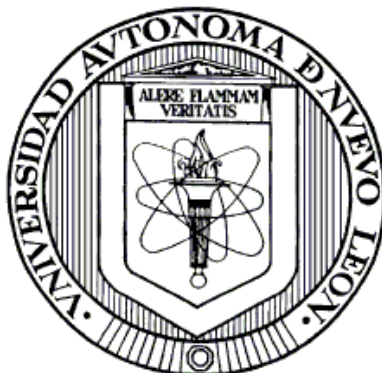


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE OXAZOLINAS Y AMIDAS QUIRALES  
 $\alpha,\beta$ -INSATURADAS: EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO *IN VITRO*.**

Por:

Q.F.B. Francisco Guadalupe Avalos Alanís

Como requisito parcial para obtener el Grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS con orientación en

Farmacia

Julio, 2011

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE OXAZOLINAS Y AMIDAS  
QUIRALES  $\alpha,\beta$ -INSATURADAS: EVALUACIÓN DEL EFECTO  
CITOTÓXICO *IN VITRO*.**

Aprobación de la tesis:

---

**Dr. Eugenio Hernández Fernández.  
Director de Tesis.**

---

**Dra. María del Rayo Camacho Corona.  
Comité Tutorial.**

---

**Dra. Yolanda Araceli Gracia Vásquez.  
Comité Tutorial.**

---

**Dr. Jesús Alberto Gómez Treviño.  
Comité Tutorial.**

---

**Dra. Ma. Teresa Garza González.  
Subdirectora de Estudios de Posgrado.**

## RESUMEN

Francisco Guadalupe Avalos Alanís  
Universidad Autónoma de Nuevo León.  
Facultad de Ciencias Químicas.

Fecha de Graduación: Julio, 2011

Título del Estudio: **SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE OXAZOLINAS Y AMIDAS QUIRALES  $\alpha,\beta$ -INSATURADAS: EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO *IN VITRO*.**

Número de páginas:

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

### Área de Estudio: Farmacia

- ❑ **Propósito y Método del Estudio:** La síntesis orgánica asimétrica es una disciplina ampliamente utilizada para la preparación y desarrollo de moléculas con propiedades químicas y farmacológicas diversas. Por lo tanto, en el presente proyecto de tesis se propuso llevar a cabo el diseño, síntesis y caracterización química de oxazolininas y amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas, con potencial aplicación como nuevos fármacos para el tratamiento de cáncer. Utilizando para ello la técnica de WST-1 para la determinación de la viabilidad celular.

### Contribuciones y Conclusiones:

Se logró obtener 2 clorhidratos, 10 amidas y 11 amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas y una oxazolinina mediante síntesis orgánica, las cuales fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR); además, se probó la actividad citotóxica de 9 compuestos en dos líneas celulares cancerígenas HELA (cáncer de cérvix) y MCF-7 (cáncer de mama), observándose actividad principalmente en los compuestos **44**, **45**, **49e** y el **50d** contra la línea celular HeLa, mientras que contra la línea celular MCF-7 no se observa actividad relevante.

FIRMA DEL ASESOR: \_\_\_\_\_  
Dr. Eugenio Hernández Fernández

## AGRADECIMIENTOS

Para que fuera posible el desarrollo y término de este proyecto fue de suma importancia, las cooperaciones académicas y personales, que influenciaron en el proyecto o bien en mi persona, facilitando en gran manera el andar del proyecto durante estos 2 años.

Primeramente quisiera agradecer a Dios por permitirme seguir aquí, y disfrutar al máximo estos 2 años; a toda mi familia, por su gran apoyo, amor, comprensión, paciencia y confianza en mí. Principalmente a mi mamá Enedelia Alanís, mi papá Francisco Avalos y mi gran hermana Mariela Avalos, que compartieron conmigo las etapas buenas y las difíciles, superadas durante el proyecto. Gracias por ser tan incondicionales. Los amo a los tres.

Me gustaría agradecer también a mi asesor el Dr. Eugenio Hernández Fernández, por su gran dedicación, respeto y paciencia, hacia mí persona, y hacia el proyecto. Por ser tan profesional y a la vez un buen amigo, cuando se le necesitaba. Por no dejarme sólo y ayudarme siempre que se lo solicitaba.

Gracias por ser “Tan Positivo”.

Quisiera también agradecer, a todos los doctores que de alguna u otra manera estuvieron presentes apoyándome en este proyecto para enriquecerlo, como lo son: Dra. Pilar Carranza, Dra. Selene Lagunas, Dr. Mario Ordoñez, Dr. Oscar García, Dr. Isaías Balderas, Dr. Alberto Gómez, Dra. Yolanda Gracia, Dra. María del Rayo Camacho, Dr. Ezequiel Viveros, Gracias por compartir sus conocimientos.

Una parte muy importante para mí, son los amigos, y en esta etapa de mi vida, me di cuenta de lo afortunado que soy por contar con personas tan valiosas a mi alrededor, que siempre estuvieron ahí, cuando más los necesitaba, que no me dejaron solo en los malos momentos, que me incluyeron en su grupo de amistades muchas gracias, Laura Villarreal, Erika Loreda, Karen Ontiveros, Misael Saldaña, Darío Zamora, Nallely Sandoval, Olivia Flores, Saul Ovalle, Aided, Anel, Sandra, Selene, Víctor.

Gracias, Selene Lagunas, Javier, José Luis, Miguel, por arroparme sin hacer ningún cuestionamiento en esos tres meses que pase con ustedes haya en Cuernavaca, muchas gracias.

Gracias JARD, aunque haya sido poco tiempo.

Quisiera hacer también un gran agradecimiento a la Universidad Autónoma de Nuevo León, así como a la Facultad de Ciencias Químicas y a sus autoridades, por todos los bienes proporcionados, así como el apoyo para la realización de este proyecto.

Además quisiera agradecer a CONACYT y a PAICYT por el apoyo financiero otorgado.

## DEDICATORIA

Quiero dedicar esta tesis, a TODA mí FAMILIA.

A todas aquellas personas que confían en mí.

Todas aquellas personas, que me aman.

Todas aquellas personas que me aprecian.

Todas aquellas personas, que son mi ejemplo a seguir.

Todas aquellas personas que están cerca de mí.

A todos los que me han enseñado, y ayudado a crecer y ser mejor cada día.

## TABLA DE CONTENIDO

Contenido	Página
<b>Capítulo 1</b> .....	1
1. Introducción.....	1
1.1 Cáncer.....	1
1.1.1 Definición de Cáncer.....	1
1.1.2 Tipos de Cáncer.....	1
1.1.3 Mecanismo de Muerte Celular.....	3
1.1.4 Clasificación de Fármacos Antineoplásicos.....	4
1.2 Fármacos.....	8
1.2.1 Interacciones.....	8
1.2.2 Configuración Absoluta.....	11
1.2.3 Ejemplos de la Importancia de la Configuración Absoluta.....	12
<b>Capítulo 2</b> .....	14
2. Antecedentes.....	14
2.1 Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas y oxazolinas.....	14
2.1.1 Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas.....	14
2.1.2 Oxazolinas.....	18
<b>Capítulo 3</b> .....	24
3.1 Hipótesis.....	24
3.2 Objetivo General.....	24
3.3 Objetivos Específicos.....	24
<b>Capítulo 4</b> .....	25
4. Metodología Experimental.....	25
4.1 Información General.....	25
4.2 Métodos Sintéticos.....	26
4.2.1 Procedimiento General para la Preparación del Clorhidrato de Éster Metílico.....	26
4.2.2 Preparación del Clorhidrato de la (S)-2-amino-2-fenilacetato de	

metilo.....	27
4.2.3 Preparación del Clorhidrato de la (S)-2-amino-3-fenilpropanoato de metilo.....	27
4.2.4 Procedimiento General para la Preparación de la Bromoamida de Éster Metílico.....	28
4.2.5 Preparación de (S)-2-(2-bromoacetamido)-2-fenilacetato de metilo.....	29
4.2.6 Preparación de (S)-2-(2-bromoacetamido)-3-fenilpropanoato de metilo.....	29
4.2.7 Procedimiento General para la Preparación de la Fosfonamida de Éster Metílico.....	30
4.2.8 Preparación de (S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-2-fenilacetato de metilo.....	30
4.2.9 Preparación de (S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-3-fenilpropanoato de metilo.....	31
4.2.10 Procedimiento General para la Preparación del Alcohol de Fosfonamida.....	31
4.2.11 Preparación de (S)-2-((2-hidroxi-1-feniletíl)amino)-2-oxoetil fosfonato de dimetilo.....	32
4.2.12 Preparación de (S)-2-((1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il) amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.....	33
4.2.13 Procedimiento General para la Preparación de la Fosfobromoamida y la Fosfoiodoamida.....	33
4.2.14 Procedimiento para la preparación de (S)-2-((2-bromo-1-feniletíl)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.....	34
4.2.15 Preparación de (S)-2-((1-bromo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)fosfonato) de dimetilo.....	34
4.2.16 Preparación de (S)-2-((2-iodo-1-feniletíl) amino)-oxoetil)fosfonato de dimetilo.....	35
4.2.17 Preparación de (S)-2-((1-iodo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.....	35



4.2.18 Procedimiento General para la Preparación de los sistema $\alpha,\beta$ -insaturado.....	36
4.2.19 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )- <i>N</i> -(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-clorofenil)acrilamida).....	37
4.2.20 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )- <i>N</i> -(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)acrilamida.....	37
4.2.21 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )- <i>N</i> -(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)acrilamida.....	38
4.2.22 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S</i> )- <i>N</i> -(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida.....	38
4.2.23 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )-3-(4-clorofenil)- <i>N</i> -(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acrilamida.....	39
4.2.24 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )- <i>N</i> -(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)acrilamida.....	40
4.2.25 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )- <i>N</i> -(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)acrilamida.....	40
4.2.26 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S</i> )- <i>N</i> -(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida.....	41
4.2.27 Preparación del Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado ( <i>S,E</i> )-3-(4-clorofenil)- <i>N</i> -(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)acrilamida).....	41
4.2.28 Preparación de la ( <i>S,E</i> )-3-(4-clorofenil)- <i>N</i> -(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)-acrilamida.....	42
4.3 Pruebas de Actividad Citotóxica.....	42
4.3.1 Selección de Líneas Celulares y Métodos de Análisis a Utilizar.....	43
4.3.2 Técnica de Manipulación Celular y Evaluación de la Densidad Óptica.....	44
4.3.3 Preparación de los Compuestos Químicos a Evaluar (diluciones).....	45

Seguridad en el Laboratorio y Disposición de Residuos.....	46
<b>Capítulo 5</b> .....	46
5. Resultados y Discusión.....	46
5.1 Preparación de Amidas Quirales $\alpha$ , $\beta$ -insaturadas.....	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)-fenilglicina y la (S)-fenilalanina.....	47
5.1.2.2 Preparación de la bromoamida del éster metílico de la (S)-fenilglicina y la (S)-fenilalanina.....	48
5.1.2.3 Preparación de fosfonamidas 41 y 42.....	52
5.1.2.4 Preparación del Fosfonoalcohol 43 y 44.....	56
5.1.2.5 Preparación de Fosfobromoamidas 45 y 46.....	60
5.1.2.6 Preparación de fosfoiodoamidas 47 y 48.....	64
5.1.2.7 Preparación de Fosfooxazolina quiral 53.....	68
5.1.2.8 Preparación de Amidas Quirales $\alpha$ , $\beta$ -insaturadas 49-51.....	74
5.2 Pruebas de Actividad Citotóxica.....	84
<b>Capítulo 6</b> .....	90
6. Conclusiones.....	90
Resumen Autobiográfico.....	
<b>Referencias</b> .....	92

## LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
<b>Tabla 1.</b> Preparación de Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas.....	18
<b>Tabla 2.</b> Actividad antituberculosa de Oxazolinas y Oxazoles.....	20
<b>Tabla 3.</b> Actividad Antioxidante de Oxazolinas.....	22
<b>Tabla 4.</b> Actividad Citotóxica de Oxazolinas.....	22
<b>Tabla 5.</b> Preparación de Clorhidratos Derivados de Aminoácidos.....	48
<b>Tabla 6.</b> Preparación de Bromoamidas 39 y 40.....	49
<b>Tabla 7.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Bromoamida 40.....	50
<b>Tabla 8.</b> Preparación de Fosfonamidas 41 y 42.....	52
<b>Tabla 9.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Fosfonamida 42.....	54
<b>Tabla 10.</b> Preparación de los Fosfohidroxiamidas 43 y 44.....	57
<b>Tabla 11.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Fosfohidroxiamida 44.....	58
<b>Tabla 12.</b> Preparación de las Fosfobromoamidas 45 y 46.....	61
<b>Tabla 13.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Fosfobromoamida 46.....	62
<b>Tabla 14.</b> Preparación de Fosfobromo y Fosfoiodoamidas 45-48.....	64
<b>Tabla 15.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Fosfoiodoamida 48.....	66
<b>Tabla 16.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para la Oxazolina 53.....	71
<b>Tabla 17.</b> Preparación de Amidas Quirales $\alpha,\beta$ -insaturadas.....	74
<b>Tabla 18.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para el Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado 49d...	76
<b>Tabla 19.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para el Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado 50d...	79
<b>Tabla 20.</b> Datos de RMN de $^1\text{H}$ para el Sistema $\alpha, \beta$ -insaturado 51a...	81
<b>Tabla 21.</b> Porcentaje de Viabilidad de Células HeLa tratadas con los diferentes compuestos. ....	85
<b>Tabla 22.</b> Porcentaje de Viabilidad de Células MCF-7.....	87

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Agentes Antimetabolitos.....	4
<b>Figura 2.</b> Agentes Alquilantes.....	5
<b>Figura 3.</b> Agentes Intercalantes.....	5
<b>Figura 4.</b> Agentes Inhibidores de Enzimas.....	6
<b>Figura 5.</b> Agente Inhibidor del Huso Mitótico.....	6
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de Acción de Fármacos Antineoplásicos.....	8
<b>Figura 7.</b> Enlace Covalente.....	9
<b>Figura 8.</b> Enlace Iónico.....	9
<b>Figura 9.</b> Puente de Hidrógeno.....	10
<b>Figura 10.</b> Fuerzas de Van der Waals.....	10
<b>Figura 11.</b> Interacción Fármaco-Receptor.....	11
<b>Figura 12.</b> Fármacos Enantioméricamente Puros.....	13
<b>Figura 13.</b> Agentes Antihipertensivos.....	15
<b>Figura 14.</b> Salicilatos de Enamidas con actividad Antitumoral.....	16
<b>Figura 15.</b> Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas con actividad en SNC.....	17
<b>Figura 16.</b> Moléculas Probadas contra líneas celulares HeLa y MCF-7..	43
<b>Figura 17.</b> Diagrama Esquemático para Evaluar la Viabilidad Celular.... Utilizando la Técnica WST-1.....	45
<b>Figura 18.</b> Representación de un Ensayo de Citotoxicidad en Microplaca.....	45
<b>Figura 19.</b> Espectro de Resonancia de $^1\text{H}$ para la Bromoamida 40.....	51
<b>Figura 20.</b> Espectro de Resonancia de $^1\text{H}$ para la Fosfonamida 42.....	55
<b>Figura 21.</b> Espectro de Resonancia de $^1\text{H}$ para la Fosfohidroxiamida 44	59
<b>Figura 22.</b> Espectro de Resonancia de $^1\text{H}$ para la Fosfobromoamida 46	63
<b>Figura 23.</b> Espectro de Resonancia de $^1\text{H}$ para la Fosfoiodoamida 48..	67
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para la Oxazolina 53.....	72
<b>Figura 25.</b> Experimento DEPT de Fosfooxazolina 53.....	73

<b>Figura 26.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para la amida $\alpha,\beta$ -insaturada 49d...	77
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para la amida $\alpha,\beta$ -insaturada 50d...	80
<b>Figura 28.</b> Espectro de resonancia de $^1\text{H}$ para la amida $\alpha,\beta$ -insaturada 51a.....	83
<b>Figura 29.</b> Gráfica de los porcentajes de viabilidad en células HeLa.....	86
<b>Figura 30.</b> Gráfica de los porcentajes de viabilidad para las células MCF-7.....	88

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquemas	Página
<b>Esquema 1.</b> Clasificación del cáncer.....	2
<b>Esquema 2.</b> Tipos de tratamientos contra el cáncer.....	3
<b>Esquema 3.</b> Clasificación de fármacos antineoplásicos.....	7
<b>Esquema 4.</b> Compuesto análogo de la pseudoparsomisina.....	15
<b>Esquema 5.</b> Reacción de Vilsmeier.....	19
<b>Esquema 6.</b> Preparación de oxazolininas vía una haloamidación.....	19
<b>Esquema 7.</b> Análisis retrosintético para la preparación de amidas $\alpha,\beta$ - insaturadas.....	46
<b>Esquema 8.</b> Preparación de la fosfooxazolina 53.....	69
<b>Esquema 9.</b> Mecanismo propuesto para la preparación de la fosfooxazolina 53.....	70
<b>Esquema 10.</b> Reducción del WST-1 a Formazán.....	84

## Lista de Abreviaturas

En el transcurso de este trabajo se utilizaron las siguientes abreviaturas

<u>AcOEt</u>	<u>Acetato de Etilo</u>
<u>Bn</u>	<u>Bencilo</u>
<u>NaBr</u>	<u>Bromuro de sodio</u>
<u>NaBH<sub>4</sub></u>	<u>Borohidruro de sodio</u>
<u>CDCl<sub>3</sub></u>	<u>Cloroformo deuterado</u>
<u>SOCl<sub>2</sub></u>	<u>Cloruro de tionilo</u>
<u>J</u>	<u>Constante de acoplamiento</u>
<u>δ</u>	<u>Desplazamiento químico</u>
<u>LDA</u>	<u>Diisopropilamiduro de litio</u>
<u>DMSO</u>	<u>Dimetilsulfóxido</u>
<u>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></u>	<u>Diclorometano</u>
<u>HRMS</u>	<u>Espectrometría de Masas de Alta Resolución</u>
<u>Ph</u>	<u>Fenilo</u>
<u>LiHMDS</u>	<u>Hexametildisililamiduro de litio</u>
<u>Hex</u>	<u>Hexano</u>
<u>HWE</u>	<u>Horner-Wadsworth-Emmons</u>
<u>NaI</u>	<u>Ioduro de sodio</u>
<u>MHz</u>	<u>Mega Hertz</u>
<u>MeOH</u>	<u>Metanol</u>
<u>Me</u>	<u>Metilo</u>

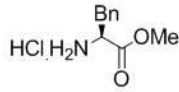
<u>ppm</u>	<u>Partes por millón</u>
<u>p.f.</u>	<u>Punto de fusión</u>
<u>IC<sub>50</sub></u>	<u>Concentración Inhibitoria 50</u>
<u>PC3</u>	<u>Línea celular de cáncer de próstata</u>
<u>Hs 294T</u>	<u>Células de Melanoma</u>
<u>K562</u>	<u>Células de Leucemia Mieloide crónica</u>
<u>MRC-5</u>	<u>Fibroblastos de pulmón</u>
<u>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></u>	<u>Sulfato de sodio</u>
<u>[(MeO)<sub>3</sub>P]</u>	<u>Trimetilfosfita</u>
<u>Eq.</u>	<u>Equivalentes</u>
<u>NADH</u>	<u>Nicotinamida Adenina dinucleotido</u>
<u>THF</u>	<u>Tetrahidrofurano</u>
<u>TMS</u>	<u>Tetrametilsilano</u>
<u>RMN <sup>13</sup>C</u>	<u>Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13</u>
<u>RMN <sup>31</sup>P</u>	<u>Resonancia Magnética Nuclear de Fósforo 31</u>
<u>RMN <sup>1</sup>H</u>	<u>Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno</u>
<u>SNC</u>	<u>Sistema Nervioso Central</u>
<u>α</u>	<u>Alfa</u>
<u>β</u>	<u>Beta</u>
<u>ADN</u>	<u>Ácido Desoxirribonucleico</u>
<u>PALA</u>	<u>N-(fosfonoacetil)-l-aspartato</u>
<u>ACE</u>	<u>Enzima Convertidora de Angiotensina</u>
<u>AqOTf</u>	<u>Trifluorometanesulfato de plata</u>



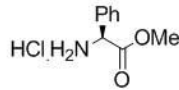
<u>PPh<sub>3</sub></u>	<u>Trifenilfosfina</u>
<u>DEAD</u>	<u>Dietilazodicarboxilato</u>
<u>BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O</u>	<u>Dietileter-trifluoruro de boro</u>
<u>Tf<sub>2</sub>O</u>	<u>Trifluorometanesulfónico</u>
<u>Ph<sub>2</sub>SO</u>	<u>Difenilsulfóxido</u>
<u>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></u>	<u>Pentóxido de fósforo</u>
<u>Et<sub>2</sub>N-SF<sub>3</sub></u>	<u>Trifluoruro de dietilaminosulfuro</u>
<u>CCl<sub>4</sub></u>	<u>Tetracloruro de carbono</u>
<u>Bu<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub></u>	<u>Cloruro de dibutil estaño</u>
<u>POCl<sub>3</sub></u>	<u>Cloruro de fosforilo</u>
<u>TMSF</u>	<u>Fluoruro de tetrametil silano</u>
<u>HBr</u>	<u>Ácido bromhídrico</u>
<u>AcOH</u>	<u>Ácido acético</u>
<u>(PhO)<sub>3</sub>P</u>	<u>Trifenilfosfina</u>
<u>NBS</u>	<u>N-bromosuccinimida</u>
<u>NaHCO<sub>3</sub></u>	<u>Bicarbonato de sodio</u>
<u>Cu(OTf)<sub>2</sub></u>	<u>Triflato de cobre</u>
<u>Zn(OTf)<sub>2</sub></u>	<u>Triflato de zinc</u>
<u>MCF-7</u>	<u>Células neoplásicas de mama</u>
<u>HELA</u>	<u>Células neoplásicas de cérvix</u>
<u>BHT</u>	<u>Hidroxitolueno butilado</u>
<u>BHA</u>	<u>Hidroxianizol butilado</u>
<u>Dox</u>	<u>Doxorubicina</u>

<u>MEM</u>	<u>Medio Esencial Mínimo</u>
<u>GAS</u>	<u>Medio de sales-alanina-glicerol adicionado con hierro</u>
<u>GAST</u>	<u>Medio de sales-alanina-glicerol-tween, deficiente de hierro</u>
<u>DFPH</u>	<u>2,2- difenil-1-picrilhidrazil</u>
<u>UANL</u>	<u>Universidad Autónoma de Nuevo León</u>
<u>FCQ</u>	<u>Facultad de Ciencias Químicas</u>

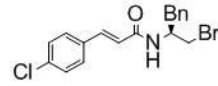
## INDICE DE ESTRUCTURA



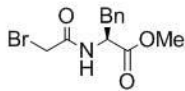
Clorhidrato del (S)-metil 2-amino-3-fenilpropanoato



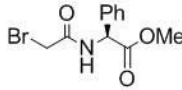
Clorhidrato del (S)-metil 2-amino-2-fenilacetato



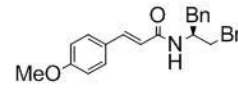
(S,E)-N-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-clorofenil)acrilamida



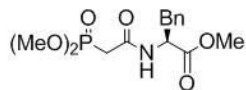
(S)-metil 2-(2-bromoacetamido)-3-fenilpropanoato



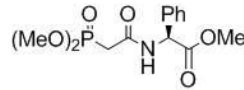
(S)-2-(2-bromoacetamido)-2-fenilacetato de metilo



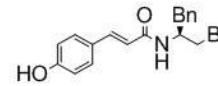
(S,E)-N-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)acrilamida



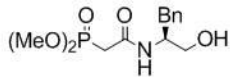
(S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-3-fenilpropanoato de metilo



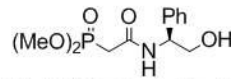
(S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-2-fenilacetato de metilo



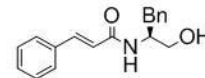
(S,E)-N-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)acrilamida



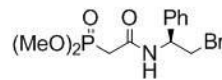
(S)-2-((1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



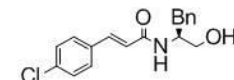
(S)-2-((2-hidroxi-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



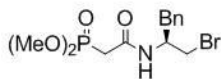
(S)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida



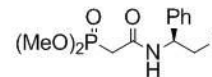
(S)-2-((2-bromo-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



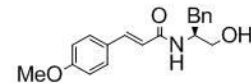
(S,E)-3-(4-clorofenil)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acrilamida



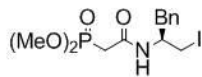
(S)-2-((1-bromo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



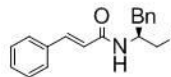
(S)-2-((2-iodo-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



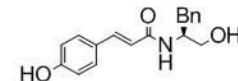
(S,E)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)acrilamida



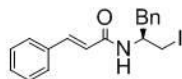
(S)-2-((1-iodo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo



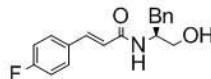
(S)-N-(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida



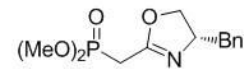
(S,E)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)acrilamida



(S)-N-(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida



(S,E)-3-(4-fluorofenil)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)acrilamida



(S)-((4-bencil-4,5-dihidroxazol-2-il)metil)fosfonato de dimetilo

# CAPÍTULO 1

## 1. Introducción

### 1.1 Cáncer

#### 1.1.1 Definición de Cáncer

Uno de los grandes problemas de salud en la historia y en nuestra época es el cáncer; actualmente, en nuestro país ha aumentado alarmantemente el número de casos y muertes debido a esta enfermedad multifactorial.

El cáncer es un grupo heterogéneo y numeroso de enfermedades malignas, caracterizadas por una proliferación celular anormal, de origen genético monoclonal, anaplásica, autónoma, progresiva y destructiva, que sin tratamiento conduce a la muerte precoz del individuo. Siendo característico la generación de metástasis.<sup>1,2</sup>

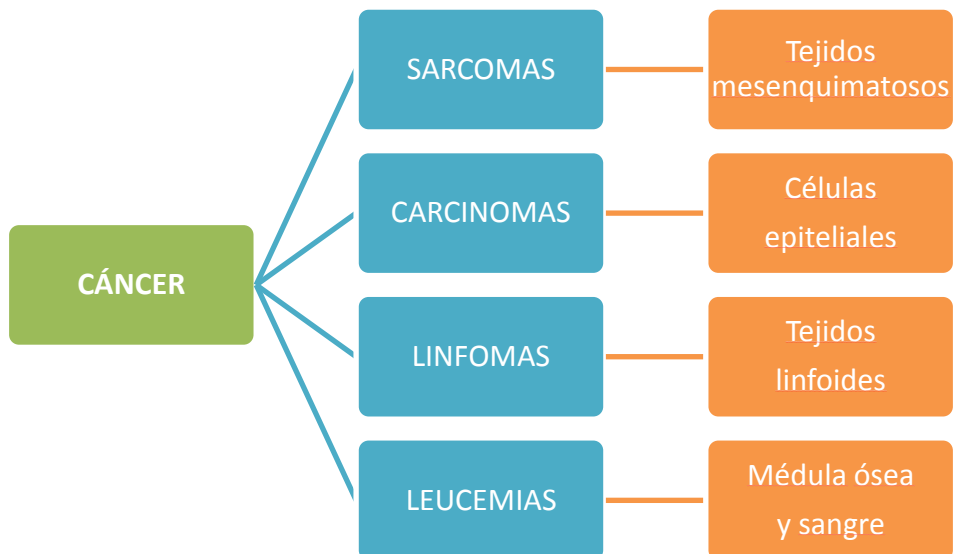
El cáncer es el resultado de la falta de control de la reproducción celular en un tejido en el que previa intervención de factores etiológicos sobre una o varias células, éstas se reproducen sin regulación ni finalidad, de forma autónoma, anárquica e irrefrenable aunque cese el estímulo causal, acompañándose de

pérdida de la apoptosis, llevando al desequilibrio sistémico y a la terminación de la vida del huésped.

### 1.1.2 Tipos de Cáncer

Los tipos de cáncer de mayor incidencia son: pulmón, estómago, hígado, colon y mama, los cuales representan aproximadamente el 13% de las defunciones ocurridas en el 2007<sup>3</sup> y de manera específica el cáncer de mama participa como la primera causa de muerte en la época actual.

El cáncer se clasifica en carcinomas (derivan de células epiteliales), sarcomas (tumores de tejidos mesenquimatosos, surgiendo de células como los fibroblastos, células musculares y las células grasas), linfomas (tumores sólidos malignos de los tejidos linfoides) y leucemias (tumores sólidos malignos de la médula ósea y de la sangre)<sup>4</sup> (Esquema 1).



**Esquema 1.** Clasificación del cáncer.

Cuando el cáncer se presenta, el cuerpo humano genera su propia defensa en contra de éste, siendo insuficiente en la mayoría de los casos; por lo tanto, se requiere utilizar métodos para combatirlo, como lo son la cirugía, radioterapia, quimioterapia o combinaciones de ellos.<sup>2</sup>

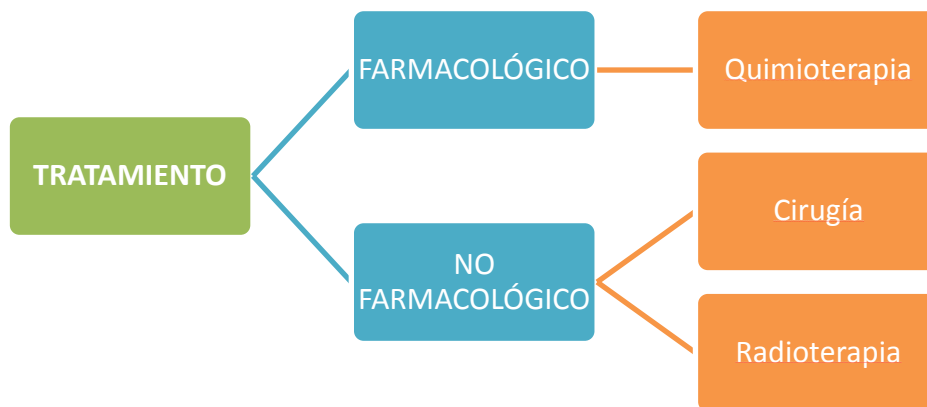
### **1.1.3 Mecanismos de Muerte Celular**

Es importante mencionar que el sistema inmunológico utiliza de manera natural dos estrategias para destruir las células no sanas: necrosis y apoptosis.<sup>5</sup>

**Necrosis:** Los linfocitos T citotóxicos y las células NK destruyen las células diana a través de la liberación de los factores citotóxicos tales como *perforina* y *granzymas*, mediante el proceso de exocitosis de los gránulos donde se encuentran almacenados; la consecuencia es la muerte de la célula blanco por necrosis.

**Apoptosis:** Implica la participación del receptor de superficie FasL de la célula efectora que, tras su unión al receptor Fas de la célula diana, induce su muerte por fragmentación del DNA.

Sin embargo, cuando el sistema inmunológico no es capaz de destruir estas células no sanas, se recurre a los tratamientos tanto no farmacológicos como farmacológicos, siendo ejemplo de éste último la quimioterapia (Esquema 2).



**Esquema 2.** Tipos de tratamientos contra el cáncer.

Existe una gran variedad de fármacos y mecanismos de acción para este tipo de tratamiento, los cuales tienen como finalidad corregir la velocidad de reproducción de la célula o la muerte de la misma. El gran problema de la mayoría de estas moléculas es que no son muy específicas para las células cancerosas, sino que también causan daño a las células sanas, promoviendo la aparición de muchos efectos adversos que al final nos llevan a hacer una evaluación de efecto-beneficio para tomar la mejor decisión al momento de su uso.<sup>2</sup>

#### **1.1.4 Clasificación de Fármacos Antineoplásicos**

La mayoría de los fármacos utilizados hoy en día siguen alguno de estos mecanismos de acción (Esquema 3):

**Antimetabolitos:** Son fármacos que interfieren con la formación de biomoléculas clave dentro de las células, incluyendo los nucleótidos, los cuales son los componentes básicos del ADN. Estos fármacos interfieren con la replicación del ADN y, por ende, con la división celular. Ejemplo de éstas son el fluorouracilo, metotrexato, mercaptopurina y pentostatina.<sup>1,6</sup>

**Figura 1.** Agentes antimetabolitos.

**Agentes genotóxicos:** Estos fármacos dañan el ADN, interfiriendo con su replicación y la división celular. Se pueden clasificar en:

- 1) Agentes Alquilantes: Modifican las bases del ADN, interfiriendo con la replicación, la transcripción y resultando en mutaciones. Algunos ejemplos son: ciclofosfamida, busulfán y lomustina.<sup>1,6</sup>

**Figura 2.** Agentes alquilantes.



- 2) Agentes Intercalantes: Estos medicamentos se intercalan en los espacios entre nucleótidos en la doble hélice del ADN, interfiriendo con la transcripción, la replicación e induciendo mutaciones. Ejemplos: doxorubicina, epirubicina.

**Figura 3.** Agentes Intercalantes.

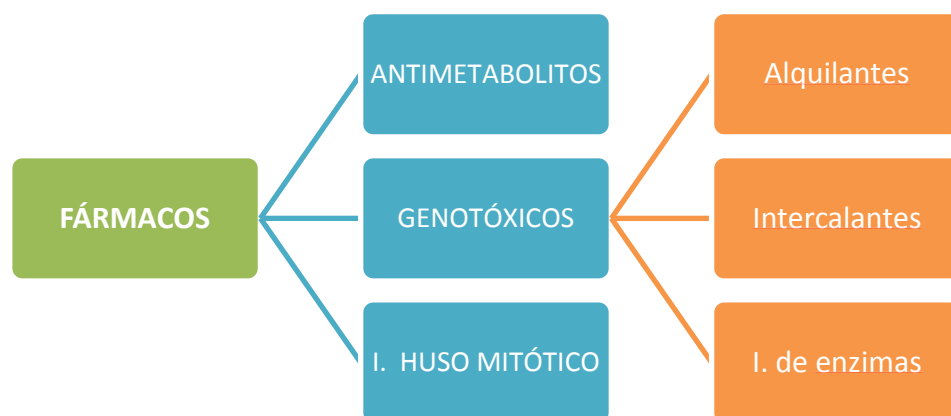
- 3) Inhibidores de Enzimas: Estos fármacos inhiben enzimas clave, tales como las topoisomerasas involucradas en la replicación del ADN e induciendo su daño; por ejemplo: irinotecán, etopósido.<sup>1,6</sup>

**Figura 4.** Agentes inhibidores de enzimas.

**Inhibidores del huso mitótico:** Estos inhibidores previenen la división celular apropiada al interferir con los componentes citoesqueléticos que permiten a una célula dividirse en dos, ejemplo de esto es el fármaco vincristina.

**Figura 5.** Agente inhibidor del huso mitótico.

**Otros agentes quimioterapéuticos:** Estos agentes inhiben la división celular por medio de mecanismos que no se encuentran en ninguna de las tres categorías enlistadas previamente.<sup>4</sup>



**Esquema 3.** Clasificación de fármacos antineoplásicos.

Como se ha visto, existe una gran cantidad de moléculas que presentan actividad, y que dependiendo de sus características intrínsecas como lo son, su estructura química, interacciones moleculares y configuración absoluta, serán capaces de actuar a diferentes niveles en el proceso de división celular, desde el ADN hasta el efecto sobre enzimas importantes en este proceso,<sup>1,7</sup> llevando al desequilibrio celular y finalmente la muerte de la misma (Figura 6).



**PENTOST**

**6-MERCA**

**Figura 6.** Mecanismo de acción de fármacos antineoplásicos.

## 1.2 Fármacos

### 1.2.1 Interacciones

Un punto determinante en el buen funcionamiento de un fármaco, es el tipo de interacciones químicas y físicas capaz de generar entre él (fármaco) y el sitio blanco.

Existen diferentes tipos de interacciones y enlaces siendo los más importantes:

**Enlace covalente:** Se debe a la compartición de electrones que experimentan simultáneamente atracciones de aproximadamente la misma magnitud por dos o más átomos la cual baja la energía y hace por consiguiente, que el sistema resultante sea más estable que los átomos por separado (Figura 7).<sup>8,9</sup>

#### **Figura 7. Enlace covalente.**

**Enlace iónico:** Consiste en la atracción electrostática entre átomos con cargas eléctricas de signo contrario. Este tipo de enlace se establece entre átomos de elementos poco electronegativos con los de elementos muy electronegativos.<sup>9</sup>

Es necesario que uno de los elementos pueda ganar electrones y el otro perderlos (Figura 8).

### **Figura 8. Enlace iónico.**

Puentes de Hidrógeno: Se forman por átomos de hidrógeno localizados entre átomos electronegativos. Cuando un átomo de hidrógeno está unido covalentemente a un átomo electronegativo, (oxígeno ó nitrógeno), asume una densidad ( $\delta$ ) de carga positiva debido a la elevada electronegatividad del átomo vecino. Esta deficiencia parcial en electrones, hace a los átomos de hidrógeno susceptibles de atracción por los electrones no compartidos en los átomos de oxígeno ó nitrógeno (Figura 9).

### **Figura 9. Puente de hidrógeno.**

Fuerza de Van der Waals: Es la fuerza atractiva o repulsiva entre moléculas (o entre partes de una misma molécula) distintas a aquellas debidas al enlace covalente o a la interacción electrostática de iones con otros o con moléculas neutras (Figura 10).

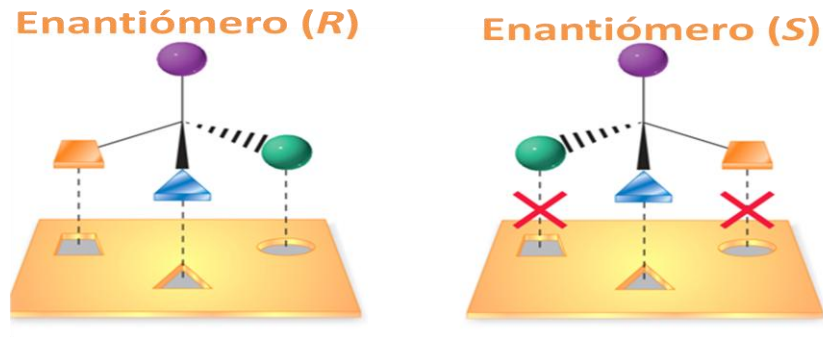
## Figura 10. Fuerzas de Van der Waals

Entre los tipos de fuerzas de Van der Waals se encuentran:

- dipolo permanente-dipolo permanente (fuerzas de Keesom)
- dipolo permanente-dipolo inducido (fuerzas de Debye)
- dipolo inducido instantáneo-dipolo inducido (fuerzas de dispersión de London).

### 1.2.2 Configuración Absoluta

Es importante señalar también que la actividad biológica de la mayoría de los compuestos depende de su *configuración absoluta*, ya que de esto dependerá la afinidad y la capacidad de interacción de la molécula con el receptor a quien va dirigida, además de la magnitud de los efectos adversos posibles.<sup>2,8</sup> (Figura 11).



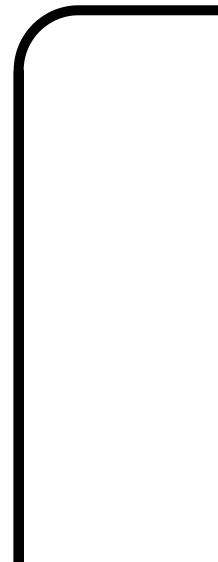
**Figura 11.** Interacción fármaco receptor.

### 1.2.3 Ejemplos de la Importancia de la Configuración Absoluta

La actividad farmacológica de los compuestos ópticamente activos depende de su configuración absoluta; en la mayoría de los casos uno de los isómeros presenta la mayor actividad, mientras que el otro presenta actividad disminuida o bien no la presenta, pero si es capaz de generar efectos adversos.<sup>10</sup> Por citar un ejemplo, el enantiómero (S) del ibuprofeno presenta un efecto antiinflamatorio equivalente al del ibuprofeno racémico, sin los efectos secundarios del enantiómero (R).<sup>11</sup> Otro ejemplo es el caso del ketoprofeno (analgésico, antiinflamatorio y antipirético), del cual se ha comprobado que su actividad reside exclusivamente en el enantiómero de configuración (S). Los ensayos de inhibición de la ciclooxigenasa

demuestran que el enantiómero (*R*) es completamente inactivo y que el enantiómero (*S*) es el responsable de la actividad farmacológica.

Es importante mencionar que al eliminar el enantiómero inactivo, disminuyen los efectos adversos con respecto a la forma racémica<sup>12</sup> (Figura 12).



**Figura 12.** Fármacos enantioméricamente puros.

Por todo lo anterior, hoy en día existe la necesidad en desarrollar nuevas moléculas ópticamente puras que presenten menos efectos adversos y que potencialicen sus propiedades farmacológicas.



## CAPÍTULO 2

### 2. ANTECEDENTES

#### 2.1 Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas y oxazolininas

Entre los compuestos que han generado interés por sus propiedades farmacológicas diversas, se encuentran las amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas y las oxazolininas, que están siendo estudiadas y utilizadas en el tratamiento de diferentes padecimientos, como lo son el cáncer y las enfermedades causadas por microorganismos patógenos.

##### 2.1.1 Amidas $\alpha,\beta$ -insaturadas

Las amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas se encuentran presentes en moléculas obtenidas a partir de fuentes naturales o preparadas mediante síntesis orgánica, y presentan propiedades biológicas interesantes.

Por ejemplo, los fármacos captopril<sup>13</sup> y enalapril<sup>14</sup> (figura 13) son compuestos del tipo amidas que presentan actividad sobre el sistema renina-angiotensina; el cual juega un papel muy importante en la regulación de la presión arterial. La angiotensina II, un octapéptido es un potente vasoconstrictor responsable de la elevación de la presión arterial y es generado a partir de la angiotensina I, mediante la Enzima Convertidora Angiotensina (ACE). Por lo que, la interrupción

de esta secuencia ha mostrado ser de gran utilidad en la reducción de la presión arterial en muchos de los pacientes hipertensos.<sup>15</sup>

### **Figura 13.** Agentes antihipertensivos.

En el año 1989, Arutyunyan y colaboradores<sup>12</sup> prepararon amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas del tipo **5** y **6**, análogos de la pseudosparsomicina, la cual es utilizada como antibiótico natural (Esquema 4).

### **Esquema 4.** Compuesto análogo de la pseudosparsomicina.

Como se puede observar en el esquema anterior, el compuesto **6** puede obtenerse al hacer reaccionar el ácido cinámico **3** con el éster metílico correspondiente **4**, seguido de la reacción de reducción utilizando borohidruro

de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) y cloruro de litio ( $\text{LiCl}$ ) utilizando tetrahidrofurano (THF) como disolvente.

Los compuestos obtenidos fueron sometidos a pruebas de actividad antitumoral, utilizando modelos de sarcomas, observando que los ésteres de metilo **5** son menos activos que sus correspondientes hidroxiderivados **6**; además, de que estos últimos son relativamente menos tóxicos.

En el año 2000, Shen y Porco<sup>16</sup> reportaron compuestos del tipo salicilatos de enamidas que presentan actividad antitumoral, en cuya estructura contienen a las amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas. Estos compuestos incluyen a la lobatamida, oximidina y el compuesto conocido como CJ-12,950 (Figura 14).

**Figura 14.** Salicilatos de enamidas con actividad antitumoral.

Otro ejemplo de la importancia de este tipo de moléculas es el trabajo publicado en el año 2005, por Heureux y colaboradores<sup>10</sup> donde describieron que las amidas quirales (*E*)- $\alpha,\beta$ -insaturadas que incorporan en su estructura a la (*S*)- $\alpha$ -metilbencilamina y derivados **10-12** participan en la apertura de canales de potasio, los cuales juegan un papel importante en el tratamiento de desordenes

del sistema nervioso central (SNC) tales como migraña, epilepsia, desorden bipolar y dolor neuropático<sup>10</sup> (Figura 15).

**Figura 15.** Amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas con actividad en SNC.

Por otra lado, en el año 2006 Hernández y col.<sup>17</sup> llevaron a cabo la preparación de sistemas  $\alpha,\beta$ -insaturados **14** a partir de fosfonamidas, utilizando diferentes aldehídos aromáticos y alifáticos mediante la reacción de Horner-Wasdworth-Emmons (HWE),<sup>18,19</sup> logrando obtener buenos rendimientos químicos y una excelente selectividad *E/Z* para cuando se utilizan aldehídos voluminosos, mientras que para aldehídos menos impedidos la selectividad *E/Z* disminuyó considerablemente (Tabla 1).

**Tabla 1.**  
Preparación de amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

R	Rendimiento (%)	(E)/(Z)
<b>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub></b>	96	>98:>02
<b><i>p</i>-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b>	94	>98:>02
<b><i>p</i>-OMeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub></b>	90	>98:>02
<b><i>i</i>-Pr</b>	92	55:45
<b><i>i</i>-Bu</b>	92	73:27
<b><i>t</i>-Bu</b>	93	>98:>02

### 2.1.2 Oxazolininas

Por otra parte, la preparación de oxazolininas quirales derivadas de aminoalcoholes ha ganado considerable atención debido a que éstas son utilizadas como ligantes quirales en la formación de complejos metálicos,<sup>20</sup> además poseen actividad antibacteriana<sup>21</sup>, antioxidante<sup>22</sup> y citotóxica.<sup>22</sup>

Por ejemplo, en el año 2000 Wuts y col.<sup>23</sup> llevaron a cabo la preparación de oxazolininas utilizando la reacción de Vilsmeier. Los autores mencionan que existen diferentes técnicas para la obtención de este tipo de moléculas, entre las

que se encuentran la utilización de  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{SOCl}_2\text{-AgOTf}$ ,  $\text{PPh}_3/\text{DEAD}$ , cloruro de sulfonilo,  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{Tf}_2\text{O}$ ,  $\text{Tf}_2\text{O}/\text{Ph}_2\text{SO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Et}_2\text{N-SF}_3$ ,  $\text{Ph}_3\text{P}/\text{TEA}/\text{CCl}_4$ ,  $\text{Bu}_2\text{SnCl}_2$ ,  $\text{POCl}_3$ ,  $\text{TMSF}$ , 30%  $\text{HBr}$ ,  $\text{AcOH}$ , *o*-clorofenilfosforo-bis- (1,2,4)-triazol, y  $\text{RN}_3/(\text{PhO})_3\text{P}$ , mencionando que cada una tiene sus ventajas y desventajas dependiendo del tipo de sustrato a utilizar.

Con respecto a la utilización del reactivo de Vilsmeier, mencionan que es una reacción sencilla, barata, y con buenos rendimientos químicos (Esquema 5).

#### **Esquema 5. Reacción de Vilsmeier.**

En el año del 2008, Hajra y colaboradores,<sup>24</sup> desarrollaron un método general y eficiente para la síntesis de oxazolinas basado en una reacción de haloamidación de alquenos con NBS y cantidades estequiométricas de agua. Este proceso es catalizado por ácidos de Lewis, como  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  y  $\text{Zn}(\text{OTf})_2$  (Esquema 6).

### **Esquema 6.** Preparación de oxazolinas vía una haloamidación.

En el año 2010, Moraski y col.<sup>21</sup> llevaron a cabo la preparación de oxazolinas y oxazoles y realizaron un estudio de Relación Estructura-Actividad (REA), evaluando su actividad antibacteriana en contra de *Micobacterium tuberculosis* y su actividad citotóxica sobre la línea celular Vero (células de riñón de mono verde). Los estudios de Relación Estructura-Actividad, demostraron que los oxazoles son más activos que sus precursores de oxazolina y que la actividad también puede estar influenciada por el tipo y la posición de los sustituyentes en el grupo fenilo, viéndose aumentada con la presencia de grupos electroattractores como cloro y nitro, aunque las correlaciones requieren un estudio más detallado.

Una manera probable de explicar el mecanismo de acción de este tipo de compuestos, radica en que el grupo benciléster funciona como profármaco, permitiendo la entrada de éste a la bacteria, y posteriormente ya dentro de la bacteria este grupo es metabolizado al correspondiente ácido carboxílico, el cual es importante en la inhibición metabólica del microorganismo (Tabla 2).

**Tabla 2.**  
Actividad antituberculosa de oxazolinas y oxazoles.

Compuesto	GAS( $\mu\text{M}$ )	GAST ( $\mu\text{M}$ )	Vero IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
	12.6	7.69	>128
	7.2	4.42	>128
	11.6	1.8	>128
	6.24	0.95	>128
	13	8.7	-----
	2.72	5.11	-----
	0.77	1.42	>128
	0.47	0.49	121
	1.10	0.48	>128
	0.73	1.69	>128
	0.7	1.65	>128
	2.54	1.84	>128
Rifampicina	0.06	0.01	125



Otro antecedente importante con respecto a la síntesis de oxazolinas y su actividad biológica, es el publicado en el 2011 por Djurendić y colaboradores,<sup>22</sup> donde se muestra la síntesis de oxazolinas y otros compuestos análogos al ácido salicílico utilizando la técnica asistida por microondas. Ellos llevaron a cabo la síntesis de las oxazolinas **32-34** y evaluaron su actividad antioxidante y citotóxica (Tablas 3 y 4, respectivamente).

**Tabla 3.**  
Actividad antioxidante de oxazolinas.

Compuesto	DFPH (IC <sub>50</sub> ,mM/1h)	HO <sup>•</sup> (IC <sub>50</sub> ,mM)
<b>Compuesto 32</b>	7.65	0.66
<b>Compuesto 33</b>	3.2	1.98
<b>Compuesto 34</b>	3.98	0.35
<b>Hidroxitolueno butilado (BHT)</b>	0.040	1.940
<b>Hidroxianizol butilado (BHA)</b>	0.012	2.130

Como se puede observar en la tabla 3, el compuesto que resultó ser más activo es el numerado como **33**, presentando un índice de DFPH de 3.2.

**Tabla 4.**  
Actividad citotóxica de oxazolinas.

Comp.	MCF-7	MDA-MB-231	PC3	Hela S3	Hs294T	K562	MRC-5
<b>32</b>	>100	43.66	19.43	60.04	>100	>100	88.06
<b>33</b>	>100	2.37	8.78	4.67	>100	34.44	>100
<b>34</b>	41.01	20.32	13.45	1.06	30.04	56.36	98.31
<b>Dox</b>	0.75	0.12	95.61	1.17	15.39	0.36	0.12

En la tabla anterior se observa de manera particular que la adición de un grupo saliciloil (compuesto **34**), aumenta considerablemente la actividad citotóxica para las líneas celulares MCF-7 y Hela S3 destacando el compuesto número **34** en la línea celular HeLa S3 (cáncer de cérvix), mientras que en la células PC3 (cáncer de próstata) el que más destaca es el compuesto número **33**, siendo mucho más activo que la referencia utilizada, doxorubicina.

## CAPÍTULO 3

### 3.1 Hipótesis

La actividad citotóxica *in vitro* de nuevas amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas es mayor que la actividad citotóxica de la vincristina.

### 3.2 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar oxazolinas y amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas en forma enantioméricamente pura y evaluar su efecto citotóxico *in vitro* en dos líneas celulares (MCF-7 y HeLa) y compararlo con el fármaco vincristina.

### 3.3 Objetivos Específicos

- ❖ Sintetizar nuevas oxazolinas y amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas en forma enantioméricamente pura.
- ❖ Caracterizar los nuevos compuestos obtenidos por medio de Resonancia Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ), Espectroscopia de Infrarrojo (IR) y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR).
- ❖ Estandarizar de la técnica WST-1 para medir la viabilidad celular.
- ❖ Evaluar el efecto citotóxico *in vitro* de la referencia (vincristina) en las líneas celulares de estudio (MCF-7 y HeLa).
- ❖ Evaluar el efecto citotóxico *in vitro* de amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas en las líneas en estudio.
- ❖ Llevar a cabo el análisis de datos obtenidos de la actividad citotóxica.

## CAPÍTULO 4

### 4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 4.1 Información general

El material de vidrio, barras de agitación magnética, cánulas, jeringas y agujas que se emplearon en las reacciones que requirieron condiciones anhidras, se secaron en una estufa a una temperatura de 120 °C. Todas las materias primas utilizadas fueron adquiridas en Aldrich, Fluka y otros distribuidores de materiales, reactivos y equipos de laboratorio.

El tetrahidrofurano (THF) utilizado en las reacciones anhidras se destiló sobre sodio metálico y benzofenona bajo atmósfera inerte de N<sub>2</sub>. El THF se calentó a reflujo hasta adquirir una coloración de azul intenso a morado, característica propia del radical cetilo, indicando con esto que el THF se encuentra libre de humedad.

Los puntos de fusión se determinaron en los equipos Fisher-Johns y Electrothermal 1101D.

Los espectros de RMN se obtuvieron de un espectrómetro Varian MERCURY 200 a 200MHz para <sup>1</sup>H , 81MHz para <sup>31</sup>P y 50MHz para <sup>13</sup>C, Varian MERCURY

300 a 300MHz para  $^1\text{H}$  , 121MHz para  $^{31}\text{P}$  y 75MHz para  $^{13}\text{C}$ , Varian INOVA 400 a 400MHz para  $^1\text{H}$  y 100MHz para  $^{13}\text{C}$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se reportan en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de tetrametilsilano (TMS) para  $^1\text{H}$ ; las constantes de acoplamiento ( $J$ ) están dadas en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se denotaron con las siguientes abreviaturas: **s** para indicar una señal simple, **d** para indicar una señal doble, **dd** para indicar una señal doble de doble, **t** para indicar una señal triple, **td** para indicar un triplete dobleteado, **c** para indicar una señal cuádruple, **m** para indicar una señal múltiple, **a** para indicar una señal ancha, **Sistema AB**; empleando en ocasiones combinaciones de ellas. El disolvente deuterado empleado en las determinaciones fue  $\text{CDCl}_3$ .

El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina, empleando como fase estacionaria gel de sílice y como revelador se utilizó luz ultravioleta y vapores de yodo. La purificación de los productos obtenidos de las reacciones realizadas se llevó a cabo por cromatografía en columna utilizando silica gel Merck 60 (230-400 mm). Los análisis de masas de alta resolución (HRMS) se llevaron a cabo en un equipo JEOL MStation JMS-700. El análisis elemental se determinó en un equipo VARIO EL III.

Para el trabajo de la manipulación de las líneas celulares y la técnica de evaluación de la actividad citotóxica, se utilizaron los siguientes equipos:

Para el proceso de centrifugación se utilizó una centrifuga 5810R Eppendorf, para el conteo de células se realizó sobre una cámara de Neubauer, y un microscopio invertido IROSCOPE® MOD Si-PH. Para el proceso de incubación se utilizó una incubadora NAPCO Modelo 6200, y finalmente para llevar a cabo la lectura de las densidades ópticas se hizo uso de un lector de microplacas Syngery HT BioTek.

## **4.2 Métodos sintéticos**

### **4.2.1 Procedimiento general para la preparación del clorhidrato del éster metílico.**

En un matraz redondo de 500mL provisto de un agitador magnético, se colocó la cantidad de aminoácido correspondiente [(S)-fenilglicina o (S)-fenilalanina]. Se adicionaron 150 mL de metanol. El matraz se enfrió en un baño de hielo a 0 °C y se adicionó lentamente (1.1 Eq) de cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ), (Nota: Se debe evitar contacto con partes metálicas). La mezcla se dejó reaccionar por 20 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se evaporó el disolvente hasta sequedad, al residuo resultante se le añadieron 20 mL de éter etílico y se dejó en agitación por 10-15 minutos y finalmente se filtró a vacío y se secó.

#### **4.2.2 Preparación del clorhidrato del (S)-2-amino-2-fenilacetato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar 5 g, (33.0775 mmol) de (S)-fenilglicina; 150 mL de metanol y 2.6394 mL, 4.3287 g (33.2941 mmol) de cloruro de tionilo.

#### **4.2.3 Preparación del clorhidrato del (S)-2-amino-3-fenilpropanoato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general, se colocaron 5 g, (30.2628 mmol) de (S)-fenilalanina; 150 mL de metanol y 2.4152 mL, 3.9610 g, (33.2941 mmol) de cloruro de tionilo.

#### **4.2.4 Procedimiento general para la preparación de la bromoamida de éster metílico.**

En un matraz redondo de 500 mL con agitador magnético se colocó la cantidad correspondiente de clorhidrato de éster metílico, y se adicionaron 150 mL de una mezcla de diclorometano-agua (4:1). A la solución resultante se le adicionó carbonato de potasio y posteriormente se agregó lentamente el bromuro de bromoacetilo. La mezcla de reacción se dejó en agitación constante y a reflujo por 4 horas. Transcurrido el tiempo, se llevó a cabo la separación de la fase orgánica, lavándose 2 veces la fase acuosa con acetato de etilo (15 mL cada vez). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, y se evaporó hasta sequedad.

#### **4.2.5 Preparación de (S)-2-(2-bromoacetamido)-2-fenilacetato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general se colocaron 5 g, (24.7965 mmol) de clorhidrato del éster



metílico de la (S)-fenilglicina; 8.5674 g, (61.9882 mmol) de carbonato de potasio y 2.5919 mL, 6.0056 g, (29.7542 mmol) de bromuro de bromoacetilo.

#### **4.2.6 Preparación del (S)-2-(2-bromoacetamido)-3-fenilpropanoato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 3 g, (13.9088 mmol) del clorhidrato de éster metílico; 4.8058 g, (34.7717 mmol) de carbonato de potasio; 1.2116 mL, 2.8073 g, (13.9085 mmol) de bromuro de bromoacetilo.

#### **4.2.7 Procedimiento general para la preparación de la fosfonamida de éster metílico.**

En un matraz redondo de 50 mL con agitador magnético y un sistema de destilación, se colocó la cantidad correspondiente de la bromoamida del éster metílico, se le adicionaron 3.0 Eq de trimetilfosfita [(MeO)<sub>3</sub>P]. El matraz se sumergió en un

baño de aceite a una temperatura de  $105 \pm 5$  °C y la mezcla de reacción se dejó en agitación por 5 horas. Transcurrido este tiempo, el matraz se colocó en el Kugel-Rohr a 140 °C durante 5 horas para eliminar los compuestos volátiles [(MeO)<sub>3</sub>P y (MeO)<sub>2</sub>P(O)Me].

#### **4.2.8 Preparación del (S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-2-fenilacetato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 1.2388 g, (4.3296 mmol) de la bromoamida de éster metílico de la (S)-fenilglicina; 1.5320 mL, 1.6116 g, (12.98 mmol) de trimetilfosfita.

#### **4.2.9 Preparación del (S)-2-(2-(dimetoxifosforil)acetamido)-3-fenilpropanoato de metilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 3 g, (9.9628 mmol) de la

bromoamida del éster metílico de la (S)-fenilalanina; 3.5252 mL, 3.7085 g, (29.8879 mmol) de la trimetilfosfita.

#### **4.2.10 Procedimiento general para la preparación del alcohol de la fosfonamida.**

En un matraz de 250 mL provisto con agitación magnética, se colocó la fosfonamida del éster metílico, previamente disuelto en 30 mL tetrahidrofurano. La solución resultante se calentó a 65 °C por 5 minutos y enseguida se adicionó el borohidruro de sodio de una manera lenta, evitando contacto con la boca del matraz, y se continuó con el calentamiento a esta temperatura por 15 minutos más. Posteriormente, se adicionaron 15 mL de metanol grado reactivo gota a gota y se dejó reaccionar por 5 horas a reflujo. Después de este tiempo, se procedió a verificar el proceso de la reacción mediante cromatografía en capa fina. Se separó la fase orgánica, adicionando aproximadamente 15 mL de agua destilada y se lavó la fase acuosa con acetato de etilo. Se secó con sulfato de sodio anhidro y evaporó hasta sequedad. Finalmente, se purificó por columna cromatográfica, utilizando un sistema de elución Acetato de etilo:Hexano:Metanol (5:4:1).

#### **4.2.11 Preparación de la (S)-(2-((2-hidroxi-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.**

Seguendo el procedimiento general, se hicieron reaccionar 4.0016 g, (12.6934 mmol) de la fosfonamida de éster metílico de la (S)-fenilglicina; 2.8811 g, (76.1591 mmol) de borohidruro de sodio.

#### **4.2.12 Preparación de la (S)-(2-((1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)-fosfonato de dimetilo.**

Seguendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 2.9218 g, (8.8741 mmol) de la fosfonamida del éster metílico de la (S)-fenilalanina; 2.0142 g, (53.83 mmol) de borohidruro de sodio.

#### **4.2.13 Procedimiento general para la preparación de la fosfobromoamida y la fosfoiodoamida.**

En un matraz de 50 mL se colocó la cantidad correspondiente del alcohol de fosfonamida, previamente disuelto en 30 mL de diclorometano grado reactivo. Posteriormente se adicionó la trietilamina, seguido de la adición lenta del cloruro de tionilo. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 5 minutos; después de este tiempo, se adicionó el bromuro y/o ioduro de sodio y se dejó reaccionar a reflujo por aproximadamente 4 horas. El curso de la reacción se monitorea utilizando cromatografía en capa fina en un sistema Acetato de etilo:Hexano:Metanol (5:4:1). Terminada la reacción, se adicionaron 15 mL de agua destilada y se separaron las fases, la fase acuosa se lavó 2 veces con 30 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se evaporó a presión reducida hasta sequedad y el producto resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluente un sistema Acetato de etilo:Hexano:Metanol (5:4:1).

#### **4.2.14 Preparación de (S)-2-((2-bromo-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 1.47 g, (5.1174 mmol) del alcohol de fosfonamida; 0.7132 mL, 0.5178 g, (10.5544 mmol) de trietilamina; 0.4084 mL, 0.6698 g, (10.5546 mmol) de cloruro de tionilo y 0.7307 g, (6.1409 mmol) de bromuro de sodio.

#### **4.2.15 Preparación de (S)-2-((1-bromo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)-fosfonato de dimetilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 1.89 g, (6.2738 mmol) del alcohol de la fosfonamida de la (S)-fenilalanina; 0.874 mL, 0.6348 g, (6.2733 mmol) de trietilamina; 0.5 mL, 0.8212 g, (6.9008 mmol) de cloruro de tionilo y 0.8959 g, (0.7.5286 mmol) de bromuro de sodio.

#### **4.2.16 Preparación de (S)-(2-((2-iodo-1-feniletil)amino)-2-oxoetil)fosfonato de dimetilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 2.7562 g, (9.5951 mmol) del alcohol de fosfonamida de la (S)-fenilglicina; 1.4711 mL, 1.0680 g, (10.5544 mmol) de trietilamina; 0.7658 mL, 1.2560 g, (10.5546 mmol) de cloruro de tionilo y 1.7259 g, (11.5136 mmol) de ioduro de sodio.

#### **4.2.17 Preparación de (S)-(2-((1-iodo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-oxoetil)-fosfonato de dimetilo.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 0.2612 g, (0.8670 mmol) del alcohol de la fosfonamida de la (S)-fenilalanina; 0.1208 mL, 0.0877 g, (0.8666 mmol) de trietilamina; 0.0692 mL, 0.1134 g, (0.9529 mmol) de cloruro de tionilo y 0.1429 g, (0.9532 mmol) de ioduro de sodio.

#### 4.2.18 Procedimiento general para la preparación de los compuestos $\alpha,\beta$ -insaturados.

En un matraz redondo de 100 mL provisto de agitación magnética, se colocaron bajo atmósfera inerte de nitrógeno (1 Eq.) de la fosfonoamida correspondiente y 30 mL de tetrahidrofurano seco. Posteriormente se adicionaron vía cánula (3 Eq.) de cloruro de litio previamente disuelto en 5 mL de tetrahidrofurano seco. Terminada la adición, se agregaron (3 Eq.) de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU), la mezcla de reacción se dejó en agitación por 15 minutos y enseguida se adicionaron (1.2 Eq.) del aldehído correspondiente. Terminada la adición, la mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 4 horas; transcurrido este tiempo, la reacción se terminó al adicionar una solución saturada de cloruro de amonio (10 mL) y se separaron las fases; la fase acuosa se lavó con acetato de etilo (3 x 40 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida y finalmente se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla Hexano:Acetato de Etilo (7:3) y Acetato de Etilo:Hexano:Metanol (5:4:1).



#### 4.2.19 Preparación de la (*S,E*)-*N*-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-clorofenil)-acrilamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 0.3 g, (20.0411 mmol) de la fosfobromoamida **50b**; 0.1047 g, (2.4699 mmol) de cloruro de litio; 0.3617 mL, 0.3759 g, (2.4707 mmol) de DBU y 0.1157 g, (0.8230 mmol) de *p*-clorobenzaldehído.

#### 4.2.20 Preparación de la (*S,E*)-*N*-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-acrilamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.3 g, (20.0411 mmol) de la fosfobromoamida **50d**; 0.1047 g, (2.4699 mmol) de cloruro de litio; 0.3617 mL, 0.3759 g, (2.4707 mmol) de DBU y 0.1079 mL, 0.1121 g, (0.8233 mmol) de *p*-metoxibenzaldehído.

#### 4.2.21 Preparación de la (*S,E*)-*N*-(1-bromo-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)acrilamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.28 g, (0.7687 mmol) de la fosfobromoamida **50c**; 0.0977 g, (2.3047 mmol) de cloruro de litio; 0.3376 mL, 0.3508 g, (2.3057 mmol) de DBU y 0.0938 g, (0.7680 mmol) de *p*-hidroxibenzaldehído.

#### 4.2.22 Preparación de la (*S*)-*N*-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)cinamamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.2563 g, (0.8507 mmol) de la fosfohidroxiamida **49a**; 0.1081 g, (2.5501 mmol) de cloruro de litio; 0.3737 mL 0.3883 g, (2.5522 mmol) de DBU y 0.0859 mL, 0.0902 g, (0.8507 mmol) de benzaldehído.

#### 4.2.23 Preparación de la *(S,E)*-3-(4-clorofenil)-*N*-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-acrilamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.2554 g, (0.8478 mmol) de la fosfohidroxiamida **49b**; 0.1078 g, (2.5430 mmol) de cloruro de litio; 0.3724 mL, 0.3869 g, (2.5430 mmol) de DBU y 0.1191 g, (0.8472 mmol) de *p*-clorobenzaldehído.

#### 4.2.24 Preparación de la *(S,E)*-*N*-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-metoxifenil)-acrilamida.

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.306 g, (1.0157 mmol) de la fosfohidroxiamida **49d**; 0.1291 g, (3.0455 mmol) de cloruro de litio; 0.4462 mL, 0.4636 g, (3.0471 mmol) de DBU y 0.1233 mL, 0.1382 g, (1.0150 mmol) de *p*-metoxibenzaldehído.

#### **4.2.25 Preparación de la (S,E)-3-(4-fluorofenil)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-acrilamida.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.4942 g, (1.6404 mmol) de la fosfohidroxiamida **49f**; 0.2086 g, (4.9209 mmol) de cloruro de litio; 0.7206 mL, 0.7487 g, (4.9211 mmol) de DBU y 0.1759 mL, 0.2036 g, (01.6404 mmol) de *p*-fluorobenzaldehído.

#### **4.2.26 Preparación de la (S,E)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-3-(4-hidroxifenil)-acrilamida.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.2579 g, (0.8560 mmol) de la fosfohidroxiamida **49c**; 0.1088 g, (2.5666 mmol) de cloruro de litio; 0.3760 mL, 0.3907 g, (2.5689 mmol) de DBU y 0.2323 mL, 0.1045 g, (0.8557 mmol) de *p*-hidroxibenzaldehído.

#### **4.2.27 Preparación de la(S)-N-(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)cinnamamida.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar 0.5 g, (1.2165 mmol) de la fosfoiodoamida **51a**; 0.1547 g, (3.6494 mmol) de cloruro de litio; 0.5344 mL, 0.5552 g, (3.6492 mmol) de DBU y 0.1229 mL, 0.1290 g, (1.2156 mmol) de benzaldehído.

#### **4.2.28 Preparación de la (S,E)-3-(4-clorofenil)-N-(1-iodo-3-fenilpropan-2-il)-acrilamida.**

Siguiendo el procedimiento general se hicieron reaccionar, 0.2008 g, (0.4885 mmol) de la fosfoiodoamida **51b**; 0.3094 g, (7.2988 mmol) de cloruro de litio; 0.2146 mL, 0.2229 g, (1.4650 mmol) de DBU y 0.0550 mL, 0.0686 g, (0.4880 mmol) de *p*-clorobenzaldehído.

### **4.3 Pruebas de Actividad Citotóxica.**

Para llevar a cabo los ensayos de actividad citotóxica, se seleccionaron 9 moléculas (fosfonamidas y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas) a probar, las cuales fueron obtenidas mediante síntesis orgánica, como se describió anteriormente. Los compuestos seleccionados para esta etapa son los que se muestran en la siguiente figura:

**Figura 16.** Moléculas probadas contra las líneas celulares HeLa y MCF-7.

#### **4.3.1 Selección de líneas celulares y método de análisis a utilizar.**

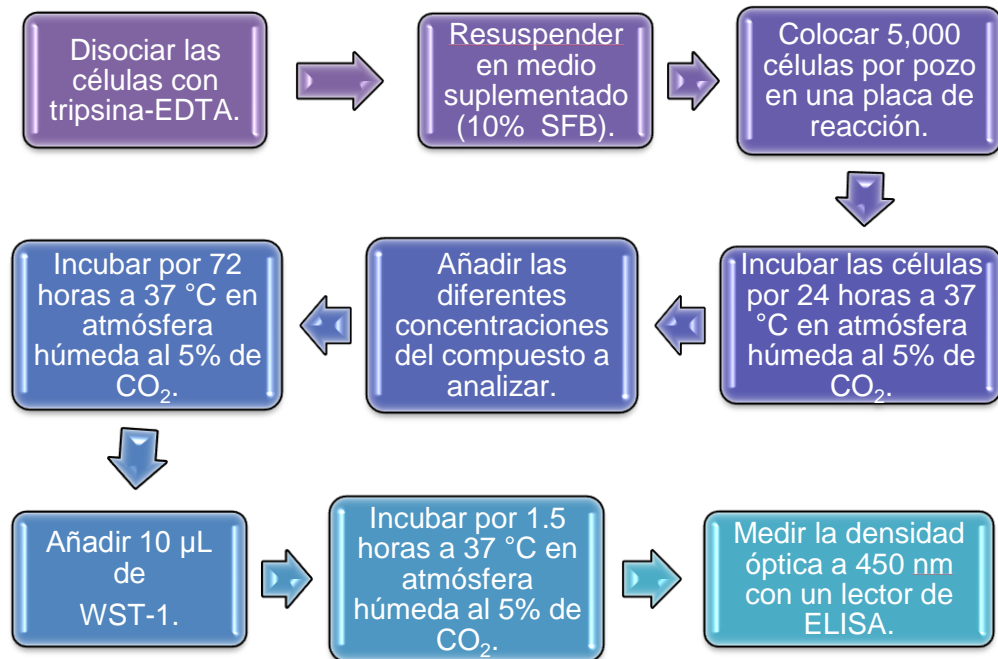
La actividad biológica de los compuestos seleccionados se probó utilizando las líneas celulares HeLa S3, de cáncer de cérvix (ATCC CCL-2) y MCF-7, de cáncer de mama (ATCC HTB-22) y el ensayo de reducción de WST-1 siguiendo el protocolo descrito a continuación y resumido en la Figura 17:

### **4.3.2 Técnica de manipulación celular y evaluación de la densidad óptica.**

Se utilizaron cultivos confluentes de cada línea celular para obtener una suspensión de células, utilizando tripsina al 0.5%. Las células se colocaron en un tubo eppendorf, y se centrifugaron a 1000 rpm por 10 minutos a 25 °C, se eliminó el sobrenadante, y se resuspendió la pastilla celular con medio (MEM) suplementado con suero fetal bovino al 10%. Se contaron las células en una cámara de Neubauer, utilizando un microscopio invertido. Una vez conocido el número total de células, se preparó una suspensión celular para colocar 5000 células en cada uno de los pozos de una microplaca de 96 pocillos. La placa así preparada se incubó por 24 horas a 37 °C, bajo una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5%. Posteriormente se adicionaron a las células, diferentes concentraciones de los compuestos a probar (5 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL y 50 µg/mL) y se incubaron por 72 horas bajo las mismas condiciones. Una vez transcurrido este tiempo, se colocaron 10 µL del reactivo WST-1 a cada uno de los pozos y se incubó la microplaca por 90 minutos bajo las mismas condiciones y finalmente, se realizó la lectura de la densidad óptica a 450 nm utilizando un lector de ELISA.

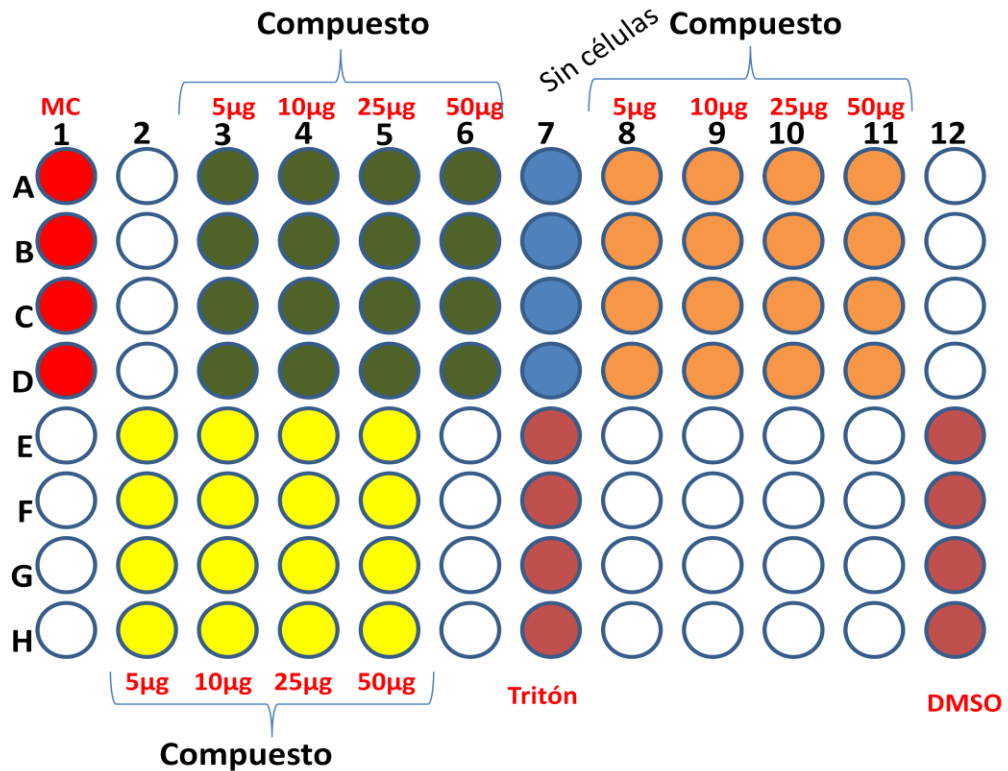
### 4.3.3 Preparación de los compuestos químicos a evaluar (diluciones).

Para preparar las distintas diluciones a probar de los compuestos, se preparó una solución “stock” de 1 mg/mL en dimetilsulfóxido (DMSO) de cada compuesto, de ahí se tomo la cantidad correspondiente de solución y se diluyó a 2mL con medio de cultivo MEM. Cada uno, fue esterilizado por filtración utilizando membranas Millipore® con tamaño de poro de 22 µm. Se probaron 3 compuestos por cada microplaca que se utilizó (Figura 18).



**Figura 17.** Diagrama esquemático para evaluar la viabilidad celular utilizando la técnica WST-1.





**Figura 18.** Representación de un ensayo de citotoxicidad en microplaca.

## Seguridad en el laboratorio y Disposición de residuos

La seguridad en el laboratorio y la disposición de cada uno de los residuos generados en el presente proyecto de investigación se hicieron de acuerdo a lo señalado en el Reglamento Interno de Seguridad e Higiene de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL.

Se manejaron residuos tanto químicos como biológicos que se dispusieron en diversos contenedores; el material biológico restante y físico reusable se esterilizó mediante calor húmedo.

**Colector A:** Soluciones salinas de pH 6-8, sales, ácidos y bases orgánicas.

**Colector B:** sólidos inorgánicos, sales inorgánicas.

**Colector C:** Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos halogenados.

**Colector D:** Tóxicos e inflamables, aminas, solventes orgánicos no halogenados.

**Colector E orgánico:** Muy tóxico, cancerígeno, orgánico.

**Colector E inorgánico:** Muy tóxico, cancerígeno, inorgánico.

**Colector F:** Sales de metales preciosos.

**Colector G:** Combinaciones orgánicas sólidas.

**Colector H:** Oxidantes.

**Colector de residuos de cianuro.**

**Colector de colorantes y lugol**

## CAPÍTULO 5

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 Preparación de amidas quirales $\alpha,\beta$ -insaturadas.

##### 5.1.1. Análisis retrosintético propuesto

Para llevar a cabo la preparación de amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas se propone el siguiente análisis retrosintético (Esquema 7).



**Esquema 7.** Análisis retrosintético para la preparación de amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

Como se puede observar en el esquema 7, las amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas **49-51** se pueden obtener a partir de la reacción Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) de las fosfonamidas **43-48** con diferentes aldehídos aromáticos (benzaldehído, *p*-clorobenzaldehído, *p*-metoxibenzaldehído y *p*-hidroxibenzaldehído y *p*-fluorobenzaldehído). A su vez las fosfonamidas **45-48** podrían obtenerse mediante una reacción de halogenación utilizando las fosfohidroxiamidas **43-44**, los cuales pueden obtenerse mediante la reducción del éster metílico correspondiente **41-42**. Los ésteres metílicos **41-42** se puede obtener a partir de la reacción de Michaelis-Arbuzov entre la trimetilfosfita y las bromoamidas **39-40** y éstas últimas pueden ser obtenidas, mediante la reacción del bromuro de bromoacetilo con el clorhidrato del aminoácido **37-38** proveniente del aminoácido apropiado **35-36**.

### **5.1.2. Síntesis de compuestos**

En esta parte se describen los resultados obtenidos en la etapa de síntesis orgánica; además, de la discusión de algunos espectros representativos de cada etapa del proceso.

#### **5.1.2.1 Preparación del clorhidrato del éster metílico de la (S)-fenilglicina y la (S)-fenilalanina.**

Para cumplir con este objetivo inicialmente se llevó a cabo la preparación de los clorhidratos de los aminoácidos correspondiente **37** y **38**; los resultados se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5.**  
Preparación de clorhidratos derivados de aminoácidos.

R	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	P. Fusión	Compuesto
<b>Fenilo (Ph)</b>	99	Sólido blanco	215 °C	<b>37</b>
<b>Bencilo (Bn)</b>	94	Sólido blanco	140 °C	<b>38</b>

Como se puede observar en la Tabla 5, la reacción de la (S)-fenilglicina con cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ) en metanol, proporcionó el clorhidrato del aminoácido como un sólido blanco, con un rendimiento químico del 99% y mostrando un punto de fusión de 215 °C. Mientras que la reacción de la (S)-fenilalanina bajo las mismas condiciones condujo al clorhidrato correspondiente con un rendimiento del 94% y un punto de fusión de 140 °C.

### 5.1.2.2 Preparación de la bromoamida del éster metílico de la (S)-fenilglicina y la (S)-fenilalanina.

Una vez obtenidos los clorhidratos **37** y **38** se llevó a cabo la preparación de las bromoamidas **39** y **40**, para lo cual se hizo reaccionar el clorhidrato del éster metílico apropiado con bromuro de bromoacetilo, utilizando carbonato de potasio, en una mezcla diclorometano-agua, obteniéndose las bromoamidas **39** y **40** como sólidos blancos con rendimientos químicos del 90% para ambas bromoamidas y un punto de fusión de 68 °C para el compuesto **39** y de 82 °C para la bromoamida **40** (Tabla 6).

**Tabla 6.**  
Preparación de bromoamidas **39** y **40**

R	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	P. Fusión	Compuesto
<b>Fenilo (Ph)</b>	90	Sólido blanco	68 °C	<b>39</b>
<b>Bencilo (Bn)</b>	90	Sólido blanco	82 °C	<b>40</b>

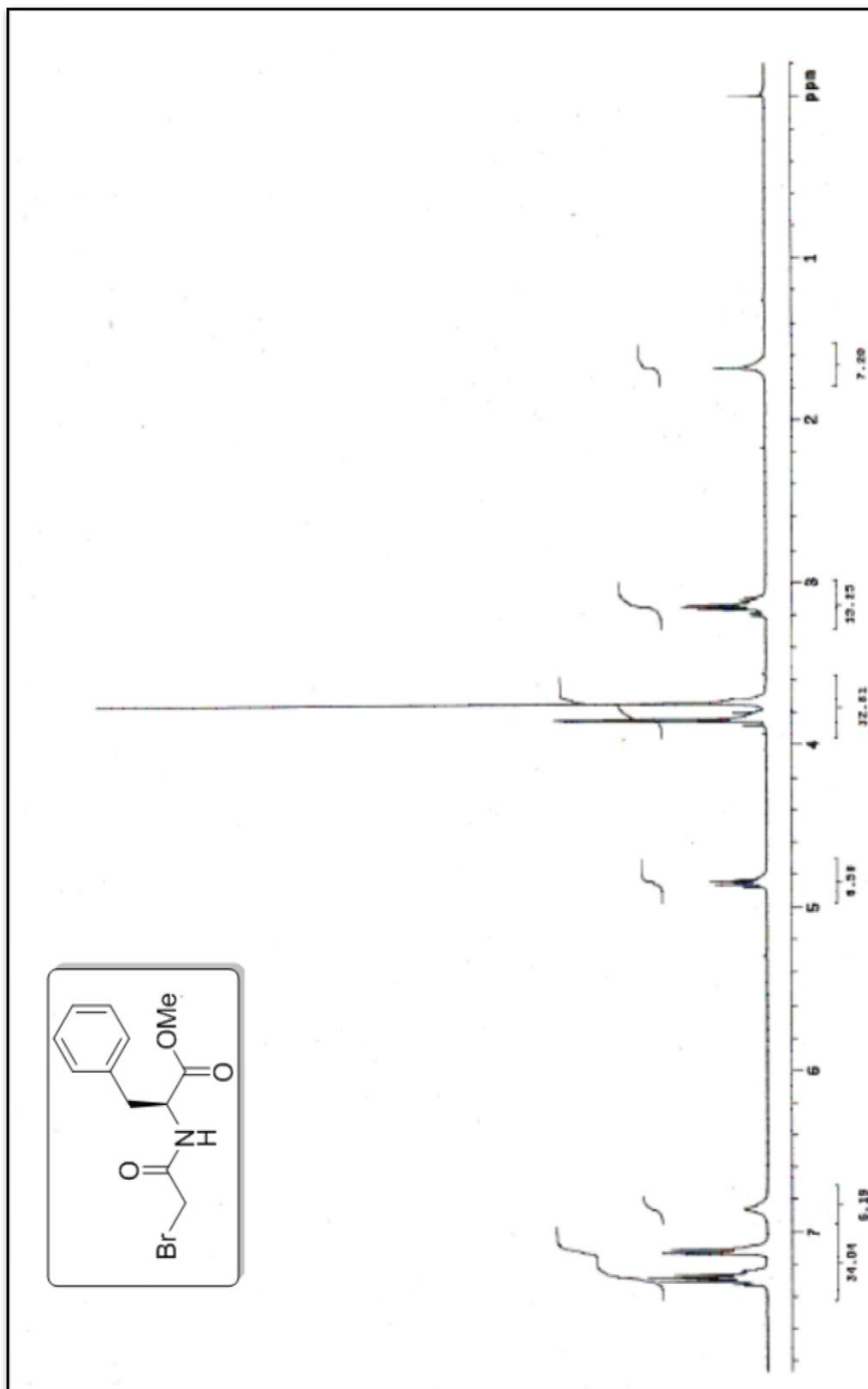
Las bromoamidas **39** y **40** fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR).

A continuación se describen las señales más importantes de RMN de  $^1\text{H}$  para la bromoamida **40** (Figura 19): En un desplazamiento químico de 3.15 ppm se observan dos dobles de doble que corresponde al grupo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), con constantes de acoplamiento de  $J = 6$  y  $14$  Hz, e integra para 2H; en 3.74 ppm se observa una señal sencilla que corresponde a los protones del grupo metoxilo (OMe), e integra para 3H; en 3.86 ppm se observa un sistema AB que corresponde a los protones del grupo metileno unido al bromo ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 13.6$  Hz, e integran para 2H; en 4.84 ppm se observa un doble de triples sistema AB que corresponde al grupo metino unido al bencilo ( $\text{CHBn}$ ) con constantes de acoplamiento  $J = 7.6$  Hz y  $6$  Hz, e integra para 2H, 6.85 ppm se observa una señal ancha que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno (NH), e integra para 1H, finalmente de 7.1-7.33 ppm se

observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo, e integra para 5H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 7.**  
Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la bromoamida **40**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	J (Hz)
<b>3.15</b>	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	6, 14
<b>3.74</b>	s	3H	<b>OMe</b>	-----
<b>3.86</b>	Sistema AB	2H	<b>CH<sub>2</sub>Br</b>	13.6
<b>4.84</b>	dt	2H	<b>CHCH<sub>2</sub>Ph</b>	7.6, 6
<b>6.85</b>	a	1H	<b>NH</b>	-----
<b>7.1-7.33</b>	m	5H	<b>Ph</b>	-----



**Figura 19.** Espectro de resonancia de  $^1\text{H}$  para la bromoamida 40.



Así mismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró las siguientes señales:  $\delta$  28.5 ( $\text{CH}_2\text{PH}$ ), 38 ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ), 53 (OMe), 54.5 ( $\text{CHBn}$ ), 127,128.9, 129.5, 135 (Ph), 165 (CONH), 172 ( $\text{CO}_2\text{Me}$ ).

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución para el compuesto **40** utilizando la técnica (FAB+) mostró los siguientes resultados: m/z calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrNO}_3$  (MH+) 301.12; encontrado 300.0301 y 302.0289. Estos resultados indican que el compuesto analizado presenta bromo en su estructura al observarse un M+2.

### 5.1.2.3 Preparación de fosfonamidas **41** y **42**.

El siguiente paso consistió en llevar a cabo la preparación de las fosfonamidas **41** y **42**, para lo cual se hizo reaccionar la bromoamida **39**, con trimetilfosfita, sin disolvente, obteniéndose la fosfonamida **41** como un líquido amarillo, con un rendimiento químico del 98%, mientras que para la fosfonamida **42** derivada de la (S)-fenilalanina se obtuvo con un rendimiento químico de 99% (Tabla 8).

**Tabla 8.**  
Preparación de fosfonamidas **41** y **42**.

R	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	RMN <sup>31</sup> P	Compuesto
Fenilo (Ph)	98	Líquido espeso amarillo	25.816 ppm	<b>41</b>
Bencilo (Bn)	99	Líquido espeso amarillo	25.664 ppm	<b>42</b>

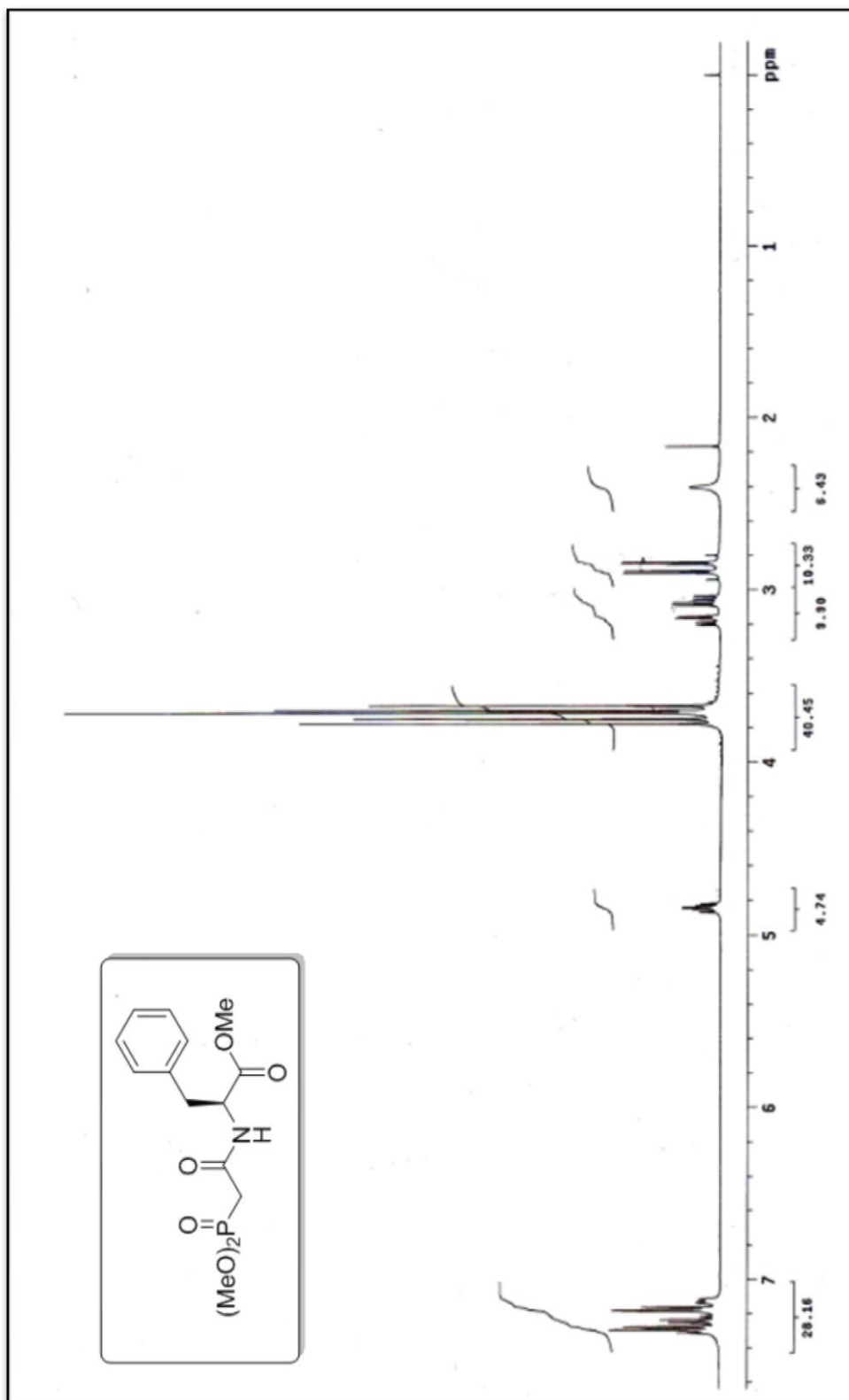
Las fosfonamidas **41** y **42** fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P y Espectrometría de Masas de Alta Resolución.

A continuación se describen las señales más importantes de RMN de <sup>1</sup>H para la fosfonamida **42** (Figura 20): En un desplazamiento químico de 2.87 ppm se observa un sistema AB que corresponde al grupo metileno unido al fósforo (CH<sub>2</sub>P) con constantes de acoplamiento  $J = 4.8$  Hz, e integra para 2H; en 3.12 ppm se observan dos dobles de dobles, que corresponde al metileno del bencilo (CH<sub>2</sub>Ph) con constantes de acoplamiento de  $J = 5.6$  y  $14.4$  Hz e integra para 2H; en 3.71 ppm se observa una señal sencilla que corresponde al metoxilo (OMe) del éster, e integra para 3H; en 3.69 y 3.76 ppm se observan dos señales dobles para los protones de los metilos del éster fosfónico [(MeO)<sub>2</sub>P] con una constante de acoplamiento  $J = 11.2$  Hz, e integran para 6H; en 4.84 ppm se observa un doble de triples que corresponde al grupo metino unido al bencilo (CHBn) con constantes de acoplamiento  $J = 7.2$  y  $9.2$  Hz, e integra para 2H; en 7.1 ppm se observa una señal doble ancha que corresponde al hidrógeno unido

al nitrógeno (NH) con una constante de acoplamiento  $J = 7.4$  Hz, e integra para 1H, finalmente de 7.16-7.32 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo, e integra para 5H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 9.**  
Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la fosfonamida **42**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
2.87	Sistema AB	2H	$\text{CH}_2\text{P}$	4.8
3.12	2dd	2H	$\text{CH}_2\text{Ph}$	5.6, 14.4
3.71	s	3H	$\text{OCH}_3$	-----
3.69-3.76	2d	6H	$(\text{OCH}_3)_2$	11.2
4.84	dt	2H	$\text{CHCH}_2\text{Ph}$	7.6, 9.2
7.1	d	1H	NH	7.4
7.26	m	5H	Ph	-----



**Figura 20.** Espectro de resonancia de <sup>1</sup>H para la fosfonamida 42.

Así mismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró las siguientes señales:  $\delta$  34 ( $\text{CH}_2\text{P}$ ), 39 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 52 ( $\text{CHNH}$ ), 53 ( $\text{OMeP}$ ), 54 ( $\text{OMe}$ ), 127, 128, 129, 136 ( $\text{Ph}$ ), 164 ( $\text{CONH}$ ), 172 ( $\text{CO}_2\text{Me}$ ).

Con respecto al espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  (81MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), se encontró la siguiente señal:  $\delta$  25.664.

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución para el compuesto **42** utilizando la técnica FAB+ mostró los siguientes resultados: (FAB+) m/z calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_6\text{P}$  ( $\text{MH}^+$ ) 329.25; encontrado 330.1119.

#### **5.1.2.4 Preparación del fosfonoalcohol 43 y 44.**

Para la preparación de los fosfohidroxiamidas **43** y **44**, se llevó a cabo una reacción de reducción del éster metílico, para ello se hizo reaccionar la fosfonamida **41** con borohidruro de sodio, en una mezcla de tetrahidrofurano y metanol, obteniéndose el alcohol de la fosfonoamida de la (S)-fenilglicina como un líquido viscoso transparente con un rendimiento del 85%. Siguiendo el mismo procedimiento se logró obtener el alcohol de la fosfonoamida de la (S)-fenilalanina como un líquido viscoso transparente con un rendimiento químico del 94% (Tabla 10).

**Tabla 10.**  
Preparación de los fosfohidroxiamidas **43** y **44**.

R	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	RMN <sup>31</sup> P	Compuesto
Fenilo (Ph)	85	Líquido viscoso amarillo	26.792 ppm	<b>43</b>
Bencilo (Bn)	94	Líquido viscoso amarillo	26.585 ppm	<b>44</b>

Nota: Para obtener el fosfohidroxiamida de forma satisfactoria, se llevó a cabo una gran cantidad de reacciones variando las condiciones de reacción, ya que inicialmente se presentó dificultad para su obtención, hasta que se logró optimizar y lograr buenos rendimientos, siendo las mejores condiciones, la utilización de reflujo de 4 a 6 horas, filtrar las sales y no precipitarlas con HCl, purificar por columna, utilizando un sistema AcOEt:Hex:MeOH (5:4:1).

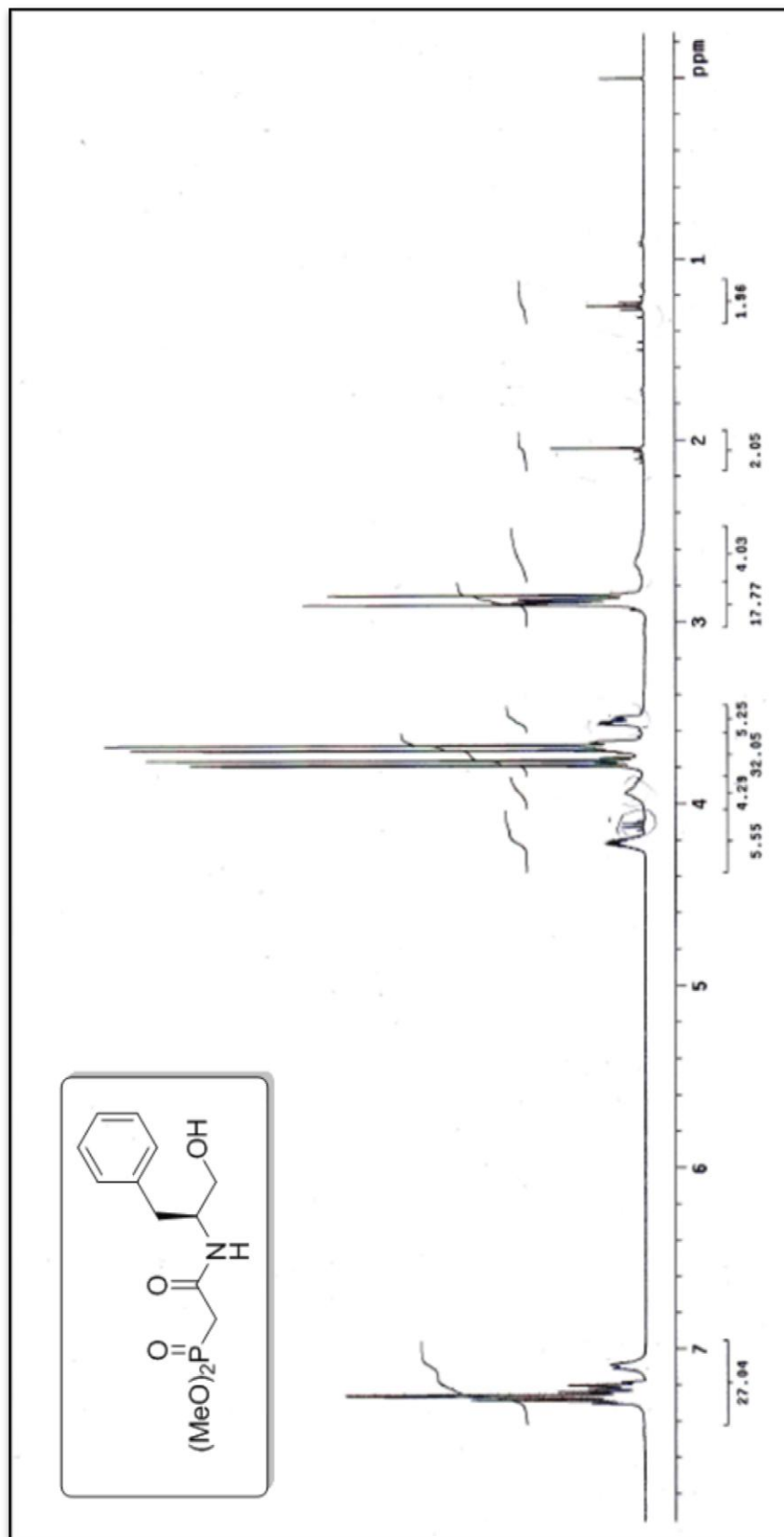
Las fosfohidroxiamidas **43** y **44** fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P.

Las señales de RMN de <sup>1</sup>H para la fosfohidroxiamida **44** se muestran a continuación (Figura 21): En un desplazamiento químico de 2.87 ppm se observa una señal doble que corresponde al grupo metileno unido al fósforo (CH<sub>2</sub>P) con una constante de acoplamiento  $J = 21.2$  Hz, e integra para 2H; En un desplazamiento químico de 2.88 ppm se observa un doble de dobles que corresponde grupo metileno unido a fenilo (CH<sub>2</sub>Ph) con constantes de

acoplamiento  $J = 2.4$  y  $7.6$  Hz, e integra para 2H; en 3.54 ppm se observa un doble de dobles que corresponde al metileno unido al grupo hidroxilo ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 4.4$  y  $11.2$  Hz, e integra para 2H; en 3.69 y 3.77 ppm se observan dos señales dobles que corresponden a los metoxilos del éster fosfónico [ $\text{P}(\text{OMe})_2$ ] con constantes de acoplamiento  $J = 11.6$ , e integran para 6H; en 4.21 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al metino unido al amino ( $\text{CHNH}$ ) e integra para 1H; en 7.1 se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno ( $\text{NH}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 7.6$  Hz, e integra para 1H; finalmente de 7.18 a 7.3 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para 5H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 11.**  
Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la fosfohidroxiamida **44**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
2.87	d	2H	$\text{CH}_2\text{P}$	21.2
2.88	dd	2H	$\text{CH}_2\text{Ph}$	2.4, 7.6
3.54	dd	2H	$\text{CH}_2\text{OH}$	4.4, 11.2
3.69-3.77	2d	6H	$(\text{OCH}_3)_3$	11.6
4.21	m	1H	$\text{CHNH}$	-----
7.1	d	1H	$\text{NH}$	7.6
7.18-7.3	m	5H	$\text{Ph}$	-----



**Figura 21.** Espectro de resonancia de  $^1\text{H}$  para la fosfohidroxiamida 44.



Así mismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró las siguientes señales:  $\delta$  35 ( $\text{CH}_2\text{P}$ ), 38 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 53 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 54 ( $\text{OMeP}$ ), 64 ( $\text{CHBn}$ ), 126, 128.5, 129.4, 138 (Ph), 164 (CONH).

Con respecto al espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  (81MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), se encontró la siguiente señal:  $\delta$  26.585

#### **5.1.2.5 Preparación de fosfobromoamidas 45 y 46.**

Teniendo el alcohol **43** y **44** en mano, se procedió a realizar la síntesis del bromuro de la fosfonamida **45**, para la cual se hizo reaccionar el alcohol de fosfonamida **43**, con trietilamina, cloruro de tionilo y el bromuro de sodio, utilizando diclorometano como disolvente. La reacción se sometió a reflujo por 4 horas, obteniéndose un sólido blanco amarillento, el cual fue purificado por columna cromatográfica, obteniéndose un sólido de color blanco, con un rendimiento químico del 67%. Mientras que el bromuro de fosfonamida **46** fue obtenido bajo las mismas condiciones; sin embargo, esta se obtuvo con un rendimiento más bajo, 35%. (Tabla 12).

**Tabla 12.**  
Preparación de las fosfobromoamidas **45** y **46**.

R	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	Compuesto
Fenilo (Ph)	67	Sólido blanco	<b>45</b>
Bencilo (Bn)	35	Sólido blanco	<b>46</b>

Como se puede observar los rendimientos obtenidos no son del todo satisfactorios; por lo tanto, se decidió modificar las condiciones de reacción, para lo cual se varió los equivalentes de NaBr utilizados, así como el tiempo de reacción, logrando obtener una reacción más limpia y fácil de purificar; no obstante, no se logró un incremento significativo en el rendimiento químico.

Las fosfobromoamidas **45** y **46** fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ .

Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para la fosfobromoamida **46** se muestran a continuación (Figura 22): En un desplazamiento químico de 2.84 ppm se observa un doblete que corresponde al grupo metileno unido al fósforo ( $\text{CH}_2\text{P}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 20.7\text{Hz}$  e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 2.93 ppm se observa una señal doble que corresponde al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con una constante de

acoplamiento 7.5 Hz e integra para 2H; en 3.49 a 3.64 ppm se observan un doble de doble que corresponde al metileno unido al grupo bromo (CH<sub>2</sub>Br) con constantes de acoplamiento de  $J = 4.5$  y  $11.4$  e integra para 2H; en 3.68-3.8 ppm se observan dos dobletes que corresponden a los metoxilos unidos al fósforo [P(OMe)<sub>2</sub>] con constantes de acoplamiento  $J = 11.4$ , e integra para 6H; 4.45 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al metino unido al amino (CHNH) e integra para 1H; en 7.0 se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno (NH) con constante de acoplamiento de  $J = 7.8$  e integra para 1H, finalmente 7.18 a 7.33 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para 5H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de <sup>1</sup>H.

**Tabla 13.**  
Datos de RMN de <sup>1</sup>H para la Fosfobromoamida **46**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
2.84	d	2H	CH <sub>2</sub> P	20.7
2.9	d	2H	CH <sub>2</sub> Ph	7.5
3.49-3.64	dd	2H	CH <sub>2</sub> Br	4.5, 11.4
3.68-3.8	2d	6H	(MeO) <sub>2</sub> P	11.4
4.45	m	1H	CHNH	-----
7.0	a	1H	NH	7.8
7.18-7.33	m	5H	Ph	-----

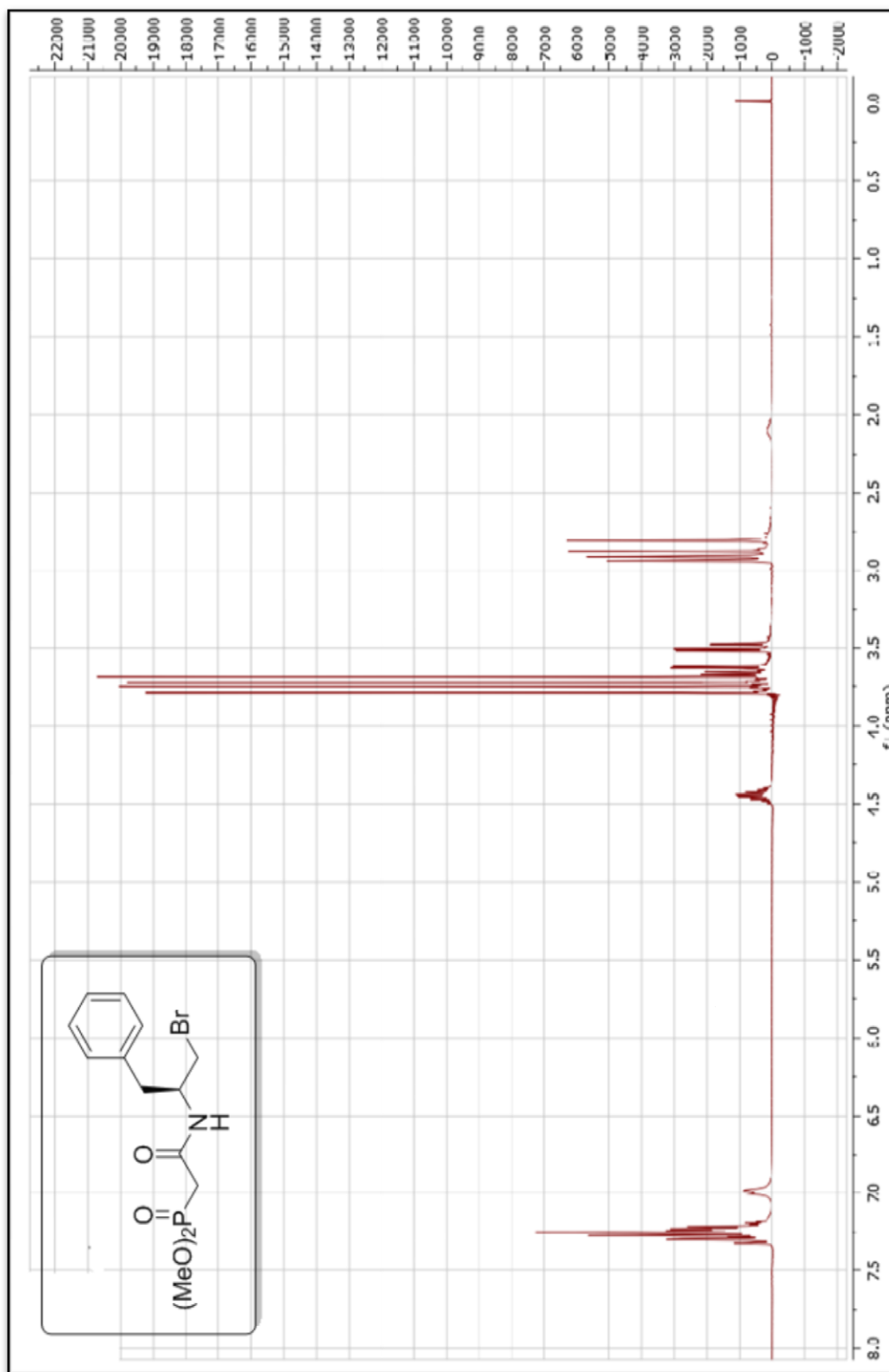


Figura 22. Espectro de resonancia de  $^1\text{H}$  para la fosfobromoamida 46.

Así mismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró las siguientes señales:  $\delta$  35 ( $\text{CH}_2\text{P}$ ), 38 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 53 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 54 ( $\text{OMeP}$ ), 64 ( $\text{CHBn}$ ), 126, 128.5, 129.4, 138 (Ph), 164 (CONH).

#### 5.1.2.6 Preparación de fosfoiodoamidas **47** y **48**.

Con base en estos resultados se decidió cambiar el NaBr por NaI con la finalidad de mejorar el rendimiento químico y tener un mejor grupo saliente al llevar a cabo una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular.

Como se puede observar, se logró mejorar el rendimiento químico para el caso del compuesto **46** al pasar de un 35% a un 58% (Tabla 14).

**Tabla 14.**  
Preparación de fosfobromo- y fosfoiodoamidas **45-48**.

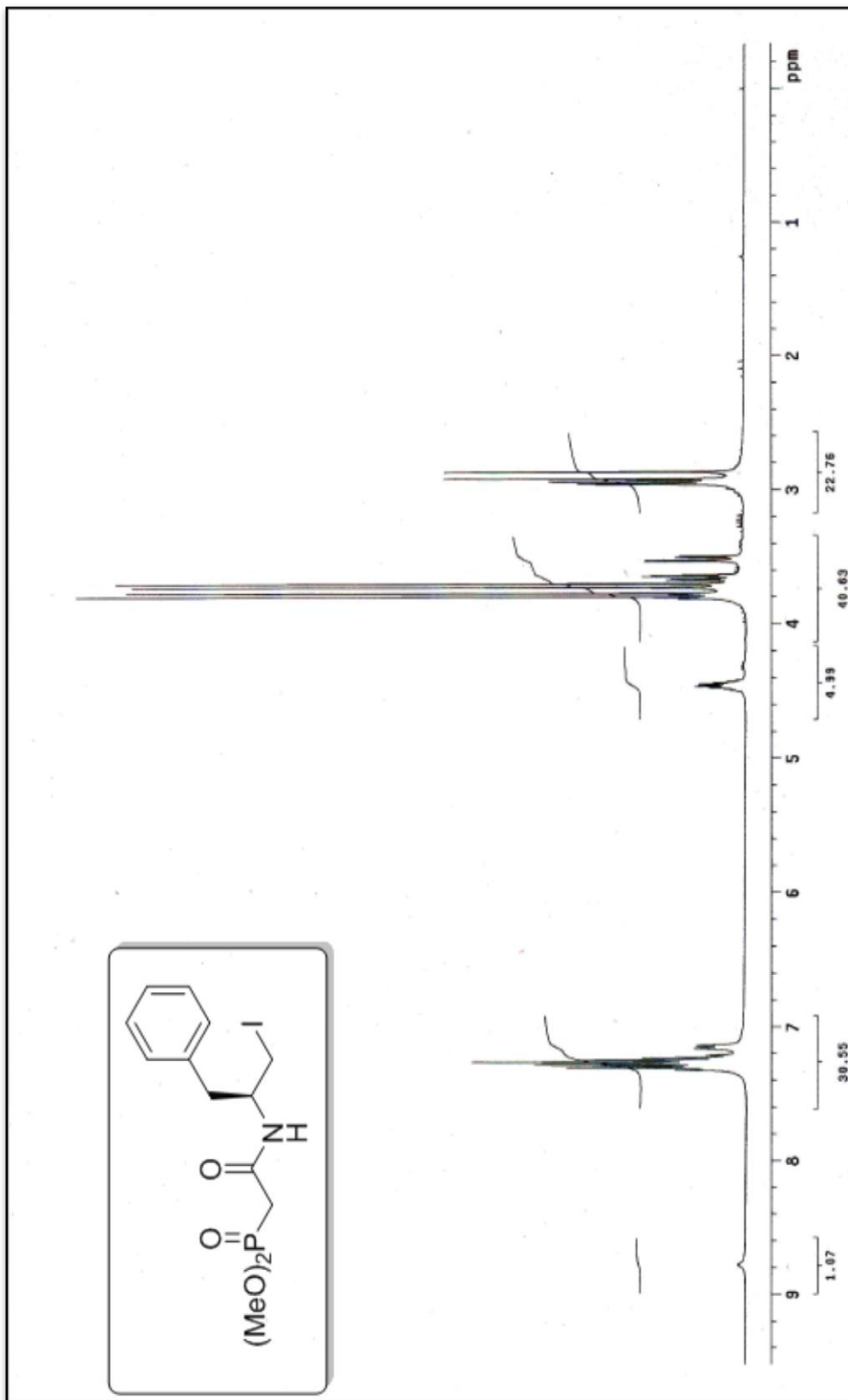
R	X	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	Compuesto
Fenilo (Ph)	Br	67	Sólido blanco	<b>45</b>
Bencilo (Bn)	Br	35	Sólido blanco	<b>46</b>
Fenilo (Ph)	I	68	Sólido amarillo	<b>47</b>
Bencilo (Bn)	I	58	Sólido amarillo	<b>48</b>

Las fosfoiodoamidas **47** y **48** fueron caracterizadas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  y Espectrometría de Masas de Alta Resolución.

Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para la fosfoiodoamida **48** se muestran a continuación (Figura 23): En un desplazamiento químico de 2.89 ppm se observa una señal doble que corresponde al grupo metileno unido al fósforo ( $\text{CH}_2\text{P}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 20.8$  Hz e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 2.94 ppm se observa una señal doble que corresponde al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con una constante de acoplamiento 7.6 Hz, e integra para 2H; en 3.58 ppm se observan dos doble de dobles que corresponde al metileno unido al grupo iodo ( $\text{CH}_2\text{I}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 4.4$  y 11.2, e integra para 2H; en 3.71 y 3.78 ppm se observan dos señales dobles que corresponden a los metoxilos unidos al fósforo [ $\text{P}(\text{OMe})_2$ ] con constantes de acoplamiento  $J = 11.2$  Hz, e integra para 6H; en 4.45 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al metino unido al amino ( $\text{CHNH}$ ) e integra para 1H; en 7.1 se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno ( $\text{NH}$ ) con constante de acoplamiento de  $J = 8$  Hz e integra para 1H, finalmente 7.21 a 7.32 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para 5H. En la Tabla 15 se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 15.**  
 Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la fosfoidoamida **48**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
<b>2.89</b>	d	2H	<b>CH<sub>2</sub>P</b>	20.8
<b>2.94</b>	dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	7.6
<b>3.58</b>	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>I</b>	4.4, 11.2
<b>3.71 y 3.78</b>	2d	6H	<b>(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	11.2
<b>4.45</b>	m	1H	<b>CHNH</b>	-----
<b>7.1</b>	d	1H	<b>NH</b>	8.0
<b>7.21-7.32</b>	m	5H	<b>Ph</b>	-----



**Figura 23.** Espectro de resonancia de <sup>1</sup>H para la fosfoiodoamida **48**.



Así mismo, el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostró las siguientes señales:  $\delta$  37 ( $\text{CH}_2\text{P}$ ), 39 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 46 ( $\text{CH}_2\text{I}$ ), 51 ( $\text{OMeP}$ ), 54 ( $\text{CHBn}$ ), 127, 128.7, 129.3, 137 ( $\text{Ph}$ ), 164 ( $\text{CONH}$ ).

Con respecto al espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  (81MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), se encontró la siguiente señal:  $\delta$  26.048.

Por otro lado, la Espectrometría de Masas de Alta Resolución (EMAR) para el compuesto **48** utilizando la técnica FAB+ mostró los siguientes resultados: (FAB+) m/z calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{INO}_4\text{P}$  ( $\text{MH}^+$ ) 411.17; encontrado 412.0179

### 5.1.2.7 Preparación de fosfoxazolina quiral **53**

El siguiente paso consistió en llevar a cabo la reacción de ciclación intramolecular, en la cual el yoduro o bien el bromuro de la fosfonamida se hizo reaccionar bajo condiciones anhidras con hexametildisililamido de litio ( $\text{LiHMDS}$ ), utilizando THF como disolvente a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , obteniéndose un líquido amarillo viscoso, el cual fue purificado por columna cromatográfica utilizando como fase móvil un sistema de Acetato de etilo:Hexano:Metanol (5:4:1). Inicialmente se pensó que el producto obtenido correspondía a la fosfolactama **52**, obtenida mediante una ciclación intramolecular (C-alkilación); sin embargo, al analizar el compuesto por Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ , se pudo observar, que los datos espectrométricos, no concordaban del todo con lo esperado, por lo que se hizo un análisis exhaustivo de los datos

espectroscópicos, llegando a la conclusión que no se obtenía el compuesto **52**, más bien el producto obtenido corresponde a la fosfaoxazolina **53** (Esquema 8).

**Esquema 8.** Preparación de la fosfaoxazolina **53**.

Se propone que la fosfaoxazolina **53**, se obtiene mediante una O-alkilación a través de rearrreglos intramoleculares, tal como se observa en el Esquema 9.

**Esquema 9.** Mecanismo propuesto para la preparación de la fosfooxazolina **53**.

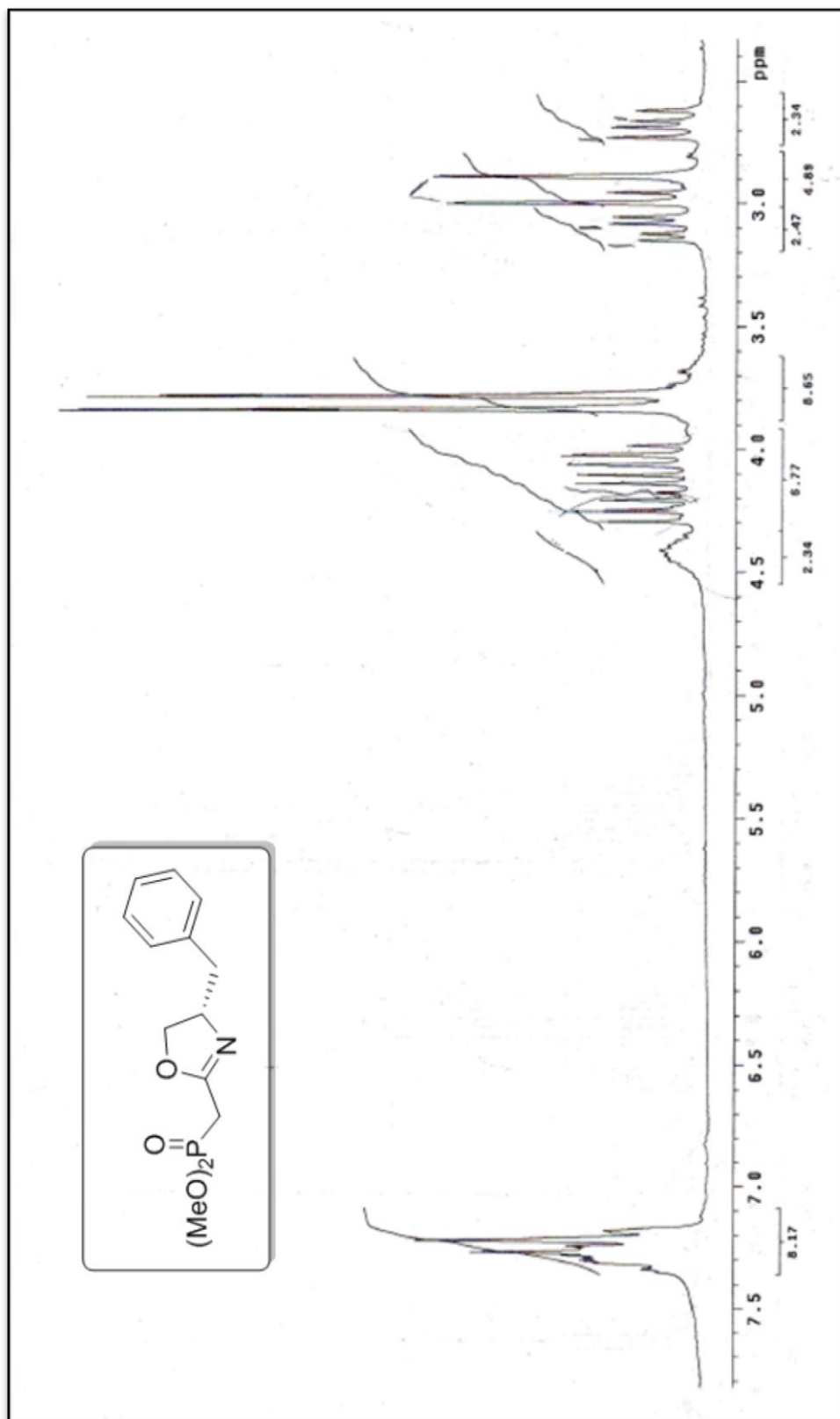
Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para la oxazolina **53** se muestran a continuación (Figura 24): en un desplazamiento químico de 2.67 y 3.10 ppm se observan dos doble de doble que corresponde al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 5.6$  y  $13.6$  Hz, e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 2.94 ppm se observa una señal doble que corresponde grupo metileno unido al fosforilo ( $\text{CH}_2\text{P}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 21.8$ , e integra para 2H; en 3.8 y 3.81 ppm se observan dos señales dobles que corresponden a los metoxilos del éster fosfónico  $[(\text{MeO})_2\text{P}]$  con una constante de acoplamiento  $J = 11$  Hz para cada señal, e integra para 6H; en 4.1 y 4.25 se observan dos doble de dobles empalmados, que corresponde al metileno unido al oxígeno del la oxazolina ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 8.4$  Hz, integra para 2H; en 4.41 se observa una

señal múltiple que corresponde al grupo metino unido al imino (CHN=), e integra para 1H, finalmente 7.12 a 7.4 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para 5H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 16.**  
Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la oxazolina **53**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	J (Hz)
2.67 y 3.10	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	5.6, 13.6
2.94	d	2H	<b>CH<sub>2</sub>P</b>	21.8
3.8 y 3.81	2d	6H	<b>[(MeO)<sub>2</sub>P]</b>	11
4.1 y 4.25	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>O</b>	8.4
4.41	m	1H	<b>CHN=</b>	-----
7.1	d	1H	<b>NH</b>	8.0
7.12-7.4	m	5H	<b>Ph</b>	-----

Para confirmar lo anterior, se llevó a cabo un experimento DEPT (figura 25) donde se puede notar que el compuesto presenta 13 carbonos, de los cuales se observa la presencia de dos carbonos metilos ( $\text{CH}_3$ ), tres carbonos metilenos ( $\text{CH}_2$ ), un carbono metino ( $\text{CH}$ ), 6 aromáticos, y un carbono unido a doble enlace, lo cual nos confirma la formación de la oxazolina, ya que en el caso de la lactama, a diferencia de lo anterior se esperarían solo dos grupos metilenos y dos grupos metinos, los cuales no se observan.



**Figura 24.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H para la oxazolina **53**.

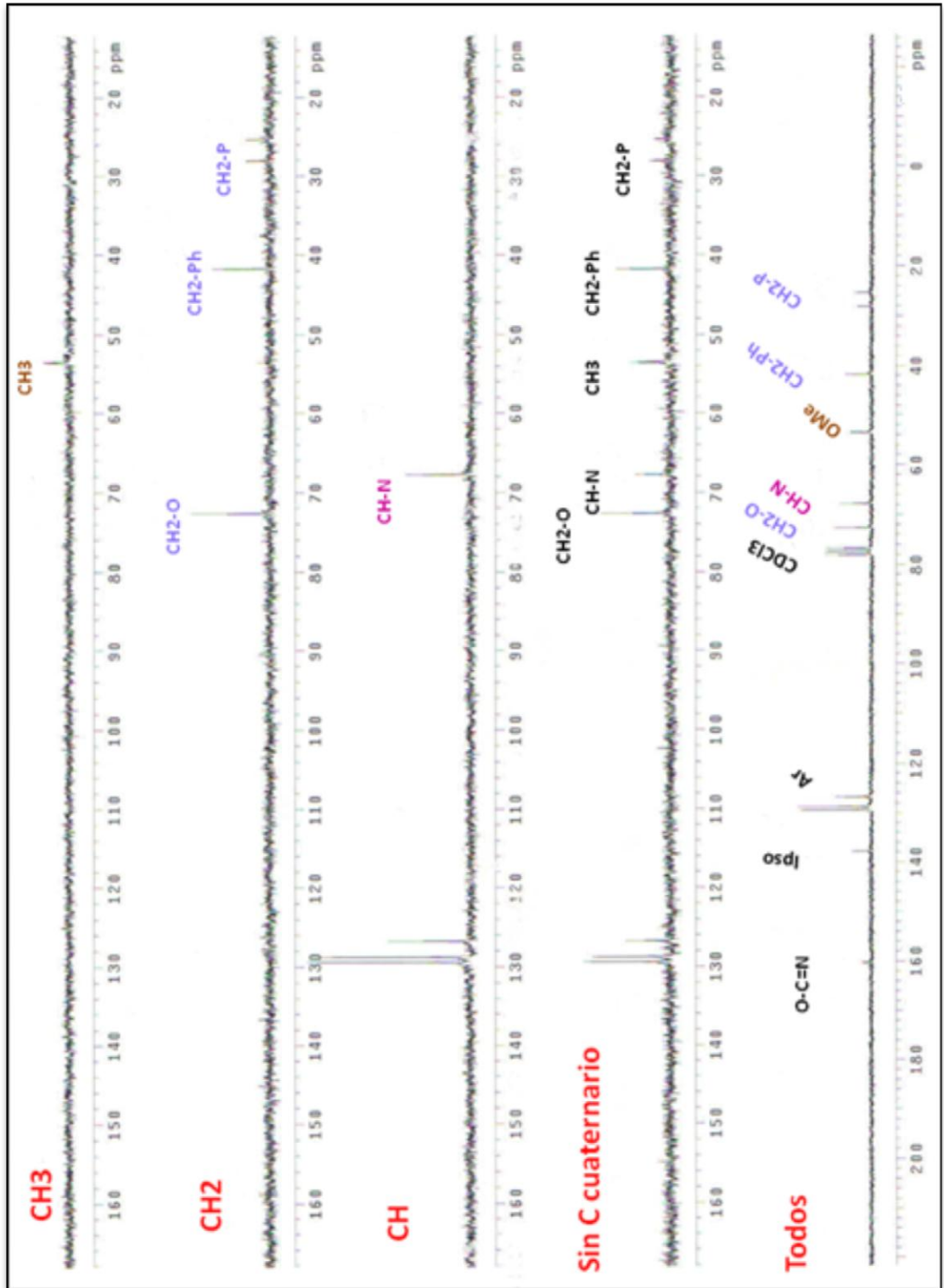


Figura 25. Experimento DEPT de fosfoaxazolina 53.

### 5.1.2.8 Preparación de amidas quirales $\alpha,\beta$ -insaturadas 49-51.

Por otra parte se llevó a cabo la preparación de amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, las cuales se obtuvieron a partir de las fosfonamidas **44**, **46**, **48**, descritas anteriormente. Para lo cual se hicieron reaccionar con diferentes aldehídos aromáticos **(a)**  $C_6H_5$ , **(b)**  $p\text{-ClC}_6H_4$ , **(c)**  $p\text{-OHC}_6H_4$ , **(d)**  $p\text{-MeOC}_6H_4$ , **(e)**  $p\text{-FOC}_6H_4$  mediante la reacción Horner-Wadsworth-Emmons (HWE), utilizando DBU como base, LiCl en THF seco, obteniéndose en la mayoría de los casos como un sólido y con buenos rendimientos químicos (Tabla 17).

**Tabla 17.**  
Preparación de amidas quirales  $\alpha,\beta$ -insaturadas.

X	R <sub>1</sub>	Rendimiento (%)	Aspecto Físico	Compuesto
OH	$C_6H_5$	98	Sólido blanco	<b>49a</b>
OH	$p\text{-ClC}_6H_4$	100	Sólido blanco	<b>49b</b>
OH	$p\text{-OHC}_6H_4$	100	Líquido viscoso	<b>49c</b>
OH	$p\text{-MeOC}_6H_4$	97	Sólido blanco	<b>49d</b>
OH	$p\text{-FC}_6H_4$	100	Sólido blanco	<b>49e</b>
Br	$p\text{-ClC}_6H_4$	98	Sólido blanco	<b>50b</b>
Br	$p\text{-OHC}_6H_4$	97	Sólido blanco	<b>50c</b>
Br	$p\text{-MeOC}_6H_4$	97	Sólido blanco	<b>50d</b>
I	$C_6H_5$	---	Sólido amarillo	<b>51a</b>
I	$p\text{-ClC}_6H_4$	---	Sólido blanco	<b>51b</b>

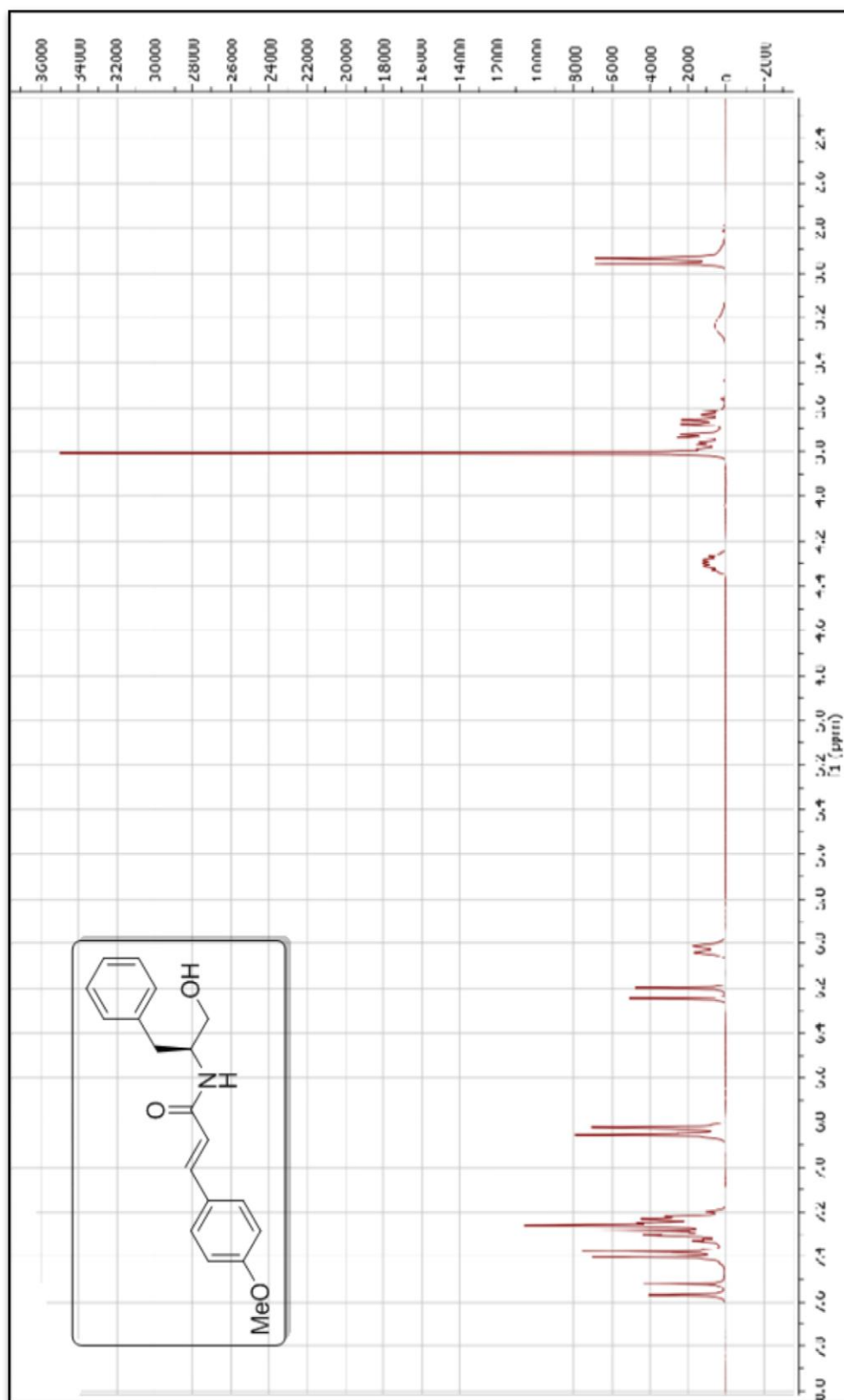
Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para el sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado **49d** se muestran a continuación (Figura 26): En un desplazamiento químico de 2.99 ppm se observa un doble que corresponde al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con una constante de acoplamiento de  $J = 9$  Hz, e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 3.64 ppm se observan dos doble de dobles que corresponde grupo metileno unido al hidroxilo ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) con constantes de acoplamiento  $J = 3$  y 12 Hz, e integra para 2H; en 3.81 ppm se puede observar una señal simple que corresponde a los protones del metoxilo unidos a fenilo ( $\text{PhOMe}$ ), e integra para 3H; en 4.3 ppm se observa un multiplete que corresponde al grupo metino unido al amino ( $\text{CHNH}$ ), e integra para 1H; en 6.03 se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno ( $\text{NH}$ ) con constante de acoplamiento  $J = 9$  e integra para 1H; en 6.27 se observa un doblete que corresponde al grupo ( $=\text{CHC}=\text{O}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  Hz e integra para 1H y en 7.54 se observa otro doblete que corresponde al grupo ( $=\text{CHPh}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  Hz e



integra para 1H, finalmente de 6.83 a 7.4 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos de los grupos fenilo e integra para 9H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 18.**  
Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para el sistema  $\alpha, \beta$ -insaturado **49d**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
2.99	d	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	9
3.64	dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>OH</b>	3, 12
3.81	s	3H	<b>OMe</b>	-----
4.3	m	1H	<b>CHNH</b>	-----
6.03	d	1H	<b>NH</b>	9
6.27	d	1H	<b>=CH-C=O</b>	15
7.54	d	1H	<b>=CHPh</b>	15
6.83-7.4	m	9H	<b>Ph</b>	-----



**Figura 26.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para la amida  $\alpha,\beta$ -insaturada 49d.

Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para el sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado **50d** se muestran a continuación (Figura 27): En un desplazamiento químico de 2.99 ppm se observa un doble de doble que corresponde al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 9$  y  $12$  Hz, e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 3.64 ppm se observa dos doble de dobles que corresponden al grupo metileno unido a bromo ( $\text{CH}_2\text{Br}$ ) con constante de acoplamiento  $J = 3$  y  $12$  Hz, e integra para 2H; en 3.83 ppm se observa una señal sencilla que corresponde al grupo metoxilo unido al grupo fenilo ( $\text{PhOMe}$ ) e integra para 3H; en 4.62 ppm se observa un multiplete que corresponde al grupo metino unido al amino ( $\text{CHNH}$ ) e integra para 1H; en 5.87 se observa una señal ancha que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno ( $\text{NH}$ ) e integra para 1H; en 6.27 se observa un doblete que corresponde al grupo ( $=\text{CHC}=\text{O}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  Hz, e integra para 1H y en 7.59 se observa otro doblete que corresponde al grupo ( $=\text{CHPh}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  e integra para 1H, finalmente 6.87-7.4 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo e integra para 9H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 19.**  
 Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para la amida  $\alpha,\beta$ -insaturada **50d**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	$J$ (Hz)
<b>2.99</b>	dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	9, 12
<b>3.64</b>	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Br</b>	3, 12
<b>3.83</b>	s	3H	<b>OMe</b>	-----
<b>4.62</b>	m	1H	<b>CHNH</b>	-----
<b>5.87</b>	a	1H	<b>NH</b>	-----
<b>6.27</b>	d	1H	<b>=CH-C=O</b>	15
<b>7.59</b>	d	1H	<b>=CHPh</b>	15
<b>6.87-7.4</b>	m	9H	<b>Ph</b>	-----

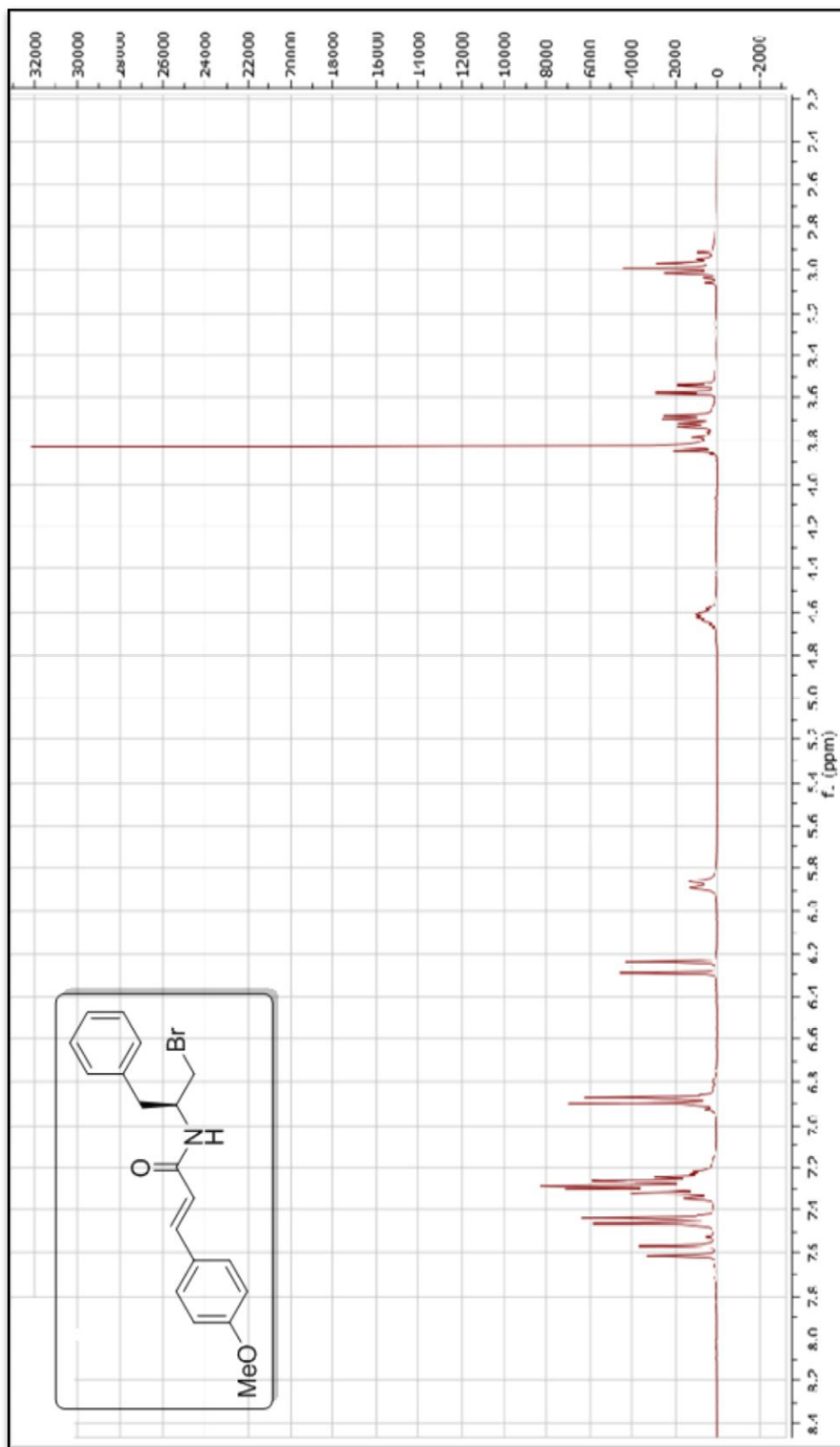
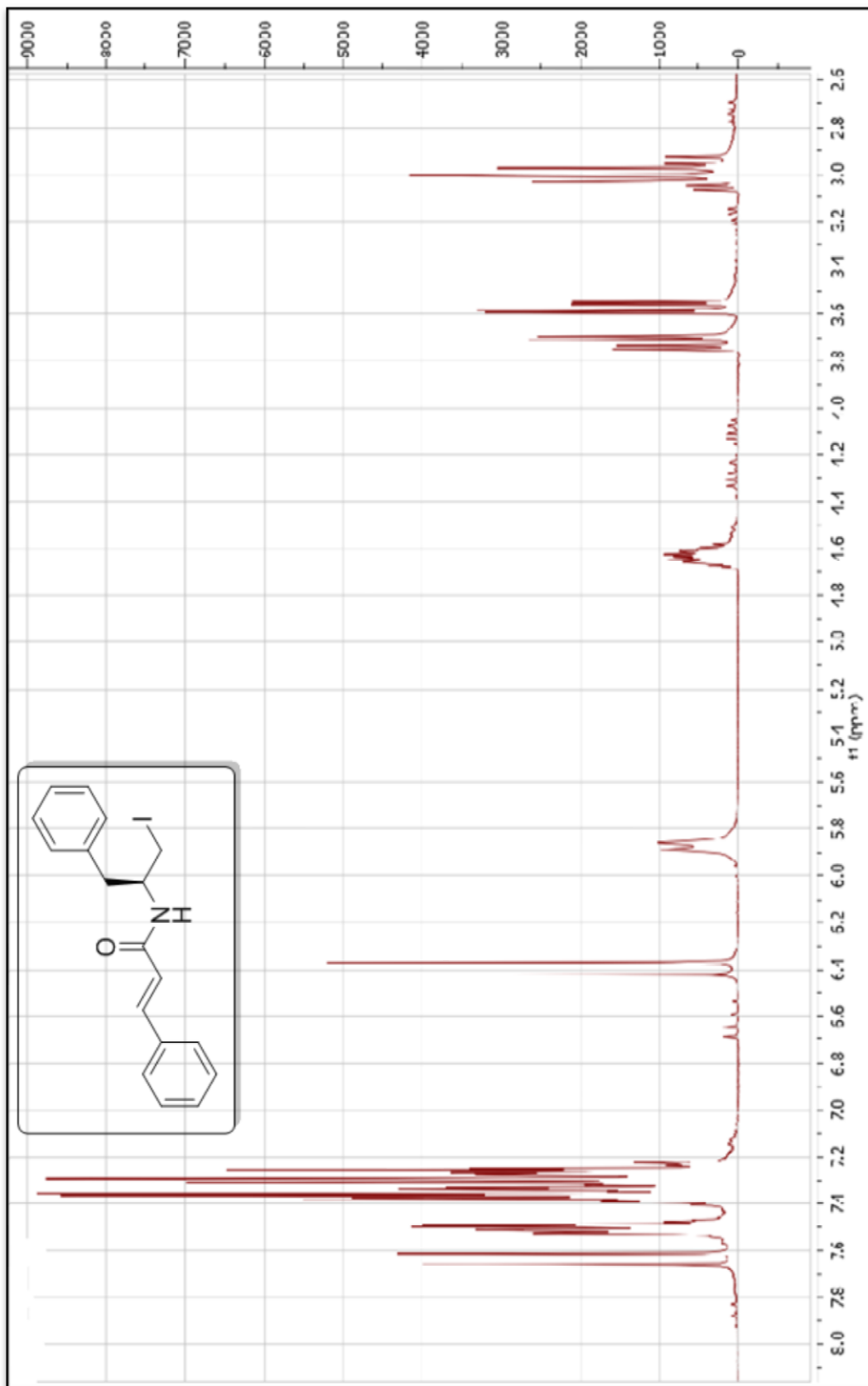


Figura 27. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H para la amida α,β-insaturada 50d.

Las señales de RMN de  $^1\text{H}$  para el sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado **51a** se muestran a continuación (Figura 28): En un desplazamiento químico de 3.0 ppm se observan dos doble de dobles que corresponden al grupo metileno unido a fenilo ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) con constantes de acoplamiento de  $J = 6$  y  $12$  Hz, e integra para 2H; en un desplazamiento químico de 3.64 ppm se observan dos doble de dobles que corresponde grupo metileno unido al yodo ( $\text{CH}_2\text{I}$ ) con constante de acoplamiento  $J = 6$  y  $12$  Hz, e integra para 2H; en 4.62 ppm se observa un multiplete que corresponde al grupo metino unido al amino ( $\text{CHNH}$ ), e integra para 1H; en 5.88 ppm se observa una señal doble que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno ( $\text{NH}$ ) con constante de acoplamiento  $J = 9$  Hz, e integra para 1H; en 6.4 se observa un doble que corresponde al grupo ( $=\text{CHC}=\text{O}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  Hz, e integra para 1H y en 7.63 se observa otro doble que corresponde al grupo ( $=\text{CHPh}$ ) con una constante de acoplamiento  $J = 15$  Hz e integra para 1H, finalmente de 7.2 a 7.5 ppm se observa una señal múltiple que corresponde para los hidrógenos aromáticos de los grupos fenilo e integra para 9H. En la Tabla siguiente se resumen los datos espectroscópicos de RMN de  $^1\text{H}$ .

**Tabla 20.**  
 Datos de RMN de  $^1\text{H}$  para el sistema  $\alpha, \beta$ -insaturado **51a**.

Desplazamiento ( $\delta$ )	Multiplicidad	Integración	Protón	J (Hz)
<b>3.0</b>	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>Ph</b>	6, 12
<b>3.55-3.74</b>	2dd	2H	<b>CH<sub>2</sub>I</b>	6, 12
<b>4.62</b>	m	1H	<b>CHNH</b>	-----
<b>5.88</b>	d	1H	<b>NH</b>	9
<b>6.4</b>	d	1H	<b>=CHC=O</b>	15
<b>7.63</b>	d	1H	<b>=CHPh</b>	15
<b>7.2-7.5</b>	m	9H	<b>Ph</b>	-----



**Figura 28.** Espectro de resonancia de <sup>1</sup>H para la amida α,β-insaturada **51a**.



Siguiendo la ruta propuesta, se logró la obtención de cada uno de los intermediarios, hasta llegar a la obtención de la nueva fosfoaxazolina **53**, y de los fosfohidroxiamidas y fosfobromoamidas y/o fosfoiodoamidas y sus correspondientes sistemas  $\alpha,\beta$ -insaturados, con rendimientos químicos adecuados y reacciones muy reproducibles.

## **5.2 Pruebas de actividad citotóxica.**

Durante este proyecto se probaron 9 compuestos (**49a**, **49b**, **49e**, **50b**, **50c**, **50d**, **45**, **46** y **44**), entre fosfonamidas y amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas con diferentes sustituyentes en posición para, utilizando la vincristina como fármaco de referencia y Tritón X-100 como control de muerte celular.

La técnica utilizada para la determinación de la viabilidad celular fue la de WST-1, la cual se fundamenta en la reacción de reducción del reactivo WST-1 por enzimas deshidrogenasas mitocondriales, lo que da lugar a la formación de formazán y es directamente proporcional al porcentaje de células viables (Esquema 10).<sup>27</sup>

---

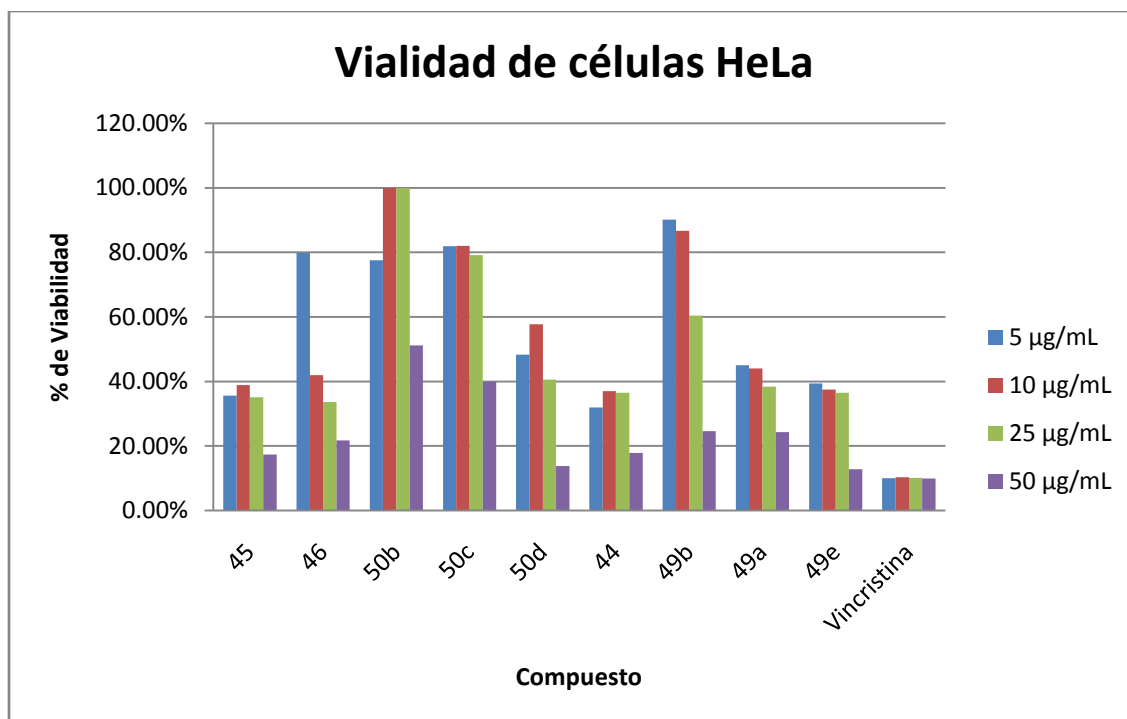
### **Esquema 10.** Reducción del WST-1 a Formazán.

La evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos seleccionados se realizó utilizando 2 líneas celulares cancerígenas ampliamente utilizadas, HeLa (cáncer de cérvix)<sup>8,26</sup> y MCF-7 (cáncer de mama).<sup>8,26,27</sup>

Los resultados obtenidos de viabilidad de células HeLa se encuentran resumidos en la tabla 21 y en la figura 29.

**Tabla 21.**  
Porcentaje de viabilidad de células HeLa tratadas con los diferentes compuestos.

Porcentajes de Viabilidad en Células HeLa				
Compuesto	5 µg/mL	10 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL
<b>45</b>	35.65%	38.91%	35.06%	17.32%
<b>46</b>	79.88%	41.99%	33.59%	21.71%
<b>50b</b>	77.57%	100.0%	100.0%	51.13%
<b>50c</b>	81.95%	82.03%	79.12%	39.85%
<b>50d</b>	48.34%	57.70%	40.61%	13.77%
<b>44</b>	31.98%	36.95%	36.48%	17.90%
<b>49b</b>	90.17%	86.66%	60.40%	24.57%
<b>49a</b>	45.02%	43.99%	38.39%	24.27%
<b>49e</b>	39.41%	37.53%	36.48%	12.75%
<b>Vincristina</b>	9.97%	10.32%	10.12%	9.91%



**Figura 29.** Gráfica de los porcentajes de viabilidad en células HeLa.

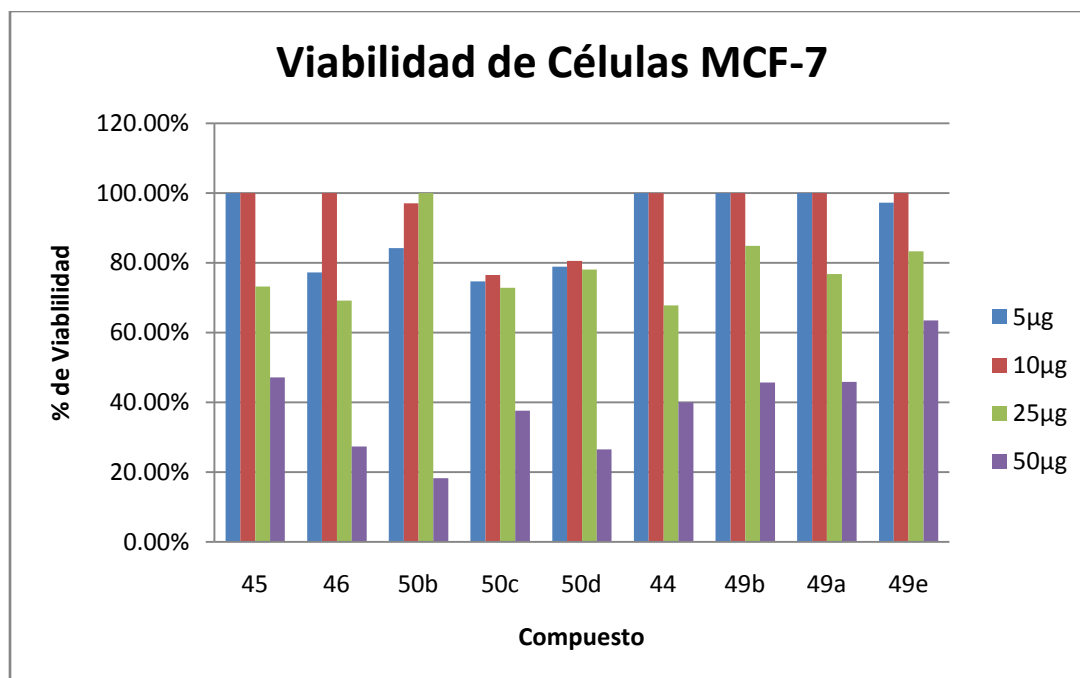
Como se puede observar en la tabla 21 y en la figura 29, los compuesto **49e**, **50d**, **45** y **44** resultaron ser los más activos a concentraciones de 50 µg/mL, obteniéndose porcentajes de viabilidad de 12.75, 13.77, 17.31 y 17.9, respectivamente, mientras que el porcentaje de viabilidad que exhibió la vincristina, fue 9.91%, también a 50 µg/mL. Los resultados que encontramos para los compuestos **49e** y **50d** son muy interesantes, ya que son muy cercanos al de la vincristina, un compuesto de referencia en ensayos de actividad antineoplásica *in vitro*<sup>28</sup>; no obstante, el efecto citotóxico de los compuestos **45** y **44** también podría ser considerado relevante. Es importante destacar que en la mayoría de los casos se observa un efecto dependiente de la dosis, ya que es muy claro que el porcentaje de viabilidad disminuye al aumentar la

concentración del compuesto probado y esto se refleja en muerte de las células HeLa.

Con respecto al efecto de los compuestos sobre la viabilidad de la línea celular MCF-7, se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 22, Figura 30):

**Tabla 22.**  
Porcentaje de viabilidad de células MCF-7.

Porcentajes de Viabilidad en Células MCF-7				
Compuesto	5µg	10µg	25µg	50µg
<b>45</b>	100.0%	100.0%	73.20%	47.12%
<b>46</b>	77.24%	100.0%	69.22%	<b>27.30%</b>
<b>50b</b>	84.23%	97.09%	100.0%	<b>18.22%</b>
<b>50c</b>	74.72%	76.53%	72.83%	37.58%
<b>50d</b>	78.89%	80.58%	78.11%	<b>26.53%</b>
<b>44</b>	100.0%	100.0%	67.84%	40%
<b>49b</b>	100.00%	100.0%	84.88%	45.72%
<b>49a</b>	100.0%	100.0%	76.77%	45.89%
<b>49e</b>	97.23%	100.0%	83.31%	63.48%



**Figura 30.** Gráfica de los porcentajes de viabilidad para las células MCF-7.

Como puede observarse en la gráfica anterior, los compuestos probados poseen cierta selectividad, ya que en términos generales, no se observa efecto citotóxico importante sobre las células MCF-7, mientras que en contra de las células HeLa resultaron más activos. Sin embargo, vale la pena resaltar que los compuestos **46**, **50b** y **50d**, a concentraciones de 50 µg/mL, destruyeron al 72.2, 81.78 y 73.47 por ciento de las células MCF-7 respectivamente. Un análisis microscópico de las monocapas celulares de ambas líneas celulares, tratadas y control, permitió comprobar que es posible relacionar la disminución de la actividad citotóxica obtenida mediante el ensayo de WST-1 con la destrucción de las monocapas o muerte celular.

Con estos resultados, se puede sugerir que existe actividad citotóxica selectiva de cada uno de los compuestos, de acuerdo al tipo de línea celular probada, ya que los compuestos que fueron activos en una línea celular, no lo fueron para la otra.

Aún sin conocer el posible mecanismo de acción de las moléculas probadas, se propone, que en el caso de los compuestos que presentan bromo en su estructura (**compuestos 45, 46, 50b, 50c y 50d**), es posible que esté ocurriendo un proceso de alquilación, debido a la facilidad que presentan este tipo de moléculas para liberar al grupo halógeno y hacer reaccionar su grupo alquilo con alguna otra molécula biológica (ADN)<sup>17</sup>. Por otra parte, en el caso de los compuestos tipo alcohol (**compuestos 44, 49a, 49b y 49e**), existe la posibilidad de que se favorezcan las interacciones del tipo puente de hidrógeno, entre el compuesto y algún sitio dentro o fuera de las células, razón por la cual origine el desequilibrio celular y conlleve a la muerte de la mismas.

## CAPÍTULO 6

### 6. CONCLUSIONES

La preparación de moléculas ópticamente puras mediante síntesis orgánica es hoy en día una herramienta de gran utilidad para el descubrimiento de futuros fármacos. En este sentido, es posible partir de moléculas sencillas y comercialmente disponibles, por lo que en este proyecto se utilizaron los aminoácidos (*S*)-fenilalanina y (*S*)-fenilglicina como material de partida para la obtención de amidas quirales, logrando obtener, 2 clorhidratos de aminoácidos, 10 amidas, 11 amidas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, y una oxazolina.

La preparación de fosfohidroxi-, fosfobromo- y fosfoiodoamidas se llevó a cabo con rendimientos de moderados a buenos, resultando ser excelente precursores para las preparación de sistemas  $\alpha,\beta$ -insaturados; además las fosfobromo- y las fosfoiodoamidas son intermediarios importantes para la preparación de oxazolininas, moléculas que han cobrado importancia por sus propiedades químicas y biológicas.

Se propone que la oxazolina quiral se obtiene mediante un proceso que involucra la formación de un anillo de tres miembros (aziridina), la cual se

rearregla hasta la formación de la oxazolina vía una ciclación intramolecular, o también conocida como una O-alkilación.

Cada uno de los productos fue purificado por cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de disolventes (acetato de etilo, hexano, metanol) como fase móvil.

La elucidación estructural de cada uno de los productos obtenidos se llevó a cabo utilizando Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{31}\text{P}$  para cuando fue requerido. El experimento DEPT fue de gran valor para confirmar si la ciclación intramolecular procedía vía una C-alkilación vs O-alkilación (formación de una lactama vs oxazolina). Los compuestos también fueron caracterizados por Espectrometría de Masas de Alta Resolución.

Se evaluó la actividad citotóxica de 9 compuestos sintetizados sobre dos líneas celulares cancerígenas, HELA y MCF-7, obteniendo resultados relevantes sobre la línea celular HELA. Los compuestos que presentaron mejor actividad citotóxica correspondieron al **44**, **45**, **49e** y **50d**, además de que presentan en sus cuatro concentraciones estudiadas porcentajes de viabilidad menores al 50%, excepto para el compuesto **50d** con un porcentaje de viabilidad de 57.7%; sin llegar a ser más activos que el de la vincristina. Estos resultados nos permiten decir que la hipótesis no se cumple; sin embargo, los datos obtenidos



son relevantes y permitirá hacer un estudio más detallado en trabajos posteriores de investigación sobre esta misma línea de investigación.



Los resultados de esta tesis fueron presentados en en la Séptima Reunión de la Académica Mexicana de Química Orgánica.

Preparación de fosfo-oxazolininas y amidas  $\alpha, \beta$ -insaturadas utilizando fosfonoamidas quirales. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, del 4 al 8 de abril de 2011.



## Resumen Autobiográfico

Resumen autobiográfico

Francisco Guadalupe Avalos Alanís

Candidato para el grado de Maestro en Ciencias con orientación en Farmacia

Tesis: SINTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE OXAZOLINAS Y AMIDAS QUIRALES  $\alpha,\beta$ -INSATURADAS: EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO *IN VITRO*.

24 años

Campo de estudio: Área de la Salud

### Biografía

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, México el 21 de Febrero de 1987, hijo de Francisco Avalos Silva y Enedelia Alanís Cruz

### Educación

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo de la Facultad de Ciencias Químicas en el año 2008

## Referencias

- 1.- Juan Manuel Alonso Fernández, “Farmacología y Cáncer: Quimioterapia y Enfermería.”, Consultado en [http://apuntesenfermeria2.iespana.es/.../Apuntes\\_farmacologia\\_cancer\\_quimioterapia.doc](http://apuntesenfermeria2.iespana.es/.../Apuntes_farmacologia_cancer_quimioterapia.doc) (Octubre 2009).
- 2.- Katzung G. B., “Farmacología básica y clínica”, 9a Ed., Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V., 2005, ISBN 970-729-164-8.
- 3.- Organización Mundial de la Salud Cáncer. Consultado en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/index.html>. (2009).
- 4.- Emory University, Cancerquest, cancerquest.org 2008 Consultado en <http://www.cancerquest.com> (08 sep 2009).
- 5.- Lozano, J. M., Tarazona, R.; Peña, J. Peña “Citotoxicidad” Consultado en <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/temas.../tema14.pdf> (Septiembre 2009)
- 6.- Richard, D., Mirela, A., Olulanu, A., Edmond, L., Felice, L., Ruiwu L., Kit L., Mark K., Selectively Targeting T- and B-Cell Lymphomas: A Benzothiazole Antagonist of  $\alpha_4\beta_1$  Integrin. *J. Med. Chem.* 52, 14–19, 2009.
- 7.- Carpenter, R.D., Andrei, M., Olulanu, A. H., Edmond Y. L., Lightstone, F. C., Liu, R., Lam, K. S., Kurth, M. J., Selectively Targeting T- and B-Cell Lymphomas: A Benzothiazole Antagonist of  $\alpha_4\beta_1$  Integrin. *J. Med. Chem.*, 52, 14–19, 2009.
- 8.- Patrick, G.L., “An Introduction to Medicinal Chemistry”, Oxford Univeristy Press, 1995.

- 9.- Chang R. "Química", Editorial McGraw Hill, 7a Ed., **2002**. ISBN 0-07-365601-1.
- 10.- L'Heureux, A.; Martel, A., He, H., Chen, J., Sun, L. Q., Starrett Jr., J. E.; Natale, J., Dworetzky, S. I., Knox, R. J., Harden, D. G.; Weaver, D.; Thompson, M. W., Wu, Y. J., *J. Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 363-366, **2005**.
- 11.- Singer F., Mayrhofer F., Klein G., Hawel R., Kollenz C. J., Evaluation of the efficacy and dose-response relationship of dexibuprofen (S(+)-ibuprofen) in patients with osteoarthritis of the hip and comparison with racemic ibuprofen using the WOMAC osteoarthritis index, *International J. of Clin. Pharm. and Therap.* 38 (1), 15-24, **2000** ISSN 0946-1965.
- 12.- Arutyunyan, A., Melik-Ogadzhanyan, R., Sarkisyan, T., Alaverdonva, L., Papoyan, S., Ter-Zakharyan, Z., Paronikyan, G., Sarkisyan, T., ITOkh, Y., Synthesis of pseudosparsomycins, *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 23 (10), 1223-6, **1989**.
- 13.-Lullman, H., Mohr, k., Hein, L., Bieger, D., "Color Atlas of Pharmacology", Editorial Thieme, 3<sup>a</sup> Ed., **2005**, ISBN 3-13-781703-X.
- 14.- Cairns, D., "Essentials of Pharmaceutical Chemistry", Editorial Pharmaceutical Press, 3a Ed., **2008**, ISBN 978-085369745-9.
- 15.- Hea-Young, P. C.; Kyung-Hee, P., Jongsei, P., Dong, H. K., Hak, S. C. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 643-648.
- 16.- Shen, R.; Porco Jr., A. *Org. Lett.*, 2, 1333-1336, **2000**.

**17.-** Hernández, E., Fernández, M., García O., Muñoz, O., Ordoñez, M., Practical and Efficient Synthesis of (*E*)- $\alpha,\beta$  Unsaturated Amides Bearing (*S*)- $\alpha$ -Methylbenzylamine from 2-Phosphonamides via Horner–Wadsworth–Emmons Reaction. *Synlett*, No. 3, 0440-0444, **2006**.

**18.-** Artículo de Revisión sobre la reacción HWE, ver: (a) Maryanoff, B. E., Reitz, A. B. *Chem. Rev.*, 89, 863–927, **1989**.; (b) Kelly, S. E. In *Comprehensive Organic Synthesis*, Trost, B. M., Fleming, I., Eds., Pergamon Press: Oxford, Vol. 1, p 755, **1991**. (c) Boutagy, J., Thomas, R. *Chem. Rev.*, 74, 87–99, **1974**., (d) Pedersen, T. M., Hansen, E. L., Kane, J., Rein, T., Helquist, P., Norrby, P. O., Tanner, D. J. *Am. Chem. Soc.*, 123, 9738–9742, **2001**. (e) Ando, K.; Oishi, T.; Hiramama, M.; Ohno, H.; Ibuka, T. *J. Org. Chem.* 65, 4745–4749, **2000**., (f) Ando, K. *J. Org. Chem.*, 64, 6815–6821, **1999**.

(g) Brandt, P., Norrby, P. O., Martin, I., Rein, T. *J. Org. Chem.* 63, 1280–1289, 1998, (h) Ando, K. *J. Org. Chem.* 62, 1934–1939, **1997**.

**19.-** Para ver la versión asimétrica de la reacción HWE ver: (a) Rein, T., Pedersen, T. M. *Synthesis*, 579–594, **2002**. (b) Pedersen, T. M.; Jensen, J. F., Humble, R. E., Rein, T., Tanner, D., Bodmann, K., Reiser, O. *Org. Lett.* 2, 535–538, **2000**. (c) Rein, T., Reiser, O. *Acta Chem. Scand.*, 50, 369–379, **1996**.

**20.-** Giulio-Albano, V., Bandini, M., Monari, M., Marcucci, E., Piccinelli, F., Umani-Ronchi, A., *J. Org. Chem.* **2006**., 71, 6451-6458.

**21.-** Moraski, G. C, Chang, M., Estrada, A. V., Franzblau, S. G., Mo'Ilmann, U., Miller, M. J., Structure–activity relationship of new anti-tuberculosis agents



derived from oxazoline and oxazole benzyl esters. *European Journal of Medicinal Chemistry*, xxx 1–14, **2010**.

**22.-** Djurendić, E., Dojcinovic, S., Saka, M., Adjukovic, J., Gakovic, A., Kojic, V., Bogdanovic, G., Klisuric, O. y Penov. K., Synthesis and biological evaluation of some new 2-oxazoline and salicylic acid derivatives. *ARKIVOC* (ii) 83-102, **2011**.

**23.-** Wuts P., Northuis, J. y Kwan, T., The Synthesis of Oxazolines Using the Vilsmeier Reagent. *J. Org. Chem.* 65, 9223-9225, **2000**.

**24.-** Hajra, S., Bar, S., Shina, D. y Maji, B., Stereoselective One-Pot Synthesis of Oxazolines. *J. Org. Chem.*, 73, 4320–4322, **2008**.

**25.-** Morantes, S., J., Paez, A., Cordero, P. C., Rincón, J., Aristizábal, F. A., Actividad citotóxica y análisis fitoquímico de fracciones aisladas del extracto etanólico de *Acnistus arborescences*. *Acta Farm. Bonaerense*, 25, (4), 491-6, **2006**.

**26.-** Gun, L., D., Hahm, K., S., Park, Y., Kim, H., Y., Lee, W., Lim, S., Ch., Seo, Y., K., Choi, Ch., H., Características estructurales y funcionales de los análogos contra el péptido Pep27. *Biomed Central*, 5, 21, **2005**.

**27.-** Roche Molecular Biochemicals, Manual de reactivo de proliferación celular WST-1, Versión 3, **Mayo 1999**.

**28.-** Santander, S., P., Ureña, C., Castañeda, D., Cifuentes, C., Aristizabal, F., Cordero, C., Fiorentino, S., Influencia del tratamiento de *Petiveria alliacea* en la expresión diferencial de genes en células tumorales. *Univ. Med. Bogota* (Colombia), 50, (3), 284-296, **2009**.