



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“PREPARACIÓN DE DERIVADOS DE
QUINAZOLINA COMO AGENTES
CITOTÓXICOS POTENCIALES
EN LÍNEAS TUMORALES
MALÍGNAS”

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

PRESENTA:
ABRIL ALEJANDRA NIETO LARA



CIUDAD DE MÉXICO

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Profa. Consuelo García Manrique
VOCAL	Prof. Francisco Hernández Luis
SECRETARIO	Profa. Elena Guadalupe Ramírez López
1er. SUPLENTE	Profe. José Luis Medina Franco
2do. SUPLENTE	Profa. Paola Malinalli Hernández Hernández

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Departamento de Farmacia, Laboratorio 121, Conjunto E, Facultad de Química de la
Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Francisco Hernández Luis
Asesor

Abril Alejandra Nieto Lara
Sustentante

Agradecimientos:

Expreso mi agradecimiento a las siguientes personas:

Al Dr. Francisco Hernández Luis, por ser mi asesor de tesis, por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por las mejores clases que pude haber tenido en la Facultad de Química, por el entusiasmo y apoyo brindados para la realización de esta tesis. Por todo eso y mucho más, gracias.

Al Dr. César Mendoza Martínez, por el apoyo en la realización del docking, por todo el apoyo y ayuda que me brindo incondicionalmente en la realización de esta tesis, por compartir su experiencia y conocimientos conmigo, por el equipo de trabajo que formamos, por todas las palabras de aliento y consejos de vida, y por brindarme su valiosa amistad.

A la Mtra. en C. Silvia Patricia Doncel de la Torre, por compartir su experiencia y conocimientos conmigo, por su apoyo incondicional, y por brindarme su valiosa amistad.

Al Dr. Alfonso Lira Rocha, por compartir su experiencia y consejos. Por sus palabras de aliento y apreciable amistad.

A mi mamá y a mi papá, por todo su amor. Por todos estos años de apoyarme y de creer en mí.

A mi hermana Adriana, por todo el apoyo que me brindo durante mis estudios

A mis hermanos: Aldo y Anahí, por su compañía y por la entrega que dedican a sus estudios.

.A mis compañeros y amigos del laboratorio: Sol, Bárbara, Karen, Francisco, Pedro, Miguel, Audifas, Jackeline, Roberto, Verónica, y todos los que me ayudaron en este largo proceso de titulación.

Agradecimientos Institucionales:

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

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** de la que me siento orgullosa de pertenecer. Gracias a todos mis profesores por sus enseñanzas y excelente preparación.

A los miembros del jurado por las valiosas aportaciones al presente trabajo. Gracias por su tiempo y dedicación al mejoramiento de mi informe.

Expreso mi agradecimiento a la Dirección General del Personal Académico UNAM por la beca otorgada para la realización de esta tesis y para la presentación de un trabajo en un congreso nacional dentro del proyecto **UNAM-DGAPA-PAPIIT IN213914**.

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

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

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

Agradecimientos

Al Instituto de Química UNAM, por el apoyo en la realización de los estudios de citotoxicidad en líneas celulares; En particular a la Dra. Teresa Ramírez Apan.

Índice general

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes	3
2.1 Cáncer.....	3
2.1.1 Metástasis	5
2.1.2 Tipos de cáncer.....	6
2.1.3 Importancia del cáncer en el mundo.....	7
2.1.4 Importancia del cáncer en México.....	7
2.1.4.1 Morbilidad.....	8
2.1.4.2 Mortalidad.....	9
2.1.5 Tratamiento	10
2.1.5.1 Cirugía.....	10
2.1.5.2 Radioterapia	11
2.1.5.3 Quimioterapia	12
2.2 Dihidrofolato reductasa humana (DHFR)	16
2.2.1 Inhibidores de (DHFR).....	17
2.3 La 2,4,6-triaminquinazolina en la estrategia de compuestos a sintetizar. 19	
2.3.1 Diseño de fármacos asistido por computadora (DiFac).....	20
2.3.1.1 Análisis de secuencias	20
2.3.1.2 Acoplamiento molecular	21
3. Planteamiento del problema.....	21
4. Hipótesis.....	21
5. Objetivo general	21
5.1 Objetivos específicos.....	21
6. Metodología.....	23
6.1 Parte de síntesis química	23
6.1.1 Síntesis general de derivados de 2,4,6 triaminquinazolina, utilizando precursores que presentan cloruro de acilo en su estructura.....	23
6.1.1.1 Síntesis de N,N'-(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (1), N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (2), y de N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (4).	23
6.1.2 Síntesis general de compuestos, utilizando carbonildiimidazol como agente acoplante.....	24
6.1.2.1 Síntesis de N-[2,4-diaminoquinazolin-6-il) piridina-3- carboxamida (3).....	24
6.1.2.2 Síntesis de N-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (5) y de di-tert-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoyl] fenil} biscarbamato (6).	25

6.2 Parte teórica	27
6.2.1 Preparación de la proteína:	28
6.2.2 Docking molecular:	28
6.3 Evaluación biológica	28
6.3.1 Preparación de líneas celulares	28
6.3.1 Preparación del screening primario	29
6.3.2 Teñido celular	29
7. Resultados y discusión	29
7.1 Parte Química	29
7.1.1 Caracterización del compuesto de <i>N,N'</i> -(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (1)	33
7.1.2 Caracterización del compuesto de <i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (2)	35
7.1.2 Caracterización del compuesto <i>N</i> -[2,4-diaminoquinazolin-6-il) piridina-3- carboxamida (3)	40
7.1.3 Caracterización del compuesto <i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (4).	42
7.1.3 Caracterización del compuesto <i>N</i> -(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (5).	44
7.1.3 Caracterización del compuesto Di-tert-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoil] fenil} biscarbamato (6)	46
7.2 Parte teórica	49
7.3 Evaluación biológica	51
8. Conclusiones	54
Apéndice 1. Parte experimental	56
Apéndice 2. Colección de espectros de RMN- ¹ H, RMN- ¹³ C, IR y EM.	65
Anexo1	79
Bibliografía:	80

1. Introducción

El cáncer es una de las principales causas de muerte en México, se le considera un problema de salud pública grave. Para las mujeres mexicanas, el cáncer de mama es la principal causa de muerte, ya que cada año mueren más de 3500 pacientes. Por otra parte, el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por este tipo de enfermedad entre la población masculina mexicana.

El problema con el cáncer, además de su alta incidencia, es que en varias ocasiones su tratamiento no resulta exitoso. Actualmente se disponen de la quimioterapia, radiación, cirugía, y en el caso del cáncer de mama también se cuenta con terapia hormonal, para tratar de erradicar esta enfermedad.

En la quimioterapia actualmente se cuentan con un gran número de antineoplásicos, pero no hay moléculas capaces de presentar selectividad a células neoplásicas, por ende, provocan efectos adversos en los pacientes y muerte de células sanas.

Para que una molécula sea selectiva, debe interactuar con macromoléculas dianas (receptores) de alta presencia en concentración o función, dentro de las células tumorales. Para este trabajo de tesis, se seleccionó a la dihidrofolato reductasa (DHFR) como diana, por su sobreexpresión en algunos tumores. Uno de los inhibidores de la DHFR es la 2,4,6-triaminquinazolina (TAQ). Sin embargo, es muy inestable porque se oxida en su totalidad, a temperatura ambiente en menos de dos horas.

Con la intención de rebasar este problema, se decidió sintetizar derivados de TAQ colocando diversos sustituyentes en los grupos aminos de las posiciones 2 y 6 del núcleo de quinazolina. Posteriormente, se exploró su actividad citotóxica en células tumorales.

En este trabajo de tesis se presenta: la síntesis de varios derivados de quinazolina y su evaluación biológica en líneas celulares tumorales humanas. Resulta fundamental la exploración de los compuestos sintetizados, porque se tiene la intención de contribuir al conocimiento de los requerimientos estructurales necesarios con relación a la actividad

1. Introducción

citotóxica mostrada, tal y como se ha visto en trabajos de otros compañeros del laboratorio, los cuales han contribuido con sus valiosas aportaciones

2. Antecedentes

Este apartado presenta la información documental que da lugar al planteamiento del problema y sustenta la hipótesis expuesta en este trabajo de tesis. La primera parte aborda los aspectos generales del cáncer. La segunda parte incluye los conocimientos de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR) como diana terapéutica en la búsqueda de nuevos agentes quimioterapéuticos. La tercera presenta algunas de las consideraciones sobre las estrategias empleadas en el diseño de las moléculas sintetizadas.

2.1 Cáncer

El cáncer es un grupo de enfermedades caracterizadas por un incontrolado crecimiento y propagación de células anormales que pueden llevar a la muerte. Este término es utilizado para identificar una afección clínica de carácter maligno que afecta a un paciente. (American Cancer Society, 2011)

El cáncer puede empezar casi en cualquier lugar del cuerpo humano, el cual está formado de trillones de células. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen, o se dañan, mueren, y células nuevas las reemplazan.

Sin embargo, en el cáncer, este proceso ordenado se descontrola. A medida que las células se hacen más y más anormales, las células viejas o dañadas sobreviven cuando deberían morir, y células nuevas se forman cuando no son necesarias. Estas células adicionales pueden dividirse sin interrupción y pueden formar masas que se llaman tumores. (Instituto Nacional del Cáncer, 2015)

Las siguientes cuatro características describen como se comportan las células cancerosas, en comparación a las células normales. (Isselbache, J; Kurt, G; Harrison's, 1998)

1. Clonalidad: en la mayoría de los casos, el cáncer se origina de una sola célula que prolifera en copias de células malignas.

2. Antecedentes

2. Autonomía: el crecimiento no es regulado correctamente por las influencias bioquímicas y físicas normales en el ambiente.
3. Anaplasia: diferenciación celular.
4. Metástasis: las células cancerosas desarrollan la capacidad para crecer de forma descontrolada y para difundir a otras partes del cuerpo.

El cáncer es una enfermedad genética, lo que indica que es provocada por cambios en los genes que controlan la forma cómo funcionan las células, especialmente la forma cómo crecen y se dividen. En el desarrollo del cáncer van a estar implicados factores ambientales (tabaco, organismos infecciosos, agentes químicos y radiación) y factores genéticos (mutaciones heredadas de los progenitores y mutaciones que se producen a partir del metabolismo de xenobióticos). Estos factores causales pueden actuar juntos o en secuencia para iniciar o promover la carcinogénesis. (Figura 1) (Irigaray, y otros, 2007)

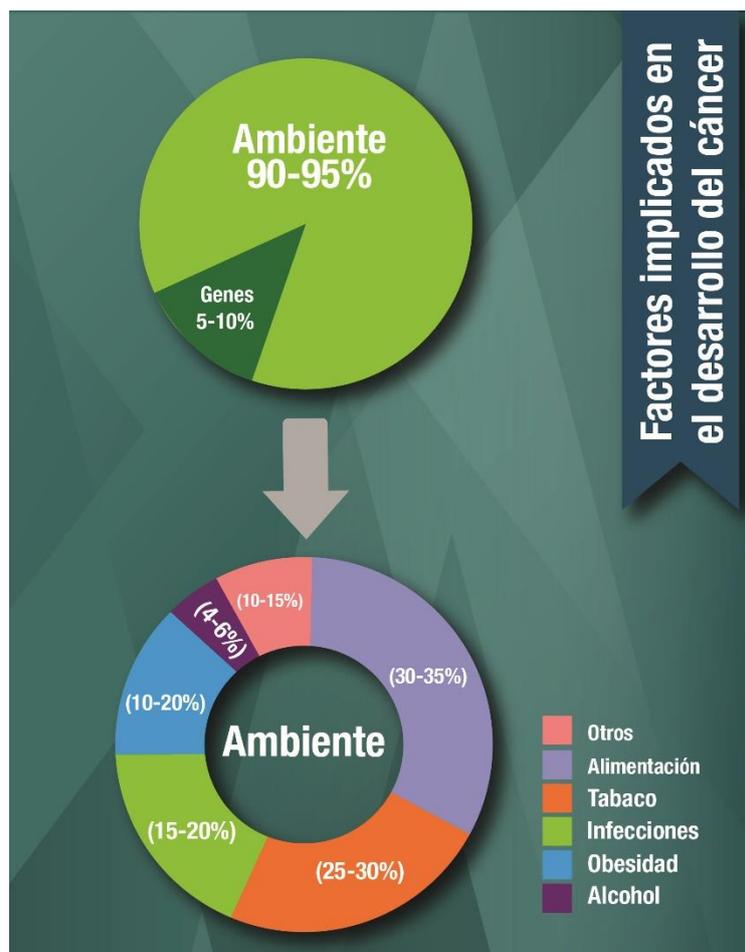


Figura 1. Factores implicados en el desarrollo del cáncer

2. Antecedentes

La *carcinogénesis* es el término utilizado para denominar al proceso en el cual las células normales se transforman en cancerígenas, es decir, adquieren la capacidad de multiplicarse descontroladamente e invadir tejidos y órganos. (Hans-Olov, 2002)

En el modelo de carcinogénesis en la piel de ratón (Oliveira, P.A, 2007) se han logrado identificar los siguientes estadios:

1. **Iniciación:** se da con la inducción de mutación en el ADN de una célula somática, produciéndose un cambio genético irreversible.
2. **Promoción:** se estimula la expansión tumoral del clon mutado, aumentando así la proliferación celular.
3. **Progresión:** en este estadio se produce la acumulación de mutaciones y se genera el fenotipo maligno o invasivo.

2.1.1 Metástasis

El cáncer es capaz de propagarse por el cuerpo principalmente por la vía de la metástasis. La metástasis se da cuando las células abandonan el tumor primario para diseminarse por el organismo y formar un tumor en un lugar anatómicamente distante. (Brooks, Lomax- Brownie, Carter, Kinch, & Hall, 2010)

En el proceso de metástasis las células cancerosas se separan del sitio donde se formaron inicialmente (cáncer primario), se desplazan por medio del sistema vascular o linfático, y forman nuevos tumores (tumores metastásicos) en otras partes del cuerpo. El tumor metastásico es el mismo tipo de cáncer que el tumor primario.

Para que una célula cancerosa se establezca en otro tejido debe pasar por los siguientes pasos:

- ❖ **Paro y extravasación:** las células de cáncer se detienen o dejan de moverse en vasos sanguíneos pequeños, llamados capilares, en un sitio distante. Después invaden las paredes de los capilares y emigran a los tejidos del rededor.
- ❖ **Proliferación:** las células de cáncer se multiplican en un lugar distante para formar tumores pequeños llamados micrometástasis.

2. Antecedentes

- ❖ **Angiogénesis:** la micrometástasis estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos para conseguir un suministro de sangre, el cual es necesario para obtener el oxígeno y los nutrientes necesarios para el crecimiento continuo del tumor.

Es importante mencionar que no todas las células cancerosas, por sí mismas, tienen la capacidad para producir metástasis, y no todas las que llegan a otras partes del cuerpo forman un tumor metastático. Las células del cáncer metastático pueden mantenerse en estado de latencia por tiempo indefinido. (Instituto Nacional del Cáncer, 2015)

Los cánceres que más producen metástasis son los más frecuentes, como el cáncer de mama, el cáncer de pulmón y el cáncer colorrectal. La formación de metástasis es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con cáncer. El 98% de las muertes por cánceres no detectados, son debidas a la metástasis. (Duffy, M.J; Gowan, P.M; Gallagher, W.M, 2008)

2.1.2 Tipos de cáncer

Los tipos de cáncer generalmente reciben el nombre de los órganos en donde se forman. Por ejemplo, el cáncer de cerebro empieza en las células de cerebro. Los cánceres pueden también describirse según el tipo de célula que los forma como célula epitelial o célula escamosa. (Instituto Nacional del Cáncer, 2015)

Los cánceres también suelen nombrarse dependiendo el tejido en el que aparecen. Por ejemplo, el término carcinoma se refiere a tumores en el tejido epitelial como membranas mucosas y glándulas (cáncer de mama, ovario y pulmón); este tipo de cáncer es el más común. El término sarcoma describe a los cánceres que se forman en el hueso y en los tejidos blandos, incluso en músculos, tejido adiposo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y en tejido fibroso (como tendones y ligamentos). Los cánceres que empiezan en los tejidos que forman la sangre en la médula ósea se llaman leucemias y se presentan debido a la acumulación en la sangre de glóbulos blancos anormales (células leucémicas y blastocitos leucémicos). El linfoma es un cáncer que empieza en los linfocitos (células T o células B). El mieloma múltiple es cáncer que empieza en la célula plasmática (células inmunitarias). El melanoma es cáncer que

2. Antecedentes

empieza en las células que se convierten en melanocitos, los cuales son células especializadas en producir melanina. (Méndez, 2012)

2.1.3 Importancia del cáncer en el mundo

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo y se ha definido como la enfermedad del siglo XXI. En 2012 hubo unos 14 millones de nuevos casos y 8.2 millones de muertes relacionadas con el cáncer. En ese mismo año los cánceres diagnosticados con más frecuencia en el hombre fueron los de pulmón, próstata, colon y recto, estómago e hígado. En la mujer fueron los de mama, colon y recto, pulmón, cuello uterino y estómago. Se prevé que el número de nuevos casos, de personas con cáncer, aumente en aproximadamente un 70% en los próximos 20 años. En la Figura 2 se puede apreciar que el cáncer es la primera causa de muerte desde 2005 y cómo se estima su evolución hasta 2030. (OMS, 2014)

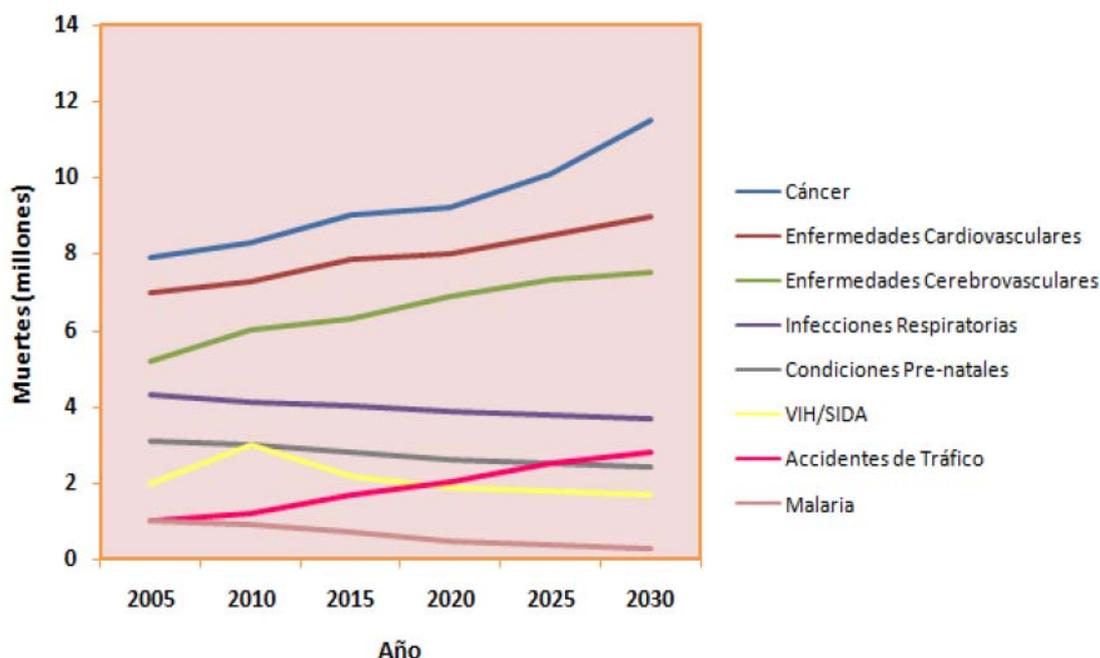


Figura 2. Evolución en el tiempo de enfermedades crónicas, no transmisibles y traumatismos.

2.1.4 Importancia del cáncer en México

En México se está presentando una disminución en la incidencia de las enfermedades infecciosas y un aumento en las enfermedades crónico-

2 Antecedentes

degenerativas. Entre estas últimas, el cáncer ocupa el tercer lugar, sólo por debajo de diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares. (Meneses, 2012) En México, entre el año 1922 y el año 2001, la proporción de muertes por cáncer pasó de 0.60% a 13.1% de la población. En el 2002 existieron 110,094 casos de cáncer, de los cuales el 34.9% se presentaron en hombres y el 65.1% en mujeres, reflejando también que a mayor edad aumenta la incidencia de casos. (Secretaría de salud, 2011)

2.1.4.1 Morbilidad

La morbilidad es aquel término que se utiliza para relacionar el número de personas que enferman (en este caso de cáncer) en un lugar y tiempo determinados en relación con el total de la población. La morbilidad hospitalaria permite observar el número de egresos de un hospital clasificados de acuerdo con la principal afección.

Durante el 2010, el total de egresos hospitalarios por tumores fue de 56% debidos a tumores malignos; para el caso de la población infantil y joven (menores de 20 años), la proporción de egresos hospitalarios por tumores malignos en relación con los tumores en general es más alta que en la población adulta (71.8% y 53.4%, respectivamente). (Estadísticas INEGI, 2010)

Los principales tumores malignos que afectaron a la población femenina adulta (de 20 años en adelante) que fue hospitalizada por este diagnóstico son el cáncer de mama (24.3%), el cervicouterino (9.7%) y el de colon (3.2 por ciento), en los varones adultos se concentran en cáncer de próstata (7.9%), bronquios y pulmón (4.9%) y colon (4.6 %). (Fig. 3)

2. Antecedentes

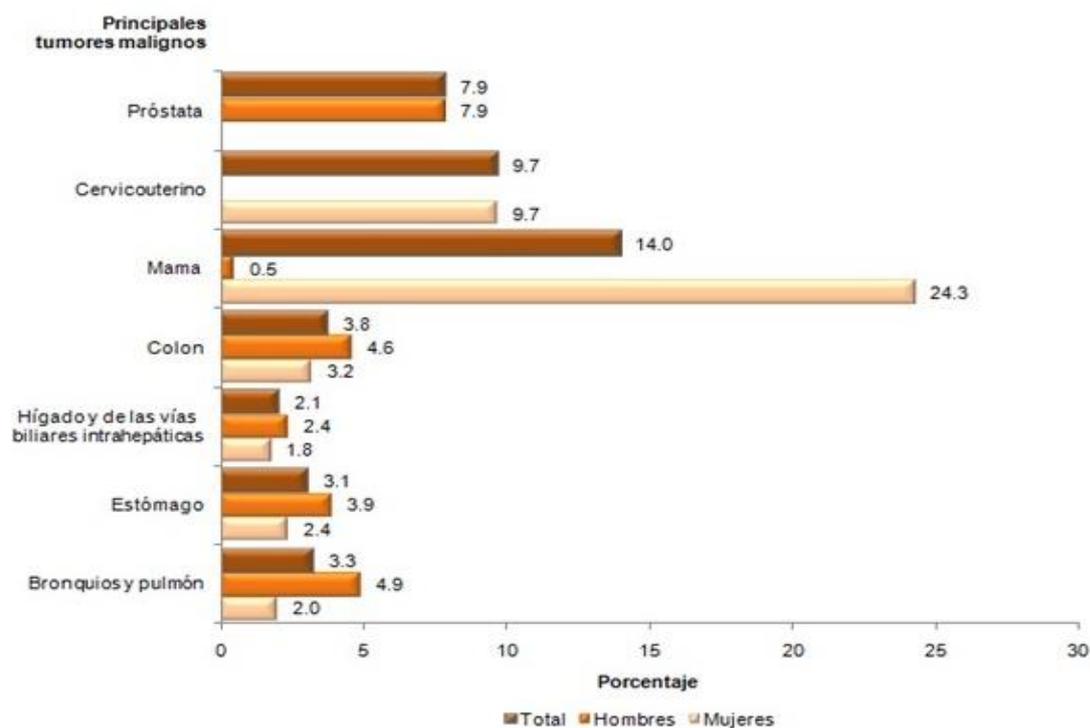


Figura 3. Porcentaje de morbilidad hospitalaria de la población de 20 años en adelante, por principales tumores malignos según sexo. Fuente: SSA (2011), Base de egresos hospitalarios 2010. Proceso INEGI.

2.1.4.2 Mortalidad

En México durante el 2011, del total de defunciones en el país, 12.9% fueron por algún tumor y de éstos, 93.6% se debieron a neoplasias malignas. Entre los jóvenes menores de 20 años, se observa que 5.3% fallecieron por algún tumor, ya sea maligno o benigno, de los cuales 86.3% fueron cancerosos.

En 2011, entre los principales tumores malignos por los que falleció la población de 20 años en adelante, se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres. Las mujeres mueren por cáncer de mama (13.8%), por cervicouterino (10.4%) y de estómago (7%). En tanto que los hombres fallecen por cáncer de próstata (16.9%), de bronquios y pulmón (12.8%) y de estómago (8.6%). (Fig. 4)



Figura 4. Porcentaje de defunciones en población de 20 años en adelante, por principales tumores malignos según sexo. Fuente: INEGI (2012). Estadísticas de Mortalidad. Cubos dinámicos. Procesó INEGI.

2.1.5 Tratamiento

En la actualidad existen diversos tratamientos contra el cáncer. El tratamiento que se utiliza depende del tipo de cáncer que se tenga y de qué tan avanzado se encuentre éste, así como del estado físico del paciente. Las principales modalidades de tratamiento son: cirugía, radioterapia y quimioterapia. También pueden administrarse otro tipo de terapias específicas para algunos tumores como la hormonoterapia, la inmunoterapia, el tratamiento con láser, entre otros. (Rosenthal, S.A, 2009)

2.1.5.1 Cirugía

La cirugía es la extirpación del tumor y del tejido circundante durante una operación. Se sabe que la cirugía es el tratamiento más antiguo usado contra el cáncer y, en la actualidad, sigue siendo un tratamiento eficaz para muchos tipos de cáncer.

La cirugía se usa con frecuencia para extirpar todo el tejido canceroso o parte de este después del diagnóstico. También se emplea en estadios pre-cancerosos, eliminando lesiones que con el tiempo puede convertirse en malignas. Sirve también para averiguar dónde se encuentra el cáncer, si se ha diseminado y si está afectando la función de otros órganos del cuerpo. (American Society of clinical Oncology (ASCO), 2014)

2. Antecedentes

La cirugía es la primera y más importante arma diagnóstica y terapéutica en el manejo del cáncer. Alrededor de un 70% de todos los tumores malignos requieren algún tipo de intervención quirúrgica, alcanzando un mayor número de curaciones que con cualquier otra de las armas terapéuticas disponibles. (Díaz, E; García J, 2000)

A pesar de que la cirugía es una buena herramienta contra el cáncer tiene aspectos en su contra como: los efectos secundarios, los cuales varían de una persona a otra según el tipo y la ubicación del cáncer, el tipo de cirugía y la salud general de la persona; también se ha demostrado que la cirugía es útil en algunos tipos de cáncer (piel, colón, mama) pero en otros tipos de cáncer (pulmonar, esofágico) la tasa de curación sigue siendo muy baja, por lo que debe optarse por otros tratamientos. (William, J; Kolb, D, 1999)

2.1.5.2 Radioterapia

La radioterapia es un tratamiento contra el cáncer, en el cual se emplean rayos x de alta potencia (radiación) para destruir células cancerosas y reducir tumores. La radiación es energía que se transmite mediante ondas o mediante una corriente de partículas. Funciona al dañar los genes (DNA) en las células. Los genes controlan la manera en que las células crecen y se dividen. Cuando la radiación daña los genes de las células cancerosas, estas ya no pueden crecer y dividirse. Con el tiempo (días, meses) las células mueren y siguen muriendo semanas o meses después de terminar la radioterapia. (American Society of clinical Oncology (ASCO), 2014)

Existen dos tipos de radioterapia: en uno se apunta la radiación directamente al tumor desde fuera del cuerpo (radiación externa) y en el otro la radiación se coloca dentro del cuerpo (radiación interna). En este último se puede utilizar el método en el que se colocan semillas radiactivas dentro o cerca del tumor (braquiterapia); o el método de radiación líquida por vía intravenosa, en el cual se bebe o se traga la radiación, empleada para buscar y destruir las células cancerosas.

La radioterapia puede utilizarse para casi cualquier tipo de cáncer, es decir es muy efectiva, pero puede presentar algunos inconvenientes, ya que puede dañar o destruir las células sanas. La destrucción de estas células puede conducir a efectos secundarios: cansancio, problemas en la piel, pérdida de cabello, falta

de apetito entre otros. La radioterapia puede ser cara. Usa máquinas complejas e implica los servicios de muchos proveedores médicos. (Zemen, E.M; Schreiber, E.C; Tepper J.E, 2013)

2.1.5.3 Quimioterapia

Se denomina quimioterapia al tratamiento contra el cáncer que emplea agentes químicos. Estos agentes incluyen una gran variedad de fármacos (agentes químicos citotóxicos) capaces de destruir las células cancerígenas que componen el tumor. (Klimes,D; Kubasek, M; Smid, R; Dusek, L, 2009)

La quimioterapia ha adquirido un creciente interés e importancia en los últimos años debido a que es uno de los tratamientos más comunes y efectivos. (Khadraoui, S; Harrou, F; Nounou, N.H; Nounou, M.N; Datta, A; Battacharyya, S.P, 2016)

Actualmente, se utilizan 20 y 30 compuestos quimioterapéuticos en el tratamiento del cáncer. Este tratamiento se administra en forma de ciclos y, dependiendo del tipo de cáncer, y de los fármacos que se vayan a emplear, la quimioterapia puede administrarse por vía oral o intravenosa. (Bellmunt, J; Albiol, S; Suárez, C; Albanell, J, 2009)

Los fármacos más recientes utilizados en la quimioterapia se conocen como fármacos dirigidos, debido a que dañan las células cancerosas bloqueando los genes o las proteínas que se encuentran en su interior. Estos fármacos suelen causar diferentes efectos secundarios, pero por lo general dañan menos a las células sanas en comparación con otros tratamientos. (American Society of clinical Oncology (ASCO), 2014)

Los fármacos quimioterapéuticos que se usan actualmente en el tratamiento de procesos malignos se pueden clasificar de diversas maneras. Esta clasificación atiende al punto de acción del antineoplásico:

- Antineoplásicos que actúan sobre el DNA
- Antineoplásicos que actúan sobre la mitosis sin afectar al DNA
- Antineoplásicos que actúan sobre factores extracelulares de división celular.
- Antineoplásicos que actúan sobre el sistema inmunitario

2. Antecedentes

Los agentes quimioterapéuticos se clasifican como se muestran en la Tabla 1. (Tanaka, H; Matsushima, H; Mizumoto, N; Takashima, A, 2009) (Lorenzo, P, 2009)

Categoría	Descripción	Tipos	Subtipos	Actividad	Ejemplos
Activos sobre la fase S del ciclo celular.	Sustancias que actúan como antimetabolitos.	Antagonizan los precursores del DNA en biosíntesis.	Análogos del ácido fólico.	Agentes que se fijan firmemente a la dihidrofolato reductasa, impidiendo la conversión del dihidrofolato en tetrahidrofolato, el cual actúa como donante de grupos monocarbonados para la síntesis de purinas, pirimidinas y ácidos nucleicos.	Metotrexato y trimetrexato
			Análogos de bases púricas.	Se incorporan al DNA en forma de desoxirribósidos y al RNA en forma de ribósidos, interviniendo con la replicación del material genético. También inhiben síntesis de bases púricas mediante sistemas alostéricos de retroalimentación.	Fluoderabina, Tioguanina, 6-mercaptopurina, Azatioprina.
				Inhiben enzimas de la vía biosintética de los ribósidos desoxirribósidos primidínicos.	5-fluoracilo, Citarabina, Tegafur.

2. Antecedentes

Activos sobre la fase S del ciclo celular.	Sustancias que actúan como antimetabolitos	Antagonizan los precursores del DNA en biosíntesis.	Análogos de bases pirimídicas.	Inhiben la timidilato, ácido morótico descarboxilasa, DNA polimerasa.	
		Bloqueo de la topoisomerasa I.	N/A	Inhiben síntesis de nuevas moléculas de DNA	Campotecinas: Irinotecan, Tepotecan.
Activos sobre la fase M del ciclo celular	Son tóxicos del uso meiótico, por lo que detienen la mitosis en la metafase.	N/A	Alcaloides de la Vinca	Se unen específicamente a la tubulina formadora del uso mitótico y alteran el movimiento del uso celular ocasionando su destrucción y la dispersión de los cromosomas impidiendo la mitosis.	Videsina, vinblastina, vincristina y vinorelbina.
			Toxoides	Se unen a la fracción beta de los microtúbulos impidiendo su despolimerización originando enlaces estables y por tanto, túbulos no funcionales. Esto genera intervención en la división celular y produce la destrucción de la célula.	Docetaxel, Paclitaxel
			Mostazas Nitrogenadas	Agentes que pueden reaccionar en forma covalente	Ciclofosfamida, Clorambucilo, Isofosfamida.

2. Antecedentes

Activos independientes de la fase celular	N/A	Agentes alquilantes	Nitrosoureas	con las bases de DNA. Si tienen dos grupos reactivos se producen entrecruzamientos intra e intermoleculares en la doble hélice del DNA, además inhiben la separación de material genético necesariamente previa a la división celular.	Carmustina, Estramustina
			Etilenoínas		Tiotepa, Altretamina
			Alquisulfonas		Busulfa
		Triazenos	Dacarbazina, Procarbazina		
		Complejos de platino	N/A		Cisplatino, Carboplatino
Fármacos que son factores extracelulares de estímulo o inhibición de la división celular	Las hormonas esteroides son transportadas hasta el núcleo de la célula, en donde se una a la cromatina, en general estimulan la transcripción y en consecuencia la síntesis proteica, pero también puede inhibir la transcripción y mitosis de células normales. Los glucocorticoides suprimen la mitosis en los linfocitos y los	Hormonales	Antagonistas de estrógenos	Dado que la glándula prostática normal es suprimida por los estrógenos, al parecer debido a un mecanismo competitivo con los andrógenos, los estrógenos se utilizan para el tratamiento del cáncer de próstata.	Tamoxifeno, Aminoglutetimida
			Antagonista de andrógenos	Ejercen un efecto antiestrogénico y son usualmente empleados en ciertos tumores mamarios (aquellos que sí presentan receptores estrogénicos).	Fosfestrol, Flutamida
				Se comportan como antiestrogénos en	Medroxiprogesterona, Magestrol

2. Antecedentes

	fibroblastos, debido a que en apariencia inhiben la transcripción.		Progestágenos	el endometrio y pueden utilizarse en la quimioterapia del cáncer endometrial.	
			Análogos de la hormona LH-RH	Ejercen efectos centrales para inhibir la síntesis de andrógenos y estrógenos.	Buserelina, Goserelina, Leuprorelina
			Glucocorticoides	Suprime la angiogénesis tumoral sin ejercer la actividad glucocorticoide ni mineralocorticoide.	Tetrahydrodesoxicorticosterona

2.2 Dihidrofolato reductasa humana (DHFR)

La DHFR es una enzima que se encuentra en células eucariotas donde participa en la síntesis de timina (base nitrogenada del DNA). El papel que desempeña la DHFR en esta ruta metabólica es la reducción del ácido dihidrofólico al ácido tetrahidrofólico (Figura 5). Es una enzima NADPH dependiente y el sitio de unión al ácido dihidrofólico es muy cercano al de este cofactor. (Kompis, I.M; Islam, K; Then, R.L, 2005)

2. Antecedentes

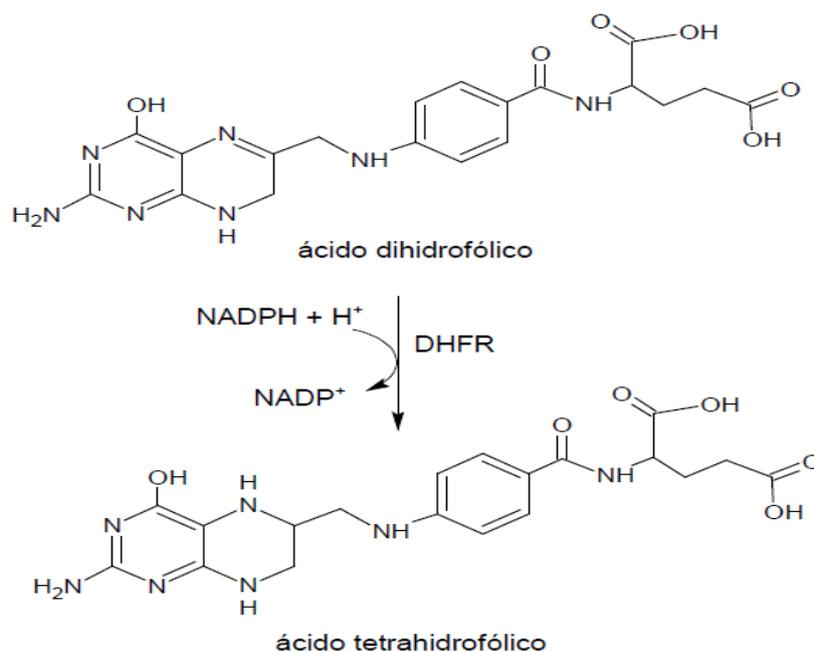


Figura 5. Reducción de ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico

2.2.1 Inhibidores de (DHFR)

La inhibición de la DHFR previene la biosíntesis de timidina y como consecuencia, la biosíntesis de DNA. También la inhibición de esta enzima puede dar lugar a un incremento de deoxiuridin trifosfato, provocando que las enzimas reparadoras de DNA (uracil-DNA-glicosilasa) no puedan hacer nada ante el exceso de uracilo que es incorporado al DNA, generando así la muerte celular. (Zucotto, 2000)

Los inhibidores de la DHFR pueden ser utilizados como antineoplásicos, antiparasitarios, antibacterianos o antiartríticos. (Croft, S.L; Coombs, G.H, 2003)

Entre los fármacos que actúan de esta forma se encuentran la primetamina (antipalúdico), trimetoprima (antibacteriano), cicloguanilo (antipalúdico discontinuado) y metotrexato (antineoplásico, antiartrítico y activo contra *T.cruzi*) (Figura 6).

2. Antecedentes

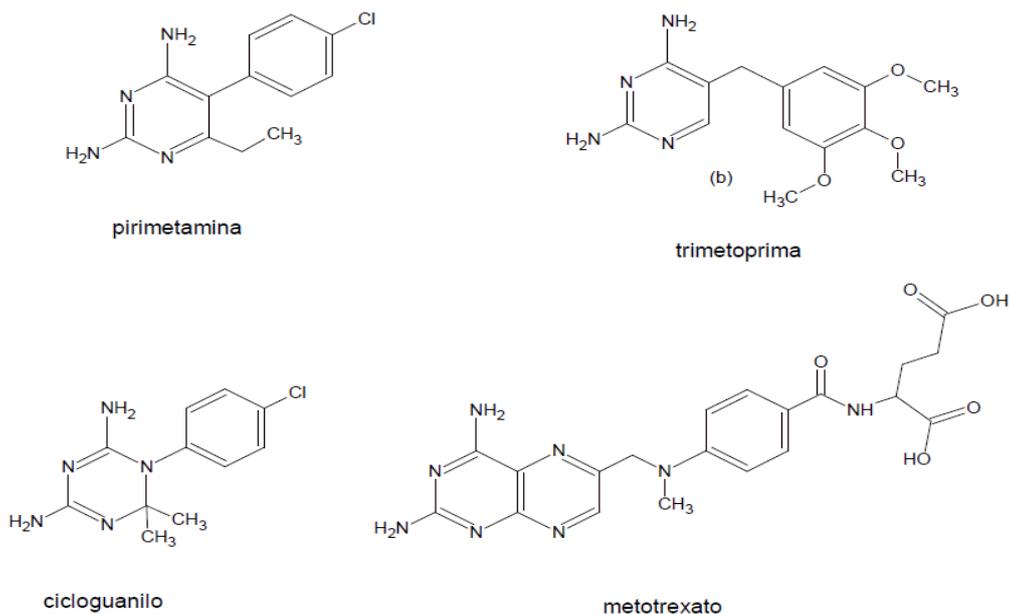


Figura 6. Fármacos inhibidores de la dihidrofolato reductasa.

Se han diseñado diversos inhibidores con la intención de contar con moléculas más selectivas. De los grupos con más éxito son los derivados de 2,4-diaminopirimidina, 2,4-diaminopteridinas y 2,4-diamino[1,4]dioxino[2,3-*d* pirimidina] y por último el más significativo, la 2,4,6-triaminquinazolina por la selectividad mostrada hacia las células neoplásicas (Figura 7). (Mendoza, C, 2015)

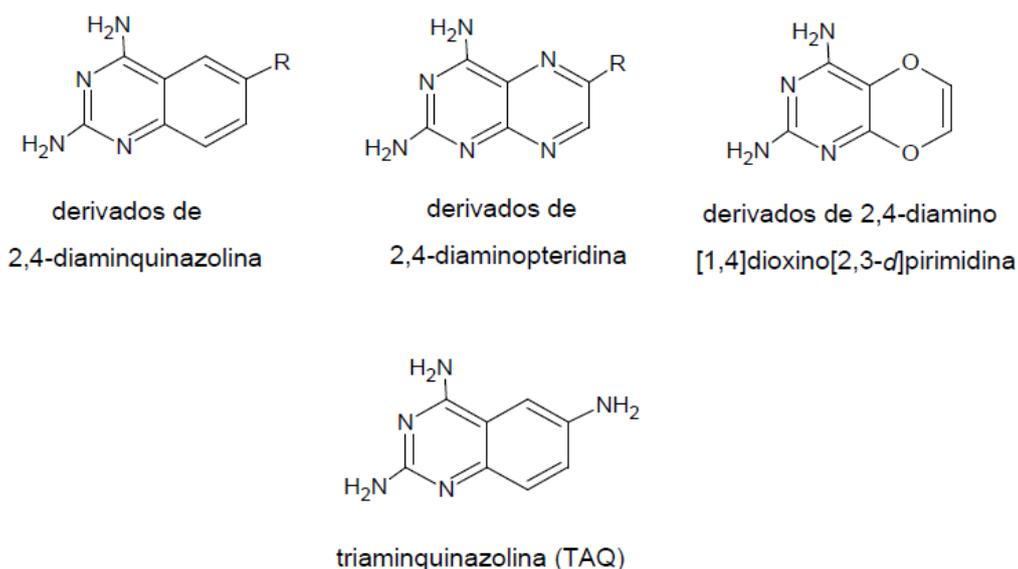


Figura 7. Inhibidores de DHFR con mayor selectividad antitumoral

2.3 La 2,4,6-triaminquinazolina en la estrategia de compuestos a sintetizar

Para atacar el cáncer, algunos grupos de investigación han diseñado inhibidores de DHFR con la intención de contar con compuestos de mayor selectividad, encontrando que algunos análogos de ácido fólico han generado interés como agentes potenciales contra el tratamiento de tumores sólidos. De los grupos con mayor éxito, están los que utilizan como núcleo la 2,4,6 triaminquinazolina (Figura 8) (Gilbert, 2002).

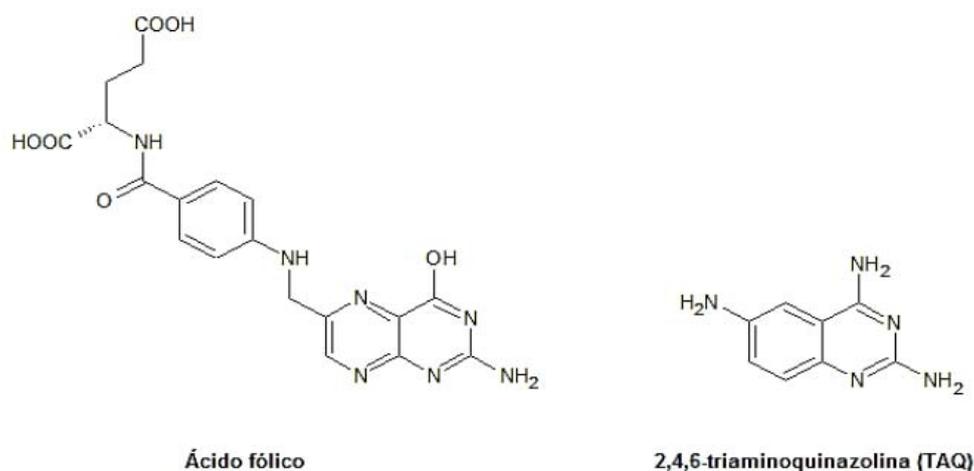


Figura 8. Comparación estructural entre ácido fólico y TAQ.

2,4,6-triaminquinazolina (TAQ) es un inhibidor de la DHFR, muy importante por la selectividad mostrada en células neoplásicas. Sin embargo, no puede ser utilizado como fármaco, ya que es muy inestable, se oxida en su totalidad a temperatura ambiente en menos de dos horas. Por lo tanto, se ha buscado sintetizar compuestos análogos.

Se ha demostrado que en la enzima DHFR humana, el canal de unión entre el folato y el sitio de unión NADPH contiene la secuencia Glut20-Asp21, lo que provoca una carga parcial negativa en este sitio. Así que, si se toma como núcleo análogo del scaffold pteridina del dihidrofolato a la TAQ, y se realiza una sustitución que provoque una carga parcial positiva en su posición 6 de la quinazolina, se puede obtener una molécula afín al sitio activo de la DHFR humana. (Zucotto, 2000)

2.3.1 Diseño de fármacos asistido por computadora (DiFac)

El diseño de fármacos asistido por computadora es un área de la química farmacéutica que consiste en aplicar algún procedimiento realizado por una computadora para relacionar la actividad biológica de una molécula con su estructura. Los objetivos de estos estudios son descubrir nuevos prototipos (lead), y optimizarlos en su actividad biológica. (Stahura, Xue, Godden, & Bajorath, 2002)

Esta área de la química farmacéutica requiere del conocimiento de las herramientas computacionales ya existentes. También existen herramientas computacionales que nos permiten una visualización del receptor y de la forma en que un ligando interactúa con el mismo. A esto se le conoce como acoplamiento molecular o “*docking*”. Otra área de aplicación es el análisis cuantitativo estructura actividad (QSAR), lo cual permite conocer los requerimientos estructurales de una serie de moléculas con base a sus propiedades moleculares (descriptores) aplicado a un análisis estadístico. (Fay, 2006)

2.3.1.1 Análisis de secuencias

Esta herramienta permite analizar y comparar una serie de secuencias ya sea de una cadena de nucleótidos o aminoácidos. Para esto existen varios programas basados en diferentes logaritmos. (Bruno, Malde, Poliakov, Couronne, Dubchack, & Batzogla, 2005)

Los datos que se obtienen de estos estudios son:

- ❖ **Identidad:** es el número de aminoácidos idénticos en dos o más secuencias proteicas. Se expresa en porcentaje.
- ❖ **Consenso:** es el resultado del alineamiento de las secuencias en el que se toma en cuenta tanto la identidad como la similitud (número de aminoácidos que se pueden comportar de una forma semejante por sus propiedades de liposolubilidad, ácido-base, polaridad, etc.). Se expresa en porcentaje.

2.3.1.2 Acoplamiento molecular

El acoplamiento es una herramienta que permite aproximar, de manera teórica, la interacción ligante-receptor. Nos permite entender los factores estructurales que pueden ser importantes en la interacción de un fármaco con una macromolécula endógena. Para este estudio se utilizan programas como Golden, Autodock y Flex. En todos ellos se utilizan varias aproximaciones. (Kitchen, Decarnez, Furr, & Bajorath, 2004)

Los estudios de docking usan un sistema de búsqueda y un método de cálculo de energía de unión. El sistema de búsqueda más usados por Autodock es el genético Lamarkiano y el cálculo de energía se hace con métodos parametrizados. (Mendoza, C, 2015)

3. Planteamiento del problema

Como se ha visto a lo largo de este documento, el cáncer es una enfermedad preocupante a nivel mundial, por su alta tasa de morbilidad y mortalidad. En la actualidad hay diversos tipos de tratamientos, entre los más exitosos se encuentra la quimioterapia, la cual cuenta con diferentes tipos de compuestos quimioterapéuticos; sin embargo, éstos tienen poca selectividad y generan múltiples efectos adversos. Por lo tanto, ¿se podrán encontrar nuevas moléculas que presenten actividad potencial quimioterapéutica selectiva para una diana biológica conocida en células tumorales, y que además no generen efectos adversos?

4. Hipótesis

Si se sintetizan derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, como análogos de los sustratos naturales de la enzima dihidrofolato reductasa humana, presentando en las posiciones 2 y 6 del núcleo de quinazolina, benzoilos sustituidos en las posiciones 3 y 4 por grupos electroattractores, se obtendrán compuestos estables, capaces de tener efecto citotóxico en líneas celulares cancerosas pero no en fibroblastos (células primarias o normales).

5. Objetivo general

Sintetizar, caracterizar y evaluar *in vitro* moléculas derivadas de 2,4,6-triaminquinazolina con potencial actividad citotóxica.

5.1 Objetivos específicos

- a) Sintetizar derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, como estructura base, y benzoilos sustituidos en las posiciones 3 y 4 por grupos electroattractores.

5. Objetivo general

- b) Elucidar estructuralmente por medio de espectroscopia y espectrometría los compuestos obtenidos y sus intermediarios.
- c) Enviar a evaluación citotóxica los compuestos obtenidos.

6. Metodología

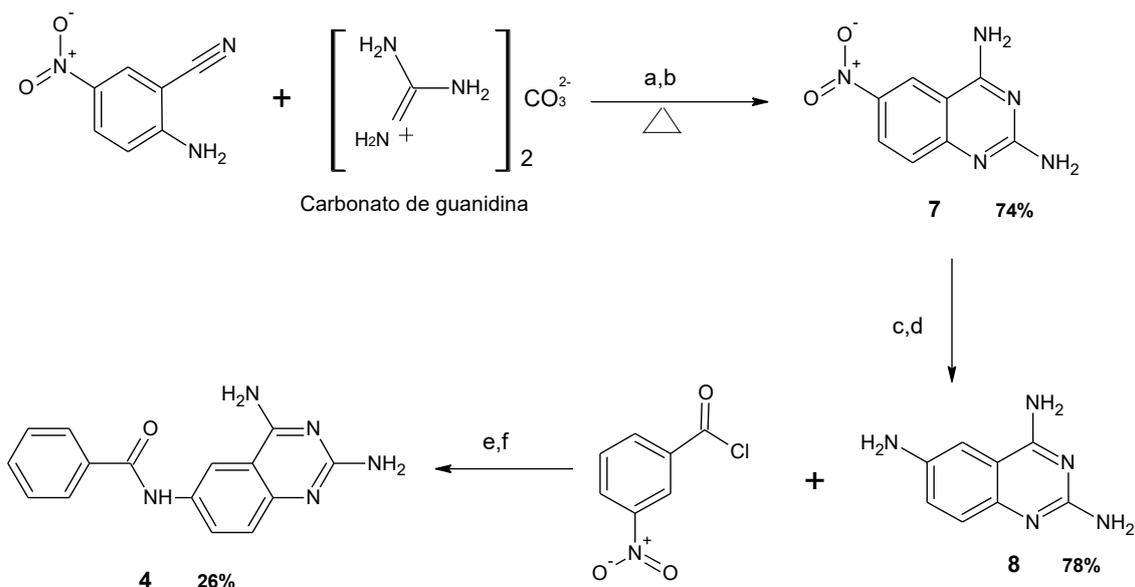
6.1 Parte de síntesis química

En el siguiente apartado se muestra una breve descripción de los procedimientos experimentales utilizados en la síntesis de los derivados propuestos en los objetivos. Este trabajo se realizó en la Facultad de Química, en el departamento de Farmacia, Laboratorio 121 del edificio E, UNAM. Los detalles de cada procedimiento se encuentran en el Apéndice 1.

6.1.1 Síntesis general de derivados de 2,4,6 triaminquinazolina, utilizando precursores que presentan cloruro de acilo en su estructura.

6.1.1.1 Síntesis de N,N'-(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (**1**), N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (**2**), y de N-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (**4**).

Para la síntesis de **1**, **2** y **4**, primero se sintetizó el núcleo de la quinazolina (**7**) mediante la ciclocondensación de 2-amino-5-nitrobenzonitrilo con carbonato de guanidina en medio básico. Para obtener **8** se llevó a cabo una reacción catalítica de Pd/C (10 %), en metanol. Posteriormente, este compuesto se hizo reaccionar con cloruro de benzoilo para obtener **1** o **2**, y con cloruro de 3-nitrobenzoilo para obtener **4**. Se utilizó acetonitrilo anhidro como medio de disolución. En el siguiente esquema se muestran los pasos de síntesis química, llevados a cabo para obtener **4**.



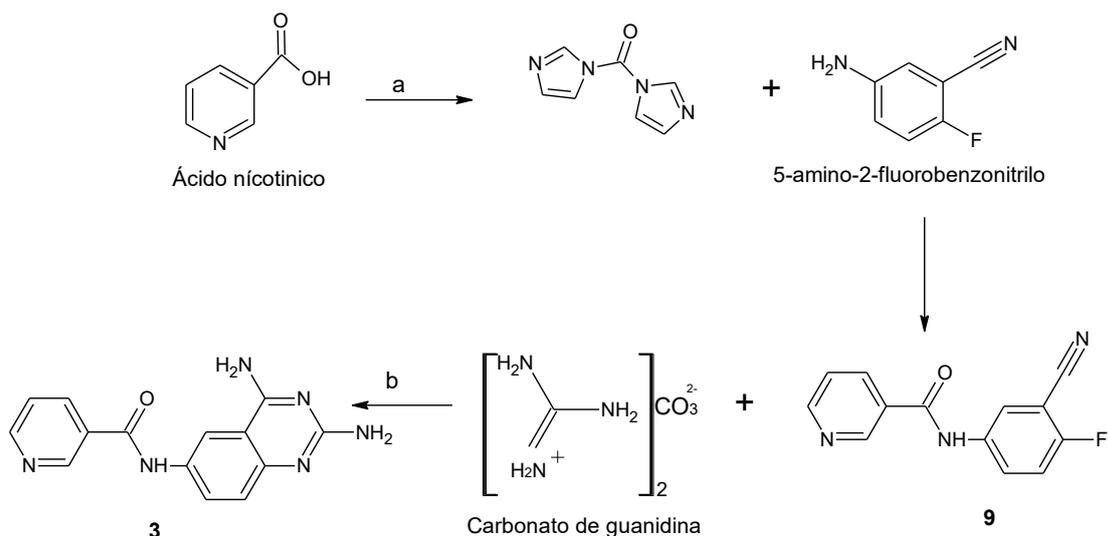
a: NaOH; b: EtOH/PrOH; c: H₂, Pd/C (10%); d: MeOH; e: MeCN; f: DIPEA

Esquema 1. Ruta sintética del compuesto 4.

6.1.2 Síntesis general de compuestos, utilizando carbonildiimidazol como agente acoplante.

6.1.2.1 Síntesis de N-[2,4-diaminoquinazolin-6-il] piridina-3-carboxamida (3).

Para la síntesis de **3**, primero se hizo reaccionar el ácido níctinico con carbonildiimidazol (CDI) para activar al grupo carboxilo. Una vez que se formó el intermediario correspondiente, se agregó 5-amino-2-fluorobenzonitrilo, y se obtuvo el N-(3-ciano-4-fluorofenil) piridina-3-carboxamida (**9**). Este último se limpió con éter etílico, para ponerlo a reaccionar con carbonato de guanidina, utilizando como disolvente DMA, y DIPEA como base. Se obtuvo un sólido amarillo claro, por medio de filtración al vacío. El sólido se recrystalizó de metanol/agua 75:25.



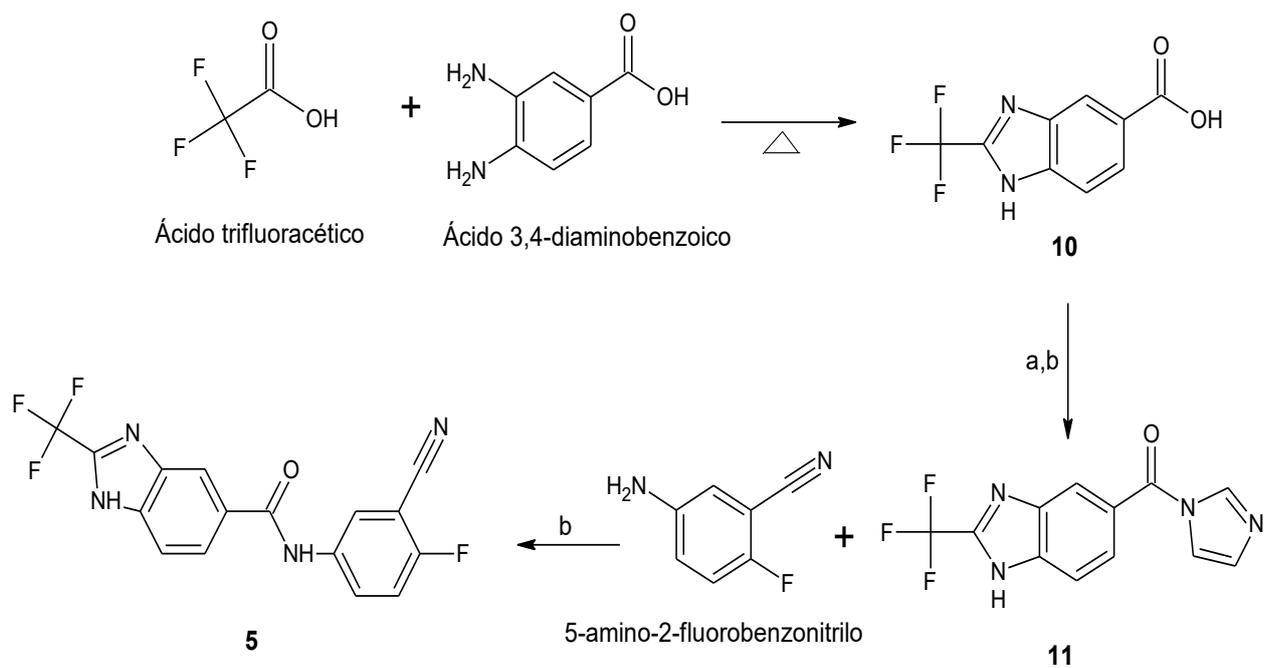
a: CDI, MeCN; b: DMA, DIPEA

Esquema 2. Ruta sintética del compuesto 3.

6.1.2.2 Síntesis de N-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (**5**) y de di-*tert*-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoil] fenil} biscarbamato (**6**).

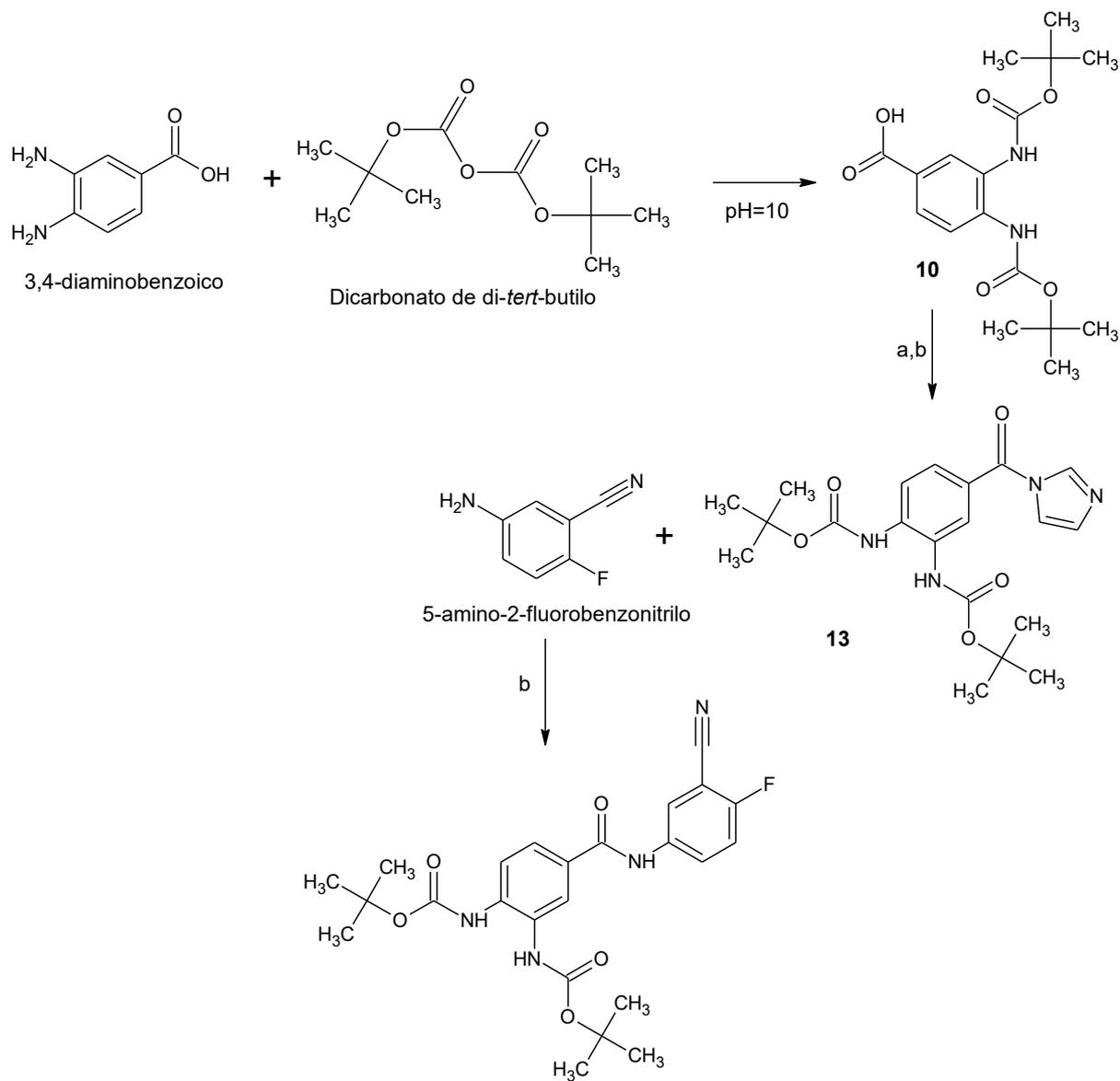
Para obtener **5** y **6**, primero se colocó el ácido 3,4-diaminobenzoico a reaccionar con el ácido trifluoroacético (para obtener **5**) y con dicarbonato de di-*tert*-butilo (para **6**). De esta manera se obtuvieron el ácido 2- (trifluorometil) 1H-bencimidazol-5-carboxílico (**10**) y el ácido 3,4-bis [(*tert* -butoxicarbonil) amino] benzoico (**12**), respectivamente. Posteriormente, los ácidos obtenidos, por separado, se pusieron a reaccionar con CDI. Una vez que se formó el intermediario correspondiente, se agregó 5-amino-2-fluorobenzonitrilo, para obtener el N-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (**5**) y el di-*tert*-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoil] fenil} biscarbamato (**6**).

6. Metodología



a: CDI; b: MeCN

Esquema 3. Ruta sintética del compuesto 5.



a: CDI; b: MeCN

Esquema 4. Ruta sintética del compuesto 6.

6.2 Parte teórica

Se realizaron estudios de docking en busca de las posibles dianas, utilizando el programa Autodock. Este programa es útil para encontrar la conformación de mínima energía dentro del sitio activo de proteínas. El programa utiliza un algoritmo matemático para realizar la búsqueda conformacional. La generación de imágenes es obtenida a través del programa Pymol (visualizador de macromoléculas). Dado que previamente esta clase de compuestos han mostrado ser inhibidores de DHFR, se utilizó esta enzima. Adicionalmente, se estudió al receptor estrogénico, ya que con compuestos derivados de

quinazolina, preparados por otros estudiantes de nuestro grupo de investigación, se observó inhibición en líneas celulares MCF7 (cáncer de senos).

6.2.1 Preparación de la proteína:

Para la preparación de la proteína, se eliminaron las moléculas de agua y de ligante con lector de texto para abrir el archivo PDB así como Autodock Tools 1.5.2.

Se agregaron los hidrógenos susceptibles de hacer puentes de hidrogeno considerando un pH de 7, se hizo la asignación de las cargas de Kollman y los efectos de solvatación utilizando el software Autodock Tools 1.5.2.

6.2.2 Docking molecular:

Para el cálculo se utilizó la versión de Autogrid4 para la generación del grid así como Autodock4 para evaluar el acoplamiento propiamente dicho. Para el análisis de los resultados se utilizó Autodock tools 4.1, pymolviewer y VMD 1.8.3. El estudio se centró en el sitio activo de la proteína de DHFR (IDpdb:1KMS) y del receptor estrogénico (IDpdb: 1ERR). Previamente, se minimizó cada ligando con gaussian 09 a un nivel de teoría semiempirico. Para el acoplamiento molecular se utilizó un algoritmo de tipo lamarckiano con un tamaño de población de 100 (100 conformaciones) y 10 millones de evaluaciones.

6.3 Evaluación biológica

En este apartado se describen brevemente los procedimientos experimentales correspondientes a la evaluación biológica de los compuestos sintetizados.

6.3.1 Preparación de líneas celulares

Las líneas celulares (U251= glía de sistema nervioso central, PC-3= próstata, K562= leucemia, HCT-15= colon, MCF-7= mama, SKLU= pulmón y FGH: fibroblastos gingivales humanos (cultivo primario de células sanas) se cultivaron en el medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con suero fetal bovino (10%), y una mezcla de antibióticos-antimicótico. En cada placa de 96 pozos, se depositaron tres líneas celulares por duplicado, en un volumen de 100 μ L/pozo en una densidad de inculo dependiendo de la línea celular (5.0, 7.5 10×10^4

células/mL). Las placas se incubaron por 24 h a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂, para favorecer que las células se adhirieran al fondo de la placa.

6.3.1 Preparación del screening primario

Para el escrutinio primario, los compuestos se solubilizaron en dimetil sulfoxido (DMSO) a la concentración de 20 µM. Se tomó una alícuota de la solución stock y se diluyó en medio de cultivo suplementado. Se agregaron 100 µL de la solución con el compuesto a probar quedando la concentración final de 50 µM. Nuevamente la microplaca es incubada por 48 h bajo las condiciones antes mencionadas.

Al finalizar el periodo de incubación, las células se fijaron *in situ* añadiendo 50µl de una solución de ácido tricloroacético frío al 50% e incubadas a 4 °C por 60 min. Se desechó el sobrenadante y las placas fueron lavadas 5 veces con agua, y secadas a temperatura ambiente.

6.3.2 Teñido celular

El teñido de las células fijadas al sustrato del pozo, se efectuó añadiendo 100 µL de una solución al 0.4% de sulforrodamina B, se incubaron por 30 min a temperatura ambiente. La SRB no unida es removida con lavados de ácido acético al 1% y se dejan secar a temperatura ambiente. Una vez que las placas fueron teñidas y secadas se les añadió 100 µL de un buffer de tris y se agitó por 10 min para favorecer la disolución del complejo.

Se midió la densidad óptica (DO) en un lector de microplacas a una longitud de onda de 515 nm. Los datos se procesaron empleando el promedio de la DO de los 2 pozos/línea celular tratados con el compuesto (DOt), los 2 pozos tratados con DMSO (DOc) y 2 pozos de testigos, es decir aquellos que no tienen células pero si el compuesto (DOb). El % de inhibición del crecimiento (%IC) se calculó con la siguiente expresión: $\%IC = 100 - (DOt - DOb / DOc - DOb) * 100$.

7. Resultados y discusión

7.1 Parte Química

En la Tabla 2 se muestra algunos datos generales de los compuestos sintetizados en este trabajo de tesis.

Tabla 2. Datos generales de los compuestos sintetizados

Compuesto	R.f	Sistema de elución	P.f. (°C)	Aspecto	Rendimiento (%)
1	0.8	III	348.7 - 355.8 (P.d)	Sólido café claro	37.9%
2	0.75	III	248.9-250.2	Cristales cafés	8.4%
3	0.05	III	281.1- 283.8	Sólido amarillo	68.8%
4	0.76	III	202.3 -204.5	Sólido anaranjado	26%
5	0.39	II	225.2 -227.9 (P.d)	Sólido amarillo	13%
6	0.45	II	322.8- 326.4 (P.d)	Sólido café blanquecino	23%
9	0.58	II	150.3-151	Sólido morado	28%
10	0.5	I	273.1- 272.3	Sólido café-crema	80%
12	0.37	II	155 -156	Sólido blanco	91%

P.f: Punto de fusión. A menos que se especifique P.d. igual a punto de descomposición

R.f: Factor de retención

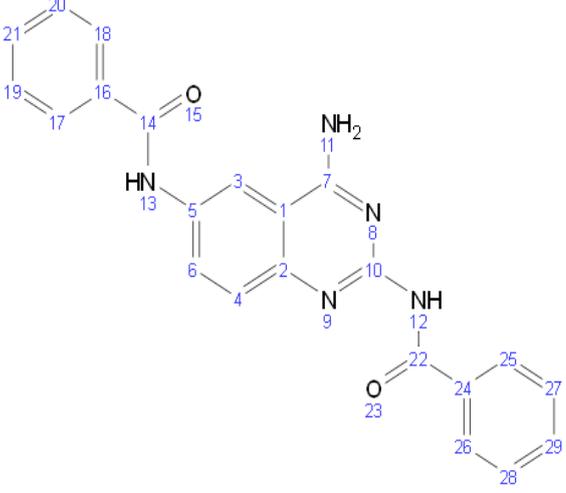
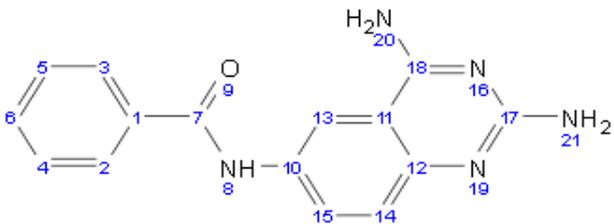
*La composición de cada sistema de elución se muestra en el Apéndice 1.

A continuación se muestran los datos espectroscópicos y espectométricos, con los cuales fue posible la caracterización de los derivados sintetizados (Tabla 3). Los datos se obtuvieron del Apéndice 2.

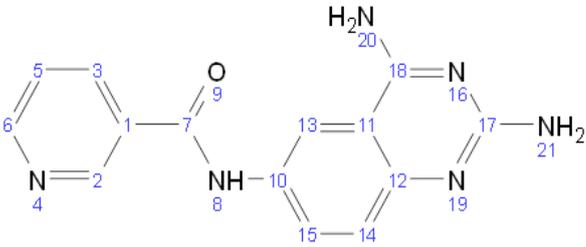
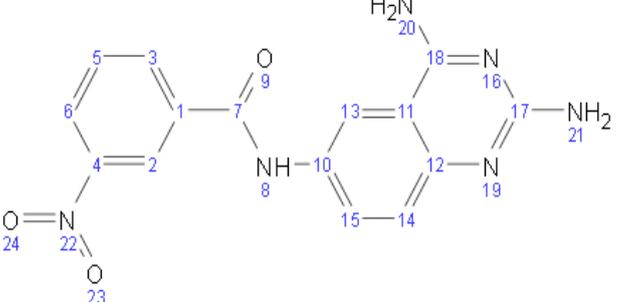
7. Resultados y discusión

Para fines prácticos de la interpretación de datos, cada uno de los átomos del núcleo de quinazolina fue etiquetado con la misma secuencia. Esta numeración no fue asignada en base a la de la nomenclatura química de los compuestos.

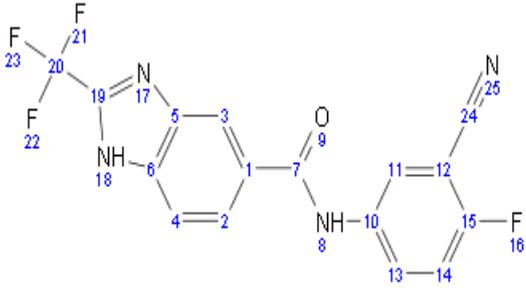
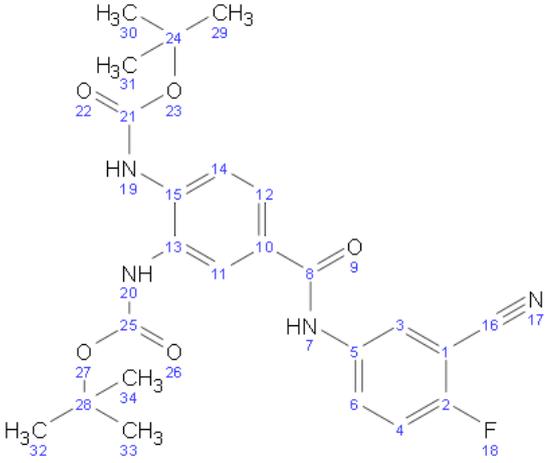
Tabla 3. Datos espectroscópicos y espectrométricos de los compuestos sintetizados.

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectométricos
 <p style="text-align: center;">1 MM= 383.4</p>	<p>RMN-¹ H (300 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 8.63 [(H₃)(d, J=2.1 Hz, 1H)], 7.49 [(H₄)(d,J=8.85 Hz,1H)], 7.93 [(H₆) (dd, J=2.13, 8.94 Hz, 1H)], 7.8 [(H₁₁) (s, 2H)], 10.6 [(H₁₃) (s, 1H)], 12.73 [(H₁₂) (s, 1H)], 7.52-7.66 [(H₂₁)(H₂₉)(H₂₇)(H₁₉)(H₂₈)(H₂₀)(m, 6H)], 7.93 [(H₆) (dd, J=2.13, 8.94 Hz, 1H)], 8.04[(H₂₆)(H₁₈)(t,J=1.86Hz,2H)],8.04[(H₁₇)(H₂₅)(t, J=1.57Hz, 2H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3438(Ar-C-NH-R), 3312 (N-H_{am}ina), 3141 (C-H arom), 1537 (N-H_{am}ida) 1592, 1437, 1412 (C=C arom), 1677 (C=N), 1645(C=O amida).</p> <p>IE (M⁺) m/z: 368</p>
 <p style="text-align: center;">2 MM= 279.29 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H(300 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 7.98 [(H₂)(H₃)(d, J=7.02 Hz, 2H)], 7.51-7.65 [(H₄, H₅, H₆, H₁₅)(m, 4H)], 10.22 [(H₈) (s, 1H)], 8.22 [(H₁₃)(s, 1H)], 7.22[(H₁₄) (d, J=3.96 Hz, 1H)], 5.95 [(H₂₀) (s, 2H)], 7.19 [(H₂₁) (s, 2H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3451(Ar-C-NH-R), 3402, 3354 (N-H_{am}ina), 3112 (C-H arom), 1539 (N-H_{am}ida) 1561, 1485, 1450</p>

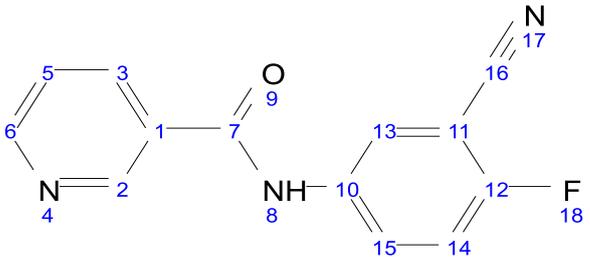
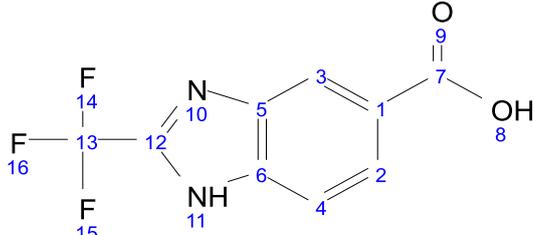
7. Resultados y discusión

	<p>(C=C arom), 1667 (C=N), 1641(C=O amida).</p> <p>IE (M+) m/z: 279</p>
 <p style="text-align: center;">3</p> <p style="text-align: center;">MM= 280.28 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H(400 MHz, DMSO-d6), δ(ppm): 9.16 [(H₂)(d, J=1.59 Hz, 1H)], 8.34 [(H₃)(dd, J=1.88, 8 Hz, 1H)], 7.56 [(H₅)(dd, J=4.82, 7.96 Hz, 1H)], 8.75 [(H₆)(dd, J=1.58, 4.8 Hz, 1H)], 8.26 [(H₁₃)(d, J=2.12 Hz, 1H)], 7.22 [(H₁₄)(d, J= 8.91 Hz, 1H)], 7.68 [(H₁₅)(dd, J= 2.5, 8.92 Hz, 1H)], 7.3 [(H₂₀)(s, 2H)], 6 [(H₂₁) (s, 2H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3356 (N-H amina), 3060(C-H arom), 1593, 1447, (C=C arom), 1548 (N-H amida), 1660 (C=N), 1623 (C=O), 1345, 1294 (C-N amina).</p> <p>IE (M+) m/z: 280</p>
 <p style="text-align: center;">4</p> <p style="text-align: center;">MM= 324.94 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H(400 MHz, DMSO-d6), δ(ppm): 8.45 [(H₂, H₃)(dd J=2.04, 8 Hz, 2H)], 7.85 [(H₅)(t, J= 8 Hz, 1H)], 8.83 [(H₆)(t, J=1.88 Hz, 1H)], 10.74 [(H₈)(s,1H)], 8.34 [(H₁₃)(d, J= 2.12 Hz, 1H)], 7.34 [(H₁₄)(d, J= 8.92 Hz, 1H)], 7.78 [(H₁₅)(dd, J= 2.16, 8.84 Hz, 1H)], 7.76 [(H₂₀) (s, 2H)], 6.64 [(H₂₁) (s, 2H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3578 (Ar-NH-C-R), 3346 (N-H amina)  3082(C=H arom), 1659 (C=N), 1615, 1443 (C=C arom), 1525 (N-H amida), 1325 (Ar-NO₂).</p> <p>IE (M+) m/z: 324</p>

7. Resultados y discusión

 <p style="text-align: center;">5 MM= 348.25 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H (400 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 7.96 [(H₂)(dd, J= 1.53, 8.61 Hz, 1H)], 8.3 [(H₃)(d, J= 0.96 Hz, 1H)], 7.8 [(H₄)(d, J=8.61 Hz, 1H)], 10.65 [(H₈)(s,1H)], 8.27 [(H₁₁)(dd, J= 2.68, 5.79 Hz, 1H)], 8.08 [(H₁₃)(ddd, J= 2.76, 4.90, 9.27 Hz, 1H)], 7.52[(H₁₄)(t, J= 9.15 Hz, 1H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3334 (Ar-NH-C-R), 3144 (N-H amina)</p> <p>3083 (C-H arom), 2240 (C≡N), 1660 (C=N), 1598, 1408 (C=C arom), 1542 (N-H amida), 1497 (-NH-), 1222-1134 (CF₃).</p> <p>IE (M⁺) m/z: 348</p>
 <p style="text-align: center;">6 MM= 470 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H (400 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 8.33 [(H₃)(dd, J= 2.56, 5.8 Hz, 1H)], 7.5 [(H₄)(t, J= 9.16 Hz, 1H)], 8.14[(H₆)(ddd, J=8.14 Hz, 1H)], 10.59 [(H₇)(s, 1H)], 7.6 [d,(H₁₁)(d, J= 1.6 Hz, 1H), 7.7 [(H₁₂)(dd, J= 1.71, 8.22 Hz, 1H)], 7.09 [(H₁₄)(d, J= 8.16 Hz, 1H)], 11.08 [(H₁₉)(s, 1H)], 11.03 [(H₂₀)(s, 1H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3336 (Ar-NH-C-R), 3158 (N-H amida)</p> <p>3102 (C-H arom), 2244 (C≡N), 1598, 1474 (C=C arom), 1634-1663 (N-H amida), 2850 (-CH₃), 1710 (C=O), 1332, 1255, 1216 [(CH₃)₃-C].</p> <p>IE (M⁺) m/z: 460</p>

7. Resultados y discusión

 <p style="text-align: center;">9 MM= 241.2 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H (400 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 9.11 [(H₂)(d, J=1.68 Hz, 1H)], 8.30 [(H₃)(t, J= 2 Hz, 1H)], 7.54-7.62 [(H₅, H₁₅) (m, 2H)], 8.79 [(H₆)(dd, J=1.86, 4.8 Hz, 1H)], 8.27 [(H₁₃)(m, 1H)], 8.06 [(H₁₄)(m, 1H)], 10.76 [(H₈)(s, 1H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3060(C-H_{arom}), 1594, 1483, (C=C_{arom}), 1508 (N-H_{amida}), 1682 (C=N), 1624 (C=O), 2241 (C=N), 3556 (Ar-NH-C-R).</p>
 <p style="text-align: center;">10 MM= 230.14 g/mol</p>	<p>RMN-¹ H (400 MHz, DMSO-d₆), δ(ppm): 7.98 [(H₂)(dd, J= 1.42, 8.56 Hz, 1H)], 8.3 [(H₃)(s, 1H)], 7.8 [(H₄)(d, J=8.56 Hz, 1H)].</p> <p>IR, FTIR por reflectancia ATR (cm⁻¹): 3658 (-O-H), 1308 (torsión -O-H) 3094 (C-H_{arom}), 1592, 1425 (C-C_{arom}), 1481 (-NH-), 1222-1134 (CF₃).</p>

7.1.1 Caracterización del compuesto de *N,N'*-(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (1)

Para la obtención del compuesto **2**, se llevó a cabo una reacción de adición-eliminación, para formar la amida, a partir de cloruro de benzoilo (cloruro de acilo) con 2,4,6 triaminquinazolina (amina). La reacción se llevó a cabo en un baño de agua fría. Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al término, se obtuvo una suspensión que se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del sólido que se obtuvo se registraron los espectros de: masas, infrarrojo y resonancia magnética nuclear de protón.

7. Resultados y discusión

En el espectro de masas, obtenido por impacto electrónico, se observó el ión 368 m/z (M+), el cual no corresponde al peso molecular del compuesto **1**, esto se debe posiblemente a que la técnica de análisis por impacto electrónico es muy agresiva, lo cual hace que se pierdan sustituyentes sin ser registrados.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3438 cm⁻¹ propia del estiramiento entre N-H del grupo amida; la banda 3312 cm⁻¹ son características de la vibración de tensión entre el N-H del grupo amina primaria; la banda presente en 3141 cm⁻¹ es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda en 1537 cm⁻¹ corresponde a la vibración de torsión de N-H del grupo amida secundaria; la banda intensa en 1645 cm⁻¹ corresponde a la solución concentrada de las amidas secundarias las bandas en 1592, 1437, 1412 cm⁻¹ son propias de las vibraciones de estiramiento de C=C del anillo aromático; 1677 cm⁻¹ es una banda propia del estiramiento de C=N; en 1645 cm⁻¹ se observa esta banda correspondiente al estiramiento de C=O del grupo amida; las banda 1332 y 1277 cm⁻¹ representan las vibraciones de C-N aromáticas de la amina primaria.

El espectro de RMN-1H mostró, para el anillo de quinazolina, las señales que corresponden al H₃ como un doblete, en un desplazamiento de 8.6 ppm, con una constante de acoplamiento de 2.1 Hz, e integra para un protón; para el H₄ se obtuvo un doblete a 7.49 ppm, con una constante de acoplamiento de 8.85 Hz por su acoplamiento en orto con H₆, e integra para un protón; para H₆ se obtuvo una constante de acoplamiento de 2.13 Hz (acoplada en meta con H₃) y una constante de 8.94 Hz; la amina H₁₁ integran para dos protones, tiene un desplazamiento de 7.8 ppm; para los protones de las amidas, se obtuvieron las señales a 10.6 ppm y a 12.73 ppm, siendo H₁₃ y H₁₂ respectivamente, ambas integrando para un solo protón; entre 7.52 ppm y 7.66 ppm se encuentra un multiplete que integra para 6 protones, pertenecientes a H₂₁, H₂₉, H₁₉, H₂₈, H₂₇ y H₂₀; para H₁₇ y H₂₅ se obtuvo un triplete a un desplazamiento de 8.15 ppm; para H₂₆ y H₁₈ también se obtuvo un triplete, pero a un desplazamiento de 8.04 ppm.(Fig.9)

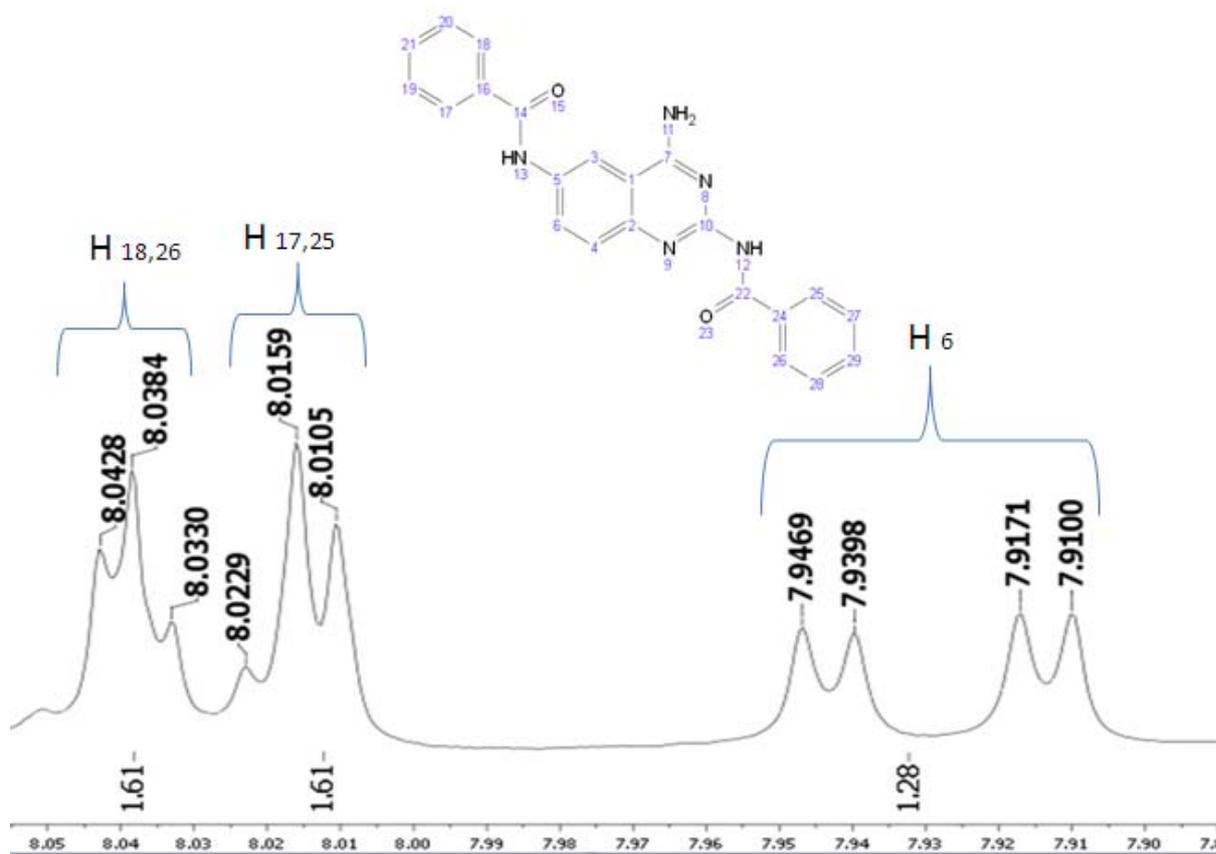


Figura 9. Ampliación de parte de la región aromática del espectro de RMN- ^1H de 1.

7.1.2 Caracterización del compuesto de *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (2)

Para la obtención del compuesto 2, se llevó a cabo una reacción de adición-eliminación, para que se formara la amida, a partir de cloruro de benzoilo (cloruro de acilo) con 2,4,6 triaminquinazolina (amina). La reacción se llevó a cabo en un baño de hielo. Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al término de la reacción se obtuvo una suspensión que se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del cristal que se obtuvo se registraron los espectros de: masas, infrarrojo y resonancia magnética nuclear de protón. También se obtuvo la estructura cristalográfica, la cual fue refinada en la USAI.

En el espectro de masas, obtenido por impacto electrónico, se observó el ión 279 m/z (M^+) correspondiente al peso molecular del compuesto 2.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3451 cm^{-1} propia del estiramiento entre N-H del grupo amida; las bandas 3402 , 3354 cm^{-1} son características de la vibración de tensión entre el N-H del grupo amina primaria; la banda presente en 3112 cm^{-1} es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda en 1539 cm^{-1} corresponde a la vibración de torsión de N-H del grupo amida secundaria; las bandas en 1561 , 1485 , 1450 cm^{-1} son propias de las vibraciones de estiramiento de C=C del anillo aromático; 1667 cm^{-1} es una banda propia del estiramiento de C=N; en 1641 cm^{-1} se observa esta banda correspondiente al estiramiento de C=O del grupo amida; las banda 1346 y 1290 cm^{-1} representan las vibraciones de C-N aromáticas de aminas primarias.

El espectro de RMN-1H mostró, para el anillo de quinazolina, las señales que corresponden al H₁₃ como un singulete en un desplazamiento de 8.2 ppm; para el H₁₄ se obtuvo un doblete a 7.22 ppm con una constante de acoplamiento de 3.96 Hz por su acoplamiento orto con H₁₅; las aminas H₂₀ y H₂₁ integran para dos protones cada señal, con desplazamientos de 5.95 ppm y 7.19 ppm respectivamente; entre 7.51 ppm y 7.65 ppm se encuentra un multiplete que integra para 4 protones pertenecientes a H₁₅, H₄, H₅ y H₆; para H₂ y H₃ se obtuvo un desplazamiento de 7.98 ppm, con una constante de acoplamiento de 7.02 Hz e integrando para dos protones, se obtuvo una sola señal para ambos protones, debido a que tienen los mismos sustituyentes en la posiciones aledañas orto, meta y para; para H₈, el protón de la amida, se encontró a un desplazamiento de 10.22 ppm, integrando para un protón.(Fig.10)

7. Resultados y discusión

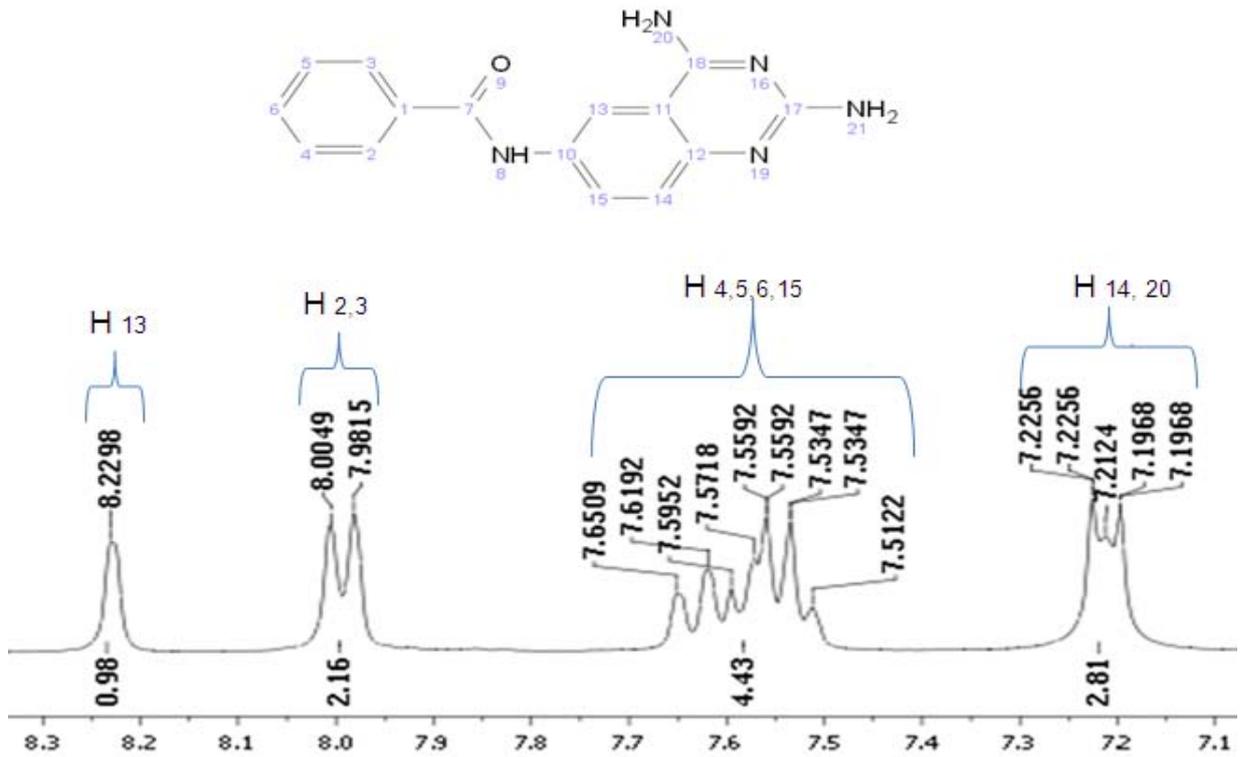
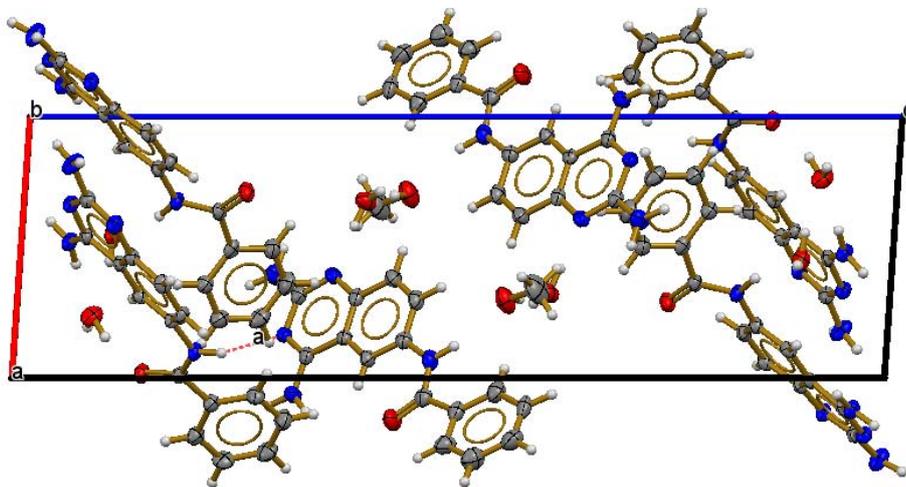


Figura 10. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN- ^1H de 2.

Se obtuvo por difracción de rayos X, de monocristal, el compuesto 2. El cristal fue obtenido de metanol/agua 75:25. (Fig.11)



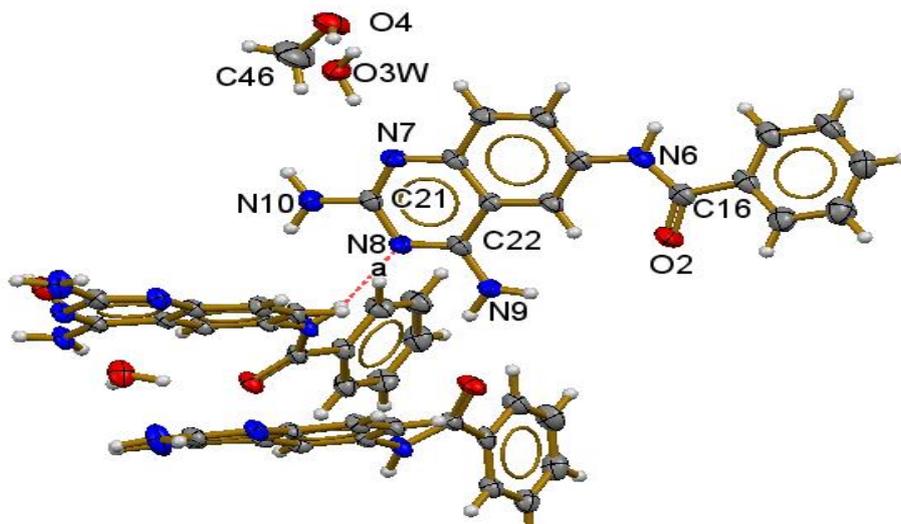


Figura 11. Estructura cristalina obtenida para 2.

En el cáncer de mama humano, se requiere que, tras una intervención quirúrgica o la aplicación de quimioterapia, se reduzca o se interrumpa el crecimiento de las células cancerosas restantes. En algunos tipos de cáncer, la división de las células cancerosas depende de la presencia permanente de la hormona estrógeno. Para evitar que el estrógeno se una al receptor estrogénico, se utilizan fármacos que compiten con esta hormona por la unión al receptor de estrógenos. Así resulta inactivo como regulador de la expresión de genes, el complejo receptor-fármaco. (Lehninger, 1993)

Una de las características que deben cumplir los inhibidores del receptor estrogénico, es que su estructura sea plana. En la celda unitaria (Fig.10) se observó la presencia de tres conformeros, uno de ellos es prácticamente plano. Para saber si esta conformación plana era la más estable y de menor energía se realizó un estudio computacional conformacional.

Para el estudio computacional, se realizó un cálculo teórico utilizando el programa gaussian09. Se realizó una búsqueda conformacional, donde se utilizó el keyword modredundant. Los cálculos conformacionales se realizaron utilizando una workstation con 8 núcleos. Mod redundant es la palabra que utiliza el fichero de entrada del cálculo, es decir, la orden que le estamos dando al programa para que calcule los conformeros.

7. Resultados y discusión

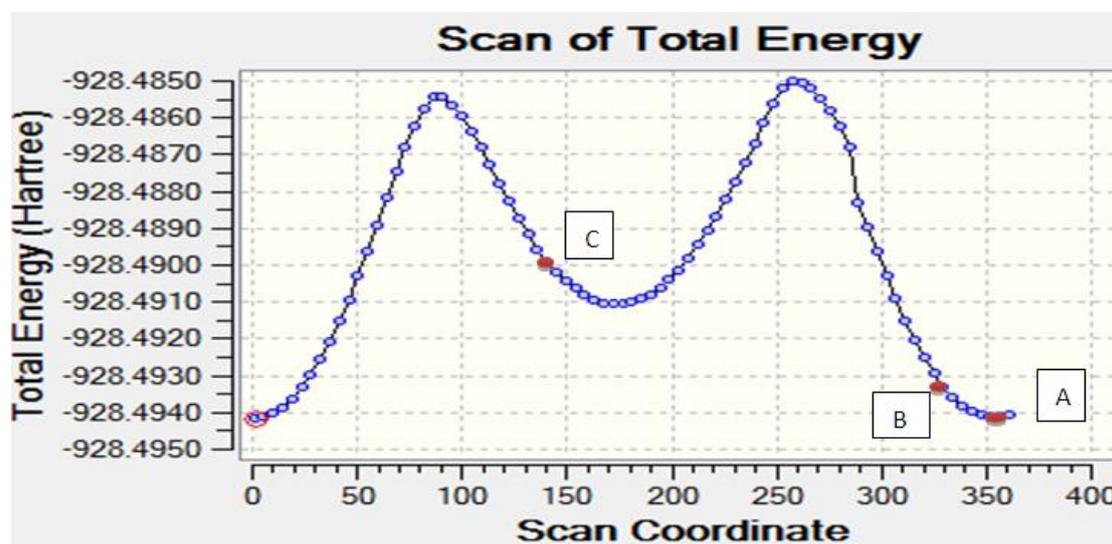
Se utilizó el programa Mercury 3.6 para visualizar el cristal y obtener los ángulos diedros, esto para poder obtener las energías de los confórmeros de la celda unitaria del cristal, y de esta manera saber cuál es el confórmero más estable y más abundante.

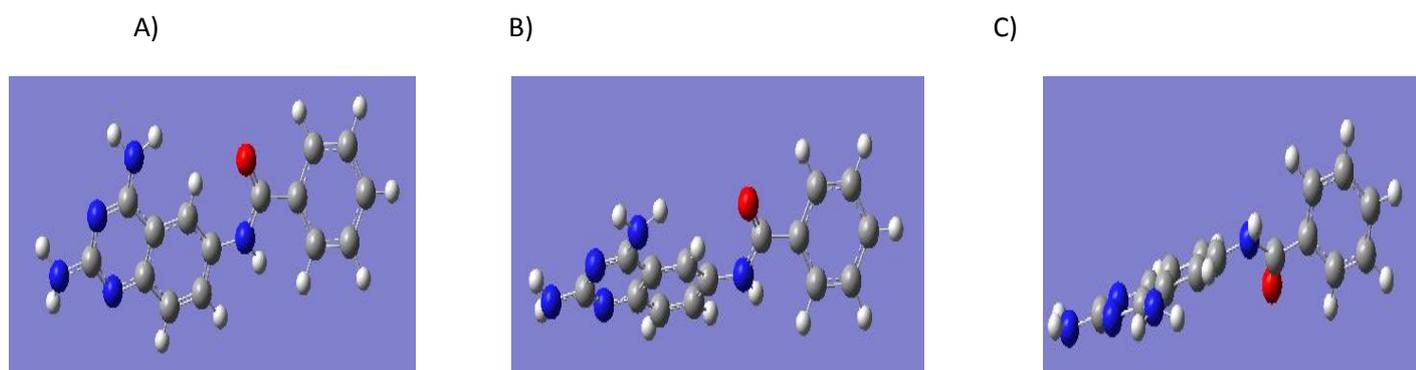
Se obtuvo la molécula A (Gráfica 1), como el confórmero que presenta la menor energía. Lo que indica que es el confórmero más estable. Esto demuestra que el compuesto dos existe mayoritariamente como una estructura plana. El hecho de que el compuesto 2 sea plano, nos sugiere que puede tener buena afinidad con los receptores estrogénicos, y de esta manera presentar un efecto citotóxico en algunas líneas celulares cancerígenas de mama.

Tabla 4. Relación de confórmeros obtenidos experimentalmente vs. confórmeros obtenidos empíricamente.

Confórmeros obtenidos en la celda (experimental).	Ángulo diedro	Confórmeros obtenidos con el programa Mercury 3.6 (Empírico).	Ángulo diedro	Energía Kcal/mol
Molécula A	-3.81656	Molécula 80	-3.717	0
Molécula B	-33.923	Molécula 74	-30.71649	0.4871237
Molécula C	142.363	Molécula 32	140.28	2.6129304

Gráfica 1. Máximos y mínimos de energía para los confórmeros del compuesto 2.





7.1.2 Caracterización del compuesto N-[2,4-diaminoquinazolin-6-il] piridina-3- carboxamida (3).

La síntesis del compuesto **3**, se inició con la activación del ácido nicotínico usando CDI, para formar un intermediario que posee un buen grupo saliente, imidazol. Posteriormente, se formó la amida con 5-amino-2-fluorobenzonitrilo, y por último, se realizó una ciclación con carbonato de guanidina. Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al Término de la reacción se obtuvo una solución y el compuesto tenía aspecto chicloso. Se procedió a evaporar la fase líquida en el rotavapor, posteriormente se agregaron 30 mL de acetato de etilo, se dejó en agitación constante por 4 h. Por último, se obtuvo una suspensión amarillenta, la cual se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del compuesto obtenido se registraron los espectros de: masas, infrarrojo, resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C .

En el espectro de masas, obtenido por impacto electrónico, se observó el ión 280 m/z (M^+) correspondiente al peso molecular del compuesto **3**.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3356 cm^{-1} propia de la vibración de tensión entre el N-H del grupo amina primaria; la banda presente en 3060 cm^{-1} es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda en 1548 cm^{-1} corresponde a la vibración de torsión de N-H del grupo amida secundaria; las bandas en 1593 y 1447 cm^{-1} son propias de las vibraciones de estiramiento de C=C del anillo aromático; 1660 cm^{-1} es una banda propia del estiramiento de C=N; en 1623 cm^{-1} se observa esta banda correspondiente al estiramiento de C=O del

7. Resultados y discusión

amida; las banda 1345 y 1294 cm^{-1} representan las vibraciones de C-N aromáticas de aminas primarias.

El espectro de RMN- ^1H mostró, para el anillo de quinazolina, las señales que corresponden al H_{13} como un doblete a un desplazamiento de 8.26 ppm, con un acoplamiento de 2.12 Hz en posición meta con H_{15} ; para H_{14} se obtuvo un doblete con un desplazamiento de 7.22 ppm, que acopla en orto con H_{15} , con una constante de 8.91 Hz; H_{15} tiene un desplazamiento de 7.68 ppm, es una señal doble de dobles, con constantes de acoplamiento de 2.5 y 8.92 Hz; para las aminas de la quinazolina, H_{20} y H_{21} , se obtuvieron desplazamientos de 7.3 y 6 ppm respectivamente, las cuales integran para dos protones cada una; para la piridina se obtuvieron los protones de H_2 como un doblete con una constante de acoplamiento de 1.59 Hz que se acopla en meta con H_3 ; para H_3 se obtuvo un desplazamiento de 8.34 ppm como una señal de doble de dobles, con constantes de acoplamiento de 1.88 y 8 Hz, esta última señal se generó por su acoplamiento orto con H_5 ; para H_5 se obtuvo un doble de dobles a un desplazamiento de 7.56 ppm, con constantes de acoplamiento de 8 y 4.82 Hz, esta última por su acoplamiento en orto con H_6 ; el desplazamiento en 8.75 ppm se obtuvo una señal como doble de dobles, con constantes de acoplamiento de 4.8 y 1.58 ppm, esta última se generó por su acoplamiento en meta con H_2 .(Fig.12)

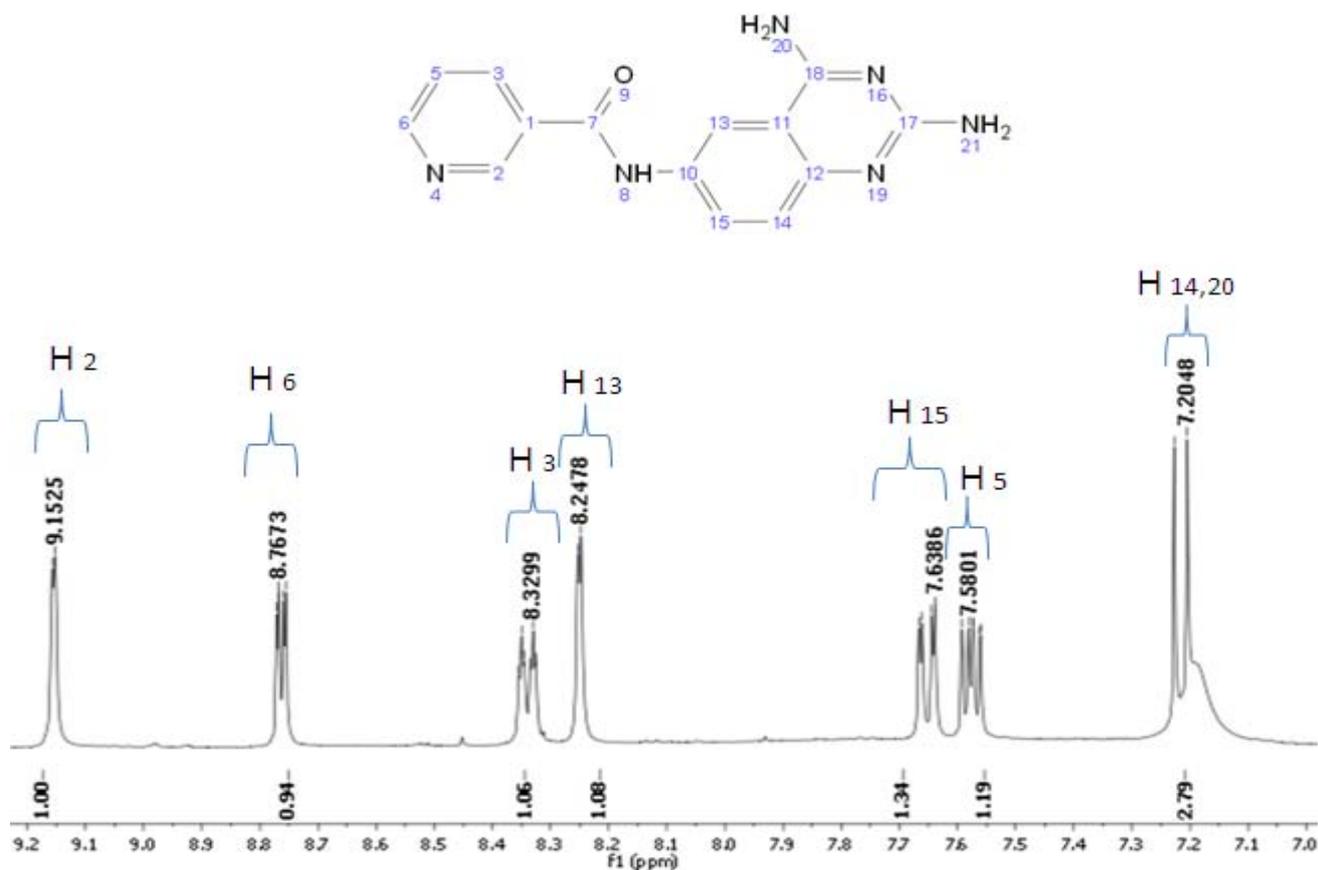


Figura 12. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN-¹H de 3.

7.1.3 Caracterización del compuesto *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (4).

Para la obtención del compuesto 4, se llevó a cabo una reacción de adición-eliminación, para que se formara la amida, a partir de Cloruro de 3-nitrobenzoilo (cloruro de acilo) con 2,4,6-triaminquinazolina (amina). Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al término de la reacción, se obtuvo una suspensión que se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del compuesto que se obtuvo se registraron los espectros de: masas, infrarrojo, resonancia magnética nuclear de H y C¹³.

Se obtuvo el espectro de masas, por impacto electrónico, se mostró el ion 460 m/z (M⁺), que no corresponde con el peso molecular del compuesto 6, probablemente porque la parte del terbutoxicarbonilo (Boc) no se alcanzó.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3578 cm⁻¹ propia del estiramiento entre N-H del grupo amida; la banda 3346 cm⁻¹ es característica de

7. Resultados y discusión

la vibración de tensión entre el N-H del grupo amina primaria; la banda presente en 3082 cm^{-1} es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda en 1525 cm^{-1} corresponde a la vibración de torsión de N-H del grupo amida secundaria; las bandas en 1615 y 1443 cm^{-1} son propias de las vibraciones de estiramiento de C-C del anillo aromático; 1659 cm^{-1} es una banda propia del estiramiento de C-N; la banda presente en 1347 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico del grupo nitro.

En el espectro de RMN- ^1H se mostró, para el anillo de quinazolina, las señales que corresponden al H_{13} como un doblete, con un desplazamiento de 8.34 ppm , con un acoplamiento de 2.12 Hz en posición meta con H_{15} ; para H_{14} se obtuvo un desplazamiento de 7.34 ppm , con un acoplamiento de 8.92 Hz generado por su acoplamiento en orto con el protón H_{15} ; para H_{15} se obtuvo una señal doble de dobles con un desplazamiento de 7.78 ppm , con constantes de acoplamiento de 2.16 y 8.84 Hz ; el protón H_8 de la amida se obtuvo a un desplazamiento de 10.74 ppm ; para las aminas de la quinazolina, H_{20} y H_{21} , se obtuvieron desplazamientos de 7.76 y 6.64 ppm respectivamente, las cuales integran para dos protones cada una; para el anillo bencenoide, los protones H_2 y H_3 generaron un doble de dobles, con acoplamientos de 2.04 y 8 Hz , el primer acoplamiento genera un acoplamiento meta con H_6 y el segundo genera un acoplamiento orto con H_5 ; el protón H_5 generó un triplete con un desplazamiento de 7.85 ppm , con una constante acoplamiento de 8 Hz ; el protón H_6 generó un triplete con un desplazamiento de 8.83 ppm , con una constante acoplamiento de 1.88 Hz . (Fig.13)

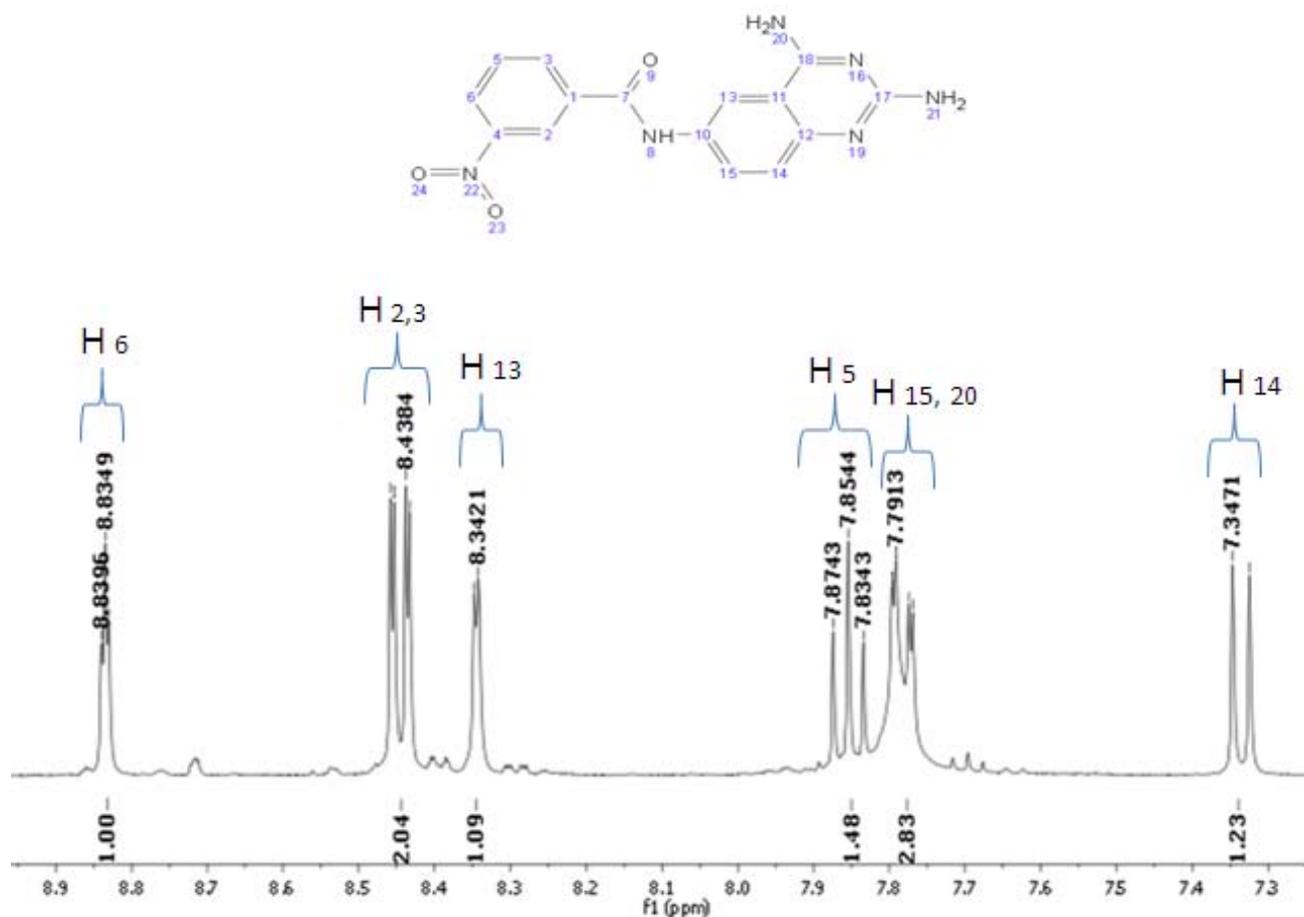


Figura 13. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN- ^1H de 4.

7.1.3 Caracterización del compuesto *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (**5**).

La síntesis del compuesto **5**, se inició con la activación del ácido nicotínico usando CDI, para formar un intermediario que posee un buen grupo saliente, imidazol. Posteriormente, se formó la amida con 5-amino-2-fluorobenzonitrilo. Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al término de la reacción se obtuvo una solución y el compuesto tenía aspecto chicloso. Se procedió a evaporar la fase líquida en el rotavapor. Posteriormente se agregaron 30 mL de acetato de etilo y se dejó en agitación constante por 4 h más. Por último, se obtuvo una suspensión amarillenta, la cual se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del compuesto obtenido se registraron los espectros de: masas, infrarrojo, resonancia magnética nuclear de H y C¹³.

El compuesto **5**, se intentó ciclar con carbonato de guanidina para formar el núcleo de quinazolina. Pero no fue posible a pesar de varios intentos. Esto se debe a que se usó la cantidad exacta de base (DIPEA), a diferencia del compuesto **3** en el que se usó el doble de base. Sucede que al no haber la cantidad correcta de base no se pudo desprotonar tan fácilmente el compuesto **5**, también no es tan soluble en el disolvente utilizado (DMA), lo que complicó la reacción. Por falta de tiempo se decidió mandar a pruebas de citotoxicidad dicho compuesto, para observar si mostraba ser citotóxico en líneas celulares cancerígenas, a pesar de que no fuera un derivado de 2,4,6-triaminquinazolina. En el espectro de masas, obtenido por impacto electrónico, se observó el ion 348m/z (M+) correspondiente al peso molecular del compuesto **5**.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3344 cm^{-1} propia del estiramiento entre N-H del grupo amida; la banda 3144 cm^{-1} es característica de la vibración de tensión entre el N-H del grupo amina secundaria; la banda presente en 3083 cm^{-1} es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda presente en 2240 pertenece al grupo ciano ($\text{C}\equiv\text{N}$), la banda en 1542 cm^{-1} corresponde a la vibración de torsión de N-H del grupo amida secundaria; las bandas en 1598 y 1408 cm^{-1} son propias de las vibraciones de estiramiento de C=C del anillo aromático; 1660 cm^{-1} es una banda propia del estiramiento de C=N; 1497 cm^{-1} es una banda perteneciente a la torsión de la amina secundaria; entre 1222-1134 cm^{-1} se encuentran bandas múltiples y complejas pertenecientes a los enlaces de carbono con los tres átomos de flúor.

En el espectro de RMN- ^1H se mostró, para el sistema indólico, las señales que corresponden al H₂ como un doble de dobles a un desplazamiento de 7.96 ppm, con constantes de acoplamiento de 1.53 y 8.61 Hz; la primera generada por su acoplamiento en meta con H₃, y la segunda generada por su acoplamiento en orto con el protón H₄. Para el protón H₃, el desplazamiento es de 8.3 ppm con una constante de acoplamiento de 0.96 Hz; para el protón H₄ se registró un doblete a 7.8 ppm de desplazamiento, con una constante de acoplamiento de 8.61 Hz; para H₈. El protón de la amida, se obtuvo a un desplazamiento de 10.65 ppm, integrando para un protón; para los protones del anillo bencenoide se obtuvo para H₁₁ un doble de dobles a un desplazamiento de 8.27 ppm, con

7. Resultados y discusión

constantes de acoplamiento de 2.68 y 5.79 Hz, generadas por su acoplamiento en meta con H₁₃; a un desplazamiento de 8.08 ppm con una señal de doble de dobles está el protón H₁₃ con constantes de acoplamiento de 2.76, 4.90 y 9.27 Hz generadas por el acoplamiento en meta con H₁₁, y en orto con H₁₄; para H₁₄ se obtuvo un desplazamiento de 7.52 ppm, un triplete con una constante de acoplamiento de 9.15 Hz. (Fig.14)

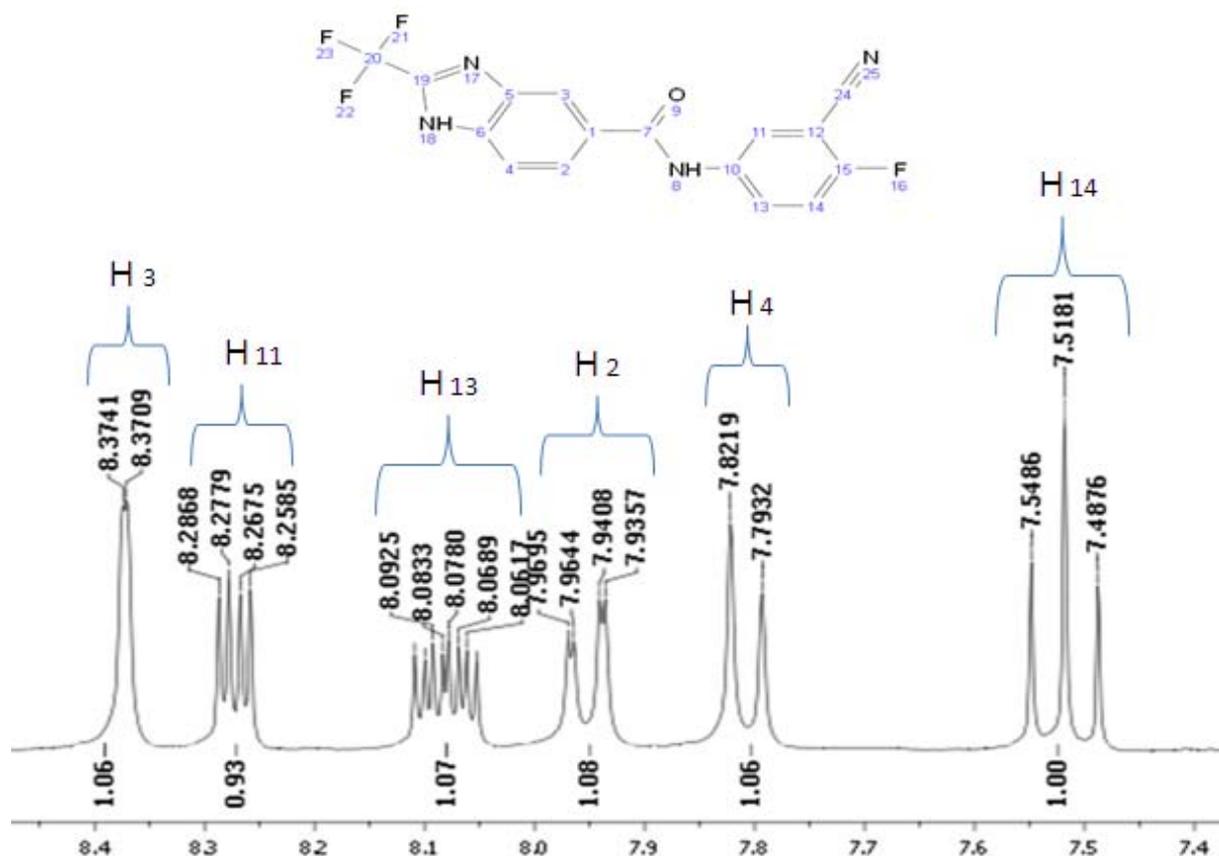


Figura 14. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN-¹H de 5.

7.1.3 Caracterización del compuesto Di-*tert*-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoi] fenil} biscarbamato (6).

La síntesis del compuesto **6**, se inició con la activación ácido 3,4-bis [(*tert* – butoxicarbonil) amino] benzoico (12), usando CDI, para formar un intermediario que posee un buen grupo saliente, imidazol. Posteriormente, se formó la amida con 5-amino-2-fluorobenzonitrilo. Dicha reacción fue monitoreada por cromatografía de placa fina (c.c.f). Al Término de la reacción se obtuvo una solución café oscuro. Se procedió a evaporar la fase líquida en el rotavapor.

7. Resultados y discusión

Posteriormente, se agregaron 40 mL de acetato de etilo, se dejó en agitación constante por 4 h. Por último, se obtuvo una suspensión café, la cual se sometió a un proceso de filtración rápida. Una vez que se obtuvo el sólido, se recristalizó de metanol/agua 75:25. Del compuesto obtenido se registraron los espectros de: masas, infrarrojo, y resonancia magnética nuclear de ^1H .

El compuesto **6**, se intentó ciclar con carbonato de guanidina para formar el anillo de quinazolina. Pero no fue posible a pesar de varios intentos. Esto se debe a que se usó un cuarto de base de (DIPEA) más, a diferencia del compuesto **3** en el que se usó el doble de base de más. Sucede que al no haber la cantidad correcta de base no se pudo desprotonar tan fácilmente el compuesto **5**, también no es tan soluble en el disolvente utilizado (DMA), lo que complicó la reacción. Por falta de tiempo se decidió mandar a pruebas de citotoxicidad dicho compuesto, para observar si demostraba ser citotóxico en líneas celulares cancerígenas, a pesar de que no fuera un derivado de 2,4,6-triaminquinazolina.

En el espectro de masas, obtenido por impacto electrónico, se observó el ion 460 m/z (M^+), no corresponde al peso molecular del compuesto **6**, posiblemente porque fue tan rápida la desintegración de 9 protones que no permitió el registro completo del compuesto.

En el espectro de infrarrojo se observa la banda de 3336 cm^{-1} propia del estiramiento entre N-H del grupo amida primaria; la banda 3158 cm^{-1} es característica de la vibración de tensión entre el nitrógeno y el hidrógeno del grupo amida primaria enlazada; la banda presente en 3112 cm^{-1} es propia del estiramiento C-H del anillo aromático; la banda presente en 2244 cm^{-1} pertenece al grupo ciano $\text{C}\equiv\text{N}$, las bandas entre $1634\text{-}1663\text{ cm}^{-1}$ corresponden a la vibración de torsión de N-H del grupo amida; las bandas en 1598 y 1474 cm^{-1} son propias de las vibraciones de estiramiento de C=C del anillo aromático; la banda en 2850 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico de (-CH₃); la banda en 1710 cm^{-1} corresponde al grupo (C=O), 1332 , 1255 , 1216 cm^{-1} , son bandas que pertenecen al estiramiento del grupo terbutilo. [(CH₃)₃-C].

En el espectro de RMN- ^1H se mostró, para los protones del anillo bencenoide, las señales que corresponden al H₃ como un doble de dobles a un

7. Resultados y discusión

desplazamiento de 8.33 ppm, con constantes de acoplamiento de 2.64 y 5.81 Hz, generadas por su acoplamiento en meta con H₆; para el protón H₄, se registró un triplete, a un desplazamiento es de 7.55 ppm con constante de acoplamiento de 9.18 Hz, generada por su acoplamiento en orto con H₆; para el protón H₆ se registró un doble de dobles de dobles, a un desplazamiento de 8.14 ppm de desplazamiento, con constantes de acoplamiento de 2.73, 4.95 y 9.27 Hz; para H₇, el protón de la amida, se obtuvo a un desplazamiento de 10.59 ppm, integrando para un protón; para los protones del sistema indólico, se obtuvo para H₁₁ un doblete a un desplazamiento de 7.6 ppm, con una constante de acoplamiento de 1.62 Hz, generada por su acoplamiento en meta con H₁₂; el protón H₁₂ se obtuvo a un desplazamiento de 7.7 ppm con una señal de doble de dobles, con constantes de acoplamiento de 1.71 y 8.22 Hz, la segunda constante corresponde al acoplamiento en orto con H₁₄; para H₁₄ se obtuvo un desplazamiento de 7.09 ppm, un doblete con una constante de acoplamiento de 8.15 Hz. (Fig.15)

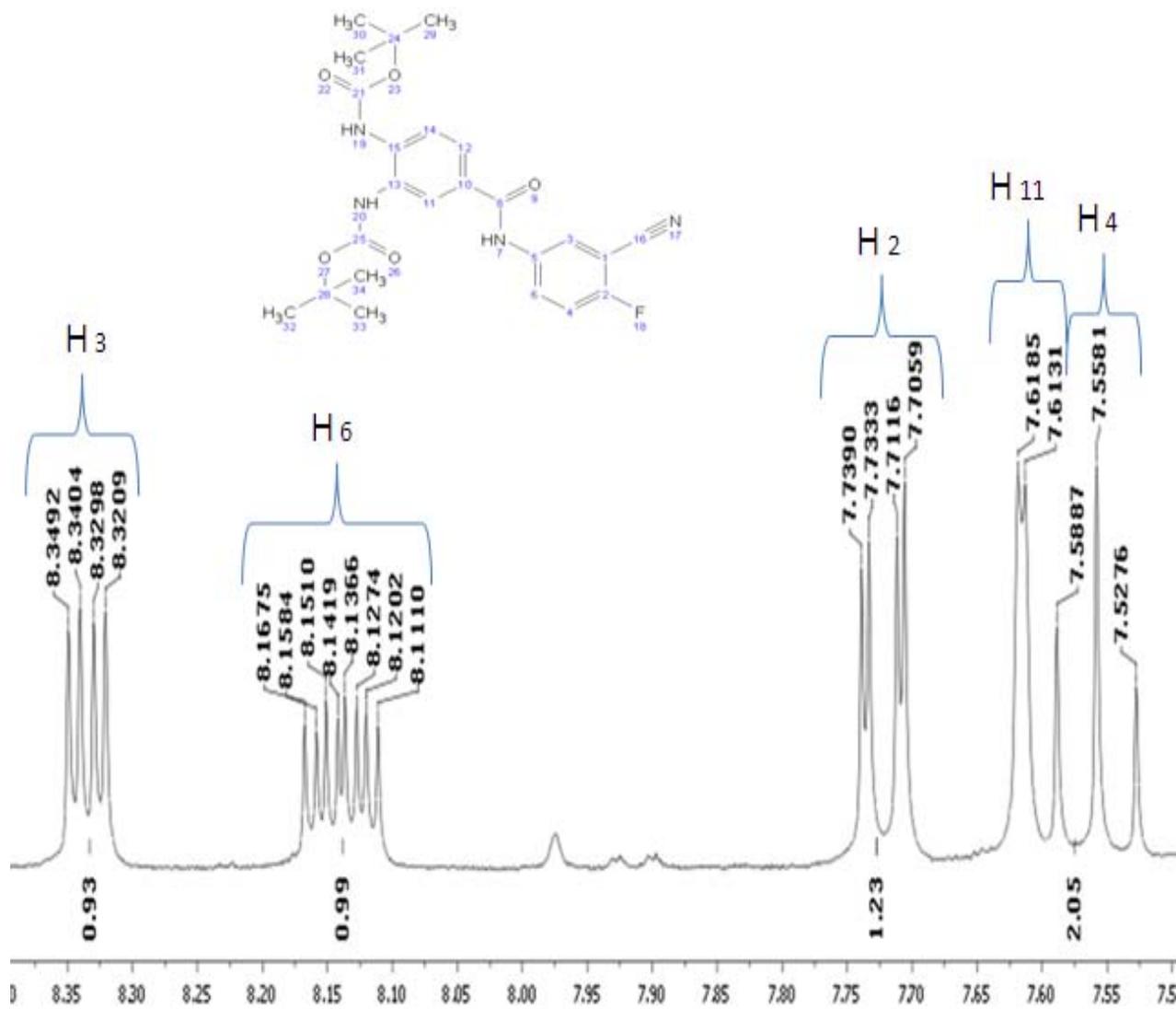


Figura 15. Ampliación de la región aromática del espectro de RMN-¹H de **6**.

7.2 Parte teórica

Se realizaron estudios de docking en busca de las posibles dianas, utilizando el programa Autodock. Este programa es útil para encontrar la conformación de mínima energía dentro del sitio activo de proteínas. El programa utiliza un algoritmo matemático para realizar la búsqueda conformacional. Las imágenes se generaron utilizando pymol (visualizador de macromoléculas). Dado que previamente esta clase de compuestos han mostrado ser inhibidores de DHFR se utilizó esta enzima. Adicionalmente, se estudió al receptor estrogénico ya que las moléculas fueron muy activas sobre MCF7. Los compuestos se unen con buena afinidad, sin embargo, aún estamos explorando otras posibles dianas.

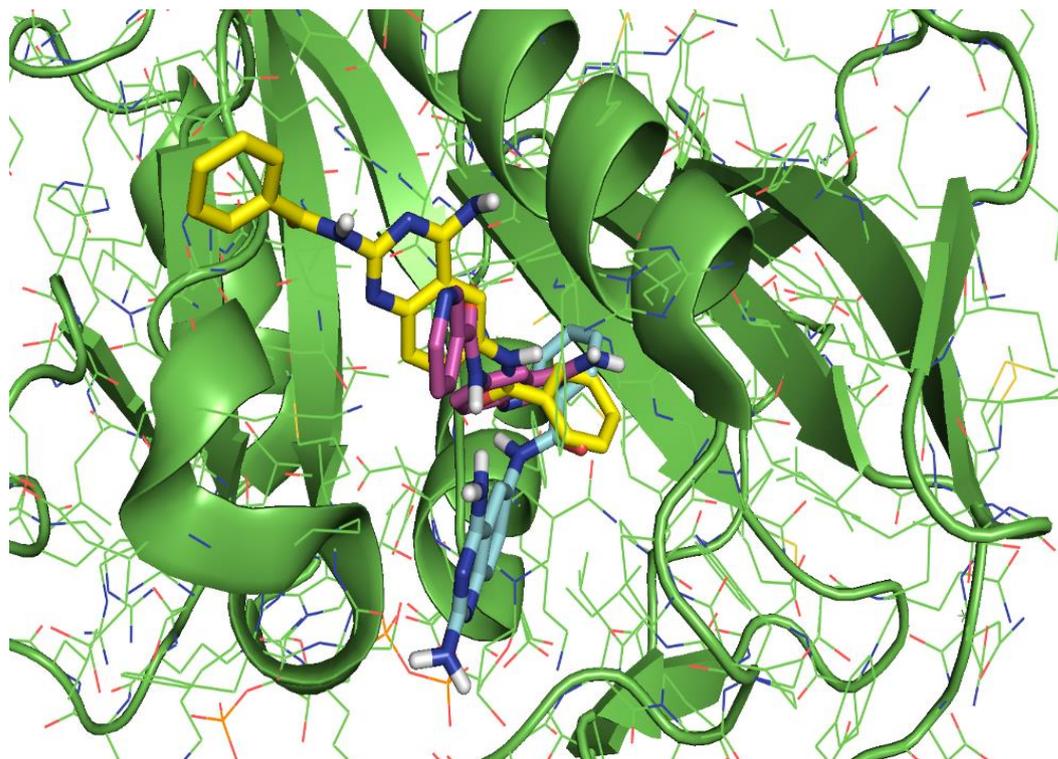


Figura 16. Vista de interacción de los compuestos 1-4 en receptor estrogénico en DHFR.

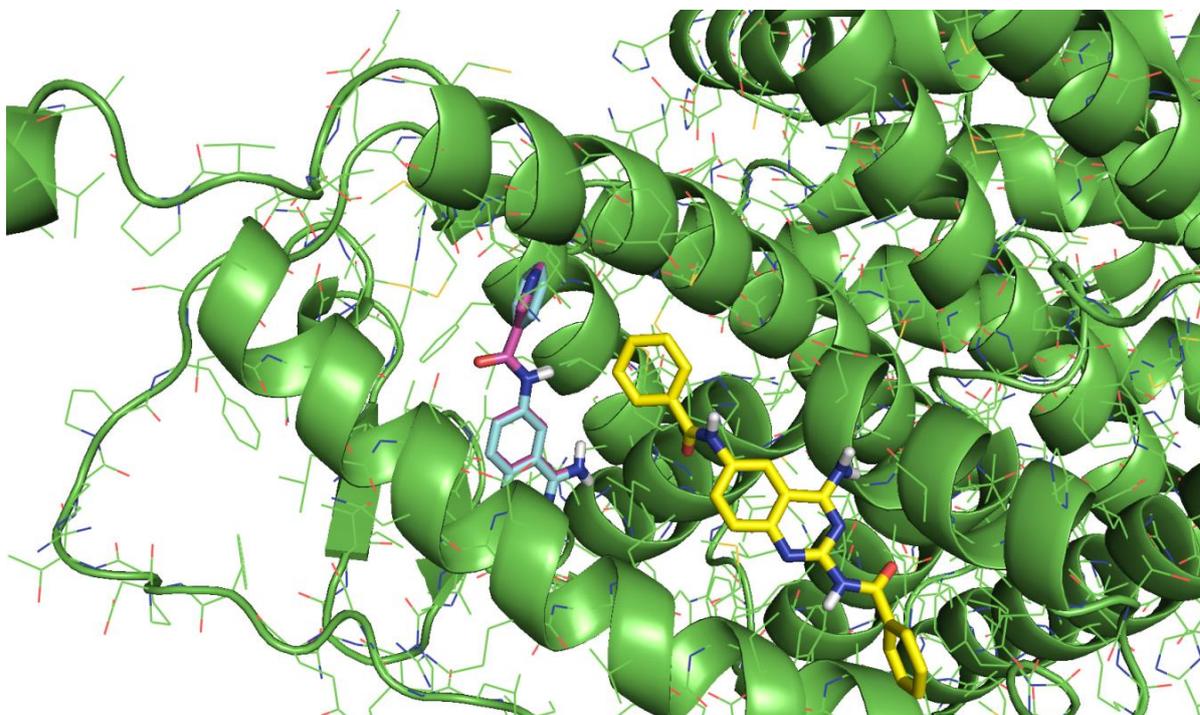


Figura 17. Vista de interacción de los compuestos 1-4 en receptor estrogénico alfa (ER- α)

Los compuestos se unen con buena afinidad, sin embargo, aún se deben explorar otras posible dianas.

7.3 Evaluación biológica

La citotoxicidad celular se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado. Existen diferentes baterías de pruebas *in vitro* para predecir los efectos tóxicos de drogas y compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas.

Dentro de la batería de ensayos *in vitro* como métodos de toxicología alternativa útiles y necesarios para el registro o solicitud de ensayos clínicos de una sustancia dada se encuentran los llamados ensayos de citotoxicidad, capaces de detectar mediante diferentes mecanismos celulares conocidos, los efectos adversos de interferencia con estructura y/o propiedades esenciales para la supervivencia celular, proliferación y/o funciones. Dentro de estos se encuentran la integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes celulares o productos, regulación iónica y división celular. (Arencibia, 2003)

El ensayo de citotoxicidad que se utilizó para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento en líneas celulares, a una concentración de 50 μM de los compuestos sintetizados, fue el método de tinción con sulforodamina B.

El método de tinción con sulforodamina B (SRB) fue desarrollado en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos, como una alternativa al empleo del método de reducción de MTT en el programa de tamizaje *in vitro* para el descubrimiento de nuevos agentes antineoplásicos.

La sulforodamina B (SRB) es un colorante de aminoxantano, rosado brillante, posee dos grupos sulfónicos $-\text{SO}_3^-$ cargados negativamente, capaces de unirse electrostáticamente a cationes. En condiciones ácidas (disuelta en ácido acético 1%), la SRB aumenta su afinidad por los aminoácidos básicos de las proteínas,

7. Resultados y discusión

y se fija selectivamente a éstos, proporcionando un índice del contenido de proteína celular si las células son previamente fijadas con ácido tricloroacético (TCA), y después de eliminar el colorante no fijado, el colorante unido a las células viables se extrae con medio alcalino (Solución de Tris pH 10,5) y se lee la absorbancia a 564 nm.

Se evaluó la sensibilidad en las líneas celulares de: U251 (glía del sistema nervioso central), PC-3 (próstata), K562 (leucemia), HCT-15 (colón), MCF-7 (mama), SKLU-1 (pulmón) y en FGH (fibroblastos gingivales humanos). Como referencia se utilizó el tamoxifen, un fármaco utilizado en el tratamiento del cáncer de mama humano. El tamoxifen compite con el estrógeno para la unión al receptor de estrógenos. Así pues, la administración de tamoxifen, tras una intervención quirúrgica o la aplicación de quimioterapia para este tipo de cáncer, reduce o interrumpe el crecimiento de las células cancerosas restantes, prolongando el tiempo de vida del paciente.

Se obtuvieron los porcentajes de inhibición del crecimiento en líneas celulares (Tabla 5), se observó para la línea celular U251, que el compuesto 1 inhibe el 100% del crecimiento, pero al inhibir el 46.97% de fibroblastos se descarta como candidato para seguir con otras pruebas como mutagenicidad etc. El compuesto 2 inhibe el 78.7% y el compuesto 5 inhibe un 74.9%, ambos son menos citotóxico en fibroblastos que el tamoxifen, pero para continuar con más pruebas se requiere que no sean citotóxicos en fibroblastos.

Para la línea celular PC-3 el compuesto 5 es el que tiene mejor perfil, aunque presenta citotoxicidad en fibroblastos, es poca comparada con el porcentaje de inhibición que presenta en células cancerígenas.

Para la línea celular K562 el compuesto más prometedor es el 4, ya que no es citotóxico en fibroblastos, y tiene un 81.9% de inhibición en esta línea celular.

Para la línea celular HCT-15 el compuesto 5 resulto ser el más citotóxico, aunque presenta citotoxicidad en fibroblastos, es un buen candidato para seguir investigándolo. Es posible que cierta citotoxicidad sea conferida por el grupo nitro que presenta la molécula, ya que este grupo es moderadamente tóxico.

Para la línea celular MFC-7, en correlación con el estudio conformacional que se realizó para el compuesto 2, se observó que inhibe el 84.3% de células

7. Resultados y discusión

cancerígenas, lo que indica que al ser plana la estructura, interacciona bien con los receptores estrogénicos. Sin embargo, el compuesto estrella es el 4, ya que inhibe el 100% de células cancerígenas y no es citotóxico en fibroblastos. El compuesto 4 presenta un grupo nitro, el cual es electronegativo y retira densidad electrónica de la molécula, volviéndola más estable. Al estabilizar la molécula lo más probable es que tenga una estructura plana y no presente confórmeros.

Para la línea celular SKLU-1 el compuesto con mejor perfil es el 5, ya que presenta un porcentaje de inhibición del 86.8% y es menos citotóxico en fibroblastos en comparación al compuesto 1, que inhibe el 97.8% las células cancerígenas.

Tabla 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento en líneas celulares

Compuesto	% de inhibición del crecimiento						FGH
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1	
1	100	95.2±4.8	100	95.6±3.4	100	97.8±2.3	46.97
2	78.7±17.5	85.3±14.7	100	92.8±4.6	84.3±8.1	78.9±12.3	9.46
3	10.5±1.2	NC	NC	52.99±1.2	3.4±0.3	36.94±0.06	NC
4	52.42±18.9	NC	81.9±18.1	40.37±13.11	100	34.78±14.1	NC
5	74.9±5.9	82.89±10.6	82.01±17.9	97.4±1.7	98.1±1.6	86.77±5.4	2.4
6	50.7±7.5	NC	41.3±17.7	13.85±3.6	NC	NC	NC
Tamoxifen (10 µM)	44.84±1.0	58.99±7.1	60.46±9.7	53.58±0.3	29.61±2.9	43.33±2.5	9.87±0.4

*NC: No citotóxico

8. Conclusiones

En este trabajo de tesis se lograron sintetizar 4 compuestos derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, por dos vías de síntesis. También se obtuvieron 2 intermediarios con buen perfil para ser derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, lo cual es bueno para continuar con la línea de investigación de derivados de quinazolina.

Los compuestos sintetizados fueron elucidados por diferentes técnicas, entre ellas la espectrometría de masas, espectroscopía de infrarrojo y la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de ^1H y C^{13} .

Los 4 compuestos derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, presentan un grupo benzoilo en la posición 6 de la quinazolina; a su vez, el benzoilo presenta sustituyentes electroattractores en la posición 3. En este trabajo de tesis quedó demostrado que los compuestos con las características mencionadas, presentaron una mayor citotoxicidad en líneas celulares con respecto inclusive al fármaco de referencia.

El compuesto **1** nos demuestra que la sustitución de la quinazolina, en la posición 2, vuelve al compuesto más citotóxico tanto en líneas celulares cancerígenas como en líneas celulares normales (fibroblastos).

El compuesto **2**, no presenta ningún sustituyente en el benzoilo, sin embargo es citotóxico tanto en líneas celulares cancerígenas como en líneas celulares normales (fibroblastos), pero en menor grado en comparación con el compuesto **1**, esto nos demuestra que al colocar un sustituyente en la posición 6 de la quinazolina, el compuesto presentara citotoxicidad también en fibroblastos, pero no tanta citotoxicidad como colocando sustituyentes en la posiciones 2 y 6 de la quinazolina.

En el compuesto **3** se presenta como sustituyente en la quinazolina, en la posición 6, una piridina, el nitrógeno es electroattractor y se encuentra en la posición 3, se

8. Conclusiones

observa que con esta modificación no se presenta citotoxicidad en fibroblastos; sin embargo, es menos citotóxico en líneas celulares cancerígenas, en comparación con el tamoxifen.

En el compuesto **4** se observa la presencia del grupo benzoilo, como sustituyente en la posición 6 de la quinazolina; a su vez, el benzoilo presenta como sustituyente en la posición 3, un grupo electroattractor (nitro). El cual estabiliza la molécula. Estas características demuestran ser las ideales para los compuestos derivados de 2,4,6-triaminquinazolina, ya que este compuesto no presenta citotoxicidad en fibroblastos e inhibe el 100% del crecimiento de células cancerígenas pertenecientes a la línea celular MCF-7, lo que lo hace selectivo y un candidato con mucho potencial para volverse un fármaco.

A los compuestos **5** y **6** les hace falta una ciclación para formar el anillo de quinazolina, se sugiere realizarlo en microondas. A pesar de no estar ciclados presentaron muy buena actividad citotóxica.

Apéndice 1. Parte experimental

La materia prima y los compuestos se pesaron en una balanza analítica marca Adventurer OHAS.

Para la elaboración de las reacciones se empleó una parrilla automática marca IKA RCT básica con sensor de temperatura modelo IKA TRON ETS-DH fuzzy.

Para la concentración de las soluciones se utilizó un rotavapor IKA RV 10 digital conectado a una bomba de vacío Büchi V-800, con baño de calentamiento HB10 digital.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato electrothermal modelo M8144 usando capilares abiertos.

La hidrogenación catalítica se realizó en un equipo para hidrogenación marca PARR modelo 3916 EG adaptado a un tanque de hidrógeno de la casa INFRA.

La determinación de los espectros de resonancia magnética nuclear de H^1 y de ^{13}C se realizaron en un espectrómetro Varian Unity Inova que opera a 300 o 400 MHz para la determinación del protón y 75 o 100 MHz para el isótopo de ^{13}C . El disolvente utilizado fue dimetilsulfóxido- d_6 .

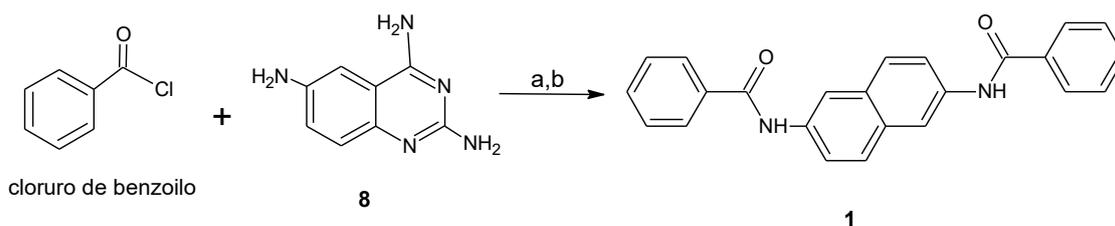
Cromatografía

Para el monitoreo de las reacciones la verificación de la pureza de los productos se utilizó cromatografía en capa fina (ccf), utilizando placas de vidrio cubiertas con gel de sílice 60, GF254 (Merck). Se utilizó una lámpara de luz ultravioleta UVP Inc. modelo UVGL-25.

Sistema de elución

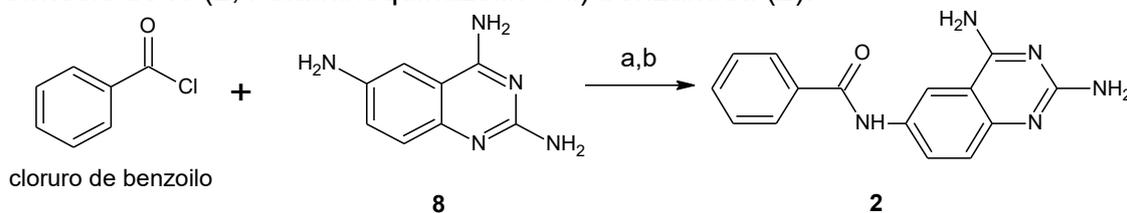
Sistema	Composición
Sistema I	CHCl ₃ /MeOH (80:20)
Sistema II	CHCl ₃ /MeOH (90:10)
Sistema III	CHCl ₃ /MeOH (50:50)
Sistema IV	2-butanol/ácido acético/agua (80:20:05)

Síntesis de *N,N'*-(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (**1**)



En un matraz bola de 250 mL en baño de agua fría, adaptado a un embudo de adición unido a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 0.5 mL (4.22 mmol) de cloruro de benzoilo en 5 mL de acetonitrilo anhidro. Posteriormente en un vaso de precipitado de 50 mL se colocaron 522.5 mg de **7** (3.7 mmol, 0.9 meq) y se disolvió en 10 mL de acetonitrilo anhidro, una vez disuelto se agregó gota a gota, por medio del embudo de adición. Por último, se agregaron 0.8 mL (5.06 mmol, 1.2 meq) de DIPEA. Se dejó en agitación constante por 48 h. Se obtuvo un sólido café crema de compuesto **1**. Se recristalizó de metanol/agua 75:25. Se obtuvieron 425 mg, correspondientes al 37.9% de rendimiento, R.f =0.8. Sistema III. P.f. 348.7 °C (Lit. 355.8 °C) (con descomposición).

Síntesis de *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (**2**).

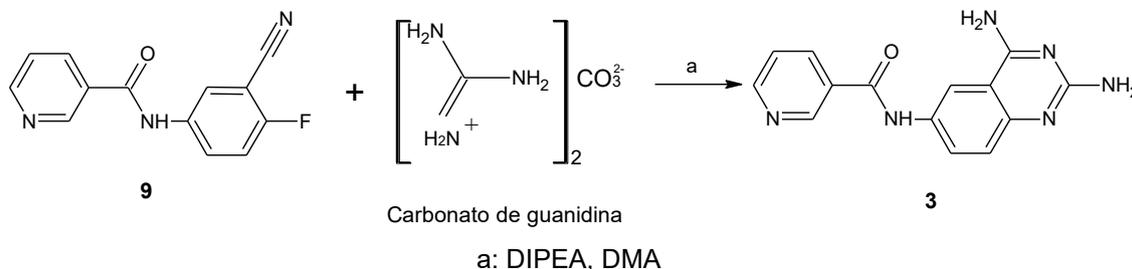


En un matraz bola de 250 mL en baño de hielo, adaptado a un embudo de adición unido a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 0.41 mL (3.5 mmol) de Cloruro de benzoilo en 5 mL de acetonitrilo anhidro. Posteriormente, en un vaso de precipitado de 50 mL se colocaron 522.5 mg de **7** (2.9 mmol, 0.85 meq) y se disolvió en 10 mL de acetonitrilo anhidro. Una vez disuelto, se agregó gota a gota, al matraz de 250 mL, por medio del embudo de adición. Por último, se agregaron 0.73 mL (4.2 mmol, 1.2 meq) de DIPEA. Se dejó en agitación constante por 48 h. Se obtuvo un sólido café de compuesto **2**. Se

Apéndice 1. Parte experimental

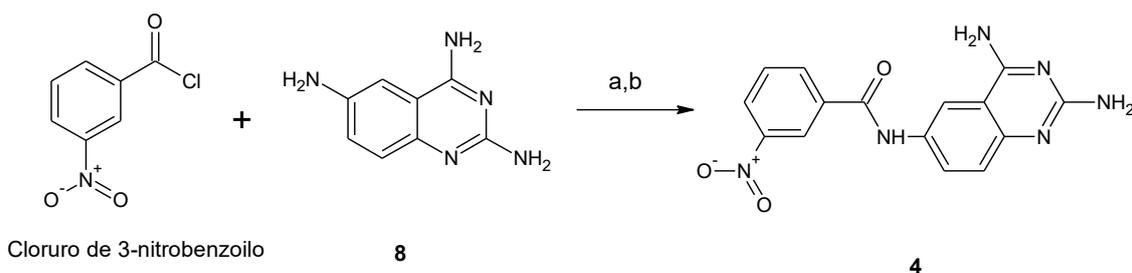
recristalizó de metanol/agua 75:25. Se obtuvieron 141 mg, correspondientes al 16.8% de rendimiento, R.f =0.75. Sistema III. P.f. 248.9 °C (Lit. 250.2 °C).

Síntesis de *N*-[2,4-diaminoquinazolin-6-il] piridina-3- carboxamida (**3**).



En un matraz bola de 250 mL en baño de aceite, adaptado con un tapón de hule, refrigerante en posición de reflujo y agitación magnética, se colocaron 300 mg (1.25 mmol) de **9** y 225 mg (1.25 mmol) de carbonato de guanidina en 10 mL de DMA (*N, N* dimetilacetamida). Posteriormente, se adicionaron 0.5 mL (3 mmol, 2 meq) de DIPEA. Se dejó en agitación constante por 11 h. Se obtuvo un sólido amarillo claro de compuesto (**3**). Se recristalizó en metanol/agua 75:25 respectivamente. Se obtuvieron 242mg, correspondientes al 68.8% de rendimiento, R.f =0.05. Sistema III. P.f. 281.1 °C (Lit. 283.8 °C).

Síntesis de *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (**4**).

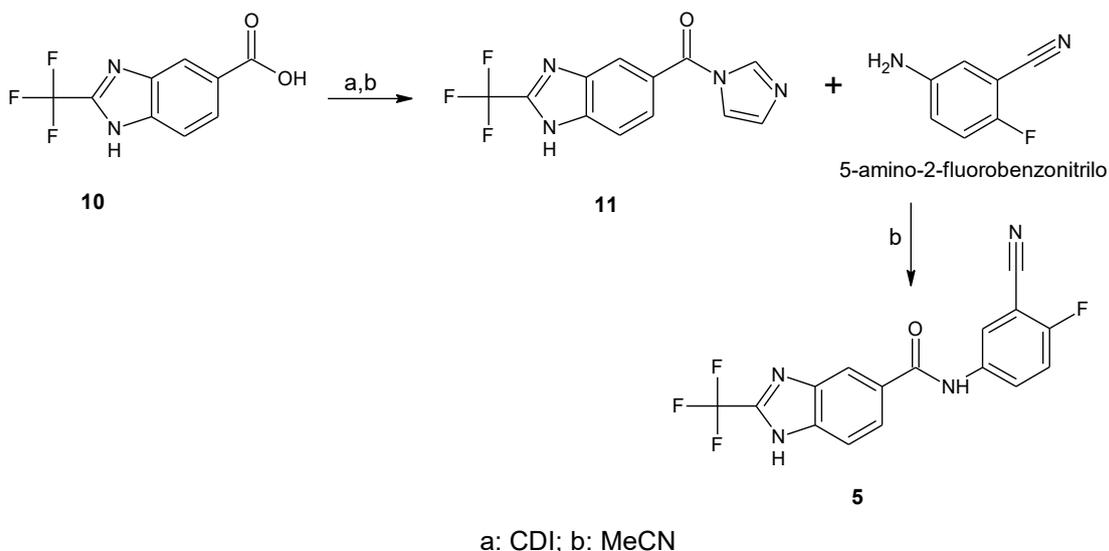


a: MeCN; b: DIPEA

En un matraz bola de 250 mL en baño de hielo, adaptado a un embudo de adición unido a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 982 mg (5.38 mmol) de cloruro de 3- nitrobenzoilo en 10 mL de acetonitrilo anhidro. Posteriormente en un vaso de precipitado de 50 mL se colocaron 0.788 g de **7** (4.5 mmol, 0.85 meq) y se disolvió en 25 mL de acetonitrilo anhidro, una vez disuelto se agregó gota a gota, por medio del embudo de adición. Por último, se agregaron 1.12 mL (6.45 mmol, 1.2 meq) de DIPEA. Se dejó en agitación

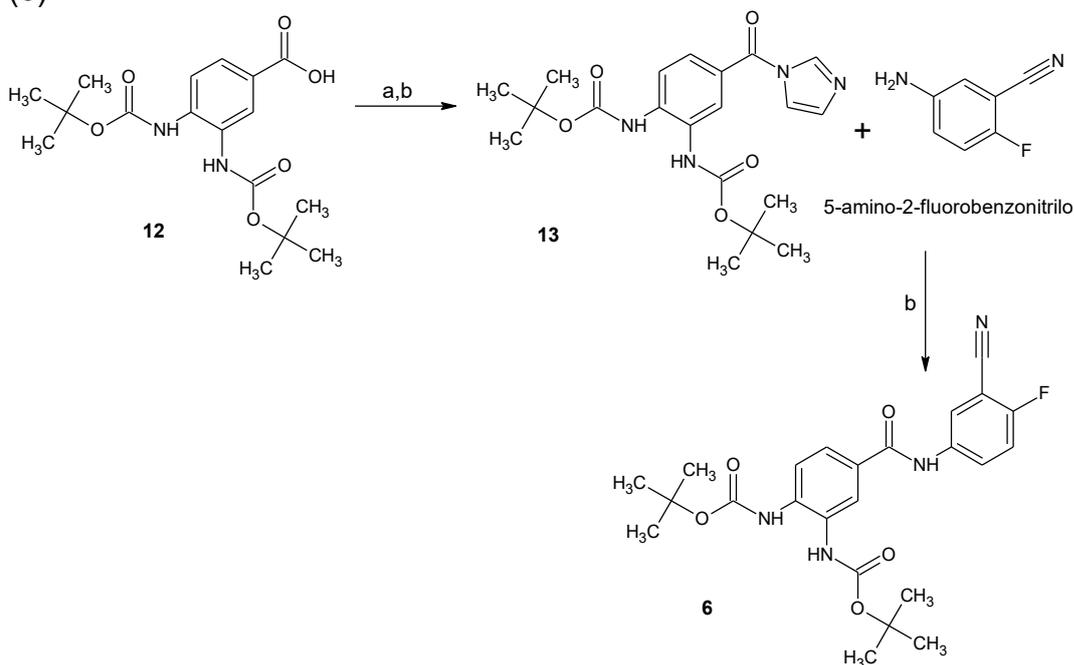
constante por 48 h. Se obtuvo un sólido naranja de compuesto (**4**). Se recrystalizó en metanol/agua 75:25 respectivamente. Se obtuvieron 650.2 mg, correspondientes al 44% de rendimiento, R.f =0.76. Sistema III. P.f. 202.3 °C (Lit. 204.5 °C).

Síntesis de *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol-5-carboxamida (**5**)



En un matraz bola de 100 mL de dos bocas, adaptado con una columna vigreux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 797.8 g (4.7mmol, 1.1 mEq) de CDI, 1.0 g (4.34 mmol) de **10** y 15 mL de acetonitrilo anhidro. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante durante 5 h, a temperatura ambiente. Después de ese tiempo, a través de una ccf se observó el consumo de la materia prima y la aparición de un intermediario de R.f =0.09, empleando el sistema II. Se agregaron 565.3 mg (4.15 mmol, 0.95 mEq) de 5-amino-2-fluorobenzonitrilo. Se dejó en agitación constante durante 48 h, a 40 °C. Terminada la reacción, se concentró el acetonitrilo, y se obtuvo un aceite morado. Se agregaron 10 mL de una solución al 4% de bicarbonato de sodio; con ello se logró obtener un precipitado el cual se separó por filtración al vacío. Se colocó el polvo obtenido en un vaso de precipitados que contenía 40 mL de éter etílico, se mantuvo en agitación durante 24 h. Se obtuvo un sólido amarillo de compuesto **5**. Se obtuvieron 405.3 mg, correspondientes al 26% de rendimiento, R.f =0.39. Sistema II. P.f. 225.2 °C (Lit. 227.9°C) (con descomposición).

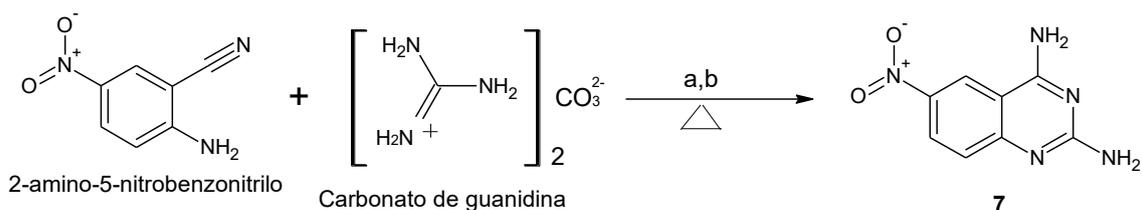
Síntesis de Di-*tert*-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoil] fenil} biscarbamato (6)



a: CDI; b: MeCN

En un matraz bola de 100 mL de dos bocas, adaptado con una columna vigreux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 504.7 mg (3.1 mmol, 1.1 mEq) de CDI, 1.012 g (2.83 mmol) de **12** y 20 mL de acetonitrilo anhidro. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante durante 5 h, a temperatura ambiente. Después de ese tiempo, a través de una ccf se observó el consumo de la materia prima y la aparición de un intermediario de R.f =0.1 en el sistema II. Se agregaron 346.72mg (2.54 mmol, 0.90 mEq) de 5-amino-2-fluorobenzonitrilo. Se dejó en agitación constante durante 48 h, a 40 °C. Terminada la reacción, se concentró el acetonitrilo, y se obtuvo un aceite café. Se agregaron 10 mL de una solución al 4% de bicarbonato de sodio; con ello se logró obtener un precipitado el cual se separó por filtración al vacío. Se colocó el polvo obtenido en un vaso de precipitados que contenía 40 mL de éter etílico, se mantuvo en agitación durante 24 h. Se obtuvo un sólido café crema de compuesto **6**. Se obtuvieron 315 mg, correspondientes al 23% de rendimiento, R.f= 0.45. Sistema II. P.f. 322.8 °C (Lit. 326.4°C) (con descomposición).

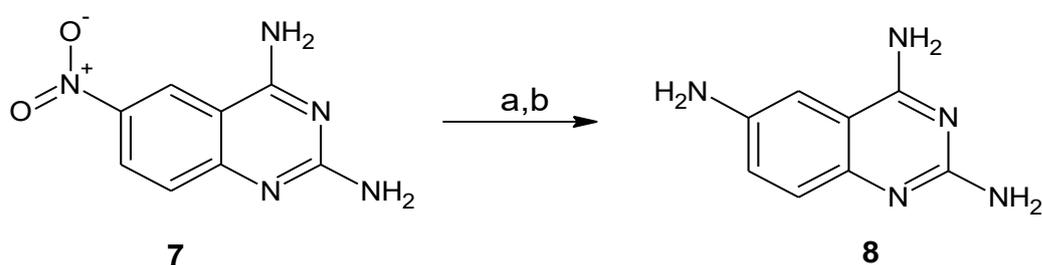
Síntesis de 2,4-diamina-6-nitroquinazolina (**7**)



a: NaOH; b: EtOH/PrOH

En un matraz bola de 250 mL se colocaron 1.04 g (6.42 mmol) de 2-amino-5-benzonitrilo y 20 mL de propanol con agitación constante por 10 minutos. En un vaso de precipitados se disolvieron 174.47 mg (9.63 mmol, 1.5 mEq) de KOH en 10 mL de etanol con agitación constante por 10 min; después de ese lapso, se agregaron 0.867g (4.8 mmol, 0.75 mEq) de carbonato de guanidina y se mantuvo en agitación constante por 10 min más. Después la solución del vaso de precipitados se añadió al matraz bola y la mezcla se colocó a reflujo en un sistema provisto con reóstato, canastilla de calentamiento y refrigerante con recirculación de agua por 7 h. Se formó un precipitado naranja, el cual se separó por filtración al vacío. Después, el sólido se lavó repetidas veces con una mezcla de agua/metanol, hasta que el pH del efluente fuera de 7. Se obtuvo un sólido naranja de compuesto **7**. Se obtuvieron 974.72 mg, correspondientes al 74% de rendimiento, R.f =0.4. Sistema I. P.f. 364.7°C (Lit. 379.6°C) (con descomposición).

Síntesis de 2,4,6-triaminaquinazolina (**8**)

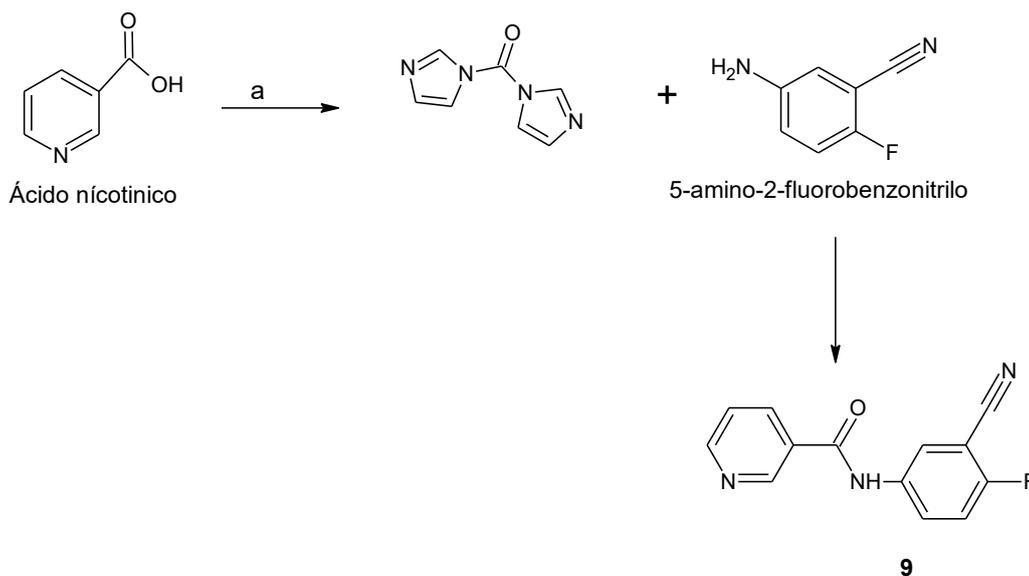


a: H₂, Pd/C (10%); b: MeOH

En un frasco de hidrogenación PARR se mezclaron 1g de **7** (6.4mmol), 100 mg de Pd/C (10%) y 280 mL de metanol; la mezcla se sometió a hidrogenación cargando el sistema con 60 lb/in². La reacción se dejó durante 1 h, consumiéndose 21 lb/in². Posteriormente, la suspensión se separó por filtración

al vacío empleando un embudo de vidrio poroso; la solución amarillo-verdosa obtenida se concentró y se llevó a sequedad obteniéndose 0.830 g de **8**, un sólido color amarillo, cuando empieza a oxidarse se torna café. Se obtuvo un rendimiento de 78%, R.f =0.3. Sistema I. P.f. 249.8 °C (Lit. 251.9°C) (con descomposición).

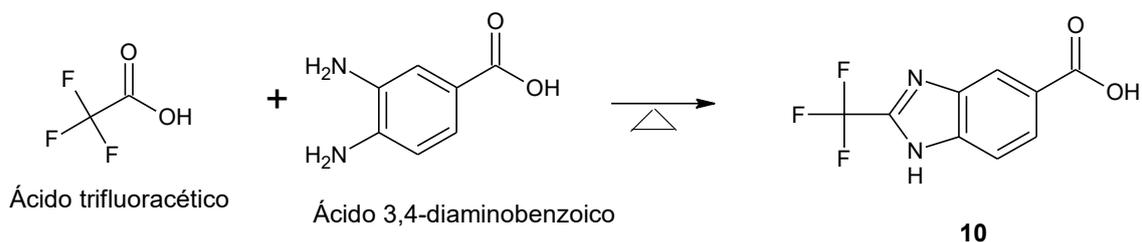
Síntesis de *N*-(3-ciano-4- fluorofenil) piridina-3-carboxamida (**9**)



a: CDI, MeCN

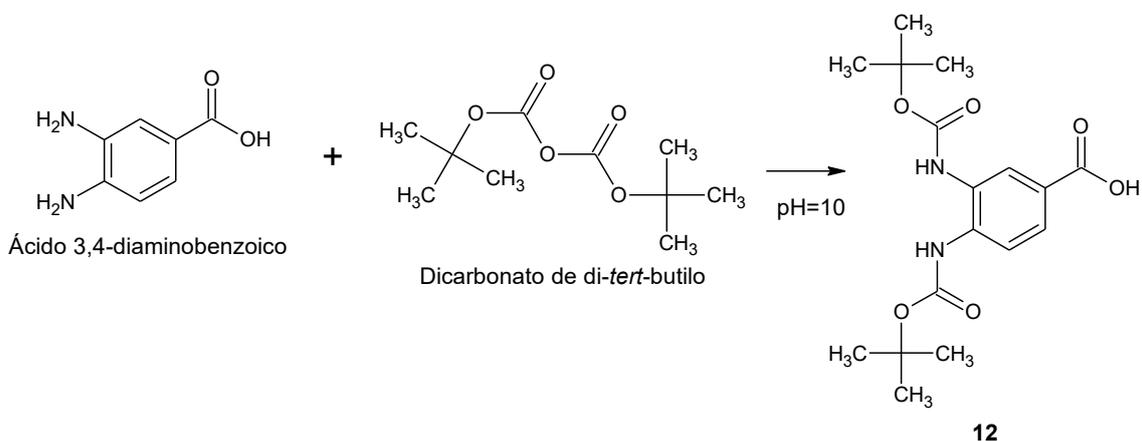
En un matraz bola de 100 mL de dos bocas, adaptado con una columna vigreux unida a un globo con nitrógeno, un septo y agitación magnética, se colocaron 1.87 g (11.6 mmol) de CDI, 1.3 g (10.55 mmol) de ácido nicotínico y 15 mL de acetonitrilo anhidro. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante durante 5 h, a temperatura ambiente. Después de ese tiempo, a través de una ccf se observó el consumo de la materia prima y la aparición de un intermediario de R.f =0.05 en el sistema II. Se agregaron 1.36 g (10.02 mmol, 0.95 mEq) de 5-amino-2-fluorobenzonitrilo. Se dejó en agitación constante durante 48 h, a 40 °C. Terminada la reacción se concentró la solución, y se obtuvo un aceite morado. Se agregaron 10 mL de una solución al 4% de bicarbonato de sodio, se logró obtener un precipitado el cual se separó por filtración al vacío. Se colocó el polvo obtenido en un vaso de precipitados que contenía 40 mL de éter etílico, se mantuvo en agitación durante 24 h. Se obtuvieron 368 mg, correspondientes al 28% de rendimiento, R.f=0.58. Sistema II. P.f.150.3°C (Lit. 151°C).

Síntesis de Ácido 2- (trifluorometil) 1H - bencimidazol-5-carboxílico (10)



En un matraz de 100 mL de tres bocas, adaptado con un termómetro de mercurio, un septo unido a un globo vacío y agitación magnética, se colocaron 5.0 g (32 mmol) ácido 3,4-diaminobenzoico y 35 mL (un exceso) de ácido trifluoracético. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante a reflujo por 3 h, a 93.5 °C. Se llevó la solución a pH de 4.5 con KOH. Se obtuvo un sólido café-crema. Se obtuvieron 5.9 g, correspondientes al 80% de rendimiento, R.f=0.5. Sistema I. P.f. 273.1 °C (Lit.272.3 °C).

Síntesis de Ácido 3,4-bis [(*tert* -butoxicarbonil) amino] benzoico (12)



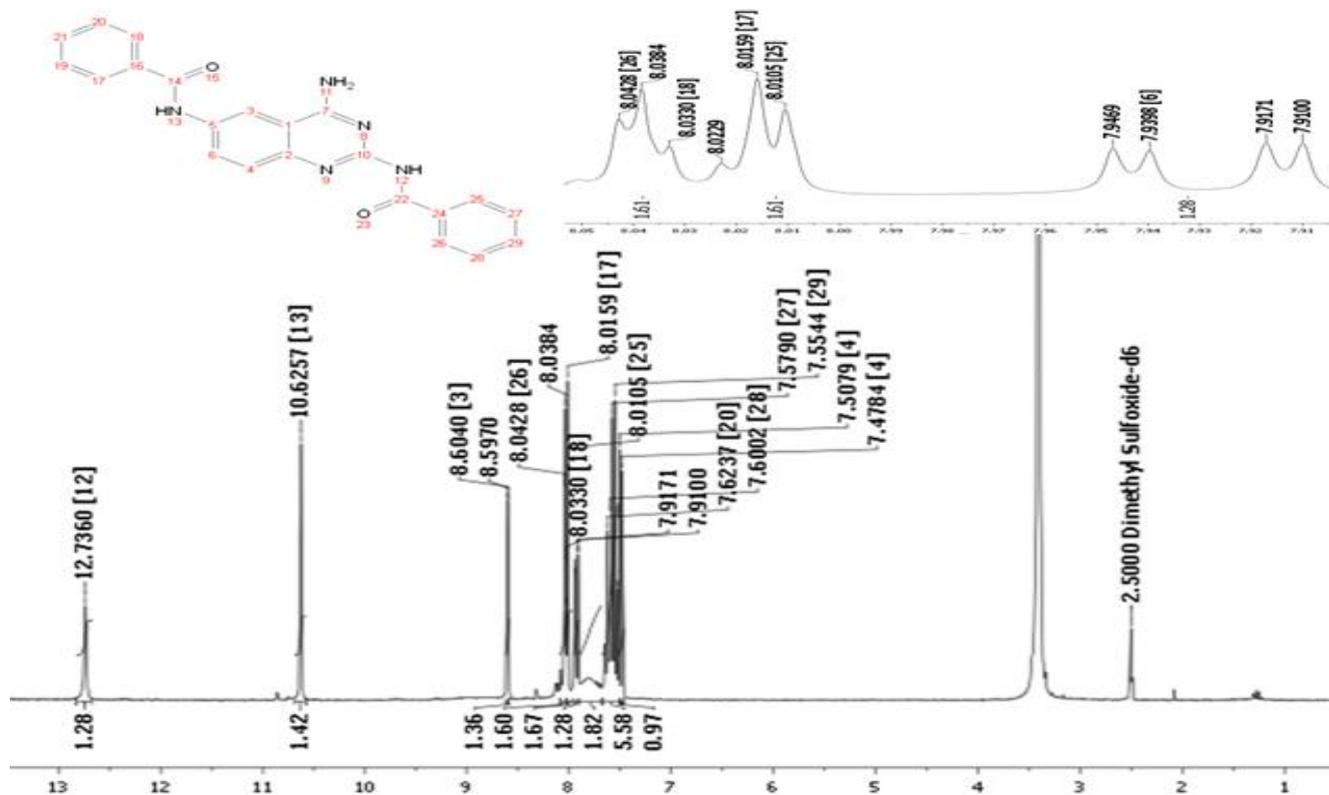
A una solución, agitada por 10 min a 30 °C, de 5 g (33 mmol) de ácido 4-aminometilbenzoico y 1.4 g (35 mmol) de NaOH en 25 mL de agua y 58 mL de *tert*-butanol, se le adicionaron 8 mL (35 mmol) de dicarbonato de di-*tert*-butilo y agitó por 18 h más. Posteriormente, se agregaron 40 mL de agua y extrajo con hexano (4 x 20 mL). La fase acuosa se llevó a pH=3 con solución concentrada

Apéndice 1. Parte experimental

de ácido cítrico. El precipitado blanco obtenido se separó por filtración al vacío, lavó con agua fría, secó y lavó de nuevo con hexano. Se obtuvieron 7.2 g (91%) de un solo compuesto por c.c.f.: $R_f = 0.37$. Sistema II. P.f. 155 °C (Lit. 156 °C).

Apéndice 2. Colección de espectros de RMN-1H, RMN-13C, IR y EM.

A)



B)

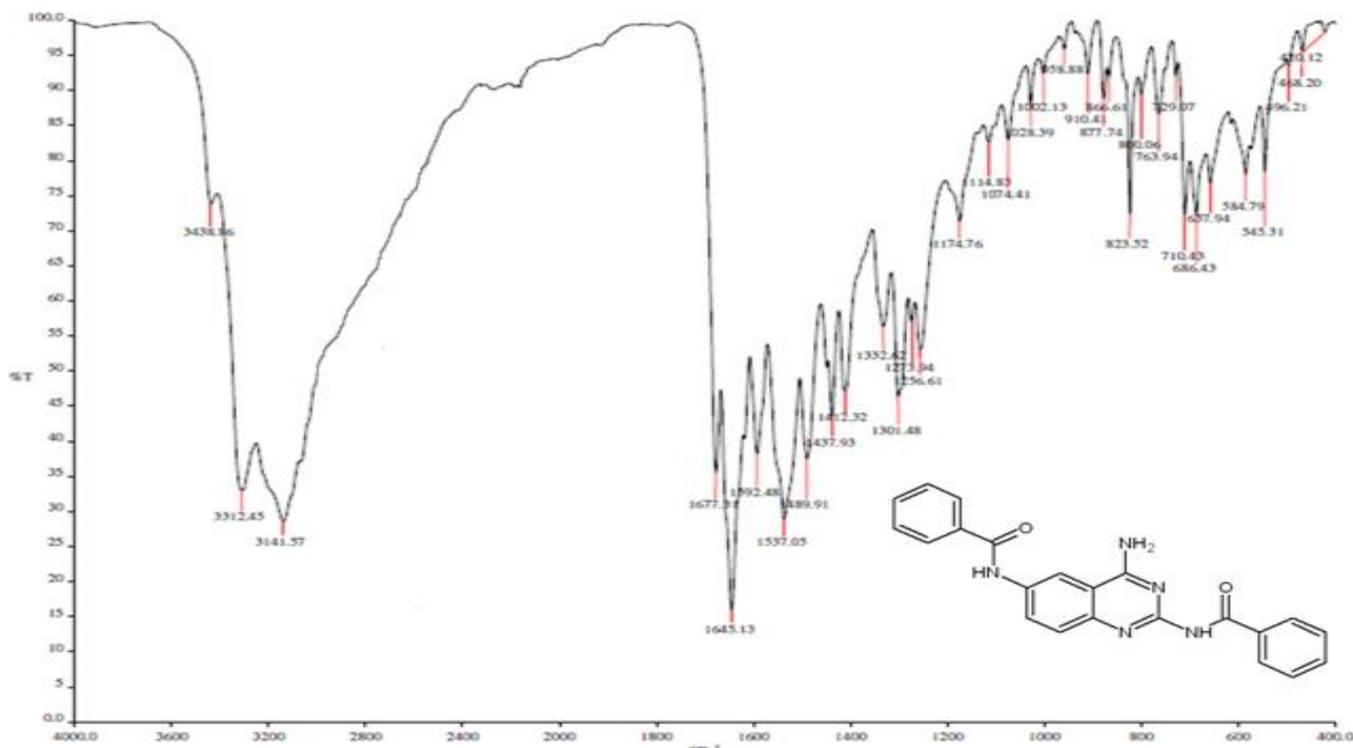


Figura 18. Espectro de A) RMN-¹H y B) IR del compuesto *N,N'*-(4-aminoquinazolina-2,6-diil) dibenzamida (1)

C)

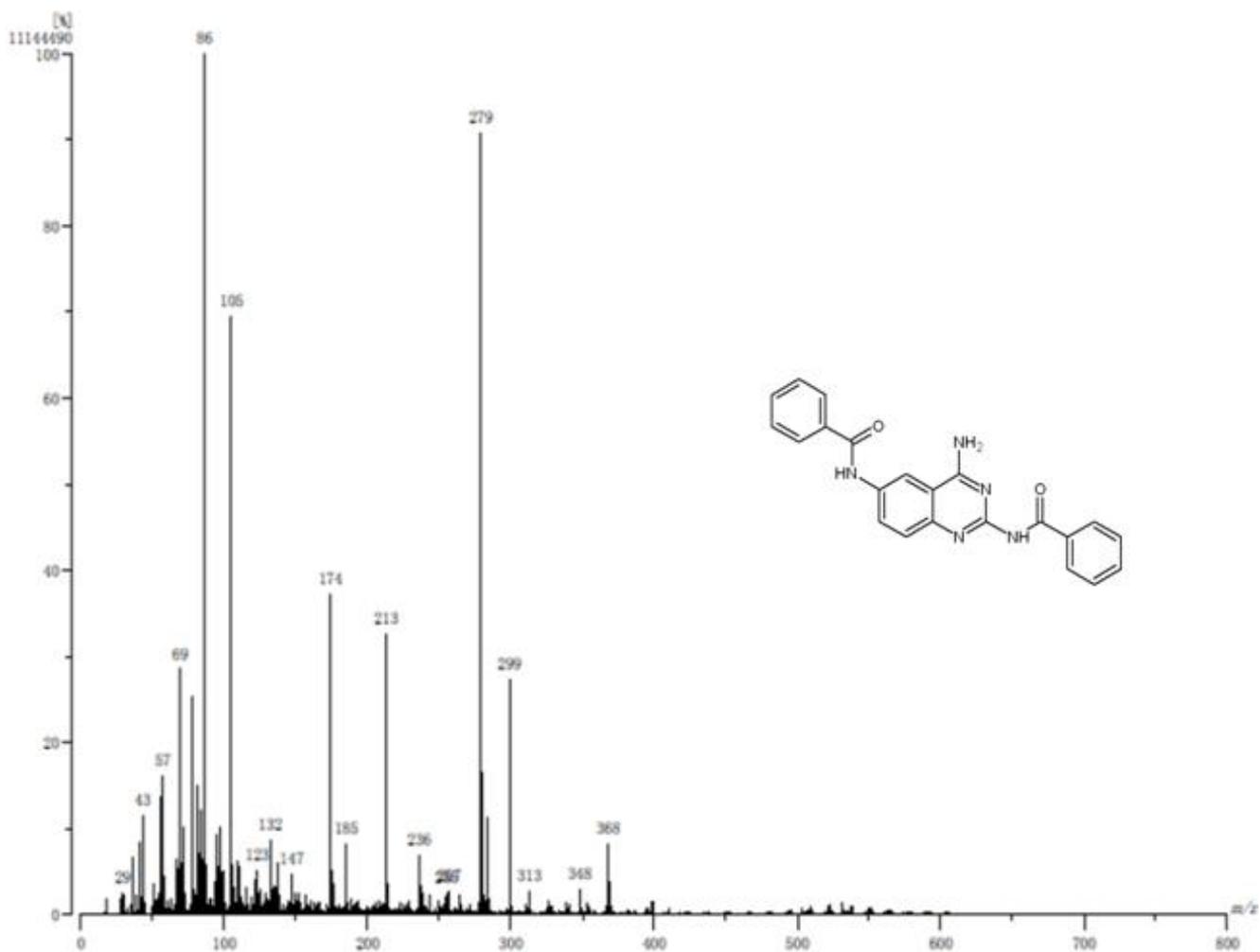
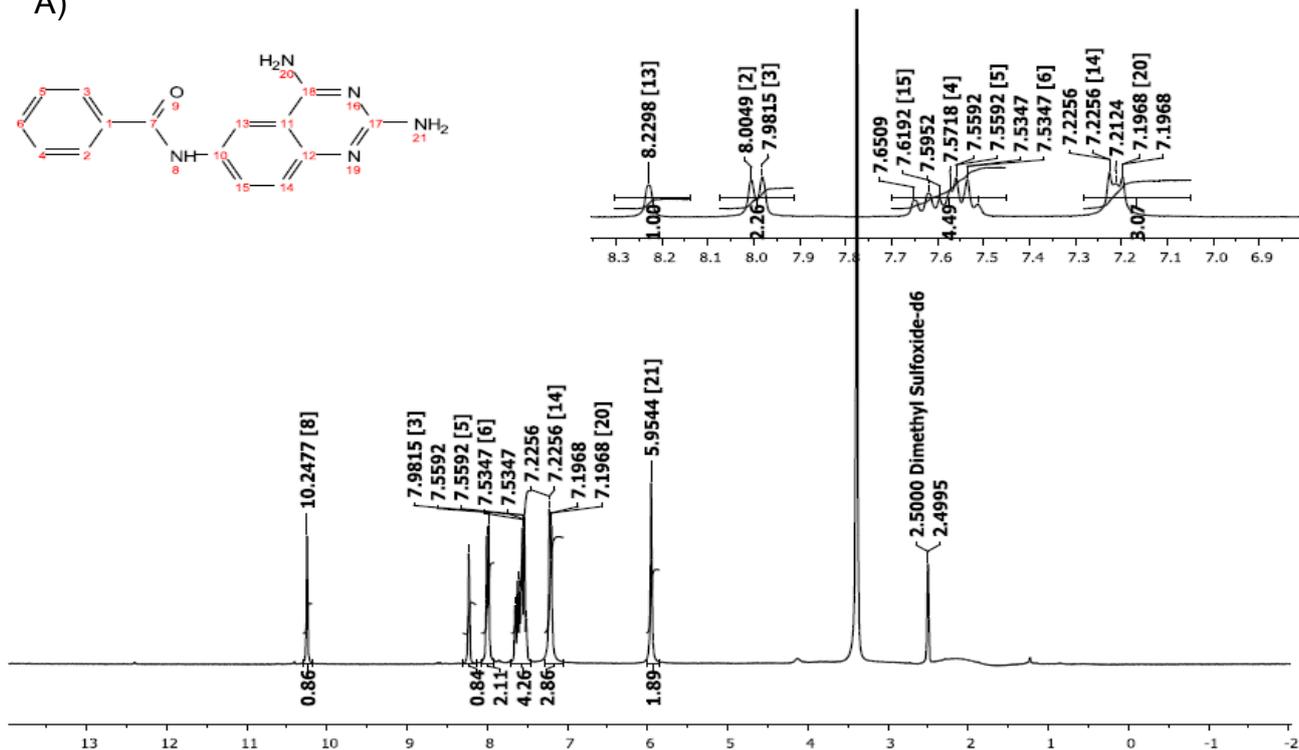


Figura 19. Espectro de C) Masas del compuesto *N,N'*-(4-aminoquinazolina-2,6-diil)dibenzamida (1)

A)



B)

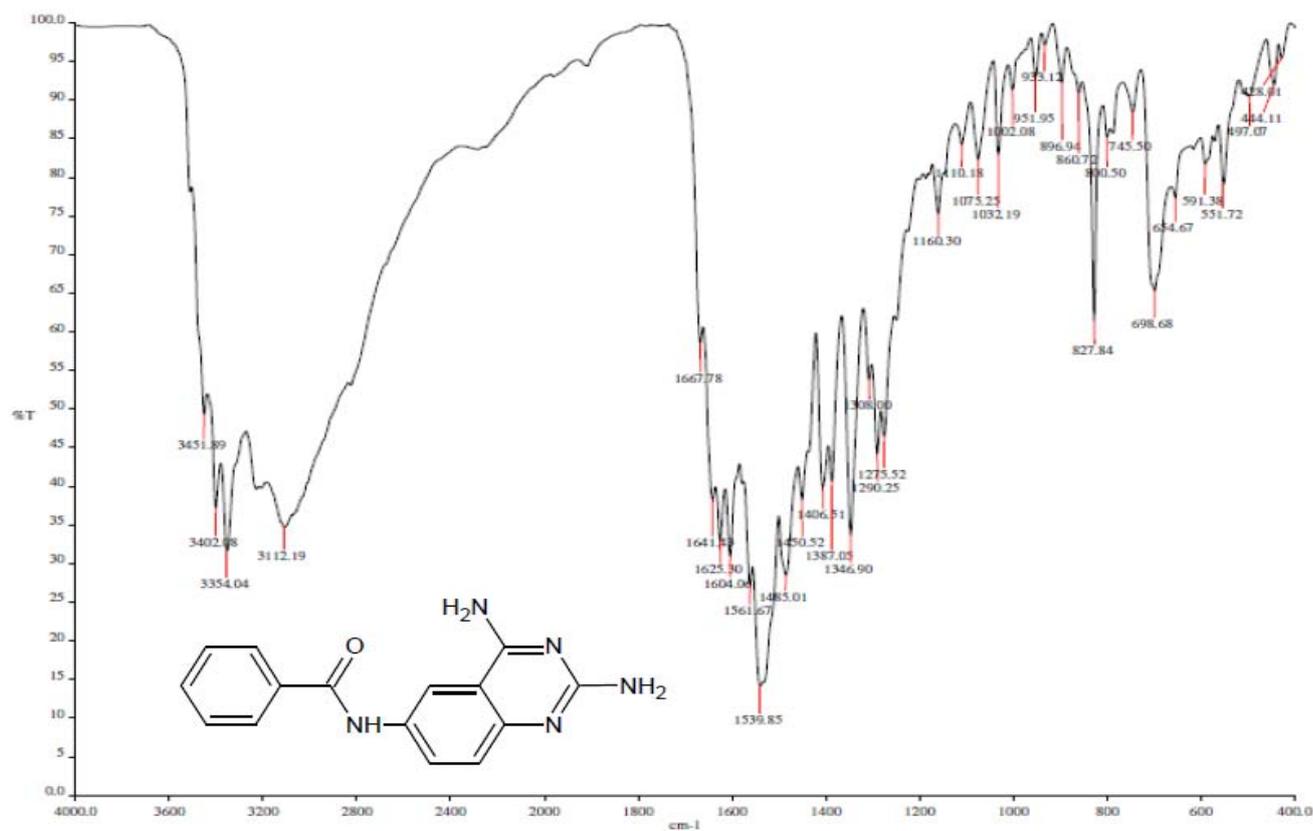


Figura 20. Espectro de A) RMN-¹H y B) IR del compuesto *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (2)

C)

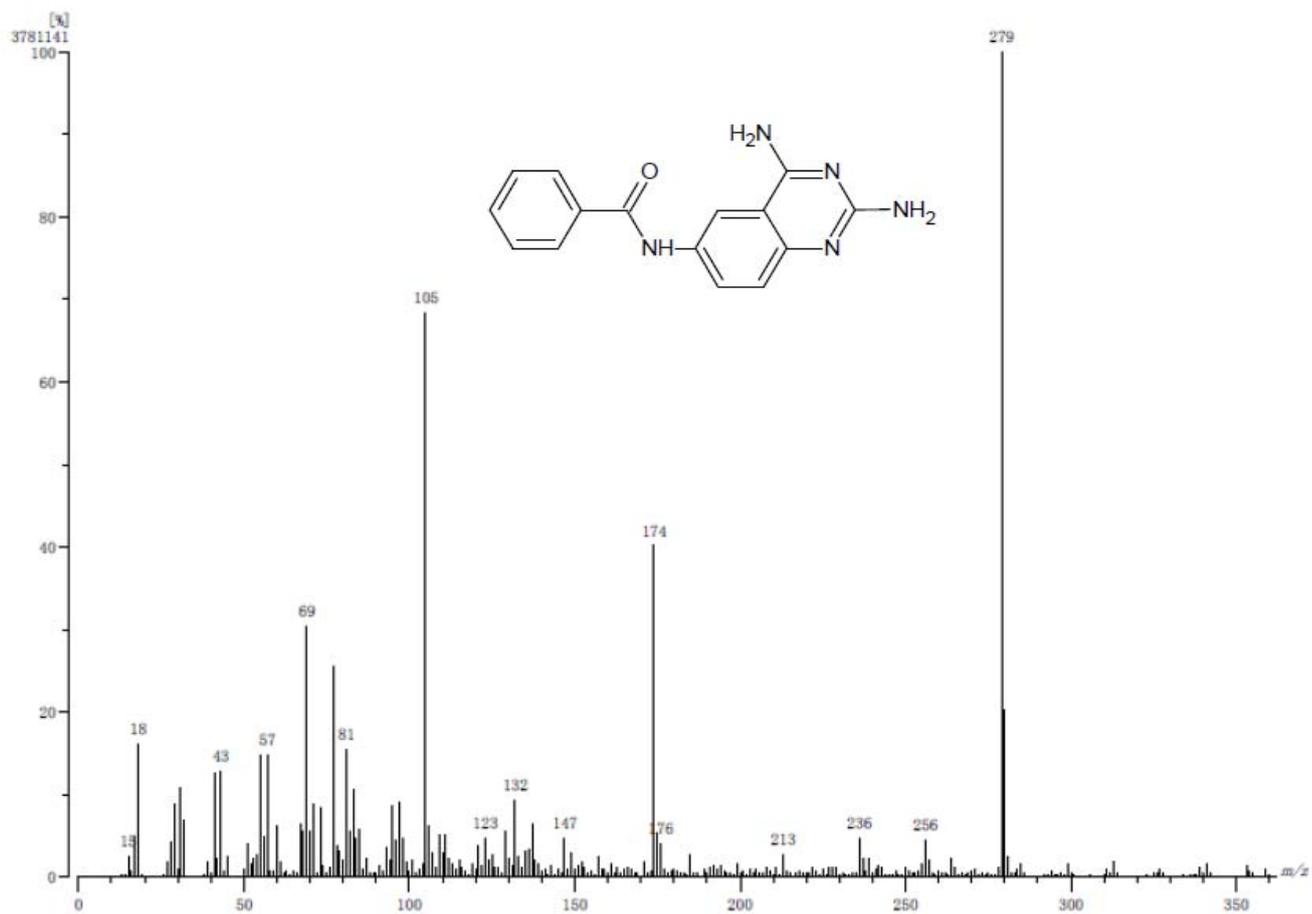


Figura 21. Espectro de C) Masas del compuesto *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il) benzamida (**2**)

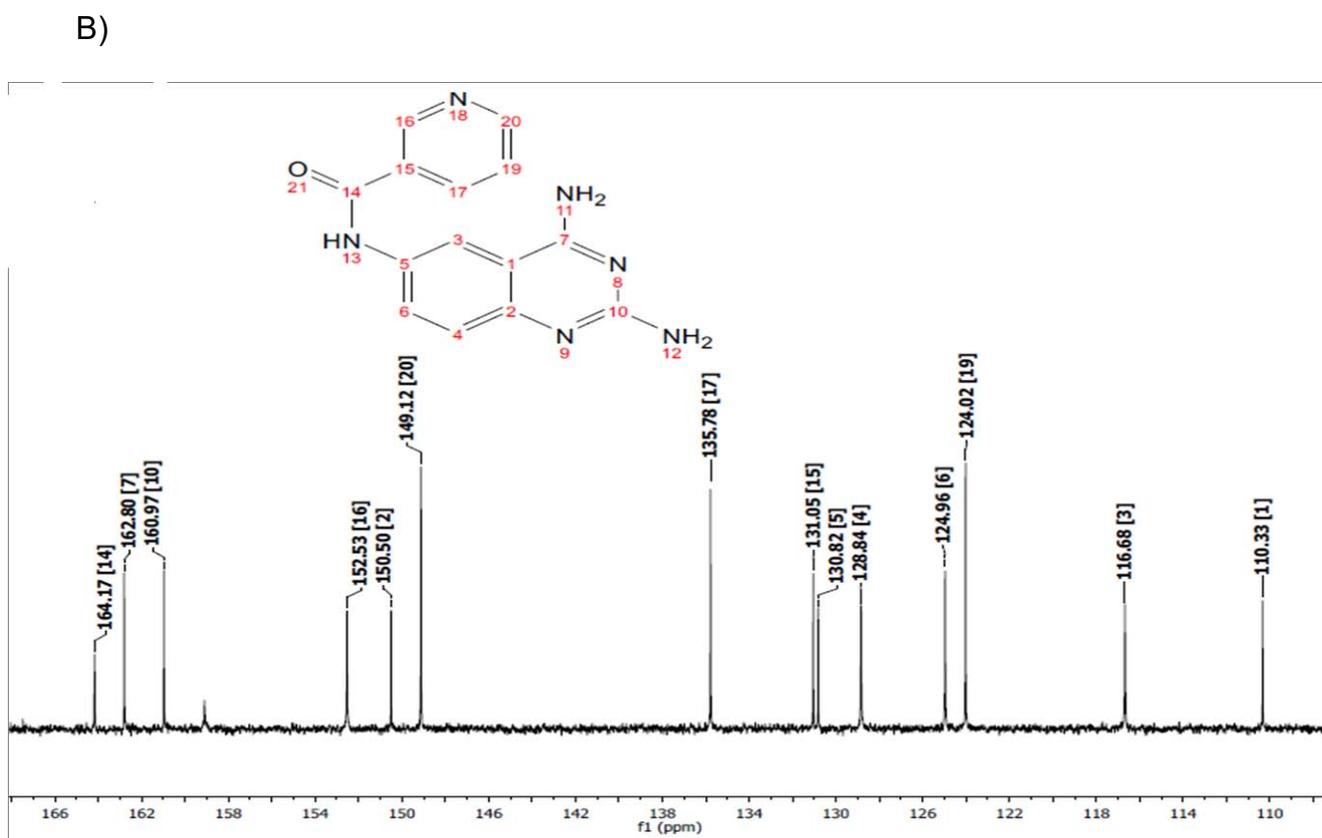
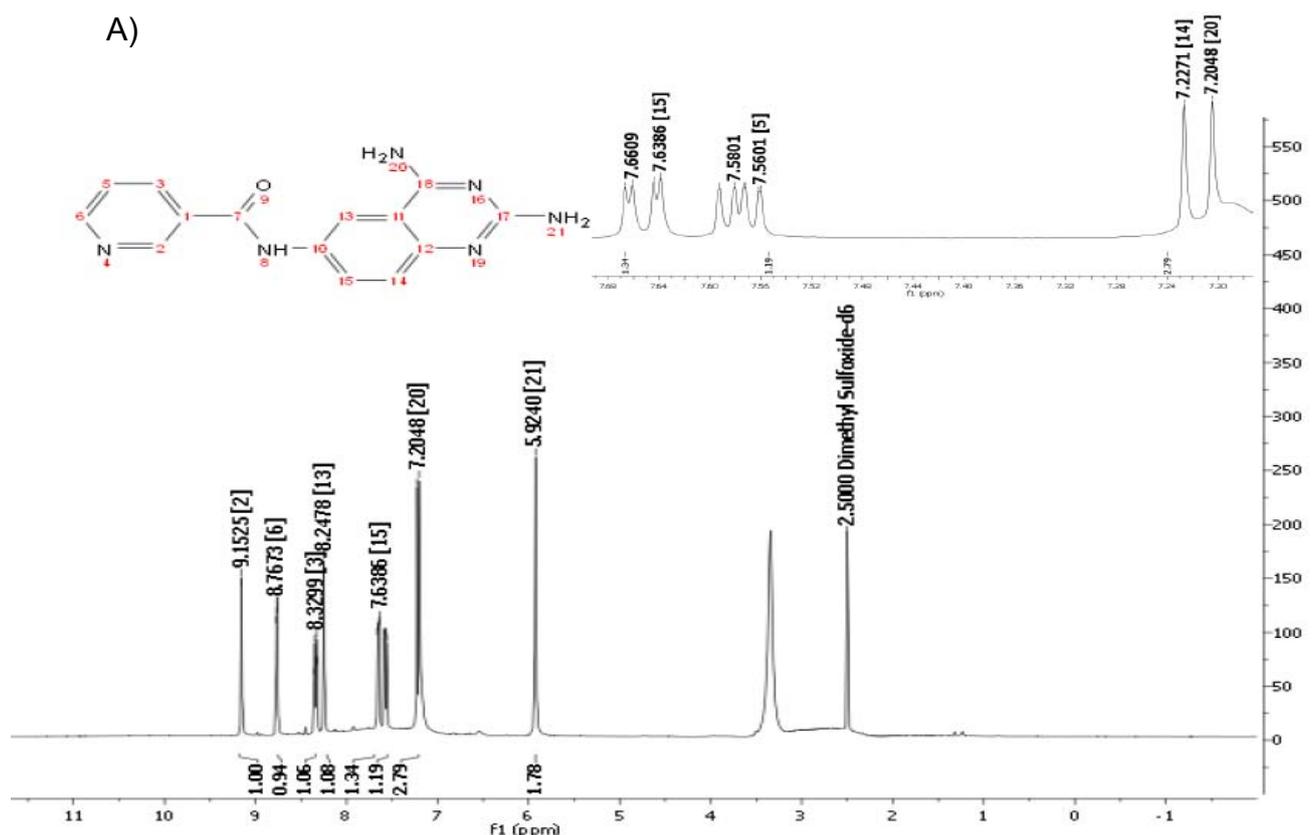
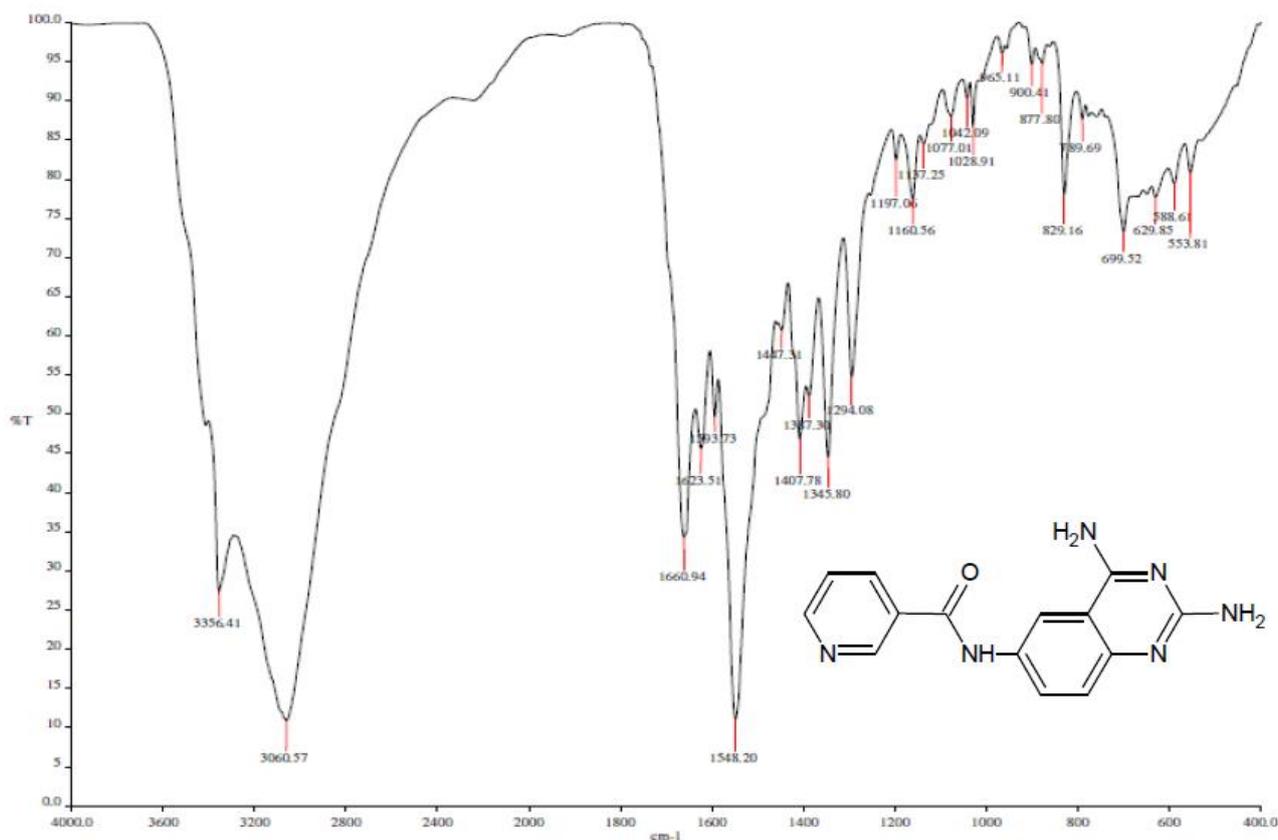


Figura 22. Espectro de A) RMN-¹H y B) RMN-¹³C del compuesto *N*-[2,4-diaminoquinazolin-6(1*H*)-yl]piridina-3- carboxamida (3)

C)



D)

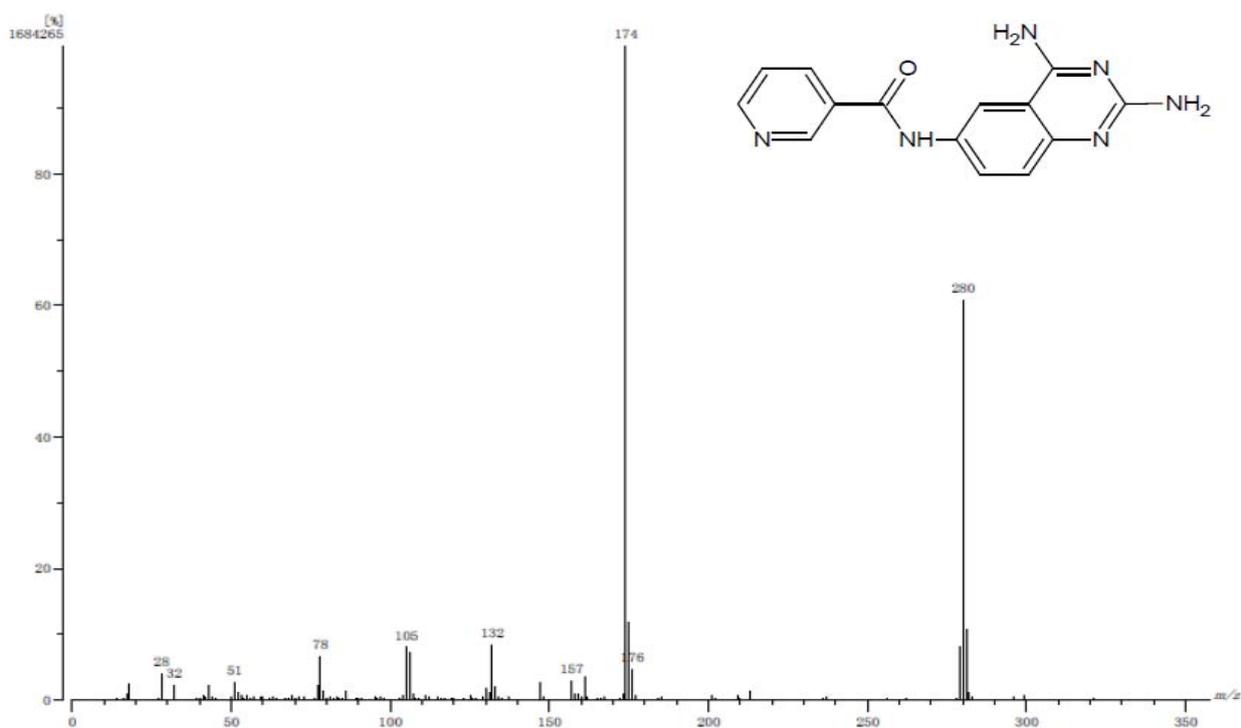


Figura 23. Espectro de C) IR y D) Masas del compuesto *N*-[2,4-diaminoquinazolin-6-il] piridina-3-carboxamida (**3**)

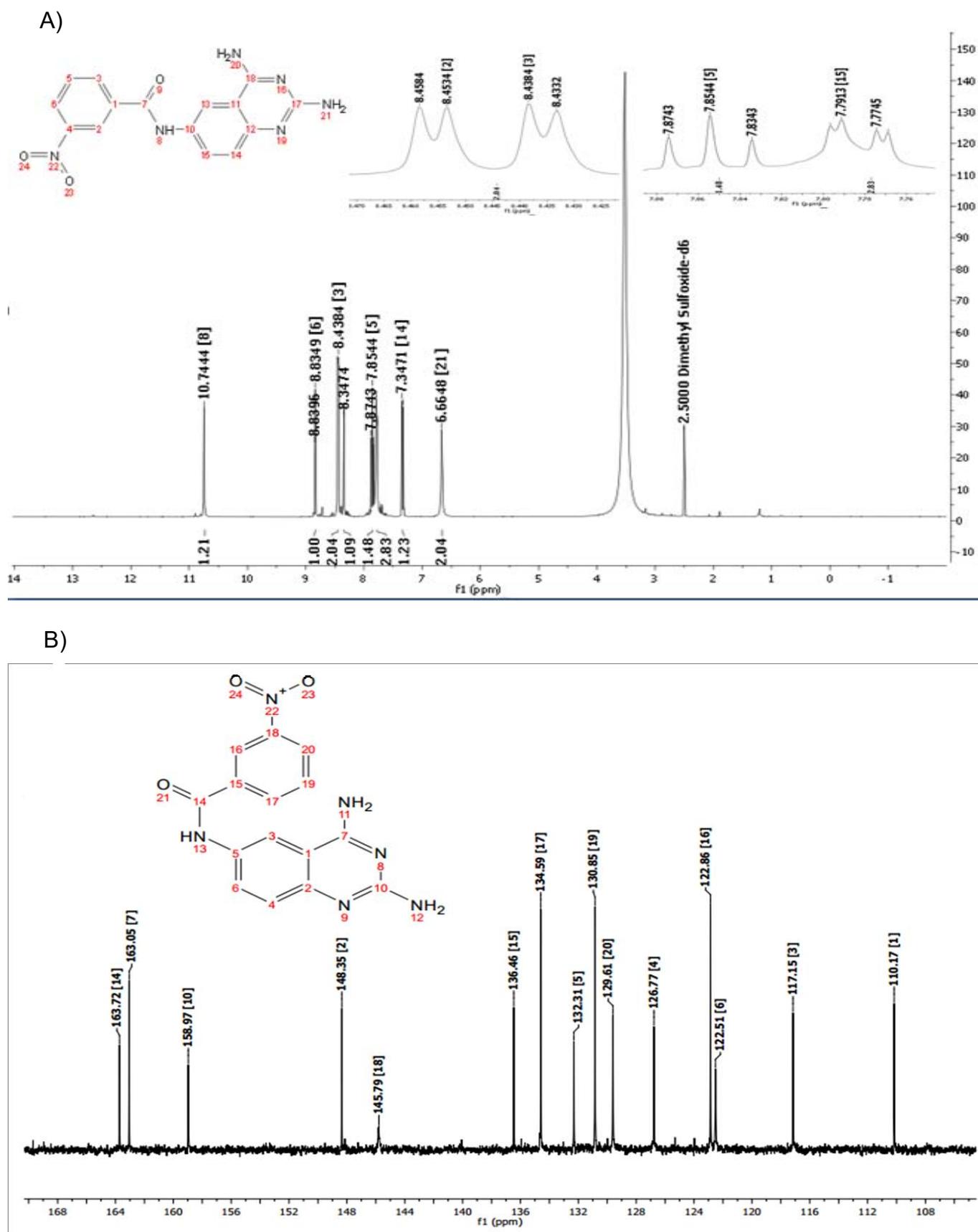


Figura 24. Espectro de A) RMN-¹H y B) RMN- ¹³C del compuesto *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (4)

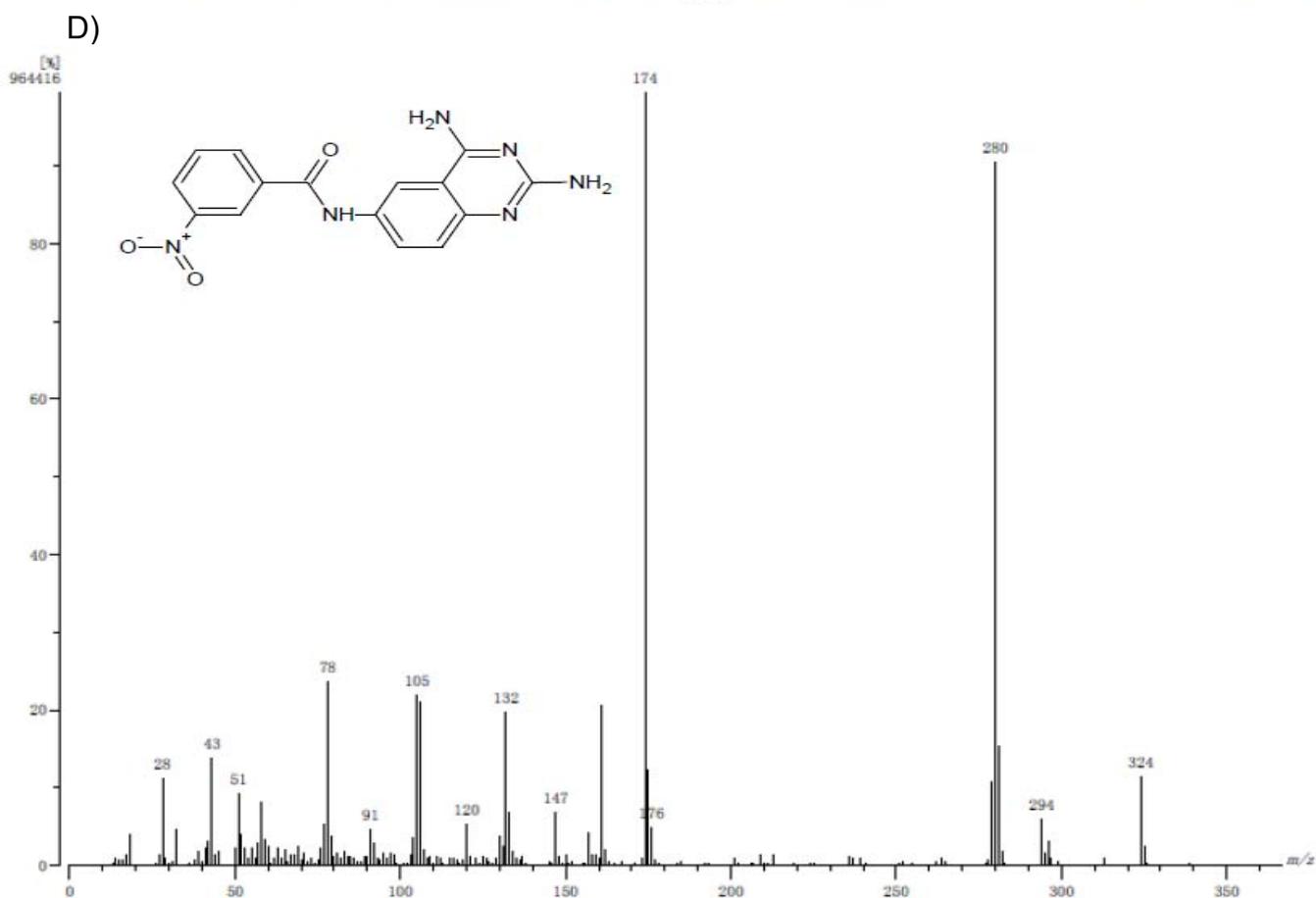
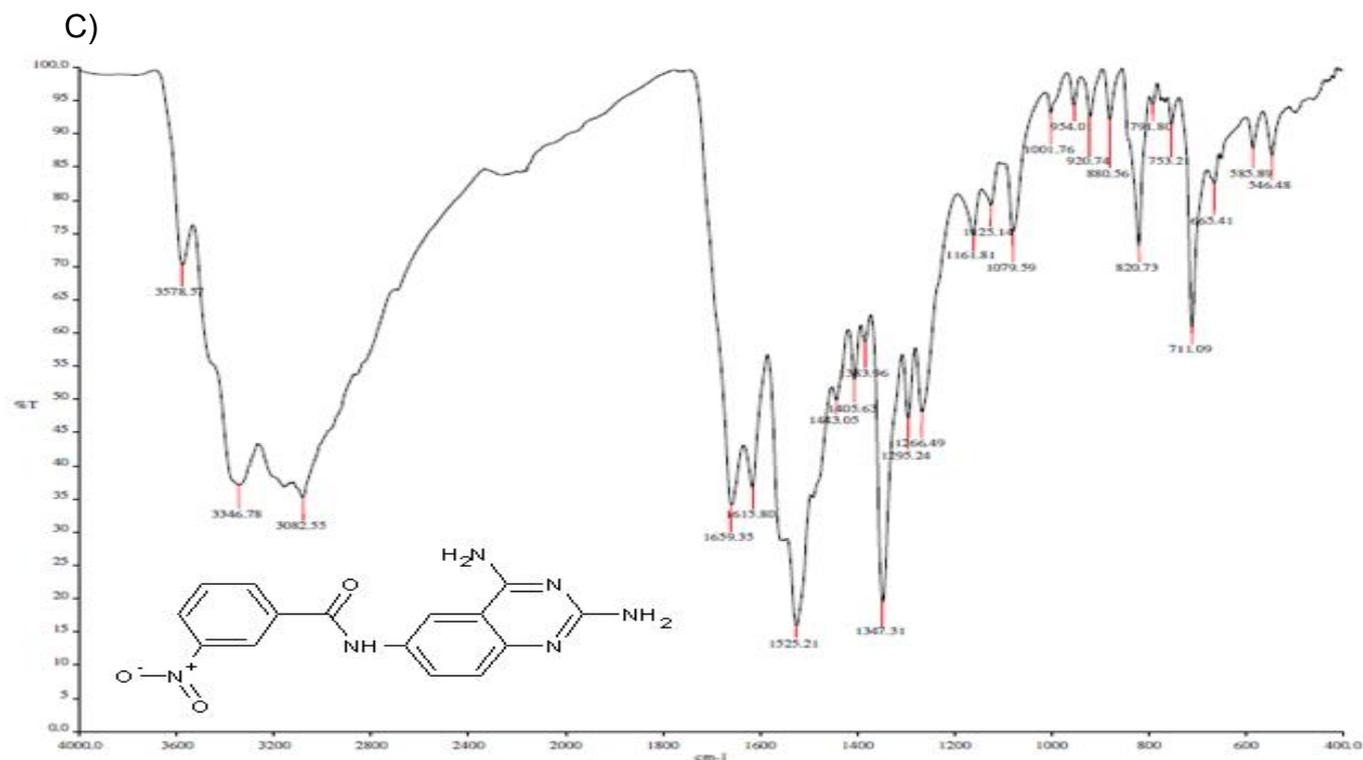


Figura 25. Espectro de C) IR y D) Masas del compuesto *N*-(2,4-diaminoquinazolin-6-il)-3-nitrobenzamida (4)

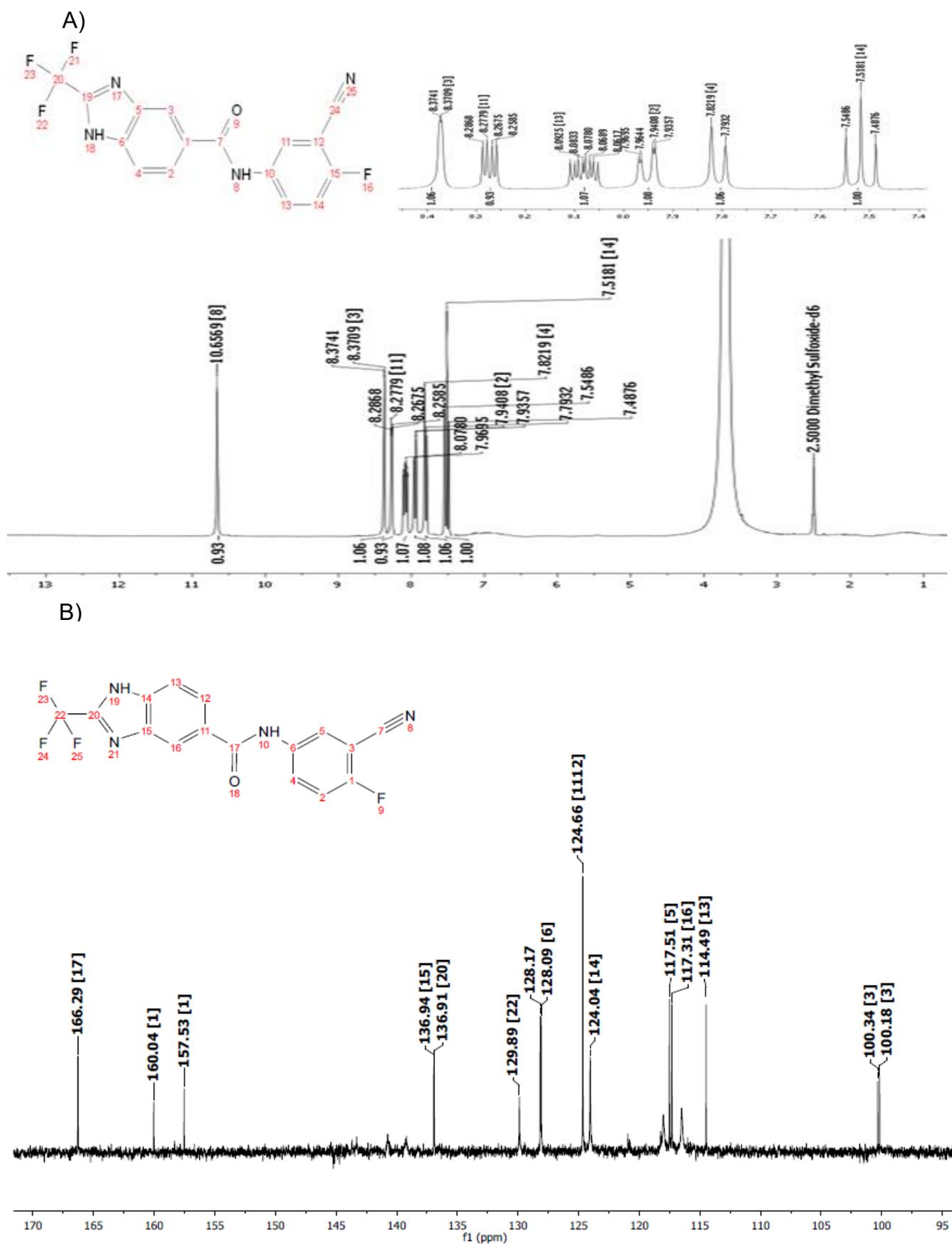


Figura 26. Espectro de A) RMN-1H y B) RMN-C13 del compuesto *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol-5-carboxamida (5)

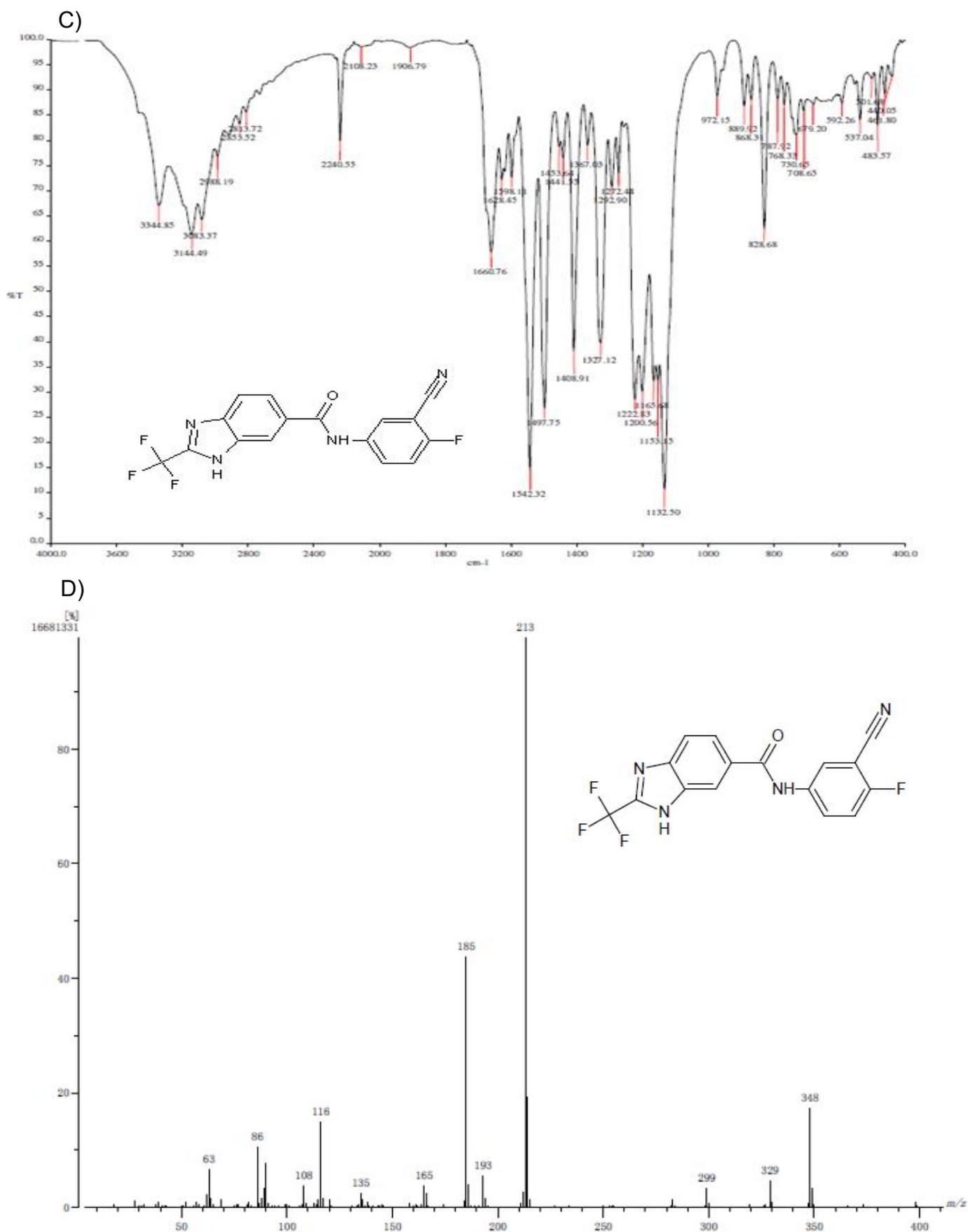
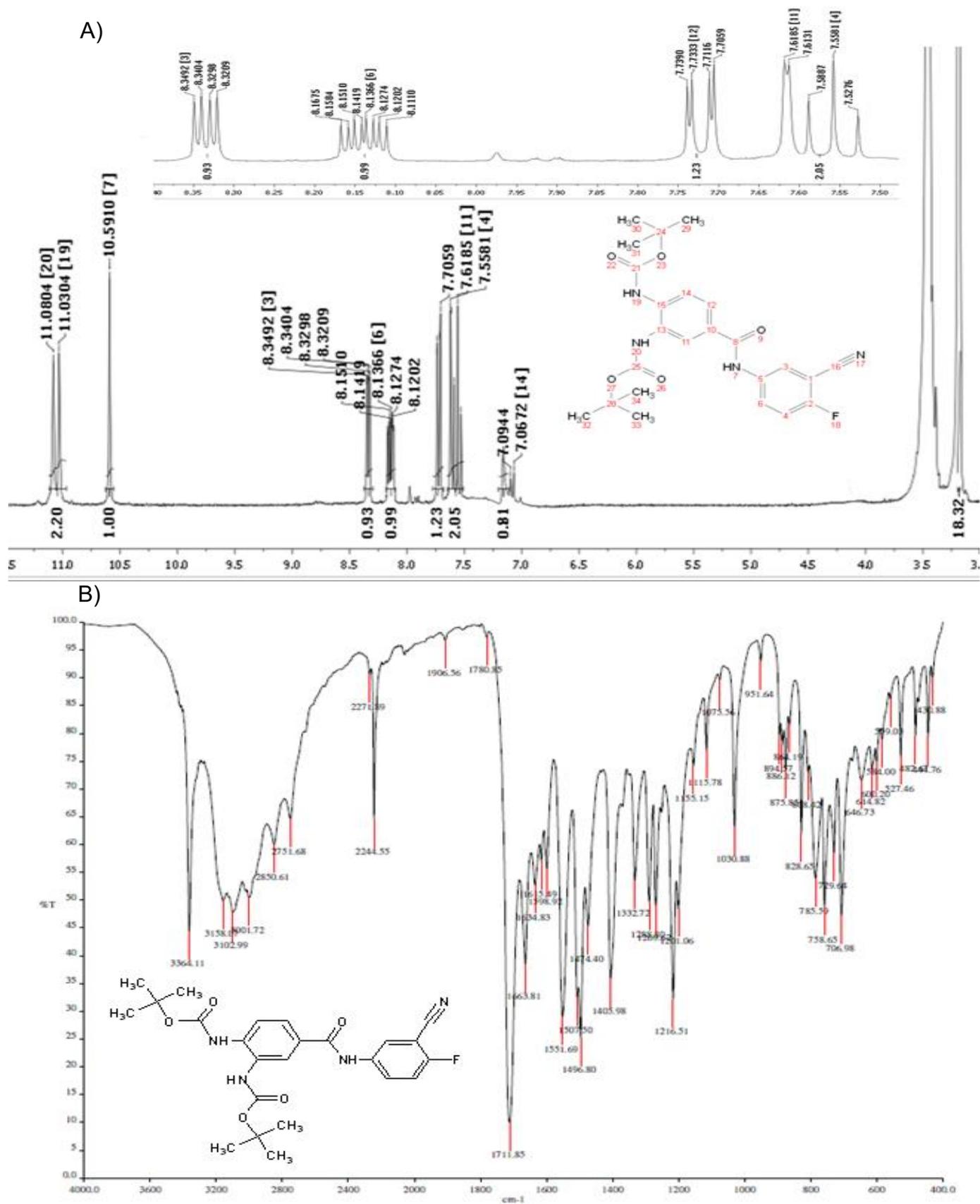


Figura 27. Espectro de C) IR y D) Masas del compuesto *N*-(3-ciano-4-fluorofenil)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-5-carboxamida (**5**)



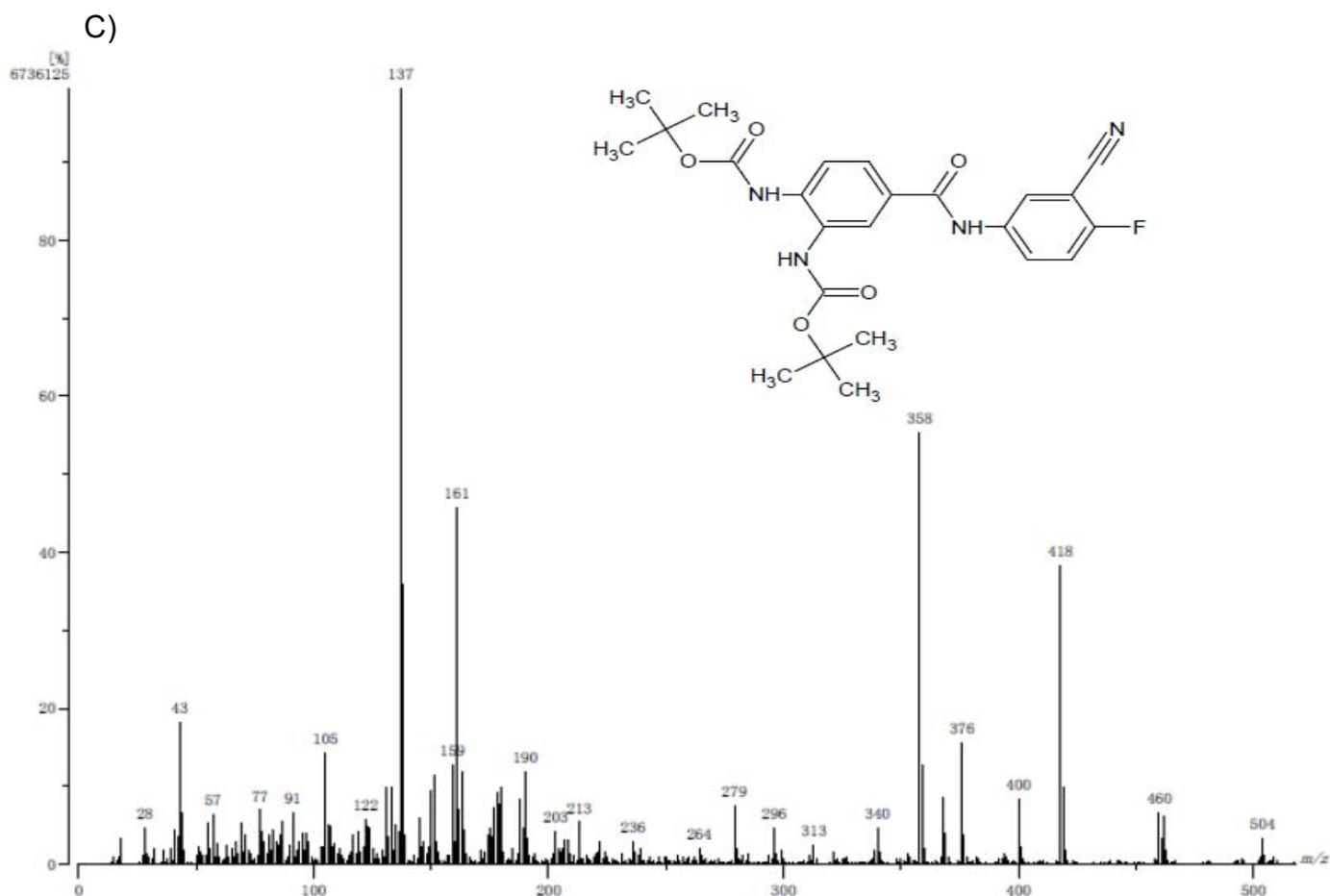


Figura 29. Espectro de C) Masas del compuesto di-*tert*-butil {4-[(3-ciano-4-fluorofenil) carbamoil] fenil} biscarbamato (**6**)

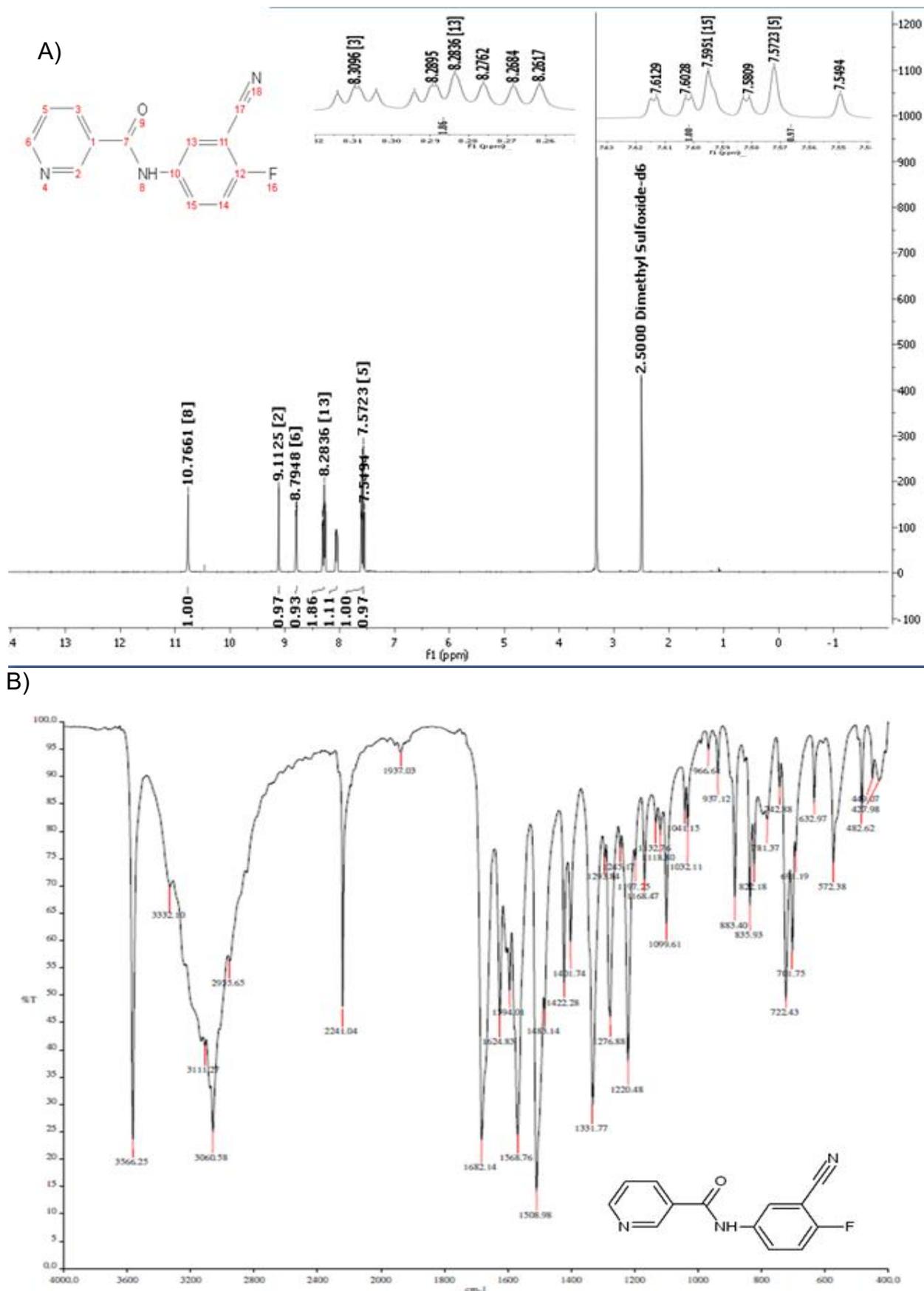


Figura 30. Espectro de A) RMN-¹H y B) IR del compuesto N-(3-ciano- 4- fluorofenil) piridina-3-carboxamida (9)

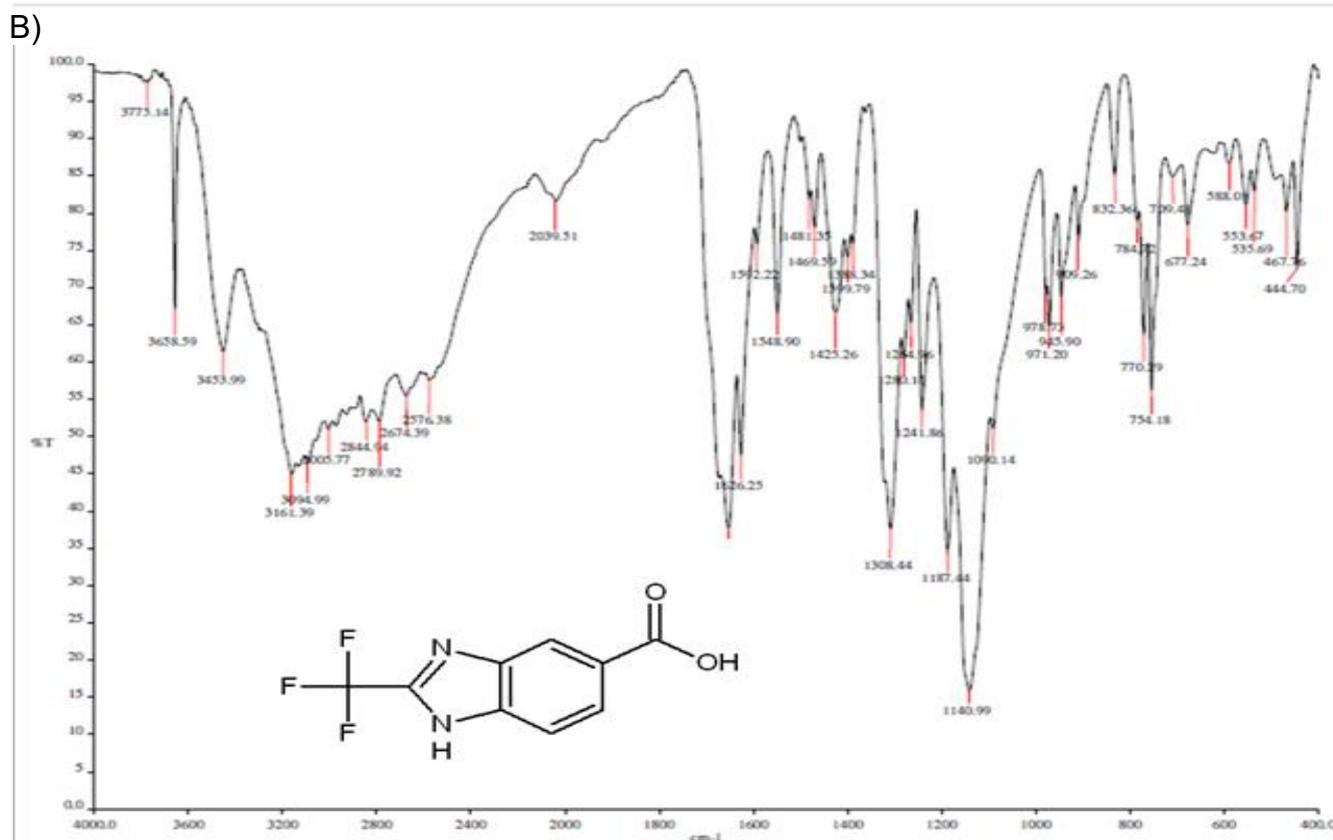
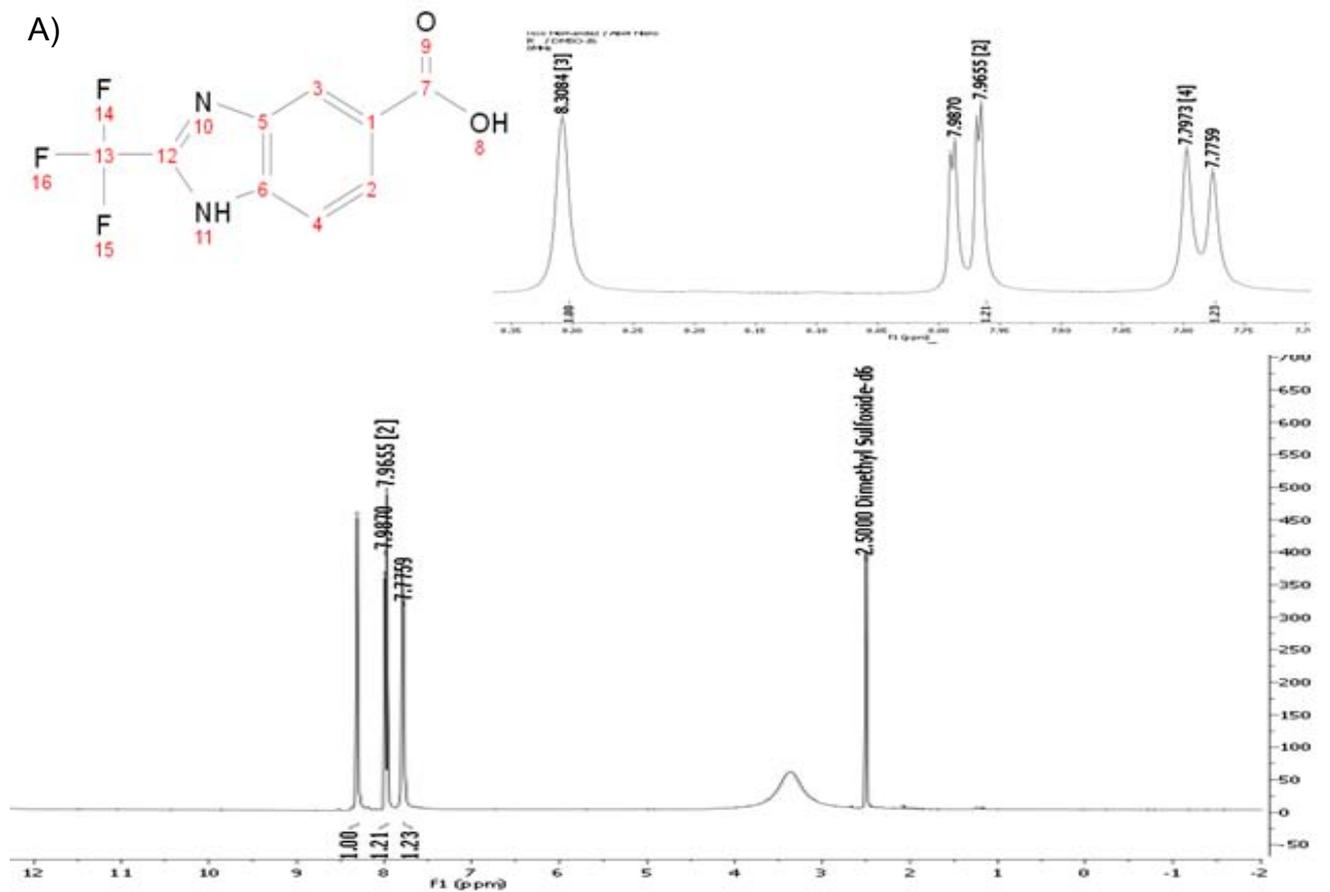


Figura 31. Espectro de A) RMN-¹H y B) IR del compuesto Ácido 2- (trifluorometil) 1H - bencimidazol-5-carboxílico (10)



XII REUNIÓN
ACADEMIA MEXICANA
DE QUÍMICA ORGÁNICA

UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE INGENIERÍA CAMPUS GUANAJUATO
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
DEL 7 AL 11 DE MARZO DE 2016

AMQO
Academia Mexicana de Química Orgánica

IPN

UPIIG

80 AÑOS IPN
1939-2019
"La Técnica al Servicio de la Humanidad"

Otorga la presente

CONSTANCIA A:

ABRIL ALEJANDRA NIETO LARA, CÉSAR MENDOZA
MARTÍNEZ Y FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS

Por presentar el cartel:

Síntesis de derivados de quinazolina con actividad antitumoral.

como parte de la XII Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica.

Silao, Guanajuato, a 11 de marzo de 2016.


Dra. Angélica Beatriz Raya Rangel
Directora de la UPIIG-IPN


Dr. Gabriel Eduardo Cuevas González Bravo
Presidente de la AMQO

Bibliografía:

1. American Cancer Society. (2011). *Cancer Facts & figures*. Atlanta: American Cancer Society.
2. American Society of clinical Oncology (ASCO). (2014). *Cancer.net*. <http://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atención-del-cáncer>.
3. Arencibia, Daniel; Rosario, Luis; Curveco, Dayisell. (2003). Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. *Toxicología [Online]* :Pp 40-52.
4. Bellmunt, J; Albiol, S; Suárez, C; Albanell, J. (2009). Optimizing therapeutic strategies in advanced bladder cancer: Update on chemotherapy and the role of targeted agents. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* , 69:211-222.
5. Brooks, S; Lomax- Brownie, H; Carter, T; Kinch, C; & Hall, D. (2010). Molecular interactions in cancer cell metastasis. *Acta Histochemica*; 112: , 3-25.
6. Bruno, M., Malde, S., Poliakov, A., Couronne, O., Dubchack, I., & Batzogla, S. (2005). Global alignment: finding rearrangements during alignment. *Bioinformatics* , 19 Suppl 1:62-154.
7. Croft, S.L; Coombs, G.H. (2003). Leishmaniasis-current Chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* , 19: 502-508.
8. Díaz, E; García J. (2000). *Oncología clínica básica*. España: ARÁN Ediciones S.A,Pp. 269,270,290,291.
9. Duffy, M.J; Gowan, P.M; Gallagher, W.M. (2008). Cancer invasion and metastasis. *Journal of Pathology* ;214 , 283-293.
10. Estadísticas INEGI. (2010). *Morbilidad hospitalaria*. <http://www.infocancer.org.mx/morbilidad-tumores-malignos-en-la-poblacion-de-20-y-ms-con787i0.html>.
11. Fay, N. (2006). The role of the informatics framework in early lead discovery. *Drug Discov. Today* , 11: 1075-1084.

12. Gilbert, H. (2002). Inhibitors of dihydrofolate reductase in leishmania and trypanosomes. *Biochimica Biophysica Acta [Online]* , 1587:pp 249-257.
13. Hans-Olov, A. (2002). Textbook of cancer Epidemiology. 29-49.
14. Instituto Nacional del Cáncer. (2015). *Hoja informativa*, <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>.
15. Irigaray, P., Newby, J., Clapp, R., Hardell, L., Howard, V., Montagnier, L., y otros. (2007). Related factors and environmental agents causing cancer: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 61 , 640-648.
16. Isselbacher, J; Kurt, G; Harrison's. (1998). *Principles of Internal Medicine*. Mc Graw-Hill Inc, pp.1576-1529.
17. Khadraoui, S; Harrou, F; Nounou, N.H; Nounou, M.N; Datta, A; Battacharyya, S.P. (2016). A measurement-based control design approach for efficient cancer chemotherapy. *Journal of information sciences* , 333:108-125.
18. Kitchen, D., Decarnez, H., Furr, J., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Rev. Drug Discov* , 3: 935-949.
19. Klimes,D; Kubasek, M; Smid, R; Dusek, L. (2009). Internet-based system for anti-tumor chemotherapy evaluation. *Computer Methods & Programs in Biomedicine* , 93:292-296.
20. Kompis, I.M; Islam, K; Then, R.L. (2005). DNA and RNA synthesis: antifolates. *Chemical Review* , : 105, 593-620.
21. Lehninger, Albert. (1993). *Principios de bioquímica*. Barcelona: Segunda edición, Ediciones Omega S.A; Pp.779,780.
22. Lorenzo, P. (2009). *Velásquez farmacología básica y clínica*. Editorial Médica Panamericana: China; Pp 982,983.
23. Méndez, I. (2012). *Tesis de maestría. Síntesis, modelado molecular y actividad citotóxica in vitro de nuevos derivados de tiazolo [5,4-b] quinolina*, UNAM, Mexico, D.F .

24. Mendoza, C. (2015). *Tesis de Doctorado. Diseño asistido por computadora y síntesis de inhibidores de dihidrofolato reductasa de *Tripanosoma cruzi*, *Leishmania mexicana* y *Plasmodium berghei**. Universidad Nacional Autónoma de México.
25. Meneses, A. (2012). et al. Principales neoplasias malignas en México y su distribución geográfica . *Rev. invest.Clin. [Online]:64* , 322-329.
26. Oliveira, P.A. (2007). et.al Chemical carcinogenesis. *An Acad Bras Cienc [Online],79* , 593-616.
27. OMS. (2014). *Informe mundial sobre el cáncer*. IARC(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>).
28. Rosenthal, S.A. (2009). Phase III multi-institutional trial of adjuvant chemotherapy with Paclitaxel, Estramustine and oral Etoposide combined with long-term androgen suppression therapy and radiotherapy versus long-term androgen suppression, analysis of RTOG 99-02. *Journal of Radiation Oncology Biology Physics ;73:* , 672-678.
29. Secretaría de salud. (2011). *SINASIS/SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México*. Mexico,D.F: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2011/monografias/P_EPI_DE_LOS_TUMORES_MALIGNOS_M%C3%A9xico.pdf.
30. Stahura, F., Xue, L., Godden, J., & Bajorath, J. (2002). Methods for compound selection focused on hits and application in drug discovery. *J. Mol. Graph* , 20: 439-446.
31. Tanaka, H; Matsushima, H; Mizumoto, N; Takashima, A. (2009). Classification of Chemotherapeutic Agents Based on Their Differential in vitro Effects on Dendritic Cells. *Cancer Res* , 69:Pp 6978,6986.
32. William, J; Kolb, D. (1999). *Química para el nuevo milenio* . México: Octava edición,Prentice Hall Hispanoamericana S.A; Pp.548.

Bibliografia

33. Zemen, E.M; Schreiber, E.C; Tepper J.E. (2013). Basics of radiation therapy. In: Niederhuber JE, Armitage JO, Doroshow JH, et al., eds. *Abeloff's Clinical Oncology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone: chap 27.
34. Zucotto, F. (2000). Novel inhibitors of *Trypanosoma cruzi* dihydrofolate reductase. *Eur. J. Med.Chem* , 36: 395-405.