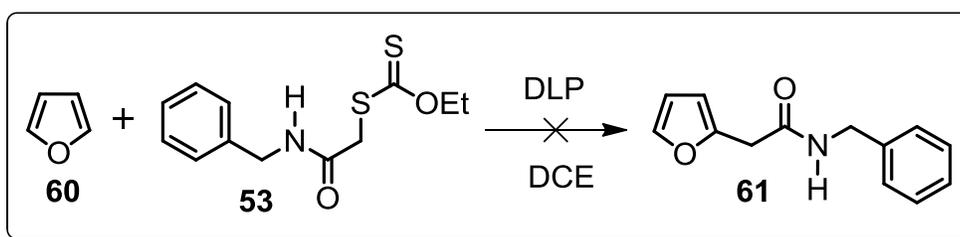
perteneciente al metileno adyacente al anillo bencénico. En 6.08 ppm una señal ancha del protón del nitrógeno de la amida del NH. En 6.99 ppm un multiplete, con integración para dos protones, correspondientes a los protones que se encuentran en las posiciones 3 y 4 del anillo del tiofeno. En el intervalo que va de 7.18 a 7.31 ppm un multiplete que integra para seis protones, de los cuales uno es del protón que se encuentra en la posición 5 del anillo del tiofeno y los cinco protones restantes que pertenecen al anillo bencénico. El resto de los datos espectroscópicos coinciden con lo que se reporta en la literatura.³⁶



Esquema 16.

4.9. Síntesis de la *N*-bencil-2-(furan-2-il)acetamida. (**61**)

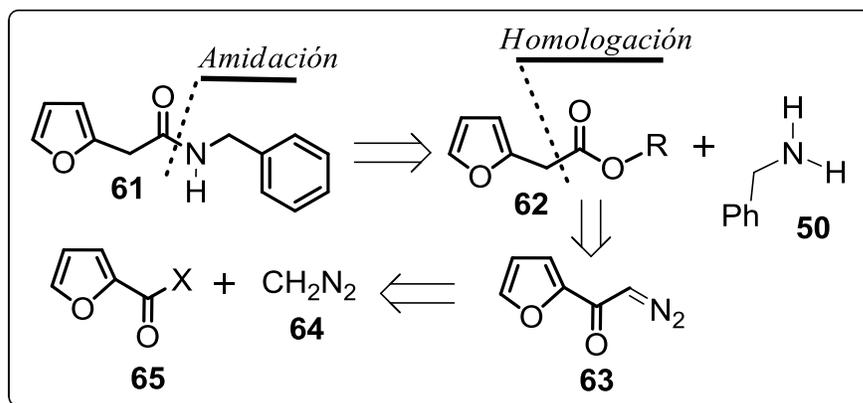
Continuando con el uso del xantato **53** para realizar alquilaciones en la posición 2 de anillos heterocíclicos de cinco miembros, se intentó llevar a cabo la misma reacción sobre el furano (**60**), sin embargo utilizando la mismas condiciones de reacción después de varios intentos no fue posible obtener **61**. Sólo se obtuvo descomposición de los reactivos.



Esquema 17.

³⁶ Hassen, Z.; Akacha, A. B.; Zantour, H. *Phosphorus, Sulfur and Silicon*. **2003**, *178*, 2241-2253.

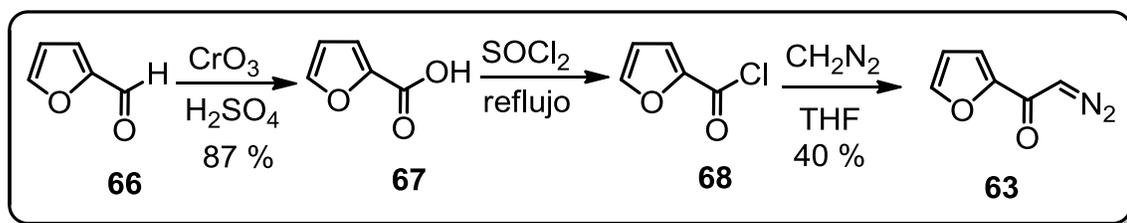
Debido a esto fue necesario utilizar otra estrategia de síntesis para obtener los compuestos **61**, **34** y **35**, como se muestra a continuación. En esta propuesta, el paso clave para la síntesis de la amida **61**, consistía en la preparación de un intermediario proveniente de una reacción de homologación de Arndt-Eistert, seguida por una transposición de Wolff.³⁷



Esquema 18.

4.10. Síntesis de la Diazometil-2-furilcetona. (63)

La obtención de la diazocetona **63** se realizó mediante el protocolo de Arndt-Eistert el cual involucró la formación del cloruro de ácido **68**, el cual fue obtenido a partir del ácido furfúrico (**67**), que a su vez se sintetizó mediante la oxidación del furfuraldehido (**66**), a través del reactivo de Jones.^{38, 39} El cloruro de ácido (**68**) se preparó usando 1 eq del ácido **67** y 6 eq de cloruro de tionilo, posteriormente el cloruro de ácido (**68**) se disolvió en THF seco, la mezcla se puso en agitación en un baño de hielo y se le adicionó inmediatamente una solución etérea de diazometano (3.4 eq),⁴⁰ para obtener la diazocetona **63** con un rendimiento del 44%, como un sólido amarillo que funde a temperatura ambiente.



Esquema 19.

³⁷ Kirmse, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2193-2256.

³⁸ Bowden, K.; Heilbron, I. M.; Jones, E. R. H.; Weedon, B. C. L. *J. Chem. Soc.* **1946**, 39-45.

³⁹ <http://www.ugr.es/~quired/doc/p10.pdf>

⁴⁰ Cuevas-Yañez, E.; Garcia, M. A.; de la Mora, M. A.; Muchowski, J. M.; Cruz-Almanza, R. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4815.

La diazocetona **63** se caracterizó mediante su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) en el cual se observa un singlete en 5.89 ppm, que integra para un protón, correspondiente al metino. En 6.56 ppm un doble de dobles que integra para un protón con $J = 1.8$ Hz, $J = 3.6$ Hz, correspondiente al protón que se encuentra en la posición 4 del anillo de furano. En 7.15 ppm un doblete, con $J = 3.6$ Hz, correspondiente al hidrógeno de la posición 3. En 7.50 ppm un doblete con $J = 1.8$ Hz correspondiente al hidrógeno de la posición 5.

4.11. Reacción de homologación

El intento por obtener el éster **70** se llevó a cabo empleando la transposición de Wolff, para ello se realizaron tres experimentos, donde se variaron tanto los equivalentes de la diazocetona **63** como del benzoato de plata (**69**). El procedimiento fue el siguiente: se preparó una solución de benzoato de plata disuelta en trietilamina; esta solución se adicionó a una mezcla de la diazocetona **63** disuelta en metanol seco, la mezcla se puso en agitación y en calentamiento a reflujo de acuerdo a lo indicado en la tabla 3.

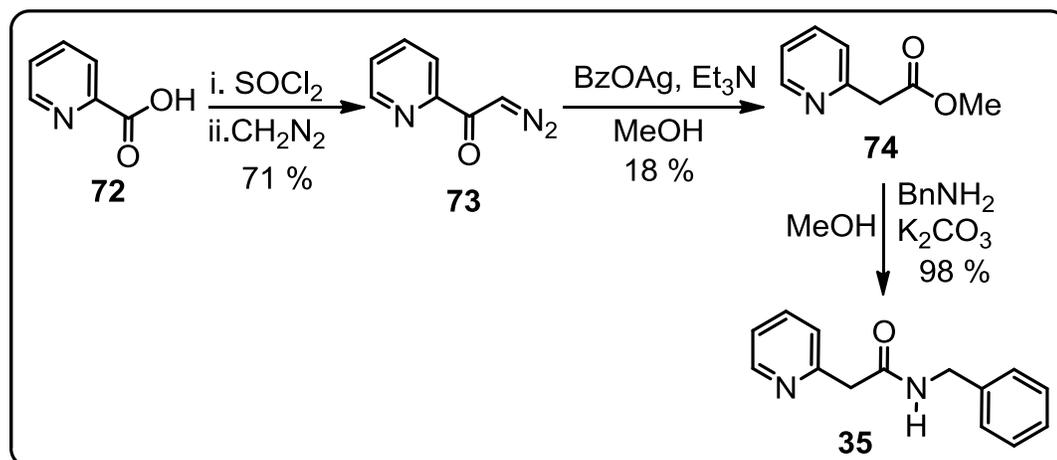
Tabla 3. Experimentos para la reacción de homologación.

Experimento	equiv (63)	equiv (69)	Tiempo	Rendimiento	Rendimiento
1	2	0.5	1.5 h	----	----
2	1	0.5	3 h	----	----
3	5	2	1.5 h	----	25 %

Los resultados de estos experimentos no fueron favorables, ya que en el mejor de los casos sólo se pudo obtener el éster **71** en bajo rendimiento y la descomposición de la diazocetona **63**.

4.12. Síntesis de la 2-piridin-*N*-bencilacetamida. (35)

Para la síntesis de **35**, primero se sintetizó la diazocetona **73**, el cual se generó siguiendo el protocolo de Arndt-Eistert. Posteriormente mediante una transposición de Wolff se logró obtener **74**, con un rendimiento del 18 %. Finalmente la amida **35** se obtuvo como un sólido blanco con p.f. de 62 - 64 °C con un rendimiento del 98 % (Esquema 20).



La diazocetona **73** se caracterizó mediante su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) el cual mostró las siguientes señales: en 6.74 ppm una señal simple correspondiente al metino. A continuación se tienen las señales del anillo de piridina: en 7.50 ppm un doble de dobles con $J = 4.8$ y 7.6 Hz. En 7.89 otro doble de dobles con $J = 7.6$ y 8 Hz. En 8.08 ppm un doblete con $J = 8$ Hz. Finalmente en 8.59 ppm se tiene un doblete con $J = 4.8$ Hz.

Para el caso del éster **74** su espectro de RMN-¹H se mencionan sólo las señales más características de **74**. En 3.73 ppm una señal simple correspondiente al metilo del grupo -OMe. En 3.87 ppm otra señal simple correspondiente al metileno α al carbonilo.

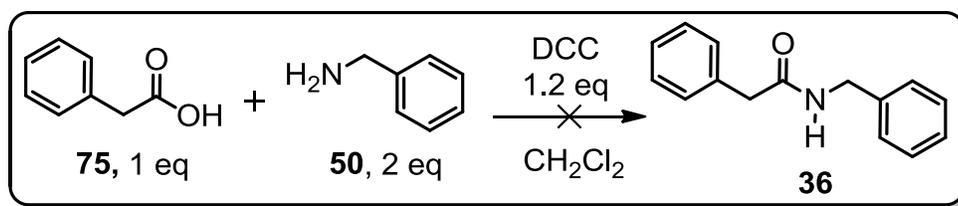
El espectro de RMN-¹H de la amida **35** mostró las siguientes señales: en 3.79 ppm, un singulete del metileno α al carbonilo. En 4.49 ppm un doblete con $J = 5.8$ Hz, correspondiente al CH₂, adyacente al nitrógeno de la amida. En el intervalo de 7.63 - 7.72 ppm un multiplete que integra para 8 hidrógenos, de los cuales cinco protones corresponden al anillo bencílico, dos protones del anillo de piridina y un protón del NH. En 7.68 ppm una señal múltiple con

integración para 8H. En 8.53 ppm otra señal múltiple que integra para 1H. El resto de la espectroscopia coincide con lo que se reporta en la literatura.⁴¹

Continuando con la sustitución del fragmento del triptofol, ahora se incorporo el grupo fenilo al sistema *N*-bencilacetamida.

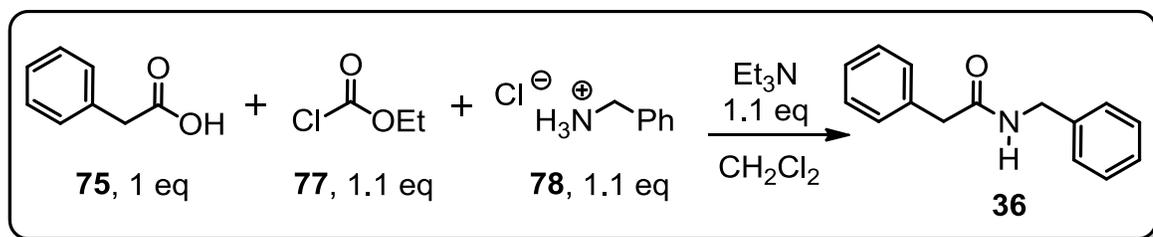
4.13. Síntesis de la *N*-Bencil-2-fenilacetamida. (36)

En un primer intento para la obtención de la amida **36**, fue utilizar el acoplamiento entre el ácido fenilacético (**75**) y la bencilamina (**50**) en presencia de DCC (**76**) como agente activante.⁴² Sin embargo, la reacción no procedió a temperatura ambiente ni en calentamiento a reflujo.



Esquema 21.

En el segundo intento se trató **75** con el cloroformiato de etilo **77**, seguido de la adición del clorhidrato de la bencilamina **78** y Et_3N en DCM bajo estas condiciones, la reacción se dejó en agitación durante 2.5 h a temperatura ambiente, sin embargo el probable producto se descompuso al momento de ser purificado.



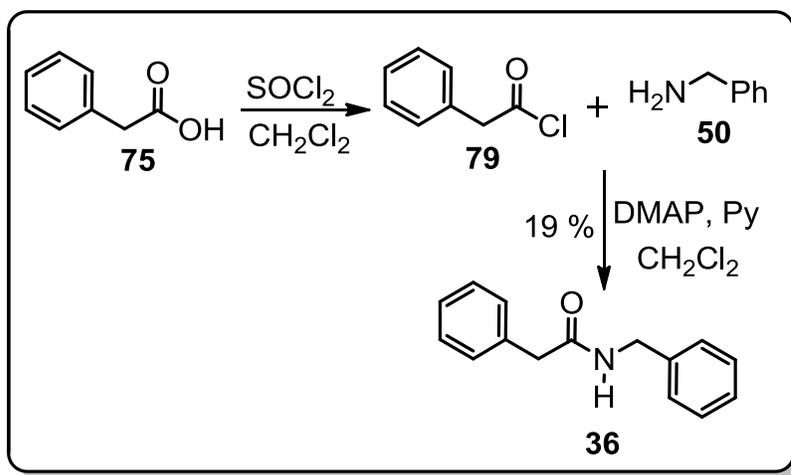
Esquema 22.

⁴¹ Baruah, K. P.; Dinsmore, J.; King, A. M.; Salomé, C.; De Ryck, M.; Kaminki, R.; Provins, L.; Kohn, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 3551-3564.

⁴² Reyes-Gutiérrez, P. E.; Camacho, J. R.; Ramírez-Apan, T.; Osornio, Y. M.; Martínez, R. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4374-4382.

Finalmente, se decidió preparar el cloruro de ácido del ácido fenilacetico (**79**), para lo cual se trató **75** con cloruro de tionilo, en CH₂Cl₂, a reflujo por 3 h.

El acoplamiento entre el cloruro de ácido **79** y la bencilamina **50** se realizó en presencia de piridina y DMA, y CH₂Cl₂ como disolvente,⁴³ obteniendo **36** como un sólido blanco el cual se purificó por recristalización en CH₂Cl₂/hexano. Esta reacción dio un rendimiento del 19 % (p.f. de 119-120 °C).



Esquema 23.

La confirmación de la amida **36** se realizó mediante su espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) con las siguientes señales: en 3.62 ppm una señal simple correspondiente al metileno α al carbonilo. En 4.41 ppm un doblete, con *J* = 5.8 Hz, correspondiente al metileno adyacente al nitrógeno. En 5.73 ppm una señal ancha y de baja intensidad del NH. En la región aromática (7.15–7.37 ppm) se tiene un multiplete con integración para 10 hidrógenos correspondiente a los dos fenilos. El resto de los datos espectroscópicos coinciden con los que se reportan en la literatura.^{43 y 44}

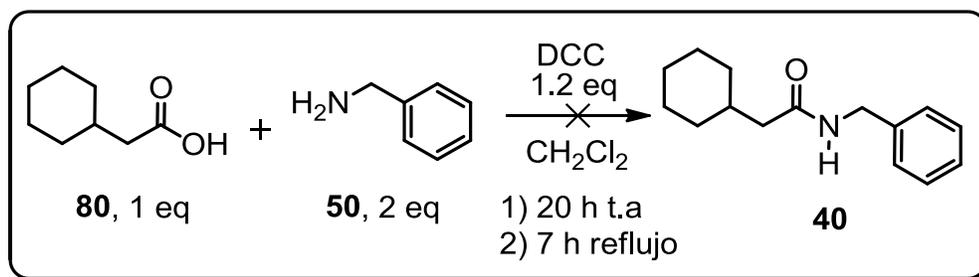
A continuación se incorporaron grupos alifáticos al sistema *N*-bencilacetamida, como: ciclohexilo, metilo, etilo e isopropilo.

⁴³ Ignatenko, V. A.; Deligonul, N.; Viswanathan, R. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3594-3597.

⁴⁴ Perreux, L.; Loupy, A.; Volatron, F. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *58*, 2155-2162.

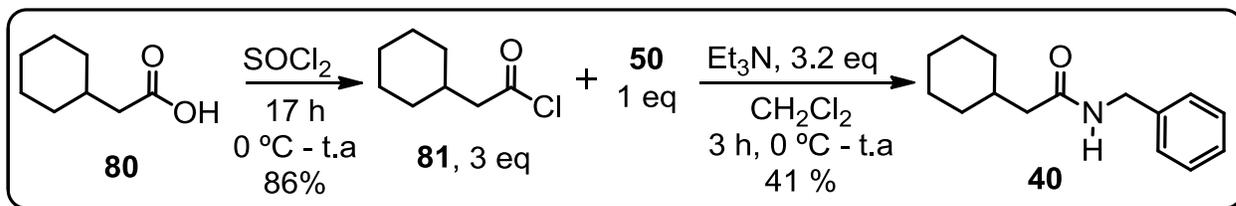
4.14. Síntesis de la *N*-bencil-2-ciclohexilacetamida. (40)

Para la síntesis de la amida **40** se realizaron experimentos similares a los ya probados para el compuesto **36**. Nuevamente se intentó realizar el acoplamiento entre el ácido ciclohexilacético (**80**) con la bencilamina (**50**) en presencia de DCC, se realizó a temperatura ambiente y en calentamiento a reflujo (Esquema 24); sin embargo, no se observó avance alguno de la reacción para ambos experimentos.



Esquema 24.

En otro experimento se decidió aplicar la misma metodología que se utilizó para la síntesis de **36**. Para ello se preparó el cloruro de ácido **81**,⁴⁵ seguido del acoplamiento con la amina **50** y utilizando Et_3N ; de esta manera se logró obtener la amida **40** como un sólido blanco con un rendimiento del 41% y un punto de fusión de 129-131 °C.



Esquema 25.

El espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl_3) de **40** mostró las siguientes señales: en el intervalo de 0.90 - 1.32 ppm y 1.60 - 1.80 ppm se observaron dos multipletes que integran para cinco y seis protones respectivamente, que corresponden a los hidrógenos del ciclohexano. En 2.06 ppm un doblete, con $J = 7$ Hz, asignado al metileno α al carbonilo. En 4.45 ppm otro doblete con una de $J = 5.6$ Hz, correspondiente al metileno adyacente al nitrógeno. El hidrógeno

unido al nitrógeno de la amida se observa en 5.74 ppm. Finalmente cinco protones aromáticos se ubican en el intervalo de 7.26 - 7.33 ppm; datos que coinciden con lo descrito en la literatura.⁴⁶

4.15. Síntesis de *N*-bencilacetamidas alifáticas.

La *N*-bencilacetamida (**41**) y los homólogos alifáticos **42** y **43**, se obtuvieron a partir del acoplamiento entre la bencilamina (**50**) y los anhídridos correspondientes **82**, **83** y **84**. Siguiendo la siguiente metodología: se preparó una disolución con alguno de los anhídros **82-84** en DCM, el cual se mantuvo en agitación en un baño de hielo y posteriormente se adicionó lentamente la bencilamina, para después dejar la mezcla de reacción en agitación a reflujo. Los compuestos **41** y **43** se purificaron por recristalización en éter/hexano. Para el caso de **42** se purificó por cromatografía en columna en sílica gel. En la Tabla 4 se muestran los rendimientos obtenidos así como el tiempo de reacción y el punto de fusión de estos productos.

Tabla 4. Formación de amidas a partir de anhídridos.

<p style="text-align: center;"> $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R} + \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \xrightarrow[\text{reflujo}]{\text{CH}_2\text{Cl}_2} \text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ </p> <p style="text-align: center;"> 82 - 84 50 41 - 43 1 eq 1.1 eq </p>				
R	tiempo (h)	Producto	Rendimiento	P.f. (°C)
82 , R = Metilo	2	41	87%	55 - 58
83 , R = Etilo	16	42	83%	40 - 42
84 , R = Isopropilo	3	43	97%	87 - 89

⁴⁵ Nyhlén, J.; Eriksson, L.; Bäckvall, J. E. *Chirality*. **2008**, *20*, 47-50.

⁴⁶ Satoh, T. Unno, H.; Mizu, Y.; Hayashi, Y. *Tetrahedron*, **1997**, *23*, 7843-7854.

La confirmación de la estructura de **41**, **42** y **43** se realizó mediante el análisis de sus respectivos espectros de RMN-¹H. Para la *N*-bencilacetamida **41** se observó en 2.01 ppm una señal simple, correspondiente al metilo de la acetamida. En 4.44 ppm un doblete con $J = 5.8$ Hz para el metileno. En 5.87 ppm un singulete ancho para el NH y en el intervalo de 7.26 a 7.38 ppm un multiplete ancho con integración para cinco hidrógenos, correspondientes a los protones aromáticos. Los datos espectroscópicos coinciden con los reportados en la literatura.⁴⁷

Para el caso de la *N*-bencilpropionacetamida (**42**) su espectro de RMN-¹H mostró las siguientes señales: un triplete en 1.18 ppm, con $J = 7.6$ Hz, que integra para tres protones correspondientes al metilo de la acetamida. En 2.30 ppm, un cuadruplete con $J = 7.6$ Hz, que integra para dos protones y que corresponde al metileno α al carbonilo. En 4.45 ppm un doblete con $J = 5.8$ Hz, del metileno adyacente al NH. En 5.87 ppm se tiene un singulete ancho y de baja intensidad característico del NH. Finalmente en 7.26 - 7.41 ppm un multiplete que integra para cinco protones y que corresponden a los del anillo aromático. El resto de la espectroscopía coinciden con lo reportado.⁴⁸

El espectro de RMN-¹H de la *N*-bencil-2-metilpropionacetamida (**43**) presentó las siguientes señales: en 1.20 ppm un doblete de los metilos del isopropilo, con $J = 7$ Hz. En 2.39 ppm un septuplete con $J = 7$ Hz, correspondiente al hidrógeno del carbono terciario del grupo isopropilo. En 4.45 ppm un doblete con $J = 5.4$ Hz, para los hidrógenos del metileno adyacente al NH. En 5.81 ppm la señal ancha y de baja intensidad del NH. Finalmente en el intervalo de 7.25 - 7.39 ppm un multiplete para los protones aromáticos. El resto de la espectroscopía coinciden con lo reportado.⁴⁹

⁴⁷ Cazorla, C.; Méta y, E.; Lemaire, M. *Tetrahedron*. **2011**, *67*, 8615-8621.

⁴⁸ Allen, L. C.; Chhatwal, R. A.; Williams, M. J. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 666-668.

⁴⁹ Hardee, D. J.; Kovalchuke, L.; Lambert, T. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5002-5003.

5. Pruebas de citotoxicidad.

Las pruebas de actividad citotóxica se realizaron en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química de la UNAM.

Las líneas celulares neoplásicas que se utilizaron para realizar el estudio de las amidas sintetizadas fueron:

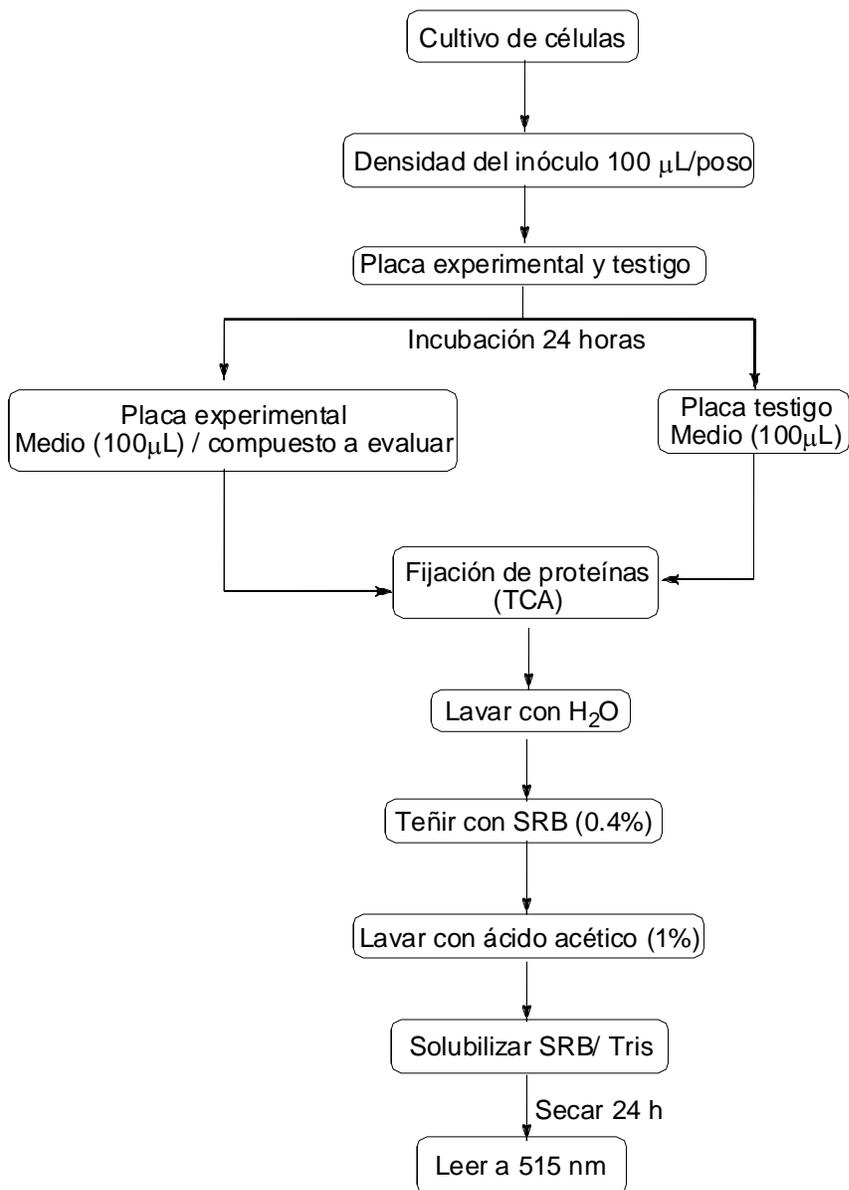
- MCF-7 (mama)
- K-562 (Leucemia humana)
- U-251 (Glía de Sistema Nerviosos Central)
- PC-3 (Cáncer de Próstata)
- SKLU-1 (Cáncer de pulmón)
- HCT-15 (Cáncer de Colon)

En un primer ensayo se realizó el screening primario; el cual consistió en determinar el porcentaje (%) de inhibición de proliferación.

En un segundo ensayo se determinó la concentración inhibitoria 50 (**IC₅₀**) y el método consistió en la tinción de proteínas celulares con sulforrodamina b (**SRB**) como colorante y el fundamento es la formación de enlaces electroestáticos, con aminoácidos de células vivas (exclusivamente); por lo tanto la intensidad del color es directamente proporcional a la proliferación celular.

El protocolo general para la realización de estos ensayos se ilustra en el esquema 26.

5.1. Protocolo general para el ensayo citotóxico.



Esquema 26.

5.2. Resultados del porcentaje (%) de inhibición.

La tabla 5 muestra los resultados de los compuestos (**32** - **43**) que fueron evaluados para determinar el porcentaje (%) de inhibición en células cancerígenas a una concentración de 50 μ M en DMSO.

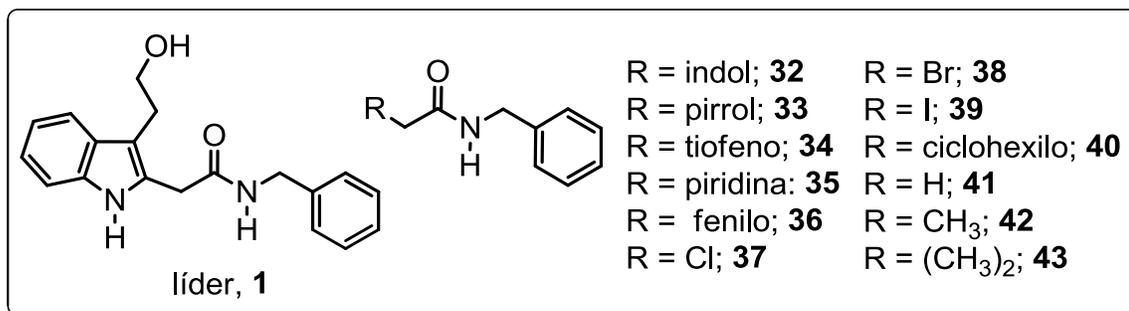


Tabla 5. Porcentaje (%) de inhibición del crecimiento por línea celular.

<i>Compuesto</i>	<i>U251</i>	<i>PC-3</i>	<i>K562</i>	<i>HCT-15</i>	<i>MCF-7</i>	<i>SKLU-1</i>
Líder 1	100	71.54	77.69	88.2	7.96	100
32	65.02	35.1	100	65.9	51.53	89.91
33	Sa	48.81	14.87	28.71	24.32	53.93
34	Sa	7.7	21.83	3.13	sa	Sa
35	Sa	sa	21.6	Sa	23.4	1
36	10.58	21.86	1.04	46.52	35.81	4.99
37	Pd	90.19	100	95.86	100	80.08
38	100	100	100	98.79	100	100
39	100	100	92.48	100	100	100
40	14.83	41.01	38.31	28.72	26.17	Pd
41	Pd	13.47	sa	13.58	sa	3.3
42	12.92	16.08	sa	34.59	33.55	9.05
43	Pd	0.6	sa	6.85	sa	4.48

U251 = glía de sistema nervioso central, PC-3 = próstata, K562 = leucemia, HCT-15 = colon, MCF-7 = mama y SKLU = pulmón. pd: pendiente, sa: sin actividad.

Para el caso de los compuestos que presentaron un porcentaje de inhibición mayor al 50% se determinó su concentración inhibitoria **IC**₅₀ en las líneas celulares antes mencionadas. Los resultados obtenidos así como los del compuesto líder se presentan en la Tabla 6.

Los compuestos que presentaron mayor porcentaje (%) de inhibición fueron los compuestos halogenados y la amida **32**. Por ello se procedió a determinar su concentración inhibitoria 50 (IC₅₀), los resultados se presenta a continuación.

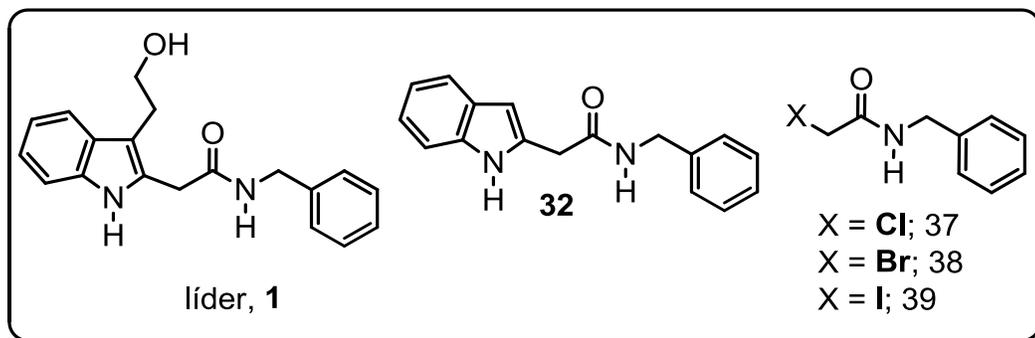


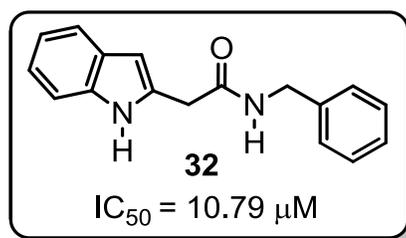
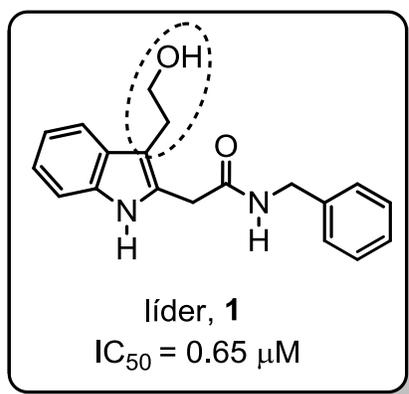
Tabla 6. Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀)

<i>Compuesto</i>	<i>U251</i>	<i>PC-3</i>	<i>K562</i>	<i>HCT-15</i>	<i>MCF-7</i>	<i>SKLU-1</i>
1	4.15 ± 0.39	4.78±0.01	0.65±0.09	1.44±0.18	pd	2.65±0.3
32	20.97 ± 2.2	27.67±1.4	10.79±0.1	9.62±0.4	13.8±0.8	11.14±0.8
37	19.68 ± 1.3	25.52±2.0	10.31±1.8	28.58±3.3	14.54±1.9	26.99±0.19
38	0.64 ± 0.06	3.42±0.06	0.15±0.04	0.41±0.06	0.41±0.04	2.65±0.03
39	0.061±0.01	2.03±0.05	0.55±0.04	0.47±0.05	0.50±0.1	0.85±03

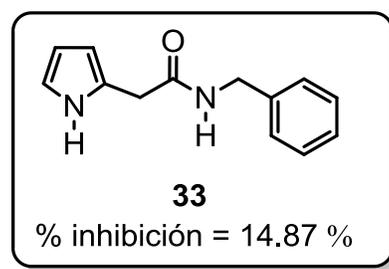
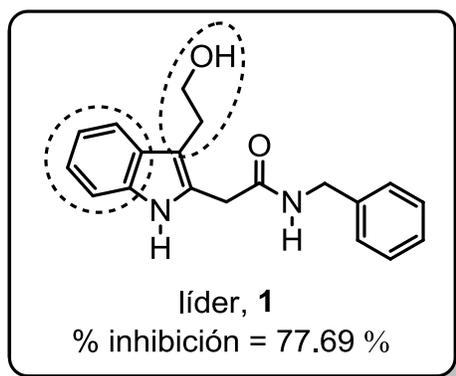
U251 = glía de sistema nervioso central, PC-3 = próstata, K562 = leucemia, HCT-15 = colon, MCF-7 = mama y SKLU = pulmón. pd: pendiente.

5.3. Efecto de la modificación estructural del compuesto líder.

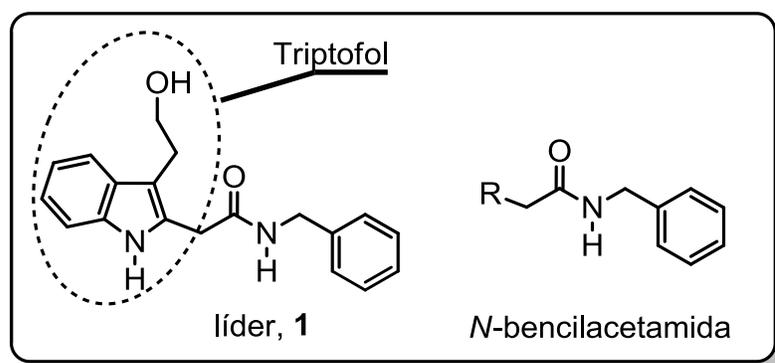
La primera modificación estructural del compuesto líder **1**, consistió en la omisión del sustituyente 2-hidroxietilo de la posición C-3 del anillo del indol, generando el compuesto **32**, el cual presentó una disminución en la actividad citotóxica de aproximadamente 15 veces, respecto al compuesto líder (**1**). Con esta modificación se pone de manifiesto que el sustituyente 2-hidroxietilo unido en C-3, participa en la actividad citotóxica del compuesto **1**.



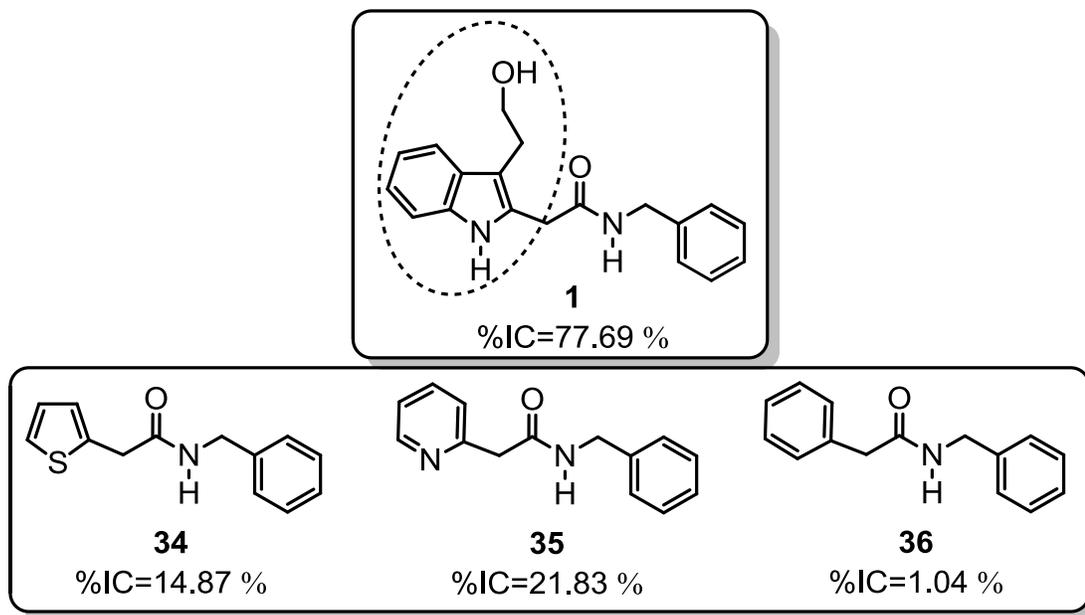
La siguiente modificación consistió en omitir además del grupo 2-hidroxietilo de la posición 3 del indol, el anillo de benceno, generando con ello el compuesto **33**, el cual resultó sin actividad citotóxica. Con estos dos experimentos se puede pensar que la actividad de **1** depende tanto del anillo de indol como del sustituyente 2-hidroxietilo (triptofol).



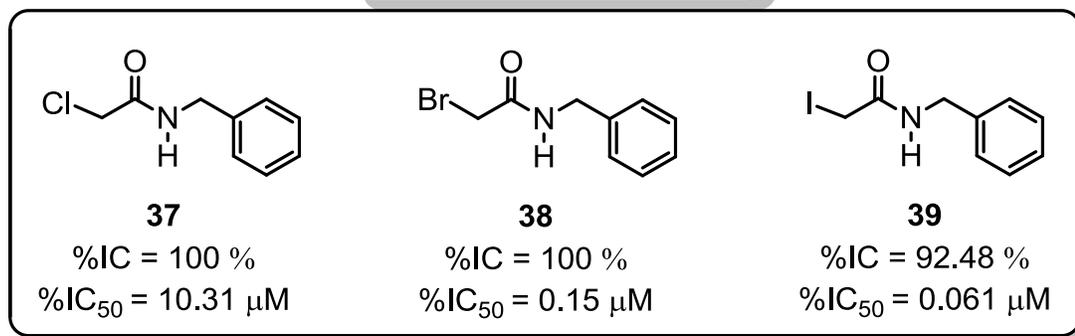
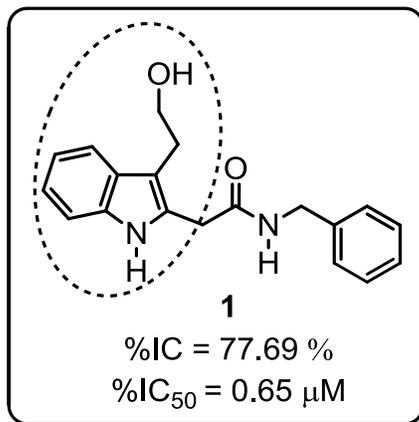
Para tratar de corroborar lo anterior se decidió preparar compuestos que no tuviesen en su estructura el fragmento del triptofol. Por lo que ahora la modificación estructural se situaría en mantener el fragmento de la *N*-bencilacetamida del compuesto líder **1** y variar a lo que correspondería al triptofol por **R**: como grupos heterocíclicos de cinco miembros y otros grupos aromáticos, también se contempló incluir grupos halógenos y sustituyentes alifáticos, para así estudiar el efecto que generarían estos cambios sobre la actividad citotóxica.



La primera modificación consistió en la inserción de anillos aromáticos como el tiofeno **34**, piridina **35** y fenilo **36**; sin embargo estos compuestos presentaron una disminución muy notable en la actividad citotóxica.



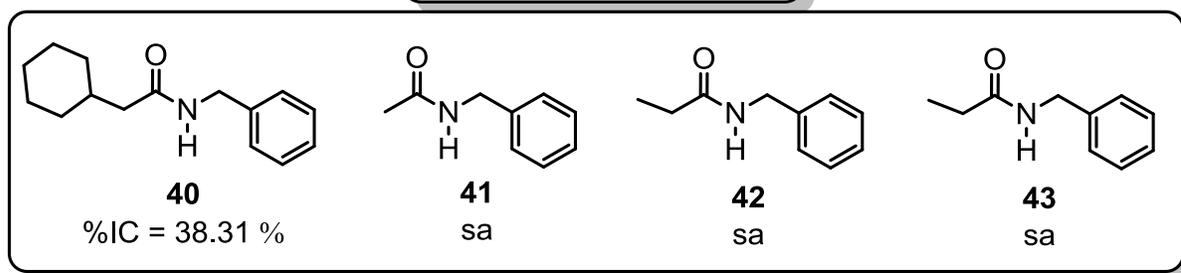
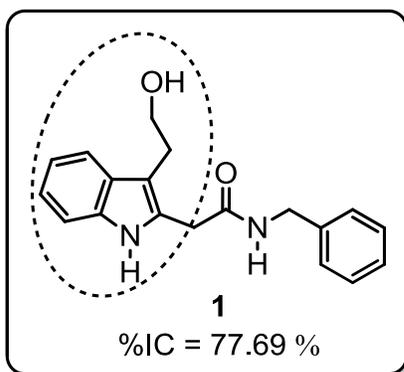
El siguiente cambio consistió en la sustitución del triptofol por grupos halógenos, tales como Cl, Br y I, como se muestra a continuación.



Las amidas halogenadas **37**, **38** y **39** todas presentaron actividad citotóxica; como puede observarse en todos los casos se obtuvieron un porcentaje (%) de crecimiento de inhibición que van del 92 al 100% para todas las líneas celulares en las que fueron evaluadas. Debido a esto se determinó la concentración inhibitoria 50 (**IC**₅₀) y los resultados fueron los siguientes: la amida **36** con cloro resultó ser aproximadamente menos activa respecto que el compuesto **1**, la amida **37** con bromo, presentó un incremento más que **1** y finalmente la amida **38** con yodo, resultó ser la más activa, pues se obtuvo un incremento superior respecto a **1**. De esta serie de amidas halogenadas la más activa fue la que contienen yodo, sin embargo es sabido que los fármacos que contienen yodo ocupan un % menor que los que contienen bromo y estos a su vez ocupan un lugar intermedio entre los fármacos con cloro.⁵⁰

⁵⁰ Zaldini, H. M.; Cavalcanti, T. S.; Moreira, M. D.; De Azevedo, J. W.; Lima, L. C. *Curr. Drug Targets*, **2010**, *11*, 1-12.

El siguiente cambio consistió en sustituir el triptofol por grupos alifáticos como el ciclohexilo **40**, metilo **41**, etilo **42** e isopropilo **43**. Sin embargo ninguno de estos compuestos presentaron actividad citotóxica.



5.4. Estudio de toxicidad.

Para este estudio se requieren células del sistema inmune llamados macrófagos, las cuales son obtenidas de la cavidad peritoneal de ratones Swiss, de acuerdo al protocolo de Zhang.⁵¹ El cual consiste en depositar 100 µl de la suspensión de células en placas de 96 pozos, se dejan por un lapso de 60 minutos para que los macrófagos se adhieran al sustrato de los pozos. El compuesto a probar se disuelve en DMSO o en agua a una concentración de 20 mM. Posteriormente se agregan 100 µl de la disolución del compuesto de prueba cuya concentración final en cada pozo corresponden a 50 µM. Cada compuesto de prueba se agrega en 3 pozos, así como su respectivo vehículo; al finalizar se incuban a 37 °C con 5% de CO₂ por 24 horas.

5.5. Determinación de la toxicidad

La actividad de los compuestos sobre el ensayo de viabilidad celular, se determina por el método colorimétrico con MTT (3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromado).⁵² El MTT se preparó en una disolución amortiguadora de fosfatos a una concentración de 5 mg/ml. Se adicionaron 20 µl/pozo y se incubó durante 4 horas a 37 °C con 5% de CO₂. Al finalizar este periodo, se descartó el sobrenadante y los cristales generados en cada pozo, se disolvió en 100 µl de DMSO. La placa se mantuvo en agitación durante 10 min y posteriormente se midió la absorbancia a 570 nm.

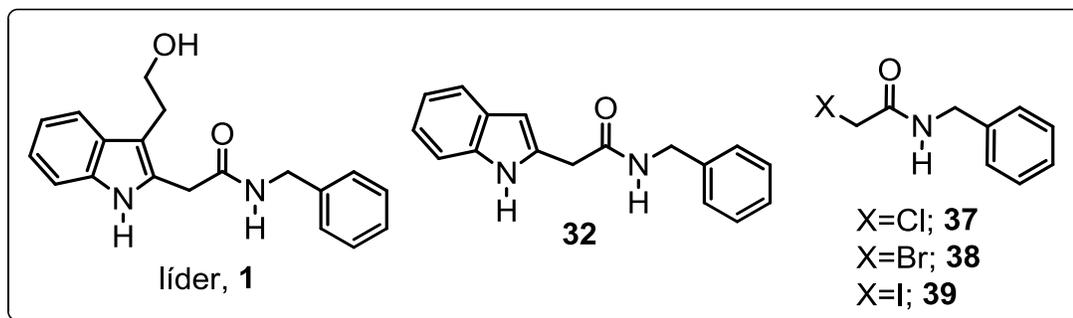
El porcentaje de toxicidad se calculó de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ Viabilidad} = 100 \times (\text{promedio de absorbancia del compuesto a prueba} / \text{promedio absorbancia vehículo})$$

El estudio de toxicidad consistió en determinar el porcentaje de células sanas, que sobrevivieron después de ser expuestas con los compuestos **1**, **32**, **37**, **38** y **39** a una concentración de 50 µM, los resultados obtenidos para estos compuestos se muestran a continuación en la tabla 7 y en la Gráfica 1.

⁵¹ Zhang, X.; Golcalves, R.; Mosser D. M. *Curr. Protoc. Immunol.* **2008**, 83, 14.1.1-14.1.14.

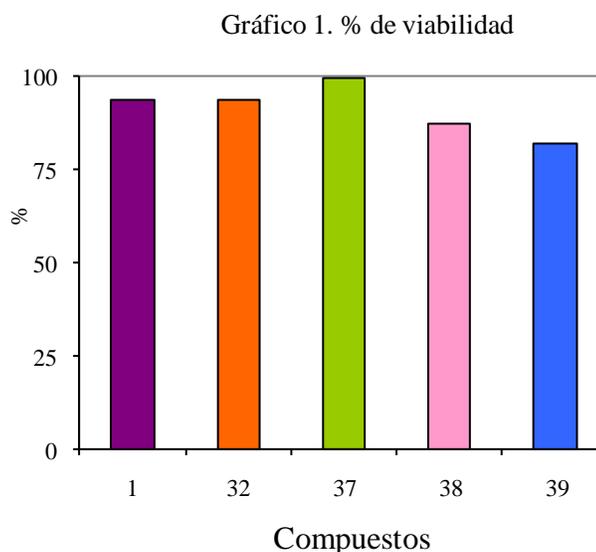
⁵² Mossman, T. J. *Imm. Meth.* **1983**, 65, 55-63.



Los resultados se expresan en un promedio de 3 experimentos independientes con un valor de \pm % de error estándar de la media.

Tabla 7. % de viabilidad

Compuesto (50 μ M)	% de viabilidad
líder 1	94.0 \pm 0.9
32	93.5 \pm 0.6
37	99.6 \pm 0.4
38	87.4 \pm 0.3
39	81.8 \pm 3.7



El estudio de viabilidad, se utilizó para determinar el porcentaje de células sanas que sobreviven después de ser expuestas con los diferentes compuestos.

Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: para el caso del compuesto líder **1** presentó un porcentaje de células que sobrevivieron mayor al 90 %, lo mismo sucedió para el caso de la amida **32** que contiene indol. Para el caso de las amidas halogenadas, la que resultó tener una mayor sobrevivencia celular fue, la amida **37** con un % mayor al 99 %, seguida de la amida bromada **38** con un % mayor al 87 %. Finalmente la amida yodada **39** fue la que presentó un % del aproximadamente 81%.

La toxicidad se determinó como el % de células que no sobrevivieron a la prueba de viabilidad, el compuesto líder **1** presentó un porcentaje de toxicidad menor al 7 %. La amida **32**, que es la que contiene indol fue ligeramente menor al compuesto **1** con 6.5 % de toxicidad. De las amidas halogenadas la amida clorada **37** fue la menos tóxica, con una toxicidad menor al 1 %. La amida bromada **38** presentó un porcentaje de toxicidad de aproximadamente 12 %. Finalmente la amida yodada **39** fue la más tóxica con un porcentaje (%) de toxicidad de aproximadamente 19 %.

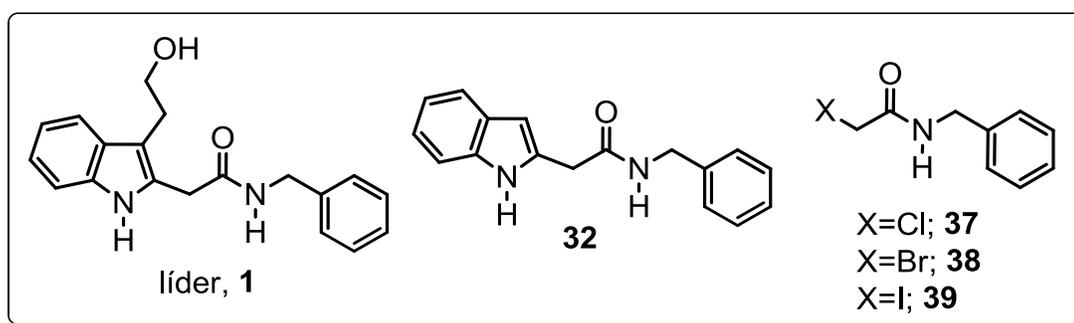
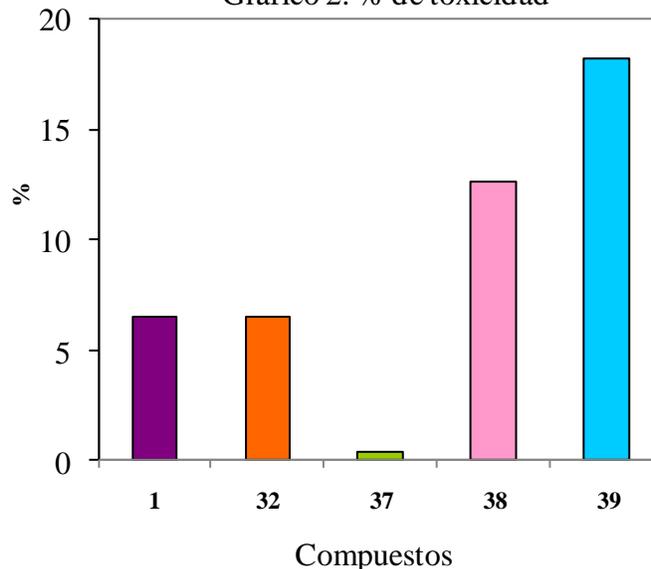


Tabla 8. % de toxicidad

Compuesto (50 μ M)	% de viabilidad
líder 1	6.0 \pm 0.9
32	6.5 \pm 0.6
37	0.4 \pm 0.4
38	12.6 \pm 0.3
39	18.2 \pm 3.7

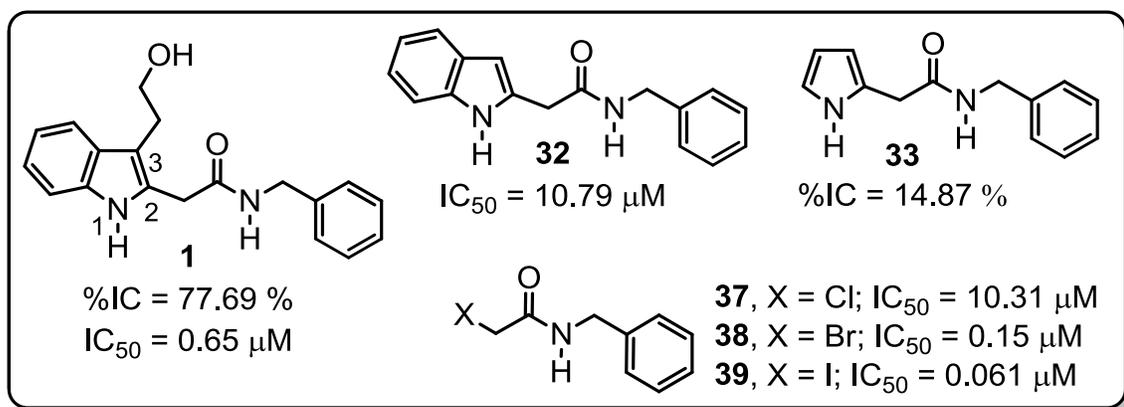
Gráfico 2. % de toxicidad



Estos estudios demostraron que tanto el compuesto líder, como el resto de las amidas que resultaron ser activas, actúan principalmente sobre células cancerígenas lo cual indica un efecto selectivo.

6. CONCLUSIONES

Se logró demostrar que parte de la actividad citotóxica dependen tanto del sustituyente 2-hidroxietilo, como del anillo de benceno del indol; por lo tanto el triptofol es importante para la actividad citotóxica del compuesto líder **1**.



Se logró obtener dos derivados halogenados de la *N*-bencilacetamida que incrementaron potencialmente su actividad citotóxica respecto a **1**.

Se logró determinar las concentraciones inhibitorias 50 (IC₅₀), para los compuestos **32**, **37–39**, así como el porcentaje (%) de toxicidad para estos mismos compuestos además de **1**.

7. SECCIÓN EXPERIMENTAL

7.1. Detalles generales.

Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C fueron obtenidos en un equipo Varian Gemini de 200 MHz. Las muestras fueron preparadas en cloroformo deuterado (CDCl₃) y en algunos compuestos en dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-d₆) y como referencia interna se usó tetrametilsilano (TMS). Los desplazamientos químicos (δ) se informan en partes por millón (ppm), las constantes de acoplamiento (*J*) están reportadas en Hertz (Hz) y para indicar la multiplicidad de las señales de los espectros de RMN-¹H se utilizó la siguiente terminología: s, señal simple; sa, señal ancha; d, doblete; da, doblete ancho; dd doble de dobles; t, triplete; c, cuatruplete; m, multiplete; ma, multiplete ancho.

Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrómetro FT-IR Tensor 27 Bruker y las técnicas para su obtención fueron en disolución en CHCl₃ en película y en pastilla de KBr.

Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro JEOL JEM-AX505HA de baja resolución mediante la técnica de impacto electrónico (IE) a 70 eV, y para la técnica de FAB⁺ en un espectrómetro JSM-SX102A.

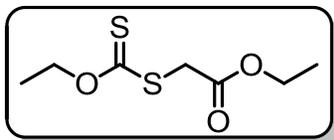
El seguimiento de las reacciones fue a través de cromatografía en capa fina (ccf), utilizando cromatoplasmas de sílica gel 60 (ALUGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄) y como revelador radiación UV, yodo, disoluciones de ácido fosfomolibdico, ninhidrina y vainillina. La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna en sílica gel; la sílica gel que se usó fue (0.040-0.060 mm, malla 230-400 ASTM) Machery-Nagel & Co[®] como eluyentes Acetona, AcOEt, CH₂Cl₂ y Hexano.

El MeOH que se utilizó fue secado por destilación bajo atmósfera de nitrógeno; el tratamiento previo fue utilizar una cantidad equivalente al 10% en p/v de magnesio respecto al MeOH, una a dos esferas de yodo, agitación en un baño de hielo en atmósfera de nitrógeno. El AcOEt y el CH₂Cl₂ que se empleó para las extracciones y purificación de los compuestos; se purificó por destilación fraccionada en presencia de CaCl₂ anhidro. El hexano se trató en una solución ácida de KMnO₄ y posteriormente destilado en presencia de KOH. El THF y el éter etílico se secaron por destilación fraccionada con tratamiento previo en Na molecular y en presencia de benzofenona como indicador.

Los puntos de fusión fueron determinados en un equipo MEL-TEMP II[®] y no están corregidos.

7. 2. Metodología y datos espectroscópicos de los compuestos obtenidos

7.2.1. 2-(Etoxicarbonotioiltio)acetato de etilo. (48)

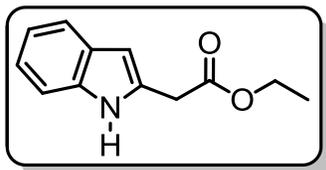


En un matraz redondo de 100 mL de una boca provisto de un agitador magnético, se preparó una disolución con 10 mL de acetonitrilo y 5 mL de bromoacetato de etilo **46** (45.18 mmol), la cual se puso en agitación a temperatura ambiente y se adicionó poco a poco 8.686 g (54.21 mmol) de *O*-etilcarbonoditionato de potasio **47**. Se adicionaron 10 mL más de acetonitrilo. Se dejó en agitación durante 1.5 h; posteriormente el disolvente se concentró a presión reducida, y el residuo se suspendió en 30 mL de agua destilada, 10 mL de salmuera y se extrajo por tres veces con acetato de etilo (30 mL c/u). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró, obteniéndose un aceite amarillo de olor penetrante. Se purificó por cromatografía en columna en sílica gel; utilizado como fase de elución un sistema Hexano/AcOEt (9:1), obteniéndose 8.94 g de un líquido amarillo tenue de olor penetrante, con un rendimiento de 95%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 1.30 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.43 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 3.92 (sa, 2H), 4.22 (c, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.65 (c, *J* = 7.2 Hz, 2H).

7.3 Metodología general para la reacción de adición radical-oxidativa aromática intermolecular.

En un matraz redondo de 25 mL de dos bocas provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se preparó una mezcla a partir de 1 eq de indol (**45**), 1.2 eq del xantato **48** y 10 mL de dicloroetano (DCE). La mezcla se burbujeó con N₂ durante 15 min, se calentó a reflujo y en atmósfera de N₂; a esta mezcla se adicionó una solución de DLP (1.2 eq) disuelto en DCE (9 mL) mediante la adición dividida en 4 a 8 porciones cada 2 h. El disolvente se concentró a presión reducida, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de sílica gel.

7.3.1. 2-Indol acétato de etilo. (49)



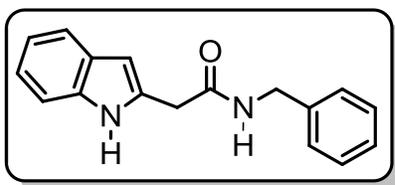
El éster **49** se obtuvo empleando la metodología **7.3** a partir de 1 g (8.54 mmol) de indol (**45**), 2.13 g (10.25 mmol) de xantato **48** y tres adiciones de 1.70 g (4.26 mmol) de DLP en 9 mL de DCE, cada adición se realizó en un lapso de 2 h; el producto se purificó por CC de sílica gel y en una mezcla de elusión de Hexano/AcOEt (95:5), obteniéndose 0.75 g de un residuo aceitoso amarillo con un rendimiento de 43%.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 1.28 (t, *J* = 7 Hz, 3H), 3.81 (s, 2H), 4.21 (c, *J* = 7 Hz, 2H), 6.34 (s, 1H), 7.03 – 7.18 (m, 2H), 7.30 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 8.76 (s, 1H).

7.4. Metodología para el acoplamiento de amidación

En un matraz redondo de 25 mL de una boca provisto de un agitador magnético, se preparó una mezcla de 1 eq del éster **49**, 9 eq de carbonato de potasio, 4 ml de metanol anhidro, se puso en agitación a temperatura ambiente y en atmosfera de N₂, lentamente se adiciono 1.2 eq de bencilamina (**50**). El disolvente se concentró a presión reducida y se redisolvió en 40 mL de agua destilada, se extrajo con AcOEt y salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. El crudo de reacción se purificó por CC.

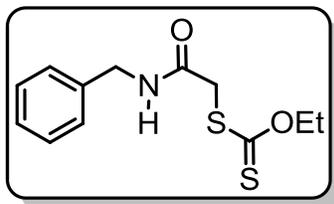
7.4.1 N-Bencil-2-(indol-2-il)acetamida. (32)



La amida **32** se preparó de acuerdo a la metodología **7.4** a partir de una mezcla de 0.09 g (0.44 mmol) de **49**, 0.55 g (3.987 mmol) de carbonato de potasio, 4 mL de MeOH anhidro y 0.06 mL (0.53 mmol) de bencilamina (**50**); se dejó en agitación por 48 h. Se purificó por CC, usando como fase móvil un sistema AcOEt/CH₂Cl₂ (1:1). Obteniéndose 0.47 g de un polvo fino café con p.f. de 116-119 °C con rendimiento del 40%. IR (disolución, cm⁻¹): 1520.16 (st, NH), 166.76 (st, C=O), 2929.53 (st, CH), 3009.42 (st, CH), 3308.34 (st, NH), 3445.22 (st, NH). RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.73 (s, 2H), 4.42 (d, *J* = 5.8 Hz 2H), 6.09 (s, NH), 6.33 (s, 1H), 7.04 - 7.35 (ma, 8H), 7.53 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H),

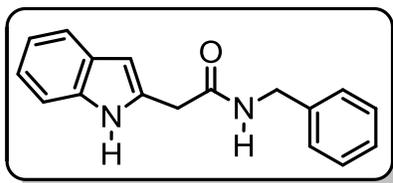
8.89 (s, NH). RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 38.36, 43.91, 101.92, 111.06, 120.02, 120.19, 122.02, 127.53, 127.79, 128.37, 128.78, 128.86, 131.74, 136.53, 137.78, 169.63. EMIE m/z (%): 264 M⁺ (54), 130 [M-134]⁺ (100), 106 [M-158]⁺ (6), 91 [M-173]⁺ (25), 77 [M-187]⁺ (8).

7.4.2. Carbonoditioato de *S*-(bencilcarbamoil)metil-*O*-etilo. (53)



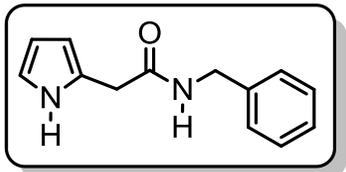
En un matraz redondo de 250 mL de una boca provisto de un agitador magnético, se preparó una mezcla de 3.557 g (15.59 mmol) de **38** y 60 mL de acetona. La mezcla de reacción se puso en agitación en un baño de hielo a 0 °C, mientras se adicionó gota a gota una solución de 3.615 g (23.39 mmol) de **47** en 70 mL de acetona. Se dejó en agitación a temperatura ambiente y en atmósfera de N₂ durante 6 h. Posteriormente, se extrajo con AcOEt/H₂O. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró, obteniéndose un residuo aceitoso rojizo. Se purificó por cromatografía en columna en sílica gel en un sistema de elución de Hexano/AcOEt 70:30 obteniéndose 2.846 g de un sólido blanco con p.f. de 78 - 80 °C y un rendimiento del 67%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 1.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 3.89 (s, 2H), 4.47 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 4.65 (c, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.31 - 7.26 (ma, 5H), 6.66 (s, NH).

7.4.3. *N*-Bencil-2-(indol-2-il)acetamida. (32)



De acuerdo a la metodología **7.3** se preparó una mezcla de 0.100 g (0.85 mmol) de **45**, 0.276 g (1.03 mmol) de **53**; 2 mL de DCE, 4 adiciones de una solución de 0.170 g (0.43 mmol) de DLP en 1.5 mL de DCE, obteniéndose un residuo aceitoso café, el cual se purificó por CC de sílica gel y como fase móvil una mezcla de Hexano/AcOEt 95:5 - 65:35; obteniéndose 0.127 g de un sólido café claro con un p.f. de 116-119 °C y un rendimiento del 56%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.73 (s, 2H), 4.42 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 6.09 (sa, NH), 6.33 (s, 1H), 7.04 - 7.35 (ma, 8H), 7.53 (d, *J* = 7.6 Hz 1H), 8.89 (sa, NH).

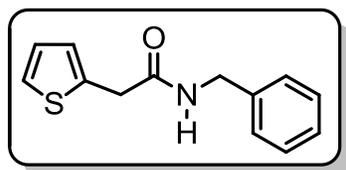
7.4.4. *N*-Bencil-2-(pirrol-2-il)acetamida. (33)



De acuerdo a la metodología **7.3** se preparó una mezcla de 0.100 g (1.49 mmol) de **58**, 0.241 g (1.79 mmol) de xantato **53**, 3 mL de DCE y se agregó en forma sólida 0.54 g (1.35 mmol) de DLP dividida en 7 fracciones. La adición entre cada fracción fue en un lapso de 30 min, obteniéndose un residuo aceitoso café, se purificó por CC de sílica gel y como fase móvil una mezcla de Hexano/AcOEt 80:20, obteniéndose 0.042 g de cristales café con un p.f. de 79 - 81 °C y un rendimiento del 26%.

IR (disolución, cm^{-1}): 1519.48 (st, NH), 1668.97 (st, C=O), 2928.50 (st, CH), 3022.63 (st, CH) 3321.97 (st, NH), 3403.55 (st, NH). RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 3.58 (s, 2H), 4.40 (d, $J = 5.8$ Hz 2H), 6.02 (s, NH), 6.12 - 6.158 (m, 2H), 6.74 (m, 1H), 7.31-7.17 (m.a, 5H), 8.95 (s, NH). RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 35.89, 43.85, 107.87, 108.81, 118.43, 127.77, 128.95, 138.11, 170.73. EMIE m/z (%): 214 M^+ (59), 147 $[\text{M}-67]^+$ (9), 106 $[\text{M}-108]^+$ (8), 91 $[\text{M}-123]^+$ (48), 80 $[\text{M}-134]^+$ (100).

7.4.5. *N*-Bencil-2-(tiofen-2-il)acetamida. (34)



De acuerdo a la metodología **7.3** a partir de una mezcla de 0.100 g (1.19 mmol) de **59**, 0.384 g (1.43 mmol) del xantato **53**, 2 mL de DCE, 0.236 g (1.35 mmol) de DLP en 1.5 mL de DCE (5 adiciones); obteniéndose un residuo aceitoso amarillo, el cual se purificó por CC en sílica gel y como fase móvil una mezcla de Hexano/AcOEt 95:5 - 85:15, obteniéndose 82 mg de cristales amarillo claro con un p.f. de 88 - 90 °C y un rendimiento del 30%. RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 3.83 (s, 2H), 4.44 (d, $J=5.8$ Hz 2H), 6.99 (m, 2H), 7.31-7.18 (m.a, 6H), 6.08 (s, NH).

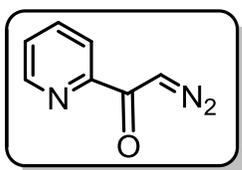
7.5. Metodología para la formación de cloruros de ácidos.

En un matraz redondo de 100 mL de una boca provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se adicionó 1 eq de un ácido carboxílico y lentamente se adicionó 6 eq de SOCl_2 , se calentó a reflujo. Posteriormente el exceso de SOCl_2 se concentró a presión reducida.

7.6. Metodología para la formación de diazocetonas.

El cloruro de ácido resultante de la metodología 7.5, se disolvió en THF seco y se puso en agitación en un baño de hielo, posteriormente se adicionó una solución etérea de diazometano (3.4 eq), se mantuvo en agitación durante 17 h en un baño de hielo-agua, bajo atmosfera de N₂. El exceso de diazometano se concentró a presión reducida. La diazocetona correspondiente se purificó por CC en un sistema Hex/AcOEt (9:1).

7.6.1. Diazometil-2-piridincetona. (63)

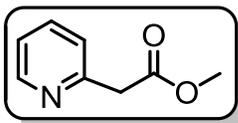


Empleando la metodología 7.5 se preparó una mezcla a partir de 2 g (16.25 mmol) de ácido picolínico (67) y 7.1 mL de SOCl₂, se obtuvo el cloruro de picolinoílo como un sólido morado. Empleando la metodología 7.6 y el cloruro de ácido obtenido de 67 se disolvió en THF seco y se adicionó una solución etérea de diazometano (~140 mL); obteniéndose un residuo aceitoso amarillo, el cual se purificó por CC en sílica gel y como fase móvil una mezcla de Hexano/AcOEt 95:5 - 90:10, obteniéndose 0.625 g de la diazocetona 63 como un aceite amarillo y un rendimiento del 30%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 6.74 (s, 1H), 7.50 (dd, *J*= 4.8, 7.6 Hz, 1H), 7.89 (dd, *J* = 7.6, 8 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 8.59 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H).

7.7. Metodología para la transposición de Wolff.

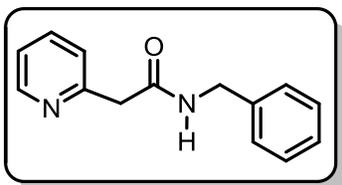
En un matraz redondo de 25 mL de dos bocas provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se disolvió 1 eq de la diazocetona correspondiente en metanol seco. A esta solución se adicionó una mezcla de benzoato de plata (0.5 eq) disuelta en trietilamina, se puso en agitación y en calentamiento a reflujo. Posteriormente se llevó a pH ácido con HCl 6 M, se extrajo con H₂O/AcOEt. La fase acuosa se llevó a pH básico con una solución de NaHCO₃ y nuevamente se extrajo con H₂O/AcOEt. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró el crudo de reacción.

7.7.1. Metil-2-piridinacetato. (74)



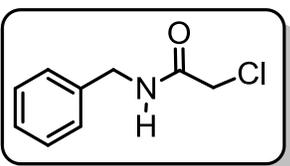
De acuerdo a la metodología 7.7 se preparó una mezcla de 0.07 g (0.48 mmol) de la diazocetona **73**, en 3 mL de MeOH; una solución de benzoato de plata (**69**) disuelta en Et₃N: 0.055 g de **69** (0.24 mmol)/0.5 mL (3.59 mmol). Se calentó a reflujo por 45 min y se adicionó nuevamente una solución de benzoato de plata en Et₃N y se continuó el reflujo durante 45 min más, obteniéndose un residuo aceitoso café, el cual se purificó por CC utilizando como fase móvil una mezcla de Hexano/AcOEt 80:20 a 70:30, obteniéndose 0.128 g de un aceite amarillo y un rendimiento del 18%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.73 (s, 3H), 3.87 (s, 2H), 7.18-8.59 (ma, 4H).

7.7.2. N-Bencil-2-(piridin-2-il)acetamida. (35)



De acuerdo a la metodología 7.4 se preparó una mezcla de 0.03 g (0.19 mmol) del éster **74**, 0.247 g (1.79 mmol) de K₂CO₃, 1.5 mL de MeOH anhidro y 0.08 mL (2.38 mmol) de **50**. La mezcla se dejó en agitación por 19 h. Posteriormente se llevó a pH 2 con HCl 6 M, se extrajo con H₂O/AcOEt la fase orgánica se llevó a pH básico con una solución saturada de NaHCO₃ y nuevamente se extrajo con H₂O/AcOEt, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró para obtener un aceite amarillo como crudo de reacción, el cual se purificó por CC de sílica gel usando como fase móvil una mezcla de AcOEt/Hexano 9:1; obteniéndose 0.044 g de un sólido blanco con un p.f. de 62 - 64 °C y un rendimiento del 98%. IR (disolución, cm⁻¹): 1537.17 (st, NH), 1664.75 (st, C=O), 3040.66 (st, CH), (st, NH). RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.79 (s, 2H), 4.49 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 7.67 - 7.72 (ma, 8H), 7.63 - 7.72 (m, 1H), 8.53 (m, 1H). EMIE m/z(%): 226 M⁺ (32), 120 [M-106]⁺ (4), 106 [M-120]⁺ (27), 93 [M-133]⁺ (100), 91 [M-135]⁺ (25), 65 [M-161]⁺ (10).

7.7.3. N-Bencil-2-cloroacetamida. (37)

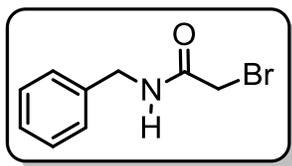


En un matraz redondo de 25 mL de dos bocas provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se preparó una mezcla de 0.386 g (2.79 mmol) de K₂CO₃, 4 mL de acetonitrilo, 0.24 mL de **50**, se puso

en agitación en un baño de hielo y en atmosfera de nitrógeno. Lentamente se adicionó 0.18 ml (2.24 mmol) de cloruro de cloroacetilo **56**. Posteriormente se calentó a reflujo durante 2 h. Se concentró el disolvente a presión reducida, se adicionó agua destilada y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró, obteniéndose un sólido blanco que se purificó por recristalización en Hexano/CH₂Cl₂. Se obtuvieron 0.324 g de un sólido blanco muy fino con p.f. de 88-90 °C y un rendimiento del 95%.

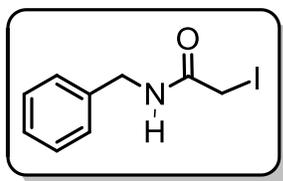
RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 4.10 (s, 2H), 4.51 (d, *J* = 5.8 Hz 2H), 7.33 - 7.31 (ma, 5H), 6.88 (sa, NH).

7.7.4. *N*-Bencil-2-bromoacetamida. (**38**)



En un matraz redondo de 25 mL de dos bocas provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se preparó una solución con 3 mL de THF anhidro, 0.24 ml (1.87 mmol) de **50**, 0.32 mL (2.24 mmol) de Et₃N. La mezcla se colocó en agitación en un baño de hielo a 0 °C, mientras se adicionó gota a gota una solución de bromuro de bromoacetilo **57**, 0.18 mL (2.053 mmol) en 3 mL de THF. Se mantuvo en agitación a temperatura ambiente y en atmósfera de N₂ durante 1.5 h. Posteriormente, se adicionó agua destilada y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. Se purificó por recristalización en Hexano/CH₂Cl₂, obteniéndose 0.409 g de un sólido blanco con p.f. de 102 - 104 °C y un rendimiento del 96%. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.92 (s, 2H), 4.49 (d, *J* = 5.8 Hz 2H), 7.33 - 7.30 (ma, 5H), 6.82 (sa, NH).

7.7.5. *N*-Bencil-2-yodoacetamida. (**39**)

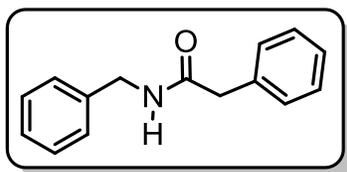


En un matraz redondo de 25 mL de una boca provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se preparó una mezcla con 0.100 g (0.44 mmol) del compuesto bromado **38**, 0.328 g (2.19 mmol) de NaI, en 3 mL de acetona. La mezcla de reacción se puso en agitación a reflujo, durante 40 min. Posteriormente, se adicionó agua destilada y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró, obteniéndose un sólido

amarillo. El cual se purificó por recristalización en Hexano/CH₂Cl₂, obteniéndose 84 mg de cristales amarillos con p.f. de 118-120 °C y un rendimiento del 70 %.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.72 (s, 2H), 4.46 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 7.32 - 7.29 (ma, 5H), 6.49 (sa, NH).

7.7.6. *N*-Bencil-2-(fenil-2-iacetamida. (36)

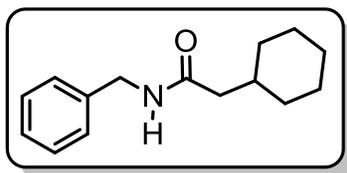


Se preparó el cloruro de ácido **79** de acuerdo a la metodología **7.5**, a partir de una mezcla de 0.2 g (1.47 mmol) de ácido fenilacético (**75**) y 5 mL de CH₂Cl₂, 0.12 mL (1.62 mmol) de SOCl₂, se calentó a reflujo durante 3 h bajo atmosfera de N₂.

En seguida se adicionó 3 mL de CH₂Cl₂ y se agregó a una mezcla de 2.4 mL de CH₂Cl₂, 0.033 g (0.27 mmol) de DMAP, 0.115 ml (0.14 mmol) de Piridina y 0.15 mL (1.36 mmol) de **50**. Esta mezcla se mantuvo en agitación a 0 °C y una vez realizada la adición se puso en agitación a temperatura ambiente por 3 h. La mezcla de reacción se aciduló con HCl 1 M y posteriormente se neutralizó con una solución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂/H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró obteniéndose un sólido amarillo, que se purificó por recristalización en CH₂Cl₂/Hexano, obteniéndose 0.081 g de un sólido blanco con p.f. de 119 - 120 °C y un rendimiento del 19%.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 3.62 (s, 2H), 4.41 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 5.73 (sa, NH), 7.37 - 7.15 (ma, 10H).

7.7.7. *N*-Bencil-2-ciclohexilacetamida. (40)



El compuesto **40** se obtuvo empleando la metodología 7.5 para la obtención del cloruro de ácido **81**, a partir de una mezcla de 0.2 g (1.41 mmol) de ácido ciclohexilacético (**80**), 0.32 mL (4.37 mmol) de SOCl₂, se agitó a 0 °C durante 17 h. En seguida

81 se disolvió con 2 mL de CH₂Cl₂ y se agregó a una mezcla de 2 mL de CH₂Cl₂, 0.17 mL (1.26 mmol) de Et₃N y 0.043 mL (0.39 mmol) de **50**. La mezcla de reacción se puso en agitación a temperatura ambiente por 3 h, se aciduló con HCl 1 M y posteriormente se neutralizó con una

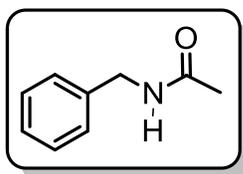
solución de NaHCO_3 , se extrajo con $\text{AcOEt}/\text{H}_2\text{O}$ la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró obteniéndose un sólido blanco que se purificó por cromatografía en columna en sílica gel, utilizando un sistema de elusión Hexano/ AcOEt , obteniéndose 0.112 g de un sólido blanco con p.f. de 129 - 131 °C y un rendimiento del 41%.

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 0.90 (m, 5H), 1.60 - 1.80 (m, 6H), 2.06 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 4.45 (d, $J = 5.6$ Hz 2H), 5.74 (sa, NH), 7.26 - 7.33 (ma, 5H).

7.8. Metodología para la preparación de amidas alifáticas.

En un matraz redondo de 25 mL de dos bocas provisto de un agitador magnético y un refrigerante, se preparó una mezcla con 4 mL de CH_2Cl_2 , 1 eq del anhídrido correspondiente, se puso en agitación en un baño de hielo a 0 °C y lentamente se adicionó 1.1 eq de bencilamina (**50**). Posteriormente se retiró el sistema de reacción del baño de hielo y se calentó a reflujo. La mezcla de reacción se trató con una solución de HCl 1 M y se extrajo con $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$, La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró.

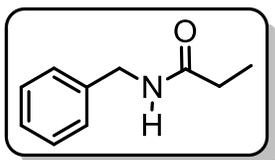
7.8.1. *N*-Bencilacetamida. (**41**)



De acuerdo a la metodología **7.8**, se utilizaron 0.18 mL (1.96 mmol) de anhídrido acético (**82**), 0.2 ml (2.15 mmol) de **50**, se calentó a reflujo durante 2 h. El crudo de reacción presentó una apariencia de un sólido amorfo. Se purificó por recristalización en Éter/Hexano, obteniéndose 0.254 g de sólido blanco con p.f. de 57 - 58 °C y un rendimiento del 87%.

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ /ppm: 2.01 (s, 3H), 4.44 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 5.87 (sa, NH), 7.26 - 7.38 (ma, 5H).

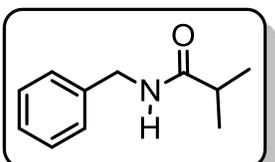
7.8.2. *N*-Bencilpropionamida. (42)



La amida **42** se preparó siguiendo la metodología **7.8**; a partir de 0.2 mL (1.54 mmol) de anhídrido propiónico (**83**), 0.19 mL (1.69 mmol) de **50**, se calentó a reflujo durante 16 h. Se purificó por cromatografía en columna en sílica gel en un sistema de elusión de Hexano/AcOEt (50:50), obteniéndose 0.208 g de un sólido blanco con p.f. de 40-42 °C y un rendimiento del 83%.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 1.18 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H), 2.30 (c, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.45 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 5.87 (s, NH), 7.26 - 7.38 (ma, 5H).

7.8.3. *N*-Bencil-2-metilpropionamida. (43)



La amida **43** se preparó empleando la metodología **7.8**; a partir de 0.21 mL (1.26 mmol) de anhídrido isobutírico (**84**), 0.15 mL (1.39 mmol) de **50**. Se calentó a reflujo durante 3 h. Se purificó por recristalización de la misma manera que la amida **41**, de esta manera se pudo obtener 0.217 g de un sólido blanco con p.f. de 87 - 89 °C y un rendimiento del 97%.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ/ppm: 1.20 (d, *J* = 7 Hz, 6H), 2.49 (st, *J* = 7 Hz, 1H), 4.45 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 5.81 (s, NH), 7.39 - 7.25 (ma, 5H).