



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Reactividad de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena frente a  
isoxazoles.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**Héctor Abraham Rosas Castañeda.**



**DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Cecilio Álvarez Toledano  
2018**



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México**, por ser mi alma máter y por todos los medios brindados.

**Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el apoyo otorgado al proyecto **252020**

**Al proyecto DGAPA-PAPIIT IN202917**, por el apoyo otorgado.

**Al Dr. Cecilio Álvarez y Toledano**, por el tiempo, por la confianza, la paciencia, por todo el apoyo y por su amistad.

**Al M. en C. Ricardo Ballinas Indilli**, por toda su amistad, apoyo y dedicación para que este proyecto se llevara a cabo.

**A las MVZ's Georgina Díaz Herrera y Mónica Martínez Marcial** por su asistencia técnica en el manejo de ratones en este trabajo.

**Dr. Rubén Alfredo Toscano**, por la resolución de la estructura de rayos-X.

**Al M. en C. Roberto Guerrero Reyes**, por el apoyo en la realización en la espectrometría de masas de baja y alta resolución.

**Al H. Jurado**, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y los comentarios hechos con el fin de mejorarlo.

## **Dedicatorias.**

**A Esther y Héctor, mis padres,** de los cuales estoy orgulloso, gracias por la vida, su guía, cuidados, desvelos, apoyo e infinito amor; porque sin ustedes nada de lo que hay en mi sería posible; los amo.

**Gaby,** por cuidarme y quererme a tu modo, por enseñarme a ver la vida de una forma distinta y hacer mí andar más simple.

**Abuela Carmen,** por defender mis ideales, por escucharme, por tus oportunas palabras y cuidados.

**A mis abuelos, Ana y Raúl,** por sus cuidados, pláticas y recomendaciones.

**Naixe,** por encontrarme justo a tiempo, por no dejarme caer, por ayudarme a seguir y alentarme, te amo.

*“Todo tiene su momento oportuno; hay un tiempo para todo lo que se hace bajo el cielo:*

*Un tiempo para nacer, y un tiempo para morir;  
Un tiempo para plantar, y un tiempo para cosechar;  
Un tiempo para matar, y un tiempo para sanar;  
Un tiempo para destruir, y un tiempo para construir;  
Un tiempo para llorar, y un tiempo para reír;  
Un tiempo para estar de luto, y un tiempo para saltar de gusto;  
Un tiempo para esparcir piedras, y un tiempo para recogerlas;  
Un tiempo para abrazarse, y un tiempo para despedirse;  
Un tiempo para intentar, y un tiempo para desistir;  
Un tiempo para guardar, y un tiempo para desechar;  
Un tiempo para rasgar, y un tiempo para coser;  
Un tiempo para callar, y un tiempo para hablar;  
Un tiempo para amar, y un tiempo para odiar;  
Un tiempo para la guerra, y un tiempo para la paz.”*

*Eclesiastés 3.*

**H. Jurado.**

**Presidente:** Dr. Cecilio Álvarez Toledano

**Vocal:** Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

**Secretario:** Dr. Yolanda Caballero Arroyo

**1er. Suplente** Lucia Hernández Garciadiego

**2do. Suplente** Reina García Sánchez

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Química Inorgánica 4, del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Cecilio Álvarez Toledano y el M. en C. Ricardo Ballinas Indili.

---

**Asesor del tema:**

Dr. Álvarez y Toledano Cecilio

---

**Supervisor técnico:**

M en C. Ballinas Indili Ricardo

---

**Sustentante:**

Rosas Castañeda Héctor Abraham

## **ÍNDICE TEMÁTICO**

Lista de abreviaturas

Compuestos químicos sintetizados

## **INTRODUCCIÓN**

### **CAPITULO 1**

#### **ANTECEDENTES**

##### 1.1 Azoles

###### 1.1.1 Isoxazoles

1.1.2 La importancia de los Isoxazoles y sus derivados.

1.1.3 Síntesis de isoxazoles y funcionalización de isoxazoles.

1.1.4 1,3-Cicloaddición dipolar.

1.1.5 Reacciones de condensación que utilizan derivados de 1,3-dicarbonilo.

1.1.6 Cicloisomerización.

1.1.7 Funcionalización directa.

##### 1.2 Reacción de Mukaiyama

1.2.1 Silileno éteres en reacciones aldólicas.

1.2.2. Acetales de bis-(trimetilsilil)acetona

1.2.3 Reactividad de acetales de bis-(trimetilsilil)acetona.

##### 1.3 Compuestos Organofluorados.

1.3.1 Anhídrido triflórico.

1.3.2 Reactividad de compuestos azaaromáticos frente a Tf<sub>2</sub>O.

## **HIPOTESIS**

1.4 Hipótesis

## **OBJETIVOS**

1.5 Objetivo general

1.6 Objetivos particulares

## **CAPITULO 2**

### **2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

2.1 Estudio del tiempo de activación con Tf<sub>2</sub>O.

2.2 Reacción de formación de ácidos carboxílicos derivados de acetales de *bis*(trimetilsili) cetena.

2.3 Caracterización espectroscópica del compuesto **1a**.

2.3.1 Espectrofotometría de IR

2.3.2 Espectrometría de masas

2.3.3 Espectroscopia de RMN para <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C

2.3.4 Análisis Cristalográfico para el ácido 5b.

2.3.5 Mecanismo de formación de ácidos carboxílicos

2.3.6 Evaluación y análisis de la actividad biológica.

2.3.7 Evaluación de actividad antiproliferativa.

2.3.8 Actividad antiinflamatoria.

2.4 Proyecciones.

### **CAPITULO 3**

3.1 Conclusiones.

### **CAPITULO 4**

#### **METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

4.1 Reactivos

4.2 Equipo Instrumental

4.3 Preparación de ácidos

4.4 Preparación de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

4.5 Caracterización espectroscópica.

4.6 Pruebas biológicas.

4.6.1 Pruebas biológicas: Evaluación de citotoxicidad y actividad antiinflamatoria.

4.6.1.1 Determinación del porcentaje de inhibición celular.

4.6.1.2 Preparación de líneas celulares.

4.6.1.3 Conteo de células viables.

4.6.1.4 Ensayo de actividad citotóxica.

## Abreviaturas y símbolos.

**Å:** Angstrom

**°C:** Grados Celsius

**CCF:** Cromatografía en capa fina.

**δ:** Desplazamiento químico

**d:** Señal doble

**dd:** Señal doble de doble

**EM:** Espectrometría de masas

**eV:** Electronvoltios

**Et:** Etilo

**g:** Gramos

**Hz:** Hercio

**IR:** Infrarrojo

**J:** Constante de acoplamiento

**m:** Señal múltiple

**M<sup>+</sup>·:** Ión molecular

**MHz:** Megahercios

**min:** Minutos

**mmol:** Milimoles

**ml:** Mililitros

**m/z:** Unidades de masa/carga

**p.f.:** Punto de fusión

**ppm:** Partes por millón

**RMN:** Resonancia magnética nuclear

**s:** Señal sencilla

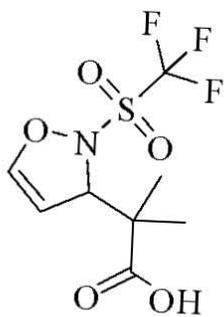
**TMS:** Trimetilsililo

**Tf:** Triflilo

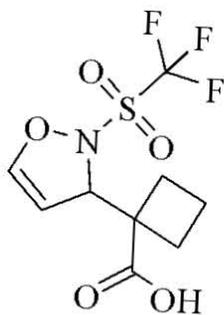
**TfO:** Triflato

**Tf<sub>2</sub>O:** Anhídrido triflico

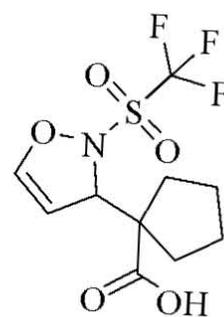
**Nuevos compuestos sintetizados.**



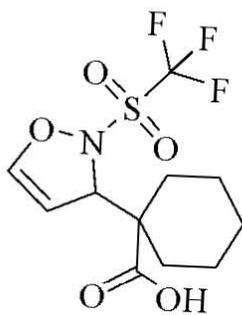
**1a**



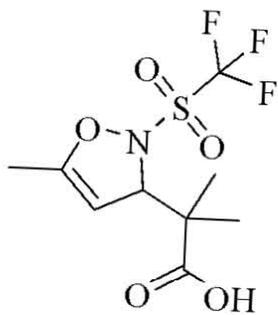
**2a**



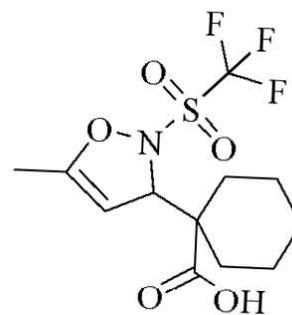
**3a**



**4a**



**5b**



**6b**

## Introducción

Los azoles son un grupo importante de compuestos que se encuentran abundantemente distribuidos en la naturaleza y son precursores de sustancias con una gran variedad de propiedades biológicas. Por otra parte, los heterociclos nitrogenados se encuentran como unidades estructurales en una gran variedad de productos naturales y en compuestos con actividades biológicas diversas.

En función a lo anterior son importantes en la química orgánica los isoxazoles, que son heterociclos aromáticos de cinco miembros; numerosos isoxazoles son componentes críticos de las propiedades químicas que están presentes en productos sintéticos de uso común, productos farmacéuticos cruciales en terapias médicas y en productos naturales bioactivos. Recientemente, se han informado muchos avances interesantes en la funcionalización de los isoxazoles.

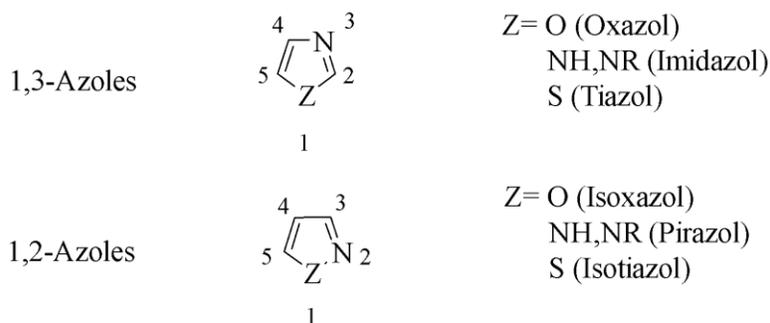
En años recientes, la funcionalización de heterocíclicos nitrogenados activados ha sido una herramienta poderosa para la síntesis de productos naturales y sustancias bioactivas

En el presente trabajo, para la síntesis de ácidos derivados del isoxazol con posible actividad biológica, se efectuó la adición de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena al núcleo del isoxazol activado con anhídrido trifluorometansulfónico (Tf<sub>2</sub>O). Esto con la finalidad de dar continuidad al estudio de la reactividad de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena frente a azaheterociclos activados.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 AZOLES

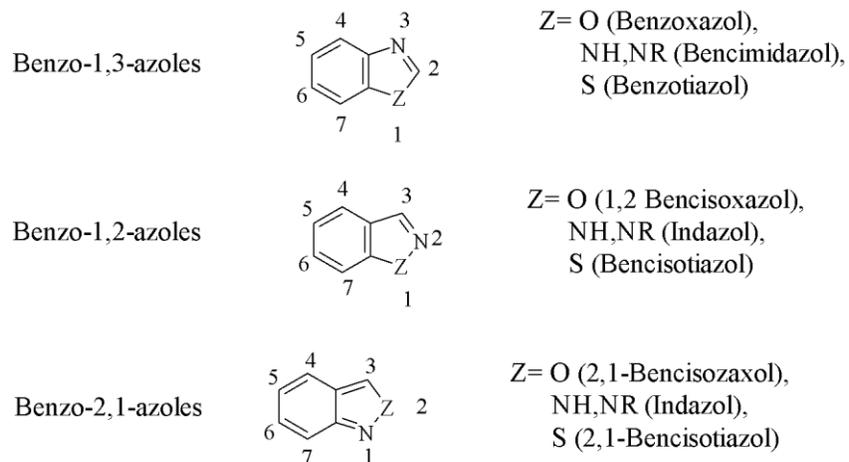
Los azoles son heterociclos aromáticos de nitrógeno de cinco miembros que contienen al menos un heteroátomo adicional (N, O, S), de los cuales uno es un nitrógeno de tipo imina, existen como 1,3-azoles y 1,2-azoles, importantes por sus numerosas aplicaciones en la síntesis orgánica de moléculas complejas y en la industria farmacéutica.



**Figura 1.** Azoles

La química de los benzoxazoles, en los cuales el grupo azol se encuentra fusionado a un núcleo de benceno ha sido ampliamente estudiada. Es un campo de gran interés debido a las propiedades químicas y biológicas que estos pueden presentar.<sup>1</sup>

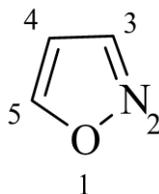
<sup>1</sup> Modern Heterocyclic Chemistry,(Eds. :J.Alvarez- Builla, J. J. Vaquero,J.Barluenga), Wiley-VCH, Wein- heim, 2011;b)J.A.Joule,K.Mills, Heterocyclic Chemistry,5 th edn.,Wiley-Blackwell, Chichester, 2010;c)Comprehensive Heterocyclic Chemistry III, (Eds.: A. R. Katritzky, C. A. Ramsden, E. F. V. Scriv- en, R. J. K. Taylor), Elsevier Ltd., 2008;d)Science of Synthesis:Houben-Weyl MethodsofMolecular Trans- formations,Vols.9–12, Georg Thieme Verlag, Stutt- gart, New York.



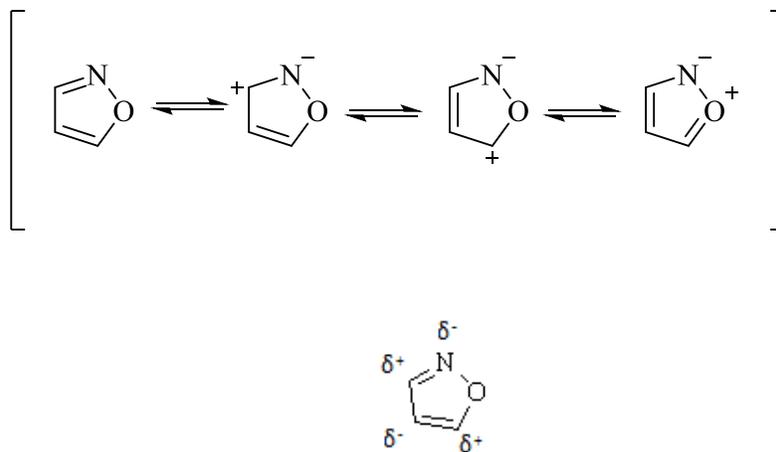
**Figura 2.** Benzoxazoles.

### 1.1.1 Isoxazol

El isoxazol es un compuesto heterocíclico de la familia de los azoles, con un átomo de oxígeno contiguo al nitrógeno. También se llama así a toda la clase de compuestos que contienen este anillo.



**Figura 3.** Isoxazol

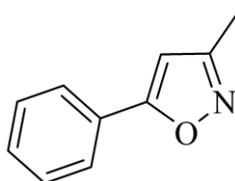


**Figura 4.** Estructuras resonantes del isoxazol.

Tomando en cuenta las estructuras canónicas del núcleo de isoxazol, se puede entender el porqué de su reactividad hacia sustratos electrofílicos y nucleofílicos. Debido a la carga parcial positiva que se encuentra en las posiciones 3 y 5 estas son susceptibles a sufrir ataques nucleofílicos. Por otro lado, el átomo de nitrógeno puede dar reacciones de sustitución nucleofílica y en la posición 4 se pueden llevar a cabo reacciones de sustitución electrofílica aromática.

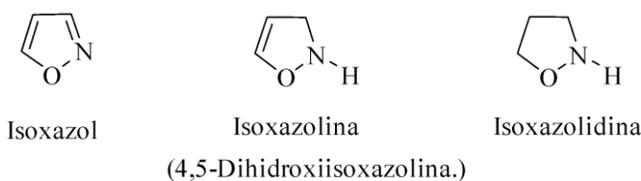
### 1.1.2 La importancia de los isoxazoles y sus derivados.

Los isoxazoles, isoxazolinas e isoxazolidinas son sistemas heterocíclicos de cinco miembros con un átomo de oxígeno y un átomo de nitrógeno en posiciones adyacentes. La química del isoxazol se asocia con Ludwig Claisen, quien determinó la estructura cíclica del 3-metil-5-fenilisoxazol en 1888, obtenido por Ceresole en 1884 a partir de hidroxilamina y benzoilacetona.<sup>2</sup>



**Figura 5.** Estructura cíclica del 3-metil-5-fenilisoxazol en 1888

Una contribución muy significativa al desarrollo de la química del isoxazol se produjo entre 1930-1946 a partir de los estudios de Quilico sobre la síntesis de sistemas de anillos de cinco miembros a partir de óxidos de nitrilo y compuestos insaturados.<sup>3</sup>



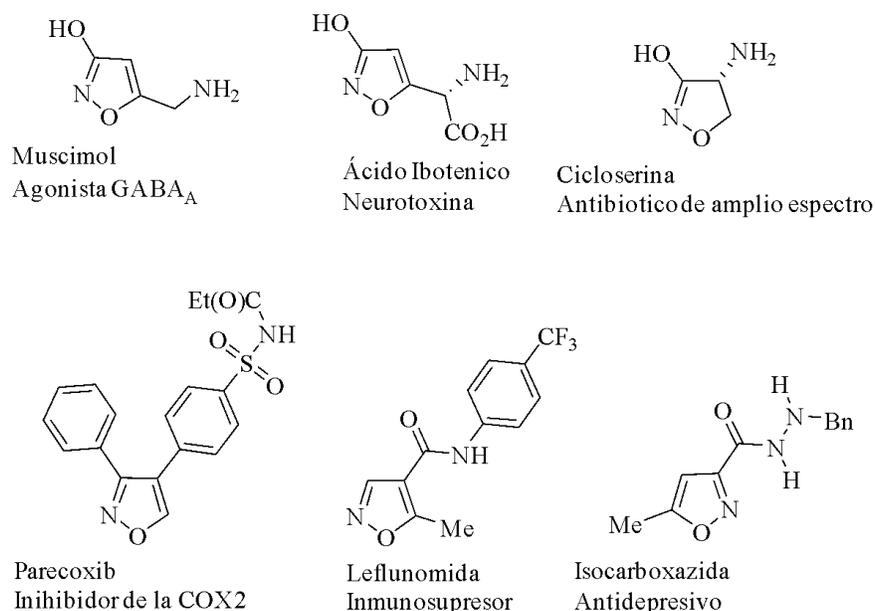
**Figura 6.** Azoles-1,2

<sup>2</sup> a) L. Claisen and O. Lowman Chem. Ber., 1888, 21, 1149; b) M. Ceresole Chem. Ber., 1884, 17, 812.

<sup>3</sup> a) A. Quilico and M. Freri Gazz. Chim. Ital., 1930, 60, 172.; b) A. Quilico, G. Stagno d'Alcontres and P. Grünanger Nature, 1950, 166, 226

Numerosos isoxazoles son componentes clave de las propiedades químicas que están presentes en productos de uso cotidiano.<sup>4</sup>

Una gran variedad de medicamentos y productos farmacéuticos que son de suma importancia en tratamientos de diversas enfermedades, así como productos naturales bioactivos, suelen presentar un núcleo de isoxazol, debido a que dicho farmacóforo es clave para su actividad biológica.<sup>5</sup>



**Figura 7.** Fármacos con núcleos de isoxazol.

<sup>4</sup> a) B. J. Wakefield, in: Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformations, Vol. 11, (Ed.: E. Schaumann), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2004, pp 229–288. b) A. M. S. Silva, A. C. Tome, T. M. V. Pinho e Melo, J. Elguero, in: Modern Heterocyclic Chemistry, (Eds.: J. Alvarez-Builla, J. J. Vaquero, J. Barluenga), Wiley-VCH, Weinheim, 2011, pp 727–808.

<sup>5</sup> a) L. Brunton, B. A. Chabner, B. Knollman, Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12th edn., McGraw-Hill, New York, 2011. Selected examples of recently identified isoxazole derivatives as novel lead structures active towards an array of pharmacological targets, see: b) J. Wang, Y. Wu, C. Ma, G. Fiorin, J. Wang, L. H. Pinto, R. A. Lamb, M. L. Klein, W. F. Degrado, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2013, 110, 1315–1320; J. Wang, Y. Wu, C. Ma, G. Fiorin, J. Wang, L. H. Pinto, R. A. Lamb, M. L. Klein, W. F. Degrado, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2013, 110, 1315–1320.

En estos ejemplos, el anillo de isoxazol actúa como un agente indispensable para que la actividad farmacológica tenga lugar, debido a la presencia de dos heteroátomos (N, O) electronegativos que son capaces de interactuar con una variedad de enzimas y receptores no disponibles a otros sistemas de anillos.<sup>6</sup>

Además, los isoxazoles sirven como intermediarios para la síntesis de productos naturales, debido a que pueden funcionar como equivalentes de compuestos 1,3-dicarbonílicos enmascarados, que pueden revelarse en condiciones de escisión reductora leve (hidrogenólisis, escisión radical, etc.) que se han explotado ampliamente en síntesis orgánica.<sup>7</sup>

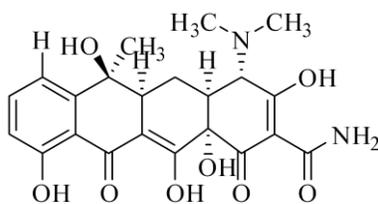
Recientemente, la utilidad del isoxazol como equivalente 1,3-dicarbonílico asintético se destacó en la primera síntesis convergente y enantioselectiva de antibióticos de tetraciclina por Myers, en la que el anillo de isoxazol apropiadamente sustituido se escindió para revelar la función de la *b*-cetoamida en el último paso de la síntesis de este sistema de anillo tetracíclico. **(Figura 8)**<sup>8</sup>

---

<sup>6</sup>a) C. G. Wermuth, *The Practice of Medicinal Chemistry*, Academic Press, London, 2008; b) J. Sperry, B. Wright, *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2005, 8, 723–740; c) K. C. Bissantz, B. Kuhn, M. Stahl, *J. Med. Chem.* 2010, 53, 5061–5084.

<sup>7</sup> P. G. Baraldi, A. Barco, S. Benetti, G. P. Pollini, D. Simon, *Synthesis* 1987, 857–869.

<sup>8</sup> a) M. G. Charest, C. D. Lerner, J. D. Brubaker, D. R. Siegel, A. G. Myers, *Science* 2005, 308, 395–398; b) M. G. Charest, D. R. Siegel, A. G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 8292–8293; c) J. D. Brubaker, A. G. Myers, *Org. Lett.* 2007, 9, 3523–3525; d) C. Sun, Q. Wang, J. D. Brubaker, P. M. Wright, C. D. Lerner, K. Noson, M. Charest, D. R. Siegel, Y. M. Wang, A. G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 17913–17927; e) D. A. Kummer, D. Li, A. Dion, A. G. Myers, *Chem. Sci.* 2011, 2, 1710–1718; f) P. M. Wright, A. G. Myers, *Tetrahedron* 2011, 67, 9853–9869. For a classic isoxazole-based approach to tetracycline antibiotics, see: g) G. Stork, A. A. Hagedorn III, *J. Am. Chem. Soc.* 1978, 100, 3609–3611.



**Figura 8.** Tetraciclina.

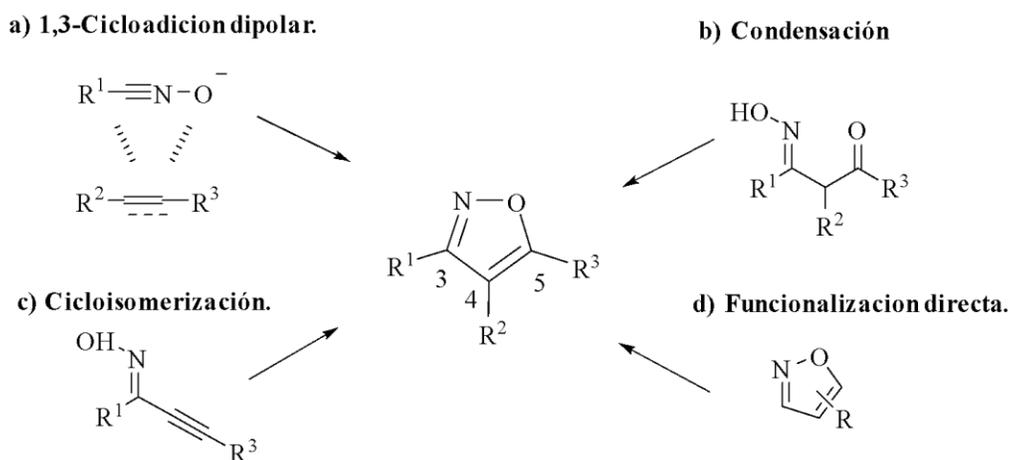
### 1.1.3 Síntesis y funcionalización de isoxazoles.

El anillo de isoxazol hoy en día es de suma importancia en química orgánica. En los últimos años, se han informado muchos avances interesantes en la síntesis y funcionalización de los isoxazoles. En particular, las nuevas reacciones catalizadas por metales de transición han provisto enfoques sintéticos altamente eficientes para la obtención de isoxazoles activos.

El control total de la regioselectividad puede lograrse sobre la base del catalizador metálico y sustratos susceptibles de dar reacciones de cicloadición dipolar y de cicloisomerización. Estudios más recientes se han centrado en la funcionalización selectiva de los isoxazoles a través de la funcionalización del enlace C-H.<sup>9-10</sup>

<sup>9</sup> a) B. Iddon, *Heterocycles* 1994, 37,1263–1319;b)A. Pace,S.Buscemi, N. Vivona, *Org. Prep.Proc.* 2007, 39,1–70;c)W.S.Hamama, M. E. Ibrahim,H.H. Zoorob, *Synth. Commun.* 2013, 43,2393–2440;d)F. Heaney, *Eur.J.Org. Chem.* 2012,3043–3048;e)N.T. Patil, Y. Yamamoto, *Chem.Rev.* 2008, 108,3395–3442; f) T. Lu, F. Hu, *Synthesis* 2012, 44,2805–2824;g)A.V. Gulevich, A. S. Dudnik, N. Chernyak, V. Gevorgyan, *Chem. Rev.* 2013, 113,3084–3213;h)T.M.V.D.Pin- ho eMelo, *Eur.J.Org. Chem.* 2010,3363–3376.

<sup>10</sup> T. M. V. Pinho eMelo, *Curr.Org. Chem.* 2005, 9,925– 958.



**Figura 9.** Síntesis y funcionalización de isoxazoles.

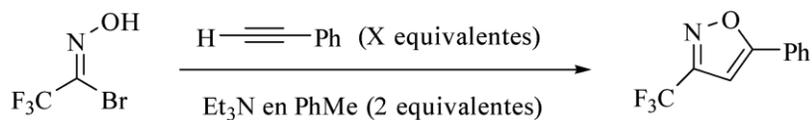
#### 1.1.4 1,3-Cicloadición dipolar.

Una de las rutas mejor establecidas para la síntesis de isoxazol es la cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo a alquinos / alquenos. La reacción de óxidos de nitrilo con alquinos se produce bajo condiciones térmicas; sin embargo, la regioselectividad es muy pobre debido a la alta energía de activación.<sup>11</sup>

La síntesis de perfluoroalquil-isoxazoles se ha incrementado, debido a la importancia biológica de los compuestos fluorados. El bromuro en condiciones básicas es fácilmente transformado en el óxido de nitrilo correspondiente para reaccionar con alquinos terminales formando en altos rendimientos los correspondientes isoxazoles 3-trifluorometil-5-sustituídos. **Esquema 1.**<sup>12</sup>

<sup>11</sup> Foulí FA, Habashy MM, El-Kafrawy AF, Youseef ASA, El-Adly MM. *J Prakt Chem.* 1987; 329:1116–1122.

<sup>12</sup> Poh J-S, Garcia-Ruiz C, Zúñiga A, et al. *Org Biomol Chem.* 2016;14:5983–5991.



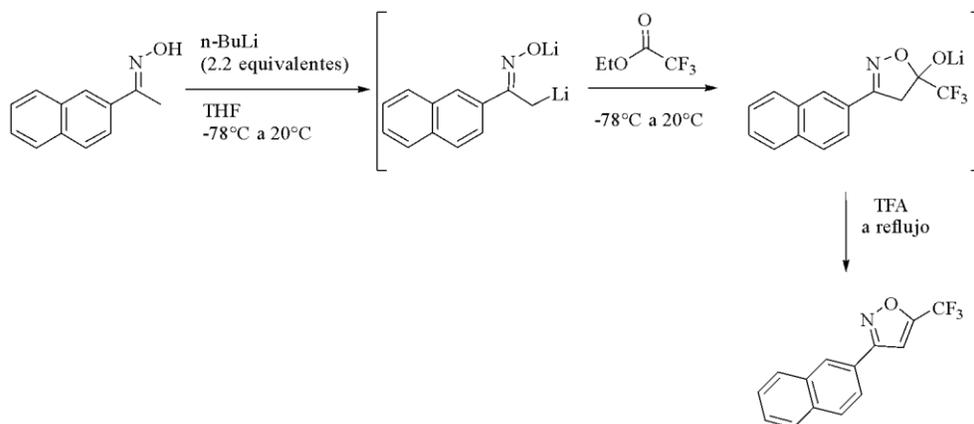
**Esquema 1.** Cicloadición de aril alquino.

### 1.1.5 Reacciones de condensación que utilizan derivados de 1,3-dicarbonilo.

En este enfoque, el anillo de isoxazol se construye a partir de una unidad de tres carbonos y un componente pequeño que posee un enlace N-O. En general, para esta reacción de condensación se requieren condiciones relativamente fuertes; por lo tanto, son limitados el alcance de la reacción y su diversidad sintética. Sin embargo en 2006<sup>13</sup> se informó la síntesis de isoxal-5-carboxilatos, mediante la ciclación de dianiones de oxima con oxalato de dietilo siguiendo esta estrategia, obtuvieron en buenos rendimientos por medio de una reacción one-pot 5-perfluoroalquil pirazoles y 5-trifluorometil isoxazoles vía un dianión de hidrazona **(esquema 2)**.<sup>14</sup> Los aniones se prepararon tratando oximas con 2,2 equivalentes de *n*-BuLi y se hicieron reaccionar con trifluoroacetato para proporcionar 5-trifluorometilisoxazoles

<sup>13</sup> Dang TT, Albrecht U, Langer P. *Synthesis*. 2006; 2515–2522.

<sup>14</sup> Ngo TN, Ejaz SA, Hung TQ, et al. *Org Biomol Chem*. 2015;13:8277–8290.



**Esquema 2.** Síntesis One-pot de 5-trifluorometilisoxazoles.

### 1.1.6 Cicloisomerización.

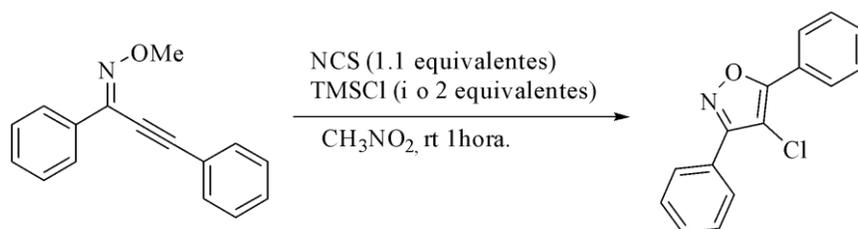
La cicloisomerización es un método muy importante en términos de la generación de la complejidad estructural intrínseca en síntesis orgánica.<sup>15</sup>

Se informó la síntesis de 4-cloroisoxazol a partir de (E/Z) -alquil-O-metil oximas mediante ciclación mediada por NCS. La combinación de N-clorosuccinimida (NCS) y clorotrimetilsilano (TMSCl) es esencial para generar in situ cloro ( $\text{Cl}_2$ ) y HCl. Las (E)-quinil-O-metil-oximas no ciclables se isomerizaron fácilmente en los isómeros (Z) en condiciones suaves para la ciclación de isoxazol deseado.

El 4-Bromo- y el 4-iodoisoxazoles se prepararon de manera análoga mediante el uso de N-bromosuccinimida y MIS. **Esquema 3.**<sup>16</sup>

<sup>15</sup>Tost BM. Acc Chem Res. 2002;35:695–705.

<sup>16</sup> Kaewsri W, Thongsornkleeb C, Tummatorn J, Ruchirawat S. RSC Adv. 2016;6:48666–48675.

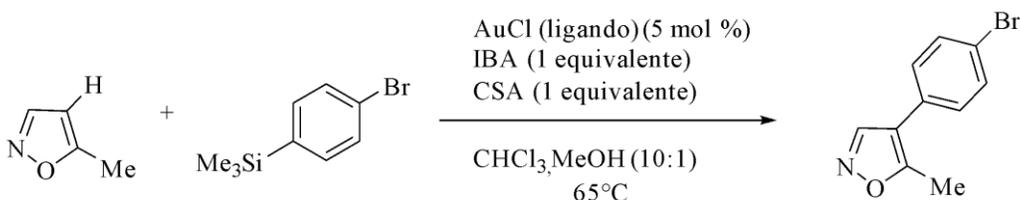


**Esquema 3.** Ciclación intramolecular de (E / Z) -alquil-O-metil oximas a isoxazoles.

### 1.1.7 Funcionalización directa.

El anillo de isoxazol es lábil en condiciones básicas; por lo tanto han recibido considerable atención, la funcionalización directa de isoxazoles en las posiciones C-3, C-4 y C-5 usando procesos de acoplamiento cruzado catalizada por metales de transición y/o activación de un enlace C-H.

La arilación selectiva del enlace C-H del C-4, de isoxazoles catalizada por oro, con arilsilanos proporciona 4-arilisoxazoles (**Esquema 4**)<sup>17</sup>



**Esquema 4.** Arilación de C-H selectiva C-4 oxidativa de isoxazoles con arilsilanos catalizada por AuCl.

Otra forma de funcionalizar isoxazoles radica en la formación de la especie de anión 4-isoxazolilo para la funcionalización directa de isoxazol no sustituido. La 4-

<sup>17</sup> Hata K, Ito H, Segawa Y, Itami K. Beilstein J Org Chem. 2015;11:2737–2746.

yodación de isoxazol irradiada con microondas y una reacción de intercambio halógeno-metal usando un reactivo de Grignard (*i*-PrMgCl·LiCl) son esenciales para la generación del anión 4-isoxazolilo. Esta especie puede reaccionar con varios electrófilos para proporcionar los correspondientes isoxazoles 4-funcionalizados (**Esquema 5**)<sup>18</sup> Esta transformación permite sintetizar múltiples isoxazoles funcionalizados al introducir diversos sustituyente en las posiciones deseadas.<sup>19</sup>



**Esquema 5.** Funcionalización directa de isoxazol a través de la generación de especies de aniones 4- isoxazolilo.

## 1.2 Reacción de Mukaiyama

La reacción de condensación aldólica cruzada entre sililenol éteres y compuestos carbonílicos es una de las reacciones más relevantes para llevar a cabo la formación de enlaces carbono-carbono y recibe el nombre de reacción aldólica de Mukaiyama.<sup>20</sup> Esta adición nucleofílica es catalizada por ácidos de Lewis para formar respectivamente  $\beta$ -hidroxicetonas o  $\beta$ -trimetilsililoxi ésteres.<sup>21</sup>

<sup>18</sup> Morita T, Fuse S, Nakamura H. *Angew Chem Int Ed.* 2016;55:13580–13584.

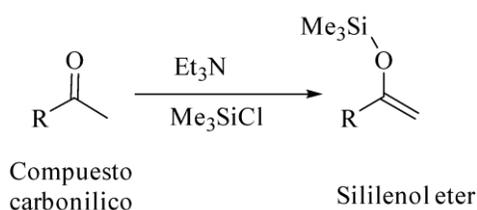
<sup>19</sup> Fuse S, Morita T, Nakamura H. *Synthesis.* 2017;49:2351–2360.

<sup>20</sup> Czako, B.; Kurti L. *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*, Elsevier Science Publishing, United States. 2004, 298. 2 Barbero, M.; Bazzi, S.; Cadamuro, S.; Dughera, S.; Magistris, A.; Smarra, A.; Venturello, P. *Org. Biomol. Chem.* 2011, 9, 2192.

<sup>21</sup> Barbero, M.; Bazzi, S.; Cadamuro, S.; Dughera, S.; Magistris, A.; Smarra, A.; Venturello, P. *Org. Biomol. Chem.* 2011, 9, 2192.

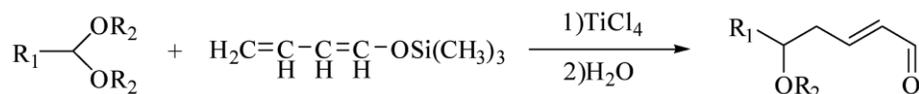
Una de las aplicaciones más comunes de estas reacciones, para la síntesis de moléculas complejas que requieren acoplar uno o varios fragmentos.<sup>22</sup>

A mediados de 1970, Mukaiyama preparó a partir de crotonaldehído, enolatos estables. Estos compuestos son conocidos comúnmente como éteres de silicio y pueden sintetizarse mediante la captura del ión enolato con cloro trimetilsilano ( $\text{Me}_3\text{SiCl}$ ), que es un electrófilo muy eficiente.<sup>23</sup>



**Esquema 6.** Formación de un éter de silicio, un equivalente del ión enolato.

En los inicios, Mukaiyama y colaboradores, realizaron esta síntesis a partir de acetales activados con  $\text{TiCl}_4$  y sililenol éteres. El producto de la reacción es un  $\beta$ -alcoxialdehído que permitió establecer las primeras condiciones de reacción para esta síntesis.<sup>24</sup>



**Esquema 7.** Reacción aldólica tipo Mukaiya.

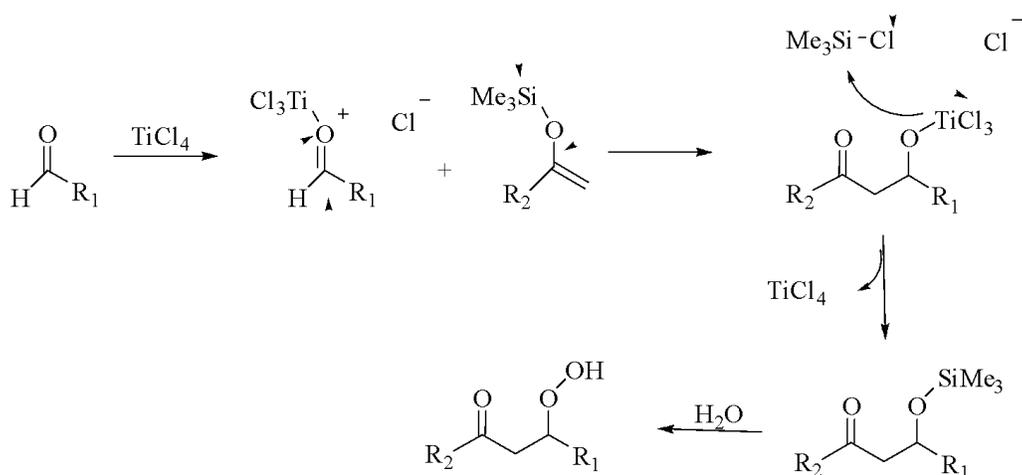
<sup>22</sup>Inamoto, Y.; Nishimoto, Y.; Yasuda M.; Baba A. *Org. Lett.* 2012 , 14, 1168.

<sup>23</sup> Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*. Oxford University Press. New York. 2001, 707.

<sup>24</sup> Mukaiyama, T.; Ishida, A. *Chem. Lett.* 1975, 15, 319.

El mecanismo de la reacción aldólica tipo Mukaiyama, depende en gran parte de las condiciones de reacción, substratos y el tipo de ácido de Lewis que se utiliza como activante. En las condiciones clásicas, se utiliza  $\text{TiCl}_4$  en cantidades equimolares.

Sin catalizador los sililenol éteres no reaccionan con aldehídos o cetonas, la reacción aldólica ocurre al formarse un complejo titanio-oxígeno, la carga positiva sobre el oxígeno del carbonilo hace al carbono del aldehído o cetona más electrofílico dando fácilmente el producto de condensación.<sup>14</sup>



**Esquema 8.** Mecanismo de reacción tipo Mukaiyama.

Esta reacción ha sido de gran utilidad hoy en día, debido a esto se conoce una gran cantidad de ácidos de Lewis que catalizan esta reacción, por ejemplo:  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CuF}$ ,  $\text{FeCl}_3$  y  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  entre otros.<sup>25</sup>

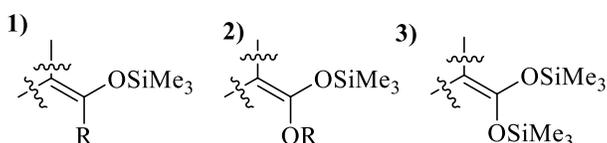
Por otra parte la reacción de Mukaiyama tiene una serie de ventajas sobre la reacción aldólica clásica tal como:

<sup>25</sup> Mukaiyama, T. Pure & Appl. Chem., 1983, 55, 1749.

- Condiciones de reacción: generalmente esta reacción procede en condiciones suaves de temperatura y presión.
- Buenos rendimientos: la reacción catalizada con ácidos de Lewis generalmente produce rendimientos por arriba del 70%.
- Menor obtención de subproductos: ya que el ión enolato previamente formado, descarta la posibilidad de productos de autocondensación.
- No es reversible: el ataque nucleofílico se da mediante un ión enolato estabilizado y no durante un equilibrio.
- Control sobre sustratos quirales: los sililenol éteres permiten la adición de sustratos quirales al producto final.<sup>26</sup>

### 1.2.1 Sililenol éteres en reacciones aldólicas.

Los sililenol éteres y los acetales de sililcetena han sido ampliamente estudiados en reacciones de adición nucleofílica o en condensaciones aldólicas tipo Mukaiyama que generalmente serán realizados en presencia de ácidos de Lewis como catalizadores.<sup>27</sup> Comúnmente a estos compuestos se les denomina organosililados, debido a que contienen un enlace C-Si.



**Figura 10.** Estructura general de: 1) sililenol éter, 2) acetal de sililcetena y 3) *bis*-(trimetilsilil) acetal de cetena

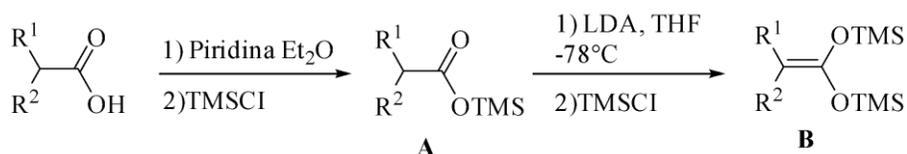
<sup>26</sup> Chintareddy, V. R.; Wadhwa, K.; Verkade, J. G. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 8118.

<sup>27</sup> Bellassoued, M.; Reboul, E.; Duma F. *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 5631.

Estos compuestos son altamente reactivos y muy versátiles para poder realizar condensaciones aldólicas, ya que el ión enolato se encuentra estabilizado como un sililo neutro y está protegido para sufrir reacciones colaterales.

### 1.2.2 Acetales de *bis*-(trimetilsilil)cetena.

La primera vez que se sintetizaron los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena fue en 1972 por Ainsworth.<sup>28</sup> En un principio se describieron dos métodos para su síntesis, partiendo de ácidos carboxílicos enolizables. El primer método está basado en dos etapas (**Esquema 11**), la primera es la formación del éster de trimetilsilicio **A**, a partir de la desprotonación del ácido carboxílico con piridina, seguida de la adición de TMSCl. La segunda consiste en la formación del enolato de silicio a partir de la abstracción de hidrógeno en posición alfa al grupo carboxilo usando como base LDA; el ion enolato que resulta, será estabilizado inmediatamente por la adición de TMSCl, lo que da paso a la formación del correspondiente acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena **B**.



**Esquema 9.** Formación de acetales de *bis*-(trimetilsilil)cetena.

<sup>28</sup> Ainsworth, e.; Kuo, Y.; J. Organomet. Chem. 1972,46,73

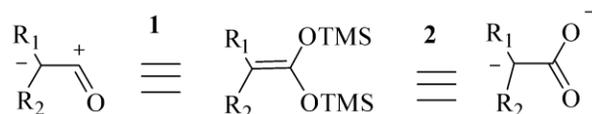
El segundo método se basa en la formación directa del acetal *bis*(trimetilsilil)cetena, mediante la adición de dos equivalentes de LDA sobre el ácido carboxílico. (Esquema 12).



**Esquema 10.** Formación directa del acetal *bis*(trimetilsilil)cetena

### 1.2.3 Reactividad de acetales de *bis*-(trimetilsilil)cetena.

En función de las condiciones de reacción dadas, los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena en reacciones de cicloadición (**ruta 1**) tienden a comportarse como dipolos 1,2; o en su caso puede actuar como 1,3 dinucleófilos (**ruta 2**)<sup>29</sup>



**Figura 11.** Comportamiento de los acetales *bis*(trimetilsilil)cetena.

<sup>29</sup> Takao, K.; Hayakawa, N.; Yamada, R.; Yamaguchi, T.; Saegusa, H.; Uehida, M.; Samejima, S.; Tadano, K. J. Org. Chem. 2009,74,6452.

### 1.3 Compuestos Organofluorados.

El flúor es el halógeno que se encuentra en mayor proporción en la corteza terrestre.<sup>30</sup> Sin embargo, solo se han identificado una pequeña cantidad de compuestos orgánicos fluorados en la naturaleza.<sup>31</sup> La mayoría de los compuestos organofluorados son sintetizados por la química orgánica, partiendo de este punto de vista, los grupos que contienen flúor juegan un papel importante en la química del flúor. La incorporación de grupos que contienen flúor en una molécula orgánica a menudo aumentan considerablemente las propiedades químicas, físicas y biológicas del compuesto original, por lo que los compuestos organofluorados están recibiendo una atención creciente en las ciencias médicas, farmacéuticas, agrícolas y de materiales.<sup>32-33</sup> Hasta la fecha, el grupo trifluorometilo es el grupo que contiene flúor más utilizado debido a su fuerte poder de extracción de electrones y alta lipofilidad.<sup>34-35</sup> En los últimos años, ha aumentado el interés en la asociación del grupo trifluorometilo con heteroátomos como trifluorometoxi ( $\text{OCF}_3$ ) o trifluorometanesulfenilo ( $\text{SCF}_3$ ). Estos grupos funcionales tienen propiedades similares al grupo trifluorometilo ( $\text{CF}_3$ ).<sup>36</sup>

---

<sup>30</sup>Harper, D. B.; O'Hagan, D. *Nat. Prod. Rep.* 1994, 11, 123.

<sup>31</sup>O'Hagan, D.; Harper, D. B. *J. Fluorine Chem.* 1999, 100, 127.

<sup>32</sup>Kirsch, P. *Modern Fluoroorganic Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2004.

<sup>33</sup>Begue, J.-P.; Bonnet-Delpon, D. *Bioorganic and Medicinal Chemistry of Fluorine*; Wiley: New York, 2008

<sup>34</sup>Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 320.

<sup>35</sup>Besset, T.; Schneider, C.; Cahard, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2012, 51, 5048.

<sup>36</sup>Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W. *Chem. Rev.* 1991, 91, 165.

### 1.3.1 Anhídrido trifílico.

El anhídrido trifluorometansulfónico (trifílico) ha mostrado tener un gran número de aplicaciones en síntesis orgánica, principalmente para llevar a cabo la conversión de varios compuestos a triflatos.<sup>37</sup> El grupo triflato es un buen grupo saliente, comparándose con la molécula de nitrógeno en las sales de diazonio, considerada como excelente nucleóforo. Igualmente, la unidad TfO es un grupo electroattractor fuerte semejante a  $N(Me)_3^+$ . Dado lo anterior, el anhídrido trifílico representa un reactivo muy útil en química orgánica y a pesar de que son muchos los trabajos publicados que están relacionados con la reactividad del anhídrido trifílico, su química aún está considerada en progreso.

Además, en algunos casos la incorporación de un grupo triflato resulta en la formación de un nuevo compuesto farmacológicamente activo.<sup>38</sup>

En los últimos años, ha aumentado el interés en la asociación del grupo trifluorometilo con heteroátomos tales como trifluorometoxi ( $OCF_3$ ) o trifluorometanesulfenilo ( $SCF_3$ ). Estos grupos funcionales tienen propiedades similares al grupo trifluorometilo ( $CF_3$ ).<sup>39</sup> Los compuestos que contienen  $SCF_3$ , así como los grupos análogos, se encuentran con frecuencia en muchos productos

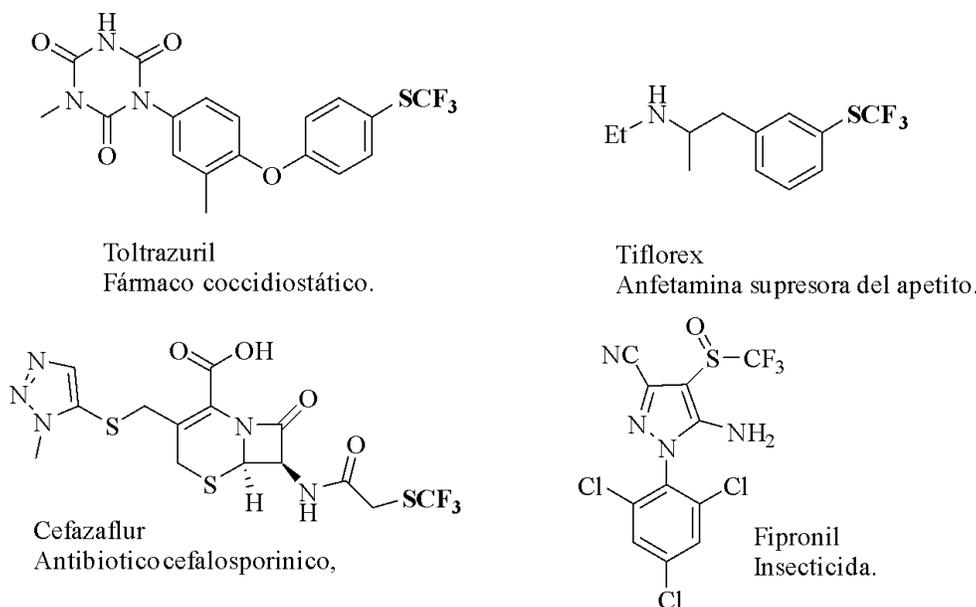
---

<sup>37</sup> (a) Stang, P. J.; Hanack, M.; Subramanian, L.R. *Synthesis* 1982, 85-126. (b) Ritter, K. *Synthesis* 1993, 735-762.

<sup>38</sup> Boyfield, I.; Coldwell, M. C.; Hadley, M. S.; Johnson, C. N.; Riley, G. J.; Scott, E. E.; Stacey, R.; Stemp, G.; Thewlis, K. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1997, 7, 1995-1998.

<sup>39</sup> Hansch, C.; Leo, A.; Unger, S. H.; Kim, K. H.; Nikaitani, D.; Lien, E. J. *J. Med. Chem.* 1973, 16, 1207.

farmacéuticos y agroquímicos. Algunos ejemplos representativos se muestran en la **figura 12.**<sup>40- 41-42</sup>



**Figura 12.** Ejemplos de  $\text{SO}_n\text{CF}_3$  que contienen compuestos biológicamente activos.

### 1.3.2 Reactividad de compuestos azaaromáticos frente a $\text{Tf}_2\text{O}$ .

Los heterociclos de nitrógeno son abundantes en la naturaleza y son de gran importancia para la vida porque sus subunidades estructurales existen en muchos productos naturales como vitaminas, hormonas, antibióticos, alcaloides, así como en, herbicidas y colorantes.<sup>43</sup> La funcionalización de los azaheterociclos es una

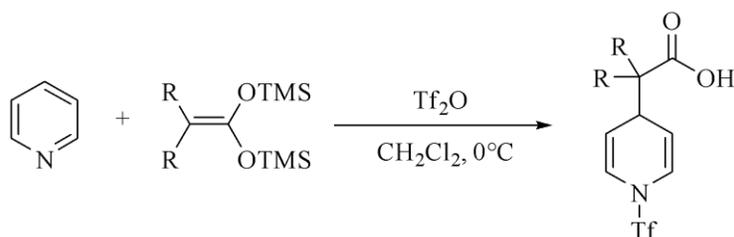
<sup>40</sup> Andre, J. N.; Dring, L. G.; Gillet, G.; Mas-Chamberlin, C. Br. J. Pharmacol. 1979, 66, 506P.

<sup>41</sup> Silverstone, T.; Fincham, J.; Plumley, J. Br. J. Clin. Pharmacol. 1979, 7, 353.

<sup>42</sup> Islam, R.; Lynch, J. W. Br. J. Pharmacol. 2012, 165, 2707.

<sup>43</sup> a) Garuti, L.; Roberti, M.; Pizzirani, D. Mini Rev. Med. Chem. 2007, 7 (5), 481.. b) Lee, S.; LaCour, T. G.; Fuchs, P. L. Chem. Rev. 2009, 109 (6), 2275.

herramienta poderosa para sintetizar productos naturales y sustancias bioactivas. Entre las estrategias sintéticas que existen para llevar a cabo tales transformaciones, la activación de los sustratos aromáticos mediante la coordinación de sus dobles enlaces a un metal de transición o la activación de los aza-aromáticos al formar sales a través de átomos de nitrógeno (**Esquema 11**).<sup>44</sup>



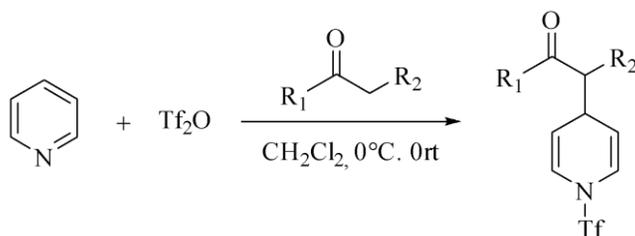
**Esquema 11.** Activación del núcleo de piridina y la posterior adición del acetal de cetona para la formación del ácido.

El tratamiento de cetonas con piridina (4 Eq.) y anhídrido trifílico (3 Eq.) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a 0 °C dio 4-(2-oxoalquil)-1,4-dihidropiridinas en lugar de enol triflatos

Ahora se presenta una ruta práctica para la síntesis regioespecífica de 4-(2-oxoalquil) piridinas utilizando anhídrido trifílico para activar el anillo de piridina. 4-(2-oxoalquil)-1,4-dihidropiridinas (**Esquema 12**).<sup>45</sup>

<sup>44</sup> Comins, D.L.; Joseph, S.P. In *Advances in Nitrogen Heterocycles*; Moody, C. J., Ed.; JAI Press: Greenwich CT, 1996; Volume 2, pp 251–294.

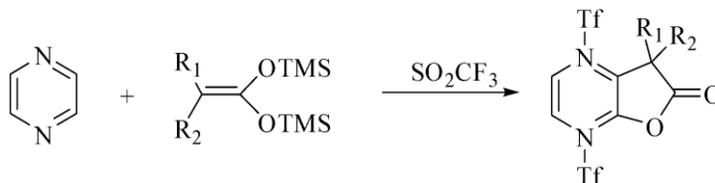
<sup>45</sup> Regiospecific Synthesis of 4-(2-Oxoalkyl)pyridines Alan R. Katritzky, Suoming Zhang, Thomas Kurz, Mingyi Wang, and Peter J. Steel, *Organic Letters* 2001 3 (18), 2807-2809



**Esquema 12.** Activación el anillo de piridina. 4-(2-oxoalquil)-1,4-dihidropiridinas.

En los azaheterociclos, hay diferencias importantes en su reactividad. Cuando esta reacción se extiende a pirazina, quinoxalina y pirimidina, la reacción de cierre del anillo tiene lugar en una etapa.<sup>46</sup>

Las reacciones de pirazina con acetales de cetena en presencia de anhídrido triflico conducen a la formación de  $\gamma$ -lactonas tras la activación sucesiva de los dos átomos de nitrógeno (**Esquema 13**).<sup>47</sup> La reacción de pirazina con 1 equiv. del acetal de cetena en presencia de 2 equiv. de anhídrido triflico dió como resultado la formación de una  $\gamma$ -lactona.<sup>48</sup>



**Esquema 13.** Reactividad de acetales de bis(trimetilsilil)cetena frente a pirazina.

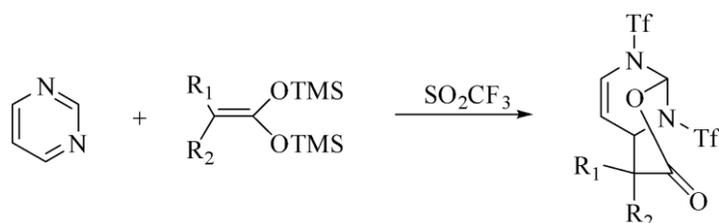
<sup>46</sup> Garduño-Alva, A.; Ortega-Alfaro, M. C.; López-Cortés, J. G.; Chávez, I.; Barroso-Flores, J.; Toscano, R. A.; Rudler, H.; Álvarez-Toledano, C. *Can. J. Chem.* 2012, 90, 469.

<sup>47</sup> H. Rudler, B. Denise, Y. Xu, J. Vaissermann, *Tetrahedron Lett.* 2005, 46, 3449.

<sup>48</sup> Garduño-Alva, A.; Xu, Y.; Gualo-Soberanes, N.; López-Cortés, J.; Rudler, H.; Parlier, A.; Ortega-Alfaro, M.C.; Álvarez-Toledano, C.; Toscano, R.A., "Synthesis of new polycyclic  $\gamma$ - and  $\delta$ -lactones up on activation of, and nucleophilic additions to, diazines: influence of the activating agents", *Eur. J. Org. Chem.* , 3714-3723, 2008. pp 3716,3717.

La importancia de la pirimidina como parte del esqueleto de los ácidos nucleicos y sus derivados oxigenados es muy importante en bioquímica.<sup>49</sup>

En condiciones similares, la pirimidina reaccionó con el acetal correspondiente para dar la lactona de pirimidina (**Esquema 14**).<sup>46</sup>



**Esquema 14.** Reactividad de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena frente a pirimidina.

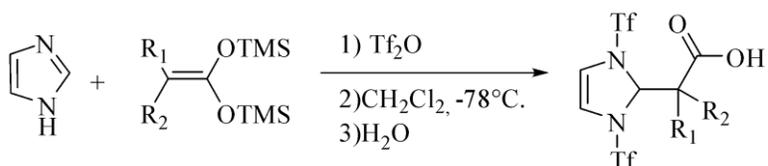
Entre otros compuestos aza-aromáticos utilizados en el grupo de trabajo, se ha efectuado la reacción de adición nucleofílica sobre el imidazol y benzimidazol activados.<sup>50-51</sup>

<sup>49</sup> D. J. Brown, *The Pyrimidines in The Chemistry of Heterocyclic Compounds* (Eds.: A. Weissberger, E. C. Taylor), Wiley-Interscience, New York, 1970.

<sup>50</sup> Kumar, R.; Chandra, R. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Academic, 2001; pp 269–313.

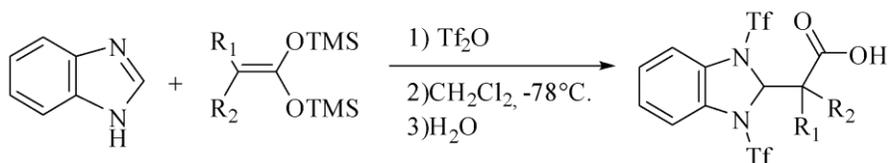
<sup>51</sup> Cheng, C. C.; Roth, B. *Prog. Med. Chem.* 1970, 7, 285–287.

De acuerdo con el procedimiento general, se añadió anhídrido tríflico a una solución de imidazol en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro a -78 °C, seguido por 1.1 eq. del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena. **(Esquema 15)**.<sup>52</sup>



**Esquema 15.** Síntesis de ácidos 2,3-dihidroimidazilcarboxílicos.

Este mismo procedimiento también se probó empleando benzimidazol, con resultados similares **(Esquema 16)**.<sup>52</sup>



**Esquema 16.** Síntesis del ácido carboxílico derivado del benzimidazol.

<sup>52</sup> Alejandro Rivera-Hernández, Isabel S. López-Jimeno, Genaro A. Carmona-Reyes, R. Alfredo-Toscano, José Guillermo Penieres-Carrillo, Cecilio Álvarez-Toledano. *Tetrahedron*, lett.2015, 56,4829-4832.

## HIPOTESIS.

### 1.4 Hipótesis general.

En nuestro grupo de investigación, con el objetivo de sintetizar nuevos ácidos carboxílicos y lactonas polifuncionales con posible actividad biológica, se ha realizado la adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a diversos aza-heterociclos aromáticos activados con anhídrido trifluorometansulfónico .

Se espera que la activación de isoxazol con anhídrido trifluorometano, seguido de la reacción de adición nucleofílica de diversos acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena, conduzca a la formación de los respectivos ácidos carboxílicos en la posición 3 del isoxazol. .

A partir de los ácidos se espera llevar a cabo la reacción de ciclación para las correspondientes lactonas.

## **Objetivos.**

### **1.5 Objetivos generales**

- Extender los estudios previamente realizados en nuestro grupo de trabajo sobre la reactividad de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena frente a heterociclos que contienen nitrógeno, en este caso el isoxazol, en la formación de los ácidos carboxílicos correspondientes.
- Estudiar la reactividad que pudieran presentar los ácidos carboxílicos preparados.

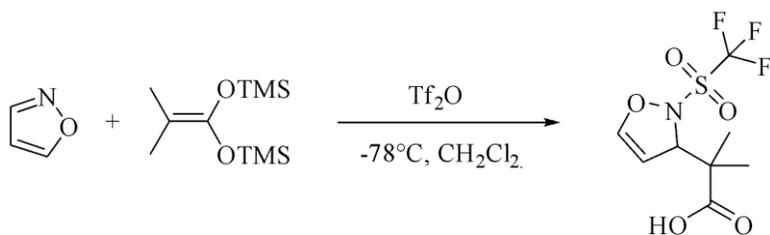
### **1.6 Objetivos particulares**

- Preparar una nueva serie de ácidos carboxílicos mediante el uso de diferentes acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena.
- Llevar a cabo reacciones de lactonización con los ácidos isoxazolínicos obtenidos.
- Evaluar la actividad biológica de los compuestos sintetizados.

## 2. Resultados y Discusión.

### 2.1 Estudio del tiempo de activación con Tf<sub>2</sub>O.

Para establecer las condiciones óptimas de reacción para la activación del isoxazol y la posterior adición nucleofílica de los acetales de *bis*(trimetilsili) cetena, se utilizó inicialmente el acetal derivado del ácido isobutírico.



**Esquema 17** Reacción para la estandarización de Tf<sub>2</sub>O

Inicialmente el isoxazol fue disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, posteriormente la solución fue enfriada a -78 °C, en seguida se adicionó el Tf<sub>2</sub>O. Después de una hora de activación, se agrega el acetal de cetena y se continúa la agitación a -78 °C por 24 horas. Encontrando que el isoxazol, no reaccionó totalmente, por lo cual se realizaron experimentos con activaciones de 3 y 6 horas.

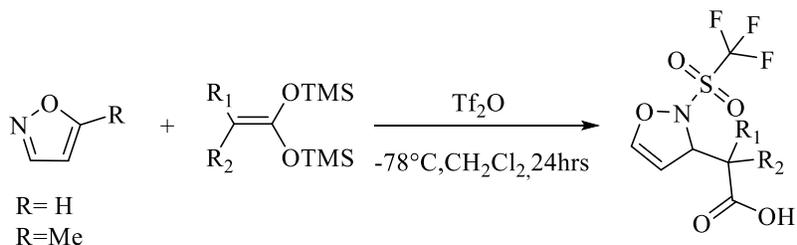
Los resultados obtenidos se indican en la siguiente tabla:

**Tabla 1.** Resultados de la estandarización del tiempo de activación con Tf<sub>3</sub>O.

Tiempo de activación	Rendimiento (%)
1h	50%
3h	81%
6h	83%

Se determinó que el 2% de diferencia en rendimientos en tiempo de activación de 3 y 6 horas no es significativo, por lo tanto se decidió que el tiempo adecuado de activación entre el isoxazol y el Tf<sub>2</sub>O es de 3 horas.

Con el fin de extender los resultados previamente obtenidos, se propuso un estudio sistemático sobre la dependencia de los sustituyentes presentes en los acetales de *bis*(trimetilsilil)acetona.



**Esquema 18.** Reacción general de la formación de ácidos carboxílicos.

Los rendimientos obtenidos se desglosaron en la siguiente tabla:

**Tabla 2.** Rendimientos de los ácidos carboxílicos.

Compuesto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Rendimientos (%)
1a	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	81%
2a		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	41%
3a		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -	38%
4a		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -	10%
5b	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	88%
6b		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -	25%

Los rendimientos obtenidos, se pueden explicar en base a que el ataque nucleofílico de los acetales de cetena, se produce en la posición tres del isoxazol, existiendo un fuerte impedimento estérico debido a las interacciones presentes con grupo voluminoso SO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, en posición 2 del anillo. Esto queda de manifiesto ya que **1a** el cual los sustituyentes en el acetal son metilos, el rendimiento es alto. Por otro lado, al tener presente un ciclo, el rendimiento se ve disminuido, al aumentar el efecto estérico como en el caso de **3a y 4a**, donde se tiene presente un ciclopentilo y ciclohexilo respectivamente.

Asimismo, con el objetivo de aumentar la posible actividad biológica, de los ácidos obtenidos, tratando de asemejarlos al farmacóforo de moléculas ya reportadas, procedimos a estudiar la reactividad presentada por un núcleo de isoxazol sustituido por un metilo en la posición 5.

## 2.3 Caracterización espectroscópica del compuesto 1a.

La caracterización de los productos obtenidos se realizó mediante las técnicas espectroscópicas de IR, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , así como por EM. A manera de ejemplo, se detalla la espectroscopia obtenida para 1a.

### 2.3.1 Espectrofotometría de IR.

En el espectro de IR de 1a se observa una banda ancha en  $2986\text{ cm}^{-1}$  característica de la vibración del enlace  $-\text{OH}$  del grupo funcional ácido carboxílico y una banda del estiramiento  $\text{C}=\text{O}$  del carbonilo de ácido en  $1711\text{ cm}^{-1}$ . Así, como la banda para  $\text{C}=\text{C}$  en  $1636\text{ cm}^{-1}$

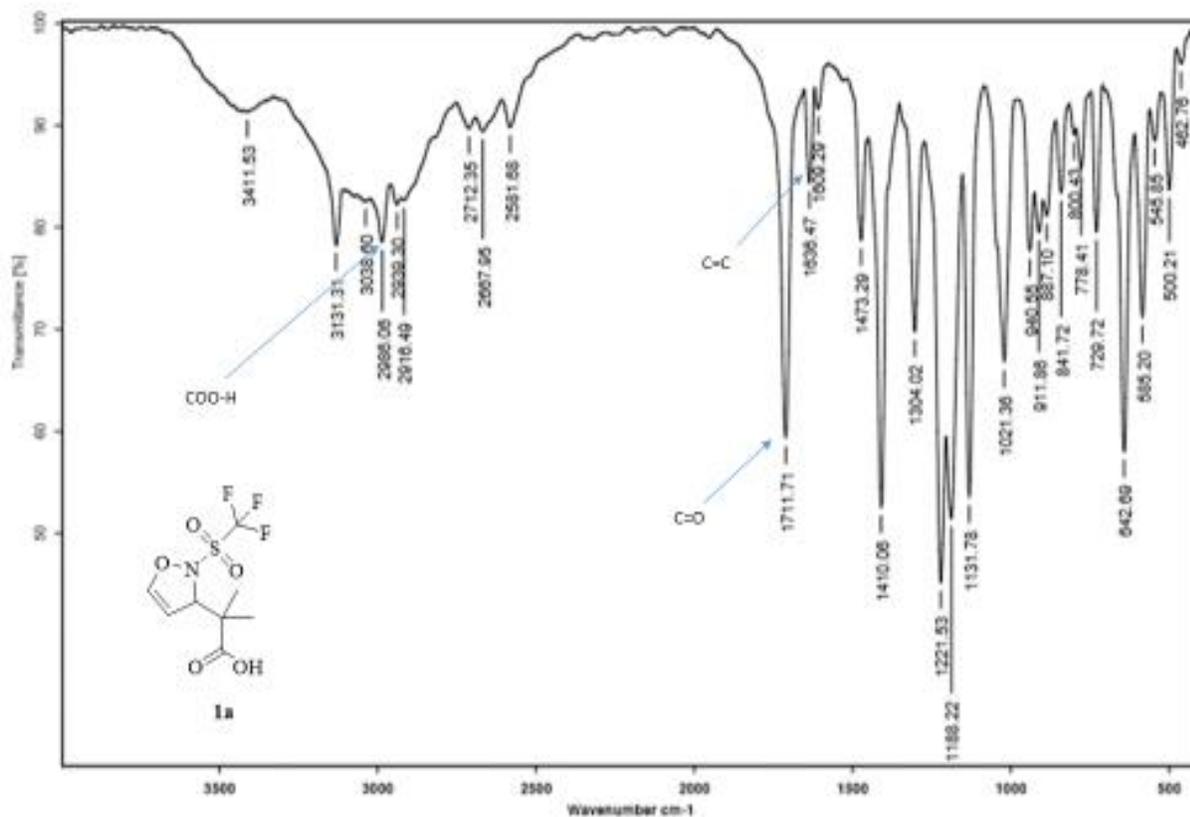


Figura 13. Espectro de IR pastilla de 1a.

### 2.3.1 Espectrometría de masas.

El espectro de masas de **1a** muestra un pico en una relación (m/z) 307  $[M+18]^+$  que corresponde al ácido más  $H_2O$ , el pico igual 290  $[M+1]^+$  en m/z correspondiente al ácido carboxílico y el pico 202  $[M-C_4H_7O_2]^+$  m/z correspondiente a la pérdida del fragmento  $C_4H_7O_2$ ., propio de la fragmentación de la función ácida.

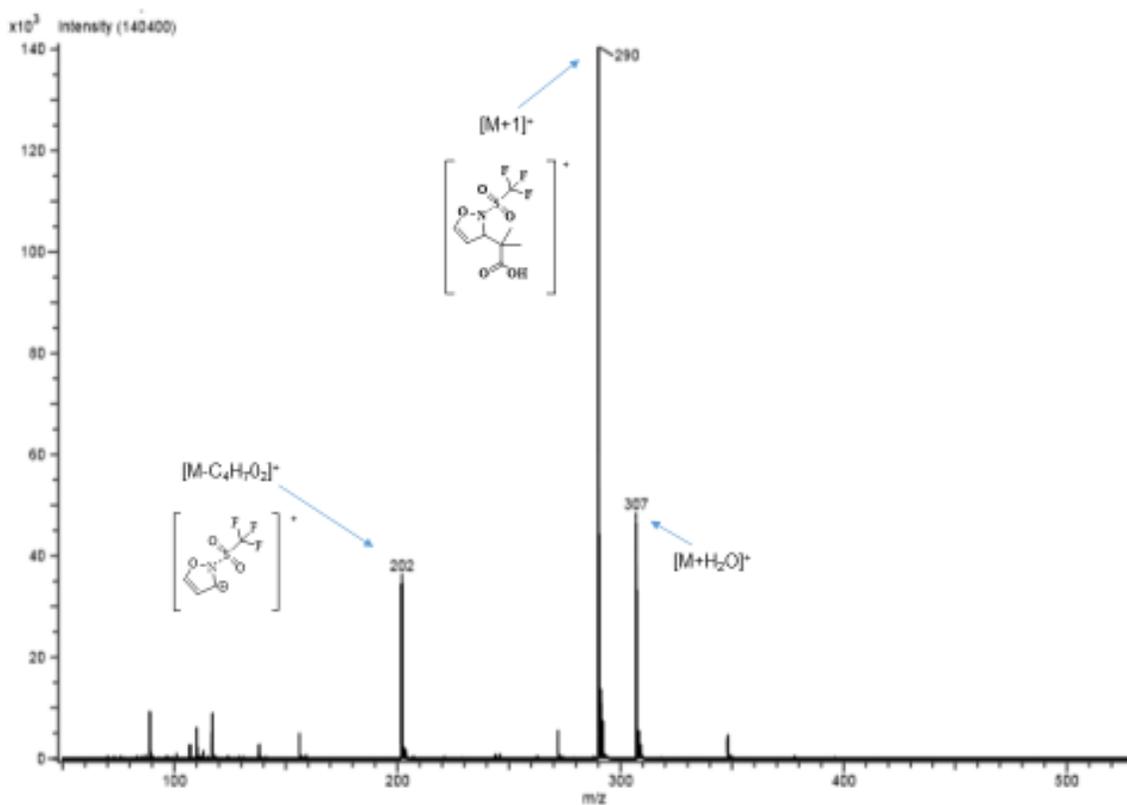
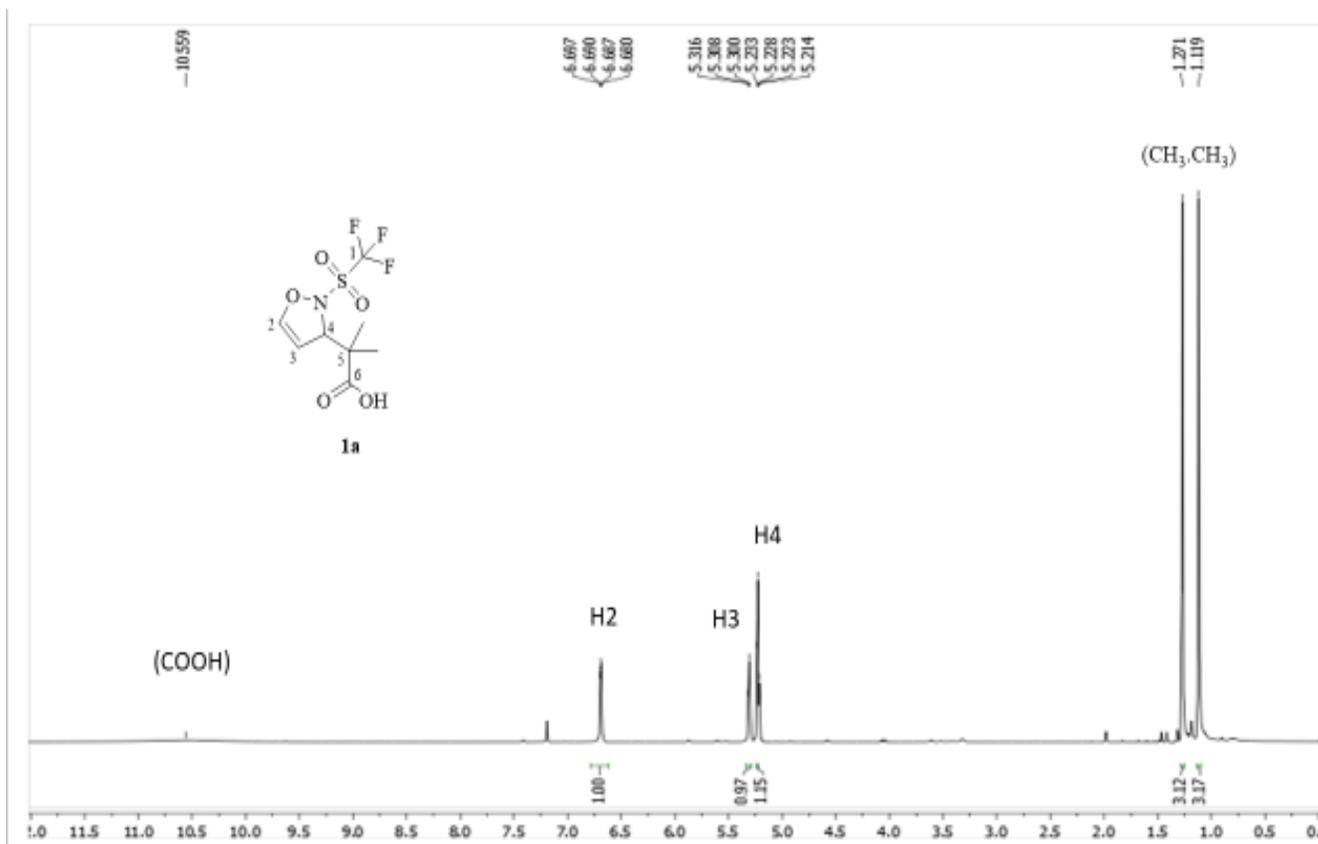


Figura 14. Espectro de masas (DART)<sup>+</sup> de **1a**.

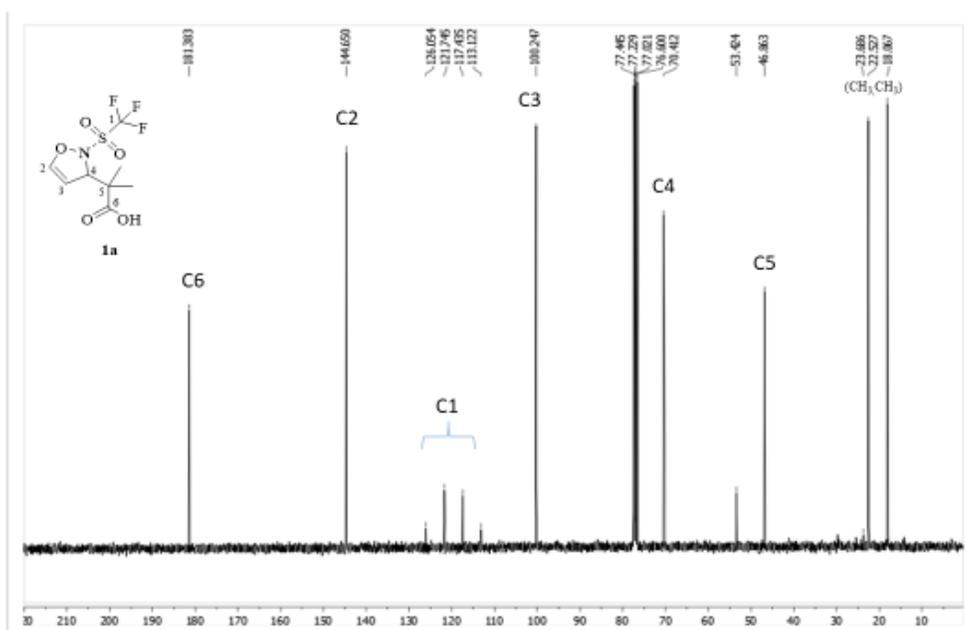
### 2.3.3 Espectroscopia de RMN $^1\text{H}$ Y $^{13}\text{C}$ .

En el espectro de RMN de **1a** aparece una señal simple en 10.55 ppm, que integra para 1H correspondiente al hidrogeno ácido del grupo COOH. Se visualiza una señal doble en 6.69 ppm que presenta una constante de acoplamiento de  $J= 3.9$  Hz, que integra para 1H correspondiente a H2. Se observa también una señal múltiple entre 5.31-5.30 ppm que integra para 1H asignado a H3. La señal doble que aparece en 5.22ppm que integra para 1H con una constante de acoplamiento de  $J= 1.5$  Hz es asignada a H4. De igual modo, se observan dos señales simples en 1.27 y 1.12 ppm que integran para 3H son asignados para los hidrógenos de los metilos.



**Figura 15.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **1a**.

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1a**, permite observar a campo bajo la señal correspondiente al átomo de carbono C6 del carbonilo del ácido carboxílico en 181.3 ppm, así como una señal en 144.6 ppm asignada al carbono vinílico C2. En 119.5 ppm se localizan las señales correspondientes al  $\text{CF}_3$ . Asimismo se aprecia la señal de segundo carbono vinílico C3 en 100.2 ppm, mientras que la señal 70.4 ppm es asignada C4 y las señales correspondientes a los metilos se aprecian en 23.6 y 22.5 ppm.

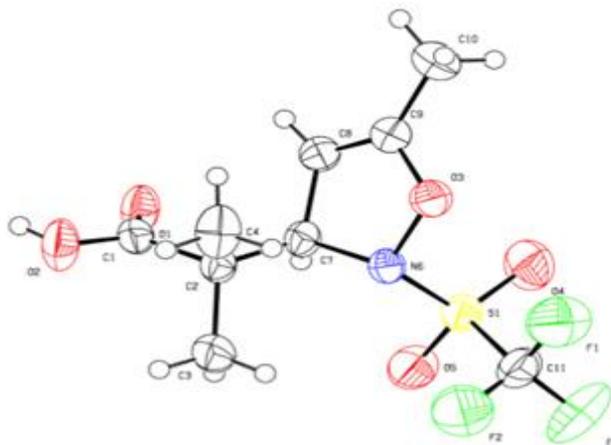


**Figura 16.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **1a**.

Para el ácido **5b**, fue posible la obtención de un monocristal adecuado para su análisis por difracción de rayos X. En la **figura 2.29**, se muestra la proyección ORTEP, en la que aparece un anillo de 5 miembros, sustituido por un metilo en la posición 5. La distancia C8-C9 1.311 Å y corresponde a la longitud de un enlace doble C=C, el enlace O3-N6 con una distancia 1.446 Å correspondiente a la adición del triflato.

En el C2-C7 con la distancia de 1.546 Å, se muestra la evidencia de la adición nucleofílica por parte del acetal, también se encuentra la distancia clásica de un grupo carbonilo entre O1-C1 de 1.213 Å y el enlace O2-C1 con una distancia 1.300 Å correspondiente a enlace sencillo con un grupo hidroxilo. En la **Tabla 3** se muestran los datos cristalográficos, así como las distancias de enlace selectos para el ácido **5b**.

### 2.3.4 Análisis cristalográfico 5b.



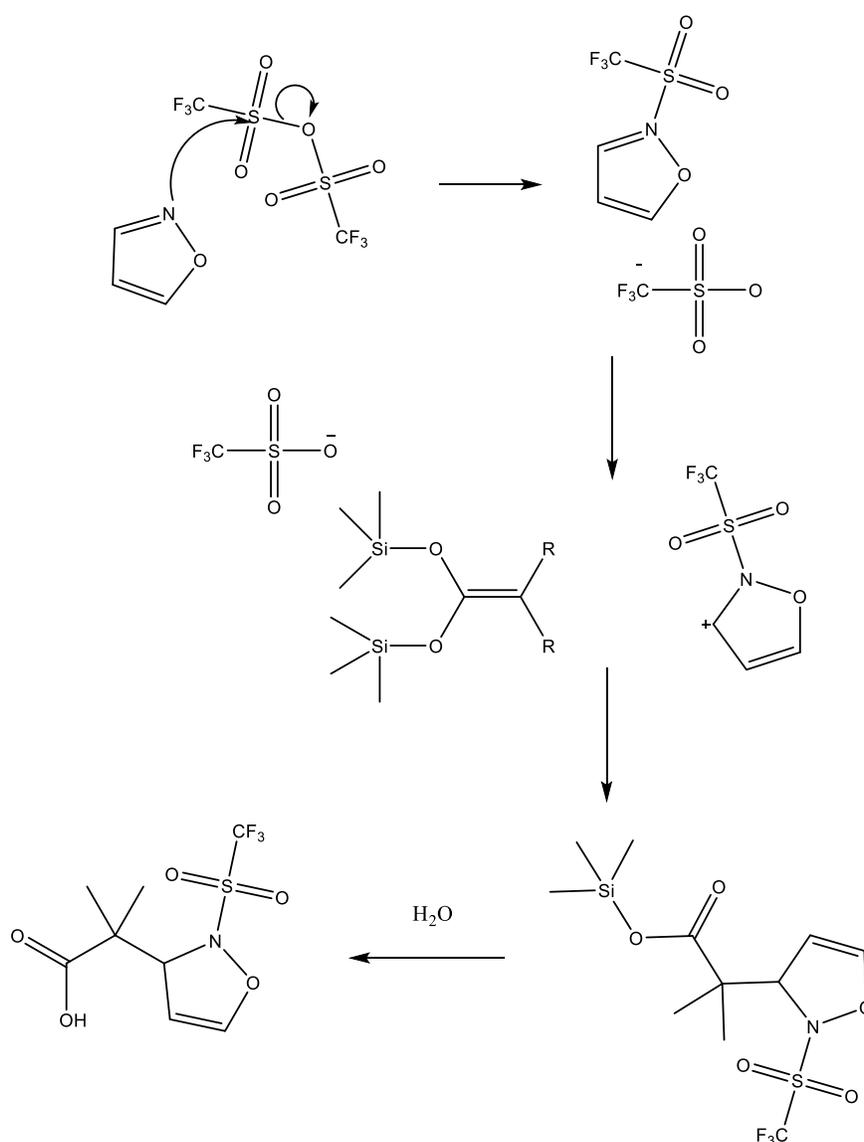
**Figura 17.** Representación tipo ORTEP del ácido **5b**.

**Tabla 3.** Datos cristalográficos, ángulos y distancias selectas del ácido **5b**.

Datos Cristalográficos		Distancia [Å]
Fórmula Molecular	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N O <sub>5</sub> S	C8-C9 1.311(3)
Sistema Cristalino	Ortorrombico	O3-N6 1.446(2)
Grupo espacial	P <sub>bca</sub>	C2-C7 1.546(3)
Dimensiones de la celda unitaria (Å, °)	a=16.1498(9) α= 90 b=9.8386(6) β=90 c=16.3885(10) γ= 90	O1-C1 1.213(3) O2-C1 1.300(3)
Volumen (Å) <sup>3</sup>	2604.0	
Z	8	
Reflexiones colectadas	9963	
Reflexiones independientes	2667	
Índices finales R [ <i>I</i> >2σ( <i>I</i> )]	R1= 0.0459, wr2= 0.1239	
Gof(F <sup>2</sup> )	1.043	

### 2.3.5 Mecanismo de formación de ácidos carboxílicos.

El mecanismo propuesto, primeramente, se contempla la activación del anillo de isoxazol por medio del  $\text{SO}_2\text{CF}_3$ , para que posteriormente se efectúe un ataque nucleofílico del acetal de *bis*(trimetilsilil) cetena, conduciendo a la formación del ester de trimetilsilicio correspondiente, que mediante una tratamiento con agua permite la obtención final del ácido carboxílico. (**Esquema 19**).



### 2.3.6 Evaluación y análisis de la actividad biológica

La actividad biológica es la capacidad específica de una entidad molecular de producir una respuesta definida sobre un sistema biológico.<sup>53</sup> La actividad biológica de los compuestos presentados en este trabajo fue determinada evaluando su capacidad antiproliferativa en diversas líneas celulares cancerosas humanas.

El cáncer es el nombre común que recibe un conjunto de enfermedades relacionadas en las que se observa un proceso descontrolado en la división de las células del cuerpo.<sup>54</sup> Nuestro grupo de trabajo se ha dedicado a diseñar y desarrollar nuevas moléculas con posible actividad biológica. Existe una particular atención debido al alto crecimiento de mortandad que ocasiona esta enfermedad. Debido a esto, se ha decidido evaluar la actividad antiproliferativa así como su selectividad sobre líneas celulares cancerígenas de las nuevas moléculas sintetizadas.

---

<sup>53</sup> Jackson, M. C.; Esnouf, M. P.; Winzor, J. D.; Duewer, L. D.; *Accredit. Qual. Assur.* 2007, 12, 283.

<sup>54</sup> Artal A, Martínez J. Diagnostico de extensión. En Gonzalez Barón M, Ordoñez A, Feliu J, Espinosa E, de Castro J. *Oncología Médica*. 2ª edition. Mc Graw -Hi l. Interamericana 1998:211-229.

### 2.3.6 Evaluación de actividad antiproliferativa

Se evaluó la capacidad antiproliferativa en diversas líneas celulares cancerosas humanas, **Tabla 4**.

Para este propósito se realizó un ensayo estandarizado conocido como screening primario; que consiste en valorar la actividad antiproliferativa de los compuestos, usando como control positivo al etopósido.

El etopósido, también conocido como VP-16 o Vepesid, es un fármaco antineoplásico capaz de detener e impedir el desarrollo y proliferación de células cancerosas.<sup>55</sup> Usado para tratar diferentes tipos de cáncer como, cáncer testicular, de pulmón, linfoma, leucemia, neuroblastoma y ovario. Este fármaco tiene la capacidad de detener e impedir el desarrollo y proliferación de células cancerosas.<sup>56</sup>

Se determinó la actividad antiproliferativa de los todos los ácidos sintetizados sobre las siguientes líneas celulares cancerosas humanas; **U251**= glía de sistema nervioso central, **PC-3**= próstata, **K562**= leucemia, **HCT-15**= colon, **MCF-7**= mama y **SKLU**= pulmón **COS7**= línea celular de mono (no cancerosa). Se evaluó la actividad antiproliferativa empleando un cernimiento primario en donde las células

---

<sup>55</sup> Rezonja, R.; Knez, L.; Cufer, T.; Mrha, A. Radiol. Oncol. 2013, 47, 1.

fueron expuestas por 48 h, a los compuestos de estudio a una concentración de 50  $\mu\text{M}$  usando como vehículo etanol.

El ensayo del crecimiento celular en las líneas celulares cancerosas humanas, permitió conocer el porcentaje de inhibición que muestra cada uno de los compuestos sintetizados.

En esta primera parte se muestran los resultados arrojados con el núcleo de isoxazol.

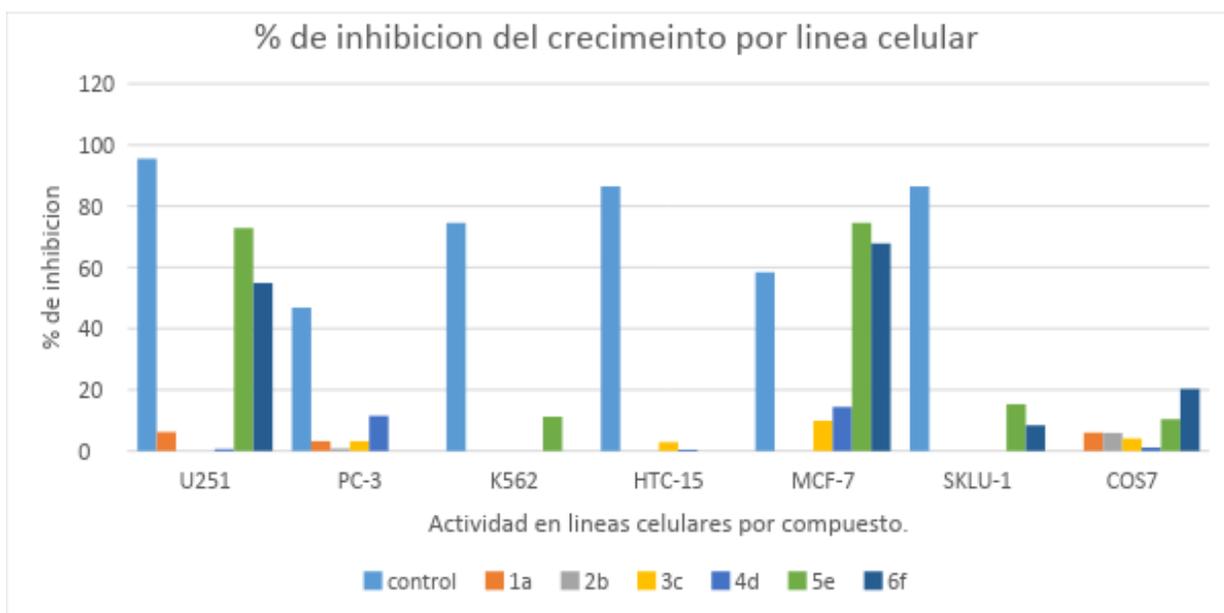
**Tabla 4.** % de inhibición del crecimiento por la línea celular, primera serie con el núcleo de isoxazol.

% de inhibición del crecimiento por la línea celular.							
Muestra	U251	PC-3	K562	HTC-15	MCF-7	SKLU-1	COS7
Etopósido(control) (25 $\mu\text{M}$ )	95.58	46.87	74.59	86.4	58.4	86.54	
1 <sup>a</sup>	6.2	3.2	NC	NC	NC	NC	6.0
2a	NC	0,8	NC	NC	NC	NC	5.9
3a	NC	3.2	NC	2.9	9.9	NC	4.1
4a	0.72	11.5	NC	0.5	14.4	NC	1.1

En la segunda etapa se utilizaron los ácidos obtenidos a partir del 5-metilisoxazol con la finalidad de estudiar si un grupo electrodonador como es el metilo, aumentaría su actividad citotóxica, y su afinidad para ciertas células cancerosas.

**Tabla 5.** % de inhibición del crecimiento por la línea celular, segunda serie con 5-metilisoxazol.

% de inhibición del crecimiento por la línea celular.							
Muestra	U251	PC-3	K562	HTC-15	MCF-7	SKLU-1	COS7
Etopósido(control) (25 µM)	95.58	46.87	74.59	86.4	58.4	86.54	
5b	72.8	NC	11.2	NC	74.6	15.3	10.4
6b	54.9	NC	NC	NC	67.9	8.4	20.3



**Gráfica 1:** Porcentaje de inhibición que genera cada ácido en las líneas celulares.

- **DISCUSIÓN DE ENSAYO DE ACTIVIDAD CITOTOXICA.**

El **grafico 1** nos permite observar que en la primera serie de compuesto resulta con una actividad citotóxica muy baja y sin una selectividad definida, sin embargo como ya se había mencionado se buscaba aumentar la bioactividad con la finalidad de que se asemejara a las moléculas que tienen actividad biológica ya reportada en la literatura y a la vez fuera una síntesis practica tomando como punto de partida núcleos ya comerciales; por lo tanto se hizo una segunda serie partiendo del 5-metilisoxazol, estudiando su reactividad enfocada a la adición de un grupo electro donador como es el metilo.

Con el fin de ampliar el análisis, es importante mencionar que una molécula para considerarse como una buena actividad citotóxica y poderle dar seguimiento en estudios clínicos posteriores debe ser selectiva hacia cierta línea celular y no presentar una actividad considerable con la línea celular **COS7**, que es una línea celular de mono (no cancerosa); esto indicaría la afinidad por la célula anómala y no por la célula normal.

El estudio plasmado ya en los gráficos nos revela que este pequeño cambio estructural, puede formar parte del farmacóforo, aumentando el % de inhibición del crecimiento de cada línea celular además de la selectividad por las líneas **U251** y **MCF-7**.

### 2.3.7 Actividad anti-inflamatoria:

La inflamación es la respuesta del tejido vivo vascularizado ante alguna lesión; puede ser causada por agentes biológicos, físicos o químicos.<sup>57</sup> Existen liberación de sustancias mediadoras, bradiquinina, prostaglandina, histamina y serotonina, que inducen permeabilidad vascular.<sup>58</sup>

La inflamación es una respuesta protectora, cuyo principal objetivo es librar al organismo del elemento causante del daño celular, como microbios y toxinas, y de las consecuencias de ese daño, con formación de células y tejidos necróticos. Sin la inflamación, las infecciones se diseminarían y las heridas nunca cicatrizarían. Por otro lado, la inflamación no curada adecuadamente es la base de las reacciones de hipersensibilidad y enfermedades crónicas, como la artritis reumatoide, la aterosclerosis y la fibrosis pulmonar.<sup>59</sup>

De igual forma dentro de las evaluaciones de actividad biológica se ha decidido estimar la capacidad antiinflamatoria, determinándolo mediante la utilización de un modelo murino in vivo de edema auricular inducido por TPA.<sup>60-61</sup> Se utilizaron grupos de 4 animales por compuesto. La oreja derecha de cada ratón recibió una aplicación tópica de 2.5 µg de TPA. Una dilución de etanol del compuesto en cuestión, se

---

<sup>57</sup> Coleman J. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol*. 2001;1(8):1397-406.

<sup>58</sup> Mitchell R, Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Compendio de Robbins y Cotran: Patología estructural y funcional*. 7ª. Edición. Madrid, España: Ed. Elsevier España S.A. 2007:30-57.

<sup>59</sup> Licastro F, Candore G, Lio D, Porcellini E, Colonna- Romano G, Franceschi C, Caruso C. Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases. *Immun Ageing*. 2005;2:8.

<sup>60</sup> De Young LM, Kheifets JB, Ballaron SJ, Young JM. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and actions*. 1989;26(3-4):335-341.

<sup>61</sup> Payá M, Ferrándiz ML, Sanz MJ, Bustos G, Blasco R, Rios JL, et al. Study of the antioedema activity of some seaweed and sponge extracts from the mediterranean coast in mice. *Phytotherapy Research*. 1993;7(2):159-162.

aplicó en forma tópica (1 mg/oreja) inmediatamente después de la aplicación de TPA. La oreja izquierda, utilizada como control, recibió el vehículo. La indometacina (0.5 mg/oreja) se utilizó como fármaco de referencia. Después de 4 horas los animales se sacrificaron mediante dislocación cervical y se extrajeron de cada oreja discos con un diámetro de 7 mm para determinar su peso. La diferencia de peso entre las orejas derecha e izquierda se tomó como expresión del edema. Se calculó el porcentaje de inhibición del edema en los animales tratados con respecto al grupo control.

Los resultados arrojados fueron los siguientes:

**Tabla 6.** Actividad antiinflamatoria de Isoxazoles.

<b>Muestra</b>	<b>R</b>	<b>Dosis (<math>\mu</math>mol/oreja)</b>	<b>Edema (mg)</b>	<b>Inhibición (%)</b>
Control a	-H-	1	14.50 $\pm$ 0.83	
1 <sup>a</sup>	-H-	1	15.83 $\pm$ 0.83	-9.19 $\pm$ 5.72
2 <sup>a</sup>	-H-	1	13.90 $\pm$ 1.86	4.14 $\pm$ 12.82
3 <sup>a</sup>	-H-	1	14.63 $\pm$ 2.47	-0.92 $\pm$ 17.01
4 <sup>a</sup>	-H-	1	15.83 $\pm$ 0.80	-9.14 $\pm$ 0.51
Control b			19.30 $\pm$ 0.85	
5b	-CH <sub>3</sub> -	1	16.13 $\pm$ 0.84	16.41 $\pm$ 4.36
6b	-CH <sub>3</sub> -	1	15.27 $\pm$ 1.13	20.90 $\pm$ 5.88

- **DISCUSIÓN DE ENSAYO DE DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA.**

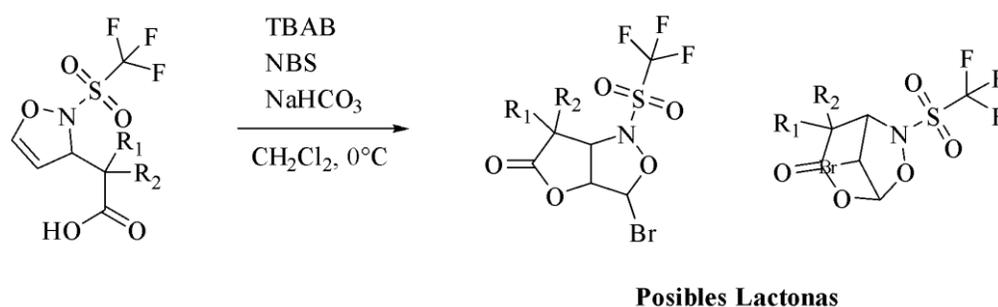
Los antiinflamatorios son fármacos que actúan principalmente evitando la síntesis de la llamadas prostaglandinas (elemento presente en las células de todo el cuerpo), evitando por ende la aparición del dolor en una zona afectada ya sea por un golpe y/o por un problema crónico; el principal efecto que poseen los antiinflamatorios no solo es impedir la inflamación y/o hinchamiento, sino a su vez servir como medio para disminuir la presencia del dolor (efecto analgésico); sin mencionar también su efecto en padecimientos como la fiebre, en donde vale decir, contribuye sobresalientemente a controlar y rebajar los niveles de la misma (efecto antipirético).

Se realizó pruebas para cada uno de los compuestos y así poder medir la capacidad antiinflamatoria. Se observa que la actividad de los compuestos de la serie **a**, prácticamente no tienen un % de inhibición significativo; debido a lo anterior, en los compuestos **5b** y **6b**, se decidió estudiar si un grupo electrodonador como es el metilo, aumentaría la actividad antiinflamatoria y se alternó por el 5-metilisoxazol.

Los resultados fueron favorables, aumentando su actividad antiinflamatoria, como se puede comparar en la **tabla 6**.

## 2.4 Proyecciones

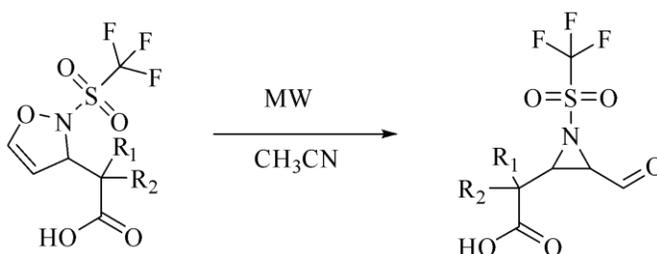
Previamente, en nuestro grupo de trabajo se había descrito la bromolactonización de núcleos que en su estructura presentaran doble ligaduras y un ácido carboxílico, por lo que el paso consecuente a la formación de los nuevos ácidos derivados del isoxazol, fue el de tratar de realizar dicha reacción, bajo las condiciones previamente establecidas en nuestro grupo de trabajo. El proponer la síntesis de lactonas fue con la finalidad de investigar su posible actividad biológica.



**Esquema 20.** Bromolactonización a partir de los ácidos sintetizados.

Se realizó la reacción de anillación de los ácidos carboxílicos, utilizando la metodología de nuestro grupo de trabajo al emplear N-Bromo Succinimida y TBAB en cantidades catalíticas; observando la transformación de la materia prima, mediante cromatografía en capa en fina (CCF). Sin embargo, fue imposible llevar a cabo la correcta purificación de las posibles lactonas, dado que posterior a su purificación por cromatografía en columna se descomponen rápidamente.

Por otro lado, dentro de las proyecciones que se tenía establecidas se encontraba la formación de aziridinas. Tomando como base estudios previos de la literatura, para la transformación de acilaziridinas a través de la reordenación de isoxazolininas utilizando la radiación de microondas<sup>62</sup>.

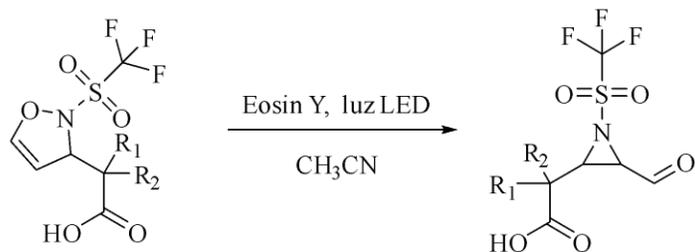


**Esquema 21.** Síntesis de aziridinas a partir de los ácidos sintetizados.

Se observó mediante el seguimiento por CCF, una mezcla compleja de productos imposibles de separar.

Debido a lo anterior se intuyó que la variante que estaba ocasionando la descomposición de los posibles productos, era la alta temperatura alcanzada en la irradiación, por lo que se buscó una alternativa mediante un proceso de química verde, usando Eosin Y, que cambia su estado de oxidación en presencia de blue Led's, que proveen luz visible en un intervalo espectral de 435-445 nm y la cantidad de calor emitida es muy bajo.

<sup>62</sup> Eric Gayon, Olivier Debleds, Marie Nicouleau, Frederic Lamaty, Arie van der Lee, Emmanuel Vrancken, and Jean-Marc Campagne. *Highly Diastereoselective Baldwin Rearrangement of Isoxazolines into cis-Acylaziridines*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2010 75 (17), 6050-6053



**Esquema 22.** Síntesis de aziridinas mediante la radiación de luz led.

Se observó la transformación de la materia prima por CCF, sin embargo al tratar de purificar el producto por cromatografía en columna usando como fase estacionaria sílica gel (60-200nm) se observó que el producto se descompone.

### 3 CONCLUSIONES

#### 3.1 Conclusiones generales.

- Se estandarizaron las condiciones óptimas para la reacción de activación del isoxazol
- Se logró sintetizar una nueva familia de ácidos carboxílicos a través de la reacción de adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a isoxazol y 5-metilisoxazol
- Se realizaron pruebas de actividad citotóxica y antiinflamatoria a los compuestos obtenidos, encontrando que el derivado metilado en posición 5 del isoxazol incrementa su actividad biológica.
- Se intentó la lactonización y la formación de aziridinas, de los ácidos sintetizados, sin embargo se obtuvieron mezclas complejas difíciles de separar e identificar.

### **Sección de metodología experimental.**

#### **Equipos, Reactivos y disolventes.**

Todos los reactivos y disolventes utilizados son productos comerciales marca Sigma Aldrich. Se utilizaron sin ninguna purificación adicional.

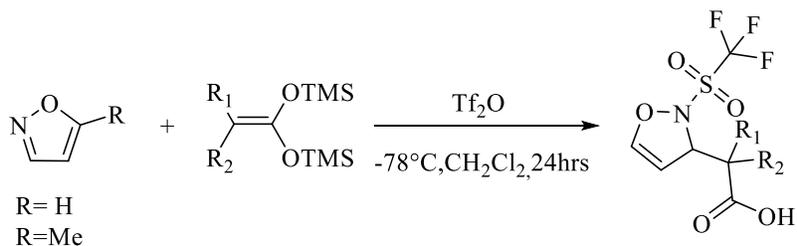
Los compuestos obtenidos en el presente trabajo fueron caracterizados por espectroscopia de IR, utilizando un espectrofotómetro Bruker Tensor 27, empleando la técnica de pastilla de KBr o película, todos los resultados fueron expresados en números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) se realizaron en un equipo Bruker Advance III. Utilizando como disolventes deuterados ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}$ ). Los desplazamientos químicos se reportan en ppm ( $\delta$ ) con TMS como referencia interna.

Para los espectros de masas se utilizó un equipo AccuTOF JMS-T100LC para la técnica de DART.

Los puntos de fusión descritos se obtuvieron mediante un aparato Melt-Temp II y los datos se reportan sin corrección.

## Procedimiento general para la síntesis de ácidos carboxílicos.



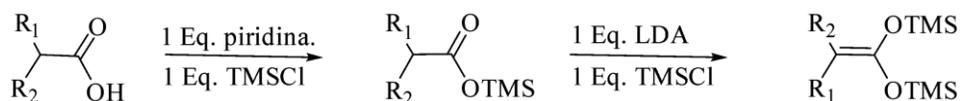
**Esquema 23.** Reacción general para la síntesis de ácidos carboxílicos derivados de isoxazol.

En una vial de vidrio provisto de agitación magnética, se colocaron 0.2 g (2.89 mmol) de isoxazol con 15 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, la disolución formada se enfrió a -78°C, al alcanzar la temperatura se adicionaron 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol).

Después de una hora de activación se adicionó lentamente 0.67 mL de acetal de cetena (1.2 Eq, 3.46 mmol), Dejando al medio de reacción el tiempo de reacción total de 24 hrs. Una vez concluida la reacción se adicionaron 10 mL de agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado en columna cromatográfica de gel de sílice, usando con eluyente una mezcla de n-hexano y acetato de etilo en proporciones variables.

## Síntesis general de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

En el presente trabajo los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena , fueron preparados de acuerdo a la metodología descrita en la literatura por Ainsworth.<sup>34</sup> El método consiste primeramente en la reacción ácido-base del ácido carboxílico de elección, con piridina adicionando después cloruro de trimetilsilano. Una vez sintetizado el éster de trimetilsilicio, se hizo reaccionar con LDA y posteriormente se agregó el cloruro de trimetilsilano, obteniendo los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena por destilación a presión reducida (275mmHg).



**Esquema 24.** Síntesis de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena.

## **Pruebas biológicas**

### **Evaluación de citotoxicidad.**

- **Determinación del porcentaje de inhibición celular**

Para los ensayos preliminares de citotoxicidad se utilizaron diferentes líneas celulares de cáncer humano que pertenecen al panel NCI (National Cancer Institute): células de cáncer de sistema nervioso central U251, adenocarcinoma de próstata PC-3, leucemia mieloblástica K562, adenocarcinoma de colon HCT-15, adenocarcinoma de mama MCF-7, adenocarcinoma de pulmón SKLU-1 y líneas celulares de riñón COS7.

- **Preparación de líneas celulares**

Las células fueron adaptadas al medio de cultivo RPMI-1640 del Roswell Park Memorial Institute adicionando suero fetal bovino al 10% y una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10% y 2 mM de glutamina. Con excepción de la línea K-562, las líneas restantes se adherieron a las botellas de cultivo y para cosecharlas se adiciono 1 mL de tripsina-EDTA al 0.05%. Una vez que las células se desprendieron del sustrato plástico de la botella de cultivo, se les adiciono 5-10 mL del medio de cultivo para inactivar la tripsina que produce la digestión de las proteínas de adherencia. Las células de suspensión se depositaron en tubos cónicos y se centrifugaron por tres minutos para resuspender las células. De la suspensión se tomaron 0.05 mL de inculo y se resuspendieron en 0.045 mL de azul de triptófano.

- **Conteo de células viables**

Se tomó una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  y el conteo de las células se realizó en una cámara Neubauer con ayuda de un microscopio. El número de células por ml de suspensión se calculó con la siguiente ecuación:

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

Dónde:

- C = número de células en 1 ml de suspensión
- RC = promedio de células obtenidas del conteo de la cámara Neubauer

Una vez determinado el número de células por mililitro se depositó el inóculo en un volumen celular de 10  $\mu\text{L}$ /pozo.

- **Evaluación de actividad citotóxica.**

Se utilizaron microplacas de plástico, cada placa se inoculó con dos líneas celulares por triplicado, se pre-incubó por 24 horas a 37 °C bajo atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y 10% de humedad relativa. Una vez que las células se encuentran en fase exponencial de crecimiento se adicionaron soluciones de los compuestos problema en concentración de 50  $\mu\text{L}$  en 100  $\mu\text{L}$  de DMSO y aforando hasta los 200  $\mu\text{L}$ , para finalmente incubar las células durante 48 horas bajo las mismas condiciones.

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

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

Finalmente, la densidad óptica (DO) o absorbancia se determinó en un lector de microplacas, con una longitud de onda de 515 nm. La intensidad de color es directamente proporcional al número de células vivas, y por lo tanto, a mayor coloración, mayor porcentaje de inhibición de crecimiento celular.

La citotoxicidad se calculó conforme a la siguiente ecuación:

$$\%inhibicion\ celular = 100 - \left[ \frac{B}{A \times 100} \right]$$

Dónde:

- A = densidad óptica (DO) de las células sin tratamiento.
- B = DO de las células con los sustratos prueba o de referencia.

## **Evaluación de actividad antiinflamatoria en un modelo de edema inducido por TPA.**

- **Determinación del ensayo de actividad antiinflamatoria.**

La actividad antiinflamatoria de los compuestos sintetizados, se determinó utilizando el modelo murino *in vivo* de edema auricular inducido por TPA. Se utilizaron grupos de 4 animales por compuesto, para tener un control con 3 repeticiones del ensayo. Los animales usados en esta prueba deben contar con las siguientes características:

- Cepa CD1.
- Estar en el rango de 3 a 4 semanas de nacidos.
- Contar con un peso de entre 25 y 30g

- **Preparación de la evaluación de edema.**

La oreja derecha de cada ratón recibió una aplicación tópica de 2.5 µg de TPA. Cada compuesto fue disuelto en etanol, se aplicó en forma tópica (1 mg/oreja) inmediatamente después de la aplicación de TPA. La oreja izquierda, utilizada como control, recibió el vehículo. La indometacina (0.5 mg/oreja) se utilizó como fármaco de referencia. Después de 4 horas los animales se sacrificaron mediante dislocación cervical y se extrajeron de cada oreja discos con un diámetro de 7 mm para

determinar su peso. La diferencia de peso entre las orejas derecha e izquierda se tomó como expresión del edema.

- **Evaluación del % de inhibición de la inflamación.**

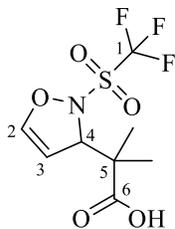
Se calculó el porcentaje de inhibición del edema en los animales tratados con respecto al grupo control.

$$\%inhibicion\ de\ la\ infalmación = \left[ \frac{A \times 100}{B} \right]$$

Dónde:

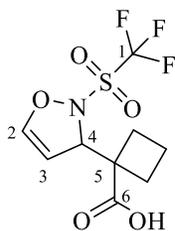
- A = Edema (mg) de los animales tratados.
- B = Control (por cada grupo tratado).

## Resumen espectroscópico de ácidos carboxílicos



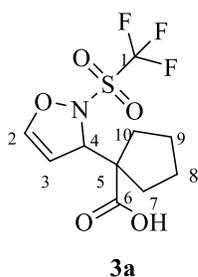
1a

Se preparó a partir de 0.2 g (2.89 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 81% (mmol), p.f 110 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2986 (COO-H), 1711(C=O), 1636(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 10.55(s, 1H, COOH), 6.69 (d, 1H, J=3.9Hz, H2), 5.31-5.5.30 (m, 1H, H3), 5.22 (d, 1H, J=1.5Hz, 4H), 1.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 181.38 (C=O), 144.65 (C2), 119.59 (CF<sub>3</sub>, J=969.9Hz,C1), 100.25 (C3), 70.41 (C4), 46.86 (C5), 23.69(CH<sub>3</sub>), 22.52 (CH<sub>3</sub>).**EM-DART**, (19.8 eV) m/z (%): 307 [M+18]<sup>+</sup>, 290[M+H]<sup>+</sup>, 202 [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. **Masas exactas**; Esperado: 290.03100; Experimental: 290.02883.

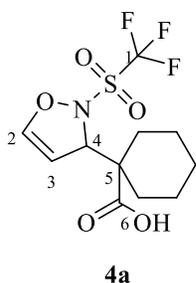


2a

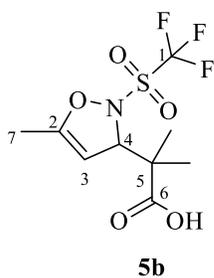
Se preparó a partir de 0.2 g (2.89 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 41% (mmol), p.f 118 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2961 (COO-H), 1711(C=O), 1633(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO): δ (ppm) = 12.92(s, 1H, COOH), 7.42 (d, 1H, J=6, H2), 5.54 (d, 1H, J=6Hz, H3), 5.35 (m, 1H, 4H), 2.24-1.72 (m, 6H, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 174.95 (C=O), 146.77 (C2), 118.83 (CF<sub>3</sub>, J=969.9Hz,C1), 103.70 (C3), 69.66 (C4), 54.13 (C5), 29.90-17.26 (Ciclobutilo).**EM-DART** (19.8 eV) m/z (%): 319 [M+18]<sup>+</sup>, 302[M+H]<sup>+</sup>, 202 [M-C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



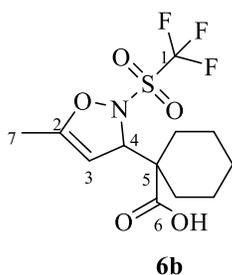
Se preparó a partir de 0.2 g (2.89 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 38% (mmol), p.f 110 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2973 (COO-H), 1705(C=O), 1633(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 12.82(s, 1H, COOH), 7.38 (d, 1H, *J*=3, H2), 5.60-5.51 (m, 1H, H3), 5.46-5.38 (m, 1H, 4H), 1.66-1.53 (m, 8H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>). **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 177.30 (C=O), 146.79 (C2), 119.26 (CF<sub>3</sub>, *J*=969.9Hz, C1), 104.15 (C3), 69.75 (C4), 55.71 (C5), 33.55-23.67 (Ciclopentilo), **.EM-DART** (19.8 eV) m/z (%): 333 [M+18]<sup>+</sup>, 316[M+H]<sup>+</sup>, 202 [M-C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



Se preparó a partir de 0.2 g (2.89 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 10% (mmol), p.f 120 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2953 (COO-H), 1701(C=O), 1634(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 12.77(s, 1H, COOH), 7.37 (d, 1H, *J*=6Hz, H2), 5.54 (d, 1H, *J*=6, H3), 5.10 (s, 1H, 4H), 1.97-0.85 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>), 1.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO): δ (ppm) = 176.97 (C=O), 146.80 (C2), 118.18 (CF<sub>3</sub>, *J*=969.9Hz, C1), 104.09 (C3), 71.10 (C4), 49.52 (C5), 31.27-22.88 (Ciclohexilo). **.EM-DART** (19.8 eV) m/z (%): 333 [M+18]<sup>+</sup>, 316[M+H]<sup>+</sup>, 202 [M-C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



Se preparó a partir de 0.2 g (2.85 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 88% (mmol), p.f 112 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2985 (COO-H), 1707(C=O), 1536(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 12.74(s, 1H, COOH), 5.11 (d, 1H, J=6Hz, H3), 3.30(s, 1H, H4), 5.22 (d, 1H, J=1.5Hz, 4H), 1.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, H7), 1.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.96(s, 3H, CH<sub>3</sub>). **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 180.11 (C=O), 157.53 (C2), 118.82 (CF<sub>3</sub>, J=969.9Hz, C1), 99.20 (C3), 71.40 (C4) 46.15 (C5), 22.51(CH<sub>3</sub>), 22.53(CH<sub>3</sub>), 15.73(CH<sub>3</sub>, H7), . **EM-DART**, (19.8 eV) m/z (%): 321 [M+18]<sup>+</sup>, 304[M+H]<sup>+</sup>, 316 [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



Se preparó a partir de 0.2 g (2.85 mmol) de isoxazol, 0.58 mL de Tf<sub>2</sub>O (1.2 Eq., 3.46 mmol) y 0.67 mL de acetal de cetena (1.2Eq, 3.46 mmol) en 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro. Se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 25% (mmol), p.f 125 °C. **IR** (KBr, pastilla) (cm<sup>-1</sup>): 2940 (COO-H), 1701(C=O), 1490(C=C). **RMN- <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 12.68(s, 1H, COOH), 5.17 (d, 1H, J=3, H3), 5.02 (s, 1H, 4H), 2.02-1.85 (m, 3H, H7), 1.76-1.17 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>). **RMN- <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 176.80 (C=O), 156.15 (C2), 118.36 (CF<sub>3</sub>, J=969.9Hz, C1), 98.73 (C3), 69.78 (C4), 49.82 (C5), Cyclohexilo (31.22-22.75) 15.81 (CH<sub>3</sub>). **EM-DART**, (19.8 eV) m/z (%): 361[M+18]<sup>+</sup>, 344[M+H]<sup>+</sup>, 216 [M-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]

