



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS:

Síntesis de δ -lactamas
diazabíclicas

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

JESÚS ANTONIO TORRES RAMOS



MÉXICO, D. F.

AÑO: 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Cecilio Álvarez Toledano

Vocal: Dra. Yolanda Caballero Arroyo

Secretario: Q. Reina García Sánchez

1er. Suplente: M. en C. Norma Castillo Rangel

2° Suplente: Dr. Juan Manuel Germán Acacio

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ DENTRO DE LAS INSTALACIONES DEL INSTITUTO DE QUÍMICA DE LA UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Cecilio Álvarez Toledano

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Alejandro Rivera Hernández

SUSTENTANTE:

Jesús Antonio Torres Ramos

Contenido

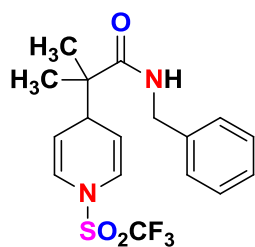
Lista de abreviatura	iii
Nuevos compuestos sintetizados	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Piridina	3
2.1.1 Generalidades.....	3
2.1.2 Síntesis de piridinas	4
2.1.2.1 Síntesis de Hantzsch	4
2.1.2.2 Síntesis de piridinas a partir de compuestos 1,5-dicarbonílicos.....	5
2.1.3 Reactividad del anillo de piridina.....	6
2.2 Compuestos organosililados	11
2.2.1 Generalidades.....	11
2.2.2 Síntesis de acetales de bis(trimetilsilil)cetena	11
2.2.3 Reactividad de los compuestos organosililados.....	12
2.2.3.1 Reacción de Mukaiyama	12
2.2.3.2 Formación de anhídridos 3-hidroxi-maléicos.....	13
2.2.3.3 Síntesis de β -aminoácidos	13
2.2.3.4 Síntesis de anhídridos.....	14
2.2.3.5 Síntesis de lactonas	14
2.3 Amidas	16
2.3.1 Generalidades.....	16
2.3.2 Síntesis de amidas.....	17
2.3.2.1 A partir de nitrilos	17
2.3.2.2 Reacción de Ritter.....	17
2.3.2.3 Rearreglo de Claisen	18
2.3.3 Reactividad de amidas	18
2.3.3.1 Hidrólisis y alcoholólisis	18
2.3.3.2 Deshidratación de amidas.....	19
2.3.3.3 Reducción	19

2.4 Lactamas.....	20
2.4.1 Generalidades.....	20
2.4.2 Síntesis de lactamas.....	21
2.4.2.1 Rearreglo de Beckmann.....	21
2.4.2.2 Síntesis de iodolactamas.....	22
2.4.2.3 Síntesis de lactamas a partir de ácidos carboxílicos insaturados.....	22
3. HIPÓTESIS.....	24
4. OBJETIVOS.....	25
4.1 Objetivo general.....	25
4.2 Objetivos particulares.....	25
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	26
5.1 Síntesis de materias primas: preparación del ácido dihidropiridinilpropanoico a partir de piridina y un acetal de cetena.....	26
5.2 Síntesis de dihidropiridínamidas.....	27
5.3 Síntesis de las δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1].....	34
5.4 Pruebas biológicas: Actividad citotóxica.....	42
6. CONCLUSIONES.....	48
7. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	49
7.1 Equipos, reactivos y disolventes.....	49
7.2 Procedimiento general para la síntesis de dihidropiridinpropanamidas.....	50
7.3 Procedimiento general de para preparar δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1].....	53
7.4 Pruebas biológicas. Ensayo preliminar de citotoxicidad.....	56
7.4.1 Preparación de las líneas celulares.....	56
7.4.2 Conteo de células viables.....	57
7.4.3 Ensayo de actividad citotóxica.....	57

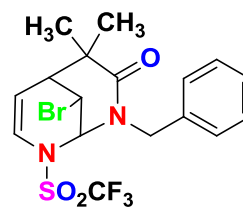
Lista de abreviatura

anh. anhidro	q señal quintuple
c señal cuádruple	RMN resonancia magnética nuclear
ccf cromatografía en capa fina	s señal simple
d señal doble	st estiramiento de enlace
DART <i>Direct Analysis in Real Time</i>	SNC sistema nervioso central
dd señal doble de doble	t señal triple
DMF dimetilformamida	T. A. temperatura ambiente
DMSO dimetilsulfóxido	TBAB bromuro de tetrabutilamonio
dt señal doble de triple	Tf triflilo (-SO ₂ CF ₃)
EM espectrometría de masas	TMSCI cloruro de trimetilsilano
Et grupo etilo	TMSBr bromuro de trimetilsilano
HSQC <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>	α posición en una molécula respecto a un grupo carbonilo/ posición en el anillo de piridina respecto al heteroátomo.
Hz Hertz	α' posición en una amida respecto al átomo de nitrógeno del grupo amida
Int. rel. Intensidad relativa	β posición en una molécula respecto a un grupo carbonilo/ posición en el anillo de piridina respecto al heteroátomo.
IR espectroscopía de infrarrojo	β' posición en una amida respecto al átomo de nitrógeno del grupo amida
³ J _{H-H} constante de acoplamiento H-H a tres enlaces	γ posición de una molécula respecto a un carbonilo/ posición en el anillo de piridina respecto al heteroátomo.
J _{C-F} constante de acoplamiento C-F	δ posición de una molécula respecto a un grupo carbonilo/ desplazamiento químico en RMN/ flexión de enlace en IR/ carga parcial
LDA diisopropilamido de litio	μM micromolar
m señal múltiple	ν número de onda
Me grupo metilo	
MHz megaHertz	
m/z relación masa carga	
NADH nicotinamida adenina dinucleótido	
NBS N-bromosuccinimida	
p. f. punto de fusión	
Ph grupo fenilo	
ppm partes por millón	
Py piridina	

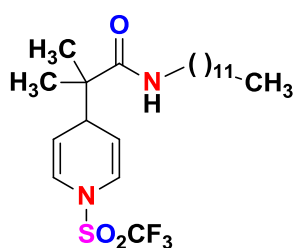
Nuevos compuestos sintetizados



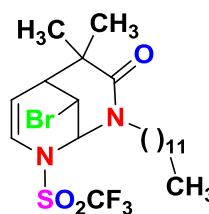
5a



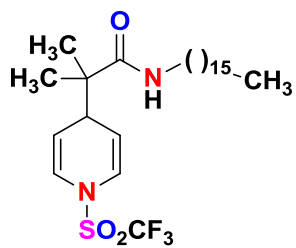
6a



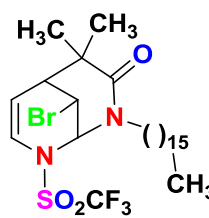
5b



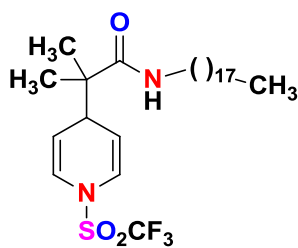
6b



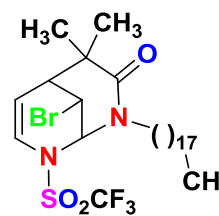
5c



6c



5d



6d

1. INTRODUCCIÓN

Las amidas son compuestos de gran importancia biológica y química, presentes en proteínas, alcaloides derivados de aminoácidos y compuestos con actividad farmacológica como el taxol, ampliamente utilizado como agente quimioterapéutico.¹ Por su parte, las lactamas son amidas de estructura cíclica. En la naturaleza es posible hallarlas en anillos de distintos tamaños, por ejemplo, los anillos de cuatro miembros o β -lactamas, presentes en los antibióticos β -lactámicos; o los anillos de seis miembros, como la matrina –un alcaloide con propiedades antitumorales-.²

Al poseer estructuras análogas con las lactonas, es posible modificar algunos de los métodos de obtención de éstas para producir lactamas. Tal es el caso de la anillación mediada por bromo³, que se ha utilizado eficientemente en nuestro grupo de trabajo para la obtención de lactonas.⁴

Por su parte, la piridina es un compuesto aza-heterocíclico, que destaca por su alta incidencia en la estructura de sustancias biológicamente relevantes, ya sea por su actividad farmacológica o su función metabólica (como en la piridoxina –vitamina B6-). También es posible hallar derivados de tetra y dihidropiridina (como en la nifedipina, un antihipertensivo).

La reactividad del anillo piridínico ha sido estudiada ampliamente. En el caso particular de la activación del sistema aromático, a través del átomo de nitrógeno, se favorece la mono- y la doble adición de un amplio espectro de nucleófilos. Bajo esta línea de investigación, en nuestro grupo de trabajo existe un enfoque hacia el estudio de aza-compuestos aromáticos *N*-activados mediante trifluorometansulfonación. Así mismo, se ha investigado exitosamente sobre el uso de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena como nucleófilos en reacciones de adición, siendo éstos

¹ Horwitz SB.; *Ann. Oncol.* **1994**, 5, Suppl. 6, S3-6

² Xiaolei P., Li W. Dirk G., Douglas H.; *Fitoterapia*, **2014**, 92, 206-210

³ Ranganathan S., Muraleedharan KM., Vaish NK., Jayaraman N., *Tetrahedron*, **2004**, 60, 5273-5308

⁴ a) Gualo S., Nadia; “*Síntesis de nuevas lactonas policíclicas derivadas de trifluorometansulfonato de piridinio*”, Tesis de Doctorado, **2011**, UNAM. b) Rivera H. Alejandro; “*Piridinas activadas como bloque constructor de lactonas*”, Tesis de Doctorado, **2015**, UNAM. c) López J. Isabel S.; “*Reactividad de imidazoles activados frente a acetales de bis-(trimetilsilil) cetena*”, Tesis de Licenciatura, **2015**, UNAM.

poseedores de una capacidad dinucleófila, que bajo las condiciones adecuadas, forman nuevos enlaces C-C y C-O. De esta manera es como se han obtenido una gran variedad de ácidos carboxílicos y lactonas bicíclicas provistas de actividad citotóxica.

En este trabajo se presenta un modelo sencillo para la obtención de una nueva familia de (1,4-dihidropiridin-4-il)propanamidas *N*-sustituidas con grupos aromáticos y alifáticos (de cadenas alquílicas largas), derivadas de un ácido carboxílico previamente reportado.⁵ También se muestra que la subsecuente bromolactamización de estas amidas lleva a la formación de las respectivas δ -bromolactamas bicíclicas. Finalmente, se llevó a cabo un ensayo biológico para evaluar la capacidad de los compuestos preparados como potenciales agentes citotóxicos frente a seis líneas celulares de cáncer humano (cáncer del SNC, adenocarcinoma de próstata, leucemia mieloblástica crónica, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma de glándulas mamarias y adenocarcinoma de pulmón), obteniéndose resultados muy interesantes con respecto a su actividad biológica.

⁵ Gualo S., Nadia; “*Síntesis de lactonas bicíclicas vía Trifluorometansulfonato 1-[(trifluorometil)sulfonyl]piridinio y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”, Tesis de Maestría, **2007**, UNAM.

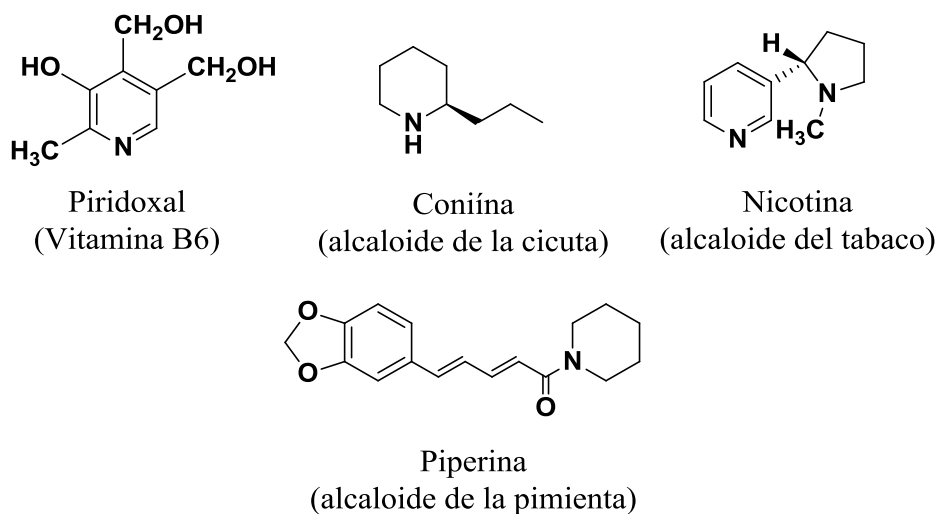
2. ANTECEDENTES

2.1 Piridina

2.1.1 Generalidades

La piridina es un compuesto heterocíclico aromático que, si bien no se encuentra como tal en la naturaleza, es posible hallar numerosas estructuras derivadas de ésta. Algunas de ellas son de gran importancia metabólica (como las coenzimas piridoxina y la NADH), mientras que otras pertenecen al grupo de los alcaloides derivados de las plantas (como la piperina que se aísla de la pimienta negra o *Piper nigrum*).

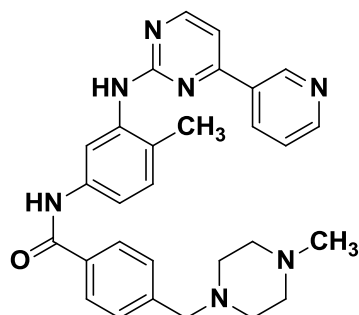
Esquema 1.



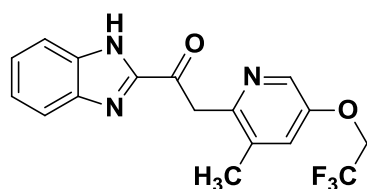
Esquema 1. Compuestos naturales que presentan en su estructura al anillo de piridina.

Entre los agentes farmacológicos, existen muchos compuestos que en cuya estructura se encuentra al anillo de piridina, como es el caso de los inhibidores de la bomba de protones que reducen la producción de ácido por el estómago (omeprazol,

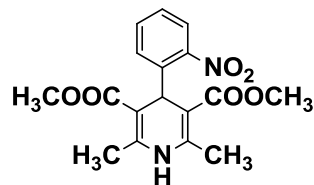
lanzoprazol), fármacos para el tratamiento de diabetes (ploglitazona), así como el imatinib que se utiliza para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.⁶ **Esquema 2.**



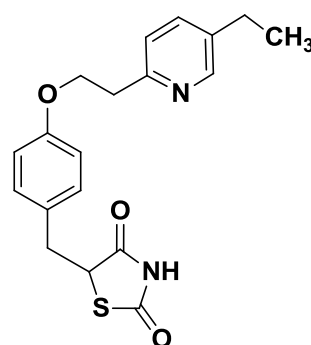
Imatinib
(anticancerígeno)



Lanzoprazol
(antiácido)



Nifedipina
(antihipertensivo)



Ploglitazona
(antidiabético)

Esquema 2. Fármacos que en su estructura incluyen el anillo de piridina.

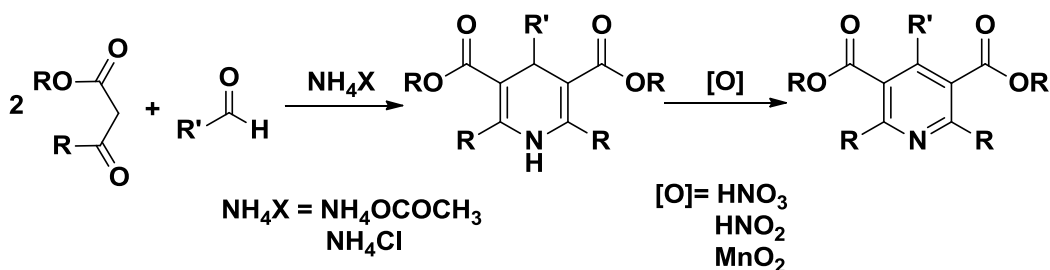
2.1.2 Síntesis de piridinas

2.1.2.1 Síntesis de Hantzsch

En este método se genera una 1,4-dihidropiridina sustituida a partir de dos equivalentes de un compuesto 1,3-dicarbonílico, un equivalente de un aldehído y un precursor de amoniaco (por ejemplo: acetato de amonio, cloruro de amonio). Es posible obtener la

⁶ Quin L.D., Tyrell J.A.; “*Fundamentals of heterocyclic chemistry: Importance in nature and the synthesis of pharmaceuticals*”, Wiley, Singapur, 2010, p. 204,246.

respectiva piridina a través un proceso de oxidación utilizando HNO_3 , HNO_2 , cerio (IV), MnO_2 , entre otros.⁷ **Esquema 3.**



Esquema 3. Síntesis de Hantzsch. Reacción general.

La reacción posee alta economía atómica ya que todos los reactivos forman parte del producto y únicamente se genera agua como producto secundario.

2.1.2.2 Síntesis de piridinas a partir de compuestos 1,5-dicarbonílicos.⁸

Las 1,4-dihidropiridinas también pueden obtenerse a partir de compuestos 1,5-dicarbonílicos y un precursor de amoniaco. Sin embargo, si en lugar de amoniaco se utiliza hidroxilamina (síntesis de Knoevenagel)⁹ o *N,N*-dimetilhidrazina, se obtiene directamente una piridina. **Esquema 4.**

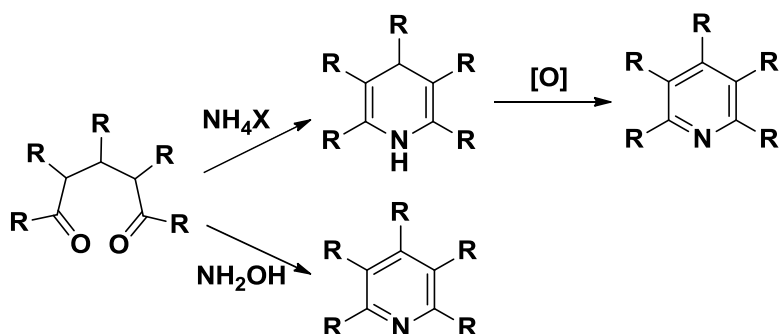
Por otra parte, se puede acceder a los compuestos 1,5-dicarbonílicos vía una reacción de adición tipo Michael de un enolato a una enona, por ozonólisis de un precursor de ciclopenteno, o por reacción de sililenoléteres con alcoholes 3-metoxialílicos.¹⁰

⁷ Joule J. A., Mills K.; *"Heterocyclic chemistry"*, 4a Ed, Blackwell science, Oxford UK, **2000**, p.104-105.

⁸ Joule J. A., Mills K.; *"Heterocyclic chemistry"*, 4a Ed, Blackwell science, Oxford UK, **2000**, p.103.

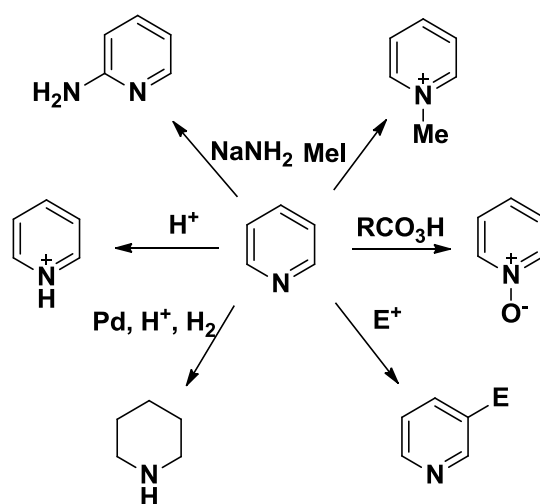
⁹ Knoevenagel E.; *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1894**, 281, 25.

¹⁰ Duhamel P., Hennequin L., Poirier J. M., Travel G., Vttero C.; *Tetrahedron*, **1986**, 42, 4777.



Esquema 4. Síntesis de piridinas usando compuestos 1,5-dicarbonílicos.

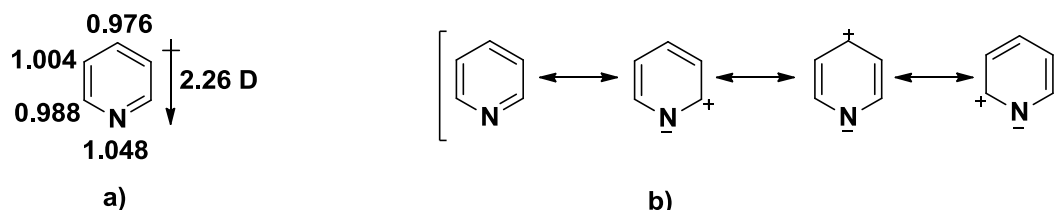
2.1.3 Reactividad del anillo de piridina



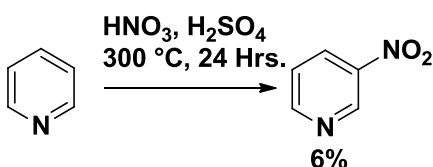
Esquema 5. Reactividad típica de la piridina y sus derivados.

El anillo de piridina presenta semejanza estructural con el benceno. Sin embargo, la presencia de un átomo de N le atribuye características particulares en cuanto a reactividad (**esquema 5**). La piridina posee un momento dipolar en su estructura, en donde la polarización electrónica se encuentra dirigida hacia el átomo de nitrógeno (**esquema 6**), lo que genera un sistema aromático desactivado.¹¹

¹¹ Eicher T., Hauptmann S., Speicher A.; *"The chemistry of heterocycles: Structure, reactions, synthesis and applications"*, Wiley, Alemania, **2012**, p. 345-347, b) Paquette L. A.; *"Principles of modern heterocyclic chemistry"*, W. A. Benjamin. USA, **1968**, p 222-224.



Como consecuencia de lo anterior, la reacción de $S_{E}Ar$ sobre la piridina se ve desfavorecida en comparación con el benceno. En los casos en los que ocurre, la sustitución se da exclusivamente en la posición β , requiriendo usualmente condiciones drásticas para llevarse a cabo (**esquema 7**).¹²



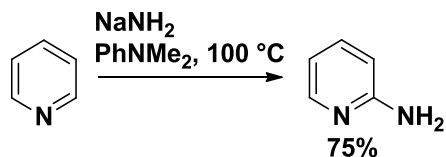
Esquema 7. Nitración de la piridina con HNO_3/H_2SO_4 .

También, debido a la desactivación del sistema aromático, la $S_{N}Ar$ sobre el anillo de la piridina se encuentra favorecida. Sin embargo, en el último paso de esta sustitución sobre la piridina, está involucrada la pérdida de un hidruro, por lo que generalmente es necesaria la presencia de algún agente oxidante que funja como su aceptor.

Uno de los ejemplos clásicos de este tipo de reacciones, es la aminación en la posición α del anillo de piridina, conocida como reacción de Chichibabin¹³ (**esquema 8**), en donde el anillo es atacado nucleofílicamente con amiduro de sodio y se libera H_2 .

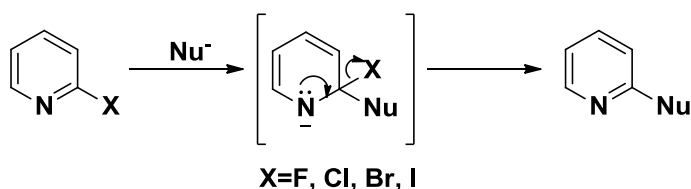
¹² a) Quin L.D., Tyrell J.A.; “*Fundamentals of heterocyclic chemistry: Importance in nature and the synthesis of pharmaceuticals*”, Wiley, Singapur, **2010**, p. 204,246, b) Den Hertog H. J., Overhoff J.; *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1930**, 49, 552.

¹³ Chichibabin A. E., Zeide O. A.; *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, **1914**, 46, 1216.



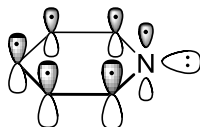
Esquema 8. Reacción de Chichibabin.

Por otra parte, cuando en las posiciones α ó γ existen sustituyentes que son buenos grupos salientes, como los halógenos, el ataque nucleofílico sigue un mecanismo de adición-eliminación, siendo las piridinas γ -sustituidas más reactivas que las α -sustituidas.¹⁴ **Esquema 9.**



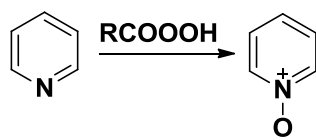
Esquema 9. Reacción de sustitución nucleofílica sobre α -halopiridinas.

El átomo de nitrógeno en la piridina posee hibridación sp^2 , y mantiene un par electrónico libre en un orbital híbrido que no participa en el sistema aromático (**esquema 10**); ésta característica provoca que ocurran reacciones de adición electrofílica sobre el átomo de nitrógeno en presencia de un ácido de Lewis, un ácido de Brönsted o alguna especie electrófila, formando las correspondientes sales de piridinio (**esquema 11**).



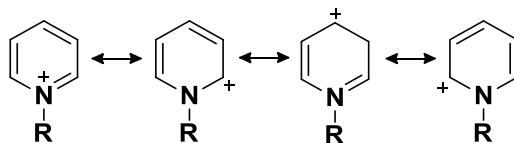
Esquema 10. Enlaces π y par electrónico no enlazado del N en la piridina.

¹⁴ Joule J. A., Mills K.; “*Heterocyclic chemistry*”, 4a Ed, Blackwell science, Oxford UK, 2000, p.79.



Esquema 11. Formación de *N*-óxido de piridina.

Los aspectos de la reactividad general de las piridinas pueden verse favorecidos a través de su activación sobre el átomo de nitrógeno, para generar sales o iluros de piridinio. Los aductos resultantes de la *N*-activación poseen mayor carácter electrófilo que las especies correspondientes sin activar, debido a que a través de las estructuras resonantes es posible deslocalizar una carga positiva formal sobre la estructura del anillo piridínico (**esquema 12**).



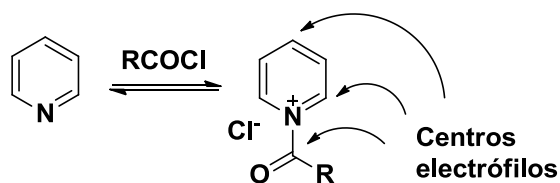
Esquema 12. Estructuras resonantes del piridinio.

En presencia de cloruros o cloroformatos de acilo, la piridina coexiste en un equilibrio con la especie *N*-acilpiridinio, la cual posee tres sitios electrófilos: los sitios α y γ , así como el carbono carbonílico¹⁵ (**esquema 13**). Dependiendo del nucleófilo empleado, puede favorecerse la regioselectividad de la adición nucleofílica, por ejemplo, se ha observado que cuando se utilizan cupratos como nucleófilos¹⁶, la adición ocurre preferentemente en la posición γ , mientras que el uso de nucleófilos organometálicos, como el reactivo de Grignard de fenilo¹⁷, prefieren su adición en α .

¹⁵ Commins D. L., Abdullah A. H.; *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 4315.

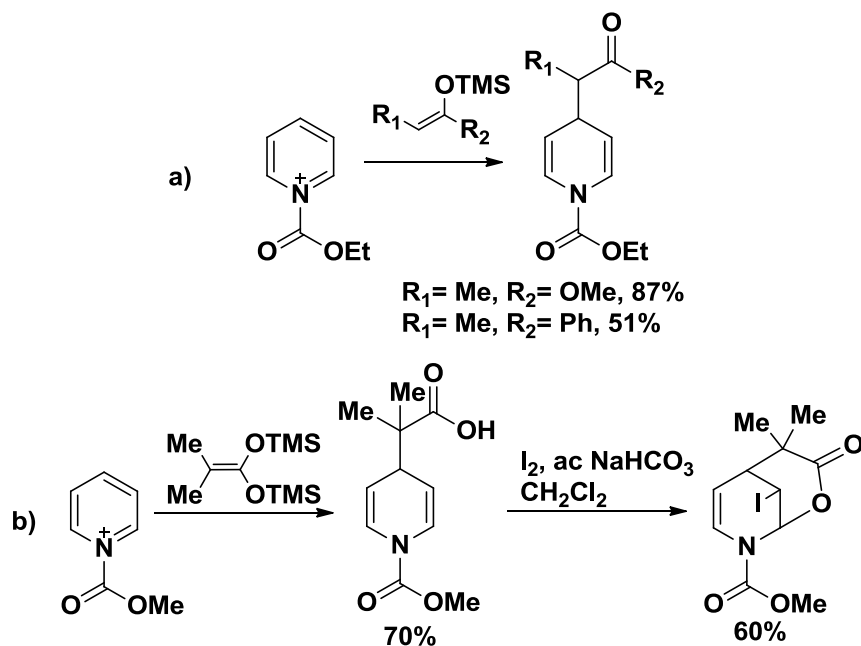
¹⁶ a) Piers E., Soucy M.; *Canad. J. Chem.*, **1974**, 52, 3563, b) Akiba K., Iseky Y., Wada M., *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 429., c) Commins D. L., Mantlo N. B.; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 3683., d) Commins D. L., Smith, R. K., Stroud E. D.; *Heterocycles*, **1984**, 22, 339., e) Shiao M. J., Shih L. H., Chia W. L., Chau T. Y.; *Heterocycles*, **1991**, 32, 2111.

¹⁷ Lyle R. E., Marshall J. L., Commins D. L.; *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 1015.



Esquema 13. Equilibrio de la piridina con su correspondiente cloruro de *N*-acilpiridinio y centros electrófilos.

Los éteres de sililenol¹⁸ y acetales de silicetena¹⁹ son nucleófilos débiles que se adicionan preferentemente a la posición γ de la piridina activada con cloroformiatos de alquilo. Las dihidropiridinas obtenidas pueden ser modificadas y funcionalizadas, por ejemplo, con un ataque intramolecular que da lugar a la formación de un segundo anillo heterocíclico. **Esquema 14.**



Esquema 14. Adiciones regioselectivas en posición γ de a) sililenoles, b) acetales de silicetena, seguida de su yodolactonización.

Otro agente activante del átomo de nitrógeno que se ha utilizado ampliamente, por nuestro grupo de trabajo, es el anhídrido tríflico, el cual ofrece la ventaja de una mejor

¹⁸ Akiba K., Nishihara Y., Wada M.; *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 5269.

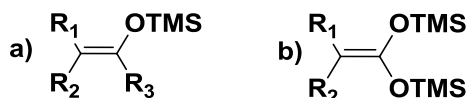
¹⁹ a) Xu Y., Rudler H., Denise B., Parlier A., Chaquin P., Herson P; *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 4541, b) Rudler H., Denise B., Xu Y., Parlier A., Vaisserman J.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3724.

estabilización del sistema π , en comparación con los grupos acilo o aciloxialquilo, por lo que genera intermediarios 1,4-dihidropiridínicos más estables.

2.2 Compuestos organosililados

2.2.1 Generalidades

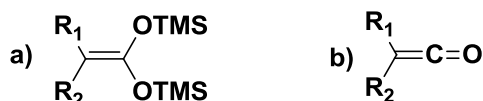
Entre los compuestos orgánicos más representativos que contienen silicio están los sililenoléteres y los acetales de sililcetena (**esquema 15**) que se han estudiado ampliamente por su función como nucleófilos en reacciones de adición nucleofílica a compuestos carbonílicos, por ejemplo en la reacción de Mukaiyama.



Esquema 15. a) sililenoléteres, b) acetales de sililcetena.

2.2.2 Síntesis de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

En 1972, Ainsworth²⁰ describió por primera vez la síntesis de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena que, como su nombre lo indica, estructuralmente pueden considerarse equivalentes a un acetal de cetena. **Esquema 16**.

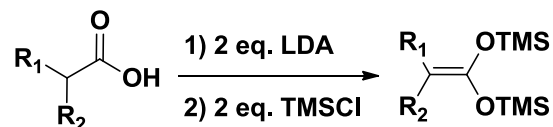


Esquema 16. a) acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena, b) una cetena.

Existen dos vías para su preparación, en las cuales se parte del ácido carboxílico correspondiente que posee al menos un hidrógeno en la posición α . En uno de los

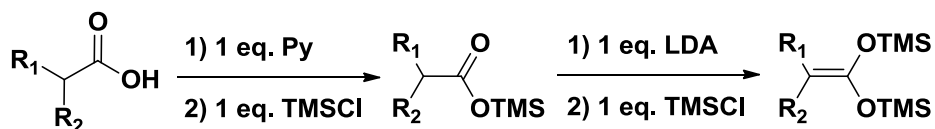
²⁰ Ainsworth C., Kuo Y. N.; *J. Organomet. Chem.*, **1972**, 46, 73-87.

métodos, el ácido se hace reaccionar con dos equivalentes de LDA -para formar un dianión-, seguida de dos equivalentes de cloruro de trimetilsilano. **Esquema 17.**



Esquema 17. Obtención de un acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena.

En el otro método, en primer lugar se forma el anión del ácido carboxílico con piridina, seguida de la adición de TMSCl para obtener el correspondiente éster de trimetilsililo. Posteriormente, se hace reaccionar con LDA y TMSCl para llegar finalmente al acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena. **Esquema 18.**



Esquema 18. Obtención de un acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena.

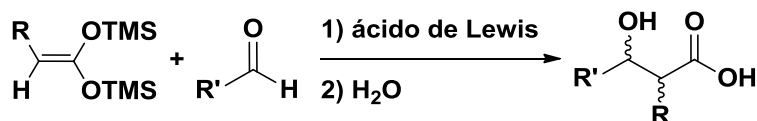
2.2.3 Reactividad de los compuestos organosililados

2.2.3.1 Reacción de Mukaiyama

Los compuestos de organosilicio son más comúnmente empleados en reacciones de tipo condensación aldólica, conocida como reacción de Mukaiyama²¹, en la que se pueden generar nuevos enlaces carbono-carbono y nuevos centros estereogénicos.

Los productos de esta reacción son β-hidroxiácidos, que se forman a través de la adición del compuesto organosililado al grupo carbonilo de un aldehído, en presencia de un ácido de Lewis. **Esquema 19.**

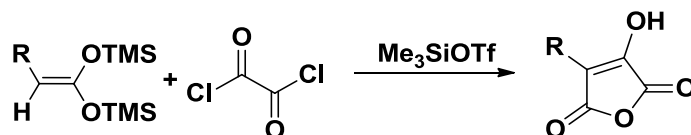
²¹ a) Mukaiyama T., Narasaka K., Banno K.; *Chemistry Lett.*, **1973**, 1011-1014., b) Mukaiyama T., Banno K. Narasaka K.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 7503-7509., c) Attanasi O., Gianfranco F., Filippone P., Lillini S., Mantellini F., Spinelle D., Stenta M.; *Adv. Synth. Catal.*, **2007**, 349, 907-915.



Esquema 19. Producción de β-hidroxiácidos por la reacción de Mukaiyama.

2.2.3.2 Formación de anhídridos 3-hidroximaléicos

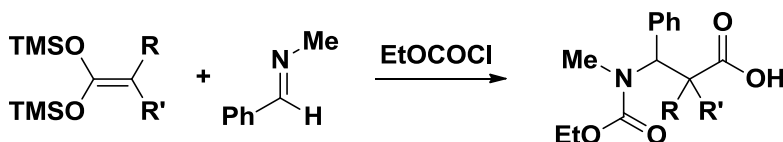
También pueden tener reacciones de ciclación con cloruro de oxalilo, formando anhídridos 3-hidroximaléicos (**esquema 20**) a partir del ataque nucleofílico del acetal de cetena al grupo carbonilo del cloruro de oxalilo utilizando Me₃SiOTf como ácido de Lewis.²²



Esquema 20. Reacción de los acetales de cetena con cloruro de oxalilo.

2.2.3.3 Síntesis de β-aminoácidos

La reacción de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena frente a iones iminio, formados de la interacción entre cloroformiato de etilo y una aldimina, representa una estrategia eficiente para la síntesis de β-aminoácidos (**esquema 21**).²³



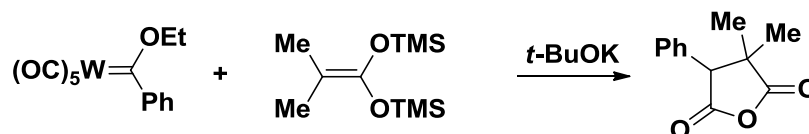
Esquema 21. Obtención de β-aminoácidos a partir de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena.

²² a) Rotzoll S., Ullah E., Görls H., Fischer C., Langer P.; *Tetrahedron*, **2007**, 63, 2647-2656., b) Ullah E., Langer P.; *Synlett*, **2004**, 15, 2782-2784.

²³ Moumné R., Denise B., Parlier A., Lavielle S., Rudler H., Karoyan, P.; *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 8277-8280.

2.2.3.4 Síntesis de anhídridos

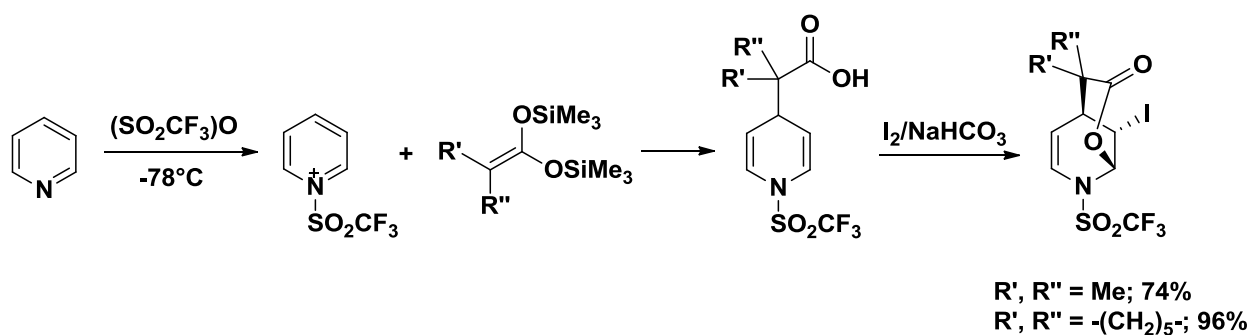
Estos acetales también se adicionan a carbenos tipo Fischer para formar un anhídrido (**esquema 22**). La reacción procede utilizando cantidades equimolares de *t*-BuOK, favoreciendo la formación del correspondiente enolato.²⁴



Esquema 22. Síntesis de anhídridos utilizando acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena.

2.2.3.5 Síntesis de lactonas

En nuestro grupo de trabajo se ha estudiado ampliamente el uso de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena en reacciones de doble adición nucleofílica sobre piridina activada con anhídrido trifluorometansulfónico para la formación de δ -lactonas (**esquema 23**).²⁵



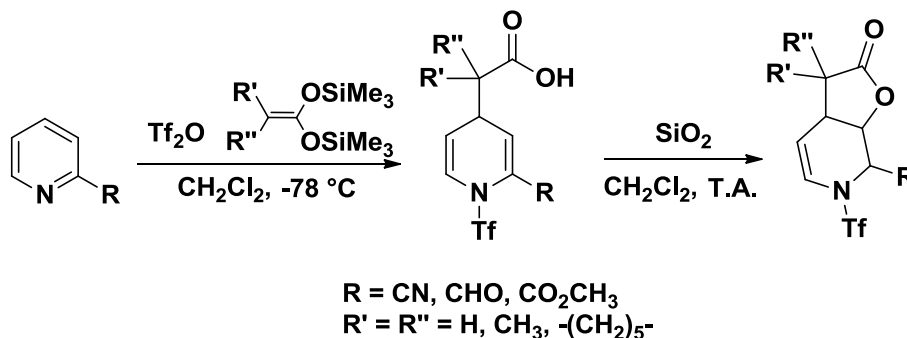
Esquema 23. Síntesis de δ -lactonas utilizando acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena y piridina activada.

La reactividad de piridinas 2-sustituidas con grupos electroattractores se estudió, utilizando las mismas condiciones de reacción para la adición de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena, encontrándose que el ácido carboxílico resultante es lactonizado

²⁴ Rudler H., Parlier A., Álvarez C., Vaisserman J.; *J. Organomet. Chem.*, **2005**, 690, 4087-4089.

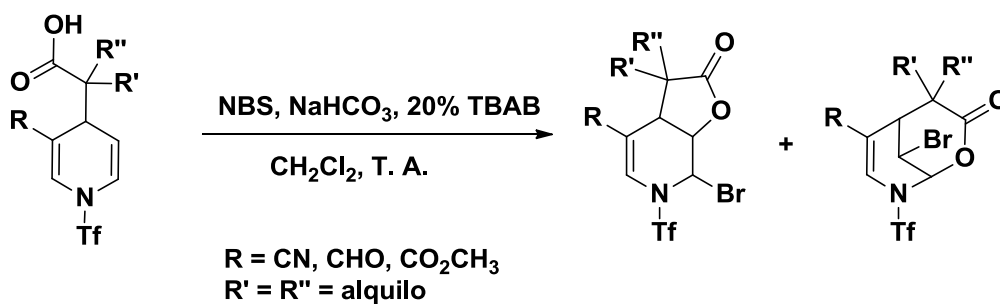
²⁵ a) Gualo-Soberanes N., Ortega-Alfaro M. C., López Cortés J. G., Toscano R. A., Rudler H., Álvarez-Toledano C.; *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 3186., b) Garduño-Alva, Xu Y., Gualo-Soberanes N., López-Cortés J. G., Rudler H., Parlier A., Ortega-Alfaro M. C., Álvarez-Toledano C., Toscano R. A.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 3714-3723.

fácilmente, en presencia de sílica gel, a través de una reacción que sigue un mecanismo de adición tipo Michael (**esquema 24**).²⁶



Esquema 24. Síntesis de γ -lactonas a partir de piridina 2-sustituidas.

Por su parte, las piridinas 3-sustituidas con grupos electroattractores producen los ácidos carboxílicos correspondientes, que al ser anillados con NBS, generan la mezcla de la γ y la δ -bromolactamas (**esquema 25**).



Esquema 25. Síntesis de δ y γ -lactonas a partir de piridina 3-sustituidas.

La misma reactividad se presenta en anillos de pirimidina, pirazina y quinoxalina.²⁷

²⁶ Rivera A., Chans M., Rudler H., López Cortés J. G., Toscano R. A., Álvarez-Toledano C.; *Tetrahedron*, **2014**, 70, 1861-1871.

²⁷ Garduño-Alva A., Ortega-Alfaro M. C., López Cortés J. G., Chávez I., Barroso-Flores J., Toscano R. A., Rudler H., Álvarez-Toledano C.; *C. Can. J. Chem.*, **2012**, 90, 469.

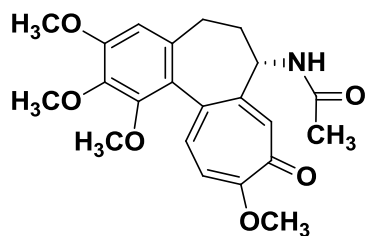
2.3 Amidas

2.3.1 Generalidades

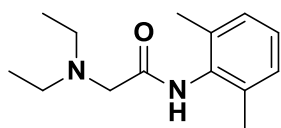
El grupo funcional amida está formado por un átomo de nitrógeno que está unido directamente a un grupo carbonilo. Cuando el átomo nitrógeno de la amida tiene por sustituyentes dos hidrógenos, se denominan amidas primarias, así cuando tienen uno o dos sustituyentes distintos de hidrógeno se conocen como amidas secundarias y terciarias, respectivamente.

Las amidas son los compuestos carbonílicos más estables frente a ataques nucleofílicos, debido al efecto de deslocalización electrónica del par electrónico no enlazado del átomo de nitrógeno hacia el grupo carbonilo. Esta característica genera que el par electrónico libre del átomo de nitrógeno se traslape con el orbital de antienlace π^* del grupo carbonilo, elevando su energía y disminuyendo su reactividad.²⁸

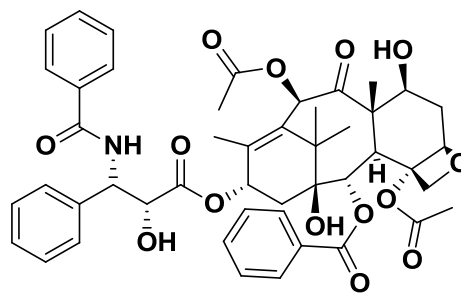
Existen muchos compuestos en la naturaleza que poseen el grupo funcional amida, muchos de ellos con aplicaciones farmacoterapéuticas como la colchicina y la lidocaína. **Esquema 26.**



Colchicina
(antimicótico)



Lidocaína
(anestésico)



Taxol
(anticanceroso, obtenido de género *Taxus*)

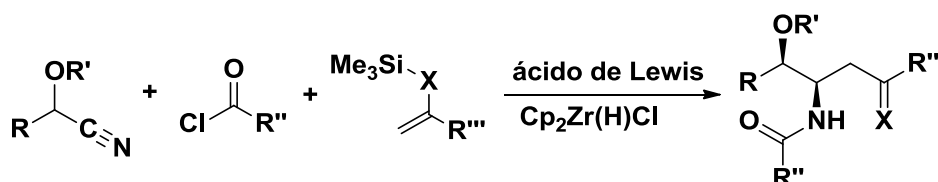
Esquema 26. Algunos compuestos que presentan el grupo amida.

²⁸ Bruice P. Y.; *Organic Chemistry*. 5ª Ed. Pearson Prentice Hall. USA, 2008, p. 758-759.

2.3.2 Síntesis de amidas

2.3.2.1 A partir de nitrilos

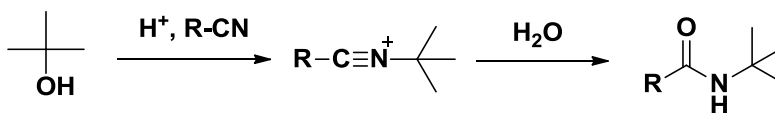
Las amidas pueden sintetizarse directamente a partir de cloruros de acilo y aminas.²⁹ También existen reportes de su preparación mediante una reacción multicomponente a partir de carbonitrilos, utilizando un ácido de Lewis como catalizador.³⁰ **Esquema 27.**



Esquema 27. Síntesis de amidas a partir de nitrilos.

2.3.2.2 Reacción de Ritter

La reacción de Ritter también puede generar amidas, utilizando nitrilos como materias primas. En esta reacción el grupo carbonitrilo actúa como nucleófilo en una reacción de tipo S_N1, generando un intermediario fácilmente hidrolizable que da lugar a la formación del grupo amida.³¹ **Esquema 28.**



Esquema 28. Reacción de Ritter.

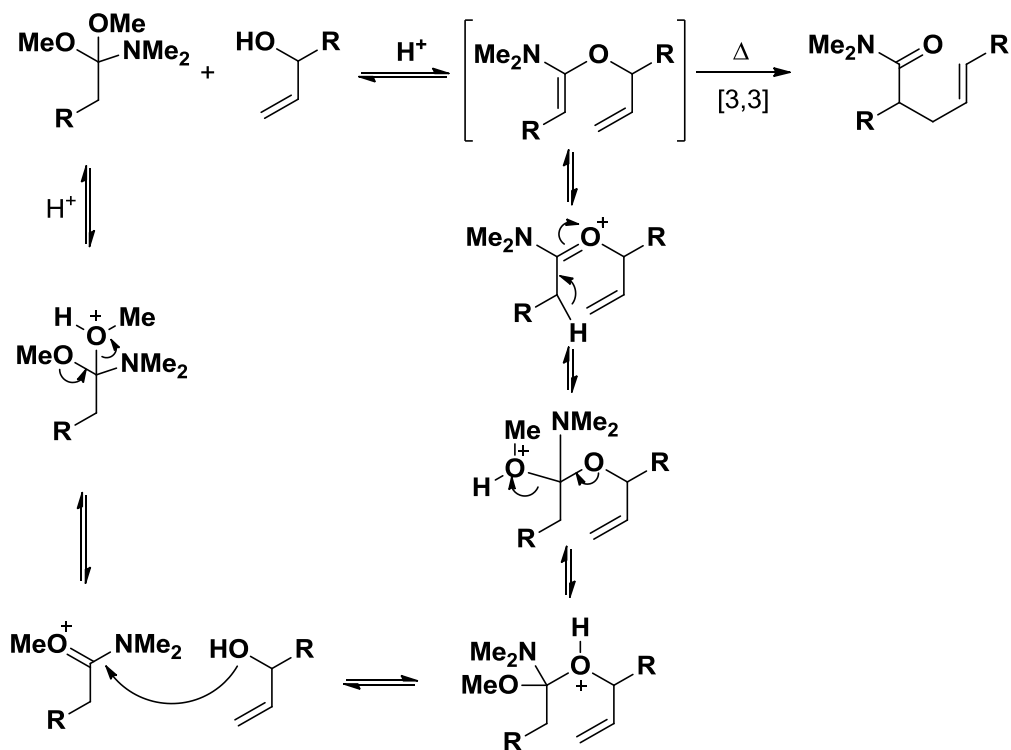
²⁹ a) Norman O. V. Sonntag; *ACS, Chem. Rev.*, **1953**, 52,2, 237-416, b) Clayden J., Greeves N., Warren S.; *Organic Chemistry*. 2^a Ed. Univ. Oxford Press Inc. USA, **2012**, p. 215.

³⁰ DeBenedetto M. V., Green M. E., Wan S., Park J. H., Floreancig P. E.; *Org. Lett.*, **2009**, 11, 4, 835-838.

³¹ Clayden J., Greeves N., Warren S.; *Organic Chemistry*. 2^a Ed. Univ. Oxford Press Inc. USA, **2012**, p. 353.

2.3.2.3 Rearreglo de Claisen

El rearreglo sigmatrópico [3,3] o rearreglo de Claisen se ha empleado como síntesis general de compuestos carbonílicos entre los cuales se encuentran las amidas. La característica común que tienen los productos de ésta reacción es γ,δ -insaturación con respecto al grupo carbonilo.³² **Esquema 29.**



Esquema 29. Síntesis de amidas por rearreglo de Claisen.

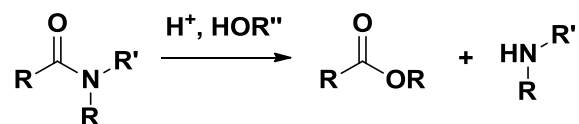
2.3.3 Reactividad de amidas

2.3.3.1 Hidrólisis y alcoholólisis

Las amidas no son reactivas frente a iones haluro, iones carboxilato, alcoholes ni agua ya que en cada caso el nucleófilo entrante es una base más débil que el grupo saliente

³² Clayden J., Greeves N., Warren S.; *Organic Chemistry*. 2^a Ed. Univ. Oxford Press Inc. USA, **2012**, p. 912.

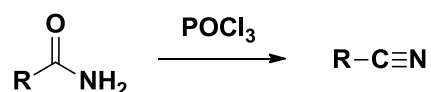
de la amida. Sin embargo, es posible que las amidas reaccionen con agua y alcoholes si la mezcla de reacción se calienta en medio ácido. **Esquema 30.**



Esquema 30. Ataque nucleofílico al carbonilo de las amidas, catalizada por ácido.

2.3.3.2 Deshidratación de amidas

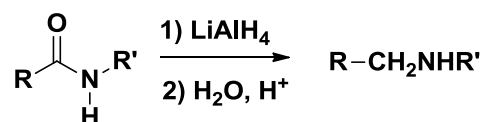
Las amidas primarias pueden deshidratarse y formar nitrilos en presencia de agentes deshidratantes como P_2O_5 , POCl_3 , SOCl_2 .³³ **Esquema 31.**



Esquema 31. Deshidratación de amidas primarias.

2.3.3.3 Reducción

Las amidas pueden sufrir una reducción del grupo carbonilo empleando fuentes de hidruro para formar las aminas correspondientes.³⁴ **Esquema 32.**



Esquema 32. Reducción de amidas con hidruro doble de litio y aluminio.

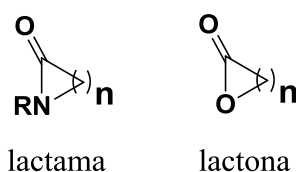
³³ Bruice P. Y.; *Organic Chemistry*. 5ª Ed. Pearson Prentice Hall. USA, 2008, p. 759.

³⁴ *Idem*, p. 804.

2.4 Lactamas

2.4.1 Generalidades

Cuando una molécula cíclica contiene a un grupo funcional amida formando parte de su estructura, es conocida como una lactama, por analogía con las lactonas (ésteres cíclicos). **Esquema 33.**



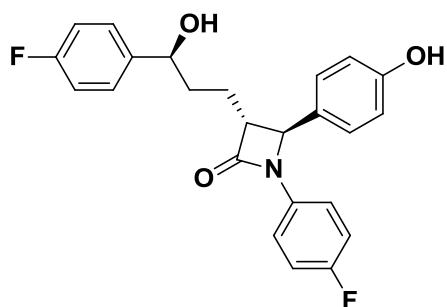
Esquema 33. Analogía estructural entre lactamas y lactonas.

Existen numerosos compuestos de gran interés industrial y farmacoterapéutico, que contienen un anillo lactámico; entre ellos se encuentra la caprolactama³⁵, una ϵ -lactama que polimeriza en medio alcalino para producir nylon. Así mismo, las lactamas más conocidas en el campo farmacéutico son el grupo de fármacos antibióticos β -lactámicos³⁶, utilizados ampliamente contra infecciones causadas por bacterias Gram-positivas. Algunas de ellas se han reportado como excelentes antiproliferativos de células cancerosas humanas.³⁷ **Esquema 34.**

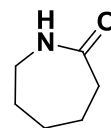
³⁵ Weissemel K., Arpe H. J.; *Química Orgánica Industrial*, Reverté. Barcelona, España. **1981**, p. 237.

³⁶ Drazi T., Sachdev V., Leopold C., Pantankar J. V., Malnar M., Hecimovic S., Levak-Frank S., Habus I., Kratky D.; *Bioorganic and Med. Chem.*, **2015**, 3, 67.

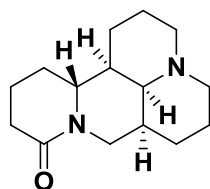
³⁷ Cheng-Pei C., Chi H., Jing. H. L., Yueh H. K., Wenchang C., Yun L. L.; *J. Agric. Food. Chem.*, **2011**, 59, 1185-1194.



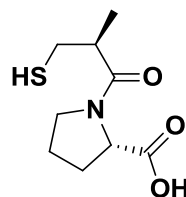
Ezetimibe
(antibiótico β -lactámico)



Caprolactama
(materia prima para la síntesis de nylon)



Matrina
(Alcaloides extraídos de la *Sophora alopecuroides*)



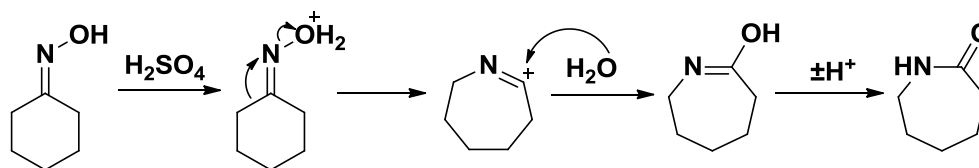
Captopril
(antihipertensivo)

Esquema 34. Algunos ejemplos de lactamas.

2.4.2 Síntesis de lactamas

2.4.2.1 Rearreglo de Beckmann

Se trata de una reacción que presentan las oximas en medio ácido, en donde el grupo OH se convierte en un buen grupo saliente, y ocurre la migración de un grupo alquilo hacia el átomo de nitrógeno, formando un intermediario catiónico que en presencia de agua produce la amida correspondiente.³⁸ **Esquema 35.**



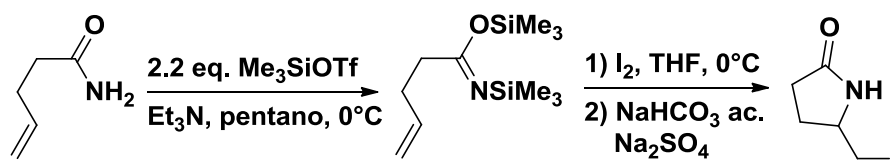
Esquema 35. Síntesis de caprolactama por rearreglo de Beckmann.

³⁸ Clayden J., Greeves N., Warren S.; *Organic Chemistry*. 2ª Ed. Univ. Oxford Press Inc. USA, 2012, p. 958.

2.4.2.2 Síntesis de iodolactamas

En 1988, Knapp y Levorse³⁹ reportaron un método de lactamización con intermediarios iodonio a partir de amidas γ,δ -insaturadas. Los resultados mostraron que la anillación de las amidas no era directa, si no que ocurre vía la conversión inicial de la amida a un derivado N,O-bis(trimetilsililo), que se ciclaba fácilmente en presencia de yodo.

Esquema 36.



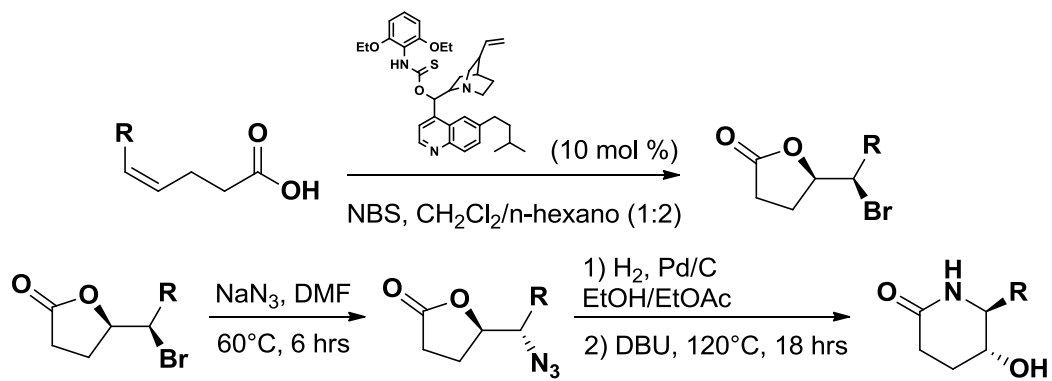
Esquema 36. Iodolactamización de amidas γ,δ -insaturadas.

2.4.2.3 Síntesis de lactamas a partir de ácidos carboxílicos insaturados

Ying-Yeung y cols.⁴⁰ reportaron un método enantioselectivo de obtención de lactamas a partir de ácidos carboxílicos insaturados. En el proceso de preparación, los ácidos son bromolactonizados con NBS en presencia de un catalizador amino-tiocarbamato, que contribuye a la enantioselectividad. Posteriormente se obtienen las correspondientes lactamas a partir de las bromolactonas, utilizando condiciones de reacción bastante fuertes. **Esquema 37**

³⁹ Knapp S., Levorse A. T.; *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 17, 4006-4014.

⁴⁰ Chong Kiat Tan, Chencheng Le, Ying-Yeung Yeung; *Chem. Comm.*, **2012**, 48, 5793-5795.



Esquema 37. Preparación de lactamas con ácidos insaturados.

3. HIPÓTESIS

De obtenerse una familia de amidas secundarias preparadas a partir de un ácido dihidropiridincarboxílico en común, sería posible sintetizar nuevas bromolactamas diazabíclicas, bajo las condiciones análogas de anillación con las que se han preparado exitosamente una gran variedad de lactonas con actividad biológica. Además de que los compuestos preparados también podrían presentar actividad biológica en un ensayo de citotoxicidad contra distintas líneas celulares de cáncer humano.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Generalizar un método para la preparación de nuevas amidas dihidropiridínicas, que posteriormente sirvan como precursores en la obtención de una nueva familia de bromolactamas bicíclicas, cuyas características químicas y estructurales generen compuestos con interesante actividad biológica.

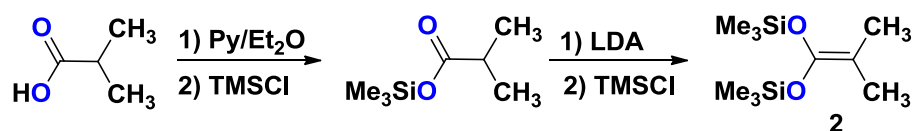
4.2 Objetivos particulares

- ▲ Generalizar un método para la síntesis de una nueva familia de amidas dihidropiridínicas, vía condensación de aminas primarias y el cloruro de acilo de un ácido dihidropiridincarboxílico.
- ▲ Establecer un método eficiente para la formación de las correspondientes lactamas, a través de un proceso de anillación asistido por bromo.
- ▲ Llevar a cabo la caracterización de todos los compuestos preparados, empleando técnicas instrumentales convencionales, como son: RMN-¹H, RMN-¹³C, espectroscopía de IR y Espectrometría de Masas.
- ▲ Evaluar la actividad biológica de las amidas y las lactamas bicíclicas preparadas, a través de ensayos preliminares de actividad citotóxica contra líneas celulares cancerosas humanas, así como estudiar su relación estructura/actividad.

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 Síntesis de materias primas: preparación del ácido dihidropiridinilpropanoico a partir de piridina y un acetal de cetena

En la síntesis del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena **2**, se siguió la metodología utilizada por nuestro grupo de trabajo⁴¹, basada en la publicación de Ainsworth⁴² (**esquema 38**). Como primer paso se genera el éster de trimetilsililo a partir del ácido isobutírico y su reacción con cloruro de trimetilsilano. Posteriormente, el acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena se obtiene a partir de la reacción del éster de trimetilsililo y el LDA, que extrae el protón en la posición α , seguida de la adición de otro equivalente de cloruro de trimetilsilano.



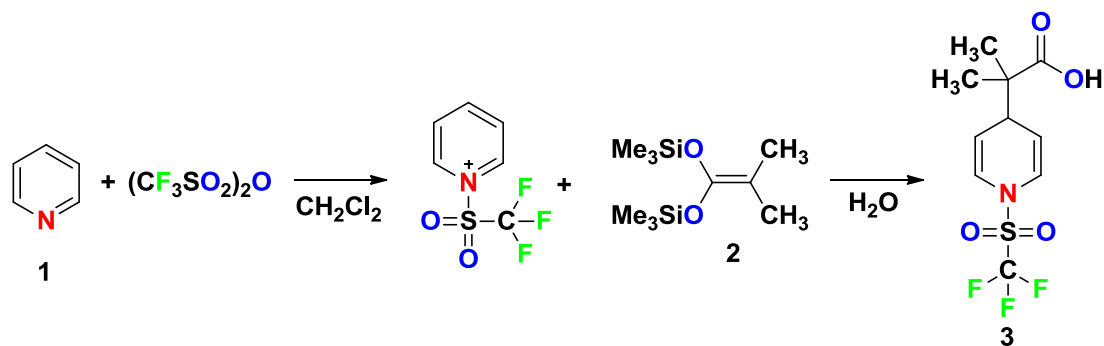
Esquema 38. Síntesis de 2-metil-1-[(1,1,1-trimetilsilil)oxi]-1-propenil-(1,1,1-trimetilsilil)éter (**2**).

Por otra parte, en un trabajo previo realizado por nuestro grupo de investigación⁴³, se describió la síntesis del ácido dihidropiridincarboxílico **3**, a través de la activación de la piridina mediante trifluorometansulfonación, y la adición del acetal de cetena **2** (**esquema 39**). La N-activación de la piridina con anhídrido trifluorometansulfónico genera una sal de piridinio, que hace al anillo más susceptible a sufrir ataques nucleofílicos en las posiciones 2 y 4. Es de resaltar que la adición del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena es regioselectiva sobre la posición 4 del anillo heterocíclico. El ácido **3** fue obtenido con un rendimiento de 74.2 % y sus datos espectroscópicos coincidieron con los ya informados.

⁴¹ Adelco, P. E.; “*Síntesis de lactonas policíclicas vía complejos de tricarbonilo de cromo y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”. Tesis de Doctorado, **2006**. UNAM.

⁴² Ainsworth, C; Kuo, Y. N.; *J. Organomet. Chem.*, **1972**, 46, 73-87.

⁴³ Gualo S., Nadia; “*Síntesis de lactonas bicíclicas vía trifluorometansulfonato de 1-[trifluorometil]sulfonil]piridinio y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”, Tesis de Maestría, **2007**, UNAM.

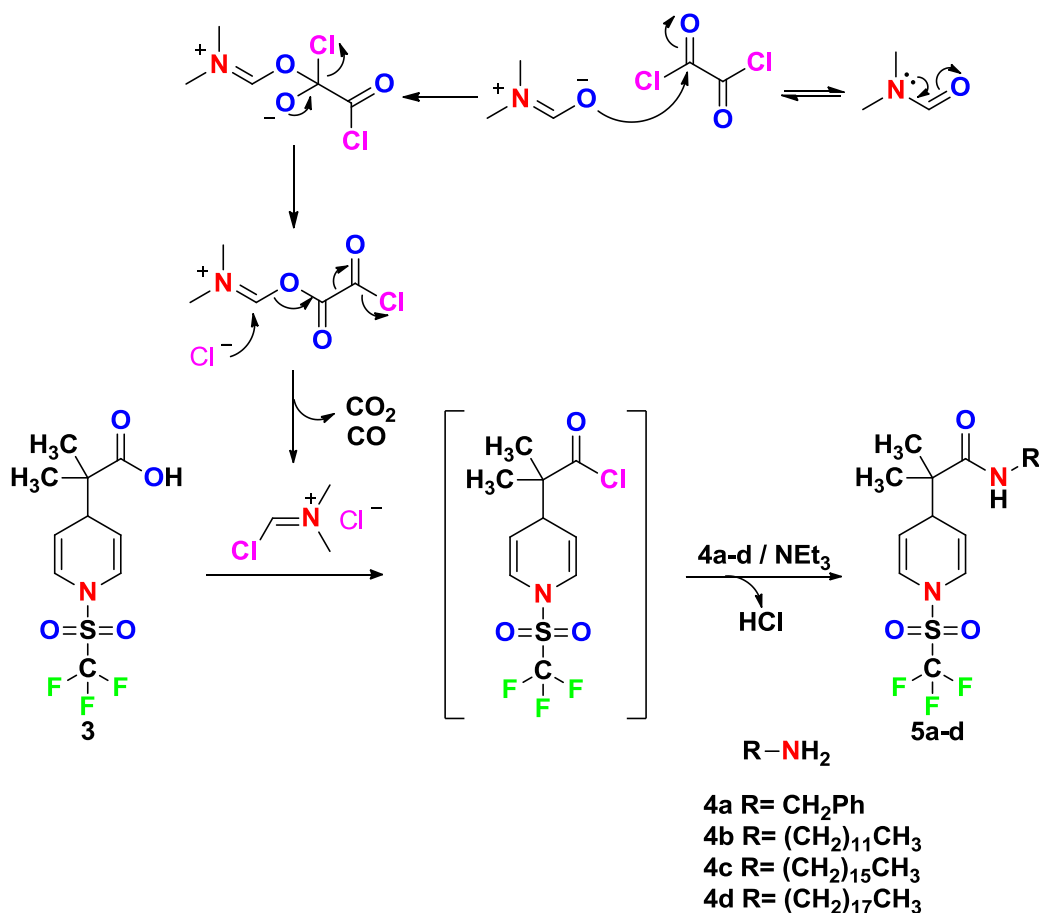


Esquema 39. Síntesis del ácido 2-metil-2-{1-(trifluorometil)sulfonyl}-1,4-dihidropiridin-4-il}propanoico (3).

5.2 Síntesis de dihidropiridínamidas

Se utilizó el método general de síntesis de amidas, partiendo del ácido carboxílico **3** y poniéndolo en reacción con cloruro de oxalilo, utilizando DMF como catalizador, para así obtener su respectivo cloruro de acilo. La reacción *in situ* de éste, frente a diversas aminas primarias (**4a-d**) llevó exitosamente a la formación de las amidas **5a-d**.

El mecanismo de esta reacción se muestra en el **esquema 40**. La DMF reacciona con el cloruro de oxalilo para formar una sal derivada del cloroformiliminio conocido como *reactivo de Vilsmeier-Haack*, que es una especie muy reactiva frente a ataques nucleofílicos. Una vez atacado por el grupo carboxilo, un mecanismo de adición-eliminación produce el cloruro de acilo correspondiente y la regeneración del catalizador. El ataque nucleofílico de una amina primaria a esta especie completa la formación del grupo amida, mientras que la trietilamina en el medio evita la protonación de los sustratos por la liberación de HCl como producto secundario.



Esquema 40. Síntesis de *N*-alquil-2-metil-2-{1-(trifluorometil)sulfonyl}-1,4-dihidropiridin-4-il}propanamidas (5a-d).

En la **tabla 1** se presentan los rendimientos calculados de la síntesis de las amidas **5a-d**. En los compuestos **5b-d**, se observa que existe una tendencia de aumento en el rendimiento proporcional al tamaño de la cadena alquílica de la amina utilizada. Este efecto se debe a que al aumentar el número de átomos de carbono en la cadena alquílica, la nucleofilia del átomo de nitrógeno se mejora por efecto inductivo.

Tabla 1. Rendimientos de reacción obtenidos en la síntesis de los compuestos **5a-d**

Compuesto	Sustituyente	Rendimiento (%)
5a	CH ₂ Ph	72.0
5b	(CH ₂) ₁₁ CH ₃	53.6
5c	(CH ₂) ₁₅ CH ₃	62.6
5d	(CH ₂) ₁₇ CH ₃	87.2

Las amidas **5a-d** fueron caracterizadas por las técnicas espectroscópicas y espectrométricas a nuestra disposición: espectroscopía de infrarrojo (**IR**), espectrometría de masas (**EM**) y resonancia magnética nuclear (**RMN**) de los núcleos ¹H y ¹³C.

Las caracterizaciones por **RMN** de ¹H y ¹³C confirmaron la formación de las amidas **5**, tomando como referencia los datos espectroscópicos reportados del ácido carboxílico de partida **3**. A manera de ejemplo, en la **figura 1** se muestra el espectro de **RMN-¹H** del compuesto **5c** (elegido por ser representativo de la familia sintetizada), en donde se puede distinguir la presencia de una señal ancha con un desplazamiento de 5.77 ppm, correspondiente al protón **NH** sobre el átomo de nitrógeno del grupo amida. El desplazamiento químico de este protón es análogo entre las amidas **5b-d**, pero para la **5a** la señal se desplaza a 6.39 ppm, debido a efecto de anisotropía electrónica del anillo aromático, que afecta de la misma manera a los protones del grupo metileno de esta misma molécula.

Además, en los compuestos **5b-d** se observan consistentemente dos señales en $\delta = 3.25$ y 1.50 ppm, cuya integración corresponde a dos protones cada una, y que pertenecen a los grupos metilenos α' y β' con respecto al grupo amida, respectivamente (excepto en **5a**, donde no existen protones en la posición β').

Los protones olefínicos de la dihidropiridina (**H¹**, **H²**, **H⁴**, **H⁵**), producen una señal doble alrededor de 6.54 ppm para **H¹** y **H⁵**, y una señal doble de doble en 5.04 ppm para **H²** y **H⁴**, en donde la constante de acoplamiento $^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, confirma la interacción *cis* entre estos pares de protones.

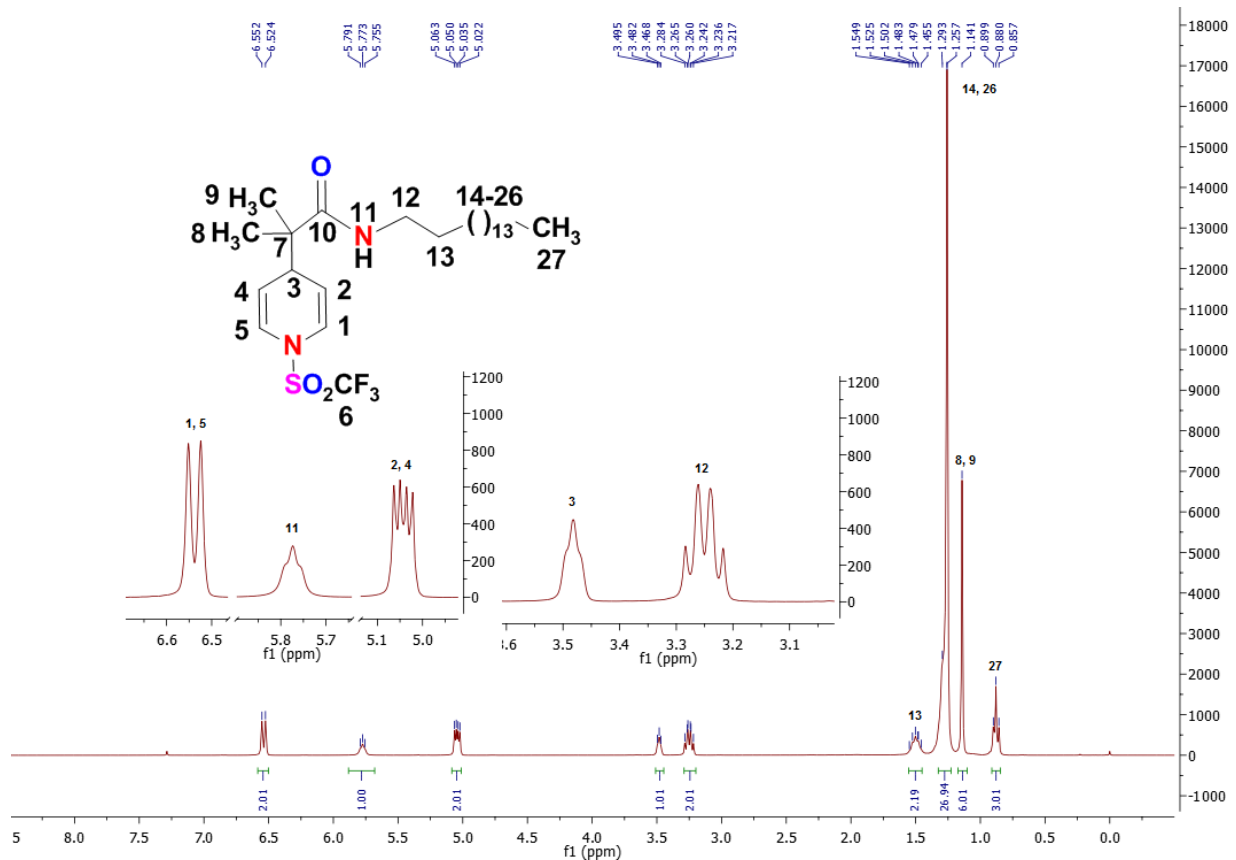
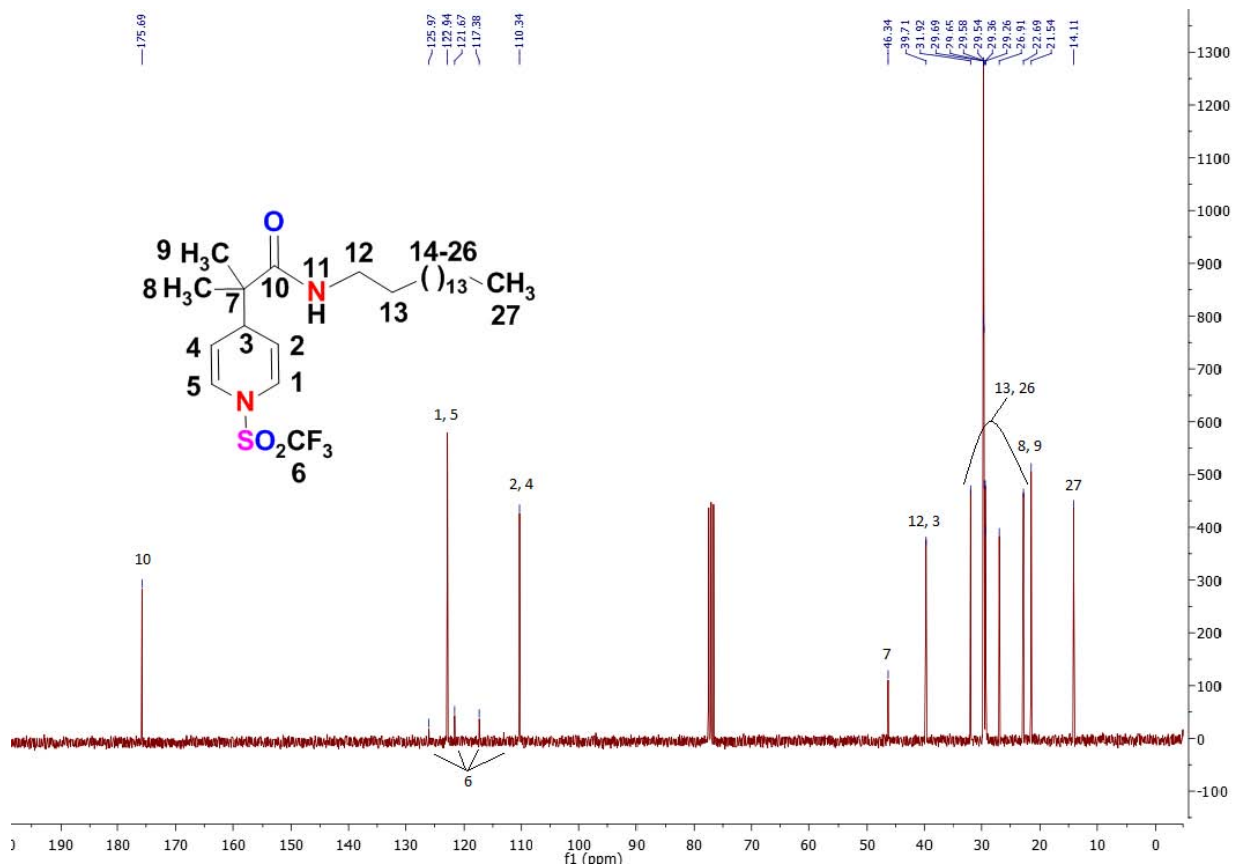


Figura 1. RMN- ^1H de la amida 5c.

En la **figura 2** se muestra el espectro de RMN- ^{13}C para el compuesto 5c, donde aparecen las señales esperadas para este compuesto. Entre ellas se encuentra la que corresponde al carbono carbonílico en $\delta = 175.7$ ppm, la de los átomos de carbono sp^2 de la dihidropiridina (**C**¹ y **C**⁵ en $\delta = 122.9$ ppm, mientras que **C**² y **C**⁴ en $\delta = 110.3$ ppm), y la del grupo CF_3 (**C**⁶, una señal cuádruple característica en $\delta = 119.5$ ppm).

Las asignaciones anteriores se realizaron con apoyo de un experimento de correlación heteronuclear (HSQC, **figura 3**).

Figura 2. RMN- ^{13}C de la amida 5c.

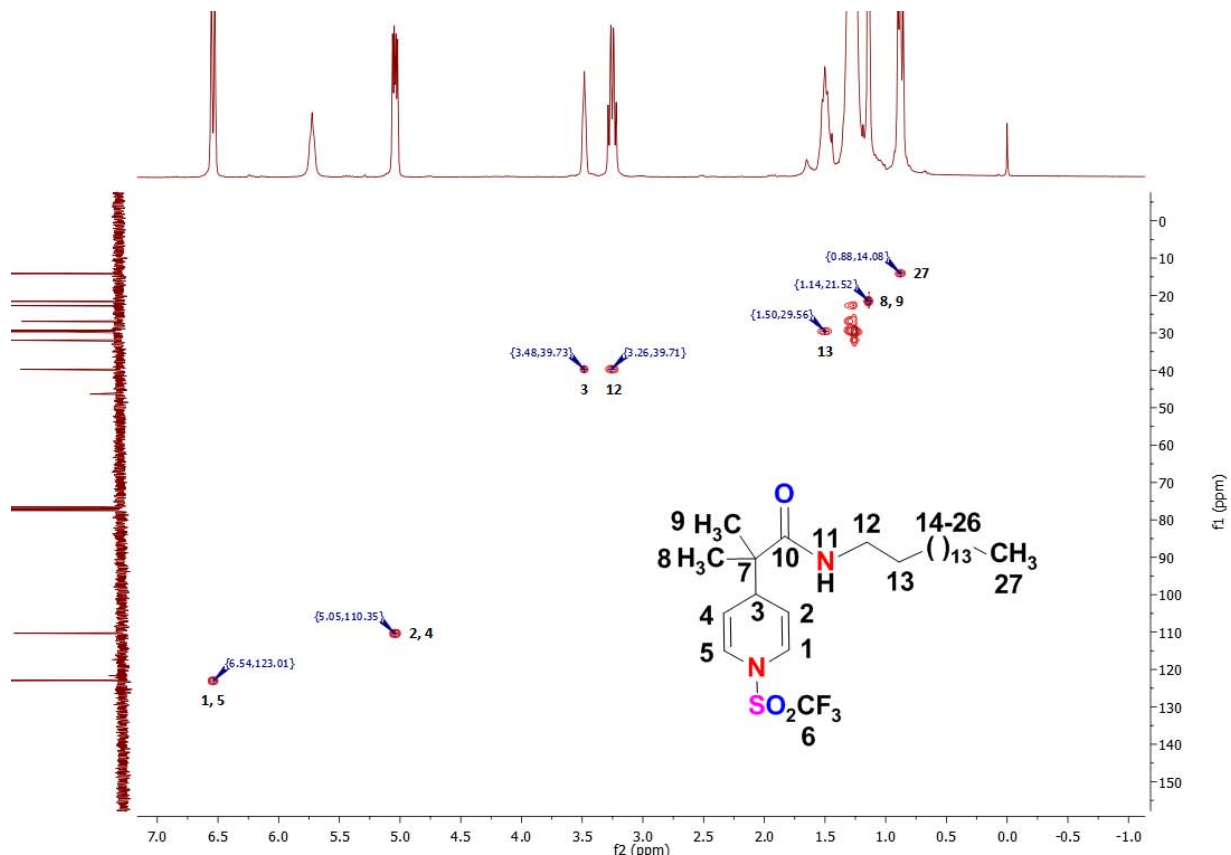


Figura 3. Experimento HSQC de la amida **5c**.

La EM fue realizada bajo la técnica DART, en donde las moléculas son ionizadas con H_3O^+ por transferencia de protón.⁴⁴ La figura 4 muestra el espectro del compuesto **5c**, en donde se observa el ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$. Este pico se mantiene como característica común de los compuestos **5**.

De acuerdo al patrón de fragmentación del compuesto **5c**, se observan dos picos (comunes en todos los compuestos **5**), a saber, el ión-fragmento $[\text{M}-133]^+$, que corresponde a la pérdida del grupo triflilo, y el fragmento con relación $m/z = 212$, que probablemente corresponde a la rearomatización del anillo de piridina.

⁴⁴ Cody R. B., Laramée J. A., Nilles J. M., Durst H. D.; *JEOL News*, **2005**, 40, 8-12.

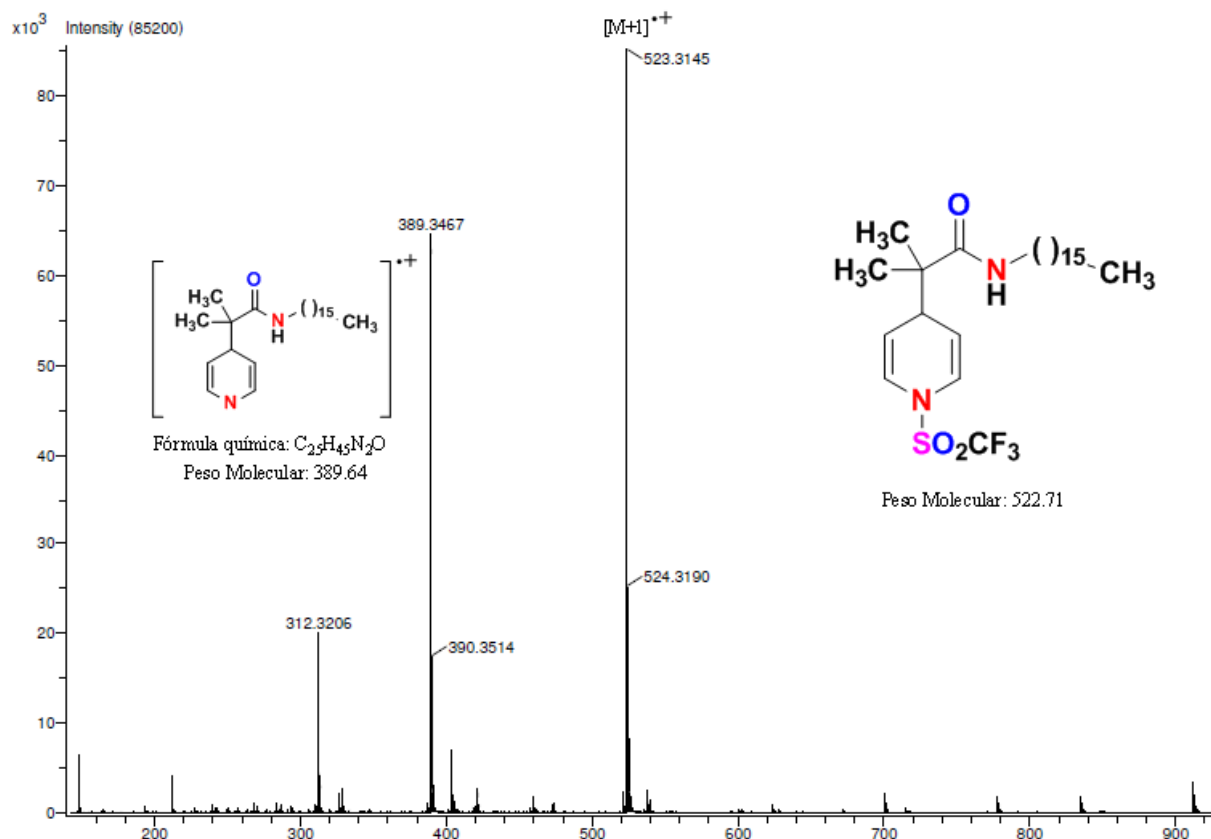


Figura 4. EM DART de la amida **5c**.

La presencia de los grupos funcionales se confirmó por espectroscopía de **IR (figura 5)**, donde se observa el grupo **N-H**, por su banda característica de estiramiento de enlace, situada entre $3400\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$, así como la de flexión, que para el compuesto **5c** aparece con un número de onda de 1536 cm^{-1} . Así mismo, se aprecia la banda estrecha del carbonilo en 1629 cm^{-1} y la banda característica en 1409 cm^{-1} que corresponde al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo SO_2 .

También, en los espectros de los compuestos **5b-d** se observan las bandas de estiramiento C-H sp^3 en 2916 y 2849 cm^{-1} con gran intensidad, en consecuencia de la alta abundancia de carbonos sp^3 .

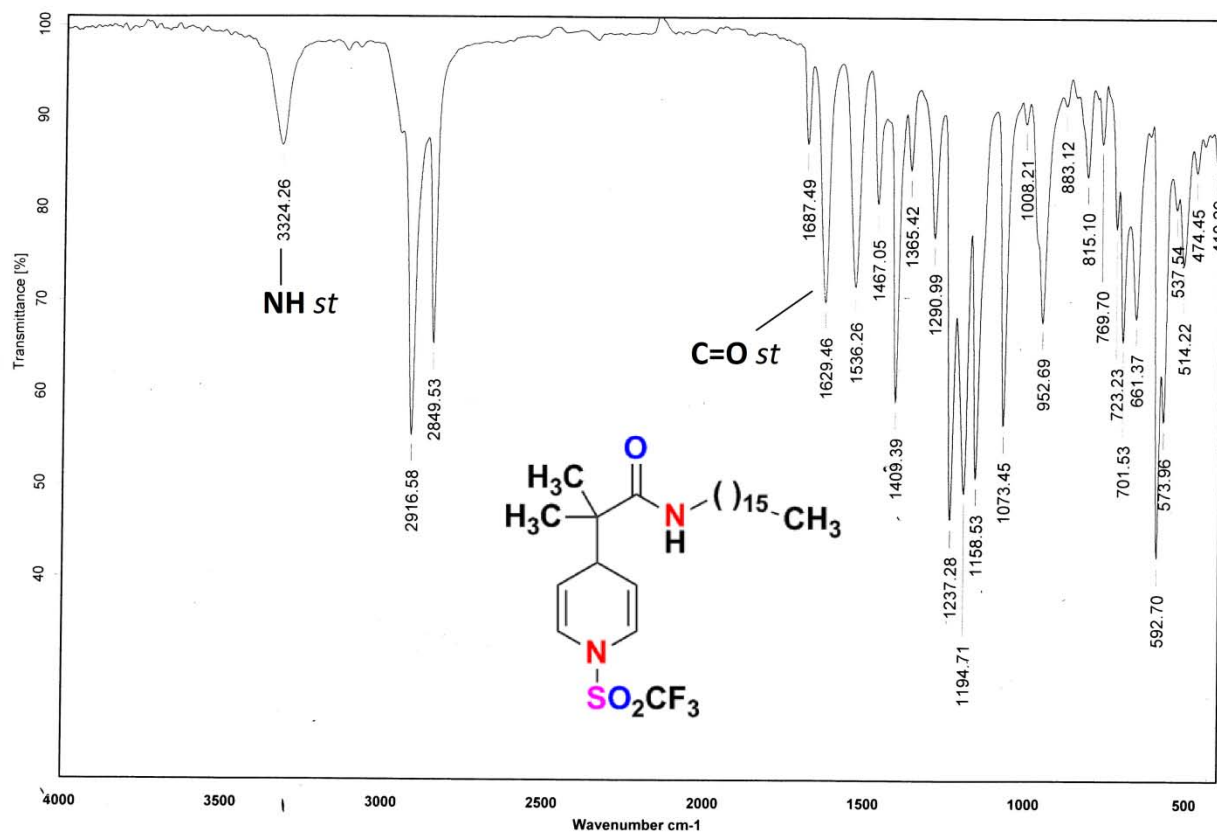


Figura 5. IR KBr/Pastilla de la amida **5c**.

5.3 Síntesis de las δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1].

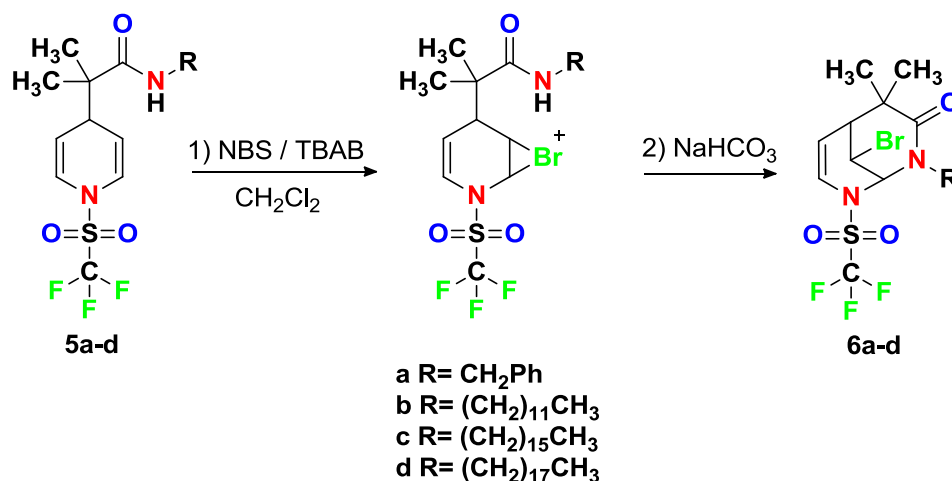
En nuestro grupo de trabajo existe el interés de sintetizar compuestos que contengan el átomo de bromo en su estructura, dado que gozan de propiedades biológicas interesantes en comparación con sus análogos no halogenados⁴⁵. Con dicha premisa es como se abordó la anillación intramolecular para obtener una familia de bromolactamas bicíclicas.

Las bromolactamas **6** se obtuvieron a partir de las amidas **5** vía una reacción de bromolactamización⁴⁶ (esquema **41**), utilizando las condiciones de reacción

⁴⁵ a) Gorshkov B. A., Gorshkova I. A., Makarieva T. N., Stonik V. A.; *Toxicol.*, **1982**, 10, 1092., b) Finkelstein M. B., Vamvakas S., Bittner D., Anders M. W.; *Chem. Res. Toxicol.*, **1994**, 7, 157.

⁴⁶ a) Dowle M. D., Davies D. I.; *Chem. Soc. Rev.* **1979**, 8, 171., b) Cook C., Cho Y. Jew S., Suh Y., Kang E.; *Arch. Pharm. Res.*, **1983**, 6, 45., c) Fang C., Paull D. H., Hethcox J. C., Shugrue C. R., Martin S. F.; *Org. Lett.*, **2012**, 14,

establecidas previamente en nuestro grupo de investigación para la síntesis de γ - y δ -lactonas a partir de sus correspondientes ácidos dihidropiridincarboxílicos.⁴⁷ La reacción parte del ataque nucleofílico de un enlace π de la dihidropiridina al átomo de bromo de la *N*-bromosuccinimida, lo que da lugar a la formación de un ión bromonio. Enseguida, la molécula sufre una anillación regioespecífica por ataque nucleofílico intramolecular del grupo amida, produciendo las δ -lactamas bicíclicas **6a-d**.

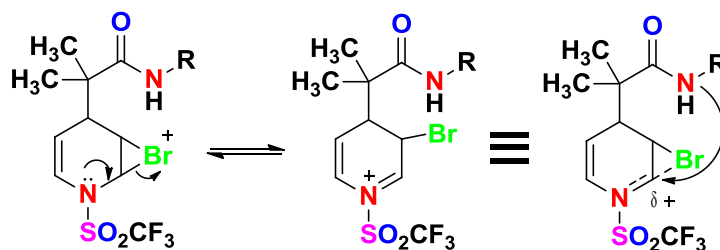


Esquema 41. Síntesis de δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1] (**6a-d**).

La regioespecificidad de la reacción se atribuye al átomo de nitrógeno adyacente al ión bromonio y las estructuras tautoméricas de este intermediario (**esquema 42**). El par electrónico libre del átomo de nitrógeno puede deslocalizarse y formar un intermediario iminio. Esto provoca que el enlace del ión bromonio se encuentre polarizado, favoreciendo el ataque en la posición α .

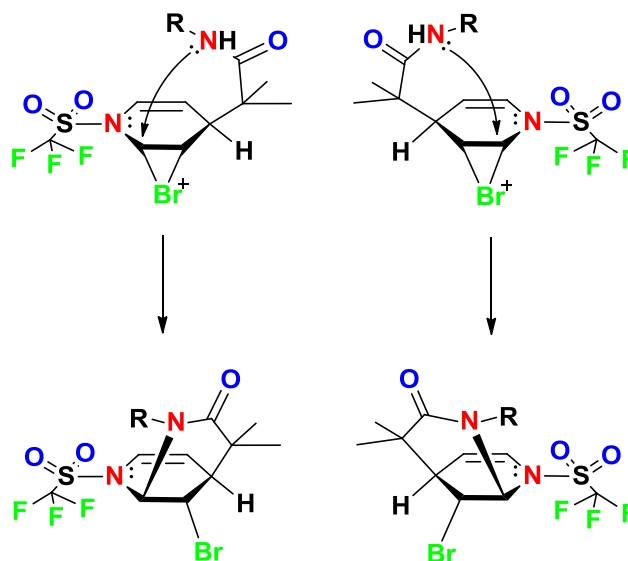
6290, d) Chen W. B., Wu Z. J., Hu J., Cun L. F., Zhang X. M., Yuan W. C.; *Org. Lett.* **2011**, 13, 2472, e) Zhu R., Buchwald S. L.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 1246.

⁴⁷ Rivera H. Alejandro; “*Piridinas activadas como bloque constructor de lactonas*”, Tesis de Doctorado, **2015**, UNAM.



Esquema 42. Polarización del ión bromonio de los compuestos **5**

Además, existe una restricción en la estereoquímica de las moléculas **6** durante su formación, ya que la adición nucleofílica que permite la anillación requiere que el fragmento que soporta al grupo amida tenga una configuración *anti* al ión bromonio. La formación de este intermediario genera simultáneamente 3 centros quirales, como se muestra en el **esquema 43**. De esta manera, únicamente dos intermediarios bromonio (enantiómeros entre sí) pueden anillarse, obteniéndose una mezcla racémica.



Esquema 43. Enantiómeros posibles en la síntesis de δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1] (**6a-d**)

En la **tabla 2** se muestran los rendimientos de cada reacción, utilizando como materias primas las amidas **5** para producir los compuestos **6**.

Tabla 2. Rendimientos de reacción obtenidos en la síntesis de los compuestos **6 a-d**

Compuesto	Sustituyente	Rendimiento (%)
6a	CH ₂ Ph	63.9
6b	(CH ₂) ₁₁ CH ₃	96.4
6c	(CH ₂) ₁₅ CH ₃	69.6
6d	(CH ₂) ₁₇ CH ₃	73.6

La caracterización de las nuevas δ -bromolactamas bicíclicas se realizó por los métodos espectroscópicos y espectrométricos ya mencionados.

El espectro de **RMN-¹H** del compuesto **6c** (**figura 6**) muestra señales con desplazamientos químicos muy similares con respecto a la amida correspondiente. Las señales de los protones **H⁴** y **H⁵** aparecen en 5.32 ppm y 6.49 ppm, respectivamente.

Se observa una señal en $\delta = 5.85$ ppm del protón **H¹**, que aparece desplazada a campos bajos por el efecto de desprotección que producen los dos átomos de nitrógeno enlazados en dicha posición. Aparece una nueva señal en 4.95 ppm producida por el nuevo protón alquílico **H²**. Por su parte, el protón **H³** se desplaza a menores frecuencias (2.47 ppm) en comparación con su amida correspondiente.

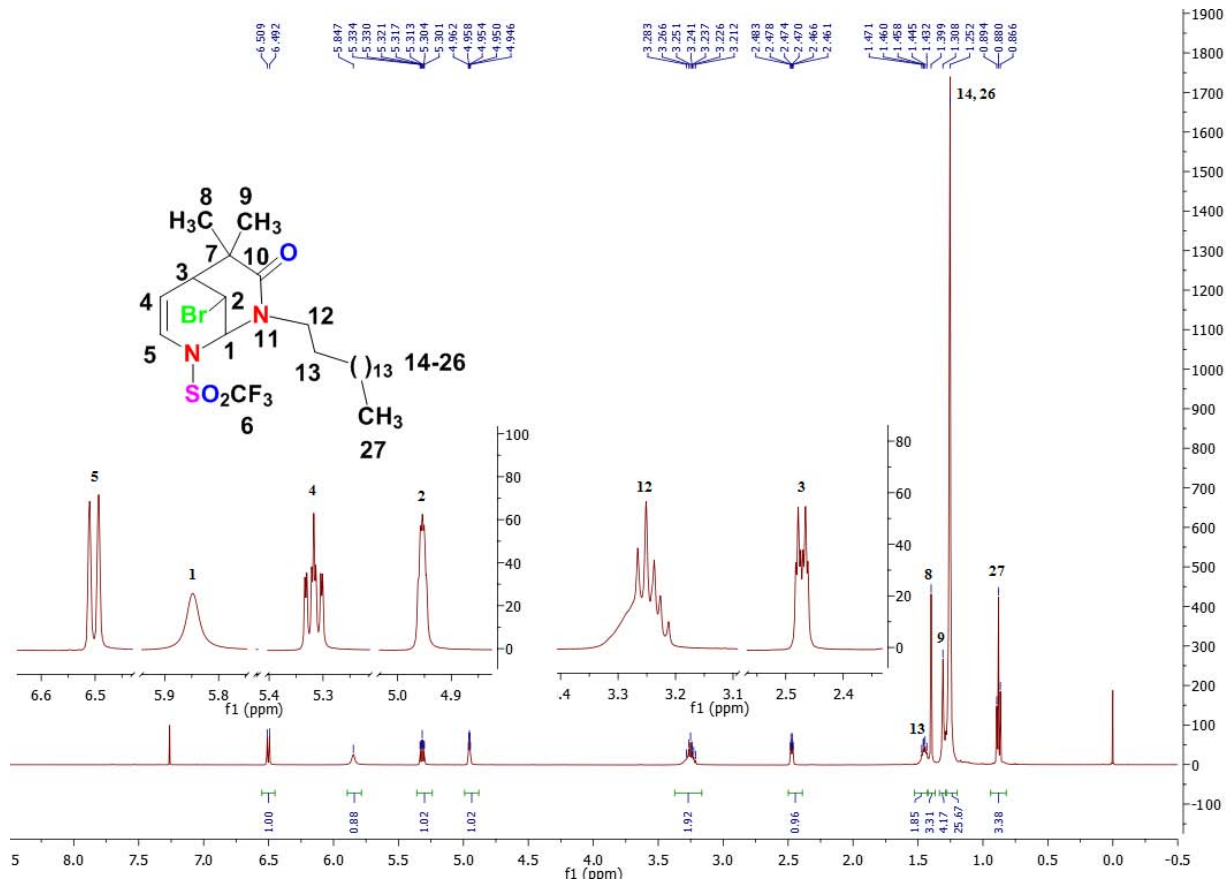


Figura 6. RMN- ^1H de la lactama **6c**.

En el espectro de RMN- ^{13}C de compuesto **6c** (figura 7) se puede observar la señal del carbono carbonílico C^{10} en 155.4 ppm, así como la señal cuádruple generada por el acoplamiento C-F del grupo trifluorometilo (C^6). Las señales de los átomos de carbono alquílicos C^1 y C^2 aparecen en 82.7 ppm y en 46.5 ppm, respectivamente. En el resto del espectro aparecen las señales esperadas para los demás núcleos de la molécula, y cuyas asignaciones se hicieron con apoyo de un experimento de correlación heteronuclear HSQC, mostrado en la figura 8.

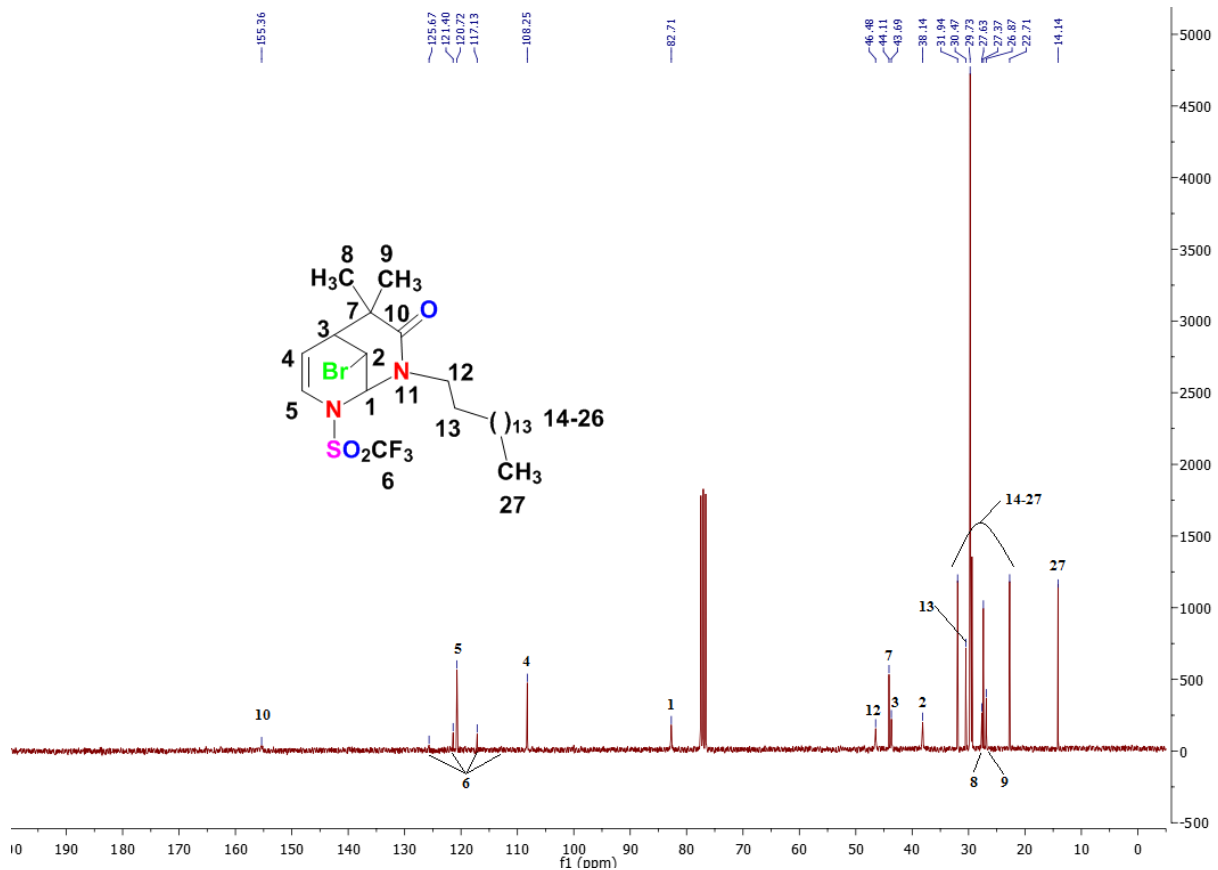


Figura 7. RMN- ^{13}C de la lactama **6c**.

Una característica importante de los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de **6a-d**, es que muestran que los grupos metilo en las posiciones **8** y **9** no son químicamente equivalentes. Esto puede ocurrir debido a que, al formarse el anillo lactámico, se impide la libre rotación de los enlaces sp^3 del átomo de carbono **C7**, generando que ambos grupos metilo tengan ambientes y desplazamientos químicos distintos.

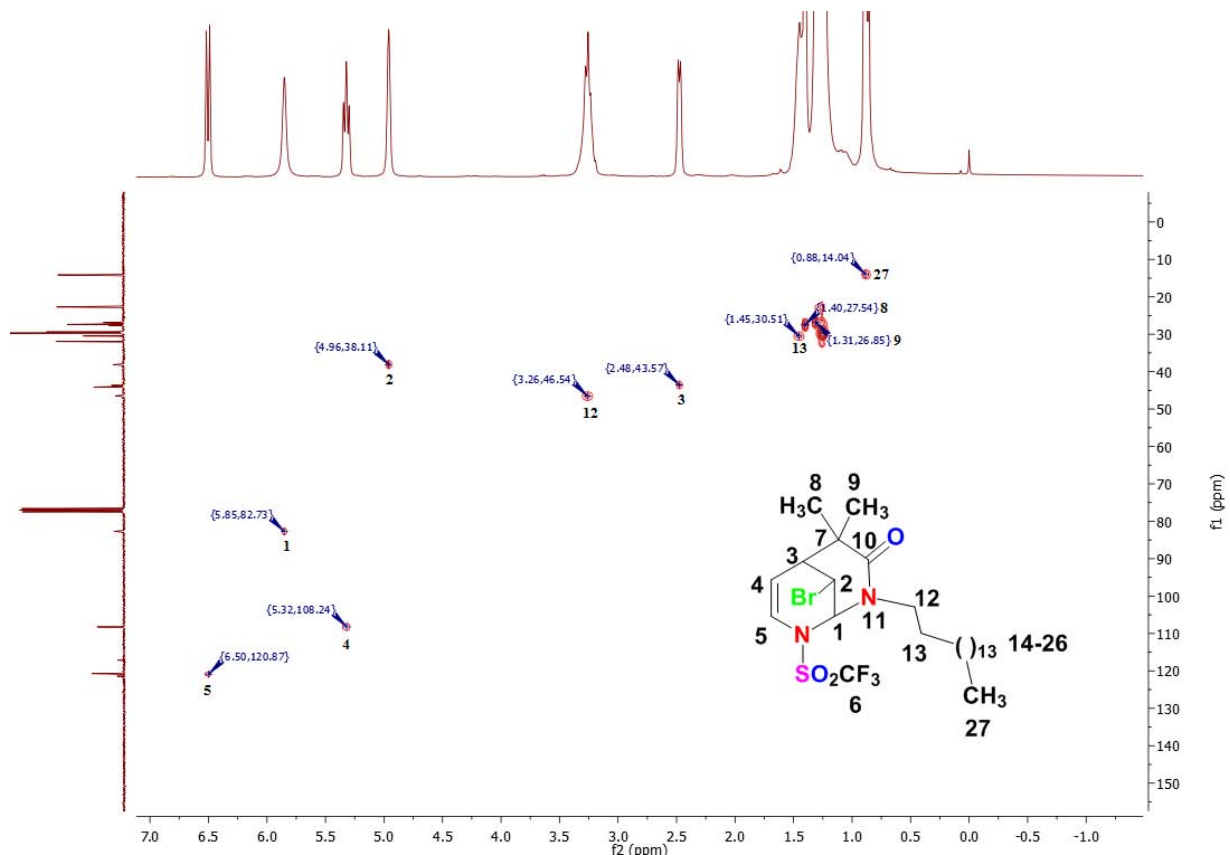


Figura 8. Experimento HSQC de la lactama **6c**.

Por su parte, la **EM** demostró la presencia de un átomo de bromo en las lactamas **6**, al presentar el patrón isotópico distintivo para este átomo, con dos picos de intensidad semejante de los fragmentos M^{++} y $[M+2]^{++}$. En el espectro del compuesto **6c** (figura 9), en particular, es posible encontrar el pico del ión molecular M^{++} con una relación m/z de 601 (conteniendo el isótopo ^{79}Br) y el pico $[M+2]^{++}$ con relación m/z de 602 (que contiene al isótopo ^{81}Br). Además se observó un patrón de fragmentación muy sencillo en general para todos los compuestos **6**, en donde se identifica únicamente un pico, que corresponde al ion fragmento producto de la pérdida del átomo de bromo.

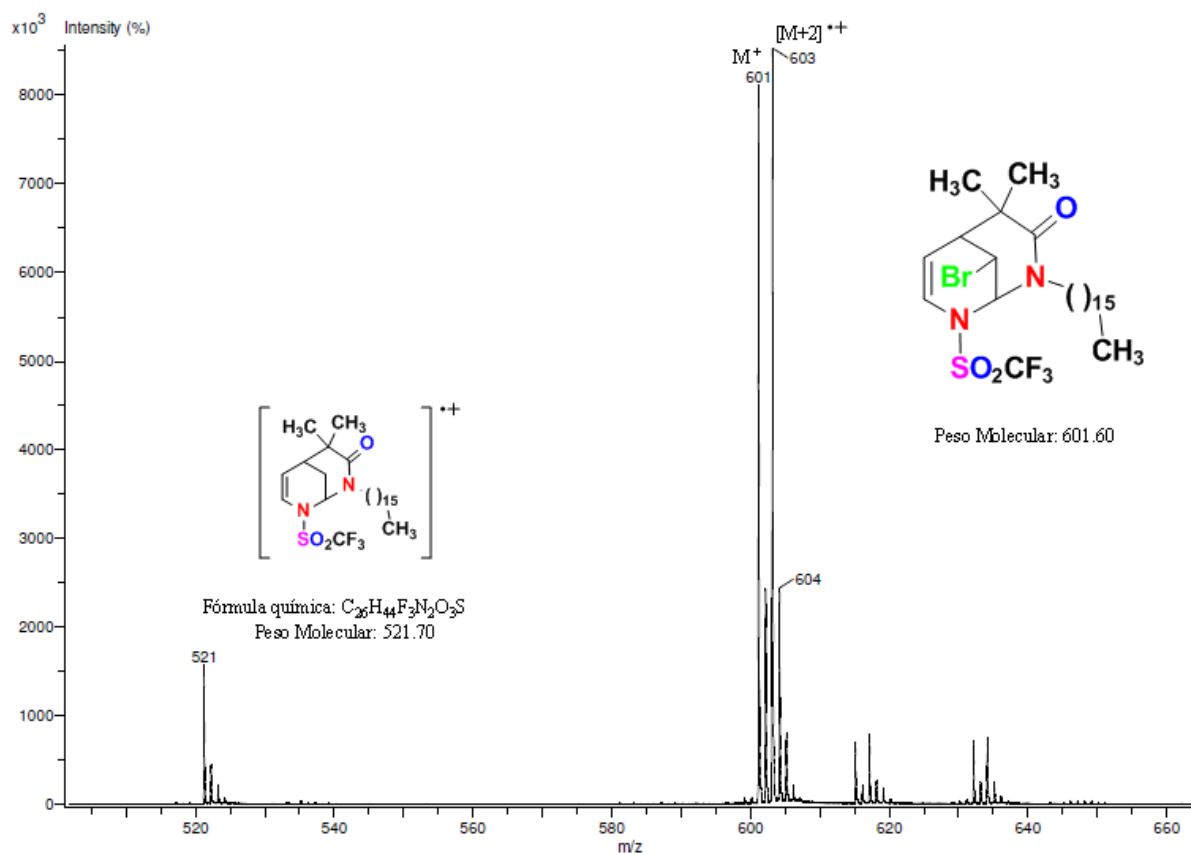


Figura 9. EM DART de la lactama **6c**

Con la espectroscopía de IR del compuesto **6c** (figura 10) se identificó la banda de estiramiento del grupo **C=O** de la lactama, con número de onda de 1689 cm^{-1} , así como la banda en 1395 cm^{-1} que corresponde al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo **SO₂**. Una vez más, las bandas de estiramiento **C-H** sp^3 en 2916 y 2850 cm^{-1} aparecen con gran intensidad en los espectros de las lactamas **6b-d**.

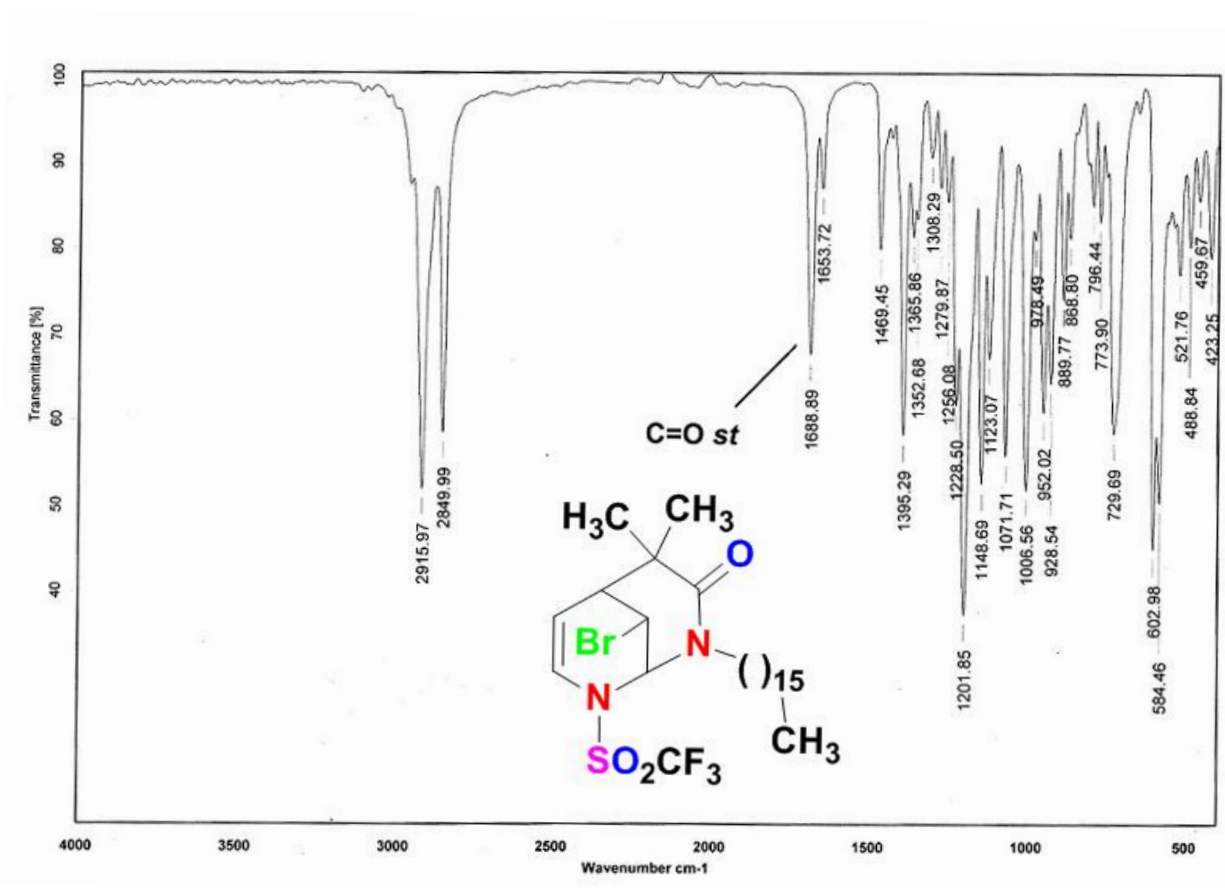


Figura 10. IR KBr/Pastilla de la lactama 6c

5.4 Pruebas biológicas: Actividad citotóxica.

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, por lo que siempre ha tenido un papel preponderante en la investigación y desarrollo de nuevas terapias y agentes que permitan combatir este mal. Desafortunadamente, a pesar de los esfuerzos dentro del área, el tratamiento del cáncer es todavía un enorme reto para superar.

Nuestro grupo de trabajo ha realizado evaluaciones de citotoxicidad a numerosos compuestos preparados a partir de sustratos activados (arilos, piridinas, pirazinas, pirimidina, alquinonas, etc.) y acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena. Estos productos han

arrojado buenos resultados y en algunos casos muy alentadores en cuanto a la actividad y selectividad sobre líneas celulares de cáncer humano.⁴⁸

Como ya se abordó en el marco teórico, las amidas, las lactamas, así como los derivados aza-heterocíclicos despliegan un amplio espectro de actividad biológica y farmacológica. Desde el punto de vista del diseño molecular, la combinación de dos especies o estructuras activas (farmacóforos) pueden generar un efecto sinérgico, que derive en resultados aún mejores que al ser estudiados de manera individual.

De suerte que los compuestos preparados al poseer los grupos funcionales triflilo, azinas, amida o lactama, en una sola molécula, puedan tener una actividad importante.

Con lo anterior, se decidió evaluar los compuestos preparados en este trabajo, en pruebas de actividad citotóxica bajo el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos (NCI por sus siglas en inglés, ver la *Sección Experimental 7.4* para la descripción metodológica).

Las líneas celulares que se utilizaron para realizar el ensayo fueron: glía del sistema nervioso central (U251), células de adenocarcinoma prostático (PC-3), células de adenocarcinoma de colon (HTC-15), células de adenocarcinoma de glándula mamaria (MCF-7), células de adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1) y células de leucemia mieloblástica crónica (K562); que pertenecen al panel de NCI.

Para la prueba de *screening* primario, las células fueron inmersas en un medio donde la concentración del compuesto en prueba era de 50 μ M. Con lo anterior, los resultados obtenidos de citotoxicidad se presentan en la **tabla 3**, y su representación gráfica en las **figuras 12 y 13**.

⁴⁸ a) Aldeco Pérez, E. J. “*Síntesis de lactonas policíclicas vía complejos de tricarbonilcromo y acetales de bis(trimetilsilil) cetenas*”, Tesis de Doctorado, UNAM, México, **2006**. Gualo-Soberanes, N., “*Síntesis de lactonas bicíclicas vía trifluorometansulfonato de 1-[(trifluorometil)sulfonil] piridinio y acetales de bis(trimetilsilil) cetenas*”, Tesis de Maestría, UNAM, México, **2007**. b) Garduño Alva, A., “*Doble adición nucleofílica de acetales de 1,1-Bis(Trimetilsilil) cetena a sales de pirazina y pirimidina*”, Tesis de Maestría, UNAM, México, **2008**. c) Garduño Alva, A., “*Reactividad de diazinas frente a acetales de bis(trimetilsilil) cetena*”, Tesis de Doctorado UNAM, México, **2012**. d) López Reyes, M. E., “*Anillación de ácidos β -hidroxi- γ -alquinoicos para la síntesis de γ - y δ - lactonas.*”, Tesis de Doctorado, UNAM, México, **2014**.

Tabla 3. Actividad citotóxica en *screening* primario de los compuestos **5** y **6**.

Compuesto		Línea celular % de inhibición del crecimiento					
		U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
Amida	5a	51.1	58.3	67.7	50.6	50.2	40.7
	5b	61.6	47.0	54.8	50.4	75.9	56.0
	5c	39.9	12.8	50.4	11.7	43.8	21.9
	5d	35.3	23.1	56.6	9.8	19.8	23.9
Lactama	6a	72.4	95.6	81.0	73.5	96.3	72.9
	6b	39.0	5.6	53.0	23.8	78.7	36.3
	6c	6.9	Nc	Nc	Nc	36.0	11.5
	6d	15.5	3.6	Nc	14.8	14.4	19.3
Ácido carboxílico	3	5.8	11.8	33.5	Nc	17.9	11.8
Lactona	3'	11.8	Nc	41.6	24.2	17.5	14.1

Vehículo: DMSO; Concentración: 50 μ M; Nc= no citotóxico.

U251: glía de SNC, **PC-3:** próstata, **K562:** leucemia, **HCT-15:** colon, **MCF-7:** mama, **SKLU-1:** pulmón

Según se observa a partir de los resultados, las amidas tienen en general porcentajes moderados de inhibición del crecimiento celular. Los compuestos **5a** y **5b** no parecen tener selectividad por alguna línea celular en particular, mientras que **5c** muestra mejores resultados sobre las células de SNC, leucemia y mama, así como **5d** que inhibe en mayor grado las células de leucemia.

Es interesante comparar la actividad de las amidas con sus respectivas lactamas, ya que se puede apreciar que la anillación mejoró la capacidad citotóxica de la lactama **6a** con respecto a la amida **5a**. Los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento celular se reportan para la lactama **6a**, llegando a superar el 90% de actividad en células de próstata y mama. El caso contrario ocurre en el resto de las lactamas **6b-d**, cuyos valores de porcentaje de inhibición de crecimiento celular se vieron disminuidos notablemente con respecto a sus respectivas amidas **5b-d**.

Es evidente que la presencia del grupo bencilo en la estructura lactámica, es mucho más favorable para la actividad citotóxica que las largas cadenas alifáticas presentes

en los compuestos **6b-d**. Sin embargo, la lactama **6b** muestra la mayor selectividad, con un porcentaje de inhibición del 78.7% sobre células de glándula mamaria.

También cabe resaltar que la presencia del átomo de bromo en la estructura de las lactamas bicíclicas **6a-d** preparadas no haya sido un factor que influyera positivamente en su capacidad citotóxica, a diferencia de resultados previos obtenidos en otros estudios similares de nuestro grupo de investigación.

Los valores de citotoxicidad del compuesto **3** y su correspondiente bromolactona **3'** (**figura 11**), que previamente han sido reportados en trabajos anteriores⁴⁹, también se presentan en la **tabla 3**.

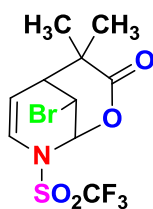


Figura 11. Bromolactama **3'**, derivada del ácido **3**.

De acuerdo con las investigaciones previas de actividad citotóxica de los compuestos **3** y **3'**, se observa que sus homólogos amida y lactama, respectivamente, son mucho más activos. Posiblemente el sustituyente alquilo del nitrógeno sea el responsable, en mayor medida, del aumento en la toxicidad contra las líneas celulares probadas.

⁴⁹ a) Gualo S., Nadia; “*Síntesis de nuevas lactonas policíclicas derivadas de trifluorometansulfonato de piridinio*”, Tesis de Doctorado, **2011**, UNAM. b) Gualo S., Nadia; “*Síntesis de lactonas bicíclicas vía Trifluorometansulfonato 1-[(trifluorometil)sulfonyl]piridinio y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”, Tesis de Maestría, **2007**, UNAM.

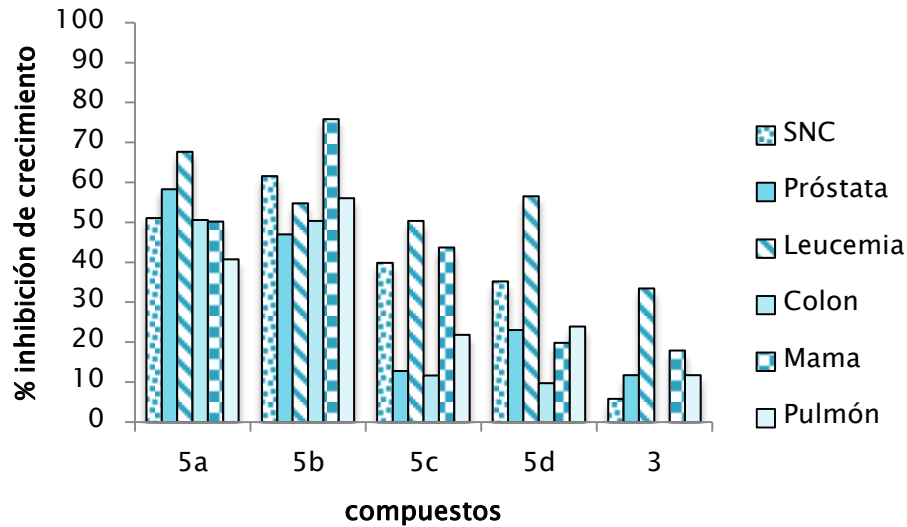


Figura 12. Gráfico de % de inhibición del crecimiento celular de los compuestos 5 y del ácido carboxílico análogo 3.

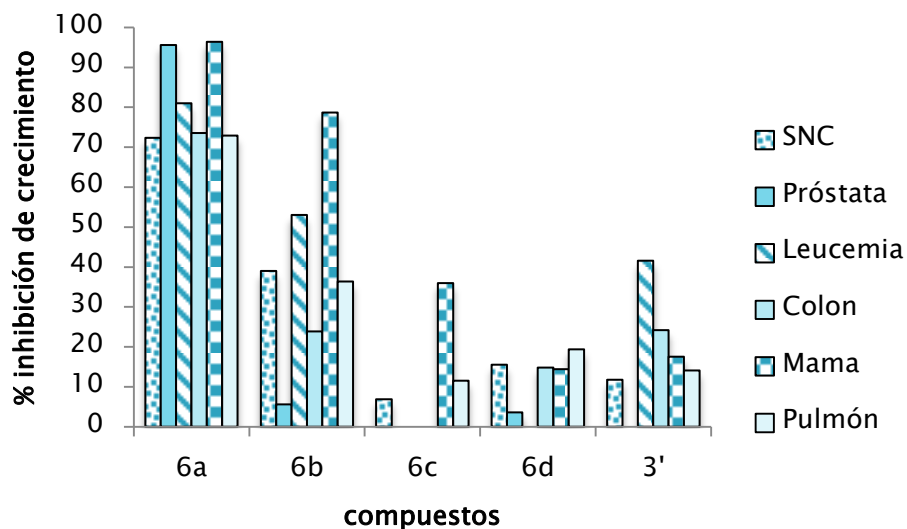


Figura 13. Gráfico del % de inhibición del crecimiento celular de los compuestos 6 y de la lactona análoga 3'.

Una vez identificados los compuestos líderes (con porcentajes inhibitorios mayores a 80% en una o varias líneas celulares cancerosas), sería importante avanzar al cálculo de las curvas de Concentración Inhibitoria CI_{50} , es decir, la concentración mínima que inhibe el crecimiento del 50% de las células cancerosas. Esta metodología determina la capacidad de inhibición de crecimiento de las células cancerosas a diferentes

concentraciones del compuesto ensayado, frente a agentes anticancerígenos comerciales.

6. CONCLUSIONES

- ▲ Se sintetizó una nueva familia de amidas secundarias 1,4-dihidropiridínicas con actividad biológica.
- ▲ Se preparó una nueva familia de δ -bromolactamas diazabíclicas [3.3.1] bajo condiciones suaves de reacción que también poseen actividad biológica.
- ▲ Los compuestos sintetizados se caracterizaron plenamente mediante las técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales (RMN ^1H , RMN ^{13}C , IR, EM).
- ▲ La ruta sintética de las bromolactamas sugiere el control de tres centros quirales y la obtención de una mezcla racémica de los productos formados.
- ▲ Se confirmó la regioespecificidad de la anillación mediada por bromo en la síntesis de los sistemas lactámicos bíclicos.
- ▲ Los ensayos preliminares de actividad citotóxica sobre células cancerosas humanas arrojan datos positivos en cuanto al desempeño de los compuestos probados. Se encontró que algunos de ellos poseen valores de inhibición mayores al 80 %.
- ▲ Todos los compuestos sintetizados presentaron mejor actividad citotóxica que sus análogos **3** y **3'**, con excepción de **6c** y **6d** que generaron resultados similares.
- ▲ Los resultados permiten proponer nuevos protocolos de investigación sobre la preparación de bromolactamas con modificaciones sobre la estructura de **6a**.

7. SECCIÓN EXPERIMENTAL

7.1 Equipos, reactivos y disolventes.

Todos los compuestos fueron caracterizados por espectroscopía de **RMN**, de 300 MHz para los núcleos ^1H y de 75 MHz para ^{13}C , utilizando un equipo Bruker Advance III. Únicamente para el compuesto **6c** se obtuvo su espectro de **RMN- ^1H** en el equipo Varian-Inova 500 MHz. Los experimentos se realizaron usando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia. Para la descripción de las señales se utilizan las siguientes abreviaciones: s (simple), d (doble), dd (doble de doble), ddd (doble doble doble), t (triple), dt (doble triple), c (cuádruple), q (quíntuple), m (múltiple).

La estructura de los compuestos fue corroborada por espectroscopía de **FT-IR**, utilizando el equipo Bruker Tensor 27, empleando la técnica de pastilla en KBr o película.

La espectrometría de masas se realizó utilizando la técnica Análisis Directo en Tiempo Real (DART, por sus siglas en inglés), con el equipo JEOL, The AccuTOF JMS-T100LC, utilizando He como gas ionizador.

Los puntos de fusión de los compuestos fueron medidos con un aparato Melt-Temp II, y se reportan sin corrección.

Se utilizaron reactivos y disolventes comerciales que contaban con la pureza y calidad necesarias para su uso inmediato. Con ellos se sintetizaron las materias primas **2** y **3**, siguiendo las metodologías reportadas por Ainsworth⁵⁰ y en trabajos previos de nuestro equipo de investigación⁵¹, respectivamente.

⁵⁰ Ainsworth, C; Kuo, Y. N.; *J. Organomet. Chem.*, **1972**, 46, 73-87

⁵¹ Gualo S., Nadia; “*Síntesis de lactonas bicíclicas vía trifluorometansulfonato de 1-[trifluorometil]sulfonil]piridinio y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”, Tesis de Maestría, **2007**, UNAM.

7.2 Procedimiento general para la síntesis de dihidropiridinpropanamidas.

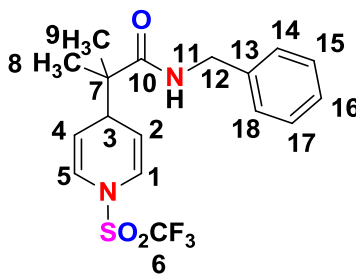
En un matraz bola de tipo Schlenk de 100 mL, provisto de agitación magnética, se colocó el ácido **3** (1.337 mmol) y bajo atmósfera inerte de N₂ se agregaron 15 mL de diclorometano anhidro. Se disminuyó la temperatura de la disolución hasta ~0 °C y, con ayuda de una jeringa, se agregaron 3 gotas de DMF anhidra, seguida de la adición lenta de 0.57 mL (6.685 mmol) de cloruro de oxalilo. La reacción libera burbujas moderadamente durante aproximadamente 10 minutos. La mezcla se protegió de la luz y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente, manteniendo la agitación constante por 30 minutos. La reacción se monitoreó por ccf, utilizando revelador de ácido fosfomolibdico.

Se evaporó el disolvente y el exceso de cloruro de oxalilo a presión reducida, manteniendo las condiciones anhidras. El sólido obtenido se volvió a disolver en 15 mL de diclorometano anhidro.

Por otra parte, en un matraz bola de fondo redondo de 100 mL, provisto de agitación magnética y bajo condiciones de atmósfera inerte, se preparó una disolución, en 10 mL de diclorometano anhidro, de 2.006 mmol de una de las aminas **4** y 2.006 mmol de trietilamina, la cual se enfrió a ~0 °C.

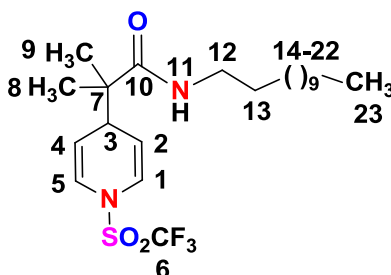
Con ayuda de una cánula, se trasvasó lentamente la disolución del cloruro de acilo al matraz que contenía la mezcla de aminas, observándose el desprendimiento de gas. La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de reacción, se llevó a cabo un lavado en un embudo de separación, utilizando 20 mL solución saturada de bicarbonato de sodio y 3 x 20 mL de agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anh. y el disolvente se evaporó a presión reducida. Finalmente, los productos **5a-c** se purificaron por cromatografía en columna abierta de gel de sílice con un sistema de elución 90:10 de n-hexano:acetato de etilo, mientras que el compuesto **5d** fue lavado en frío con volúmenes pequeños de n-hexano y acetato de etilo.

(5a) N-bencil-2-metil-1-[(trifluorometil)sulfonil]-1,4-dihidropiridin-4-il}propanamida.



(C₁₇H₁₉F₃N₂O₃S, *M* = 388 g/mol). Rendimiento 72 %. Sólido blanco cristalino. P. f. de 58-60 °C. **RMN-¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.12 - 6.99 (m, 5H, H¹⁴⁻¹⁸), 6.39 (t, 1H, H¹¹), 6.28 (d, ³*J*_{H-H} = 8.4 Hz, 2H, H^{1, 5}), 4.79 (dd, ³*J*_{H-H} = 8.4 Hz, ³*J*_{H-H} = 4.2 Hz, 2H, H^{2, 4}), 4.19 (d, ³*J*_{H-H} = 5.7 Hz, 2H, H¹²), 3.24 (t, 1H, H³), 0.93 (s, 6H, H^{8, 9}). **RMN-¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 176.2 (C¹⁰), 138.4 (C¹³), 128.7 (C^{15, 17}), 127.4 (C^{14, 16, 18}), 122.9 (C^{1, 5}), 119.5 (c, *J*_{C-F} = 322.5 Hz, C⁶), 110.3 (C^{2, 4}), 46.4 (C⁷), 43.5 (C¹²), 39.8 (C³), 21.5 (C^{8, 9}). **EM DART** *m/z* (int. rel., %) 389 (100, [M+1]⁺), 255 (36, [M-Tf]⁺), 212 (25, [M-176]⁺), 643 (16, [M-Tf]⁺), 776 (4, [M+M]⁺). **IR** (Película) *v* (cm⁻¹) 3400 – 3300 (NH, st), 1637 (C=O, st), 1526 (NH), 725, 697 (CH_{ar}, monosustitución).

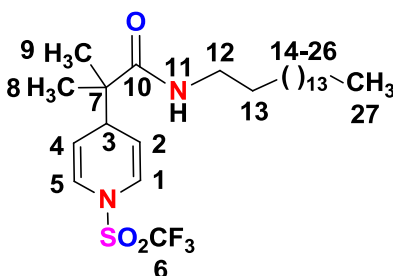
(5b) N-dodecil-2-metil-1-[(trifluorometil)sulfonil]-1,4-dihidropiridin-4-il}propanamida.



(C₂₂H₃₇F₃N₂O₃S, *M* = 466 g/mol). Rendimiento 53.6 %. Sólido blanco butiroso. P. f. de 30-32 °C. **RMN-¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.54 (d, ³*J*_{H-H} = 8.4 Hz, 2H, H^{1, 5}), 5.71 (t, 1H, H¹¹), 5.04 (dd, ³*J*_{H-H} = 8.4 Hz, ³*J*_{H-H} = 4.2 Hz, 2H, H^{2, 4}), 3.48 (t, 1H, H³), 3.25 (c, 2H, H¹²), 1.50 (q, 2H, H¹³), 1.26 (s, 18H, H¹⁴⁻²²), 1.14 (s, 6H, H^{8, 9}), 0.88 (t, 3H, H²³). **RMN-¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 175.7 (C¹⁰), 123.0 (C^{1, 5}), 119.5 (c, *J*_{C-F} = 322.5 Hz, C⁶), 110.3 (C^{2, 4}), 46.4 (C⁷), 39.8 (C³), 39.7 (C¹²), 31.9-21.6 (C¹³⁻²²), 21.6 (C^{8, 9}), 14.1 (C²³).

EM DART m/z (int. rel., %) 467 (100, $[M+1]^+$), 333 (32, $[M-Tf]^+$), 212 (77, $[M-254]^+$). **IR** (Película) ν (cm^{-1}) 3450 – 3250 (NH, st), 1632 (C=O, st), 1542 (NH).

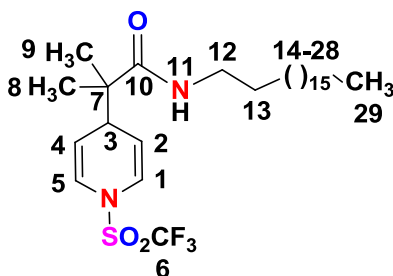
(5c) ***N*-hexadecil-2-metil-{1-[(trifluorometil)sulfonil]-1,4-dihidropiridin-4-il}propanamida.**



($\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, $M = 522$ g/mol). Rendimiento 62.6 %. Sólido blanco. P. f. de 50-52 °C.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.54 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.4$ Hz, 2H, $\text{H}^{1,5}$), 5.77 (t, 1H, H^{11}), 5.04 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 8.4$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 3.9$ Hz, 2H, $\text{H}^{2,4}$), 3.48 (t, 1H, H^3), 3.25 (c, 2H, H^{12}), 1.50 (q, 2H, H^{13}), 1.26 (s, 26H, H^{14-26}), 1.14 (s, 6H, $\text{H}^{8,9}$), 0.88 (t, 3H, H^{27}). **RMN- ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 175.7 (C^{10}), 122.9 ($\text{C}^{1,5}$), 119.5 (c, $J_{\text{C-F}} = 321.8$ Hz, C^6), 110.3 ($\text{C}^{2,4}$), 46.3 (C^7), 39.8 (C^3), 39.7 (C^{12}), 31.9-22.7 (C^{13-26}), 21.6 ($\text{C}^{8,9}$), 14.1 (C^{27}). **EM** DART m/z (int. rel., %) 523 (100, $[M+1]^+$), 389 (74, $[M-Tf]^+$), 312 (22, $[M-210]^+$), 212 (5, $[M-254]^+$). **IR** (KBr/Pastilla) ν (cm^{-1}) 3400 – 3300 (NH, st), 1629 (C=O, st), 1536 (NH).

(5d) ***N*-octadecil-2-metil-{1-[(trifluorometil)sulfonil]-1,4-dihidropiridin-4-il}propanamida.**



($\text{C}_{28}\text{H}_{49}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, $M = 550$ g/mol). Rendimiento 87.2 %. Sólido blanco. P. f. de 50 °C.

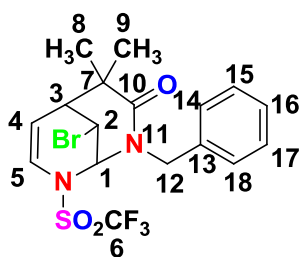
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.54 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.1$ Hz, 2H, $\text{H}^{1,5}$), 5.71 (t, 1H, H^{11}), 5.04 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 8.4$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 4.2$ Hz, 2H, $\text{H}^{2,4}$), 3.48 (t, 1H, H^3), 3.25 (c, 2H, H^{12}), 1.50 (q, 2H, H^{13}), 1.26 (s, 30H, H^{14-28}), 1.14 (s, 6H, $\text{H}^{8,9}$), 0.88 (t, 3H, H^{29}). **RMN- ^{13}C** (75

MHz, CDCl_3) δ (ppm) 175.7 (C^{10}), 123.0 ($\text{C}^{1,5}$), 119.5 (c, $J_{\text{C-F}} = 322.5$ Hz, C^6), 110.3 ($\text{C}^{2,4}$), 46.4 (C^7), 39.8 (C^3), 39.7 (C^{12}), 31.9-22.7 (C^{13-28}), 21.6 ($\text{C}^{8,9}$), 14.2 (C^{27}). **EM DART** m/z (int. rel., %) 551 (100, $[\text{M}+1]^+$), 417 (85, $[\text{M}-\text{Tf}]^+$), 212 (63, $[\text{M}-338]^+$), 121 (28, $[\text{M}-429]^+$). **IR** (KBr/Pastilla) ν (cm^{-1}) 3400 – 3300 (NH, st), 1631 (C=O, st), 1534 (NH).

7.3 Procedimiento general de para preparar δ -bromolactamas bicíclicas [3.3.1].

En un matraz bola de fondo redondo de 100 mL, provisto de agitación magnética, se agregó 1 equivalente de una de las amidas **5** y se disolvió en 10 mL de diclorometano seco. Se disolvieron 0.2 equivalentes de bromuro de tetrabutilamonio, 1.1 equivalentes de *N*-bromosuccinimida y 1.1 equivalentes de NaHCO_3 , en ese mismo orden. La reacción se mantuvo en agitación constante durante 30 minutos, protegida de la luz y a temperatura ambiente. La mezcla de reacción de trasvasó a un embudo de separación y se lavó con agua (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anh. y el disolvente se evaporó a presión reducida. Finalmente, los productos **6** se purificaron por cromatografía en columna abierta de gel de sílice con un sistema de elución 95:5 de *n*-hexano:acetato de etilo.

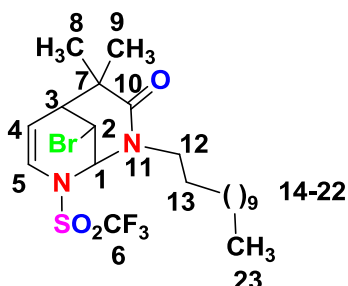
(6a) 2-bencil-9-bromo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometil)sulfonyl]-2,8-diazabicyclo[3.3.1]nona-1(9),6-dien-3-ona.



($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{BrF}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, $M = 467$ g/mol). Rendimiento 63.9 %. Sólido blanco. P. f. de 74-76 °C. **RMN- ^1H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.33 - 7.21 (m, 5H, H^{14-18}), 6.52 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.4$ Hz, 1H, H^5), 5.91 (s, 1H, H^1), 5.36 (m, 1H, H^4), 4.97 (m, 1H, H^2), 4.49 (s, 2H, H^{12}), 2.51 (m, 1H, H^3), 1.44 (s, 3H, H^8), 1.39 (s, 3H, H^9). **RMN- ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 156.3

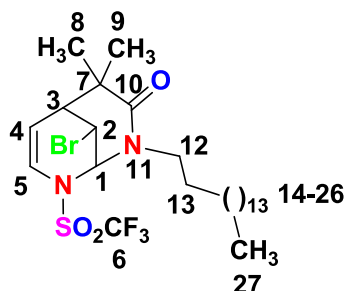
(C¹⁰), 140.0 (C¹³), 128.3 (C^{15, 17}), 127.4 (C^{14, 18}), 126.52 (C¹⁶), 120.7 (C⁵), 119.3 (c, J_{C-F} = 320.3 Hz, C⁶), 108.4 (C⁴), 82.71 (C¹), 49.9 (C¹²), 44.4 (C⁷), 43.5 (C³), 37.9 (C²), 27.8 (C⁸), 26.9 (C⁹). **EM DART** m/z (int. rel., %) 469 (100, [M+2]⁺), 467 (100, [M]⁺), 212 (20, [M-255]⁺). **IR** (KBr/Pastilla) ν (cm⁻¹) 1682 (C=O, st), 726, 699 (CH_{ar}, monosustitución).

(6b) 2-dodecil-9-bromo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometil)sulfonil]-2,8-diazabicyclo[3.3.1]nona-1(9),6-dien-3-ona.



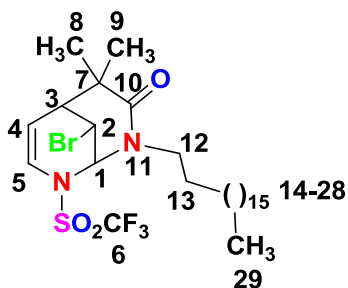
(C₂₂H₃₆BrF₃N₂O₃S, $M = 545$ g/mol). Rendimiento 76.4 %. Sólido blanco. P. f. de 34 °C. **RMN-¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.50 (d, $^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, 1H, H⁵), 5.84 (s, 1H, H¹), 5.32 (m, 1H, H⁴), 4.96 (m, 1H, H²), 3.25 (t, 2H, H¹²), 2.47 (m, 1H, H³), 1.44 (m, 2H, H¹³), 1.39 (s, 3H, H⁸), 1.30 (s, 3H, H⁹), 1.25 (s, 18H, H¹⁴⁻²²), 0.88 (t, 3H, H²³). **RMN-¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 155.0 (C¹⁰), 120.7 (C⁵), 119.3 (c, $J_{C-F} = 319.5$ Hz, C⁶), 108.3 (C⁴), 82.7 (C¹), 46.5 (C¹²), 44.1 (C⁷), 43.8 (C³), 38.2 (C²), 30.5 (C¹³), 31.9, 29.7-29.4, 27.4, 22.7 (C¹⁴⁻²²), 27.6 (C⁸), 26.9 (C⁹), 14.1 (C²³). **EM DART** m/z (int. rel., %) 547 (100, [M+2]⁺), 545 (94, [M]⁺). **IR** (Película) ν (cm⁻¹) 1691 (C=O, st).

(6c) 2-hexadecil-9-bromo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometil)sulfonil]-2,8-diazabicyclo[3.3.1]nona-1(9),6-dien-3-ona.



($C_{26}H_{44}BrF_3N_2O_3S$, $M = 601$ g/mol). Rendimiento 69.6 %. Sólido blanco. P. f. de 48-50 °C. **RMN- 1H** (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 6.50 (d, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, 1H, H^5), 5.85 (s, 1H, H^1), 5.32 (m, 1H, H^4), 4.95 (m, 1H, H^2), 3.25 (t, 2H, H^{12}), 2.47 (m, 1H, H^3), 1.45 (m, 2H, H^{13}), 1.40 (s, 3H, H^8), 1.31 (s, 3H, H^9), 1.25 (s, 26H, H^{14-26}), 0.88 (t, 3H, H^{27}). **RMN- ^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 155.4 (C^{10}), 120.7 (C^5), 119.3 (c, $J_{C-F} = 320.3$ Hz, C^6), 108.3 (C^4), 82.7 (C^1), 46.5 (C^{12}), 44.1 (C^7), 43.7 (C^3), 38.1 (C^2), 30.5 (C^{13}), 32.0, 29.7-29.4, 27.4, 22.7 (C^{14-26}), 27.6 (C^8), 26.9 (C^9), 14.1 (C^{27}). **EM DART** m/z (int. rel., %) 603 (100, $[M+2]^+$), 601 (94, $[M]^+$), 521 (17, $[M-Br]^+$). **IR** (KBr/Pastilla) ν (cm^{-1}) 1689 (C=O, st).

(6d) 2-octadecil-9-bromo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometil)sulfonyl]-2,8-diazabicciclo[3.3.1]nona-1(9),6-dien-3-ona.



($C_{28}H_{48}BrF_3N_2O_3S$, $M = 629$ g/mol). Rendimiento 73.6 %. Sólido blanco. P. f. de 46 °C. **RMN- 1H** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 6.50 (d, $^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, 1H, H^5), 5.84 (s, 1H, H^1), 5.32 (m, 1H, H^4), 4.96 (m, 1H, H^2), 3.25 (t, 2H, H^{12}), 2.47 (m, 1H, H^3), 1.44 (m, 2H, H^{13}), 1.39 (s, 3H, H^8), 1.30 (s, 3H, H^9), 1.25 (s, 30H, H^{14-28}), 0.88 (t, 3H, H^{29}). **RMN- ^{13}C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 155.0 (C^{10}), 120.7 (C^5), 119.3 (c, $J_{C-F} = 319.5$ Hz, C^6), 108.3 (C^4), 82.7 (C^1), 46.5 (C^{12}), 44.1 (C^7), 43.8 (C^3), 38.2 (C^2), 30.5 (C^{13}), 31.9, 29.7-29.4, 27.4, 22.7 (C^{14-22}), 27.6 (C^8), 26.9 (C^9), 14.1 (C^{23}). **EM DART** m/z (int. rel., %) 631 (100, $[M+2]^+$), 629 (93, $[M]^+$). **IR** (KBr/Pastilla) ν (cm^{-1}) 1690 (C=O, st).

7.4 Pruebas biológicas. Ensayo preliminar de citotoxicidad.

La determinación de la actividad citotóxica de los compuestos se realizó siguiendo el protocolo de Sulforrodamina B propuesto por el NCI (*National Cancer Institute*). Se ensayó sobre seis diferentes líneas celulares de cáncer humano, contenidas en el listado de las 60 posibles de la NCI:

- Cáncer del sistema nervioso central U251
- Adenocarcinoma de próstata PC-3
- Leucemia mieloblástica crónica K562
- Adenocarcinoma de colon HCT-15
- Adenocarcinoma de glándulas mamarias MCF-7
- Adenocarcinoma de pulmón SKLU-1

7.4.1 Preparación de las líneas celulares

Las células fueron adaptadas al medio de cultivo RMPI-1640 (medio 1640 del *Roswell Park Memorial Institute*) adicionando suero fetal bovino al 10%, una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10% y 2 mM de glutamina. Con excepción de la línea K562, las líneas restantes se adhirieron al pozo de cultivo y para cosecharlas se adicionó 1 mL de tripsina-EDTA al 0.05%. Una vez que las células se desprendieron del sustrato plástico del pozo de cultivo, se les adicionó 5-10 mL del medio de cultivo para inactivar la tripsina que se produce de la digestión de las proteínas de adherencia. Las células en suspensión se depositaron en tubos cónicos y se centrifugaron por tres minutos; ya formado el paquete celular, se adicionó el medio de cultivo para resuspender las células. De la suspensión se tomaron 0.05 mL y se agregaron a 0.045 mL de azul de triptófano.

7.4.2 conteo de células viables

Se tomó una alícuota de 10 μL y el conteo de las células se realizó en una cámara de Neubauer con ayuda de un microscopio. El número de células por mL de suspensión se calcularon con la siguiente ecuación.

$$C = (RC)(10^{-4})$$

Donde:

C = Número de células en 1 mL de suspensión

RC = Promedio de células obtenidas del conteo de la cámara de Neubauer

Una vez determinado el número de células por mililitro se depositó un inóculo de 10 μL /pozo.

7.4.3 Ensayo de actividad citotóxica

Se utilizaron microplacas de plástico, cada placa se inoculó con dos líneas celulares por triplicado y se preincubó por 24 horas a 37 °C bajo atmósfera de CO₂ al 5% y 100% de humedad relativa. Una vez que las células se encuentran en fase exponencial de crecimiento se adicionaron disoluciones de los compuestos problema en concentración de 0.01 μmol en 100 μL de DMSO y aforando hasta 200 μL con el medio, para finalmente incubar las células durante 48 horas bajo las mismas condiciones.

Al finalizar el periodo de incubación se fijaron las células *in situ*, añadiendo 50 μL de ácido tricloroacético al 50% para las células adheridas, y 80% para las células en suspensión, para incubarse nuevamente durante 60 minutos a 4 °C.

Las células se tiñeron con 100 μL de sulforrodamina B (SRB) al 0.4% y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de lavar tres veces con una solución de ácido acético al 1% y secar completamente, se adicionaron 100 μL de solución 10 mM *buffer* tris.

Finalmente la densidad óptica (DO) o absorbancia se determinó en un lector de microplacas, con una longitud de onda de 515 nm. La intensidad de color es

directamente proporcional al número de células vivas, y por lo tanto, a mayor coloración menor porcentaje de inhibición de crecimiento celular.

La citotoxicidad se calculó conforme a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición celular} = 100 - \left(\frac{B}{A \times 100} \right)$$

Donde:

A = Densidad óptica (DO) de las células sin tratamiento

B = DO de las células tratadas con las sustancias prueba o de referencia