



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

Diseño, síntesis y evaluación biológica de ferrocenil quinazolininas como agentes tripanocidas de potencial redox variable

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. Andrés de Jesús del Valle Peralta

Tutor: Dr. Francisco Hernández Luis  
Departamento de farmacia, Facultad de Química, UNAM

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., septiembre del 2020



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

<b>Presidente</b>	Dr. Roberto Martínez	Instituto de Química, UNAM
<b>Vocal</b>	Dra. Lilián Yépez Mulia	IMSS-Centro Médico Siglo XXI
<b>Vocal</b>	Dr. José de Jesús García Valdés	Facultad de Química, UNAM
<b>Vocal</b>	Dr. José Guadalupe López Cortés	Instituto de Química, UNAM
<b>Secretario</b>	Dr. Fernando León Cedeño	Facultad de Química, UNAM

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio 121 del Conjunto E, perteneciente al Departamento de Farmacia de la Facultad de Química UNAM; bajo la dirección del Dr. Francisco Hernández Luis. Así como en el Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, en colaboración con la Dra. Emma Cecilia Saavedra Lira y en el laboratorio 113 del Edificio F, perteneciente al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química UNAM; en colaboración con el Dr. José de Jesús García Valdés.

Los resultados previos de este trabajo de investigación reportado, se presentaron en el 54° Congreso Mexicano de Química, celebrado del 30 de septiembre al 3 de octubre del 2019, en el CCU de la BUAP Pue., Puebla, México.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme permitido formar parte de su matrícula estudiantil, brindándome las herramientas necesarias para mi formación como profesionista en compromiso con la sociedad.

A la Facultad de Química que me ha albergado por aproximadamente 8 años, en los cuales he tenido la oportunidad de aprender, conocer nuevas personas, entablar amistades y sobre todo le estoy agradecido por haber cambiado mi vida de manera drástica y positiva.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada a través de los recursos de los contribuyentes, para la realización de estudios de posgrado nivel maestría con número de registro 887203.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas que me ha brindado la oportunidad de llevar a cabo mis estudios de maestría en el área de Química Farmacéutica.

A la Dirección General del Personal Académico de la UNAM por el apoyo recibido para la compra de reactivos y materiales usados en el este proyecto dentro del proyecto UNAM-DGAPA-PAPIIT IN223120.

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química UNAM, por el servicio de análisis otorgado durante el proceso de investigación, particularmente al personal técnico en las áreas de Resonancia Magnética Nuclear (M. en C. Rosa Isela del Villar Morales y la M. en C. Nayeli López Balbiaux), Espectrometría de masas (Q. Georgina Duarte Lisci) y Espectroscopia de infrarrojo (Q. Marisela Gutiérrez Franco).

A la Dra. Emma Cecilia Saavedra Lira y su asistente técnico la Q.F.B. Citlali Vázquez del Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez por su apoyo en la evaluación de los compuestos diseñados y sintetizados en nuestro grupo de investigación como agentes tripanocidas.

Al Dr. José de Jesús García Valdés y su estudiante de licenciatura David García Bassoco por su apoyo en colaboración para el estudio electroquímico de las ferrocenil quinazolinas sintetizadas.

Al Dr. Francisco Hernández Luis por su apoyo incondicional y aceptación al recibirme en su grupo de investigación.

A mis compañeros y amigos del grupo de investigación Bárbara Lerate, Cecilia Arenas, Diego Figueroa, Frida Herrera, Roberto Garduño y Ulises Martínez, con quienes tuve la oportunidad de convivir y darme a conocer, tengan por seguro que tendrán un espacio en mi pensamiento y en mi corazón.

## ÍNDICE GENERAL

1	ABREVIATURAS.....	1
2	RESUMEN .....	6
3	ANTECEDENTES .....	7
3.1	Tripanosomiasis americana .....	7
3.1.1	Epidemiología .....	7
3.1.1.1	Estadística en México.....	8
3.1.2	Distribución .....	9
3.1.3	Transmisión .....	10
3.1.3.1	Vectorial .....	11
3.1.3.2	Transfusional.....	11
3.1.3.3	Vertical, materno fetal (connatal).....	11
3.1.3.4	Oral.....	11
3.1.4	Signos y síntomas.....	12
3.1.4.1	Fase aguda .....	12
3.1.4.2	Fase crónica.....	13
3.1.5	Agente etiológico <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	13
3.1.5.1	Ciclo de vida .....	15
3.1.6	Tratamiento quimioterapéutico .....	16
3.1.7	Diseño de fármacos tripanocidas antifolato .....	16
3.1.7.1	Dihidrofolato reductasa (DHFR) .....	17
3.1.7.2	Pteridín reductasa (PTR).....	19
3.1.7.3	Prototipos farmacéuticos antifolato organometálicos .....	20
3.1.7.3.1	Propiedades electroquímicas.....	21
4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	23
5	HIPÓTESIS .....	24
6	OBJETIVOS .....	25
7	METODOLOGÍA.....	26
7.1	Diseño de ferrocenil quinazolinas análogas a <b>H2</b> .....	26
7.1.1	Acoplamiento molecular.....	27
7.1.1.1	Optimización geométrica .....	27
7.1.1.2	Preparación de ligandos.....	28
7.1.1.3	Preparación de las proteínas.....	28
7.1.1.4	Cálculo de acoplamiento .....	28
7.2	Estimación teórica del potencial estándar de reducción .....	29
7.3	Síntesis química .....	29
7.3.1	Análisis retrosintético para la obtención de <b>H2</b> .....	30
7.3.2	Análisis retrosintético para la obtención de <b>OH2</b> .....	31
7.3.3	Análisis retrosintético para la obtención de <b>EH2</b> .....	32
7.3.4	Análisis retrosintético para la obtención de <b>NCOH2</b> .....	32
7.3.5	Análisis retrosintético para la obtención de <b>2H</b> .....	33

7.3.5.1	Análisis retrosintético para la obtención de <b>CDAQ</b> .....	33
7.3.5.2	Análisis retrosintético para la obtención de <b>I</b> .....	34
7.3.6	Esquema sintético.....	35
7.4	Determinaciones voltamperométricas.....	36
7.5	Evaluación biológica.....	37
7.5.1	Cultivo de células.....	37
7.5.2	Exposición a compuestos.....	37
8	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
8.1	Estudios teóricos.....	39
8.1.1	Optimización de ligandos.....	39
8.1.2	Acoplamiento molecular.....	43
8.1.3	Predicciones del potencial redox de derivados de ferroceno.....	50
8.2	Síntesis química y caracterización instrumental.....	52
8.2.1	Obtención de derivados heterocíclicos.....	52
8.2.1.1	Síntesis de <b>TAQ</b> y <b>DAAQ</b> .....	52
8.2.1.1.1	Reacción (1) de ciclación y (2) de acetilación.....	53
8.2.1.1.2	Reacciones (3-5) de reducción.....	53
8.2.1.2	Síntesis de <b>CDAQ</b> .....	54
8.2.1.2.1	Análisis instrumental.....	55
8.2.2	Obtención de ferrocenil quinazolinas.....	57
8.2.2.1	Síntesis de <b>H2</b> .....	57
8.2.2.1.1	Síntesis de <b>E</b> .....	58
8.2.2.1.1.1	Análisis instrumental.....	58
8.2.2.2	Síntesis de <b>OH2</b> .....	60
8.2.2.2.1	Síntesis de ácido <b>F</b> .....	61
8.2.2.2.2	Síntesis de <b>M</b> .....	62
8.2.2.2.2.1	Análisis instrumental.....	62
8.2.2.3	Síntesis de <b>EH2</b> .....	64
8.2.2.3.1	Síntesis de <b>L</b> .....	65
8.2.2.3.1.1	Análisis instrumental.....	65
8.2.2.3.1.2	Propuesta de mecanismo de acetilación.....	67
8.2.2.4	Síntesis de <b>NCOH2</b> .....	69
8.2.2.4.1	Síntesis de <b>G</b> .....	70
8.2.2.4.1.1	Análisis instrumental.....	71
8.2.2.5	Optimización de <b>NCOH2</b> .....	72
8.2.2.5.1	Optimización del ligando <b>COH2</b> .....	73
8.2.2.5.2	Acoplamiento molecular de <b>COH2</b> .....	74
8.2.2.6	Síntesis de <b>COH2</b> .....	75
8.2.2.6.1.1	Análisis instrumental.....	76
8.2.2.7	Síntesis de <b>2H</b> .....	78
8.2.2.7.1	Síntesis de <b>I</b> .....	79

8.2.2.7.1.1	Análisis instrumental .....	80
8.3	Determinaciones voltamperométricas.....	83
8.3.1	VC de derivados monofuncionalizados de ferroceno.....	83
8.3.2	VC y VOC de ferrocenil quinazolinas.....	85
8.4	Evaluación biológica.....	88
9	CONCLUSIONES.....	92
10	PERSPECTIVAS.....	93
11	REFERENCIAS.....	94
12	ANEXOS .....	100
12.1	Procedimiento experimental.....	100
12.1.1	Síntesis química.....	100
12.1.1.1	Síntesis de <b>B</b> .....	102
12.1.1.2	Síntesis de <b>TAQ</b> .....	103
12.1.1.2.1	Hidrogenación con H <sub>2</sub> -Pd/C.....	103
12.1.1.2.2	Hidrogenación con NH <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H-Pd/C .....	103
12.1.1.3	Síntesis de <b>C</b> .....	104
12.1.1.4	Síntesis de <b>CDAAQ</b> .....	105
12.1.1.5	Síntesis de <b>CDAQ</b> .....	106
12.1.1.5.1	Protección del grupo carbonilo, reacción 1 .....	106
12.1.1.5.2	Ciclación, reacción 2.....	106
12.1.1.6	Síntesis de <b>H2</b> .....	107
12.1.1.6.1	Condensación, reacción 1.....	107
12.1.1.6.2	Reducción, reacción 2 .....	108
12.1.1.6.3	Síntesis de <b>E</b> .....	109
12.1.1.7	Síntesis de <b>OH2</b> .....	110
12.1.1.7.1	Síntesis de ácido <b>F</b> .....	111
12.1.1.7.2	Síntesis de <b>M</b> .....	112
12.1.1.8	Síntesis de <b>NCOH2</b> .....	113
12.1.1.8.1	Intercambio de halógeno (reacción de Finkelstein), reacción 1 .....	113
12.1.1.8.2	Sustitución nucleofílica S <sub>N</sub> 2, reacción 2.....	113
12.1.1.8.3	Síntesis de <b>G</b> .....	115
12.1.1.9	Síntesis de <b>COH2</b> .....	116
12.1.1.9.1	Condensación aldólica, reacción 1 .....	116
12.1.1.9.2	Reducción, reacción 2 .....	117
12.1.1.10	Síntesis de <b>2H</b> .....	118
12.1.1.10.1	Condensación, reacción 1.....	118
12.1.1.10.2	Reducción, reacción 2. ....	118
12.1.1.10.3	Síntesis de <b>I</b> .....	119
12.1.1.10.3.1	Síntesis de <b>J</b> .....	120
12.1.1.10.3.1.1	Acoplamiento tipo Ullmann, catálisis heterogénea. .....	120



12.1.1.10.3.1.2	Acoplamiento en fase sólida.....	121
12.1.1.10.3.2	Síntesis de <b>K</b> .....	122
12.1.1.11	Síntesis de <b>L</b> .....	123
12.2	Espectroscopia.....	124
12.2.1	Síntesis de <b>CDAQ</b> .....	124
12.2.1.1	2,4-Diaminoquinazolina-6-carbaldehído ( <b>CDAQ</b> ).....	124
12.2.2	Síntesis de ferrocenil quinazolinas y derivados .....	126
12.2.2.1	<i>N</i> <sup>6</sup> -(ferrocenilmetil)quinazolin-2,4,6-triamina ( <b>H2</b> ).....	126
12.2.2.2	<i>N</i> -(2,4-diaminoquinazolin-6-il)ferrocenamida ( <b>OH2</b> ).....	127
12.2.2.2.1	Ácido 1-ferrocencarboxílico ( <b>F</b> ).....	129
12.2.2.2.2	1-(Aminocarbonil)ferroceno ( <b>M</b> ) .....	129
12.2.2.3	3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilpropan-1-ona ( <b>COH2</b> ) .....	130
12.2.2.4	3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilprop-2-en -1-ona ( <b>ENCOH2</b> ).....	132
12.2.2.5	2((2,4-Diaminoquinazolin-6-il)amino-1-ferroceniletan -1-ona ( <b>NCOH2</b> ) .....	133
12.2.2.5.1	1-(Cloroacetil)ferroceno ( <b>G</b> ) .....	133
12.2.2.6	6-((Ferrocenilamino)metil)quinazolin-2,4-diamina ( <b>2H</b> ) ..	134
12.2.2.6.1	1-Iodoferroceno ( <b>K</b> ).....	137
12.2.2.6.2	2-Ferrocenilisoindol-1,3-diona ( <b>J</b> ) .....	139
12.2.2.6.3	1-Aminoferroceno ( <b>I</b> ) .....	141
12.2.2.7	Síntesis de <b>EH2</b> .....	142
12.2.2.7.1	1-Propionilferroceno ( <b>L</b> ) .....	145
12.2.3	Espectroscopia complementaria .....	146
12.3	Diagramas de especiación .....	147
12.3.1	Especiación ácido-base de la <i>N</i> -((2,4-diaminoquinazolin-6- il)metil)benzamida.....	147
12.3.2	Especiación ácido-base de la <i>N</i> -((2,4-diaminoquinazolin-6- il)benzamida. ....	148
12.3.3	Especiación ácido-base de la <i>N</i> <sup>6</sup> -bencilquinazolin-2,4,6-triamina .....	149
12.3.4	Especiación ácido-base de la <i>N</i> <sup>6</sup> -bencilquinazolin-2,4,6-triamina .....	150
12.3.5	Especiación ácido-base de la <i>N</i> <sup>6</sup> -bencilquinazolin-2,4,6-triamina .....	151
12.3.6	Especiación ácido-base de la <i>N</i> <sup>6</sup> -bencilquinazolin-2,4,6-triamina .....	152

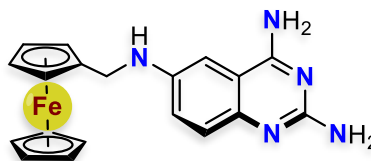
## ÍNDICE DE ESQUEMAS, FIGURAS, DIAGRAMAS Y ESPECTROS

Esquema 3.1 Ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas .....	10
Esquema 3.2 Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	15
Esquema 3.3 Ruta metabólica de folatos e inhibidores clásicos .....	19
Esquema 3.4 Planteamiento de prototipos antifolato .....	20
Esquema 4.1 Planteamiento de optimización de <b>H2</b> .....	23
Esquema 7.1 Propuesta de optimización de <b>H2</b> .....	26
Esquema 7.2 Retrosíntesis de <b>H2</b> .....	30
Esquema 7.3 Retrosíntesis de <b>OH2</b> .....	31
Esquema 7.4 Retrosíntesis de <b>EH2</b> .....	32
Esquema 7.5 Retrosíntesis de <b>NCOH2</b> .....	32
Esquema 7.6 Retrosíntesis de <b>2H</b> .....	33
Esquema 7.7 Retrosíntesis de <b>CDAQ</b> .....	33
Esquema 7.8 Retrosíntesis de <b>I</b> .....	34
Esquema 8.1 Tendencia energética esperada de orbitales HOMO-LUMO .....	43
Esquema 8.2 Reacción ácido-base .....	43
Esquema 8.3 Ciclo de Born-Haber de predicción redox .....	50
Esquema 8.4 Ruta sintética de <b>TAQ</b> y <b>DAAQ</b> .....	52
Esquema 8.5 Proceso de síntesis de <b>CDAQ</b> .....	54
Esquema 8.6 Patrón de fragmentación de <b>CDAQ</b> .....	55
Esquema 8.7 Proceso de síntesis de <b>H2</b> .....	57
Esquema 8.8 Formilación de <b>Fc</b> .....	58
Esquema 8.9 Fragmentos de descomposición identificados para <b>H2</b> .....	59
Esquema 8.10 Reacción de amidación para la síntesis de <b>OH2</b> .....	60
Esquema 8.11 Proceso de síntesis de <b>F</b> .....	61
Esquema 8.12 Escala de potencial redox .....	61
Esquema 8.13 Reacción de amidación de <b>F</b> .....	62
Esquema 8.14 Proceso de síntesis de <b>EH2</b> .....	64
Esquema 8.15 Propionilación de <b>Fc</b> .....	65
Esquema 8.16 Propuesta de mecanismo de reacción para la acetilación de <b>TAQ</b> .....	68
Esquema 8.17 Proceso de síntesis de <b>NCOH2</b> .....	69
Esquema 8.18 Reacción de acilación de <b>Fc</b> .....	70
Esquema 8.19 Evidencia experimental de transformaciones oxidativas en derivados de la <b>TAQ</b> .....	72
Esquema 8.20 Proceso de síntesis de <b>COH2</b> .....	75
Esquema 8.21 Proceso de síntesis de <b>2H</b> .....	78
Esquema 8.22 Proceso de síntesis de <b>I</b> .....	79
Esquema 12.1 Reacción de ciclación para la obtención de <b>B</b> .....	102
Esquema 12.2 Reacción de reducción de <b>B</b> .....	103
Esquema 12.3 Reacción de acetilación de <b>B</b> .....	104
Esquema 12.4 Reacción de reducción <b>C</b> .....	105
Esquema 12.5 Proceso sintético de <b>CDAQ</b> .....	106
Esquema 12.6 Proceso sintético de <b>H2</b> .....	107
Esquema 12.7 Proceso sintético de <b>E</b> .....	109
Esquema 12.8 Reacción de amidación para la síntesis de <b>OH2</b> .....	110
Esquema 12.9 Proceso sintético de <b>F</b> .....	111

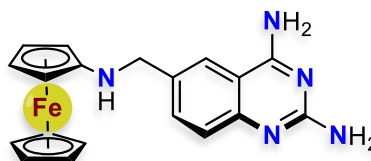
Esquema 12.10 Reacción de amidación de <b>F</b> .....	112
Esquema 12.11 Proceso sintético de <b>NCOH2</b> .....	113
Esquema 12.12 Reacción de acilación de <b>Fc</b> .....	115
Esquema 12.13 Proceso sintético de <b>COH2</b> .....	116
Esquema 12.14 Proceso sintético de <b>2H</b> .....	118
Esquema 12.15 Reacción de hidrazinólisis de <b>J</b> .....	119
Esquema 12.16 Reacción de acoplamiento para la síntesis de <b>J</b> .....	120
Esquema 12.17 Proceso sintético de <b>K</b> .....	122
Esquema 12.18 Propionilación de <b>Fc</b> .....	123
Figura 2.1 Molécula hit. ....	6
Figura 3.1 Distribución global de la enfermedad de Chagas.....	9
Figura 3.2 Clasificación taxonómica de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ....	13
Figura 3.3 Fármacos tripanocidas. ....	16
Figura 3.4 Comparación de la enzima DHFR de humano y <i>T. cruzi</i> (subunidad dihidrofolato reductasa de la <i>TcDHFR-TS</i> ). ....	18
Figura 3.5 Estudio voltamperométrico de <b>H2</b> y <b>TAQ</b> . ....	21
Figura 3.6 Variaciones del potencial redox. ....	22
Figura 5.1 Planteamiento de optimización estructural. ....	24
Figura 7.1 Esquema sintético .....	35
Figura 8.1 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de <b>2H</b> .....	39
Figura 8.2 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de <b>H2</b> .....	39
Figura 8.3 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de ( <b>R</b> )- <b>EH2</b> . ....	40
Figura 8.4 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de ( <b>S</b> )- <b>EH2</b> . ....	40
Figura 8.5 Estructura optimizada, orbitales a la frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de <b>OH2</b> .....	41
Figura 8.6 Estructura optimizada, orbitales a la frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de <b>NCOH2</b> .....	41
Figura 8.7 Modo de unión a <i>TcDHFR-TS</i> . ....	46
Figura 8.8 Modo de unión a <i>TcPTR2</i> . ....	48
Figura 8.9 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs $E^\circ$ de derivados monofuncionalizados de ferroceno. ....	51
Figura 8.10 Patrón de respuesta observado en RMN- $^{13}\text{C}$ de quinazolinas trisustituídas en posiciones 2, 4 y 6.....	56
Figura 8.11 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de <b>COH2</b> . ....	73
Figura 8.12 Fragmentos característicos del análisis por EM de <b>ENCOH2</b> . ....	77
Figura 8.13 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs $E^\circ$ de derivados monofuncionalizados de ferroceno. ....	84
Figura 8.14 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs $E^\circ$ de ferrocenil quinazolinas. ....	87
Figura 8.15 Modo de unión a <i>HsDHFR</i> . ....	90
Gráfico 3.1 Perfil epidemiológico de la enfermedad de Chagas en México .....	8

Espectro 12.1 RMN- <sup>1</sup> H de <b>CDAQ</b> .	124
Espectro 12.2 RMN- <sup>13</sup> C de <b>CDAQ</b> .	124
Espectro 12.3 EM de <b>CDAQ</b> .	125
Espectro 12.4 IR de <b>CDAQ</b> .	125
Espectro 12.5 EM de <b>H2</b> .	126
Espectro 12.6 IR de <b>H2</b> .	126
Espectro 12.7 RMN- <sup>1</sup> H de <b>OH2</b> .	127
Espectro 12.8 RMN- <sup>13</sup> C de <b>OH2</b> .	127
Espectro 12.9 EM de <b>OH2</b> .	128
Espectro 12.10 IR de <b>OH2</b> .	128
Espectro 12.11 IR de <b>F</b> .	129
Espectro 12.12 EM de <b>M</b> .	130
Espectro 12.13 RMN- <sup>1</sup> H de <b>COH2</b> .	130
Espectro 12.14 RMN- <sup>13</sup> C de <b>COH2</b> .	131
Espectro 12.15 EM de <b>COH2</b> .	131
Espectro 12.16 IR de <b>COH2</b> .	132
Espectro 12.17 EM de <b>ENCOH2</b> .	132
Espectro 12.18 EM de <b>G</b> .	133
Espectro 12.19 IR de <b>G</b> .	134
Espectro 12.20 RMN- <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de <b>2H</b> .	134
Espectro 12.21 RMN- <sup>1</sup> H (MeOD) de <b>2H</b> .	135
Espectro 12.22 RMN- <sup>13</sup> C (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) de <b>2H</b> .	135
Espectro 12.23 IR de <b>2H</b> .	136
Espectro 12.24 IR de <b>2H</b> .	136
Espectro 12.25 EM de <b>2H</b> .	137
Espectro 12.26 EM de <b>K</b> .	138
Espectro 12.27 EM de <b>Fc</b> .	138
Espectro 12.28 IR de <b>K</b> .	139
Espectro 12.29 EM de <b>J</b> .	140
Espectro 12.30 IR de <b>J</b> .	140
Espectro 12.31 EM de <b>I</b> .	141
Espectro 12.32 IR de <b>I</b> .	142
Espectro 12.33 RMN- <sup>1</sup> H de la mezcla de subproductos <b>4,6-DAAQ + ADAQ</b> .	142
Espectro 12.34 RMN- <sup>13</sup> C de la mezcla de subproductos <b>4,6-DAAQ + ADAQ</b> .	143
Espectro 12.35 NOESY de la mezcla de subproductos <b>4,6-DAAQ + ADAQ</b> .	143
Espectro 12.36 EM de la mezcla de subproductos recién aislada <b>4,6-DAAQ + ADAQ</b> .	144
Espectro 12.37 EM de la mezcla de productos <b>4,6-DAAQ + ADAQ</b> tras almacenamiento.	144
Espectro 12.38 EM de <b>L</b> .	145
Espectro 12.39 IR de <b>L</b> .	146
Espectro 12.40 IR de <b>Fc</b> .	146

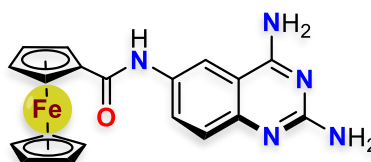
**H2:** *N*<sup>6</sup>-(Ferrocenilmetil)quinazolin-2,4,6-triamina



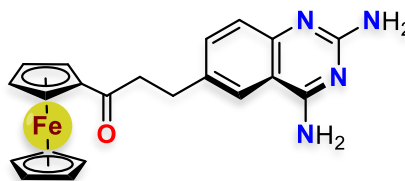
**2H:** 6-((Ferrocenilamino)metil)quinazolin-2,4-diamina



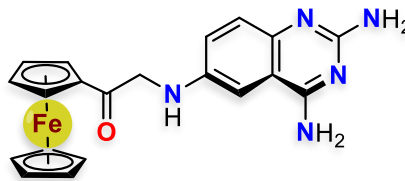
**OH2:** *N*-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)ferrocenamida



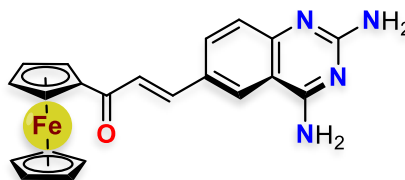
**COH2:** 3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilpropan-1-ona



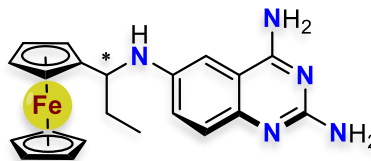
**NCOH2:** 2((2,4-Diaminoquinazolin-6-il)amino)-1-ferroceniletan-1-ona.



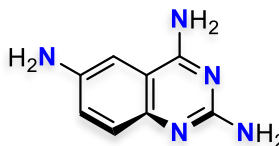
**ENCOH2:** (*E*)-3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilprop-2-en-1-ona



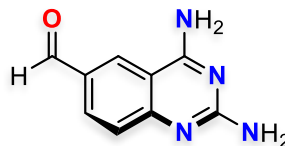
**EH2:** (±)-*N*<sup>6</sup>-(1-Ferrocenilpropil)quinazolin-2,4,6-triamina



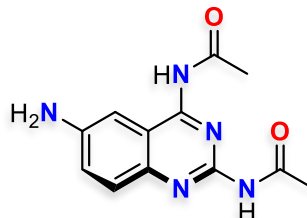
**TAQ:** Quinazolin-2,4,6-triamina



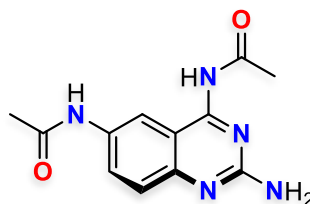
**CDAQ:** 2,4-Diaminoquinazolina-6-carbaldehído



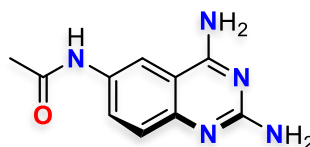
**DAAQ:** *N,N'*-(6-Aminoquinazolín-2,4-diil)diacetamida



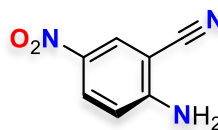
**4,6-DAAQ:** *N,N'*-(2-Aminoquinazolín-4,6-diil)diacetamida



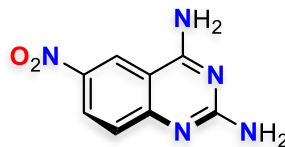
**ADAQ:** *N*-(2,4-Diaminoquinazolín-6-il)acetamida



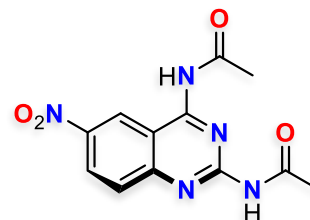
**A:** 2-Amino-5-nitrobenzonitrilo



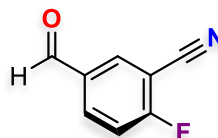
**B:** 6-Nitroquinazolín-2,4-diamina



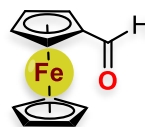
**C:** *N,N'*-(6-Nitroquinazolín-2,4-diil)diacetamida



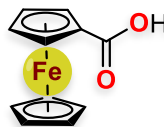
**D:** 2-Fluoro-5-formilbenzonitrilo



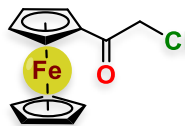
**E:** 1-Formilferroceno



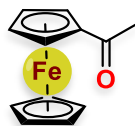
**F:** Ácido 1-ferrocencarboxílico



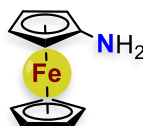
**G:** 1-(Cloroacetil)ferroceno



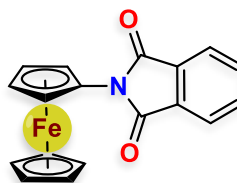
**H:** 1-Acetilferroceno



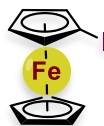
**I:** 1-Aminoferroceno



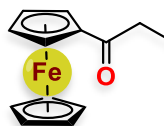
**J:** 2-Ferrocenilisoindol-1,3-diona



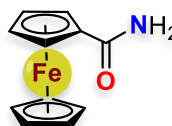
**K:** 1-Iodoferroceno



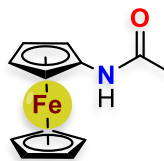
**L:** 1-Propionilferroceno



**M:** 1-(Aminocarbonil)ferroceno



**N:** 1-(Acetilamino)ferroceno



<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>APCI</b>	Ionización química a presión atmosférica
<b>Asc</b>	Ácido ascórbico
<b>BZN</b>	Benznidazol
<b>Cat</b>	Catalizador
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>cm<sup>-1</sup></b>	Recíproco de centímetros (número de onda)
<b>Cp</b>	Ciclopentadienilo
<b>DAQ</b>	Quinazolin-2,4-diamina
<b>DFT</b>	Teoría del funcional de la densidad
<b>DHA</b>	Ácido dehidroascórbico
<b>DHFR</b>	Dihidrofolato reductasa
<b>DMA</b>	Dimetilacetamida
<b>DMAP</b>	4-Dimetilaminopiridina
<b>DMF</b>	Dimetilformamida
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DMSO-<i>d</i><sub>6</sub></b>	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
<b>dTMP</b>	Desoxitimidina monofosfato
<b>dUMP</b>	Desoxiuridina monofosfato
<b>E</b>	Energía
<b><i>E</i></b>	Potencial
<b><i>E</i><sub>1/2</sub></b>	Potencial de media onda
<b>ECR</b>	Electrodo de cuasireferencia
<b>EM</b>	Espectrometría de masas
<b>ENH</b>	Electrodo normal de hidrógeno
<b>ER</b>	Electrodo de referencia
<b>ET</b>	Electrodo de trabajo
<b>Fc</b>	Ferroceno
<b>Fc<sup>+</sup></b>	Ferricinio
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
<b>GEA</b>	Grupo electroattractor
<b>GED</b>	Grupo electrodonador
<b>H<sub>2</sub>B</b>	Dihidrobiopterina
<b>H<sub>2</sub>F</b>	Dihidrofolato
<b>H<sub>4</sub>B</b>	Tetrahidrobiopterina
<b>H<sub>4</sub>F</b>	Tetrahidrofolato
<b>HBTU</b>	Hexafluorofosfato de benzotriazol tetrametil uronio
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HFF</b>	Fibroblastos de prepucio humano
<b>HOMO</b>	Orbital molecular de más alta energía
<b>HOMO{-}</b>	Segundo orbital molecular de más alta energía



<b>I</b>	Intensidad de corriente
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentración inhibitoria 50
<b>IE</b>	Impacto electrónico
<b>LUMO</b>	Orbital molecular de más baja energía
<b>LUMO{+}</b>	Segundo orbital molecular de más baja energía
<b>m/z</b>	Relación masa carga
<b>MCPBA</b>	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
<b>MeOD</b>	Metanol deuterado
<b>NADP<sup>+</sup></b>	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<b>NFX</b>	Nifurtimox
<b>NOESY</b>	Espectroscopia de mejoramiento nuclear de Overhauser
<b>O-4,6-DAAQ</b>	<i>N,N'</i> -(2-Aminoquinazolin-4,6- diil)diacetamida oxidada
<b>O-ADAQ</b>	<i>N</i> -(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)acetamida oxidada
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>Ox</b>	Oxidante
<b>p. d.</b>	Punto de descomposición
<b>p. f.</b>	Punto de fusión
<b>PDB</b>	Protein data bank
<b>PTR</b>	Pteridín reductasa
<b>PTSA</b>	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
<b>R</b>	Rendimiento
<b>Red</b>	Reductor
<b>R<sub>f</sub></b>	Relación de frentes
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear
<b>ROS</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>SHMT</b>	Serín hidroximetiltransferasa
<b>S<sub>N</sub>Ac</b>	Sustitución nucleofílica acílica
<b>T</b>	Temperatura
<b>t</b>	Tiempo
<b>t. a.</b>	Temperatura ambiente
<b>TcDHFR-TS</b>	Dihidrofolato reductasa-timidilato sintasa de <i>Trypanosoma cruzi</i>
<b>TcPTR</b>	Pteridinreductasa de <i>Trypanosoma cruzi</i>
<b>TEA</b>	Trietilamina
<b>TMOF</b>	Trimetil ortoformiato
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>TS</b>	Timidilato sintasa
<b>VC</b>	Voltamperometría cíclica
<b>VOC</b>	Voltamperometría de onda cuadrada
<b>δ</b>	Desplazamiento químico

El presente trabajo reportado, consistió en el diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevas moléculas prototipo como antiparasitarios con particular interés en actividad tripanocida. El diseño farmacológico de las moléculas propuestas está basado en la optimización por homología de un *hit* desarrollado en el grupo de investigación para la inhibición multidiana de las enzimas, dihidrofolato reductasa-timidilato sintasa (DHFR-TS) y pterindín reductasa (PTR) de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania mexicana*; las cuales son dianas farmacológicas validadas para el diseño racional de posibles fármacos antifolato. El *hit* N<sup>6</sup>-(ferrocenilmetil)quinazolin-2,4,6-triamina (**H2**) destaca por su particular composición organometálica, al integrar un núcleo base de quinazolina; en cuya subestructura yace la unidad farmacofórica, y una subunidad ferrocénica, que se mantiene unida a través de un metileno como conector puente (figura 2.1).

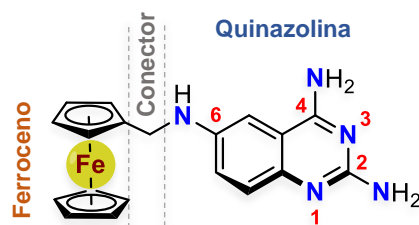


Figura 2.1 Molécula hit.

La optimización se centró en modificar la actividad redox conferida mediante el sistema ferricinio/ferroceno (Fc<sup>+</sup>/Fc) para generar un conjunto de derivados con capacidad reductora variable, dadas las características estructurales del *hit*, que incorpora ferroceno como propuesta alternativa a las moléculas antifolato puramente orgánicas, vía un reemplazo isostérico de anillo bencénico. Así pues, se estableció una ventana de electroactividad en la que, dependiendo de la naturaleza reductora del nuevo derivado, se pudo diferenciar una tendencia en la actividad tripanocida y citotoxicidad.

### 3.1 Tripanosomiasis americana

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, es una zoonosis compleja, cuyo agente etiológico es el protozoario *Trypanosoma cruzi*. Este microorganismo flagelado se trasmite al hombre principalmente de manera vectorial, a través de los insectos hematófagos *triatominos*, conocidos comúnmente en norte y centroamérica como chinches besuconas o picudas, y en el cono sur como vinchucas.<sup>1</sup> Dicha enfermedad fue descrita íntegramente por el médico brasileño Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas en 1909.<sup>2</sup> La complejidad de esta enfermedad se debe a su esquema epidemiológico, puesto que existen una variabilidad de vectores, genotipos parasitarios, diversidad de reservorios; así como ciclos y formas de transmisión.<sup>3</sup>

Actualmente está considerada en la Clasificación Estadística Internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud en su décima revisión (CIE-10) en el capítulo apartado de las enfermedades debidas a protozoarios (B57, B57.0–B57.5);<sup>4</sup> además, es considerada dentro del grupo de enfermedades desatendidas según la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>5</sup>

#### 3.1.1 Epidemiología

Con base en el último informe de 2017 por parte de la OMS para la Integración de las enfermedades tropicales desatendidas dentro de la salud global y desarrollo,<sup>6</sup> se estima que existen alrededor de 8 millones de personas infectadas, principalmente en 21 países de América Latina (Argentina, Belice, Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Guyana, Guyana Francesa, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Uruguay y Venezuela), donde se ha convertido en un problema de salud pública, causando la incapacidad de las personas infectadas y la muerte de más de 10 mil individuos al año, alrededor del mundo. El alto número de personas no diagnosticadas ni tratadas que mantienen el proceso infeccioso latente a través de la transmisión vectorial activa pone en riesgo a un estimado de 75 millones de personas.

Los factores de riesgo epidemiológico están asociados con la pobreza y las malas condiciones de vivienda, ya que la presencia de esta enfermedad comprende principalmente las zonas rurales, en donde el ciclo biológico de *T. cruzi* es propicio, al estar en contacto directo el ser humano, los insectos transmisores y un gran número de reservorios.

**3.1.1.1 Estadística en México**

Para el año 2010, la OMS estimaba que en México existían 876 458 personas infectadas con *T. cruzi*, con 6 135 nuevos casos al año, una tasa de prevalencia del 0.779 y un total de 23 474 780 personas en riesgo de contraer la infección.<sup>6</sup>

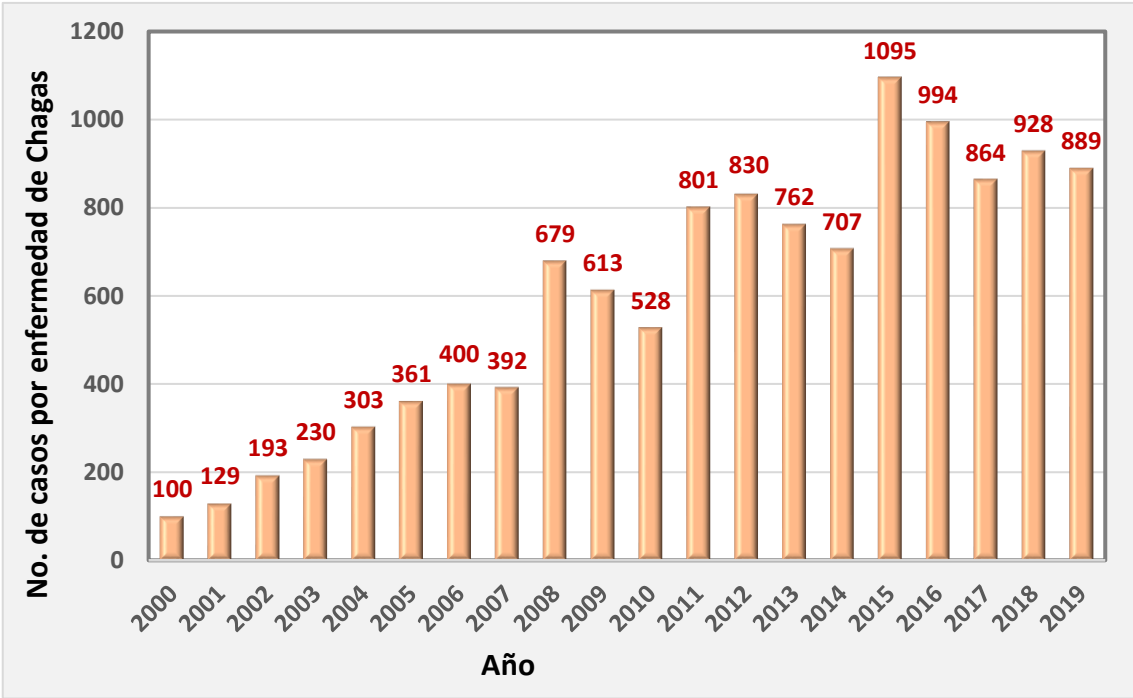


Gráfico 3.1 Perfil epidemiológico de la enfermedad de Chagas en México.

Fuente: Dirección General de Epidemiología, SSA. Anuarios estadísticos 2000-2019.

Ahora bien, en los registros nacionales a partir del año 2000 se observa un incremento en la notificación de casos (gráfico 3.1). En el periodo que va del año 2000 a 2019 se registraron 11 798 casos por enfermedad de Chagas (agudos y crónicos); mientras que en 2019 el reporte del cierre informa de 104 casos agudos

y 785 casos crónicos que fueron notificados a través del Boletín Epidemiológico de la Dirección General de Epidemiología.<sup>7</sup> De manera general, el grupo etario y género más afectado comprende a los varones de entre 25 a 44 años. Los estados con mayor número de casos reportados fueron Veracruz (17.8 %), Yucatán (10.3 %), Oaxaca (10.5 %), Morelos (9.2 %), Chiapas (8.1 %), Jalisco (8.1 %) y Estado de México (5.2 %).

### 3.1.2 Distribución

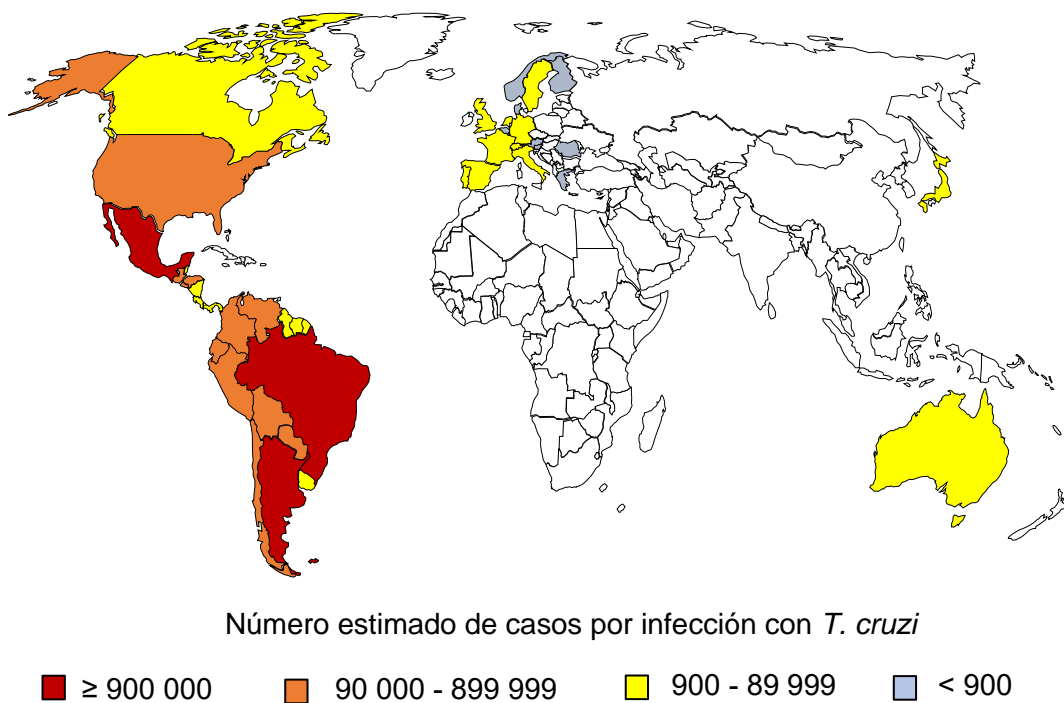


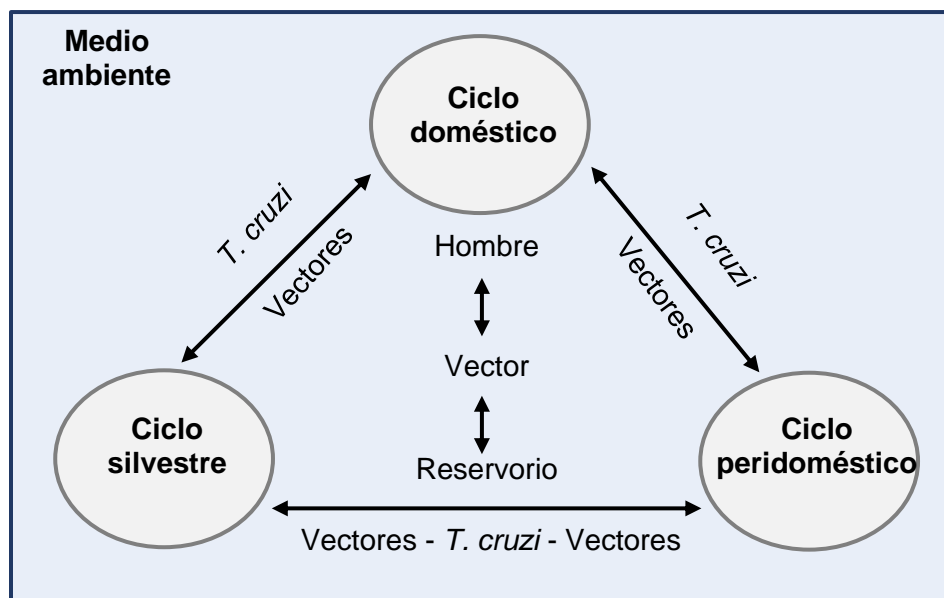
Figura 3.1 Distribución global de la enfermedad de Chagas.<sup>6</sup>

La transmisión endémica de la tripanosomiasis en humanos y hospederos silvestres está limitada específicamente en el continente americano y guarda una relación directa con la distribución del principal agente de transmisión vectorial, los insectos triatominos (*Hemiptera Reduviidae*), distribución que comprende desde la latitud 42°N hasta los 46°S; esto es, desde la mitad de los Estados Unidos de Norte América hasta la Patagonia Argentina.<sup>8</sup> Sin embargo, cada vez más por efecto de la movilidad poblacional y migración, la enfermedad se ha extendido hacia países

no endémicos, como Japón, Australia y algunos europeos, dentro de los que destaca España.<sup>9</sup> En el mapa de la figura 3.1 se muestra la distribución de casos por infección con *T. cruzi*; hecho que ha obligado a los países involucrados a establecer medidas de control y prevención, además de estrategias para la tamización en bancos de sangre, así como el tratamiento de pacientes infectados.

### 3.1.3 Transmisión

La existencia de la tripanosomiasis americana en los humanos es un hecho puramente accidental, en la medida en la que el hombre fue entrando en contacto con los focos naturales de proliferación, causando desequilibrio ecológico. Esto forzó a los triatominos infectados a ocupar viviendas humanas como refugio, modificando su preferencia alimentaria hacia un comportamiento antropofílico y zoofílico (animales domésticos) más frecuente. De esta manera, el hombre entró a formar parte en la cadena epidemiológica.



Esquema 3.1 Ciclos de transmisión de la enfermedad de Chagas.

La enfermedad de Chagas prevalece en la naturaleza mediante tres ciclos intercomunicados: silvestre, peridoméstico y doméstico (esquema 3.1). Se reconoce el *ciclo silvestre* (de carácter enzoótico), como el escenario donde el parásito circula entre las especies silvestres de mamíferos (rata, ratón de campo, ardilla, marta,

zarigüeya, armadillo, murciélago y primates) e insectos vectores infectados. El *ciclo doméstico* en el que participan el hombre, mamíferos domésticos (perros, gatos, ratas y ratones), e insectos vectores infectados dentro de la vivienda. Por último, el *ciclo peridoméstico*, que es considerado el eslabón entre los dos ciclos anteriores en la transmisión, en este ciclo se encuentran involucradas diferentes especies de mamíferos silvestres, sinantrópicos y domésticos, así como especies de vectores en este hábitat.

#### **3.1.3.1 Vectorial**

Este mecanismo de transmisión de *T. cruzi* ocurre por contacto directo con insectos triatomíneos; mismos que son hematófagos obligados de hábitos nocturnos. El proceso de inoculación ocurre cuando las heces (fuente de la forma infectiva de *T. cruzi*) del triatómino alcanzan una zona de lesión cutánea, probablemente producto de la picadura tras su alimentación, o cualquier otra lesión en la piel o mucosas.

#### **3.1.3.2 Transfusional**

Se lleva a cabo tras la administración terapéutica de sangre o sus componentes, provenientes de un individuo infectado. El periodo de incubación en este caso oscila de entre 30 a 40 días e incluso más. La OMS denomina a este mecanismo como Chagas urbano. Es considerada la principal causa de propagación de la enfermedad a nivel mundial.

#### **3.1.3.3 Vertical, materno fetal (connatal)**

La infección congénita sucede en un 5 % de los recién nacidos provenientes de madres infectadas y diagnosticadas en etapa crónica de la enfermedad. El proceso de transmisión ocurre de forma transplacentaria, o bien por contaminación directa durante el parto.<sup>10</sup>

#### **3.1.3.4 Oral**

Ocurre por el consumo de alimentos o bebidas contaminados con deyecciones o triturado de vectores infectados. Esta forma de transmisión ha sido ampliamente

documentada en la Amazonia brasileña, en donde es común que los habitantes consuman jugo de frutos de palmeras.<sup>3</sup>

### 3.1.4 Signos y síntomas

La enfermedad de Chagas se caracteriza por dos fases de infección: aguda y crónica. Esta última se presenta en dos formas, determinada e indeterminada (diagrama 3.1).

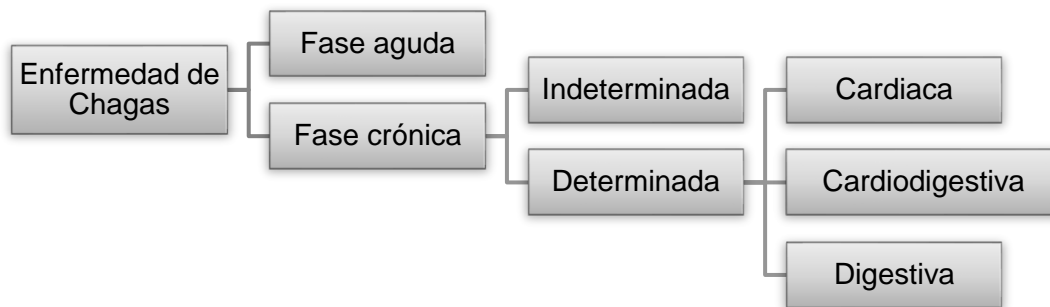


Diagrama 3.1 Enfermedad de Chagas, fases clínicas y formas.

#### 3.1.4.1 Fase aguda

Las manifestaciones clínicas aparecen alrededor de los 8–10 días posteriores a la inoculación del parásito. En el caso particular por infección vía transfusional puede ser más largo, de 20–40 días. Esta fase en la mayoría de los casos no es clínicamente identificada, al grado de ser diagnosticado en promedio en zonas endémica, 1 caso agudo por cada 100 casos crónicos.<sup>11</sup> La reacción local característica de esta etapa son los chagomas de inoculación o signos de Romaña-Mazza; éstos representan el sitio de entrada del parásito a través de la piel, particularmente a nivel del párpado en el signo de Romaña. Estas evidencias fisiológicas, son lesiones eritematosas maculonodulares indoloras. Por otra parte, la fiebre es un signo constante, que va acompañado de malestar, astenia, anorexia y dolor de cabeza. Los signos sistémicos principales son el aumento en tamaño de los nódulos linfáticos, hepatomegalia, esplenomegalia y edema subcutánea, aunado a alteraciones cardiacas y neurológicas como la miocarditis y meningoencefalitis.



### 3.1.4.2 Fase crónica

La fase crónica de la enfermedad comienza 2 meses después del inicio de la infección, cuando las manifestaciones clínicas de la fase aguda desaparecen y la parasitemia cae a niveles indetectables. Muchos de los casos crónicos se presentan de forma indeterminada puesto que no son detectadas lesiones viscerales por medio de exámenes clínicos. Los criterios de clasificación de esta fase indican que deben ser positivas las pruebas serológicas y/o parasitológicas, ausencia de signos y síntomas del mal de Chagas, perfil electrocardiográfico normal y sin alteraciones en pecho, colon y esófago por examen radiológico. Después de este periodo asintomático, se puede desarrollar la fase sintomática o determinada, con patología demostrada y presencia de lesiones cardíacas en un 27 % de los casos, digestivas en el 6 % y en sistema nervioso periférico en un 3 %.<sup>1</sup> La manifestación de lesiones cardíacas se agrupa en tres síndromes que pueden coexistir en un mismo paciente: arritmia, falla cardíaca y tromboembolismo (sistémico y pulmonar). Por otra parte, las manifestaciones clínicas por daño al aparato digestivo se presentan en forma de megacolon y megaesófago.<sup>12</sup> De esta forma se puede concluir que, la fase crónica determinada del tipo cardiodigestiva es un cuadro clínico manifiesto de lesiones cardíacas y del aparato digestivo al mismo tiempo.

### 3.1.5 Agente etiológico *Trypanosoma cruzi*

El *Trypanosoma cruzi* es un protozoo flagelado, altamente heterogéneo cuyo ciclo de vida biológico se cumple en alternancia con insectos triatomíneos y con más de 155 especies de mamíferos silvestres y vertebrados como reservorios.<sup>13</sup> Su clasificación taxonómica se muestra en la figura 3.2.

<b>Dominio:</b> Eucariota <b>Reino:</b> Protista <b>Subreino:</b> Protozoa <b>Filum:</b> Sarcomastigofora <b>Subfilum:</b> Mastigofora	<b>Clase:</b> Zoomastigofora <b>Orden:</b> Kinetoplastida <b>Familia:</b> Trypanosomatidae <b>Género:</b> Trypanosoma <b>Especie:</b> Cruzi
--	---

Figura 3.2 Clasificación taxonómica de *Trypanosoma cruzi*.

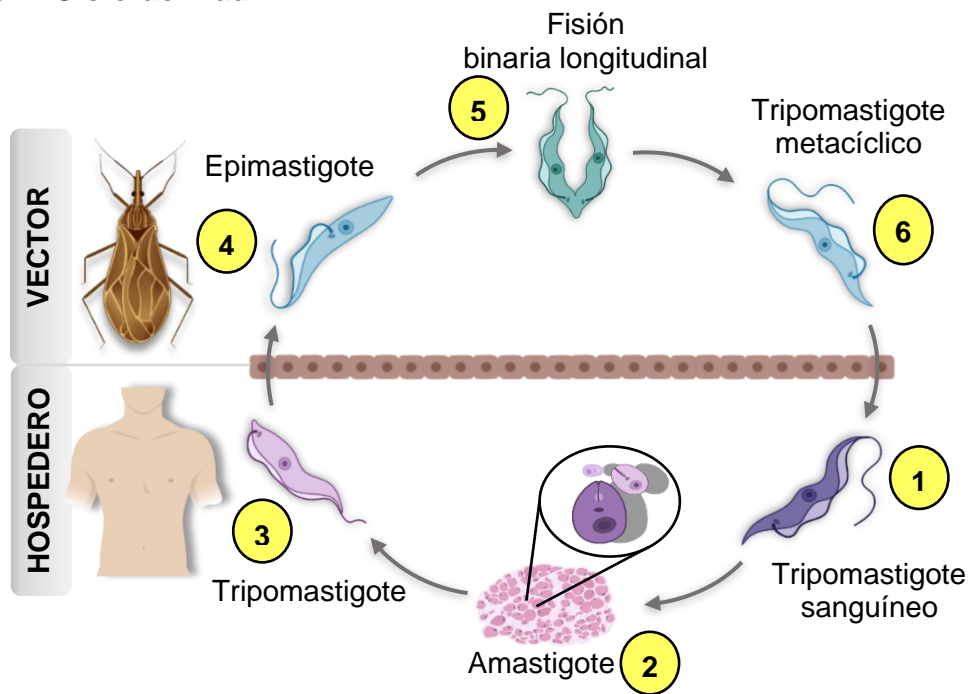
La caracterización genética consensuada de *T. cruzi* divide a la especie en 6 grupos particulares, denominados como Unidades Discretas de Tipificación (DTUs): TcI-TcVI. A esta diferenciación genética se puede asociar la virulencia y patogenicidad del protozoario, así como la variabilidad en formas de manifestación clínica.<sup>14</sup>

Con el objetivo de adaptarse a las condiciones del hospedero, *T. cruzi* sufre transformaciones fisiológicas considerables, mismas que causan cambios estructurales y metabólicos que posibilitan la viabilidad de la infección. Este protozoario tiene tres estadios de desarrollo: *epimastigote*, *amastigote* y *tripomastigote*; identificables morfológicamente a través de microscopía óptica, por medio de la posición del cinetoplasto con relación al núcleo celular y por la presencia de flagelo.

El *amastigote* es el estadio intracelular en células de mamífero, muestran un flagelo pequeño que no se proyecta fuera del cuerpo celular. Su forma reproductiva es mediada por fisión binaria longitudinal, este proceso lo realiza en un tiempo de aproximadamente cada 12 h. Su tamaño ronda los 25 µm de largo y 2–6 µm de diámetro y sufre una transformación a *tripomastigote* sanguíneo de las 11–13 h posteriores a la ruptura de la celular hospedera.<sup>15</sup>

Los *tripomastigotes* son típicamente reconocidos como la forma extracelular infectiva de *T. cruzi*, éstos se encuentran en torrente sanguíneo en el hospedero e infectan a los insectos triatomíneos tras su alimentación por succión sanguínea. Morfológicamente alcanzan a medir 12–20 µm de largo incluyendo su flagelo, mismo que emerge del cuerpo basal cercano al cinetoplasto y llega a representar un tercio de la longitud total del protozoario. Su membrana es ondulada y arqueada. El estadio *epimastigote*, se encuentra presente en el tracto intestinal y urinario del insecto vector, en donde se multiplican por fisión binaria longitudinal, presentando un flagelo orientado en la posición anterior del núcleo y alcanzando una longitud de 20–40 µm. El rango de temperatura estable para su desarrollo es de 20–28 °C. Presenta un núcleo central alargado y un cinetoplasto con alta densidad en ADN, ubicado en la parte posterior terminal del microorganismo. Su membrana es usualmente curva y alargada.<sup>16</sup> El epimastigote se diferencia en la parte distal del intestino del insecto a tripomastigote metacíclico; fase infectiva del parásito.

### 3.1.5.1 Ciclo de vida



Esquema 3.2 Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.

El ciclo de vida de *T. cruzi* comienza cuando (1) los tripomastigotes metacíclicos presentes en las excretas del vector, atraviesan una lesión en la piel del huésped producto de la picadura del insecto tras su alimentación o a través de membranas mucosas. Una vez en tejidos del hospedero, invaden una multitud de células nucleadas (2), diferenciándose a su forma amastigote intracelular y replicándose aproximadamente cada 12 h durante un periodo de 4–5 días. Al término de este periodo los amastigotes se transforman en tripomastigotes sanguíneos, los cuales lisan a la célula hospedera y son liberados en torrente sanguíneo (3). El parásito circulante tiene el potencial de invadir nuevas células del huésped e iniciar nuevos procesos replicativos. El ciclo continúa cuando un triatomino se alimenta de esta sangre infectada (4). Una vez en el sistema digestivo del insecto, los tripomastigotes sanguíneos se transforman en epimastigotes a nivel de intestino medio, proliferando mediante replicación binaria (5). Los epimastigotes son acarreados posteriormente a nivel de intestino posterior, en donde sufren una diferenciación a tripomastigote metacíclico, los cuales son liberados por medio de las heces, cerrando el ciclo una vez que esta forma infectiva alcanza un nuevo reservorio (6) (esquema 3.2).<sup>17</sup>

### 3.1.6 Tratamiento quimioterapéutico

En la actualidad los medicamentos utilizados para el tratamiento de la enfermedad de Chagas son Nifurtimox (Lampit ®) y Benznidazol (Rochagan ®) (figura 3.3); fármacos que tienen como objetivo primario eliminar al parásito y contribuir en la disminución de la probabilidad de desarrollar las manifestaciones clínicas de la enfermedad y sus complicaciones.

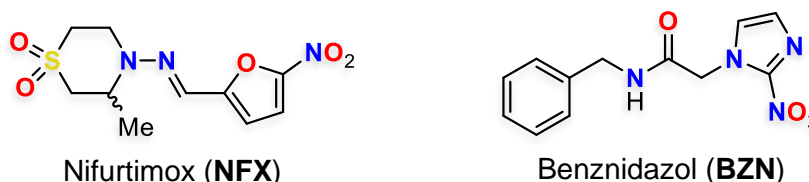


Figura 3.3 Fármacos tripanocidas.

El esquema de dosificación de Benznidazol en adultos es de 5 a 10 mg/kg/día divididos en dos tomas diarias que se deben administrar después de ingerir alimentos durante 30–60 días, sin sobrepasar la dosis máxima de 300 mg al día. Para el caso del Nifurtimox la dosis especificada es de 10 mg/kg/día en adultos mayores de 40 kg. Se suministra en tres tomas diarias después de ingerir alimentos, durante 60 días, sin sobrepasar la dosis máxima diaria de 700 mg.<sup>1</sup>

Los mecanismos de acción de **NFX** y **BZN** no han sido resueltos de manera clara; sin embargo, para el caso particular de **BZN** se ha reportado que activa la vía de estrés reductivo en el parásito, promoviendo modificaciones covalentes sobre macromoléculas como el ADN, proteínas y lípidos, con la subsecuente alteración del metabolismo de tripanotión, al igual que **NFX** para este último caso.<sup>18</sup> Lo descrito anteriormente se sustenta con la evidencia experimental de la detección de grupos nitro químicamente activos, por acción de las nitrorreductasas de *T. cruzi*; proceso que conlleva a la formación de especies reactivas de oxígeno.<sup>19</sup>

### 3.1.7 Diseño de fármacos tripanocidas antifolato

Los protozoarios tripanosomátidos, son organismos auxótrofos de folatos y pterinas, de tal forma que han desarrollado rutas sofisticadas para la adquisición y salvamento de las pterinas provenientes de su hospedero, basándose

principalmente en la actividad enzimática de la dihidrofolato reductasa-timidilato sintasa (DHFR-TS) y pteridín reductasa (PTR). La alteración de la ruta metabólica que genera cofactores reducidos de folato, ha demostrado ser un blanco terapéutico para el tratamiento de infecciones bacterianas y parasitarias, destacando entre ellas la malaria.<sup>20</sup> Esta alteración metabólica se logra inhibiendo principalmente a la DHFR-TS; sin embargo, los inhibidores clásicos del tipo antifolato son ineficientes contra los protozoarios del género *Leishmania* y *Trypanosoma*, puesto que han desarrollado resistencia a éstos, por intervención de la enzima PTR1 para el salvamento de la ruta (esquema 3.3).<sup>21</sup> Por lo tanto, se debe considerar en el diseño de fármacos antifolato, una inhibición multidiana que afecte a la DHFR-TS y a la PTR al mismo tiempo si se pretende lograr un fármaco dirigido bajo esta premisa.<sup>22</sup>

### 3.1.7.1 Dihidrofolato reductasa (DHFR)

La DHFR es una enzima crucial en el metabolismo de folatos y, en consecuencia, en la producción de timidina. Su rol en la biosíntesis de timidina es la de reducir el dihidrofolato (**H<sub>2</sub>F**) en tetrahidrofolato (**H<sub>4</sub>F**) usando como cofactor NADPH. Seguido de los procesos de reducción, el **H<sub>4</sub>F** se metila para formar metilen-tetrahidrofolato, el cual a su vez metila a la desoxiuridina monofosfato (dUMP) para obtener timidín monofosfato (TMP), este último proceso es catalizado por la timidilato-sintasa (TS). Al final el metilen-tetrahidrofolato se convierte nuevamente en **H<sub>2</sub>F** completando el ciclo. Por consiguiente, la inhibición de DHFR evita la biosíntesis de timidina y como consecuencia, la biosíntesis de ADN. Además, se da paso a la acumulación de dUMP y por consiguiente, la de desoxiuridina trifosfato (dUTP). Altos niveles de dUTP desencadenan la incorporación de uracilo en el ADN a niveles más allá de los que la uracil-ADN-glicosilasa (enzima de reparación del ADN), puede reparar, causando la programación de la muerte celular.<sup>23,24</sup>

Particularmente la TS y la DHFR en la mayoría de los organismos, incluyendo al ser humano, existen como dos diferentes enzimas monofuncionales; mientras que, en los protozoarios, se mantienen unidas conformando un complejo bifuncional, la DHFR-TS.<sup>25</sup> En la DHFR-TS de *T. cruzi*, el dominio de DHFR (N-terminal) comprende los residuos 1–232, y el dominio de TS (C-terminal), del 235–521. La porción de *TcDHFR* posee un 36 % de identidad con su homólogo en humanos,

siendo el sitio activo de *HsDHFR* más hidrofílico; por lo que es más probable la inhibición selectiva de la *TcDHFR*-TS con ligandos lipofílicos.<sup>26</sup>

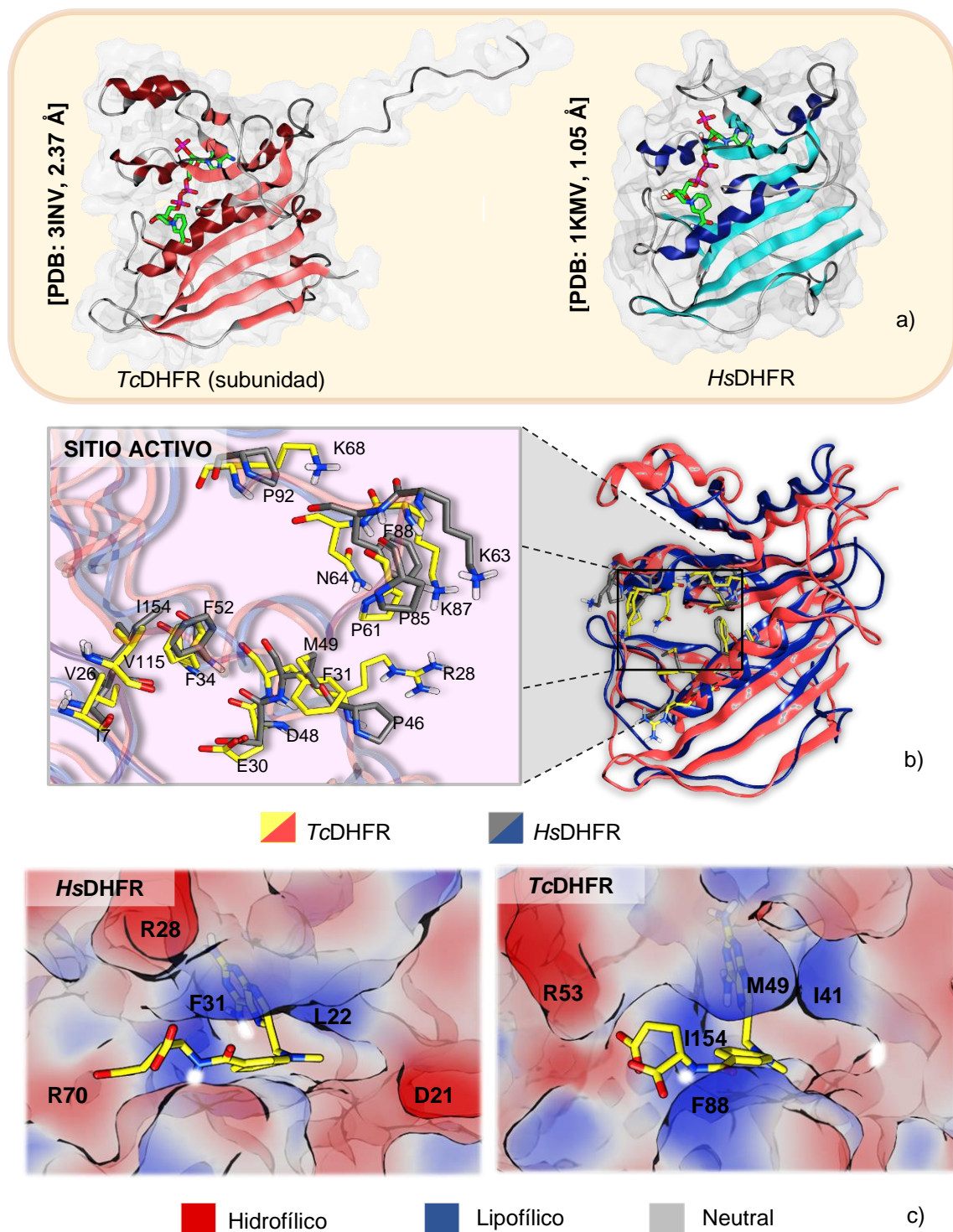
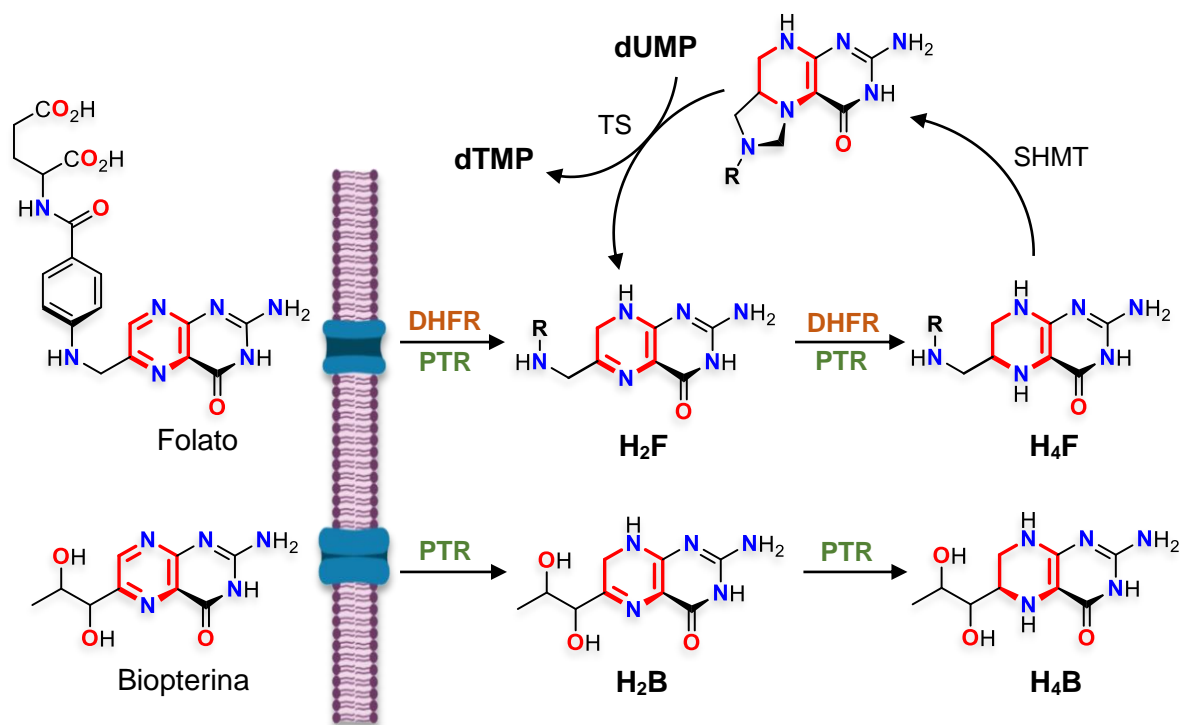


Figura 3.4 Comparación de la enzima DHFR de humano y *T. cruzi* (subunidad dihidrofolato reductasa de la *TcDHFR*-TS). a) Topología caricaturizada. b) Superposición estructural y descripción de residuos de amino-ácidos en el sitio catalítico. c) Modo de interacción del inhibidor MTX por acoplamiento molecular (mapa de superficie lipofílica).

### 3.1.7.2 Pteridín reductasa (PTR)

La PTR es una enzima deshidrogenasa/reductasa de cadena corta (SDR), capaz de llevar a cabo en un proceso de dos etapas la reducción de pterinas a las formas bioactivas del tipo tetrahydro. Se caracteriza por su gran actividad catalítica, reduciendo tanto pterinas conjugadas (folatos), como las no conjugadas (biopterinas), a partir del estado más oxidado o intermedio del tipo dihidro. Cabe destacar que la sobreexpresión de *TcPTR1* en experimentos *in vitro* ha demostrado que conlleva a la resistencia de *T. cruzi* a los fármacos antifolato.<sup>20</sup> Además, existe una segunda isoforma denominada *TcPTR2*, con actividad específica tipo dihidropteridín reductasa, y con una similitud del 96 % en su estructura primaria respecto a *TcPTR1*; cuyos centros catalíticos están completamente conservados.<sup>27</sup>

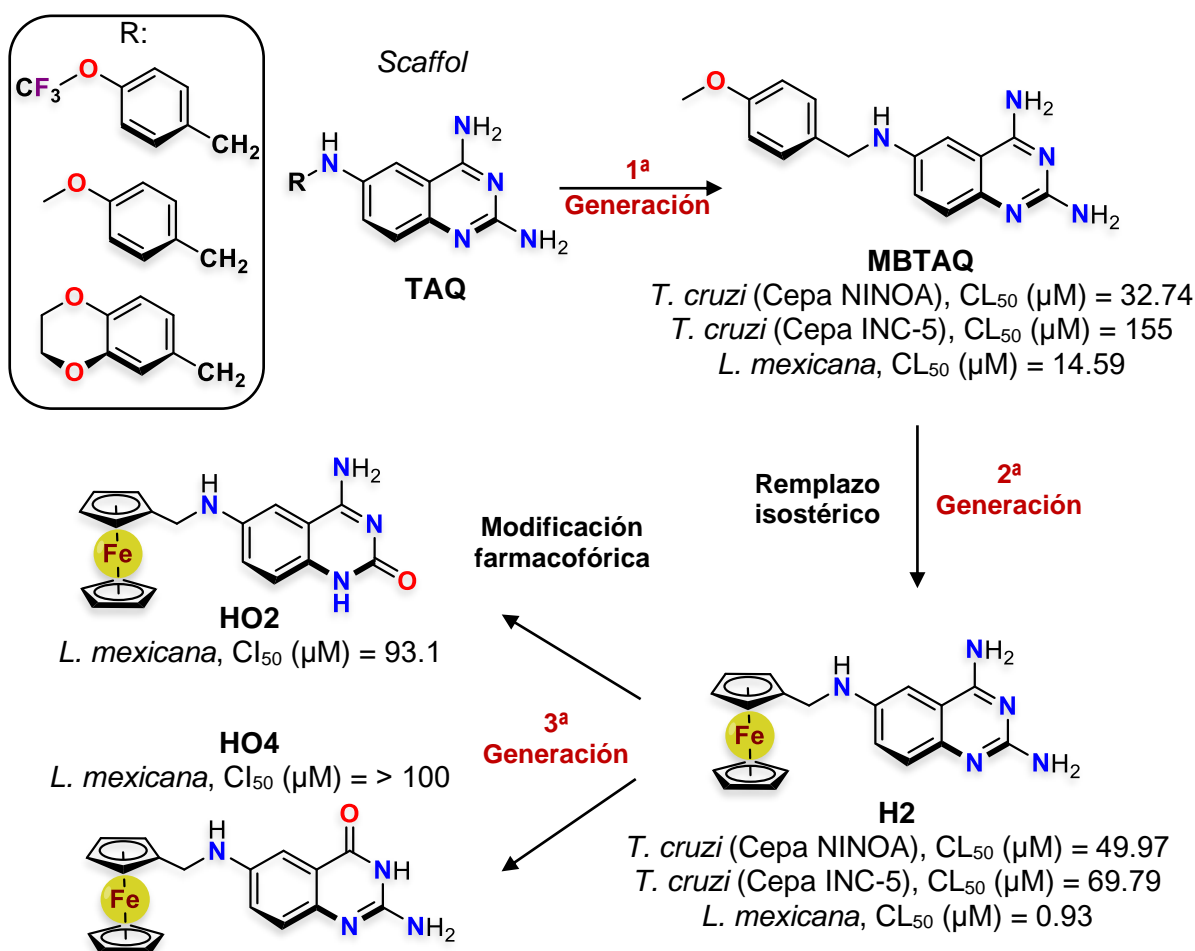


R = *p*-BzCONH-L-Glu,  $\text{H}_2\text{F}$  = Dihidrofolato,  $\text{H}_4\text{F}$  = Tetrahydrofolato,  $\text{H}_2\text{B}$  = Dihidrobiopterina  
 $\text{H}_4\text{B}$  = Tetrahydrobiopterina, SHMT = Serín hidroximetiltransferasa, TS = Timidilato sintasa  
 DHFR = Dihidrofolato reductasa, PTR = Pteridín reductasa, dTMP = Desoxitimidina monofosfato, dUMP = Desoxiuridina monofosfato.

Esquema 3.3 Ruta metabólica de folatos e inhibidores clásicos.

### 3.1.7.3 Prototipos farmacéuticos antifolato organometálicos

En nuestro grupo de investigación, se han realizado estudios de una serie de ferrocenil quinazolinas, con el objetivo de generar fármacos tripanocidas útiles para el tratamiento quimioterapéutico de las enfermedades parasitarias: leishmaniasis y tripanosomiasis. El diseño racional de estos derivados se basa en la búsqueda de moléculas tipo antifolato, cuyo mecanismo de acción sea la inhibición multidiana de las enzimas DHFR-TS y PTR del parásito. La primera generación de prototipos antifolato, se diseñó a partir de la estructura base de quinazolin-2,4,6-triamina (**TAQ**), con funcionalización de tipo bencílica en posición 6, en analogía al **MTX**.<sup>28</sup>



Esquema 3.4 Planteamiento de prototipos antifolato.



De los resultados obtenidos en la primera generación, destaca la molécula **MBTAQ**, con moderada actividad frente a *T. cruzi* (Cepa NINOA) y *L. mexicana*. Por lo tanto, con la intención de potenciar la actividad de este prototipo, se realizó el remplazo isostérico de la subunidad bencénica por ferroceno, explorando el posible efecto que la presencia de este metaloceno pudiera provocar frente a los parásitos tripanosomátidos, debido principalmente a cambios en el comportamiento lipóideo y electroquímico de la molécula propuesta.<sup>29</sup> Globalmente se potenció la actividad tripanocida con **H2**, dando pie a una tercera modificación, esta vez en la subunidad farmacofórica de 2,4-diaminoquinazolina a 2 ó 4-quinazolinona, originando **HO2** y **HO4** respectivamente (esquema 3.4). Al final, estos últimos compuestos no presentaron una eficiente actividad tripanocida, concluyendo como molécula *hit* a **H2**.

### 3.1.7.3.1 Propiedades electroquímicas

El ferroceno como sistema electroquímico, puede sufrir un proceso de oxidación de un solo electrón, debido a la relativa estabilidad del catión ferricinio (**Fc<sup>+</sup>**) generado. Su comportamiento en estudios voltamperométricos es de tipo reversible, por lo que su potencial redox,  $E^{\circ}_{\text{Fc}^+/\text{Fc}}$ , puede aproximarse a su potencial de media onda  $E_{1/2}$  (**Fc<sup>+</sup>/Fc**).<sup>30</sup>

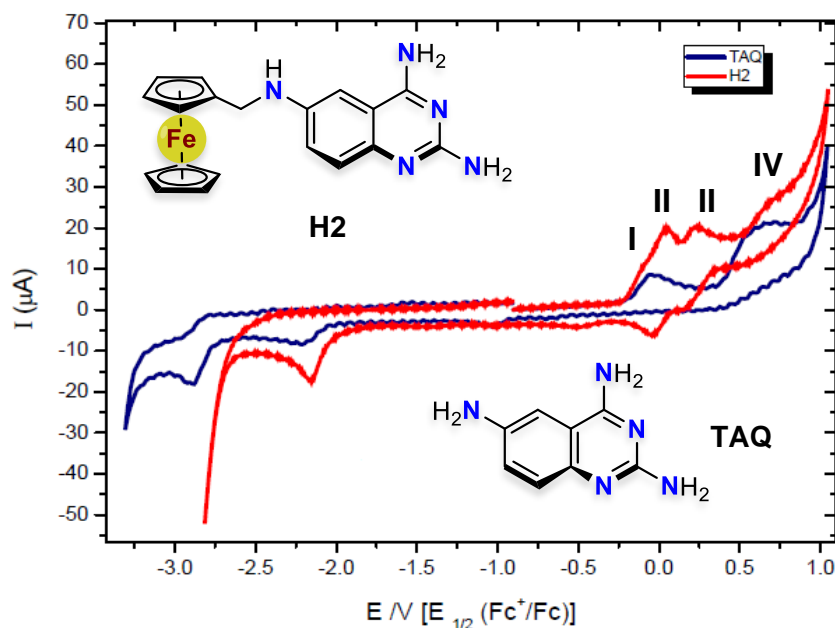


Figura 3.5 Estudio voltamperométrico de **H2** y **TAQ**.

Molécula	$EV [E_{1/2}(Fc^+/Fc)]$			
	I	II (Fc <sup>+</sup> /Fc)	III	IV
<b>TAQ</b>	-0.026	---		0.668
<b>H2</b>	-0.086	<b>0.037</b>	0.21	0.681

<sup>a</sup> Condiciones: 1 mM de analito, 0.1 M (Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub>), en DMSO. Electrodo de trabajo, disco de carbono vítreo (0.071 cm<sup>2</sup>). Electrodo auxiliar, Pt. Electrodo de referencia, 0.1 M (Bu<sub>4</sub>N)Br/AgBr(s)/Ag. Dominio de electroactividad -2.7 – 1.6 V/Fc<sup>+</sup>-Fc.<sup>28</sup>

El estudio voltamperométrico de **H2** da como resultados cuatro señales de oxidación, destacando la del sistema **Fc<sup>+</sup>/Fc** a un valor de 0.037 V con respecto a **Fc** (tabla 3.1). Las restantes tres señales, se deben en principio a oxidaciones sobre el anillo heterocíclico, puesto que correlacionan al menos dos de ellas (I y IV), con picos de oxidación de la **TAQ**, asociados a procesos irreversibles (figura 3.5). Otra observación puntual, es que el potencial redox de **H2** se encuentra a valores positivos en DMSO, haciendo cualitativamente menos reductor al sistema *ferrocenil quinazolina* comparado con *ferroceno*. Esta última observación tiene relación con el fenómeno de la variación del potencial redox en sistemas ferrocénicos monofuncionalizados, dependientes del grupo funcional directamente enlazado (figura 3.6).<sup>31</sup>

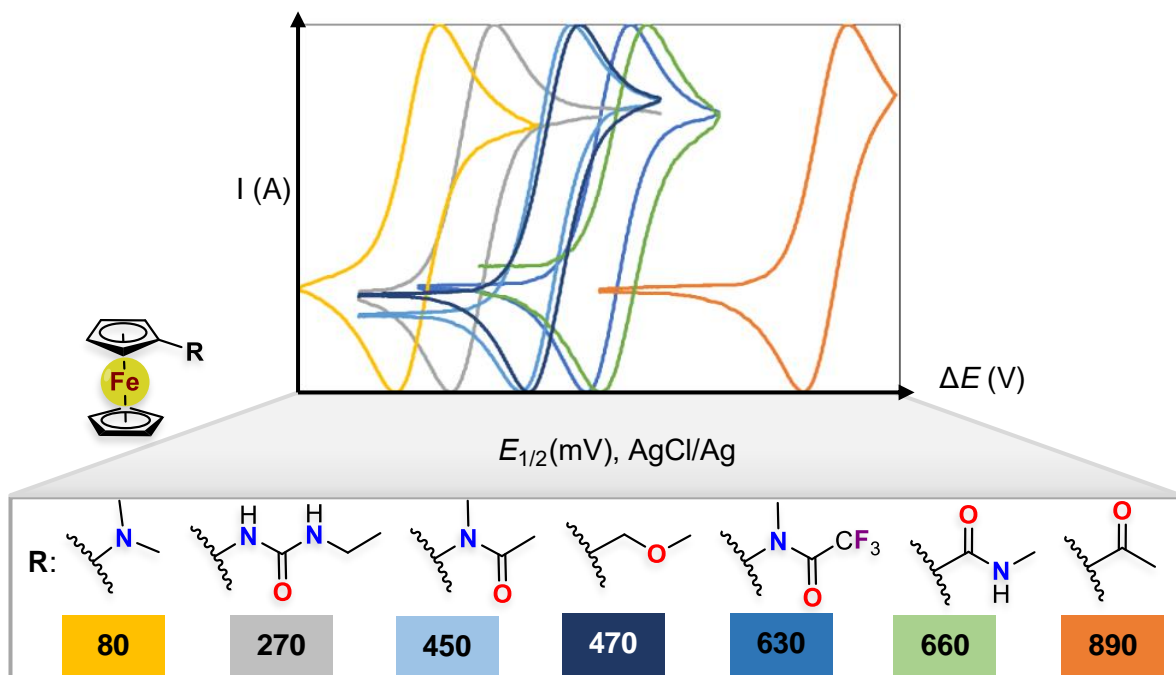
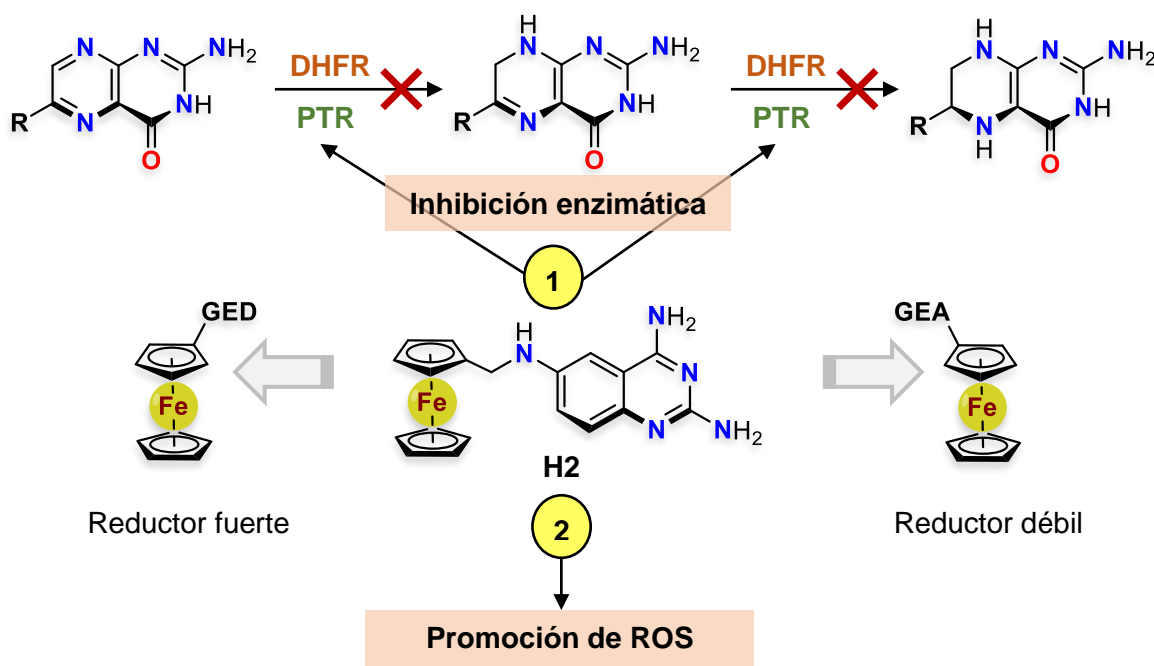


Figura 3.6 Variaciones del potencial redox.

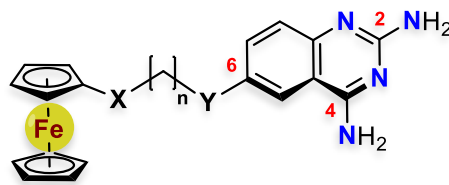
## 4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en la actividad tripanocida presentada por la molécula **H2** frente a los microorganismos parasitarios *L. mexicana* y *T. cruzi*, aunado a su baja citotoxicidad frente a las líneas celulares L929 y macrófagos peritoneales de ratón BALB/c a 100  $\mu\text{M}$ , surge una nueva idea de optimización con el interés de potenciar la actividad biológica de esta ferrocenil quinazolina. Se considera estratégicamente la modificación estructural de la porción de unión entre la quinazolina y ferroceno, para promover la variación del potencial redox del metaloceno, introduciendo grupos funcionales de carácter electrodonador o atractor, para delimitar una ventana de electroactividad; en la cual se distingan moléculas con capacidad reductiva de fuerte a débil (esquema 4.1). Por lo tanto, ¿podría tener el potencial redox en **H2**, una contribución sustancial en su efecto tripanocida, de tal forma que sea posible que a través de nuevas ferrocenil quinazolininas con potenciales redox distintos a ésta, y diseñadas como prototipos agentes antifolato, se desarrolle una molécula *lead* para el tratamiento de la tripanosomiasis americana?



Esquema 4.1 Planteamiento de optimización de **H2**.

Bajo un perfil de diseño tipo antifolato para los nuevos derivados organometálicos del *hit H2*, conservando la subunidad heterocíclica de 2,4-diaminoquinazolina como *scaffold*, y sólo modificando la porción de unión entre ésta última, en posición 6 y la subunidad de ferroceno (figura 5.1); se podrán generar ferrocenil quinazolinas de potencial redox ( $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ) variable, que permitan definir una ventana de electroactividad, con la cual, al contrastar con pruebas *in vitro* de actividad tripanocida, se logre correlacionar el impacto que tiene la capacidad reductora de estas nuevas especies, en la actividad biológica de estudio.



$\text{X} = \text{CO}, \text{NH}, \text{CH}_2, \text{CHEt}; \text{Y} = \text{CH}_2, \text{NH}; \text{n} = 0, 1$

Figura 5.1 Planteamiento de optimización estructural.

**GENERAL**

Optimizar la actividad tripanocida de **H2** con base en su modificación estructural.

**PARTICULARES**

1. Diseñar nuevas ferrocenil quinazolininas bajo un perfil de asociación enzimática con las dianas *TcDHFR-TS* y *TcPTR2*, que se ajuste a las condiciones requeridas para la variación del potencial redox.
2. Sintetizar los prototipos de ferrocenil quinazolininas que resulten del diseño racional.
3. Determinar mediante voltamperometría los valores de potencial redox asociados a las ferrocenil quinazolininas.
4. Evaluar la actividad tripanocida y citotóxica de los nuevos derivados sintéticamente obtenidos, mediante modelos *in vitro*.

Con base en los objetivos planteados para el desarrollo del presente trabajo de investigación, y con la intención de alcanzarlos, se desarrollaron las siguientes actividades (diagrama 7.1):

1) Diseño de derivados de la molécula *hit* **H2**

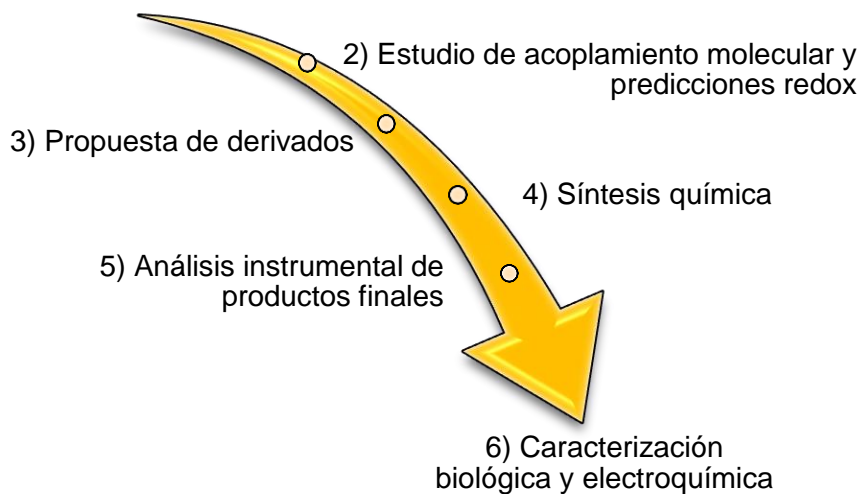
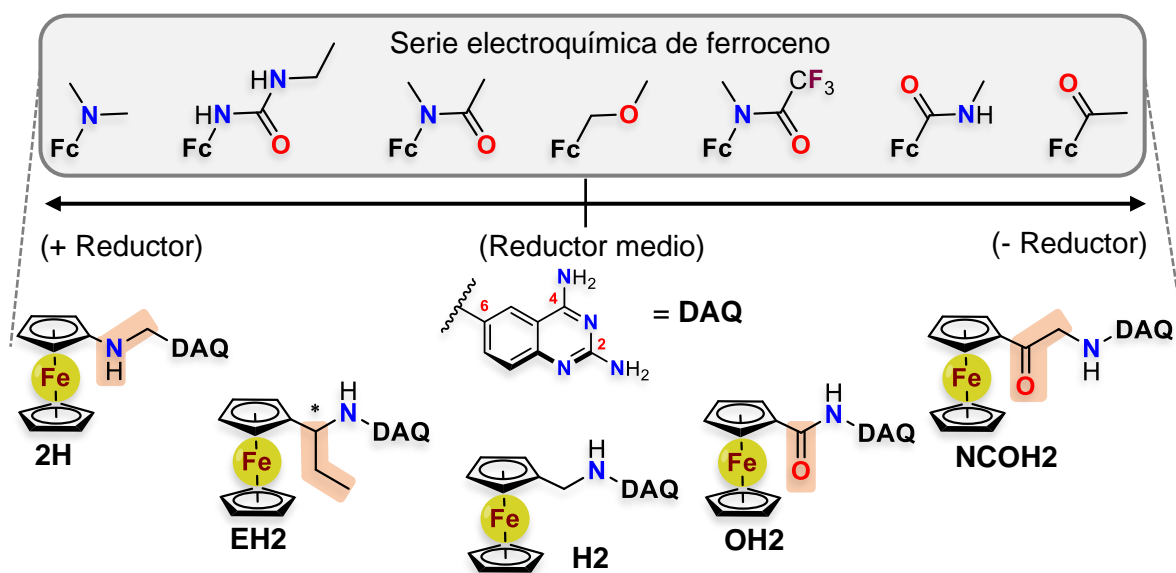


Diagrama 7.1 Proceso metodológico.

## 7.1 Diseño de ferrocenil quinazolinas análogas a H2



Esquema 7.1 Propuesta de optimización de H2.

Partiendo del arreglo estructural de **H2** y la serie electroquímica para la modulación del potencial redox de ferroceno (esquema 7.1), se formuló la propuesta de optimización, variando la porción de unión entre la quinazolina y el metaloceno, con especial énfasis en el grupo funcional directamente enlazado a la subunidad de ferroceno. Para las nuevas moléculas diseñadas se trató de mantener un perfil tipo antifolato; esto es, como potenciales inhibidores de la *TcDHFR-TS* y *TcPTR2*, basados en la interacción teórica con estas dianas mediante estudios de acoplamiento molecular. De esta forma se lograrían conjugar dos fenómenos que aporten a la actividad tripanocida (efecto polifarmacológico); la promoción de especies reactivas de oxígeno (ROS) e inhibición enzimática.

### 7.1.1 Acoplamiento molecular

Estos estudios se realizaron con la finalidad de explorar la susceptibilidad de los nuevos prototipos tripanocidas propuestos, análogos a **H2**, como potenciales inhibidores de las enzimas DHFR-TS y PTR2 de *T. cruzi*; dianas biológicas validadas para el diseño de fármacos dirigidos al tratamiento quimioterapéutico de la enfermedad de Chagas.<sup>32</sup>

#### 7.1.1.1 Optimización geométrica

Debido a la necesidad de preparar los ligandos para el acoplamiento molecular, como primer paso se optimizó la estructura geométrica de las ferrocenil quinazolininas propuestas. Cabe mencionar que a través de este proceso se obtuvo información termodinámica útil que se relacionó con los resultados de las determinaciones voltamperométricas; como es el caso de la diferencia energética de los orbitales frontera HOMO-LUMO (band gap). Para este proceso, se empleó el programa Saprta 14, versión 1.1.4, de Wavefunction, a un nivel de teoría del funcional de la densidad (DFT/B3LYP/6-31+G\*), bajo la especificación de optimización geométrica en el estado fundamental. Los archivos de salida fueron almacenados en formato (\*.mol2).

### 7.1.1.2 Preparación de ligandos

Las estructuras moleculares optimizadas en el programa Spartan 14 V 1.1.4, fueron importadas en el programa Chem3D, del paquete de ChemOffice 2019, con la aproximación para la subunidad ferroceno, de haber transformado en enlaces sencillos las interacciones de los átomos de carbono del ciclopentadienilo con el centro metálico. Posteriormente las geometrías al equilibrio se reoptimizaron aplicando en la herramienta de minimización energética, el campo de fuerza MM2<sup>33</sup>, seguido de una simulación dinámica con el mismo campo. El archivo de salida fue almacenado en formato (\*.mol2).

### 7.1.1.3 Preparación de las proteínas

La información cristalográfica de las estructuras proteicas fue descargada del Protein Data Bank (PDB) con el código de identificación 3INV para la enzima *TcDHFR-TS* y 1MXH para la enzima *TcPTR2*. Las proteínas se prepararon en el programa MOE 2015.10,<sup>34</sup> donde una vez importadas se trabajó con las subunidades monoméricas, corrigiendo los elementos estructurales faltantes con la herramienta Structure Preparation, añadiendo residuos de aminoácidos incompletos y asignando cargas a un pH = 7.2. En ambas estructuras se eliminaron todas las moléculas de agua, agentes crioprotectores y ligandos cocrystalizados; manteniendo en el sitio activo para las dos enzimas el cofactor NADP<sup>+</sup>. Al finalizar se almacenaron los dos archivos de salida en formato (\*.pdb).

### 7.1.1.4 Cálculo de acoplamiento

Para el estudio de acoplamiento molecular de las ferrocenil quinazolininas en el sitio de unión a folatos, los modelos proteicos de *TcDHFR-TS* y *TcPTR2* resultado de su preparación en MOE 2015.10, se importaron en el programa AutoDock Tools 1.5.6 en donde se les agregaron hidrógenos polares, se fusionaron los no polares y se asignaron cargas parciales con el método de Gasteiger-Marsili.<sup>35</sup> Al final de este proceso se almacenaron los archivos de salida en formato (\*.pdbqt). Los mapas para la caja de búsqueda (grid) en la cavidad correspondiente, se calcularon utilizando el módulo AutoGrid 4.2.6 del programa AutoDock Tools, construyendo un



cubo de 40x40x40 puntos en las direcciones (X, Y, Z) y centrado en el sitio catalítico. Ahora bien, para el cálculo de acoplamiento molecular empleando el módulo AutoDock 4.2.6, se establecieron los parámetros del algoritmo genético Lamarckiano, con una población de 300 conformeros,  $2.5 \times 10^6$  evaluaciones energéticas, un valor máximo de 27 000 generaciones, una tasa de mutación de 0.02 y de cruce de 0.8 con 100 ejecuciones de acoplamiento. Finalmente, los resultados de acoplamiento fueron visualizados en el programa MOE 2015.10.

## 7.2 Estimación teórica del potencial estándar de reducción

Se calculó teóricamente el potencial estándar de reducción para una serie de derivados modelo de ferroceno, con la intención de analizar *a priori* el comportamiento de esta propiedad fisicoquímica intrínsecamente relacionada con la funcionalización del sistema metalocénico. Por esta razón de manera aproximada y por optimización del tiempo de cálculo se descartó a la subunidad heterocíclica de las ferrocenil quinazolininas, y se conservó únicamente el grupo funcional raíz directamente enlazado al ferroceno; originando un total de cuatro moléculas a ponderar: ferroceno (**Fc**), 1-acetilferroceno (**H**), 1-(aminocarbonil)ferroceno (**M**) y 1-aminoferroceno (**I**).

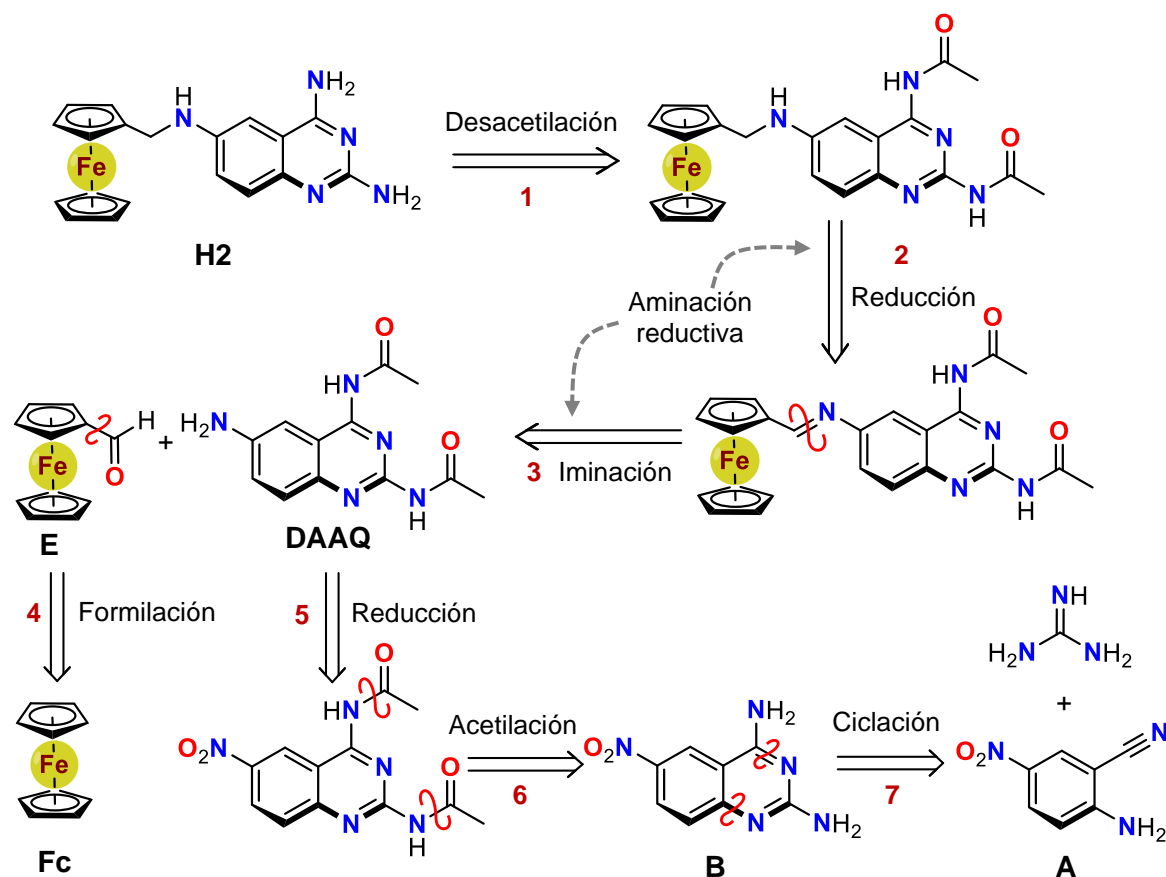
Los cálculos de optimización geométrica y termodinámicos requeridos con base en un modelo de ciclo Born-Haber,<sup>36</sup> fueron hechos bajo la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) en el programa Gaussian 09, versión C.01.<sup>37</sup> En las ejecuciones de cálculo se empleó el funcional híbrido B3LYP,<sup>38</sup> con el conjunto de bases 6-31+G(d), y para las energías de solvatación, el modelo continuo CPCM en acetonitrilo como disolvente.<sup>39</sup> La correlación estructural de los resultados de optimización geométrica fue hecha con datos cristalográficos de las especies de ferroceno correspondientes.

## 7.3 Síntesis química

Con base en la composición química de **H2** y de los cuatro prototipos derivados de este último, se hizo el análisis retrosintético para cada una de las moléculas, con la intención de proponer rutas sintéticas factibles, considerando una estrategia de tipo

convergente. Al compartir en la mayoría de las moléculas el núcleo de triaminoquinazolina (**TAQ**); se propuso proviniera de una sola ruta, para emplearlo como materia prima con cada uno de los precursores sintéticos de ferroceno correspondientes.

### 7.3.1 Análisis retrosintético para la obtención de H2

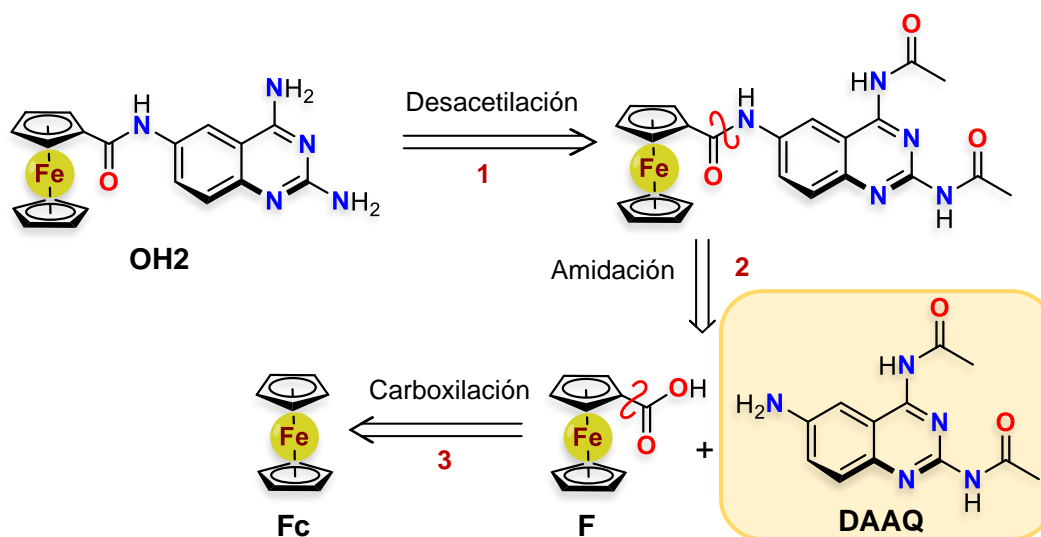


Esquema 7.2 Retrosíntesis de H2.

La estrategia para la síntesis de **H2** (esquema 7.2), se basó en una aminación reductiva (procesos 2 y 3), partiendo de las materias primas **E** y **DAAQ**. Para el caso del sintón carbonílico **E**, su obtención es asequible mediante una reacción de formilación Vilsmeier-Haack sobre ferroceno como materia prima y para el sintón nucleofílico **DAAQ**, fue necesario trazar una metodología que permitiera únicamente la funcionalización del amino en posición 6 de la quinazolina. Para tal propósito se decidió proteger los aminos en posiciones 2 y 4 del núcleo heterocíclico

en forma de acetamidas (proceso 6), manteniendo la posibilidad de generar en un último paso el amino en posición 6 libre (proceso 5), objetivo que se puede alcanzar mediante la acetilación del intermediario **B**, producto de la reacción de ciclación entre **A** y guanidina (proceso 7).

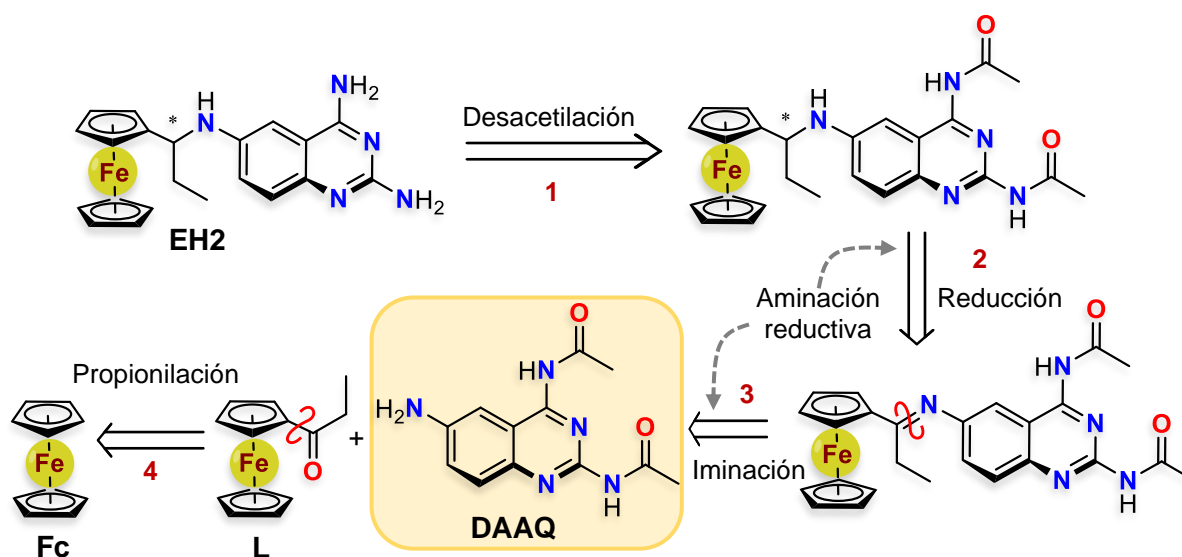
### 7.3.2 Análisis retrosintético para la obtención de OH2



Esquema 7.3 Retrosíntesis de **OH2**.

Para la molécula **OH2** (esquema 7.3), se consideró como estrategia sintética en la formación del enlace tipo amida, una reacción tipo Schotten-Baumann (proceso 2), misma que condujo a la generación de los sintones **F** y **DAAQ**. Para este punto, la obtención de la molécula **DAAQ** quedó resuelta en la ruta para la síntesis de **H2** (esquema 7.2), por lo tanto, sólo restaría generar **F** mediante la carboxilación de **Fc** (proceso 3). Además, es importante señalar, que para el trabajo final de la reacción (proceso 1) es necesaria una desacetilación selectiva, para evitar la ruptura del enlace amida de interés en posición 6 de la quinazolina recién formado.

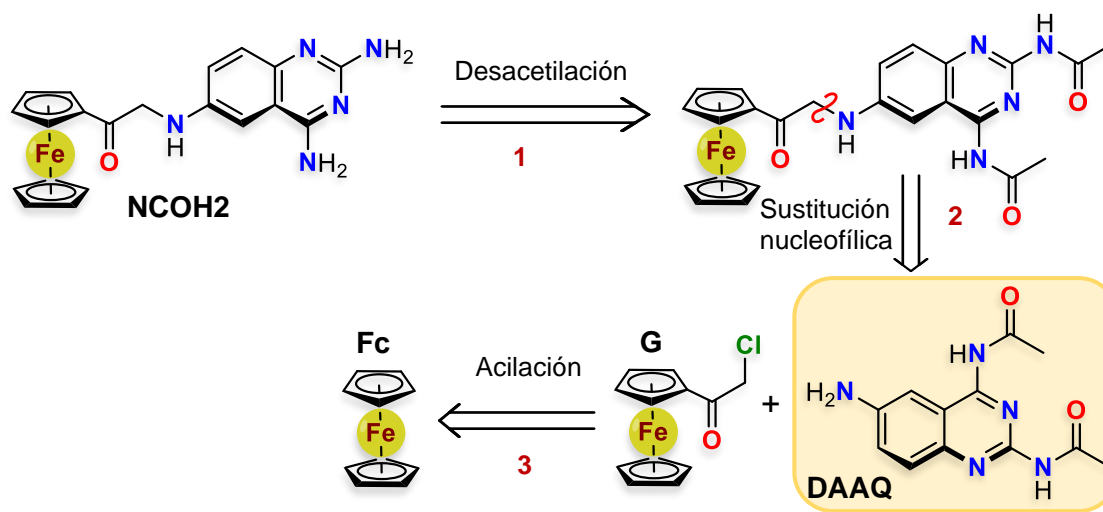
### 7.3.3 Análisis retrosintético para la obtención de EH2



Esquema 7.4 Retrosíntesis de EH2.

La estrategia sintética para la obtención de EH2 (esquema 7.4), se basó al igual que para H2 en una aminación reductiva (procesos 2 y 3), por lo que se llegó a la necesidad de generar los sintones DAAQ y L. Una vez resuelta la síntesis de DAAQ (esquema 7.2), la formación de L se resolvió mediante la acilación de Fc (proceso 4).

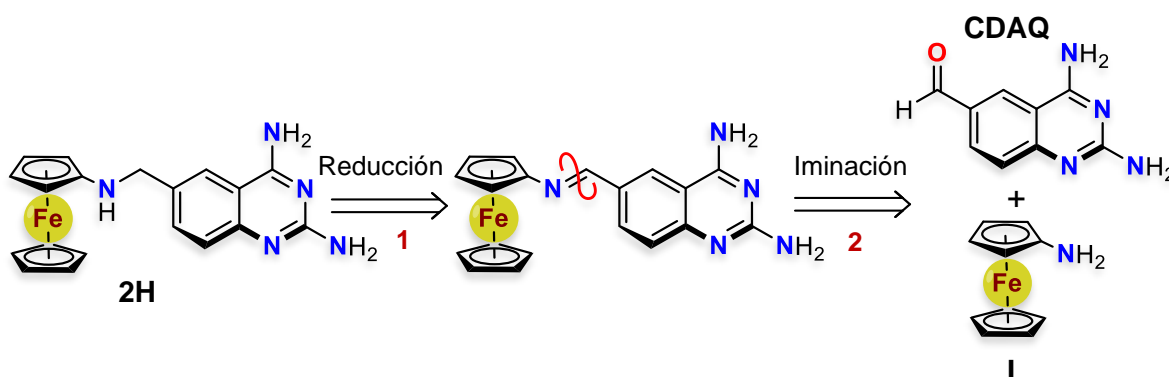
### 7.3.4 Análisis retrosintético para la obtención de NCOH2



Esquema 7.5 Retrosíntesis de NCOH2.

La aproximación retrosintética en la que se basó la obtención de **NCOH2** (esquema 7.5), fue en la sustitución nucleofílica bimolecular  $S_N2$  (proceso 2). Por lo tanto, fue necesaria la obtención del sintón electrofílico **G** mediante una reacción de acilación sobre **Fc** (proceso 3), una vez que se cuenta con la molécula **DAAQ**; precursor para la síntesis de **H2**, **OH2** y **EH2**.

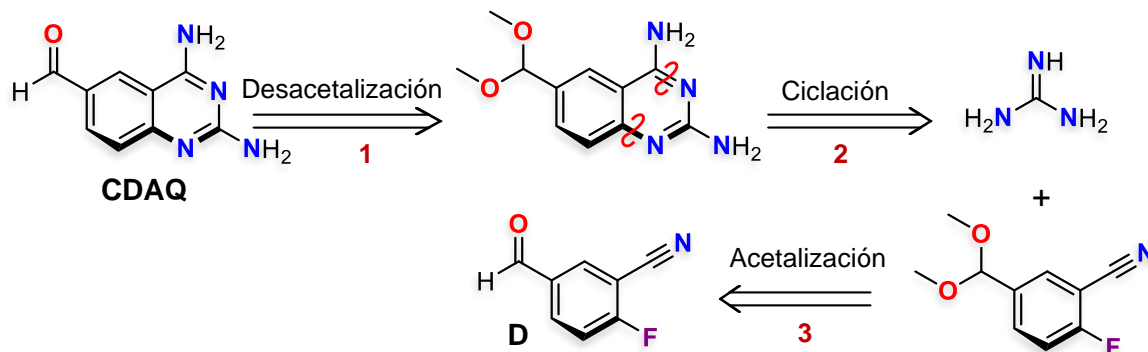
### 7.3.5 Análisis retrosintético para la obtención de 2H



Esquema 7.6 Retrosíntesis de **2H**.

Para lograr la inversión de la porción de unión entre el núcleo de quinazolina y el de ferroceno en el producto **2H**, en comparación a **H2**, se siguió la misma aproximación retrosintética de aminación reductiva (esquema 7.6), obteniendo para este caso dos nuevos sintones, **I** y **CDAQ**.

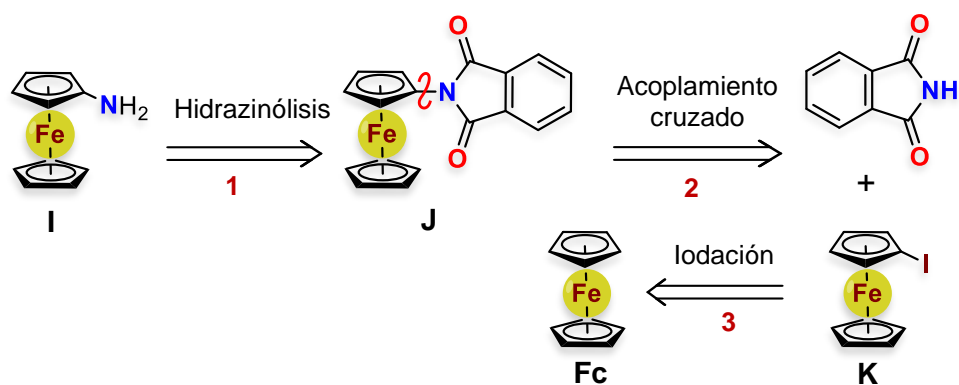
#### 7.3.5.1 Análisis retrosintético para la obtención de CDAQ



Esquema 7.7 Retrosíntesis de **CDAQ**.

Para esta última propuesta sintética, la naturaleza reactiva del sintón de quinazolina cambia de ser nucleófilo (**DAAQ**) a electrófilo (**CDAQ**) si comparamos los procesos de construcción de las cuatro primeras ferrocenil quinazolininas. Por ende, el intermediario **CDAQ** requirió de una ruta que garantizara la funcionalidad tipo aldehído en posición 6 de la quinazolina y amino en 2 y 4 (esquema 7.7), por lo que se propuso llevar a cabo la reacción de ciclación entre **D** y guanidina (proceso 2). Ahora bien, con el objetivo de prevenir reacciones colaterales debidas a la interacción química entre la guanidina y el grupo formilo de la materia prima **D**, se decidió protegerlo en forma de acetal en una primera etapa (proceso 3) y de eliminar la protección al final de la ruta (proceso 1).

### 7.3.5.2 Análisis retrosintético para la obtención de I



Esquema 7.8 Retrosíntesis de I.

Se propuso obtener el sintón nucleofílico 1-aminoferrroceno (**I**) (esquema 7.8), para la síntesis de **2H**, mediante una aminación tipo Gabriel (procesos 1 y 2). Debido a esta aproximación retrosintética, fue necesario obtener 1-iodoferrroceno (**K**), como intermediario electrofílico en el acoplamiento cruzado frente a la ftalimida. A su vez **K**, se originó mediante la iodación de **Fc**.

### 7.3.6 Esquema sintético

En la figura 7.1 se muestra a manera de resumen la ruta sintética propuesta para la síntesis de cada una de las ferrocenil quinazolinas.

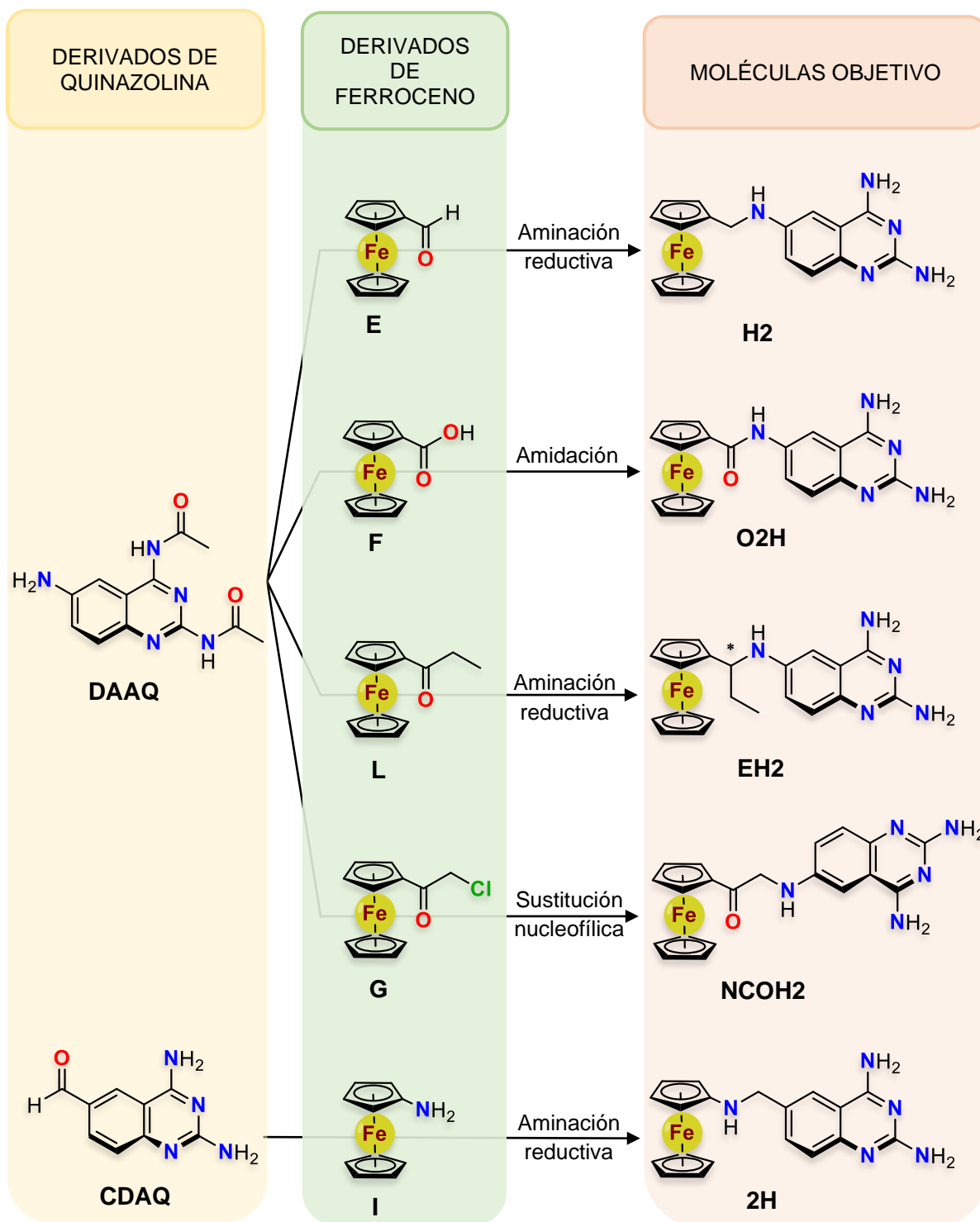


Figura 7.1 Esquema sintético

#### 7.4 Determinaciones voltamperométricas

Las voltamperometrías, cíclica (VC) y de onda cuadrada (VOC) se hicieron empleando una celda electroquímica con un arreglo de tres electrodos, dispuesta dentro de una caja Faradaica (BAS). El electrodo de trabajo (ET) fue un electrodo de carbón vítreo de 1 mm de diámetro, como cuasireferencia un alambre de Ag, y como Electrodo Auxiliar (EA), un alambre de Pt. El disolvente y el electrolito soporte seleccionados para el estudio fueron acetonitrilo y hexafluorofosfato de tetrabutilamonio (TBAHFP) grado analítico respectivamente. Todos los trazos voltamperométricos fueron hechos usando un equipo potenciostato/galvanostato CHI660A y referenciados al sistema ferricinio/ferroceno ( $\text{Fc}^+/\text{Fc}$ ). Para el mantenimiento del electrodo de trabajo, se efectuaron lavados con acetonitrilo antes de cada experimento; se pulió la superficie del electrodo con alúmina de 0.5  $\mu\text{m}$  (Buehler®), seguido de enjuagues con agua y secado con paños (Kimwipes™). El acetonitrilo empleado fue de carácter anhidro, manteniéndolo en malla molecular con tamaño de poro de 4 Å y manipulado con jeringa. Todas las disoluciones fueron burbujeadas con  $\text{N}_2$  de ultra-alta pureza (INFRA®), previamente saturado con acetonitrilo, haciéndolo atravesar por una trampa con el disolvente, por un periodo de 5 minutos antes de comenzar las lecturas. Para el sondeo voltamperométrico se empleó el sistema  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  0.1 M/ $\text{CH}_3\text{CN}$ , a una velocidad de barrido 0.1–0.2 V/s cada 20  $\mu\text{V}$  para la VC. Las mediciones para cada compuesto se repitieron cuatro veces a una velocidad fija de 0.1 V/s. Para la VOC se sondeó de 5–40 Hz cada 5 Hz. Las lecturas se hicieron a 20 Hz con una amplitud de 25 mV. Los datos obtenidos se colectaron a partir de potenciales de partida ( $E_i$ ) variados en dirección anódica. El potencial  $E_{1/2}$  en VC se estimó a partir de los potenciales de pico anódico y catódico por medio de la ecuación  $E_{1/2} = (E_{\text{pa}} + E_{\text{pc}})/2$ . Para la VOC el  $E_{1/2} = E_p$ .



## 7.5 Evaluación biológica

### 7.5.1 Cultivo de células

#### Fibroblastos de prepucio humano (HFF1)

Para el ensayo de citotoxicidad, se sembraron Fibroblastos HFF1 (Human Foreskin Fibroblasts) en cajas Petri (60 mm) con medio fresco DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco, USA, 25 mM D-glucosa, 4 mM L-glutamina, 0.03 mM rojo fenol, 5.3 mM KCl, 110.3 mM NaCl) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (Biowest, Sudamérica) y antibiótico (100 µg estreptomicina/mL y 100 U penicilina/mL, Sigma-Aldrich, USA). Su incubación se hizo a 37 °C y 5 % de CO<sub>2</sub> hasta 100 % de confluencia.

#### Epimastigotes de *T. cruzi*

Para la evaluación tripanocida, se cultivaron epimastigotes (cepa Querétaro) en medio de cultivo LIT (Liver Infusion-Tryptose; 0.5 % infusión de hígado, 0.5 % triptosa, 0.42 % fosfato de sodio, 0.4 % NaCl, 0.2 % glucosa, 0.04 % KCl) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (Biowest, Sudamérica), hemina (0.025 mg/mL) y antibiótico (100 µg estreptomicina/mL y 100 U penicilina/mL, Sigma-Aldrich, USA). Su incubación se realizó a 28 °C.

### 7.5.2 Exposición a compuestos

#### Ensayos de citotoxicidad

Se cosecharon las células HFF1 en fase exponencial de crecimiento, y se sembraron 10 000 células/pozo en placas de 96 pozos en 0.2 mL. Se incubaron por 24 h a 37 °C para su adherencia. Posteriormente se expusieron a diferentes concentraciones de los compuestos experimentales (0–100 µM en un volumen máximo de 2 µL resuspendidos en DMSO). En paralelo, como ensayos de control positivo, se expusieron las células HFF1 a **BZN** (0–25 µM) y **NFX** (0–10 µM); y como ensayo control negativo solo se adicionaron 2 µL de DMSO. El periodo de incubación/exposición fue de 24 h. Después de este tiempo se determinó la viabilidad con azul tripano en cámara de Neubauer.

### **Ensayos de actividad tripanocida**

Se contaron con cámara de Neubauer, epimastigotes de *T. cruzi* en fase exponencial de crecimiento, se sembraron  $2 \times 10^5$  parásitos/pozo en placas de 96 pozos en un volumen de 0.2 mL. Posteriormente se expusieron a los diferentes compuestos de estudio, de la misma forma como se hizo para las células HFF1. Se incubaron por 24 h a 28 °C y se determinó la viabilidad (parásitos móviles) en cámara de Neubauer. El porcentaje de crecimiento de los parásitos tratados se calculó con respecto al grupo control sin tratamiento.

Los valores de IC<sub>50</sub> se determinaron graficando el porcentaje de crecimiento a las 24 h de exposición *versus* la concentración del compuesto. Se realizó un ajuste bajo la función dosis–respuesta con el programa Origin 8.

## 8.1 Estudios teóricos

## 8.1.1 Optimización de ligandos

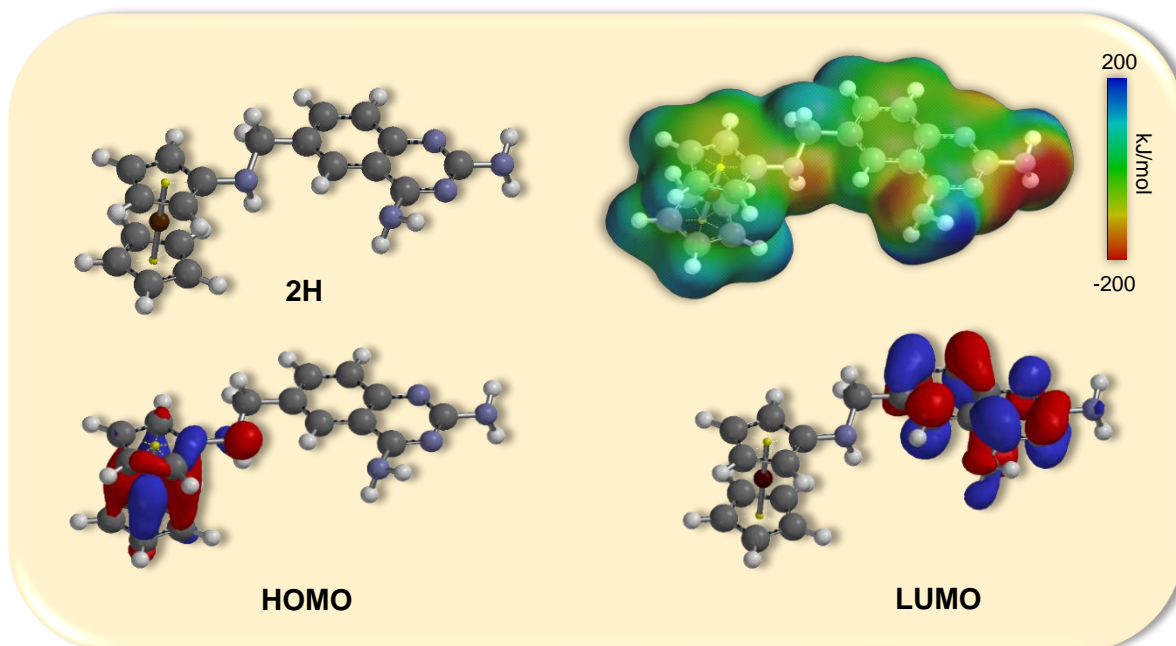


Figura 8.1 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de **2H**.

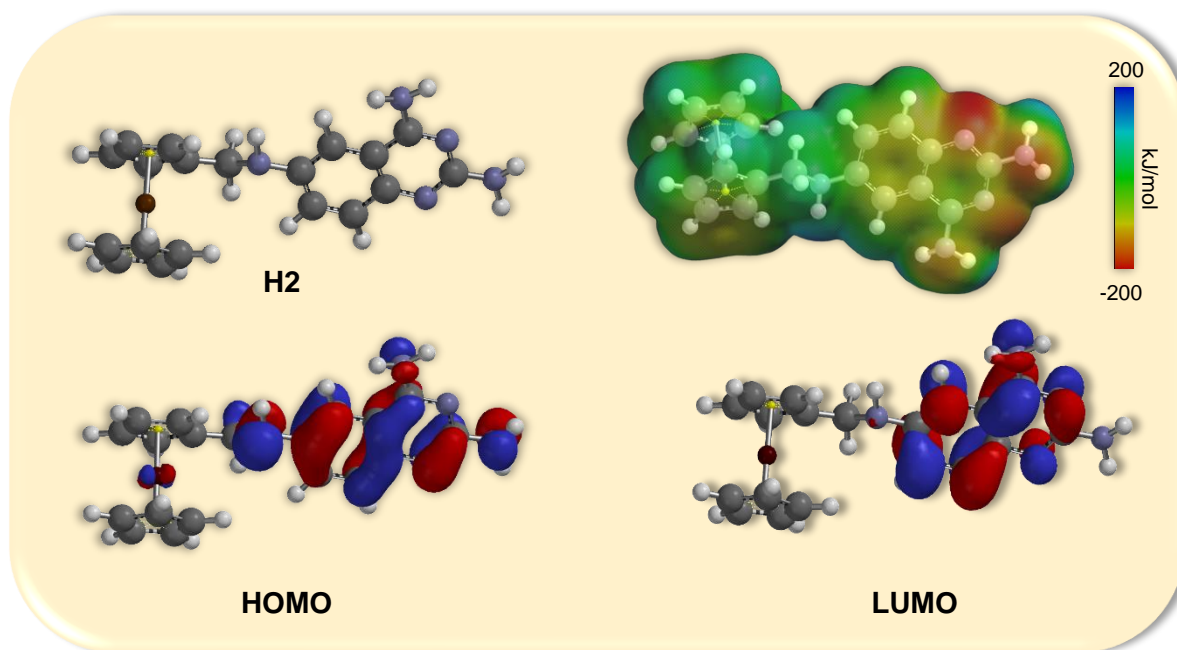


Figura 8.2 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de **H2**.

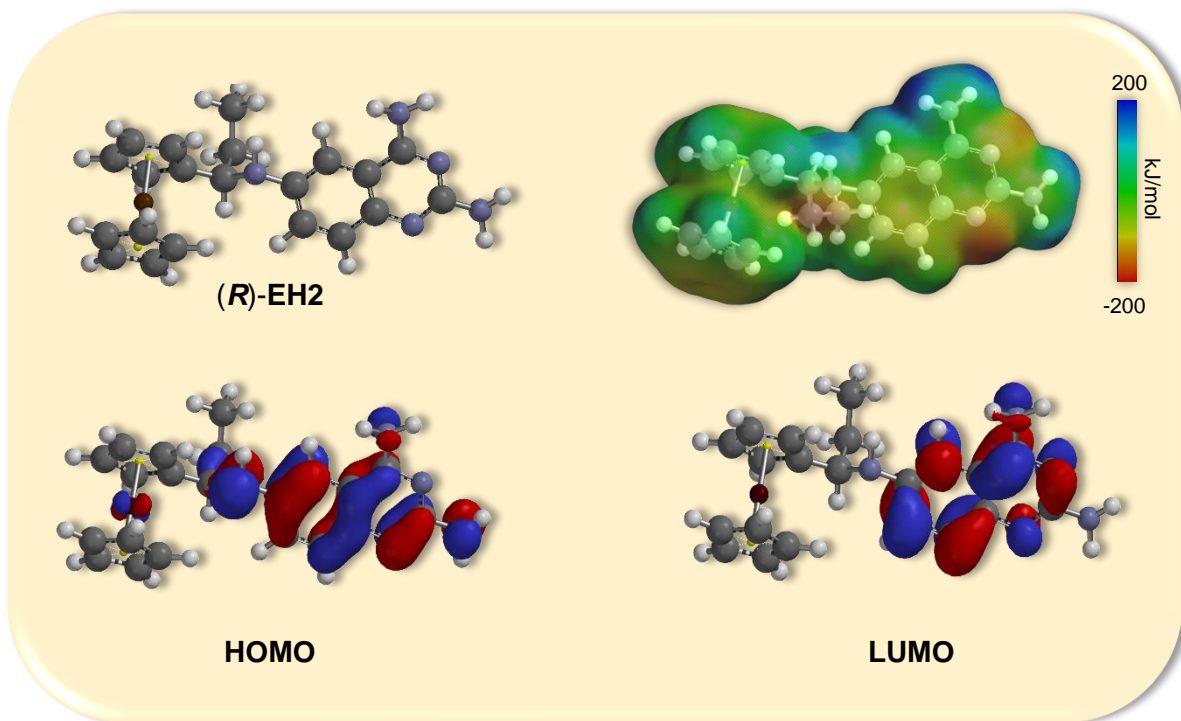


Figura 8.3 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de (R)-EH2.

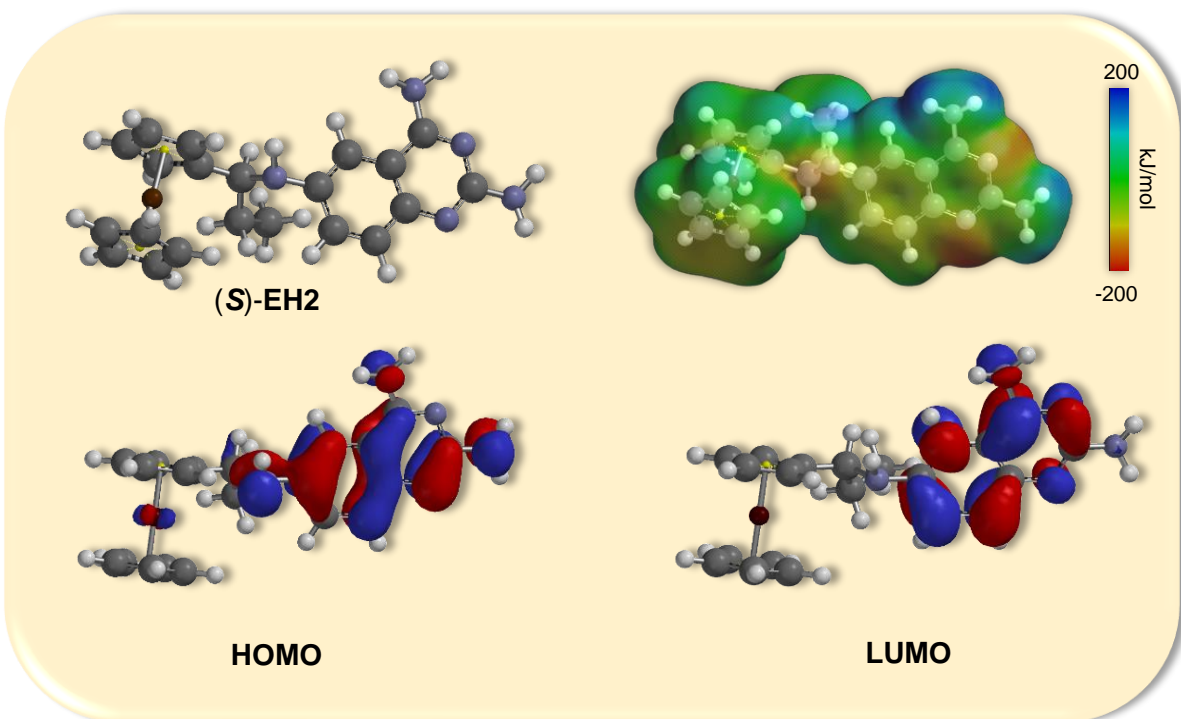


Figura 8.4 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de (S)-EH2.

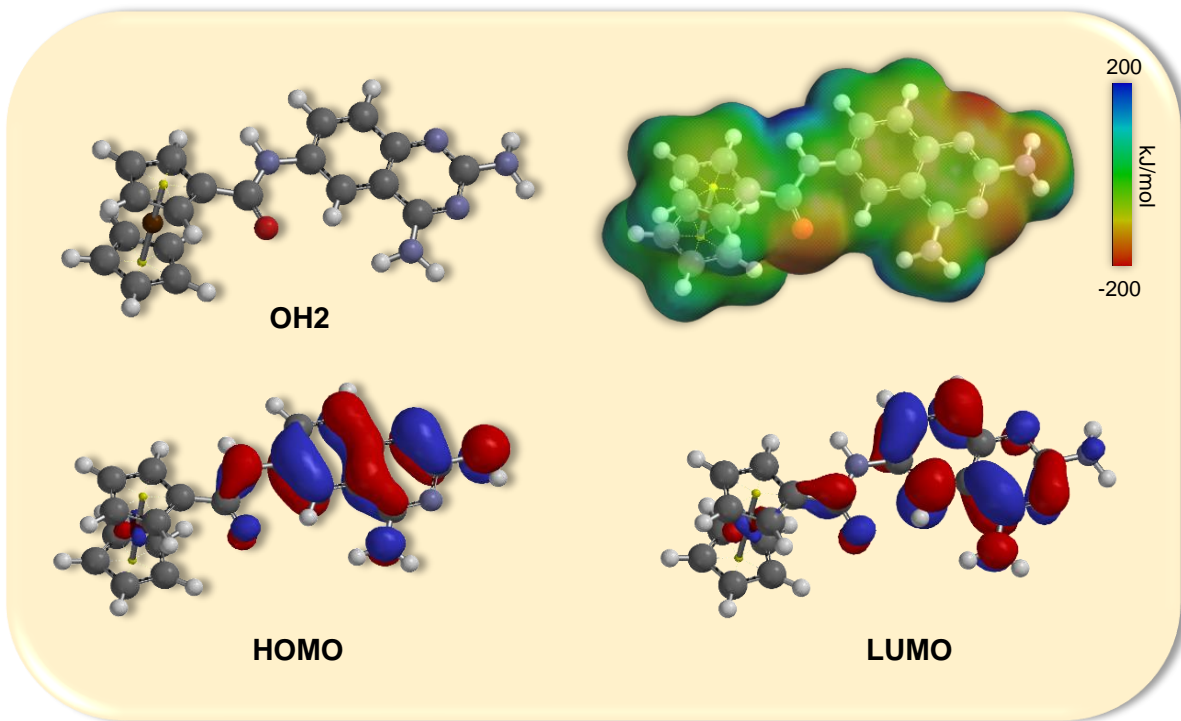


Figura 8.5 Estructura optimizada, orbitales a la frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de **OH2**.

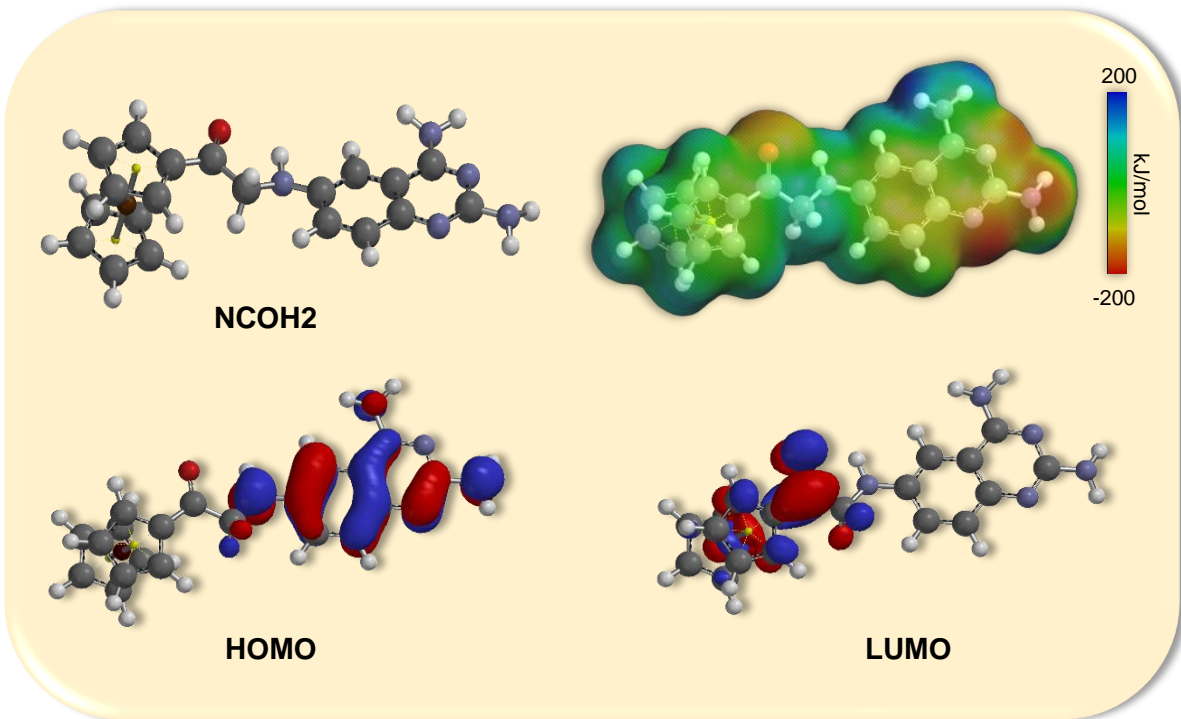


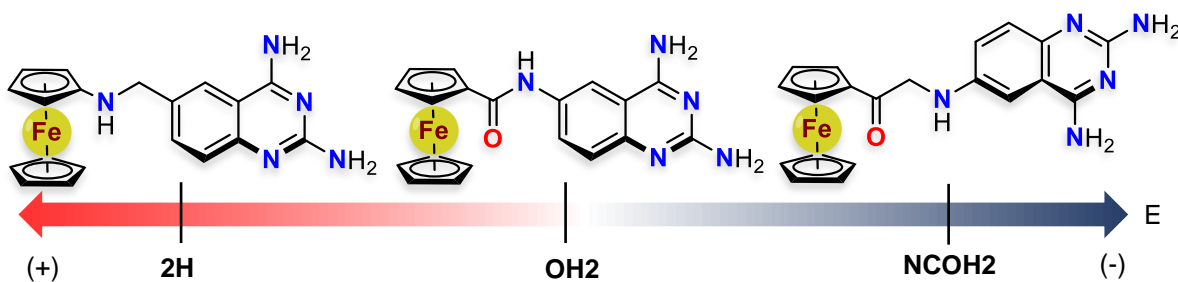
Figura 8.6 Estructura optimizada, orbitales a la frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de **NCOH2**.

Sobre la optimización geométrica de las ferrocenil quinazolinas, los resultados a destacar están relacionados principalmente con la actividad electrónica entre el núcleo de quinazolina y el de ferroceno. Analizando la distribución de los orbitales moleculares HOMO-LUMO se observa que, la mayor deslocalización del orbital HOMO se centra inicialmente sobre la estructura de ferroceno en **2H**, y conforme varía la naturaleza electrónica del grupo sustituyente, de electrodonador (amino) a electroatractor (carbonilo), la deslocalización se desplaza hacia el anillo heterocíclico (figuras 8.1–8.6). De manera equivalente, pero en sentido contrario, ocurre para el caso del orbital LUMO, cuyo centro de distribución en la molécula **2H**, está localizado en la subunidad de quinazolina; y en la molécula **NCOH2**, sobre ferroceno. Por lo tanto, este fenómeno es un indicio de la influencia de los grupos funcionales directamente enlazados a ferroceno, sobre la perturbación en la distribución electrónica asociada en todas las ferrocenil quinazolinas propuestas. Ahora bien, con base en la energía de los orbitales frontera (tabla 8.1) como criterio de susceptibilidad a la oxidación,<sup>40</sup> no se observa una tendencia lineal clara que pudiera correlacionar directamente dichos valores con la naturaleza del sustituyente, de acuerdo a la serie electroquímica de ferroceno (figura 3.6). De haberse cumplido tal relación, la molécula **2H** tendría los valores energéticos de HOMO y LUMO más altos, mientras que **NCOH2**, los valores más bajos, y **OH2** valores intermedios; ya que, a mayor energía de HOMO o LUMO, mayor factibilidad de oxidación y viceversa (esquema 8.1).<sup>41</sup>

**Tabla 8.1 Energética de orbitales y potencial electrostático.**

Compuesto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	$\Delta$ (eV)	$U_E$ (kJ·mol <sup>-1</sup> ) N-1 <sup>a</sup>	$U_E$ (kJ·mol <sup>-1</sup> ) N-3 <sup>a</sup>
<b>2H</b>	-5.20	-1.44	-3.76	-153.0	-184.4
<b>H2</b>	-4.92	-0.95	-3.97	-185.0	-145.9
<b>(R)-EH2</b>	-5.23	-1.38	-3.85	-181.0	-139.7
<b>(S)-EH2</b>	-5.38	-1.44	-3.94	-179.4	-122.9
<b>OH2</b>	-5.10	-0.97	-4.13	-187.4	-143.9
<b>NCOH2</b>	-4.66	-1.34	-3.32	-198.6	-148.2

<sup>a</sup> Energía de potencial electrostático, IsoVal:0.002.

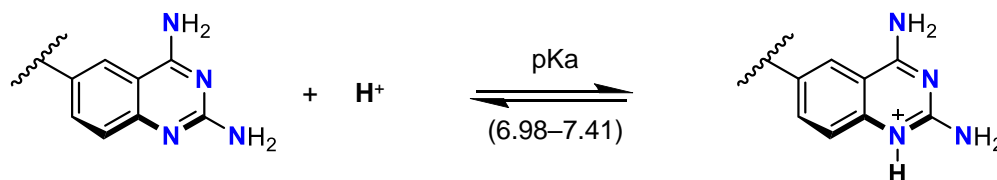


Esquema 8.1 Tendencia energética esperada de orbitales HOMO-LUMO.

Con respecto a la energía de potencial electrostático, las posiciones que destacan por concentrar la mayor densidad electrónica son N-1 y N-3. Para las ferrocenil quinazolinas que mantienen un átomo de nitrógeno en posición seis del heterociclo, el N-1 es la posición electrónicamente más densa, porque solo para **2H** que no lo posee, el comportamiento se invierte, siendo en N-3 el que adquiere una mayor densidad electrónica.

### 8.1.2 Acoplamiento molecular

El estudio de acoplamiento de las ferrocenil quinazolinas se realizó tomando como referencia el modo de unión que tienen el metotrexato (**MTX**), fármaco antifolato, y el sustrato dihidrofolato (**DHF**) en el sitio catalítico de folatos de las enzimas DHFR-TS y PTR2 de *T. cruzi*, así como DHFR de humano (figuras 8.7, 8.8 y 8.15). Con base en los valores determinados de pKa para la subunidad de quinazolina (anexo 12.3, diagramas de especiación), se llegó a la conclusión de acoplar tanto las especies ácido y base conjugada de las ferrocenil quinazolinas predominantes a pH de 6–7; valores en los que la actividad catalítica de las enzimas estudiadas es óptimo.<sup>32</sup> Dicho lo anterior, la especie ácida en todos los casos fue aquella en la que se mantiene protonado el N-1 heterocíclico y su base conjugada, la especie totalmente libre de protonación (esquema 8.2).



Esquema 8.2 Reacción ácido-base.

Para la enzima *TcDHFR-TS*, el modo de unión es sumamente conservado, puesto que el espacio del sitio catalítico es restringido. Las interacciones destacadas entre esta proteína y los ligandos estudiados son mediante puentes de hidrógeno entre los residuos de aminoácidos Val26 e Ile154 con NH-4 y Asp48 con N-1 y NH-2 (tabla 8.2). En esta última interacción, y de manera exclusiva con las especies ácidas, se llega a formar un estado de transición semicíclico que impacta directamente en los resultados obtenidos, ya que las especies ácidas adquieren un mejor perfil energético (energía libre) y probabilístico (número en clúster) de asociación al sitio de unión en comparación a las especies bases conjugadas. Ahora bien, atendiendo a la subunidad metalocénica, ésta mantiene interacciones hidrofílicas con los residuos Met49, Pro85 e Ile84, que al mismo tiempo le dan el soporte estructural para la correcta orientación de la subunidad de quinazolina hacia el sitio activo de la enzima. Por este aporte al modo de unión, el reemplazo isostérico de anillo bencénico por ferroceno, llevado a cabo durante el diseño de **H2**, es favorable. Con este mismo principio de orientación espacial, y tomando en cuenta la contribución de la amina terciaria en el **MTX**, fue que se propuso sintetizar **EH2**. De entre los dos enantiómeros de la mezcla a sintetizar, el que mejor perfil de interacción tiene es el isómero (*R*) al anclar mejor a la molécula por interacción con los residuos Ile84 y Pro85.

Los mejores resultados con *TcDHFR-TS*, resultan ser los prototipos antifolato **H2** y **2H**, y el menos efectivo **OH2**. En este último caso; el prototipo con grupo funcional amida, tiende a permanecer en la parte externa al sitio activo, desfavoreciendo su interacción con la enzima en comparación con el resto de los prototipos. Esto se debe principalmente a la rigidez del enlace amida, que provocó incluso un cambio en el modo de interacción, al rotar 180 ° a la subunidad de quinazolina (tabla 8.2). De esta forma las interacciones con los residuos fueron Asp48 con NH-4 e Ile154 con N-1.

En cuanto a los resultados con la diana *TcPTR2*, todos los prototipos mantuvieron un modo de unión equivalente a los que presentaron las referencias **MTX** y **DHF**. Las interacciones principalmente se llevan entre el cofactor NADP<sup>+</sup> y el residuo de Ser103 con la subunidad de quinazolina en las posiciones N-1 y NH-2 por medio de puentes de hidrógeno. Con la subunidad metalocénica, las interacciones indicadas



son con los residuos Tyr105, Tyr229, Lue214 y Ser215. Particularmente, debido a las aproximaciones paramétricas asociadas a la estructura de ferroceno en el modelo de cálculo, es posible que las interacciones con los residuos de Tyr105 y Tyr229 anteriormente mencionadas, sean del tipo  $\pi$ - $\pi$  en lugar de puentes de hidrógeno (tabla 8.3). Otro aspecto por destacar es que los perfiles de asociación de las especies ácidas y bases conjugadas de los diferentes ligandos acoplados a TcPTR2, no varían de manera sustancial como en el caso de TcDHFR-TS, lo cual convierte al pKa del N1 quinazolínico, en un parámetro crucial a considerar para el estudio de acoplamiento con estas dianas biológicas.

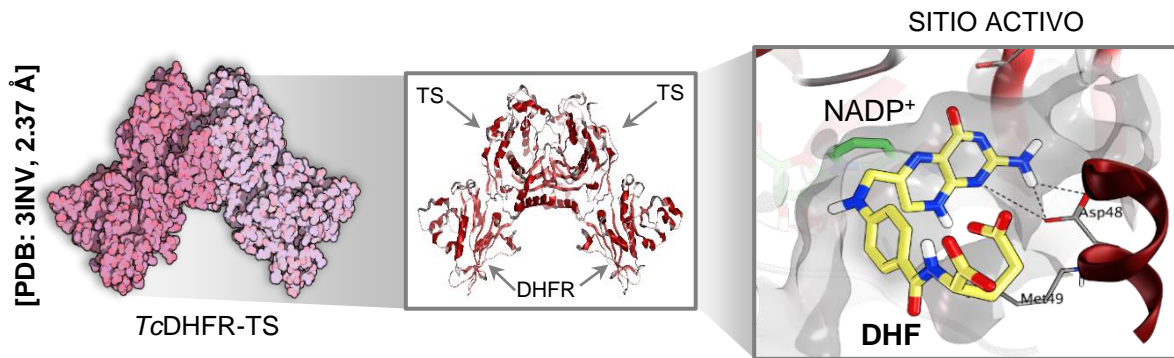
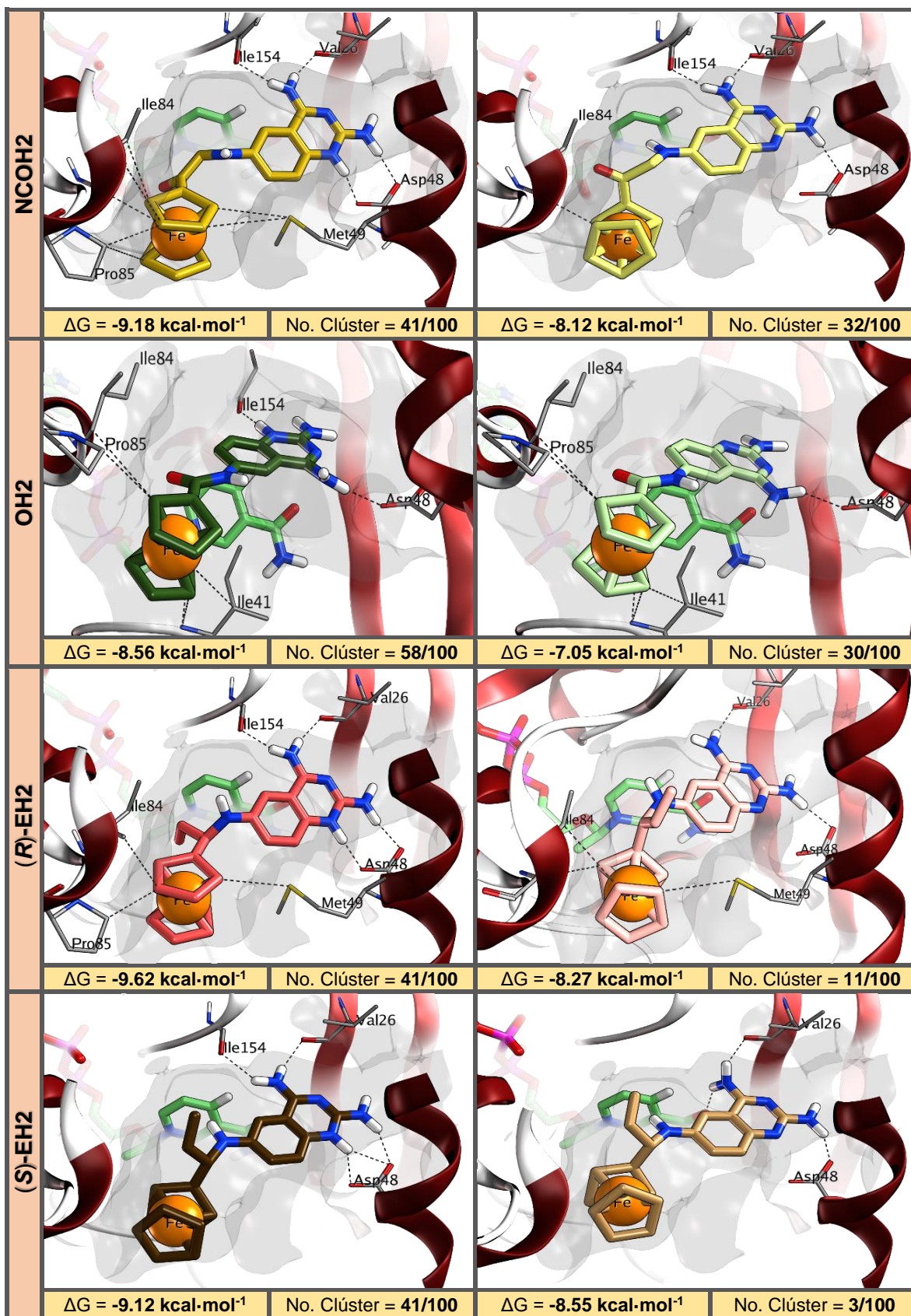


Figura 8.7 Modo de unión a TcDHFR-TS.

Tabla 8.2 Acoplamiento molecular en la diana TcDHFR-TS (3INV, 2.37 Å).			
MTX / DHF			
	$\Delta G = -15.73 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 43/100	$\Delta G = -10.12 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
			No. Clúster = 40/100
H2			
	$\Delta G = -11.08 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 63/100	$\Delta G = -7.75 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
			No. Clúster = 18/100
2H			
	$\Delta G = -10.76 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 51/100	$\Delta G = -7.96 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
			No. Clúster = 25/100



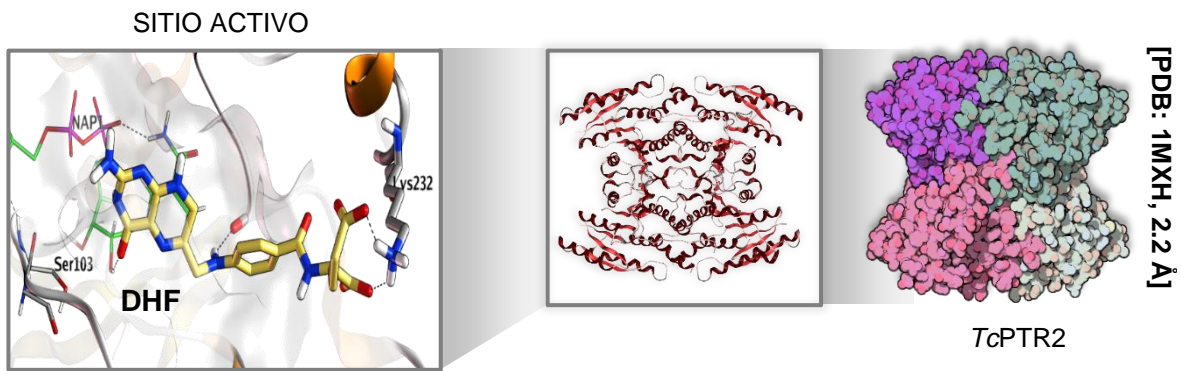
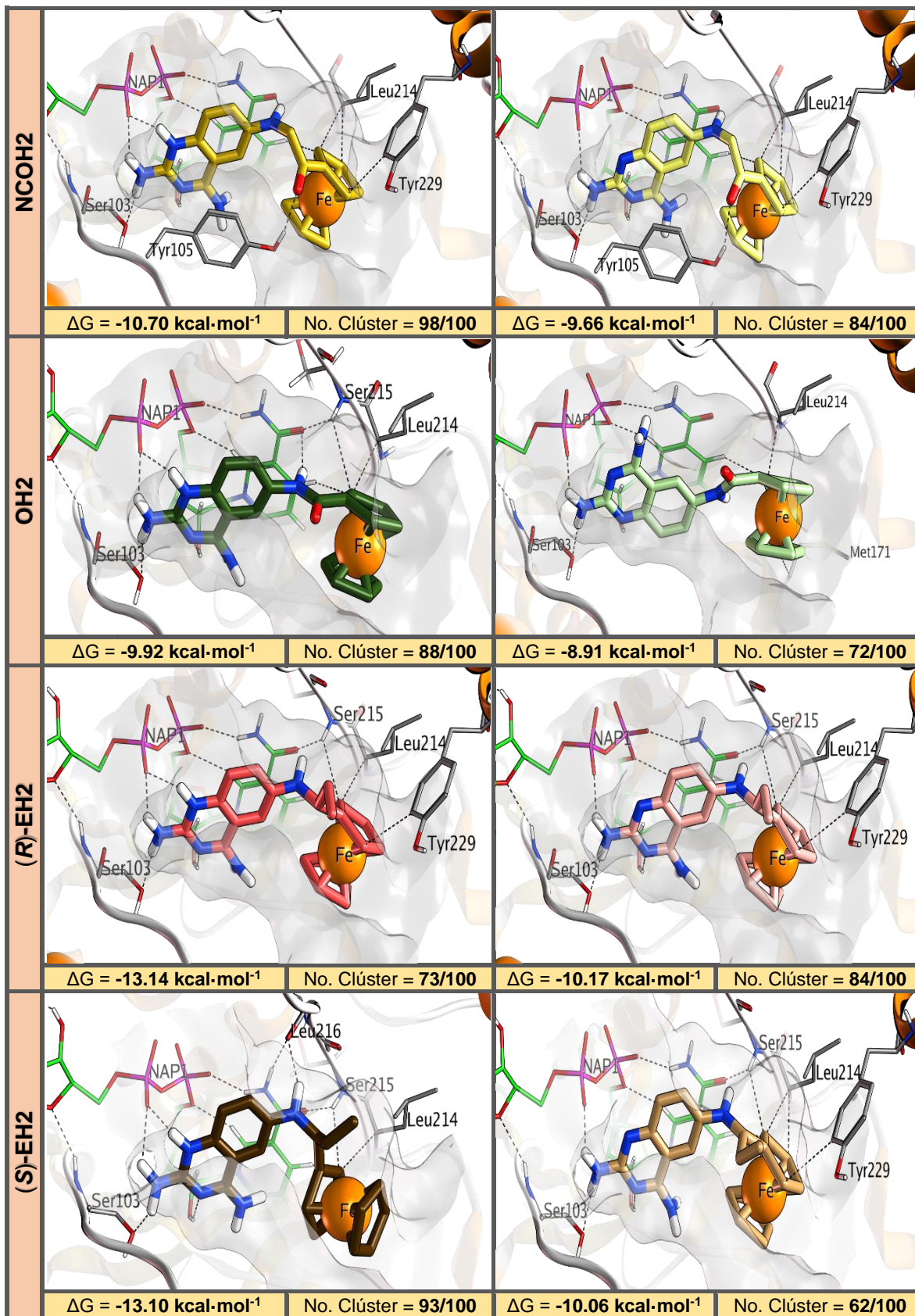


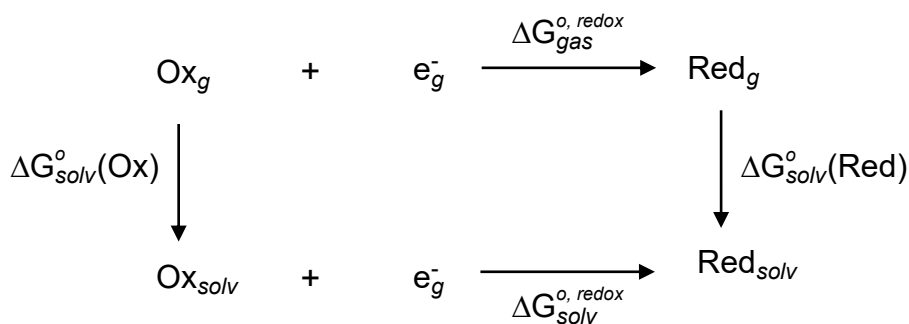
Figura 8.8 Modo de unión a TcPTR2.

Tabla 8.3 Acoplamiento molecular en la diana TcPTR2 (1MXH, 2.2 Å).

MTX / DHF		
	$\Delta G = -10.84 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 94/100	$\Delta G = -15.31 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 20/100
H2		
	$\Delta G = -10.17 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 98/100	$\Delta G = -9.37 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 81/100
2H		
	$\Delta G = -10.91 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 77/100	$\Delta G = -9.96 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ No. Clúster = 56/100



### 8.1.3 Predicciones del potencial redox de derivados de ferroceno



Esquema 8.3 Ciclo de Born-Haber de predicción redox.

Tabla 8.4 Termodinámica de predicción redox y energética de orbitales.<sup>a</sup>

Mol	$\Delta G_{gas}^{o, redox}$ <sup>b</sup>	$\Delta G_{solv}^o(\text{Ox})$ <sup>b</sup>	$\Delta G_{solv}^o(\text{Red})$ <sup>b</sup>	$\Delta G_{solv}^{o, redox}$ <sup>b</sup>	$E^\circ$ (V/ENH) <sup>c</sup>	HOMO <sup>d</sup>	LUMO <sup>d</sup>
<b>I</b>	-569.827	-183.765	-23.179	-409.240	<b>-0.359</b>	-4.88	0.35
<b>Fc</b>	-682.689	-177.572	-3.792	-508.910	<b>0.674<sup>e</sup></b>	-5.13	0.22
<b>M</b>	-693.982	-203.189	-38.038	-528.831	<b>0.881</b>	-5.36	-0.40
<b>H</b>	-702.487	-196.063	-26.068	-532.492	<b>0.919<sup>f</sup></b>	-5.49	-0.94

<sup>a</sup> Nivel del cálculo (DFT/B3LYP/6-31+G\*), <sup>b</sup> (kJ·mol<sup>-1</sup>), <sup>c</sup> ENH en CH<sub>3</sub>CN de 4.6 V<sup>42</sup>, <sup>d</sup> (eV), <sup>e</sup> EXP 0.650 V<sup>43</sup>, <sup>f</sup> EXP 1.026 V.<sup>44</sup>

Los valores calculados del potencial redox para ferroceno y tres derivados de éste, con grupos funcionales estratégicos de la serie electroquímica (esquema 8.3), predicen un comportamiento similar a lo experimentalmente observado; que el potencial redox se incrementa conforme aumenta el efecto electroattractor del grupo funcional directamente enlazado y viceversa (tabla 8.4).<sup>31,45</sup> Es importante destacar que los grupos funcionales empleados para el cálculo no poseen contribución aromática alguna, por lo que no se puede asegurar que el mismo comportamiento ocurra con las ferrocenil quinazolinas diseñadas; sin embargo, podemos describir correlaciones. Si graficamos los valores de energía de los orbitales HOMO, LUMO y su diferencia (band gap) con respecto al potencial redox teórico calculado, se obtiene que, a mayor energía del orbital HOMO o LUMO, el potencial redox se abate, al igual que si aumenta el band gap (figura 8.9). Estas tendencias cumplen de manera generalizada con el teorema de Koopmans, el cual establece que la primera energía de ionización de un sistema molecular es igual al negativo de la energía del orbital molecular más alto ocupado (HOMO), y por extensión la energía de afinidad electrónica es igual al negativo de la energía del orbital molecular más

bajo ocupado (LUMO).<sup>41</sup> Y aunque las condiciones para la determinación de las energías de ionización y afinidad electrónica, comparadas con los potenciales de oxidación y reducción respectivamente, no son las mismas, se puede hacer una aproximación equivalente puesto que comparten en común el fenómeno de transferencia electrónica. Esta aproximación tiene como finalidad, hallar un descriptor molecular predictivo, por lo que, para la serie de cuatro compuestos estudiados, se puede decir que la mejor correlación se presenta comparando la energía del orbital HOMO con el potencial redox. Las dos correlaciones restantes,  $E_{LUMO}$  VS  $E^\circ$  y  $\Delta E_{HOMO-LUMO}$  VS  $E^\circ$ , marcan una tendencia; sin embargo, los parámetros calculados para 1-aminoferroceno (**I**) tienden a desviarlo del comportamiento lineal, en comparación con ferroceno (**Fc**), 1-(aminocarbonil)ferroceno (**M**) y 1-acetilferroceno (**H**), que se ajustan mejor en todos los casos (figura 8.9).

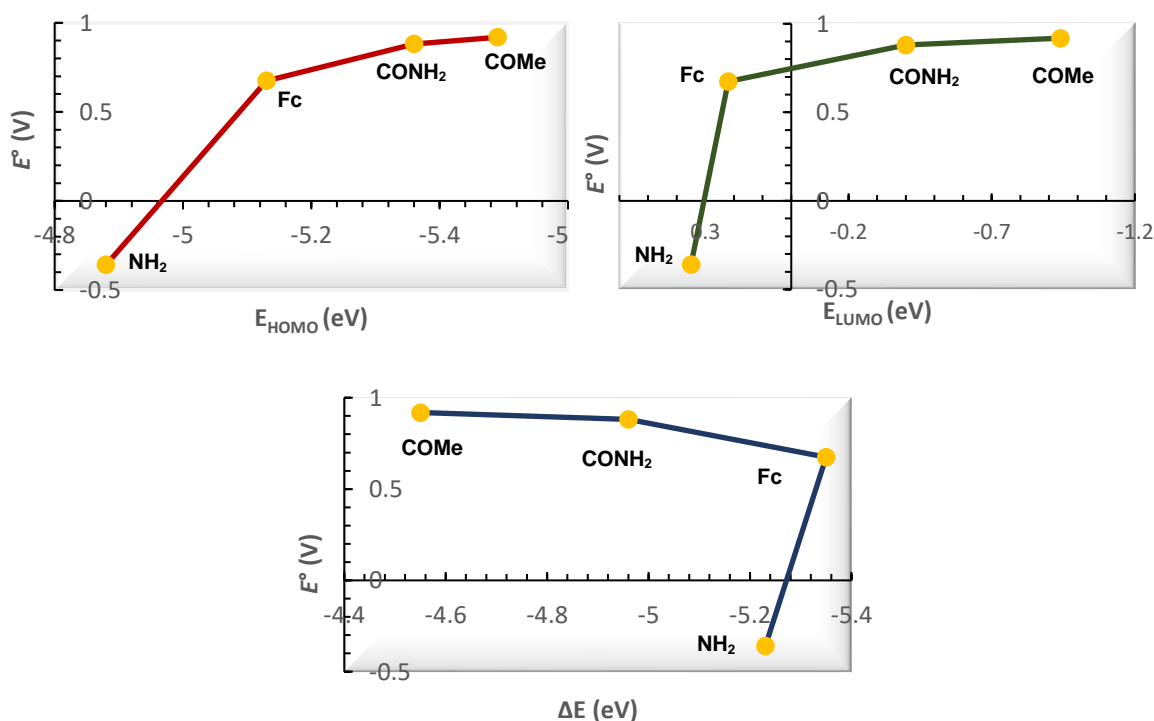
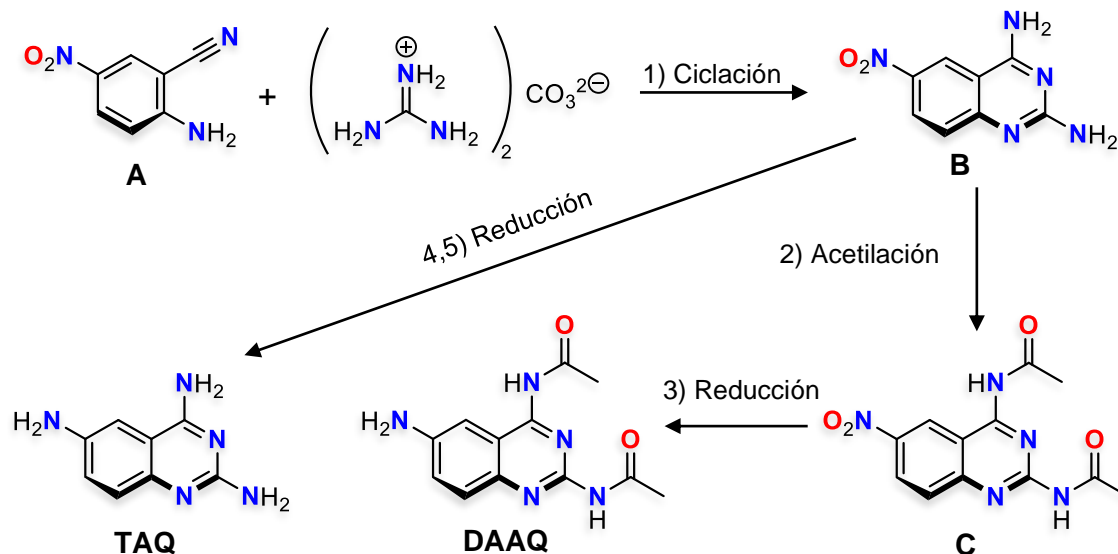


Figura 8.9 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs  $E^\circ$  de derivados monofuncionalizados de ferroceno.

## 8.2 Síntesis química y caracterización instrumental

### 8.2.1 Obtención de derivados heterocíclicos

#### 8.2.1.1 Síntesis de TAQ y DAAQ



Esquema 8.4 Ruta sintética de TAQ y DAAQ.

Tabla 8.5 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de TAQ y DAAQ.

Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	[C(NH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , KOH	EtOH/ <i>i</i> -PrOH (1:2)	90	8	84.9
2 <sup>b</sup>	Anhídrido acético		100	5	64.7
3 <sup>c</sup>	H <sub>2</sub> , Pd/C [Cat]	MeOH	t. a.	0.5	94.3
4 <sup>d</sup>				1	93.9
5 <sup>e</sup>	NH <sub>4</sub> HCO <sub>2</sub> , Pd/C [Cat]		70	1	75.1

<sup>a</sup> 3.22 mmol de **A**, 3.86 mmol de KOH y 13 mL de la mezcla disolvente. <sup>b</sup> 2.44 mmol de **B**, 10 mL de anhídrido acético. <sup>c</sup> 3.51 mmol de **C**, 100 mg Pd/C 10 % en 150 mL de MeOH. <sup>d</sup> 2.44 mmol de **B**, 50 mg de Pd/C 10 % en 150 mL de MeOH. <sup>e</sup> 2.20 mmol de **B**, 19.8 mmol de formiato de amonio, 45 mg Pd/C 10 % en 50 mL de MeOH.

La síntesis de los sintones nucleofílicos **TAQ** y **DAAQ** involucrados en la mayoría de las rutas para la obtención de las ferrocenil quinazolininas, se efectuó bajo un protocolo anteriormente estudiado en nuestro grupo de investigación (esquema 8.4).<sup>28,29</sup>



#### 8.2.1.1.1 Reacción (1) de ciclación y (2) de acetilación

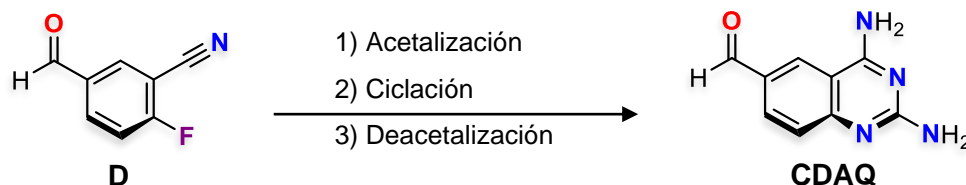
De la reacción de ciclación se destaca que las condiciones descritas son favorables, siempre que no se exceda ni disminuya la cantidad de base, porque de lo contrario no evoluciona de manera eficiente hacia el producto deseado **B**, ya sea por la formación de subproductos en el caso de un medio extremadamente alcalino o que no proceda por la falta de álcali. Por otra parte, en el trabajo final de la reacción es determinante eliminar las sales de carbonato remanentes mediante lavados exhaustivos con agua, seguido del secado del sólido aislado, porque experimentalmente la reacción de acetilación que continúa dentro de la ruta se ve disminuida en rendimiento.

#### 8.2.1.1.2 Reacciones (3-5) de reducción

La reducción de **C** para obtener **DAAQ** por medio de una hidrogenación catalítica, resulta ser un buen método, pero se debe mantener la relación de tiempo y concentración especificados. Conforme más tiempo se deje evolucionar la hidrogenación, más eventos de desacetilación ocurren. Lo mismo sucede si se lleva a cabo la reacción en alta concentración, e incluso si se calienta. Estos factores describen con claridad la labilidad de los acetilos como grupos protectores en posiciones 2 y 4 de la **TAQ**. La contribución favorable de esta protección química es que estabiliza a la triamino quinazolina en forma de acetamida (**DAAQ**), facilitando su aislamiento y almacenamiento por un periodo prolongado de tiempo en comparación a la **TAQ**, que resulta ser inestable a las condiciones normales de laboratorio. Para la obtención de **TAQ**, se hicieron dos diferentes experimentos (reacciones 4 y 5, tabla 8.5) con la finalidad de hallar las condiciones favorables para su síntesis. La reacción (4) de hidrogenación, equivalente a la realizada con **C** y aplicada con **B**, procede de manera cuantitativa; sin embargo, la **TAQ** se obtiene con productos de descomposición, generados durante el tiempo que se mantuvo en alta dilución. En contraparte, la reacción 5, es el resultado de una optimización que cambia la fuente reductora y la concentración de la mezcla reactiva, con un aumento en la temperatura para lograr solubilizar totalmente el material orgánico **B** y su posterior enfriamiento para precipitar el producto de reducción, dejando en el

disolvente los subproductos inevitables en la síntesis de **TAQ**. Es así como, a pesar de la disminución en el rendimiento de esta última reacción (5), comparada con la (4), se logra aislar **TAQ** pura, sin la presencia de subproductos, e inclusive estable en almacenamiento con atmósfera de nitrógeno.

### 8.2.1.2 Síntesis de **CDAQ**



Esquema 8.5 Proceso de síntesis de **CDAQ**.

Tabla 8.6 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **CDAQ**.

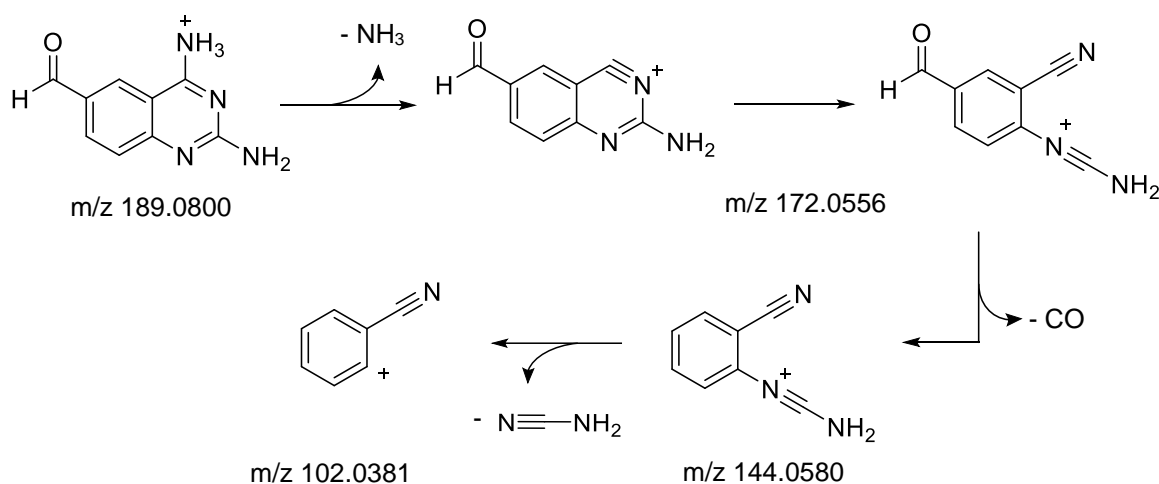
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	TMOF, PTSA [Cat]	MeOH	60	12	<b>85.3</b>
2 <sup>b</sup>	[C(NH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , TEA	DMA	140	16	
3 <sup>c</sup>	HCl	H <sub>2</sub> O	t. a.	1	

<sup>a</sup> 0.67 mmol de **D**, 0.39 mmol de TMOF y 1 mL de MeOH. <sup>b</sup> 0.33 mmol de carbonato de guanidina, 100  $\mu$ L TEA y 2 mL de DMA. <sup>c</sup> 5 mL de HCl 36 %.

Para la obtención de **CDAQ**, fue necesario como primer paso, efectuar la protección del grupo carbonilo en el compuesto **D** para evitar la condensación de guanidina en la reacción (2) de ciclación (esquema 8.5). El crudo de la reacción (1) resultó particularmente útil para llevar a cabo la ciclación, evitando así el proceso de purificación. A partir del análisis cromatográfico de las reacciones (1) y (2), se observó una transformación total de las materias primas y una evolución cuantitativa de la reacción (3), hecho que se ve reflejado en un rendimiento global del 85.3 %.

### 8.2.1.2.1 Análisis instrumental

La elucidación estructural de **CDAQ** comenzando por su análisis mediante espectrometría de masas, muestra una señal monoisotópica  $[M+H]^+$  a un  $m/z$  de 189.0800, correspondiente al pico base y que se ajusta a la masa molecular del compuesto (esquema 8.6). Particularmente el patrón de fragmentación coincide con el perfil de quinazolinocarboxaldehído, debido a las pérdidas de monóxido de carbono, amoníaco y cianamida, característicos estos últimos dos del sistema quinazolin-2,4-diamina.<sup>46</sup>



Esquema 8.6 Patrón de fragmentación de **CDAQ**.

Mediante resonancia magnética nuclear de  $^1H$  se logran identificar las cuatro señales más características de **CDAQ**, que son las debidas al grupo funcional aldehído a campo bajo en 9.94 ppm, y las del anillo bencénico en posiciones 5 (a 8.95 ppm), 7 (doblete a 8.16 ppm) y 8 (doblete a 7.53 ppm). En cuanto a la RMN- $^{13}C$ , el patrón de señales (figura 8.10) debidas al arreglo de los 6 átomos de carbono que componen al núcleo de quinazolina con sustituyentes tipo amina o amida en posiciones 2, 4 y 6, se conserva. Sumando para completar su caracterización, la señal a 190.9 ppm debida al carbono carbonílico en posición 6 (tabla 8.7).

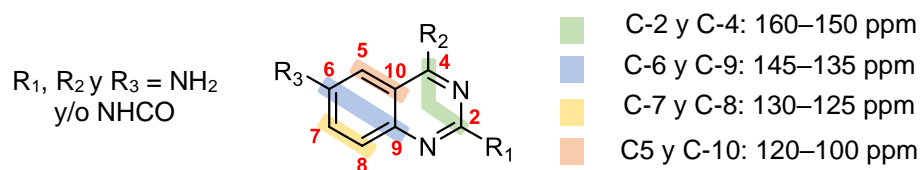
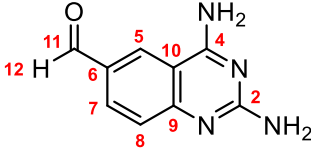


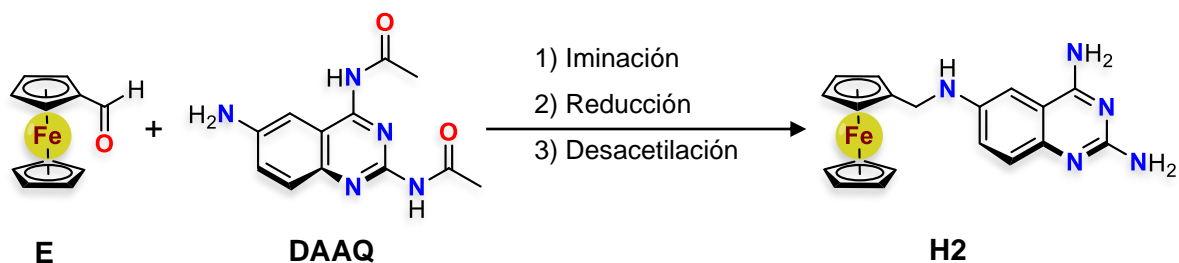
Figura 8.10 Patrón de respuesta observado en RMN- $^{13}\text{C}$  de quinazolininas trisustituídas en posiciones 2, 4 y 6.

El patrón de señalización anteriormente comentado, es una conclusión a la que se llega tras analizar en reportes de tesis, las espectroscopias de RMN de compuestos tipo quinazolina obtenidos en nuestro grupo de investigación.<sup>47–50</sup> Particularmente en el análisis de las señales se observa un comportamiento de tipo *pareado*; esto es, el registro en grupos de dos señales debidas a los carbonos cuaternarios en posiciones 2 y 4 a campo bajo (160–150 ppm), seguido de aquellos en posiciones 6 y 9 en dirección de campo alto (145–135 ppm) después a los hallados en 7 y 8 (130–125 ppm); y finalmente los debidos a las posiciones 5 y 10 (120–100 ppm).

Tabla 8.7 Resultados de análisis instrumental.	
Compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>CDAQ</b> P. M. = 188.19 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (m/z): 189.0800 [M+H]<sup>+</sup>. (Espectro 12.3).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3333, 3162 (NH<sub>2</sub>); 2862, 1380, 1340 (CO-H); 1648 (C=O); 1618, 1502, 1407 (C=C y C=N ar); 1207, 1087 (C-H ar). (Espectro 12.4).  <b>RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 9.94 (s, 1H, H-12); 9.20 (s, 1H, NH-2); 8.84 (s, 1H, NH-2); 8.95 (s, 1H, H-5); 7.94 (s, 2H, NH-4); 8.16 (d, <i>J</i> = 9.8 Hz, 1H, H-7), 7.53 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 1H, H-8). (Espectro 12.1).  <b>RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, DMSO-<i>d</i><sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 190.85 (C-11), 163.06 (C-4), 156.26 (C-2), 145.12 (C-9), 133.87 (C-6), 131.43 (C-7), 129.13 (C-8), 118.56 (C-10), 109.58 (C-5). (Espectro 12.2).</p>

## 8.2.2 Obtención de ferrocenil quinazolinas

### 8.2.2.1 Síntesis de H2



Esquema 8.7 Proceso de síntesis de H2.

Tabla 8.8 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de H2.

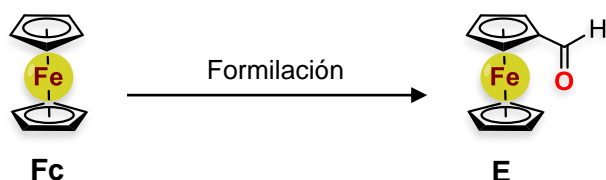
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	AcOH [Cat]	EtOH/DMF (1:2)	90	24	65.0
2 <sup>b</sup>	NaBH <sub>4</sub>	MeOH	0 – t.a.	24	
3 <sup>c</sup>	HCl	H <sub>2</sub> O	t. a.	5	

<sup>a</sup> 2.34 mmol E, 2.84 mmol DAAQ en 10 mL de DMF y 5 de EtOH. <sup>b</sup> 7.02 mmol de borohidruro de sodio, 12 mL de MeOH. <sup>c</sup> 5 mL de HCl 36 %.

La estrategia de aminación reductiva en la que se basó la síntesis de H2 es factible para su obtención, específicamente bajo las condiciones de reacción descritas (esquema 8.7), con particular relevancia del disolvente en el paso de iminación (tabla 8.8). La DAAQ es poco soluble en MeOH y EtOH, característica por la que se requieren condiciones de calentamiento a reflujo y alta dilución para solubilizarla. Por esta razón, experimentos llevados a cabo en presencia de alcoholes como disolvente se descartaron y se optó por mantener completamente soluble a la quinazolina. Se usó DMF para la formación de una disolución con DAAQ a temperatura ambiente. Una vez resuelta la insolubilidad de nucleófilo, la reacción evolucionó favorablemente siempre que no se rebasara una temperatura de 100 °C; ya que, a partir de este valor se observa la descomposición del material ferrocénico. Otro aspecto importante que se debe señalar es el fenómeno de desacetilación en posiciones 2 y 4 de la TAQ, que aconteció en todos los procesos de iminación efectuados, liberándose siempre como primer paso la triamino quinazolina. A pesar de la desprotección *in situ* de los grupos amino en posición 2 y 4 en la DAAQ, la

reacción de iminación se llevó a cabo de manera regioselectiva en posición 6 de la **TAQ**. Estos resultados indican una baja nucleofilia en los aminos de 2 y 4 en comparación a 6, de tal forma que no son susceptibles para la formación de posibles subproductos en reacciones de condensación.

### 8.2.2.1.1 Síntesis de E



Esquema 8.8 Formilación de **Fc**.

Tabla 8.9 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **E**.

Condiciones <sup>a</sup>				R (%)
Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
DMF, POCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub>	60	7	<b>25.4</b>

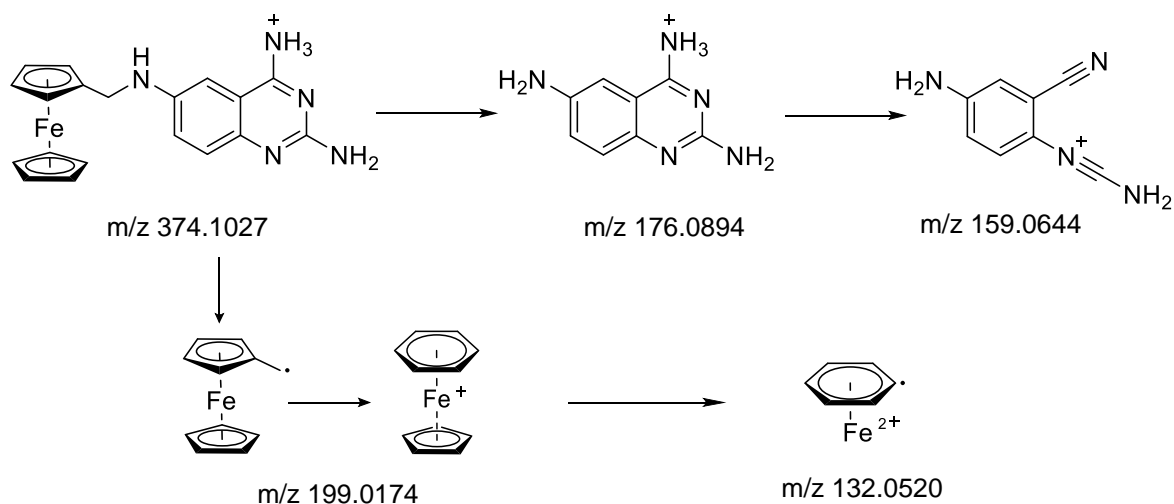
<sup>a</sup> 27.49 mmol de **Fc**, 110.1 de POCl<sub>3</sub>, 15 mL de DMF y 55 de CHCl<sub>3</sub>.

La formilación de **Fc** para la obtención de **E** por medio de la reacción Vilsmeier-Haack (esquema 8.8), evolucionó con bajo rendimiento, específicamente bajo las condiciones descritas (tabla 8.9). Sin embargo, no se hicieron experimentos para la optimización de este proceso, dado el interés particular de solo obtener la molécula **H2** como referencia de estudio. Para su identificación se contó con una muestra comercial como referencia, con la que se comparó empleando un análisis por CCF (R<sub>f</sub>) y su punto de fusión.

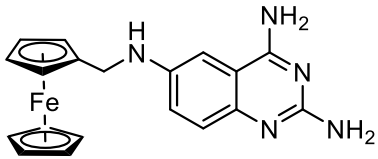
#### 8.2.2.1.1.1 Análisis instrumental

Para corroborar la obtención del producto **H2** se contó con una muestra de una síntesis previa. Se llevó el análisis por EM e IR, el primero para corroborar la composición química y el segundo para la identificación de ferroceno en la estructura del compuesto obtenido (tabla 8.10).

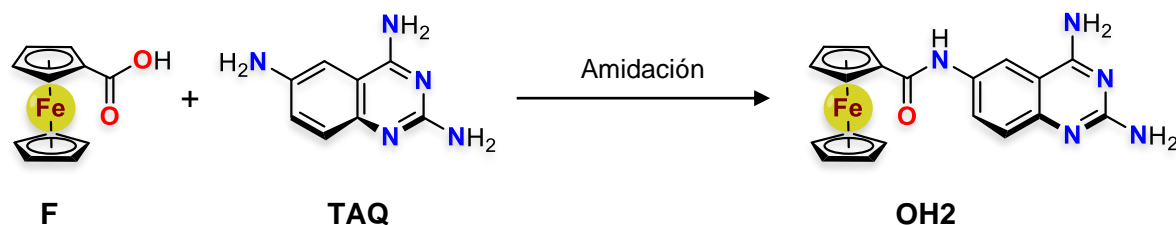
De la espectrometría de masas se obtiene un pico base cuya masa monoisotópica  $[M+H]^+$  coincide con la masa molecular del compuesto esperado. En el patrón de fragmentación se encuentran señales características debidas a la **TAQ** y **Fc** (esquema 8.9).



Esquema 8.9 Fragmentos de descomposición identificados para **H2**.

Tabla 8.10 Resultados de análisis instrumental.	
Compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>H2</b> P. M. = 373.24 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (<math>m/z</math>): 374.1027 <math>[M+H]^+</math>. (Espectro 12.5).</p> <p><b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3413, 3303, 3088 (NH<sub>2</sub>); 1920, 1762 (Ar); 1650, 1565, 1525 (C=C y C=N<sub>Ar</sub>); 1096 (Cp); 822, 484 (Fe-Cp). (Espectro 12.6).</p>

### 8.2.2.2 Síntesis de OH2



Esquema 8.10 Reacción de amidación para la síntesis de OH2.

Tabla 8.11 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de OH2.

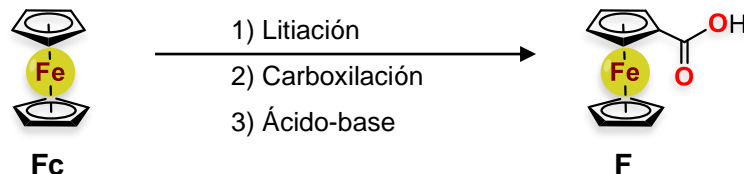
Condiciones <sup>a</sup>				R (%)
Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
HBTU, TEA DMAP [Cat]	DMF	80	14	<b>26.0</b>

<sup>a</sup> 0.93 mmol de **F**, 1.17 mmol de HBTU, 1.11 mmol de **TAQ**, 0.09 mmol de DMAP en 14 mL de DMF.

Para la síntesis de **OH2**, basados en la reacción de amidación a partir de la **TAQ** y el ácido 1-ferrocencarboxílico (**F**) (esquema 8.10), se llevó a cabo mediante la activación del carboxilato para la sustitución nucleofílica acílica (S<sub>N</sub>Ac) con el agente HBTU (hexafluorofosfato de benzotriazol tetrametil uronio). Para llegar a esta conclusión, primero se hicieron ensayos con CDI (carbonildiimidazol) y (COCl)<sub>2</sub>/DMF como agentes activantes. En ambos casos, la transformación de **F** no ocurrió cuantitativamente, incluso con exceso de reactivos. Bajo tales condiciones se procedió a la adición de **DAAQ** para efectuar la reacción de amidación, pero ésta no ocurrió de nuevo en ambos casos, ni siquiera empleando calentamiento; sin embargo, lo que se llevó a cabo fue la desacetilación del precursor nucleofílico para la formación de **TAQ**. Con estos resultados se procedió con el tercer y último agente activante, HBTU. En este caso, la transformación del ácido fue total, a temperatura ambiente y en cuestión de minutos. Como precursor nucleofílico para las condiciones optimizadas, se decidió emplear directamente **TAQ**, porque la desacetilación de la **DAAQ** siempre ocurre como paso anterior a la formación de la amida de interés; formándose un solo producto.



### 8.2.2.2.1 Síntesis de F

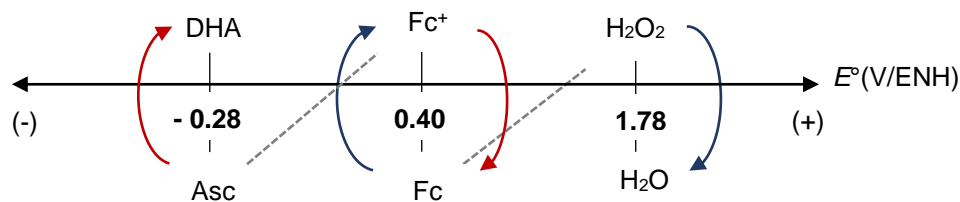


Esquema 8.11 Proceso de síntesis de F.

Tabla 8.12 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de F.					
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	<i>t</i> -BuLi, <i>t</i> -BuOK	THF	-78	3	48.9
2 <sup>b</sup>	CO <sub>2</sub>		t.a.	1.5	
3 <sup>c</sup>	HCl	H <sub>2</sub> O	t. a.	5	

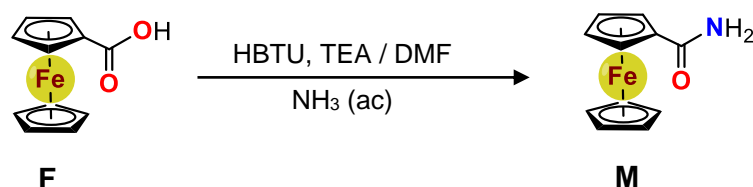
<sup>a</sup> 10.62 mmol de Fc, 21.25 mmol de *tert*-butil litio, 1.1 mmol de *tert*-butóxido de potasio en 90 mL de THF. <sup>b</sup> CO<sub>2</sub> en exceso. <sup>c</sup> HCl (conc).

La síntesis del ácido 1-ferrocencarboxílico (F) a partir de Fc (esquema 8.11), fue la única forma de poder obtener el sintón electrofílico para la síntesis de OH2. Como primeras aproximaciones para la síntesis de F se realizaron pruebas de oxidación de 1-formilferroceno (E) bajo condiciones de reacción tipo Tollens (con sales de plata), Fehling (sales de cobre) y Baeyer-Villiger (con MCPBA); además se trató de llevar a cabo la oxidación de acetilferroceno (H) mediante la reacción del haloformo, con los hipohalogenitos de cloro, bromo y yodo.<sup>51,52</sup> Todas ellas resultaron infructíferas, principalmente por problemas de solubilidad del compuesto organometálico, ya que en la mayoría de las reacciones se empleó agua o bien una mezcla agua-disolvente orgánico como medio de reacción. Para el caso particular de la oxidación de E con peróxido, se esperaba que la subunidad metalocénica se oxidase primero seguido del carbonilo tipo aldehído; procediendo en el trabajo de reacción a la reducción selectiva de ferricinio con ácido ascórbico como agente reductor (esquema 8.12).<sup>53</sup>



Esquema 8.12 Escala de potencial redox.

### 8.2.2.2.2 Síntesis de M



Esquema 8.13 Reacción de amidación de F.

Tabla 8.13 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de OH2.

Condiciones <sup>a</sup>				R (%)
Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
HBTU, TEA, NH <sub>3</sub>	DMF	t. a.	1	<b>95.2</b>

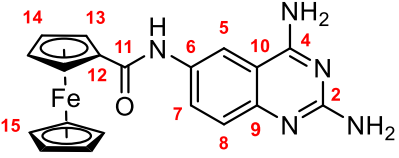
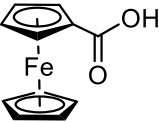
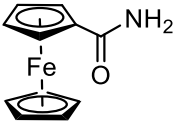
<sup>a</sup> 0.87 mmol de F, 1.13 mmol de HBTU, 8 mL de DMF, 0.2 mL de TEA y 1 mL de NH<sub>3</sub> (conc).

El 1-(aminocarbonil)ferroceno (**M**) se sintetizó inicialmente con el propósito de estudiar las condiciones experimentales de amidación con **F** y optimizar así la síntesis de **OH2**, debido a la activación incompleta y la baja reactividad del intermediario en el paso de sustitución nucleofílica (sección 8.2.2.2). Sin embargo, como resultado del análisis electroquímico de las ferrocenil quinazolininas, fue necesaria su síntesis para la construcción de la serie electroquímica con derivados de ferroceno monofuncionalizados (sección 8.3.1). En comparación al proceso de amidación con **TAQ**, esta reacción se llevó a cabo de manera eficiente, tanto en tiempo como en rendimiento (esquema 8.13), por lo que la diferencia entre la amidación con amoníaco y **TAQ** radica en la nucleofilia de ambas especies porque el intermediario reactivo tipo *benzotriazoilo* es el mismo.

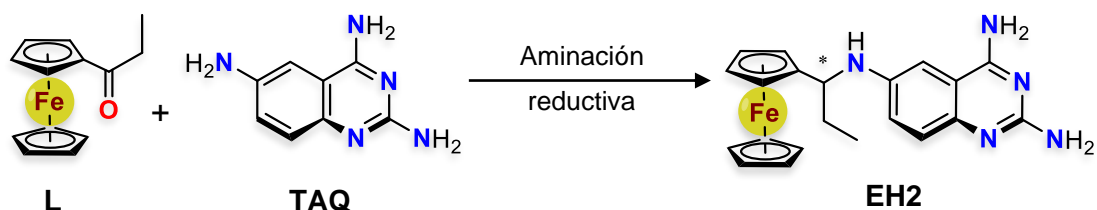
#### 8.2.2.2.1 Análisis instrumental

Los resultados por EM concuerdan con la masa molecular del producto deseado, tomando como base la señal del ion monoisotópico [M<sup>+</sup>] a un valor m/z de 387.0965 y [M+2H]<sup>+</sup> a 389.0637. Ahora bien, los resultados de RMN-<sup>1</sup>H, muestran las señales características del sistema heterocíclico debidas a los hidrógenos en posiciones 5, 7 y 8 a desplazamientos químicos de 8.53, 6.97 y 8.08 ppm respectivamente (tabla 8.14). Otra señal característica de este compuesto, es la debida al hidrógeno del

grupo amida a un desplazamiento de 7.31 ppm; valor típico en ferrocenamidas.<sup>54</sup> Asimismo las señales a 5.02, 4.53 y 4.28 ppm identifican a la subunidad de ferroceno, con un patrón de intensidades relativas 2:2:5 que sugieren una disposición con un solo grupo funcional directamente enlazado, en este caso de carboxamida por sus desplazamientos. De la RMN-<sup>13</sup>C se destacan las señales debidas al carbono carbonílico de tipo amida a 172.4 ppm, las asociadas al metaloceno 76.26, 72.52, 69.86 (Cp) y 71.00 (Cp') y las debidas al anillo heterocíclico, con particular interés en los carbonos cuaternarios de las posiciones 2, 4 y 6. Con base en los resultados la señal debida a (C-6) se desplaza a campo alto de 137.8 ppm en comparación al valor que presenta si se mantiene el grupo amino libre, que es de alrededor de 145 ppm. Y con respecto a los (C-4 y 2) estos mantienen su desplazamiento a 165.2 y 159.1 ppm, que a diferencia de sus homólogos pero con funcionalización tipo amida en estas posiciones, se ven desplazados a campo alto de 156.1 y 150.1 ppm respectivamente.<sup>48,49</sup>

Tabla 8.14 Resultados de análisis instrumental	
Compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>OH2</b> P. M. = 387.22 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (m/z): 387.0965 [M<sup>+</sup>]. (Espectro 12.9).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3347, 3222, 3100(-NH<sub>2</sub>); 1645(C=O); 1525(CON-H); 1626, 1574(C=C y C=N<sub>ar</sub>); 1281, 1217(C-H<sub>ar</sub>); 1142(Cp); 835, 482(Fe-Cp). (Espectro 12.10).  <b>RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, MeOD)</b> δ (ppm): 8.53 (s, 1H, H-5); 8.08 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H-8); 7.93 (m, 2H, NH-4); 7.77 (m, 2H, NH-2), 7.31 (s, 1H, CONH-6), 6.97 (d, J = 7.2 Hz, 1H, H-7), 5.02 (s, 2H, H-13), 4.53 (s, 2H, H-14), 4.28 (s, 5H, H-15). (Espectro 12.7).  <b>RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, MeOD)</b> δ (ppm): 172.39(C-11), 165.19(C-4), 159.08(C-2), 140.10(C-9), 137.78(C-6), 130.43(C-7), 115.71(C-8), 113.16(C-10), 108.21(C-5), 76.26(C-12), 72.52(C-14), 71.00(C-15), 69.86(C-13). (Espectro 12.8).</p>
 <p><b>F</b>, P. M. = 230.04 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 2972, 2893(-OH); 1652(C=O); 1473, 1159, 1028(Cp); 825, 479(Fe-Cp). (Espectro 12.11).</p>
 <p><b>M</b>, P. M. = 229.06 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 229.123 [M<sup>+</sup>]. (Espectro 12.12).</p>

### 8.2.2.3 Síntesis de EH2



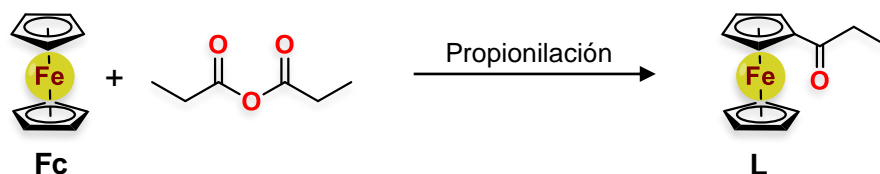
Esquema 8.14 Proceso de síntesis de **EH2**.

Tabla 8.15 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de <b>EH2</b> .					
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	AcOH [Cat]	EtOH/DMF (1:2)	90	72	<b>0</b>
2 <sup>b</sup>	HCl [Cat]				

<sup>a</sup> 1.76 mmol de **L**, 2.64 mmol de **TAQ** en 10 mL de DMF, 5 de EtOH y 5 gotas de AcOH (conc). <sup>b</sup> Mismas cantidades que la reacción 1, y 3 gotas de HCl (conc).

La síntesis de **EH2** no dio resultados bajo la estrategia de aminación reductiva (esquema 8.14), equiparable a la efectuada para sintetizar **H2**. El único cambio para el ajuste de las condiciones de reacción optimizadas en la ruta de (**H2**) (sección 8.2.2.1) fue el uso de dos diferentes ácidos como catalizadores (tabla 8.15). Particularmente con ácido acético se dio la formación de un producto, mismo que se aisló para su caracterización. Los resultados preliminares por EM indicaron una posible acetilación de la **TAQ**; hecho que se corroboró después mediante estudios por RMN (sección 8.2.2.3.1.1). Para este último análisis, la muestra se aisló de manera estratégica de un experimento realizado con **TAQ**, la cual fue sometida a las mismas condiciones de iminación, sin **L** y con un exceso de ácido acético glacial. Ahora bien, considerando la evidencia experimental de la no formación del producto de iminación, se decidió hacer un experimento más empleando como precursor carbonílico en esta ocasión acetilferroceno (**H**) y manteniendo al sintón nucleofílico **TAQ**. Los resultados, al igual que con 1-propionilferroceno (**L**), fueron negativos a la iminación; por lo tanto, se concluye que las condiciones de reacción no son necesariamente inadecuadas, más bien se debe a la baja electrofilia y nucleofilia de los reactantes. Finalmente, con esta información y considerando el impacto que pudiera tener la falta de resultados de actividad biológica y electroquímicas respecto del planteamiento central del presente trabajo de tesis, se decidió abandonar la síntesis de **EH2**.

### 8.2.2.3.1 Síntesis de L



Esquema 8.15 Propionilación de **Fc**.

Tabla 8.16 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **L**.

Condiciones <sup>a</sup>				R (%)
Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
Anhídrido propiónico BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub> [Cat]	DCM	t. a.	5	<b>45.8</b>

<sup>a</sup> 10.76 mmol de **Fc**, 7.5 mL de anhídrido propiónico, 10 gotas de eterato de trifluoroboro al 7.5 M en 40 mL de DCM.

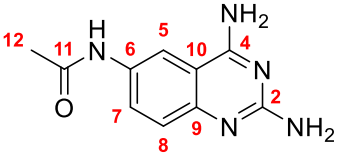
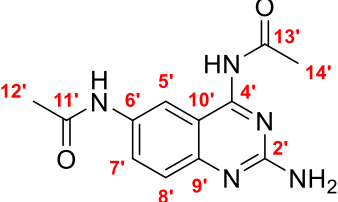
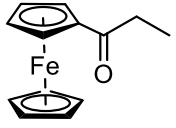
El 1-propionilferroceno (**L**), como precursor para la síntesis de **EH2**, se sintetizó a partir de **Fc** bajo condiciones de acilación tipo Friedel-Crafts (esquema 8.15), empleando como catalizador ácido de Lewis BF<sub>3</sub>. Las condiciones descritas (tabla 8.16) resultaron óptimas para la obtención de **L** con un rendimiento equiparable a los obtenidos en una acetilación convencional de **Fc** catalizada con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a calentamiento a reflujo de anhídrido acético.<sup>55</sup> También es importante mencionar, que se manipuló la temperatura y concentración; sin embargo no se observó ninguna mejoría al calentar la mezcla de reacción, pero sí una disminución en la formación del único subproducto, en condiciones de alta dilución.

#### 8.2.2.3.1.1 Análisis instrumental

La identificación del producto de acetilación en el proceso de síntesis para obtener **EH2** mediante EM se reconoce por medio de las señales de [M+H]<sup>+</sup> a un m/z de 260.1170 y 218.1062 que coinciden con las masas moleculares de las especies diacetilada y monoacetilada de la **TAQ**. De manera confirmatoria y para caracterización del compuesto tipo quinazolina, se llevó a cabo el estudio por RMN. La técnica NEOSY en particular fue requerida para elucidar mediante las interacciones de los hidrógenos de tipo amida, las posiciones de acetilación.

Como primer indicio para la identificación mediante RMN-<sup>13</sup>C, se reconoce la presencia de dos compuestos por la duplicación de señales a valores de desplazamiento químico muy cercanos (tabla 8.17), con patrones de respuesta tipo quinazolina (figura 8.10) y que además correlacionan con los resultados obtenidos por EM de una mono y diacetilación de la **TAQ**. Las señales en RMN-<sup>13</sup>C debidas a los grupos acetilo, aparecen a 23.7 y 21.5 ppm para los metilos, y a 168.4 y 166.4 ppm para los carbonilos. En RMN-<sup>1</sup>H se identificaron dos señales de hidrógenos tipo amida a 10.4 y 10.3 ppm, así como un desplazamiento de las señales debidas a hidrógenos aromáticos hacia campo bajo, indicio de la acetilación del grupo amino en posición 6; puesto que, bajo esta condición el sistema heterocíclico es más susceptible a la perturbación magnética. En este punto la correlación NOESY, indica una interacción de los hidrógenos tipo amida con hidrógenos que presentan señales dobles de dobles en dos especies distintas a desplazamientos químicos de 8.3 y 7.7 ppm, los cuales solamente se deben a H-7; por lo que de esta forma se ratifica la acetilación en posición 6. Y para definir el producto de diacetilación, considerando la primera transformación efectuada en 6, se atiende a la correlación entre hidrógenos de amidas, fenómeno que se puede presentar si la segunda acetilación ocurre en el amino en posición 4 de la **TAQ**. Esta evidencia experimental coincide con la reactividad de los últimos dos aminos libres en **ADAQ**, siendo el de la posición 4 ahora el más nucleofílico en comparación al de la posición 2. Tomando en cuenta las conclusiones anteriores, las señales debidas a carbonos cuaternarios en posiciones 4 y 6 de la **TAQ** deberían cambiar, desplazándose hacia campo alto, como ocurre experimentalmente para los carbonos en posiciones 2 y 4 de la **DAAQ**. Por lo tanto, al analizar los resultados obtenidos con respecto a los reportados para la **TAQ**, se llega a la conclusión de que efectivamente sufrieron tal desplazamiento, de 145.2 a 133.1 y 132.7 ppm para C-6 y de 161.4 a 157.0 ppm para C-4.<sup>48</sup>

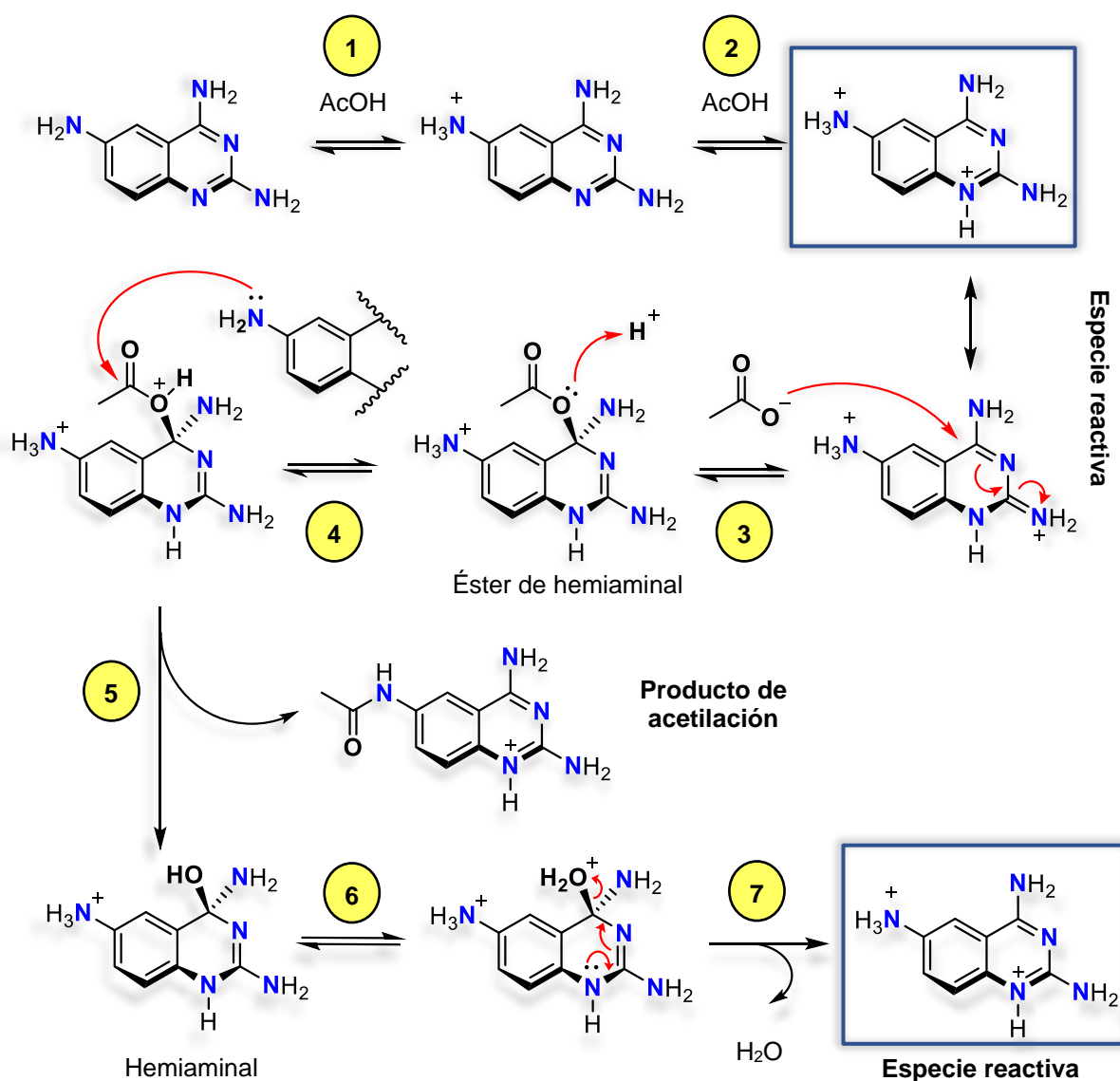
Tabla 8.17 Resultados de análisis instrumental.

Mezcla o compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>ADAQ</b> P. M. = 217.23 g·mol<sup>-1</sup></p>  <p><b>4,6-DAAQ</b> P. M. = 259.27 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (m/z): 260.1170 [M+H]<sup>+</sup>, 218.1062. (Espectro 12.36).</p> <p><b>EM, APCI+</b> (m/z): 274.1281 [M-H]<sup>+</sup>, 232.1086. (Espectro 12.37).</p> <p><b>RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 10.44 (s, 1H, CONH-6,6'); 10.28 (s, 1H, CONH-4'), 8.34 (d, J = 10.9 Hz, 1H, H-8'); 8.27 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-7'); 8.14 (s, 1H, H-5'); 7.77 (dd, J = 8.9, 2.2 Hz, 1H, H-7); 7.39 (s, 2H, NH-4), 7.33 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H-8); 7.30 (s, 2H, NH-2), 2.06 (s, 3H, H-14'), 1.89 (s, 3H, H-12,12'). (Espectro 12.33).</p> <p><b>RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 168.38 (C-13'), 166.36 (C-11,11'), 162.61 (C-4), 159.74 (C-2), 157.01 (C-4'), 156.68 (C-2'), 141.39 (C-9'), 140.69 (C-9), 133.06 (C-6'), 132.70 (C-6), 127.80 (C-8), 126.65 (C-8'), 120.91 (C-7'), 119.90 (C-7), 114.55 (C-5), 111.46 (C-10'), 109.95 (C-10), 109.54 (C-5'), 23.72 (C-14'), 21.52 (C-12). (Espectro 12.34).</p> <p><b>NOESY (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>) Interacción H-H:</b> (NH-6', H-7'); (NH-6', NH-4'); (H-7', H-8'); (NH-6, H-7); (H-7, H-8). (Espectro 12.35).</p>
 <p><b>L</b>, P. M. = 242.10 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 242.136 [M<sup>+</sup>] (Espectro 12.38).</p> <p><b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3101, 2978 (CH-Cp); 1668 (C=O); 1456, 1244, 1051 (Cp); 824, 482 (Fe-Cp). (Espectro 12.39).</p>

### 8.2.2.3.1.2 Propuesta de mecanismo de acetilación

Se propuso un probable mecanismo de reacción (esquema 8.16), que ayuda a explicar el proceso de acetilación de la **TAQ** en un medio con ácido acético, basados en la evidencia encontrada mediante EM, RMN y de reportes que describen la identificación de especies hidrato de la quinazolina en medio ácido.<sup>56</sup> Como primeros dos pasos (reacciones 1 y 2), ocurren equilibrios ácido-base con el amino en posición 6 y el nitrógeno heterocíclico N-1, originando la especie reactiva más abundante en condiciones ácidas según los diagramas de especiación predichos para triamino quinazolininas (sección 12.3). En este punto se propone la adición de la base acetato en posición 4 de la quinazolina (reacción 3), como lo hacen análogamente la molécula de agua y los aniones cianuro y sulfito en presencia de ácido clorhídrico, cianhídrico o bisulfito de sodio respectivamente. Tras la adición del anión acetato, se genera un intermediario del tipo *éster de hemiaminal*, que

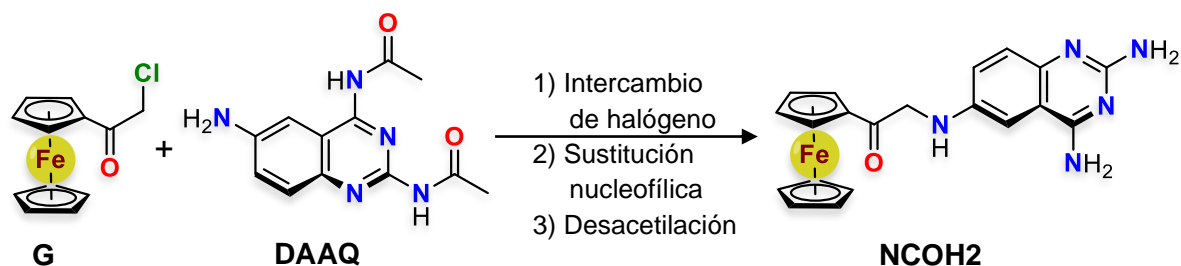
transfiere el grupo acilo a una segunda especie libre de protonación en amino 6 de **TAQ**, dando lugar a la acetilación y la formación de un hemiaminal (reacción 5). Este último intermediario, sufre una deshidratación bajo las condiciones ácidas del medio (reacciones 6 y 7), regenerando la especie reactiva (electrofílica) para una segunda adición del anión acetato; convirtiéndose automáticamente en un proceso catalítico.



Esquema 8.16 Propuesta de mecanismo de reacción para la acetilación de **TAQ**.



### 8.2.2.4 Síntesis de NCOH2



Esquema 8.17 Proceso de síntesis de **NCOH2**.

Tabla 8.18 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **NCOH2**.

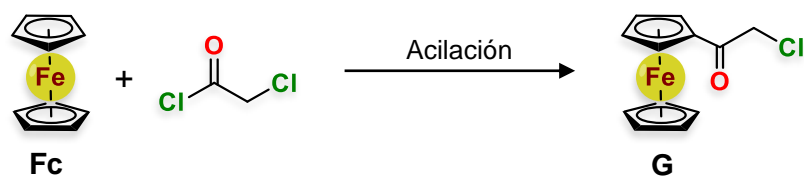
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	NaI	Acetona	60	18	48.2
2 <sup>b</sup>	Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF	50	16	
3 <sup>c</sup>	BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub>	MeOH	t. a.	1	

<sup>a</sup> 1.25 mmol de **G**, 12.5 mmol de NaI y 6.5 mL de acetona. <sup>b</sup> 1.25 mmol de **DAAQ**, 1.25 mmol de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 7 mL de DMF. <sup>c</sup> 3 gotas de eterato de trifluoroboro al 7.5 M en 5 mL de MeOH.

La síntesis de **NCOH2**, basada en la reacción de sustitución nucleofílica sobre **G** (esquema 8.17), procedió con un rendimiento global moderado para un proceso de 3 etapas. La primera reacción de intercambio de halógeno (Finkelstein) se realizó con la intención de activar la sustitución nucleofílica por efecto en la variación de reactividad debida al halógeno presente en la estructura. La segunda reacción, de sustitución, se llevó a cabo en DMF para garantizar por observaciones experimentales con la **DAAQ**, la solubilización integral del material reactivo, incluyendo al carbonato de cesio, empleado para neutralizar el ácido generado durante el proceso. En la sustitución nucleofílica se retomó el sintón **DAAQ**, para asegurar la funcionalización del grupo amino en posición 6 de la quinazolina; puesto que, a diferencia de los procesos para la síntesis de **H2**, **EH2** y **OH2**, estas nuevas condiciones no se habían estudiado, motivo por el cual se decidió emplear la protección en posiciones 2,4 del heterociclo. Tras el monitoreo por CCF, se identificó que la desacetilación de **DAAQ** solo ocurrió de manera parcial, y como consecuencia el perfil cromatográfico mostró en apariencia la formación de al menos tres productos de sustitución. Una vez realizada la desacetilación del material

orgánico en mezcla, empleando trifluoruro de boro disuelto en metanol (reacción 3, tabla 8.18), el perfil cromatográfico cambió ahora a ser un solo producto de reacción. Durante el aislamiento del producto de reacción, pudo reconocerse su inestabilidad, debido a que, en disolución su proceso de descomposición ocurrió en un periodo no mayor a 5 h, dejando como residuo un sólido oscuro, insoluble en disolventes orgánicos. Por esta característica particular de inestabilidad, su uso como prototipo farmacéutico se descartó y tuvo que replantearse la idea de sintetizar una nueva ferrocenil quinazolina con carbonilo en posición  $\alpha$  a ferroceno, que a diferencia de **NCOH2** pudiera ser estable con base en las evidencias experimentales del trabajo con aminoquinazolininas.

#### 8.2.2.4.1 Síntesis de G



Esquema 8.18 Reacción de acilación de **Fc**.

Tabla 8.19 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de <b>G</b> .				
Condiciones <sup>a</sup>				R (%)
Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
AlCl <sub>3</sub>	DCM	0 – t. a.	16	<b>11.8</b>

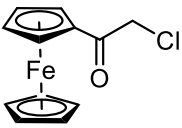
<sup>a</sup> 10.86 mmol de **Fc**, 10.75 mmol de AlCl<sub>3</sub>, 10.75 mmol de cloruro de cloroacetilo y 40 mL de DCM.

La reacción de acilación tipo Friedel-Crafts de **Fc** (esquema 8.18), en presencia del cloruro de cloroacetilo y tricloruro de aluminio, evolucionó en bajo rendimiento. La causa principal de esta evidencia experimental se debe al proceso de oxidación de **Fc** que ocurrió en todos los experimentos, anterior al proceso de acilación. La identificación del proceso de óxido-reducción, se dio por un vire en la coloración del sistema, cambiando de naranja a azul, tal como ocurre si exponemos una muestra de ferroceno en disolución acuosa con peróxido de hidrógeno. Para comprobar tal hipótesis, con una alícuota de la mezcla de reacción, se evaluó la susceptibilidad de reducción del posible ferricinio (**Fc<sup>+</sup>**) existente en el medio, adicionando ácido

ascórbico (**Asc**) como agente reductor. El resultado a la exposición con **Asc** fue la observación del revire en la mezcla de reacción pasando ahora de azul a naranja y comprobándose por CCF la regeneración de **Fc**. Por lo tanto, como medida para evitar la oxidación de **Fc** bajo las condiciones de acilación, se manipuló la temperatura y la concentración en el sentido de su disminución, esto es, baja temperatura y alta dilución.

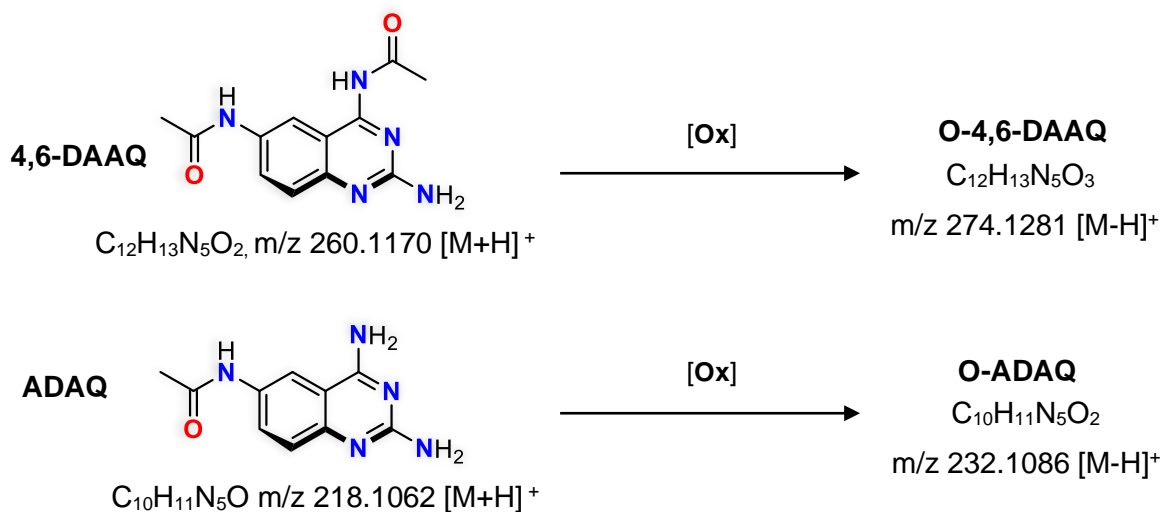
#### 8.2.2.4.1.1 Análisis instrumental

El producto **NCOH2** no fue posible caracterizarlo debido a su inestabilidad química. Por otro lado, para el sintón ferrocénico empleado, el 1-(cloroacetil)ferroceno (**G**), su caracterización por EM con el método de ionización por impacto electrónico muestra un pico base que coincide con su masa monoisotópica. De manera característica se obtiene una respuesta isotópica a un m/z de 262.111 y 264.101 de relación aproximada 3:1, característica en este compuesto por la presencia de un átomo de cloro en la estructura molecular (tabla 8.20). En cuanto a la asignación de bandas en IR, destacan las debidas a la elongación asimétrica del grupo carbonilo a  $1647\text{ cm}^{-1}$ , expansión-contracción de los anillos de ciclopentadienilo (Cp) a  $1240$  y  $1067\text{ cm}^{-1}$  y la flexión Fe-Cp a  $496\text{ cm}^{-1}$ .

Tabla 8.20 Resultados de análisis instrumental.	
Compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>G</b>, P. M. = <math>262.51\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}</math></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 262.111 [M<sup>+</sup>] 100 %, 264.101 [M+2] 28.79 %. (Espectro 12.18).</p> <p><b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (<math>\text{cm}^{-1}</math>): 3093, 2990, 2939 (CH-Cp); 1674 (C=O); 1449, 1240, 1067 (Cp); 823, 484 (Fe-Cp). (Espectro 12.19).</p>

### 8.2.2.5 Optimización de NCOH2

La evidencia experimental de estabilidad para dos diferentes derivados de quinazolina, **CDAQ** y **TAQ**, demuestra que solo la triaminoquinazolina resulta ser inestable a las condiciones normales de laboratorio, debido a probables eventos de oxidación (esquema 8.19 y tabla 8.17). Para el análisis por EM se empleó una muestra **ADAQ/4,6-DAAQ** que se expuso al aire durante una semana.



Esquema 8.19 Evidencia experimental de transformaciones oxidativas en derivados de la **TAQ**.

Debido a lo anteriormente expuesto, se propuso eliminar solo el grupo amino en posición 6 de la **TAQ** incorporada en la estructura original de **NCOH2** por su asociación con la inestabilidad en los derivados de la **TAQ**. Como resultado de esta propuesta, y tomando en cuenta además las materias primas con las que se disponía hasta el momento, para la síntesis de este nuevo derivado **COH2**, su aproximación retrosintética se basó en la reacción de condensación cruzada entre 1-acetilferroceno (**H**) y **CDAQ**, seguido de la reducción selectiva de la enona **ENCOH2**, producto de la condensación (sección 8.2.2.6).

### 8.2.2.5.1 Optimización del ligando COH2

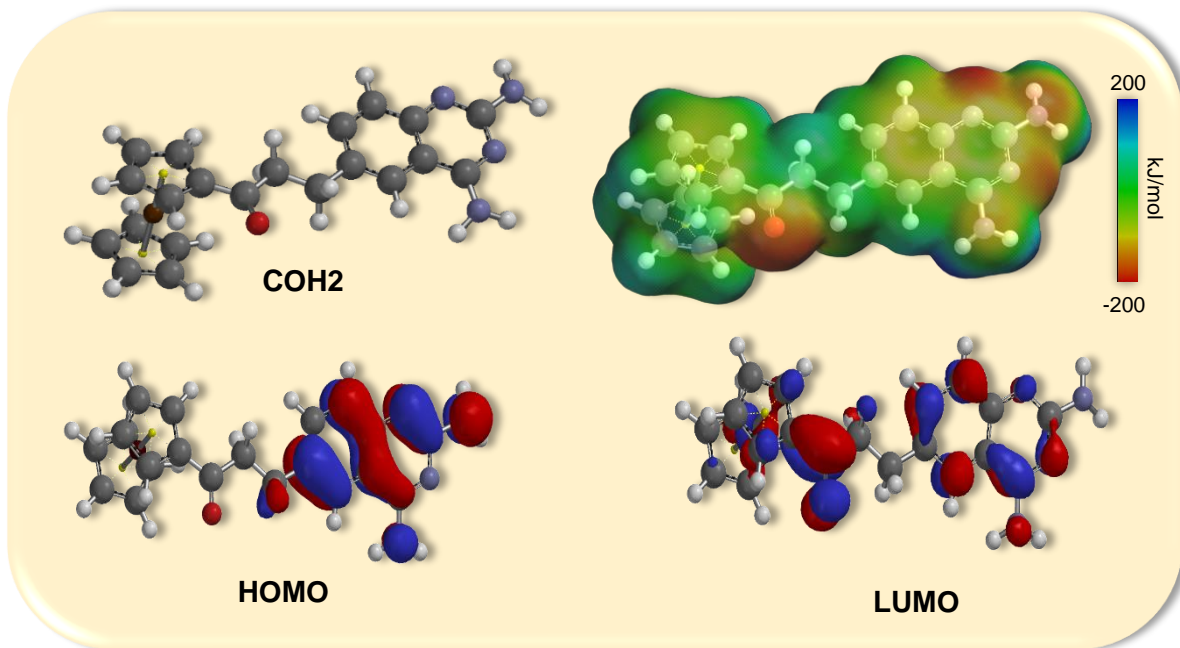


Figura 8.11 Estructura optimizada, orbitales frontera (HOMO-LUMO) y mapa de potencial electrostático de **COH2**.

Tabla 8.21 Energética de orbitales y potencial electrostático.

Compuesto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	$\Delta$ (eV)	$U_E$ (kJ·mol <sup>-1</sup> ) N-1 <sup>a</sup>	$U_E$ (kJ·mol <sup>-1</sup> ) N-3 <sup>a</sup>
<b>2H</b>	-5.30	-1.06	-4.24	-183.3	-135.3

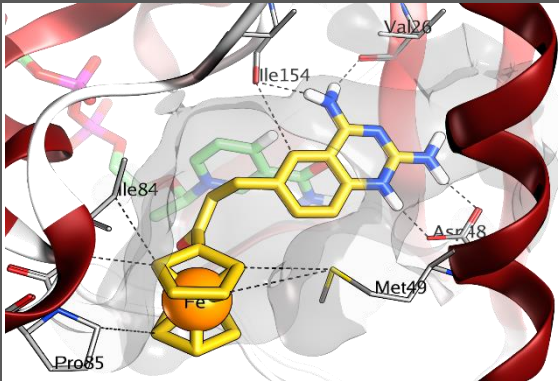
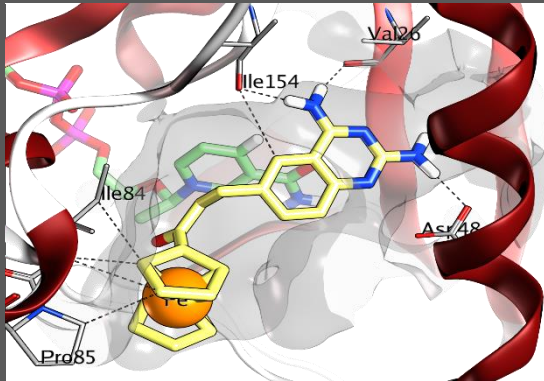
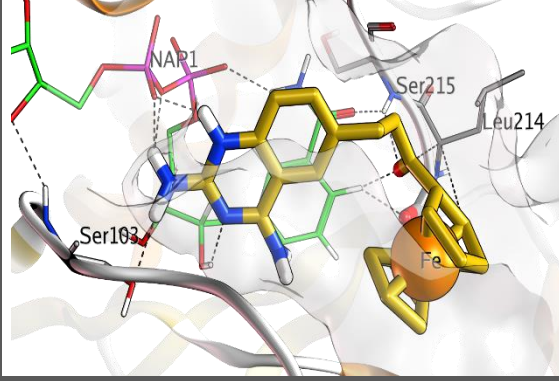
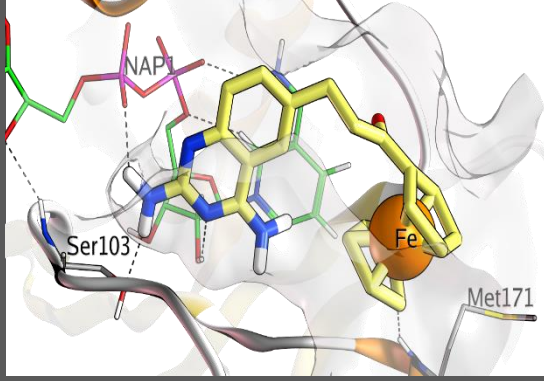
<sup>a</sup> Energía de potencial electrostático, IsoVal:0.002.

Una vez hecha la propuesta para la síntesis de **COH2** por efecto de la inestabilidad de **NCOH2**, se procedió con el estudio teórico de optimización de ligando y acoplamiento molecular, para describir la susceptibilidad de asociación con las dianas de interés *TcDHFR-TS* y *TcPTR2*.

De los resultados de la optimización geométrica de **COH2** (figura 8.11 y tabla 8.21), se observa que la tendencia en la distribución de los orbitales HOMO-LUMO sobre la estructura molecular del compuesto, es en dirección de la subunidad heterocíclica, tal como se esperaba en analogía a **NCOH2** que presentó un comportamiento similar por efecto del grupo carbonilo directamente enlazado a ferroceno. La energía de los orbitales frontera entre **COH2** y **NCOH2**, marca una ligera disminución en la energía de HOMO, un aumento en LUMO y como

consecuencia un aumento en la diferencia para la nueva molécula propuesta; por lo que con base los objetivos del proyecto, mantiene las características necesarias para sustituir a **NCOH2**, considerando únicamente sus propiedades como un posible agente reductor débil, para la construcción de la serie electroquímica con ferrocenil quinazolininas.

### 8.2.2.5.2 Acoplamiento molecular de COH2

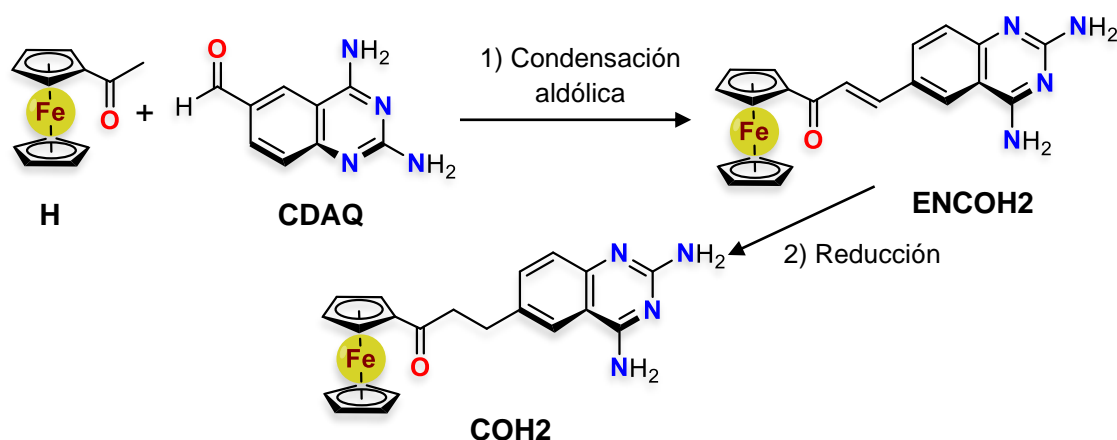
Tabla 8.22 Acoplamiento molecular de <b>COH2</b> .			
TCDHFR-TS (3INV, 2.37 Å)			
	$\Delta G = -9.77 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Cluster = 36	$\Delta G = -8.77 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
TCPTR2 (1MXH, 2.2 Å)			
	$\Delta G = -13.15 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Cluster = 100	$\Delta G = -10.22 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$

A partir de los resultados obtenidos con el resto de las moléculas diseñadas, el perfil de interacción de **COH2** con las dianas farmacológicas de elección se conserva, tanto si se compara con las referencias **MTX** y **DHF** como con el resto de las ferrocenil quinazolininas (tabla 8.22). El cambio que se puede apreciar para este caso es una menor tensión en la orientación espacial del sustituyente ferrocenílico en posición 6 de la quinazolina, debido al remplazo del grupo amino por un metileno. Esta modificación hace que la pose predicha se aproxime a la adquirida por folatos

e inhibidores como el **MTX** en el sitio de unión con *TcDHFR* y *TcPTR2*; (tablas 8.2 y 8.3).

Respecto a las interacciones con los residuos de aminoácidos en *TcDHFR*, se conservan los puentes de hidrógeno entre N-1 y NH-2 del ligando con Asp48, NH-4 con Ile154 y Val26, así como Ile84, Pro85 y Met49 con la subunidad metalocénica. Ahora bien, las interacciones con *TcPTR2*, se dan principalmente con el cofactor NADH<sup>+</sup> y Ser103 por la parte del heterociclo; y con Ser215 y Leu214, con la subunidad metalocénica. Por lo tanto, el perfil que demuestra **COH2** en la interacción con las dianas de folatos, lo avalan como candidato sintético de sustitución a **NCOH2**, que originalmente había sido propuesto.

### 8.2.2.6 Síntesis de COH2



Esquema 8.20 Proceso de síntesis de **COH2**.

Tabla 8.23 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **COH2**.

Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	LiOH	DMF	MW <sup>c</sup> , 100	4	<b>44.4</b>
2 <sup>b</sup>	NH <sub>4</sub> HCO <sub>2</sub> , Pd/C [Cat]	MeOH	70	5	<b>60.5</b>

<sup>a</sup> 1.33 mmol de **H**, 1.33 mmol de **CDAQ**, 5.36 mmol de LiOH en 10 mL de DMF. <sup>b</sup> 0.50 mmol de **ENCOH2**, 5.02 mmol de formiato de amonio, 20.4 mg de Pd/C 10 % en 5 mL de MeOH. <sup>c</sup> Calentamiento asistido por microondas a 50 W.

La estrategia de síntesis mediante la reacción de condensación aldólica cruzada entre **H** y **CDAQ** (esquema 8.20), se llevó a cabo bajo condiciones de calentamiento asistido por microondas, puesto que, en condiciones de calentamiento a reflujo

convencional, esta reacción no mostró avance hacia el producto esperado **ENCOH<sub>2</sub>**. Esta evidencia experimental, refuerza la caracterización de los compuestos carbonílicos de ferroceno como poco electrofílicos comparados con sus análogos isoelectrónicos de benceno, tomando como referencia para esta conclusión, los resultados obtenidos en la formación de iminas con 1-formilferroceno (**E**), 1-acetilferroceno (**H**) y 1-propionilferroceno (**L**) (sección 8.2.2.3), así como las amidas a partir del ácido ferrocenocarboxílico (**F**) (sección 8.2.2.2). Habiendo descrito el comportamiento de compuestos carbonílicos enlazados a ferroceno, la reacción 2 para la síntesis de **COH<sub>2</sub>** (tabla 8.23) se vio favorecida en cuanto a selectividad en la reducción del enlace doble de la enona. En particular, se pudieron identificar las dos etapas de reducción por cambios en la coloración de la mezcla de reacción, pasando de morado a naranja y de naranja a amarillo. Es así como **COH<sub>2</sub>** en respuesta a la optimización de **NCOH<sub>2</sub>** resultó exitosa frente al objetivo planteado, el lograr estabilizar el producto final (sección 8.2.2.5). Y en cuanto al trabajo de purificación, se observó un cambio sustancial en la polaridad con respecto de las moléculas provenientes de **TAQ**. La disminución en la polaridad hizo posible su purificación mediante cromatografía en columna de manera eficiente ya que, con el resto de las moléculas, la retención en la fase estacionaria complica su proceso de purificación.

#### 8.2.2.6.1.1 Análisis instrumental

Con base en los resultados obtenidos por EM para las moléculas **ENCOH<sub>2</sub>** y **COH<sub>2</sub>**, se puede observar un claro aumento en la relación m/z asociadas a la enona en 399.0810 [M+H]<sup>+</sup> y de 401.0985 [M+H]<sup>+</sup> para la cetona; evidencia de la incorporación de dos átomos de hidrógeno en el producto de reducción. En el patrón de fragmentación para **ENCOH<sub>2</sub>**, se distinguen tres especies catiónicas; la asociada a la molécula protonada por efecto de las condiciones ácidas del medio en el que se analizó, y dos más, debidas a la disociación de la subunidad metalocénica directamente enlazada al grupo carbonilo (figura 8.12)



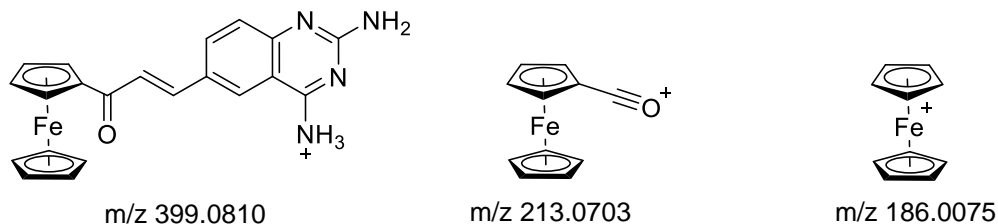
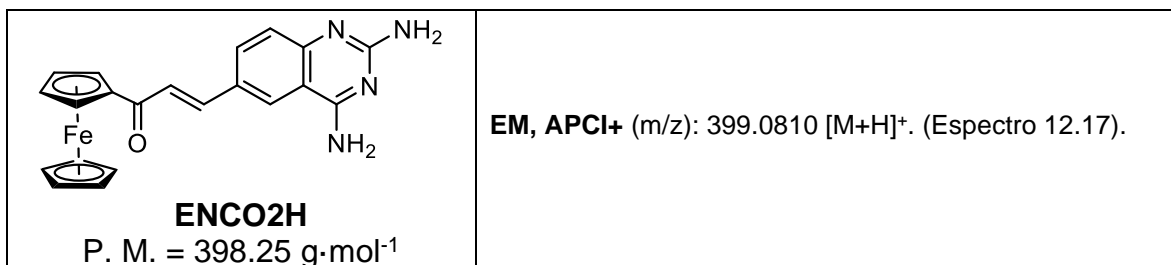


Figura 8.12 Fragmentos característicos del análisis por EM de **ENCOH2**.

El análisis de RMN para **COH2** se distingue por las señales en  $^{13}\text{C}$  asociadas a los átomos C-13 del grupo carbonilo, con un desplazamiento a campo bajo de 205.9 ppm, C-12 y C-11 de la porción de unión alifática a 41.8 y 30.6 ppm, C-(14–17) de los anillos de ciclopentadienilo en el intervalo de 74.0–70.6 ppm y los propios de heterociclo entre 170.4–110.6 ppm (tabla 8.24). En RMN- $^1\text{H}$ , se pueden identificar las señales debidas a los hidrógenos aromáticos en posiciones H-5 como singulete a 8.0 ppm, H-7 doblete por acoplamiento tipo *orto* con H-8 a 7.8 ppm y H-8 doblete por acoplamiento tipo *orto* con H-7 a 7.4 ppm. Los hidrógenos enlazados a ciclopentadienilos, aparecen en la región de 4.8–4.0 ppm, como un patrón de respuesta 5:2:2 asociado a la monofuncionalización tipo carbonílica del metaloceno. Los hidrógenos a su vez de la porción de unión, tiene respuesta característica de hidrógenos alifáticos asociados alrededor de los grupos polares, a 3.2 y 3.1 ppm.

Tabla 8.24 Resultados de análisis instrumental.

Compuesto	Información espectroscópica
<p style="text-align: center;"><b>CO2H</b> P. M. = 400.26 g·mol<math>^{-1}</math></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (<math>m/z</math>): 401.0985 [M+H]<math>^{+}</math>. (Espectro 12.15).</p> <p><b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (<math>\text{cm}^{-1}</math>): <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (<math>\text{cm}^{-1}</math>): 3349, 3116 (-NH<math>_2</math>); 1649 (C=O); 1642, 1456, 1349 (C=C y C=N<math>_{ar}</math>); 1085 (Cp); 831, 484 (Fe-Cp). (Espectro 12.16).</p> <p><b>RMN-<math>^1\text{H}</math> (400 MHz, TMS, MeOD)</b> <math>\delta</math> (ppm): 8.03 (s, 1H, H-5), 7.79 (d, <math>J</math> = 6.8 Hz, 1H, H-7), 7.36 (d, <math>J</math> = 8.5 Hz, 1H, H-8), 4.82 (s, 2H, H-15), 4.59 (s, 2H, H-16), 4.08 (s, 5H, H-17), 3.17 (m, 2H, H-12), 3.14 (m, 2H, H-11). (Espectro 12.13).</p> <p><b>RMN-<math>^{13}\text{C}</math> (101 MHz, TMS, MeOD)</b> <math>\delta</math> (ppm): 205.85 (C-13), 170.42 (C-4), 165.19 (C-2), 156.77 (C-9), 139.93 (C-7), 137.71 (C-6), 125.08 (C-8), 118.04 (C-5), 110.60 (C-10), 79.70 (C-14), 73.96 (C-16), 70.86 (C-17), 70.52 (C-15), 41.77 (C-12), 30.56 (C-11). (Espectro 12.14).</p>



### 8.2.2.7 Síntesis de 2H

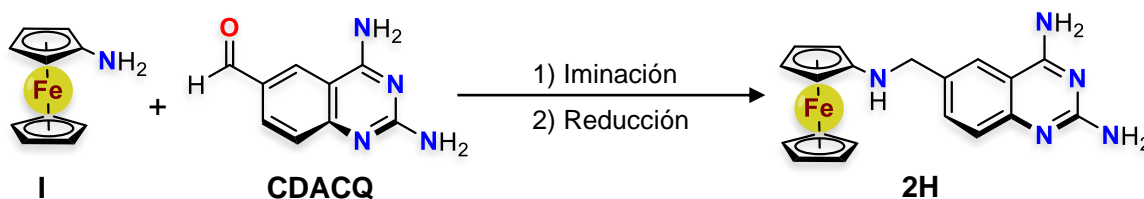


Tabla 8.25 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de **2H**.

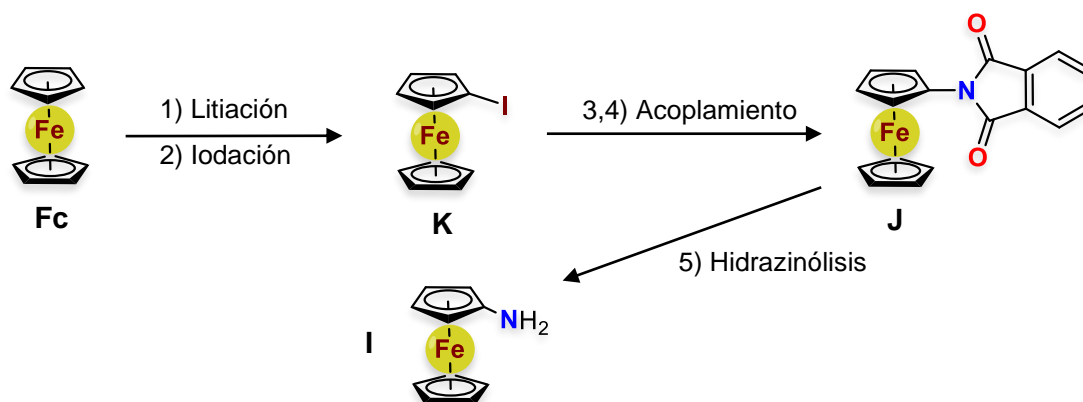
Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	HCl [Cat]	MeOH	t. a.	5	<b>64.5</b>
2 <sup>b</sup>	NaBH <sub>4</sub>		0 – t. a.	6	

<sup>a</sup> 0.58 mmol de **I**, 0.58 mmol de **CDAQ**, 1 gota de HCl (conc) en 5 mL de MeOH. <sup>b</sup> 2.31 mmol de NaBH<sub>4</sub>.

La síntesis de **2H** basada en la aproximación retrosintética de aminación reductiva (esquema 8.21), evolucionó con un rendimiento equiparable al obtenido en la síntesis de **H2**; sin embargo a diferencia de este último, su obtención no requirió de condiciones de calentamiento a reflujo para favorecer la iminación (tabla 8.25), evidencia que se relaciona con la alta nucleofilia del sintón **I** en comparación a **CDAQ**. Además, otra diferencia notable con respecto a la mayoría de los procesos para la obtención de ferrocenil quinazolininas, es el disolvente empleado, que en este caso fue MeOH en lugar de DMF o bien una mezcla de ésta con alcoholes, debido a la inestabilidad que presenta el producto final en disolventes como DMSO ó DMF. Por lo que, con base en esta última información, se decidió analizar los productos finales por RMN en metanol deuterado para comparar lo obtenido inicialmente en

DMSO-*d*<sub>6</sub>, cuyos experimentos se realizaron con antelación al descubrimiento del efecto del disolvente en la estabilidad de las ferrocenil quinazolininas.

### 8.2.2.7.1 Síntesis de I



Esquema 8.22 Proceso de síntesis de I.

Tabla 8.26 Resultados y condiciones de reacción para la síntesis de I.

Reacción	Condiciones				R (%)
	Reactivos	Disolvente	T (°C)	t (h)	
1 <sup>a</sup>	<i>t</i> -BuLi, <i>t</i> -BuOK	THF	-78	3	92.5
2 <sup>b</sup>	I <sub>2</sub>		t.a.	12	
3 <sup>c</sup>	Cu[N(CO) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ] <sub>2</sub>		140	2	41.1
4 <sup>d</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> (CO) <sub>2</sub> NH, Cu <sub>2</sub> O [Cat]	CH <sub>3</sub> CN	85	72	72.4
5 <sup>e</sup>	H <sub>2</sub> NNH <sub>3</sub> Cl, NaHCO <sub>3</sub>	EtOH	80	2	92.2

<sup>a</sup> 10.62 mmol de **Fc**, 21.25 mmol de *tert*-butil litio, 1.1 mmol de *tert*-butóxido de potasio en 90 mL de THF. <sup>b</sup> 15.94 mmol de I<sub>2</sub>. <sup>c</sup> 0.66 mmol de **K** y 1.64 mmol de ftalimido de cobre (II). <sup>d</sup> 2.57 mmol de **K**, 5.14 mmol de ftalimida y 3.34 mmol de Cu<sub>2</sub>O en 13 mL de CH<sub>3</sub>CN. <sup>e</sup> 0.90 mmol de **J**, 1.80 mmol de hidrocloreuro de hidrazina, 1.80 mmol de NaHCO<sub>3</sub> en 4 mL de EtOH.

La ruta de síntesis planteada para la obtención 1-aminoferroceno (**I**), involucró como primer paso la iodación de ferroceno para la activación de éste al acoplamiento cruzado tipo Ullmann (reacciones 1 y 2, esquema 8.22), facilitando la incorporación del átomo de nitrógeno en la estructura de Cp (reacciones 3 y 4). Con respecto al proceso de iodación, las condiciones de litio sobre **Fc** comparadas con las efectuadas en la ruta para la síntesis del ácido 1-ferrocencarboxílico (**F**) fueron las mismas (tablas 8.26 y 8.12); sin embargo, al comparar los rendimientos para la

obtención de ambos productos, se observa que son distintos, convirtiendo a la incorporación de iodo en ferroceno, en un proceso más cuantitativo comparado con la carboxilación. De igual forma, para la reacción de acoplamiento cruzado tipo Ullmann (reacciones 3 y 4, tabla 8.26), las condiciones de fase heterogénea resultan más cuantitativas en comparación a las condiciones de fase sólida, con la observación particular de que para lograrlo es estrictamente necesario emplear un tiempo prolongado de reacción. Y del último proceso en la ruta, consistente en la liberación de la amina a partir de la ftalimida (**J**), esta se llevó a cabo para obtener **I**; sin embargo, un inconveniente fue la estabilidad del producto, puesto que no fue estable a la exposición al aire, por lo que la disposición de **I** en la síntesis de **2H** involucró su síntesis y uso al momento.

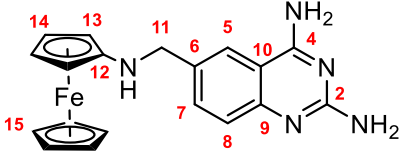
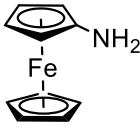
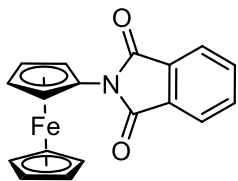
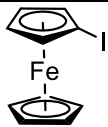
#### 8.2.2.7.1.1 Análisis instrumental

Para la caracterización de **2H** se contó con el análisis por EM, en donde la señal del pico base asociado al ion molecular monoprotonado  $[M+H]^+$  a un  $m/z$  de 374.1122 coincide con la masa monoisotópica del producto esperado. La caracterización espectroscópica en RMN de **2H** se llevó a cabo en dos diferentes disolventes, encontrando una marcada diferencia asociada a la inestabilidad de la molécula en DMSO y su baja solubilidad en MeOH, donde es estable. En RMN- $^1H$  se identifica (con ambos disolventes), el patrón de señalización debida a hidrógenos aromáticos tipo quinazolina en posiciones H-5 (singulete) a 8.1 y 7.96 ppm, H-7 doblete con acoplamiento tipo *orto* a 7.59 ppm en ambos casos y H-8 doblete con acoplamiento tipo *orto* a 7.20 y 7.27 ppm (tabla 8.27). Los hidrógenos de grupos amino en posiciones 4 y 2 solo se pudieron resolver en DMSO, a valores de desplazamiento de 7.67 y 6.35 ppm respectivamente, y el hidrógeno asociado al grupo amino secundario se observó en ambos disolventes a 4.42 y 5.39 ppm. Los hidrógenos en la subunidad de ferroceno, se observaron en DMSO a 4.09, 3.86 y 3.77 ppm, región de desplazamiento químico que en MeOH se ve comprometida por la señal debida al disolvente. Este mismo fenómeno ahora se ve repetido, pero de manera contraria para el caso de la señal debida a los hidrógenos del metileno a 3.28 ppm en MeOH; desplazamiento en el que aparece la señal debido al agua presente en el DMSO.

De los resultados en RMN-<sup>13</sup>C para el experimento en DMSO, se observan claramente las señales originadas por los carbonos estructurales de la quinazolina, comprendidos en la región de 164.9–104.4 ppm, caso que no sucede en MeOH, en donde solo se resolvieron seis de las ocho señales asociadas dentro de la misma región a 162.4–109.8 ppm. En contraposición las señales en MeOH debidas a los carbonos de la subunidad de ferroceno, tienen una respuesta definida entre 69.1 y 54.7 ppm, con un patrón de intensidad 5:2:2:1 relacionado con la cantidad de átomos magnéticamente equivalente en los anillos de ciclopentadienilo. En el caso de DMSO, solo se resuelve una señal a 66.9 ppm, posiblemente asociados a los carbonos del Cp no funcionalizado. Y por último en esta técnica de RMN, la señal del carbono puente aparece en ambos experimentos con valores de desplazamiento de 53.2 ppm en DMSO y 50.5 ppm en MeOH.

Con respecto a los sintones de ferroceno, la técnica crucial para su identificación fue EM, en donde las señales respuesta asociadas a la masa monoisotópica de la especie, en todos los casos correspondió al pico base a una relación m/z en 1-aminoferroceno (**I**) de 201.115 [M<sup>+</sup>], en 2-ferrocenilisoindol-1,3-diona (**J**) de 331.049 [M<sup>+</sup>] y en 1-iodoferroceno (**K**) de 311.966 [M<sup>+</sup>]. Solo para confirmar se realizó la espectroscopia IR, en donde los grupos funcionales a identificar fueron los carbonilos tipo amida en **J** a 1712 cm<sup>-1</sup> y amino en **I** dentro de la región de 3398–3331 cm<sup>-1</sup>.

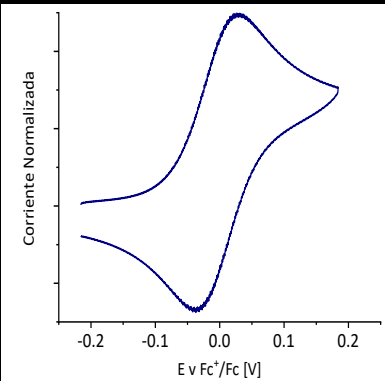
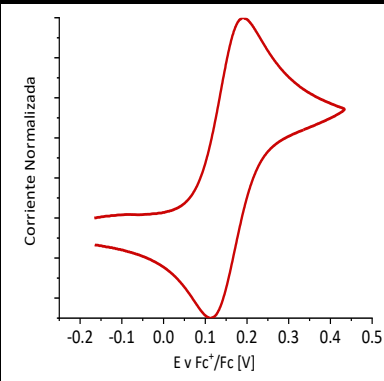
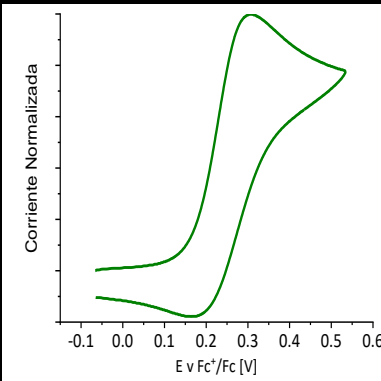

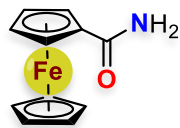
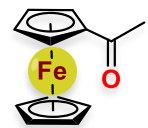
**Tabla 8.27 Resultados de análisis instrumental**

Compuesto	Información espectroscópica
 <p><b>2H</b>, P. M. = 373.24 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, APCI+</b> (m/z): 374.1122 [M+H]<sup>+</sup>. (Espectro 11.2.10.3).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3338, 3173 (-NH<sub>2</sub>); 1618, 1563, 1418 (C=C y C=N<sub>ar</sub>); 837, 493 (Fe-Cp). (Espectro 11.2.10.4).  <b>RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 8.10 (s, 1H, H-5); 7.67 (s, 2H, NH-4); 7.59 (d, J = 7.7 Hz, 1H, H-7); 7.20 (s, 1H, H-8); 6.35 (s, 2H, NH-2); 4.42 (s, 1H, NH-11); 4.09 (s, 5H, H-15); 3.86 (s, 2H, H-14); 3.77 (s, 2H, H-13); 3.38 (s, H-11 &amp; H<sub>2</sub>O). (Espectro 12.20).  <b>RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, MeOD)</b> δ (ppm): 7.96 (s, 1H, H-5); 7.59 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-7); 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H-8); 5.39 (s, 1H, NH-11); 3.28 (s, 2H, H-11). (Espectro 12.21).  <b>RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, DMSO-d<sub>6</sub>)</b> δ (ppm): 162.40 (C-4), 159.38 (C-2), 133.30 (C-7), 122.62 (C-8), 111.83 (C-5), 109.83 (C-10), 69.05 (C-12), 67.46 (C-15), 62.02 (C-14), 54.66 (C-13), 50.53 (C-11). (Espectro 12.23).  <b>RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, MeOD)</b> δ (ppm): 164.93 (C-4), 162.11 (C-2), 152.78 (C-9), 132.98 (C-7), 124.69 (C-6), 122.93 (C-8), 110.96 (C-10), 104.43 (C-5), 66.89 (C-15). (Espectro 12.22).</p>
 <p><b>I</b>, P. M. = 201.05 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 201.115 [M<sup>+</sup>], (Espectro 12.31).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3398, 3331 (NH); 3086 (CH-Cp); 1492, 1100 (Cp); 794, 481 (Fe-Cp). (Espectro 11.2.9.2). (Espectro 12.32).</p>
 <p><b>J</b>, P. M. = 331.15 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 331.049 [M<sup>+</sup>], (Espectro 12.29).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3065, 2919 (CH<sub>Ar</sub>); 1712 (C=O); 1990, 1848, 1478 (C=C<sub>Ar</sub>); 1358, 1067 (Cp); 712, 495 (Fe-Cp). (Espectro 12.30).</p>
 <p><b>K</b>, P. M. = 311.93 g·mol<sup>-1</sup></p>	<p><b>EM, IE+</b> (m/z): 311.966 [M<sup>+</sup>], (Espectro 12.26).  <b>IR, FTIR por reflectancia ATR</b> (cm<sup>-1</sup>): 3096, 2931 (CH-Cp); 1649, 1409, 1106, 1001 (Cp); 816, 472 (Fe-Cp). (Espectro 12.27).</p>

### 8.3 Determinaciones voltamperométricas

#### 8.3.1 VC de derivados monofuncionalizados de ferroceno

**Tabla 8.28 Voltamperometría cíclica de ferroceno y derivados.<sup>a</sup>**

		
		
<b>Fc, 1 mM</b>	<b>M, 1 mM</b>	<b>H, 1 mM</b>
$E_{1/2} = 0 \text{ V}$	$E_{1/2} = 0.145 \text{ V}$	$E_{1/2} = 0.227 \text{ V}$
$E_{\text{HOMO}} = -5.13 \text{ eV}$	$E_{\text{HOMO}} = -5.36 \text{ eV}$	$E_{\text{HOMO}} = -5.49 \text{ eV}$
$E_{\text{LUMO}} = 0.22 \text{ eV}$	$E_{\text{LUMO}} = -0.40 \text{ eV}$	$E_{\text{LUMO}} = -0.94 \text{ eV}$
$\Delta E = -5.35 \text{ eV}$	$\Delta E = -4.96 \text{ eV}$	$\Delta E = -4.55 \text{ eV}$

<sup>a</sup> Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> 0.1 M/CH<sub>3</sub>CN,  $v = 0.1 \text{ V/s}$ , ET (Electrodo de carbón vítreo), ECR (Alambre de Ag) y EA (Alambre de Pt).

A partir de los resultados obtenidos del análisis por voltamperometría cíclica para este grupo de compuestos (tabla 8.28), se comprobó el fenómeno de la variación del potencial redox con respecto a ferroceno, por efecto inductivo de los grupos sustituyentes directamente enlazados. De manera particular, la variación fue en el sentido del aumento en el potencial, fenómeno que está asociado a la naturaleza electroattractora de los grupos incorporados que, al retirar densidad electrónica del sistema, aumentan indirectamente la energía umbral de oxidación sobre el metaloceno. Esto último se discute a partir de los valores de energía para los orbitales HOMO-LUMO de cada especie. Para el caso de los orbitales HOMO, se observa una tendencia en la disminución energética a partir de **Fc**, y de aumento para el orbital LUMO, por lo que en efecto los electrones disponibles para el proceso de oxidación, se encuentra cada vez más estabilizados en la molécula, en tanto aumente la capacidad electroattractora del grupo funcional.

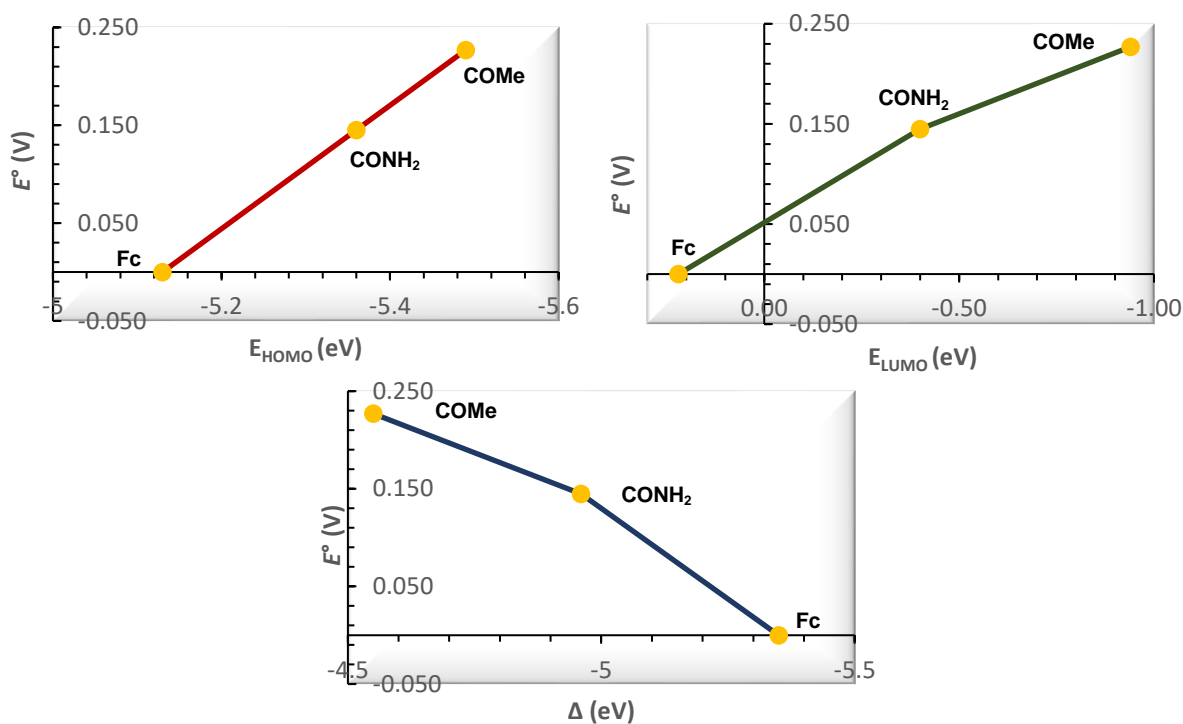


Figura 8.13 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs  $E^\circ$  de derivados monofuncionalizados de ferroceno.

Respecto a la correlación del potencial redox experimentalmente determinado con la energía de orbitales a la frontera (figura 8.13); tanto la comparación directa de las energías independientes, como su diferencia, tienen buena correlación. De seguir con el estudio de este fenómeno, la serie electroquímica de ferroceno estaría reforzada con al menos dos prototipos moleculares más, esto es 1-(acetilamino)ferroceno (**N**) y un derivado dialquílico del 1-aminoferroceno. El primero cumpliría con un arreglo invertido de la carboxamida en **M** y el último, con la presencia de un grupo fuertemente electrodonador. Se sugiere un derivado dialquílico de **I** por su inestabilidad como amino libre.



### 8.3.2 VC y VOC de ferrocenil quinazolinas

**Tabla 8.29 Voltamperometría cíclica y de onda cuadrada de ferrocenil quinazolinas.**

<p><b>H2, 1.55 mM</b></p>	<p><b>2H, 2.14 mM</b></p>	<p><b>COH2, 4.00 mM</b></p>
$E_{1/2} = -0.415 \text{ V}$	$E_{1/2} = 0.270 \text{ V}$	$E_{1/2} = 0.300 \text{ V}$
$E_{\text{HOMO}} \{-\} = -5.2 \text{ eV}$	$E_{\text{HOMO}} \{-\} = -5.3 \text{ eV}$	$E_{\text{HOMO}} \{-\} = -5.5 \text{ eV}$
$E_{\text{LUMO}} \{+\} = 0.1 \text{ eV}$	$E_{\text{LUMO}} \{+\} = -0.50 \text{ eV}$	$E_{\text{LUMO}} \{+\} = -1.06 \text{ eV}$
$\Delta E = -5.3 \text{ eV}$	$\Delta E = -4.8 \text{ eV}$	$\Delta E = -4.6 \text{ eV}$

<sup>a</sup> Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> 0.1 M/CH<sub>3</sub>CN,  $\nu = 0.1 \text{ V/s}$ , ET (Electrodo de carbón vítreo), ECR (Alambre de Ag) y EA (Alambre de Pt).

Los resultados del estudio voltamperométrico con 3 de las ferrocenil quinazolinas (tabla 8.29), da evidencia del fenómeno en la variación del potencial redox. Los tres derivados analizados, en analogía con los prototipos de construcción para la serie electroquímica de ferroceno, cumplen teóricamente en ser para el caso de **2H** y **COH2** los extremos de la serie y **H2** su punto medio. Ahora bien, atendiendo a los valores de potencial registrados para cada ferrocenil quinazolina, si los ordenamos de forma creciente, se tiene  $E^{\circ}_{\text{redox}} \text{H2} < \text{2H} < \text{COH2}$ ; por lo que, basados únicamente en el comportamiento de derivados monofuncionalizados de ferroceno (figura 3.6), se esperaba un resultado en donde  $E^{\circ}_{\text{redox}} \text{2H} < \text{H2} < \text{COH2}$ . Para poder explicar este inusual comportamiento, en donde el sistema **2H** tiene un  $E^{\circ}_{\text{redox}}$  mayor a **H2**, se analizó el perfil energético de los orbitales frontera, al resultar ser buenos descriptores químicos para la interpretación del comportamiento redox en sistemas

ferrocénicos, tanto en los estudios teóricos (sección 8.1.3) como en los experimentales (sección 8.3.1).

Con respecto al análisis de los orbitales HOMO-LUMO en las ferrocenil quinazolininas, se determinó que la contribución energética al fenómeno redox, solo era posible debido a los orbitales de segundo nivel; HOMO{-} y LUMO{+}, puesto que en los basales (primer nivel) solo hay aporte de la porción heterocíclica. Estos resultados concuerdan a su vez con los procesos de oxidación detectados experimentalmente a potenciales por debajo de los asociados a ferroceno en los sistemas **2H** y **COH2** (tabla 8.29), que muy probablemente están asociados con la oxidación del heterociclo.

En cuanto a la energía de los orbitales HOMO{-}, se puede decir que hay una tendencia en su disminución de tal forma que  $E_{\text{HOMO}\{-}} \text{COH2} < \text{2H} < \text{H2}$ , sin embargo no es tan significativo el cambio en contraste con la energía de los orbitales LUMO{+} donde hay variaciones de aproximadamente 0.5 eV entre cada especie, diferenciándose claramente una tendencia donde  $E_{\text{LUMO}\{+}} \text{COH2} < \text{2H} < \text{H2}$ . En principio si se considerara solo la energía de orbitales HOMO{-} para la explicación del potencial redox, éste no hubiera variado tanto, y el valor más bajo registrado hubiera sido para **COH2**, hecho que no sucedió. Por lo que; considerando ahora el aporte del orbital LUMO{+} al fenómeno redox, se puede explicar la variación en el potencial tal como se determinó experimentalmente, ya que a mayor energía de LUMO o a mayor diferencia entre orbitales HOMO-LUMO, el potencial se abate y viceversa. Con el análisis de la energética de orbitales moleculares, se puede inferir el impacto que tiene la porción aromática en las ferrocenil quinazolininas sobre la actividad electroquímica de ferroceno y no únicamente debido a la naturaleza electrónica del grupo sustituyente directamente enlazado; tal como se ilustra en los gráficos de correlación (figura 8.14) en donde los compuestos diseñados originalmente para ser los extremos de la ventana de electroactividad **2H** y **COH2**, resultan ser similares en su comportamiento, con valores de potencial redox superiores a la referencia **Fc**, e inferior a éste para **H2**; que es el prototipo con el arreglo estructural más cercano a la referencia.

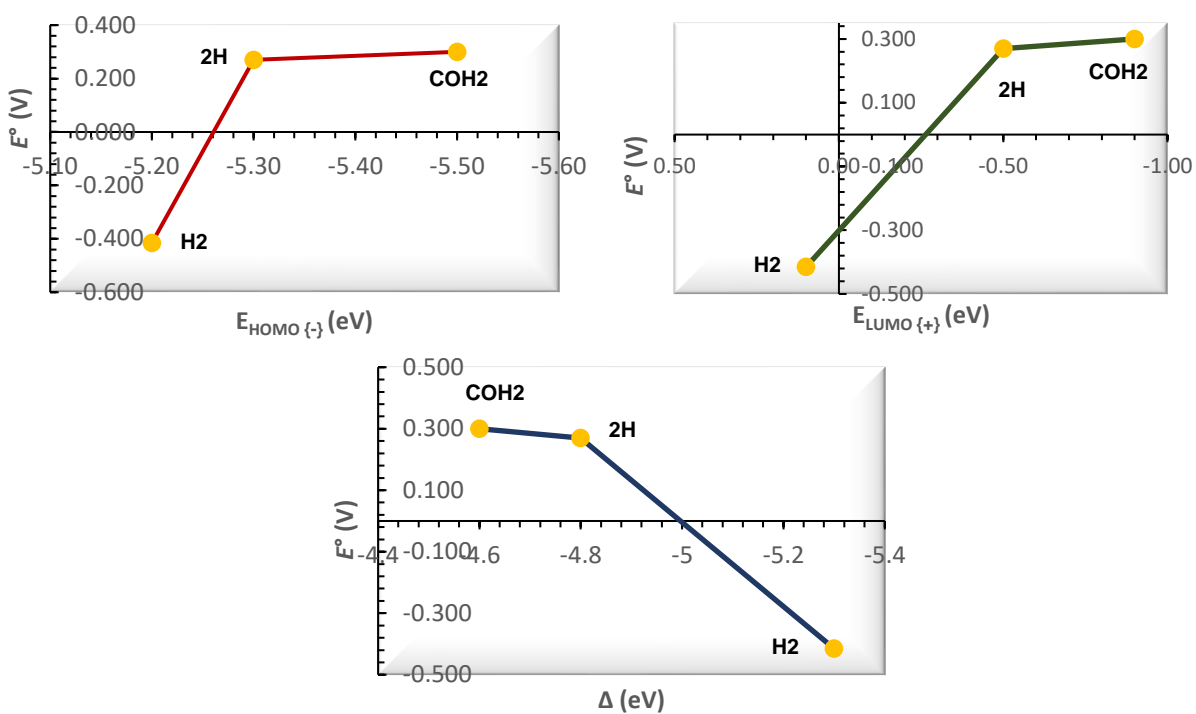
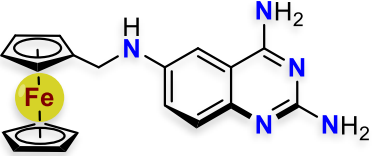
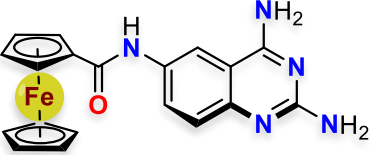
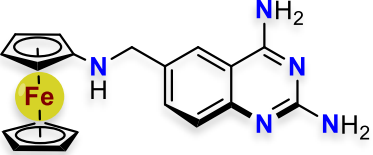
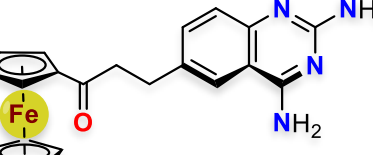
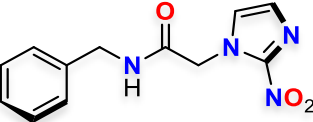
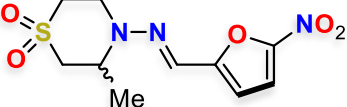


Figura 8.14 Gráficas de correlación energética HOMO/LUMO vs  $E^\circ$  de ferrocenil quinazolinas.

## 8.4 Evaluación biológica

Tabla 8.30 Resultados de evaluación tripanocida y citotoxicidad de ferrocenil quinazolininas.			
Fórmula molecular	Clave	IC <sub>50</sub> (μM) 24 h <i>T. cruzi</i> <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (μM) 24 h Células HFF-1 <sup>b</sup>
	<b>H2</b>	6.7	3.1
	<b>OH2</b>	> 100	> 100
	<b>2H</b>	> 100	26.9
	<b>COH2</b>	> 100	3.3
	<b>BZN</b> Control (+)	11.31	> 100
	<b>NFX</b> Control (+)	3.35	> 100

<sup>a</sup> Modelo de epimastigote, cepa Querétaro (Tcl). <sup>b</sup> Fibroblastos de prepucio humano.

En la tabla 8.30 se resumen los resultados obtenidos de ensayos *in vitro* de actividad tripanocida y citotóxica de las ferrocenil quinazolininas, determinados por el parámetro de concentración inhibitoria media máxima (IC<sub>50</sub>). Como puede constatarse, sólo el compuesto **H2** (molécula *hit* sujeta a optimización) presentó actividad tripanocida en epimastigotes de *T. cruzi*, superior al **BZN** y ligeramente inferior al **NFX**. En cambio, tres de las ferrocenil quinazolininas presentaron a su vez

actividad citotóxica en células HFF1, destacando de nuevo **H2**; así como **2H** y **COH2**. Por lo tanto, se puede argumentar que solo **H2** continúa siendo un viable prototipo farmacéutico tripanocida, con desventaja de su citotoxicidad. En cuanto a **2H** y **COH2**, el que hayan presentado actividad citotóxica y no tripanocida, despierta interés en cuanto al planteamiento inicial del diseño; el cual se basó en el principio de acción multidiana, vía la inhibición de las enzimas *TcDHFR-TS* y *TcPTR2*, así como la promoción de especies reactivas de oxígeno (ROS), asociadas a la oxidación de la porción metalocénica. La hipótesis surgida a raíz de la respuesta biológica observada, y los resultados electroquímicos; es que, posiblemente las ferrocenil quinazolininas presenten una diferente biodisponibilidad en células HFF1, comparada con epimastigotes de *T. cruzi*, tal que, para el caso de las moléculas **2H** y **COH2**, estas hallan logrado inhibir a la enzima *HsDHFR* (dihidrofolato reductasa de humano) presente en los fibroblastos, provocando su muerte celular; a diferencia del caso con el protozoario, que debido a una posible baja o nula biodisponibilidad de las quinazolininas de estudio, estas no alcanzaron las dianas farmacológicas de interés *TcDHFR-TS* y *TcPTR2* posibilitando la sobrevivencia del epimastigote, ya que el aporte de **2H** y **COH2** para la formación de ROS es limitado, debido a su alto potencial redox demostrado por los estudios voltamperométricos. En cambio, la actividad de **H2** en ambas células se puede asociar factiblemente a la promoción de ROS, debido a su nula selectividad y bajo potencial redox comparado con **2H** y **COH2**. Por lo tanto, es necesario realizar ensayos de inhibición enzimática sobre *TcDHFR-TS* y *HsDHFR* para comprobar experimentalmente el carácter antifolato de las moléculas evaluadas y de ser así, determinar su índice de selectividad; puesto que, de manera computacional los modelos de acoplamiento molecular indican que es posible la inhibición de ambas enzimas, siendo en menor grado la *HsDHFR* (tabla 8.31). De esta forma se daría robustez al trabajo de investigación en torno a la optimización de **H2**, para decidir sobre qué objetivo(s) deben dirigirse esfuerzos con la intención de lograr una molécula *lead*.

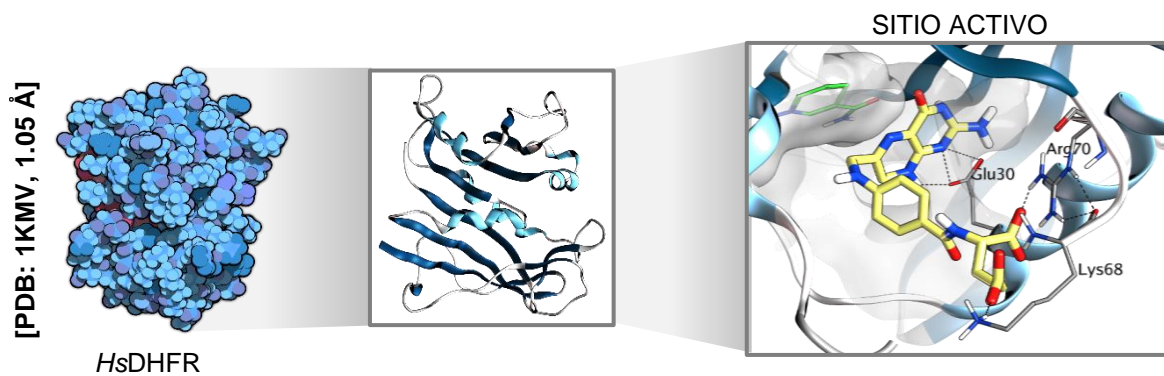
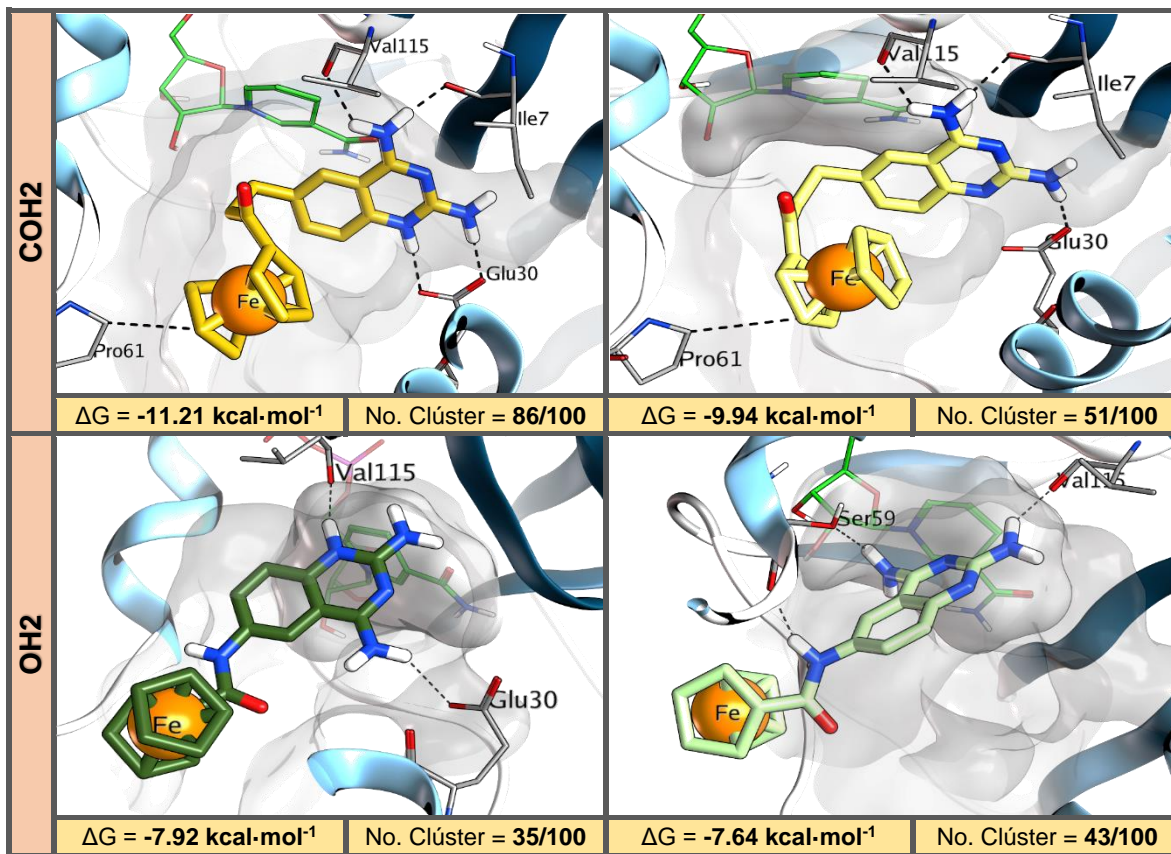


Figura 8.15 Modo de unión a *Hs*DHFR.

Tabla 8.31 Acoplamiento molecular en la diana *Hs*DHFR-TS (1KMV, 1.05 Å).

MTX / DHF			
	$\Delta G = -13.19 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 42/100	$\Delta G = -12.30 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
H2			
	$\Delta G = -10.25 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 81/100	$\Delta G = -9.38 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$
2H			
	$\Delta G = -10.20 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$	No. Clúster = 97/100	$\Delta G = -9.28 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$



### CONCLUSIONES

1. Se lograron obtener los compuestos **2H**, **COH2** y **OH2** derivados de la optimización de **H2**, con rendimientos globales de entre 16.6 – 34.0 %, mediante rutas de síntesis convergentes de 9, 5 y 3 pasos de reacción respectivamente.
2. Se demostró la variación del potencial redox de las ferrocenil quinazolininas diseñadas, mediante voltamperometría cíclica y voltamperometría de onda cuadrada; donde quedó definida una ventana de electroactividad de -0.415 – 0.300 V en medio de acetonitrilo y tomando como patrón estándar, ferroceno.
3. La tendencia en la variación del potencial redox del par  $Fc^+/Fc$  como función de  $E_{1/2}$  de las ferrocenil quinazolininas evaluadas voltamperométricamente, es tal que, la relación en orden decreciente de la fuerza reductora de estas moléculas es: **H2** > **2H** > **COH2** y no **2H** > **H2** > **COH2** como se esperaba.
4. La energía de orbitales frontera de los ferrocenil derivados de estudio, fue el descriptor fisicoquímico que mejor correlación tuvo con el comportamiento redox observado, con o sin grupos funcionales de tipo aromático.
5. Con base en el comportamiento redox de las ferrocenil quinazolininas de estudio, como uno de los dos parámetros considerados en el diseño para la optimización de la actividad tripanocida de **H2**; la fuerza reductora (ponderada experimentalmente por medio de  $E_{1/2}$ ), resulta ser crucial, puesto que sólo a valores bajos de potencial (con especies reductoras fuertes) se puede observar actividad tripanocida.
6. El objetivo principal de mejorar el perfil de actividad tripanocida de **H2** no se logró, al quedar demostrado que ninguna de las moléculas derivadas presentó actividad *in vitro* frente a epimastigotes de *T. cruzi*.



Evaluar la inhibición enzimática de las ferrocenil quinazolininas sintetizadas sobre las dianas *HsDHFR* y *TcDHFR-TS*, para obtener evidencia sobre el mecanismo de acción que promueve la actividad tripanocida y citotóxica observadas.

De resultar positiva la inhibición enzimática en *TcDHFR-TS*, se tendría que evaluar la permeabilidad de los compuestos frente a epimastigotes de *T. cruzi* para asociar al efecto de biodisponibilidad, la nula actividad tripanocida observada.

De continuar con la investigación en el plano de búsqueda de moléculas activas contra *T. cruzi* a partir de ferrocenil derivados como agentes antifolato de acción multidiana, deben ahora ser considerados en la estrategia de optimización; los parámetros electroquímicos, para dirigir la obtención de moléculas reductoras fuertes capaces de tener un buen perfil de permeabilidad, de cumplirse los criterios de inhibición enzimática y biodisponibilidad anteriormente mencionados.

1. Alcocer Varela, J; López-Gatell Ramírez, H. Manual de procedimientos para la enfermedad de Chagas en México. *Secr. Salud.* **2019**, 1–109.
2. Moncayo, A. Cien años del descubrimiento de la enfermedad de Chagas. *Infectio.* **2009**, 13 (4), 243–245.
3. Guhl, F. Enfermedad de Chagas: realidad y perspectivas. *Rev. Biomédica.* **2009**, 20 (3), 228–234.
4. OPS, Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud.CIE-10. **2003**, 10 (1), 228–234.
5. WHO. Neglected tropical diseases. [https://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/). (Accesado Feb 14, 2020).
6. WHO. Integrating neglected tropical diseases into global health and development. **2017**, 155–162.
7. Dirección General de Epidemiología. Boletín epidemiológico. *Secr. Salud.* **2019**, 52, 38.
8. Patterson, J. S.; Guhl, F. Geographical distribution of Chagas disease. American trypanosomiasis; Elsevier Inc. **2010**, 83–114.
9. Perez, C. J.; Lymbery, A. J.; Thompson, R. C. A. Reactivation of Chagas disease: implications for global health. *Trends Parasitol.* **2015**, 31 (11), 595–603.
10. Carlier, Y.; Sosa-Estani, S.; Luquetti, A. O.; Buekens, P. Congenital Chagas disease: an update. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **2015**, 110 (3), 363–368.
11. Rassi, A.; de Rezende, J. M.; Luquetti, A. O.; Rassi, A. Clinical phases and forms of Chagas disease. American trypanosomiasis Chagas disease: one hundred years of research: 2ª ed; Elsevier Inc. **2017**, 653–686.
12. Ojeda-Luna, M. C.; Murguía-Martínez, P. Enfermedad de Chagas (triptanosomiasis americana). *Gac. Int. Méx.* **1998**, 134 (6), 757–759.
13. De Fuentes-Vicente, J. A.; Vidal-López, D. G.; Flores-Villegas, A. L.; Moreno-Rodríguez, A.; De Alba-Alvarado, M. C.; Salazar-Schettino, P. M.; Rodríguez-López, M. H.; Gutiérrez-Cabrera, A. E. *Trypanosoma cruzi*: a review of biological and methodological factors in mexican strains. *Acta Trop.* **2019**, 195, 51–57.
14. Zingales, B.; Miles, M. A.; Campbell, D. A.; Tibayrenc, M.; Macedo, A. M.; Teixeira, M. M. G.; Schijman, A. G.; Llewellyn, M. S.; Lages-silva, E.; Machado, C. R.; et al. Infection, genetics and evolution the revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect. Genet. Evol.* **2012**, 12 (2), 240–253.
15. Martins, A. V.; Gomes, A. P.; Mendonça, E. G.; Fietto, J. L. R.; Santana, L. A.; Oliveira, M. G. A.; Al, E. Biology of *Trypanosoma cruzi*: an update. *Infectio.* **2012**, 16 (1), 45–58.

16. de Lana, M.; de Menezes Machado, E. M. Biology of *Trypanosoma cruzi* and biological diversity. American trypanosomiasis Chagas disease: one hundred years of research: 2<sup>a</sup>; Elsevier Inc., **2017**, 345–369.
17. Bern, C. Chagas disease. *N. Engl. J. Med.* **2015**, 373 (5), 456–466.
18. Sales, P. A.; Molina, I.; Murta, S. M. F.; Sánchez-Montalvá, A.; Salvador, F.; Corrêa-Oliveira, R.; Carneiro, C. M. Experimental and clinical treatment of Chagas disease: a review. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2017**, 97 (5), 1289–1303.
19. Patterson, S.; Wyllie, S. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: past, present, and future prospects. *Trends Parasitol.* **2014**, 30 (6), 289–298.
20. Dawson, A.; Gibellini, F.; Sienkiewicz, N.; Tulloch, L. B.; Fyfe, P. K.; McLuskey, K.; Fairlamb, A. H.; Hunter, W. N. Structure and reactivity of *Trypanosoma brucei* pteridine reductase: inhibition by the archetypal antifolate methotrexate. *Mol. Microbiol.* **2006**, 61 (6), 1457–1468.
21. Ong, H. B.; Sienkiewicz, N.; Wyllie, S.; Fairlamb, A. H. Dissecting the metabolic roles of pteridine reductase 1 in *Trypanosoma brucei* and *Leishmania major*. *J. Biol. Chem.* **2011**, 286 (12), 10429–10438.
22. Corona, P.; Gibellini, F.; Cavalli, A.; Saxena, P.; Carta, A.; Loriga, M.; Luciani, R.; Paglietti, G.; Guerrieri, D.; Nerini, E.; et al. Structure-based selectivity optimization of piperidine-pteridine derivatives as potent leishmania pteridine reductase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (19), 8318–8329.
23. Gilbert, I. H. Inhibitors of dihydrofolate reductase in leishmania and trypanosomes. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **2002**, 1587 (2–3), 249–257.
24. Ferrari, S.; Losasso, V.; Saxena, P.; Costi, M. P. Targeting the trypanosomatidic enzymes pteridine reductase and dihydrofolate reductase. *Trypanosomatid diseases*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Alemania, **2013**, 445–472.
25. Anderson, A. C. Targeting DHFR in parasitic protozoa. *Drug Discov. Today.* **2005**, 10 (2), 121–128.
26. Senkovich, O.; Schormann, N.; Chattopadhyay, D. Structures of dihydrofolate reductase-thymidylate synthase of *Trypanosoma cruzi* in the folate-free state and in complex with two antifolate drugs, trimetrexate and methotrexate. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2009**, 65 (7), 704–716.
27. Schormann, N.; Pal, B.; Senkovich, O.; Carson, M.; Howard, A.; Smith, C.; Delucas, L.; Chattopadhyay, D. Crystal structure of *Trypanosoma cruzi* pteridine reductase 2 in complex with a substrate and an inhibitor. *J. Struct. Biol.* **2005**, 152, 64–75.
28. Mendoza-Martínez, C.; Correa-Basurto, J.; Nieto-Meneses, R.; Márquez-Navarro, A.; Aguilar-Suárez, R.; Montero-Cortés, M. D.; Noguera-Torres, B.; Suárez-Contreras, E.; Galindo-Sevilla, N.; Rojas-Rojas, Á.; et al. Design,

- synthesis and biological evaluation of quinazoline derivatives as anti-trypanosomatid and anti-plasmodial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *96*, 296–307.
29. Mendoza-Martínez, C.; Galindo-Sevilla, N.; Correa-Basurto, J.; Ugalde-Saldivar, V. M.; Rodriguez-Delgado, R. G.; Hernández-Pineda, J.; Padierna-Mota, C.; Flores-Alamo, M.; Hernandez-Luis, F. Antileishmanial activity of quinazoline derivatives: synthesis, docking screens, molecular dynamic simulations and electrochemical studies. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 314–331.
  30. Bao, D.; Millare, B.; Xia, W.; Steyer, B. G.; Gerasimenko, A. A.; Ferreira, A.; Contreras, A.; Vullev, V. I. Electrochemical oxidation of ferrocene: a strong dependence on the concentration of the supporting electrolyte for nonpolar solvents. *J. Phys. Chem. A.* **2009**, *113* (7), 1259–1267.
  31. Emília, M.; Silva, N. P. R. A.; Pombeiro, A. J. L.; da Silva, J. J. R. F.; Herrmann, R.; Deus, N.; Castilho, T. J.; Silva, M. F. C. G. Redox potential and substituent effects at ferrocene derivatives. Estimates of Hammett  $\Sigma\rho$  and Taft polar  $\sigma$  substituent constants. *J. Organomet. Chem.* **1991**, *421* (1), 75–90.
  32. Nare, B.; Hardy, L. W.; Beverley, S. M. The roles of pteridine reductase 1 and dihydrofolate reductase-thymidylate synthase in pteridine metabolism in the protozoan parasite *Leishmania major*. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272* (21), 13883–13891.
  33. Allinger, N. L. Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms |1,2. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (25), 8127–8134.
  34. Inc., C. C. G. Molecular operating environment (MOE), 2015.01.1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canadá, H3A 2R7. **2015**.
  35. Gasteiger, J.; Marsili, M. A new model for calculating atomic charges in molecules. *Tetrahedron Lett.* **1978**.
  36. Flores-Leonar, M. M.; Moreno-Esparza, R.; Ugalde-Saldívar, V. M.; Amador-Bedolla, C. Further insights in DFT calculations of redox potential for iron complexes: the ferrocenium/ferrocene system. *Comput. Theor. Chem.* **2017**, *1099*, 167–173.
  37. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; *et al.* Gaussian09 Revision D.01, Gaussian Inc. Wallingford CT. Gaussian 09 Revision C.01. **2010**.
  38. Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98* (7), 5648–5652.
  39. Cossi, M.; Rega, N.; Scalmani, G.; Barone, V. Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model. *J. Comput. Chem.* **2003**, *24* (6), 669–681.

40. Conradie, J. A Frontier orbital energy approach to redox potentials. *J. Phys. Conf. Ser.* **2015**, 633, 1–6.
41. Von Eschwege, K. G.; Conradie, J. Redox potentials of ligands and complexes - a DFT approach. *S. Afr. J. Chem.* **2011**, 64, 203–209.
42. Trasatti, S. The absolute electrode potential: an explanatory note. *Pure Appl. Chem.* **1986**, 58 (7), 955–966.
43. Connelly, N. G.; Geiger, W. E. Chemical redox agents for organometallic chemistry. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 877–910.
44. Son, K. I.; Kang, S. Y.; Noh, D. Y. Electrochemical and fluorescent properties of ferrocenyl chalcone with N-ethyl carbazole group. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, 30 (2), 513–516.
45. Lim, B. J.; Hwang, I.; Ellington, A. D.; Sessler, J. L. Synthesis of ferrocene derivatives allowing linear free energy studies of redox potentials. *Helv. Chim. Acta.* **2019**, 102 (2), 1–8.
46. Kikelj, D. Product class 13: Quinazolines. Category 2, Hetarenes and related ring systems; Georg Thieme Verlag, **2013**, 573–749.
47. Mendoza-Martínez, C. Diseño asistido por computadora y síntesis de inhibidores de dihidrofolato reductasa de *Trypanosoma Cruzi*, *Leishmania mexicana* y *Plasmodium berghei*. Tesis de Maestría; UNAM, México, **2015**.
48. Matus Meza, A. S. TESIS: Síntesis de Derivados de La 2,4,6-Triaminoquinazolina Como Posibles Agentes Antiparasitarios. 2013.
49. Medoza-Martínez, C. Síntesis, evaluación biológica y estudios *in silico* de moléculas diseñadas como híbridos contra *Trypanosoma cruzi*. Tesis de Maestría; UNAM, México, **2009**.
50. López Sánchez, M. A. Síntesis de derivados de quinazolin-2,4,6-triamina para evaluar su potencial actividad antioxidante. Tesis de Maestría; UNAM, México **2015**.
51. Werner, G.; Butenschön, H. Anionic thia-fries rearrangements of electron-rich ferrocenes and the unanticipated formation of diferrocenyl sulfate from 2-(trimethylsilyl) ferrocenyl imidazolylsulfonate. *Organometallics.* **2013**, 32 (20), 5798–5809.
52. Neto, A. F.; Miller, J.; De Andrade, V. F.; Fujimoto, S. Y.; De Freitas Afonso, M. M.; Archanjo, F. C.; Darin, V. A.; Andrade E Silva, M. L.; Borges, Á. D. L.; Del Ponte, G. New synthesis of ferrocene monocarboxylic acid and systematic studies on the preparation of related key-intermediates. *Zeitschrift fur Anorg. und Allg. Chemie.* **2002**, 628 (1), 209–216.
53. Cox, B. G.; Jedral, W.; Palou, J. Oxidation of ascorbic acid by copper (II) and the ferrocenium ion in acetonitrile-water mixtures. *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.* **1988**, 733–740.
54. Ekti, S. F.; Hür, D. Microwave assisted synthesis of ferrocene mides. *Inorg. Chem. Commun.* **2008**, 11 (9), 1027–1029.

55. Roy, S. S.; Patra, S. K. Synthesis and characterization of diferrocenyl conjugates: varying  $\pi$ -conjugated bridging ligands and its consequence on electrochemical communication. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2019**, *16*, 2193–2201.
56. Armarego, W. L. F. Quinazolines. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1963**, *1*, 253–309.
57. Castellani, B.; Diamanti, E.; Pizzirani, D.; Tardia, P.; Maccesi, M.; Realini, N.; Magotti, P.; Garau, G.; Bakkum, T.; Rivara, S.; et al. Synthesis and characterization of the first inhibitor of: N-acylphosphatidylethanolamine phospholipase D (NAPE-PLD). *Chem. Commun.* **2017**, *53* (95), 12814–12817.
58. Pati, K.; Dos Passos Gomes, G.; Harris, T.; Alabugin, I. V. Fused catechol ethers from gold (I)-catalyzed intramolecular reaction of propargyl ethers with acetals. *Org. Lett.* **2016**, *18* (5), 928–931.
59. Singh, J.; Thurmond, J.; Pease, B.; Rao, M.; Palomo, M.; Pail, G.; Bedell, L.; Keyvan, M.; Mishra, R.; Zhang, J.; et al. Synthesis and biological evaluation of novel heterocyclic compounds as SMN2 promoter activators for the potential treatment of spinal muscular atrophy. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 449–469.
60. Galindo Sevilla, N. and Hernández Luis, F. (Ferrocenmethyl)quinazolin-2,4,6-triamin (H2) and the derivatives and prodrugs thereof as antileishmanial, antiprotozoal, antiparasitic and antimicrobial agents. **2011**. WO2011/136631A1.
61. Sato, M.; Kono, H.; Shiga, M.; Motoyama, I.; Hata, K. A simple modification of Vilsmeier method for the preparation of formylferrocene. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1968**, *41* (1), 1.
62. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron.* **2005**, *61* (46), 10827–10852.
63. Breit, B.; Breuninger, D. Practical synthesis of enantiomerically pure 2-(diphenylphosphanyl) ferrocene carboxylic acid. *Synthesis.* **2005**, *16*, 2782–2786.
64. Tazi, M.; Erb, W.; Halauko, Y. S.; Ivashkevich, O. A.; Matulis, V. E.; Roisnel, T.; Dorcet, V.; Mongin, F. From 2- to 3-substituted ferrocene carboxamides or how to apply halogen “dance” to the ferrocene series. *Organometallics.* **2017**, *36* (24), 4770–4778.
65. Molander, G. A.; St. Jean, D. J. Samarium (II) iodide-mediated intramolecular conjugate additions of  $\alpha,\beta$ -unsaturated lactones. *J. Org. Chem.* **2002**, *67* (11), 3861–3865.
66. Qandil, A. M.; Fakhouri, L. I.  $\alpha$ -Anilinoketones, esters and amides: a chemical study. *Pharmaceuticals.* **2012**, *5* (6), 591–612.
67. Miltsov, S.; Karavan, V.; Misharev, A.; Alonso-Chamarro, J.; Puyol, M. Boron trifluoride-methanol complex. Mild and powerful reagent for deprotection of acetylated amines. Scope and selectivity. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57* (6), 641–644.

68. Huang, K.; Yang, H.; Zhou, Z.; Yu, M.; Li, F.; Gao, X.; Yi, T.; Huang, C. Multisignal chemosensor for Cr<sup>3+</sup> and its application in bioimaging. *Org. Lett.* **2008**, *10* (12), 2557–2560.
69. Klimova, T.; Klimova, E. I.; Me, J. M. The reactions of semicarbazide and thiosemicarbazide with ferrocenyl-substituted  $\alpha,\beta$ -enones. **2001**, 633, 137–142.
70. Paryzek, Z.; Koenig, H.; Tabaczka, B. Ammonium formate/palladium on carbon: a versatile system for catalytic hydrogen transfer reductions of carbon-carbon double bonds. *Synthesis*. **2003**, *13*, 2023–2026.
71. Sethi, S.; Das, P. K.; Behera, N. The chemistry of aminoferrocene, Fe{( $\eta^5$ -C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>)( $\eta^5$ -Cp)}: Synthesis, reactivity and applications. *J. Organomet. Chem.* **2016**, *824*, 140–165.
72. Heinze, K.; Schlenker, M. Main chain ferrocenyl amides from 1-aminoferrocene-1'-carboxylic acid. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, *14*, 2974–2988.
73. Srinivas, P.; Prabhakar, S.; Chevallier, F.; Nassar, E.; Erb, W.; Dorcet, V.; Jouikov, V.; Radha Krishna, P.; Mongin, F. Synthesis of ferrocene amides and esters from aminoferrocene and 2-substituted ferrocenecarboxylic acid and properties thereof. *New J. Chem.* **2016**, *40* (11), 9441–9447.
74. Roemer, M.; Nijhuis, C. A. Syntheses and purification of the versatile synthons iodoferrocene and 1,1'-diiodoferrocene. *Dalt. Trans.* **2014**, *43* (31), 11815–11818.
75. Darin, V. A.; Federmann Neto, A.; Miller, J.; de Freitas Afonso, M. M.; Fonsatti, H. C.; Lanchote Borges, A. D. Boron trifluoride etherate as a catalyst in acylation of ferrocene. *J. Prakt. Chem.* **1999**, *341* (6), 588–591.

## 12.1 Procedimiento experimental

### 12.1.1 Síntesis química

Para la obtención de los productos químicos deseados, se emplearon como materias primas, reactivos comercialmente disponibles de la marca Sigma Aldrich®, al igual que todos los disolventes de carácter anhidro. El resto de los disolventes fueron adquiridos de las marcas J.T. Baker® (grado analítico). Particularmente el compuesto 1-acetilferroceno fue donado por la Dra. Itzel Guerrero Ríos del departamento de Química Inorgánica y Nuclear, Lab. 217 de Posgrado Edificio B, como parte de un uso efectivo del material residual en la práctica de *Síntesis de 1-acetilferroceno* en laboratorio de Química Organometálica, nivel licenciatura.

Las mediciones en peso se hicieron en una balanza analítica marca Sartorius™ modelo CP124 S, y una balanza granataria Scout Pro Ohaus™.

El proceso de agitación y calentamiento convencional de las reacciones químicas se llevó a cabo en Parrillas de la marca IKA® modelos RET control-visc C, RCT basic y C-MAG HS 4.

La evaporación de los disolventes a presión reducida fue hecha en un rotaevaporador de la marca IKA® modelo RV 10 digital, acoplado a una bomba de vacío marca Vacuubrand® modelo CVC 3000 y un refrigerante de espiral marca Brinkmann™.

Particularmente para una de las reacciones, se empleó un reactor de microondas marca Anton Paar® modelo Monowave 300 EXTRA, adaptado a un automuestreador modelo MAS 24.

Los puntos de fusión de productos finales e intermediarios fueron determinados, mediante el uso de un aparato térmico digital de punto de fusión de la marca Electrothermal® modelo 9300. Los valores de punto de fusión reportados no están corregidos.



La hidrogenación catalítica de compuestos nitrados se hizo en un equipo de hidrogenación marca Paar® modelo 3916 EG, conectado como fuente de alimentación a un tanque de hidrógeno marca INFRA®.

El seguimiento del avance de reacción en todos los experimentos se hizo por cromatografía en capa fina, utilizando, cromatoplasmas de sílica gel de la marca SORTECH®, con indicador fluorescente a 240 nm. Las técnicas de revelado empleadas fueron tres: exposición a la luz UV (lámpara Spectroline®, modelo ENF-240C, 365/254 nm), iodación y oxidación con permanganato de potasio.

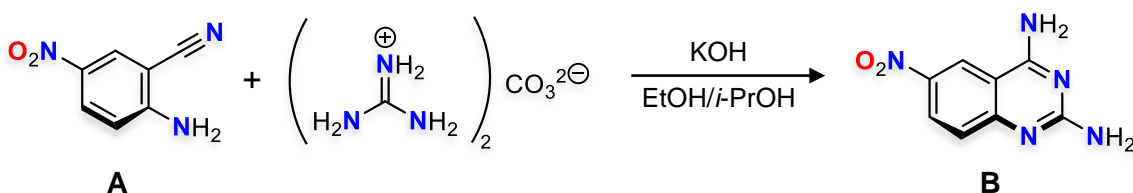
Para la caracterización analítico-instrumental se hizo uso del servicio otorgado por la USAII, en las áreas de RMN, Espectrometría de Masas (MS) e Infrarrojo (IR).

Los experimentos de RMN se efectuaron a temperatura ambiente, en los espectrómetros marca Varian modelos VNMRS de 400 MHz y MR de 300 MHz, en disolución de metanol o DMSO deuterados con tetrametilsilano como estándar interno.

Los análisis por espectrometría de masas se efectuaron en los espectrómetros de masas marca LECO®, modelo Pegasus 4D, con analizador másico TOF (Tiempo de Vuelo) y ionización electrónica, acoplado a un cromatógrafo de gases de la marca Agilent®, modelo 6890N con columna capilar DB5; así como en el espectrómetro de masas con analizador másico de tiempo de vuelo, marca Perkin Elmer®, modelo AxION 2 TOF.

Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro de FTIR/FIR de la marca Perkin-Elmer® mediante la técnica de reflectancia totalmente atenuada ATR.

### 12.1.1.1 Síntesis de B. <sup>48</sup>

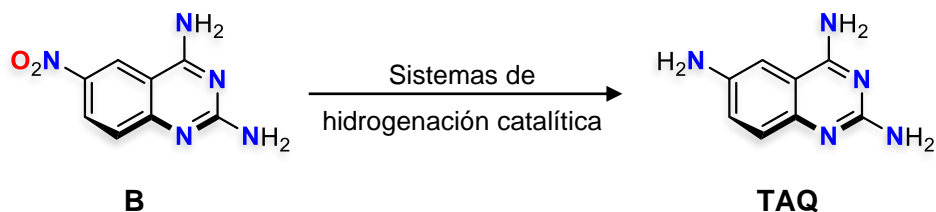


Esquema 12.1 Reacción de ciclación para la obtención de **B**.

En un matraz de fondo redondo, se suspendieron 524.6 mg (3.22 mmol) de **A** en 6 mL de una mezcla de disolventes EtOH/*i*-PrOH (1:2). De manera paralela, en un matraz Erlenmeyer de 50 mL se disolvieron 216.5 mg de KOH (3.86 mmol) con 7 mL de la mezcla alcohólica anteriormente descrita y fue hasta alcanzar completa homogeneidad del sistema que se le añadieron 463.7 mg de carbonato de guanidina (3.86 mmol), mezcla que se dejó bajo agitación durante aproximadamente 30 min. Pasado el tiempo especificado, se añadió la mezcla alcalina a la mezcla en suspensión; sometiendo consecutivamente a calentamiento de 90 °C y bajo agitación constante por 8 h, usando para ello un sistema a reflujo adaptado.

Para el tratamiento de la reacción, se filtró el producto obtenido (sólido color naranja) a través de un sistema a vacío, equipado con matraz Kitasato y embudo Büchner. Al sólido así retenido, se le efectuaron lavados acuosos exhaustivos para eliminar el exceso de álcali presente en la mezcla reactiva, hasta lograr pH neutro. Y finalmente se sometió a secado por arrastre con vacío por una noche. Masa de producto **B** recuperado 562.4 mg (2.73 mmol), R = 84.9 %, p. f. = 375–376 °C, R<sub>f</sub> = 0.43 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 70:30).

### 12.1.1.2 Síntesis de TAQ



Esquema 12.2 Reacción de reducción de **B**.

#### 12.1.1.2.1 Hidrogenación con H<sub>2</sub>-Pd/C.<sup>48</sup>

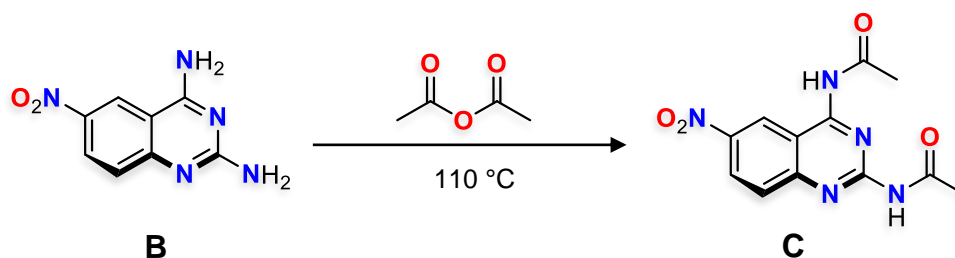
Se dispusieron en el frasco-recipientes del sistema de hidrogenación Parr, 500.3 mg de **B**, seguido de 50 mg de Pd/C (10 %); sólidos que se mezclaron hasta incorporación homogénea y posteriormente se les suspendió en 150 mL de MeOH. Las condiciones de hidrogenación fueron 60 psi en carga inicial de H<sub>2</sub> durante 1 h a temperatura ambiente. Transcurrido la hora de reacción, se procedió a filtrar la mezcla a través de celita para eliminar el Pd/C suspendido, seguido de la evaporación del disolvente haciendo uso del rotaevaporador. La **TAQ** es un sólido amarillo-verdoso, cuya apariencia en c.c.f. es una mancha luminiscente de color azul intenso, cercana al punto de aplicación (sumamente polar). Masa obtenida 401.2 mg (2.29 mmol), R = 93.9 %, p. f. = 225–227 °C, R<sub>f</sub> = 0.23 (AcOEt/MeOH, 60:40).

#### 12.1.1.2.2 Hidrogenación con NH<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H-Pd/C.<sup>57</sup>

Se colocaron 451.9 mg (2.20 mmol) de **B** y 45 mg de Pd/C (10 %) en un matraz de fondo redondo de 50 mL, contenido sólido que se homogeneizó y posteriormente se le adicionaron 30 mL de MeOH. Una vez suspendido el material sólido y manteniendo agitación constante, se le adicionaron 1.25 g (19.82 mmol) de formiato de amonio en pequeñas porciones durante 20 minutos, al término se sometió a reflujo por 1 h. Al término del calentamiento, se evaporó aproximadamente la mitad del disolvente y se enfrió la mezcla empleando un baño de hielo-sal, con la intención de precipitar el producto de reducción. Una vez obtenido un sólido amarillo-verdoso,

se aísla por filtración y se efectúan lavados exhaustivos con agua fría sobre el mismo. Se deja secar por una noche a vacío. La masa del producto recuperado fue de 289.7 mg (1.65 mmol), R = 75.1 %, p. f. = 230 °C, R<sub>f</sub> = 0.23 (AcOEt/MeOH, 60:40).

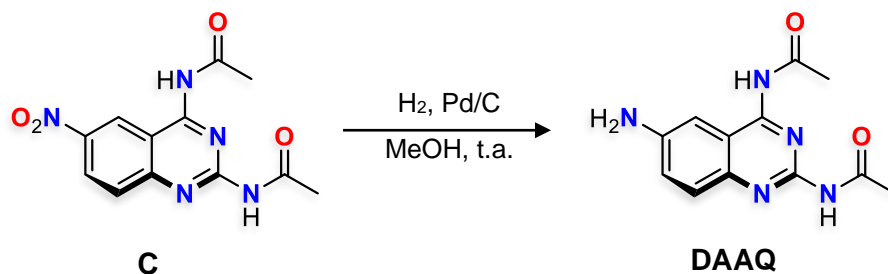
### 12.1.1.3 Síntesis de **C**.<sup>29</sup>



Esquema 12.3 Reacción de acetilación de **B**.

En un matraz de fondo redondo se dispusieron 500 mg (2.44 mmol) de **B**, seguido de 10 mL de anhídrido acético. Con ayuda de un sistema refrigerante adaptado en disposición de reflujo, se sometió a calentamiento (110 °C) y agitación vigorosa por aproximadamente 5 h. Durante las primeras horas del tiempo de reacción, se observa un vire de coloración en el sólido suspendido, de color naranja a amarillo claro, indicio del término de reacción. Una vez culminada la reacción, se filtra en frío el sólido obtenido y se efectúan lavados acuosos para la eliminación del ácido acético remanente, hasta lograr neutralidad en las aguas madre. Para secar el sólido se hace un último lavado con metanol frío y se deja a corriente de aire al vacío por una noche. La masa de producto **C** aislado fue de 456.3 mg (1.58 mmol), R = 64.7 %, p. f. = 277 °C, R<sub>f</sub> = 0.61 (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 80:20).

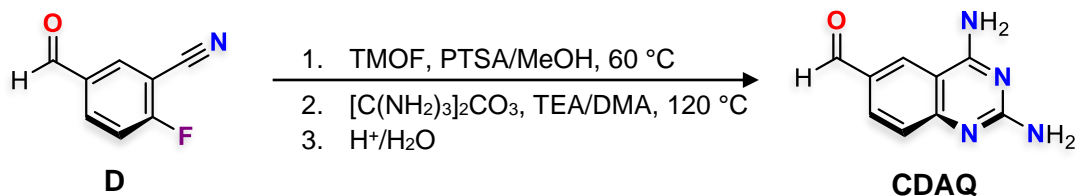
#### 12.1.1.4 Síntesis de CDAAQ.<sup>29</sup>



Esquema 12.4 Reacción de reducción **C**.

Para llevar a cabo esta reacción y aprovechando el volumen disponible del envase reactor del equipo de hidrogenación Parr, se pesaron 1.0150 g (3.51 mmol) de **C**, mismos que se mezclaron a homogeneidad con 100 mg de Pd/C (10 %) en fase sólida. Después de haber mezclado los sólidos, se adicionaron 150 mL de metanol, y se sometió a hidrogenación bajo agitación mecánica constante, a 60 psi en carga de H<sub>2</sub> y temperatura ambiente por 30 minutos. La apariencia del sistema reactivo es tal que, al inicio se observa una suspensión amarilla y termina como disolución color verde claro; que, si se irradia con luz UV, ésta luminesce de color verde. Para recuperar el producto, se filtra la mezcla a través de celita para retirar el catalizador y se elimina el disolvente a presión reducida en el rotaevaporador. La masa de **DAAQ** fue de 857.6 g (3.31 mmol), R = 94.3 %, p. f. = 235–236 °C, R<sub>f</sub> = 0.48 (AcOEt/MeOH, 90:10, 2x).

### 12.1.1.5 Síntesis de CDAQ.<sup>58,59</sup>



Esquema 12.5 Proceso sintético de CDAQ.

#### 12.1.1.5.1 Protección del grupo carbonilo, reacción 1.<sup>58</sup>

En un matraz de fondo redondo con capacidad de 25 mL, se colocaron 100.3 mg (0.67 mmol) de **D**, masa que se disolvió con 1.0 mL de metanol y posteriormente se le adicionaron 287  $\mu$ L (3.9 mmol) de trimetil ortoformiato (TMFO) y una punta de espátula de ácido *p*-toluensulfónico (PTSA). Una vez hecha la mezcla, y empleando un sistema refrigerante, se sometió a calentamiento de 60 °C por 12 h bajo agitación vigorosa. Al término, se eliminó el disolvente a presión reducida con el uso del rotaevaporador, obteniendo así un líquido viscoso color ámbar; mezcla líquida que se empleó en la reacción de ciclación con carbonato de guanidina (reacción 2) siguiente, asumiendo la protección del grupo carbonilo, con base en la transformación total de la señal en R<sub>f</sub> de la materia prima y la formación de un único producto de reacción. R<sub>f</sub> (producto) = 0.65, R<sub>f</sub> (materia prima) = 0.77 (Hex/AcOEt, 20:80).

#### 12.1.1.5.2 Ciclación, reacción 2.<sup>59</sup>

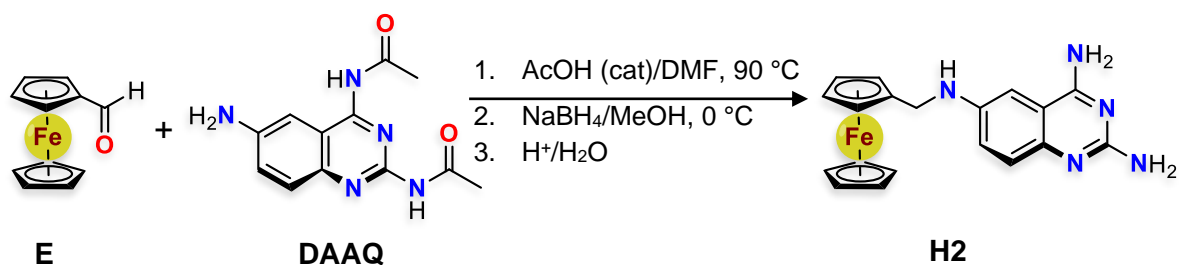
A la mezcla líquida obtenida en el paso anterior se le adicionaron 60.6 mg (0.33 mmol) de carbonato de guanidina, 100  $\mu$ L de trietilamina (TEA) y 2.0 mL de dimetilacetamida (DMA), tal cual en el orden en que se describe, para posteriormente someter a calentamiento de 140 °C por 16 h. El tratamiento final de la reacción involucró la eliminación del disolvente a presión reducida y la base mediante aireación asistida con vacío, y una vez concentrada la mezcla reactiva, se le efectuó un lavado bajo agitación magnética con una disolución de ácido clorhídrico al 36 %, por alrededor de 1 h. Finalmente el sólido café claro suspendido

se recuperó por filtración al vacío y se dejó bajo el flujo de aire hasta lograr sequedad. La masa de **CDAQ** obtenida fue de 108.0 mg (0.57 mmol), R = 85.3 %, p. d. = 246 °C, R<sub>f</sub> = 0.43 (AcOEt/MeOH, 80:20 + 1 gota de NH<sub>4</sub>OH<sub>conc</sub>).

Datos espectroscópicos:

**RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** δ (ppm): 9.94 (s, 1H, H-12); 9.20 (s, 1H, NH-2); 8.84 (s, 1H, NH-2); 8.95 (s, 1H, H-5); 7.94 (s, 2H, NH-4); 8.16 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-7), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** δ (ppm): 190.85 (C-11), 163.06 (C-4), 156.26 (C-2), 145.12 (C-9), 133.87 (C-6), 131.43 (C-7), 129.13 (C-8), 118.56 (C-10), 109.58 (C-5). **EM, APCI+** (m/z): 189.0800 [M+H]<sup>+</sup>. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3333, 3162 (NH<sub>2</sub>); 2862, 1380, 1340 (CO-H); 1648 (C=O); 1618, 1502, 1407 (C=C y C=N<sub>ar</sub>); 1207, 1087 (C-H<sub>ar</sub>).

#### 12.1.1.6 Síntesis de H2.<sup>29,47,60</sup>



Esquema 12.6 Proceso sintético de H2.

##### 12.1.1.6.1 Condensación, reacción 1

En un matraz de fondo redondo equipado con barra magnética, se preparó una disolución con 725.7 mg (2.80 mmol) de **DAAQ** y 10 mL de DMF. Aparte, en un vaso de precipitados de 50 mL se disolvieron 499.9 mg (2.34 mmol) de **E** con 5 mL de etanol. Una vez hechas ambas disoluciones, se adicionó gota a gota la mezcla etanólica en la de dimetilformamida, enjuagando el vaso de precipitados con porciones de 1 mL por cinco veces y añadiéndolas también, evitando dejar la menor cantidad de **E** remanente. Al finalizar el mezclado, se le adicionaron 5 gotas de ácido acético glacial y se sometió a calentamiento a reflujo de 90 °C por 24 h.

#### 12.1.1.6.2 Reducción, reacción 2

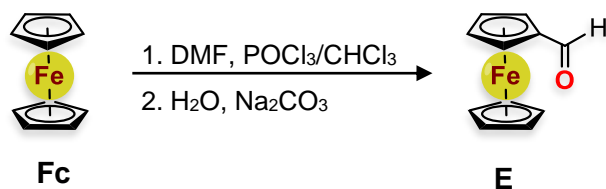
Posteriormente al calentamiento a reflujo, se evaporó el disolvente a presión reducida hasta obtener un sólido amorfo color café claro, mismo que se resuspendió en 12 mL de metanol y se neutralizó el ácido acético remanente con bicarbonato de sodio. Todo el sistema fue enfriado empleando un baño de hielo-sal para su objetivo, prosiguiendo así con la adición de 265.7 mg (7.02 mmol) de borohidruro de sodio en pequeñas porciones. La mezcla de reacción se dejó evolucionar por 24 h a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo y como trabajo final de la reacción, se aciduló con una disolución de ácido clorhídrico al 36 % hasta alcanzar un pH de ~3 y se agitó por 5 h más. Finalmente se evaporaron a presión reducida la mezcla de disolventes y el sólido café-amarillento precipitado se resuspendió en metanol para formar un soporte sólido con sílica gel para su tratamiento cromatográfico. El producto de reacción se aisló tras someter a cromatografía en columna, empleando un gradiente de elución del sistema AcOEt/MeOH, comenzando en una proporción de (100:0) y culminando en (60:40), aumentando 5 % en MeOH cada 100 mL. El último sistema eluyente se mantuvo hasta la recuperación total del producto de interés. Tras la concentración de las fracciones de interés, se obtuvieron 566.4 mg (1.52 mmol) de **H2**, R = 65.0 %, p. d. = 152 °C, R<sub>f</sub> = 0.48 (AcOEt/MeOH, 80:20 + 1 gota de NH<sub>4</sub>OH<sub>conc</sub>).

Datos espectroscópicos:

**EM, APCI+** (m/z): 374.1027 [M+H]<sup>+</sup>. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3413, 3303, 3088 (NH<sub>2</sub>); 1920, 1762 (Ar); 1650, 1565, 1525 (C=C y C=N<sub>Ar</sub>); 1096 (Cp); 822, 484 (Fe-Cp).



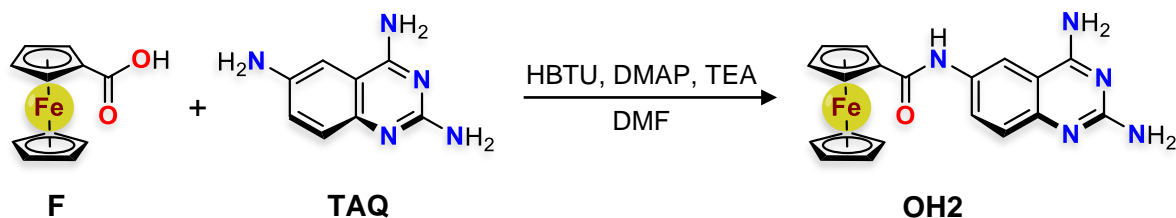
### 12.1.1.6.3 Síntesis de E.<sup>61</sup>



Esquema 12.7 Proceso sintético de E.

En un matraz de fondo redondo con capacidad de 150 mL, se preparó una disolución con 5.1143 g (27.49 mmol) de **Fc**, 55 mL de  $\text{CHCl}_3$  y 15 mL de DMF, sistema que se mantuvo a baja temperatura sumergiéndolo en un baño de hielo-agua. Posteriormente se adicionaron 10.3 mL (110.1 mmol) de oxiclورو de fósforo gota a gota por alrededor de 1 h, dejando así evolucionar la reacción a temperatura ambiente por 1 h más. Transcurridas las dos horas especificadas, se sometió a calentamiento a reflujo (60 °C) con ayuda de un sistema de refrigeración y agitación vigorosa durante 7 h. Para el trabajo final de la reacción, se adicionaron 30 mL de agua a la mezcla de reacción una vez dispuesta en un baño de hielo-agua, seguido del proceso de neutralización con bicarbonato de sodio. La fase orgánica se recuperó y se le adicionó sílica gel para la formación de un soporte sólido tras la eliminación del disolvente, útil en el subsecuente tratamiento de purificación. Para separar **E** se purificó mediante cromatografía en columna bajo elución a gradiente, en donde el sistema eluyente fue (Hex/AcOEt), iniciando en una proporción de (97:3) y terminando en (85:15), manteniendo así dicha polaridad hasta la recuperación total del producto deseado. Finalmente, el compuesto aislado se sometió a recristalización de DCM/Hex (1:2) para obtener un sólido cristalino color rojo granate, cuya masa final fue de 1.4926 g (6.97 mmol), R = 25.4 %, p. f. = 125.8 °C,  $R_f$  = 0.59 (Hex/AcOEt, 80:20).

### 12.1.1.7 Síntesis de OH2.<sup>62</sup>



Esquema 12.8 Reacción de amidación para la síntesis de OH2.

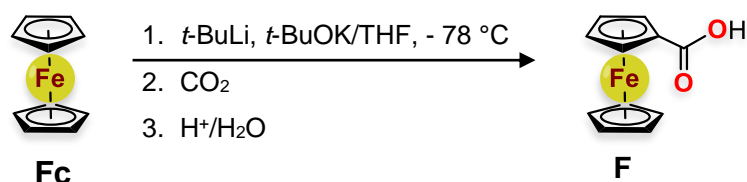
Se preparó una disolución con 212.7 mg (0.93 mmol) de **F**, 14 mL de DMF y 267  $\mu$ L de TEA, en un matraz de fondo redondo con capacidad de 50 mL. Una vez obtenida la disolución, se adicionaron 441.7 mg (1.17 mmol) de HBTU en sólido y por porciones durante 20 minutos. Durante este último intervalo tiempo, se observa un vire en la coloración de la mezcla, de una coloración café claro a rojo oscuro. Hasta este punto se adicionaron 11.3 mg (0.09 mmol) de dimetilamino piridina (DMAP), 194.2 mg (1.11 mmol) de **TAQ** y posteriormente se sometió a calentamiento de 80 °C por 14 h. Al término del calentamiento, se eliminó el disolvente por completo empleando el rotaevaporador, acto seguido se resuspendió el sólido café obtenido en metanol hasta obtener un sistema sólido finamente particulado, asistido para ello por agitación magnética. Al sistema en suspensión se le adicionó sílica gel en sólido para formar un sistema soporte para llevar a cabo la purificación del producto de amidación por cromatografía en columna. La elución fue a gradiente con el sistema CHCl<sub>3</sub>/MeOH, comenzando en un sistema (97:3) y culminando en (60:40), con aumentos graduales en 5 % cada 150 mL aproximadamente. Se colectaron las fracciones de interés y se evaporó el disolvente, obteniendo al final del proceso un sólido color naranja claro, cuya masa fue de 93.1 mg (0.24 mmol), R = 26.0 %, p. d. = 206 °C, R<sub>f</sub> = 0.53 (AcOEt/MeOH, 80:20 + 1 gota de NH<sub>4</sub>OH conc).

Datos espectroscópicos:

**RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, MeOD)**  $\delta$  (ppm): 8.53 (s, 1H, H-5); 8.08 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-8); 7.93 (m, 2H, NH-4); 7.77 (m, 2H, NH-2), 7.31 (s, 1H, CONH-6), 6.97 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H, H-7), 5.02 (s, 2H, H-13), 4.53 (s, 2H, H-14), 4.28 (s, 5H, H-15). **RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, MeOD)**  $\delta$  (ppm): 172.39(C-11), 165.19(C-4), 159.08(C-2),

140.10(C-9), 137.78(C-6), 130.43(C-7), 115.71(C-8), 113.16(C-10), 108.21(C-5), 76.26(C-12), 72.52(C-14), 71.00(C-15), 69.86(C-13). **EM, APCI+** (m/z): 387.0965 [M<sup>+</sup>]. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3347, 3222, 3100(-NH<sub>2</sub>); 1645(C=O); 1525(CON-H); 1626, 1574(C=C y C=N<sub>ar</sub>); 1281, 1217(C-H<sub>ar</sub>); 1142(Cp); 835, 482(Fe-Cp).

#### 12.1.1.7.1 Síntesis de ácido F.<sup>63,64</sup>



Esquema 12.9 Proceso sintético de F.

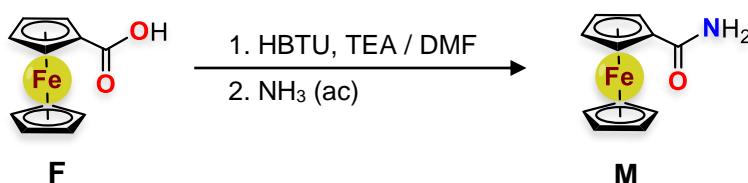
La mezcla de reacción se preparó mezclando 1.9766 g (10.62 mmol) de **Fc**, 123.5 mg (1.1 mmol) de *tert*-butóxido de potasio en 90 mL de THF bajo agitación constante, en un matraz bola de fondo redondo, bajo condiciones anhidras, procurando una atmósfera de nitrógeno de inicio a fin de la reacción. Una vez incorporados los sólidos en THF, todo el sistema se enfrió a -78 °C en un baño de hielo seco-acetona; una vez alcanzada dicha temperatura, se comenzó la adición de 12.5 mL (21.25 mmol) gota a gota por alrededor de 1 h, de una disolución de *tert*-butil litio al 1.7 M en pentano. A partir de la última gota de la disolución de *tert*-butil litio agregada, se deja evolucionar la reacción durante 2 h más, procurando que al término de este último intervalo de tiempo se llegue a la temperatura ambiente, y justo después se hace burbujear dióxido de carbono por un periodo de una hora y media a flujo moderado. Justo en este paso, se observa un vire en la coloración de la mezcla reactiva, de naranja claro a café violáceo. Para el trabajo final de la reacción, se le adicionaron 20 mL de etanol a la mezcla de reacción para neutralizar el posible exceso de organolitio remanente y posteriormente, se evaporó el disolvente en el rotaevaporador, consiguiendo así un sólido café oscuro que se sometió a extracción líquido-líquido, empleando como disolventes CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O. En una primera extracción se recuperó el material ferrocénico no ionizable en la

fracción de  $\text{CHCl}_3$ , manteniendo al anión ferrocencarboxilato en el agua. Después se aciduló el agua con ácido clorhídrico concentrado hasta pH cercano a 0, y se extrajo el producto de carboxilación, el ácido 1-ferrocencarboxílico en  $\text{CHCl}_3$ . Tras evaporar el cloroformo a presión reducida, se obtuvieron 1.1971 g (5.2 mmol) de **F** un sólido color café rojizo. R = 48.9 %, p. d. = 205 °C,  $R_f$  = 0.39 (Hex/AcOEt, 60:40).

Datos espectroscópicos:

**IR, FTIR por reflectancia ATR** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2972, 2893(-OH); 1652(C=O); 1473, 1159, 1028(Cp); 825, 479(Fe-Cp).

#### 12.1.1.7.2 Síntesis de **M**

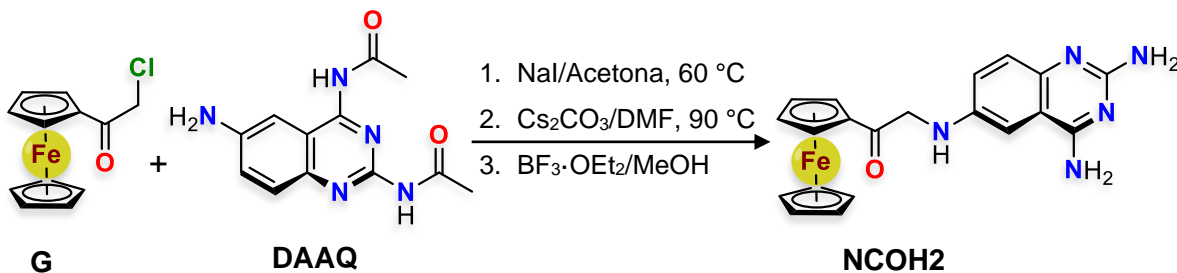


Esquema 12.10 Reacción de amidación de **F**.

En un matraz de fondo redondo equipado con agitador magnético, se colocaron 200.8 mg (0.873 mmol) de **F**, mismos que disolvieron en 8.0 mL de DMF y 0.2 mL de TEA. Tras obtener una disolución con el ácido 1-ferrocencarboxílico, se adicionó en pequeñas porciones 430.4 mg (1.13 mmol) de HBTU, bajo un régimen constante de agitación. La mezcla se dejó evolucionar a temperatura ambiente por alrededor de 30 min, momento tras el cual se añadió 1.0 mL de  $\text{NH}_3$  (ac) concentrado y se dejó evolucionar por otra media hora. Para aislar **M**, todo el crudo de reacción se sometió a purificación por percolación en sílica gel, tras la eliminación total de la DMF por arrastre de vapor asistido con vacío. La elución se hizo con un sistema Hex/AcOEt (70:30) hasta el aislamiento total del producto deseado. Finalmente se aisló un sólido amarillo mostaza tras la eliminación del disolvente de elución empleando el rotaevaporador. La masa de producto obtenida fue de 190.3 mg (0.83 mmol) de **F**. R = 95.2 %.

Datos espectroscópicos: **EM, IE+** (m/z): 229.123 [ $\text{M}^+$ ].

### 12.1.1.8 Síntesis de NCOH2.<sup>65-67</sup>



Esquema 12.11 Proceso sintético de NCOH2.

#### 12.1.1.8.1 Intercambio de halógeno (reacción de Finkelstein), reacción 1.<sup>65</sup>

Para la reacción de sustitución nucleofílica sobre el metileno del 1-(cloroacetyl)ferroceno, primero se efectuó el intercambio de halógeno, de cloro a iodo, para esto se colocaron 327.8 mg (1.25 mmol) de **G** en un matraz de fondo redondo de 50 mL, junto con 1.8706 g (12.5 mmol) de ioduro de sodio y 6.5 mL de acetona. Una vez mezclados los componentes bajo agitación magnética y con un ayuda de un sistema de refrigeración dispuesto a reflujo, se calentó en baño de aceite a 60 °C por 18 h. Pasado el tiempo de calentamiento, se evaporó el disolvente a presión reducida en el rotaevaporador y se extrajo el material ferrocénico con diclorometano, dejando en forma de precipitado las sales inorgánicas remanentes. El producto obtenido no se purificó y directamente se utilizó en la reacción de sustitución nucleofílica siguiente. Como criterio de evolución hacia el intercambio de halógeno, se consideró únicamente la modificación en R<sub>f</sub> de la materia prima y el producto, mismos que se diferenciaron y además solo se observó la formación de un único producto diferente de **G** y muy similar en polaridad. R<sub>f</sub> (producto) = 0.50, R<sub>f</sub> (materia prima) = 0.45 (Hex/AcOEt, 90:10, 2x y 80:20, 1x).

#### 12.1.1.8.2 Sustitución nucleofílica S<sub>N</sub>2, reacción 2.<sup>66,67</sup>

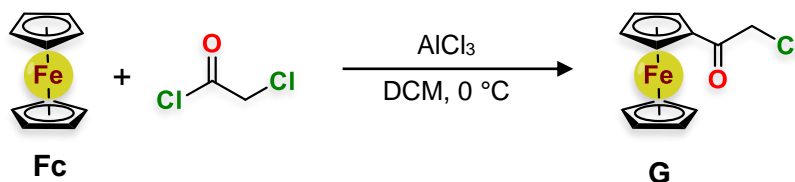
En un matraz de 50 mL, se colocaron 324.6 mg (1.25 mmol) de **DAAQ** y 407.4 mg (1.25 mmol) de carbonato de cesio, sólidos que se disolvieron en 7 mL de DMF.

Aparte, el material ferrocénico en mezcla proveniente de la reacción 1, se mantuvo en disolución de acetona (4 mL), y posteriormente fue adicionado gota a gota bajo un régimen de agitación constante a la mezcla de DMF. Una vez incorporados ambos componentes reactantes, se calentó a 50 °C por 16 h. Trascurrido el tiempo de calentamiento, el trabajo final consistió en evaporar la dimetilformamida en el rotaevaporador y resuspender el sólido obtenido en metanol hasta obtener la mayor particulación del sólido posible bajo agitación, seguido de la adición de tres gotas de una disolución de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  al 7.5 M. Este último procedimiento se dejó evolucionar por 1 h y posteriormente se le adicionó sílica gel para la formación de un soporte sólido para posteriormente efectuar una purificación por cromatografía en columna. El programa de elución fue a gradiente, empleando un sistema AcOEt/MeOH, que comenzó en una proporción al (95:5) y culminó en (50:50), con cambios graduales en 5 % cada 200 mL aproximadamente. Finalmente se recuperó un sólido color naranja cuya pesada fue de 242.2 mg (0.60 mmol). R = 48.2 %, p. d. = 209 °C,  $R_f = 0.44$  (AcOEt/MeOH, 90:10 + 1 gota de  $\text{NH}_4\text{OH}_{\text{conc}}$ ).

Datos espectroscópicos:

**EM, APCI+** (m/z): 401.0911 [ $\text{M}^+$ ].

### 12.1.1.8.3 Síntesis de **G**.<sup>68</sup>



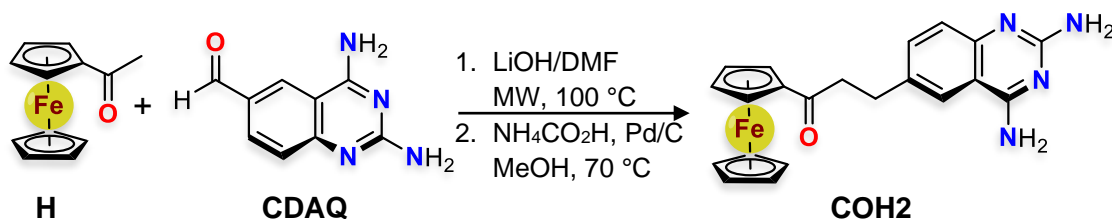
Esquema 12.12 Reacción de acilación de **Fc**.

En un matraz de fondo redondo con capacidad de 50 mL y equipado con agitación magnética, se preparó una mezcla con 1.4335 g (10.75 mmol) de AlCl<sub>3</sub>, 855 µL de cloruro de cloroacetilo (10.75 mmol) y 20 mL de diclorometano, sistema que se mantuvo a baja temperatura en un baño de hielo-sal. Aparte en un matraz Erlenmeyer de 250 mL se formó una disolución con 2.0217 g (10.86 mmol) de **Fc** y 20 mL de diclorometano, misma que se transfirió a un embudo de adición directamente conectado al matraz de fondo redondo de la disolución inicialmente preparada. El siguiente paso consistió en adicionar gota a gota la disolución que contenía al ferroceno a la mezcla acilante durante 4 h aproximadamente. Una vez mezcladas ambas disoluciones, se dejó evolucionar por 12 h a temperatura ambiente. Cabe señalar que al momento de adicionar **Fc** en la mezcla acilante, éste sufre inevitablemente un proceso de oxidación como reacción colateral a la de interés, por lo que el tratamiento final consistió en evaporara totalmente a presión reducida el DCM en el rotaevaporador, seguido de una extracción líquido-líquido con el sistema CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O del sólido aislado, en donde para recuperar el material organometálico oxidado, se tuvo que adicionar ácido ascórbico al agua. De esta forma se aisló la fracción de disolvente orgánico y se concentró toda la mezcla con sílica gel para la formación de un soporte sólido utilizado para en el tratamiento de purificación por cromatografía en columna. El programa de elución fue a gradiente, en donde el sistema eluyente fue Hex/AcOEt, comenzando en una proporción al (95:5) y terminando en (70:30), con aumento en la polaridad en un 5 % cada 200 mL aproximadamente. El producto obtenido fue un sólido cristalino naranja en forma de agujas, cuya cantidad aislada fue de 336.9 mg (1.29 mmol). R = 11.8 %, p. f. = 92 °C, R<sub>f</sub> = 0.45 (Hex/AcOEt, 90:10, 2x y 80:20, 1x).

Datos espectroscópicos:

**EM, IE+** (m/z): 262.111 [M<sup>+</sup>] 100 %, 264.101 [M+2]<sup>+</sup> 28.79 %. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3093, 2 990, 2939 (CH-Cp); 1674 (C=O); 1449, 1240, 1067 (Cp); 823, 484 (Fe-Cp).

### 12.1.1.9 Síntesis de COH2.<sup>69,70</sup>



Esquema 12.13 Proceso sintético de COH2.

#### 12.1.1.9.1 Condensación aldólica, reacción 1.<sup>69</sup>

La reacción de condensación se hizo con ayuda de un reactor de microondas, en el que se dispusieron inicialmente dentro de un vial, 302.4 mg (1.33 mmol) de H, 128.4 mg (5.36 mmol) de hidróxido de litio y 249.5 mg (1.33 mmol) de CDAQ con 10 mL de DMF. Las condiciones de reacción se ajustaron a 100 °C, 50 W, a 600 r.p.m. en agitación, durante 4 h. Posteriormente la mezcla de reacción se filtró para eliminar el exceso de base remanente en forma de precipitado, efectuando lavados sobre éste con metanol para recuperar el material orgánico. Una vez reunidas las fracciones orgánicas, se procedió a formar un soporte sólido, adicionando sílica gel a la disolución y posteriormente evaporando el disolvente a presión reducida con el rotaevaporador; efectuando posteriormente la purificación del producto de reacción por cromatografía en columna. La elución de la mezcla de reacción se efectuó a gradiente con el sistema AcOEt/MeOH, comenzando en una proporción del (95:5) y terminando en (70:30), con cambios graduales de polaridad en 5 % aproximadamente, cada 200 mL. El producto recuperado fue un sólido cristalino color violeta, cuya masa aislada fue de 234.5 mg (0.59 mmol). R = 44.4 %, p. d. = 224 °C, R<sub>f</sub> = 0.48 (Hex/AcOEt, 60:40, 1x y AcOEt/MeOH, 80:20, 1x).



Datos espectroscópicos:

**EM, APCI+** (m/z): 399.0810 [M+H]<sup>+</sup>.

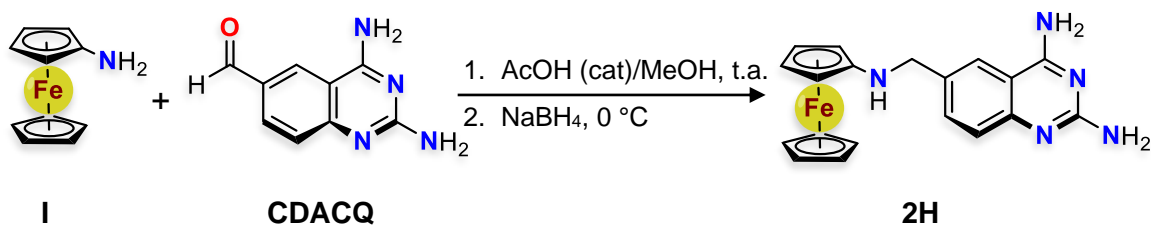
#### 12.1.1.9.2 Reducción, reacción 2.<sup>70</sup>

Haciendo uso de un sistema para calentamiento a reflujo y adaptado a un matraz de fondo redondo con capacidad de 25 mL, se preparó una mezcla con 200.1 mg (0.50 mmol) de la enona anteriormente sintetizada (sección 12.1.1.9.2), 316.8 mg (5.02 mmol) de formiato de amonio, 20.4 mg de Pd/C (10 %) y 5 mL de metanol. La mezcla se sometió a calentamiento a reflujo de 70 °C durante 5 h, bajo agitación constante. Durante el proceso de reacción se observa un vire en la coloración, de violeta a naranja claro, señal de término de reacción. Para el tratamiento de la reacción, se filtró sobre celita la mezcla de reacción en caliente, haciendo posteriormente lavados con metanol tibio para extraer totalmente el posible producto orgánico retenido. A las fracciones orgánicas colectadas se les eliminó el disolvente por evaporación a presión reducida empleando el rotaevaporador, posteriormente se raspó el sólido naranja obtenido y se recristalizó de metanol. La cantidad producto obtenida fue de 121.7 mg (0.30 mmol). R= 60.5 %, p. d.= 195–198 °C, R<sub>f</sub> = 0.44 (AcOEt/MeOH, 80:20 + 1 gota de NH<sub>4</sub>OH<sub>conc</sub>).

Datos espectroscópicos:

**RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, MeOD)** δ (ppm): 8.03 (s, 1H, H-8), 7.79 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H-7), 7.36 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H-8), 4.82 (s, 2H, H-15), 4.59 (s, 2H, H-16), 4.08 (s, 5H, H-17), 3.17 (m, 2H, H-12), 3.14 (m, 2H, H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, MeOD)** δ (ppm): 205.85 (C-13), 170.42 (C-4), 165.19 (C-2), 156.77 (C-9), 139.93 (C-7), 137.71 (C-6), 125.08 (C-8), 118.04 (C-5), 110.60 (C-10), 79.70 (C-14), 73.96 (C-16), 70.86 (C-17), 70.52 (C-15), 41.77 (C-12), 30.56 (C-11). **EM, APCI+** (m/z): 401.0985 [M+H]<sup>+</sup>. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3349, 3116 (-NH<sub>2</sub>); 1649 (C=O); 1642, 1456, 1349 (C=C y C=N<sub>ar</sub>); 1085 (Cp); 831, 484 (Fe-Cp).

### 12.1.1.10 Síntesis de 2H.<sup>71</sup>



Esquema 12.14 Proceso sintético de 2H.

#### 12.1.1.10.1 Condensación, reacción 1

Se preparó una mezcla con 116.8 mg (0.58 mmol) de **I**, 109.5 mg (0.58 mmol) de **CDAQ**, 5.0 mL de metanol y una gota de ácido clorhídrico concentrado, en un matraz bola de 25 mL. La mezcla reactiva se mantuvo en agitación durante 5 h a temperatura ambiente. De manera física se observa un cambio en la coloración desde el momento en que entran en contacto **I** y **CDAQ**; esto es, de naranja amarillento a rojo, hecho que tras el monitoreo de la reacción por C.C.F significó que se había efectuado la reacción de manera instantánea sin necesidad de calentamiento. Y como tratamiento final de esta reacción se le adicionó bicarbonato de sodio para neutralizar el ácido remanente, antes de continuar con la reacción de reducción.

#### 12.1.1.10.2 Reducción, reacción 2

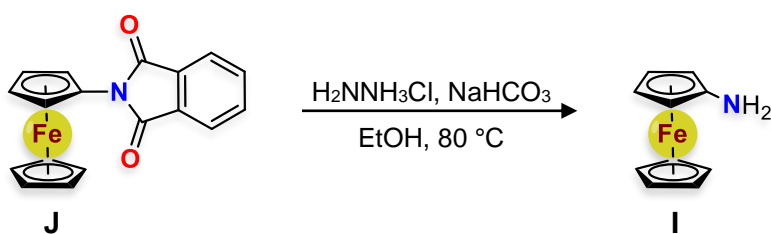
En el mismo matraz donde se realizó la reacción de condensación, se adicionaron 87.5 mg (2.31 mmol) de borohidruro de sodio en porciones, manteniendo todo el sistema en un baño de hielo-agua hasta el término de la adición del agente reductor, donde tiempo después se dejó evolucionar a temperatura ambiente por 6 h. El tratamiento final de la reacción consistió en evaporar el metanol a presión reducida en el rotaevaporador, consiguiendo un sólido color amarillo, sobre el cual se llevaron a cabo lavados exhaustivos con éter etílico y posteriormente con agua para eliminar en una primera edición los componentes ferrocénicos y en segundo lugar para retirar el posible remanente de **CDAQ** que haya quedado aún. El sólido café claro

hasta este punto aislado se recristalizó de metanol, recuperando así 130.1 mg (0.35 mmol) de **2H**. R = 64.5 %, p. d. = 212–214 °C, R<sub>f</sub> = 0.40 (AcOEt/MeOH, 80:20).

Datos espectroscópicos:

**RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** δ (ppm): 8.10 (s, 1H, H-5); 7.67 (s, 2H, NH-4); 7.59 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H-7); 7.20 (s, 1H, H-8); 6.35 (s, 2H, NH-2); 4.42 (s, 1H, NH-11); 4.09 (s, 5H, H-15); 3.86 (s, 2H, H-14); 3.77 (s, 2H, H-13); 3.38 (s, H-11 & H<sub>2</sub>O). **RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, TMS, MeOD)** δ (ppm): 7.96 (s, 1H, H-5); 7.59 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-7); 7.27 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-8); 5.39 (s, 1H, NH-11); 3.28 (s, 2H, H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** δ (ppm): 162.40 (C-4), 159.38 (C-2), 133.30 (C-7), 122.62 (C-8), 111.83 (C-5), 109.83 (C-10), 69.05 (C-12), 67.46 (C-15), 62.02 (C-14), 54.66 (C-13), 50.53 (C-11). **RMN-<sup>13</sup>C (101 MHz, TMS, MeOD)** δ (ppm): 164.93 (C-4), 162.11 (C-2), 152.78 (C-9), 132.98 (C-7), 124.69 (C-6), 122.93 (C-8), 110.96 (C-10), 104.43 (C-5), 66.89 (C-15). **EM, APCI+** (m/z): 374.1122 [M+H]<sup>+</sup>. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3338, 3173 (-NH<sub>2</sub>); 1618, 1563, 1418 (C=C y C=N<sub>ar</sub>); 837, 493 (Fe-Cp).

#### 12.1.1.10.3 Síntesis de **I**.<sup>72</sup>



Esquema 12.15 Reacción de hidrazinólisis de **J**.

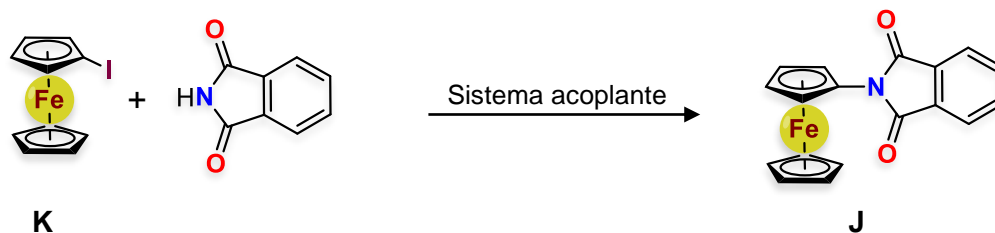
Se mezclaron en un matraz de fondo redondo con capacidad de 25 mL, 296.8 mg (0.90 mmol) de **J**, 122.7 mg (1.80 mmol) de hidrocloreuro de hidrazina, 151.2 mg (1.80 mmol) de bicarbonato de sodio con 4 mL de etanol. Una vez incorporados los reactivos, se adaptó un sistema refrigerante para calentar a reflujo la reacción de hidrazinólisis durante 2 h a 80 °C. El indicativo de término de reacción se observa claramente, puesto que al inicio se obtiene una disolución color rojo y se culmina

con una disolución color amarillo y un precipitado blanquecino en el fondo. Para el tratamiento final de reacción, se adicionó sílica gel directo a la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente a presión reducida en el rotaevaporador, con la finalidad de formar un soporte sólido útil en la separación de **I** mediante percolación. La elución de la columna de percolación se hizo a gradiente empleando un sistema Hex/AcOEt, que comenzó en una proporción de (90:10) y culminó en (60:40), con un solo cambio de polaridad una vez eliminadas las impurezas que aparecen al frente de elución. Finalmente se concentran las fracciones de interés en el rotaevaporador. La masa de producto recuperado fue de 166.1 mg (0.83 mmol). R = 92.2 %, p. f. = 153–154 °C, R<sub>f</sub> = 0.69 (Hex/AcOEt, 60:40).

Datos espectroscópicos:

**EM, IE+** (m/z): 201.115 [M<sup>+</sup>]. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3398, 3331 (NH); 3086 (CH-Cp); 1492, 1100 (Cp); 794, 481 (Fe-Cp).

#### 12.1.1.10.3.1 Síntesis de **J**.<sup>72,73</sup>



Esquema 12.16 Reacción de acoplamiento para la síntesis de **J**.

##### 12.1.1.10.3.1.1 Acoplamiento tipo Ullmann, catálisis heterogénea.

En un matraz bola dispuesto para someter a calentamiento de reflujo, se mezclaron 801.2 mg (2.57 mmol) de **K**, 755.8 mg (5.14 mmol) de ftalimida y 477.8 mg (3.34 mmol) de óxido cuproso en 13 mL de acetonitrilo. Tras la incorporación de todos los componentes, se sometió a calentamiento de 85 °C durante 72 h bajo un régimen de agitación constante. Al término del calentamiento a reflujo, se filtró sobre celita la mezcla, para retirar el sólido remanente de óxido cuproso y el crudo de reacción se soportó en sílica gel para su purificación por cromatografía en columna. La

elución cromatográfica fue a gradiente, empleando un sistema eluyente de Hex/AcOEt, que comenzó en una proporción (100:0) y culminó en (70:30) con un aumento gradual de 5 % en polaridad aproximadamente cada 150 mL. Finalmente, tras concentrar las fracciones de interés, se recuperaron 615.9 mg (1.86 mmol) de un sólido cristalino color rojo granate. R = 72.4 %, p. f. = 161–162 °C, R<sub>f</sub> = 0.43 (Hex/AcOEt, 80:20).

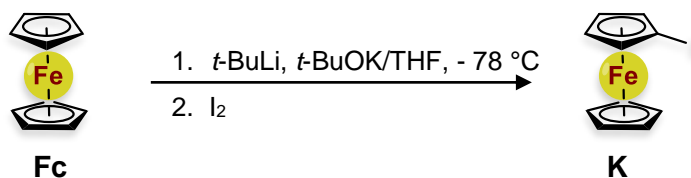
#### **12.1.1.10.3.1.2 Acoplamiento en fase sólida.**

Para este propósito se mezclaron en sólido 204.9 mg (0.66 mmol) de **K** y 584.3 mg (1.64 mmol) de ftalimiduro de cobre (II) en un matraz de fondo redondo de 50 mL bajo atmósfera inerte, de forma tal que se obtuviera al final una pasta color verde, y justo en este punto, se sometió a 140 °C de calentamiento por 2 h. Después ya a temperatura ambiente, el crudo de reacción se extrajo con diclorometano, seguido de la adición de sílica gel para la formación de un soporte sólido para purificación por cromatografía; tras la evaporación del disolvente a presión reducida en el rotaevaporador. La purificación cromatográfica fue igual a la descrita en la sección 12.1.1.10.3.1.1. De este procedimiento se aislaron 89.4 mg (0.27 mmol) de **J**. R = 41.1 %

Datos espectroscópicos:

**EM, IE+** (m/z): 331.049 [M<sup>+</sup>]. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3065, 2919 (CH<sub>Ar</sub>); 1712 (C=O); 1990, 1848, 1478 (C=C<sub>Ar</sub>); 1358, 1067 (Cp); 712, 495 (Fe-Cp).

### 12.1.1.10.3.2 Síntesis de K.<sup>74</sup>



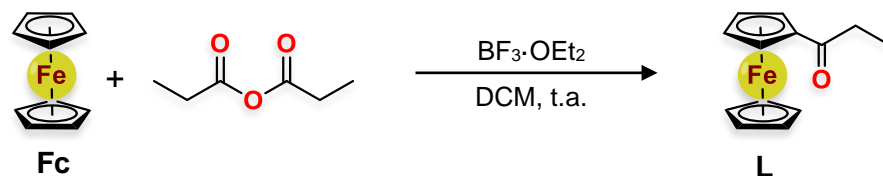
Esquema 12.17 Proceso sintético de K.

La mezcla de reacción se preparó mezclando 1.9766 g (10.62 mmol) de **Fc**, 123.5 mg (1.1 mmol) de terbotóxido de potasio en 90 mL de THF bajo agitación constante, en un matraz de fondo redondo, bajo condiciones anhidras, procurando una atmósfera de nitrógeno de inicio a fin de la reacción. Una vez incorporados los sólidos en THF, todo el sistema se enfrió a -78 °C en un baño de hielo seco-acetona; una vez alcanzada dicha temperatura, se comenzó la adición de 12.5 mL gota a gota por alrededor de 1 h, de una disolución de *terc*-butil litio al 1.7 M en pentano. A partir de la última gota de la disolución de *terc*-butil litio agregada, se deja evolucionar la reacción durante 2 h más, procurando que al término de este último intervalo de tiempo se llegue a la temperatura ambiente, y justo después se adicionaron 4.0452 g (15.94 mmol) de I<sub>2</sub> en un solo paso, observando un vire en la coloración de la mezcla reactiva, de naranja claro a café. Se dejó evolucionar por alrededor de 12 h. Para el trabajo final de la reacción, se le adicionaron 20 mL de etanol a la mezcla de reacción para neutralizar el posible exceso de organolitado remanente y después, se eliminó todo el disolvente en el rotaevaporador, consiguiendo así un sólido naranja, que se sometió a extracción, empleando como disolventes CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O. En la fase orgánica se recuperó la mezcla del material ferrocénico de la reacción, mismo que se soportó en sílica gel para su purificación por cromatografía en columna. El tipo de elución efectuada fue a gradiente, con un programa que inicialmente comenzó en una proporción del 100:0 y culminó en 95:5 del sistema Hex/AcOEt. Tras concentrar las fracciones de interés, se obtuvieron 3.0650 g (9.83 mmol) de **K** un sólido líquido amarillo mostaza. R = 92.5 %, R<sub>f</sub> = 0.64 (Hex/AcOEt, 80:20).

Datos espectroscópicos:

**EM, IE+** (m/z): 311.966 [M<sup>+</sup>]. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3096, 2931 (CH-Cp); 1649, 1409, 1106, 1001 (Cp); 816, 472 (Fe-Cp).

#### 12.1.1.11 Síntesis de L.<sup>75</sup>



Esquema 12.18 Propionilación de **Fc**.

En un matraz de fondo redondo equipado con equipo de agitación magnética, se preparó una disolución mezclando 2.0023 g (10.76 mmol) de **Fc**, 7.5 mL de anhídrido propiónico en 40 mL de diclorometano, baja condiciones anhidras y atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla recién preparada, se le agregaron 10 gotas de una disolución de BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> al 7.5 M y se le dejó evolucionar por 5 h a temperatura ambiente. Físicamente, la disolución inicial tenía una coloración café amarillento y tras la adición del ácido de Lewis, se tornó de color violeta. Para el trabajo final de la reacción, se le adicionaron 40 mL de agua destilada y se dejó agitando el sistema DCM/H<sub>2</sub>O por una hora. Transcurrido el tiempo especificado, se extrajo la fracción orgánica y se evaporó el disolvente a presión reducida en el rotaevaporador, con sílica gel adicionada para formar un soporte sólido y someter a separación por cromatografía en columna el producto de propionilación. Se eluyó a gradiente con la mezcla Hex/AcOEt, dando inicio en una proporción de disolventes de (97:3) y culminando en (60:40), con un aumento gradual de la polaridad en 5 % aproximadamente, cada 100 mL. El producto recuperado tras la evaporación de las fracciones de interés fue un líquido color rojo oscuro cuya masa fue de 1.1945 g (4.94 mmol). R = 45.8 %, R<sub>f</sub> = 0.52 (Hex/AcOEt, 80:20).

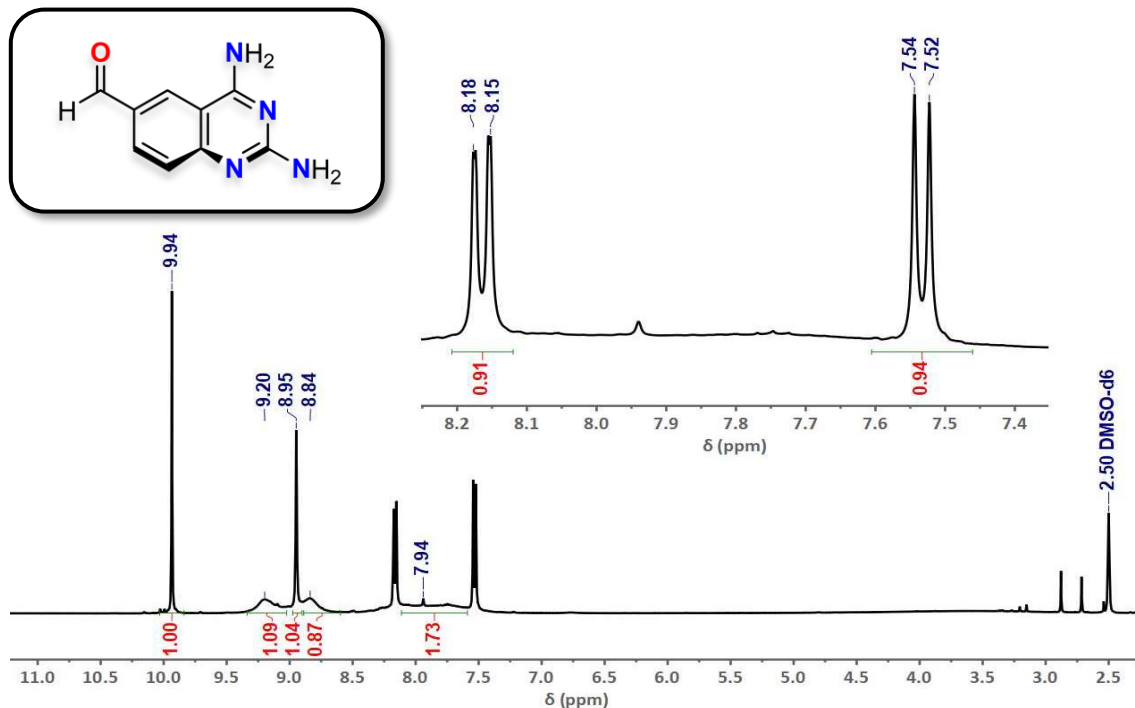
Datos espectroscópicos:

**EM, IE+** (m/z): 242.136 [M<sup>+</sup>]. **IR, FTIR por reflectancia ATR** (cm<sup>-1</sup>): 3101, 2978 (CH-Cp); 1668 (C=O); 1456, 1244, 1051 (Cp); 824, 482 (Fe-Cp).

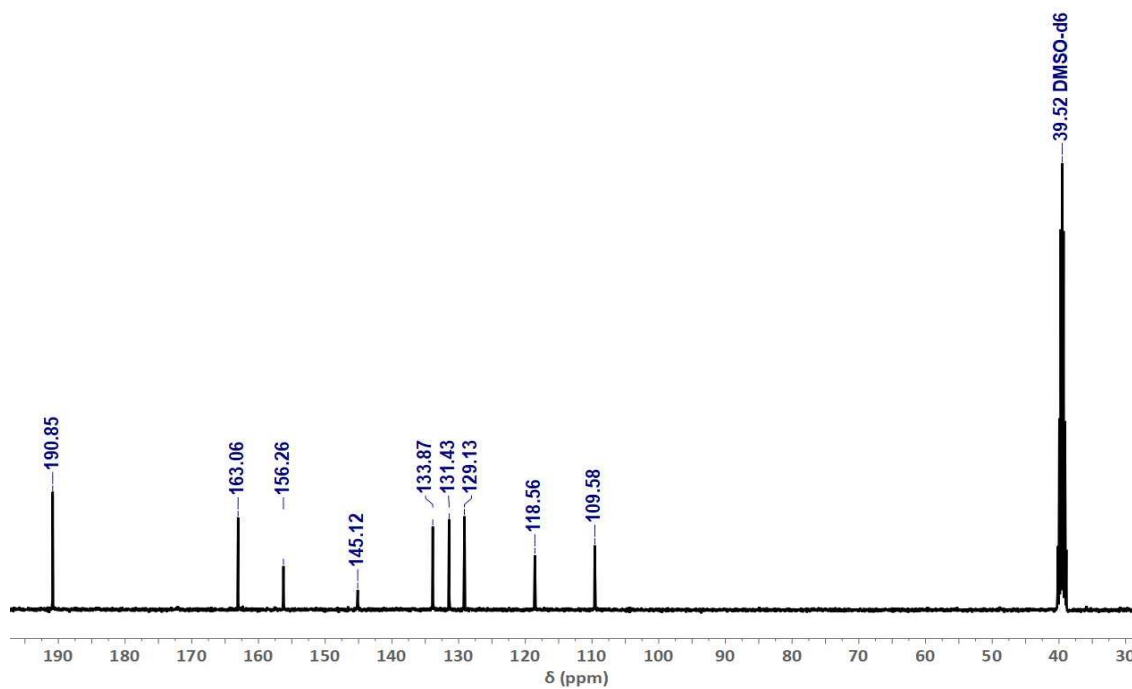
## 12.2 Espectroscopia

### 12.2.1 Síntesis de CDAQ

#### 12.2.1.1 2,4-Diaminoquinazolina-6-carbaldehído (CDAQ)

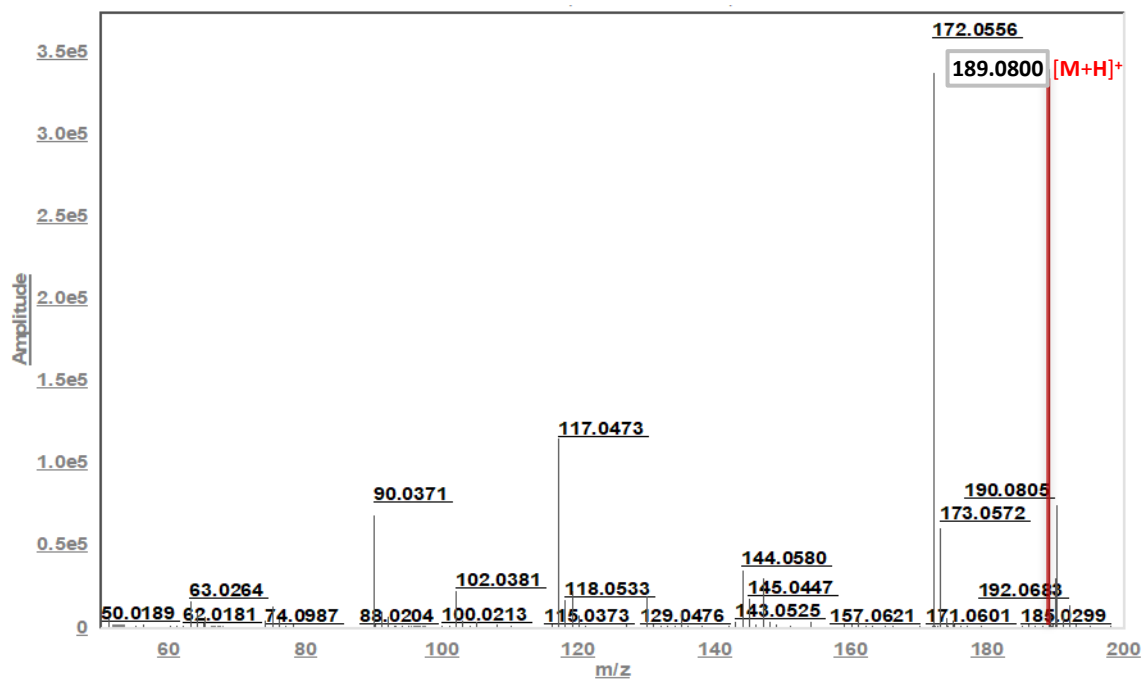


Espectro 12.1 RMN-<sup>1</sup>H de CDAQ.

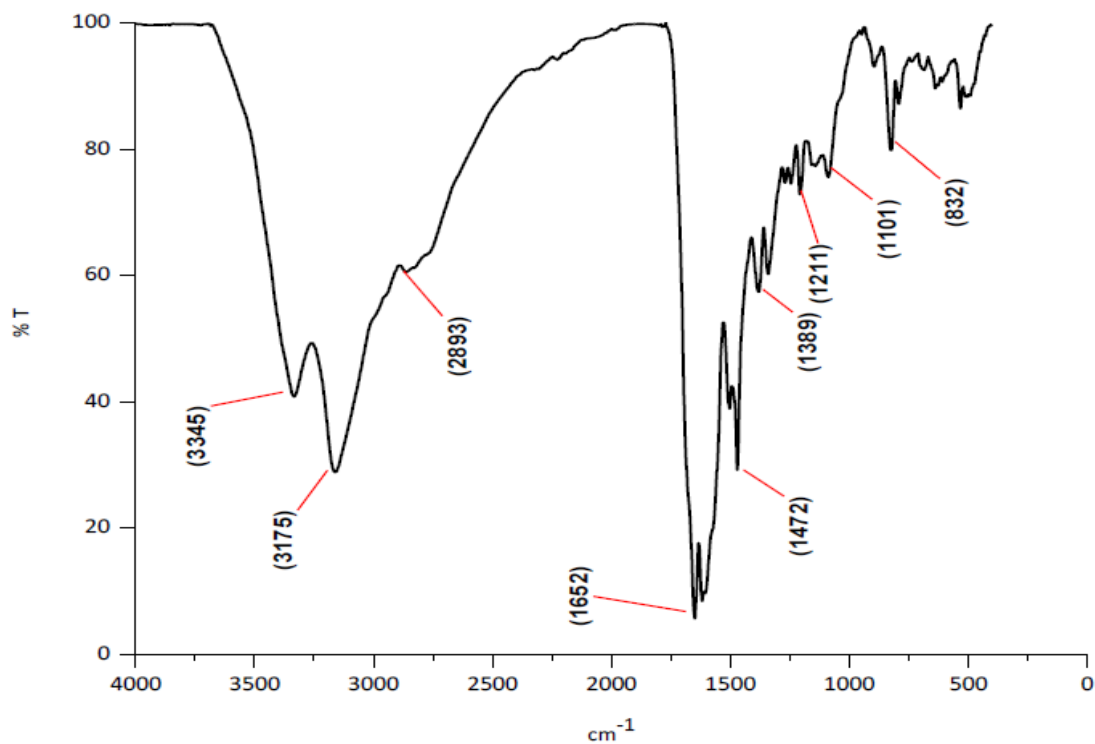


Espectro 12.2 RMN-<sup>13</sup>C de CDAQ.





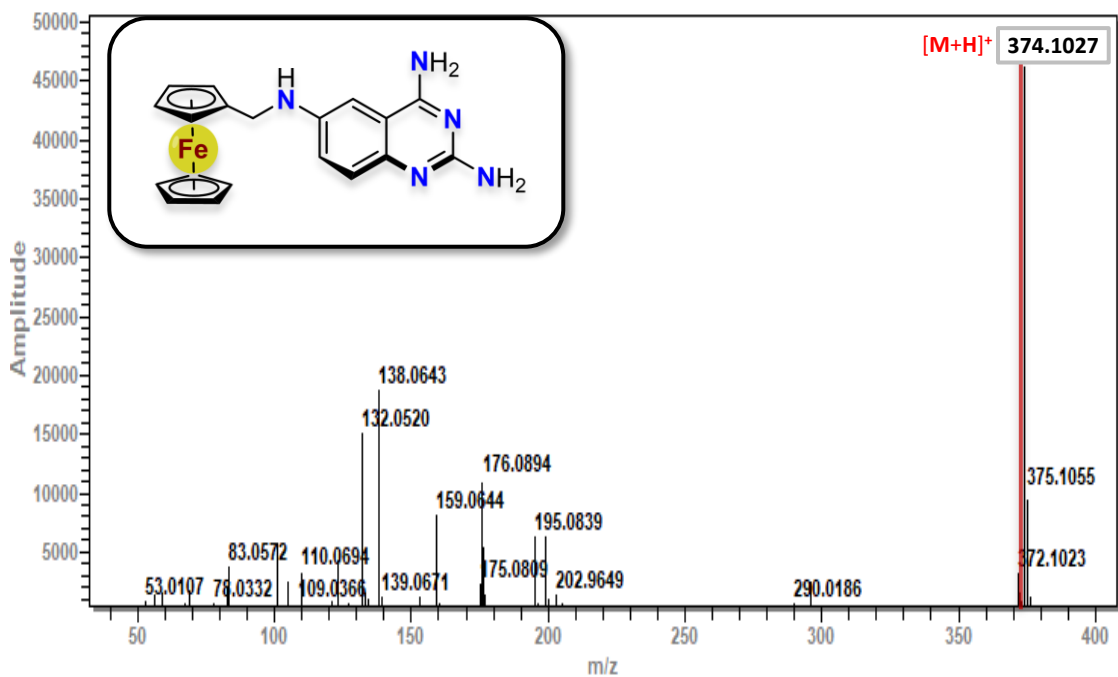
Espectro 12.3 EM de **CDAQ**.



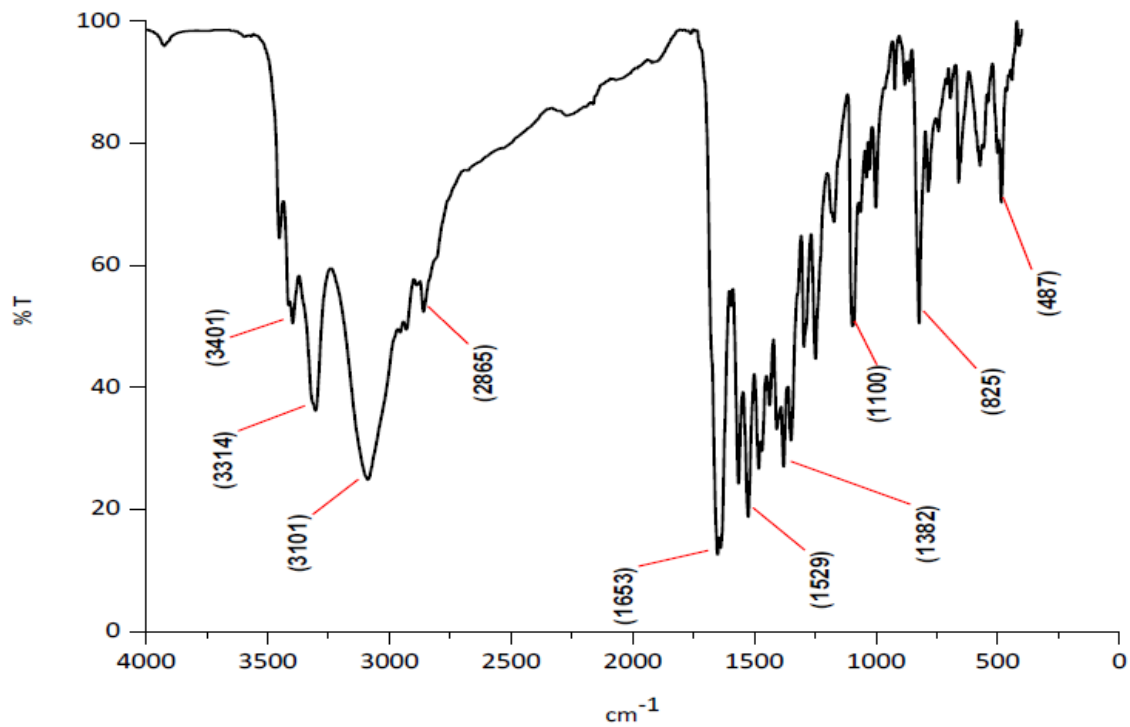
Espectro 12.4 IR de **CDAQ**.

## 12.2.2 Síntesis de ferrocenil quinazolinas y derivados

### 12.2.2.1 N<sup>6</sup>-(ferrocenilmetil)quinazolin-2,4,6-triamina (H2)

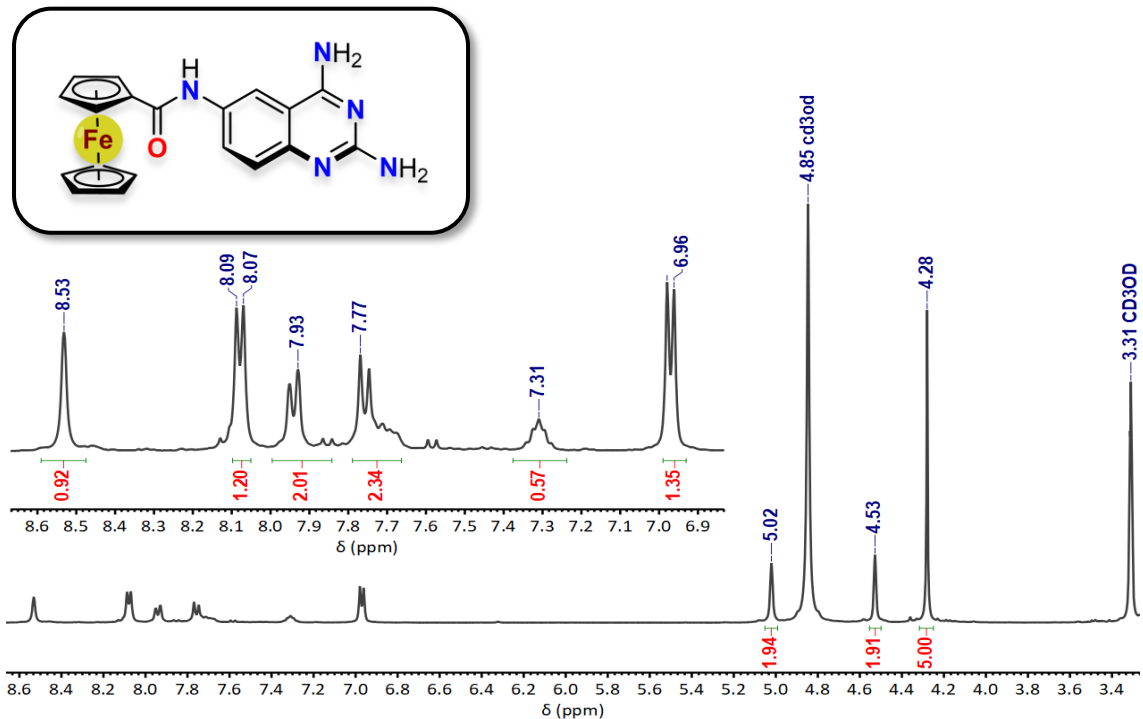


Espectro 12.5 EM de H2.

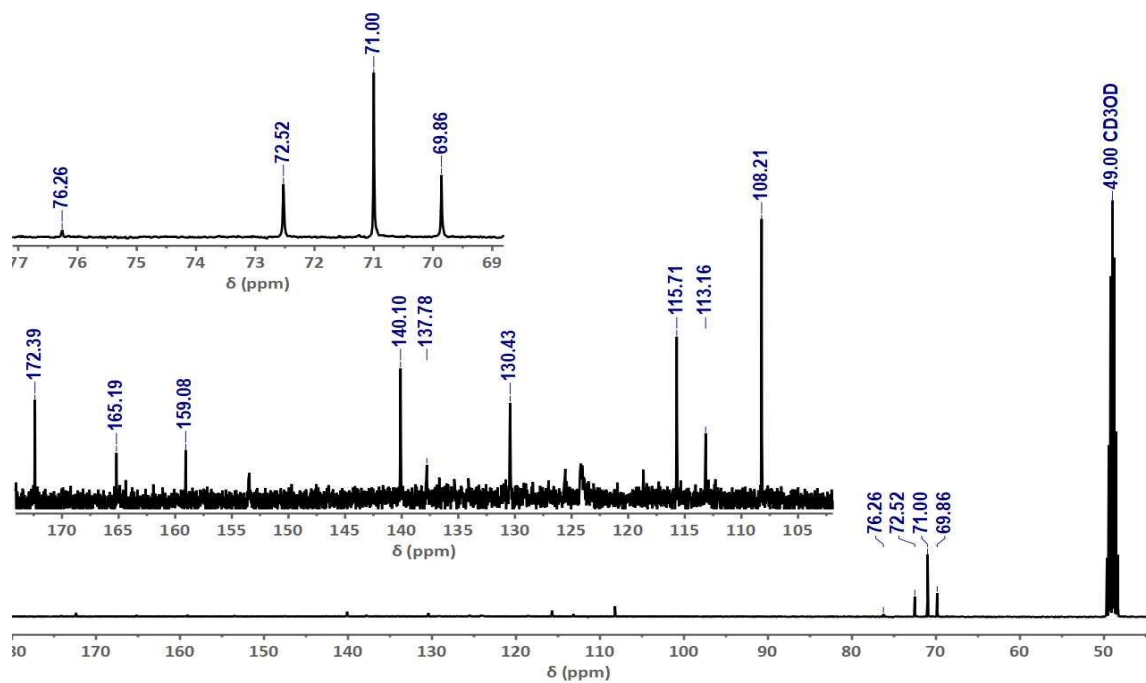


Espectro 12.6 IR de H2.

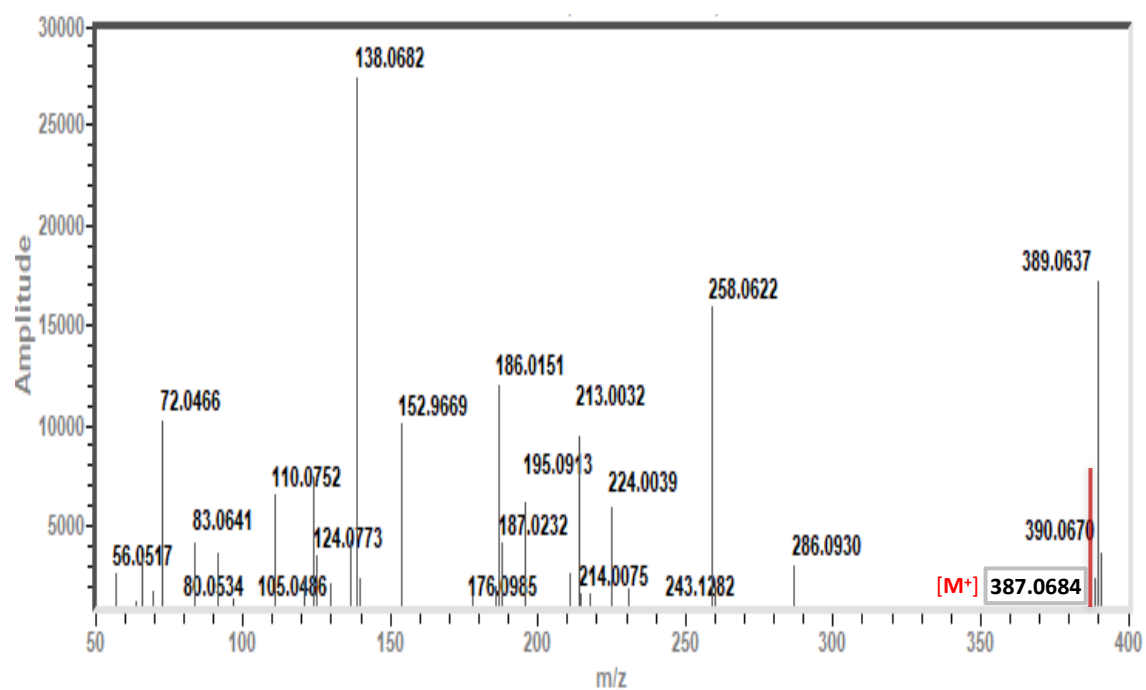
### 12.2.2.2 N-(2,4-diaminoquinazolin-6-yl)ferrocenamida (OH2)



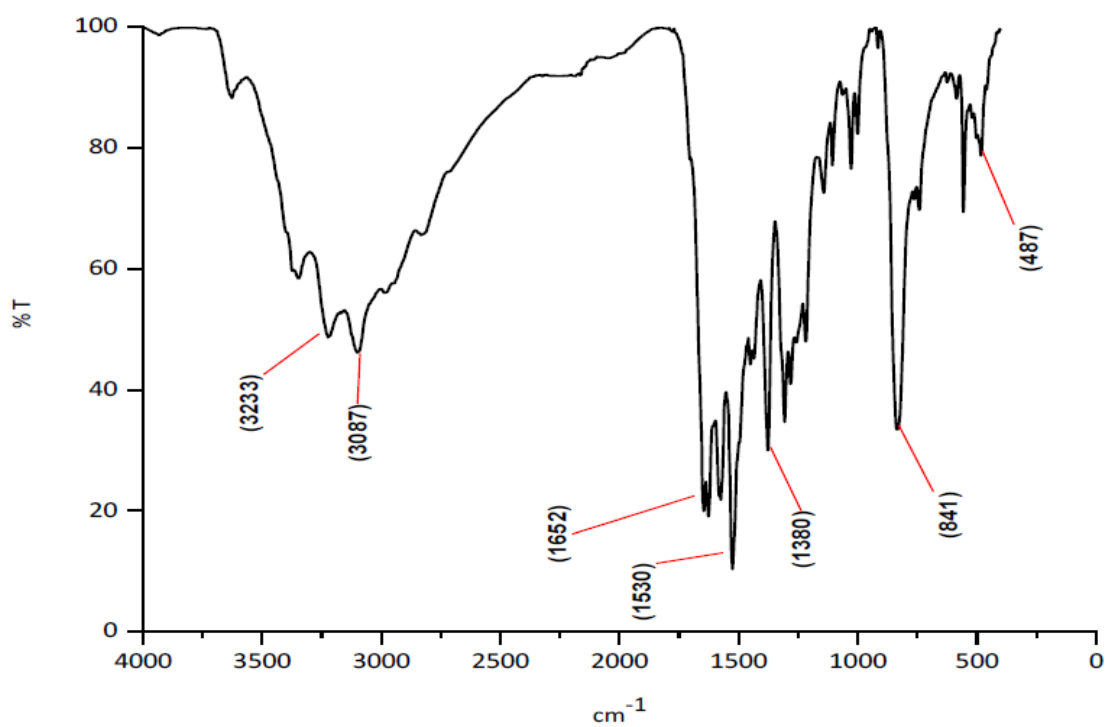
Espectro 12.7 RMN-<sup>1</sup>H de OH2.



Espectro 12.8 RMN-<sup>13</sup>C de OH2.

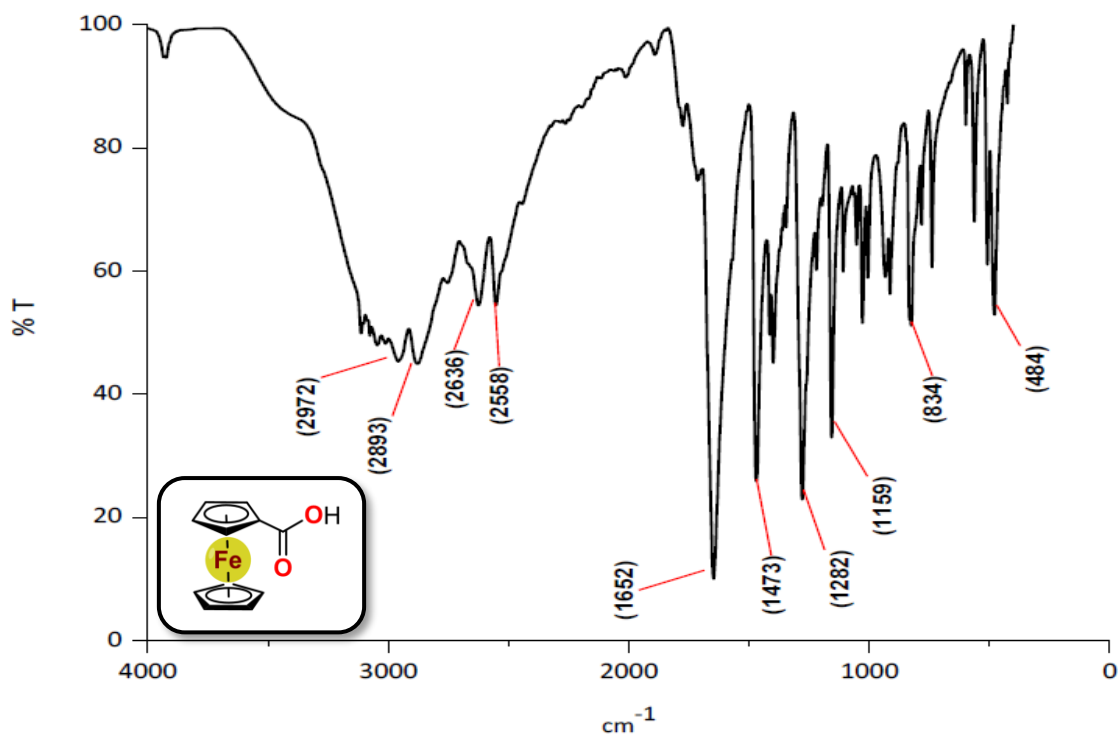


Espectro 12.9 EM de OH<sub>2</sub>.



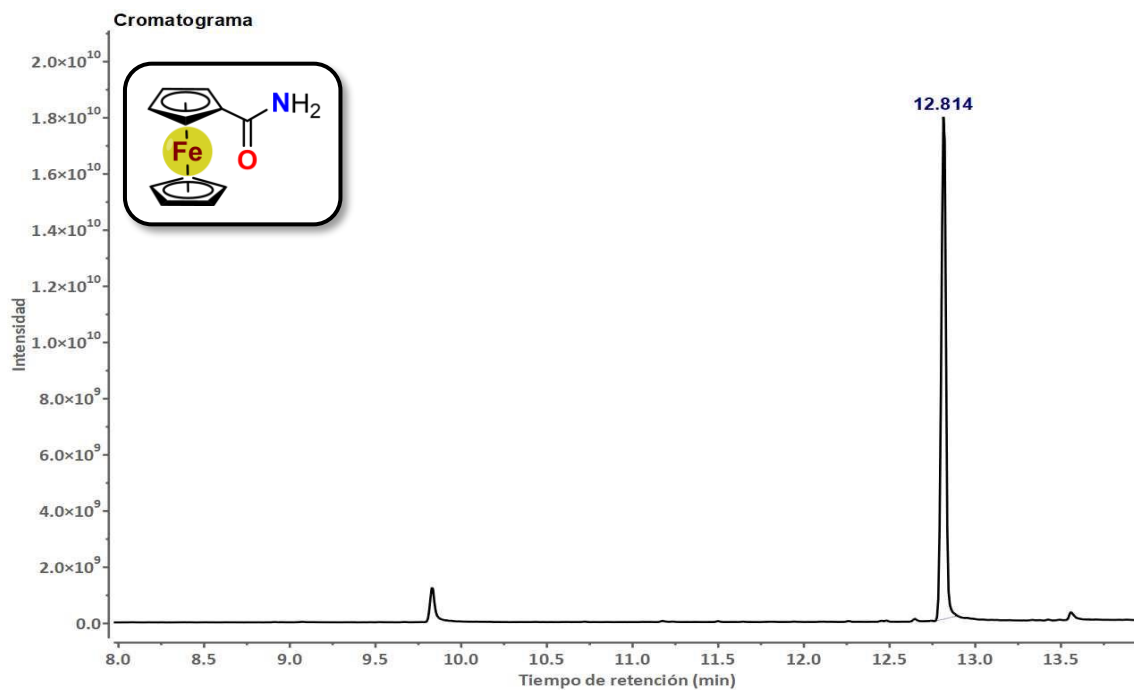
Espectro 12.10 IR de OH<sub>2</sub>.

### 12.2.2.2.1 Ácido 1-ferrocencarboxílico (F)

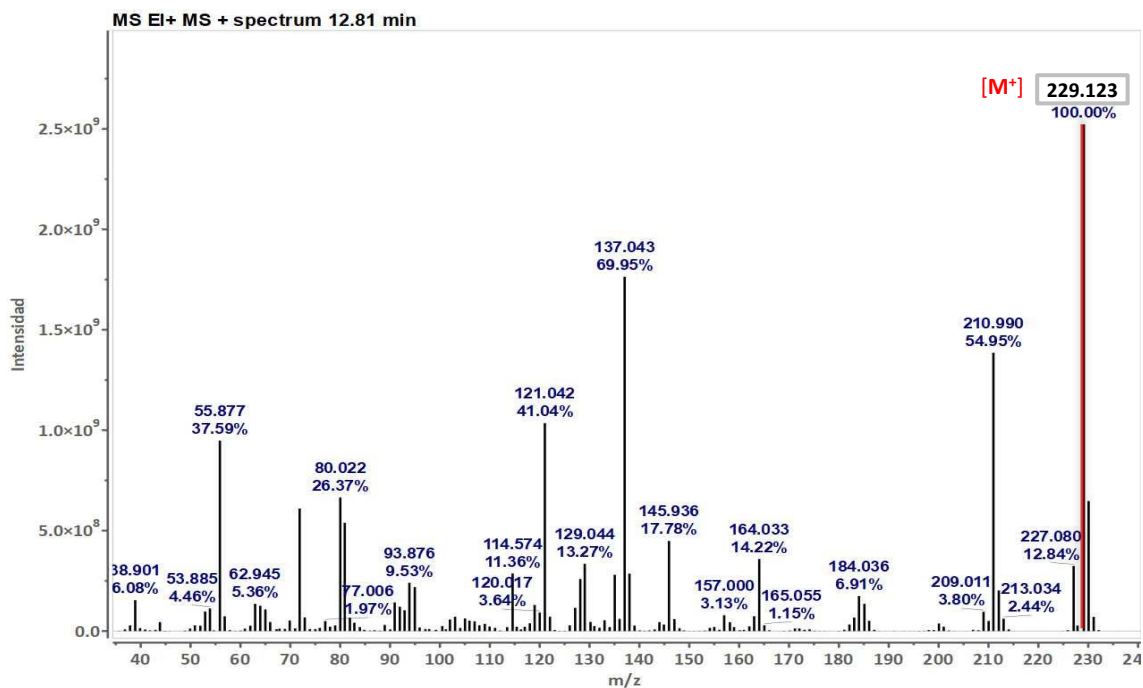


Espectro 12.11 IR de F.

### 12.2.2.2.2 1-(Aminocarbonil)ferroceno (M)

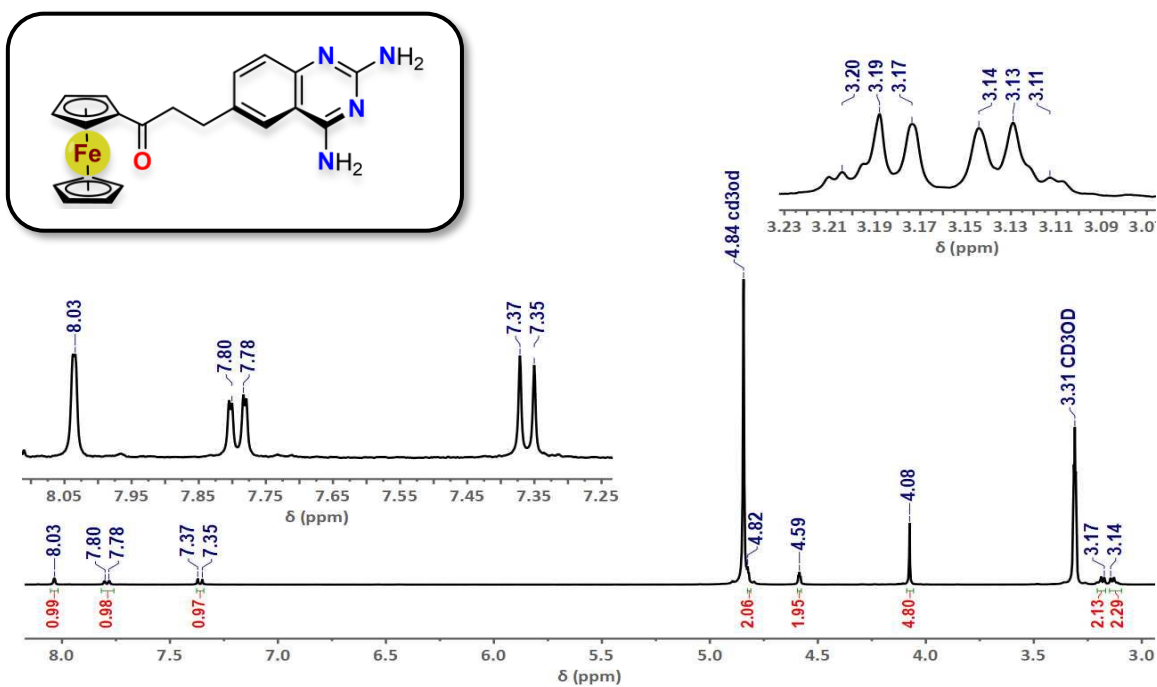


Cromatograma 12.1 Análisis cromatográfico de M.

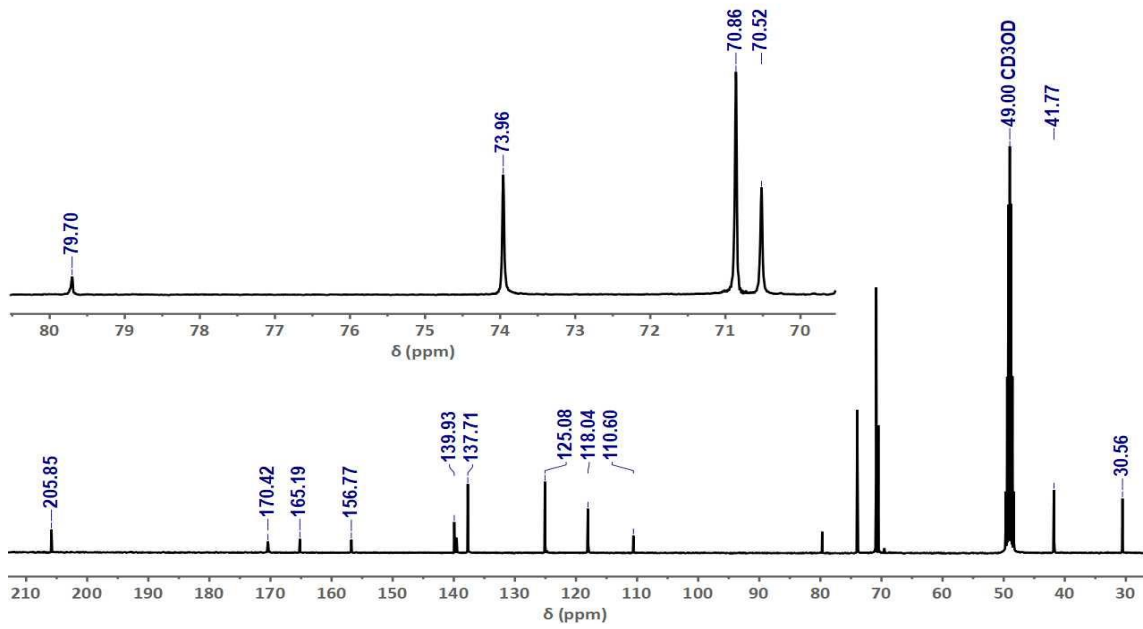


Espectro 12.12 EM de M.

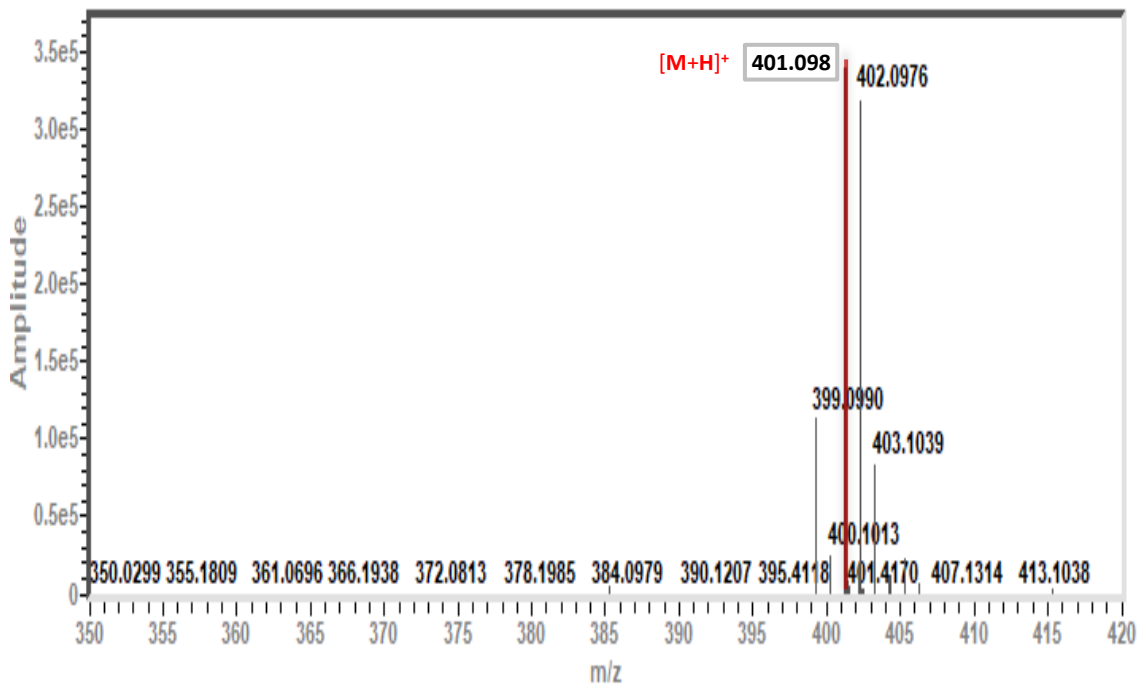
### 12.2.2.3 3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilpropan-1-ona (COH2)



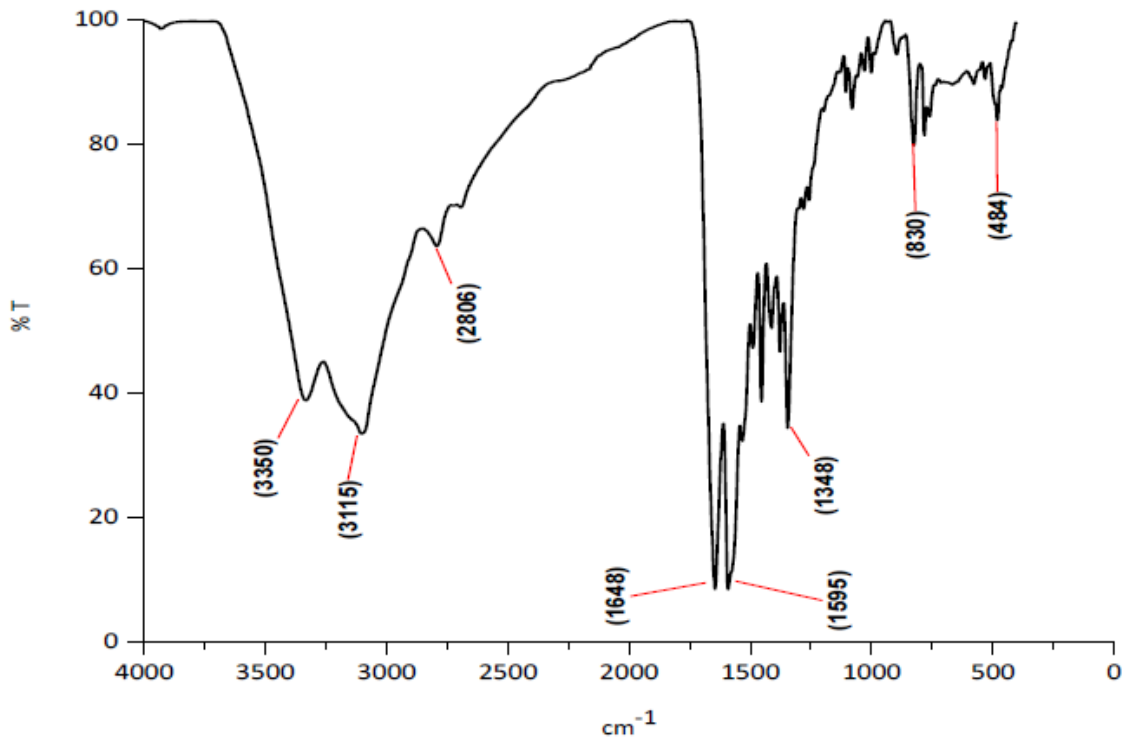
Espectro 12.13 RMN-<sup>1</sup>H de COH2.



Espectro 12.14 RMN-<sup>13</sup>C de COH2.

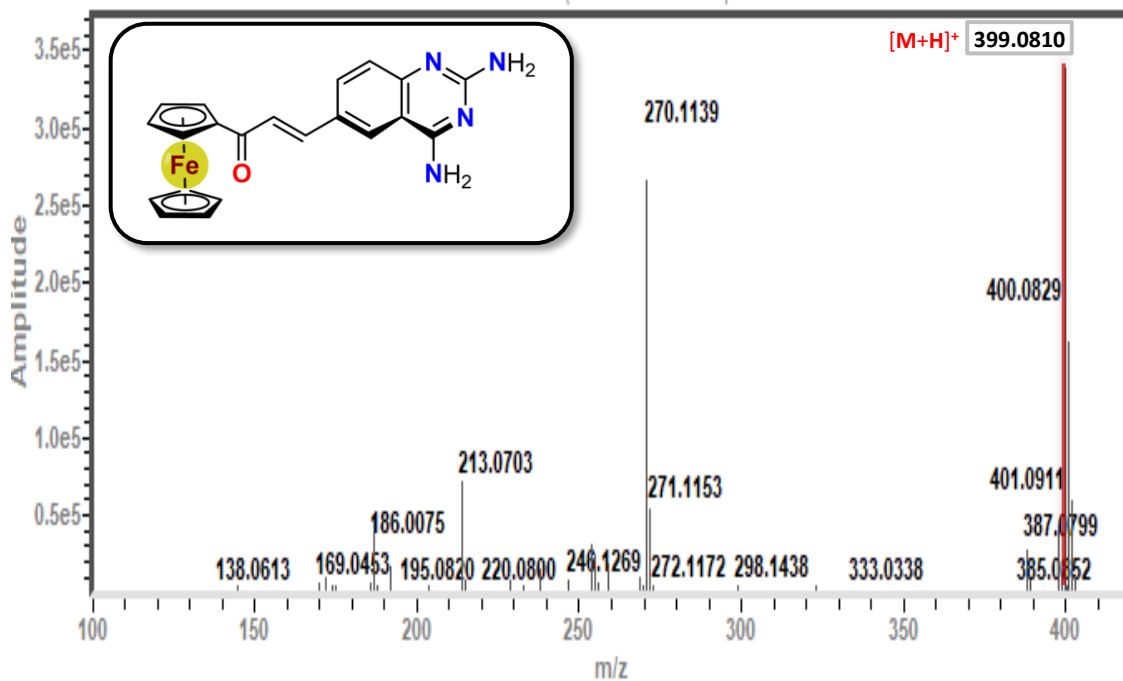


Espectro 12.15 EM de COH2.



Espectro 12.16 IR de **COH2**.

#### 12.2.2.4 3-(2,4-Diaminoquinazolin-6-il)-1-ferrocenilprop-2-en-1-ona (ENCOH2)

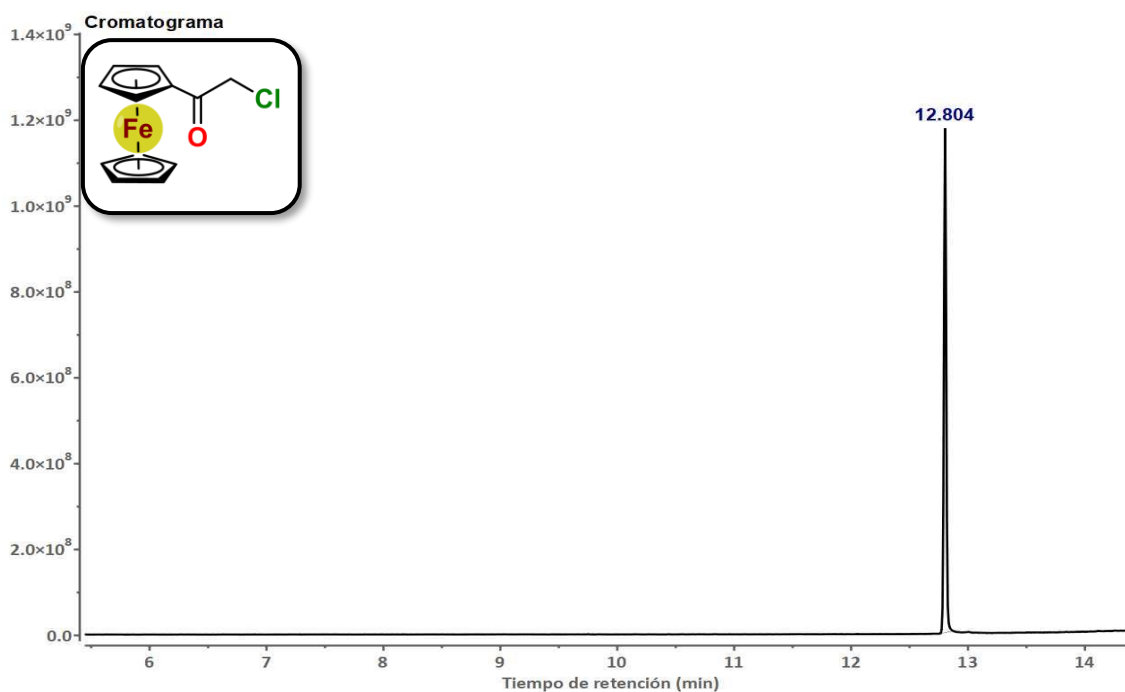


Espectro 12.17 EM de **ENCOH2**.

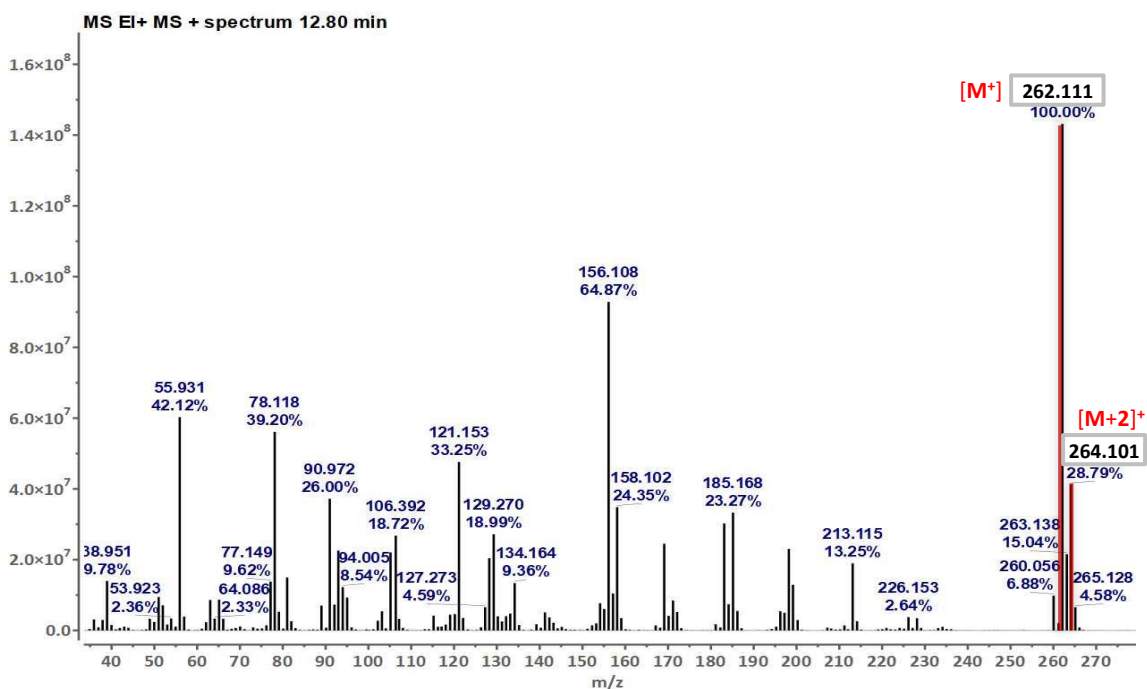


## 12.2.2.5 2((2,4-Diaminoquinazolin-6-il)amino-1-ferroceniletan-1-ona (NCOH2)

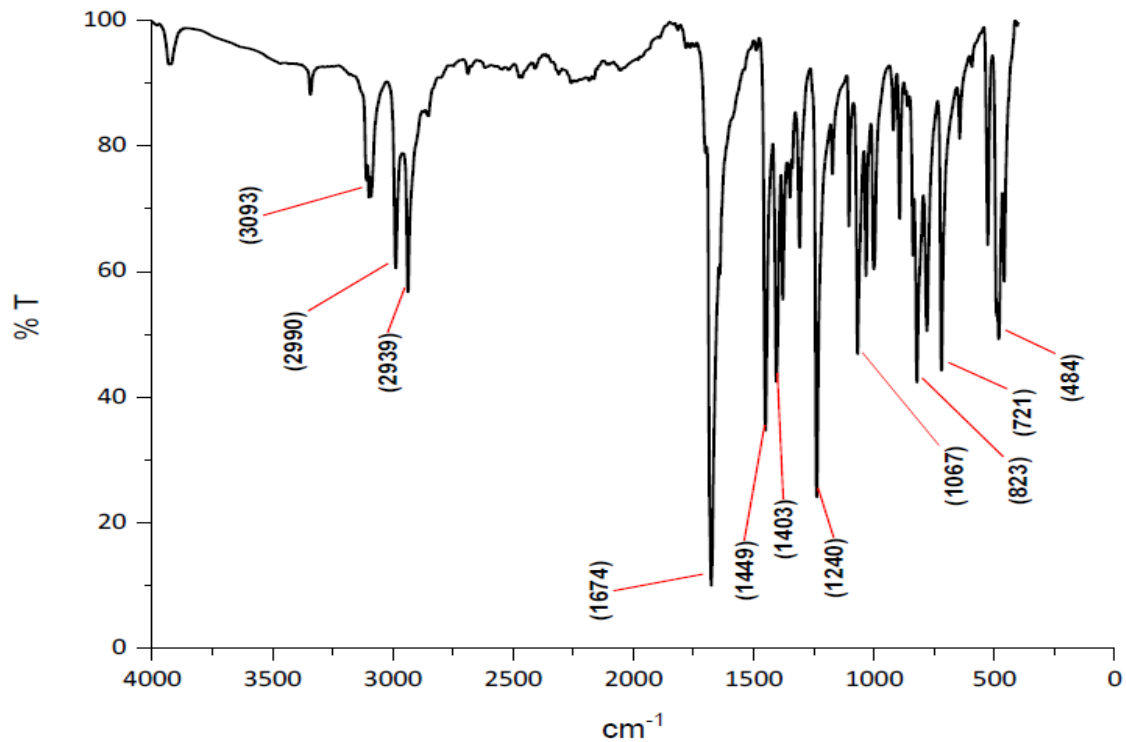
### 12.2.2.5.1 1-(Cloroacetil)ferroceno (G)



Cromatograma 12.2 Análisis cromatográfico de G.

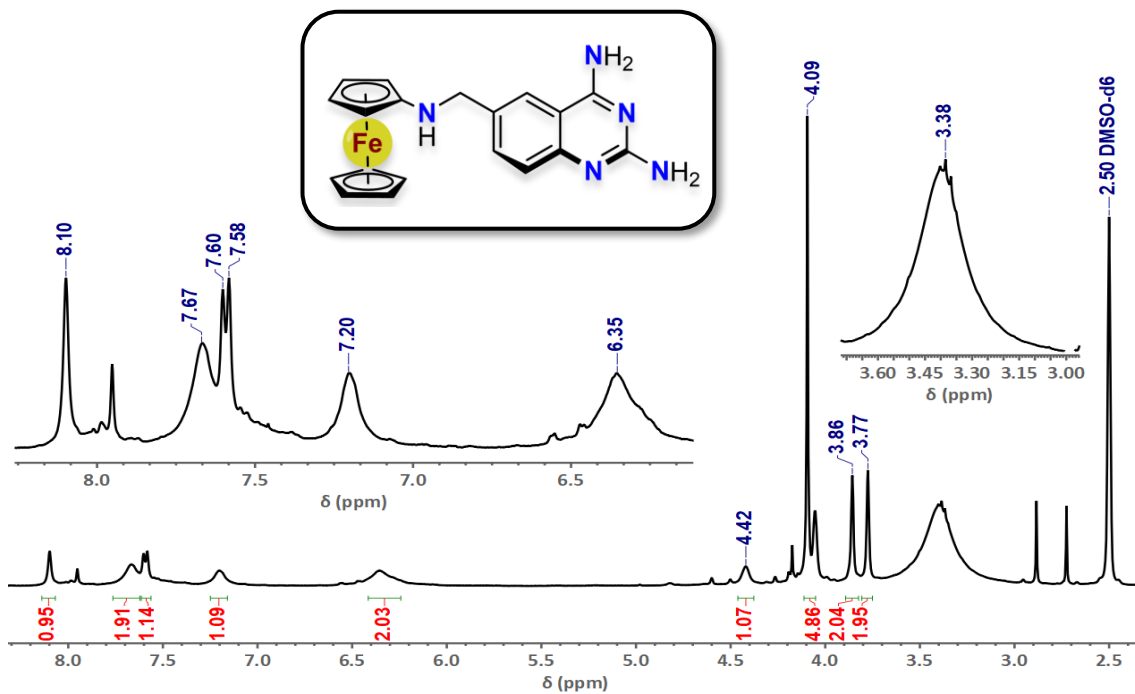


Espectro 12.18 EM de G.

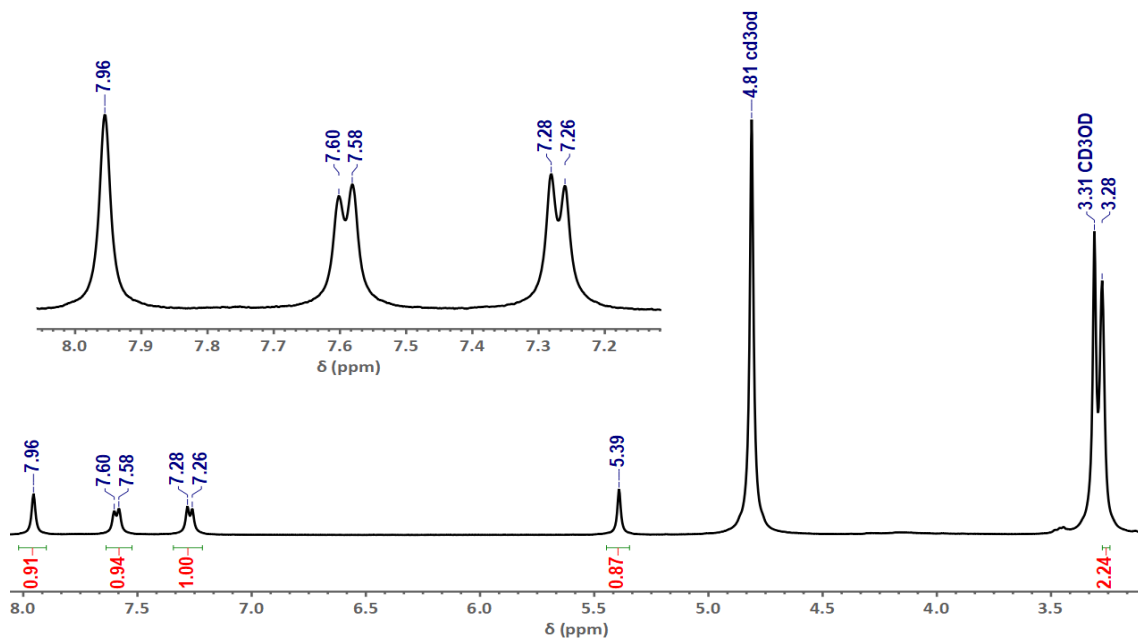


Espectro 12.19 IR de **G**.

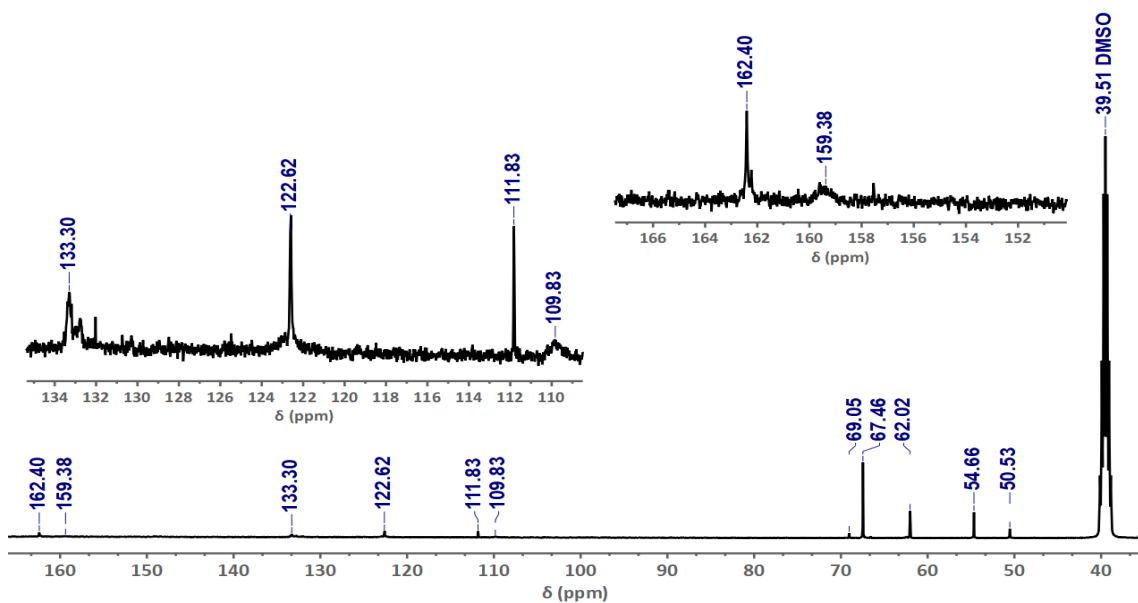
### 12.2.2.6 6-((Ferrocenilamino)metil)quinazolin-2,4-diamina (**2H**)



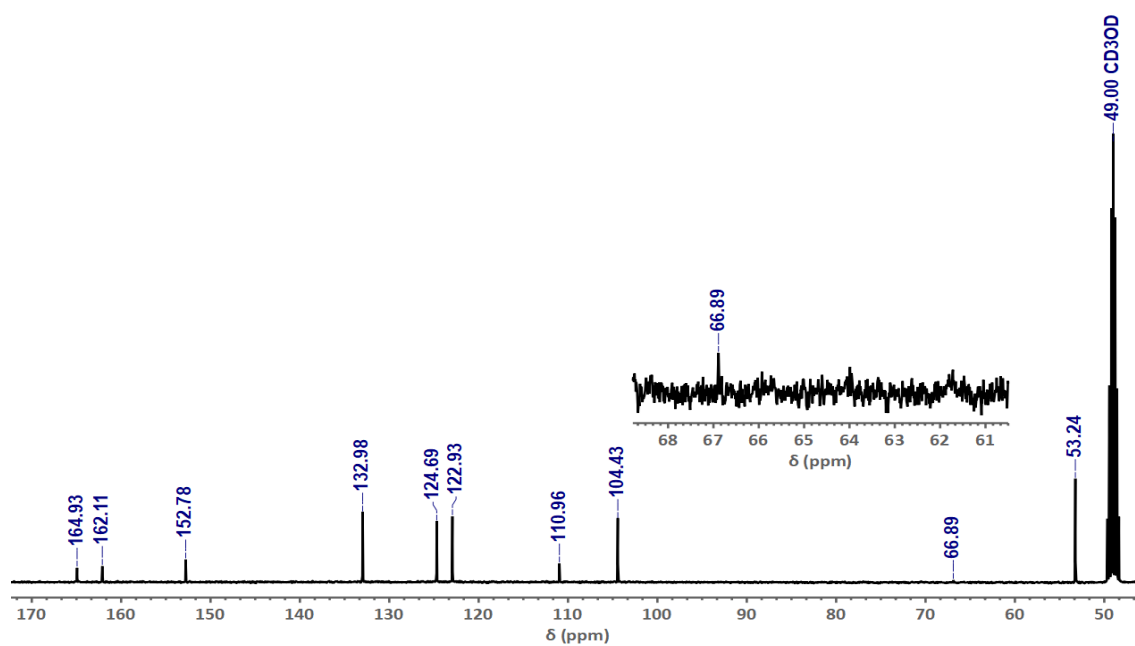
Espectro 12.20 RMN- $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) de **2H**.



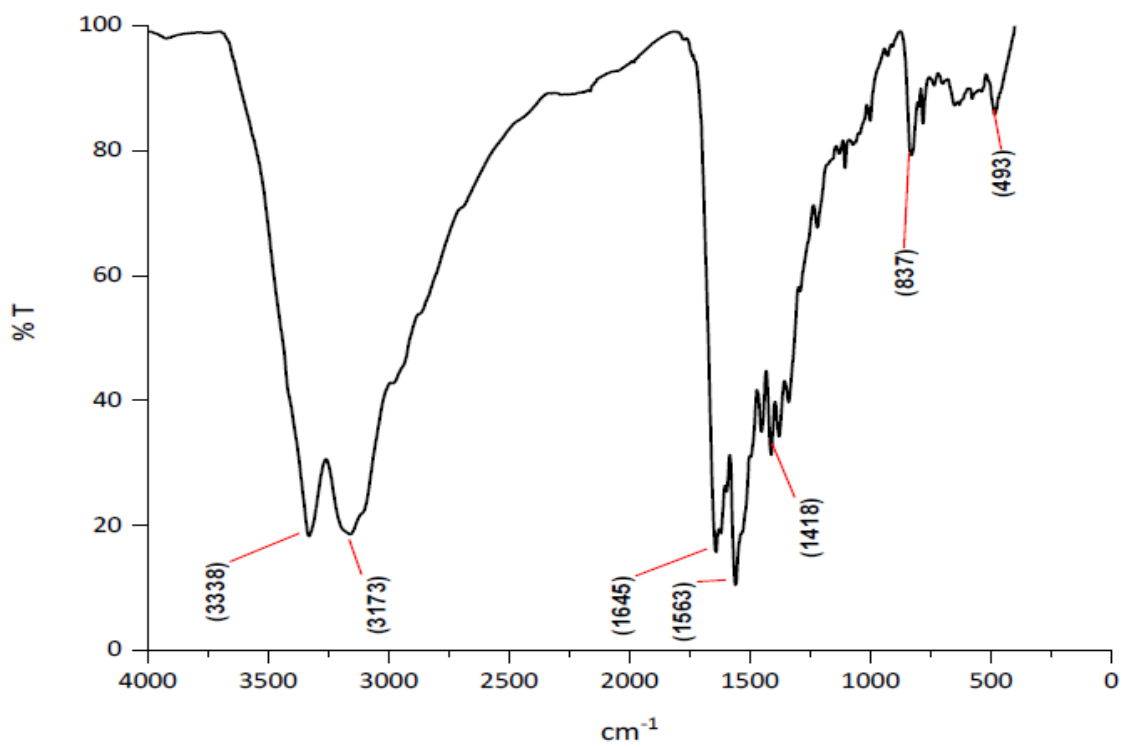
Espectro 12.21 RMN-<sup>1</sup>H (MeOD) de 2H.



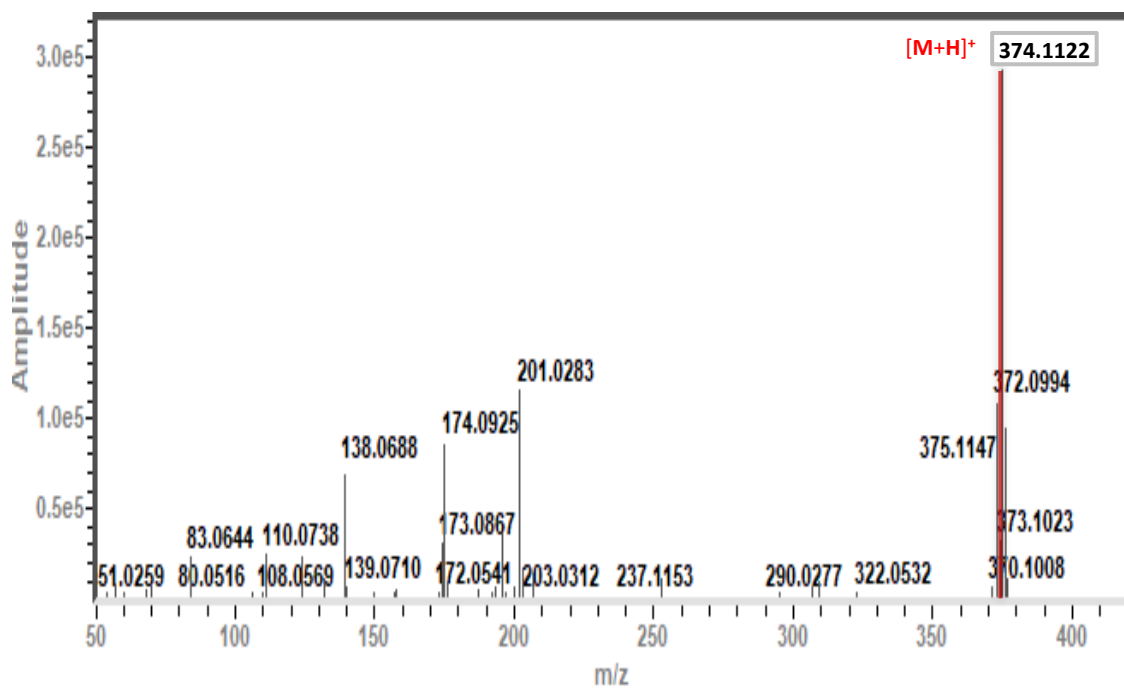
Espectro 12.22 RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>) de 2H.



Espectro 12.23 IR de 2H.

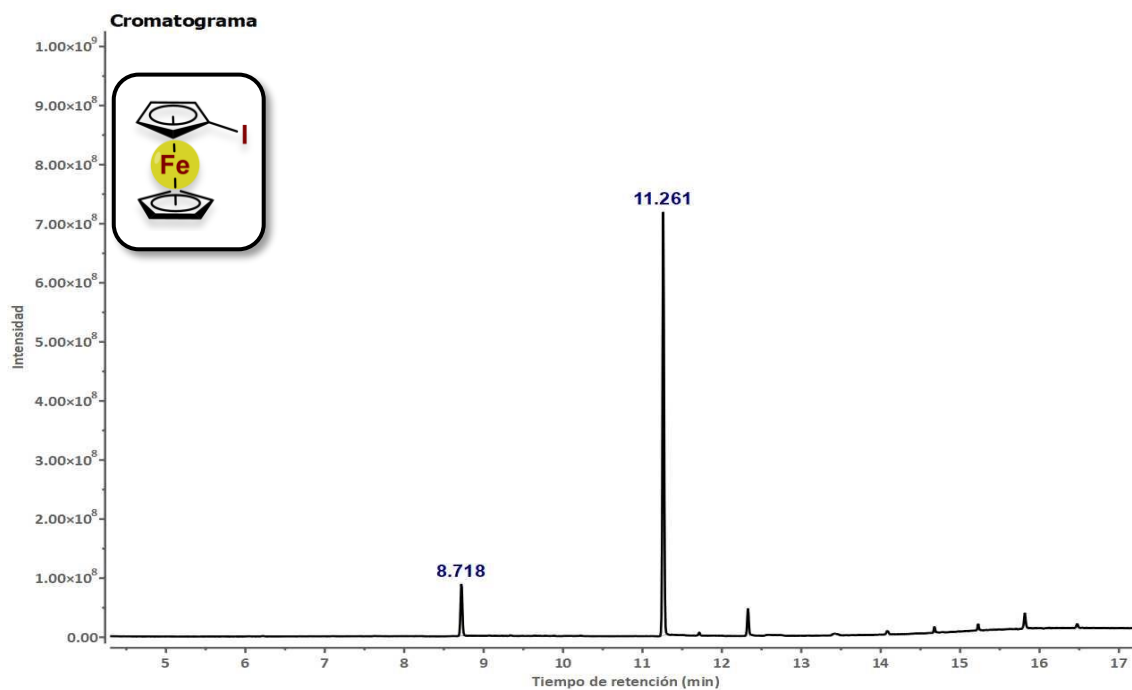


Espectro 12.24 IR de 2H.

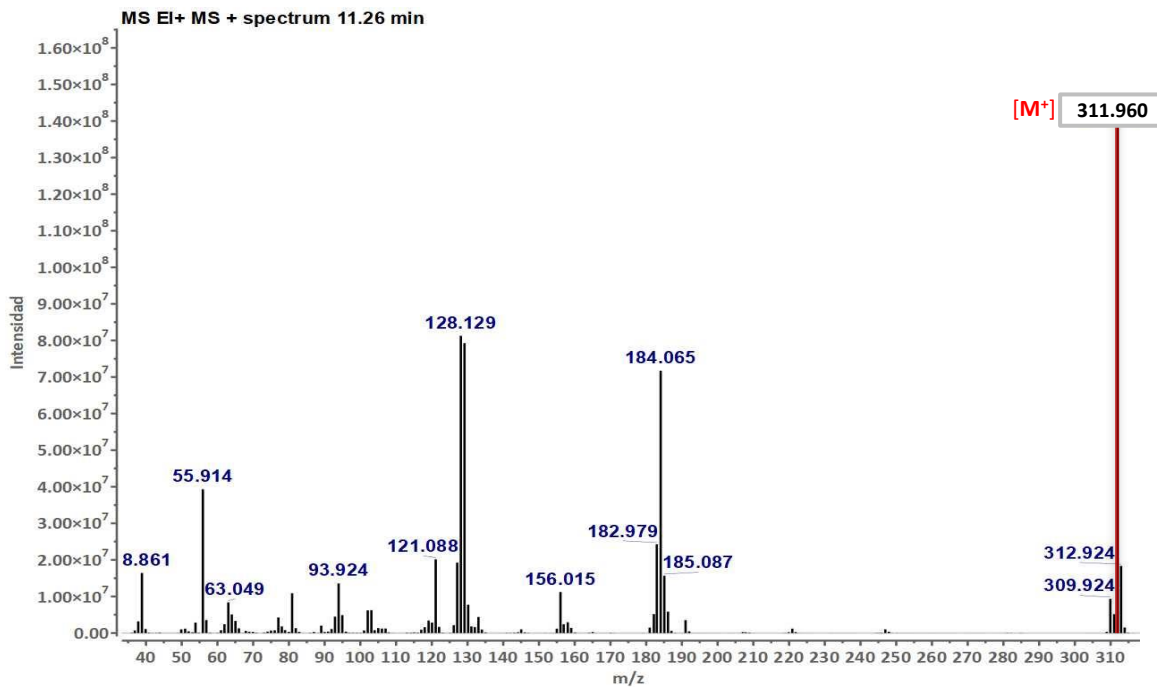


Espectro 12.25 EM de 2H.

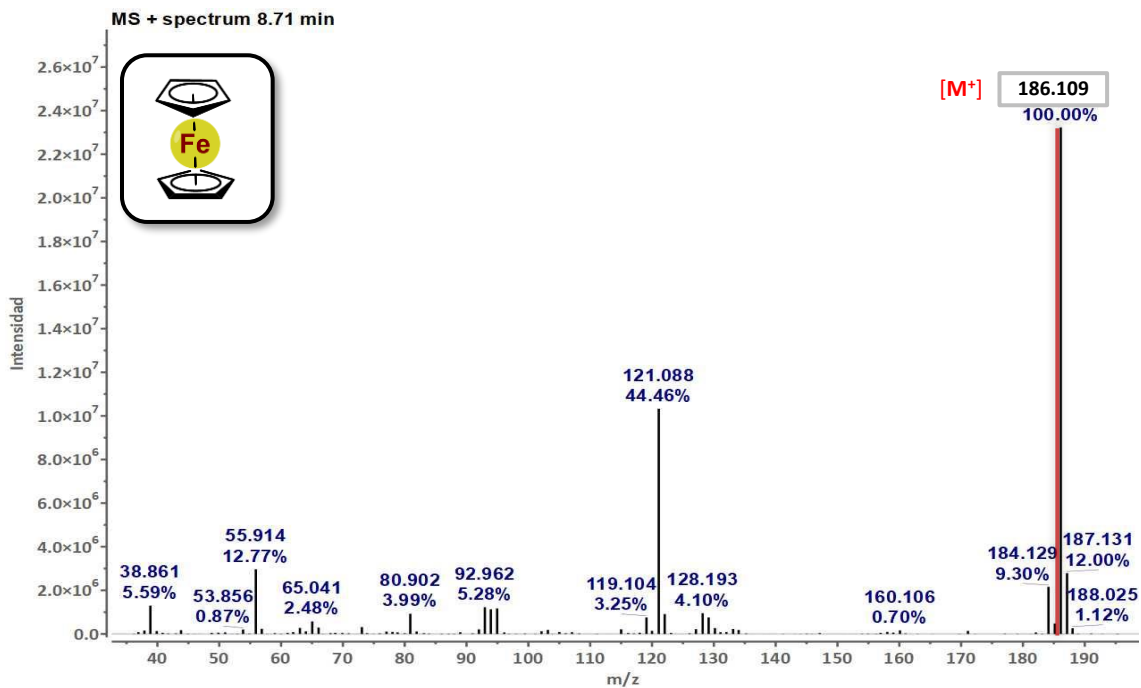
### 12.2.2.6.1 1-Iodoferroceno (K)



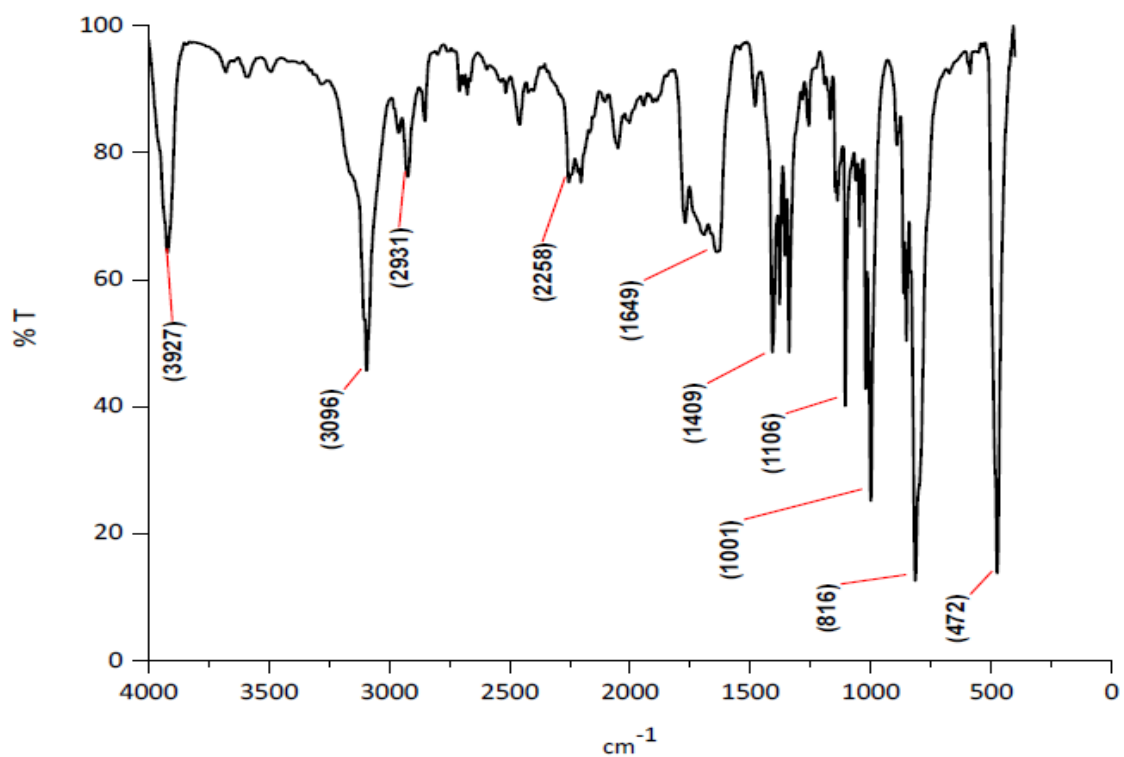
Cromatograma 12.3 Análisis cromatográfico de K.



Espectro 12.26 EM de K.

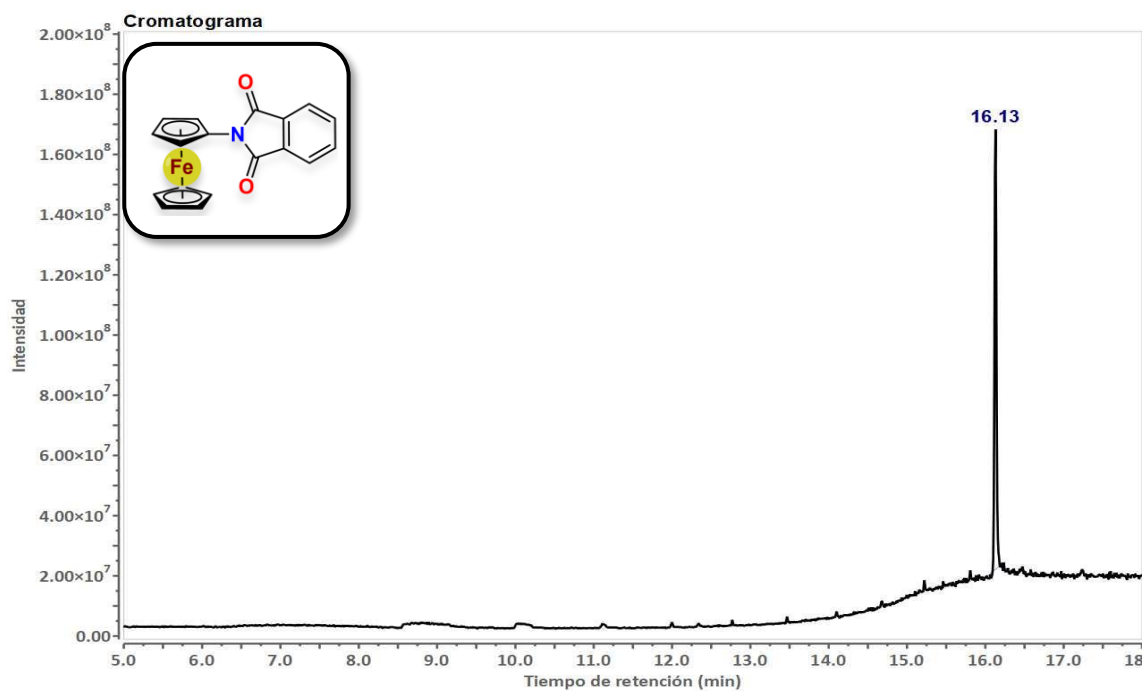


Espectro 12.27 EM de Fc.

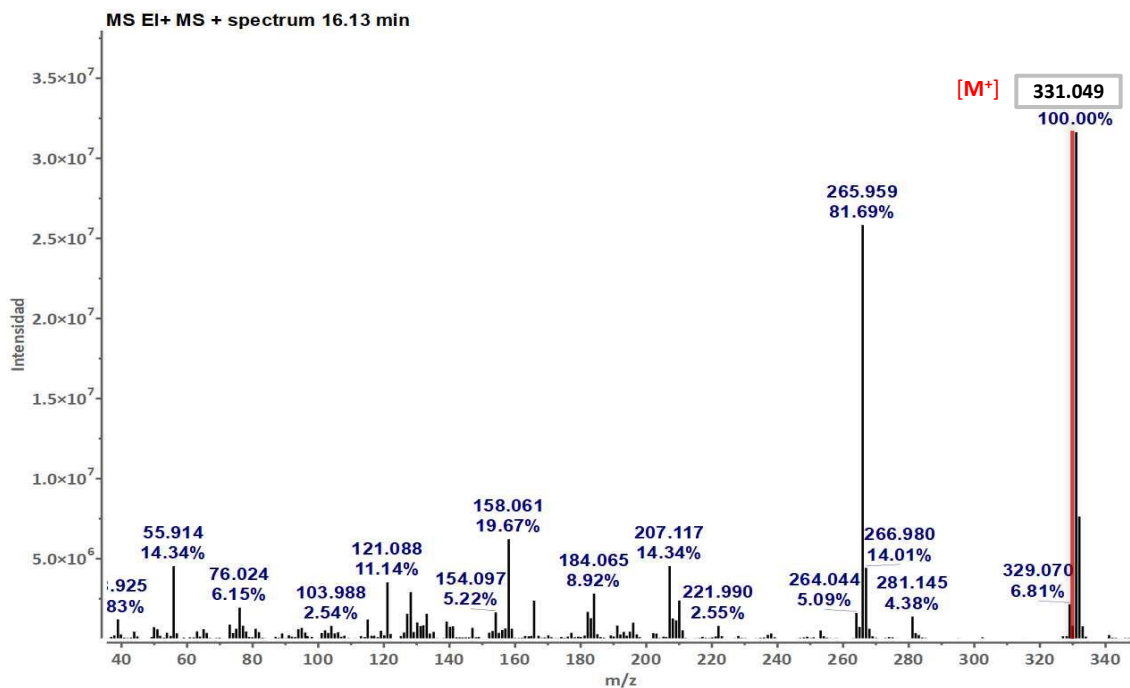


Espectro 12.28 IR de K.

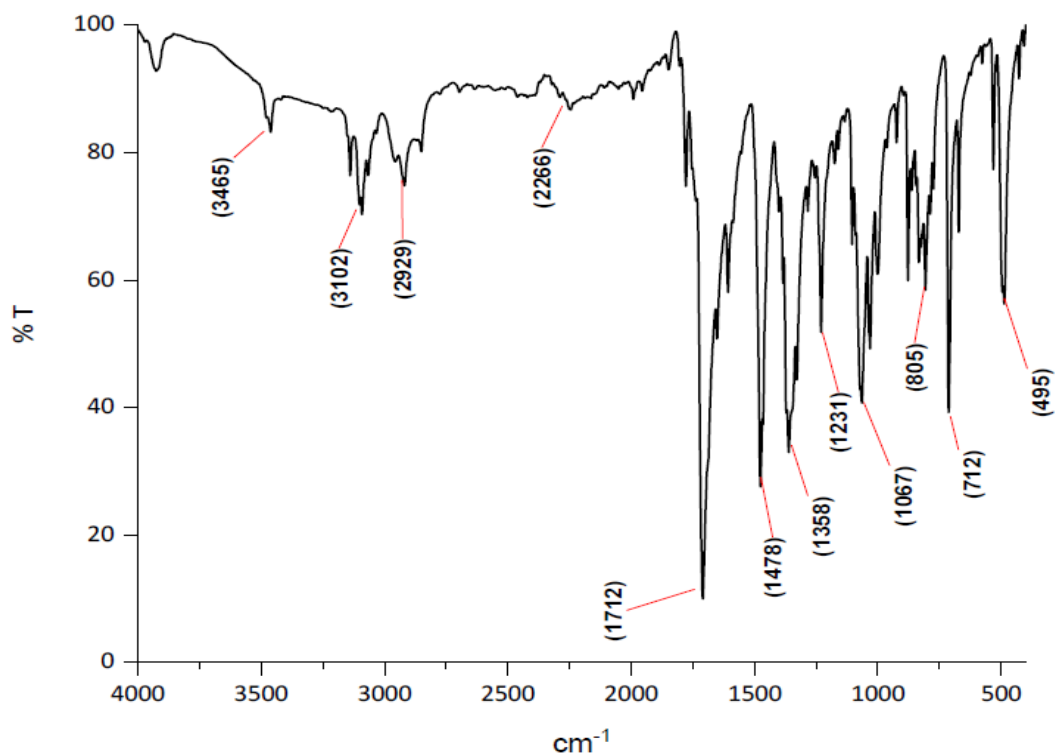
### 12.2.2.6.2 2-Ferrocenilisoindol-1,3-diona (J)



Cromatograma 12.4 Análisis cromatográfico de J.



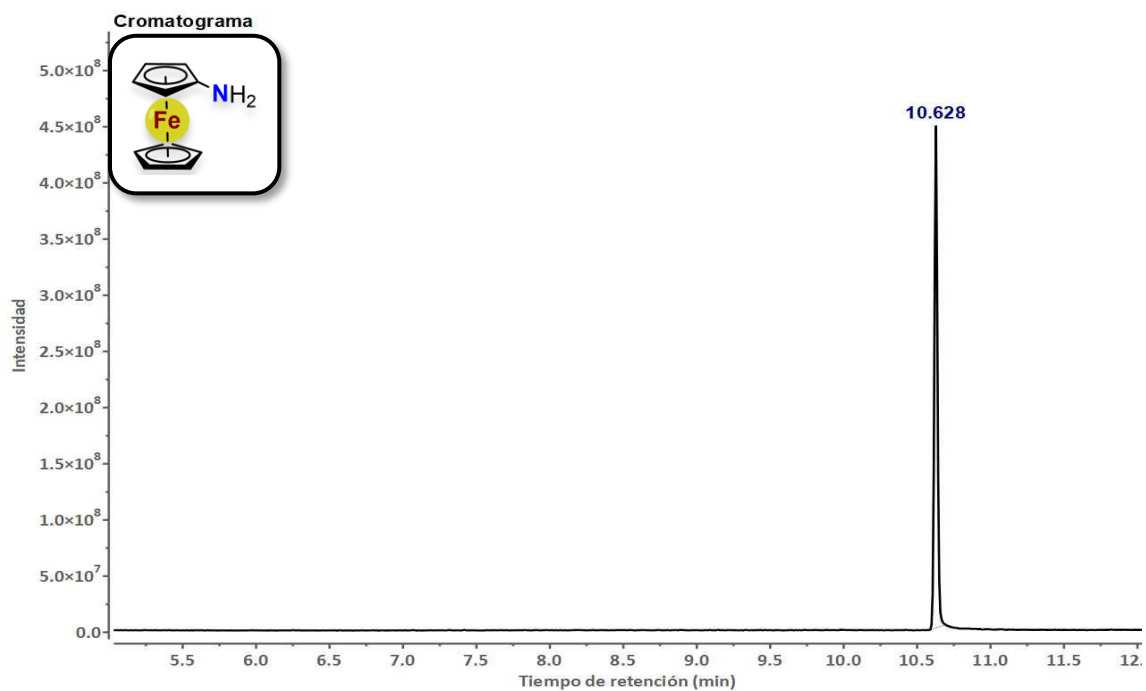
Espectro 12.29 EM de J.



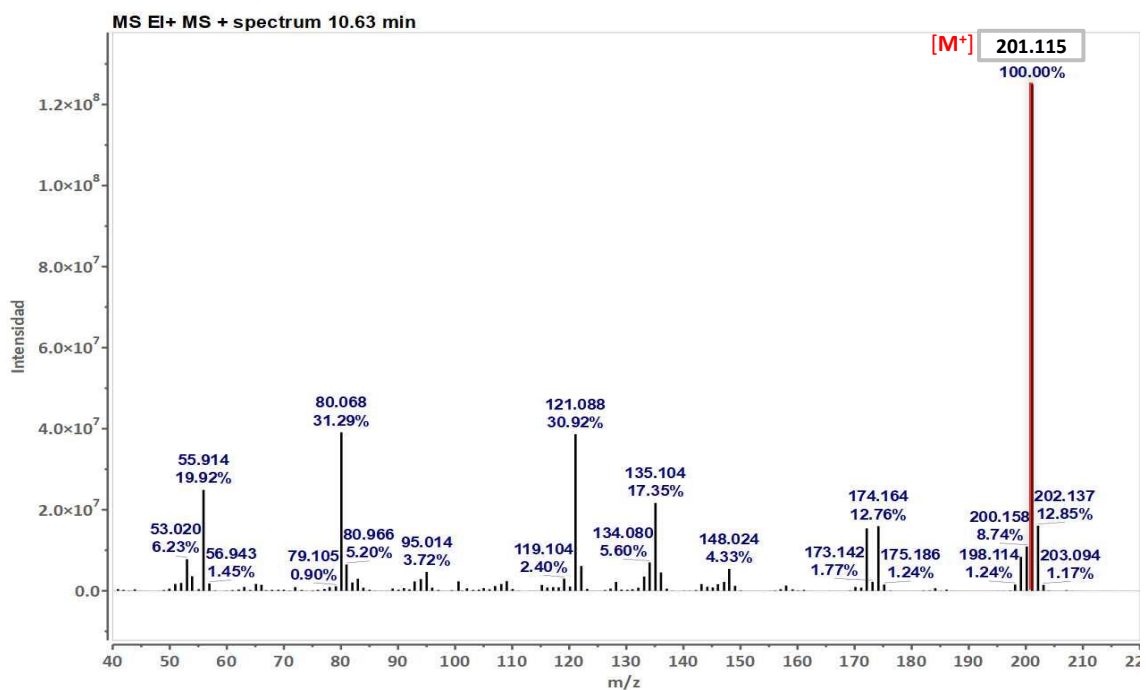
Espectro 12.30 IR de J.



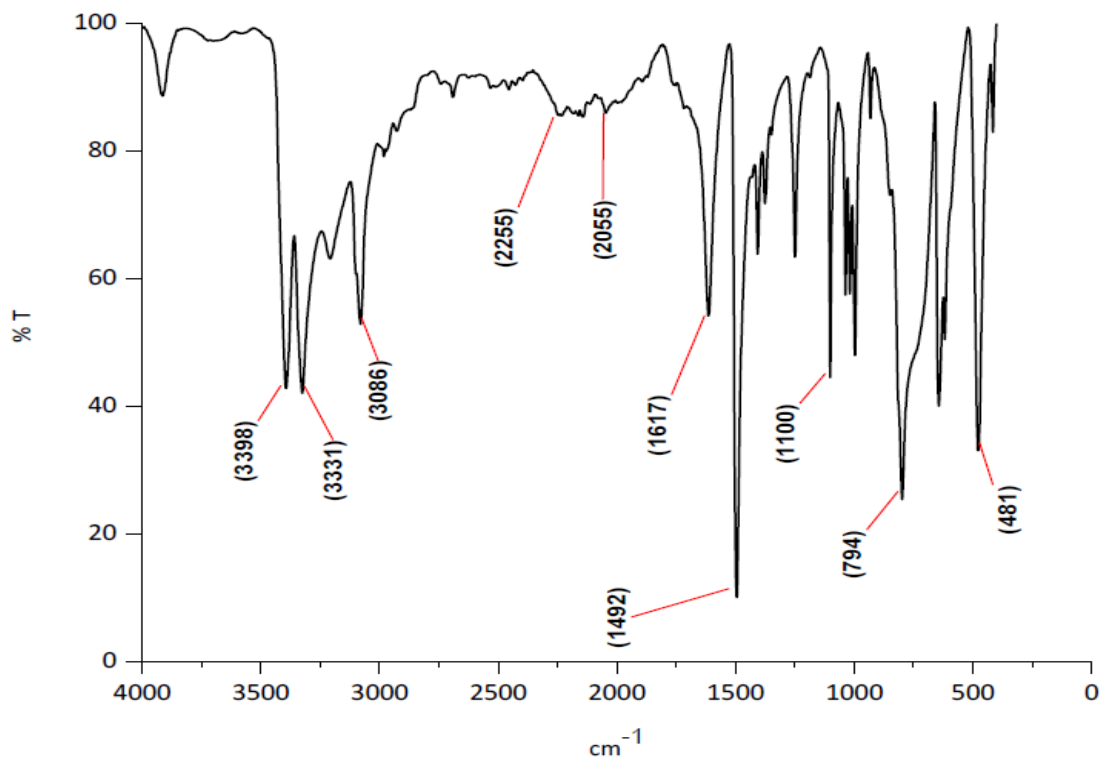
### 12.2.2.6.3 1-Aminoferroceno (I)



Cromatograma 12.5 Análisis cromatográfico de I.

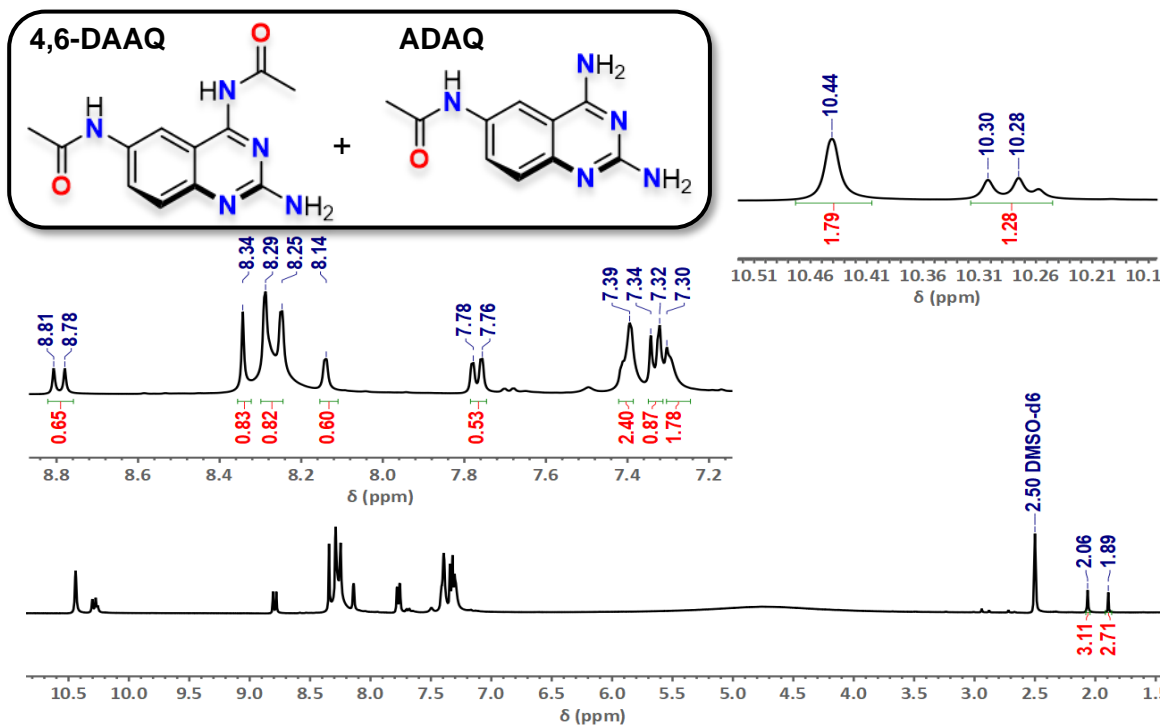


Espectro 12.31 EM de I.

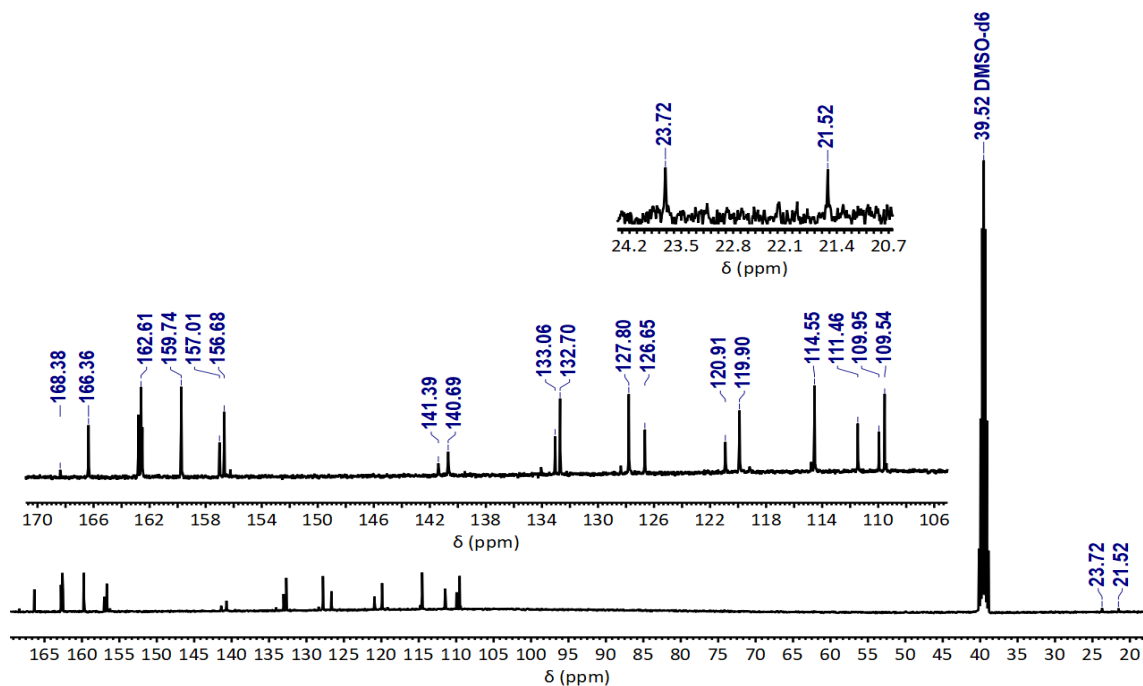


Espectro 12.32 IR de I.

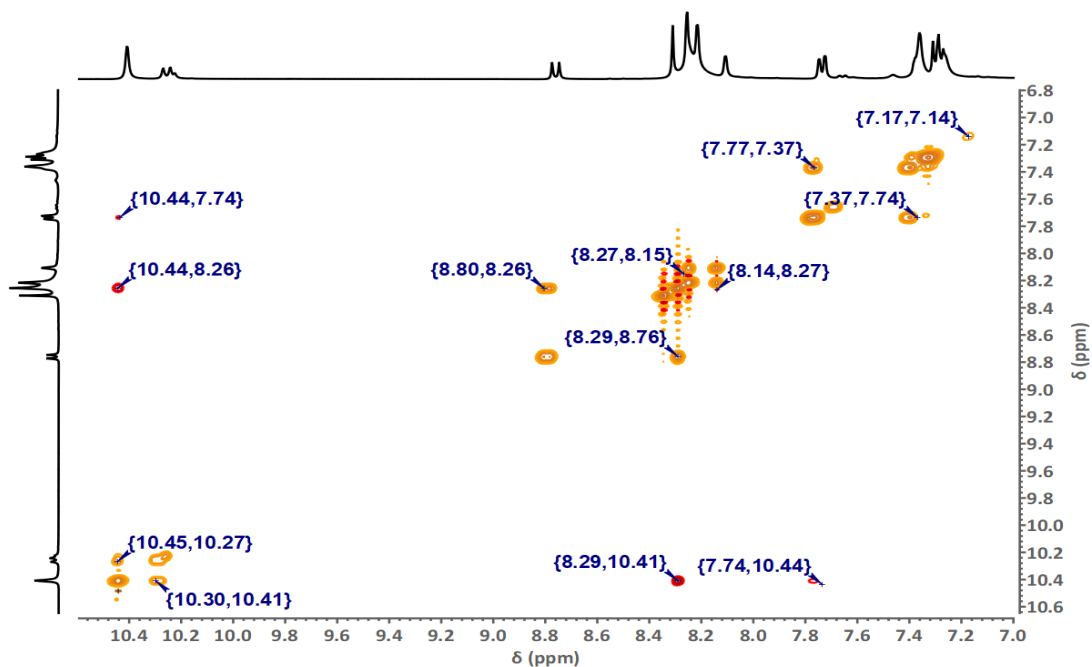
### 12.2.2.7 Síntesis de EH2



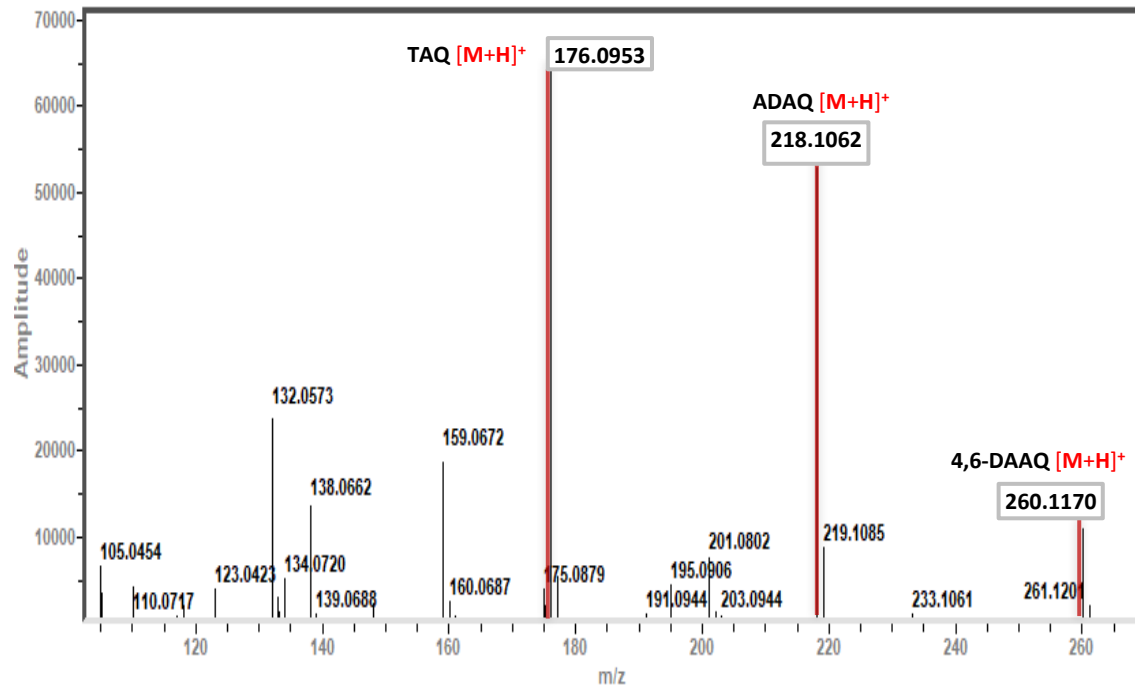
Espectro 12.33 RMN-<sup>1</sup>H de la mezcla de subproductos 4,6-DAAQ + ADAQ.



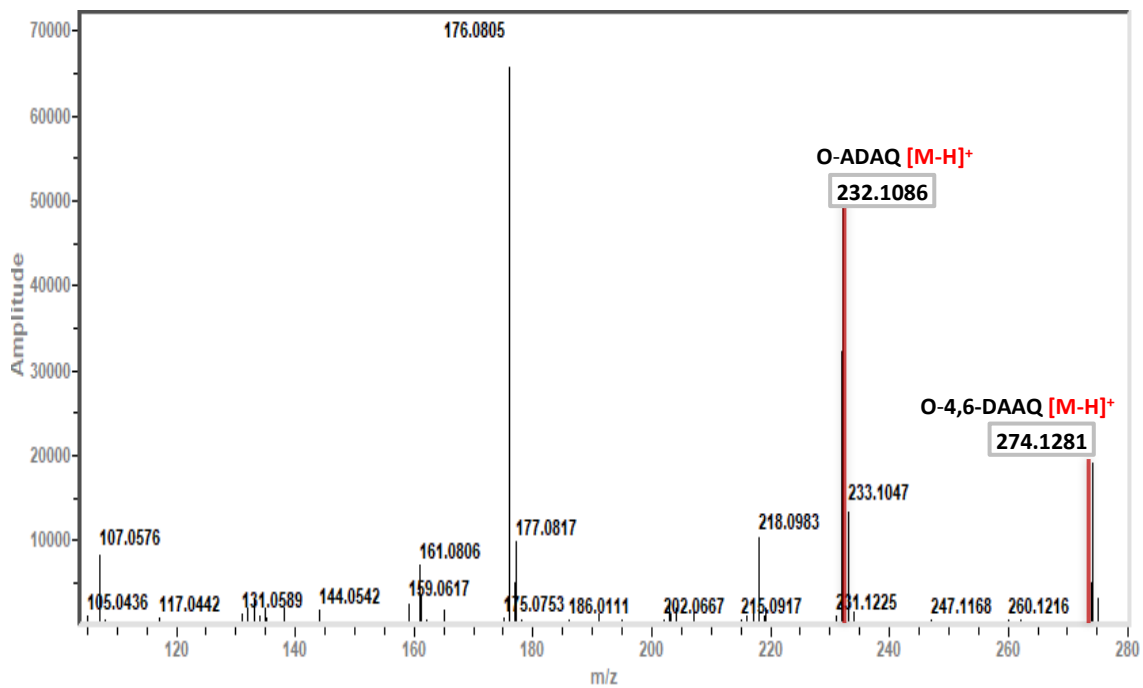
Espectro 12.34 RMN-<sup>13</sup>C de la mezcla de subproductos **4,6-DAAQ + ADAQ**.



Espectro 12.35 NOESY de la mezcla de subproductos **4,6-DAAQ + ADAQ**.

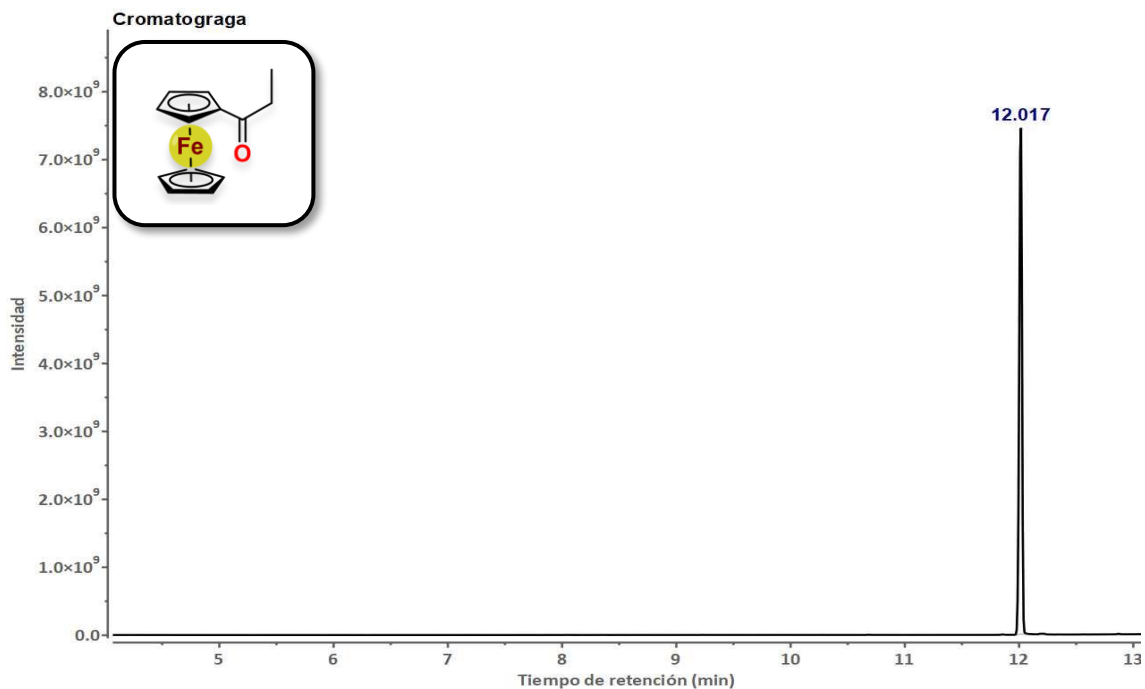


Espectro 12.36 EM de la mezcla de subproductos recién aislada **4,6-DAAQ + ADAQ**.

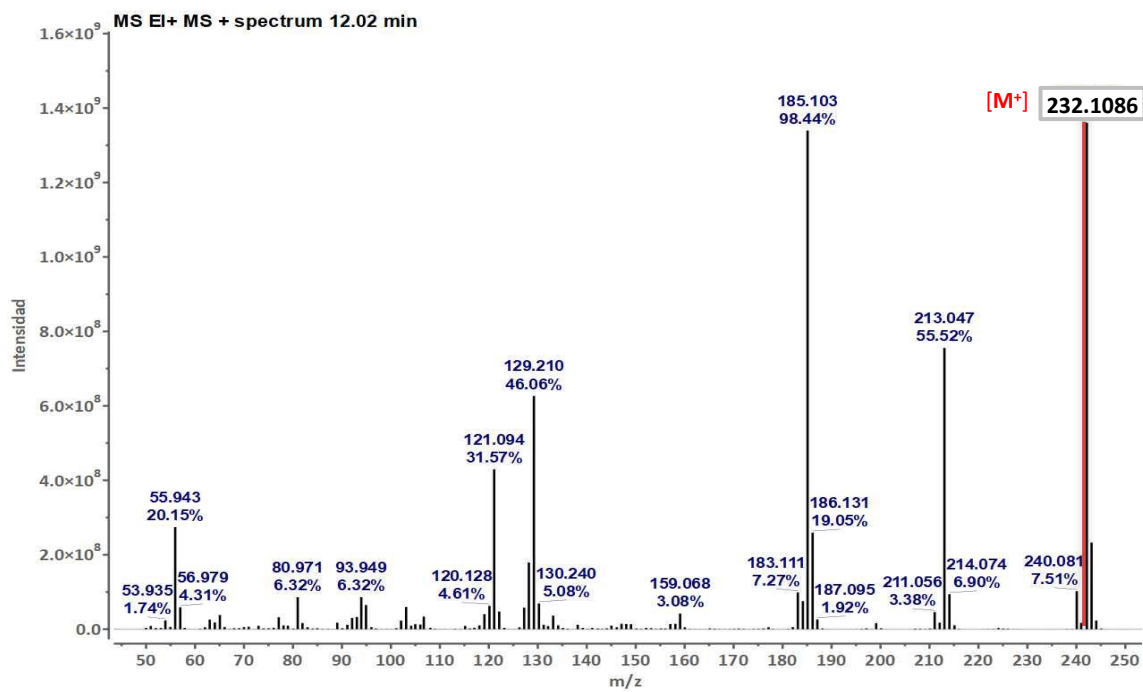


Espectro 12.37 EM de la mezcla de productos **4,6-DAAQ + ADAQ** tras almacenamiento.

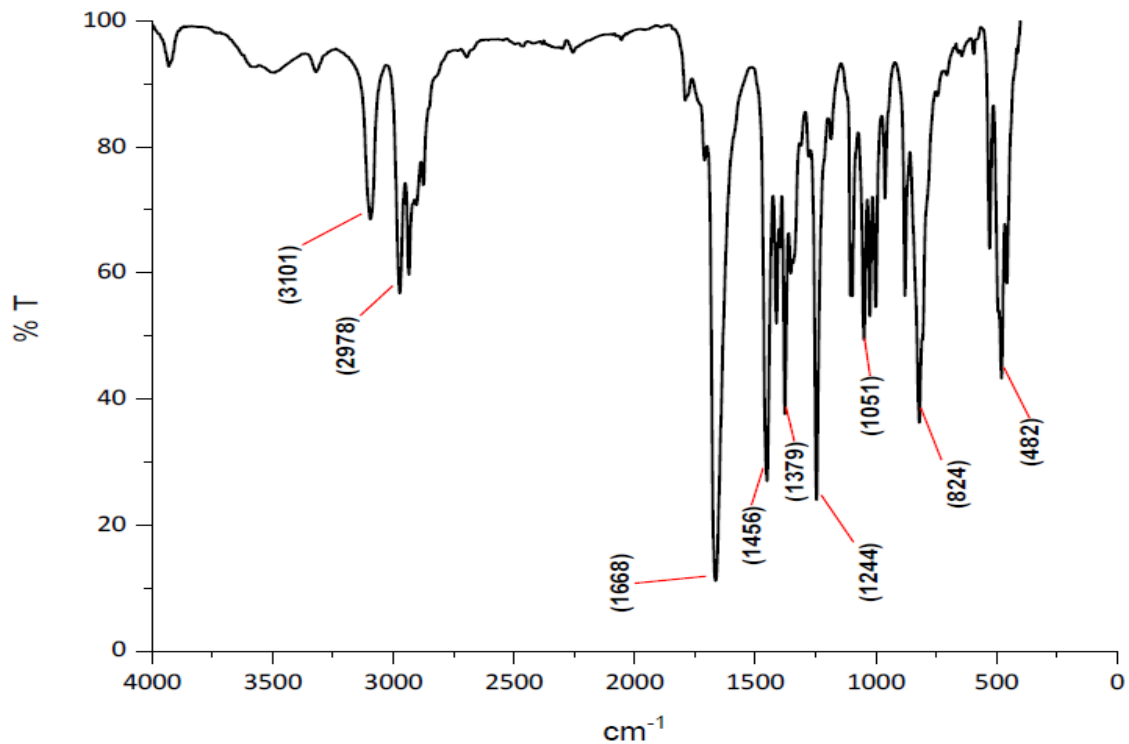
### 12.2.2.7.1 1-Propionilferroceno (L)



Cromatograma 12.6 Análisis cromatográfico de L.

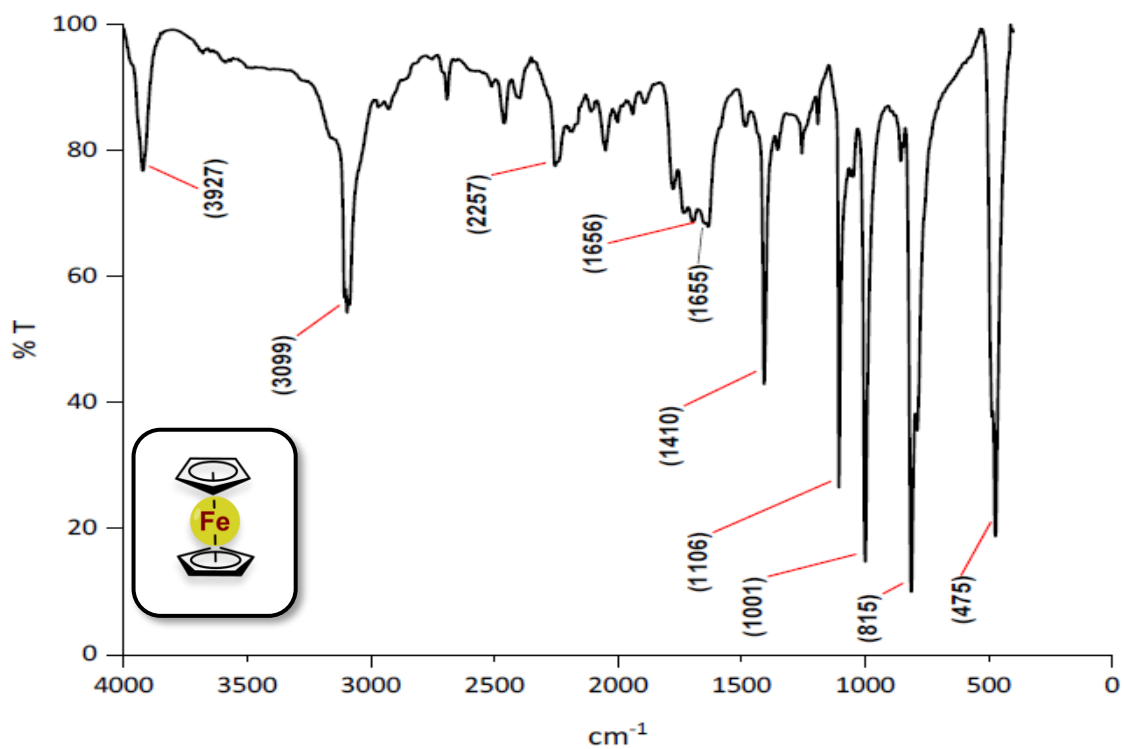


Espectro 12.38 EM de L.



Espectro 12.39 IR de L.

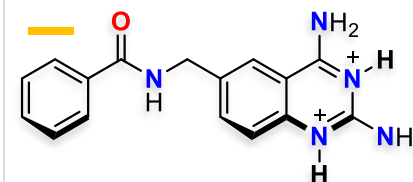
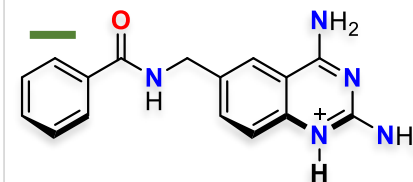
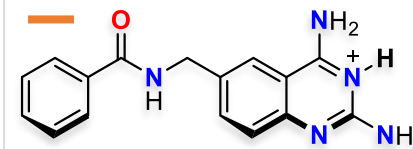
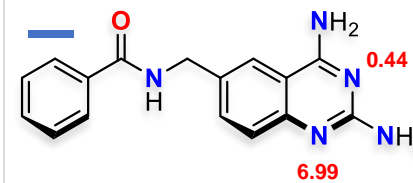
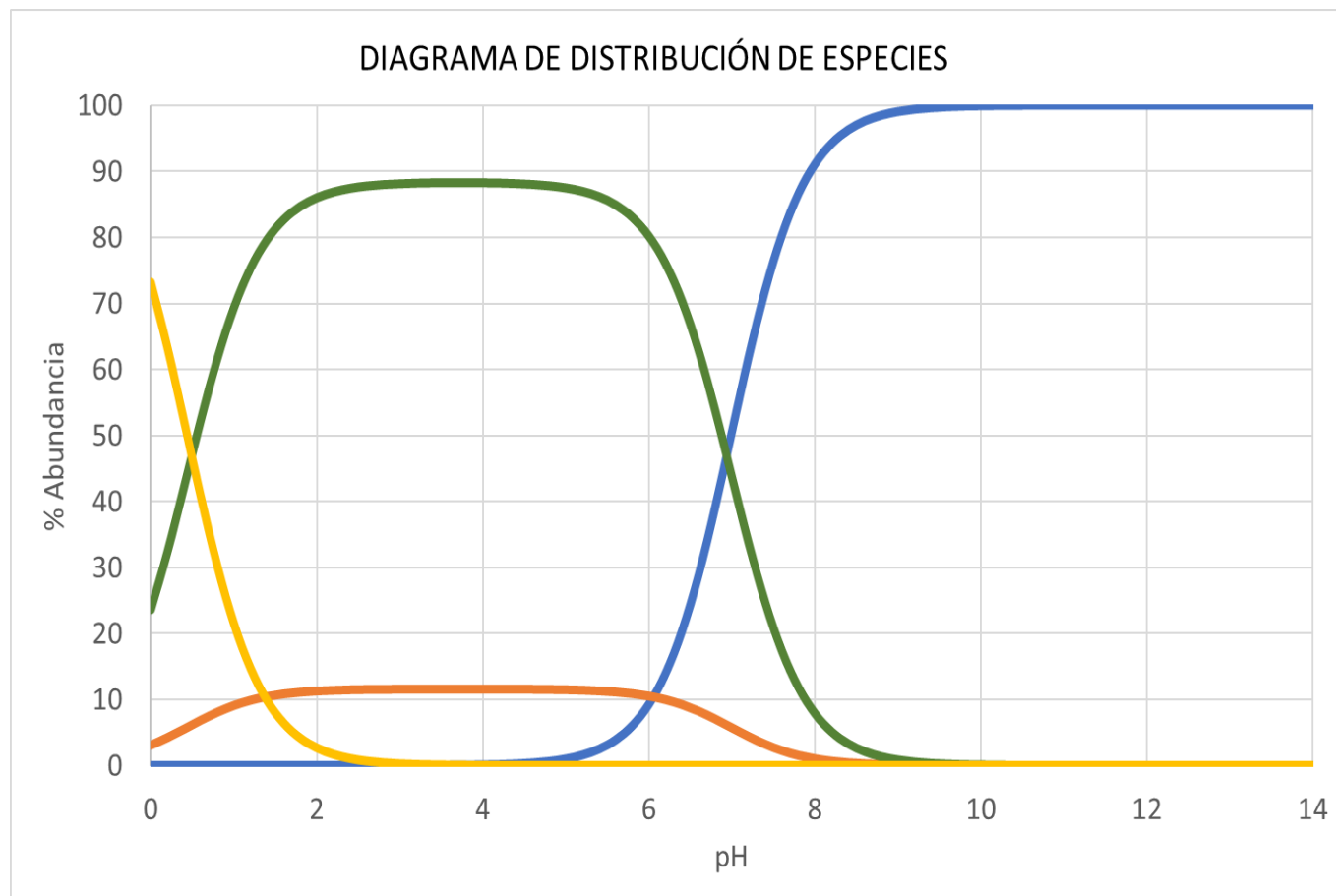
### 12.2.3 Espectroscopia complementaria



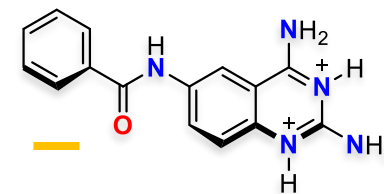
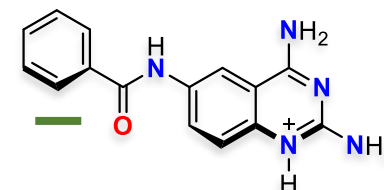
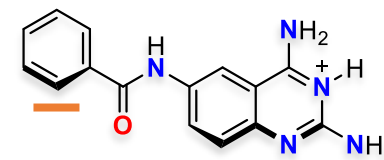
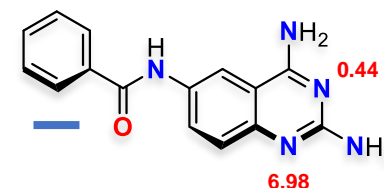
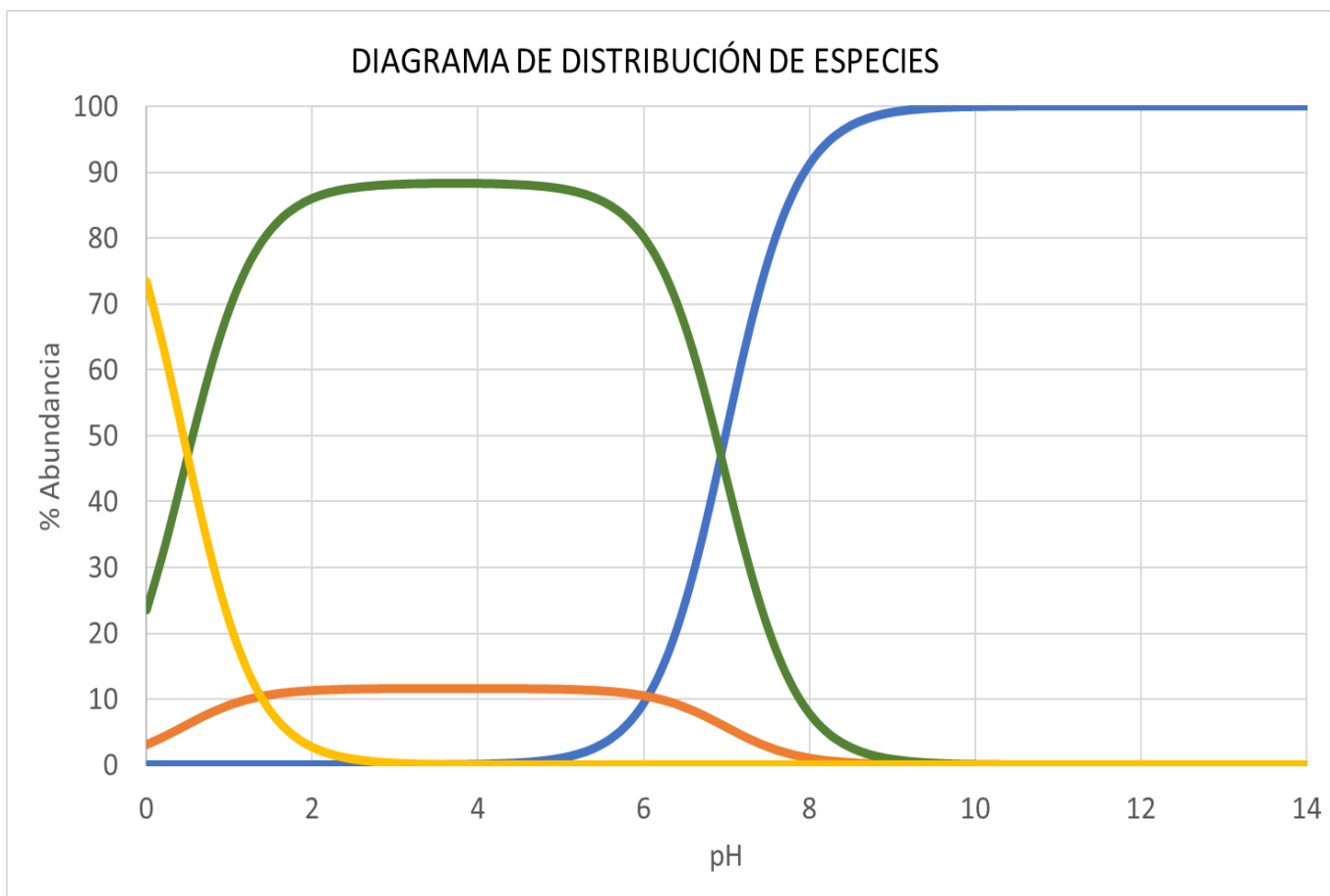
Espectro 12.40 IR de Fc.

## 12.3 Diagramas de especiación

### 12.3.1 Especiación ácido-base de la *N*-((2,4-diaminoquinazolin-6-il)metil)benzamida.

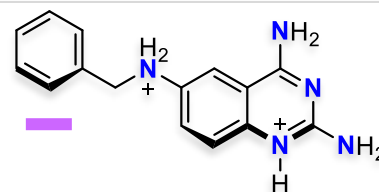
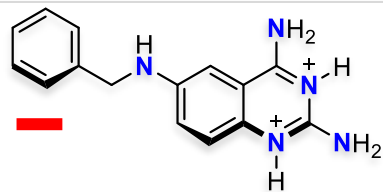
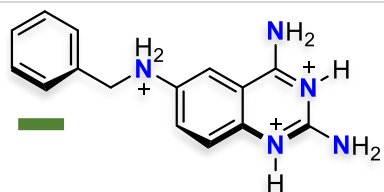
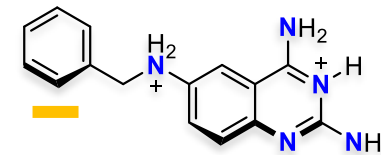
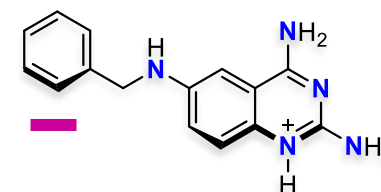
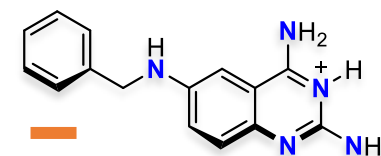
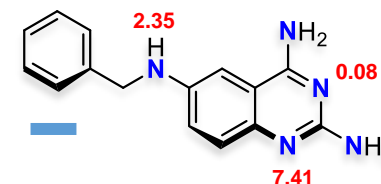
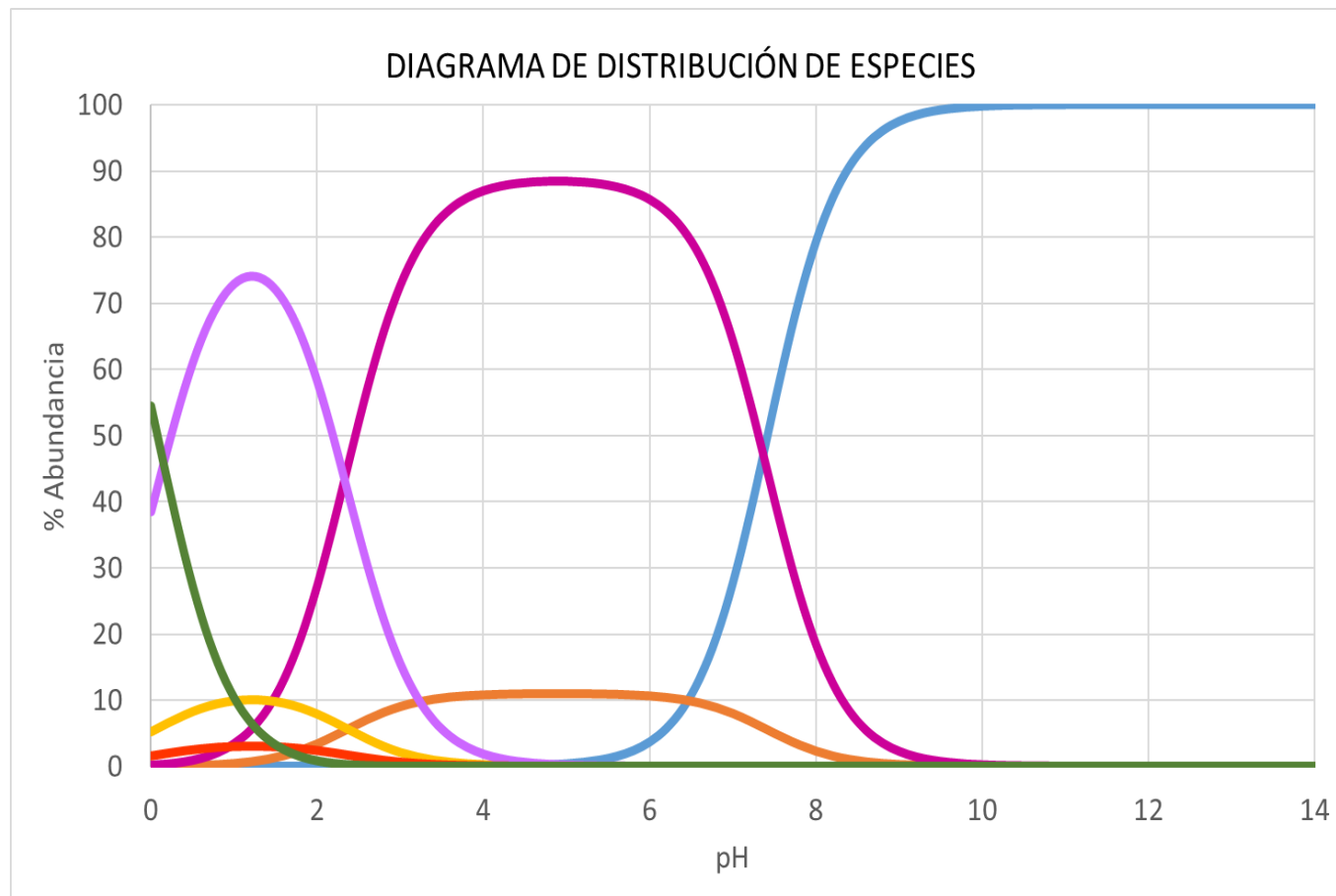


### 12.3.2 Especiación ácido-base de la *N*-((2,4-diaminoquinazolin-6-il)benzamida.

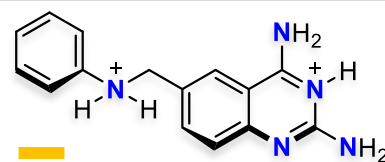
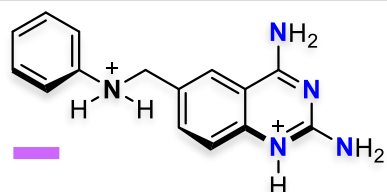
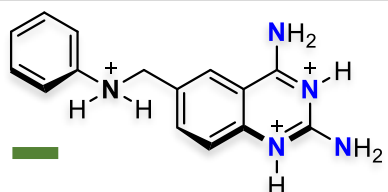
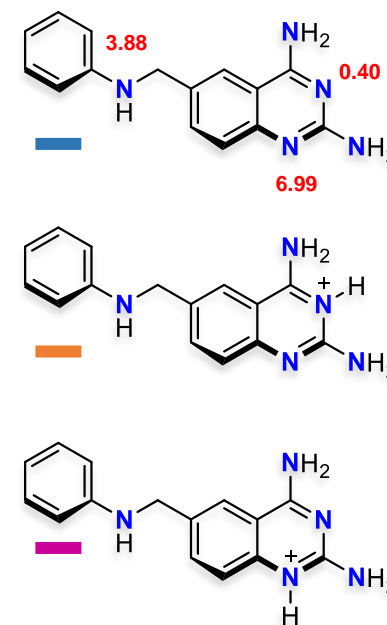
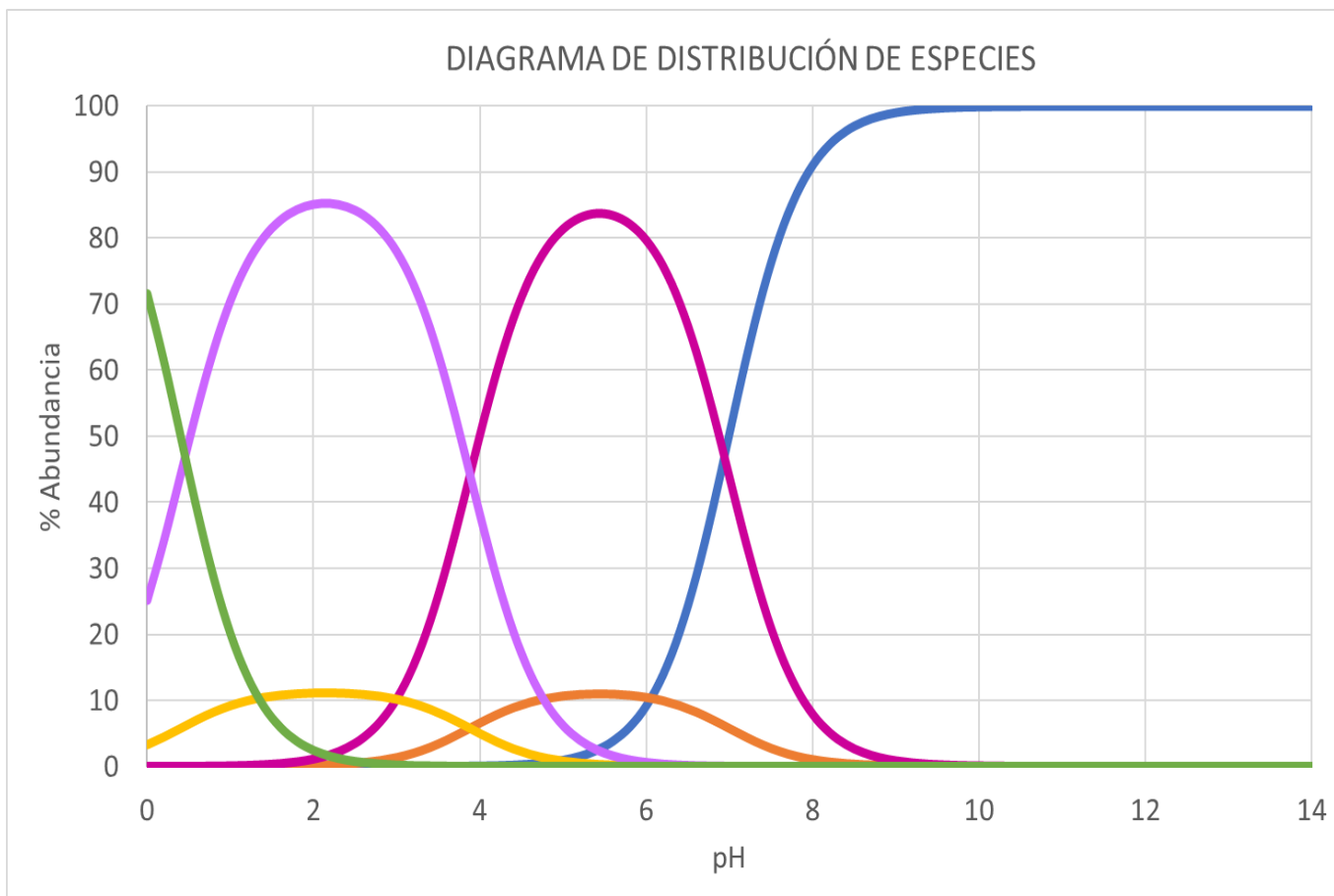




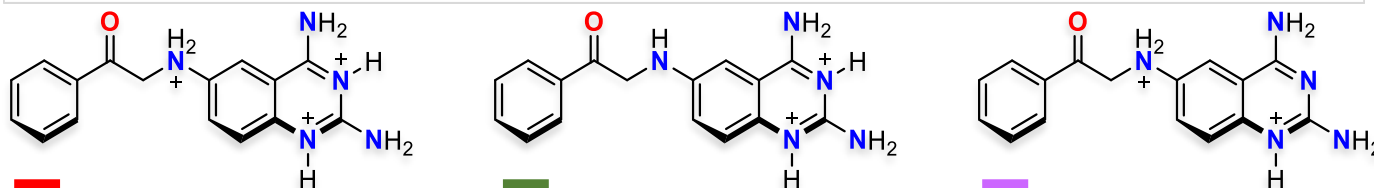
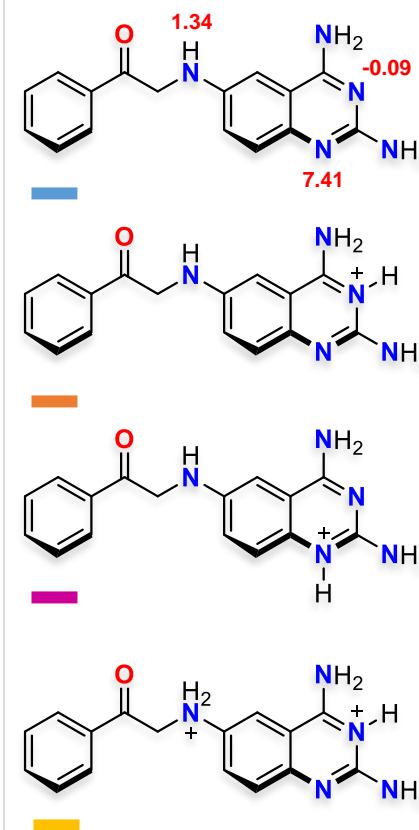
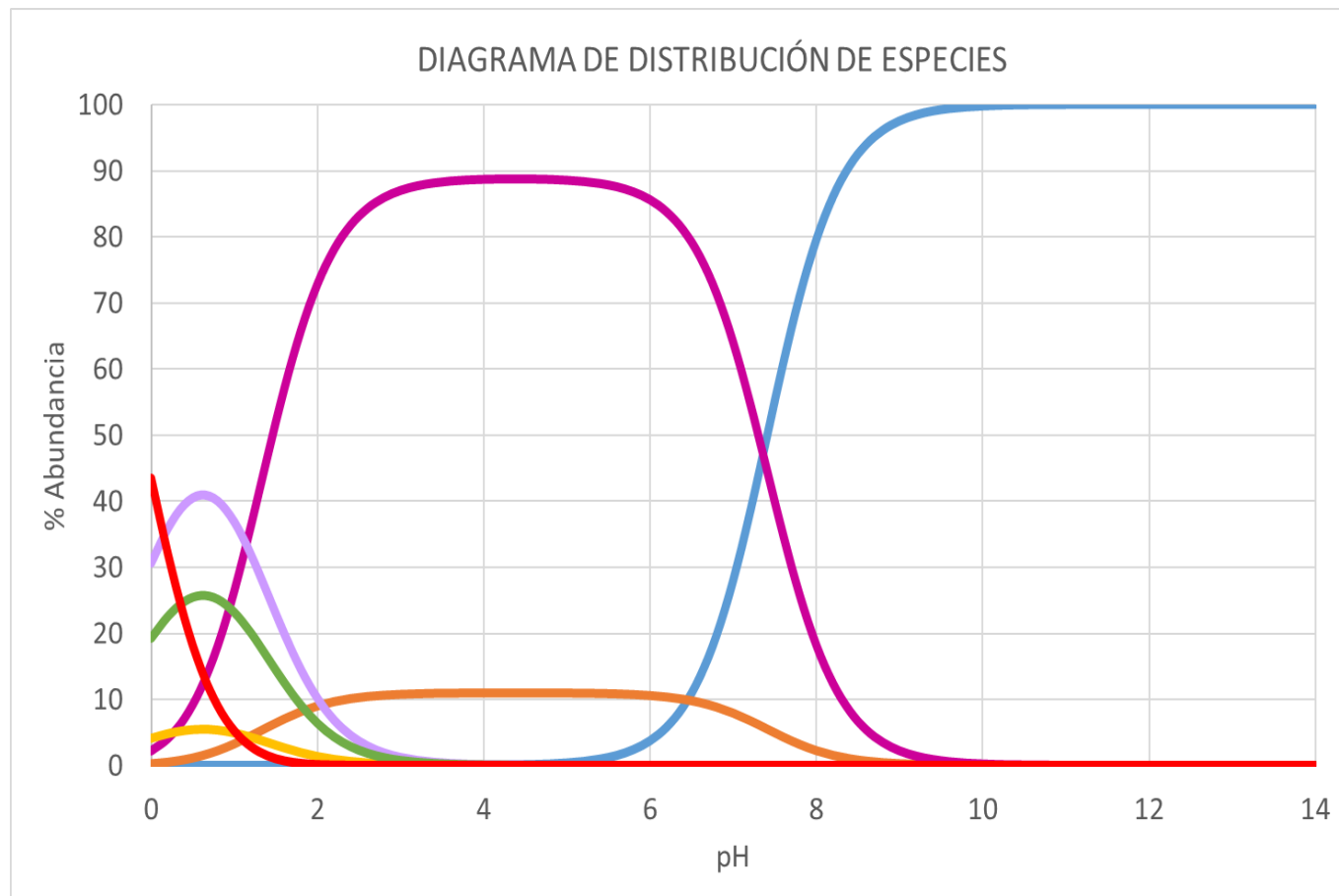
### 12.3.3 Especiación ácido-base de la N<sup>6</sup>-bencilquinazolin-2,4,6-triamina



### 12.3.4 Especiación ácido-base de la N<sup>6</sup>-bencilquinazolin-2,4,6-triamina



### 12.3.5 Especiación ácido-base de la N<sup>6</sup>-bencilquinazolin-2,4,6-triamina



### 12.3.6 Especiación ácido-base de la N<sup>6</sup>-bencilquinazolin-2,4,6-triamina

