



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
QUÍMICA MEDICINAL

**“SÍNTESIS DE DERIVADOS DE PEREZONA Y LAWSONA Y
EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIOXIDANTE”**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

QFB. JULIA JIMENA FALCÓN GERÓNIMO
MATRÍCULA: 2133800265

COMITÉ TUTORAL

Tutora: M. en C. Olivia Soria Arteche
Asesor: Dr. Jaime Pérez Villanueva
Asesor: M. en C. Antonio Nieto Camacho

ABRIL, 2016

“SÍNTESIS DE DERIVADOS DE PEREZONA Y LAWSONA Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIOXIDANTE”

COMITÉ TUTORAL

M. en C. Olivia Soria Arteché
Tutora

Dr. Jaime Pérez Villanueva
Asesor

M. en C. Antonio Nieto Camacho
Asesor

QFB. Julia Jimena Falcón Gerónimo
Matrícula: 2133800265

“SÍNTESIS DE DERIVADOS DE PEREZONA Y LAWSONA Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIOXIDANTE”

JURADO

Dr. José Ignacio Regla Contreras
Presidente

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha
Vocal

Dr. Jaime Pérez Villanueva
Secretario

RESUMEN

En este trabajo se sintetizaron cuatro derivados de perezona y cuatro de lawsona. Ambas moléculas contienen al sistema de quinona, el cual se ha reportado como elemento clave en moléculas con actividad biológica como antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos entre otras. Los compuestos fueron sintetizados por una reacción tipo Nenitzescu de enaminonas quirales con perezona para obtener 5-hidroxiindoles (5-HI) y con lawsona para obtener indoloquinonas. Los compuestos obtenidos se evaluaron en su actividad antioxidante por los modelos de Actividad Atrapadora del Radical Libre 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (TBARS) y de inhibición de la peroxidación de lípidos cuantificada por la producción de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (DPPH) y actividad citotóxica por el método colorimétrico de la Sulforrodamina B (SRB) en líneas celulares humanas de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de glía de Sistema Nervioso Central (SNC), cáncer de colon y cáncer de próstata. La preparación de los derivados de perezona y lawsona requirió la síntesis de cuatro enaminonas quirales, utilizando el método convencional o asistido por microondas.

En general, los ocho derivados propuestos se obtuvieron en rendimientos de bajos a moderados con tiempos de reacción que varían de 5 horas hasta 2 días. La lawsona no dio los resultados esperados para la síntesis de las indoloquinonas, por lo que fue sustituida por 1,4-naftoquinona obteniéndose los compuestos propuestos. Por otro lado, los resultados de la actividad biológica revelan que los compuestos derivados de perezona y naftoquinona presentan buena actividad citotóxica, en especial para la línea celular de sistema nervioso central, aunque a una concentración superior a las moléculas predecesoras, excepto por una de las indoloquinonas. En cuanto a la actividad antioxidante, no presentaron actividad por el modelo de DPPH, pero tienen muy buena actividad por el modelo de TBARS, siendo ésta incluso superior al tocoferol, utilizado como referencia.

Se sintetizaron ocho nuevas moléculas con potencial aplicación para el tratamiento de algunos tipos de cáncer y otras enfermedades derivadas del estrés oxidativo, como algunas enfermedades relacionadas con la inflamación o autoinmunes.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico otorgado para la realización del presente trabajo (Número de becario: 553365)

A la Universidad Autónoma Metropolitana–Xochimilco, por abrirme las puertas nuevamente para esta etapa de mi carrera, y la Maestría en Ciencias Farmacéuticas, en especial a todos los profesores por todo el aprendizaje y la ayuda para crecer como profesional.

Al laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas de la UAM-X, por todo el apoyo otorgado para el desarrollo de este proyecto y al laboratorio de Pruebas Biológicas de la UNAM, por la ayuda para la realización de los ensayos biológicos.

A Anton Paar México, por facilitarme el espacio y los equipos para realizar parte del proyecto.

Mi más sincero y profundo agradecimiento a mi comité tutorial: M. en C. Olivia Soria Arteche, Dr. Jaime Pérez Villanueva y M. en C. Antonio Nieto Camacho, por toda su ayuda, los consejos y la orientación que me brindaron para culminar este proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A la Dra. María Concepción Lozada García, por permitirme ser parte de este proyecto e iniciarlo conmigo, por todo el aprendizaje, el profesionalismo y calidez humana. La recordaré siempre con profundo respeto, admiración y cariño.

A Betzy García y Nancy Machorro, por su inmensurable apoyo para la realización de este proyecto contribuyendo a la mejora del mismo. Tanto su ayuda y todos los momentos que pasamos juntas dentro y fuera del laboratorio, son invaluableles.

Al Dr. Juan Francisco Palacios, por la ayuda, consejos y apoyo moral que me permitieron culminar este proyecto y a todos los integrantes del laboratorio N-015, en especial a Karen Rodríguez, Zeltzin Custodio y Miguel Cortés, por la ayuda para mejorar el proyecto, pero también por las comidas y pláticas compartidas, que de alguna forma contribuyeron al desarrollo y conclusión de este trabajo.

A mis padres, Arturo Falcón Hernández y Julia Gerónimo Morales, por darme las herramientas necesarias para llegar hasta este punto de mi carrera profesional. Todos los sacrificios que tuvieron que hacer valieron la pena y me han convertido en la mujer que soy el día de hoy. Gracias por desvelarse conmigo, por las comidas apuradas y otras tantas en las que estuve ausente, porque nunca me hicieron dudar que podría lograr lo que me propusiera. Gracias por todo.

A mis abuelos, Julián Gerónimo Ventura y Brígida Morales Apango, por ser mi primer ejemplo de lucha y esfuerzo para salir adelante, por cuidarme, por consentirme y alentarme, por todas las sorpresas y las comidas caseras, gracias por quererme tanto.

A mis hermanas; a Ali y Abi por ser mis amigas, por todas las pláticas y risas a cualquier hora (especialmente en la madrugada), por hacerme entender que "...la vida es más que eso, y no pasa nada". Y a Lili, por mostrarme que se puede superar cualquier adversidad, siempre y cuando estés dispuesto a salir adelante.

A Marce, por ser tantas cosas en mi vida: tía, mamá, amiga, cómplice; porque nunca te dejaste vencer, luchando siempre con una sonrisa me enseñaste que lo más importante en la vida es la familia, los amigos y los buenos momentos, conocer lugares y cosas nuevas para nunca dejar de aprender y crecer. No pasa un día sin que te extrañe o me hagas falta. Te dedico no solo este trabajo, sino también todo lo que soy.

A mis amigos de muchos años: Manuel, Luis, Leo, Caro; por su amistad incondicional que ha sobrevivido tanto tiempo y a mis nuevos amigos de la maestría, por todos los buenos momentos que pasamos juntos, por siempre estar ahí cuando los necesitaba.

A César Gazga Urioste, por compartir conmigo tantos momentos, los grandes, pero sobretodo los pequeños, que parecen insignificantes pero que son los que le dan sentido a todo, por consolarme cuando lloraba y buscar siempre la manera de hacerme reír. Porque nunca me has dejado caer y siempre has creído en mí, incluso cuando yo misma no lo hacía. Gracias por estar a mi lado a lo largo de todo este camino, siendo mi más grande apoyo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS.....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xviii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
3. MARCO TEÓRICO.....	5
3.1 Cáncer.....	5
3.1.1 Tratamientos contra el cáncer	6
3.2 Antioxidantes.....	6
3.3 Quinonas	7
3.3.1 Perezona	9
3.4 Naftoquinonas	11
3.4.1 Lawsona	12
3.5 Reacción de Nenitzescu.....	14
3.6 5-Hidroxiindoles e Indoloquinonas	16
3.7 Quiralidad	21
3.8 Síntesis asistida por microondas.....	22
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
5. HIPÓTESIS	26
6. OBJETIVOS.....	26
7. METODOLOGÍA	27
7.1. Síntesis de enaminonas quirales.....	27

ÍNDICE

7.1.1 Síntesis convencional de las enaminonas 8 y 9	27
7.1.2 Síntesis convencional de las enaminonas 10 y 11	27
7.1.3 Síntesis asistida por microondas de las enaminonas quirales 8–11	28
7.2. Síntesis de 5-hidroxiindoles derivados de perezona (12–15)	28
7.3 Síntesis de derivados indoloquinonas de lawsona	29
7.4 Evaluación biológica.....	31
7.4.1 Evaluación citotóxica	31
7.4.2 Evaluación antioxidante.....	31
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
8.1 Síntesis química	33
8.1.1 Síntesis de las enaminonas 8–11	33
8.1.2 Síntesis de 5-hidroxiindoles de perezona (12–15)	36
8.1.3 Síntesis de indoloquinonas derivadas de naftoquinona 16–19	38
8.2 Evaluación biológica.....	40
8.2.1 Actividad citotóxica	40
8.2.2 Actividad antioxidante.....	43
9. CONCLUSIONES	48
10. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	49
10.1 Equipos y reactivos empleados.....	49
10.2 Síntesis de enaminonas	50
10.2.1 Procedimiento general para la síntesis convencional de las enaminonas quirales 8 y 9	50
10.2.2 Procedimiento general para la síntesis convencional de las enaminonas quirales 10 y 11	50
10.2.3 Procedimiento general para la síntesis asistida por microondas de las enaminonas quirales 8 y 9	50
10.2.4 Procedimiento general para la síntesis de 5-hidroxiindoles 12–15	51
10.2.5 Procedimiento general para la síntesis de indoloquinonas 16–19	51

ÍNDICE

10.3 Evaluación de la actividad biológica	56
10.3.1 Actividad citotóxica	56
10.3.2. Actividad antioxidante.....	57
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXO I.....	64
ANEXO II.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de perezona	2
Figura 2. Aminoderivados de perezona	3
Figura 3. Estructura de la lawsona	3
Figura 4. Derivados aminofenólicos de lawsona	4
Figura 5. Actividad biológica de quinonas	8
Figura 6. Fármacos antitumorales que contienen quinonas en su estructura	9
Figura 7. Estructura de isoperezona y de aminoderivados de perezona	10
Figura 8. Formas tautoméricas de la lawsona	13
Figura 9. Compuestos con actividad biológica obtenidos por la reacción de Nenitzescu.....	16
Figura 10. Estructuras de fármacos que contienen 5-HI	17
Figura 11. Estructuras de fármacos anticancerígenos que contienen indoloquinonas	18
Figura 12. Metodología general para la evaluación citotóxica por el método de SRB	31
Figura 13. Metodología general para la evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH.....	32
Figura 14. Metodología general para la evaluación de la actividad antioxidante por el método de TBARS.....	32
Figura 15. Espectro de RMN ¹ H de la enaminona 8	35
Figura 16. 1,4-Naftoquinona (20).....	39
Figura 17. Actividad citotóxica de los compuestos 1 y 12–20	42
Figura 18. Actividad citotóxica de 18 y 20 a 12.5 µM	43
Figura 19. Actividad atrapadora del radical DPPH de los compuestos 1 y 12–20	44
Figura 20. Vitamina E y quercetina.....	46
Figura 21. Actividad antioxidante de los compuestos 1 y 12– 20 por el método de TBARS	47

ÍNDICE DE ESQUEMAS

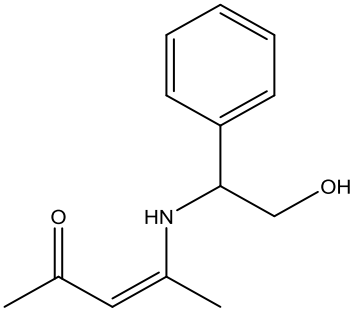
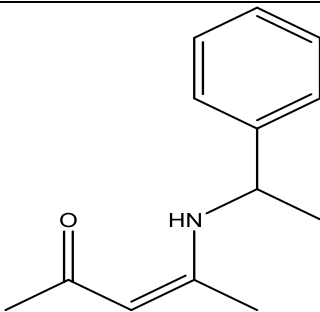
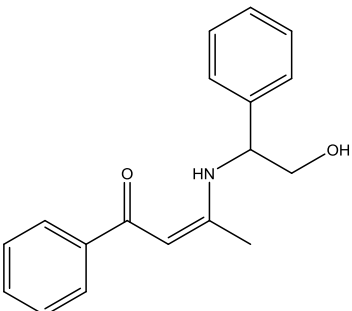
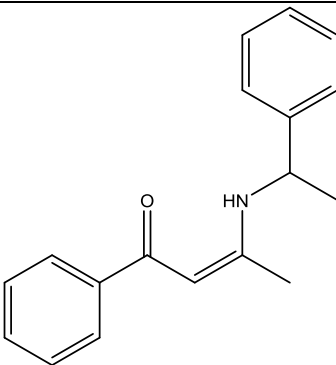
Esquema 1. Mecanismo propuesto para la reacción de Nenitzescu	15
Esquema 2. Obtención de 5-Hidroxiindoles	15
Esquema 3. Métodos de síntesis para la obtención de indoloquinonas	20
Esquema 4. Síntesis de enaminonas quirales 8–11	27
Esquema 5. Síntesis de derivados 5-HI de perezona 12–15	28
Esquema 6. Mecanismo de reacción para la obtención de 5-HI.....	29
Esquema 7. Síntesis de derivados indoloquinonas de lawsona	30
Esquema 8. Mecanismo de reacción para la obtención de indoloquinonas	30

ÍNDICE DE TABLAS

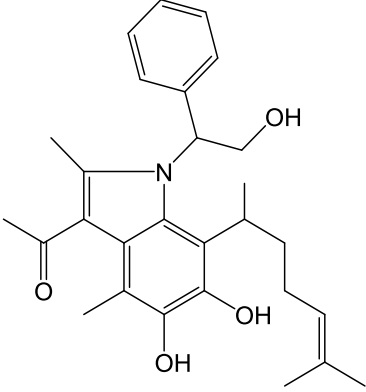
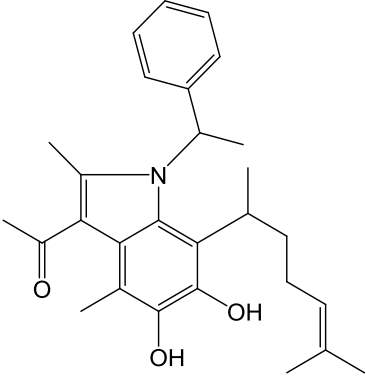
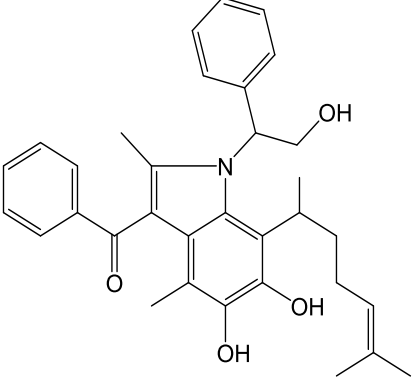
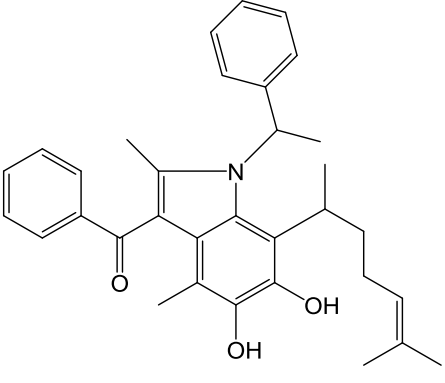
Tabla 1. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de enaminonas 8–11	33
Tabla 2. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de 5-HI 12–15 ..	37
Tabla 3. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de indoloquinonas 16– 19	39
Tabla 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento por línea celular.....	41
Tabla 5. Porcentaje de reducción de los compuestos 1 y 12–20	44

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS

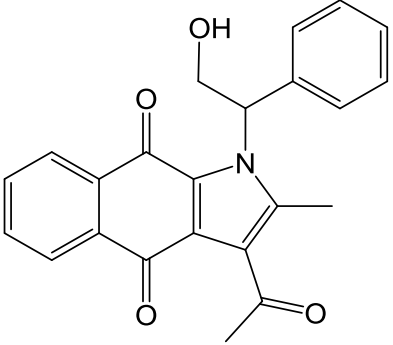
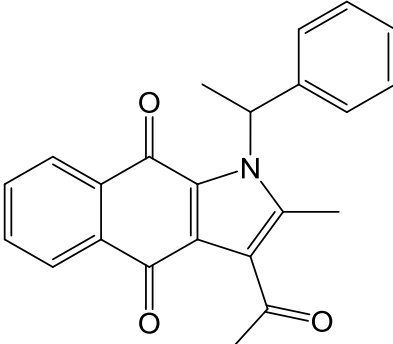
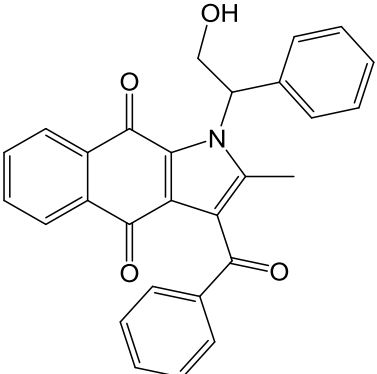
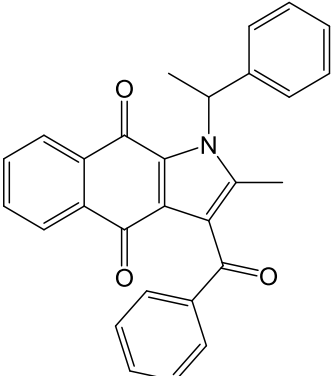
Enaminonas

8		(Z)-4-[(2-Hidroxi-1-feniletil)amino]pent-3-en-2-ona
9		(Z)-4-[(1-Feniletil)amino]pent-3-en-2-ona
10		(Z)-3-[(2-Hidroxi-1-feniletil)amino]-1-fenilbut-2-en-1-ona
11		(Z)-1-Fenil-3-[(1-feniletil) amino] but-2-en-1-ona

5-Hidroxiindoles

12		1-(5,6-Dihidroxi-1-(2-hidroxi-1-feniletíl-2,4-dimetíl-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-3-il)etan-1-ona)
13		1-(5,6-Dihidroxi-2,4-dimetíl-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1-(1-feniletíl)-1 <i>H</i> -indol-3-il)etan-1-ona
14		(5,6-Dihidroxi-1-(2-hidroxi-1-feniletíl)-2,4-dimetíl-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1 <i>H</i> -indol-3-il)(fenil)metanona
15		(5,6-Dihidroxi-2,4-dimetíl-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1-(1-feniletíl)-1 <i>H</i> -indol-3-il)(fenil) metanona

Indoloquinonas

16		3-Acetil-1-(2-hidroxi-1-feniletil)-2-metil-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]indolo-4,9-diona
17		3-Acetil-2-metil-1-(1-feniletil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]indolo-4,9-diona
18		3-Benzoil-1-(2-hidroxi-1-feniletil)-2-metil-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]indolo-4,9-diona
19		3-Benzoil-2-metil-1-(1-feniletil)-1 <i>H</i> -benzo[<i>f</i>]indolo-4,9-diona

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
5-HI	5-Hidroxiindoles
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
CAN	Nitrato cérico amoniacal
CCF	Cromatografía en capa fina
CI ₅₀	Concentración inhibitoria 50
Cu(OAc) ₂	Acetato de Cobre II
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidad óptica
DPPH	Actividad atrapadora del radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo
EtOH	Etanol
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
MO	Microondas
NCI	National Cancer Institute (Instituto Nacional de Cáncer)
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón

RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
SNC	Sistema Nervioso Central
SRB	Sulforrodamina B
TA	Temperatura ambiente
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Inducción de peroxidación lipídica y cuantificación de Sustancias Reactivas de Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Ácido Tricloroacético
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
λ max	Longitud de onda de máxima absorción

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad multifactorial caracterizada por el crecimiento anormal y descontrolado de células en órganos o tejidos, pudiendo presentarse también pérdida de función y metástasis. No existe una etiología precisa, pero es probable que los dos factores principales sean la diversidad genética y factores ambientales. Algunos de los agentes ambientales vinculados al cáncer son los rayos X, la luz UV, virus, tabaco, contaminantes y otros productos químicos.¹

A pesar de los avances científicos, aún no se cuenta con la cura definitiva para el cáncer. El gran número de efectos adversos asociados a las quimioterapias actuales ha despertado un creciente interés en el estudio de moléculas provenientes de productos naturales, ya que se ha encontrado que éstas pueden ser efectivas contra un amplio número de enfermedades y los efectos adversos que presentan son menores o inexistentes.¹

En este trabajo se plantea la síntesis de nuevos derivados 5-hidroxiindólicos e indoloquinonas con potencial actividad citotóxica y antioxidante a partir de perezona y lawsona, dos compuestos obtenidos de productos naturales, por una reacción tipo Nenitzescu con enaminonas quirales.

2. ANTECEDENTES

Las plantas medicinales tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna ya que son fuente directa de agentes terapéuticos y/o materia prima para la obtención de fármacos sintéticos más complejos.²

La perezona (1) (**Figura 1**) es una quinona aislada de la raíz del pipitzahuac sobre la cual se ha reportado actividad citotóxica y antioxidante.^{3, 4} A partir de este compuesto se han sintetizado aminoderivados a los cuales se les evaluó la actividad citotóxica y antioxidante *in vitro* (**Figura 2**). A pesar de que los aminoderivados presentaron actividad citotóxica, ésta no fue mayor que la perezona, y sólo uno de los derivados presentó mayor actividad antioxidante que el tocoferol, sustancia fuertemente antioxidante.⁴

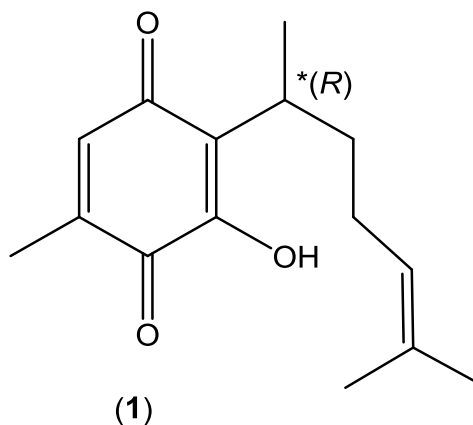


Figura 1. Estructura de perezona

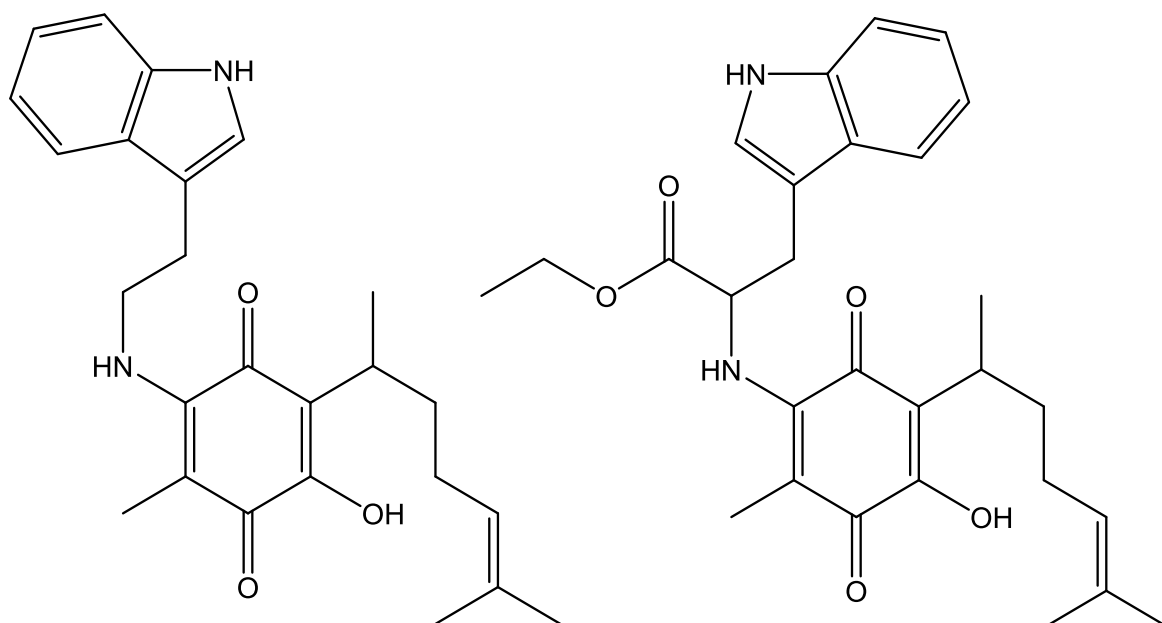


Figura 2. Aminoderivados de perezona

La henna es una planta a la cual se le ha atribuido actividad antioxidante y anticancerígena, siendo la lawsona (2) (**Figura 3**) la responsable del pigmento rojo-anaranjado de las hojas. Diversos estudios científicos han demostrado que los extractos con diferentes disolventes de las hojas de esta planta poseen actividad antitumoral para diversos tipos de cáncer. Sin embargo, también se ha encontrado que algunos extractos presentan toxicidad para las células sanas, aunque se requieren más estudios para poder afirmar lo anterior.⁵

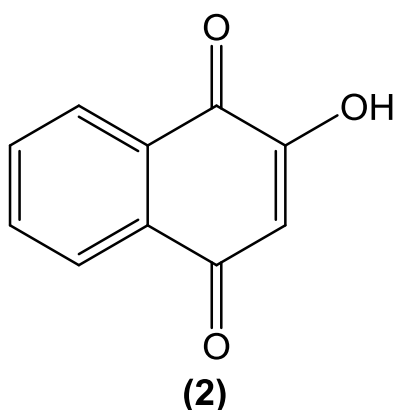


Figura 3. Estructura de la lawsona

ANTECEDENTES

En 2014, Kathawate y colaboradores sintetizaron cinco derivados aminofenólicos de lawsona, de los cuales, sólo uno presentó actividad antiproliferativa contra células de leucemia y adenocarcinoma colorrectal, pero no fue citotóxico para células sanas. Los otros cuatro derivados o bien no presentaron actividad antiproliferativa contra las líneas de cáncer, o su CI_{50} fue similar a la que presentaban contra células sanas (**Figura 4**).⁶

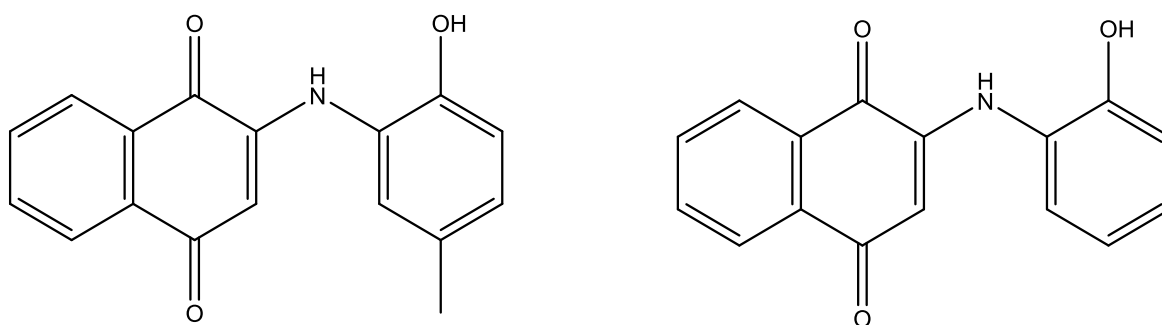


Figura 4. Derivados aminofenólicos de lawsona

En este trabajo se propone preparar una serie de nuevos compuestos por una reacción tipo Nenitzescu entre enaminonas quirales con perezona y lawsona para obtener 5-hidroxiindoles e indoloquinonas respectivamente, los cuales son importantes sistemas heterocíclicos con variada actividad biológica.^{7, 8}

Con base en lo anterior, se espera que los nuevos 5-hidroxiindoles y las indoloquinonas tengan actividad antioxidante y citotóxica con menos efectos adversos que sus moléculas precursoras.

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas de la Universidad Autónoma Metropolitana–Xochimilco (UAM-X) y el laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Cáncer

Cáncer es un término genérico para un amplio grupo de enfermedades que puede afectar cualquier parte del cuerpo. El cáncer se caracteriza por la creación rápida de células anormales que se multiplican más allá de sus límites normales y que pueden invadir partes adjuntas y dispersarse a otros órganos (metástasis). Es una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad, con aproximadamente 14 millones de nuevos casos y 8.2 millones de muertes en 2012. Se espera que el número de casos nuevos aumente un 70% en los próximos 20 años. Las muertes más comunes por cáncer son causadas por cáncer de pulmón, hígado, estómago, colon, mama y esófago.⁹

El cáncer puede surgir de una sola célula. La transformación de una célula normal a una célula tumoral es un proceso de varias etapas, típicamente una progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Estos cambios son resultado de la interacción entre los factores genéticos de una persona y tres categorías de agentes externos: 1) carcinógenos físicos, 2) carcinógenos químicos y 3) carcinógenos biológicos.⁹

Otro de los factores determinantes para el desarrollo del cáncer es el envejecimiento. La incidencia de cáncer aumenta dramáticamente con la edad. El aumento del riesgo se combina con la tendencia de los mecanismos de reparación celular a ser menos efectivos con la edad.⁹

Un diagnóstico correcto de cáncer es esencial para elegir el tratamiento más efectivo y adecuado, ya que cada tipo de cáncer requiere un tratamiento específico.⁹

3.1.1 Tratamientos contra el cáncer

De acuerdo con el Instituto Nacional de Cáncer en Estados Unidos existen varios tipos de tratamientos contra el cáncer, el tipo de tratamiento que recibirá cada paciente dependerá del tipo de cáncer y de cuán avanzado se encuentre y se podría requerir uno solo o una combinación de dos o más. Los tipos de tratamiento que existen son: cirugía, radiación, inmunoterapia, terapia hormonal, trasplante de células madre y quimioterapia. Esta última trabaja deteniendo o disminuyendo la velocidad de crecimiento de las células cancerosas. Puede usarse para curar el cáncer o aliviar algunos síntomas que produce (reduciendo el tamaño de tumores que produzcan dolor).¹⁰

Actualmente, el principio de acción de la mayoría de los compuestos empleados en la quimioterapia se basa en detener el mayor potencial replicativo de la célula cancerosa en comparación con la células sanas, por lo que estos compuestos también ocasionan la muerte de las células no cancerosas que crecen y se dividen rápidamente (como las de la sangre). Los principales blancos terapéuticos son: 1) la tubulina, 2) la topoisomerasa, 3) las histonas, 4) las proteínas cinasas, 5) el ADN, 6) las caspasas.²

Una parte de la investigación en el desarrollo de nuevos fármacos se enfoca a encontrar medicamentos que sean específicos para las células tumorales, con lo cual se espera incrementar la eficacia del tratamiento y reducir los efectos secundarios. En este contexto algunos blancos terapéuticos propuestos actualmente son inhibidores de la angiogénesis y de la metástasis.²

3.2 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que contrarrestan la oxidación o inhiben reacciones promovidas por oxígeno o peróxido.¹¹ El metabolismo es un proceso en el cual se forman subproductos, muchos de los cuales pueden ser oxidantes y causar daño al ADN, proteínas y lípidos.¹¹

El daño oxidativo ocasionado al ADN, proteínas y otras macromoléculas es acumulativo con la edad y es uno de los tipos más importantes de daño endógeno ocasionado al cuerpo y que promueven el envejecimiento. A pesar de que existen enzimas que reparan el daño ocasionado por los oxidantes, éstas no son suficientes para contrarrestar por completo el daño.¹²

La mayoría de los oxidantes endógenos se producen por cuatro fuentes: subproductos de respiración aeróbica, células fagocíticas, peroxisomas y enzimas del citocromo P-450.¹²

Un factor crítico en la mutagénesis es la división celular. Cuando la célula se divide, una lesión no reparada de ADN puede convertirse en una mutación, por lo que un factor importante en la mutagénesis y por tanto, en la carcinogénesis es la velocidad de división celular en los precursores de células tumorales. Diversos agentes, como los oxidantes, ocasionan un aumento de la división celular, y por lo tanto aumentan el riesgo de cáncer. Así, los antioxidantes pueden disminuir la carcinogénesis de dos maneras: reduciendo el daño oxidativo al ADN y disminuyendo la velocidad de división celular.¹²

3.3 Quinonas

Los compuestos que contienen un grupo quinona representan una clase importante de moléculas biológicamente activas que están ampliamente distribuidas en la naturaleza.¹³ Las quinonas constituyen una clase estructuralmente diversa de compuestos naturales con un amplio rango de propiedades farmacológicas y pueden ser divididas en cuatro grupos: benzoquinonas, antraquinonas, naftoquinonas y quinonas isoprenoides.¹⁴ Se ha reportado una gran variedad de actividades biológicas para los compuestos quinoides (**Figura 5**), entre ellas se

MARCO TEÓRICO

encuentran la actividad laxante, antiinflamatoria, antioxidante, antipsoriática, antiviral, antifúngica, antibacteriana, antiprotozoaria y antidepresiva, además de considerarse como compuestos antidepresivos y antihipertensivos. Sin embargo, también se sabe que el uso continuo puede ocasionar mutagénesis.¹⁵

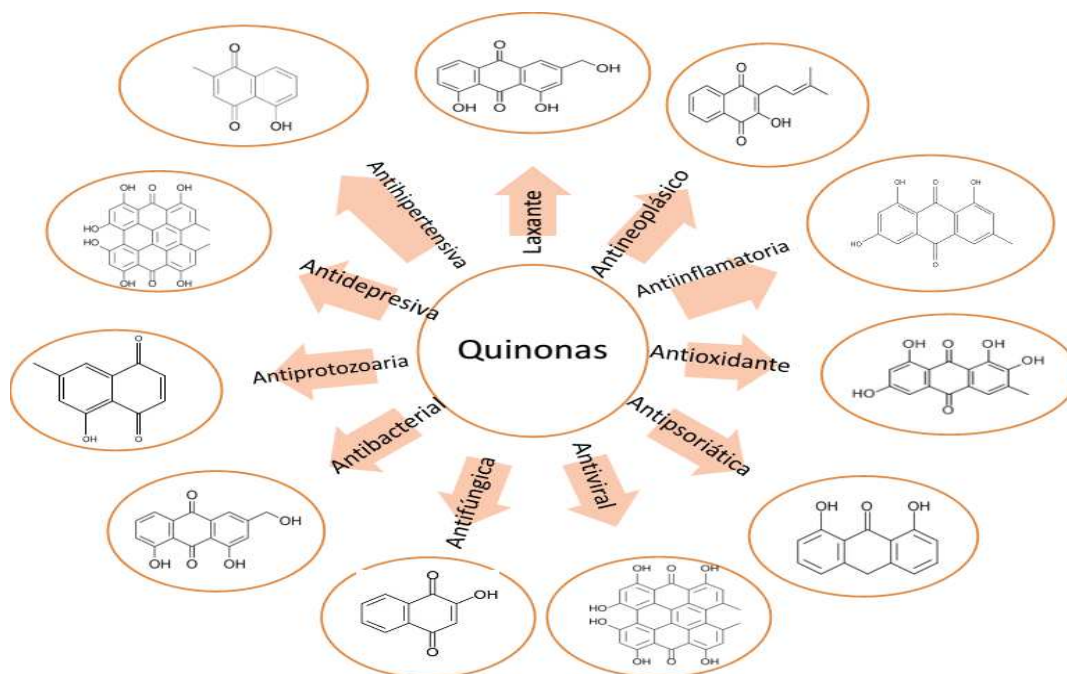


Figura 5. Actividad biológica de quinonas

Las moléculas que tienen una quinona son consideradas por el National Cancer Institute (NCI) como estructuras biológicamente validadas para el desarrollo de nuevos compuestos bioactivos con buenos niveles de citotoxicidad. Algunos fármacos antitumorales contienen el grupo quinona en su molécula, tal es el caso de la doxorrubicina, mitoxantrona y saintopina (**Figura 6**) que muestran excelentes propiedades anticancerígenas.¹⁶

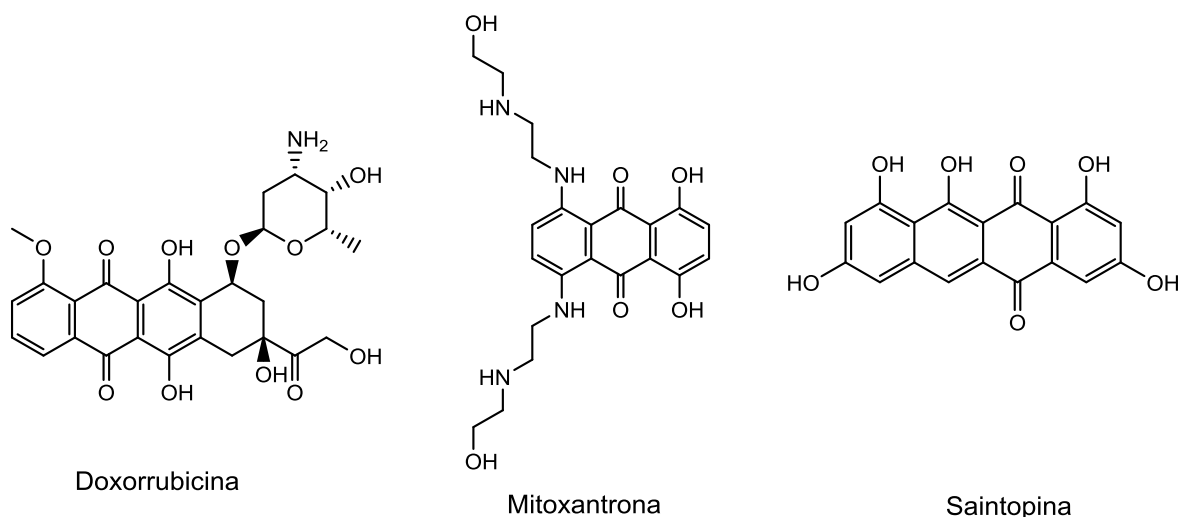


Figura 6. Fármacos antitumorales que contienen quinonas en su estructura

3.3.1 Perezona

La perezona (**1**) es una quinona sesquiterpénica y fue el primer metabolito secundario aislado en América. Leopoldo Río de la Loza describió en 1852 el aislamiento de una sustancia cristalina de color naranja, a la que llamó ácido pipitzahoico, por provenir de la raíz del pipitzáhuac (*Perezia adnata*), una planta empleada en el México prehispánico para usos medicinales, principalmente como laxante.^{17, 18} Sin embargo, años después algunas especies del género *Perezia* fueron reclasificadas como *Acourtia*.¹⁷

El género *Perezia* (*Acourtia*) es abundante y parece encontrarse únicamente en el continente americano, especialmente en México y Sudamérica; la perezona se encuentra en abundancia en las raíces de varias de estas plantas, entre ellas *Acourtia cuernavacana*. La perezona es un compuesto cristalino brillante color naranja, se reduce fácilmente y se reoxida espontáneamente. Este compuesto se usa como pigmento y puede formar compuestos coordinados con metales para producir pigmentos de diferentes colores. A pesar de que la perezona se ha aislado de las raíces de *Acourtia*, la población natural de esta planta es pequeña y los intentos por cultivarla por métodos tradicionales han sido infructuosos.¹⁹

MARCO TEÓRICO

A partir de perezona aislada de *Acourtia cuernavacana* se han sintetizado aminoderivados de perezona e isoperezona (**3**), con melatonina, acetiltriptamina y éster metílico de triptófano (**Figura 8**). A los aminoderivados (**1a– 1h**), a perezona y a isoperezona se les determinó la actividad citotóxica *in vitro* en algunas líneas celulares. Los aminoderivados de perezona presentaron actividad citotóxica, pero no fueron más activos que la perezona e isoperezona. Además de la actividad citotóxica, se evaluó también la actividad antioxidante de los aminoderivados de perezona y se comparó su actividad con α -tocoferol y quercetina, dos sustancias fuertemente antioxidantes. El aminoderivado **1c** fue el que presentó mejor actividad antioxidante que α -tocoferol. La **Figura 7** muestra las estructuras de la isoperezona y de los aminoderivados sintetizados por Lozada y cols.⁴

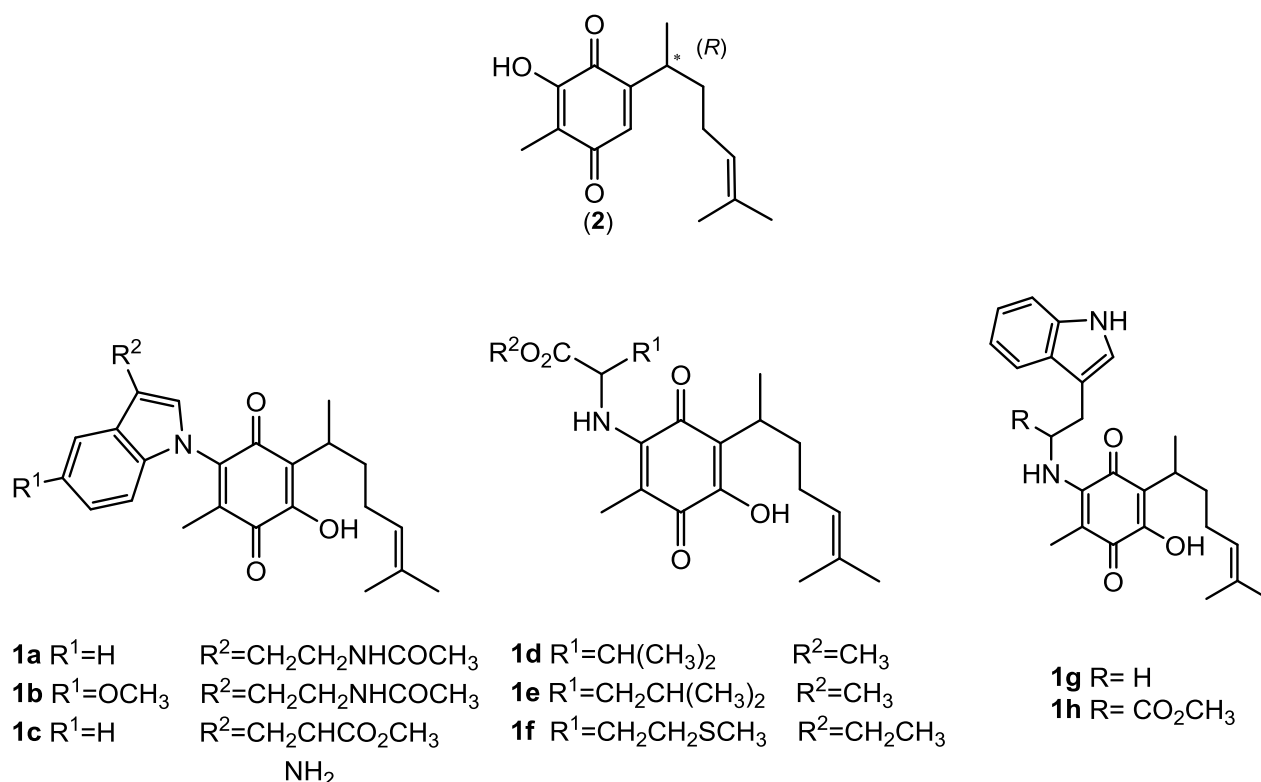


Figura 7. Estructura de isoperezona y de aminoderivados de perezona

Sánchez-Torres y colaboradores evaluaron en 2010 la actividad citotóxica de perezona en una línea celular de leucemia humana. La perezona mostró un gran efecto citotóxico por un mecanismo dependiente de caspasa a bajas concentraciones y al aumentar la concentración, el mecanismo cambio a uno independiente de caspasa.³

Además de la actividad citotóxica y antioxidante de la perezona, se ha reportado también su efecto hipoglicémico,²⁰ en la inhibición de la agregación plaquetaria,²¹ y se ha encontrado que tiene efecto cardioprotector.²²

3.4 Naftoquinonas

Las naftoquinonas son compuestos que se encuentran presentes en plantas y microorganismos como metabolitos secundarios, participan en varios procesos biológicos oxidativos y representan una defensa química para muchas plantas. Además de sus propiedades como tintes, las 1,4-hidroxinaftoquinonas y sus derivados han demostrado actividades farmacológicas importantes, como la antimalárica, antibacteriana, antifúngica y anticancerígena.²³ Ejemplos de naftoquinonas naturales aisladas de plantas son el lapachol, juglona, plumbagina y lawsona. Por lo general, los derivados de naftoquinona son citotóxicos. La β -lapachona es un derivado de 1,2-naftoquinona y es un inhibidor de la ADN topoisomerasa I y II y causa apoptosis en las células. El lapachol es otro derivado con actividad antitumoral. La juglona induce apoptosis y la plumbagina inhibe la proliferación celular e induce autofagia, principalmente en líneas celulares de cáncer de mama.²⁴ La lawsona es la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona aislada de las hojas y tallos de la henna (*Lawsonia inermis* L.).²⁵

Las naftoquinonas interactúan con sus dianas biológicas formando enlaces covalentes, o por su capacidad de llevar a cabo reacciones de óxido-reducción

reversibles. El mecanismo de acción generalmente involucra la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) por el ciclo redox bajo condiciones aeróbicas. En general, la actividad biológica de las naftoquinonas requiere de la capacidad de la molécula para aceptar uno o dos electrones para formar radicales anión (semiquinona) o dianiones (hidroquinona), siendo ambos aniones altamente reactivos.²⁵

Otro mecanismo de acción propuesto es la inhibición de la ADN topoisomerasa, este tipo de mecanismo puede estar involucrado en la actividad citotóxica de las naftoquinonas. La ADN topoisomerasa es una enzima que regula el enrollamiento del ADN durante la replicación, razón por la cual se ha estudiado para nuevos tratamientos contra el cáncer. A pesar de que se ha reportado la inhibición de esta enzima por las naftoquinonas, el mecanismo de acción exacto aún no se conoce.²⁶

3.4.1 Lawsona

La lawsona (**2**) es el principal ingrediente activo de la henna (*Lawsonia inermis*), planta que ha sido usada por varios siglos en Asia como tinte capilar y para tatuajes en piel y uñas. La henna es un polvo fino de color café-verdoso y sus plantas son arbustos altos de aproximadamente 2 a 5 metros de altura, y son nativos de las regiones tropicales y subtropicales de regiones de África, India y el Medio Oriente. La lawsona fue aislada por primera vez en 1959.²⁵ Este compuesto reacciona químicamente con la queratina del cabello y la piel vía una adición de Michael, resultando en una coloración permanente que permanece hasta que se muda la piel o se cae el cabello. Además, la lawsona absorbe fuertemente la luz UV, así que sus extractos acuosos pueden ser empleados como bloqueadores solares muy efectivos.²⁶

MARCO TEÓRICO

A la lawsona se le considera el agente responsable de la anemia hemolítica inducida por henna.²⁷ También se ha demostrado que el tratamiento con lawsona y pineno reduce eficientemente la severidad de la pancreatitis en ratas inducida por arginina.²⁸

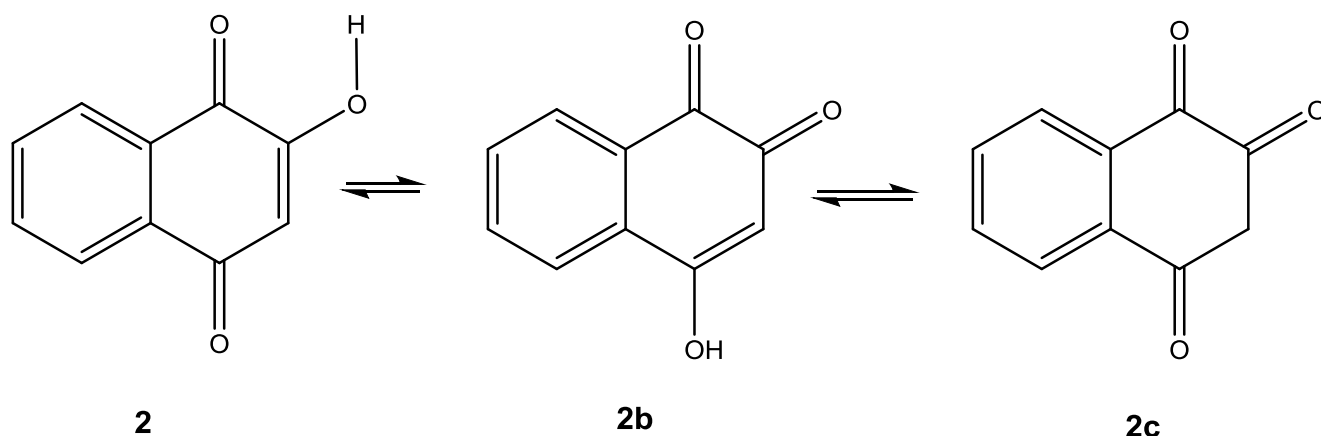


Figura 8. Formas tautoméricas de la lawsona

La lawsona tiene tres formas tautoméricas, (**Figura 8**) la estructura de la 1,4-naftoquinona (**2**) es la forma más estable, seguida por la 1,2-naftoquinona (**2b**) y la 1,2,4-naftotriona (**2c**). Esta última es la menos estable. La estabilidad es debida a la cancelación de los momentos dipolares de los grupos carbonilos, en combinación con los puentes de hidrógeno intramoleculares en el isómero 1,4.²⁵

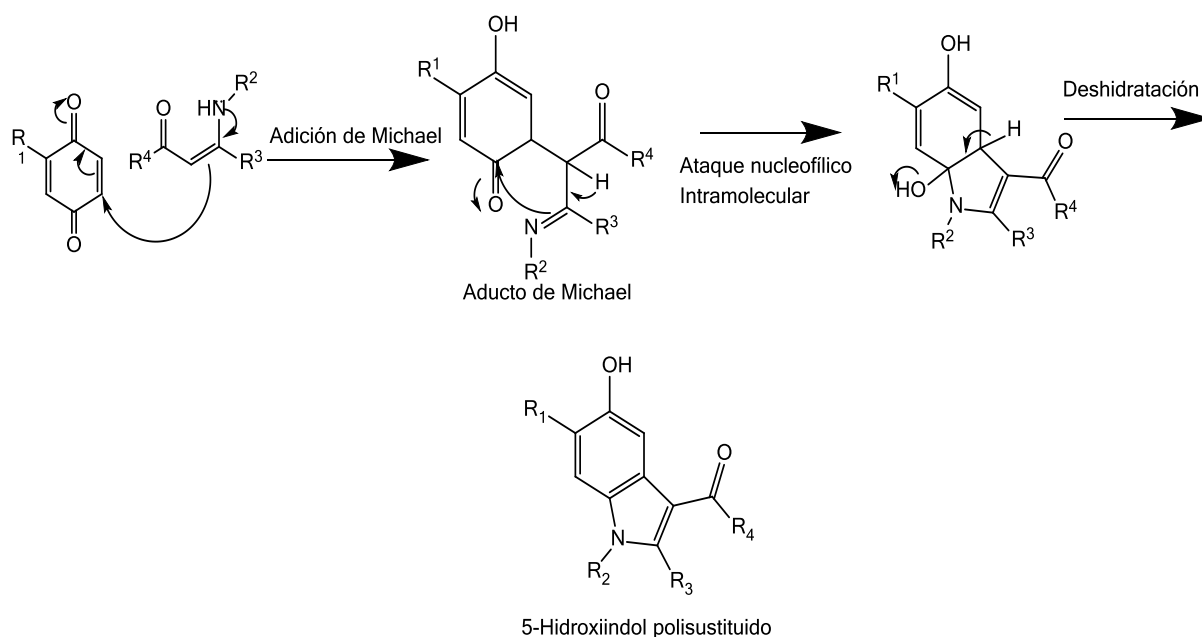
Las hojas de henna tienen un sabor amargo y se han usado por años en la medicina tradicional como astringente, antiséptico y antipirético, y para el tratamiento de varias enfermedades como lepra, varicela y tumores. Se han descrito importantes actividades farmacológicas para lawsona y sus derivados. Rahmoun y colaboradores reportaron actividad antibacteriana para la lawsona y dos derivados con sustituyentes cloro y nitro, los cuales fueron activos frente a una cepa de *Staphylococcus aureus*.²³ En 2010, Vinothkumar y colaboradores reportaron la actividad antioxidante *in vitro* de tres derivados de lawsona. Estos compuestos

exhibieron una moderada actividad antioxidante, particularmente en la prueba de DPPH, pero también en la prueba de peroxidación lipídica.²⁹

Estudios de la actividad antioxidante de lawsona han dado resultados contradictorios. Algunos han considerado que ésta es un compuesto sin actividad antioxidante *in vitro*, ya que la exposición directa de lawsona a eritrocitos y hepatocitos no provocó efectos oxidativos. Sin embargo, en un estudio realizado por Sauriasari y colaboradores en 2007, causó anemia con daños oxidativos y efectos tóxicos al riñón y tracto gastrointestinal, tras la administración repetida por vía oral. A pesar de esto, no se conoce el tipo de ROS que están involucradas; en este mismo estudio, se descubrió que la lawsona no tiene propiedades mutagénicas, pero es citotóxica de forma dosis-dependiente.²⁷

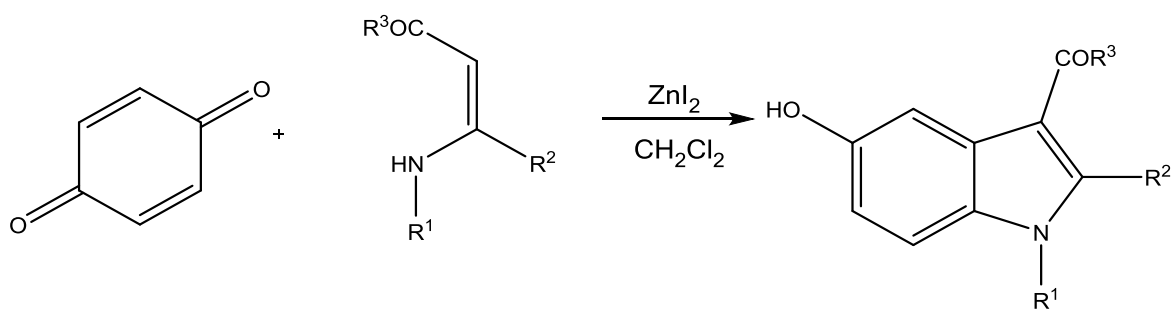
3.5 Reacción de Nenitzescu

Una de las reacciones importantes en las que participan las quinonas es la síntesis de indoles de Nenitzescu. Aunque el mecanismo no se conoce con exactitud, es probable que consista en una adición de Michael, de enaminonas a la *p*-quinona correspondiente, y el ataque del nitrógeno al carbonilo de la quinona, para formar el anillo de pirrol y finalmente mediante una deshidratación se obtiene el 5-HI (**Esquema 1**).³⁰



Esquema 1. Mecanismo propuesto para la reacción de Nenitzescu

En 2006, Velezheva y colaboradores definieron las condiciones experimentales para una reacción de Nenitzescu por un mecanismo de óxido-reducción. Así, obtuvieron 5-HI polisustituidos de alta pureza con muy buenos rendimientos y aplicable a una variedad de enaminas. El **Esquema 2** muestra la reacción general empleada para obtener los 5-HI.³¹



Esquema 2. Obtención de 5-Hidroxiindoles

MARCO TEÓRICO

Por la reacción de Nenitzescu se han obtenido diversos productos, entre los que se encuentra el primer inhibidor potente y selectivo de la fosfolipasa A₂ (LY311727) y, un agente antitumoral (EO 9) (**Figura 9**).³²

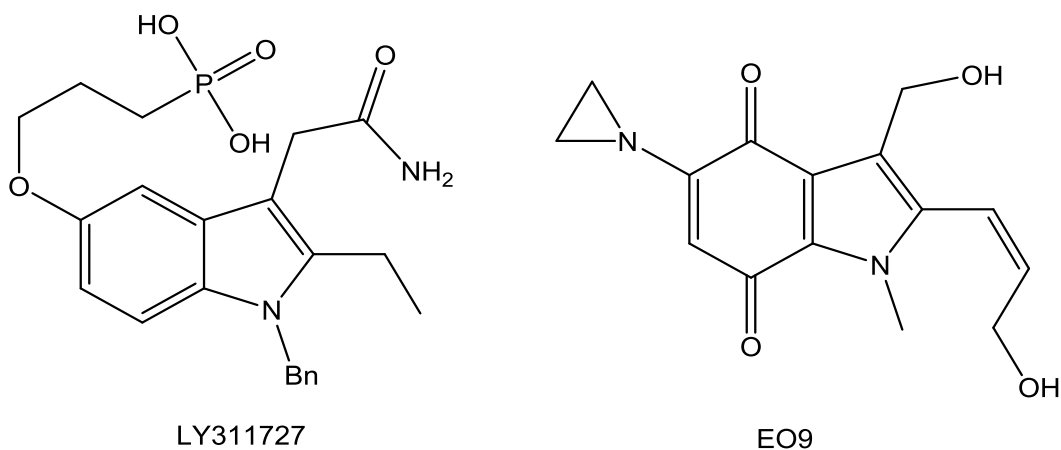


Figura 9. Compuestos con actividad biológica obtenidos por la reacción de Nenitzescu

3.6 5-Hidroxiindoles e Indoloquinonas

El núcleo indólico es frecuentemente encontrado en muchos farmacóforos y productos naturales, por lo que los derivados indólicos son considerados importantes en la Química Medicinal. En años recientes, el interés por estas moléculas ha aumentado y los 5-hidroxiindoles se han usado como inhibidores de la 5-lipooxigenasa, como antivirales (arbidol), o inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) (indometacina); incluso algunos análogos *N*-bencil sustituidos de la indometacina han mostrado inhibición selectiva de la COX-2.^{7, 31} (**Figura 10**)

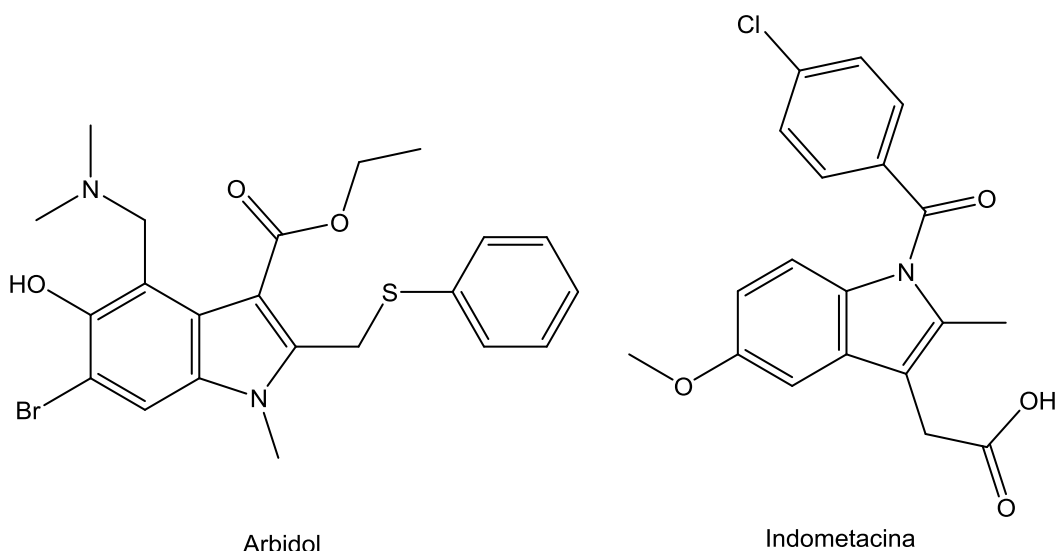
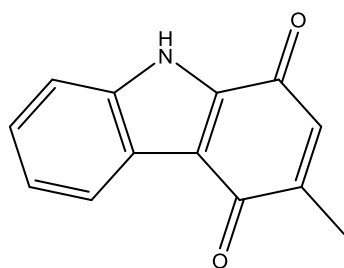
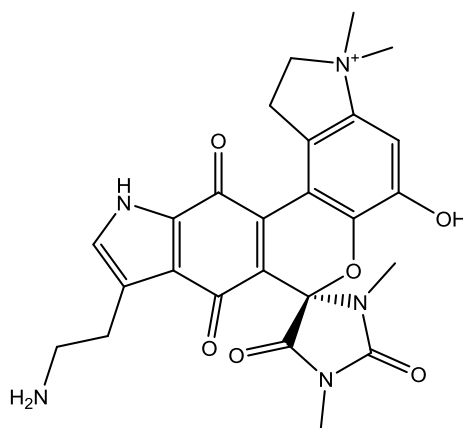


Figura 10. Estructuras de fármacos que contienen 5-HI

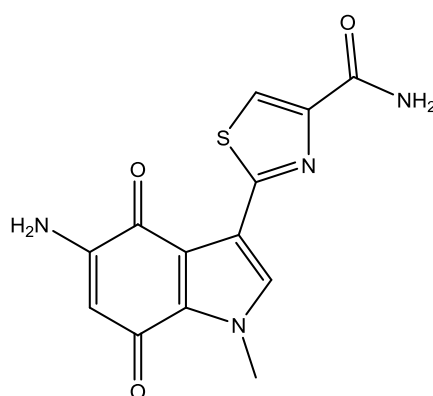
Las condiciones de la reacción de Nenitzescu pueden hacerse extensivas a naftoquinonas para obtener indoloquinonas, compuestos que presentan una diversidad biológica muy amplia como antineoplásicos. Los compuestos que contienen una indoloquinona como parte principal de su estructura por lo general poseen una fuerte actividad biológica, como la mitomicina, que es un antitumoral de origen natural, o EO9 (apaquizona) que es un análogo sintético de la mitomicina y se encuentra en fases clínicas para su uso contra el cáncer de vejiga. Asimismo, se han reportado productos anticancerígenos naturales, como la murrayaquinona A, exiguamina A y BE 10988 (**Figura 11**). También se han reportado indoloquinonas como precursores importantes para la síntesis de algunos compuestos medicinales.



Murrayaquinona A



Exiguamina A



BE 10988

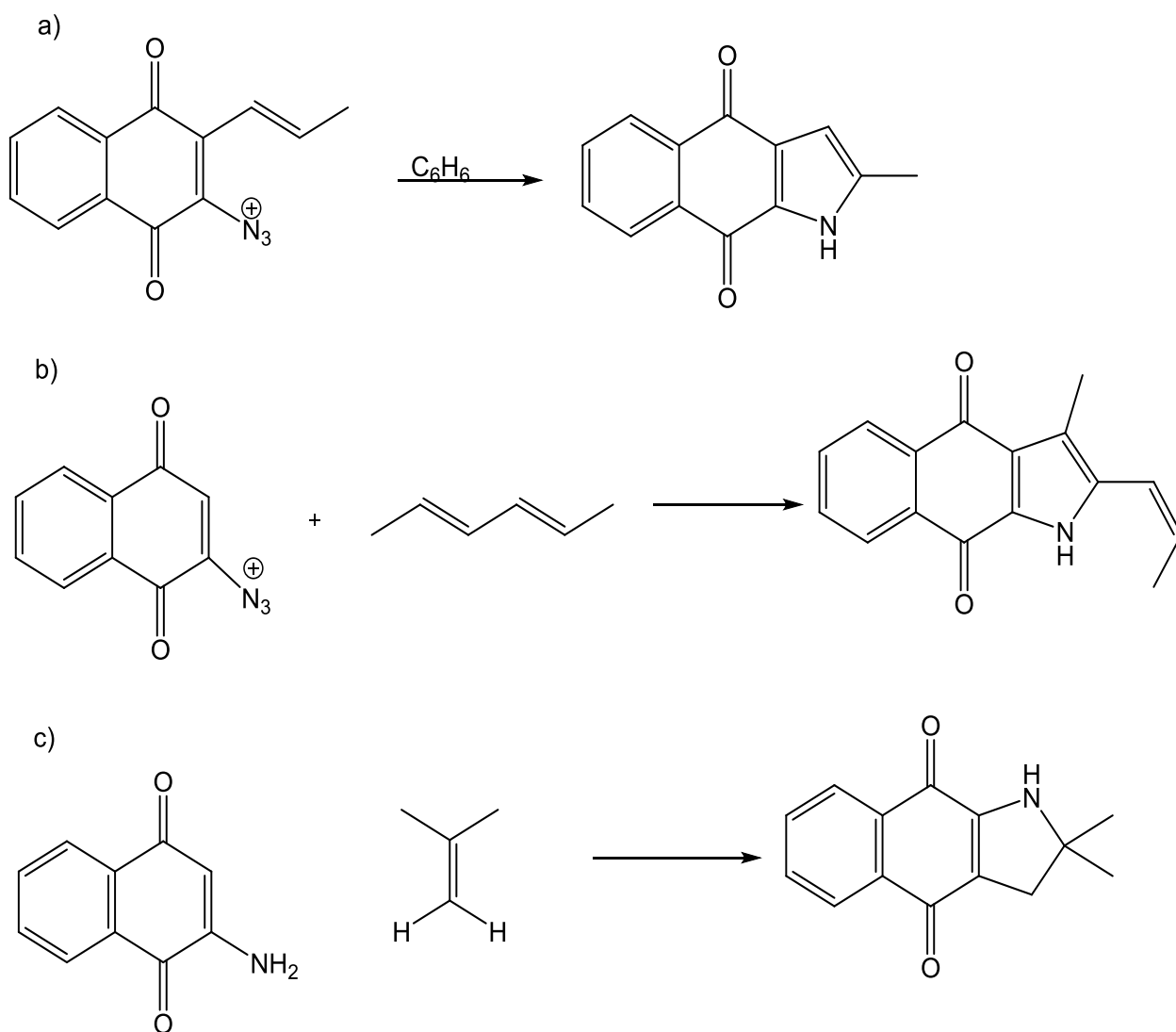
Figura 11. Estructuras de fármacos anticancerígenos que contienen indoloquinonas

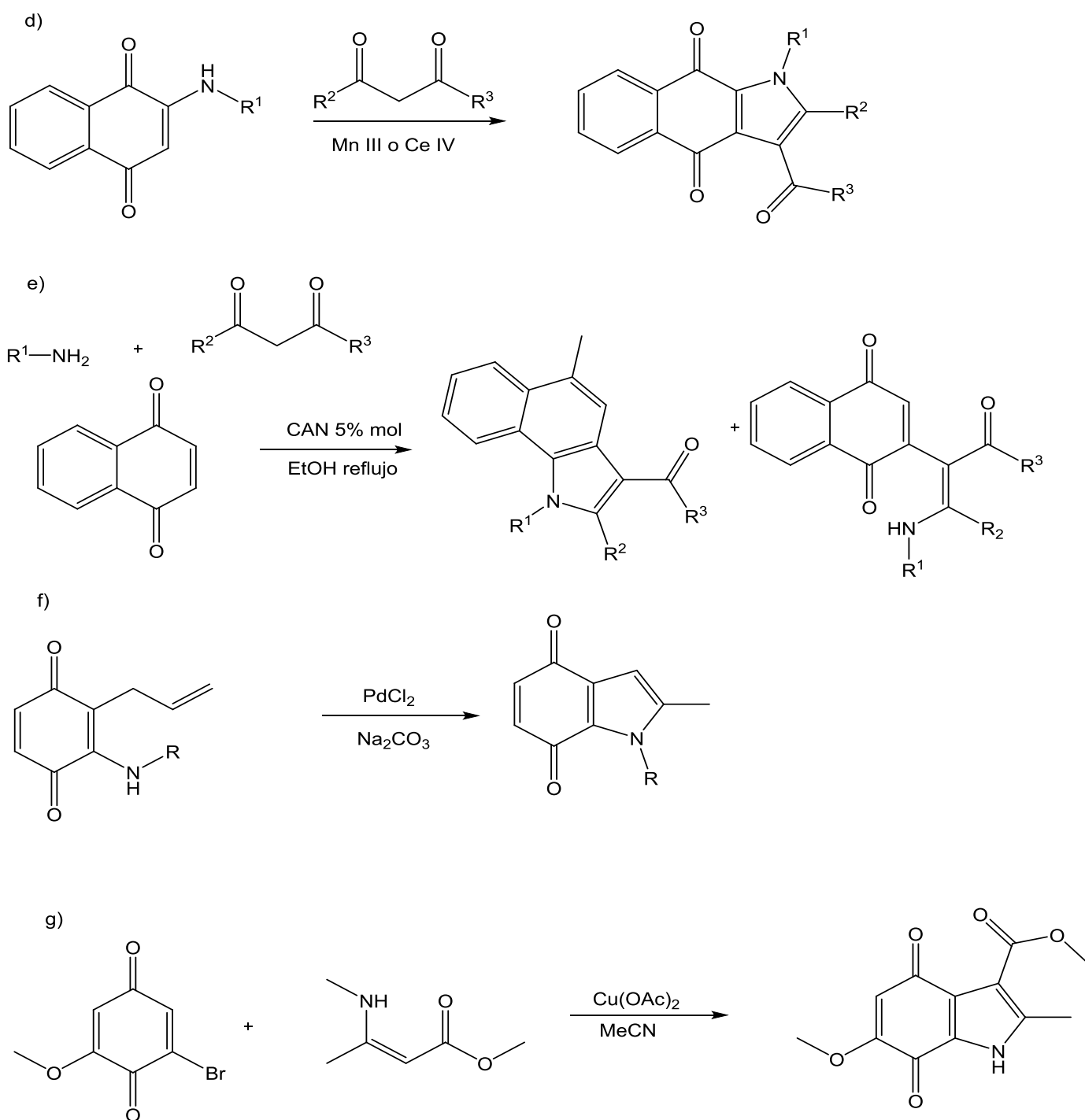
Debido a esto, las indoloquinonas son compuestos de interés para el tratamiento contra el cáncer, no sólo como fármacos citotóxicos, sino también como profármacos.^{8, 33} Además, se han reportado indoloquinonas con actividad como antibacteriales, fungicidas y anticoagulantes.³⁴

Se han reportado diversos métodos para sintetizar indoloquinonas, entre los que se encuentran: a) conversión térmica de 2-azido-3-vinil-1,4-quinonas a indoloquinonas,³⁵ b) reacción fotoquímica de 2-azido-1,4-quinonas con dienos

MARCO TEÓRICO

conjugados,³⁶ c) fotoadición de 2-aminonaftoquinonas con alquenos,³⁷ d) reacción oxidativa de radicales libres iniciada con manganeso o cerio de 2-amino-1,4-naftoquinonas y compuestos β -dicarbonílicos,¹³ e) reacción de 1,4-naftoquinona, una amina primaria y un compuesto β -dicarbonílico catalizada con nitrato cérico amoniacal (CAN),³⁸ f) síntesis catalizada con paladio empleando aminoquinonas como reactivo,⁸ g) reacción de 2-bromonaftoquinona con enaminas catalizada con acetato de cobre II.³⁹ (**Esquema 3**)





Esquema 3. Métodos de síntesis para la obtención de indoloquinonas

Una interesante propuesta para preparar indoloquinonas a partir de reactivos fácilmente disponibles y con una alta economía atómica es la reacción de naftoquinonas con enaminonas en presencia de sales de cobre y oxígeno, como se establece en las propuestas e y g.³⁴

3.7 Quiralidad

La mayoría de los productos naturales son compuestos ópticamente activos, y los sistemas biológicos son capaces de diferenciar a cada enantiómero, razón por la cual la actividad farmacológica, las propiedades farmacocinéticas e incluso organolépticas pueden llegar a ser completamente diferentes para dos enantiómeros de un mismo compuesto.⁴⁰

Probablemente el caso más conocido es la talidomida, el cual se comercializaba como mezcla racémica para disminuir las náuseas en mujeres embarazadas; sin embargo, tiempo después se comprobó que el enantiómero *S* producía teratogénesis. Así, este caso reveló la importancia de estudiar cada enantiómero de un compuesto por separado.⁴⁰

Los métodos empleados para obtener compuestos enantioméricamente puros pueden dividirse en tres categorías:

1. Separación de los enantiómeros por medio de la resolución de la mezcla racémica. Este método es empleado por su simpleza operativa, sin embargo, sólo es posible obtener el 50% de rendimiento.
2. Síntesis asimétrica. Consiste en el uso de agentes quirales para introducir un centro estereogénico en un sustrato proquiral.

3. Chiral pool. Uno de los reactivos es una sustancia ópticamente pura (en la mayoría de los casos proviene productos naturales), con la estereoquímica deseada y los centros estereogénicos se conservan durante el proceso de síntesis.⁴¹

3.8 Síntesis asistida por microondas

Generalmente, la síntesis orgánica convencional se lleva a cabo por calentamiento con una fuente externa de calor (mantillas de calentamiento o baño de aceite), sin embargo con este método la transferencia de energía dentro del sistema es ineficiente ya que depende de las corrientes de convección y de la conductividad térmica de los materiales que se usan. En contraste, la irradiación por microondas produce un calentamiento interno eficiente, ya que la temperatura del medio de reacción aumenta uniformemente en todo el medio de reacción.⁴²

La síntesis asistida por microondas ha demostrado ser de gran utilidad y cada vez se difunde más su uso, ya que su aplicación ha permitido la reducción de tiempos de reacción, aumento en el rendimiento de la misma y la eficiencia del proceso, así como evitar el uso de disolventes y catalizadores tóxicos, pudiendo obtener así productos con mayor pureza.⁴³ Las microondas son una forma de energía que se manifiesta como calor a través de la interacción con el medio o materiales, donde puede ser reflejado, transmitido o absorbido. En la síntesis orgánica, las microondas aceleran la reacción debido a la absorción selectiva de radiación por moléculas polares.⁴⁴

La irradiación por microondas provee una alternativa a los métodos convencionales para calentar e introducir energía en un sistema. Para llevar a cabo la reacción, emplea la habilidad de las cargas eléctricas móviles presentes en la solución para transformar la energía electromagnética en calor.⁴⁵

MARCO TEÓRICO

No todos los materiales son susceptibles al calentamiento por microondas, de acuerdo a su comportamiento frente a las microondas, pueden clasificarse en tres:

1. Materiales transparentes a las microondas, como el azufre
2. Materiales que reflejan las microondas, como el cobre
3. Materiales que absorben las microondas, como el agua.⁴⁵

Si la radiación de microondas es reflejada por la superficie del material, existe poco o nulo acoplamiento energético en el sistema y la temperatura del material aumenta sólo ligeramente. Los materiales no polares sólo tienen pequeñas interacciones con las microondas y pueden ser usados como materiales de construcción para estos equipos. Los disolventes polares orgánicos absorben fuertemente las microondas, lo que provoca un rápido calentamiento del medio.⁴² Son estos últimos los que son útiles para la síntesis asistida por microondas, y existen dos mecanismos:

Polarización dipolar

Para que una sustancia genere calor cuando es irradiada con microondas, ésta debe poseer un momento dipolo. Cuando el dipolo intenta reorientarse con respecto al campo eléctrico alterno (proveniente de las microondas), pierde energía en forma de calor por fricción molecular. Esta fricción puede ser resultado de la interacción entre moléculas de disolventes polares o entre las moléculas de los solutos. El requerimiento más importante para la polarización dipolar es que el rango de frecuencias del campo oscilatorio debe ser apropiado para permitir una adecuada interacción inter-partícula. La radiación por microondas tiene la frecuencia apropiada para que las partículas polares oscilen y exista interacción inter-partícula.⁴⁶

Conducción.

En una solución que contenga al menos un ion, éste se moverá a través de la solución bajo la influencia del campo eléctrico, lo cual resulta en un gasto de energía debido al aumento de la velocidad de colisión, convirtiendo la energía cinética en calor.⁴⁶

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente existen varios tratamientos para el cáncer y otras enfermedades causadas por daño oxidativo, siendo la quimioterapia el más comúnmente usado. Sin embargo, muchos de estos fármacos producen daños en células sanas, causando en los pacientes numerosos efectos adversos potencialmente peligrosos.

Una opción para combatir este daño celular se encuentra en los productos naturales, ya que representan una fuente inagotable de moléculas con amplia variedad de actividades biológicas. México cuenta con una gran tradición de medicina herbolaria, además de una vasta variedad de especies de plantas con potencial terapéutico; sin embargo, en ocasiones es necesario modificar éstas moléculas para potenciar sus efectos biológicos o minimizar efectos tóxicos.

Perezona y lawsona son dos compuestos que se aislaron de fuentes naturales y que han sido usadas desde hace varios años en la medicina tradicional para tratar diversas afecciones. El estudio posterior de estos compuestos permitió conocer su potencial antioxidante, el cual se ha reportado que es útil para prevenir o tratar enfermedades como el cáncer. Debido a esto, en este trabajo se plantea la síntesis de nuevos derivados 5-hidroxiindólicos e indoloquinonas a partir de perezona y lawsona por una reacción de Nenitzescu con enaminonas quirales, con potencial actividad antioxidante y anticancerígena.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

5. HIPÓTESIS

La perezona y la lawsona son metabolitos secundarios con actividad citotóxica y antioxidante, por lo que se espera que sus derivados indólicos e indoloquinonas incrementen su actividad biológica.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Sintetizar y caracterizar 5-hidroxiindoles derivados de perezona e indoloquinonas derivadas de lawsona y evaluar su actividad citotóxica y antioxidante.

6.2 Objetivos específicos

- Sintetizar cuatro enaminonas quirales a partir de aminas quirales y compuestos β -dicarbonílicos por el método convencional y asistido por microondas
- Sintetizar cuatro derivados 5-hidroxiindólicos por reacción de perezona con enaminonas quirales
- Sintetizar cuatro indoloquinonas por reacción de lawsona con enaminonas quirales
- Caracterizar las enaminonas y derivados 5-hidroxiindólicos e indoloquinonas por métodos espectroscópicos (IR, RMN ^1H y ^{13}C).
- Evaluar la actividad citotóxica sobre cinco líneas celulares de tumores humanos de cáncer de mama (MCF-7), cáncer de pulmón (SKLU-1), cáncer de Sistema Nervioso Central (U251), cáncer de colon (HCT-15) y cáncer de próstata (PC-3).
- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de los derivados obtenidos por el método de TBARS y por el método DPPH.

7. METODOLOGÍA

7.1. Síntesis de enaminonas quirales

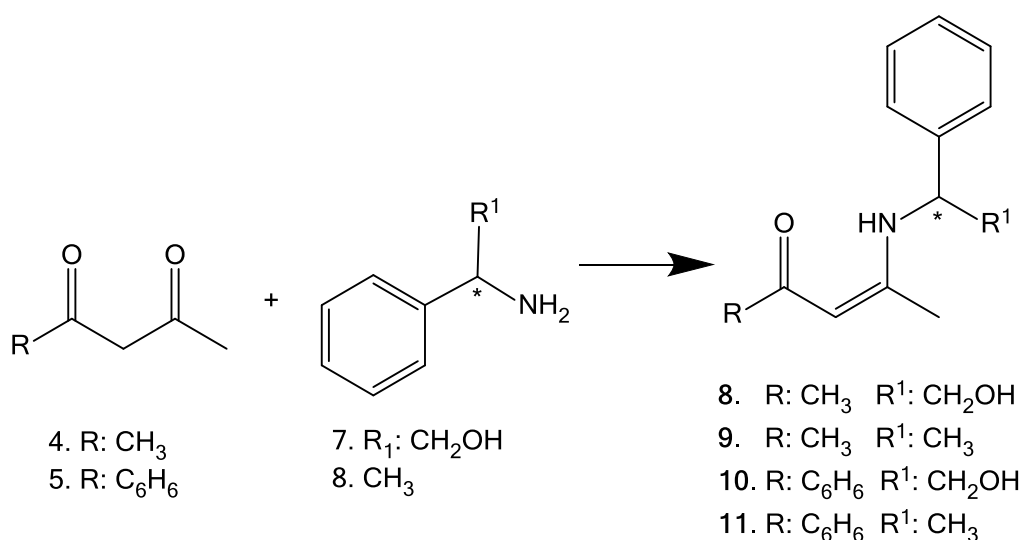
Las enaminonas se prepararon por adición nucleofílica de una amina quiral a un compuesto β -dicarbonílico, por dos metodologías, empleando cromatografía en capa fina (CCF) para monitorear la reacción.

7.1.1 Síntesis convencional de las enaminonas 8 y 9

Las enaminonas **8** y **9** se prepararon de acuerdo a la metodología establecida por Lozada y colaboradores⁴⁷ por reacción de 2,4-pentanodiona (**4**) con *R*-fenilglicinol (**6**) y *S*-feniletilamina (**7**), empleando diclorometano o metanol como disolvente y agitación a temperatura ambiente.

7.1.2 Síntesis convencional de las enaminonas 10 y 11

Las enaminonas **10** y **11** se prepararon por reacción de 1-fenil-1,3-butanodiona (**5**) con *R*-fenilglicinol (**6**) y *S*-feniletilamina (**7**), empleando ácido *p*-toluensulfónico (TsOH) como catalizador, metanol como disolvente y agitación a reflujo. (**Esquema 4**)



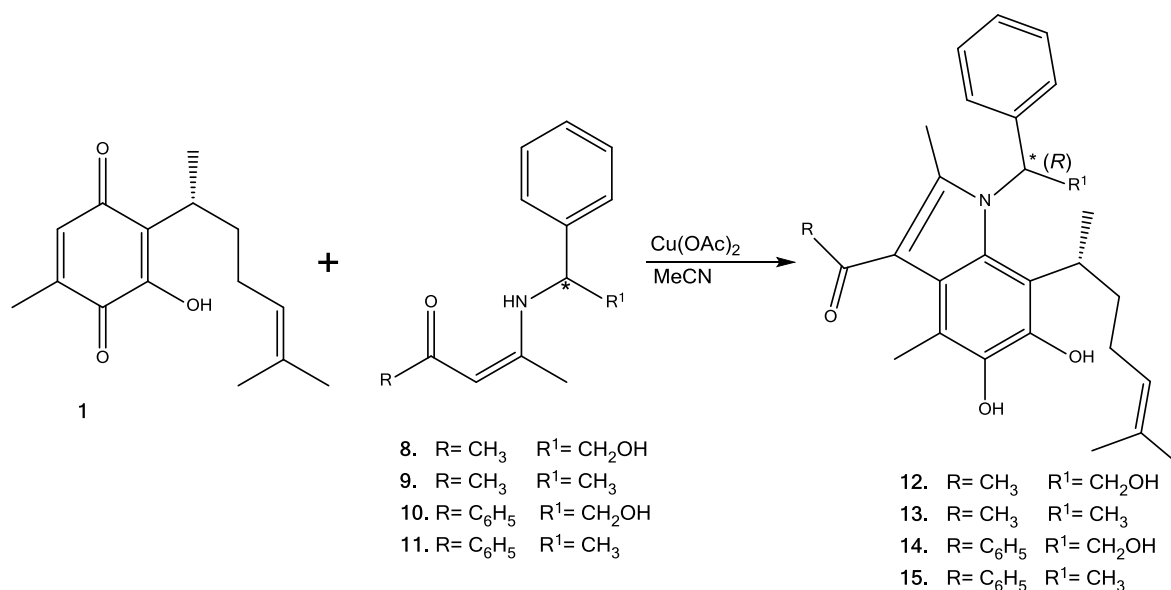
Esquema 4. Síntesis de enaminonas quirales **8**–**11**

7.1.3 Síntesis asistida por microondas de las enaminonas quirales 8–11

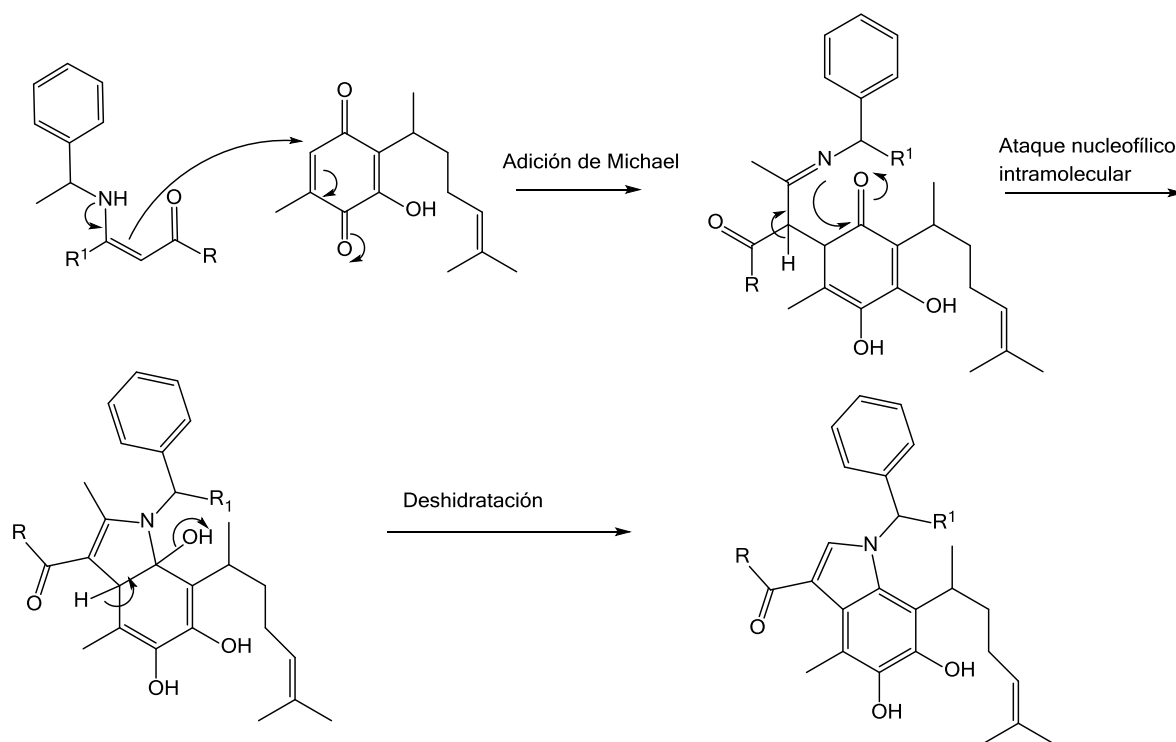
Las enaminonas **8–11** se prepararon por reacción de (**4–5**) y las aminas quirales (**6–7**), empleando metanol como disolvente, y para el caso de las enaminonas **10–11**, TsOH como catalizador e irradiación por microondas como fuente de calentamiento a 80 °C, y agitación a 400 rpm.

7.2. Síntesis de 5-hidroxiindoles derivados de perezona (12–15)

Los derivados 5-hidroxiindólicos **12–15** se sintetizaron utilizando la reacción de Nenitzescu entre la perezona (**1**) y las enaminonas quirales **8–11**, utilizando acetato de cobre (II) ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$) como catalizador y acetonitrilo (MeCN) como disolvente, a reflujo, monitoreando la reacción con CCF. (**Esquema 5**) El primer paso de la reacción es una adición de Michael de la enaminona quiral al carbono 6 de la perezona, seguido de un ataque del nitrógeno al carbonilo de la cetona y finalmente la aromatización por deshidratación para formar el 5-hidroxiindol correspondiente, como se muestra en el **Esquema 6**.



Esquema 5. Síntesis de derivados 5-HI de perezona **12–15**

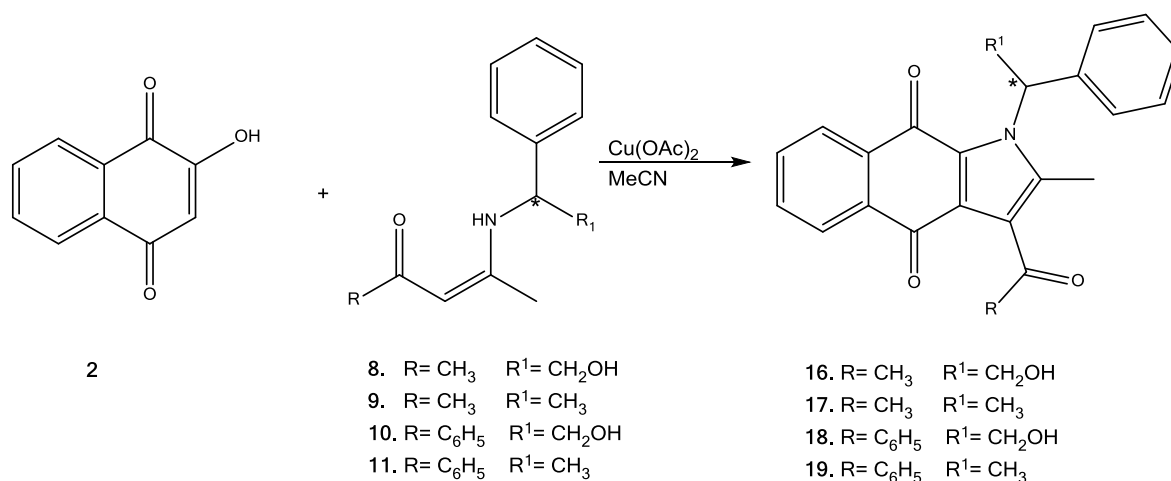


Esquema 6. Mecanismo de reacción para la obtención de 5-HI

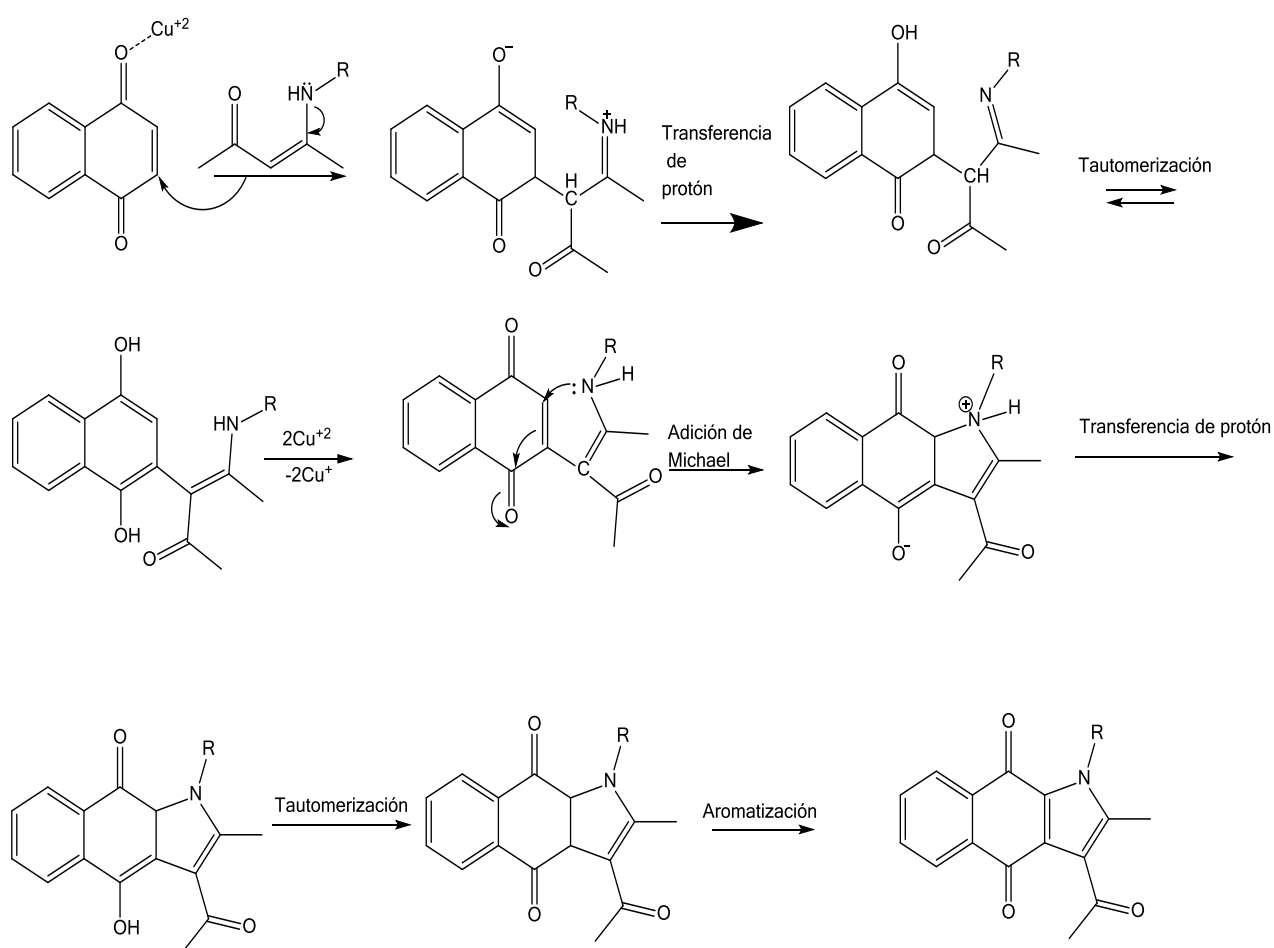
7.3 Síntesis de derivados indoloquinonas de lawsona

Para la síntesis de las indoloquinonas **16–19** se siguió la metodología propuesta por Sun,³⁴ con lawsona (**2**) y las enaminonas **8–11**, utilizando acetato de cobre (II) ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$) como catalizador y acetonitrilo (MeCN) como disolvente, en agitación a reflujo, monitoreando la reacción con CCF (**Esquema 7**). Es una reacción de tipo Nenitzescu, pero para el caso de una naftoquinona, el mecanismo propuesto consiste en una adición de Michael, seguido de una oxido-reducción para formar la quinona, una segunda adición de Michael y finalmente la aromatización a la indoloquinona correspondiente (**Esquema 8**).

METODOLOGÍA



Esquema 7. Síntesis de derivados indoloquinonas de lawsona



Esquema 8. Mecanismo de reacción propuesto para la obtención de indoloquinonas

7.4 Evaluación biológica

7.4.1 Evaluación citotóxica

La evaluación citotóxica de los compuestos **12–19**, se realizó de acuerdo al protocolo establecido por el Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM. (**Figura 12**)

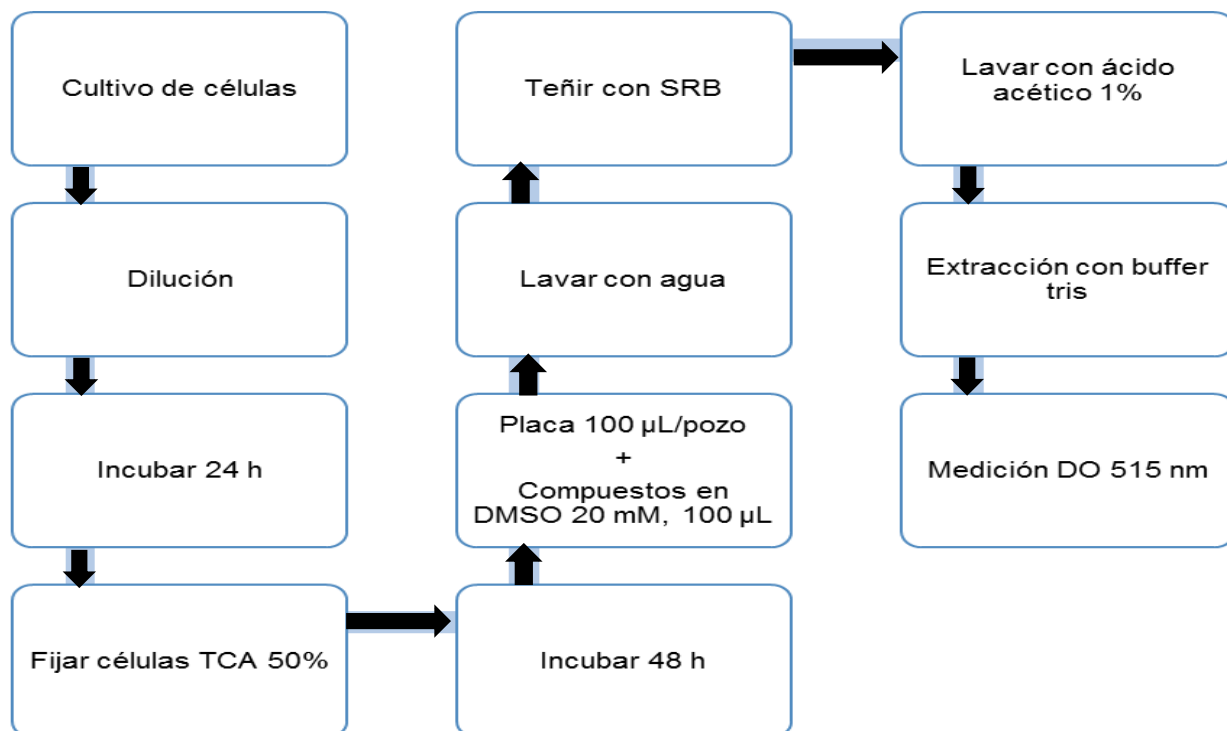


Figura 12. Metodología general para la evaluación citotóxica por el método de SRB

7.4.2 Evaluación antioxidante

La evaluación antioxidante de los compuestos **12–19**, se realizó con los modelos de DPPH y la inhibición de la peroxidación de lípidos cuantificada por el método de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS por sus siglas en inglés) de acuerdo al protocolo establecido por Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM. (**Figura 13 y 14**)

METODOLOGÍA

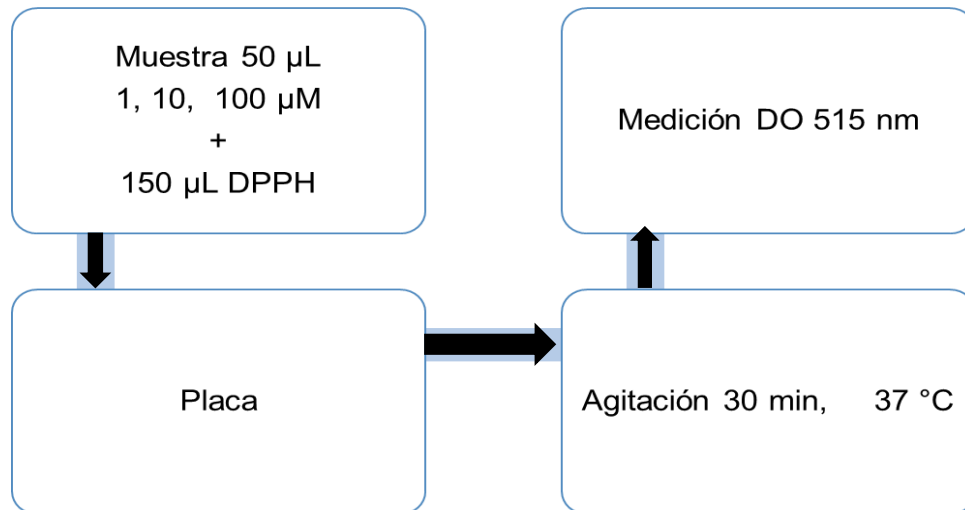


Figura 13. Metodología general para la evaluación de la actividad antioxidante por el método de DPPH

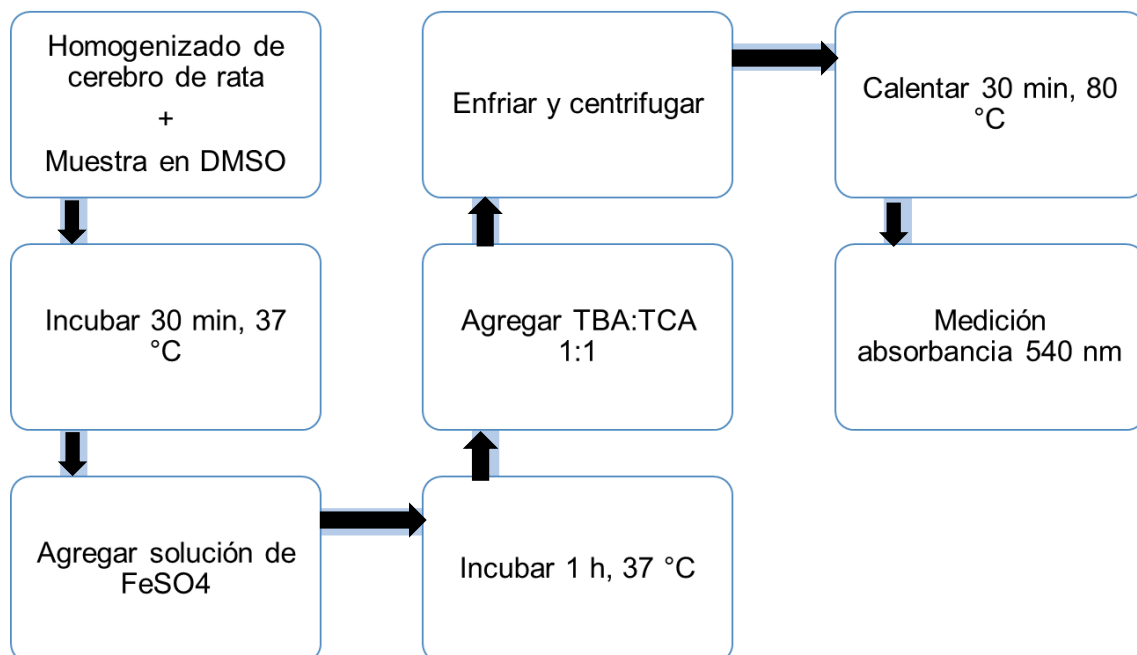


Figura 14. Metodología general para la evaluación de la actividad antioxidante por el método de TBARS

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Síntesis química

8.1.1 Síntesis de las enaminonas 8–11.

Las enaminonas **8–11** se sintetizaron de acuerdo a la metodología propuesta por Lozada y cols.⁴⁷ Para la preparación de las enaminonas **8–9** por el método convencional inicialmente se utilizó DCM como disolvente, obteniendo rendimientos de 93.2% y 57.1%, respectivamente, pero para realizar un estudio comparativo entre el método convencional y el asistido por microondas, se hicieron pruebas en metanol como disolvente obteniéndose rendimientos ligeramente menores. En la **Tabla 1** se muestran los tiempos de reacción y rendimientos de las enaminonas **8–11**, así como su punto de fusión y rotación óptica

Tabla 1. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de enaminonas **8–11**

Enaminona	Tiempo de reacción (h)		Rendimiento (%) [*]		Punto de fusión (°C)	[α] _D ²⁵ En EtOH
	A	B	A.	B.		
8	72	1.5	80.5	77.2	124-125	+609.7 (c. 1.039)
9	144	1.5	53.5	98.9	N/A	+701.2 (c. 1.032)
10	19.5	4	35.7	82.5	101-102	+430.1 (c. 1.060)
11	35	4	21.9	68.7	80-81	+579.3 (c. 1.095)

A: Síntesis convencional; B: Síntesis Asistida por Microondas; c. concentración de la muestra en g/100 mL ^{*}En MeOH

Como se puede observar existe una mejora considerable en tiempos de reacción cuando se utiliza microondas. En la síntesis convencional el tiempo de reacción más corto es de 19.5 h, mientras que para la síntesis asistida por microondas es de tan sólo 1.5 h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por otro lado, se puede observar un aumento en los rendimientos cuando se emplea el microondas, sobre todo para las enaminonas **10–11** cuyos rendimientos pasan de 35.7 y 21.9 a 82.5 y 68.7 %, respectivamente.

No se observa evidencia de racemización en ninguna de las cuatro enaminonas ya que presentaron rotaciones ópticas positivas. Las enaminonas **8** y **9** fueron previamente sintetizadas^{47, 48} y el signo concuerda con lo reportado, para el caso de las enaminonas **10** y **11** no se encontraron reportes en la literatura, pero la rotación observada sigue el mismo comportamiento que las anteriores. Estos resultados permiten confirmar que el centro estereogénico no se racemizó durante la reacción.

La estructura de las enaminonas **8–11** fue confirmada por sus datos espectroscópicos. En el espectro de ultravioleta (UV) se observa un pico de absorbancia en 209.87, 217.94, 209.13 y 209.87 nm respectivamente, cercana a la longitud de onda base esperada para un sistema carbonilo α,β -insaturado de 215 nm.

En los espectros de IR se observa una banda ancha para las enaminonas **8** y **10** en 3423.08 y 3399.85 cm^{-1} respectivamente, correspondiente al grupo O-H. Sin embargo, en la primera la banda se traslapa con la banda de N-H que aparece en la misma región, mientras que para la enaminona **10** se observa el pico correspondiente a las vibraciones de estiramiento N-H en 3337.69 cm^{-1} . En el caso de las enaminonas **9** y **11**, la banda de la vibración N-H se encuentra en 3423.1 y 3423.08 cm^{-1} respectivamente. Respecto a la vibración del enlace C=O, se ve desplazada a una menor frecuencia debido a la presencia del doble enlace, observándose en 1598.42, 1577.62, 1592.83 y 1610.45 cm^{-1} para **8**, **9**, **10** y **11**, respectivamente.

Los espectros de RMN ^1H , presentan señales que son comunes a las cuatro enaminonas, se puede observar que el protón unido al nitrógeno se observa como

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

un doblete en 11.41, 11.23, 12.02 y 11.84 ppm con $J = 8.1, 7, 7.9$ y 6.9 Hz, respectivamente. Por otra parte, el protón vinílico aparece como un singulete en 5.04, 4.98, 5.73 y 5.70 ppm respectivamente; el desplazamiento de esta señal se debe a que la conjugación del doble enlace con el grupo carbonilo desprotegen al protón, desplazándolo a frecuencias mayores. El metilo base de la doble ligadura aparece como un singulete en 1.87, 1.78, 1.96 y 1.94 ppm respectivamente, el fenilo unido al centro estereogénico aparece como una señal compleja entre 7.90 y 7.23 ppm para los cuatro compuestos. Para **8** y **10** se observa además la señal del metileno unido a OH como dos doble de doble con $J= 4.4$ y 4.5 Hz, en 3.87 y 3.82 ppm (**8**) y 3.90 y 3.86 ppm (**10**) y el protón del centro estereogénico como un triplete dobleteado con $J= 8.1$ y 4.4 Hz en 4.73 (**8**) y $J= 7.9$ y 4.5 Hz en 4.78 (**10**). Por otro lado, para **9** y **11** se observa la señal del metilo unido al centro estereogénico como un doblete con $J = 6.8$ Hz en 1.53 y 1.62 ppm respectivamente; mientras que el protón del centro estereogénico se ve como un multiplete en 4.66 y 4.76 Hz (**Figura 15**).

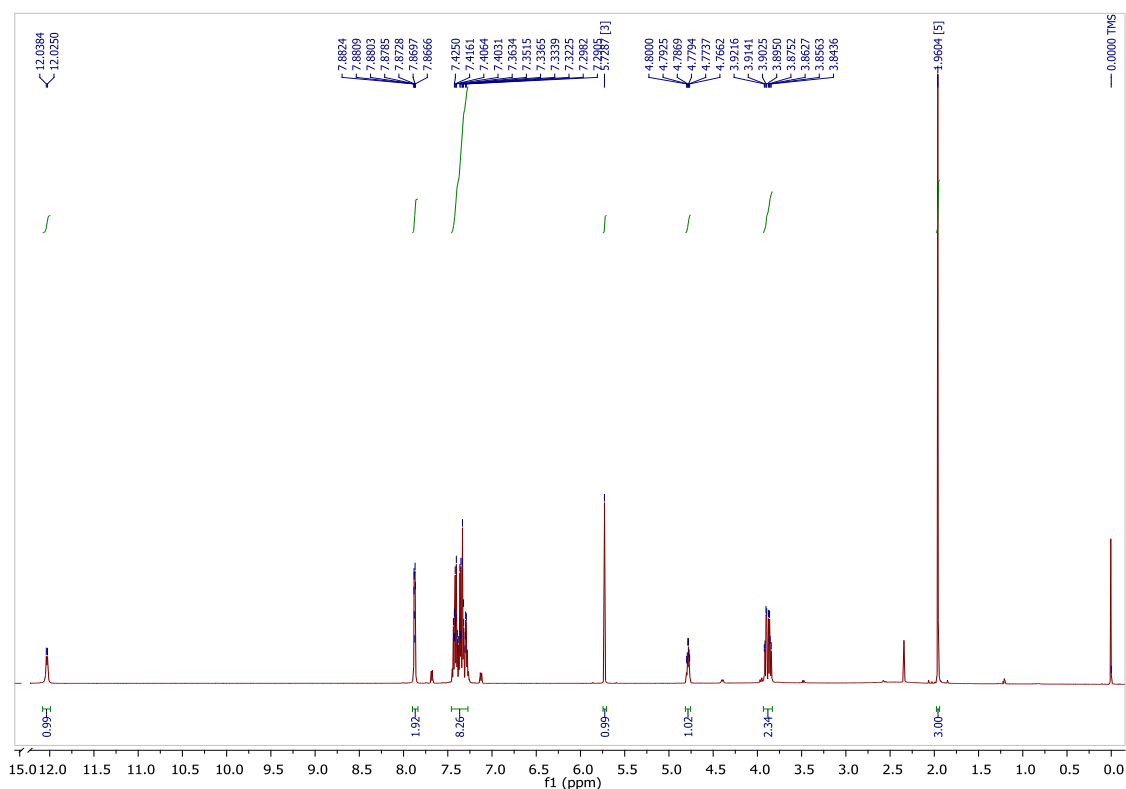


Figura 15. Espectro de RMN ^1H de la enaminona **8**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros de RMN ^{13}C de las enaminonas **8–14** confirman la presencia del carbonilo por las señales en 195.799, 195.533, 188.195, 188.212 ppm, respectivamente.

Los espectros de masas muestran un ion molecular m/z en 219, 203, 281 y 265. Se observa una pérdida de M-31 para las enaminonas **8** y **10**, correspondiente a la ruptura de CH_2OH . Por otro lado, existe una gran similitud en los patrones de fragmentación de las enaminonas **10** y **11**, siendo característicos los picos de m/z de 77 y 105, que representan los fragmentos C_6H_5^+ y $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$.

8.1.2 Síntesis de 5-hidroxiindoles de perezona (**12–15**)

Los estudios para la síntesis de los derivados de perezona se iniciaron con la preparación del compuesto **12**, por reacción de la enaminona **8** con perezona con $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ como catalizador utilizando microondas como fuente de calentamiento a 400 rpm, a diferentes temperaturas (80, 100, 120 y 150°C), y empleando como disolvente MeCN o MeOH en intervalos de no más de 30 minutos en un tiempo total no mayor a 4 horas. En todos los experimentos se observó la formación del compuesto **12** por análisis en CCF, acompañado de una mezcla compleja, la cual dificultó la purificación, por lo que se determinó que este método no era adecuado para llevar a cabo este tipo de reacciones y se procedió a realizar las pruebas por el método convencional, con $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ como catalizador en MeCN utilizando la metodología propuesta de Sun y colaboradores.³⁸ A pesar de que los tiempos de reacción son muy largos, la mezcla de reacción se pudo separar y purificar por cromatografía flash obteniendo el compuesto **12** con un 35% de rendimiento. Las condiciones de reacción encontradas se aplicaron en la síntesis de los compuestos **13–15**, y se obtuvieron con rendimientos de 44.5, 23.13 y 21.1% respectivamente. En la **Tabla 2** se presentan los tiempos de reacción, rendimientos, puntos de fusión y rotación óptica de los 5-HI **12–15**.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de 5-HI **12–15**

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	P.f. (°C)	$[\alpha]_D^{20}$ en MeOH
12	45	35.09	N/A	+62.29 (c. 0.122)
13	48	44.5	N/A	+258.27 (c. 0.127)
14	46	23.13	68-70	+361.29 (c. 0.062)
15	26	21.2	116-118	+334.61 (c. 0.104)

c. concentración de la muestra en g/100 mL

En 2013, Subba Reddy y colaboradores sintetizaron una serie de 5-HI, partir de *p*-quinonas con muy buenos rendimientos, la diferencia en resultados se debe probablemente, a que la *p*-quinona no presenta ningún impedimento estérico y a que se usaron aminas sencillas.⁷

Los 5-HI **12–15** se obtuvieron como compuestos ópticamente activos, estos compuestos contienen en su estructura dos centros estereogénicos que provienen de la perezona y de la enaminona quirál, los cuales se ven inalterados por el tipo de reacción efectuada, conservándose así las configuraciones originales, es decir, para los productos **12** y **14** la configuración sería *R,R* y para los productos **13** y **15** *R,S*.

La caracterización de los compuestos **12–15**, se hizo empleando datos espectroscópicos, en IR se observaron señales, en 3400, 3391, 3314 y 3453 cm⁻¹ correspondientes a la banda de los grupos hidroxilo y en 3019, 3018, 3060 y 3020 cm⁻¹ para los hidrógenos vinílicos y para el enlace C=O, una señal intensa en 1710, 1714, 1713 y 1752 cm⁻¹ respectivamente.

En los espectros de RMN ¹H se observaron las señales características para **12–15**; los compuestos presentan un triplete para el protón vinílico en 4.75, 4.98, 3.99 y 5.09 ppm respectivamente, con una *J*= 12.1 Hz. El protón estereogénico proveniente de la perezona se observa como un multiplete en 3.09, 3.10, 3.01 y 3.00 ppm, respectivamente, que coincide con la señal observada en el espectro de perezona, lo cual confirma que se llevó a cabo la reacción. Para los compuestos **12**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

y **14**, los protones del metileno unido al OH aparecen en 3.89 y 3.88 ppm como un doble de doble de doble, ya que los protones son diasterotópicos, lo que causa que la señal se vea duplicada y para **13** y **15** se observó un doblete con $J = 8.4$ Hz en 1.63 y 1.60 ppm para los metilos unidos al centro estereogénico de la enaminona. El protón del centro estereogénico se observó como triplete o cuádruplete en 5.07, 5.07, 5.11 y 5.15 ppm con una $J = 7.26$ o 6 Hz.

8.1.3 Síntesis de indoloquinonas derivadas de naftoquinona **16–19**.

Para la síntesis de las indoloquinonas **16–19** se hicieron las primeras pruebas en microondas, empleando lawsona (**2**) y las enaminonas **8–11**. Se empleó irradiación por microondas como fuente de calentamiento y 400 rpm variando la temperatura (80, 100, 120 y 150°C) y el disolvente empleado (MeCN o MeOH) en intervalos de no más de 30 minutos en un tiempo total no mayor a 4 horas. En todos los casos se obtenía una mezcla compleja de productos y materia prima sin reaccionar, por lo que se decidió llevar a cabo las reacciones por el método convencional de acuerdo a la metodología propuesta por Sun y colaboradores,³⁴ utilizando MeCN como disolvente, Cu(OAc)₂ como catalizador y aire como fuente de oxígeno, al ver que no había formación de producto, se decidió utilizar una atmósfera de oxígeno, sin observarse cambio. Estos resultados se pueden explicar debido a que en la lawsona existe un grupo donador de electrones en el carbono 2, lo que desactiva el carbono 3 y redirige el ataque nucleofílico al carbono 5; sin embargo, al estar las posiciones 5 y 6 ocupadas la reacción no puede llevarse a cabo.³²

Debido a los resultados obtenidos con la lawsona, se decidió cambiar por 1,4-naftoquinona (**20**) (**Figura 16**), ya que esta molécula no tiene sustituyentes en el carbono 2 y puede reaccionar con las enaminonas para dar las mismas indoloquinonas **16–19** propuestas. Se procedió a llevar a cabo las reacciones y se observó la formación de los compuestos esperados en tiempos de reacción no mayores a 12 horas, los cuales fueron aislados y purificados por cromatografía en columna flash, obteniéndose los compuestos en rendimientos de 45.26, 80.01,

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

55.12 y 50.81% respectivamente. En la **Tabla 3** se presentan los tiempos de reacción, rendimientos, puntos de fusión y rotación óptica de las indoloquinonas **16–19**.

Tabla 3. Condiciones de reacción y propiedades fisicoquímicas de indoloquinonas **16–19**

Compuesto	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (%)	P.f. (°C)	$[\alpha]_D^{20}$ en MeOH
16	12	45.26	70-72	+134.62 (c. 0.104)
17	5	80.01	71-73	+233.01 (c. 0.103)
18	8	55.12	92-94	+133.33 (c. 0.075)
19	12	50.81	58-60	+316.19 (c. 0.105)

c. concentración de la muestra en g/100 mL

Recientemente se ha reportado que la ciclación de una quinona usando metales de transición es una nueva opción para la síntesis de indoloquinonas. Este último método es más eficiente para la síntesis de moléculas más complejas ya que tolera una mayor variedad de grupos funcionales.⁸ Aunque los metales más comúnmente usados son paladio y cobre, recientemente se han hecho trabajos con cerio, manganeso, oro y plata.

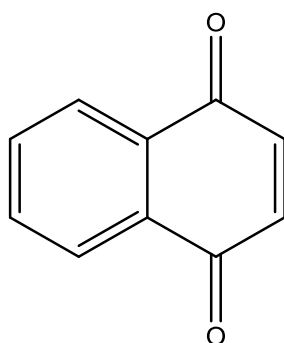


Figura 16. 1,4-Naftoquinona (**20**)

En cuanto a la actividad óptica de las moléculas, ésta no se ve afectada al llevarse a cabo la reacción, los cuatro productos presentan actividad y conservan el signo de las enaminonas de las cuales provienen. Al igual que con los 5-HI, el centro

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

estereogénico de las enaminonas no se ve involucrado en la síntesis de los productos finales, por lo que es de esperarse que las indoloquinonas conserven la configuración de las enaminonas de las cuales provienen.

Respecto al análisis espectroscópico, los espectros de IR presentaron para **16–19** una señal intensa en 1664, 1664, 1654 y 1654 cm^{-1} , respectivamente, para el carbonilo de la metilcetona, para **16** y **18** se observó una señal en 3393 cm^{-1} que corresponde al grupo hidroxilo.

En RMN ^1H la señal común para las cuatro indoloquinonas son el metilo unido al pirrol, la cual se observó como un singulete en 1.80, 1.72, 1.93 y 1.87 ppm, respectivamente. Para los compuestos **16** y **18** el metileno unido al hidroxilo se observó como un doble de doble en 3.93 ppm ($J = 12, 7.6$ Hz) y en 3.97 ppm ($J = 12, 7.2$ Hz) respectivamente y el protón del centro estereogénico se observó como un triplete dobleteado ($J = 7.6, 4.6$ Hz) en 4.81 (**16**) y ($J = 7.2, 4.6$ Hz) en 4.88 (**18**). Para **17** y **19** el metilo unido al centro estereogénico se observó en 1.70 y 1.68 ppm como un doblete con $J = 6.8$ Hz y el protón del centro estereogénico se observó como quintuplete con $J = 6.9$ Hz en 4.74 y 4.83, respectivamente.

8.2 Evaluación biológica

8.2.1 Actividad citotóxica

Las determinaciones de la actividad citotóxica se realizaron en las líneas celulares humanas de PC-3 (próstata), HCT-15 (colon), MCF-7 (mama), U-251 (glía del SNC) y SKLU-1 (pulmón) a una concentración de 50 μM , excepto para los compuestos **1**, **18** y **20** que se realizaron a 12.5 μM . A partir de 50% de inhibición se considera que la molécula es activa contra la línea celular. La **Tabla 4** muestra los porcentajes de inhibición del crecimiento por línea celular que presentaron los compuestos **1** y **12–**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

20. Los datos son el promedio de tres experimentos independientes más menos el error estándar de la media.

Tabla 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento por línea celular a una concentración de 50 μ M

Muestra	U-251	PC-3	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
1*	100	78.3 $\pm$ 11.1	30.4 $\pm$ 4.3	61.1 $\pm$ 4.9	96.72 $\pm$ 2.0
12	98.0 $\pm$ 1.9	95.9 $\pm$ 2.0	97.2 $\pm$ 2.7	90.3 $\pm$ 9.7	84.9 $\pm$ 8.6
13	100	70.14 $\pm$ 4.5	74.9 $\pm$ 2.8	78.9 $\pm$ 10.4	SA
14	100	87.24 $\pm$ 2.5	83.5 $\pm$ 1.7	68.5 $\pm$ 5.5	27.3 $\pm$ 1.8
15	100	70.7 $\pm$ 3.8	63.7 $\pm$ 3.3	49.2 $\pm$ 5.1	22.4 $\pm$ 1.0
16	100	89.7 $\pm$ 2.0	87.4 $\pm$ 1.2	73.9 $\pm$ 2.3	42.2 $\pm$ 4.0
17	100	89.6 $\pm$ 5.3	64.3 $\pm$ 3.3	89.0 $\pm$ 6.6	91.0 $\pm$ 4.7
18*	100	89.7 $\pm$ 5.5	32.3 $\pm$ 4.8	37.3 $\pm$ 1.2	86.5 $\pm$ 6.6
19	91.8 $\pm$ 2.2	88.7 $\pm$ 2.0	84.0 $\pm$ 1.3	58.0 $\pm$ 7.5	77.6 $\pm$ 4.6
20*	100	82.5 $\pm$ 10.0	8.9 $\pm$ 0.3	17.6 $\pm$ 2.9	98.8 $\pm$ 0.7

SA: Sin actividad; *Concentración evaluada: 12.5 μ M

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

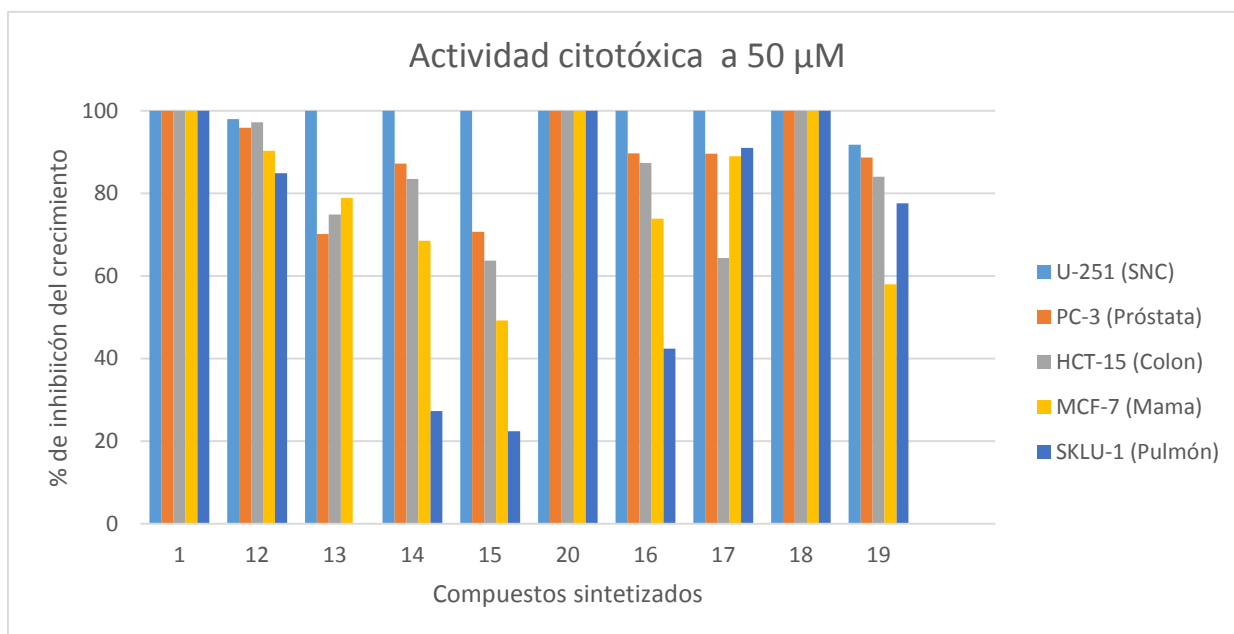


Figura 17. Actividad citotóxica de los compuestos 1 y 12–20

Todos los compuestos presentaron actividad citotóxica, siendo ésta mayor contra las líneas celulares de glioblastoma del SNC y próstata (**Figura 17**). Los derivados 5-HI poseen menor actividad citotóxica que la perezona, sin embargo el compuesto **12** presenta alta citotoxicidad en todas las líneas celulares. Con respecto a los derivados indoloquinonas, los resultados obtenidos muestran que la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados es menor que la de naftoquinona, con excepción del compuesto **18**, el cual posee una actividad citotóxica superior a la mostrada por la naftoquinona en las líneas celulares de SNC, próstata, colon y mama (**Figura 18**). De acuerdo a lo anterior, es recomendable continuar las pruebas para calcular la CI_{50} , en especial para los compuestos **12** y **18** en las líneas celulares de SNC, próstata y pulmón; así como también la toxicidad de los compuestos en células sanas para determinar la selectividad de los mismos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

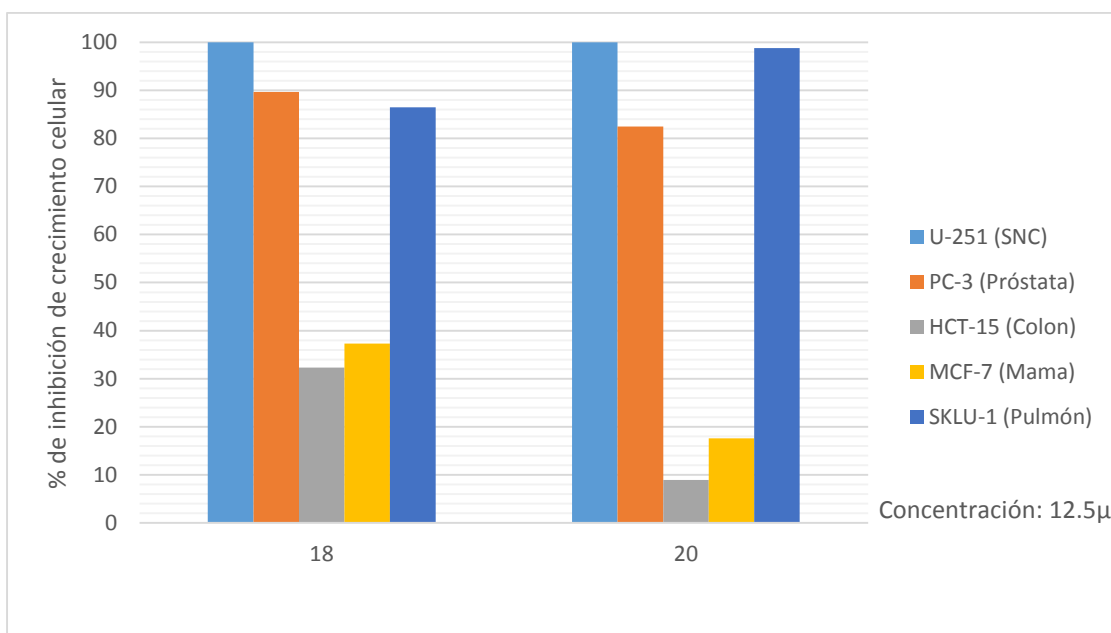


Figura 18. Actividad citotóxica de **18** y **20** a 12.5 μM

8.2.2 Actividad antioxidante

8.2.2.1 Actividad atrapadora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Las determinaciones se realizaron para los compuestos sintetizados, así como para perezona y naftoquinona a concentraciones de 1, 10 y 100 μM

El DPPH es un radical libre estable que puede aceptar un electrón para convertirse en una molécula estable. La solución etanólica de DPPH muestra una banda de absorción alrededor de 515 nm. El radical DPPH reacciona con un agente reductor, produciendo un nuevo enlace y cambiando el color de la solución. La solución va perdiendo color conforme incrementa la concentración del antioxidante y la reducción de los radicales DPPH puede ser monitoreada espectrofotométricamente por la disminución de la absorbancia a 515 nm.⁴⁹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5. Porcentaje de reducción de los compuestos **1** y **12-20**

Compuesto	% de reducción a diferentes concentraciones		
	1 μM	10 μM	100 μM
1	0.66	4.29	17.53
12	0.51	7.55	25.12
13	1.49	6.42	22.60
14	1.75	12.48	60.04
15	2.26	21.47	67.49
16	0	0	1.13
17	0	1.43	1.44
18	0	0.41	6.63
19	0	0	3.24
20	0.20	0.36	3.47
α-Tocoferol	11.74	32.08	87.41

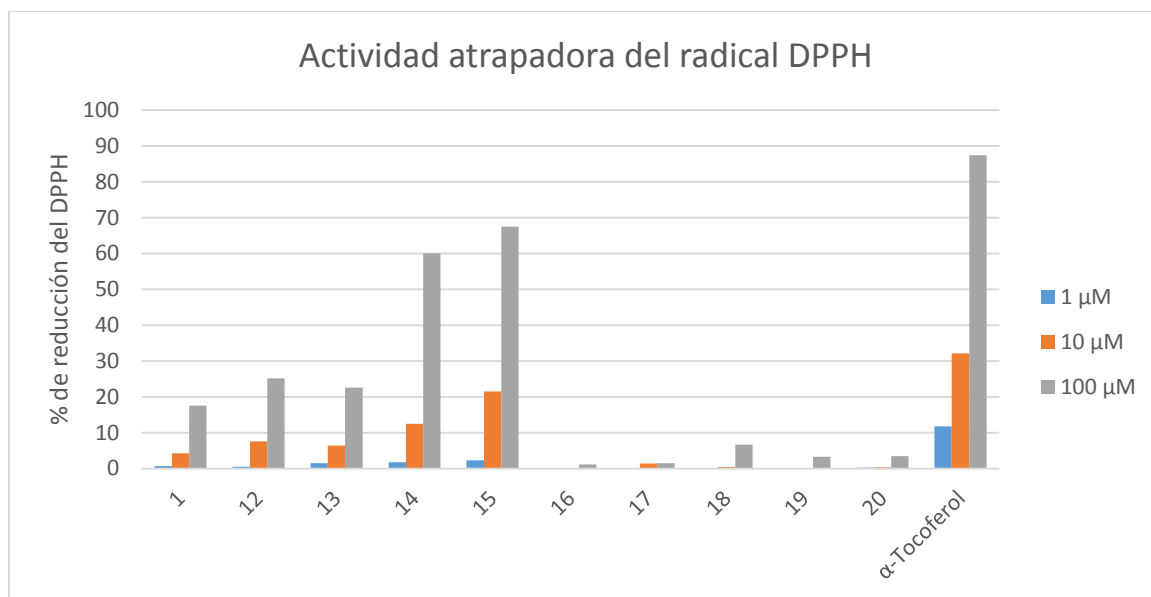


Figura 19. Actividad atrapadora del radical DPPH de los compuestos **1** y **12-20**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos no mostraron actividad atrapadora a bajas concentraciones por el método de DPPH. Aunque algunos de ellos (**14–15**) presentaron actividad a una concentración de 100 μM , ésta es menor al 70%, por lo que no se consideran activos por este método. El α -tocoferol es una sustancia conocida por su actividad antioxidante, y es usada como control positivo en muchos ensayos *in vitro*. A pesar de que presenta buena actividad atrapadora de radicales a 100 μM , su actividad es baja a concentraciones menores, al igual que ocurre con los compuestos sintetizados.

8.2.2.2 Inhibición de la peroxidación de lípidos cuantificada por la producción de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbiturico (TBARS)

Las determinaciones se realizaron para los compuestos sintetizados, así como para perezona y naftoquinona a concentraciones de 10 y 100 μM . Los resultados obtenidos se compararon con los de quercetina y α -tocoferol, sustancias altamente antioxidantes comúnmente usadas como referencia.

Los lípidos tales como los ésteres de ácidos grasos poliinsaturados y el colesterol son blancos de radicales libres. Se ha demostrado que la peroxidación lipídica altera las membranas biológicas y genera productos potencialmente tóxicos. En especial los productos secundarios de la peroxidación lipídica modifican moléculas esenciales, tales como proteínas y ADN, lo que resulta eventualmente en diversas enfermedades; de hecho varios estudios han demostrado la asociación entre los niveles de radicales libres producidos por la peroxidación y el progreso de algunas enfermedades. Debido a esto, es importante que los antioxidantes detengan la peroxidación lipídica.⁵⁰

El α -tocoferol (vitamina E) (**Figura 20**) es un eficiente antioxidante lipídico que funciona como un “rompedor de cadenas” durante la peroxidación lipídica en

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

membranas celulares. Actúa interceptando radicales lípidoperoxilos y deteniendo la cadena de reacciones de peroxidación de lípidos. El radical que resulta, es relativamente estable y no es lo suficientemente reactivo para iniciar la peroxidación por sí mismo.⁴⁹

La quercetina (**Figura 21**) es un flavonol conocido por proteger al ADN del daño oxidativo resultante del ataque de óxidos y peróxidos a los oligonucleótidos; sin embargo también existen reportes de potenciar el daño de las ROS en presencia de altas concentraciones de algunos metales.⁴⁹

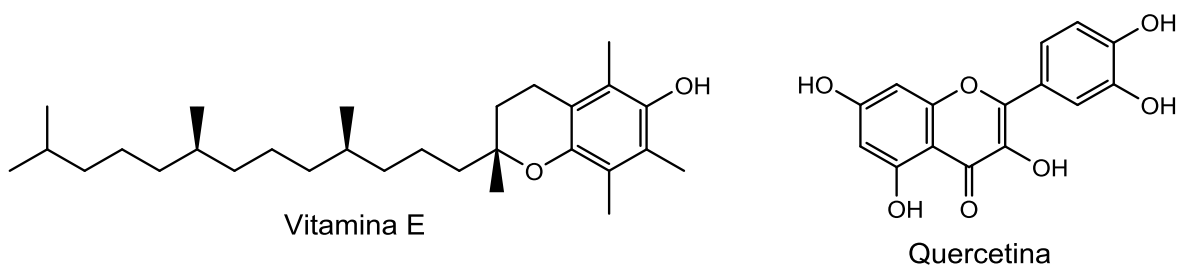


Figura 20. Vitamina E y quercetina

Por este método, todas las muestras presentan muy buena actividad a 10 y 100 μM (excepto **15** a 10 μM) (**Figura 21**) superior a la del tocoferol y comparable a la de la quercetina. Esto concuerda con los resultados esperados, pues los compuestos sintetizados tienen grupos hidroxilo, o una quinona o ambos, los cuales se sabe que contribuyen fuertemente a la actividad antioxidante de las moléculas que los contienen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

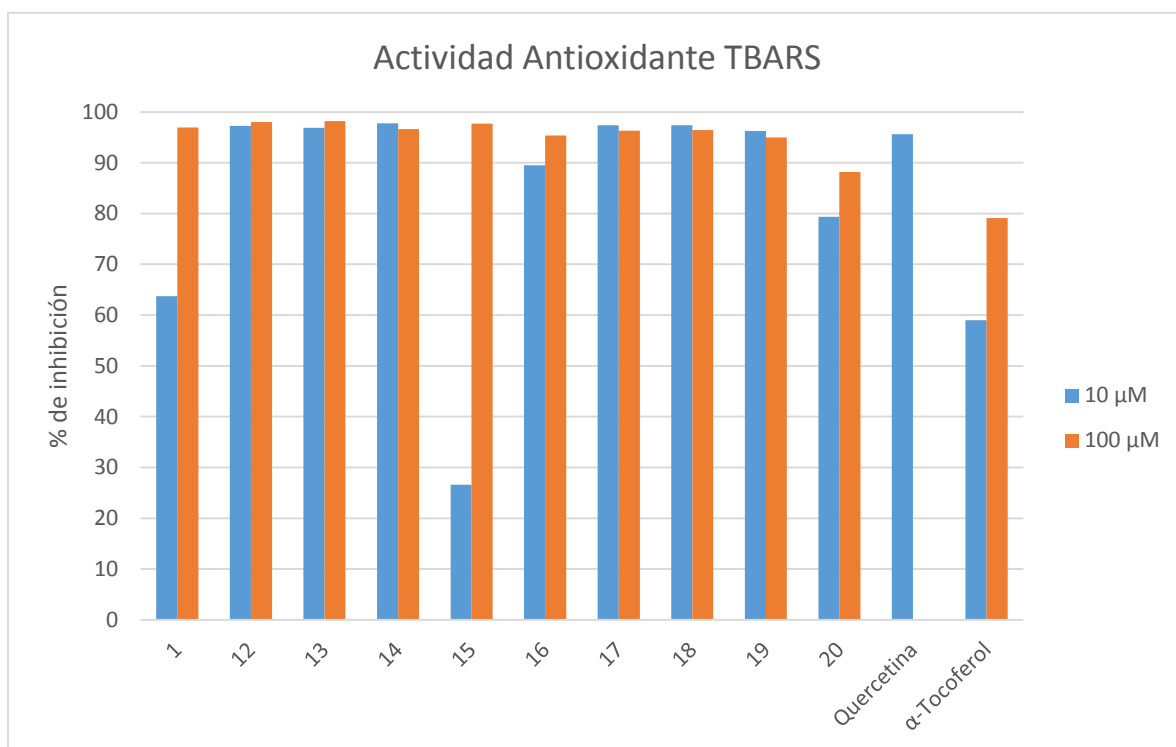


Figura 21. Actividad antioxidante de los compuestos **1** y **12– 20** por el método de TBARS

Aunque los modelos presentan resultados contradictorios, es importante aclarar que el modelo de DPPH se basa en el atrapamiento de un radical que no existe fisiológicamente; sin embargo en el modelo de TBARS se evalúa la capacidad de la molécula de interrumpir el proceso de lipoperoxidación que sí se lleva a cabo en el cuerpo humano, por lo que de acuerdo a esto, podemos considerar que los compuestos sintetizados presentan actividad antioxidante.

9. CONCLUSIONES

Los 5-hidroxiindoles e indoloquinonas **12–19** fueron sintetizados por una reacción tipo Nenitzescu por el método convencional, con rendimientos bajos los primeros y rendimientos de moderados a buenos los últimos; la síntesis con irradiación por microondas no permite la obtención de los compuestos heterocíclicos. Estos compuestos se sintetizaron a partir de cuatro enaminonas quirales obtenidas con rendimientos de moderados a buenos por medio de síntesis asistida por microondas, observando una reducción en los tiempos de reacción y un aumento en los rendimientos en comparación con la síntesis convencional.

Los derivados 5-hidroxiindólicos presentan menor actividad citotóxica que perezona, pero el compuesto **12** tiene elevada citotoxicidad para todas las líneas celulares. Las indoloquinonas poseen menor actividad citotóxica que naftoquinona, excepto el compuesto **18** para las líneas celulares de SNC y próstata.

Los compuestos **12–19** no presentan actividad atrapadora del radical DPPH, pero si actividad antioxidante por el modelo de TBARS, superior a la de α -tocoferol, por lo que podrían ser útiles para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas.

Tomando en cuenta que el compuesto **18** es el que presenta mayor actividad citotóxica y actividad antioxidante superior a la de α -tocoferol, puede considerarse como una molécula líder para el diseño de análogos con gran actividad antioxidante; sin embargo, son necesarios más estudios para determinar la selectividad de la toxicidad de los compuestos, y así, su potencial como agentes contra el cáncer.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

10. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

10.1 Equipos y reactivos empleados

Los reactivos y disolventes fueron adquiridos de Sigma-Aldrich y J.T. Baker. Para la síntesis asistida por microondas, se empleó el equipo Anton Paar Monowave 300 (Microwave Synthesis Reactor) y viales de reacción de borosilicato con capacidad de 30 y 10 mL con barras magnéticas agitadoras, sellados con tapas de cierre de silicona recubiertas con teflón. Los compuestos se caracterizaron mediante rotación óptica, punto de fusión, espectroscopia UV, IR, y RMN (^1H y ^{13}C) y espectrometría de masas.

Los puntos de fusión se determinaron en el equipo Fisher Johns Melting point apparatus y no están corregidos. La rotación óptica se determinó en un Polarímetro Automático Digital P3002RS Marca Krüss y en un polarímetro Anton Paar MCP 200, con celdas de un decímetro de longitud. La rotación óptica específica fue obtenida directamente por el equipo. Los espectros de ultravioleta se realizaron en el espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer Modelo Lambda 35, con las soluciones empleadas para determinar las rotaciones ópticas; los datos se reportan en nm.

Para los espectros de Infrarrojo se empleó un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo Spectrum RXI, la frecuencia de las señales se reporta en cm^{-1} . El equipo MStation se empleó para obtener los espectros de masa. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se obtuvieron en el equipo Varian a 600 MHz, empleando TMS como referencia interna y CDCl_3 como disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm y las constantes de acoplamiento en Hz.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

10.2 Síntesis de enaminonas

10.2.1 Procedimiento general para la síntesis convencional de las enaminonas quirales 8 y 9

En un matraz de bola se colocaron cantidades equimolares del compuesto β -dicarbonílico **4** y la amina quiral correspondiente (**6–7**) disueltos en 20 mL de DCM o MeOH. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación constante a TA durante 72-144 h. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina (CCF) (Hexano: AcOEt 70:30). Al finalizar la reacción, se evaporó el disolvente a sequedad.

10.2.2 Procedimiento general para la síntesis convencional de las enaminonas quirales 10 y 11

En un matraz de bola se colocaron cantidades equimolares del compuesto β -dicarbonílico **5** y la amina quiral correspondiente (**6–7**) disueltos en MeOH y con TsOH 10% mol como catalizador. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación constante y a reflujo durante 19.5-35 h. El avance de la reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina (Hexano:AcOEt 70:30). Al finalizar la reacción, se evaporó el disolvente a sequedad.

10.2.3 Procedimiento general para la síntesis asistida por microondas de las enaminonas quirales 8 y 9

En un tubo de borosilicato de 30 mL se colocaron cantidades equimolares del compuesto β -dicarbonílico (**4–5**) y la amina quiral correspondiente (**6–7**) disueltos en 15 mL de MeOH. Para los compuestos **10–11** se usó TsOH 10% mol como catalizador. La mezcla de reacción se sometió a irradiación por microondas como fuente de calentamiento a 80 °C y 400 rpm por 1.5 h para **8–9** y 4 h para **10–11** en intervalos de 30 min. Terminada la reacción se enfrió a 55°C mediante aire

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

comprimido. La formación de productos se monitoreó por CCF (Hexano:AcOEt 70:30). Al finalizar la reacción, se evaporó el disolvente a sequedad.

10.2.4 Procedimiento general para la síntesis de 5-hidroxiindoles 12–15

En un matraz redondo se colocaron cantidades equimolares de perezona (**1**) y la enaminona correspondiente (**8–11**); disueltos en MeCN y empleando un 20% mol de Cu(OAc)₂ como catalizador. La mezcla de reacción se dejó en agitación y calentamiento a reflujo de 26 a 48 horas. La reacción se monitoreó por CCF (Hexano:AcOEt 50:50). Al finalizar la reacción, se suspendió en agua salada y se extrajo con acetato de etilo, el compuesto se purificó por cromatografía en columna flash empleando gel de sílice como fase estacionaria.

10.2.5 Procedimiento general para la síntesis de indoloquinonas 16–19

En un matraz redondo se colocaron cantidades equimolares de naftoquinona (**20**) y la enaminona correspondiente (**8–11**); La mezcla de reacción se dejó con agitación y calentamiento a reflujo de 5 a 12 horas. La reacción se monitoreó por CCF (Hexano:AcOEt 50:50). Al finalizar la reacción, se suspendió en agua salada y se extrajo con acetato de etilo, el compuesto se purificó por cromatografía en columna flash empleando gel de sílice como fase estacionaria.

(Z)-4-[(2-Hidroxi-1-feniletil)amino]pent-3-en-2-ona (8). Por el procedimiento 10.2.1 en DCM se obtuvo un sólido blanco (éter dietílico). 93.2%; **pf**: 124-125 °C; $[\alpha]_D^{25}$: +609.7 (c: 1.039 g/100 mL, EtOH); **UV** ($\lambda_{\max}$, nm) 306.01, 209.87; **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3423.08 (O-H), 3060.13 (C-H), 2963.25 (C-H), 1598.82 (C=O); **RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 11.43 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-N), 7.349-7.278 (m, 5H, H-Ar), 5.025 (s, 1H, C=CH), 4.713 (m, 1H, *CH), 3.87 (dd, J = 4.4 Hz, 1H, CH₂OH) y 3.82 (dd, J = 4.4 Hz, 1H, CH₂OH), 2.025 (s, 3H, CH₃-CO), 1.851 (s, 3H, CH₃-C=); **RMN ¹³C** (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 195.799, 163, 139.404, 129.110, 127.996, 126.667,

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

96.707, 67.428, 60.145, 28.921, 19.550. **EM** (IE, 70 eV): m/z (%): 219 (M⁺, 15), 188 (M-31, 100), 146 (M-73, 40.8), 84 (M-135, 42.2).

(Z)-4-[(1-Feniletil)amino]pent-3-en-2-ona (9). Siguiendo el procedimiento 10.2.3 se obtuvo un aceite amarillo. 96.38%; **Rf**: 0.48 (Hexano: AcOEt, 70:30) $[\alpha]_D^{25}$: +701.2 (c. 1.032 g/100 mL; EtOH); **UV** (λ max, nm): 217.94, 313.9; **IR** (NaCl, ν , cm⁻¹): 3423.1 (N-H), 3027.65 (C-H), 2970.59 (C-H), 2927.32 (C-H), 1577.62 (C=O), 1508.39 (C-N), **RMN** ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 11.237 (s, 1H, H-N), 7.329-7.252 (m, 5H, H-Ar), 4.983 (s, 1H, C=CH), 4.660 (m, J = 7 Hz, 1H, *CH), 2.037 (s, 3H, CH₃-CO), 1.781 (s, 3H, CH₃-C=), 1.535 (d, J = 6.6 Hz, 3H, *C-CH₃); **RMN** ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 195.533, 162.774, 144.476, 129.035, 127.388, 125.713, 95.996, 53.2659, 29.130, 24.967, 19.365. **EM** (IE, 70 eV): m/z (%): 203 (M⁺, 53), 188 (M-15, 15), 160 (M-43, 23), 105 (100).

(Z)-3-[(2-Hidroxi-1-feniletil)amino]-1-fenilbut-2-en-1-ona (10). Por el procedimiento 10.2.4 se obtuvo un sólido blanco (hexano). 77.31%; **Rf**: 0.29 (Hexano: AcOEt, 70:30) **pf**: 101-102 °C; $[\alpha]_D^{25}$: +430.1 (c: 1.060 g/100 mL, EtOH); **UV** (λ max, nm): 209.13, 243.47; **IR** (KBr, ν , cm⁻¹): 3399.85 (O-H), 3337.69 (N-H), 3063.42 (C-H), 2916.32 (C-H), 1592.83 (C=O), 1577.28 (N-H), 1525.66, 1326.15, 1284.54; **RMN** ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 12.026 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H-N), 7.868 (d, J = 6.6 Hz, 2H, H-Ar), 7.398-7.329 (m, 8H, -H-Ar), 5.723 (s, 1H, C=CH), 4.781-4.78 (td, J = 7.9, 4.5 Hz, 1H, *CH), 3.90 (dd, J = 4.5 Hz 1H, CH₂OH) 3.86 (dd, J = 4.5 Hz, 1H, CH₂OH), 1.955 (s, 3H, CH₃-C=); **RMN** ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 188.195, 165.481, 140.296, 139.360, 130.744, 129.038, 128.310, 127.941, 127.104, 126.718, 93.290, 67.196, 60.152, 20.049; **EM** (IE, 70 eV): m/z (%): 281 (M⁺, 15), 250 (M-31, 100), 167 (20), 105 (76), 77 (55);

(Z)-1-Fenil-3-[(1-feniletil) amino] but-2-en-1-ona (11). Por el procedimiento 10.2.4 se obtuvo un sólido blanco (hexano -Et₂O). 52.25%; **Rf**: 0.78 (Hexano: AcOEt, 70:30); **pf**: 80-81 °C; $[\alpha]_D^{25}$: + 579.3 (c: 1.095 g/100 mL, EtOH); **UV** (λ max, nm):

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

209.87, 306.01; **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3423.08 (N-H), 3060.13 (C-H), 3027.21 (C-H), 2924.94 (C-H), 1598.82 (C=O), 1584.66 (C-N), 1544.54, 1375.91, 1322.01, 1291.14, 1206.81; **RMN** ^1H (600MHz, CDCl_3) δ (ppm): 11.84(d, $J = 6.9$ Hz, 1H, H- N), 7.889(d, $J = 6.6$ Hz, 2H, H-Ar), 7.334 (m, 8H, H-Ar), 5.699(s, 1H, C=CH), 4.7536 (m, 1H, $^*\text{CH}$), 1.935(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}$), 1.62 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, $^*\text{C-CH}_3$); **RMN** ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 188.212, 164.623, 144.288, 140.488, 130.751, 129.110, 128.386, 127.500, 127.138, 125.812, 92.736, 53.597, 25.005, 20.008. **EM** (IE, 70 eV): m/z (%): 265 (M^+ , 100), 250 (M-15, 26), 160 (M-90, 84), 105 (M-55, 97), 77 (M-28, 62).

1-(5,6-Dihidroxi-1-(2-hidroxi-1-feniletíl-2,4-dimetil-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1H-indol-3-il)etan-1-ona) (12). Por el procedimiento 10.2.6 se obtuvo un aceite rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 35.09%; **Rf**: 0.61 (Hex:AcOEt 50:50); $[\alpha]_D^{25}$: +62.29 (c. 0.122 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3400 (O-H), 3019 (C-H), 2965 (C-H) 1710 (C=O); **RMN** ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.41-7.31 (m, 5H, H-Ar), 5.07 (t, $J = 7.26$ Hz, 1H, N- $^*\text{CH}$), 4.75 (t, $J = 12.1$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 3.89 (dd, $J = 11.3, 7.26$ Hz, 2H, CH_2OH), 3.09 (m, 1H, $^*\text{CH-CH}_3$); **RMN** ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 193.11, 184.48, 162.68, 151.08, 146.26, 139.50, 139.08, 138.67, 131.51, 129.11, 128.04, 126.55, 124.91, 124.33, 101.06, 67.36, 60.19, 34.36, 29.91, 28.16, 26.78, 25.73, 18.51, 17.67, 17.05, 13.18.

1-(5,6-Dihidroxi-2,4-dimetil-7-(6-metilhept-5-en-2-il-1-(1-feniletíl)-1H-indol-3-il)etan-1-ona (13). Por el procedimiento 10.2.6 se obtuvo un aceite rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 44.5%; **Rf**: 0.68 (Hex:AcOEt 50:50) $[\alpha]_D^{25}$: +258.27 (c: 0.127 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3391 (O-H), 3018 (C-H), 2966 (C-H) 1714 (C=O); **RMN** ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.35-7.23 (m, 5H, HAr), 5.07 (t, $J = 6$ Hz 1H, N- $^*\text{CH}$), 4.98 (t, $J = 12.1$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 3.10 (m, 1H, $^*\text{CH-CH}_3$), 1.63 (d, $J = 8.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-}^*\text{C}$); **RMN** ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 195.63, 192.98, 162.90, 162.19, 144.57, 129.38 – 129.07, 127.63, 127.49, 125.77, 96.10, 53.94, 53.38, 34.64, 30.17, 29.21, 27.03, 25.98, 25.11, 19.47, 18.78, 18.57, 17.91, 17.19, 13.38.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

(5,6-Dihidroxi-1-(2-hidroxi-1-feniletil)-2,4-dimetil-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1H-indol-3-il)(fenil)metanona (14). Por el procedimiento 10.2.6 se obtuvo un sólido morado por purificación con cromatografía en columna flash. 23.13%; **Rf**: 0.54 (Hex:AcOEt 50:50) **pf**: 68-70°C; $[\alpha]_D^{25}$: +361.29 (c. 0.062 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3314 (O-H), 3060 (C-H), 2956 (C-H) 1713 (C=O). **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.41-7.16 (m, 10H, H-Ar), 5.11 (t, $J = 6$ Hz, 1H, N- $^*\text{CH}$), 3.99 (t, $J = 12.1$ Hz, 1H, CH=C), 3.88 (dd, $J = 11.3, 6$ Hz, 2H- CH_2OH), 3.01 (m, 1H, $^*\text{CH-CH}_3$); **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 183.46, 180.84, 154.13, 145.90, 140.00, 131.61, 129.47, 128.45, 126.40, 124.88, 118.62, 103.31, 67.53, 59.69, 34.52, 29.76, 26.98, 26.00, 18.62, 17.94, 9.99, 0.28.

(5,6-Dihidroxi-2,4-dimetil-7-(6-metilhept-5-en-2-il)-1-(1-feniletil)-1H-indol-3-il)(fenil) metanona (15). Por el procedimiento 10.2.6 se obtuvo un sólido morado por purificación con cromatografía en columna flash. 21.20%; **Rf**: 0.76 (Hex:AcOEt 50:50); **pf**: 116-118°C $[\alpha]_D^{25}$: +334.61 (c: 0.104 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3453 (O-H), 3020 (C-H), 2964 (C-H) 1752 (C=O). **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.89-6.71 (m, 10H, H-Ar), 5.15 (t, $J = 6$ Hz, 1H, N- $^*\text{CH}$), 5.09 (t, $J = 12.1$ Hz, 1H-CH=C), 3.00 (m, 1H- $^*\text{CH-CH}_3$), 1.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 3H, CH_3 - $^*\text{C}$); **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 188.47, 183.62, 180.78 (s), 164.87 (s), 154.52 (s), 145.65 (s), 144.57 (d, $J = 6.0$ Hz), 140.74, 131.76, 131.00, 129.43, 128.64, 128.04, 127.75, 127.39, 126.07, 125.65, 125.07, 118.48, 102.65, 92.99, 54.07, 53.86, 34.68, 29.91, 27.14, 26.17, 25.74, 25.26, 20.26, 18.81, 18.10, 10.23, 0.46.

3-Acetil-1-(2-hidroxi-1-feniletil)-2-metil-1H-benzo[f]indolo-4,9-diona (16). Por el procedimiento 10.2.8 se obtuvo un sólido rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 45.26%; **Rf**: 0.18 (Hex:AcOEt 60:40); **pf**: 70-72°C; $[\alpha]_D^{25}$: +134.62 (c: 0.104 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3393 (O-H), 3031 (C-H), 2928 (C-H), 1664 (C=O); **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.13-7.29 (m, 9H, H-Ar), 4.81 (td, $J = 7.6, 4.6$ Hz, 1H, N- $^*\text{CH}$), 3.93 (dd, $J = 12, 7.6$ Hz, 2H, CH_2OH), 2.03 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 1.80 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C=}$); **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 195.71, 193.43, 185.37, 163.71, 149.75, 139.30, 138.66, 133.86, 132.33, 129.09,

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

128.05, 127.12, 126.57, 126.08, 102.25, 96.59, 67.21, 60.34, 28.65, 19.35, 17.78, 0.07.

3-Acetil-2-metil-1-(-1-feniletil)-1*H*-benzo[*f*]indolo-4,9-diona (17). Por el procedimiento 10.2.8 se obtuvo un sólido rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 80.01%; **Rf**: 0.25 (Hex:AcOEt 60:40); **pf**: 71-73°C; $[\alpha]_D^{25}$: +233.01 (*c*: 0.103 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3030 (C-H), 2970 (C-H), 1664 (C=O); **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.11-7.29 (m, 9H, H-Ar), 4.74 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, N- $^*\text{CH}$), 2.03 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-CO}$), 1.72 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C=}$), 1.70 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, $^*\text{CH-CH}_3$); **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 193.00, 185.42, 162.72, 149.90, 143.62, 139.12, 133.76, 132.30, 128.96, 127.38, 127.05, 126.00, 125.51, 101.68, 53.71, 28.71, 24.77, 17.55, 0.03.

3-Benzoil-1-(2-hidroxi-1-feniletil)-2-metil-1*H*-benzo[*f*]indolo-4,9-diona (18). Se obtuvo un sólido rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 55.12%; **Rf**: 0.38 (Hex:AcOEt 60:40); **pf**: 92-94°C; $[\alpha]_D^{25}$: +133.33 (*c*: 0.075 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3393 (O-H), 3027 (C-H), 2970 (C-H), 1654 (C=O); **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.0-7.16 (m, 14H, H-Ar), 4.88 (td, $J = 7.2, 4.6$ Hz, $J = 1$ Hz, N- $^*\text{CH}$), 3.97 (dd, $J = 12, 7.2$ Hz, 2H, CH_2OH), 1.93 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C=}$). **RMN ^{13}C** (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 192.93, 186.25, 185.40, 166.61, 150.64, 142.99, 139.32, 138.83, 134.13, 132.75, 132.55, 129.73, 128.73, 128.46, 127.64, 127.38, 127.19, 126.41, 102.74, 67.64, 66.37, 61.08, 18.82, 15.78.

3-Benzoil-2-metil-1-(-1-feniletil)-1*H*-benzo[*f*]indolo-4,9-diona (19). Por el procedimiento 10.2.8 se obtuvo un sólido rojo oscuro por purificación con cromatografía en columna flash. 50.81%; **Rf**: 0.33 (Hex:AcOEt 60:40); **pf**: 58-60°C; $[\alpha]_D^{25}$: +316.19 (*c*: 0.105 g/100 mL, MeOH); **IR** (KBr, ν , cm^{-1}): 3025 (C-H), 2966 (C-H), 1654 (C=O); **RMN ^1H** (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.98-7.14 (m, 14H, H-Ar), 4.83

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

(q, $J=6.9$ Hz, 1H, N- *CH), 1.87 (s, 3H, $CH_3-C=$), 1.68 (d, $J= 6.9$ Hz, 3H, $^*CH-CH_3$);
RMN ^{13}C (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 192.19, 185.68, 184.90, 165.16, 150.31, 143.28, 142.68, 138.66, 133.54, 132.30, 132.04, 129.11, 127.91, 127.60, 127.09, 126.83, 125.85, 125.68, 101.72, 54.18, 24.83, 18.13.

10.3 Evaluación de la actividad biológica

10.3.1 Actividad citotóxica

Para la determinación de la actividad citotóxica de los compuestos **5-14**, se utilizó el método colorimétrico con Sulforrodamina B (SRB) frente a cinco líneas celulares de tumores humanos de cáncer de mama (MCF-7), cáncer de pulmón (SKLU-1), glioblastoma (U251), cáncer de colon (HCT-15) y cáncer de próstata (PC-3). Cada una de las líneas celulares fue cultivada en el medio RPMI-1640, suplementado con suero fetal bovino al 10%, 2 μM de L-glutamina, 100 IU/mL de penicilina G, 100 $\mu g/mL$ de sulfato de estreptomicina y 0.25 $\mu g/mL$ de anfotericina B, conservados a una temperatura de 37 °C, en un ambiente húmedo con 95 % de aire y 5 % de CO_2 .

En cada placa de 96 pozos, se depositaron las líneas celulares por triplicado en un volumen de 100 μL /pozo en una densidad de inóculo específica para cada línea. Se incubaron por 24 h a 37°C en una atmósfera de 5% de CO_2 para favorecer la adhesión de las células al fondo de la placa. Los compuestos se solubilizaron en dimetil sulfóxido (DMSO), a concentración de 20 mM, se tomó una alícuota de la solución stock y se diluyó en medio de cultivo suplementado. Se agregaron 100 μL de la solución con el compuesto a probar quedando la concentración final en 12.5 o 50 μM . Posteriormente la microplaca fue incubada por 48 h bajo las condiciones antes mencionadas. Al finalizar el periodo de incubación, las células se fijaron *in situ* añadiendo 50 μL de una solución de ácido tricloroacético frío al 50% e incubadas a 4°C por 60 min. Se desechó el sobrenadante y las placas fueron lavadas 5 veces con agua y secadas al ambiente. El teñido de las células fijadas al sustrato del pozo se efectuó añadiendo 100 μL de una solución al 0.4% de SRB y fueron incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente. La SRB no unida es removida con lavados de ácido acético al 1% y se dejan secar al ambiente. A las placas teñidas y secas

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

se les añadieron 100µL de un buffer de tris y se agitan por 10 minutos para favorecer la disolución del complejo. Se midió la densidad óptica (DO) en un lector de microplacas a una longitud de onda de 515 nm. Los datos se procesan empleando el promedio de la DO de los 3 pozos/línea celular tratada con el compuesto (DOt), los 3 pozos tratados con DMSO (DOc) y 3 pozos de testigos, es decir aquellos que no tiene células pero si compuesto (DOb). El porcentaje de inhibición del crecimiento (%IC) se calcula con la siguiente expresión:

$$\%IC = 100 - (DOt - DOb / DOc - DOb) * 100$$

10.3.2. Actividad antioxidante

10.3.2.1 Actividad atrapadora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Mediante una técnica espectrofotométrica se mide de manera indirecta la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Se toman por triplicado 50 µL de la solución de la muestra a 1, 10 y 100 µM y se depositan en una microplaca de 96 pozos, posteriormente se agregan 150 µL de una solución etanólica de DPPH 133.33 µM (concentración final de 100 µL). La mezcla se protege de la luz y se agita durante 30 minutos a 37°C y al término del tiempo se registra la densidad óptica a 515 nm en un lector de microplacas Biotek ELx808. La actividad sobre el DPPH se expresa como porcentaje de reducción y se calcula con la fórmula: % de reducción = (C-E/C)*100; donde C= densidad óptica de DPPH 100 µM y E= Densidad óptica de la mezcla de DPPH + muestra

10.3.2.2 Inducción de peroxidación lipídica y cuantificación de Sustancias Reactivas de Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Como índice de peroxidación lipídica, se midieron los niveles de TBARS empleando homogenizado de cerebro de rata. Al sobrenadante (375 µL) se le agregaron 50 µL

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

de EDTA (20 μ M) y 50 μ L de cada concentración de la muestra disuelta en DMSO y se incubó por 30 minutos a 37°C. La peroxidación lipídica se inició añadiendo 50 μ L de solución 100 μ M de FeSO₄ recientemente preparado incubando 1 h a 37°C. Para determinar el nivel de TBARS se agregaron 500 μ L de reactivo de TBA (ácido tiobarbitúrico en NaOH 0.05 N al 1%: ácido tricloroacético al 30%; 1:1) a cada tubo. La suspensión final se enfrió en hielo durante 10 minutos, centrifugado a 12000 rpm por 5 minutos y calentado a 80°C en baño de agua por 30 minutos. Tras dejar enfriar a temperatura ambiente, se midió la absorbancia de 200 μ L de sobrenadante a $\lambda=540$ nm en un lector de microplacas Bio-Tek ELx808. La concentración de TBARS se calculó por interpolación en una curva estándar previamente realizada. Los resultados se expresan en nmoles de TBARS por mg de proteína. El % de inhibición se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula: $\%I = (C-E)*100/C$, donde C es la absorbancia control y E es la absorbancia de la muestra.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arome, D. Amarachi, A. A review on herbal plants with anti-tumour properties. *J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* **2014**, 2(2), 43-58.
2. Schlaepfer, L. Mendoza-Espinosa, J.A. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* **2010**, 41(4), 18-27.
3. Sánchez-Torres, L. Torres-Martínez, J. Godínez-Victoria, M. Omar, J. Velasco Bejarano, B. Perezzone and its isomer isoperezzone induce caspase-dependent and caspase-independent cell death. *Phytomedicine* **2010**, 17, 614-620.
4. Lozada, M. Soria-Arteche, O. Ramírez, M. Nieto-Camacho, A. Enríquez, R. Izquierdo, T. Jiménez-Corona, A. Synthesis, cytotoxic and antioxidant evaluations of amino derivatives from perezzone. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 5077- 5084.
5. Badoni Semwal, R. Semwal, D. Combrinck, S. Cartwright-Jones, C. Viljoen, A. *Lawsonia inermis* L. (henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *J. Ethnopharmacol.* **2014**, 155, 80-103.
6. Kathawate, L. Joshi, P. Dash, T. Pal, S. Nikalje, M. Weyhermüller, T. Puranik, V. Konkimalla, B. Salunke-Gawali, S. Reaction between lawsone and amino phenol derivatives: Synthesis characterization, molecular structures and antiproliferative activity. *J. Mol. Struct.* **2014**, 1075, 397-405.
7. Subba Reddy, B. Sivaramakrishna Reddy, P. Jayasudhan Reddy, Y. Bhaskar, N. Obula Reddy, B. Montmorillonite clay catalyzed three component, one-pot synthesis of 5-hydroxyindole derivatives. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, 34(10), 2968-2972.
8. Luu, Q. Mito, S. Preparation of indolequinones and their applications in organic synthesis. *Tetrahedron.* **2015**, 71, 895-916.
9. <http://www.who.int/topics/cancer/en/> Consultado el **07JUL15**, 17:46 h.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

10. <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types> Consultado el **07JUL15**, 18:03.
11. Huang, D. Ou, B. Prior, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53(6), 1841-1856.
12. Frei, B. Natural Antioxidants in Human Health and Disease. EUA, Academic Press, **1994**, 1^a ed., 593 p.
13. Jing, MC. Chuang, CP. Manganese (III) Acetate Initiated Oxidative Free Radical Reactions between 2-Amino-1,4-naphthoquinones and β -Dicarbonyl Compounds. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5409-5412.
14. Chansukh, K. Charoensup, R. Palanuvej, C. Ruangrunsi, N. Antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants bearing quinonoids. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **2014**, 5(2), 425-432.
15. Abad, M. Bermejo, P. Biological Activity of Quinones. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2005**, 30,303-366.
16. Oramas-Royo, S. Torrejón, C. Cuadrado, I. Hernández-Molina, R. Hortelano, S. Estévez-Braun, A. De las Heras, B. Synthesis and Cytotoxic Activity of Metallic Complexes of Lawsone. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 2471-2477.
17. Lozada, M., Enríquez, R. Perezona: La historia aún no termina. En: Leopoldo Río de la Loza y su tiempo. La construcción de la Ciencia Nacional. UAM, **2005**, 1^a ed., México.
18. Burgueño-Tapia, E. Castillo, L. González-Coloma, A. Joseph-Natan, P. Antifeedant and Phytotoxic Activity of the Sesquiterpene *p*-Benzoquinone Perezona and some of its Derivatives. *J. Chem. Ecol.* **2008**, 34, 766-771
19. Arellano, J. Vázquez, F. Villegas, T. Hernández, G. Establishment of transformed root cultures of *Perezia cuernavacana* producing the sesquiterpene quinone perezona. *Plant cell Rep.* **1996**, 15, 455-458.
20. Alarcón-Aguilar, FJ. Roman-Ramos, R. Jiménez-Estrada, M. Reyes-Chilpa, R. González-Paredes, B. Flores-Saenz, JL. Effects of three Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J. Ethnopharmacol.* **1997**, 55, 171-177.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

21. De la Peña, A. Izaguirre, R. Baños, G. Viveros, M. Enríquez, RG. Fernández, JM. Effect of perezone, aminoperezone and their corresponding isomers isoperezone and isoaminoperezone upon *in vitro* platelet aggregation. *Phytomedicine*. **2001**, 8, 465-468
22. Chávez, E. El estrés oxidativo en miocardio. Una visión experimental. *Arch. Cardiol. Méx.* **2004**, 7, S271-S274.
23. Rahmoun, N. Boucherit-Otmani, Z. Boucherit, K. Benabdallah, M. Villemin, D. Chouckchou-Braham, N. Antibacterial and antifungal activity of lawsone and novel naphthoquinone derivatives. *Médecine et Maladies Infectieuses*. **2012**, 42, 270-275.
24. Jali, B.R. Kuang, Y. Neamati, N. Barruah, J.B. Selective binding of naphthoquinone derivatives to serum albumin proteins and their effect on cytotoxicity. *Chem-Biol. Interact.* **2014**, 214, 10-17.
25. López, L. Nery, S. Silva, S. Sáenz, A. Naphthoquinones: Biological properties and synthesis of lawsone and derivatives –a structured review. *Vitae*. **2014**, 21(3), 248-258.
26. Cunha, A. Lima, E., Pinto, A. Esteves-Souza, A. Echevarria, A. Camara, C. Vargas, M. Torres, J. Synthesis of novel naphthoquinone-spermidine conjugates and their effects on DNA-Topoisomerases I and II- α . *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, 17(3), 439-442.
27. Sauriasari, R. Wang, D. Takemura, Y. Tsutsuik, K. Masuoka, N. Sano, K. Horita, M. Wang, B. Ogino, K. Cytotoxicity of lawsone and cytoprotective activity of antioxidants in catalase mutant *Escherichia coli*. *Toxicology* **2007**, 235, 103-111.
28. Biradar, S. Veeresh, B. Ameliorating effect of lawsone and alpha-pinene on L-arginine induced acute pancreatitis in rats. *Int. J. Pharm Pharm, Sci.* **2013**, 5, 590-594
29. Vinothkumar, S. Murali, K. Gupta, J. Antioxidant effect of synthetic hydroxy naphthoquinone derivatives. **2010**, 3(11), 2784-2787.
30. Patrick, J. Saunders, E. Studies on the Nenitzescu synthesis of 5-hydroxyindoles. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 4009-4012.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

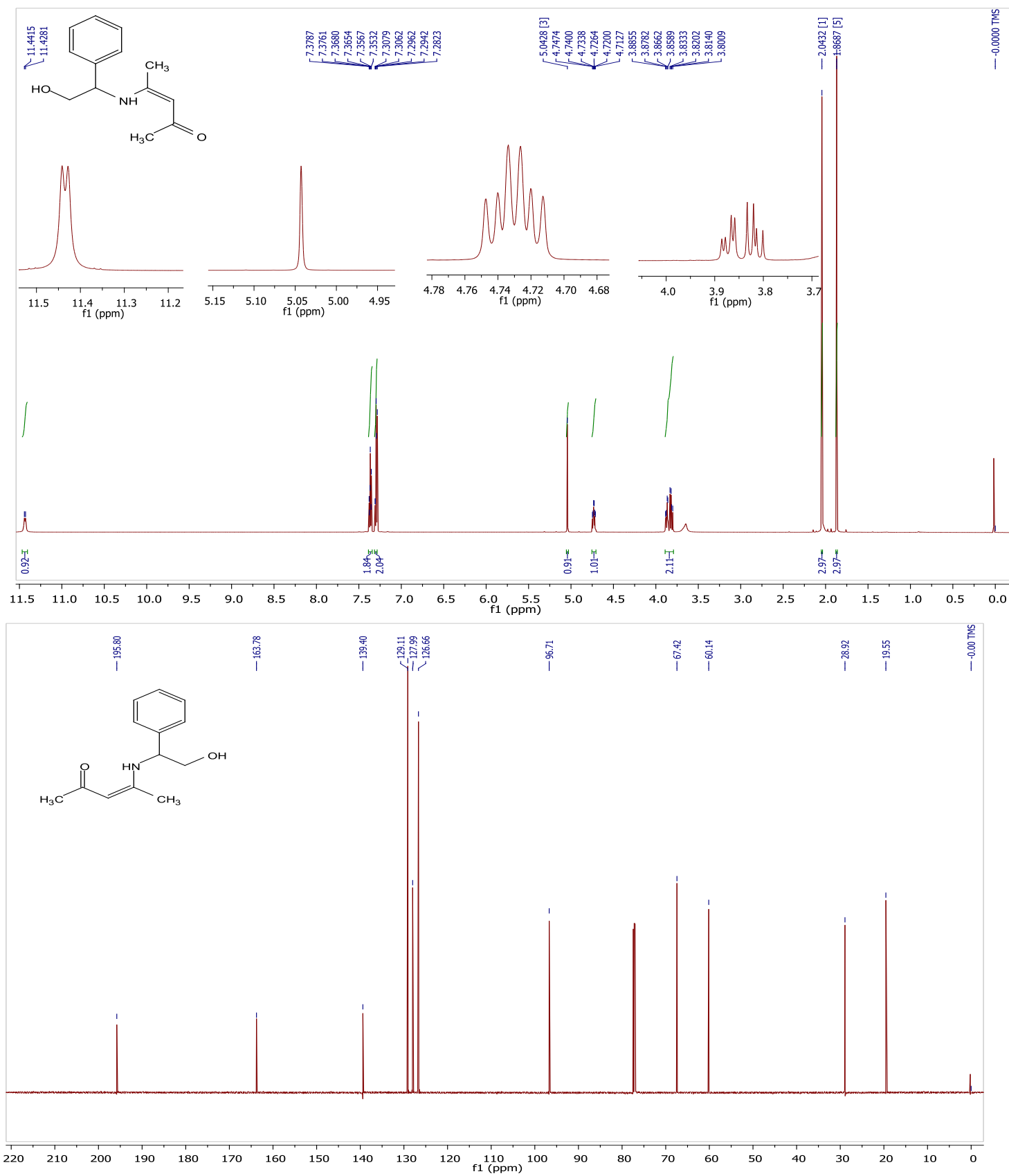
31. Velezheva, V. Kornienko, A. Topilin, S. Turshev, A. Peregudov, A. Brennan, P. Lewis Acid Catalized Nenitzescu Indole Synthesis. *J. Heterocyclic. Chem.* **2006**, 43, 873-879.
32. Kürti, L. Czakó, B. Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis. Elsevier, **2005**, 1^a ed, China.
33. Inman, M. Visconti, A. Yao, C. Siegel, D. Ross, D. Moody, C. Antitumour indolequinones: Synthesis, and activity against human pancreatic cells. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 4848-4861.
34. Sun, J. Wang, X. Liu, Y. Copper (II)-Catalyzed Sequential C,N-Difunctionalization of 1,4-Naphthoquinone for the Synthesis of Benzo[f]indole-4,9-diones Under Base-Free Condition. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 10560-10566.
35. Germeraad, P. Moore, H. Rearrangements of Azidoquinones. XII. Thermal conversion of 2-Azido-3-vinyl-1,4-quinones to indolequinones. *J. Org. Chem.* **1974**, 39(6), 774-780.
36. Naruta, Y. Yokote, T. Nagai, N. Maruyama, K. Stereoselectivity of Photocycloaddition of Azidoquinones to conjugated dienes. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 972-973.
37. Kobayashi, K. Takeuchi, H. Seko, S. Kanno, Y. Kujime, S. Suginome, H. Photoinduced Molecular Transformations. Part 142. One-step syntheses of 1*H*-benz[f]indole-4,9-diones and 1*H*-indole-4,7-diones by a new regioselective photoaddition of 2-amino-1,4-naphthoquinones and 2-amino-1,4-benzoquinones with alkenes. *Helv. Chim. Acta.* **1993**, 76(8), 2942-2950.
38. Suryavanshi, P. Sridharan, V. Menéndez, JC. Expedient, one-pot preparation of fused indoles via CAN-catalyzed three-component domino sequences and their transformation into polyheterocyclic compounds containing pyrrolo [1,2*a*] azepine fragments. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 3426-3436.
39. Inman, M. Moody, C. Copper (II)-Mediated Synthesis of Indolequinones from Bromoquinones and Enamines. *Eur J. Org. Chem.* **2013**, 2179-2187.
40. Rodríguez Illera, E. Síntesis asimétrica de carbociclos benzofusionados a partir de benzaldehídos *o*-funcionalizados. Aplicación de γ -silyl alilboronatos

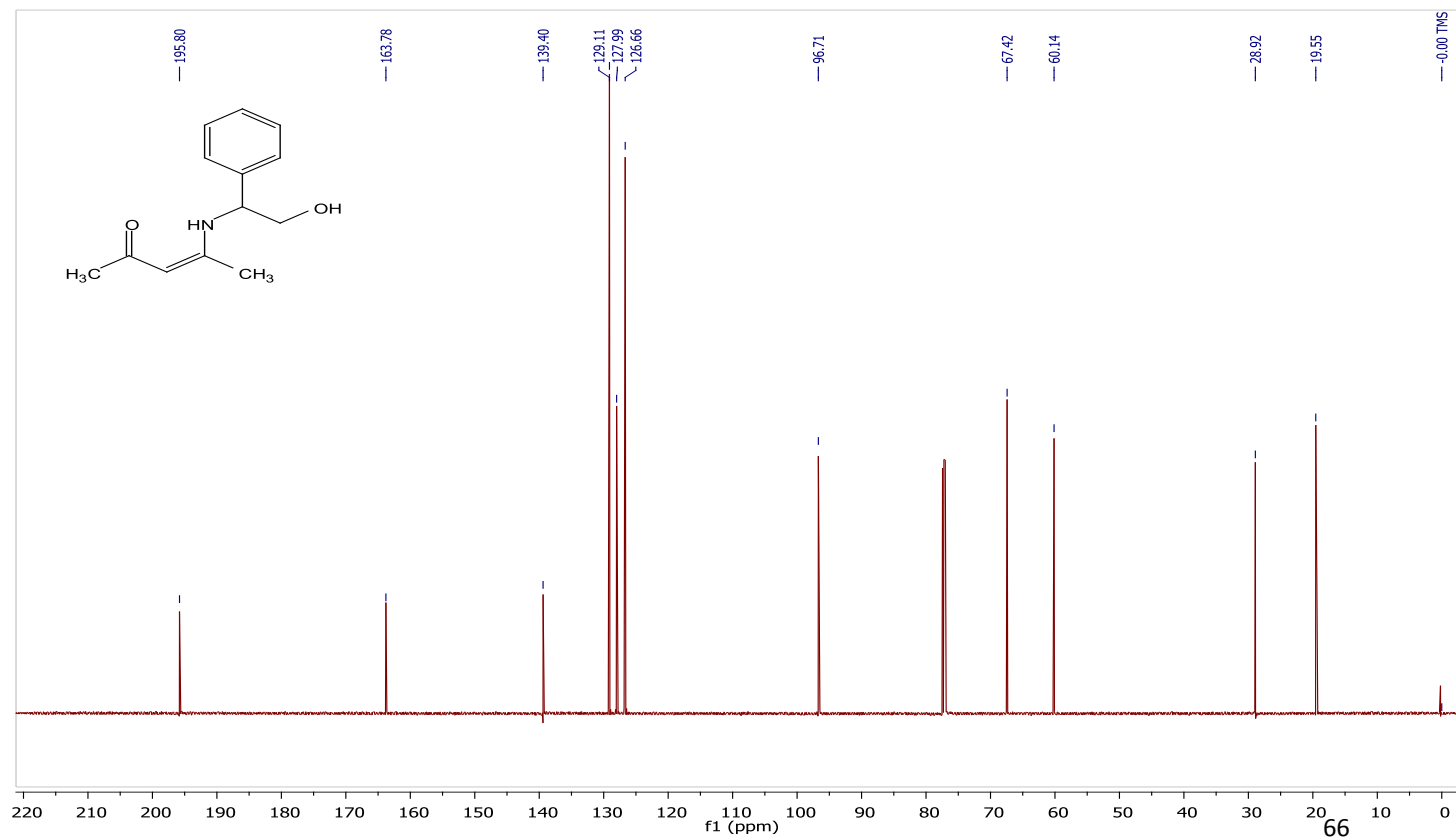
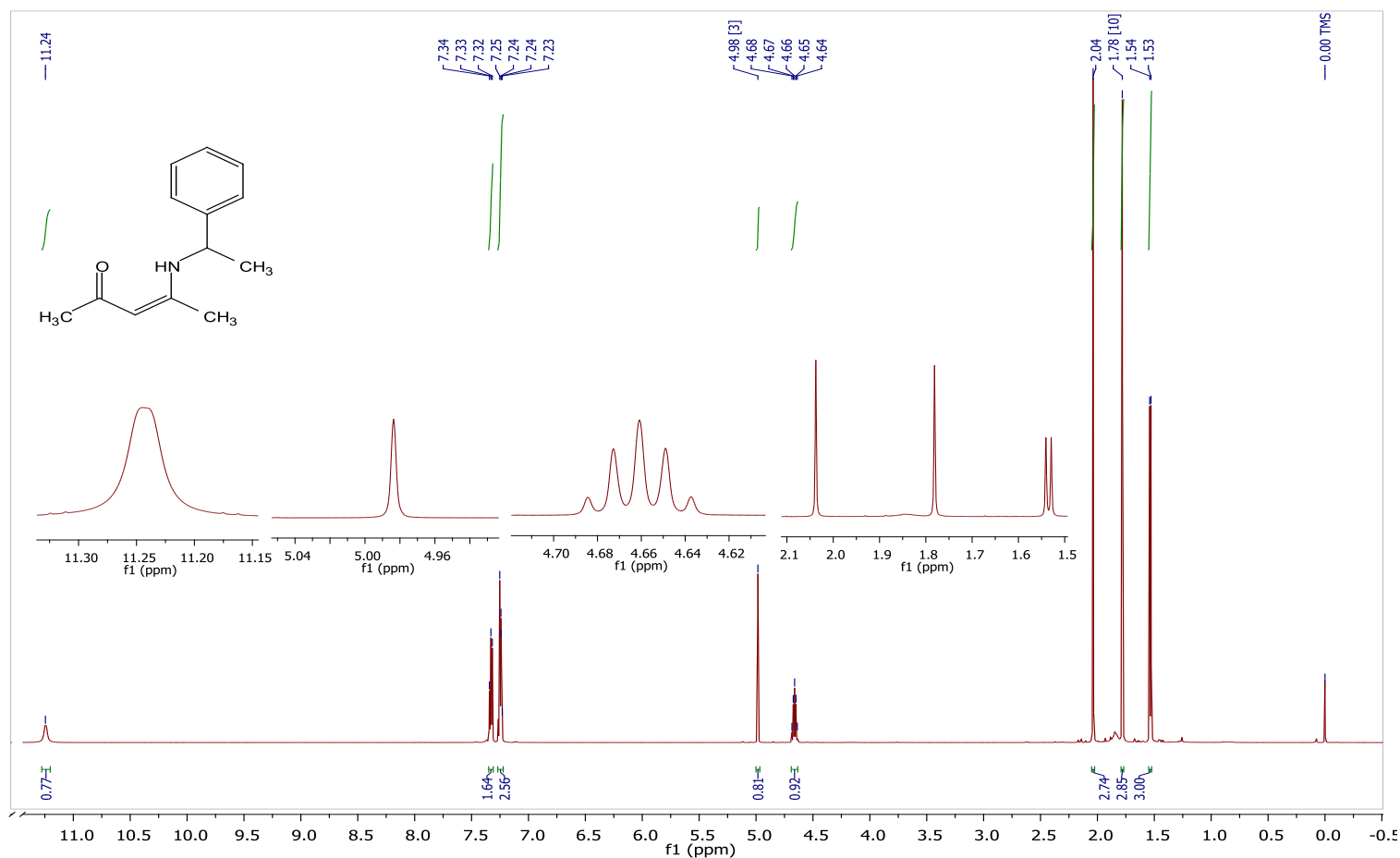
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

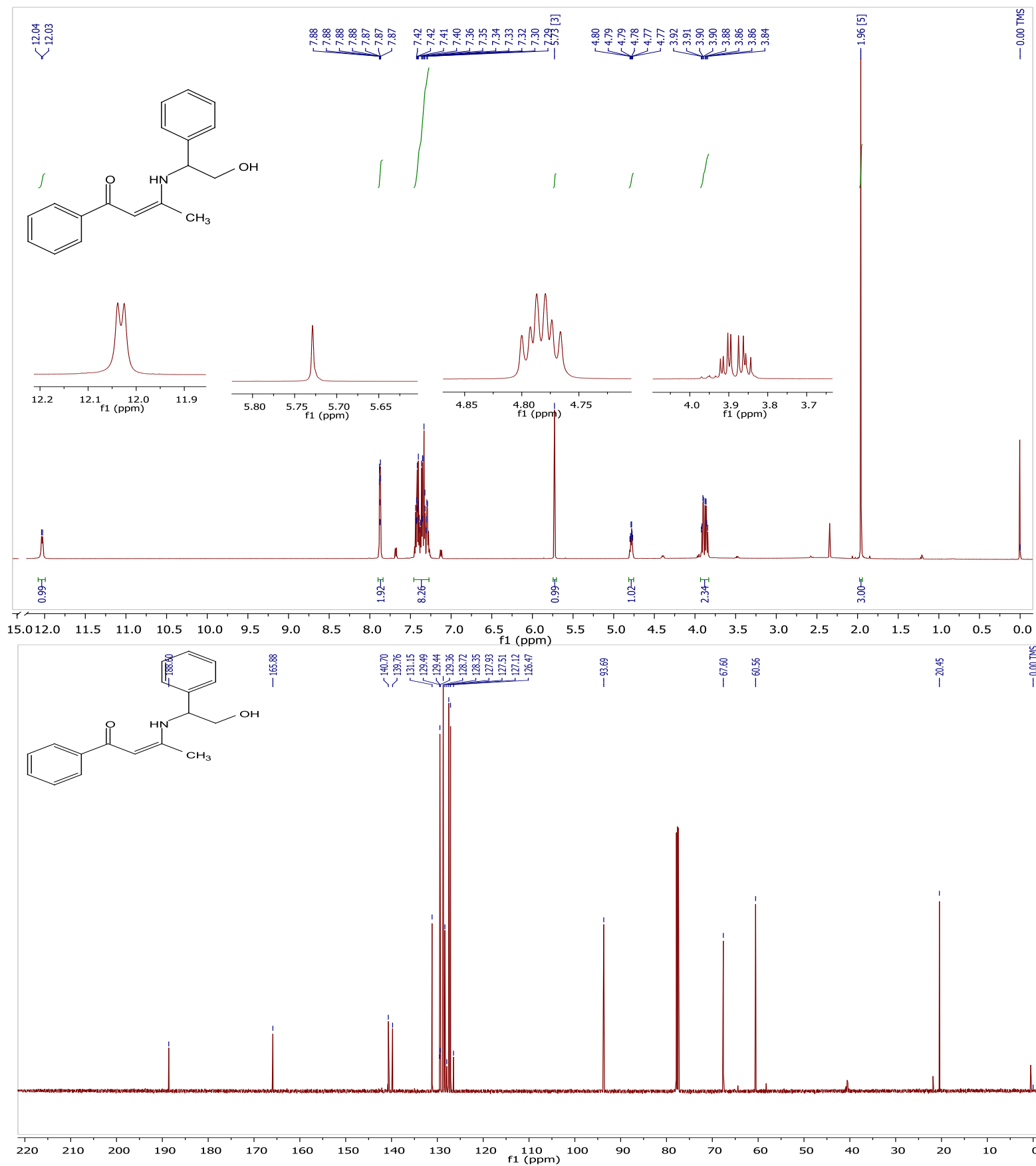
- en catálisis asimétrica. Tesis de Doctorado en Química. Universidad de Valencia. **2015**, 344 p.
41. Rouf, A. Taneja, S.C. Synthesis of single-enantiomer bioactive molecules: A brief overview. *Chirality*. **2014**, 26, 63-78.
42. Kappe, O. Stadler, A. Dallinger, D. Microwave in organic and medicinal chemistry. Alemania, Wiley VCH, **2012**, 2^a ed., 668p.
43. El-Borai, M. Rizk, H. Beltagy, D. El-Deeb, I. Microwave-assisted synthesis of some new pyrazolopyridines and their antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *E. J. Med. Chem.* **2014**, 66, 415-422.
44. Varma, R. Solvent-free accelerated organic syntheses using microwaves. *Pure App. Chem.* **2001**, 73(1), 193-198.
45. Grewal, A. Kumar, K. Redhu, S. Bhardwaj, S. Microwave assisted synthesis: A Green chemistry approach. *Int. Res. J. Pharm. App. Sci.* **2013**, 3(5), 278-285.
46. Rajak, H. Mishra, P. Microwave-assisted combinatorial chemistry: The potential approach for acceleration of drug discovery. *J. Sci. Ind. Res.* **2004**, 63, 641-654.
47. Lozada, M. Lobato, C. Enríquez, R. Ortiz, B. Toscano, R. Gnecco, D. Galindo, A. Reynolds, W. Solution ¹H and ¹³C NMR of new chiral 1,4-oxazepinium heterocycles and their intermediates from the reaction of 2,4-pentanedione with α-L-amino acids and (R)-(-)-2-phenylglycinol. *Magn. Reson. Chem.* **2003**, 41, 975-982.
48. Chen, J. Yang, X. Liu, M. Wu, H. Ding, J. Su, W. Approach to synthesis of β-enamine ketones and pirroles catalyzed by gallium (III) triflate under solvent-free conditions. *Synthetic Commun.* **2009**, 39, 4180-4198.
49. Nimse, SB., Pal, D. Free radicals, natural antioxidants and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* **2015**, 5, 27986-28006.
50. Niki, E. Assessment of Antioxidant Capacity *in vitro* and *in vivo*. *Free Radic. Biol. Med.* **2010**, 49, 503-515.

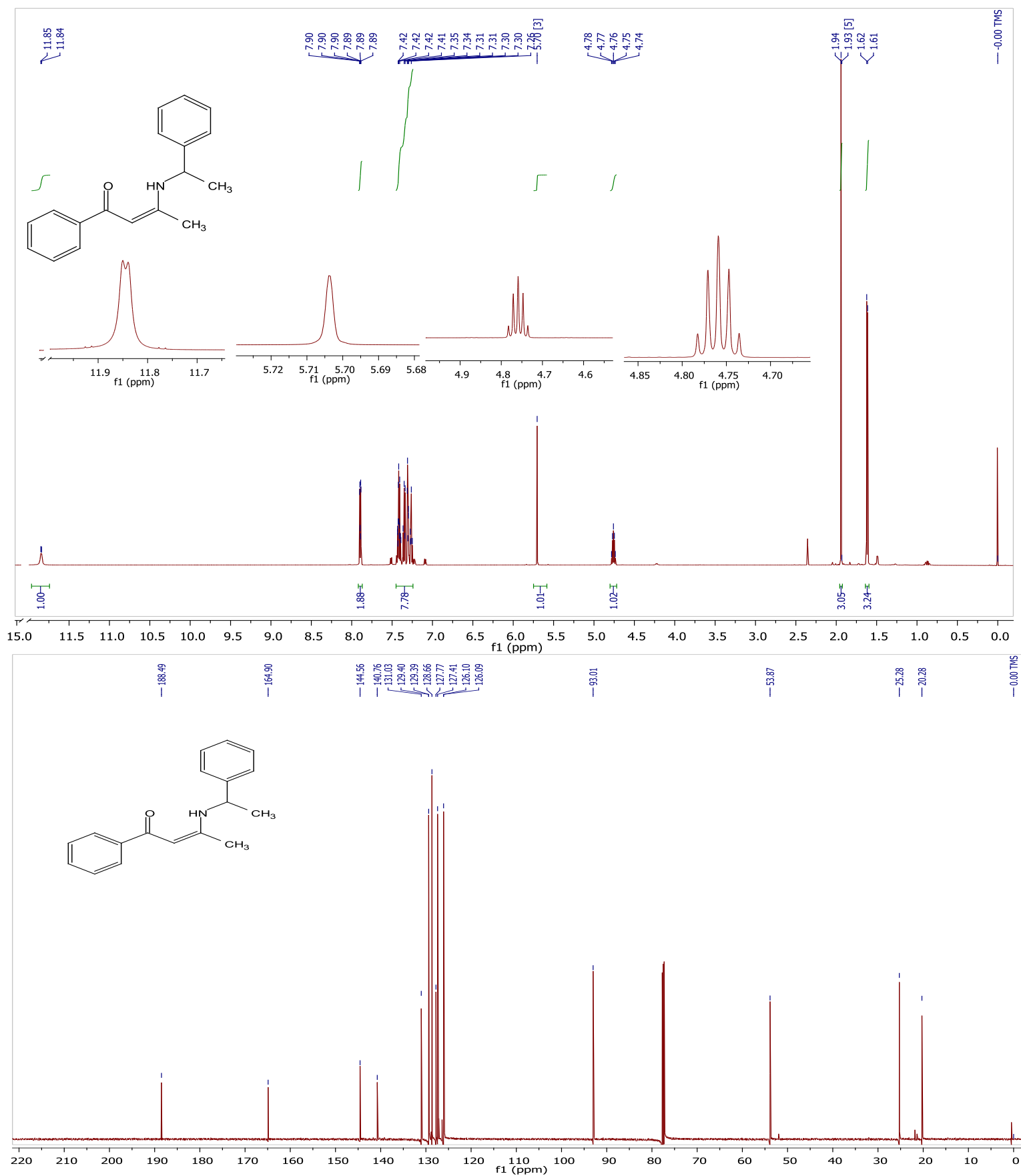
ANEXO I.

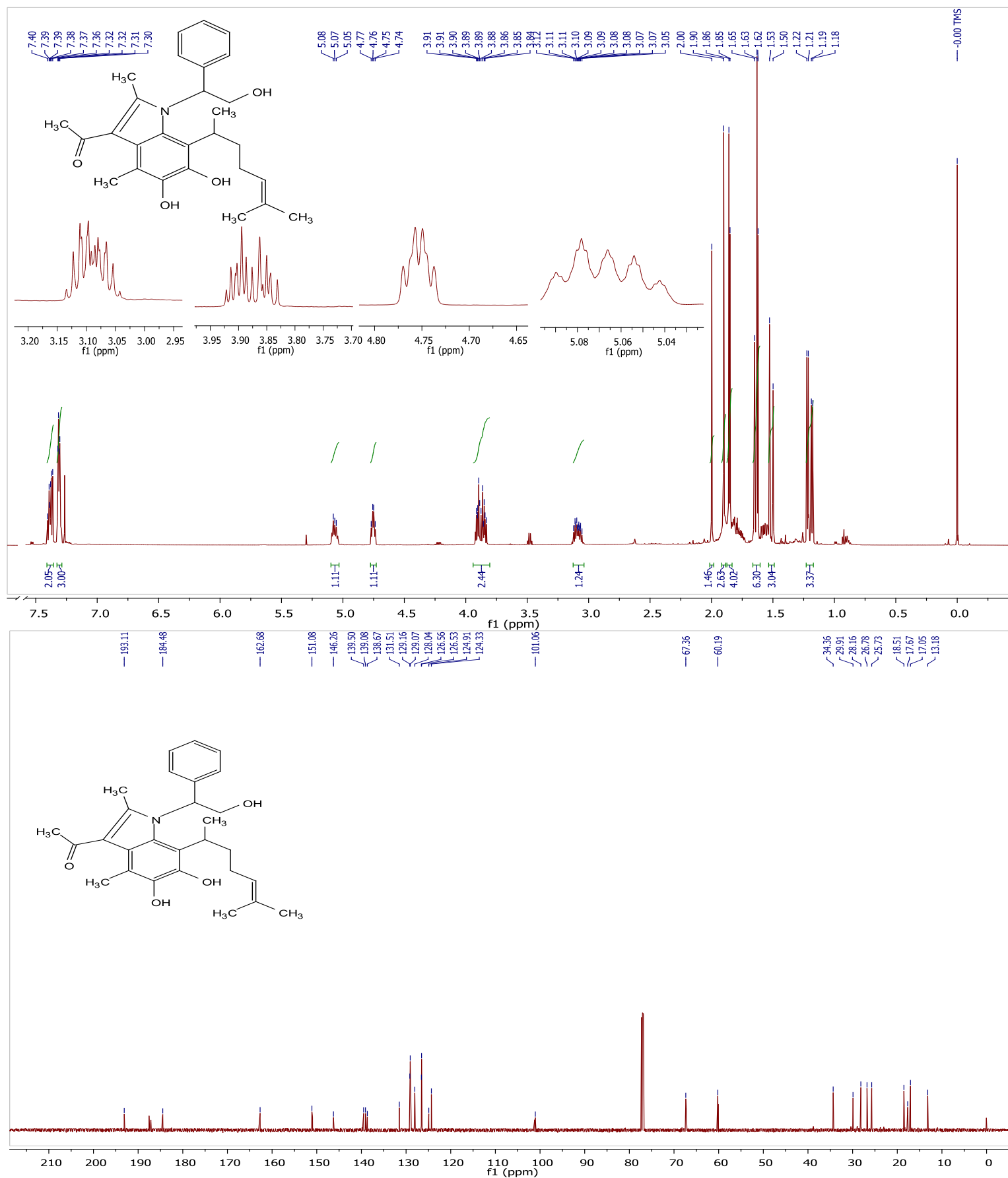
ESPECTROS DE RMN ^1H Y ^{13}C DE
COMPUESTOS OBTENIDOS

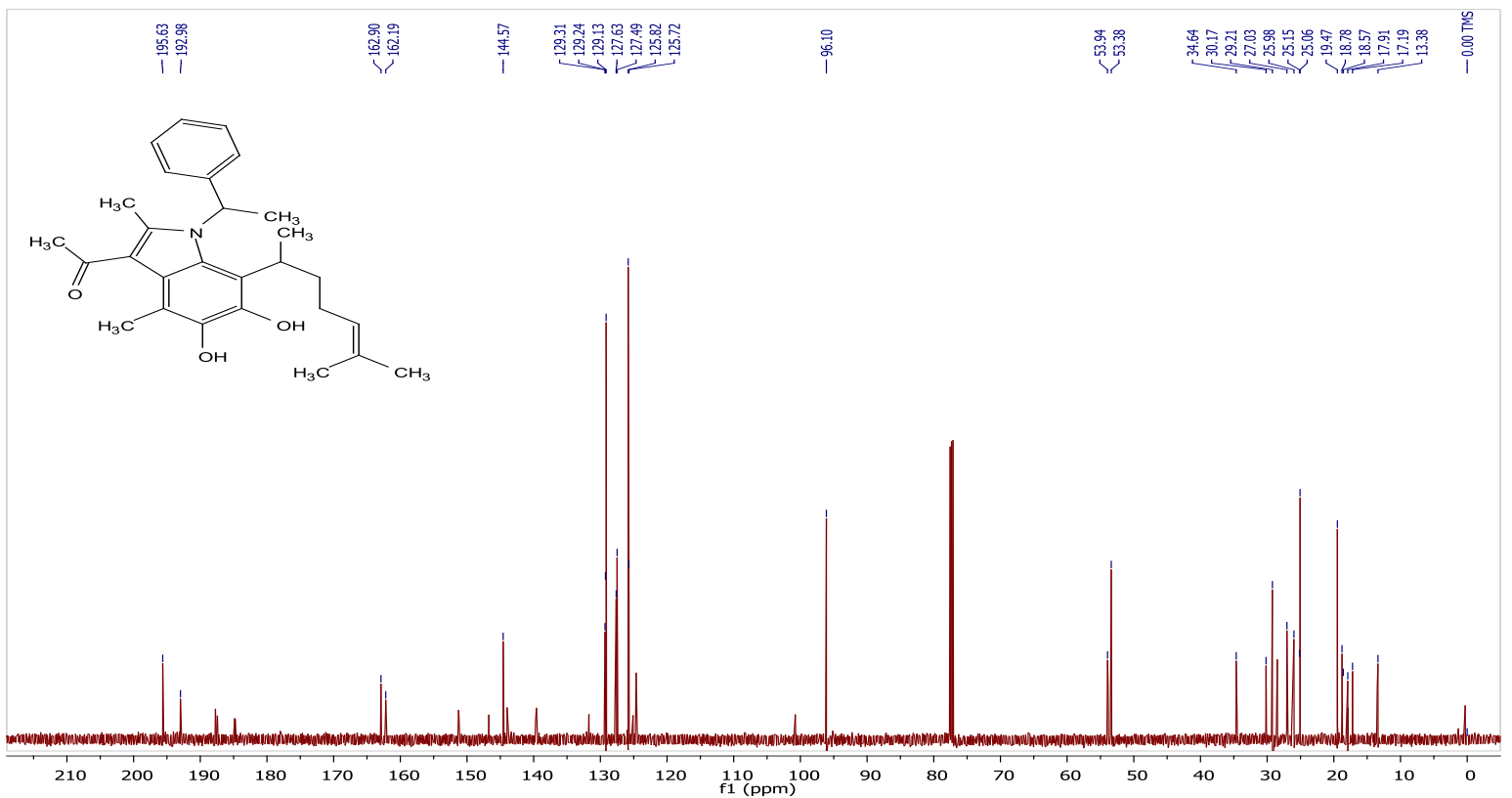
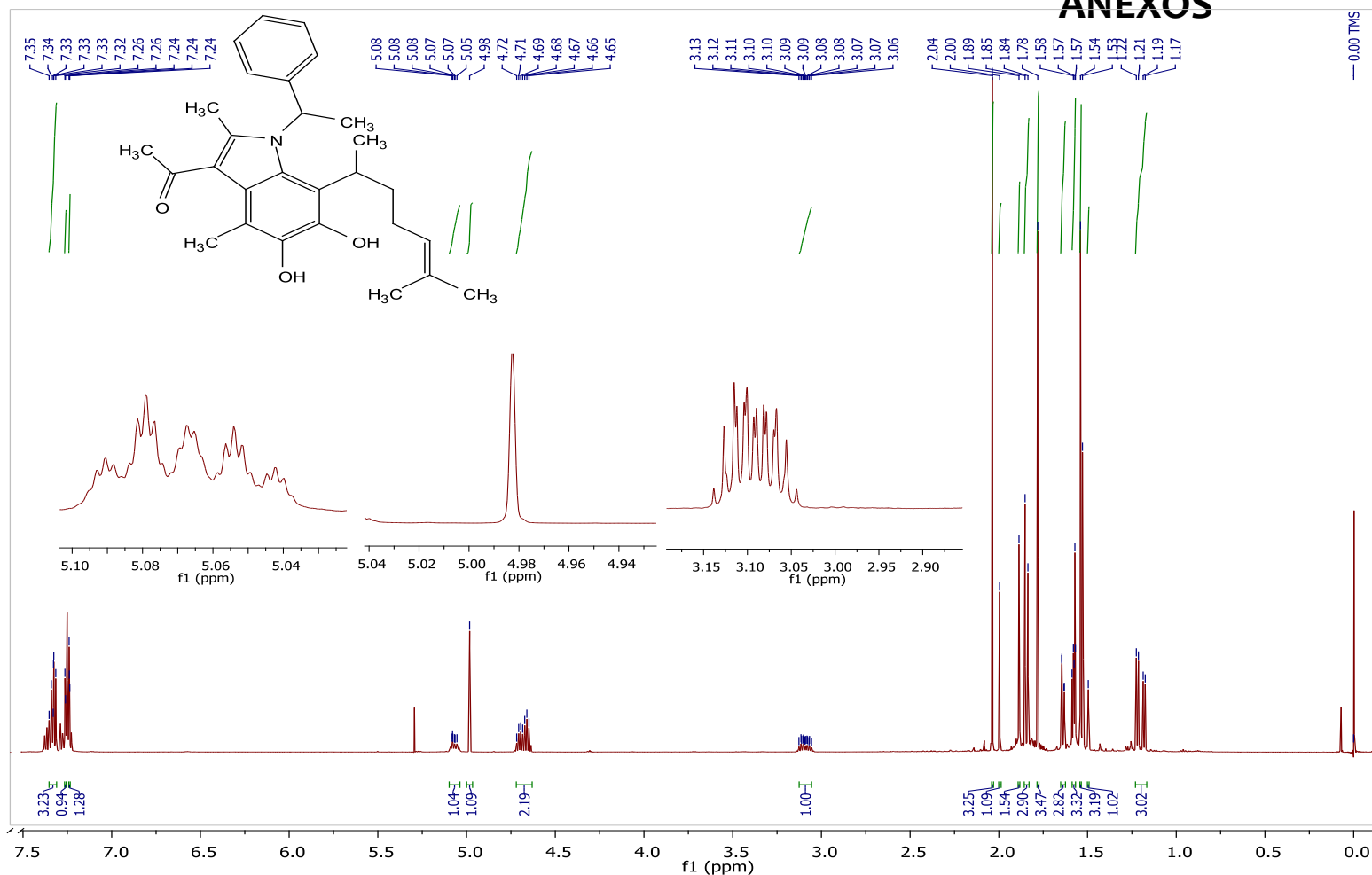


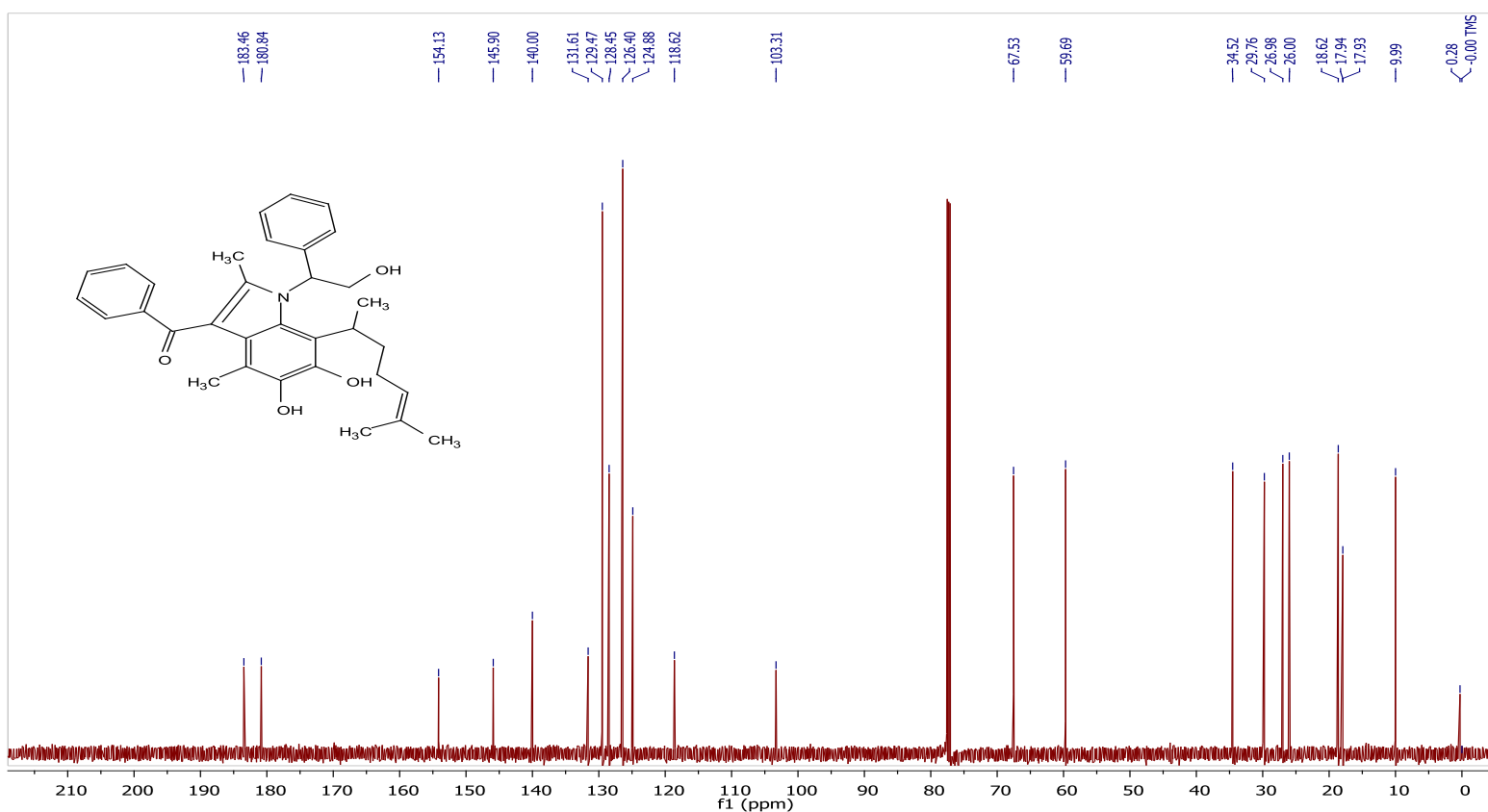
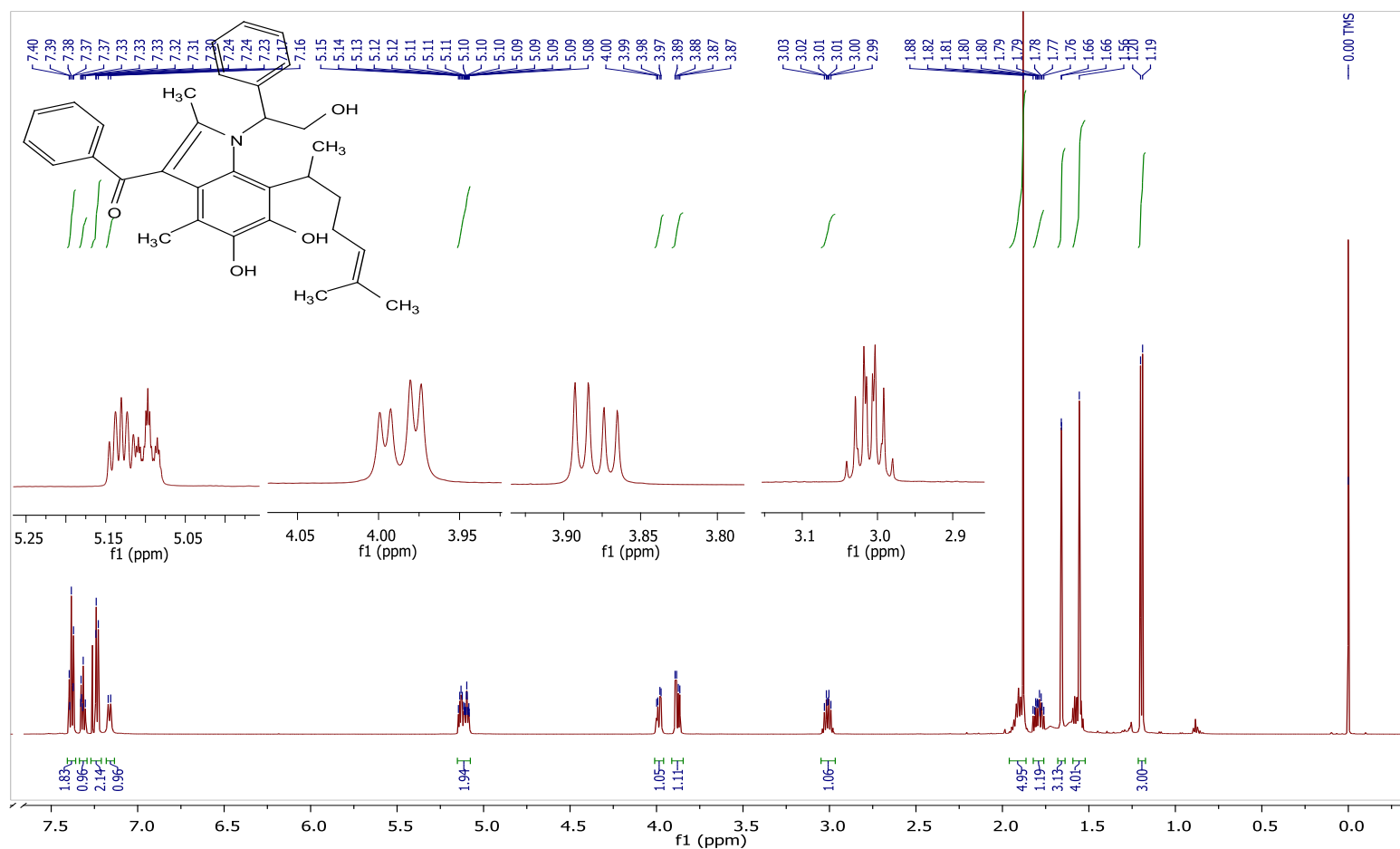


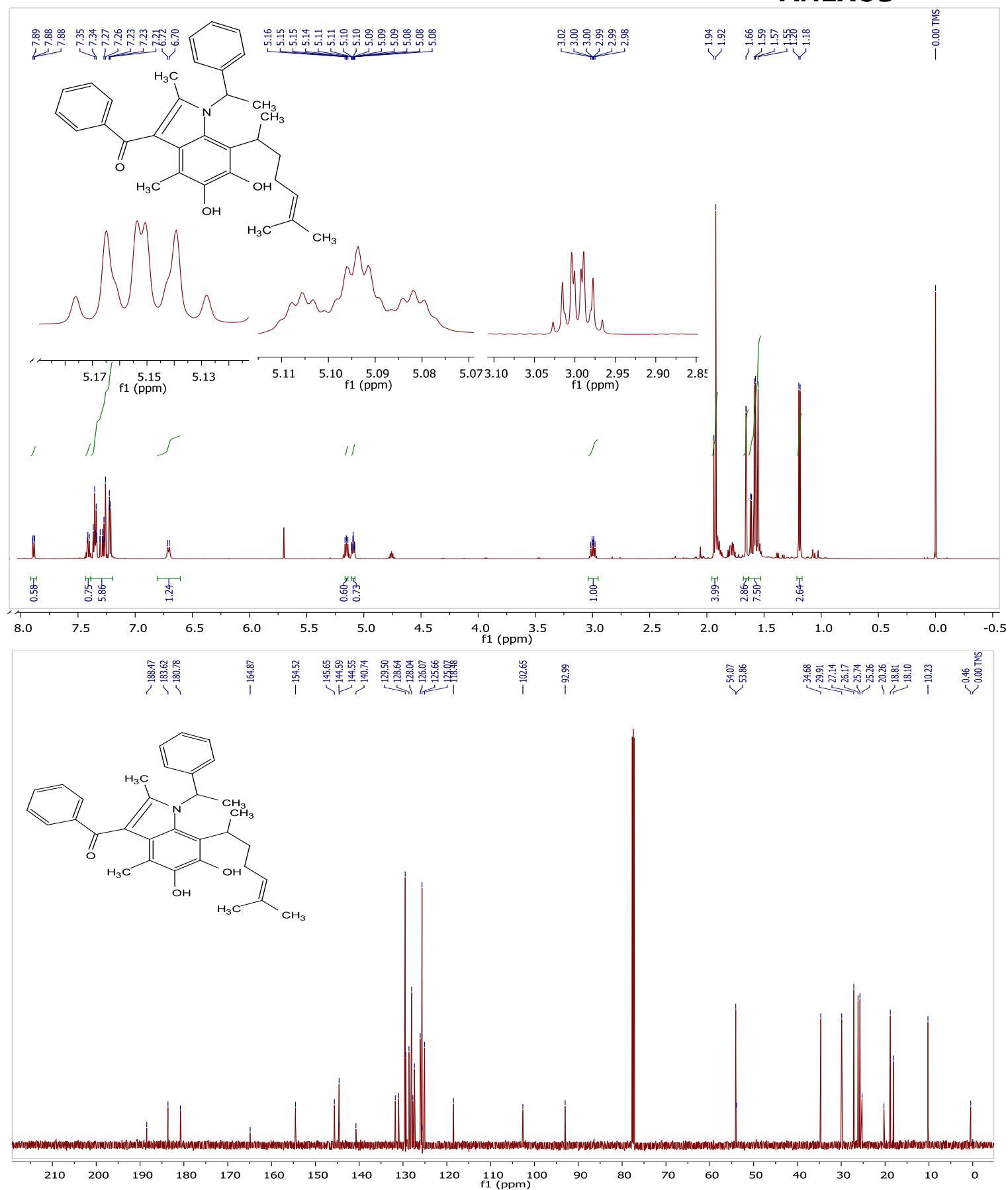


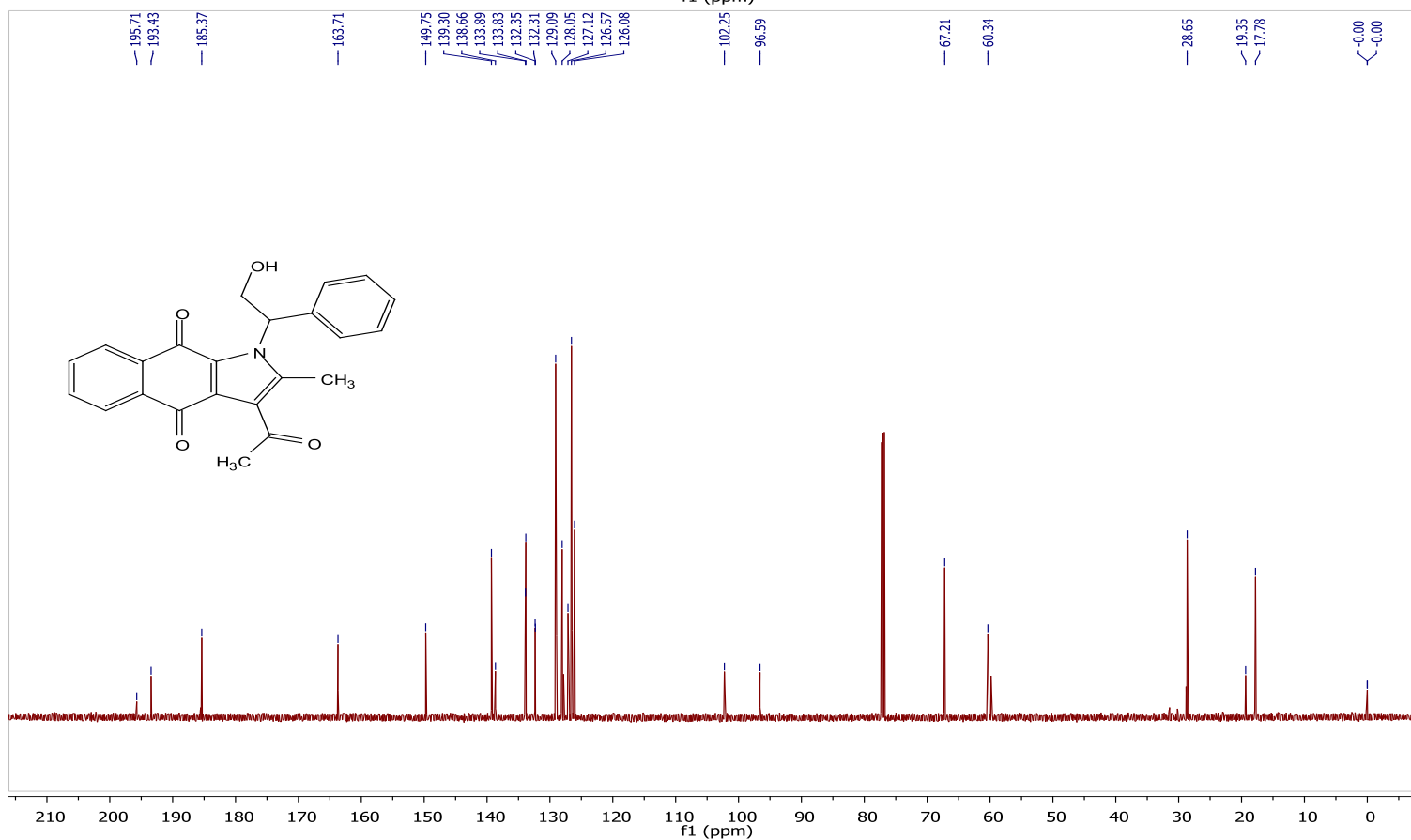
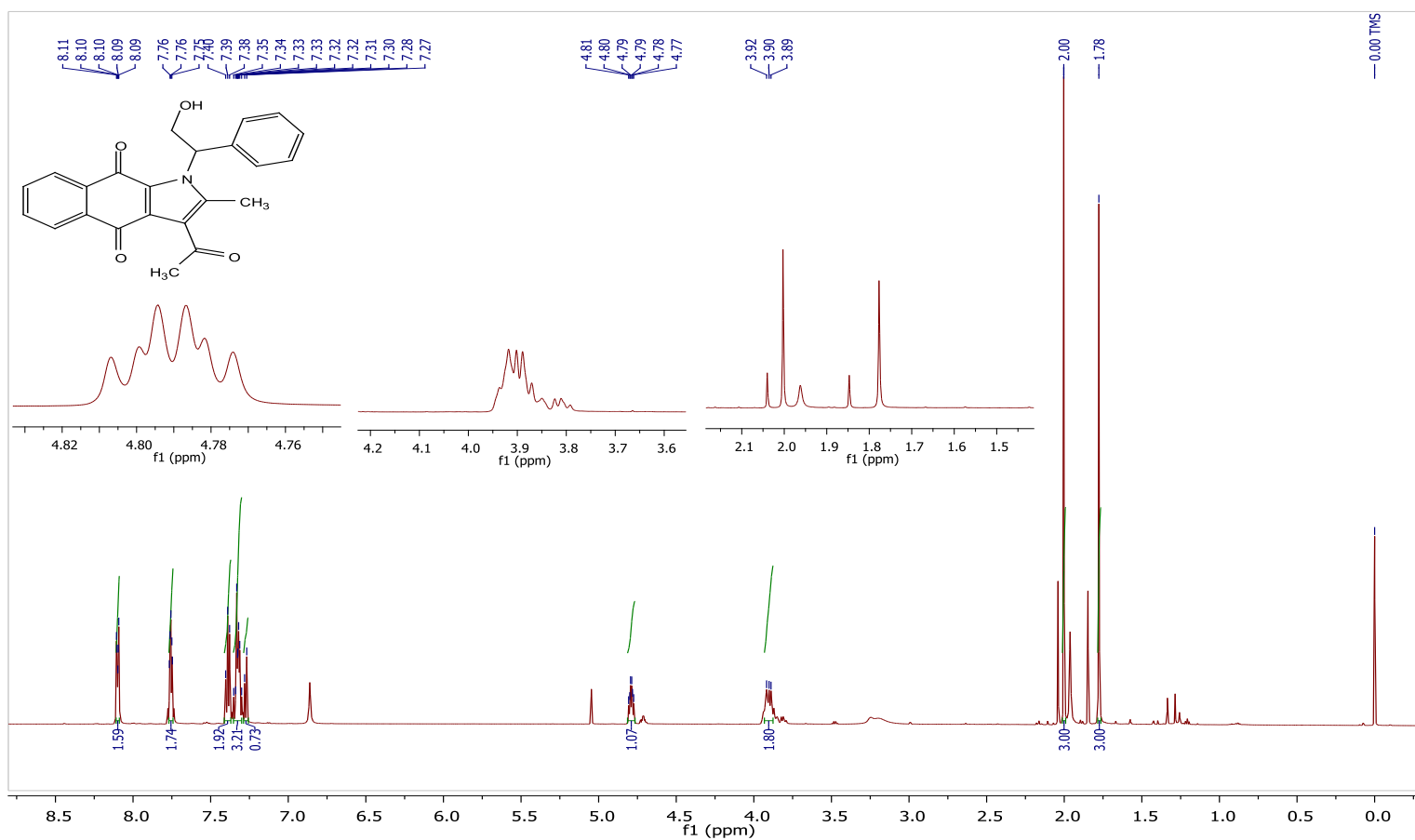


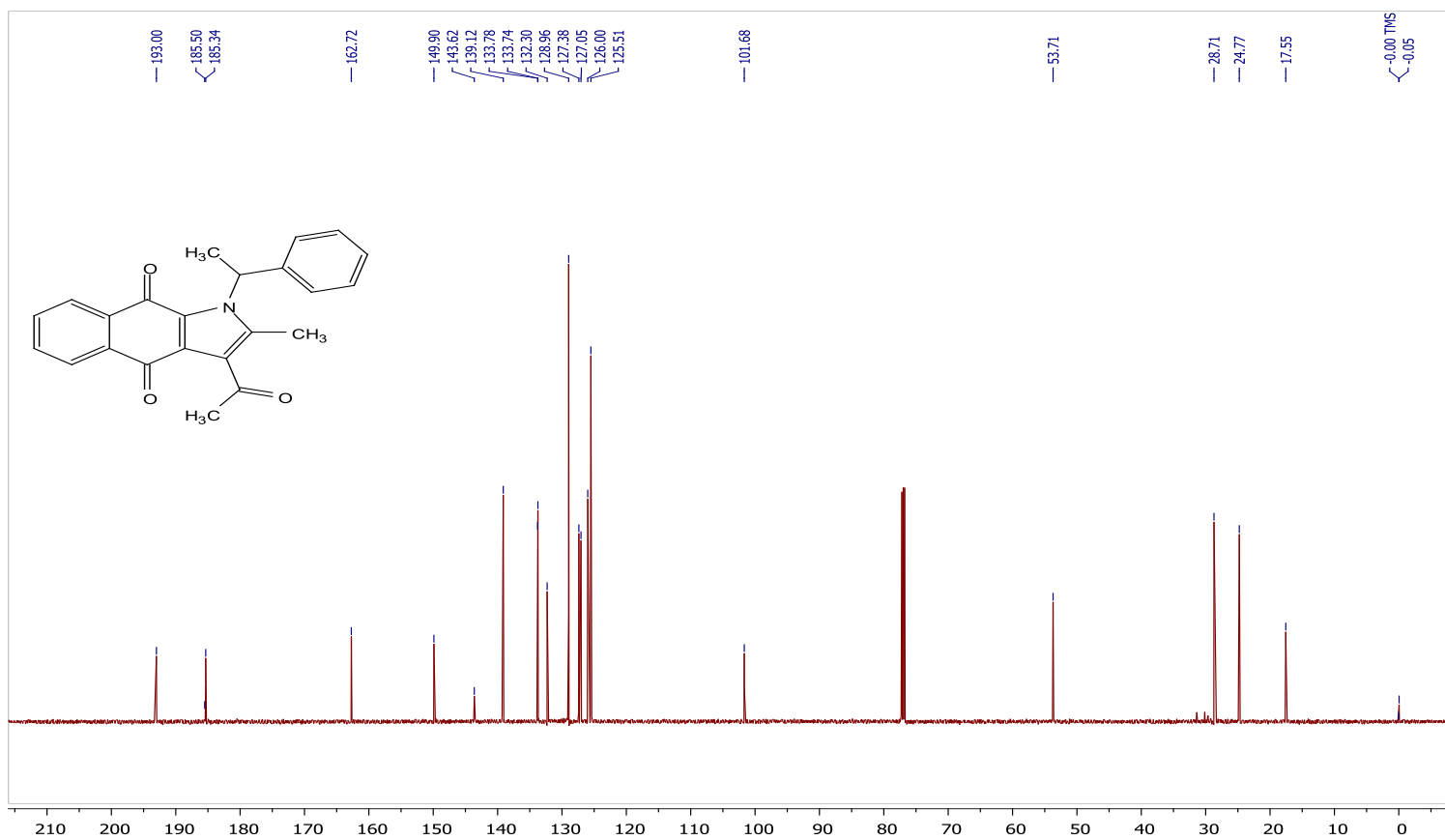
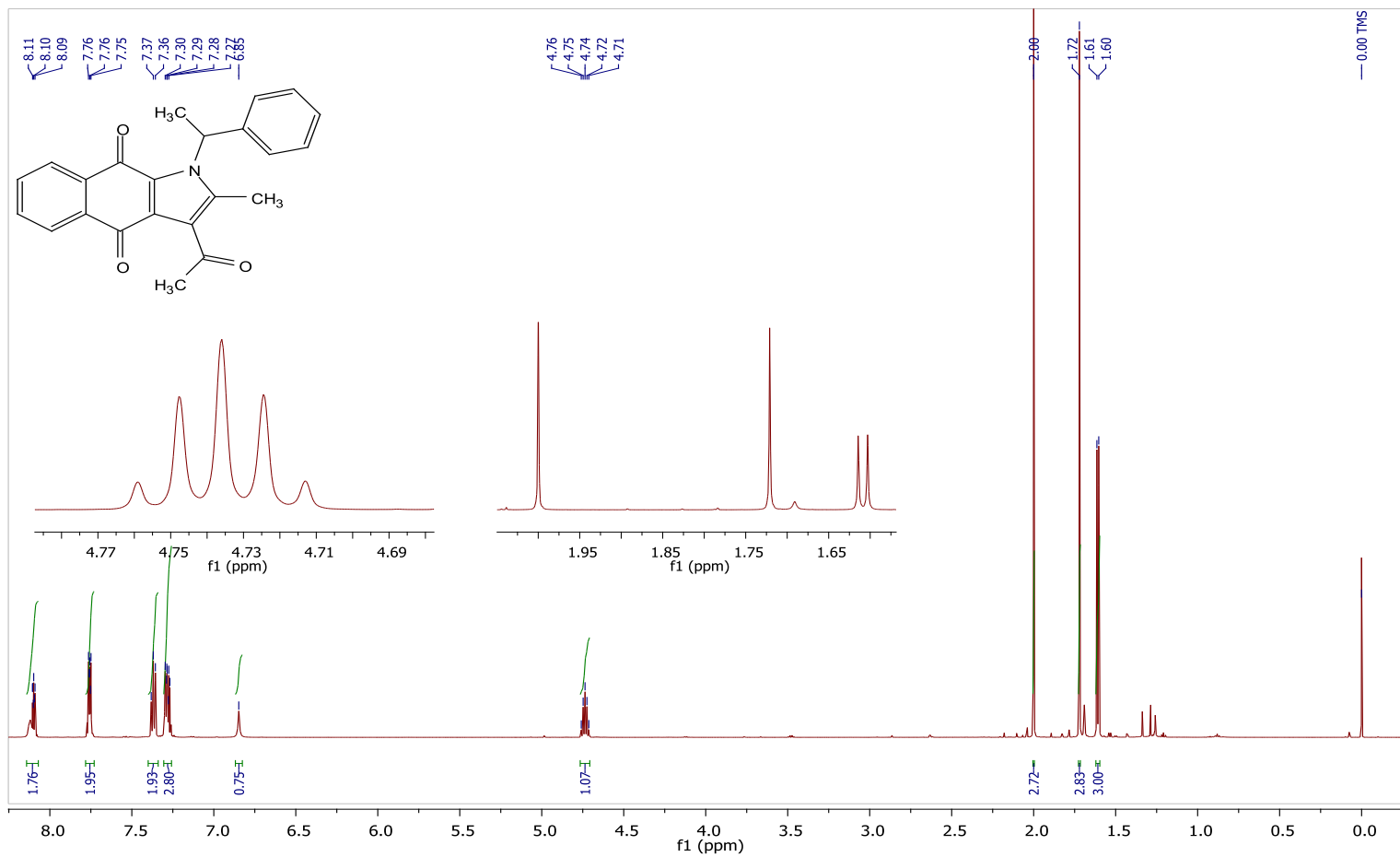


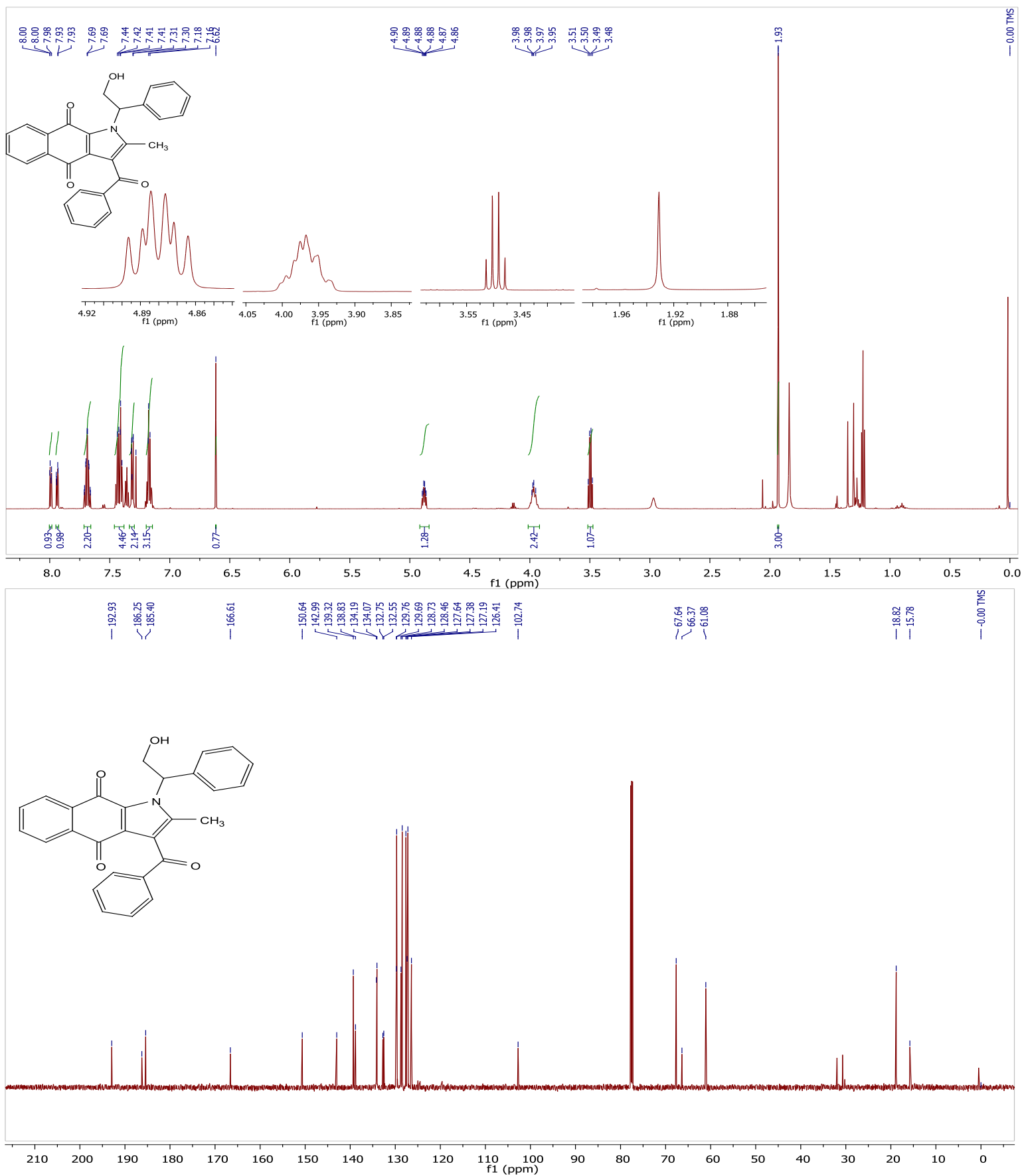


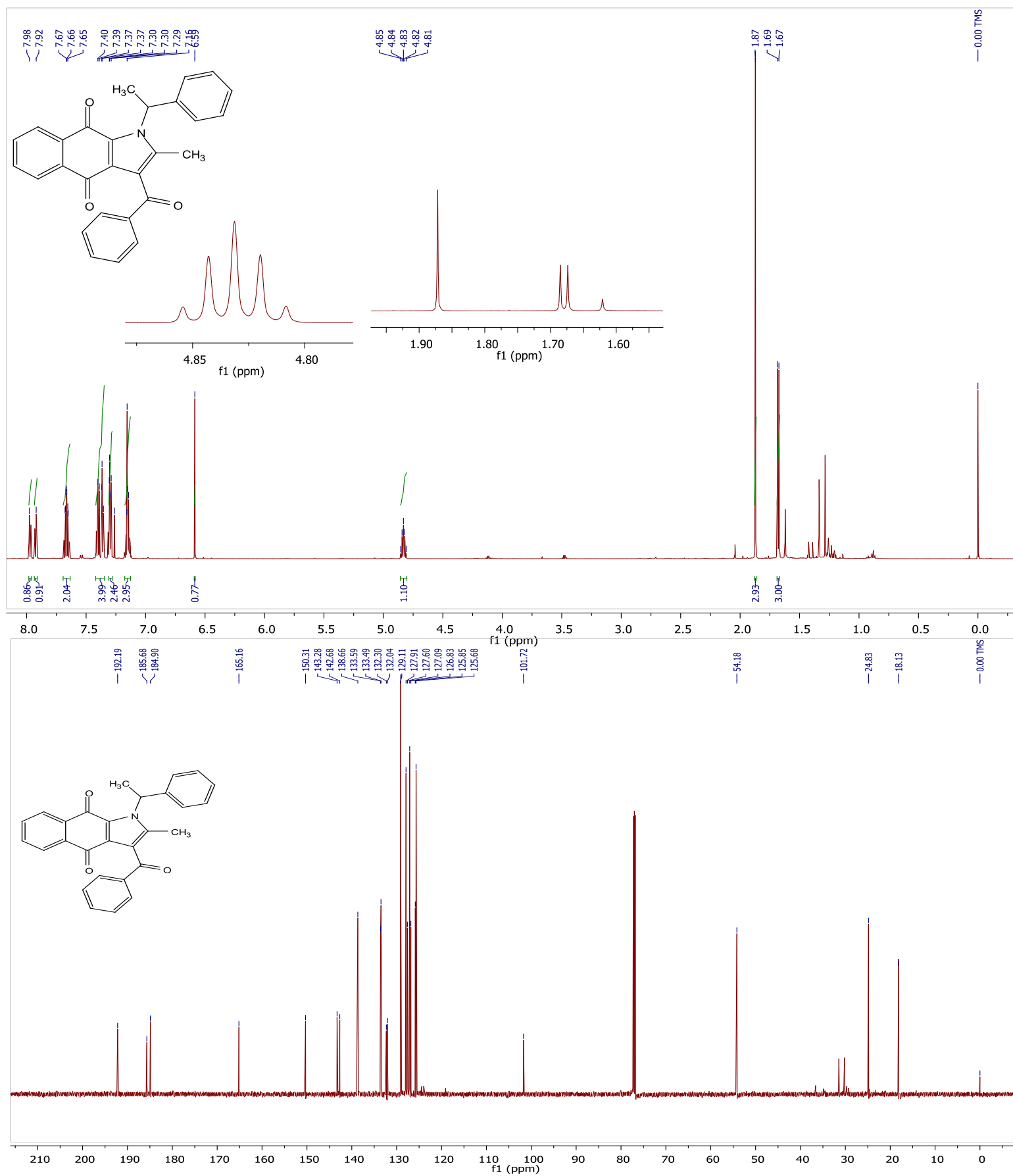












ANEXO II.

**TRABAJOS PRESENTADOS EN
CONGRESOS**



Síntesis de enaminonas quirales por método convencional y asistido por microondas

Julia Jimena Falcón G., Ma. Concepción Lozada G[†]., Jaime Pérez V., Antonio Nieto C., Olivia Soria A.
 Maestría en Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-X, Calzada del Hueso 1100, Villa
 Quietud, Coyoacán, México, D.F. 04960 Email: jimena.falcong@hotmail.com, soriao@correo.xoc.uam.mx

Palabras clave: enaminonas, quiral, microondas

Introducción

Las enaminonas son moléculas que presentan una parte nucleofílica por la amina y una electrofílica por la cetona, debido a su alta reactividad, son utilizados para preparar una gran variedad de fármacos que contienen anillos heterocíclicos.^{1,2} Además, se ha reportado que las enaminonas presentan actividad biológica, por ejemplo, anticonvulsiva y antimalárica.³

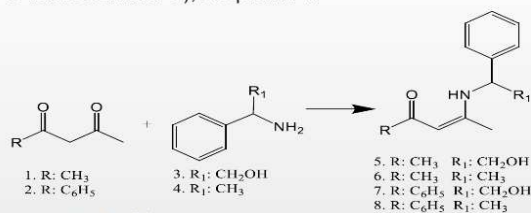
La síntesis asistida por microondas permite obtener productos más puros, con mayores rendimientos y en menor tiempo.⁴ Recientemente se ha demostrado también que el uso de microondas permite la síntesis enantioselectiva de compuestos.⁵

En este trabajo se describe la síntesis de cuatro enaminonas quirales obtenidas por los métodos convencional y reacciones asistida por microondas.

Resultados y discusión

Síntesis de enaminonas

Las enaminonas fueron sintetizadas por una reacción de adición entre una dicetona (2,4-pentanediona **1** y 1,3-fenilbutanodiona **2**) y una amina quiral (*R*-fenilglicinol **3** y *S*-feniletilamina **4**), Esquema 1.



Esquema 1. Síntesis de enaminonas **5-8**

La síntesis de enaminonas por el método tradicional se llevó a cabo con agitación a temperatura ambiente o reflujo, empleando diclorometano o metanol como disolvente y TsOH como catalizador.⁶ Para la síntesis asistida por microondas, se empleó un equipo Monowave 300 (Anton Paar). Se estudiaron diferentes condiciones de reacción, hasta encontrar la metodología más adecuada para la preparación de las enaminonas, los mejores resultados se obtuvieron a 80°C y 400 rpm. En las reacciones asistidas por microondas se observó una reducción considerable de los tiempos de reacción y en la mayoría de los casos una mejora en los rendimientos, además todas las enaminonas fueron ópticamente activas.

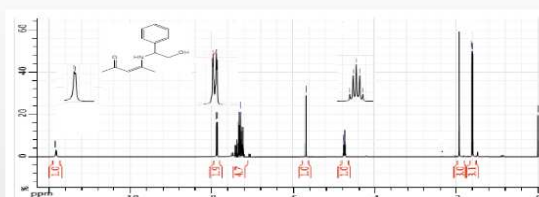
Tabla 1. Propiedades de las enaminonas **5-8**

Enaminona	p.f. (°C)	$[\alpha]_D^{25}$
5	124-25	+1.195
6	N/A	+0.809
7	101-102	+0.839
8	80-81	+1.956

Tabla 2. Tiempos de reacción y rendimientos de las enaminonas **5-8**

	M. tradicional		R. Microondas	
Enami- nona	Tiempo (hrs)	Rendi- miento (%)	Tiempo (min)	Rendi- miento (%)
5	72	93.2	50	54.5
6	144	21.9	90	52.25
7	35	35.73	240	77.31
8	20	57.05	180	96.38

Todos los compuestos fueron caracterizados por sus puntos de fusión y por sus datos en IR, RMN y EM. En IR se observaron para las cuatro enaminonas bandas características para N-H (3423, 3027, 3399, 3423) cm⁻¹ y C=O (1598, 1610, 1592, 1598) cm⁻¹ respectivamente, en RMN ¹H se observan las señales para el protón del NH (11.41, 11.23, 12.02, 11.84) ppm y el protón vinílico (5.03, 4.98, 5.72, 5.69) ppm respectivamente. En los espectros de masas el ion molecular *m/z* obtenido para cada uno de los compuestos (219.28, 203.13, 265.34, 281.35) que corroboran los pesos moleculares esperados.



Esquema 2. Espectro de RMN ¹H de la enaminona **5**

Conclusión

Se sintetizaron y caracterizaron cuatro enaminonas quirales por método tradicional y asistida por microondas, observándose que el uso de las microondas reduce considerablemente los tiempos de reacción y en la mayoría de los casos se presenta una mejora en los rendimientos sin afectar el centro estereogénico.

Referencias

- Zhang, H.; Wang, Z. *et al.* *RSC Adv.* **2014**, *4*, 9512-19515.
- Liu, Y.; Zhou, R. *et al.* *Synthetic Communications* **2013**, *43*, 2475-2483.
- Edafiofio, I.; Qadadoui, M. *et al.* *E.J. Med. Chem.* **2014**, *72*, 20-30.
- El-Borai, M.; Rizk, H. *et al.* *E. J. Med. Chem.* **2014**, *66*, 415, 422.
- Massolo, E. Benaglia, M. *et al.* *Tetrah. Letts* **2014**, *55*, 6639-6642.
- Lozada M.C., Lobato, C.E. *et al.* *Magn Reson. Chem.* **2003**, *41*, 975



Síntesis de derivados 5-hidroxiindólicos quirales de perezona



Julia Jimena Falcón Gerónimo¹, Ma. Concepción Lozada García,^{2†} Jaime Pérez Villanueva,² Antonio Nieto Camacho³ Ma. Teresa Ramírez Apan,³ Olivia Soria Arteché²

¹ Maestría en Ciencias Farmacéuticas, ² Departamento de Sistemas Biológicos, UAM-X, Calzada del Hueso 1100, Villa Quietud, Coyoacán, México, D.F. 04960, ³ Laboratorio de Pruebas Biológicas, Instituto de Química, UNAM, Email: jimena.falcong@hotmail.com, soriao@correo.xoc.uam.mx

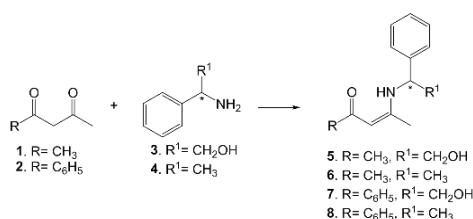
INTRODUCCIÓN

La perezona (**9**) es una quinona quiral,¹ que posee diversos efectos farmacológicos, entre ellos se ha reportado efecto citotóxico en una línea celular de leucemia humana.² Asimismo, una serie de aminoderivados sintéticos de perezona presentaron actividad citotóxica y antioxidante.³ La síntesis de indoles de Nenitzescu es una reacción en la que participan las *p*-quinonas, el mecanismo de la reacción propuesto va vía una adición de Michael de la enamina a la *p*-quinona, el aducto resultante, sufre un ataque nucleofílico intramolecular del nitrógeno de la imina al carbonilo, seguido de una deshidratación del hemiaminal para dar el 5-hidroxiindol substituido.⁴

Por otro lado, las enamionas han sido empleadas como intermediarios de una variedad de compuestos farmacéuticos, principalmente en la síntesis de compuestos heterocíclicos.⁵ Al tener un centro estereogénico que no se ve involucrado en la reacción, es de esperarse que los compuestos obtenidos conserven la actividad óptica.

Con base en lo anterior, en este trabajo se propone la síntesis de nuevos derivados 5-hidroxiindólicos quirales de perezona, obtenidos por una reacción de Nenitzescu, esperando que estos presenten una actividad citotóxica y antioxidante superior a la perezona.

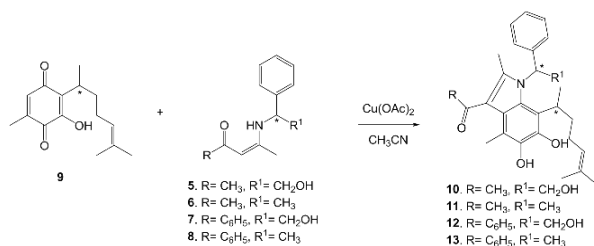
MATERIALES Y MÉTODOS



Esquema 1. Síntesis de enamionas

Síntesis de enamionas quirales.

Las enamionas **5-8** se sintetizaron por una reacción de adición entre una dicetona (**1-2**) y una amina quiral (**3-4**) por método convencional y por un método asistido por microondas. Esquema 1



Esquema 2. Síntesis de derivados 5-hidroxiindólicos

Síntesis de derivados indólicos de perezona

Los derivados indólicos de perezona **10-13** (Esquema 2) se prepararon por reacción de Nenitzescu entre la perezona y las enamionas quirales **5-8** en cantidades equimolares utilizando ACN como disolvente y Cu(OAc)₂ H₂O como catalizador.

RESULTADOS

Tabla 1. Condiciones de reacción y propiedades FQ de enamionas **5-8**

	M. Convencional		M. Microondas			
Compuesto	T (h)	R(%)	T (min)	R (%)	P.f. (°C)	[α] _D en EtOH
5	72	93.2	30	82.99	124-125	+609.7 (c. 1.039)
6	144	21.9	10	98.92	NA	+701.2 (c. 1.032)
7	35	35.73	30	84.55	101-102	+430.1 (c. 1.060)
8	20	57.05	30	77.77	80-81	+579.3 (c. 1.095)

Tabla 2. Condiciones de reacción y propiedades FQ de 5-hidroxiindoles **10-13**

Compuesto	T (h)	R (%)	P.f. (°C)	[α] _D en EtOH
10	1	35.09	N/A	+13.33 (c. 0.055)
11	48	44.5	N/A	+12.63 (c. 0.095)
12	46	23.13	68-70	+63.23 (c. 0.068)
13	26	21.2	116-118	+42.37 (c. 0.059)

Los compuestos **10-13** fueron caracterizados por sus puntos de fusión, IR y RMN. En IR se observaron bandas características para C=O (1641, 1639, 1641 y 1638) cm⁻¹ respectivamente, en RMN ¹H se observan las señales para el protón quiral proveniente de la enamionas (5.07, 5.15, 5.74, 5.07) ppm, el protón vinílico (4.75, 5.09, 4.77, 4.68) ppm y el protón quiral proveniente de la perezona (3.09, 3.0, 3.46, 3.09) ppm respectivamente.

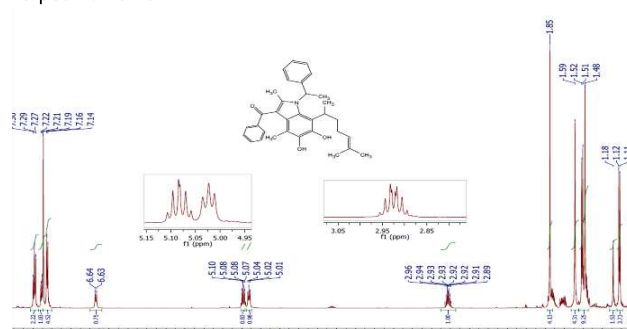


Figura 1. Espectro RMN del compuesto **13**

CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron cuatro enamionas quirales por método tradicional, así como síntesis asistida por microondas. El uso del microondas reduce considerablemente los tiempos de reacción, sin afectar el centro estereogénico.

Se sintetizaron y caracterizaron cuatro derivados indólicos de perezona, los cuales presentaron actividad óptica, por lo que se considera que no se alteran los centros estereogénicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceves, P. **2005**. Leopoldo Río de la Loza y su tiempo. La construcción de la Ciencia Nacional.
- Sánchez-Torres L., et.al. **2010**. *Phytomedicine*. 17:614-620.
- Lozada, M., et.al. **2012**. *Bioorg.Med.Chem.* 20:5077-5084.
- Patrick, J. Saunders, E. **1979**. *Tetrahedron Lett.* 20:4009-4012.
- Liu, Y., et.al. **2013**. *Synt. Commun.* 43:2475-2483.
- Engler, T., et.al. **1992**. *Tetrahedron Lett.* 33:6731-6734.
- Hajos, Z., Parrish, D. **1974**. *J. Org. Chem.* 39:1615.