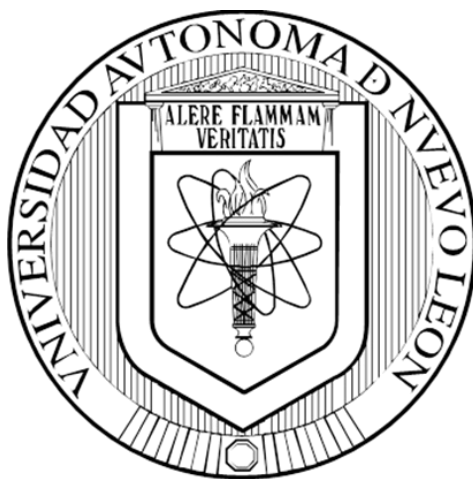


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



Síntesis y caracterización de nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas derivadas de *L*-fenilalanina: Determinación de su actividad antineoplásica y citotóxica *in vitro*

POR

Q. F. B. JUAN JOSÉ DE JESÚS CARRIZALES CASTILLO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN FARMACIA**

NOVIEMBRE, 2018

**Síntesis y caracterización de nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino
sustituidas derivadas de *L*-fenilalanina: Determinación de su actividad
antineoplásica y citotóxica *in vitro***

Aprobación de la tesis

Dr. Francisco Guadalupe Avalos Alanís
Presidente

Dra. Yolanda Araceli Gracia Vásquez
Secretaria

Dra. Susana Thelma López Cortina
Vocal

Dra. Ma. Araceli Hernández Ramírez
Subdirectora de Estudios de Posgrado

Síntesis y caracterización de nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas derivadas de *L*-fenilalanina: Determinación de su actividad antineoplásica y citotóxica *in vitro*

Revisión de la tesis

Dr. Francisco Guadalupe Avalos Alanís

Director de Tesis

Dr. Eder Ubaldo Arredondo Espinoza

Co-Director de Tesis

Dra. Lucía G. Cantú Cárdenas

Comité tutorial

Dra. Yolanda Gracia Vásquez

Comité tutorial

Dra. Susana T. López Cortina

Comité tutorial

Dra. Ma. Araceli Hernández Ramírez

Subdirectora de Estudios de Posgrado

Resumen

Juan José de Jesús Carrizales Castillo

Fecha de graduación: Noviembre, 2018

Universidad Autónoma de Nuevo León.

Facultad de Ciencias Químicas.

Título del estudio: **Síntesis y caracterización de nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas derivadas de L-fenilalanina: Determinación de su actividad antineoplásica y citotóxica *in vitro*.**

Número de páginas: 112

Candidato para obtener el grado de Maestría en Ciencias con orientación en Farmacia

Área de estudio: Farmacia

Propósito y método del estudio: Las moléculas del tipo β -hidroxiamidas han demostrado ser moléculas privilegiadas que juegan un papel biológico importante por ser precursores de compuestos heterocíclicos como oxazolininas y β -lactamas, además de ser útiles en la síntesis orgánica de oxazoles, oxazolidinonas, así como de las mencionadas oxazolininas y β -lactamas. Es por esto que en el presente proyecto de tesis se propuso llevar a cabo la síntesis vía convencional, purificación mediante cromatografía en columna y la caracterización estructural haciendo uso de las técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (^1H y ^{13}C) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución de amido ésteres y sus análogos reducidos, β -hidroxiamidas, amino sustituidas, además de determinar a nivel *in vitro* su citotoxicidad ante la línea celular Vero (crecimiento normal), así como la actividad antineoplásica ante las líneas SiHa (cáncer de cérvix) y PC-3 (cáncer de próstata), utilizando la técnica colorimétrica WST-1 y finalmente para explorar su posible mecanismo de muerte, se planteó estudiar a la Caspasa-3, enzima utilizada como marcador de apoptosis.

Contribuciones y conclusiones: Se sintetizaron, purificaron y caracterizaron 6 ésteres y 6 β -hidroxiamidas amino sustituidas de las cuales no se tienen reportes en la literatura a las cuales se les determinó la actividad citotóxica en la línea celular Vero mostrando una baja citotoxicidad a concentraciones de 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con porcentajes de viabilidad más altos que el fármaco de referencia paclitaxel. Además, se evaluó la actividad antineoplásica en las líneas celulares

SiHa y PC-3, siendo los compuestos **53D**, **53F**, **54B** y paclitaxel los más activos ante la primera línea mencionada, con valores de IC₅₀ de 79.63±3.2, 74.40±8.8, 92.49±3.8 y 78.6±5.6 µg/mL, respectivamente. Mientras que en las células PC-3 los compuestos **53A-D** y **53F**, las concentraciones fueron de 42.25±5.8, 34.82±0.4, 72.28±12.41, 46.08±6.05 y 42.08±8.27 µg/mL, respectivamente. De acuerdo con los resultados e intentando determinar una relación estructura-actividad, se logra observar una tendencia, la cual indica que la presencia de sustituyentes que aumentan la lipofilicidad estructural favorecen considerablemente la actividad antineoplásica. Así mismo, se demostró que los compuestos **53A** y **53B** inducen el proceso de apoptosis resultando en una mayor actividad apoptótica que la mostrada por el fármaco de referencia podofilotoxina, mientras que en el caso del compuesto **53F** la actividad presentada es menor a la de dicho fármaco.

Firma del asesor: _____

Dr. Francisco Guadalupe Avalos Alanís

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS ÉSTERES Y β -
HIDROXIAMIDAS AMINO SUSTITUIDAS DERIVADAS DE L-
FENILALANINA: DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD
ANTINEOPLÁSICA Y CITOTÓXICA *in vitro*.**

Presentado por:

Q. F. B. Juan José de Jesús Carrizales Castillo

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Química Industrial del Centro de Laboratorio Especializados (CELAES) y en el Laboratorio de Química de Productos Naturales y Sintéticos, además del Laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica, todos estos dentro de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. Francisco G. Avalos Alanís con el asesoramiento del Dr. Eder U. Arredondo Espinoza. Se contó con el apoyo de una beca por parte del CONACYT (CVU 781370) y recursos proporcionados por el proyecto 04-105526-FAR-11/253 otorgados por el PRODEP (DSA/103.5/16/10510) y PAICYT (CS692-18).

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer al Dr. Francisco G. Avalos Alanís, por su paciencia, esfuerzo y dedicación para que este proyecto pudiera avanzar. Gracias por compartir sus conocimientos, por la confianza que puso en mí y motivarme cuando lo necesitaba. Este camino apenas comienza.

Así mismo, agradezco al Dr. Eder U. Arredondo Espinoza por la colaboración en este trabajo y la confianza que me dio desde un principio.

Gracias a mi comité tutorial: Dra. Lucia G. Cantú Cárdenas, Dra. Yolanda Gracia Vásquez y Dra. Susana T. López Cortina, por sus valiosos consejos y comentarios hacia mí y hacia el proyecto. Honestamente, son un ejemplo a seguir.

Por temor de olvidar a alguna persona, extiendo mis agradecimientos a los compañeros, profesores y amigos (ustedes saben quiénes son) de los laboratorios de Química Industrial, Química de Productos Naturales y Sintéticos además del Laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica, que me enseñaron y apoyaron de alguna u otra forma. Espero haber dejado algo positivo en ustedes.

Gracias a mi Alma Mater, la Universidad Autónoma de Nuevo León, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas por las becas otorgadas, así como por la

infraestructura para la realización de este trabajo. También quiero agradecer a CONACYT, PROMEP y a PAICYT por el financiamiento del presente proyecto.

DEDICATORIA

A mi familia, los que siempre están ahí.

A las personas que me han brindado su apoyo y han depositado su confianza
en mí.

A MFTC... *“Ven, te llamo... estrella solitaria... zafiro de la noche”*

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
Capítulo 1	1
1. Introducción	1
1.1 Cáncer	1
1.1.1 Tipos de cáncer	2
1.1.2 Mecanismos de muerte celular	4
1.2 Fármacos	7
1.2.1 Interacciones fármaco-receptor	13
1.2.2 Inconvenientes de la terapia anticáncer	14
1.2.2.1 Resistencia a fármacos antineoplásicos	15
1.2.2.2 Inespecificidad de los fármacos	19
Capítulo 2	21
2. Antecedentes	21
2.1 Hidroxiamidas	21
Capítulo 3	32
3. Hipótesis y objetivos	32
3.1 Hipótesis	32
3.2 Objetivos	32
3.2.1 Objetivo general	32
3.2.2 Objetivos específicos	32
Capítulo 4	34
4. Materiales y métodos	34
4.1 Metodología para la síntesis de los compuestos	34
4.2 Información general	35
4.2.1 Preparación del clorhidrato del amino éster metílico de la (S)-fenilalanina 49	35
4.2.2 Preparación de la bromoamida 51	35
4.2.3 Procedimiento general para la preparación de ésteres amino sustituidos 53	36
4.2.3.1 Preparación del fenilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53A	36

4.2.3.2 Preparación del (4-bromofenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 52B.....	36
4.2.3.3 Preparación del (4-metoxifenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53C.....	37
4.2.3.4 Preparación del p-tolilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53D.....	37
4.2.3.5 Preparación del (4-hidroximetilfenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53E.....	37
4.2.3.6 Preparación del ciclohexilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53F	37
4.2.4 Procedimiento general para la preparación de las β -hidroxiamidas 54.....	38
4.2.4.1 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(fenilamino)acetamida 54A.....	38
4.2.4.2 Preparación del (S)-2-((4-bromofenil)amino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida 54B	39
4.2.4.3 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-metoxifenil)amino)acetamida 54C.....	39
4.2.4.4 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida 54D	39
4.2.4.5 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-hidroxifenil)amino)acetamida 54E	39
4.2.4.6 Preparación del (S)-2-(ciclohexilamino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida 54F	40
4.3 Evaluaciones biológicas.....	40
4.3.1 Determinación de la actividad citotóxica.....	40
4.3.1.1 Preparación de los compuestos evaluados.....	41
4.3.1.2 Preparación de placas con el cultivo celular.....	41
4.3.1.3 Determinación de la actividad citotóxica y anticancerígena mediante la técnica WST-1	43
4.3.1.4 Determinación de la posible inducción de apoptosis por la técnica de Caspasa-3	44
Capítulo 5.....	46
5. Resultados y discusión.....	46
5.1 Preparación de β -hidroxiamidas amino sustituidas.....	46
5.1.1 Análisis retrosintético propuesto	46

5.1.2 Síntesis de compuestos	47
5.1.2.1 Preparación del clorhidrato del éster metílico de la (S)-fenilalanina 48	47
5.1.2.2 Preparación de la bromoamida 51 a partir del clorhidrato éster metílico de la (S)-fenilalanina 49	48
5.1.2.3 Preparación de los ésteres amino sustituidos 53	51
5.1.2.3.1 Preparación del fenilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53A	53
5.1.2.3.2 Preparación del (4-bromofenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53B	56
5.1.2.3.3 Preparación del (4-metoxifenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53C	60
5.1.2.3.4 Preparación del p-tolilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53D	64
5.1.2.3.5 Preparación del metil (4hidroximetilfenil)glicil-L-fenilalaninato 53E	68
5.1.2.3.6 Preparación del metil ciclohexilglicil-L-fenilalaninato 53F	71
5.1.2.4 Preparación de las β-hidroxiamidas 54	74
5.1.2.4.1 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(fenilamino)acetamida 54A	76
5.1.2.4.2 Preparación del compuesto (S)-2-((4-bromofenil)amino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida 54B	80
5.1.2.4.3 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-metoxifenil)amino)acetamida 54C	83
5.1.2.4.4 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida 54D	86
5.1.2.4.5 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-hidroxifenil)amino)acetamida 54E	89
5.1.2.4.6 Preparación del (S)-2-2(ciclohexilamino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida 54F	92
5.2 Determinación de la actividad citotóxica y anticancerígena de los compuestos sintetizados	95
5.2.1 Evaluación de la citotoxicidad sobre células Vero	95
5.2.2 Actividad antineoplásica en la línea celular SiHa	97
5.2.3 Actividad antineoplásica en la línea celular PC-3	100

5.3 Determinación de la posible inducción de apoptosis.....	106
Capítulo 6.....	107
6. Conclusiones	107
Referencias.....	109

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Clasificación de cáncer	3
2. Características de los tratamientos contra el cáncer	3
3. Clasificación de fármacos antineoplásicos con base a su mecanismo de acción	13
4. Porcentajes de rendimientos de β -hidroxiamidas arilo sustituidas.....	24
5. Actividad antibacterial y antifúngica <i>in vitro</i> de los compuestos a una concentración de 50 μ g/mL.	26
6. Actividad antituberculosa y citotóxica de oxazolinas derivadas de ND-005859	28
7. Actividad citotóxica de las oxazolinas derivadas de ácido salicílico.....	29
8. Actividad antimicobacteriana y citotóxica de las amidas 36-41 y oxazolinas 42-57	31
9. Datos de RMN ^1H para la bromoamida 51	49
10. Ésteres amino sustituidos 53A-F sintetizados.....	51
11. Datos del espectro de RMN de ^1H del compuesto 53A.....	54
12. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto 53B	58
13. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto 53C	62
14. Datos del espectro del RMN ^1H del compuesto 53D	66
15. Datos del espectro del RMN ^1H del compuesto 53E.....	69
16. Datos del espectro de RMN de ^1H del compuesto 53F.....	72
17. β -hidroxiamidas 54A-D sintetizadas.....	75
18. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto 54A	78
19. Datos de RMN de ^1H del compuesto 54B.....	81
20. Datos del espectro de RMN de ^1H del compuesto 54C	84
21. Datos de RMN de ^1H del compuesto 54D.....	87
22. Datos de RMN de ^1H del compuesto 54E.....	90
23. Datos de RMN de ^1H del compuesto 54F	93
24. Viabilidad celular de los compuestos sintetizados y paclitaxel en células Vero	96
25. Viabilidad celular de ésteres, hidroxiamidas y paclitaxel en células SiHa... ..	98
26. Dilución seriada de los compuestos más activos en células SiHa	99
27. Viabilidad celular de los compuestos 53A-F, 54A-F y paclitaxel en células PC-3	100
28. Dilución en serie de los compuestos 53A-D y 53F.....	102
29. Actividad citotóxica y antineoplásica de paclitaxel en diversas líneas celulares	103
30. LogP y actividades de los ésteres e hidroxiamidas sintetizadas, a 50 μ g/mL	105
31. Determinación de la inducción de apoptosis.....	106

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Agentes alquilantes.....	8
2. Agentes antibióticos citotóxicos	9
3. Ejemplos de fármacos antimetabolitos	9
4. Fármacos derivados del platino	10
5. Fármacos derivados de la camptotecina	10
6. Fármacos de origen vegetal.....	11
7. Mecanismos de resistencia a fármacos antineoplásicos	19
8. Ejemplos de fármacos que incorporan hidroxiamidas en su estructura	22
9. Porcentajes de rendimiento de la formación de β -hidroxiamidas a partir de aminoalcoholes y halogenuros de acilo	23
10. Oxazolininas derivadas del ácido salicílico	29
11. Hidroxiamidas y oxazolininas α , β -insaturadas evaluadas contra cepas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	30
12. Cuadrantes de la cámara de Neubauer para el conteo celular	42
13. Espectro de RMN de ^1H de la bromoamida 51	50
14. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53A	55
15. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53B	59
16. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53C	63
17. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 53D	67
18. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 53E	70
19. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 53F	73
20. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54A	79
21. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54B	82
22. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54C	85
23. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54D	88
24. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54E	91
25. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54F	94
26. Porcentajes de citotoxicidad de los compuestos en células Vero	97
27. Actividad anticancerígena de los compuestos evaluados en células SiHa.....	98
28. Dilución seriada de los compuestos más activos en células SiHa	99
29. Actividad anticancerígena de los compuestos sintetizados y paclitaxel....	101
30. Dilución seriada de los compuestos más activos en células PC-3.....	102

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema	Página
1. Formación de β -hidroxiamidas a partir de aminoalcoholes.....	22
2. Formación de β -hidroxiamidas arilo sustituidas	23
3. Síntesis de hidroxiamidas a partir de derivados de ácido fosfonoacético y L-fenilglicinol.....	24
4. Síntesis de dipéptidos derivados de <i>p</i> -aminopiridina.....	25
5. Ruta de síntesis para la obtención de ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas.....	34
6. Análisis retrosintético para la obtención de β -hidroxiamidas amino sustituidas.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

Δ	Reflujo
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
μg	Microgramo
μL	Microlitro
μM	Micromolar
4-DMAP	4-dimetilaminopiridina
ACN	Acetonitrilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ATasa	O6-alquilguanina-alquiltransferasa
ATP	Trifosfato de adenosina
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
Bn	Bencilo
Brcp	Proteína de resistencia al cáncer de mama
DAST	Trifluoruro de dietilaminoazufre
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
dd	Doble de doble
DIPEA	N, N-diisopropiletilamina
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
eq	Equivalentes
ERCC1	Proteína de reparación por escisión del grupo de complementación cruzada 1
ESI	Ionización por electrospray
Et₃N	Trietilamina
g	Gramos
GAS	Medio de sales-alanina-glicerol, adicionado con hierro

GAST	Medio de sales-alanina-glicerol, con Tween 80 y deficiente de hierro
GSH	Glutación
GSTs	Glutación transferasa
h	Horas
HCE	Hexacloroetano
HDAC	Histona deacetilasa
HeLa S3	Línea celular de cáncer de cérvix humano
Hs 294T	Células de melanoma
Hz	Hertz
IC₅₀	Concentración inhibitoria 50
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
J	Constante de acoplamiento
K₂CO₃	Carbonato de potasio
K562	Células de leucemia mieloide crónica
LHRH	Hormona liberadora de hormona luteinizante
Lrp	Proteína de resistencia pulmonar
m	Minutos
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama humano, hormonodependiente
MDA-MB-231	Células de cáncer de mama humano, hormonoindpendiente
Me	Metilo
MIC	Concentración mínima inhibitoria
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mM/h	Milimolar por hora
MRC-5	Fibroblastos de pulmón
Mrp	Proteína de resistencia a múltiples fármacos
MW	Microondas
NaBH₄	Borohidruro de sodio
NaBr	Bromuro de sodio
nm	Nanómetros
OH·	Radical hidroxilo

OMe	Metoxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
PBS	Solución buffer de fosfatos
PC-3	Células de cáncer de próstata humano
Pgp	Glicoproteína P
ppm	Partes por millón
p-TsCl	Cloruro de 4-toluensulfónico
Py	Piridina
RMN ¹³C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹H	Resonancia magnética nuclear de protón
rpm	Revoluciones por minuto
SFB	Suero fetal bovino
SIHa	Células de cáncer de cérvix humano
SOCl₂	Cloruro de tionilo
SS	Secretaría de Salud
t. a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
U937	Linfoma de monocitos leucémicos humanos
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
δ	Desplazamiento químico

Capítulo 1

1. Introducción

1.1 Cáncer

En condiciones fisiológicas normales, el cuerpo va reemplazando, a medida que se necesite, las células que van envejeciendo y muriendo, formando así células nuevas. Sin embargo, este proceso no siempre se lleva a cabo como se espera, lo que desencadena un crecimiento y diseminación incontrolados de células originando células nuevas que no son necesarias y células viejas que no mueren como deberían, esto es lo que conocemos como cáncer. Estas células pueden formar una masa llamada tumor, los cuales pueden ser benignos o malignos, y se diferencian en que las células de tumores benignos no invaden otros tejidos, mientras que los tumores malignos se pueden instalar en otras partes del cuerpo, ya sean tejidos cercanos o distantes, en un proceso llamado metástasis¹.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, ya que en el año 2015 se registraron 8.8 millones de defunciones a causa de esta enfermedad, adjudicándose una de cada seis defunciones y colocándola en la segunda causa de muerte a nivel global.

En un ámbito mundial, los cánceres de mayor incidencia son el pulmonar (1.69 millones de defunciones), hepático (788 000), colorrectal (774 000), gástrico (754 000) y mamario (571 000)². Según la Secretaría de Salud (SS), en México a partir del año 2006, el cáncer cérvico uterino fue desplazado por el cáncer de mama como la primera causa de muerte por esta enfermedad en la mujer, ya que anualmente se estima una ocurrencia de 20 444 casos, con una incidencia de 35.4 casos por cada 100 000 mujeres³.

En los varones, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) ubica al cáncer de próstata como la principal causa de mortalidad por tumores malignos en México con un 16% de incidencia, teniendo una tasa de mortalidad de 13 defunciones por cada 100 000 hombres⁴.

1.1.1 Tipos de cáncer

Existen diversas denominaciones de cáncer según su anatomía patológica, lo que hace un poco complejo hacer solo una clasificación detallada y estricta de todas ellas. En la tabla 1 se muestra una tipificación del cáncer⁵.

Tabla 1. Clasificación de cáncer.

Tipo	Sitio	Ejemplos
Carcinoma	Células epiteliales	Adenocarcinoma Carcinoma de células escamosas Melanoma
Sarcoma	Tejidos conectivos	Osteosarcoma Liposarcoma Condrosarcoma Angiosarcoma
Leucemia	Sangre y médula ósea	Leucemia mieloide Leucemia linfoide
Linfoma	Tejido linfoide	Linfoma de Hodgkin y no Hodgkin

Aunque el propio organismo cuenta con la capacidad de reconocer y eliminar células tumorales por parte del sistema inmune, denominado vigilancia inmunológica, no siempre es efectivo y es necesario recurrir a otros métodos para suprimir estas células. Actualmente se cuenta con diversos tratamientos para remediar este padecimiento, los cuales se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Características de los tratamientos contra el cáncer.^{6,7}

Tratamiento	Características
Cirugía	Procedimiento invasivo en el cual se extirpan las células cancerosas, principalmente utilizado en caso de tumores sólidos.
Quimioterapia	Utiliza fármacos para destruir células cancerosas.
Inmunoterapia	Tratamiento que ayuda al sistema inmunitario a combatir el cáncer.
Terapia hormonal	Tratamiento que hace más lento o detiene el crecimiento del cáncer hormonodependiente.
Radioterapia	Tratamiento que usa altas dosis de radiación ionizante (rayos X, gamma, rayos de electrones o neutrones) para destruir células cancerosas y reducir el tamaño de los tumores.

1.1.2 Mecanismos de muerte celular

Como ya se mencionó anteriormente, en los tejidos normales existe una constante generación celular, a través de la división celular, la cual está en equilibrio con la pérdida de células a través de la muerte celular. Al igual que la división, la muerte celular se encuentra estrechamente controlada, ya sea por un proceso de apoptosis o necrosis.

Por un lado, la necrosis ocurre de manera aguda, por una forma no fisiológica, mediante una agresión que causa lesión en una porción importante del tejido, por ejemplo, en el centro de un tejido infartado, en un área de isquemia o en la zona de una lesión por toxinas, lo que genera una caída de ATP. Esto crea cambios que, histológicamente, están representados por desorganización y lisis del citoplasma, con dilatación del retículo endoplásmico y las mitocondrias, disolución de la cromatina y pérdida de la continuidad de la membrana citoplasmática (proceso de oncosis). El ADN es fragmentado de formas irregulares al azar. Debido a la pérdida de la integridad de la membrana celular, el contenido del citoplasma es volcado al espacio extracelular, produciéndose la atracción de células inmunes en el área, lo que genera el proceso de inflamación, en el cual los restos celulares son eliminados por fagocitos⁸.

En cuanto a la apoptosis, también llamada muerte celular programada, es un proceso muy ordenado durante el cual el genoma de la célula se descompone,

se divide en fragmentos más pequeños y las células cercanas (fagocitos) que limpian los fragmentos de la célula consumen los desechos. Además de deshacerse de las células dañadas y potencialmente peligrosas, la apoptosis es crucial en la progresión del cáncer, aunque las células cancerosas son capaces de evadir la apoptosis y dividirse continuamente a pesar de sus anormalidades. La pérdida del supresor tumoral p53 es una causa común; la inactivación de la proteína p53 hace que la célula no pueda detectar el daño en el ADN que estimula la apoptosis. Los miembros de la familia Bcl-2 antiapoptótica y los inhibidores de las proteínas de apoptosis que desactivan las caspasas están regulados positivamente y contrarrestan las acciones antiapoptóticas de las proteínas BH3 solamente. Bcl-2 es capaz de unirse a Bax y Bak evitando la formación de poros. Puede inhibir las proteínas BH3, evitando respuestas al daño del ADN. Evadir la muerte celular a pesar del daño, junto con la continuación de la división celular conduce al crecimiento del tumor⁹.

Como ya se ha mencionado, la muerte celular programada es un proceso crucial requerido para el desarrollo normal y la fisiología de mamíferos, el cual se produce por múltiples mecanismos, algunos de los cuales son deliberadamente "suicidios" que están claramente programados y algunos de los cuales parecen ser accidentales o como resultado del daño, en donde la apoptosis es por mucho el más descrito seguido de la necrosis. Aunque inicialmente se pensaba que constituían estados celulares mutuamente excluyentes, los hallazgos recientes revelan contextos celulares que requieren una interacción equilibrada entre estos

dos modos de desaparición celular. Sin embargo, estudios han proporcionado evidencia de que existen otras formas de muerte celular. Uno de esos tipos de muerte celular es la autofágica, que se produce a través de la activación de la autofagia.

La autofagia es un proceso catabólico que digiere los contenidos celulares dentro de los lisosomas. La autofagia es una función constitutiva de bajo nivel que se acelera por una variedad de factores estresantes celulares, como la falta de nutrientes, el daño al ADN y el daño de los orgánulos. La autofagia sirve como un mecanismo de protección que facilita la degradación de los constituyentes celulares superfluos o dañados, aunque la hiperactivación de la autofagia puede conducir a la muerte celular. La evidencia apoya la conclusión de que la autofagia representa la principal vía para degradar las proteínas citoplasmáticas y los orgánulos. En este proceso de varias etapas, el citoplasma y los organelos dañados se secuestran dentro de las membranas de aislamiento que eventualmente maduran en estructuras de membrana doble llamadas autofagosomas, que posteriormente se fusionan con los lisosomas para formar autolisosomas, que digieren los componentes secuestrados.

La autofagia está íntimamente asociada con la muerte celular eucariota y la apoptosis. De hecho, en algunos casos las mismas proteínas controlan tanto la autofagia como la apoptosis. La señalización apoptótica puede regular la

autofagia y, viceversa, la autofagia puede regular la apoptosis y, muy probablemente, otros mecanismos de muerte celular. Sin embargo, las conexiones moleculares entre la autofagia y la muerte celular son complicadas y, en diferentes contextos, la autofagia puede promover o inhibir la muerte celular.

Es por esto que una muerte celular programada disfuncional conlleva a grandes repercusiones como la generación de enfermedades, por ejemplo, como las neurodegenerativas y el cáncer¹⁰⁻¹².

1.2 Fármacos antineoplásicos

Los fármacos antineoplásicos pueden actuar sobre los mecanismos de control celular antes mencionados o sobre las fases del ciclo celular. La velocidad de duplicación del tumor impacta directamente sobre la respuesta farmacológica, esto es que a mayor proliferación tumoral se espera una mayor respuesta al tratamiento. Otro factor importante para considerar son las alteraciones genéticas que se producen en la evolución del cáncer, ya que estas provocan una heterogeneidad celular resultando así en propiedades bioquímicas, tiempo de duplicación y una respuesta al tratamiento diferentes, lo que está estrechamente relacionado con el surgimiento de resistencias.

A continuación, se muestran los mecanismos de acción de los agentes antineoplásicos según la diana farmacológica en donde ejercen su efecto.

Antineoplásicos que actúan sobre el ADN

- 1) Alquilantes: Son los más utilizados en la quimioterapia antineoplásica. Su acción citotóxica es mediante la unión de grupos alquilo a diversas moléculas nucleófilas presentes en las células, preferentemente las bases nitrogenadas del ADN, impidiendo así la replicación del ADN celular y la transcripción del ARN y, por ende, la mitosis y la síntesis de proteínas. Los agentes alquilantes más empleados son la ciclofosfamida, busulfán y carmustina (Figura 1).

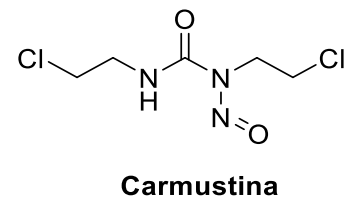
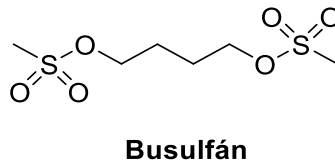
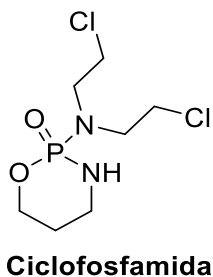


Figura 1. Agentes alquilantes.

- 2) Antibióticos citotóxicos: Alteran el crecimiento celular mediante la intercalación en el ADN (agentes intercalantes). Algunos ejemplos de esta categoría son doxorubicina, daunorrubicina y 4-epirubicina (Figura 2).

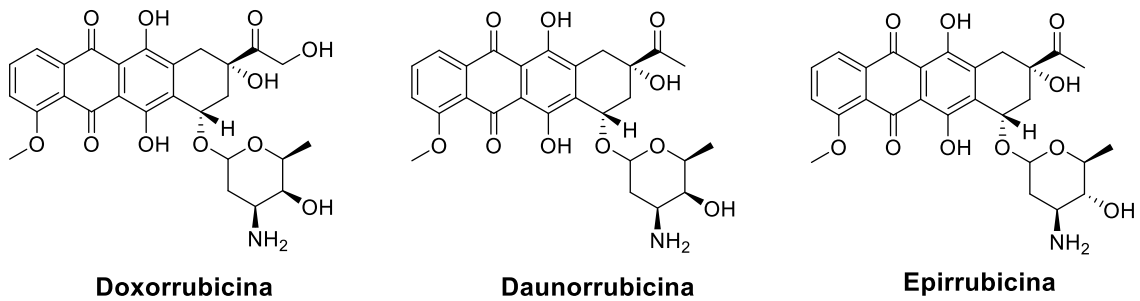


Figura 2. Agentes antibióticos citotóxicos.

3) *Antimetabolitos:* Debido a su similitud con los componentes del metabolismo celular, los antimetabolitos actúan en el metabolismo y la síntesis de ácidos nucleicos. En este grupo se encuentran los análogos de pirimidina (5-fluorouracilo), análogos de purina (6-mercaptopurina), análogos de adenosina (fludarabina) y antifolatos (metotrexato) (Figura 3).

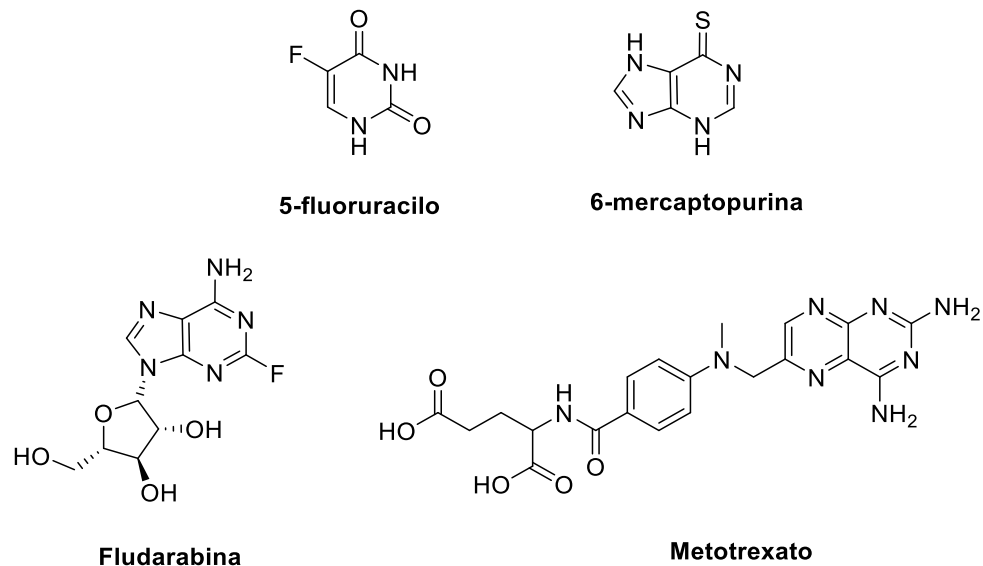


Figura 3. Ejemplos de fármacos antimetabolitos.

4) *Derivados del platino*: El cisplatino y el carboplatino modifican la estructura tridimensional del ADN como resultado de la formación de enlaces estables con este ácido nucleico, lo que conlleva a la producción de errores en la transcripción y así mismo provoca que las cadenas no puedan separarse para la replicación (Figura 4).

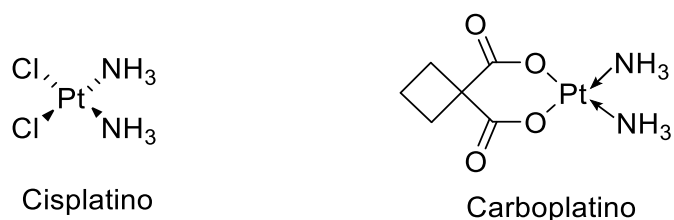


Figura 4. Fármacos derivados del platino.

5) *Derivados de camptotecinas*: Inhiben la topoisomerasa I de manera selectiva e irreversible, con lo cual se impide la replicación de ADN¹³ (Figura 5).

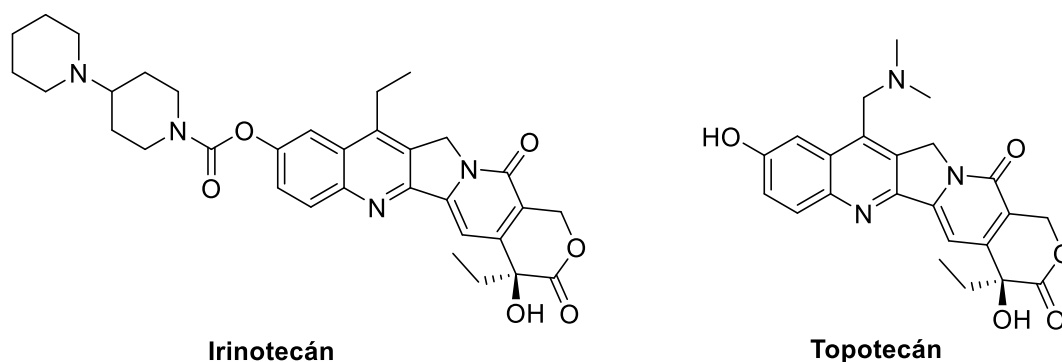


Figura 5. Fármacos derivados de la camptotecina.

Antineoplásicos que actúan sobre la mitosis sin afectar el ADN

1) *Antineoplásicos de origen vegetal*: Estos compuestos alteran la estructura de los microtúbulos que forman los husos mitóticos durante la metafase (Figura 6). En el caso de los alcaloides de la vinca (vinblastina y vincristina) se unen a las subunidades α y β de la tubulina impidiendo su polimerización para formar los microtúbulos. En contraste, los taxanos, paclitaxel y docetaxel, se unen a la subunidad β de la tubulina haciendo que los microtúbulos formados sean demasiado estables y no puedan polimerizarse.

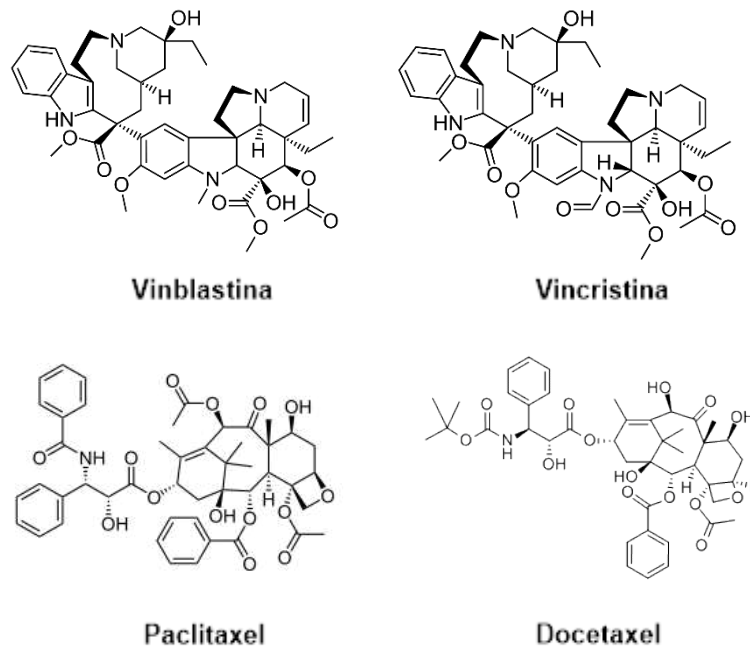


Figura 6. Fármacos de origen vegetal.

Antineoplásicos que actúan sobre factores extracelulares de división celular.

En esta categoría se encuentra la terapia hormonal, la cual ejerce la inhibición proliferativa del tumor a través de la reducción de la concentración de hormonas estimulantes o por actuación sobre los receptores hormonales específicos. Antagonistas de estrógenos y de andrógenos, progestágenos y análogos de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) componen este grupo, en donde además se incluye a los interferones, los cuales interactúan con receptores membranales de la célula, presentando su efecto farmacológico sobre el núcleo celular, induciendo así la expresión de ciertos genes con la correspondiente síntesis de proteínas y represión de otros.

Antineoplásicos que actúan sobre el sistema inmunitario

El factor de necrosis tumoral, interleucinas, anticuerpos monoclonales y la vacuna del bacilo de Calmette-Guérin (BCG) son los integrantes de este grupo de antineoplásicos que ejercen su efecto a través de la interacción con el sistema inmunitario.¹⁴

Lo descrito anteriormente se encuentra de manera resumida en la tabla 3 que se muestra a continuación.

Tabla 3. Clasificación de fármacos antineoplásicos con base a su mecanismo de acción.

Sitio de acción	Fármacos
ADN	Agentes alquilantes
	Antibióticos
	Antimetabolitos
	Derivados del platino
	Derivados de camptotecinas
Mitosis sin afectar al ADN	Antineoplásicos de origen vegetal
Factores extracelulares de división celular	Antagonistas de estrógenos
	Antagonista de andrógenos
	Progestágenos
	Interferones
	Análogos de la LHRH
Sistema inmunitario	Factor de necrosis tumoral
	Interleucinas
	Anticuerpos monoclonales
	Vacunas BCG

1.2.1 Interacciones fármaco-receptor

Cuando un fármaco ejerce un efecto farmacológico determinado lo hace a través de interacciones con moléculas celulares, las cuales casi siempre son reversibles, aunque si la unión es muy fuerte o el cambio que se produce en la célula es muy grande, puede llegar a ser irreversible. Estos cambios que el fármaco provoca no son reacciones desconocidas para la célula, así que los fármacos no originan mecanismos, sino que estimulan o inhiben procesos propios de la célula.

Existen incontables moléculas en la célula con capacidad de interactuar con el fármaco, pero que aún y con esa gran probabilidad no se origina alguna respuesta celular, ya que la interacción no es capaz de modificar la molécula

celular aceptora; o bien, esta misma molécula no es de gran importancia para la célula como para producir un cambio relevante en la vida celular. Estos lugares con un potencial de unión al fármaco con resultados intrascendentes se pueden llamar sitios de fijación inespecífica. En contraste a lo anterior, si el fármaco se une a otro tipo de moléculas se pueden llevar a cabo cambios significativos, por ejemplo, modificación en el equilibrio iónico, alteración en fenómenos metabólicos, entre otros. Estas moléculas con las que el fármaco interactúa selectivamente ejerciendo un efecto se denominan receptores farmacológicos.

Hay dos conceptos importantes en relación con los receptores farmacológicos, los cuales son determinantes para la interacción con los fármacos: afinidad y especificidad. La afinidad está dada por la formación de interacciones fármaco-receptor, ya sean por fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones hidrófobas, aunque el enlace más frecuente es el iónico. De forma menos frecuente, se presentan enlaces covalentes los cuales dan paso a interacciones muy firmes que por lo general son irreversibles. La especificidad hace referencia a que el fármaco se fijará con el receptor inclusive cuando exista poca concentración de fármaco presente, por lo tanto, se puede decir que gracias a la especificidad los receptores farmacológicos puede discriminar una molécula de otra aun y cuando estas sean muy semejantes¹⁵.

1.2.2 Inconvenientes de la terapia anticancerígena

En la actualidad, los tratamientos contra el cáncer presentan dos principales desventajas con relación a la efectividad de la terapia: resistencia de las células cancerosas y la inespecificidad de los fármacos sobre las células.

1.2.2.1 Resistencia a fármacos antineoplásicos

Los compuestos citotóxicos promueven un determinado número de respuestas, tanto en células tumorales como en células normales, los cuales conducen en última instancia a la muerte celular (células sensibles) o a la supervivencia (células resistentes). Es importante identificar estas respuestas para comprender la resistencia de las células neoplásicas a los agentes quimioterapéuticos y de esta manera diseñar estrategias para el desarrollo de nuevas terapias.

Los factores causantes de la resistencia a los fármacos por parte de las células se pueden clasificar en dos grandes grupos: los factores extracelulares y los intracelulares.

Factores extracelulares

Es bien sabido que prácticamente todos los agentes quimioterapéuticos entran a la célula mediante difusión pasiva, es por esto que cuanto mayor sea la cantidad extracelular de fármaco, mayor será la concentración que pasará al interior de la célula; entonces, la administración de una dosis insuficiente limitará la eficiencia

de la quimioterapia. Además de la dosis administrada, hay otros factores que reducen el éxito quimioterapéutico, como los son la inactivación metabólica, la dificultad para acceder al tumor por una vascularización tumoral alterada, presencia de tejido intersticial tumoral de moléculas como el colágeno, así como barreras fisiológicas como las que se encuentran en el sistema nervioso central y en los testículos, los cuales son zonas conocidas como “santuarios” para la quimioterapia.

Factores intracelulares

La célula “maligna” desarrolla una serie de mecanismos de defensa ante la quimioterapia, ya sea por mutación espontánea o por exposición a los fármacos, siendo estos mecanismos de resistencia intracelular la causa fundamental del fracaso al tratamiento. Estos factores se pueden agrupar en tres principales mecanismos:

- 1) Disminución de la concentración del fármaco a nivel de la diana molecular: Es uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia. Esto es llevado a cabo mediante la expulsión del fármaco a través de la membrana celular, el cual es el mecanismo más estudiado y que fundamentalmente está relacionado con la actividad de ciertas proteínas transportadoras en donde destacan la P-glicoproteína (Pgp),

la Proteína de Resistencia a Múltiples Fármacos (Mrp, por sus siglas en inglés) y la Proteína de resistencia al cáncer de mama (Brcp).

Otro mecanismo que disminuye la concentración de fármaco es el secuestro intracelular de los fármacos por parte de pseudo-vesículas citoplasmáticas. Quizá otra proteína multidrogoresistente llamada Proteína de Resistencia Pulmonar (Lrp), aunque no se descarta que proteínas como Pgp o Mrp se encuentren involucradas en este proceso.

Una vez dentro de la célula, los fármacos pueden ser inactivados, ya sea por reacciones de oxidación y/o conjugación con el glutatión (GSH), en donde familias de isoenzimas, como las glutatión S-transferasas (GSTs), conjugan el glutatión con varios xenobióticos o compuestos citotóxicos. Esta conjugación glutatión-fármaco (GS-X) es más hidrofílica que el fármaco, por lo tanto, no puede salir de la célula por difusión pasiva, para ello necesita de las bombas de GS-X, las cuales se han visto sobreexpresadas en tumores resistentes y en tumores con baja actividad proliferativa.

- 2) Alteraciones en la diana molecular: Un ejemplo de estas alteraciones son las presentadas en los tratamientos con fármacos inhibidores de la topoisomerasa. Diferentes niveles de esta enzima contribuyen a una diferente sensibilidad a la quimioterapia, como en el cáncer de pulmón,

en donde se ha detectado una menor supervivencia en los pacientes que presentan altos niveles de topoisomerasa II α .

- 3) Factores que evitan la muerte celular: Aunque el agente quimioterapéutico haya alcanzado su diana y provocado un daño importante, la célula tumoral tiene alternativas para seguir sobreviviendo: inhibir la apoptosis y la capacidad de reparar el ADN. Previamente se ha descrito ya el mecanismo de apoptosis, en donde se menciona la importancia del gen p53 en este proceso el cual, además de ser una proteína activadora de la transcripción con efecto supresor de tumor, es una potente inductora de apoptosis. Por lo tanto, las mutaciones en el gen que codifica para la p53 son frecuentes en los tumores, siendo una causa de la resistencia a la quimioterapia.

El aumento en la capacidad de reparación del ADN se presenta en anomalías de enzimas como O6-alquilguanina-alquiltransferasa (ATasa), o alteraciones en los que reparan la escisión del ADN, como el gen *Excision Repair Cross-Complementing 1* (ERCC1), del cual se ha detectado que una elevada expresión de este gen aumenta la resistencia al cisplatino en el cáncer de pulmón¹⁶. Estos mecanismos se encuentran resumidos en la figura 7.

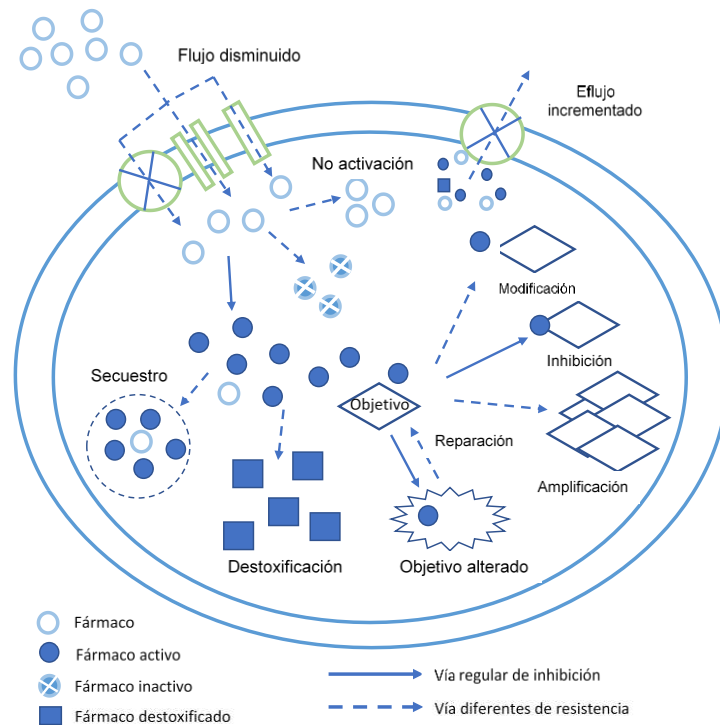


Figura 7. Mecanismos de resistencia a fármacos antineoplásicos.¹⁷

1.2.2.2 Inespecificidad de los fármacos

Como ya se mencionó anteriormente, los fármacos que se emplean para el tratamiento del cáncer actúan a través de una amplia gama de mecanismos, pretendiendo así la erradicación de células malignas. Sin embargo, muchas de las ocasiones, los medicamentos de quimioterapia conllevan una serie de efectos secundarios, ya que no solo ejercen su efecto sobre las células tumorales, sino también sobre células sanas causando diversas reacciones adversas, por ejemplo, en células sanguíneas de médula ósea causan trombocitopenia, alteraciones en la coagulación y mielosupresión, en células epiteliales bucales y del tracto gastrointestinal pueden causar vómito, mucositis, hemorragia digestiva; así como también en las células del folículo piloso provocando alopecia^{18,19}.

Es por esto que es indispensable el continuar investigando y desarrollando nuevos fármacos capaces de presentar actividades antineoplásicas efectivas y sobre todo exentos de los efectos adversos que provienen de la poca selectividad de estos, debido a todos los factores antes mencionados. Por lo que es primordial la generación de nuevas moléculas con diferente estructura y mecanismo de acción, capaces de considerar todos estos factores para la aplicación de una terapia efectiva.

Capítulo 2

2. Antecedentes

2.1 Hidroxiamidas

Las hidroxiamidas son moléculas que cuentan con una gran versatilidad que ha sido reconocida y apreciada por los grupos de investigación, ya que cuentan con un destacado uso en el ámbito de la síntesis orgánica siendo empleadas como ligandos y como catalizadores en la síntesis asimétrica debido a su potencial de coordinación y capacidad de donación de enlaces de hidrógeno.²⁰

Aunado a estas propiedades, las hidroxiamidas tienen un rol importante en la química medicinal tanto como bloques de construcción para la síntesis de compuestos biológicamente activos y grupos farmacofóricos²¹ (Figura 8) como se puede apreciar en las estructuras de fármacos como la bicalutamida²² **1**, un antineoplásico usado para el tratamiento del cáncer de próstata, el anticonvulsivante atrolactamida²³ **2**, antagonistas de la bradiquinina²⁴ **3** y la roxatidina²⁵ **4**, un antagonista del receptor H₂ de la histamina, así como de inhibidores de proteasas del VIH²⁶ **5**.

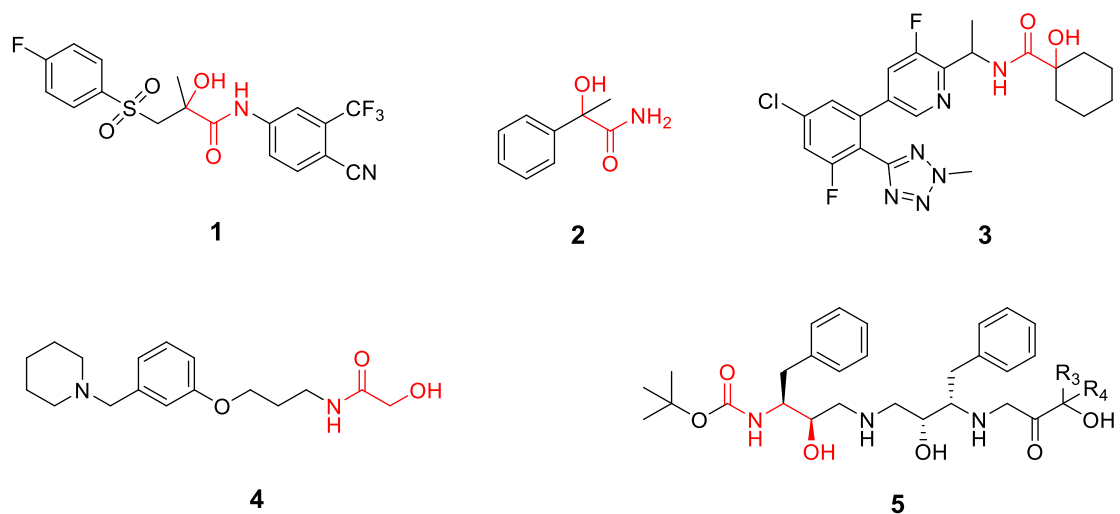
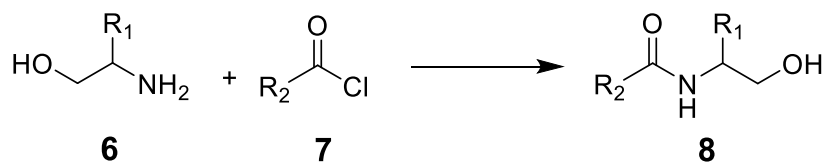


Figura 8. Ejemplos de fármacos que incorporan hidroxiamidas en su estructura.

Debido a las diversas aplicaciones que tienen las hidroxiamidas se han desarrollado múltiples vías para la obtención de este tipo de compuestos, donde se destaca el uso de aminoalcoholes provenientes, en su mayoría, de aminoácidos.

Un ejemplo de esto es el trabajo de Pirrung y Turney²⁷ que, en el año 2000, sintetizaron hidroxiamidas utilizando tres aminoalcoholes que se hicieron reaccionar con los correspondientes halogenuros de acilo como se muestra en el Esquema 1, obteniendo porcentajes de rendimiento que oscilan entre 32 y 75% (Figura 9).



Esquema 1. Formación de β-hidroxiamidas a partir de aminoalcoholes.

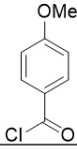
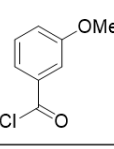
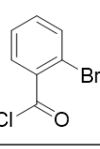
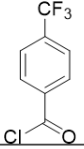
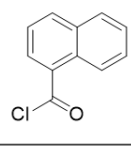
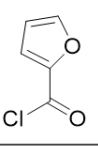
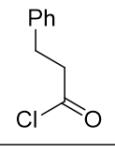
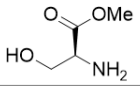
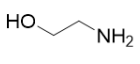
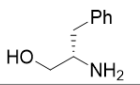
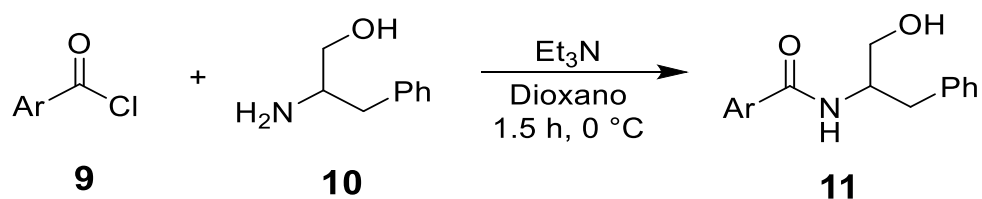
							
	64%	54%	32%	54%	67%	37%	61%
	48%	45%	45%	75%	60%	65%	50%
	47%	53%	47%	65%	50%	53%	46%

Figura 9. Porcentajes de rendimiento de la formación de β -hidroxiamidas a partir de aminoalcoholes y halogenuros de acilo.

En este sentido, en el año 2010, Mamaghani y colaboradores²⁸ desarrollaron una ruta para la síntesis de β -hidroxiamidas, esto a partir del 2-amino-3-fenil propanol **10**, proveniente de la reducción del aminoácido *L*-fenilalanina. Este aminoalcohol se hizo reaccionar con los diferentes cloruros de acilo, en presencia de trietilamina y dioxano seco como disolvente, dejándose reaccionar durante 1.5 h como se muestra en el esquema 2, para así formar la hidroxiamida **11** correspondiente. Cabe mencionar que los autores reportan realizar la reacción a temperaturas bajas para disminuir la acilación del grupo hidroxilo y favorecer la formación de la hidroxiamida. En la tabla 4 se observan los rendimientos correspondientes de cada hidroxiamida.

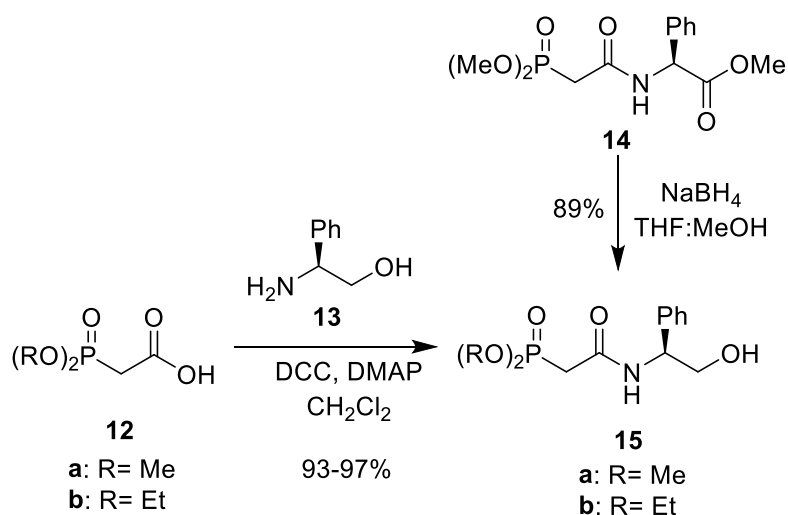


Esquema 2. Formación de β -hidroxiamidas arilo sustituidas.

Tabla 4. Porcentajes de rendimientos de β -hidroxiamidas arilo sustituidas.

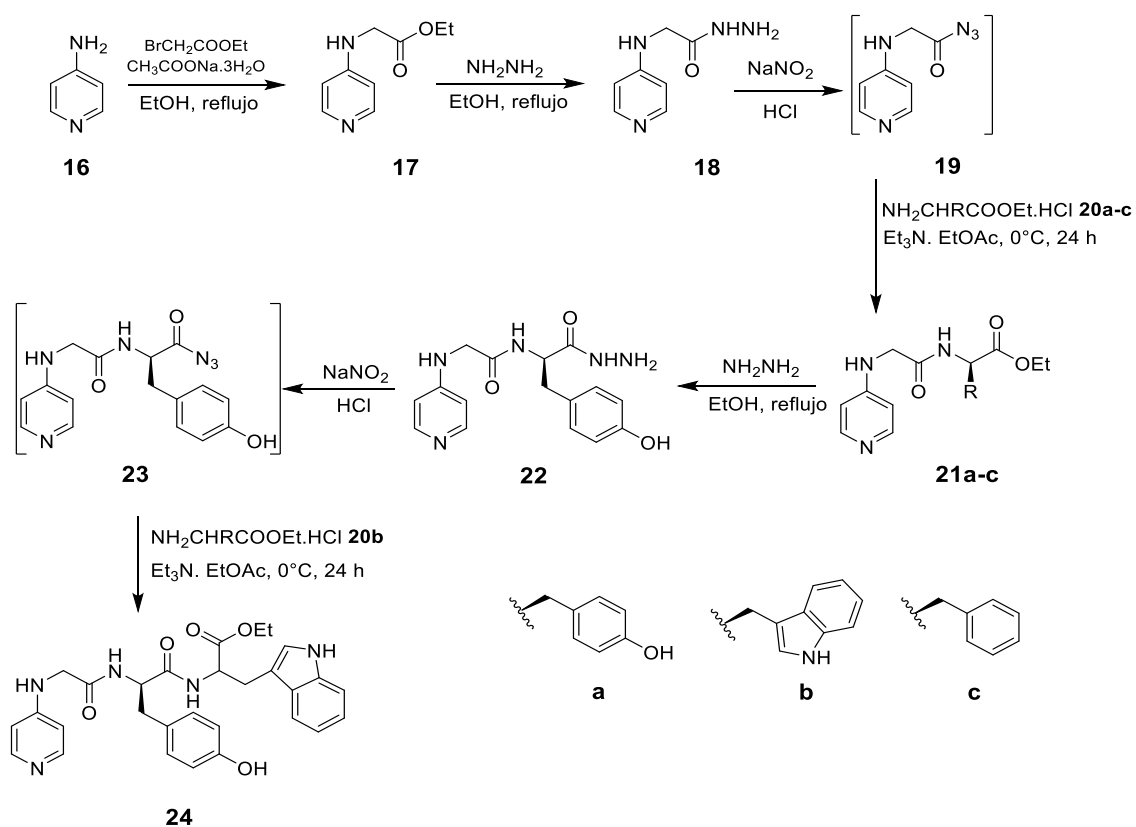
Ar	Rendimiento (%)
C ₆ H ₅	90
4-ClC ₆ H ₄	93
4-MeC ₆ H ₄	88
4-OMeC ₆ H ₄	86

De igual manera, en el año 2007, Ordoñez y colaboradores²⁹ utilizaron un aminoalcohol, específicamente el *L*-fenilglicinol **13**, para hacer el acoplamiento con el correspondiente ácido fosfonoacético **12** en presencia de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) utilizando como disolvente diclorometano, con porcentajes de rendimiento del 93-97%. Asimismo, obtienen la hidroxiamida **15** mediante la reducción del precursor esterificado **14**, empleando NaBH₄ como agente reductor y un sistema THF/MeOH a reflujo con porcentajes de rendimiento del 89% (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de hidroxiamidas a partir de derivados de ácido fosfonoacético y *L*-fenilglicinol.

Como es evidente, existen un amplio número de reportes para la preparación de hidroxiamidas a partir de aminoalcoholes; sin embargo, muy pocos trabajos involucran la reducción de ésteres para la obtención de hidroxiamidas. Sumado a esto, y como ya se mencionó anteriormente, la utilidad de estos tipos de compuestos, tanto ésteres como hidroxiamidas, no solo radica en la síntesis orgánica, sino que también se ha evaluado su actividad biológica *in vitro* para diversas aplicaciones, por ejemplo, en el año 2013, Hamed y colaboradores³⁰, realizaron la síntesis (Esquema 4) y evaluación de la actividad antifúngica y antibacteriana de dipéptidos acoplados con *p*-aminopiridina como se puede observar en la tabla 5.



Esquema 4. Síntesis de dipéptidos derivados de *p*-aminopiridina.

Como se puede observar, los precursores esterificados **21** muestran una buena actividad, en especial cuando el sustituyente es un bencilo (**21c**) proveniente del clorhidrato del éster etílico de la fenilalanina **20c**, el cual mostró una actividad inhibitoria contra *Escherichia coli* muy comparable con los fármacos tetraciclina y penicilina G sódica. Por otro lado, no hubo una disminución en el crecimiento de *Aspergillus flavus* por parte de estos compuestos; sin embargo, se observó una considerable inhibición de la zona de esporulación ocasionada por los derivados de *p*-aminopiridina, siendo muy superior a la actividad mostrada por el fármaco de referencia nistatina.

Tabla 5. Actividad antibacterial y antifúngica *in vitro* de los compuestos a una concentración de 50 µg/mL.

Compuesto	Actividad antibacterial		Actividad antifúngica	
	<i>E. coli</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	
	Zona de inhibición del crecimiento (mm)	Zona de inhibición de crecimiento (mm)	Zona de inhibición de crecimiento (mm)	Inhibición de la zona de esporulación (mm)
Tetraciclina	21	20	0	0
Penicilina	20	18	0	30
Nistatina	0	0	14	14
17	11	0	0	65
18	14	0	0	45
21a	13	0	0	45
21b	17	11	0	30
21c	19	0	0	50
24	19	0	0	40
25	13	0	0	45

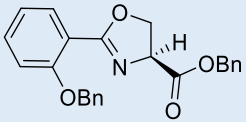
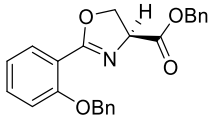
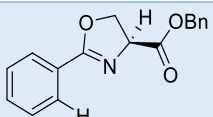
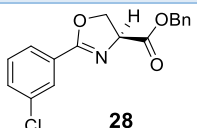
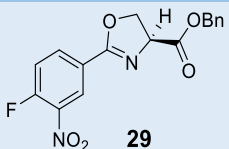
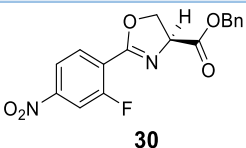
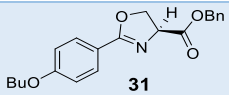
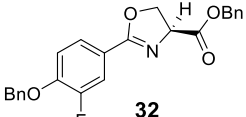
Como se ha mencionado hasta el momento, este tipo de compuestos esterificados son intermediarios de múltiples moléculas biológicamente

interesantes, lo cual ha generado que la determinación de la actividad antineoplásica se haya pasado por alto y no existan reportes, por lo que el presente trabajo de tesis es de los primeros en el que se realiza el desarrollo, exploración e investigación de estos compuestos como potenciales agentes anticancerígenos.

Por otro lado, las hidroxiamidas se reportan como precursores de heterociclos como oxazolininas y oxazoles, entre otros, los cuales han presentado una interesante actividad biológica *in vitro*, resaltando su baja citotoxicidad.

De acuerdo con lo anterior, Moraski y colaboradores³¹ en el año 2010 evaluaron la actividad antimicobacteriana de oxazolininas y oxazoles en cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv en dos diferentes medios de cultivo; GAS (medio de sales-alanina-glicerol, adicionado con hierro) y GAST (medio de sales-alanina-glicerol, deficiente de hierro), además se determinó la citotoxicidad de estos compuestos en células Vero, como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Actividad antituberculosa y citotóxica de oxazolininas derivadas de **ND-005859**.

Compuesto	GAS (μM)	GAST (μM)	Vero IC ₅₀ (μM)
 ND-005859	12.6	7.69	>128
 26	12.60	7.69	>128
 27	7.20	4.42	>128
 28	11.60	1.80	>128
 29	6.24	0.95	>128
 30	13.00	8.70	---
 31	2.72	5.11	---
 32	0.77	1.42	>128
Rifampicina	0.06	0.01	125

Las oxazolininas, junto con sus respectivas hidroxiamidas predecesoras, también se han evaluado contra líneas celulares cancerígenas. Ejemplo de esto es el trabajo de Djurendic y colaboradores³², en el año 2011, obtuvieron oxazolininas derivadas de ácido salicílico (Figura 10).

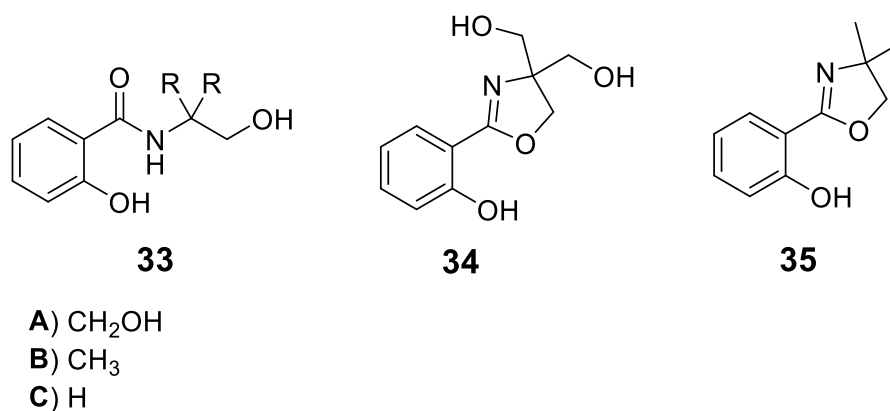


Figura 10. Oxazolinas derivadas del ácido salicílico.

En cuanto a la actividad antineoplásica se determinó el IC₅₀ de los compuestos en diferentes líneas celulares de cáncer: **MCF-7** (cáncer de mama), **MDA-MB-231** (adenocarcinoma de mama humano), **PC-3** (cáncer de próstata), **HeLa S3** (carcinoma epitelioide de cuello uterino), **Hs 294T** (melanoma humano), **K562** (leucemia mielógena crónica), así como la actividad citotóxica ante las células **MRC-5** (fibroblastos de pulmón fetal normal), mostrando que los compuestos presentan una destacada actividad anticancerígena, como se puede ver en la tabla 7.

Tabla 7. Actividad citotóxica de las oxazolinas derivadas de ácido salicílico.

Compuesto	IC ₅₀ (μM)						
	MCF-7	MDA-MB-231	PC-3	HeLa S3	Hs 294T	K562	MRC-5
33A	>100	10.37	11.96	43.01	74.05	>100	>100
33B	2.25	40.94	40.04	13.71	>100	>100	>100
33C	1.46	0.06	19.09	0.04	0.59	0.38	>100
34	>100	43.66	19.43	60.04	>100	>100	88.06
35	>100	2.37	8.78	4.67	>100	34.44	>100
Dox	0.75	0.12	95.61	1.17	15.39	0.36	0.12

Dox = Doxorubicina

Recientemente, en el año 2017, Avalos-Alanís y colaboradores³³ realizaron la síntesis de amidas α,β -insaturadas así como derivados de oxazolininas 2,4-disustituidas (Figura 11) y evaluaron la actividad antimicobacteriana y citotóxica *ex vivo* en rebanadas de tejido hepático de rata.

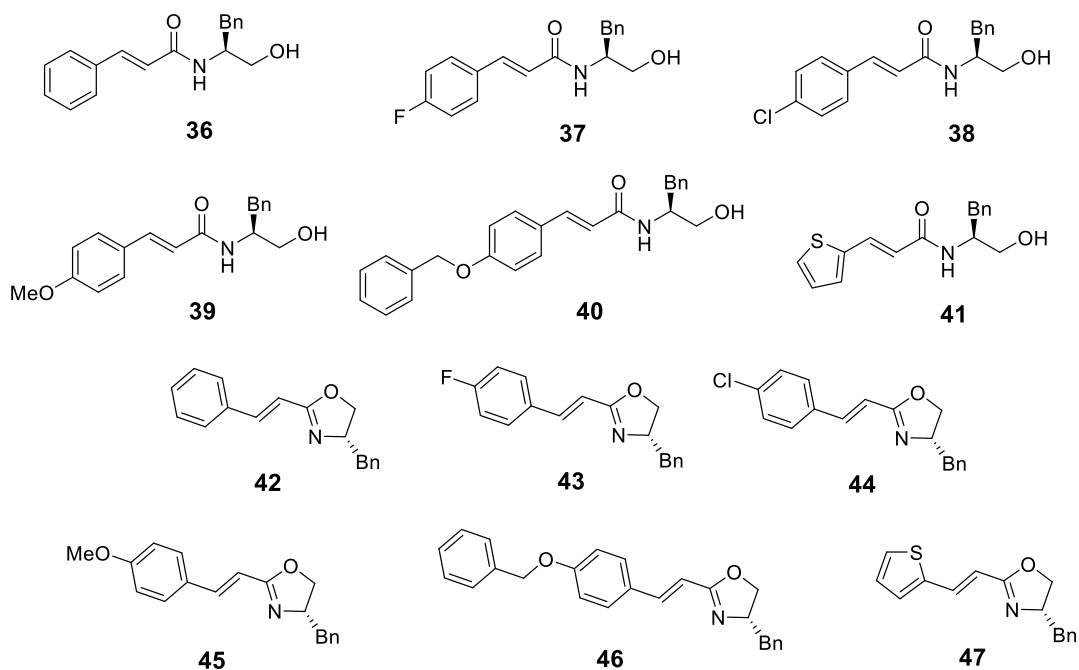


Figura 11. Hidroxiamidas y oxazolininas α, β -insaturadas evaluadas contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis*.

Con respecto a la actividad antimicobacteriana se muestran los resultados en la tabla 8, donde se puede observar que los mejores valores de CMI en la cepa sensible de la serie de las amidas α, β -insaturadas fueron 26.7, 25.3 y 25.6 μM . Por su parte, los derivados de oxazolininas obtuvieron resultados que oscilan entre 10.8 y 60.8 μM . Cabe mencionar que los resultados de citotoxicidad *ex vivo*

refrenda la baja citotoxicidad de este tipo de compuestos, tanto de las hidroxiamidas y las oxazolinas como lo mencionan otros autores.

Tabla 8. Actividad antimicobacteriana y citotóxica de las amidas **36-41** y oxazolinas **42-57**.

Compuesto	MIC= µg/mL (µM)		Citotoxicidad (µg/mL)
	Cepa sensible* (H37Rv)	Cepa resistente** (aislado clínico)	
36	16 (56.8)	16 (56.8)	
37	8 (26.7)	16 (53.4)	>30
38	8 (25.3)	16 (50.6)	
39	8 (25.6)	16 (51.3)	>30
40	16 (41.2)	16 (41.2)	
41	16 (55.6)	16 (55.6)	>30
42	16 (60.8)	8 (30.4)	
43	4 (14.2)	16 (56.9)	>30
44	8 (26.9)	8 (26.9)	
45	4 (13.6)	2 (6.8)	>30
46	4 (10.8)	8 (21.6)	
47	8 (29.7)	2 (7.4)	>30
Isoniacida	<1 (<7.2)	8 (58.3)	
Rifampicina	4 (4.8)	16 (19.4)	
Etambutol	8 (39.1)	>256 (>1252.9)	
Ofloxacino	<1 (<2.7)	2 (5.5)	

*Sensible a los fármacos de primera línea: Isoniacida, Rifampicina y Etambutol

**Resistente a los fármacos de primera línea: Isoniacida, Rifampicina y Etambutol

Capítulo 3

3. Hipótesis y objetivos

3.1 Hipótesis

Al menos uno de los derivados de ésteres y las β -hidroxiamidas amino sustituidas presenta una mejor actividad anticancerígena *in vitro* en las líneas celulares SiHa y PC-3 que el fármaco de referencia paclitaxel, además de ser menos citotóxicos en la línea celular Vero.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas a partir del aminoácido *L*-fenilalanina, determinar su actividad anticancerígena y citotóxica *in vitro* ante dos líneas celulares neoplásicas y una de crecimiento normal, además de evaluar la posible inducción de apoptosis de los compuestos más activos mediante la técnica de caspasa-3.

3.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar y purificar derivados de ésteres amino sustituidos a partir del aminoácido *L*-fenilalanina.

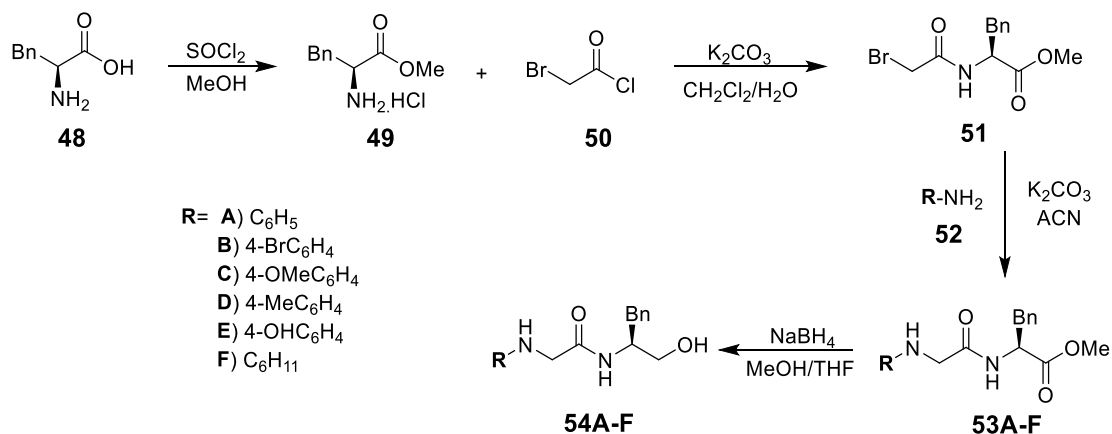
- Sintetizar y purificar derivados de β -hidroxiamidas amino sustituidas a partir de los ésteres amino sustituidos.
- Caracterizar cada uno de los compuestos sintetizados mediante las técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR).
- Evaluar la actividad citotóxica y anticancerígena *in vitro* de las β -hidroxiamidas amino sustituidas y sus precursores esterificados en las líneas celulares neoplásicas SiHa y PC-3 además de la línea de crecimiento normal Vero mediante la técnica WST-1.
- Determinar la posible vía de muerte celular ocasionada por los compuestos que hayan resultado más activos utilizando la técnica de caspasa-3.

Capítulo 4

4. Materiales y métodos

4.1 Metodología para la síntesis de los compuestos

En el presente proyecto, se propone la ruta de síntesis (Esquema 5) para la obtención de ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas a partir del aminoácido (*S*)-fenilalanina **48**. Este aminoácido es transformado al correspondiente clorhidrato del éster metílico **49** el cual se hizo reaccionar con el cloruro de bromoacetilo **50** para así formar la bromoamida **51**. Después, se hace el acoplamiento de esta bromoamida con las diferentes aminas **52** para formar los correspondientes ésteres amino sustituidos **53A-D**. Finalmente, se lleva a cabo una reacción de reducción de los ésteres para así obtener las β -hidroxiamidas **42A-D**.



Esquema 5. Ruta de síntesis para la obtención de ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas.

4.2 Información general

4.2.1 Preparación del clorhidrato del éster metílico de la (S)-fenilalanina 49

En un matraz redondo de 250 mL provisto de un agitador magnético se colocaron 5 g del aminoácido (S)-fenilalanina **48** a los cuales se le añadieron 70 mL de metanol. Después, se agregaron 2.64 mL de SOCl_2 (1.2 eq) gota a gota y se dejó en agitación constante durante 24 h a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se evaporó el solvente en un rotaevaporador a presión reducida resultando en un sólido blanco amarillento. Por último, se hicieron lavados con éter etílico y se filtró el sólido a presión reducida utilizando éter etílico hasta ver que el sólido tuviera un color completamente blanco.

4.2.2 Preparación de la bromoamida 51

Se pesaron 3 g del clorhidrato del amino éster metílico **49** en un matraz redondo de 250 mL conteniendo un agitador magnético. Además, se agregaron 4.8 g de K_2CO_3 (2.5 eq), todo esto en una mezcla de diclorometano/agua (4:1). Posteriormente, se añadió suavemente el cloruro de bromoacetilo **50** y la reacción se dejó en agitación constante a temperatura ambiente durante 24 h. Al finalizar el tiempo, se realizaron 3 extracciones líquido-líquido con agua y 15 mL de diclorometano cada una. Después, la fase orgánica fue secada con sulfato de sodio anhidro y posteriormente evaporada hasta sequedad en el rotaevaporador a presión reducida.

4.2.3 Procedimiento general para la preparación de ésteres amino sustituidos 53

En un matraz redondo de 250 mL se colocó un agitador magnético y se pesó 1 g de la bromoamida **51**, además de 2 eq de carbonato de potasio. Se midieron 70 mL de acetonitrilo en una probeta, se agregó a la mezcla y se dejó reaccionando a una temperatura aproximada de 50 °C en agitación constante durante 1 h. Después de este tiempo, se añadieron 1.2 eq de la correspondiente amina **52** a cada reacción. Las condiciones de temperatura y agitación se mantuvieron constantes durante 15 h. Pasado este tiempo, se evaporó el solvente en un rotaevaporador hasta sequedad. Al crudo de reacción se le hicieron lavados con agua y acetato de etilo 3 veces (15 mL cada una) y se separaron las fases. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y, posteriormente, se rotaevaporó a presión reducida hasta sequedad. Finalmente, se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria silica gel y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo/hexano (1:1).

4.2.3.1 Preparación del fenilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53A

Siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar 1.0228 g de bromoamida del éster metílico de la *L*-fenilalanina **51** con 0.3103 g (0.3042 mL) de anilina **52A** y 0.9399 g de K₂CO₃.

4.2.3.2 Preparación del (4-bromofenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 52B

De acuerdo con el procedimiento general, se hizo reaccionar 1.0037 g de bromoamida del éster metílico de la *L*-fenilalanina **51** con 0.6861 g de *p*-bromo anilina **52B** y 0.9223 g de K₂CO₃.

4.2.3.3 Preparación del (4-metoxifenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53C

En base al procedimiento general, se pesaron 1.0382 g de la bromoamida del éster metílico de la *L*-fenilalanina **51** y se hicieron reaccionar con 0.5108 g de *p*-anisidina (*p*-metoxi anilina) **52C** y 0.9540 g de K₂CO₃.

4.2.3.4 Preparación del p-tolilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53D

Se pesaron 1.0733 g de bromoamida del éster metílico de la *L*-fenilalanina **51** y se hicieron reaccionar con 0.4598 g de *p*-toluidina (*p*-metil anilina) **52D** y 0.9863 g de K₂CO₃, siguiendo el procedimiento general.

4.2.3.5 Preparación del (4-hidroximetilfenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53E

Se pesaron 1.0692 g de bromoamida **51** y se hicieron reaccionar con 0.3110 g de *p*-aminofenol **52E**, siguiendo el procedimiento general.

4.2.3.6 Preparación del ciclohexilglicil-L-fenilalaninato de metilo 53F

Se pesaron 1.0563 g de bromoamida del éster metílico de la *L*-fenilalanina **51** y se hicieron reaccionar con 0.3490 g de ciclohexilamina **52F** y 1.4920 g de K₂CO₃ siguiendo el procedimiento general.

4.2.4 Procedimiento general para la preparación de las β-hidroxiamidas 54

En un matraz redondo se pesaron aproximadamente 0.5 g del éster **53** correspondiente y se colocó un agitador magnético. Se añadió la mezcla de solventes metanol-THF (4:1). Se tomó la cantidad respectiva a 16 eq de NaBH₄ en un recipiente de vidrio, evitando en lo posible el contacto con el aire y con cuidado se agregó al matraz de reacción, la cual se dejó en agitación constante y a temperatura ambiente. Después de 2 h, se le hicieron extracciones con agua y acetato de etilo, separando la fase orgánica. Esta fase se secó con sulfato de sodio anhidro y se rotaevaporó el solvente por completo. Por último, se realizó una purificación utilizando una columna cromatográfica con silica gel como fase estacionaria y una mezcla de acetato de etilo/hexano (1:1) como fase móvil.

4.2.4.1 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(fenilamino)acetamida 54A

Siguiendo el procedimiento general, se pesaron 0.5130 g del fenilglicil-*L*-fenilalaninato de metilo **53A** los cuales se hicieron reaccionar con 0.9941 g de NaBH₄.

4.2.4.2 Preparación del (S)-2-((4-bromofenil)amino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida 54B

De acuerdo con el procedimiento general, se pesaron 0.5088 g del (4-bromofenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo **53B** y se hicieron reaccionar con 0.7961 g de NaBH₄.

4.2.4.3 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-metoxifenil)amino)acetamida 54C

Se pesaron 0.5013 g del (4-metoxifenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo **53C** y se pusieron a reaccionar con 0.8863 g de NaBH₄, siguiendo el procedimiento general.

4.2.4.4 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida 54D

Con base en el procedimiento general, se pesaron 0.5121 g del p-tolilglicil-L-fenilalaninato de metilo **53D** que se hicieron reaccionar con 0.9527 g de NaBH₄.

4.2.4.5 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-hidroxifenil)amino)acetamida 54E

Se hicieron reaccionar 0.1029 g de (4-hidroximetilfenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo **53E** con 0.1897 g de NaBH₄, en un sistema MeOH/THF con 20 mL y 5 mL respectivamente.

4.2.4.6 Preparación del (S)-2-(ciclohexilamino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida 54F

Con base en el procedimiento general, se pesaron 0.2532 g del ciclohexilglicil-L-fenilalaninato de metilo **54F** que se hicieron reaccionar con 0.48133 g de NaBH₄.

4.3 Evaluaciones biológicas

4.3.1 Determinación de la actividad citotóxica

La actividad citotóxica de los compuestos se determinó en la línea celular de crecimiento normal Vero (células de riñón de mono verde), además se evaluó la actividad antineoplásica en dos líneas celulares cancerígenas: SiHa (células epiteliales de adenocarcinoma de cérvix humano) y PC-3 (adenocarcinoma de próstata), utilizando diluciones seriadas de los compuestos sintetizados y del fármaco de referencia paclitaxel.

Para el ensayo de apoptosis se empleó una suspensión celular confluyente de la línea celular PC-3, así como los compuestos que resultaron con mayor actividad antineoplásica, además el fármaco de referencia podofilotoxina y medio de cultivo; estos últimos como controles.

4.3.1.1 Preparación de los compuestos evaluados

Se preparó una solución stock de cada uno de los compuestos y del fármaco de referencia paclitaxel, añadiendo 125 μL de disolvente DMSO a 1 mg del compuesto en un tubo Eppendorf, obteniendo una concentración de 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Se tomaron 6.25 μL de la solución stock de cada compuesto a evaluar y se agregaron 493.75 μL de medio de cultivo para así obtener una solución de 500 μL a una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Por otra parte, también se prepararon soluciones de una concentración de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, añadiendo 487.5 μL de medio de cultivo a 12.5 μL de solución stock.

4.3.1.2 Preparación de placas con el cultivo celular

Partiendo de un cultivo celular con una confluencia de aproximadamente 80%, se lavaron las células con 3 mL de PBS y se agitó suavemente, esto con el fin de remover restos de células muertas o de células que no se lograron adherir al frasco, además de otras impurezas. Después de esto se retiró esta solución y se repitió al menos una vez más el mismo procedimiento.

Se adicionan 500 μL de una solución de tripsina-EDTA 0.25% (previamente atemperada a 37°C) y se agitó suavemente para promover la disociación de las células del frasco de cultivo. El frasco se incubó durante 3-5 min a una

temperatura de 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%. Después de este tiempo, se observó el frasco al microscopio para asegurar que las células se hayan desprendido. Una vez asegurado el desprendimiento de las células se añadió 1 mL de medio de cultivo para inactivar la solución de tripsina-EDTA 0.25% y se colocó en un tubo cónico para centrifugar por 10 min a 1,300 rpm. Se desechó el sobrenadante y el pellet resultante se resuspendió con 5 mL de medio de cultivo adicionado con suero fetal bovino (SFB) al 10%.

Posteriormente, se tomaron 10 µL de la solución y se colocaron en una cámara de Neubauer para hacer el conteo celular tomando para esto los cuadrantes que se encuentran dentro de las áreas resaltadas que se muestran en la figura 12.

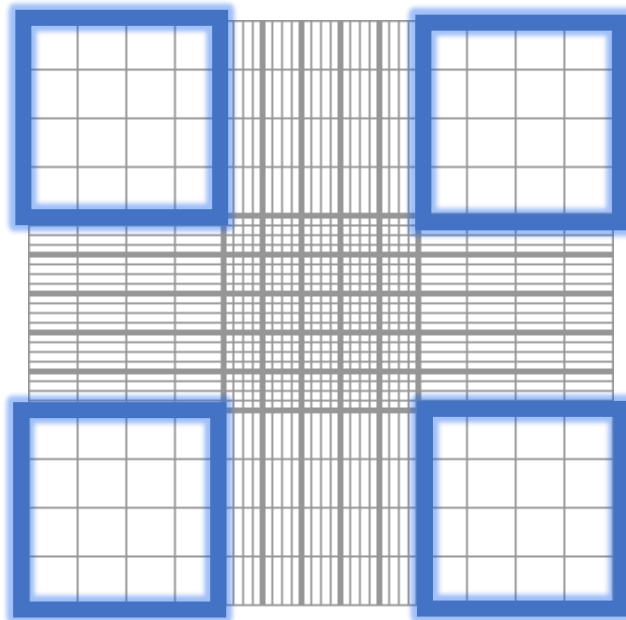


Figura 12. Cuadrantes de la cámara de Neubauer para el conteo celular.

Se tomaron en cuenta solo las células que estuvieran completamente dentro de los cuadrantes y no sobre las líneas que delimitan dichos cuadrantes. Una vez contadas las células de cada cuadrante, se hizo la suma y se obtuvo el promedio celular, el cual se utilizó para sustituirlo en la ecuación 1:

$$(\bar{x})(10,000)(5) = \text{Número de células en la suspensión}$$

Ecuación 1. Fórmula para calcular el número de células en una suspensión.

El resultado es el número de células que se encuentran en los 5 mL de suspensión. Sabiendo la cantidad de células, se tomó el volumen necesario para tener la cantidad de células requeridas y se colocó en un tubo cónico de 15 mL, además se agregó la cantidad de medio de cultivo suficiente para completar el volumen deseado. Por último, se colocaron 100 μ L de la solución a cada pocillo de la placa que fue utilizado.

4.3.1.3 Determinación de la actividad citotóxica y anticancerígena mediante la técnica WST-1

Se colocaron 5,000 células por pocillo (100 μ L), las cuales se incubaron por 24 h a 37°C en una atmósfera de 5% de CO₂. Pasado este tiempo, se añadieron 100 μ L de cada una de las diluciones de los compuestos a evaluar, llevando a un volumen final de 200 μ L. Las células se dejaron en contacto con los compuestos por 24 h bajo las mismas condiciones. Posteriormente, se agregaron 10 μ L del reactivo WST-1 a cada uno de los pocillos y se volvió a incubar la placa durante

dos horas. Finalmente, se procedió a realizar la lectura de la placa en un lector de ELISA a una longitud de onda de 450 nm. Cabe mencionar que los experimentos fueron realizados por triplicado y que los controles, tanto negativos (células sin tratamiento) y positivos (células tratadas con paclitaxel), se trabajaron bajo las mismas condiciones de incubación.

4.3.1.4 Determinación de la posible inducción de apoptosis por la técnica de Caspasa-3

Para la determinación de la actividad apoptótica se preparó un cultivo confluyente de la línea celular SiHa, a partir de cual se obtuvo una suspensión celular, la cual se ajustó a 1×10^6 células/mL, éstas se pasaron a una placa de cultivo de 6 pocillos los cuales contenían 3 mL de medio de cultivo y se incuban por 24 horas a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%. Posteriormente se adicionaron los tres compuestos que resultaron con mayor actividad anticancerígena a cada pozo, así como el fármaco de referencia Podofilotoxina a la IC₅₀ de los compuestos sintetizados (45 µg/mL). A la par de las muestras, se trabajó con un control negativo, en el cual las células están en contacto solamente con medio de cultivo. Tanto las muestras con tratamiento como el control negativo se incuban por 6 horas a 37°C bajo las mismas condiciones de CO₂. Después de este tiempo las células se despegaron de la placa de cultivo utilizando 0.5 mL de tripsina al 0.5% y se resuspendieron en 1 mL de PBS, se centrifugó y se resuspendieron en 100 µL de buffer de lisis 1X y se incubó en hielo por 20 minutos. Después de esto, se volvieron a centrifugar y se transfirió el sobrenadante a un tubo de 1.5 mL y se

determinó la cantidad de proteínas presentes por el método colorimétrico de Bradford. Enseguida se realizó una dilución de los sobrenadantes para obtener una concentración de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Seguido, se llevó a cabo la reacción de escisión para lo cual se agregaron 50 μL del buffer de reacción 2X y 10 μL del sustrato Z-DEVD-R110, se incubó nuevamente por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Por último, se realizaron las lecturas de fluorescencia a una longitud de onda de 496/520 nm de excitación/emisión respectivamente.

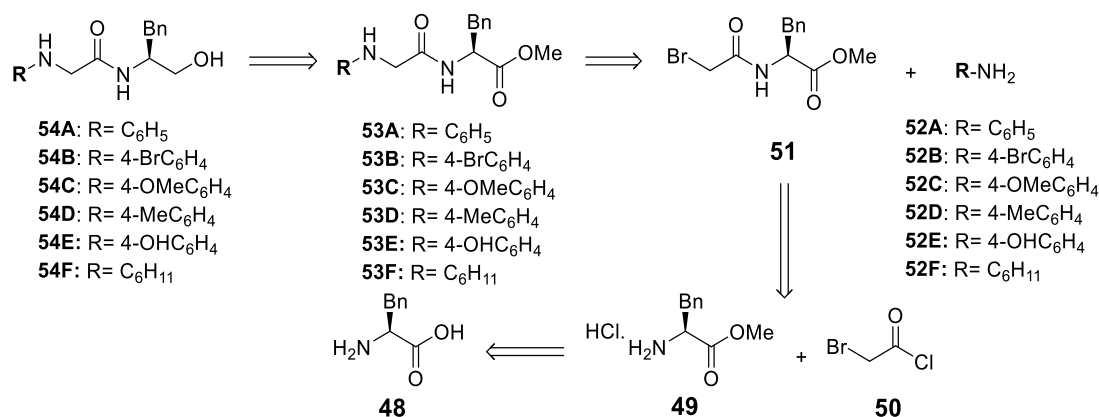
Capítulo 5

5. Resultados y discusión

5.1 Preparación de β -hidroxiamidas amino sustituidas

5.1.1 Análisis retrosintético propuesto

Como se puede observar en el esquema 6, las β -hidroxiamidas **54A-F** pueden obtenerse mediante la reacción de reducción del grupo éster del compuesto **53A-F**. Estos ésteres surgen del acoplamiento de las correspondientes aminas **52A-F** con la bromoamida **51**, la cual proviene de hacer reaccionar el cloruro de bromoacetilo **50** y el clorhidrato del éster metílico de la fenilalanina **49**. Por último, la formación del clorhidrato surge de la esterificación del aminoácido (S)-fenilalanina **48** con el reactivo SOCl_2 .



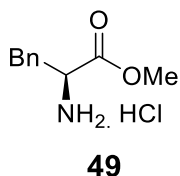
Esquema 6. Análisis retrosintético para la obtención de β -hidroxiamidas amino sustituidas.

5.1.2 Síntesis de compuestos

A continuación, se describirán los resultados obtenidos en cuanto a la síntesis de los compuestos, así como también revisará la caracterización de estos mediante espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , además de Espectrometría de Masas.

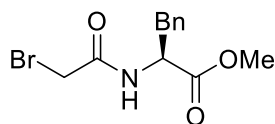
Cabe mencionar que, para poder diferenciar los átomos de los anillos aromáticos de los compuestos, en la descripción de los espectros de RMN, se ha colocado un apóstrofe (') para señalar los protones (Ar' o H') y carbonos (C') del anillo correspondiente a las aminas.

5.1.2.1 Preparación del clorhidrato del amino éster metílico de la (*S*)-fenilalanina **48**



Haciendo reaccionar el aminoácido (*S*)-fenilalanina **48** con cloruro de tionilo en metanol se obtiene el clorhidrato del amino éster metílico del aminoácido **49**, siendo un sólido blanco con un punto de fusión de $140\text{ }^\circ\text{C}$, con un rendimiento químico del 94%.

5.1.2.2 Preparación de la bromoamida **51** a partir del clorhidrato éster metílico de la (S)-fenilalanina **49**



51

Una vez obtenido el clorhidrato **49**, se hizo reaccionar con el cloruro de bromoacetilo **50**, en una mezcla de diclorometano/agua, utilizando carbonato de potasio como base. Bajo estas condiciones se obtuvo la bromoamida **51** la cual es un sólido blanco y tiene un punto de fusión de 82 °C, con un rendimiento químico de 90%.

Esta bromoamida **51** se caracterizó mediante RMN de ^1H y ^{13}C , así mismo por espectrometría de masas de alta resolución.

A continuación, se describen las señales características para dicha bromoamida: En un desplazamiento químico de 3.15 ppm se observan dos dobles de dobles que corresponden al grupo CH_2Ph , con constantes de acoplamiento de 6.0 y 14.0 Hz, e integra para dos protones. En 3.74 ppm se observa una señal sencilla que corresponde a los protones del grupo metoxilo, e integra para tres protones; en 3.84 ppm se observa un sistema AB que corresponde a los protones del grupo metileno unido al bromo (CH_2Br) con una constante de acoplamiento de 13.60 Hz, e integra para dos protones. En 4.85 ppm se observa un doble de triples que corresponde al grupo metino unido al bencilo con constantes de acoplamiento de

7.6 Hz y 6.0 Hz, e integra para un protón; en 6.85 ppm se observa una señal ancha que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno (NH), e integra para un protón; finalmente de 7.10-7.33 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para cinco protones.

En la tabla 9 se resumen los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y la figura 13 corresponde al espectro obtenido.

Tabla 9. Datos de RMN ^1H para la bromoamida **51**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
3.15	2dd	2	6.0, 14.0	CH₂Ph
3.74	s	3	-	OCH₃
3.84	Sistema AB	2	13.6	CH₂Br
4.85	dt	1	7.6, 6.0	CHBn
6.85	sa	1	-	NH
7.10 y 7.33	m	5	-	Ar-H

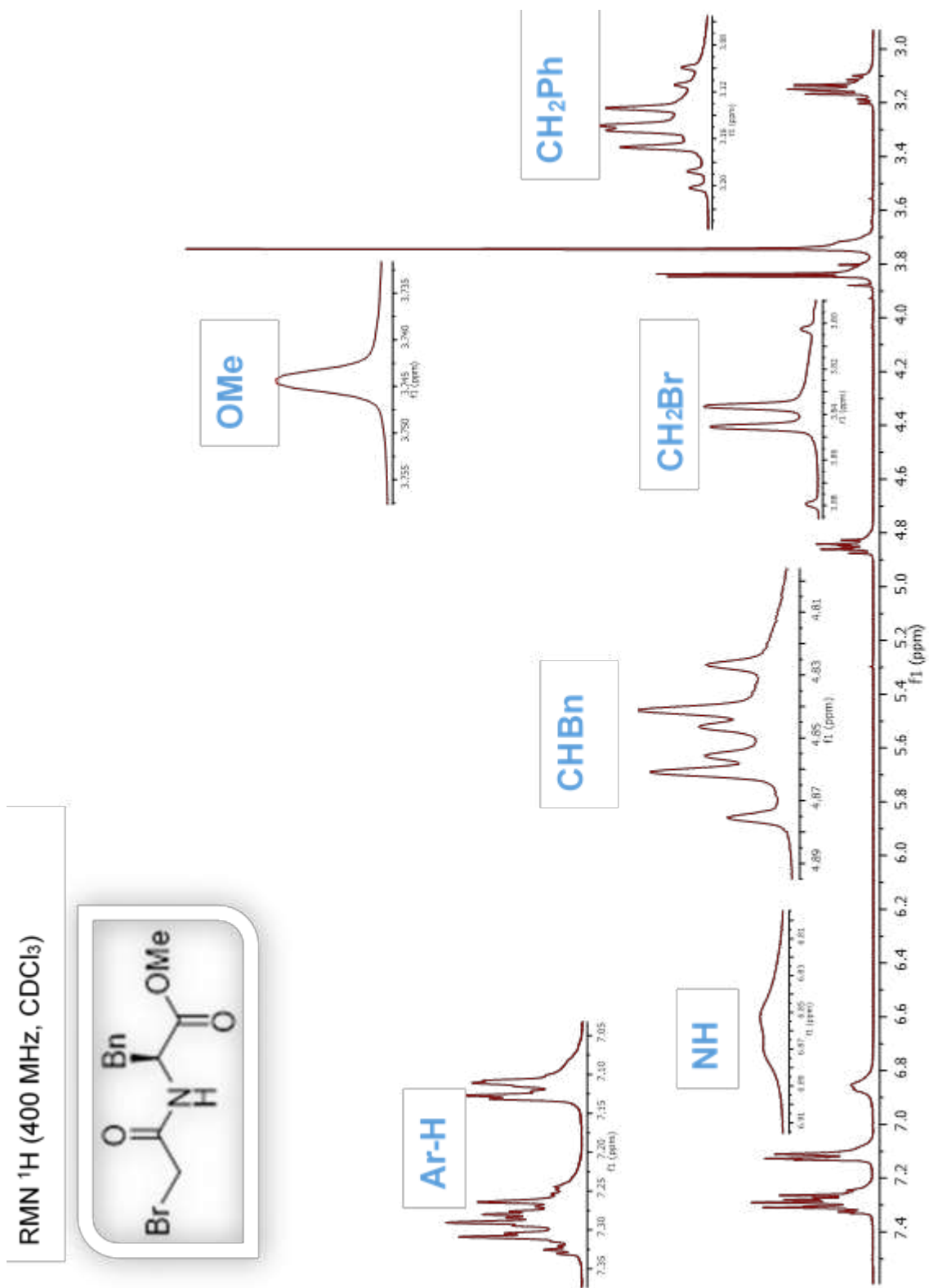
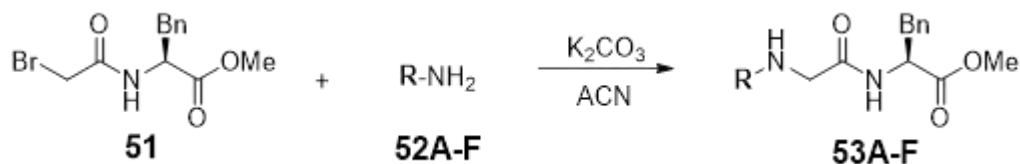


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de la bromoamida 51

El espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) mostró las siguientes señales para este compuesto: δ 29.0 (CH_2Ph), 38.0 (CH_2Br), 53.0 (OMe), 54.0 (CHBn), 127.0, 128.9, 129.5, 135.0 (Ph), 165.0 (CONH), 171.5 (CO_2Me).

Por otra parte, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución para el compuesto **51** utilizando la técnica (FAB+) mostró los siguientes resultados: m/z calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{BrNO}_3$ (MH^+) 300.0235; encontrado 300.0301 y 302.0289. Estos resultados indican que el compuesto analizado presenta bromo en su estructura al observarse un $\text{M}+2$ característico de isótopos.

5.1.2.3 Preparación de los ésteres amino sustituidos **53**



Una vez obtenida la bromoamida **51**, se hizo reaccionar con las correspondientes aminas **52** y carbonato de potasio en acetonitrilo. Los productos de esta reacción se encuentran resumidos en la tabla 10, donde se muestran los rendimientos químicos, aspectos físicos y los puntos de fusión de los mismos.

Tabla 10. Ésteres amino sustituidos **53A-F** sintetizados

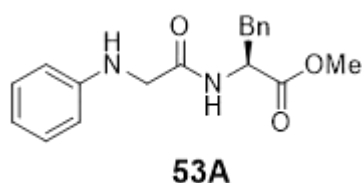
	R	Rendimiento (%)	Aspecto físico	Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)
53A	C_6H_5	33	Sólido blanco opaco	101-104
53B	4- BrC_6H_4	45	Sólido blanco	133-137
53C	4- OMeC_6H_4	63	Sólido café claro	83-85
53D	4- MeC_6H_4	74	Sólido amarillo claro	84-86
53E	4- OHC_6H_4	42	Sólido rosa opaco	76-79
53F	C_6H_{11}	32	Sólido blanco	60-63

Como se puede observar, el rendimiento de estas reacciones, bajo las condiciones empleadas, da como resultado valores que oscilan entre bajos y moderados. Estos resultados pueden deberse quizá a que la reacción necesite más energía que solo la proporcionada por la agitación en un largo tiempo de reacción (>20 h), ya que, al monitorear dichas reacciones, no se observa la formación de subproductos. Entonces se puede hacer uso de otras metodologías de síntesis como es llevar a cabo la reacción a reflujo o, hasta en un momento dado, utilizar microondas para obtener la energía necesaria para aumentar los rendimientos y disminuir los tiempos de reacción. Otra modificación que se podría realizar a la reacción es utilizar otras bases con un pKa un poco más alto que el del K_2CO_3 (pKa=10.25), por ejemplo, Et_3N (pKa= 10.75), DIPEA (pKa= 10.75), DBU (pKa= 12), NaOH (pKa= 15.7)³⁴, entre otros.

También es importante resaltar que los rendimientos obtenidos en esta reacción se ven favorecidos cuando los sustituyentes en posición *para* son grupos activadores de anillo, como lo son el grupo metilo (activador débil) y el grupo metoxilo (activador fuerte), en cambio, con grupos desactivadores, como el bromo (desactivador débil) se obtuvieron rendimientos menores, ya que estos grupos disminuyen la nucleofilicidad de la bromo anilina **52B**, en este caso, reduciendo la posibilidad de llevar a cabo el ataque nucleofílico hacia la bromoamida **51** impidiendo el acoplamiento.

A continuación, se describen las señales características de cada producto, tanto en Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C , como de Espectrometría de Masas de Alta Resolución.

5.1.2.3.1 Preparación del fenilglicil-L-fenilalaninato de metilo **53A**



La reacción se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil un sistema de hexano/AcOEt (1:1). Bajo las condiciones de reacción empleadas, se obtuvo el compuesto **53A** como un sólido blanco opaco con un rendimiento químico del 33%, el cual tiene un punto de fusión de 101-104 °C.

Enseguida, se describen las señales del espectro de RMN de ^1H (Figura 14) y se resumen en la tabla 11.

A campos bajos, en un desplazamiento de 3.07 y 3.09 ppm se observan dos dobles de dobles donde las señales intermedias se juntan, que integran para un protón cada uno, lo cuales tienen una constante de acoplamiento de 14.28 y 6.0 Hz y 14.28 y 8.5 Hz que corresponden a los protones del metileno unido al Ph. En un desplazamiento de 3.37 ppm se observa un singulete que integra para tres

protones correspondientes al grupo metoxilo. En 3.65 ppm se obtuvo una señal doble de doble que integra para dos protones con constantes de acoplamiento de 17.6 y 8.4 Hz los cuales corresponden al CH₂ unido al carbonilo. Siguiendo a campos bajos, en un desplazamiento de 4.55 ppm se encuentra una señal *ddd* que integra para un protón asignado al CH unido al bencilo, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 8.5, 6.0 y 8.52 Hz. En 6.17 ppm se observa una señal triple que integra para un protón y que tiene una constante de acoplamiento de 6.0 Hz que corresponde al NH. En 6.42 y 7.15 ppm se visualizan dos multipletes que integran para cuatro protones que corresponden a los H aromáticos del anillo disustituido. En un desplazamiento de 7.23 ppm se observa que se encuentra una señal multiplete que integra para cinco protones correspondientes a los protones aromáticos del anillo monosustituido. Finalmente, en un desplazamiento de 8.29 ppm se obtuvo una señal doble que integra para un protón asignado al NH del grupo amida.

Tabla 11. Datos del espectro de RMN de ¹H del compuesto **53A**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
3.07	dd	1	14.28, 6.0	CH ₂ Ph (a)
3.09	dd	1	14.28, 8.5	CH ₂ Ph (b)
3.37	s	3	-	CH ₃ O
3.65	dd	2	8.5, 6.0, 8.52	CH ₂ CO
4.55	m	1	-	CHBn
6.17	t	1	6.0	NHCH ₂
6.42 y 7.15	2m	4	-	Ar'-H
7.23	m	5	-	Ar-H

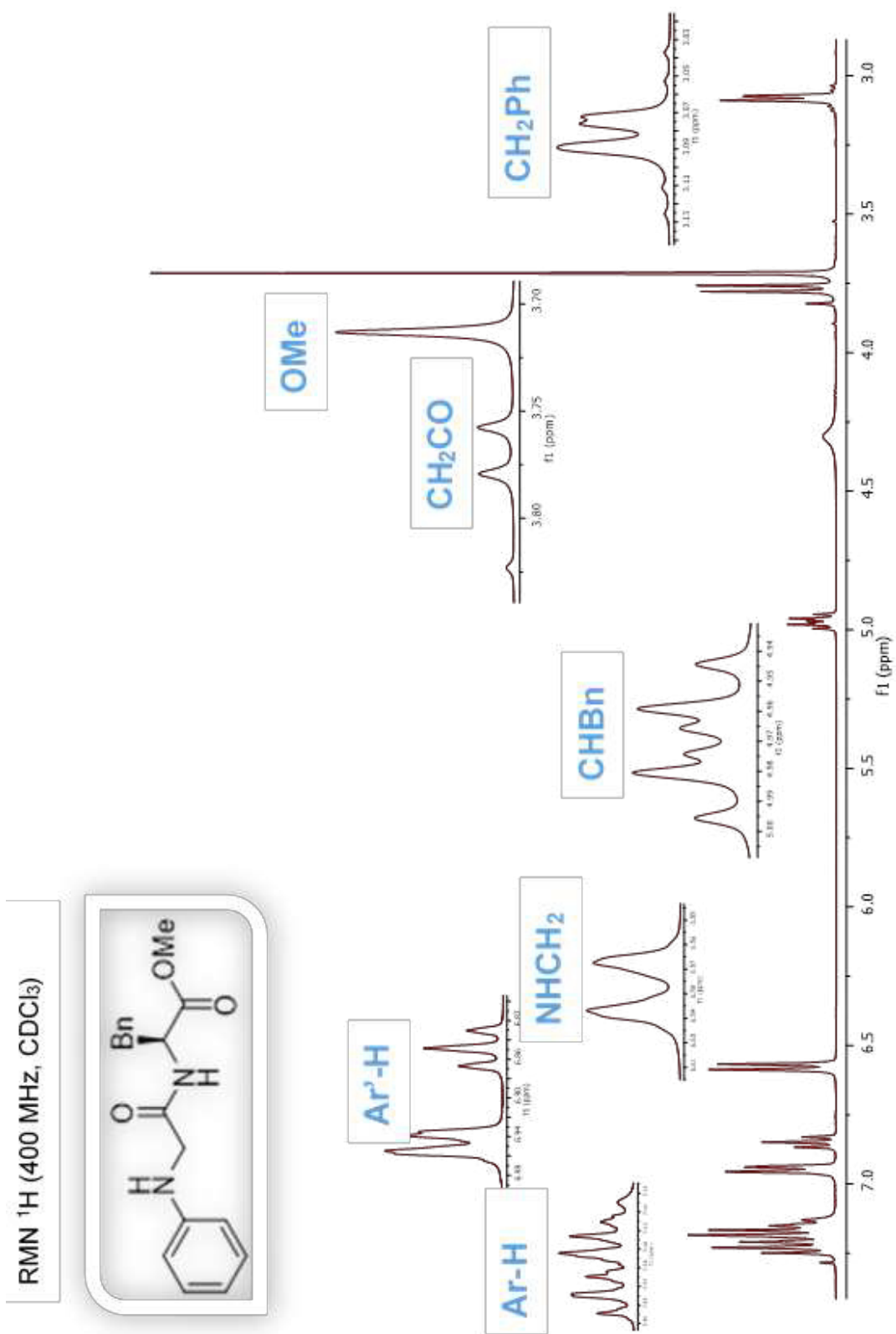
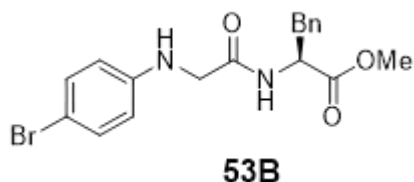


Figura 14. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53A.

Así mismo, el espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) muestra las siguientes señales: δ 37.90 (CH_2Ph), 48.59 (CH_2CO), 52.34 (CH_3O), 52.59 (CHBn), 113.28 (C'_{orto}), 119.08 (C'_{para}), 127.08 (C_{para}), 128.59 (C_{meta}), 129.18 (C'_{meta}), 129.41 (C_{orto}), 135.55 (C_{ipso}), 147.0 (C'_{ipso}), 170.46 (COOMe), 171.74 (CONH)

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que, para el compuesto **53A**, de fórmula $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$, el resultado encontrado fue de 313.14983 (MH^+), mientras que el calculado fue de 313.15075 m/z (MH^+).

5.1.2.3.2 Preparación del (4-bromofenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo **53B**



La reacción se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil un sistema de hexano/ AcOEt (1:1). Siguiendo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **53B** como un sólido blanco con un rendimiento químico del 45%, el cual tiene un punto de fusión de 135-137 $^{\circ}\text{C}$.

Se obtuvo el espectro de RMN de ^1H (Figura 15) y a continuación se describen las señales y se resumen en la tabla 12.

En un desplazamiento químico de 2.95 ppm se observa un doble de doble que integra para un protón que corresponde a uno de los protones del CH_2 unido al fenilo, estos con constantes de acoplamiento de 14.0 y 9.2 Hz. En 3.05 ppm se obtuvo otro doble de doble que de igual manera integra para un protón con constantes de acoplamiento de 14.0 y 5.2 Hz, el cual es correspondiente al protón restante de CH_2 unido al fenilo. Siguiendo a campo bajo, en un desplazamiento de 3.37 ppm se encuentra un singulete que integra para tres protones que corresponden al CH_3 del metoxilo. En 3.65 ppm se observan dos dobletes que integran para dos protones con una constante de acoplamiento de 6.0 Hz correspondientes al metileno unido al carbonilo. Un multiplete que integra para un protón se observa a 4.55 ppm que corresponde al CH unido al grupo bencilo. En 6.17 ppm se observan dos dobletes correspondientes al grupo amino de la molécula la cual integra para un protón y tiene una constante de acoplamiento de 6.0 Hz. Dos multipletes que corresponden a los protones aromáticos del anillo disustituido se encuentran a 6.42 y 7.15 ppm, los cuales integran para cuatro protones. A campos más bajos, un multiplete que integra para cinco protones aromáticos del anillo monosustituido a un desplazamiento de 7.23 ppm. Por último, los protones de la amida se observan en un desplazamiento de 8.29 ppm en forma de doblete con una constante de acoplamiento de 8.0 Hz que integra para un protón.

Tabla 12. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto **53B**

d (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
2.95	dd	1	13.8, 9.2	CH_2Ph (a)
3.05	dd	1	13.8, 5.2	CH_2Ph (b)
3.37	s	3	-	CH_3O
3.65	2d	2	6.0	CH_2CO
4.55	dd	1	5.2, 9.2	CHBn
6.17	2d	1	6.0	NHCH_2
6.42 y 7.15	2m	4	-	Ar'-H
7.23	m	5	-	Ar-H
8.29	d	1	8.0	NHCO

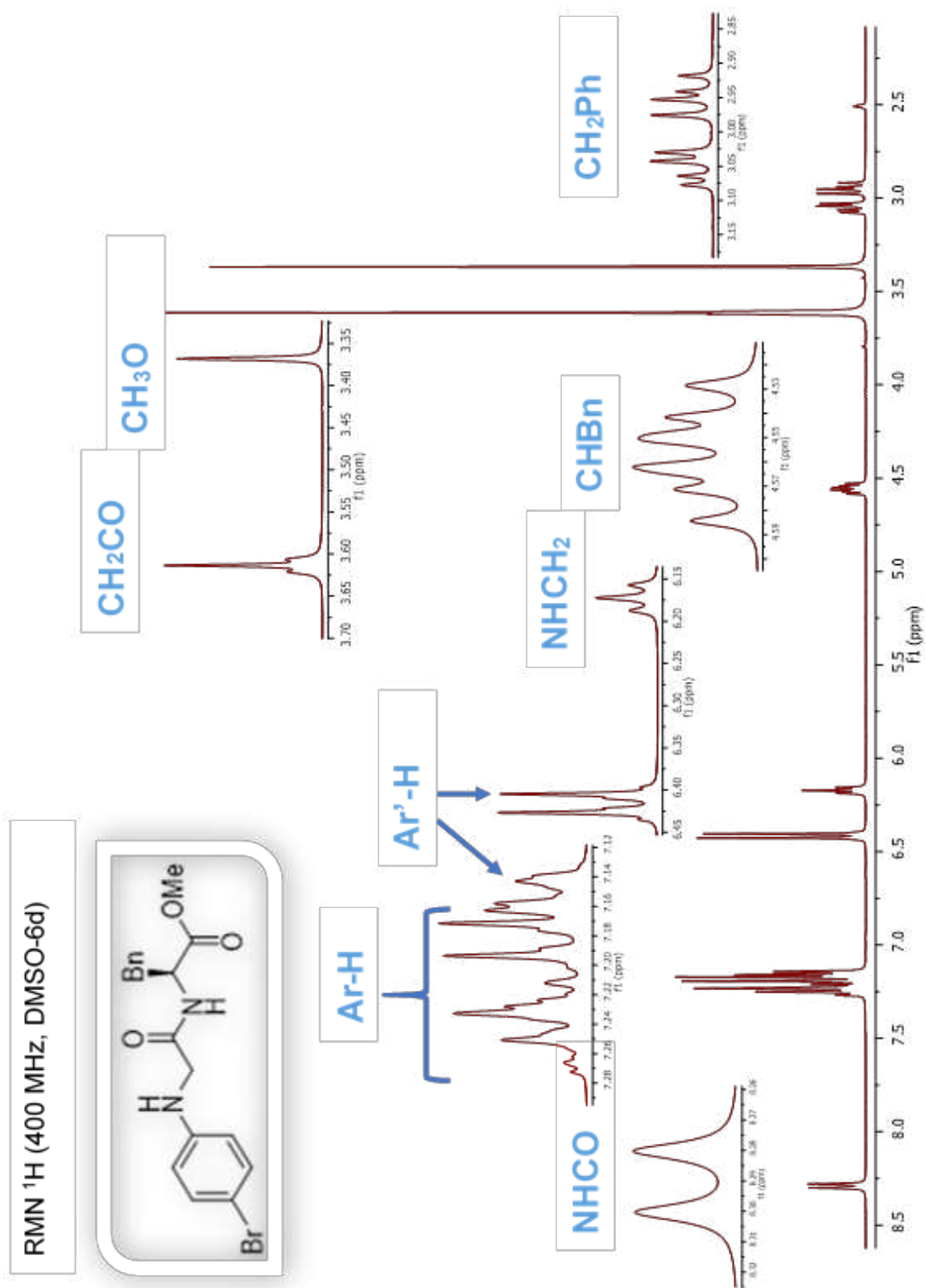
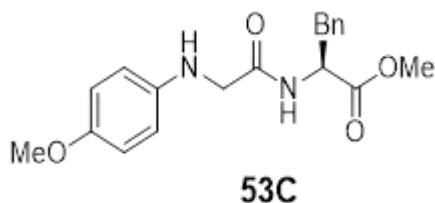


Figura 15. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53B

El espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) mostró las siguientes señales para este compuesto: δ 37.04 (CH_2Ph), 46.76 (CH_3O), 52.39 (CH_2CO), 53.68 (CHBn), 107.55 (C'_{orto}), 114.72 (C'_{para}), 126.98 (C_{para}), 128.70 (C_{orto}), 129.53 (C_{meta}), 131.73 (C'_{meta}), 137.52 (C_{ipso}), 148.01 (C'_{ipso}), 170.53 (CONH), 172.25 (COOMe).

5.1.2.3.3 Preparación del (4-metoxifenil)glicil-L-fenilalaninato de metilo 53C



La reacción se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil un sistema de hexano/AcOEt/MeOH 1:2:1. En las condiciones llevadas a cabo para esta reacción, se obtuvo el compuesto **53C** un sólido de color café claro con un rendimiento químico del 63%, teniendo un punto de fusión de 83-85 °C.

Además, se obtuvo su espectro de RMN de ^1H (Figura 16), en el cual a continuación se describen sus señales y se presentan en forma resumida en la tabla 13.

Primeramente, a campos altos, en un desplazamiento de 3.02 ppm se observan dos dobletes que integran para un protón, el cual corresponde al CH₂(a) unido al Ph teniendo una constante de acoplamiento de 14.0 y 8.0 Hz. Seguido a esto, se encuentra en un desplazamiento de 3.12 ppm nuevamente otro doble de doble correspondiente al protón del CH₂(b) unido al Ph, igualmente integra para un protón con constantes de acoplamiento de 14.0 y 5.2 Hz. En 3.65 ppm, se observan dos dobles que integran para dos protones con una constante de acoplamiento de 12.0 Hz perteneciente al CH₂ unido al carbonilo. A desplazamiento de 3.7 ppm se obtuvo un singulete que integra para tres protones que corresponde a los protones del metilo unido al éster. Otro singulete que igualmente integra para tres protones se observa a un desplazamiento de 3.73 ppm correspondiente a los protones del grupo metoxilo. En 4.77 ppm se obtuvo un doble de doble que integra para un protón con una constante de acoplamiento de 5.2 y 8.0 Hz, el cual corresponde al protón unido al bencilo de la molécula. Finalmente, a campos bajos de desplazamiento, se observan cuatro multipletes, en donde los primeros dos aparecen en 6.49 y 6.75 ppm los cuales integran para cuatro protones aromáticos donde el anillo se une con el metoxilo. Los dos multipletes restantes tienen desplazamientos de 7.05 y 7.20 ppm que corresponden a los protones aromáticos del fenilo.

Tabla 13. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto **53C**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
3.02	dd	1	14.0, 8.0	CH ₂ Ph (a)
3.12	dd	1	14.0, 5.2	CH ₂ Ph (b)
3.65	2d	2	17.6	CH ₂ CO
3.70	s	3	-	COOMe
3.73	s	3	-	OMe
4.77	2d	1	5.2, 8.0	CHBn
6.49 y 6.75	2m	4	-	Ar'-H
7.05 y 7.20	2m	5	-	Ar-H

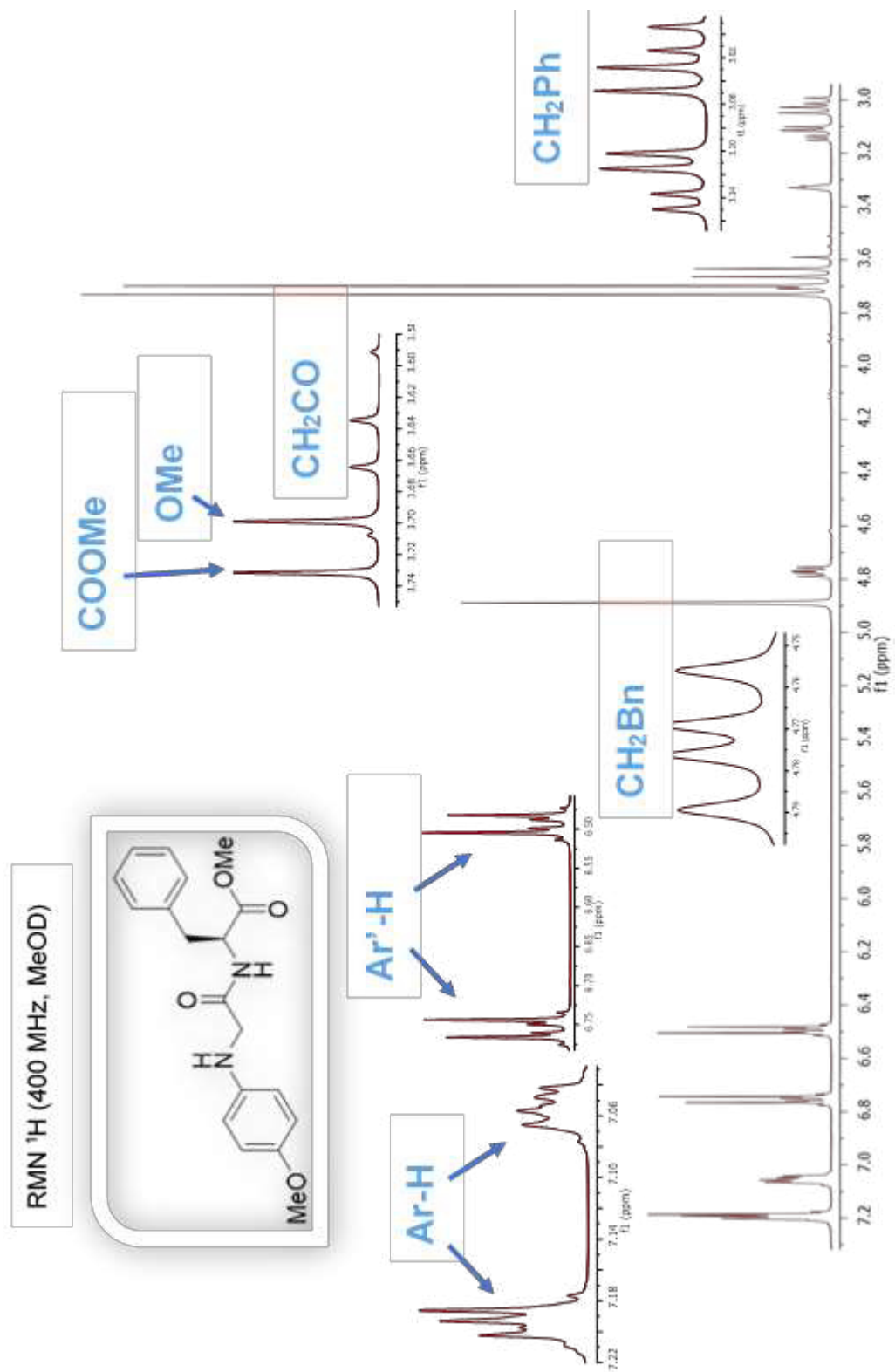
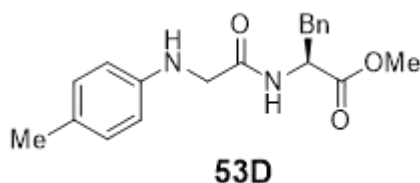


Figura 16. Espectro de RMN ^1H del compuesto 53C.

Así mismo, el espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) mostró las siguientes señales: δ 36.88 (CH_2Ph), 48.33 (CH_2CO), 51.38 (CH_3CO_2), 53.11 (CHBn), 54.77 (CH_3O), 113.92 (C'_{orto}), 114.45 (C'_{meta}), 126.52 (C_{para}), 128.16 (C_{meta}), 128.83 (C_{para}), 136.24 (C_{ipso}), 141.93 (C'_{ipso}), 152.71 (C'_{para}), 171.68 (CONH), 172.80 (CO_2CH_3).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que para el compuesto **53C**, de fórmula $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$, el resultado fue de 343.16038 m/z (MH^+), mientras que el calculado fue de 343.16131 m/z (MH^+).

5.1.2.3.4 Preparación del *p*-tolilglicil-L-fenilalaninato de metilo **53D**



La reacción se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil un sistema de hexano/AcOEt (1:1). Bajo las condiciones de reacción llevadas a cabo se obtuvo el compuesto **53D** siendo este un sólido amarillo claro con un rendimiento químico de 74%, con punto de fusión de 84-86 °C.

Enseguida, se muestra la descripción de las señales representativas del compuesto en el espectro de RMN ^1H (Figura 17), así como los datos de forma resumida en la tabla 14.

En un desplazamiento de 2.23 ppm aparece un singulete que integra para tres protones correspondientes a los protones del metilo unido al anillo aromático disustituido. Enseguida, se observan dos dobles de dobles que corresponde a los protones del metileno unido al fenilo mono sustituido, un doble de doble está en un desplazamiento de 3.02 ppm con constantes de acoplamiento de 14.0 y 8.0 Hz que integra para un protón, mientras que el segundo doble de doble se encuentra a 3.12 ppm, con constantes de acoplamiento de 14.0 y 5.2 ppm e integra para un protón. En 3.66 ppm observamos una señal de tipo sistema AB que integra para dos protones que corresponden al metileno uno al carbonilo los cuales tienen constantes de acoplamiento de 17.6 Hz. Siguiendo a campos más bajos observamos un singulete a 3.67 ppm que integra para tres protones correspondiente al metilo del éster. Otro doble de doble que integra para un protón se encuentra en un desplazamiento de 4.77 ppm con una constante de acoplamiento de 5.2 y 8.0 Hz que se adjudica al CH unido al bencilo. Por último, a campos bajos, se observan dos señales múltiples que integran para cuatro protones en un desplazamiento de 6.46 y 6.95 ppm que corresponden a los protones unidos al anillo aromático disustituido y otros dos multipletes a desplazamientos de 7.03 y 7.17 ppm que integran para cinco protones.

Tabla 14. Datos del espectro del RMN ^1H del compuesto **53D**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
2.23	s	3	-	CH_3Ph
3.02	dd	1	14.0, 8.0	CH_2Ph (a)
3.12	dd	1	14.0, 5.2	CH_2Ph (b)
3.66	Sistema AB	2	17.6	CH_2CO
3.67	s	3	-	OCH_3
4.77	dd	1	5.2, 8.0	CHBn
6.46 y 6.95	2m	4	-	$\text{Ar}'\text{-H}$
7.03 y 7.17	2m	5	-	Ar-H

RMN ^1H (400 MHz, MeOD)

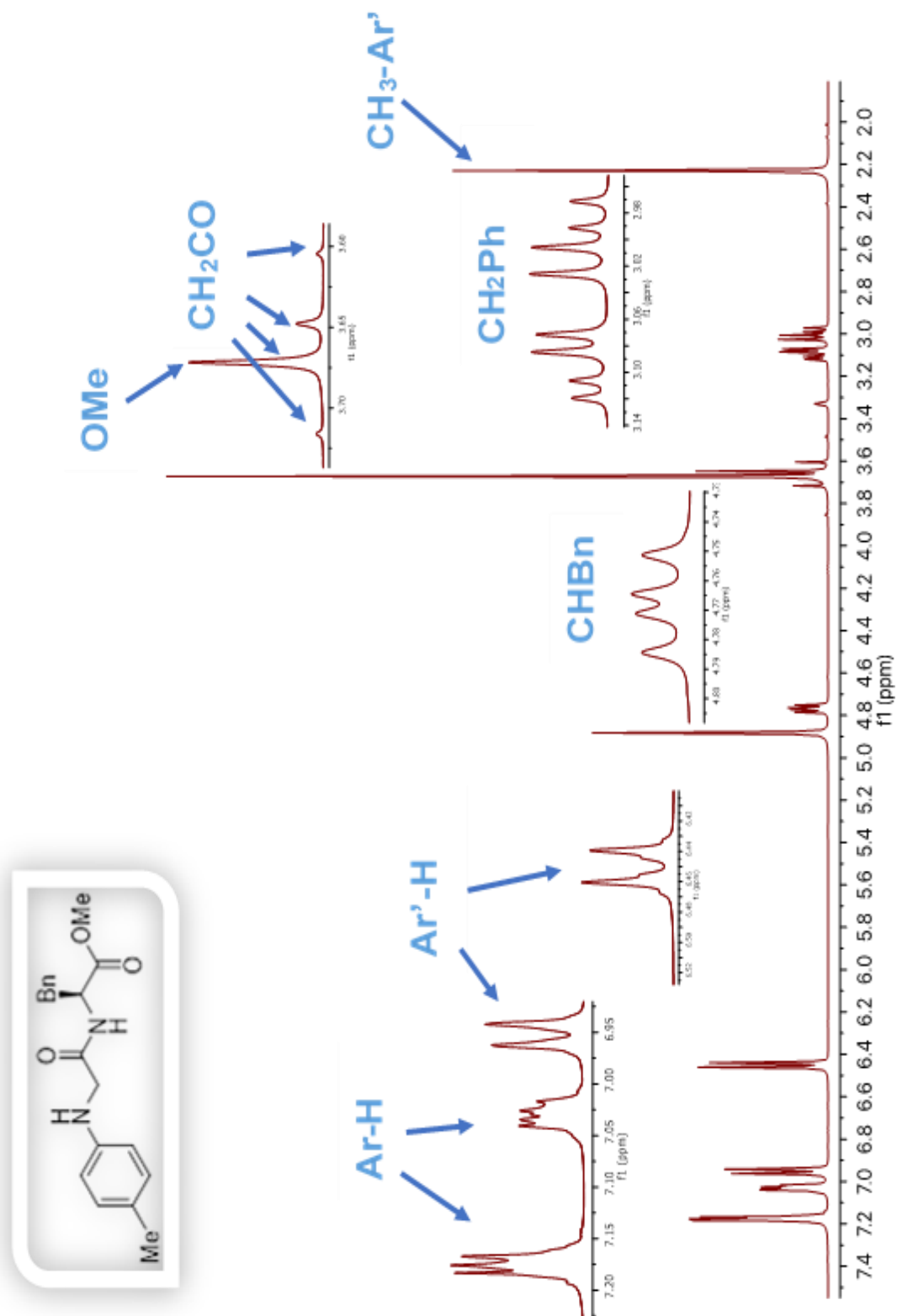
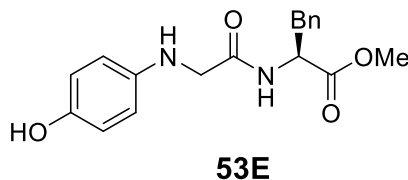


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 53D.

El espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) mostró las siguientes señales: δ 19.22 ($\text{CH}_3\text{Ar}'$), 36.92 (CH_2Ph), 47.82 (CH_3O), 51.41 (CH_2CO), 53.13 (CHBn), 112.87 (C'_{orto}), 126.53 (C_{para}), 126.97 (C_{orto}), 128.18 (C_{meta}), 128.87 (C'_{para}), 129.27 (C'_{meta}), 136.22 (C_{ipso}), 145.50 (C'_{ipso}), 171.68 (COONH), 172.70 (COOMe)

5.1.2.3.5 Preparación del metil (4-hidroximetilfenil)glicil-L-fenilalaninato 53E



Bajo las condiciones de reacción llevadas a cabo se obtuvo el compuesto **53E** siendo este un sólido rosa opaco con un rendimiento químico del 42%, con punto de fusión de 76-79 °C.

Enseguida, se muestra la descripción de las señales representativas del compuesto en el espectro de RMN ^1H (Figura 18), así como los datos de forma resumida en la tabla 15.

En un desplazamiento químico de 3.02 y 3.15 ppm dos dobles de doble que integran un protón cada uno corresponden al metileno unido al fenilo, los cuales

tienen constantes de acoplamiento de 10.4 y 18.6 Hz, y 7.12 y 18.6 Hz respectivamente. Enseguida se muestra un singulete en un desplazamiento de 3.70 ppm que integra para los tres protones del metoxilo. En 3.85 ppm aparece una señal de sistema AB colapsado que corresponde a los protones del metileno unido al grupo amino, donde las señales intermedias se juntan impidiendo calcular la constante de acoplamiento. Se observa una señal *ddd* en 4.85 ppm que integra para un protón corresponde al metino unido al bencilo de la molécula, constantes de acoplamiento de 10.4, 7.12 y 8.6 HZ. En la región de los protones aromáticos en primera instancia se observan dos multipletes correspondientes a los cuatro protones del anillo aromático disustituido en un desplazamiento de 6.30 y 6.64 ppm. Los cinco protones aromáticos del anillo monosustituido se observan en dos señales multiplete en un desplazamiento de 6.97 y 7.25 ppm. Por último, en un desplazamiento de 7.68 ppm se encuentra un doblete correspondiente al protón de la amida con una constante de acoplamiento de 10.6 Hz.

Tabla 15. Datos del espectro del RMN ^1H del compuesto **53E**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
3.02	dd	1	18.6, 10.4	CH_2Ph
3.15	dd	1	18.6, 7.12	CH_2Ph
3.7	s	3	-	OCH_3
3.85	Sistema AB	2	-	CH_2NH
4.85	ddd	1	10.4, 7.12, 8.6	CHBn
6.30 y 6.64	2m	4	-	$\text{Ar}'\text{-H}$
6.97 y 7.25	2m	5	-	Ar-H
7.68	d	1	10.6	NHCO

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3)

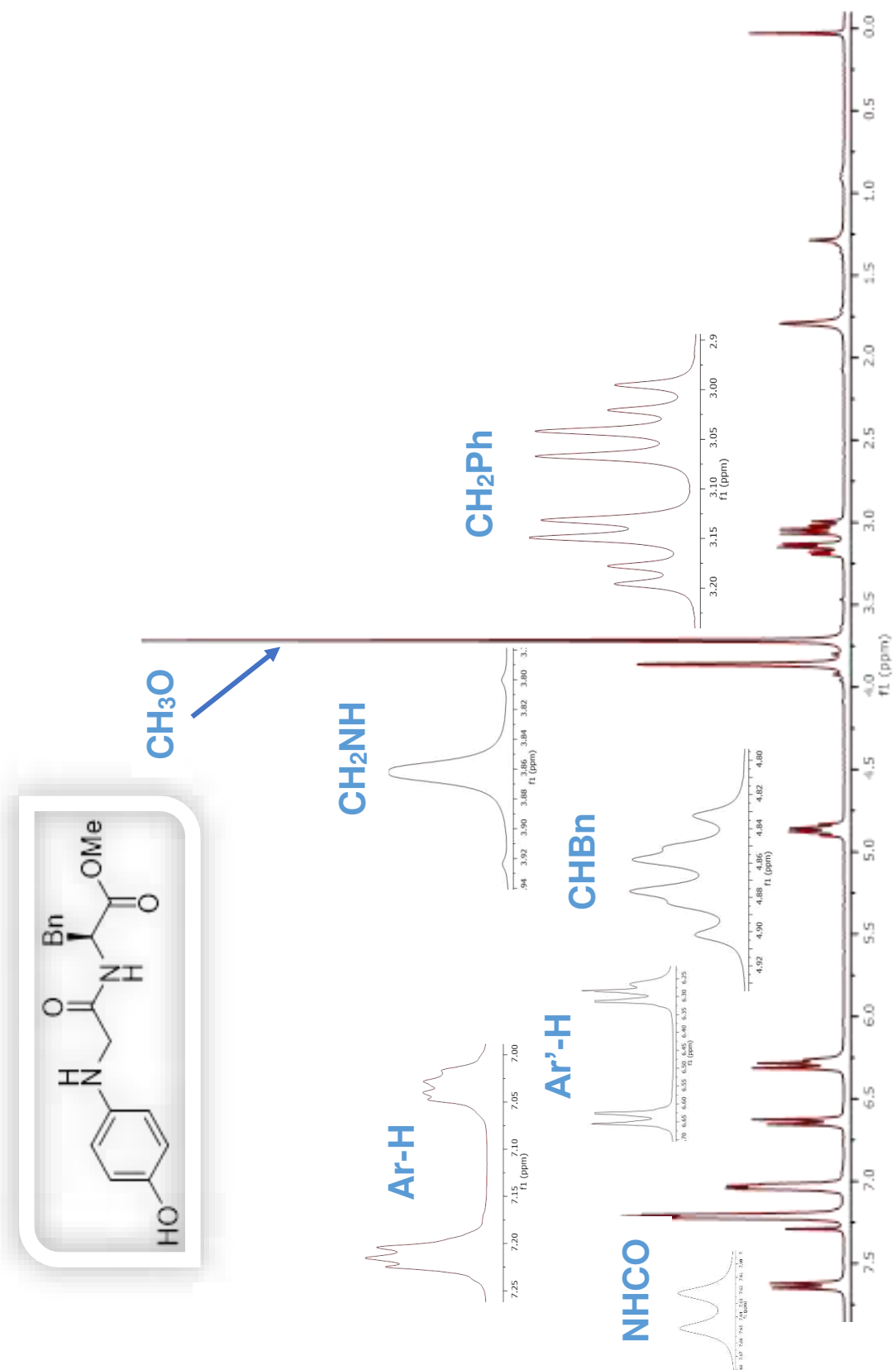
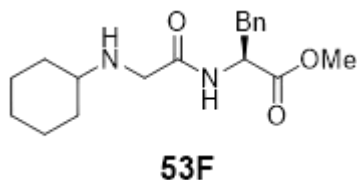


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **53E**.

El espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) mostró las siguientes señales: δ 37.61 (**CHPh**), 52.44 (**CH₂NH**), 53.48 (**OCH₃**), 57.29 (**CHBn**), 113.80 (**C' meta**), 116.32 (**C' orto**), 127.00 (**C para**), 128.54 (**C meta**), 129.12 (**C orto**), 135.93 (**C ipso**), 140.01 (**C' ipso**), 149.34 (**C' para**), 170.98 (**CONH**), 171.93 (**COOCH₃**).

5.1.2.3.6 Preparación del metil ciclohexilglicilil-L-fenilalaninato **53F**



La reacción se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil AcOEt. Bajo las condiciones de reacción llevadas a cabo se obtuvo el compuesto **53F** siendo este un sólido blanco con un rendimiento químico de 32%, con punto de fusión de 60-63 °C.

Enseguida, se muestra la descripción de las señales representativas del compuesto en el espectro de RMN ^1H (Figura 19), así como los datos de forma resumida en la tabla 16.

En un desplazamiento químico de 0.83-1.80 ppm se observan dos multipletes que integran para diez protones que corresponden a los metilenos del ciclohexilo.

Siguiendo a campos bajos se observa un multiplete en 2.25 ppm que integra para un protón correspondiente al metino del ciclo alifático. En 3.09 y 3.18 ppm se muestran dos dobles de dobles que integran para un protón cada uno que corresponden al metileno unido al fenilo, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 13.92 y 6.72 Hz, y 13.92 y 5.12 Hz respectivamente. Un cuarteto asignado al CH₂ unido al NH de la ciclohexilamina se observa en un desplazamiento de 3.24 ppm con una constante de acoplamiento de 17 Hz. A 3.72 ppm se observa un singulete que integra para tres protones correspondiente al metilo del metoxilo. En 4.86 se observa un multiplete, en donde las señales centrales no se desdoblán adecuadamente pareciendo una señal cuarteto, que integra para un protón asignado al metino uno al bencilo con *J* de 6.7 y 5.1 Hz. Dos multipletes en el intervalo de 7.12-7.31 ppm integran para cinco protones correspondientes a los protones del anillo aromático. Por último, en un desplazamiento de 7.84 ppm se observa un doblete asignado al protón de la amida con una constante de acoplamiento de 8.2 Hz.

Tabla 16. Datos del espectro de RMN de ¹H del compuesto **53F**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
0.83 - 1.80	2m	10	-	CH ₂ (Ciclohexil)
2.25	m	1	-	CH(Ciclohexil)
3.09	dd	1	13.92, 6.72	CH ₂ Ph
3.18	dd	1	13.92, 5.12	CH ₂ Ph
3.24	Sistema AB	2	17	CH ₂ NH
3.72	s	3	-	OCH ₃
4.86	m	1	5.1,6.7	CHBn
7.12 – 7.31	2m	5	-	Ar-H
7.84	d	1	8.2	NHCO

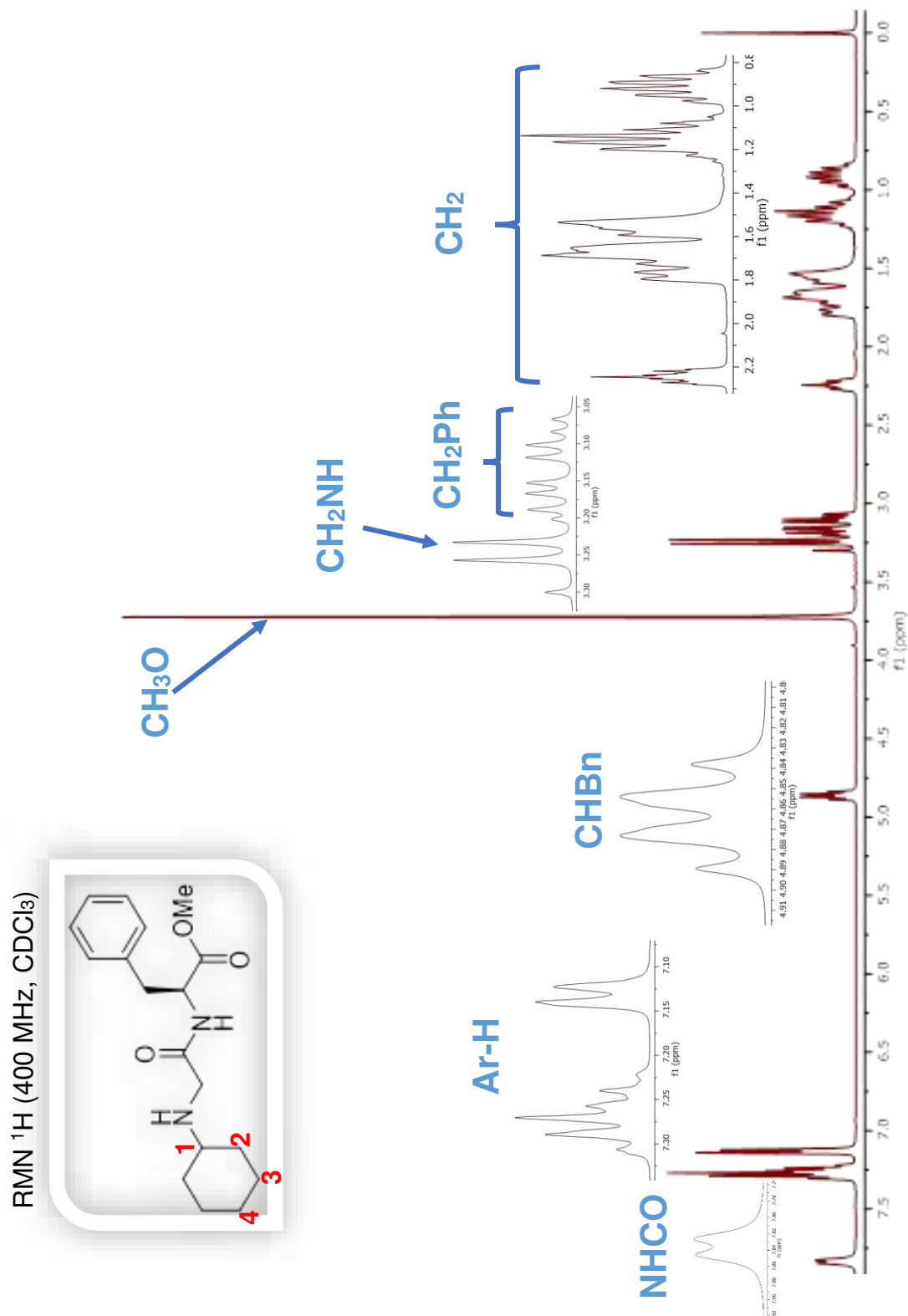
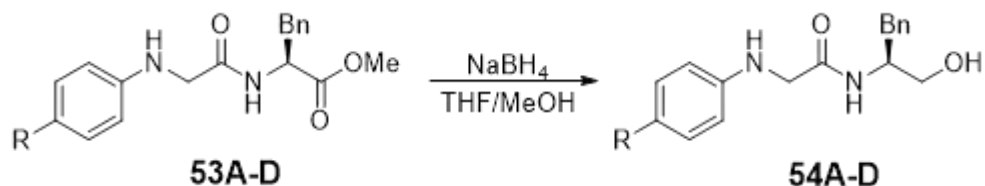


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **53F**.

El espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) mostró las siguientes señales: δ 24.93 (C_3), 25.92 (C_4), 33.63 (C_2), 37.94 (CH_2Ph), 49.74 (CH_2NH), 52.25 (OCH_3), 52.63 (CHBn), 57.22 (C_1), 127.08 (C_{para}), 128.56 (C_{meta}), 129.22 (C_{orto}), 136.07 (C_{ipso}), 172.08 (CONH), 172.42 (COOCH_3).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que para el compuesto **53F**, de fórmula $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$, el resultado fue de 319.19756 m/z (MH^+), mientras que el calculado fue de 319.19770 m/z (MH^+).

5.1.2.4 Preparación de las β -hidroxiamidas **54**



Una vez obtenidos los ésteres amino sustituidos **53**, se procedió a hacer la reacción de reducción del grupo éster utilizando NaBH_4 en una mezcla de THF/MeOH siguiendo el procedimiento antes descrito. De esta forma se obtuvieron los compuestos que se muestran en la tabla 17, así como el rendimiento, aspecto físico y punto de fusión.

Tabla 17. β -hidroxiamidas **54A-D** sintetizadas.

	R	Rendimiento (%)	Aspecto físico	Punto de fusión (°C)
54A	C ₆ H ₅	91	Sólido café claro	144-146
54B	4-BrC ₆ H ₄	95	Sólido blanco	263-265
54C	4-OMeC ₆ H ₄	88	Sólido café claro	73-76
54D	4-MeC ₆ H ₄	93	Sólido blanco	88-91
54E	4-OHC ₆ H ₄	54	Líquido viscoso morado oscuro	-
54F	C ₆ H ₁₁	71	Sólido blanco	81-84

Es evidente que los rendimientos químicos de esta reacción, bajo las condiciones previamente mencionadas, son de regulares a buenos para los compuestos **54F** y **54E**, rendimientos bastante buenos para las hidroxiamidas **54A** y **54C**, llegando a ser excelentes en los compuestos **54B** y **54D**.

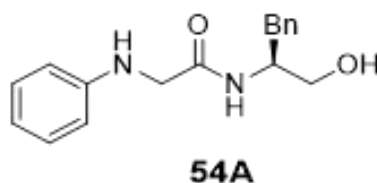
Cabe mencionar que inicialmente el número de equivalentes empleados para esta fueron dos, después, se observó a través del monitoreo de la reacción mediante cromatografía en placa fina, que a medida que se agregaban más equivalentes de borohidruro de sodio, la mancha del éster como materia prima iba disminuyendo y, a su vez, la mancha del producto iba aumentando. Además, se probó la reacción con 8.0 eq pero ahora a reflujo, con lo que se esperaba que aumentaran los rendimientos y se disminuyeran los tiempos de reacción; sin embargo, se observó que se formaba un subproducto el cual no fue identificado. Entonces, se decidió proseguir aumentando el número de equivalentes, pero en condiciones suaves de temperatura ambiente y agitación constante, lo cual permitió agregar 16.0 eq de agente reductor sin formación de subproductos y

aumentar los rendimientos en la mayoría de las reacciones, además de acortar los tiempos de reacción.

La reducción de ésteres, utilizando NaBH₄ como agente reductor, no ha sido ampliamente utilizada; sin embargo, en el presente trabajo se llevó a cabo esta reacción de manera sencilla obteniendo resultados bastante favorables, los cuales concuerdan con los resultados publicados por Boeachat y colaboradores³⁵, donde hacen uso del NaBH₄ (6.0 eq), en una mezcla MeOH/THF a reflujo, para reducir metil ésteres aromáticos con tiempos de reacción que oscilan entre 2 y 4 h con rendimientos del 88 al 97%.

A continuación, se describen las señales características de cada uno de los productos **54A-54F**, tanto en Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C, así como de Espectrometría de Masas de Alta Resolución.

5.1.2.4.1 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(fenilamino)acetamida 54A



Con las condiciones planteadas, se obtuvo el compuesto **54A** de forma sólida de color café claro con un rendimiento del 91%, al cual se le determinó su punto de fusión de 144-146 °C.

A continuación, se describen las señales características del compuesto obtenido a partir del espectro de RMN ^1H (Figura 20), así como de forma resumida en la tabla 18.

A campos altos, se encuentran dos dobles de dobles que integran para un protón cada uno con un desplazamiento de 2.73 y 2.89 ppm, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 13.76 y 8.12 Hz, y 13.76 y 6.0 Hz, respectivamente, que corresponden a los protones del CH_2 unido al fenilo. En un desplazamiento químico de 3.62 ppm se obtuvo un doble de doble, el cual las señales exteriores no se alcanzan a resolver correctamente, que integra para dos protones correspondientes al CH_2 unido al hidroxilo, el cual tiene constantes de acoplamiento de 16.24, 10.9 y 5.28 Hz. En 3.66 ppm se observa una señal tipo sistema AB integra para dos protones, con una constante de acoplamiento de 17.2 Hz, que corresponde al metileno unido al grupo carbonilo. En 4.20 ppm se observa un multiplete que integra para un protón que corresponde al CH el cual está unido al grupo bencilo de la molécula, constantes de acoplamiento de 10.9, 5.28, 8.12 y 6 Hz. Siguiendo a campos más bajos, en un desplazamiento de 6.52-7.14 ppm se observa un multiplete para los cinco protones aromáticos del anillo

de la anilina. Por último, se observa un multiplete en un desplazamiento químico de 7.23 ppm que integra para cinco protones aromáticos del bencilo.

Tabla 18. Datos del espectro de RMN ^1H del compuesto **54A**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
2.73	dd	1	13.76, 8.12	CH_2Ph (a)
2.87	dd	1	13.76, 6.0	CH_2Ph (b)
3.62	dd	2	16.24, 10.90, 5.28	CH_2OH
3.66	Sistema AB	2	17.2	CH_2CO
4.20	m	1	10.9, 5.28, 8.12, 6.0	CHBn
6.52-7.14	m	5	-	Ar'-H
7.23	m	5	-	Ar-H

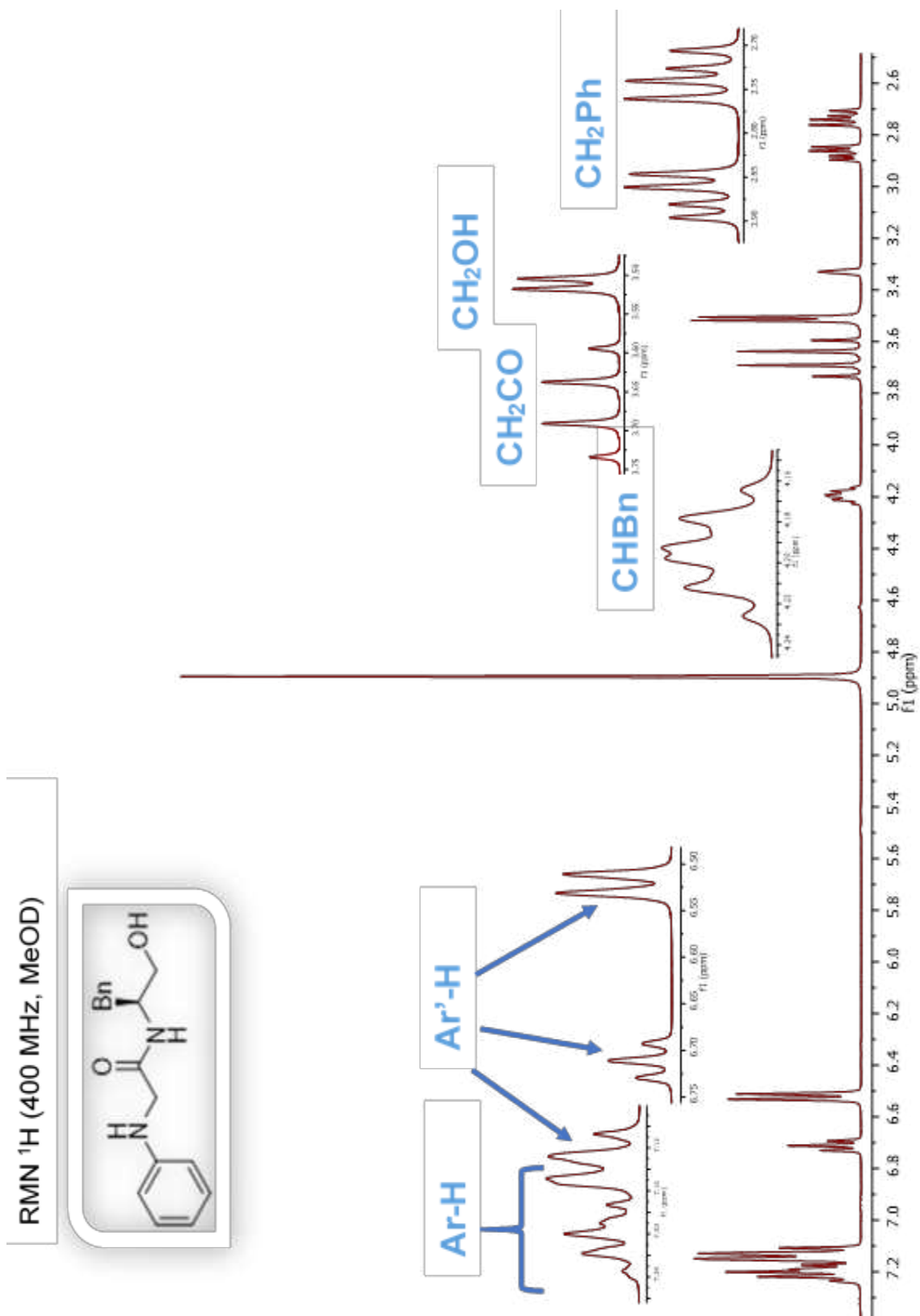
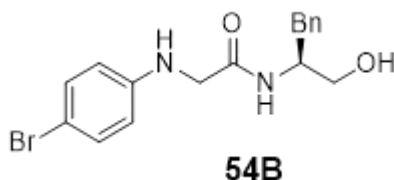


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54A.

A su vez, el RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) muestra las siguientes señales: δ 36.43 (CH_2Ph), 47.77 (CH_2CO), 52.30 (CHBn), 62.54 (CH_2OH), 112.68 (C'_{orto}), 117.72 (C'_{para}), 125.96 (C_{para}), 128.01 (C_{orto}), 128.78 (C_{meta}), 128.97 (C'_{meta}), 137.96 (C_{ipso}), 147.97 (C'_{ipso}), 172.41 (CO).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que, para el compuesto **54A**, de fórmula $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$, el resultado encontrado fue de 285.15469 m/z (MH^+), mientras que el calculado fue de 285.15583 m/z (MH^+).

5.1.2.4.2 Preparación del compuesto (S)-2-((4-bromofenil)amino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida **54B**



Bajo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **54B** con un rendimiento químico del 95%, resultando ser un sólido de color blanco con un punto de fusión de 264-266 °C.

Enseguida se describen las señales características del espectro de RMN de ^1H (figura 21) y se muestran los datos de una forma resumida en la tabla 19.

A campos altos, se encuentran 2 dobles de dobles que integran para un protón cada uno con un desplazamiento de 2.73 y 2.89 ppm, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 13.6 y 8.2 Hz, y 13.6 y 6.0 Hz, respectivamente, que corresponden a los protones del CH₂ unido al fenilo. En un desplazamiento químico de 3.62 ppm se obtuvo un doblete que integra para dos protones correspondientes al CH₂ unido al hidroxilo, el cual tiene una constante de acoplamiento de 5.2 Hz. En 3.65 ppm se observa una señal del tipo sistema AB que integra para dos protones correspondientes al metileno unido al grupo carbonilo, con constante de acoplamiento de 17.2 Hz. En 4.19 ppm se observa un multiplete que integra para un protón que corresponde al CH el cual está unido al grupo bencilo de la molécula, con constantes de acoplamiento de 8, 6 y 5.2 Hz. A campos bajos, dos multipletes, uno a 6.40 y otro a 7.14 ppm, que integran para cuatro protones aromáticos del anillo disustituido. Finalmente, en un desplazamiento de 7.20 ppm se observa un multiplete que corresponde a los protones aromáticos del anillo aromático monosustituido que integra para cinco protones.

Tabla 19. Datos de RMN de ¹H del compuesto **54B**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	<i>J</i> (Hz)	Protón
2.73	dd	1	13.6, 8.2	CH ₂ Ph (a)
2.89	dd	1	13.6, 6.0	CH ₂ Ph (b)
3.62	d	2	5.2	CH ₂ OH
3.65	Sistema AB	2	17.2	CH ₂ CO
4.19	m	1	8.0, 6.0, 5.2	CHBn
6.40 y 7.14	2m	4	-	Ar'-H
7.20	m	5	-	Ar-H

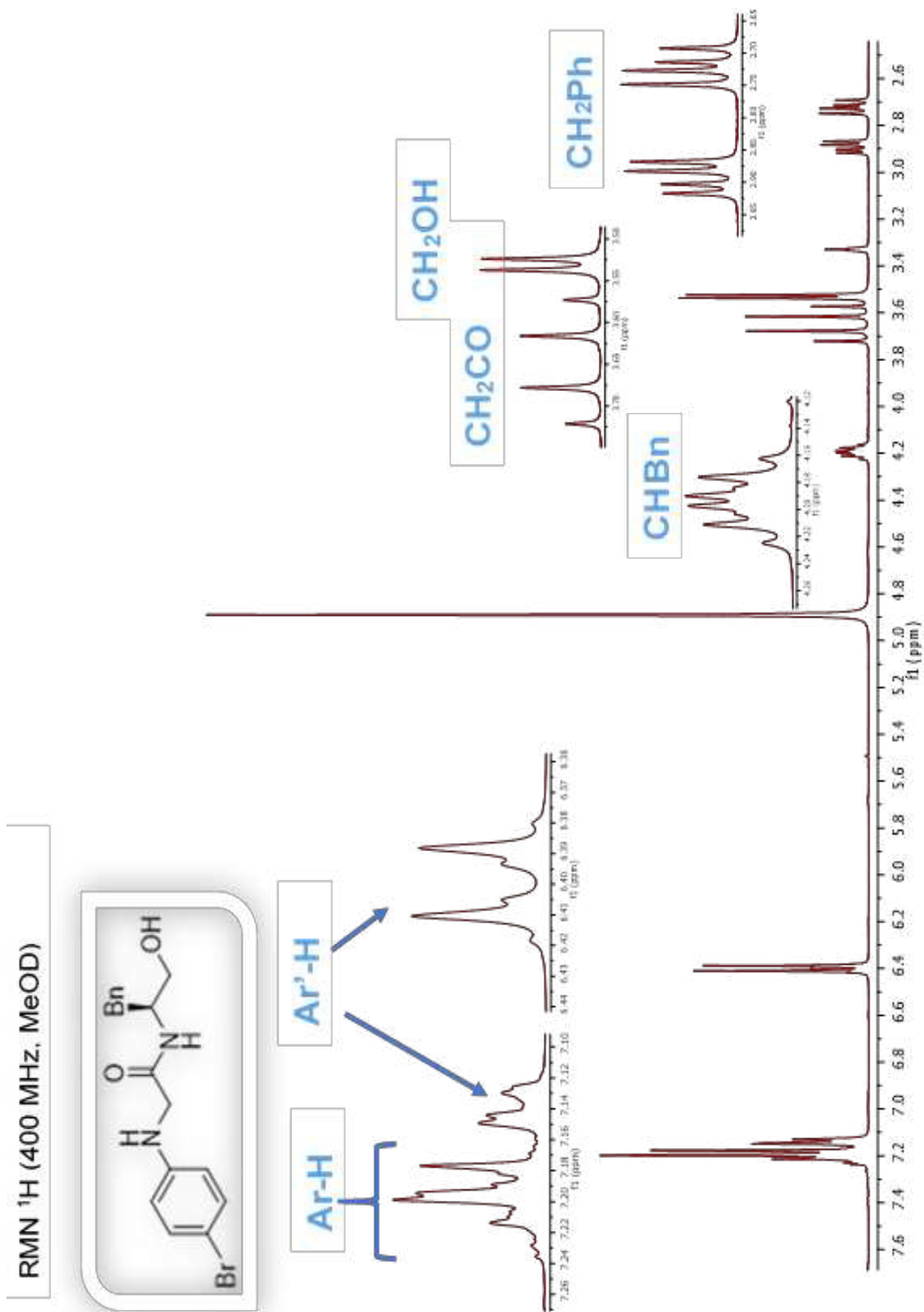
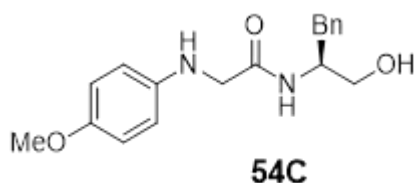


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54B.

El espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) muestra las siguientes señales: δ 36.42 (CH_2Ph), 52.39 (CH_2CO), 62.73 (CH_2OH), 108.97 (C'_{orto}), 114.25 (C'_{para}), 125.96 (C_{para}), 128.01 (C_{orto}), 128.89 (C_{meta}), 131.48 (C'_{meta}), 138.01 (C_{ipso}), 147.13 (C'_{ipso}), 171.94 (CO).

5.1.2.4.3 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-metoxifenil)amino)acetamida **54C**



Bajo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **54C** con un rendimiento químico del 88%, resultando ser un sólido de color café claro con un punto de fusión de 73-76 °C.

Enseguida se describen las señales características del espectro de RMN de ^1H (Figura 22) y se muestran los datos de una forma resumida en la tabla 20.

A campos altos, se encuentran dos dobles de dobles que integran para un protón cada uno con un desplazamiento de 2.73 y 2.88 ppm, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 13.8 y 8.2 Hz, y 13.8 y 6.0 Hz, respectivamente, que corresponden a los protones del CH_2 unido al fenilo. En un desplazamiento

químico de 3.52 ppm se obtuvo un doblete que integra para dos protones correspondientes al CH₂ unido al hidroxilo, el cual tiene una constante de acoplamiento de 5.2 Hz. En 3.61 ppm se observa una señal de tipo sistema AB que integra para dos protones, con constantes de acoplamiento de 17.2, que corresponde al metileno unido al grupo carbonilo. Enseguida, en un desplazamiento químico de 3.71 ppm, se observa un singulete que integra para tres protones correspondientes CH₃ del metoxilo unido al anillo aromático. En 4.20 ppm se observa un multiplete que integra para un protón que corresponde al CH el cual está unido al grupo bencilo de la molécula, con constantes de acoplamiento de 8.2, 6.0 y 5.2 Hz. A campos bajos, dos multipletes, uno a 6.48 y otro a 6.74 ppm, que integran para cuatro protones aromáticos del anillo disustituido. Finalmente, en un desplazamiento de 7.20 ppm se observa un multiplete que corresponde a los protones aromáticos del anillo aromático monosustituido el cual integra para cinco protones.

Tabla 20. Datos del espectro de RMN de ¹H del compuesto **54C**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
2.73	dd	1	13.8, 8.2	CH ₂ Ph (a)
2.88	dd	1	13.8, 6.0	CH ₂ Ph (b)
3.52	d	2	5.2	CH ₂ OH
3.61	Sistema AB	2	17.2	CH ₂ CO
3.71	s	3	-	CH ₃ O
4.20	m	1	8.2, 6.0, 5.2	CHBn
6.48 y 6.74	2m	4	-	Ar'-H
7.20	m	5	-	Ar-H

RMN 1H (400 MHz, MeOD)

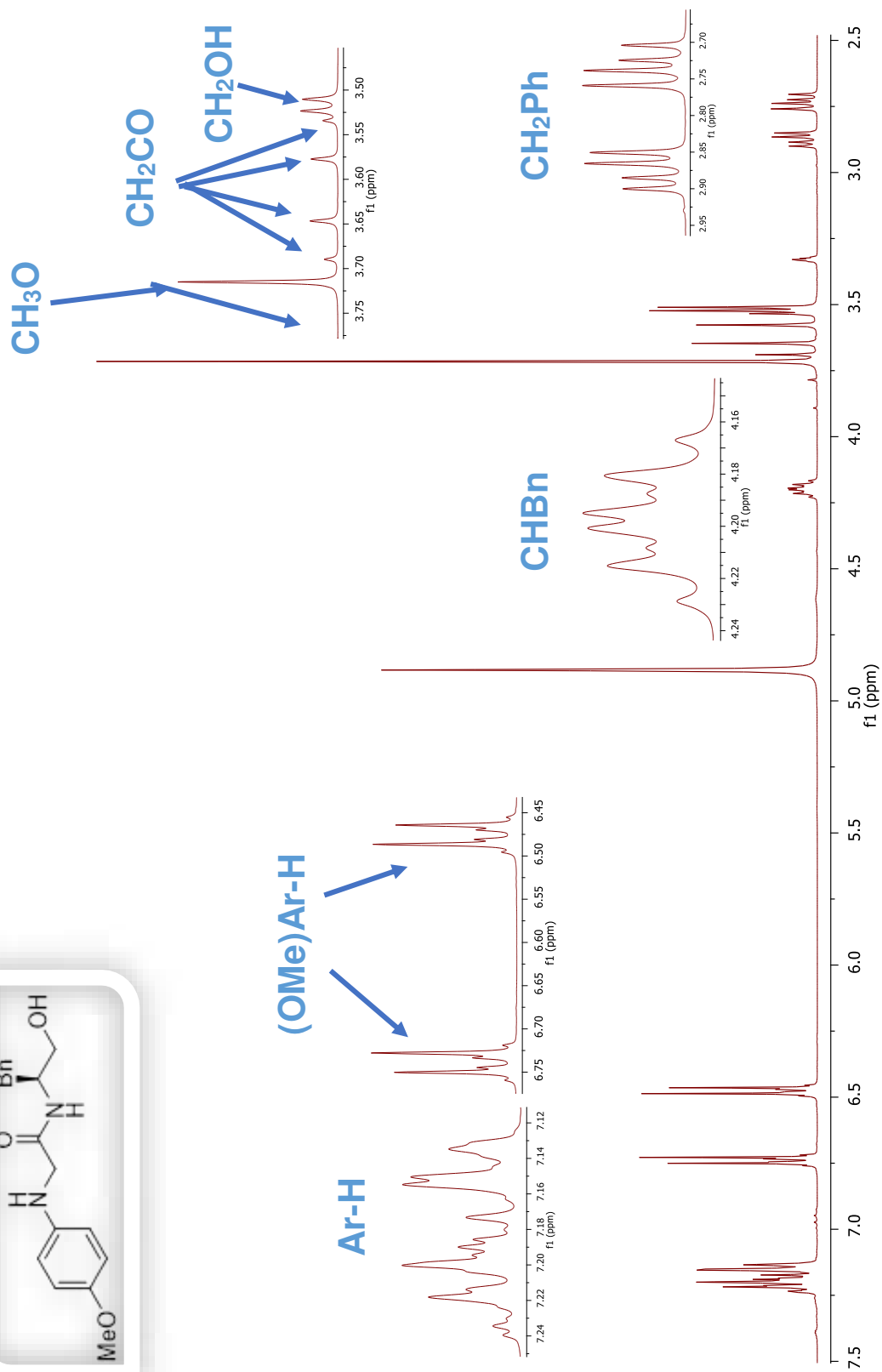
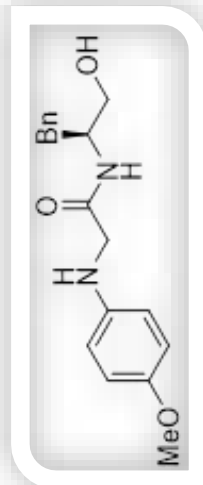
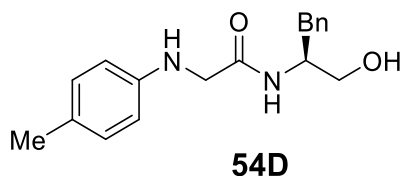


Figura 22. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 54C.

Por su parte, el RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) muestra las siguientes señales: δ 36.45 (CH_2Ph), 48.68 (CH_3O), 52.25 (CH_2CO), 54.81 (CHBn), 62.61 (CH_2OH), 113.93 (C'_{meta}), 114.50 (C'_{orto}), 125.96 (C_{para}), 128.02 (C_{orto}), 128.96 (C_{meta}), 137.98 (C_{ipso}), 142.05 (C'_{ipso}), 152.67 (C'_{para}), 172.62 (CO).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que, para el compuesto **54C**, de fórmula $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$, el resultado fue de 315.16482 m/z (MH^+), mientras que el calculado fue de 315.16640 m/z (MH^+).

5.1.2.4.4 Preparación del compuesto (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-(p-tolilamino)acetamida **54D**



Bajo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **54D** con un rendimiento químico del 93%, resultando ser un sólido de color blanco con un punto de fusión de 88-91 °C.

Enseguida se describen las señales características del espectro de RMN de ^1H (Figura 23) y se muestran los datos de una forma resumida en la tabla 21.

A campos altos, en un desplazamiento químico de 2.23 ppm, se observa un singlete que integra para tres protones correspondientes al metilo unido al anillo aromático. Enseguida, se encuentran dos dobles de dobles que integran para un protón cada uno con un desplazamiento de 2.73 y 2.87 ppm, los cuales tienen constantes de acoplamiento de 13.76 y 8.04 Hz, y 13.76 y 6.0 Hz, respectivamente, que corresponden a los protones del CH₂ unido al fenilo. En un desplazamiento químico de 3.51 ppm se obtuvo un doblete que integra para dos protones correspondientes al CH₂ unido al hidroxilo, el cual tiene una constante de acoplamiento de 5.2 Hz. En 3.63 ppm se observa una señal de tipo sistema AB que integra para dos protones, con constantes de acoplamiento de 17.2 Hz, que corresponde al metileno unido al grupo carbonilo. En 4.19 ppm se observa un multiplete que integra para un protón que corresponde al CH el cual está unido al grupo bencilo de la molécula. A campos bajos, dos multipletes, uno a 6.43 y otro a 6.95 ppm, que integran para cuatro protones aromáticos del anillo disustituido. Finalmente, en un desplazamiento de 7.18 ppm se observa un multiplete que corresponde a los protones aromáticos del anillo aromático monosustituido el cual integra para cinco protones.

Tabla 21. Datos de RMN de ¹H del compuesto **54D**.

δ (ppm)	Multiplicidad	Integración	J (Hz)	Protón
2.23	s	3	-	CH ₃ Ph
2.73	dd	1	13.76, 8.04	CH ₂ Ph (a)
2.87	dd	1	13.76, 6.0	CH ₂ Ph (b)
3.51	d	2	5.2	CH ₂ CO
3.63	Sistema AB	2	17.2	CH ₂ OH
4.19	m	1	8.04, 6.0, 5.2	CHBn
6.43 y 6.95	2m	4	-	Ar'-H
7.18	m	1	-	Ar-H

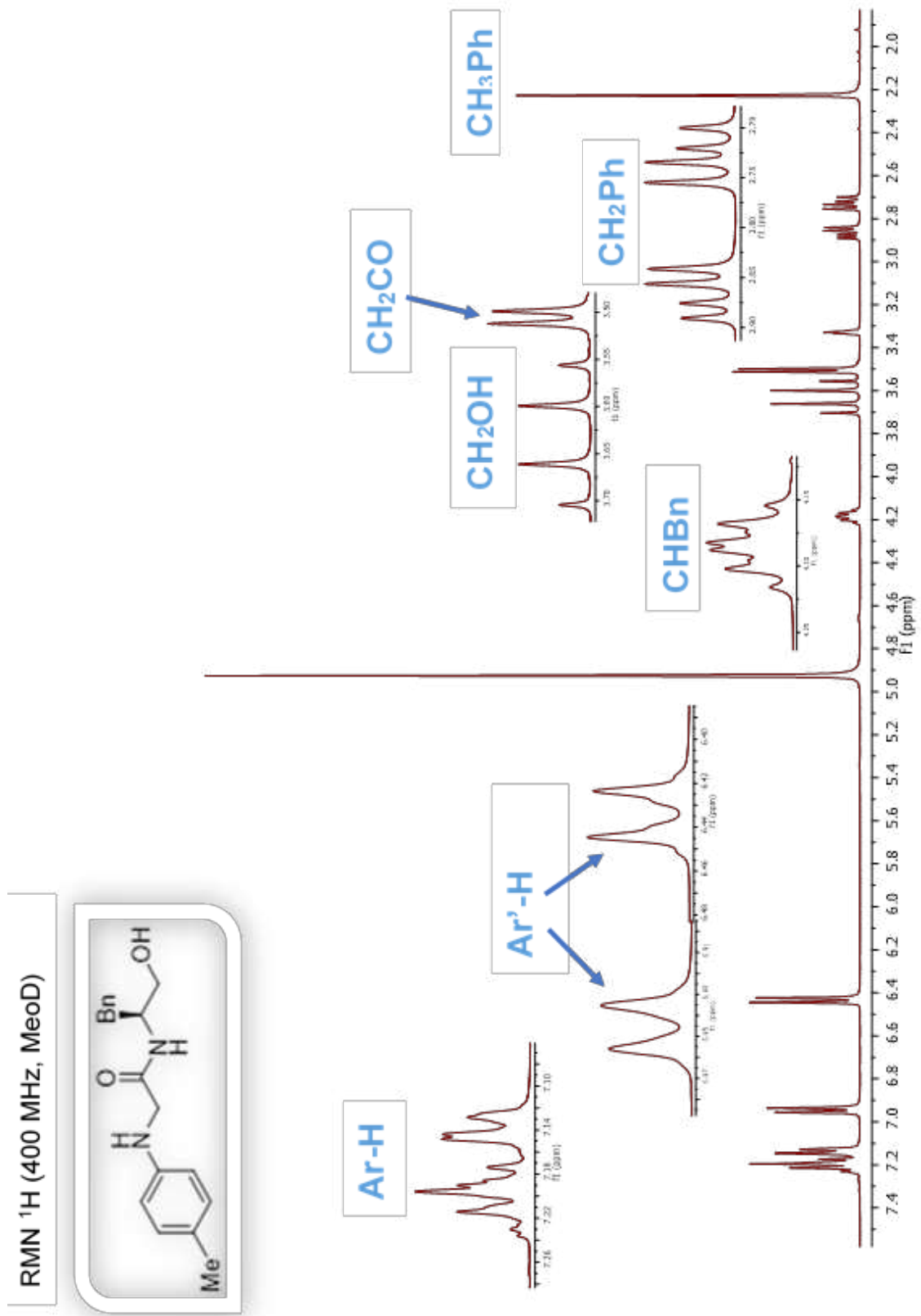
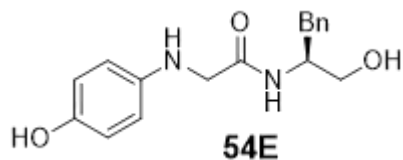


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 54D

Por su parte, el espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, MeOD) muestra las siguientes señales: δ 19.20 (CH_3), 36.45 (CH_2Ph), 48.14 (CH_2CO), 52.27 (CHBn), 62.55 (CH_2OH), 112.86 (C'_{orto}), 125.97 (C'_{para}), 126.97 (C_{para}), 128.03 (C_{meta}), 128.99 (C_{orto}), 129.29 (C'_{meta}), 137.94 (C_{ipso}), 145.61 (C'_{ipso}), 172.59 (CO).

5.1.2.4.5 Preparación del (S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-2-((4-hidroxifenil)amino)acetamida 54E



Bajo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **54E** con un rendimiento químico del 54%, resultando ser un líquido viscoso de color morado oscuro.

Enseguida se describen las señales características del espectro de RMN de ^1H (Figura 24) y se muestran los datos de una forma resumida en la tabla 22.

En un desplazamiento químico de 2.70 y 2.94 ppm se observan dos señales doble de doble que integran para un protón cada una con constantes de acoplamiento de 18.4 y 12.3 Hz, y 18.4 y 6.8 Hz, respectivamente, asignados a los protones del metileno unido al fenilo. Siguiendo a campos bajos, en 3.55 ppm

se encuentra una señal de tipo sistema AB, que integra para dos protones con una J de 15.2 Hz correspondiente a los protones del grupo metileno unido al grupo amino. En un desplazamiento de 3.90 ppm se observa una señal singulete que integra para dos protones asignado CH_2 unido al hidroxilo. Una señal multiplete correspondiente al metino unido al bencilo aparece en 4.18 ppm, con constantes de acoplamiento de 12.3 y 6.8 Hz. En la región de los protones aromáticos, en primera instancia se muestran los protones del anillo disustituido como dos multipletes en un desplazamiento químico de 6.13 y 6.59 ppm que integran para dos protones cada uno y, por último, un multiplete asignado a los cinco protones del anillo monosustituido aparece en un desplazamiento de 7.17 ppm.

Tabla 22. Datos de RMN de ^1H del compuesto **54E**.

δ (ppm)	m	I	J (Hz)	H
2.70	dd	1	18.4, 12.3	CH_2Ph (a)
2.94	dd	1	18.4, 6.8	CH_2Ph (b)
3.55	Sistema AB	2	15.2	CH_2NH
3.90	s	2	-	CH_2OH
4.18	m	1	12.3, 6.8	CHBn
6.13 y 6.59	2m	4	-	$\text{Ar}'\text{-H}$
7.17	m	5	-	Ar-H

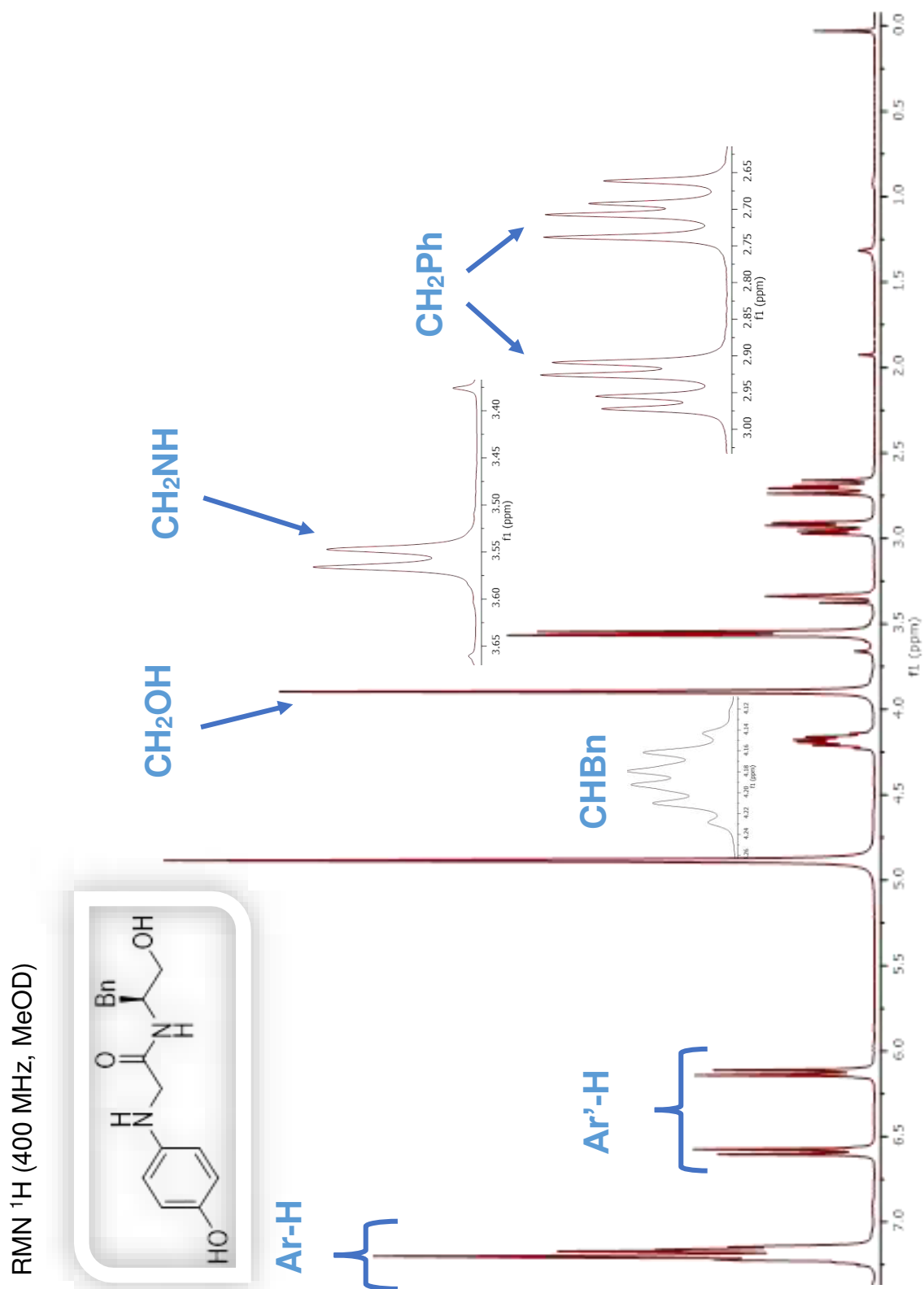
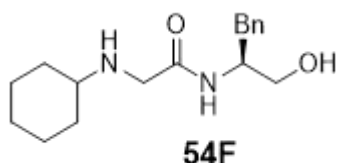


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **54E**.

Por su parte, el espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, MeOD) muestra las siguientes señales: δ 36.62 (CH_2Ph), 53.04 (CH_2CO), 56.64 (CHBn), 63.37 (CH_2OH), 112.50 ($\text{C}'\text{meta}$), 115.67 ($\text{C}'\text{orto}$), 125.86 (Cpara), 127.97 (Cmeta), 128.93 (Corto), 138.31 (Cipso), 140.08 ($\text{C}'\text{ipso}$), 148.99 ($\text{C}'\text{para}$), 172.57 (CO).

5.1.2.4.6 Preparación del (S)-2-(2-(ciclohexilamino)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acetamida 54F



Bajo las condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **54F** con un rendimiento químico del 71%, resultando ser un sólido de color blanco con un punto de fusión de 81-84°C.

Enseguida se describen las señales características del espectro de RMN de ^1H (Figura 25) y se muestran los datos de una forma resumida en la tabla 23.

Entre un desplazamiento químico de 0.90 y 2.27 ppm se encuentran cuatro multipletes que integran para 11 protones correspondientes al anillo del ciclohexilo. Siguiendo a campos bajos, en un desplazamiento de 2.83 ppm se observa un doble de doble el cual integra para uno de los protones del metileno unido al fenilo y tiene constantes de acoplamiento de 18.4 y 11.3 Hz. En 2.97 ppm se encuentra el doble de doble restante del CH_2 unido al fenilo, el cual tiene

constantes de acoplamiento de 8.5 y 18.4 Hz. En 3.25 ppm se observa una señal de tipo sistema AB que integra para dos protones correspondientes al metileno unido al grupo amino con una constante de acoplamiento de 10.9 Hz. En 3.64 y 3.75 se muestran dos dobles de doble que integran para un protón cada uno, con una constante de acoplamiento de 7.9 y 14.9 Hz, y 4.6 y 14.9 Hz, correspondientes al metileno unido al hidroxilo. En un desplazamiento de 4.16 Hz se observa un multiplete asignado al protón del metino unido al grupo bencilo. En la región de los protones aromáticos se observa un multiplete que integra para los cinco protones aromáticos presentes en la molécula. Por último, en un desplazamiento 7.68 ppm se encuentra un doblete que se asigna al protón del grupo amida, el cual tiene una constante de acoplamiento de 8.6 Hz.

Tabla 23. Datos de RMN de ^1H del compuesto **54F**.

δ (ppm)	m	I	J (Hz)	H
0.90 - 2.27	4m	11	-	Ciclohexil
2.83	dd	1	18.4, 11.3	CH_2Ph (a)
2.97	dd	1	18.4, 8.5	CH_2Ph (b)
3.25	Sistema AB	2	10.9	CH_2NH
3.64	dd	1	7.9, 14.9	CH_2OH (a)
3.75	dd	1	4.6, 14.9	CH_2OH (b)
4.16	m	1	-	CHBn
7.28	m	5	-	Ar-H
7.68	d	1	8.6	CONH

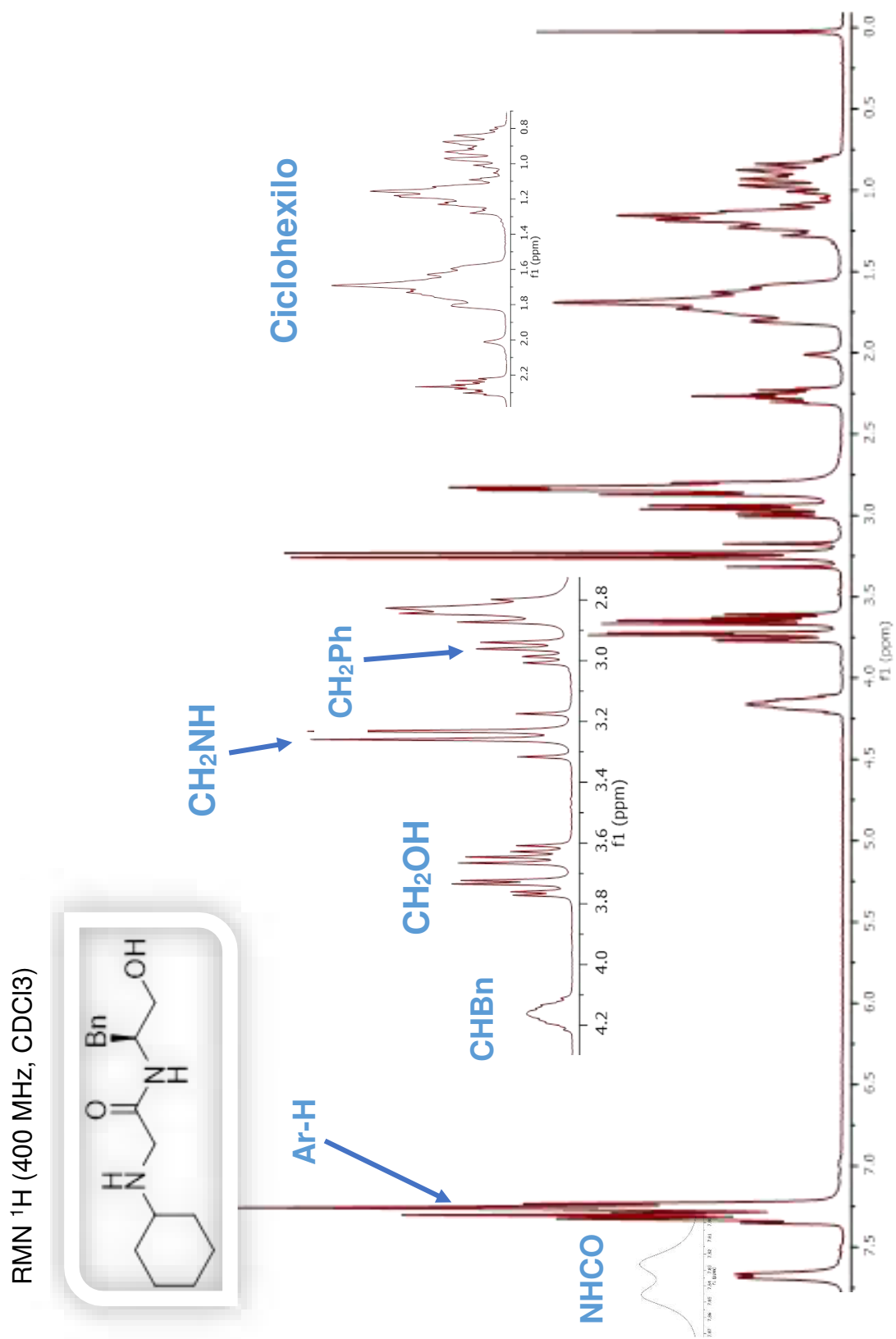


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **54F**.

El espectro de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) mostró las siguientes señales: δ 24.87 (**C**₃), 25.80 (**C**₄), 33.33 (**C**₂), 33.40 (**C**_{2'}), 37.04 (**CH**₂Ph), 49.69 (**CH**₂NH), 53.36 (**CH**Bn), 57.33 (**C**₁), 65.26 (**CH**₂OH), 126.69 (**C***para*), 128.63 (**C***meta*), 129.23 (**C***orto*), 137.59 (**C***ipso*), 173.45 (**CONH**).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución, con la técnica ESI+ muestra que para el compuesto **54F**, de fórmula $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$, el resultado fue de 291.20238 m/z (MH+), mientras que el calculado fue de 291.20278 m/z (MH+).

5.2 Determinación de la actividad citotóxica y anticancerígena de los compuestos sintetizados

5.2.1 Evaluación de la citotoxicidad sobre células Vero

Un primer paso muy importante para la realizar los ensayos biológicos de los compuestos sintetizados es saber cuál es su actividad en células de crecimiento normal y así saber cuáles son los rangos de concentración en los que se pueden probar en las células neoplásicas. Es por esto que inicialmente se hizo un *screening* a la concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, tanto de las moléculas sintetizadas como del fármaco de referencia paclitaxel. Como se puede observar en los datos de la tabla 24 y de manera gráfica en la Figura 26, que la mayoría de los ésteres y las hidroxiamidas muestran una nula citotoxicidad, y que solo los compuestos **53A** y **53E** exhiben una ligera citotoxicidad, con viabilidades del 92.13 ± 1.4 y $82.17 \pm 8.2\%$, respectivamente, aún por debajo del fármaco paclitaxel ($81.43 \pm 14.26\%$). Para refrendar todavía más la baja citotoxicidad, se llevó a cabo

la evaluación de los compuestos ahora a una concentración de 100 µg/mL, obteniendo así nuevamente resultados del 100% para los compuestos **53B**, **53C**, **54A**, **54C**, **54D**, **54E** y **54F**. Los compuestos **53A** (82.02±2.6%), **53D** (90.75±5.6%) y **53F** (90.23±6.6%) mostraron una leve disminución de la viabilidad. De los compuestos sintetizados que resultaron con la mayor actividad en células Vero fueron **53E** (76.76±5.4%) y **54B** (76.45±4.2%), sin embargo, siguen mostrando una menor citotoxicidad que el fármaco paclitaxel (62.86±7.3%).

Estos resultados son quizá el primer reporte de la evaluación citotóxica de compuestos del tipo esterificado como los presentados en este proyecto y refrendan la baja citotoxicidad de las hidroxiamidas del trabajo de Avalos *et al*^{β3}.

Tabla 24. Porcentajes de viabilidad de los compuestos **53** y **54 A-F** y paclitaxel en células Vero.

Compuesto	Viabilidad celular (%) ± D. E.	
	50 µg/mL	100 µg/mL
53A	92.13±1.4	82.02±2.6
53B	100.01±3.0	98.81±2.6
53C	100.57±2.5	105.01±2.6
53D	109.86±5.1	90.75±5.6
53E	82.17±8.2	76.76±5.4
53F	106.39±9.9	90.23±6.6
54A	104.10±4.5	100.91±4.9
54B	101.35±2.5	76.45±4.2
54C	105.45±2.9	103.62±2.7
54D	103.25±2.7	106.30±3.3
54E	98.55±5.9	102.37±6.0
54F	101.89±5.3	94.38±9.2
Paclitaxel	81.49±14.26	62.86±7.3

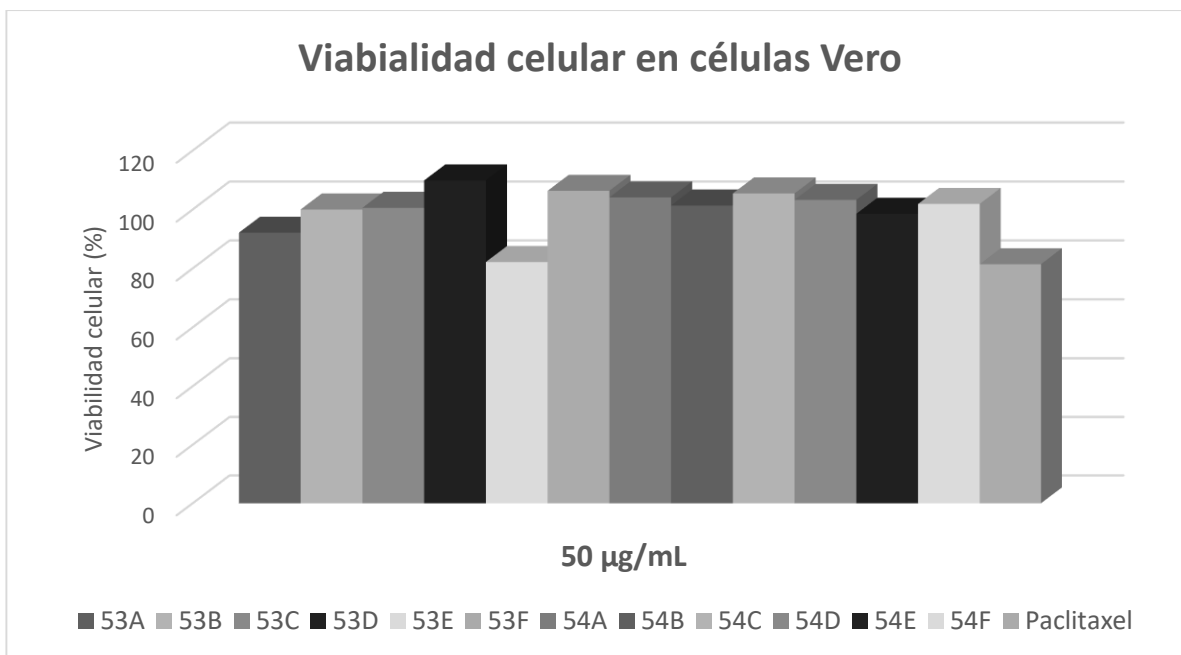


Figura 26. Porcentajes de viabilidad celular de los compuestos en células Vero.

4.2.2 Actividad antineoplásica en la línea celular SiHa

Una vez comprobada la citotoxicidad de los compuestos, se procedió a evaluar la actividad antineoplásica de los mismos de igual manera que con las células Vero, haciendo un *screening* a la concentración de 50 µg/mL. Como se puede observar en los resultados (Tabla 25, Figura 27), solo el compuesto **53F** muestra una relativa actividad anticancerígena con una actividad del 56% siendo mejor que la actividad mostrada por el fármaco de referencia (75%). Es por esto, y tomando en cuenta la baja citotoxicidad de los compuestos, que se llevó a cabo un nuevo barrido, pero ahora a una concentración de 100 µg/mL, donde el compuesto **53F** muestra la actividad más alta (67%), así como también los

compuestos **53D** (60%) y **54B** (65%), siendo mayores que el resultado obtenido por el paclitaxel (50%).

Tabla 25. Viabilidad celular de ésteres, hidroxiamidas y paclitaxel en células SiHa.

Compuesto	Viabilidad \pm D. E.	
	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
53A	83.51 \pm 9.4	77.65 \pm 5.7
53B	94.42 \pm 10.0	87.98 \pm 4.6
53C	79.26 \pm 9.7	67.9 \pm 12.1
53D	79.24 \pm 10.1	40.42 \pm 11.5
53E	94.31 \pm 3.7	68.30 \pm 6.5
53F	56.17 \pm 6.2	33.13 \pm 2.5
54A	120.12 \pm 14.2	99.84 \pm 12.6
54B	109.81 \pm 10.5	35.08 \pm 5.1
54C	113.51 \pm 8.6	100 \pm 14.7
54D	105.96 \pm 7.4	91.69 \pm 8.0
54E	100.04 \pm 9.7	103.24 \pm 7.7
54F	105.51 \pm 3.87	84.54 \pm 4.3
Paclitaxel	75.29 \pm 12.8	50.57 \pm 9.0

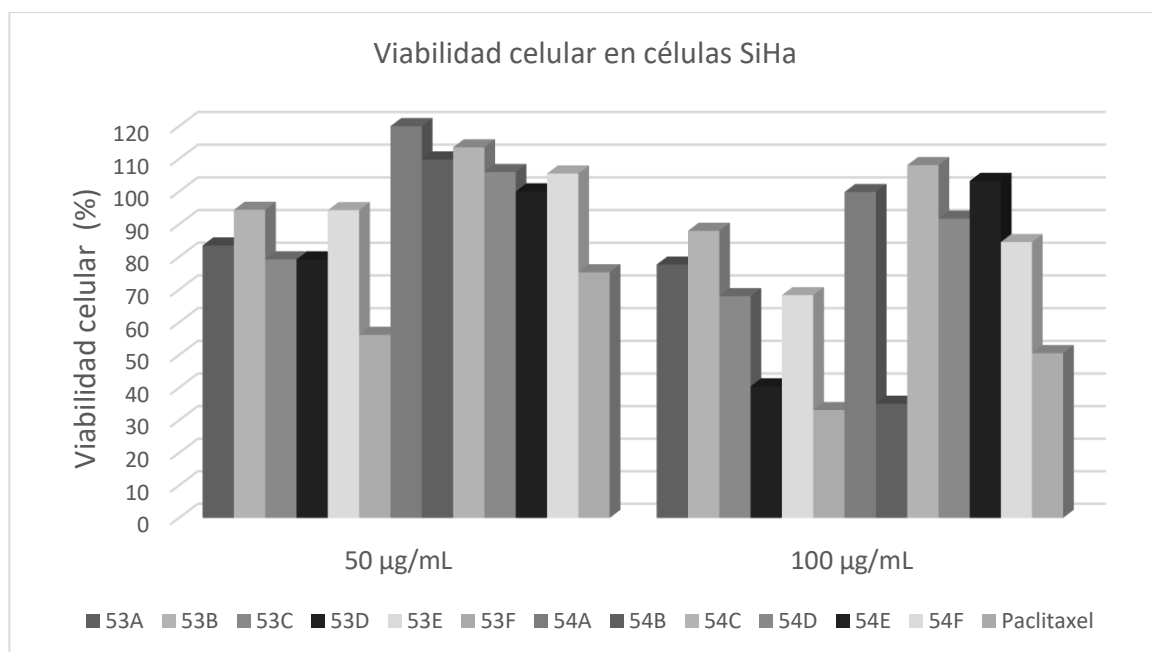


Figura 27. Viabilidades celulares de los compuestos evaluados en células SiHa.

A los compuestos con mayor actividad en la línea celular SiHa (**53D**, **53F**, **54B** y paclitaxel) se les procedió a realizar una dilución en serie (Tabla 26, Figura 28) con el objetivo de calcular su IC₅₀ (IC₅₀±D. E.) los cuales resultaron de 79.63±3.2, 74.40±8.8, 92.49±3.8 y 78.6±5.6 µg/mL, respectivamente.

Tabla 26. Dilución seriada de los compuestos más activos en células SiHa.

Compuesto	53D	53F	54B	Paclitaxel
Dilución (µg/mL)	% Viabilidad celular r ± D. E.			
140	23.88±0.9	25.08±3.0	25.43±2.2	30.80±4.0
70	74.63±6.7	50.26±4.6	100.70±5.39	50.24±9.0
35	86.12±5.9	81.71±5.7	107.06±5.0	78.62±12.8
17.5	101.08±8.1	98.54±8.0	112.87±4.0	90.90±9.4
8.75	103.05±11.5	102.83±6.9	110.54±8.4	88.37±6.0
4.375	104.31±8.2	97.41±8.0	113.57±6.6	79.20±5.95

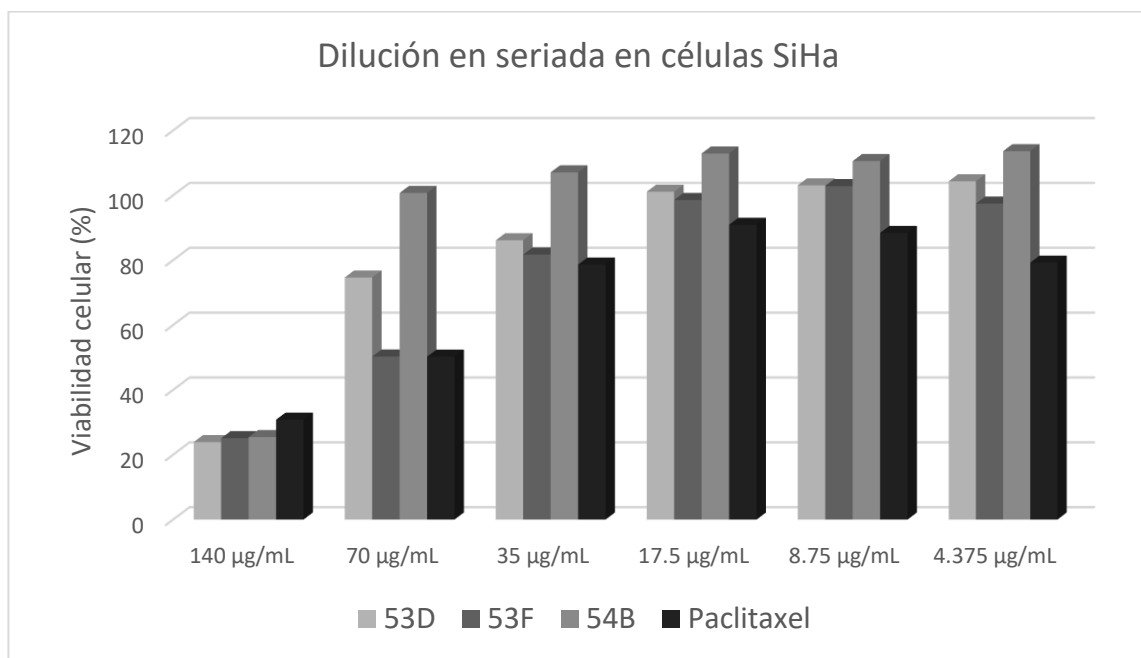


Figura 28. Dilución seriada de los compuestos más activos en células SiHa.

4.2.3 Actividad antineoplásica en la línea celular PC-3

De igual manera que la citotoxicidad y la evaluación de la actividad anticancerígena en SiHa, en la línea celular PC-3 se hizo un *screening* a 50 µg/mL y 100 µg/mL, tanto de los compuestos como del fármaco de referencia (Tabla 27, Figura 29). Como se puede observar, los compuestos esterificados, destacando a los compuestos **53B** (32%) y **53F** (50%), resultaron más activos que las hidroxiamidas a la concentración de 50 µg/mL y alrededor de la actividad mostrada por el paclitaxel (42%). A una concentración de 100 µg/mL se resaltan los valores obtenidos por los ésteres **53A** (36%), **53B** (30%), **53C** (48%), **53D** (23%) y **53F** (43%), además de la única hidroxiamida **54B** (32%), siendo nuevamente comparables con el fármaco de referencia (34%).

Tabla 27. Viabilidad celular de los compuestos **53A-F**, **54A-F** y paclitaxel en células PC-3.

Compuestos	Viabilidad celular ± D. E.	
	50 µg/mL	100 µg/mL
53A	62.61±6.5	36.09±8.1
53B	32.41±6.4	30.77±3.6
53C	73.18±7.6	47.99±4.5
53D	83.19±8.8	23.19±1.6
53E	111.29±7.2	67.04±10.5
53F	50.27±6.54	43.73±5.17
54A	115.28±4.4	128.54±5.8
54B	119.65±9.2	32.78±2.2
54C	130.63±6.69	131.83±6.0
54D	125.07±8.7	92.61±6.62
54E	114.59±9.3	105.04±6.7
54F	109.63±8.9	106.67±8.58
Paclitaxel	42.28±8.53	34.61±4.64

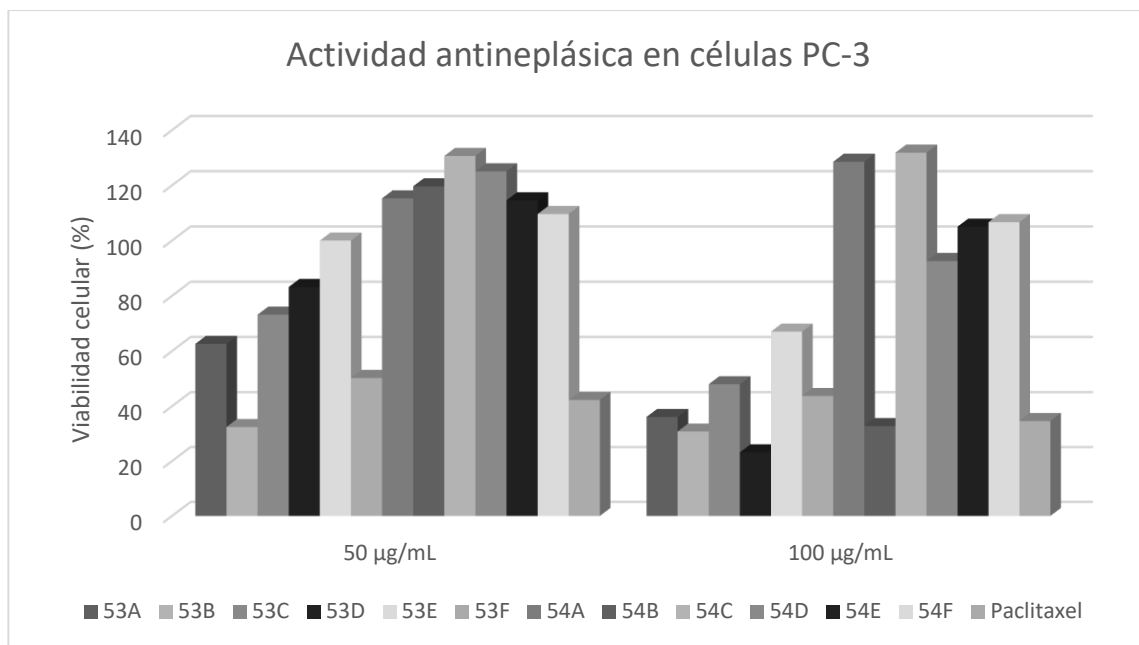


Figura 29. Actividad anticancerígena de los compuestos sintetizados y paclitaxel.

Los compuestos **53A-D** y **53F** fueron tomados para realizar la dilución en serie para la determinación de la IC_{50} en las células PC-3, resultando en 42.25 ± 5.8 , 34.82 ± 0.4 , 72.28 ± 12.41 , 46.08 ± 6.05 y 42.08 ± 8.27 , respectivamente. Al fármaco paclitaxel también se le realizó la dilución seriada; sin embargo, no fue posible calcular su IC_{50} . Los datos de las diluciones se muestran a continuación en la tabla 28, así como de manera gráfica en la figura 30.

Tabla 28. Dilución en serie de los compuestos **53A-D** y **53F**

Compuesto	53A	53B	53C	53D	53F
Dilución	Viabilidad celular \pm D. E.				
140 $\mu\text{g/mL}$	6.29 \pm 3.0	23.34 \pm 2.3	27.45 \pm 0.7	7.42 \pm 1.4	15.26 \pm 3.9
70 $\mu\text{g/mL}$	46.12 \pm 5.7	34.73 \pm 2.5	47.65 \pm 4.95	51.08 \pm 8.4	25.70 \pm 2.9
35 $\mu\text{g/mL}$	52.42 \pm 3.4	47.59 \pm 4.89	63.48 \pm 4.32	60.06 \pm 6.4	46.27 \pm 6.9
17.5 $\mu\text{g/mL}$	74.26 \pm 7.3	63.19 \pm 3.39	93.38 \pm 7.3	74.20 \pm 7.4	80.55 \pm 6.8
8.75 $\mu\text{g/mL}$	90.12 \pm 6.1	85.50 \pm 6.6	105.90 \pm 4.84	91.64 \pm 6.8	95.74 \pm 5.92

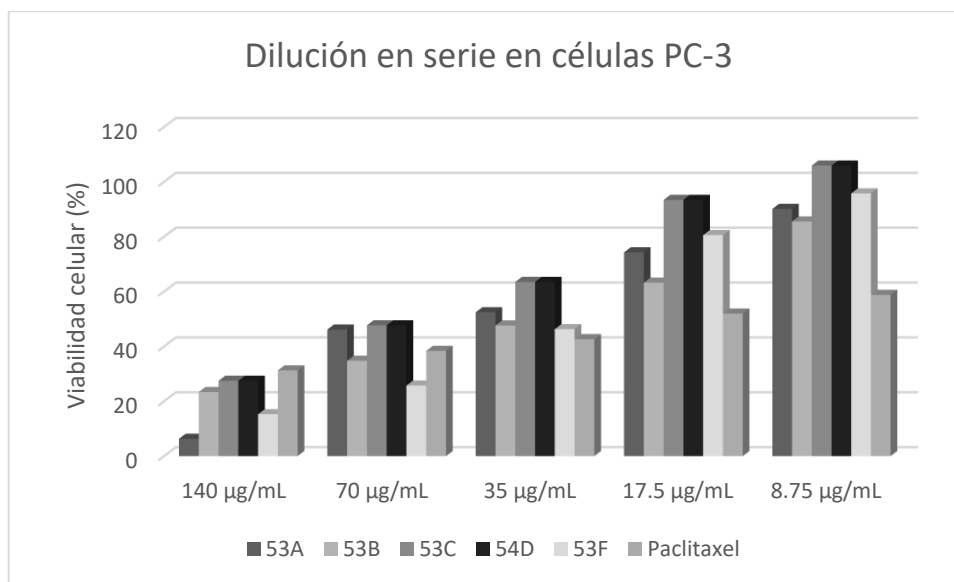


Figura 30. Dilución seriada de los compuestos más activos en células PC-3

En base a los resultados obtenidos con respecto a la citotoxicidad de las moléculas de prueba, así como el fármaco de referencia paclitaxel, es de llamar la atención los valores de IC_{50} obtenidos bajo las condiciones de estudio, los cuales se muestran elevados en el caso del paclitaxel; sin embargo haciendo una revisión literaria sobre resultados de la actividad antineoplásica de este fármaco en diversas células neoplásicas se encuentra que los valores oscilan en concentraciones del rango de μM , inclusive algunos autores publican IC_{50} en nM ,

como se muestra en la tabla 29, en donde se resaltan la actividad en las células HeLa y PC-3, además de la citotoxicidad en células Vero.

Tabla 29. Actividad citotóxica y antineoplásica reportada para paclitaxel en diversas líneas celulares.

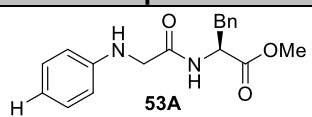
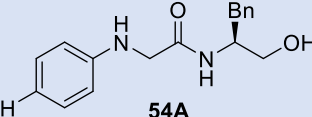
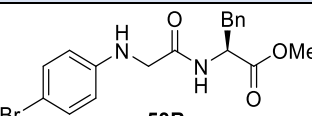
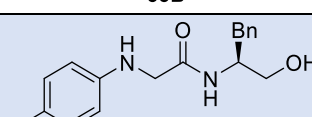
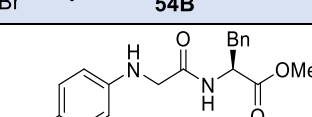
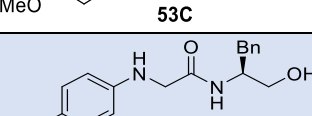
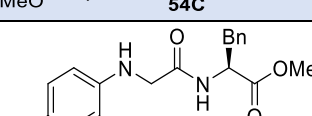
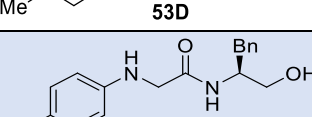
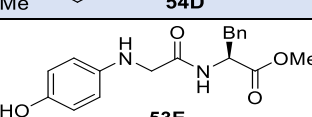
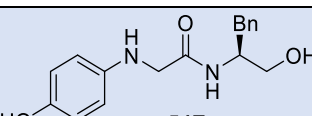
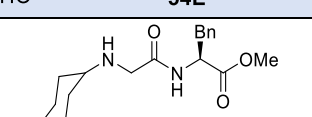
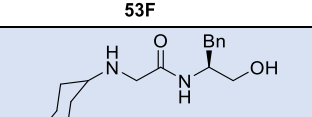
		Liebmann y cols. (1993)	Baguley et al. (1995)	Fang y cols. (2011)
	Línea celular	IC ₅₀		
Adenocarcinoma de cérvix	HeLa	2.6 nM	-	5.01 µM
Adenocarcinoma de pulmón	A549	4.1 nM	-	6.18 µM
	H23	-	2.6 nM	-
Adenocarcinoma de mama	MCF-7	2.5 nM	-	5.98 µM
Adenocarcinoma de colon	HT-29	2.8 nM	-	-
	HCT-8	-	-	5.06 µM
Carcinoma de ovario	OVG-1	4.0 nM	-	-
	OVCAR-4	-	2.5 nM	-
Melanoma	NZM1	-	2.7 nM	-
Carcinoma de próstata	PC-3	-	-	3.98 µM
Riñón normal de mono verde	Vero	-	-	0.92 µM

Como se puede observar, existe una clara diferencia entre los resultados obtenidos por Liebmann y cols., Fan y cols. y los presentados en este trabajo en cuanto a la actividad producida por el fármaco paclitaxel. Esto puede deberse a diversas condiciones: la concentración evaluada, donde altas concentraciones (1,000 -10,000 nM) ocasionan que la actividad se vuelva independiente de la dosis y el efecto antineoplásico se reduzca de manera considerable hasta perder la efectividad; la fase de crecimiento celular en la que se evalúa la actividad del fármaco, en donde el paclitaxel, debido a su mecanismo de acción, actúa de

mejor manera cuando las células son expuestas en la fase logarítmica de crecimiento en lugar de la fase de meseta o estacionaria; el tiempo de exposición, donde tiempos prolongados de exposición, en la fase celular de crecimiento idónea, beneficia a la acción del fármaco; de igual manera, la inherencia propia de cada línea celular determina el posible efecto que pueda llegar a tener el fármaco³⁶⁻³⁸.

Considerando estas posibilidades y partiendo de los resultados obtenidos en los experimentos realizados, la tabla 30 permite deducir que los compuestos con un sustituyente polar en posición *para* presenta mayor actividad citotóxica en las células Vero, siendo más visible en los compuestos de tipo éster que en las hidroxiamidas. Así mismo, los sustituyentes en posición *para* en los compuestos esterificados toman importancia en la actividad anticancerígena, en donde, para las células SiHa, los sustituyentes que aumentan la lipofílicidad y son poco electronegativos mejoran la actividad inclusive por encima del paclitaxel. En cuanto a la línea PC-3, el compuesto **53B** resultó con mejor actividad que el fármaco de referencia, lo cual hace pensar que los ésteres con grupos sustituyentes que no formen puentes de hidrógeno presuntamente favorecen la actividad anticancerígena.

Tabla 30. LogP y porcentajes de viabilidad de ésteres e hidroxiamidas amino sustituidas **53** y **54 A-F** (50 µg/mL).

Compuesto	LogP	Células Vero	Células SiHa	Células PC-3
 53A	2.08	92.13±1.48	83.51±9.4	62.61±6.5
 54A	1.86	104.10±4.52	120±14.2	115.28±4.4
 53B	2.91	100.01±3.05	94.42±10.0	32.41±6.4
 54B	2.69	101.35±2.55	109.82±10.5	119.65±9.2
 53C	1.95	100.57±2.59	79.26±9.7	73.18±7.6
 54C	1.73	105.45±2.98	113.52±8.6	130.63±6.69
 53D	2.56	109.87±5.14	79.24±10.1	83.19±8.8
 54D	2.34	103.26±2.74	105.96±9.7	125.08±8.7
 53E	1.69	82.182±8.20	94.31±3.7	111.29±7.2
 54E	1.47	98.56±5.91	100.04±3.6	114.59±9.3
 53F	4.07	106.34±9.98	56.17±6.2	50.27±6.54
 54F	3.85	94.38±5.39	105.52±3.87	109.63±8.9
Paclitaxel	3.2	81.47±14.26	75.29±12.8	42.28±8.53

5.3 Determinación de la posible inducción de apoptosis

Conociendo los resultados de citotoxicidad obtenidos, se procedió a seleccionar los compuestos para determinar su actividad apoptótica bajo la técnica de caspasa-3, así como la línea celular más adecuada para este estudio. Por lo que se decidió utilizar la línea celular PC-3, ya que fue ésta donde se presentó una actividad citotóxica más notable, así como los compuestos **53A**, **53B** y **53F**, los cuales corresponden a los más prometedores de la serie evaluada, cabe destacar que el fármaco de referencia utilizado en esta evaluación es podofilotoxina, el cual es un fuerte inductor de apoptosis. La concentración utilizada de cada uno de los compuestos fue establecida en los 45 µg/mL, puesto que sus IC₅₀ descritos anteriormente rondan en esa concentración.

En la tabla 31, se reportan las intensidades de fluorescencia presentadas por cada uno de los compuestos evaluados, donde se puede observar que los tres compuestos se presentan como mejores inductores de apoptosis que el fármaco de referencia podofilotoxina (0.66 ± 0.4), con valores de 3.47 ± 0.3 (**53A**), 3.07 ± 0.2 (**53B**) y 1.194 ± 0.2 (**53F**), por lo que se puede inferir que la muerte celular ocasionada por los compuestos es llevada a cabo mediante el proceso de apoptosis.

Tabla 31. Determinación de la inducción de apoptosis.

Compuesto	Intensidad de fluorescencia±D. E.
53A	3.47 ± 0.3
53B	3.07 ± 0.2
53F	1.19 ± 0.2
Podofilotoxina	0.66 ± 0.4

Capítulo 6

6. Conclusiones

1.- La reacción de sustitución nucleofílica con derivados de aminas sustituidas sobre bromoamidas genera rendimientos químicos que van de bajos a moderados (32-74%), mejorando considerablemente con la presencia de grupos electrodonadores en posición *para* de las anilinas.

2.- La reducción de ésteres metílicos con NaBH₄, procede adecuadamente con rendimientos que van del 54 al 95%, evitando así una posible reducción secundaria del grupo amida, como podría presentarse en la utilización de un agente de reducción fuerte como el LiAlH₄, como se reporta en la literatura para este tipo de ésteres.

3.- Los fenilalaninatos de metilo y las β-hidroxiámidas no son citotóxicas sobre la línea celular Vero a una concentración de 50 µg/mL.

4.- En general, los fenilalaninatos de metilo y las β-hidroxiámidas son menos citotóxicos que el fármaco de referencia paclitaxel a las concentraciones de 50 y 100 µg/mL, donde solo el compuesto **53E** resultó tener una citotoxicidad cercana a la del paclitaxel.

5.- Los ésteres **53C**, **53D**, y **53F** mostraron una actividad considerable en las células SiHa, obteniendo mayores resultados que el paclitaxel.

6.- En las células de cáncer de próstata PC-3, los ésteres **53A**, **53F** y **53B** fueron los compuestos más activos, en donde este último resultó con mayor actividad antineoplásica que el fármaco paclitaxel.

7.- En general, los ésteres resultaron con una mayor actividad antineoplásica que las β -hidroxiamidas en las dos líneas celulares.

8.- La línea celular PC-3 resultó ser más sensible ante los compuestos sintetizados que la línea celular SiHa.

9.- De acuerdo con los antecedentes y los resultados obtenidos, la actividad en las líneas células Vero, SiHa y PC-3 por parte del paclitaxel a concentraciones altas es independiente de la dosis.

10.- Los compuestos **53A**, **53B** y **53F** mostraron tener una inducción de apoptosis inclusive más fuerte que el fármaco la podofilotoxina, utilizada como referencia, a una concentración de 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en las células PC-3.

Con base en los resultados obtenidos, la hipótesis planteada en este proyecto se acepta, ya que se obtuvieron compuestos con mayor actividad y menor citotoxicidad que el fármaco de referencia, bajo las condiciones de estudio descritas en este trabajo.

Referencias

1. Cáncer (<http://www.who.int/topics/cancer/es>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
2. OMS | Cáncer. (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Accesado 03 de octubre de 2018)
3. Información Estadística | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx. (<http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/informacion-estadistica>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
4. Cáncer de próstata. (<http://www.imss.gob.mx/salud-en-linea/cancer-prostata>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
5. Tipos de cáncer. (<https://www.aecc.es/SobreElCancer/elcancer/Paginas/Tiposdecancer.aspx>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
6. Tipos de tratamiento - National Cancer Institute. (<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
7. ¿Qué es la radioterapia? ¿Cuándo se usa? (<http://www.cancer.org/espanol/servicios/tratamientosyefectossecundarios/radioterapia/radioterapia-una-guia-para-los-pacientes-y-sus-familias-what-is-radiation-therapy>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
8. Mecanismos de muerte celular: apoptosis y necrosis. (http://www.anestesia.org.ar/search/articulos_completos/1/1/284/c.php. Accesado: 03 de octubre de 2018)
9. Apoptosis | CancerQuest (<https://www.cancerquest.org/cancer-biology/apoptosis>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
10. Yonekawa, T. & Thorburn, A. Autophagy and Cell Death. *Essays Biochem.* **2013**, 55, 105–117.
11. Nikolettópoulou, V. *et al.* Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2013**, 1833, 3448–3459.
12. Shimizu, S. *et al.* Autophagic cell death and cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2014**, 15, 3145–3153.
13. Benedí J., Gomez del R., M. A. Fármacos antineoplásicos (I). *Farm. Prof.* **2006**, 20.
14. Benedí J., Gómez del R., M. A. Fármacos antineoplásicos (y II). *Farm. Prof.* **2006**, 20.

15. Pazos, A. Acciones de los fármacos. *Farmacología Humana*. **2008**, 7–8.
16. Sánchez-Suárez, P. & Benítez-Bribiesca, L. Procesos Biomoleculares de la Resistencia a Drogas. *Cancerología*. **2006**, 1, 187–199.
17. Cascales Angosto, M. Mecanismos moleculares de la multirresistencia. *Innovaciones en cáncer*. **2011**, 263–298.
18. Side effects of chemotherapy - Canadian Cancer Society (<http://www.cancer.ca/en/cancer-information/diagnosis-and-treatment/chemotherapy-and-other-drug-therapies/chemotherapy/side-effects-of-chemotherapy/?region=sk>. Accesado: 03 de octubre de 2018)
19. Ferreiro, J., García, J. L., Barceló, R. & Rubio, I. Quimioterapia: efectos secundarios. *Gac. Médica Bilbao*. **2003**, 100, 69–74.
20. Azizoglu, M. *et al.* A series of novel β -hydroxyamide based catalysts for borane-mediated enantioselective reductions of prochiral ketones. *Tetrahedron Asymmetry*. **2017**, 27, 614–622.
21. Serafini, M. *et al.* The use of 2-hydroxymethyl benzoic acid as an effective water surrogate in the Passerini reaction: A straightforward access to α -hydroxyamides. *Tetrahedron Lett.* **2017**, 58, 4786–4789.
22. Osguthorpe, D. J. & Hagler, A. T. Mechanism of androgen receptor antagonism by bicalutamide in the treatment of prostate cancer. *Biochemistry*. **2011**, 50, 4105–4113.
23. Schenck, H. A. *et al.* Design, synthesis and evaluation of novel hydroxyamides as orally available anticonvulsants. *Bioorganic Med. Chem.* **2004**, 12, 979–993.
24. Kuduk, S. D. *et al.* Bradykinin B1receptor antagonists: An α -hydroxy amide with an improved metabolism profile. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 5107–5110.
25. Lee, M. *et al.* Roxatidine attenuates mast cell-mediated allergic inflammation via inhibition of NF- κ B and p38 MAPK activation. *Sci. Rep.* **2017**, 7, 1–12.
26. Ahmad, S., *et al.* Hydroxyamide derived aminodiols as potent inhibitors of HIV protease. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, 5, 1729–1734.
27. Pirrung, M. C. & Tumey, L. N. Oxazoline synthesis from hydroxyamides by resin capture and ring-forming release. *J. Comb. Chem.* **2000**, 2, 675.
28. Mamaghani, M., *et al.* An efficient synthesis of new chiral oxazolines. *J. Iran. Chem. Soc.* **2010**, 7, 972–977.
29. Ordóñez, M. *et al.* A convenient method for the preparation of chiral phosphonoacetamides and their Horner-Wadsworth-Emmons reaction. *Tetrahedron Asymmetry*. **2007**, 18, 2427–2436.

30. Abdel-Bary, H. M. *et al.* Synthesis and radioiodination of new dipeptide coupled with biologically active pyridine moiety. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2013**, 298, 9–18 .
31. Moraski, G. C. *et al.* Structure-activity relationship of new anti-tuberculosis agents derived from oxazoline and oxazole benzyl esters. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 1703–1716.
32. Djurendić, E., Vujašković, D., Sakač, M. & Ajduković, J. Synthesis and biological evaluation of some new 2-oxazoline and salicylic acid derivatives. *Arkivoc*, **2011**, 83–102.
33. Avalos-Alanís, F. G. *et al.* Synthesis, antimycobacterial and cytotoxic activity of α,β -unsaturated amides and 2,4-disubstituted oxazoline derivatives. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2017**, 27, 821–825.
34. Boncel, S., Saletra, K., Hefczyc, B. & Walczak, K. Z. Michael-type addition of azoles of broad-scale acidity to methyl acrylate. *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, 7, 173–178.
35. Boechat, N. *et al.* A simple reduction of methyl aromatic esters to alcohols using sodium borohydride – methanol system. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 6021–6022.
36. Liebmann, J. E. *et al.* Cytotoxic studies of paclitaxel (Taxol) in human tumour cell lines. *Br. J. Cancer.* **1993**, 68, 1104–1109.
37. Baguley, B. C. *et al.* Resistance mechanisms determining the in vitro sensitivity to paclitaxel of tumour cells cultured from patients with ovarian cancer. *Eur. J. Cancer.* **1995**, 31A, 230–7.
38. Fang, W., Liu, S. & Nie, Y. Anticancer activity of chamaejasmine: Effect on tubulin protein. *Molecules* **2011**, 16, 6243–6254.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Juan José de Jesús Carrizales Castillo

Candidato para obtener el grado de **Maestría en Ciencias con Orientación en Farmacia**

Tesis: Síntesis y caracterización de nuevos ésteres y β -hidroxiamidas amino sustituidas derivadas de *L*-fenilalanina: Determinación de su actividad antineoplásica y citotóxica in vitro

Edad: 24 años

Campo de estudio: Área de la Salud

Biografía

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, México el 17 de noviembre de 1993, hijo de José Isabel Carrizales Cárdenas y Juana Castillo Álvarez

Educación

Egresado de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León en el año 2016.