



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE FARMACIA**

***DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE UN GRUPO  
DE PIRAZINOISOQUINOLINAS Y QUINOLINAS CON POSIBLE  
ACTIVIDAD ESQUISTOSOMICIDA Y LEISHMANICIDA  
RESPECTIVAMENTE***

**Lic. María Angelita Lorenzo Sarmiento**

**Caracas, Noviembre 2012**



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE FARMACIA  
POSTGRADO QUIMICA DE MEDICAMENTOS



***DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE UN GRUPO  
DE PIRAZINOISOQUINOLINAS Y QUINOLINAS CON POSIBLE  
ACTIVIDAD ESQUISTOSOMICIDA Y LEISHMANICIDA  
RESPECTIVAMENTE***

LIC. MARIA ANGELITA LORENZO

Trabajo presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela para optar al título de Doctor en Química de  
Medicamentos, opción Síntesis de Medicamentos

**TUTORES**

DR. CARLOS J. MÁRQUEZ M.  
DRA. MARIA LUISA SERRANO



## VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Farmacia y el Consejo de Estudios de Postgrado de la Universidad Central de Venezuela, para examinar la **Tesis Doctoral** presentada por la **Licenciada en Química MARÍA ANGELITA LORENZO**, C.I. V-7.949.844, bajo el título **“DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE UN GRUPO DE PIRAZINOISOQUINOLINAS Y QUINOLINAS CON POSIBLE ACTIVIDAD ESQUISTOSOMICIDA Y LEISHMANICIDA RESPECTIVAMENTE”**, a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **Doctor en Química de Medicamentos, Opción Síntesis de Medicamentos**, dejan constancia de lo siguiente:

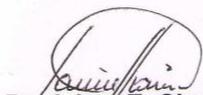
1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día **Miércoles 21 de Noviembre de 2012** a la **02:30 p.m.**, para que la autora lo defendiera en forma pública, lo que la autora hizo en el **aula 701, del 7mo. Piso** de la Facultad de Farmacia, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **aprobarla**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por la autora, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

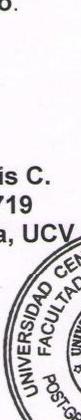
Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo representa una contribución en la lucha contra enfermedades tropicales huérfanas que actualmente afectan a la población más desasistida.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los **21** días del mes de **Noviembre** del año **2012**, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Tutor-Coordinador del jurado el Dr. Carlos Márquez

La presente Tesis Doctoral fue realizada bajo la Dirección del **Dr. Carlos Márquez** y la **Dra. María Luisa Serrano**.

  
**Dr. Jaime E. Charris C.**  
C.I. V- 11.556.719  
Facultad de Farmacia, UCV

  
**Dra. Beth Díaz**  
C.I.V- 5.206.565  
Facultad de Farmacia, UCV

  
**Dr. José Elías Villamizar**  
C.I. V- 7.952.471  
IVIC



  
**Dra. María Rodríguez**  
C.I. V- 6.970.861  
Facultad de Ciencias, UCV

  
**Dr. Carlos J. Márquez M,**  
Tutor-Coordinador  
C.I. V- 1.534.136  
UCV

Es. 31/10/2011.

## El ÉXITO está en ti....

...Si para alcanzar el éxito tienes que ser exigente con tu propia conducta,  
tomar medidas drásticas,  
asumir un espíritu severo y firme, ¡Hazlo!

Si para alcanzar el éxito tienes que despertar en horas de la madrugada  
o trabajar sin pausa de domingo a domingo, sin descanso,  
o someterte a una férrea disciplina de difíciles retos, ¡Hazlo!

Ten siempre presente que el éxito no cae del cielo,  
y que todo logro verdadero exige un sacrificio:  
haz todo lo necesario para superar las pruebas  
y los obstáculos que se presenten en tu camino,  
y podrás tener la certeza  
de que el éxito  
al final, será tu premio

*Anónimo*

“Comienza haciendo lo que es necesario, después lo que es posible y de repente estarás haciendo lo imposible”

*San Francisco de Asis*

“Todo debe hacerse lo más sencillo posible, pero no más simple”

*Albert Einstein*

A mi linda mamá, **Amelia**, y a mi hermano, **José Manuel**,  
por su amor, comprensión y por hacerme la vida tan sencilla.

Y a ti **Carlos**, por enseñarme la virtud de la paciencia  
y que existe más de un camino para llegar a la meta.



formar parte del grupo del Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Farmacia, UCV.

**A mis compañeros de trabajo:**

Al Dr. Oscar Noya, jefe de la Sección de Biohelmintiasis del Instituto de Medicina Tropical, UCV, por el apoyo recibido para realizar mis estudios de postgrado. Gracias por la confianza a lo largo de estos años, lo tendré siempre presente. También, no puedo dejar de mencionar a mis compañeras de sección: Sandra, Marilyn, Zuleima, Marielena y Caridad, por apoyarme cuando lo necesite y por los momentos compartidos. Un reconocimiento especial para mis compañeros químicos, Adriana y Henry por el apoyo incondicional recibido en estos años y poder “escaparme” de vez en cuando para poder avanzar en la parte experimental de mi tesis. No debo olvidar a Afrodita por su ayuda y mostrar interés en la evaluación biológica de los derivados y análogos de PZQ. Espero que sigas brindándome el apoyo que necesito en esta área.

**Al postgrado:**

A mis profesores de postgrado: M.Sc. Nury Rivero, M.Sc. Leong Kam lu (†), Dr. José Domingo Medina, Dr. Jaime Charris, Dra. Alírica Suárez, Dr. Masahisa Hasegawa (†), Dr. Reinaldo Compagnone y a la Dra. Zurilma Pérez por sus enseñanzas.

A mis compañeros del postgrado de Química de Medicamentos: Jenny, Jholeisa, Albin y Harold, por su amistad y por los momentos compartidos. Y a ti

Karina, gracias por tu amistad, consejos y ayuda desinteresada, y por mostrar interés por el trabajo que estaba desarrollando.

**Personal especializado e instituciones:**

A Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear del Centro de Química del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC, especialmente a la Lic. Liz Cubillan y la M.Sc. Ligia Llovera por tomar la mayor parte de los espectros de RMN de esta tesis. Así como, al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Facultad de Farmacia, UCV, a través de la Dra. Sara Pekerar por tomar algunos de los espectros de RMN y por su tiempo dedicado a la discusión de una de mis muestras más difícil de elucidar.

Al Lic. Alvaro Alvarez-Aular perteneciente al Laboratorio de Síntesis Orgánica y Productos Naturales del Centro de Química, IVIC, por poner a nuestra disposición el polarímetro para medir la rotación óptica de algunos compuestos de esta tesis.

A la Dra. Olinda Delgado, jefe de la Sección de Inmunoparasitología del Instituto de Medicina Tropical, UCV, y a su personal, la Lic. Mariana Rivas y la Dra. Carmen Durán por el apoyo recibido durante la evaluación biológica de los derivados quinolínicos en el área de Leishmaniasis. Gracias por sus esfuerzos y el tiempo dedicado a estos ensayos.

Al Dr. Peter Taylor, responsable del Laboratorio de Patología Celular y Molecular, Centro de Medicina Experimental, IVIC, por el cálculo de los valores de concentración inhibitoria 50.

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), por el financiamiento de esta tesis a través del proyecto de apoyo a grupos de investigación y desarrollo No. G-2005000397.

Y a todas aquellas personas, familiares y amigos, que me han apoyado a lo largo de mi vida personal y profesional.

## RESUMEN

La esquistosomiasis y la leishmaniasis son dos parasitosis con una alta incidencia en el mundo y con la menor cantidad de medicamentos disponibles para sus tratamientos. Para la esquistosomiasis, el praziquantel (PZQ) es la única droga que existe en los actuales momentos contra la enfermedad, mientras que, en el caso de la leishmaniasis, los antimoniales pentavalentes, empleados como drogas de primera línea, son altamente tóxicos o presentan problemas de resistencia. Por ello, esta tesis describe el diseño, la síntesis y los estudios de actividad biológica de un grupo de pirazinoisoquinolinas y quinolinas sustituidas con posible actividad esquistosomicida y leishmanicida respectivamente.

Luego de ensayar diversas vías, se logró la síntesis del PZQ y compuestos relacionados (quince compuestos) mediante una secuencia de cinco pasos, con rendimientos entre el 20% y el 60%. El PZQ se obtuvo en un 33%, con un exceso del enantiómero *levo*, mostrando ser más activo que el PZQ comercial (mezcla racémica). Los compuestos obtenidos, evaluados en cepas de *S. mansoni*, no mostraron ser más activos que el PZQ, a las dos concentraciones evaluadas. También, se cuantificó la relación entre la estructura química y la actividad biológica (QSAR) de derivados de PZQ reportados en la literatura.

En cuanto a los compuestos con posible actividad leishmanicida, también se ensayaron varios métodos de síntesis hasta lograr obtener veintidós quinolínas de los tipos 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alquildiamino con

rendimientos entre un 10 y un 70%. Los compuestos evaluados que mostraron una actividad prometedora en promastigotes de *L. mexicana* fueron la 2-metilquinolina y 6,7-metilendioxi-2-propil-quinolina. En cuanto a los estudios QSAR, no fue posible encontrar una ecuación representativa que relacionara la actividad biológica con la estructura química.

## ABSTRACT

Schistosomiasis and leishmaniasis are two parasitic diseases well spread in the world, and at the same time both have very few medications for their treatment. For schistosomiasis, praziquantel (PZQ) is the drug of choice for its treatment, while in the case of leishmaniasis, the pentavalent antimonials used as first line drugs are highly toxic or present resistance problems. This work describes the design, synthesis and biological activity studies of a group of pirazinoisoquinolines and substituted quinolines with a possible schistosomicidal and leishmanicidal activities, respectively.

After several intents, it was possible to synthesize PZQ and some related compounds (fifteen) through a sequence of five steps, with yields between 20 and 60%. PZQ was obtained with a yield of 33%, with a *levo* enantiomeric excess, and showed a better activity than the commercial compound. The related compounds obtained, evaluated against *S. mansoni* strains did not have an activity comparable to that of PZQ, at the concentrations evaluated. Quantitative structure–activity relationships (QSAR) studies were also performed with PZQ derivatives reported in the literature.

Several ways of synthesis were also probed for the possible leishmanicidal compounds proposed, until it was possible to obtain twenty two quinoline derivatives (of the type 2-methyl-, 2-propyl-, 4-methyl-2-propyl- and 2-alkyldiamino-), with yields between 10 and 70%. Of the compounds evaluated, two showed promising activity against *L. mexicana* promastigotes, 2-

methylquinoline and 6,7-methylenedioxi-2-propyl-quinoline. QSAR studies with these compounds did not yield a representative model for the set.

<b>Veredicto</b>	<b>ii</b>
<b>Dedicatoria</b>	<b>iv</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>v</b>
<b>Resumen</b>	<b>ix</b>
<b>Abstract</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Tablas y Figuras (Parte I)</b>	<b>xx</b>
<b>Lista de Tablas y Figuras (Parte II)</b>	<b>xxv</b>
<b>Lista de Esquemas</b>	<b>xxviii</b>
<b>Lista de Gráficas</b>	<b>xxx</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>xxxii</b>
<b>Introducción. Esquistosomiasis y Leishmaniasis</b>	<b>1</b>
<b>Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida</b>	
<b>1. Aspectos generales de la Esquistosomiasis</b>	<b>5</b>
1.1 Ciclo evolutivo y formas larvianas del <i>Schistosoma</i> spp	<b>6</b>
1.2 Epidemiología a Nivel Mundial y Nacional	<b>8</b>
1.3 Manifestaciones Clínicas y Diagnóstico	<b>9</b>
1.4 Tratamiento	<b>10</b>
<b>2. Quimioterapia de la esquistosomiasis</b>	<b>11</b>
2.1 PZQ	<b>12</b>
2.1.1 Otros blancos moleculares propuestos para el PZQ	<b>17</b>
2.1.2 Metabolismo del PZQ	<b>18</b>
2.1.3 Derivados y análogos de PZQ	<b>19</b>
2.2 Fármacos ensayados con actividad esquistosomicida	
2.2.1 Artemisinina y sus derivados	<b>23</b>
2.2.2 Oxaminiquina, OXA	<b>25</b>

<b>3. Diseño de derivados y análogos de PZQ, análisis retrosintético y modelado molecular</b>	
<b>3.1</b> Análisis de la relación estructura química-actividad biológica (SAR) de derivados y análogos de PZQ y diseño de nuevos derivados y análogos de los mismos	<b>27</b>
<b>3.2</b> Análisis retrosintético y síntesis previas de PZQ	
<b>3.2.1</b> Análisis retrosintético	<b>35</b>
<b>3.2.2</b> Síntesis previas	<b>36</b>
<b>3.3</b> Relación estructura química-actividad biológica cuantitativa (QSAR) como herramienta en el desarrollo de nuevos fármacos	
<b>3.3.1</b> Introducción al QSAR	<b>42</b>
<b>3.3.2</b> Etapas involucradas en el desarrollo de un modelo QSAR	<b>45</b>
<b>3.4</b> Predicción de la absorción <i>in vivo</i> : Regla de Lipinski y reglas de Veber	<b>57</b>
<b>4. Objetivo general y objetivos específicos</b>	<b>59</b>
<b>5. Materiales y Métodos</b>	
<b>5.1</b> Sección química	<b>61</b>
<b>5.1.1</b> Síntesis de intermediarios involucrados en la obtención de derivados y análogos de PZQ	<b>62</b>
<b>5.1.2</b> Síntesis de intermediarios involucrados en la preparación de derivados de fenetilamina	<b>111</b>
<b>5.2</b> Sección biológica. Evaluación biológica <i>in vitro</i> de la actividad esquistosomicida de derivados y análogos de PZQ en <i>S. mansoni</i>	<b>117</b>
<b>5.3</b> Sección modelado molecular. Estudio de la relación entre la estructura química-actividad biológica cuantitativa (QSAR) de una serie de derivados de PZQ	
<b>5.3.1</b> Programas computacionales y servidores web	<b>121</b>
<b>5.3.2</b> Selección de la serie de exploración	<b>122</b>
<b>5.3.3</b> Selección del conjunto de descriptores análisis QSAR	<b>123</b>

5.3.4	Proceso de selección de los descriptores para el modelado QSAR. Aproximación de algoritmo genético	126
5.3.5	Construcción del modelo QSAR. Análisis de regresión lineal simple y multivariada	127
5.3.6	Predicción de la actividad biológica de derivados y análogos de PZQ	128
5.3.7	Predicción <i>in silico</i> de propiedades ADME para derivados y análogos de PZQ	128
<b>6. Resultados y Discusión</b>		
6.1	Resultados y Discusión. Sección Química	
6.1.1	Síntesis de PZQ y sus derivados y análogos: <i>Síntesis I</i>	129
6.1.2	Otra estrategia propuesta en la obtención del núcleo pirazinoisoquinolínico	172
6.1.3	Síntesis de derivados de fenetilaminas: 3,4-metilendioxi y 2,3-diclorofenetilamina	174
6.2	Resultados y Discusión. Sección Biológica	178
6.3	Resultados y Discusión. Modelado Molecular	
6.3.1	Proceso de selección de la serie de exploración	182
6.3.2	Proceso de selección y obtención del conjunto inicial de descriptores	184
6.3.3	Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético	185
6.3.4	Desarrollo de los modelos QSAR, validación e interpretación	186
6.3.5	Propiedades ADME para derivados y análogos de PZQ	198
<b>7. Conclusiones y Recomendaciones</b>		
7.1	Conclusiones	202
7.2	Recomendaciones	205

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alquenil y 2-alkildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.**

<b>8. Aspectos generales de la Leishmaniasis</b>	<b>208</b>
8.1 Ciclo evolutivo de la <i>Leishmania</i> spp	209
8.2 Manifestaciones clínicas y diagnóstico	211
8.3 Epidemiología a nivel mundial y nacional	211
8.4 Tratamiento	212
8.5 Aspectos generales relacionados a la biología celular del parásito <i>Leishmania</i> spp. y su interacción con el sistema inmune del hospedador vertebrado	217
<b>9. Quimioterapia de la leishmaniasis</b>	
9.1 Identificación de posibles dianas en el diseño racional de fármacos leishmanicidas	224
9.2 Actividad biológica de 2-alkilquinolinas y compuestos relacionados y su utilidad en el tratamiento de la Leishmaniasis	225
<b>10. Diseño de derivados de 2-alkilquinolina y estrategias sintéticas</b>	
10.1 Análisis de la relación estructura química-actividad biológica (SAR) de 2-alkil y 2-alkenilquinolinas y diseño de nuevos derivados de los mismos	232
10.2 Métodos clásicos para la obtención de 2-alkilquinolinas	235
<b>11. Objetivo general y objetivos específicos</b>	239
<b>12. Materiales y Métodos</b>	
12.1 Sección química	241
12.1.1 Método A. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	242
12.1.2 Método B. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	253
12.1.3 Método A. Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolina	257
12.1.4 Método B. Síntesis de 2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	261

12.1.5 Método B. Síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	267
12.1.6 Síntesis de intermediarios para la obtención de 2-alquildiaminoquinolina	274
12.2 Sección biológica. Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad leishmanicida en promastigotes de <i>L. mexicana</i> de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas	279
12.3 Sección modelado molecular. Estudio de la relación cuantitativa entre la estructura química-actividad biológica (QSAR) de una serie de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina	
12.3.1 Programas computacionales y servidores web	282
12.3.2 Selección de la serie de exploración	282
12.3.3 Selección del conjunto de descriptores análisis QSAR	283
12.3.4 Proceso de selección de los descriptores para el modelado QSAR. Aproximación de algoritmo genético	286
12.3.5 Construcción del modelo QSAR. Análisis de regresiónlineal simple y multivariada	287
12.3.6 Predicción de la actividad biológica de derivados quinolínicos. Validación externa	288
12.3.7 Predicción <i>in silico</i> de propiedades ADME para derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina	288
<b>13. Resultados y Discusión</b>	
13.1 Resultados y Discusión. Sección química	289
13.1.1 Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	289
13.1.2 Síntesis de 2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o	306
13.1.3 Síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7	313
13.1.4 Síntesis de derivados del tipo 2-alquenil y 2-metilenaminoalquilamino quinolina sustituidas en posiciones 6 y/o 7	316
13.2 Resultados y Discusión. Sección Biológica	331

<b>13.3 Resultados y Discusión. Modelado Molecular</b>	
<b>13.3.1</b> Proceso de selección de la serie de exploración	<b>336</b>
<b>13.3.2</b> Proceso de selección y obtención del conjunto inicial de descriptores	<b>337</b>
<b>13.3.3</b> Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético	<b>338</b>
<b>13.3.4</b> Desarrollo de los modelos QSAR, validación interpretación	<b>340</b>
<b>13.3.5</b> Predicción <i>in silico</i> de propiedades ADME para derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina	<b>345</b>
<b>14. Conclusiones y Recomendaciones</b>	
<b>14.1</b> Conclusiones	<b>348</b>
<b>14.2</b> Recomendaciones	<b>351</b>
<b>15. Referencias</b>	<b>352</b>
<b>Anexo I.</b>	
<b>IA.</b> Verificación de la distribución normal de los datos de actividad biológica para los derivados de PZQ sintetizados por Liu et al	<b>373</b>
<b>IB.</b> Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético	<b>374</b>
<b>IC.</b> Valores de los descriptores para cada uno de los compuestos de la serie de entrenamiento para los tres conjuntos de descriptores seleccionados por la aproximación de algoritmo genético	<b>376</b>
<b>ID.</b> Espectros de RMN- <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C seleccionados Espectros: <b>1.46, 1.47, 1.48, 1.51, 1.61, 1.69, 1.1A, 1.1 PZQ sintético, PZQ comercial</b>	<b>378</b>
<b>Anexo II.</b>	
<b>IIA.</b> Verificación de la distribución normal de los datos de actividad biológica para los derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas	<b>400</b>

<b>IIB.</b> Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético (Nivel de teoría PM3)	<b>401</b>
<b>IIC.</b> Valores de los descriptores para cada uno de los compuestos de la serie de entrenamiento para tres conjuntos de descriptores seleccionados por la aproximación de algoritmo genético para el nivel de teoría PM3	<b>403</b>
<b>IID.</b> Porcentaje de viabilidad de promastigotes de <i>L. mexicana</i> expuestos a derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina	<b>404</b>
<b>IIE.</b> Espectros de RMN- <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C seleccionados Espectros: <b>2.33, 2.39, 2.49, 2.52, 2.54, 2.55, 2.63, 2.71, 2.72, 2.74, 2.75</b>	<b>405</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Tabla 1.1A</b>	Parámetros de bondad de ajuste en la RLM	<b>54</b>
<b>Tabla 1.1B</b>	Parámetros de bondad de ajuste en la RLM	<b>55</b>
<b>Tabla 1.2</b>	Definiciones de robustez y predictividad del QSAR	<b>56</b>
<b>Tabla 1.3</b>	Serie de exploración: Conjunto de derivados de PZQ seleccionados para el análisis	<b>122</b>
<b>Tabla 1.4</b>	Distribución por categoría y total del número de descriptores calculados para cada una de moléculas de la serie de exploración con <i>ProjectLeader</i> 6.01	<b>125</b>
<b>Tabla 1.5</b>	Síntesis de [(2,2-dietoxietil)amino]acetato de etilo, Ruta A	<b>132</b>
<b>Tabla 1.6</b>	Síntesis de 2-azido-1,1-dietoxietano	<b>135</b>
<b>Tabla 1.7</b>	Síntesis de aminoacetaldehído dietilacetal	<b>136</b>
<b>Tabla 1.8</b>	Síntesis de [(2,2-dietoxietil)amino]acetato de etilo, Ruta B	<b>137</b>
<b>Tabla 1.9</b>	Síntesis de [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo	<b>138</b>
<b>Tabla 1.10</b>	Síntesis de derivados [(2,2-dimetoxietil)amino]ésteres de etilo	<b>140</b>
<b>Tabla 1.11</b>	Síntesis de 3-azido-propanoato de etilo	<b>142</b>
<b>Tabla 1.12A</b>	Síntesis de <i>N</i> -[(ciclohexilcarbonil)(2,2-dimetoxietil amino]acetato de etilo	<b>144</b>
<b>Tabla 1.12B</b>	Síntesis de <i>N</i> -[(ciclohexilcarbonil)(2,2-dimetoxietil amino]acetato de etilo	<b>147</b>
<b>Tabla 1.13</b>	Síntesis de intermediarios del tipo amido éster acetal	<b>148</b>
<b>Tabla 1.14</b>	Saponificación de derivados del tipo amido éster acetal	<b>149</b>
<b>Tabla 1.15</b>	Síntesis de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina	<b>151</b>
<b>Tabla 1.16</b>	Síntesis de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de bencilamina	<b>154</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Tabla 1.17</b>	Ciclación de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina	<b>156</b>
<b>Tabla 1.18A</b>	Datos de RMN- <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de PZQ reportados en la literatura	<b>162</b>
<b>Tabla 1.18B</b>	Datos de RMN- <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de PZQ reportados en la literatura	<b>163</b>
<b>Tabla 1.19</b>	Ciclación de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de bencilamina	<b>170</b>
<b>Tabla 1.20</b>	Condiciones de reacción en la síntesis de derivados de β-nitroestireno	<b>175</b>
<b>Tabla 1.21</b>	Condiciones de reacción en la síntesis de derivados del fenilnitro	<b>176</b>
<b>Tabla 1.22</b>	Condiciones de reacción en la síntesis de derivados de fenetilamina	<b>177</b>
<b>Tabla 1.23</b>	Porcentaje de vermes de <i>S. mansoni</i> vivos después de 48 h de exposición a diferentes análogos de PZQ	<b>179</b>
<b>Tabla 1.24</b>	Porcentaje de vermes de <i>S. mansoni</i> vivos después de 48 h de exposición a los derivados y análogos de PZQ	<b>179</b>
<b>Tabla 1.25</b>	Resultados del análisis de regresión lineal simple y múltiple para el conjunto de descriptores moleculares	<b>187</b>
<b>Tabla 1.26</b>	Resultados del análisis de regresión lineal múltiple para el conjunto de descriptores químico-cuánticos	<b>188</b>
<b>Tabla 1.27</b>	Valores de descriptores, actividades observadas (experimental) y calculadas (calculado) para el mejor modelo QSAR, ecuación 1.17, de derivados de PZQ contra <i>S. mansoni</i>	<b>189</b>
<b>Tabla 1.28</b>	Resultados del análisis de regresión lineal simple para el conjunto de descriptores químico-cuánticos	<b>191</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Tabla 1.29</b>	Valor del descriptor sobre el átomo C8, actividades experimentales y calculadas para el mejor modelo QSAR, ecuación 1.20, de derivados de PZQ contra <i>S. mansoni</i>	<b>192</b>
<b>Tabla 1.30</b>	Resultados del análisis de regresión lineal multivariada con el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos	<b>193</b>
<b>Tabla 1.31</b>	Valores de descriptores, actividades observadas y calculadas para el mejor modelo QSAR, la ecuación 1.24, de derivados de PZQ contra <i>S. mansoni</i>	<b>194</b>
<b>Tabla 1.32</b>	Resultados del análisis de regresión lineal simple para el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos (1 descriptor)	<b>195</b>
<b>Tabla 1.33</b>	Resultados del análisis de regresión lineal multivariada para el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos (2 descriptores)	<b>195</b>
<b>Tabla 1.34</b>	Estimación de la actividad biológica de derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis empleando la ecuación 1.24	<b>197</b>
<b>Tabla 1.35A</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados y análogos de PZQ calculados por el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>198</b>
<b>Tabla 1.35B</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados y análogos de PZQ calculados por el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>199</b>
<b>Tabla 1.36A</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados y análogos de PZQ calculados con el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>199</b>
<b>Tabla 1.36B</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados de PZQ calculados con el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>200</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Figura 1.1</b>	Ciclo evolutivo del <i>Schistosoma</i> spp	<b>7</b>
<b>Figura 1.2</b>	Formas larvarias del <i>Schistosoma</i> spp	<b>7</b>
<b>Figura 1.3</b>	Distribución global de la esquistosomiasis de acuerdo a la prevalencia estimada por países	<b>9</b>
<b>Figura 1.4</b>	A) El PZQ está conformado por 4 anillos: A, B, C y D. B) Principales modificaciones realizadas sobre el núcleo pirazinoisoquinolínico indicadas por Seuber et al	<b>28</b>
<b>Figura 1.5</b>	Resumen de las diferentes modificaciones sobre el núcleo pirazinoisoquinolínico	<b>31</b>
<b>Figura 1.6</b>	Análisis retrosintético del PZQ	<b>35</b>
<b>Figura 1.7</b>	Etapas generales y específicas en el desarrollo de un modelo QSAR	<b>44</b>
<b>Figura 1.8</b>	Esquema general de un algoritmo genético	<b>50</b>
<b>Figura 1.9</b>	Ejemplo de una matriz de una correlación	<b>51</b>
<b>Figura 1.10</b>	Nomenclatura de los átomos seleccionado para la evaluación de los químico-cuánticos	<b>55</b>
<b>Figura 1.11</b>	Regla de seis aplicada a la reacción $SN_2$ entre el BADA y glicina metil éster	<b>134</b>
<b>Figura 1.12</b>	Estructuras de la 4-(ciclohexilcarbonil)-1-(2-feniletil)-3,4-dihidropirazin-2(1 <i>H</i> )-ona y de la 4-(ciclohexilcarbonil)-1-(2-feniletil)piperazin-2-ona	<b>158</b>
<b>Figura 1.13</b>	Comparación de los intermediarios sintetizados por Kim et al, en esta tesis y por Todd et al; e intermediario del tipo ión <i>N</i> -aciliminio	<b>159</b>
<b>Figura 1.14</b>	Secuencia de reacciones en la obtención del PZQ	<b>163</b>
<b>Figura 1.15</b>	Análisis estructural de los enantiómeros <i>S</i> -PZQ y <i>R</i> -PZQ	<b>166</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Figura 1.16</b>	Mecanismo propuesto para la inversión de configuración del enantiómero <i>S</i> -PZQ al <i>R</i> -PZQ	<b>167</b>
<b>Figura 1.17</b>	Acetilación de praziquanamina <b>1.89</b> con lipasas. Fuerte Efecto Nuclear Overhauser (NOE) (2-3 Å) de los dos rotámeros de acetilpraziquanamina reportados por Laurent et al	<b>169</b>
<b>Figura 1.18</b>	Mecanismo propuesto para la obtención del derivado <b>1.90</b>	<b>171</b>
<b>Figura 1.19</b>	Verme de <i>S. mansoni</i> relajado o extendido (A y B) y en copula (C).	<b>178</b>

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alqueniil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.**

<b>Tabla 2.1</b>	Serie de exploración: Derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina	<b>283</b>
<b>Tabla 2.2</b>	Distribución por categorías y el total del número de descriptores calculados para cada uno de los 14 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina con <i>ProjectLeader</i> 6.01	<b>286</b>
<b>Tabla 2.3</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de los $\beta$ -anilincrotonatos de etilo	<b>291</b>
<b>Tabla 2.4</b>	Condiciones de reacciones probadas para la obtención de 2-metil-4(1 <i>H</i> )-quinolonas	<b>293</b>
<b>Tabla 2.5</b>	Nuevas condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-metil-4(1 <i>H</i> )-quinolonas	<b>297</b>
<b>Tabla 2.6</b>	Intentos de transformación directa de 2-metil-4(1 <i>H</i> )-quinolonas a 2-metilquinolinas	<b>299</b>
<b>Tabla 2.7</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis 4-cloro-2-metilquinolinas	<b>300</b>
<b>Tabla 2.8</b>	Síntesis de 2-metilquinolinas	<b>302</b>
<b>Tabla 2.9</b>	Condiciones ensayadas para la hidrogenación de 4-cloro-2-metilquinolinas con sustituyentes halógeno en posición 6	<b>303</b>
<b>Tabla 2.10</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas	<b>304</b>
<b>Tabla 2.11</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de los enaminoésteres	<b>307</b>
<b>Tabla 2.12</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-propilquinolinas	<b>312</b>
<b>Tabla 2.13</b>	Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas	<b>314</b>

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alqueniil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.**

<b>Tabla 2.14</b>	Síntesis de derivados del tipo 4-metil-2-propilquinolina	<b>315</b>
<b>Tabla 2.15</b>	Condiciones de reacciones probadas en la obtención de quinolin-2-carbaldehído	<b>319</b>
<b>Tabla 2.16</b>	Condiciones de reacciones ensayadas en la obtención de 2-bromometil-quinolina	<b>322</b>
<b>Tabla 2.17</b>	Condiciones de reacciones en la obtención de 2-(bromo)metil-6,7-metilendioxiquinolina	<b>324</b>
<b>Tabla 2.18</b>	Condiciones de reacción en la obtención de 2-(bromo)metil-6-cloroquinolina	<b>327</b>
<b>Tabla 2.19</b>	Actividades <i>in vitro</i> de 14 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina contra promastigotes de <i>L. mexicana</i>	<b>331</b>
<b>Tabla 2.20</b>	Actividades <i>in vitro</i> de 8 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina conta promastigotes de <i>L. mexicana</i>	<b>332</b>
<b>Tabla 2.21</b>	Resultados del análisis de regresión lineal multivariada para el conjunto de descriptores químico-cuánticos por el nivel de teoría PM3 (2 y 3 descriptores)	<b>342</b>
<b>Tabla 2.22A</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados quinolínicos calculados por el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>345</b>
<b>Tabla 2.22B</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados quinolínicos calculados por el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>346</b>
<b>Tabla 2.23</b>	Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados quinolínicos calculados con el programa <i>Accord</i> para <i>Excel</i> (Accelrys)	<b>346</b>

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alquenil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.**

<b>Figura 2.1</b>	Ciclo evolutivo del <i>Leishmania</i> spp	<b>210</b>
<b>Figura 2.2A</b>	Distribución geográfica de la leishmaniasis visceral en el Viejo y Nuevo Mundo	<b>212</b>
<b>Figura 2.2B</b>	Distribución geográfica de leishmaniasis cutánea y mucocutánea en el Nuevo Mundo	<b>212</b>
<b>Figura 2.3</b>	Representación del proceso de fagocitosis	<b>220</b>
<b>Figura 2.4</b>	Representación de amastigotes de <i>Leishmania</i> dentro de la VP dentro del macrófago hospedador mamífero	<b>223</b>
<b>Figura 2.5</b>	Nomenclatura de los átomos seleccionados para la evaluación de los descriptores químico-cuánticos	<b>285</b>
<b>Figura 2.6</b>	Mezcla de productos aislados en R698	<b>326</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Esquema 1.1</b>	Síntesis de PZQ por Seubert et al	<b>36</b>
<b>Esquema 1.2</b>	Síntesis de PZQ por Roszkowski et al	<b>37</b>
<b>Esquema 1.3</b>	Síntesis de PZQ por Kim et al	<b>38</b>
<b>Esquema 1.4</b>	Reacción multicomponente de Ugi	<b>39</b>
<b>Esquema 1.5</b>	Síntesis de PZQ por Todd et al	<b>40</b>
<b>Esquema 1.6</b>	Síntesis de PZQ por El-Fayyoumy et al	<b>41</b>
<b>Esquema 1.7</b>	Esquema general de síntesis de PZQ, sus derivados y análogos	<b>130</b>
<b>Esquema 1.8</b>	Rutas ensayadas en la obtención de [(2,2-dialcoxietil)amino]ésteres de etilo	<b>131</b>
<b>Esquema 1.9</b>	Síntesis propuesta de 3-[(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo	<b>141</b>
<b>Esquema 1.10</b>	Mecanismo de reacción de la formación de enlace tipo amida mediada por una carbodiimida en presencia de HOBt	<b>145</b>
<b>Esquema 1.11</b>	Síntesis de <i>N</i> -(2-oxo-etil)- <i>N</i> -(ciclohexilcarbonil)aminoetanoato de etilo	<b>148</b>
<b>Esquema 1.12</b>	<i>Síntesis II</i> . Esquema sintético para la obtención del PZQ	<b>173</b>
<b>Esquema 1.13</b>	<i>Síntesis IIA</i> . Esquema sintético para la obtención del PZQ	<b>173</b>
<b>Esquema 1.14</b>	Esquema sintético utilizado en la obtención derivados de fenetilamina	<b>174</b>

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alquenil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.**

<b>Esquema 2.1</b>	Síntesis de Doebner-vonMiller	<b>236</b>
<b>Esquema 2.2</b>	Síntesis de Combes	<b>237</b>
<b>Esquema 2.3</b>	Síntesis de Conrad-Limpach	<b>237</b>
<b>Esquema 2.3A</b>	Síntesis de 2-metilquinolina	<b>238</b>
<b>Esquema 2.4</b>	Método A. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 6,7	<b>290</b>
<b>Esquema 2.5</b>	Método B. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 6,7	<b>290</b>
<b>Esquema 2.6</b>	Obtención de $\beta$ -anilicrotonato y anilida a partir de anilina y acetoacetato de etilo	<b>295</b>
<b>Esquema 2.7</b>	Mecanismo propuesto para la formación del 1,3-bis(4-metoxifenil)urea	<b>296</b>
<b>Esquema 2.8</b>	Síntesis del 3-oxohexanoato de etilo	<b>307</b>
<b>Esquema 2.9</b>	Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolin-4(1 <i>H</i> )-ona	<b>309</b>
<b>Esquema 2.10</b>	Síntesis de la 4-cloro-6,7-dimetoxi-2-propil quinolina y 6,7-dimetoxi-2-propilquinolina	<b>310</b>
<b>Esquema 2.11</b>	Síntesis de (3 <i>E</i> )-hept-3-en-2-ona	<b>313</b>
<b>Esquema 2.12</b>	Intermediarios involucrados en la síntesis de derivados del tipo 2-alquenil y 2-alquildiaminoquinolina	<b>316</b>

**Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

<b>Gráfica 1.1</b>	Gráfica de puntos de valores de actividad biológica expresada en $pCE_{50}$	<b>183</b>
<b>Gráfica 1.2</b>	A) Gráfica de dispersión entre los valores de $pCE_{50}$ experimentales y calculados para la ecuación 1.17 B) Gráfica de dispersión entre los valores residuales y $pCE_{50}$ calculados	<b>190</b>
<b>Gráfica 1.3</b>	A) Gráfica de dispersión entre los valores de $pCE_{50}$ experimentales y calculados para la ecuación 1.20 B) Gráficas de dispersión entre los valores residuales y $pCE_{50}$ calculados	<b>192</b>
<b>Gráfica 1.4</b>	A) Gráfico de dispersión entre los valores de $pCE_{50}$ experimentales y calculados para la ecuación 1.24 B) Gráficas de dispersión entre los valores residuales y $pCE_{50}$ calculados	<b>194</b>
<b>Gráfica 1.5</b>	Gráfica comparativa de los valores de $pCE_{50}$ calculados y el valor experimental de los mejores modelos QSAR para los tres conjuntos de descriptores	<b>196</b>
<b>Gráfica 1.6</b>	Gráfica de las propiedades ADME _AlogP98 versus ADME_PSA_2D de derivados y análogos de PZQ	<b>201</b>
<b>Gráfica 1.7</b>	Gráfica de las propiedades ADME _AlogP98 versus ADME_PSA_2D de derivados de PZQ sintetizados por Liu et al	<b>202</b>

**Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil, 2-alquenil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7**

<b>Gráfica 2.1</b>	Gráfica de puntos de valores de actividad biológica de derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas expresados en $pCl_{50}$ obtenida con el programa <i>Minitab 16</i>	<b>336</b>
<b>Gráfica 2.2</b>	Gráfica de las propiedades ADME _AlogP98 versus ADME_PSA_2D de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas	<b>347</b>

**A**

AADA	Aminoacetaldehído dimetil acetal
AcOEt	Acetato de etilo
AE	Afinidad electrónica
AM1	Modelo 1 de Austin
ASP	Area de superficie polar

**B**

Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
Bn	Bencilo
BADA	Bromoacetaldehído dimetil acetal

**C**

c	cuarteto
CAN	Nitrato de amino cérico
CC	Cromatografía de columna
CCF	Cromatografía de capa fina
CCP	Cromatografía de capa preparativa
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CDF	Cloruro de difenilfosfinilo
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Hexano
Chx	Ciclohexilo
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
COSY	Correlación espectroscópica

**D**

d	doblete
dd	doblete de dobletes
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano

DEPT Incremento por transferencia de polarización

DIC *N,N'*-Diisopropilcarbodiimida

DIPEA Diisopropiletilamina

DIPU Diisopropilurea

DMF Dimetilformamida

DMSO Dimetilsulfóxido

**E**

EtOH Etanol

Et<sub>2</sub>O Éter dietílico

IES Ionización *Electro Spray*

EM Espectro de masas

EIR Espectroscopía Infrarroja

eqv Equivalentes

**F**

Fmoc 9-Fluorenilmetoxicarbonilo

F<sup>-</sup> Densidad orbital frontera electrofílica

F<sup>+</sup> Densidad orbital frontera nucleofílica

F<sup>·</sup> Densidad orbital frontera radical

**H**

h hora(s)

HOBt 1-hidroxibenzotriazol

HMQC coherencia heteronuclear cuántica múltiple

HMBC correlación heteronuclear a larga distancia

HOAc Ácido acético

IR	Espectroscopia de Infrarrojo	PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
IPA	Isopropanol	ppm	Partes por millón
<b>J</b>		ps	picosegundos
J	Constante de acoplamiento	PTSA	Acido <i>p</i> -toluensulfónico
<b>L</b>		PZQ	Praziquantel
lp <sup>2</sup>	Libras por pulgada al cuadrado	<b>Q</b>	
<b>M</b>		<i>q</i>	Carga parcial
m	Múltiplete	<b>R</b>	
MeCN	Acetonitrilo	R	Rendimiento
MeOH	Metanol	Rf	Factor de retención
min	minuto(s)	RM	Refractividad molar
MHz	Megahertz	RMN	Resonancia magnética nuclear
m/z	Relación masa carga	RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia magnética de protones
<b>N</b>		RMN- <sup>13</sup> C	Resonancia magnética de carbono 13
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida	<b>S</b>	
ND	No determinado	s	singlete
nm	nanómetro	sa	singlete ancho
<b>O</b>		sxt	sextuplete
OPPh <sub>3</sub>	Óxido de trifenilfosfina	S <sup>+</sup>	Suceptibilidad a nucleófilo
<b>P</b>		S <sup>·</sup>	Suceptibilidad a radical
PDB	Peróxido de dibenzoilo	<b>T</b>	
Pf	Punto de fusión	t	triplete
Ph	Fenilo	T	Tiempo
Ph <sub>2</sub> O	Difeniléter	TEA	Trietilamina
PM	Peso molecular	TFA	Ácido trifluoroacético
PM3	Modelo de Parametrización 3	THF	Tetrahidrofurano

TMS Tetrametilsilano

Tol Tolueno

## U

uma unidad de masa atómica

## Misceláneos

$^1\chi$  Índice de conectividad orden 1

$^2\chi$  Índice de conectividad orden 2

Kier 1 Índice de conectividad valencia  
orden 1

Kier 2 Índice de conectividad valencia  
orden 2

$^1K$  Índice de forma orden 1

$^2K$  Índice de forma orden 2

$^3K$  Índice de forma orden 3

## **La Esquistosomiasis y la Leishmaniasis.**

Las enfermedades parasitarias son las más difundidas de todas las enfermedades humanas principales afectando a tres mil millones de personas en todo el mundo, incluyendo grupos poblacionales de todas las edades y sexos. Las cifras de infección varían de acuerdo con las características ecológicas, humanas y sociales. El presente trabajo de investigación, se centró en dos enfermedades parasitarias de alta prevalencia en el mundo después de la Malaria como son la Esquistosomiasis y la Leishmaniasis.

La **Esquistosomiasis** es una enfermedad endémica de diferentes zonas del mundo producida por el parásito del género *Schistosoma*. La propagación de esta enfermedad depende de, la presencia del individuo infectado que elimina huevos en sus heces, la existencia de hospedadores intermediarios y el contacto de personas susceptibles con aguas que contengan cercarias. La especie *S. mansoni* es la única que afecta a Venezuela (1).

La intensidad de los daños que causa *S. mansoni* en el hombre está determinada por la agresión de sus diferentes formas evolutivas y por las respuestas del hospedador. Las formas adultas del parásito viven en el sistema venoso portal y mesentérico sin ser destruidas por el organismo, ocasionando flebitis y/u obstrucción de los pequeños vasos. Los huevos de *S. mansoni* ocasionan las principales acciones patogénicas. Cuando la enfermedad se encuentra en fase aguda hay congestión y crecimiento del hígado y del bazo (2).

La **Leishmaniasis**, también constituye una compleja enfermedad parasitaria causada por hemoflagelados del género *Leishmania* spp., que se observa en regiones tropicales y subtropicales del mundo, con una incidencia estimada de dos a tres millones de casos por año y una prevalencia de doce millones de casos en la población mundial (3). Es una enfermedad transmitida por un insecto del género *Phlebotomus* (en el viejo mundo) o *Lutzomyia* (en el nuevo mundo) (2). El insecto (vector) necesita alimentarse de sangre para completar el desarrollo de sus huevos. Al alimentarse inocula los parásitos al hospedador en formas inmaduras (promastigotes) que luego se desarrollan en la piel u órganos hasta pasar a la forma verdaderamente infectiva (amastigotes) (4).

En Venezuela, la leishmaniasis es un serio problema de salud pública. Durante el período 1970-2004, se observó un incremento continuo inter-anual de nuevos casos. Las manifestaciones más frecuentes son la leishmaniasis cutánea y mucocutánea, mientras que la leishmaniasis visceral es menos frecuente (5). Actualmente, alarma el fuerte aumento de los casos de leishmaniasis visceral (forma mortal de la enfermedad) debido a la emergencia de coinfecciones con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (6).

De acuerdo a un análisis realizado por Pecoul et al (7), de 1233 nuevas drogas identificadas que han alcanzado el mercado entre 1975 y 1997, únicamente trece han sido aprobadas para el tratamiento de enfermedades tropicales. De estas trece, únicamente el praziquantel (PZQ) ha sido aceptado

para el tratamiento de la esquistosomiasis mientras que la anfotericina B liposomal y miltefosina para el tratamiento de la leishmaniasis.

El PZQ es activo contra todas las formas de esquistosomiasis humanas y animales, pero a diferentes dosis para cada especie. Es la única droga recomendada por la OMS para el tratamiento y control de la esquistosomiasis en programas de administración de drogas en masa (8). A pesar del tiempo que ha pasado desde su introducción, no está claro todavía a que se debe la selectividad y efectividad del PZQ. Se ha descrito resistencia inducida del *Schistosoma* spp. al PZQ siendo de vital importancia el desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos (9). Según la OMS (10), más de 230 millones de personas necesitan tratamiento contra la esquistosomiasis cada año. Además, el número de personas tratadas contra la esquistosomiasis aumentó de 12.4 millones en 2006 a 33.5 millones en 2010.

Los fármacos utilizados en el tratamiento de la leishmaniasis tales como stibogluconato de sodio (Pentostam®), antimoniato de meglumina (Glucantime®), pentamidina (Pentacarinat®), anfotericina B (Fungizona®) y anfotericina B liposomal (AmBisoma®) no son activos oralmente y requieren administración parenteral (11). Debido a su cardiotoxicidad y toxicidad renal, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas drogas.

## **Parte I.**

**Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

## Parte I. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.

### 1. Aspectos generales de la Esquistosomiasis.

La **Esquistosomiasis**, también denominada Bilharziasis, es una enfermedad endémica de diferentes zonas del mundo **producida por el parásito *Schistosoma***. Se trata de **un helminto tremátodo digenético** (de sexos separados) de la familia Schistosomatidae que parasita al hombre y otros vertebrados. Las tres principales especies de esquistosoma que parasitan al hombre son: **A) *S. mansoni***, determina una infección denominada **Esquistosomiasis Mansonii** o intestinal debido a la localización de los parásitos en las vénulas del intestino grueso y sobre todo en el recto **B) *S. haematobium***, habita en las venas vesicales (plexos vesicales) del hospedador ocasionando manifestaciones urinarias como disuria, poliuria y hematuria, y algunos pacientes presentan síndrome disentérico y **C) *S. japonicum***, tiene las mismas características biológicas, patogénicas y clínicas de *S. mansoni*, pero en la mayoría de los casos la clínica es más grave (1, 2).

El huésped intermedio del *S. mansoni* es un caracol del género *Biomphalaria*, el cual es muy extenso. En Venezuela, se observan tres especies de *Biomphalaria*: *B. glabrata*, *B. straminea*, *B. prona*. La *B. glabrata* es el intermediario responsable de la transmisión de la esquistosomiasis en el área endémica, la cual ha sido tradicionalmente ubicada en la región norte-central del país (12).

### 1.1 Ciclo evolutivo y formas larvarias del *Schistosoma* spp.

El ciclo de vida del *Schistosoma* spp. se inicia de la siguiente manera (2) (Figuras 1.1 y 1.2):

**1)** Después de atravesar la mucosa intestinal, los **huevos** de *Schistosoma* spp. son eliminados con las heces del hombre y de otros animales. **2 y 3)** En contacto con el agua y bajo condiciones favorables de temperatura, luminosidad y salinidad, los huevos se rompen dejando en libertad el **miracidio**, larva ciliada que tiene aproximadamente 24 horas de vida libre. Nada activamente en busca de su hospedador intermedio, un caracol, al cual penetra por sus partes descubiertas, de preferencia las bases de las antenas, cabeza o pie. **4)** Después de la penetración, el miracidio se transforma en un **esporoquiste primario**. A partir del cuarto día, se forman los **esporoquistes secundarios**, los cuales migran para alojarse en el hepatopáncreas. **5)** En la glándula digestiva, sufren modificaciones acentuadas y se forman las **cercarias** de cola bifurcada, las cuales por medio del estímulo de la luz y el calor, son eliminadas en agua. Estas abandonan su hospedador invertebrado y permanecen nadando en el agua, casi siempre en dirección a la superficie pudiendo sobrevivir entre 24 y 48 horas, y al encontrar el hospedero definitivo, el hombre u otros animales vertebrados, lo penetran activamente a través de la piel o de las mucosas. Las **cercarias constituyen una forma infectante para el hombre y otros vertebrados**. **6 y 7)** Durante la penetración, las cercarias pierden la cola y se transforman en **esquistosómulos, última forma larvaria del parásito**. **8, 9 y 10)** Por la circulación sanguínea, estas larvas llegan al corazón, pulmones e hígado, para alojarse finalmente, a partir del trigésimo día

en las venas mesentéricas del sistema porta, donde maduran sexualmente y comienzan la postura de huevos. Solamente los que llegan al sistema porta intrahepático pueden completar su desarrollo y alcanzar una fase adulta.

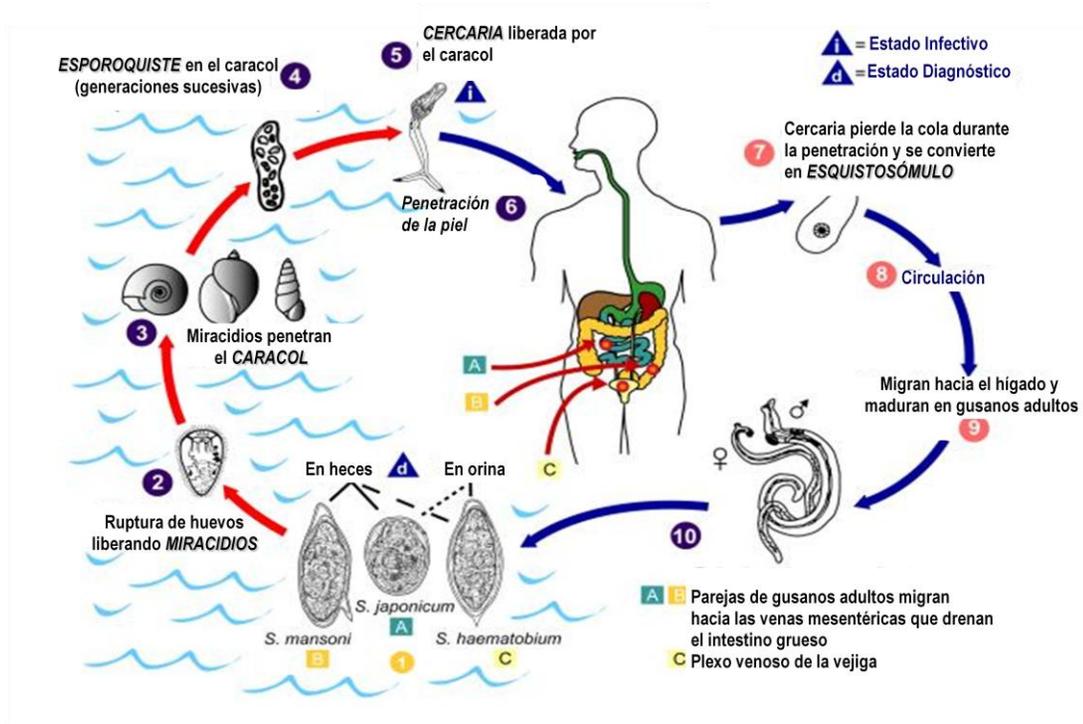


Figura 1.1 Ciclo evolutivo del *Schistosoma* spp. (13).

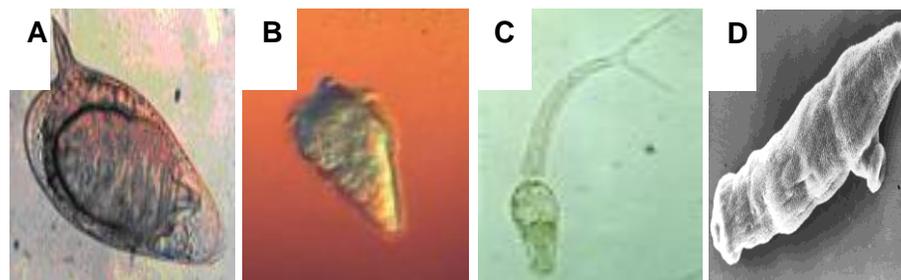


Figura 1.2 Formas larvales del *Schistosoma* spp.: A) Huevo, B) Miracidio, C) Cercaria y D) Esquistosómulo.

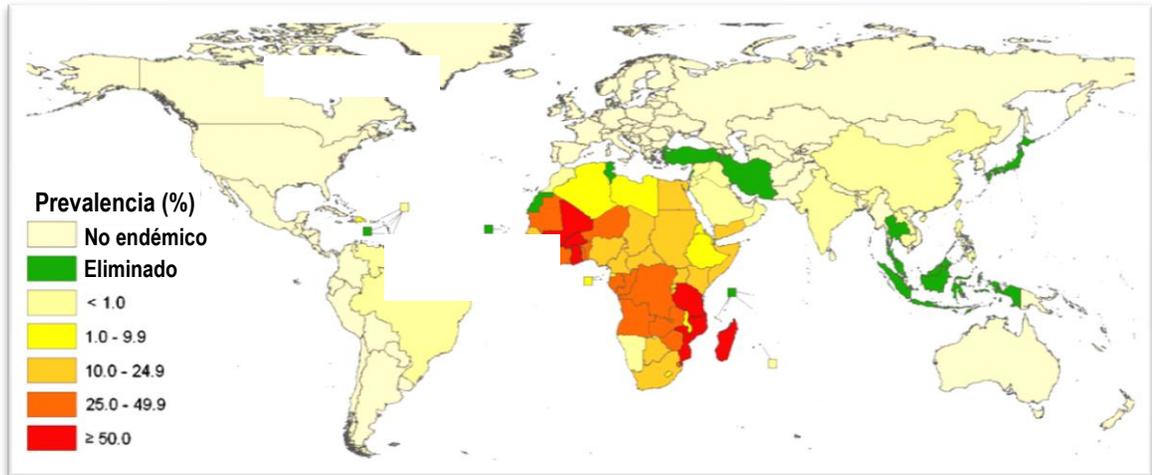
El desplazamiento de los vermes se hace por movimientos de extensión y contracción del cuerpo, sirviendo las ventosas y, en cierta medida, los tubérculos del tegumento como elementos de fijación y apoyo (2).

La nutrición de los esquistosomas es asegurada por la ingestión de sangre venosa. De la hemoglobina, los vermes utilizan apenas la globina que es hidrolizada, rechazando la fracción hemina que se acumula posteriormente en los macrófagos del hígado y el bazo del hospedador. También, los vermes acumulan reservas de glicógeno, siendo de 3 a 4 veces más abundante en el macho que en las hembras (2).

La longevidad del parásito adulto depende de la cepa, la intensidad de la infección y de las características individuales del hospedador, especialmente su respuesta inmunológica, sin embargo, pueden llegar a vivir hasta 20 años (2).

## **1.2 Epidemiología a Nivel Mundial y Nacional.**

La esquistosomiasis es prevalente en las regiones tropicales y subtropicales. Se estima que en el mundo hay más de 207 millones de personas infectadas, y se calcula que hay 700 millones en riesgo de contraer la enfermedad en 74 países endémicos, debido a la exposición a aguas infestadas durante sus actividades agrícolas, domésticas o recreativas. Los hábitos higiénicos y las actividades lúdicas hacen que los niños sean especialmente vulnerables a la infección, y en muchas zonas está infectada una gran proporción de niños en edad escolar (Figura 1.3) (10).



**Figura 1.3** Distribución global de la esquistosomiasis de acuerdo a la prevalencia estimada por países (14).

La historia de la esquistosomiasis en Venezuela comienza en 1905 cuando se describió el primer caso humano. En 1946, el área endémica fue estimada en 7000 km<sup>2</sup> de la región norte central del país, formada por los estados Vargas, Miranda, Aragua, Carabobo y Norte de Guárico. La mayoría de los casos no son registrados, motivado a que ésta no es una enfermedad de denuncia obligatoria (12).

### 1.3 Manifestaciones Clínicas y Diagnóstico.

Los síntomas de la esquistosomiasis son causados por la reacción del organismo a los huevos del gusano, y no por el gusano en sí mismo (10). A pesar de la gravedad que las lesiones esquistosómicas pueden alcanzar, la mayoría de los pacientes presentan cuadros benignos. La forma intestinal es la más frecuente. La *Esquistosomiasis mansoni* puede ser asintomática, aguda y crónica (1).

La forma de diagnóstico más común es la parasitológica, es decir, la detección directa de huevos de esquistosoma en la orina (*S. haematobium*) y en muestras de heces (*S. mansoni* y *S. japonicum*) bajo un microscopio. Las técnicas serológicas e inmunológicas pueden ser útiles para detectar la infección en personas residentes en zonas no endémicas o de baja transmisión. Otras técnicas de diagnóstico están en desarrollo (10, 14-16).

#### **1.4 Tratamiento.**

La prevención y el control de la esquistosomiasis se basan en la quimioprofilaxis, el control de los caracoles, la mejora del saneamiento y la educación sanitaria. La estrategia de la OMS para controlar la esquistosomiasis se centra en la reducción de los casos de enfermedad mediante el tratamiento periódico y focalizado con la droga de elección para todas las formas de esquistosomiasis, o sea, el PZQ. La frecuencia del tratamiento depende de la prevalencia de la infección. En zonas con mucha transmisión, el tratamiento puede tener que repetirse anualmente durante varios años (10).

El PZQ es una droga segura y eficaz. Su principal ventaja es que puede ser administrado por vía oral como dosis única, siendo absorbido rápidamente. La principal desventaja es su ineficacia contra las formas juveniles del parásito (17). También, ha mostrado ser efectiva contra otras infecciones parasitarias tales como tremátodos y céstodos que infectan animales domésticos, por lo que el PZQ es considerado un antihelmíntico de amplio espectro (18). El

mecanismo de acción del PZQ es incierto, aunque la mayoría de la evidencia apunta hacia la perturbación de la homeostasis de calcio (19).

La Oxamniquina (OXA), comercializada con el nombre del *Mansil®* fue descrita y producida por síntesis biológica a finales de la década de los 60 y demostrada su actividad esquistosomicida contra *S. mansoni*, pero es menos terapéutica contra *S. haematobium* y *S. japonicum*. Al igual que con el PZQ, los gusanos adultos son más afectados por OXA que las formas juveniles del parásito. Es la droga de elección empleada en Brasil (20).

## 2. Quimioterapia de la esquistosomiasis.

Desde hace mucho tiempo, las drogas antimoniales fueron utilizadas en el tratamiento de la esquistosomiasis. El fármaco más representativo fue el tartrato de antimonio-potasio. Con el transcurso de los años, una variedad de diferentes compuestos menos tóxicos han desplazado al primero. Revisiones publicadas por Harder (21) y Ribeiro-dos-Santos et al (22) agruparon las drogas de acuerdo a sus efectos metabólicos conocidos en el parásito:

**A)** *Estructura y función de la membrana*, produciendo daño en el tegumento del parásito (PZQ y Ro-113128).

**B)** *Metabolismo de carbohidratos* (Compuestos de antimonio y derivados de nitrofuranos).

**C)** *Inhibición de la síntesis de proteínas y función de las mismas* (derivados de artemisinina, cloroquina y derivados quinolínicos, entre otros). Dentro del mismo grupo, otras drogas afectan la elongación o plegamiento de

la cadena peptídica o interfieren en la fosforilación de la proteína (Emetina y cisclosporina A).

**D) Metabolismo de ácidos nucleicos (OXA, niridazol y tubercidina).** A excepción de OXA, la mayoría presentan una toxicidad elevada.

**E) Otras clases de drogas** afectan diferentes funciones del parásito, tales como, la neurotransmisión y oviposición.

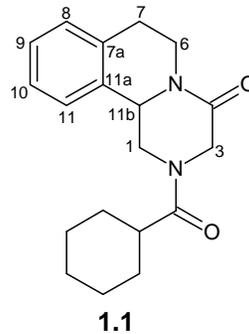
En la mayoría de los casos, sus mecanismos de acción son desconocidos. La revisión citada provee información de ensayos en humanos y animales, así como, toxicidad, acción terapéutica y susceptibilidad de diferentes especies de *Schistosoma* spp.

A continuación, se describirán los compuestos más utilizados en el tratamiento de la esquistosomiasis, así como, aquellos compuestos todavía en desarrollo que han mostrado resultados muy alentadores pero que todavía están en fase de estudio. Esta revisión comenzará con el compuesto más valorado para tratar esta enfermedad, que es, el PZQ.

## **2.1 PZQ.**

El PZQ **1.1** es una pirazino[2,1-a]tetrahidroisoquinolina, específicamente la 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona. La actividad antiparasitaria del sistema pirazinoisoquinolínico fue observada a principios de los años 1970 en los Laboratorios Bayer (Alemania). Luego, los Laboratorios Merck sintetizaron una gran cantidad de derivados pirazinoisoquinolínicos que fueron ensayados como tranquilizantes (17). Un

acuerdo entre las dos compañías permitió el ensayo de todos estos compuestos *in vivo* como antihelmínticos (23). De todos los compuestos ensayados, el denominado EMBAY 8440 o PZQ presentó la mayor actividad contra tremátodos y céstodos, cuyos resultados fueron publicados en 1977 (17).



El PZQ posee un centro asimétrico en la posición 11b. La preparación comercial es una mezcla racémica, levo o *R* (-) y dextro o *S* (+). Únicamente el enantiómero levo posee actividad esquistosomicida *in vitro* e *in vivo* (17, 20, 24). Los dos enantiómeros tienen esencialmente la misma toxicidad, encontrándose que pacientes tratados con 20 mg/Kg del *R*-PZQ tienen la misma velocidad de cura pero menos efectos colaterales que los pacientes tratados con 40 mg/Kg de la mezcla racémica (17).

El PZQ tiene diferentes efectos sobre las etapas de desarrollo del esquistosoma. Una excelente revisión al respecto fue realizada por Wu et al (25). El PZQ puede matar gusanos adultos efectivamente, además de miracidios y cercarias rápidamente, pero tiene poco o ningún efecto sobre los huevos (26), esporoquistes o esquistosómulos.

El efecto más obvio que puede ser observado en los esquistosomas expuestos a la droga (*in vitro* o *in vivo*) es una parálisis espástica de la musculatura del gusano. Esta contracción es acompañada y probablemente causada por un rápido flujo de iones  $\text{Ca}^{2+}$  hacia el interior del esquistosoma, alterando la homeostasis de calcio. Esto trae como consecuencia un desplazamiento de los esquistosomas desde las venas mesentéricas hacia el hígado (19, 25). Este trastorno de la homeostasis de  $\text{Ca}^{2+}$  provoca una cascada de eventos que eventualmente permiten la eliminación de los parásitos adultos del hospedador.

Una variedad de hipótesis han sido propuestas en relación al posible blanco que media la toxicidad del PZQ en esquistosomas, estando entre las más citadas, la captura de adenosina (27), unión del PZQ a la actina (28) y a la cadena ligera de la miosina (29), inhibición de la glutatona S-transferasa (30) y estimulación de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  operados por voltaje ( $\text{Ca}_v$ ).

Los  $\text{Ca}_v$  son importantes reguladores de la homeostasis de  $\text{Ca}^{2+}$  y proveen la vía para la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  iniciando procesos de excitación-contracción, excitación-secreción y otros procesos dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  en músculos, nervios y otras células excitables (31).

Se ha reportado a los  $\text{Ca}_v$  como posibles blancos moleculares del PZQ, específicamente las subunidades  $\beta$  de estos canales. Una estructura simplificada de un  $\text{Ca}_v$  fue publicada por Greenberg (31). Estos canales deben

ser farmacológicamente distintos de los  $Ca_v$  del hospedador, de otra forma, el PZQ sería tóxico al mismo y no sería efectivo terapéuticamente. La intensidad del daño tegumental causado por el PZQ dependerá de la dosis y el tiempo después del tratamiento (32).

Los resultados publicados por Pica-Mattocchia et al (33) sugirieron que la acumulación de  $Ca^{2+}$  por sí misma, en parásitos mantenidos *in vitro*, no es una explicación suficiente para el efecto esquistosomicida del PZQ, es decir, no hay correlación entre el flujo de  $Ca^{2+}$  hacia el parásito y la muerte del parásito.

La supervivencia del parásito en el hospedador es mediada por mecanismos que operan en el **tegumento** como un resultado de la maduración del parásito. El principal daño que sufre el esquistosoma al ser expuesto al PZQ es en el tegumento. El tegumento es la superficie externa del parásito que además de protegerlo de las condiciones adversas en el hospedador (evasión del sistema inmune), permite la absorción de ciertos nutrientes y la excreción de algunos productos metabólicos, control de la motilidad y el control de gradientes osmóticos y electroquímicos. La capa más externa del tegumento en *S. mansoni* es una doble bicapa lipídica. Esta bicapa es mudada periódicamente, sobre todo en aquellas áreas que están dañadas. La membrana externa del tegumento tiene muchas invaginaciones (hoyos o huecos superficiales) que tienen el efecto de incrementar el área superficial del parásito al menos diez veces. Esto provee al parásito una mayor oportunidad de absorber nutrientes (glucosa obtenida del hospedador vertebrado, aminoácidos y colesterol). Una

descripción detallada de la estructura del tegumento y cambios en su maduración fue publicado por Abath et al (34).

Las principales alteraciones morfológicas que pueden ser observadas en el tegumento del parásito son vacuolización en la base del sincitio tegumental y vesiculación de la superficie, afectando las funciones de absorción, excreción y secreción del gusano. También, se ha observado que el esquistosoma puede recuperarse del daño causado por el PZQ (25).

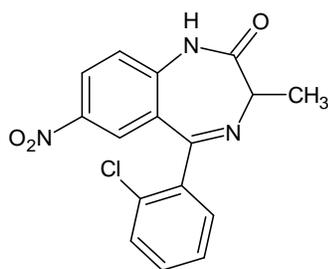
Parte de la función del tegumento es la de permitir que el parásito evada el sistema inmune del hospedador mediante un mecanismo conocido como **mimetismo antigénico**. Los antígenos adquiridos del hospedador o sintetizados endógenamente por el parásito e incorporados sobre la superficie del parásito protegen al mismo contra la respuesta inmune del hospedador (18).

La mayoría de las drogas esquistosomicidas requieren de una respuesta inmunológica apropiada por parte del hospedador para desarrollar su actividad esquistosomicida, por lo tanto, la respuesta inmune del hospedador es necesaria para su efecto letal (32, 35-38).

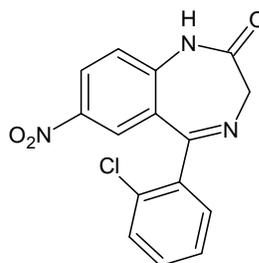
También, una vía por la cual los esquistosomas puedan evadir la respuesta inmune es por un continuo cambio o muda de la superficie, particularmente en las áreas dañadas. Por otro lado, existen una serie de moléculas moduladoras y proteasas que confieren al parásito protección contra el sistema inmune del hospedador (34).

### 2.1.1 Otros blancos moleculares propuestos para el PZQ.

Recientemente, Angelucci et al (27) reportaron un efecto desconocido hasta ahora para el PZQ que consistió en la inhibición de la captación del nucleósido adenosina en gusanos vivos. Esto resulta interesante ya que el esquistosoma no puede sintetizar purinas *de novo*. Los autores establecieron una posible relación entre este efecto y el que produce el PZQ sobre los  $Ca_v$  pues la adenosina se une a receptores específicos comportándose como un antagonista indirecto de la liberación de  $Ca^{+2}$  en células de mamíferos. Inicialmente, el PZQ fue desarrollado como ansiolítico ya que compartía alguna semejanza con las benzodiazepinas Ro 11-3128 **1.2** y clonazepam **1.3**. Estas últimas mostraron actividad esquistosomicida induciendo en el gusano efectos anatómo-fisiológicos similares a los observados con el PZQ. Aunque el blanco primario de las benzodiazepinas es el receptor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), estas drogas también interfieren con la captación de adenosina. Se encontró que PZQ y **1.2** compiten por la captación de adenosina y que únicamente el enantiómero *levo* del PZQ fue capaz de inhibir dicha captura. No existe una respuesta concluyente sobre la relevancia de la inhibición de la captura de la adenosina.



**1.2**



**1.3**

Talima et al (28) plantearon la unión del PZQ a la actina del gusano adulto de *S. mansoni*, sin embargo, no se encontró que dicha unión sea relevante en su modo de acción. La actina es una proteína globular o en forma de filamento, fundamental en el sistema muscular animal y abundante en el citoplasma de las células eucariotas. Ese mismo año, Troiani et al (39) intentaron reproducir el experimento realizado por Talima et al, sin éxito. Sin embargo, Gnanasekar et al (29) confirmaron los hallazgos de Talima et al.

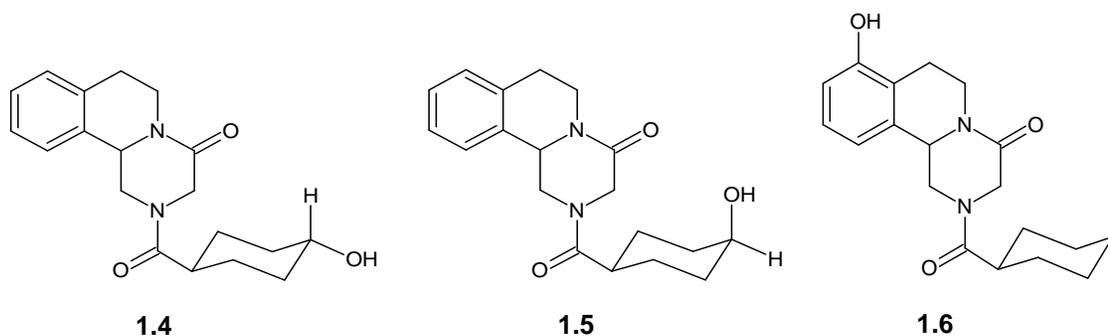
La miosina, una proteína fibrosa y la más abundante del músculo esquelético, puede interaccionar con el PZQ. Los resultados de Gnanasekar et al (29) indicaron que uno de los mecanismos de acción del PZQ pudiera ser la interacción de éste con la cadena ligera de la miosina en el *S. mansoni* afectando la función de esta proteína en el parásito.

Mctigue et al (30) sugirieron que glutatona S-transferasa aislada de *S. japonicum* (Sj26) era un blanco molecular del PZQ. Esta enzima fue cristalizada con el PZQ uniéndose en la interface del dímero. Posteriormente, Milhon et al (40) demostraron que el PZQ no inhibe la actividad de la Sj26.

### **2.1.2 Metabolismo del PZQ.**

El PZQ sufre extensivo metabolismo del primer paso originando metabolitos mono, di y polihidroxilados que son producidos en el hígado por el citocromo P450, particularmente por las isoformas 2B1 y 3A. El principal metabolito identificado en humanos es el *trans*-4-hidroxi-praziquantel **1.4**, representando las dos terceras partes del total de los metabolitos presentes en

la orina. Otros metabolitos que han sido identificados son el *cis*-4-hidroxi-praziquantel **1.5** y el 8-hidroxi-praziquantel **1.6** (17, 41).

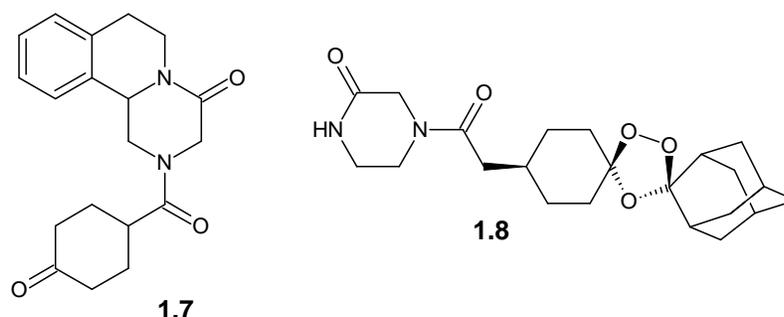


### 2.1.3 Derivados y análogos de PZQ.

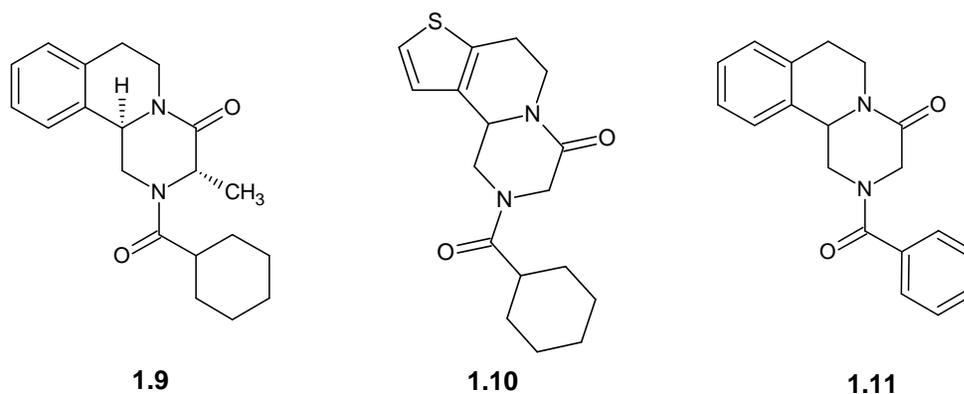
En la actualidad, hay pocos reportes de fármacos esquistosomicidas en desarrollo y la única propuesta parece ser la de producir el enantiómero activo del PZQ de forma más eficiente que la droga racémica. Por otro lado, existen reportes de resistencia del *Schistosoma* spp. al PZQ, aunque existen controversias al respecto, siendo necesario trabajar en nuevos medicamentos en esta área (9, 42-44).

Dong et al (45) diseñaron y sintetizaron una serie de análogos de PZQ, seis amidas y cuatro ureas, y probaron su actividad esquistosomicida contra formas juveniles y adultas del *S. mansoni* en ratones infectados. Únicamente el derivado ceto **1.7**, obtenido de la oxidación del 4-hidroxi-praziquantel, mostró actividad antiparasitaria contra ambas formas del parásito, pero no afectó la motilidad del parásito adulto en cultivos *ex vivo*. Basados en la observación de que artemisininas semisintéticas y ozónidos mostraron actividad *in vivo* contra formas juveniles y adultas del parásito, también se sintetizaron una serie de

derivados ozónidos del PZQ, siendo el más activo el compuesto **1.8**, el cual carece del anillo tetrahydroisoquinolínico del PZQ. El porcentaje de reducción de la carga parasitaria fue del 85% en las formas juveniles del parásito, y del 13% en la forma adulta.

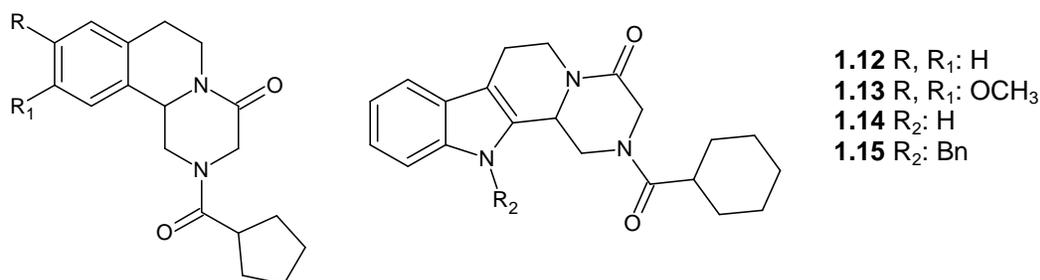


En un trabajo reportado por Liu et al (46) encontraron varios análogos de PZQ con actividad comparable al PZQ, pero no mejor que este último. Los compuestos fueron ensayados *in vitro* empleando vermes adultos de *S. mansoni* obtenidos de hámsteres infectados. Los compuestos más activos fueron **1.9**, **1.10** y **1.11** con valores de  $CE_{50}^1$  de 1.3, 0.9 y 3.9  $\mu\text{M}$ , respectivamente, siendo el del PZQ comercial de 0.18  $\mu\text{M}$ .



<sup>1</sup>Es la concentración efectiva a la cual el 50% de los gusanos están muertos.

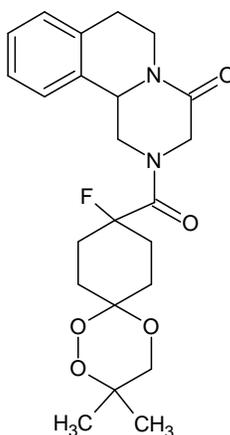
Sadhu et al (47) sintetizaron un total de diecinueve análogos de PZQ con modificaciones principalmente en el núcleo aromático, el anillo de piperazina, el grupo amida y combinaciones de todas ellas, siendo ensayados *in vitro* en cultivos de vermes adultos de *S. mansoni*. Entre todos los análogos sintetizados, tres de ellos mostraron actividad moderada. De los compuestos sintetizados variando el grupo amida, se encontró que el análogo **1.12** mostró un buen grado de actividad con una  $CL_{90}^2$  de 10  $\mu\text{M}$ . La incorporación de dos grupos metoxi en las posiciones 9 y 10, compuesto **1.13**, produjo una disminución de la actividad con un  $CL_{90}$  del 25  $\mu\text{M}$ . La sustitución del grupo ciclohexilo por grupos *p*-trifluorometilbenzoil y *p*-toluensulfonamida resultó en una supresión de la actividad. Por otro lado, los derivados tipo indol **1.14** y **1.15**, mostraron valores de  $CL_{90}$  de igual magnitud al compuesto **1.13**. La  $CL_{90}$  del PZQ fue de 3  $\mu\text{M}$ . Los análogos de PZQ obtenidos por modificación del anillo piperazina no resultaron ser activos.



Laurant et al (48) diseñaron y sintetizaron una clase de moléculas denominadas trioxaquantel® que combina el grupo 1,2,4-trioxano responsable de la actividad de las artemisininas y el grupo pirazinoisoquinolina del PZQ en

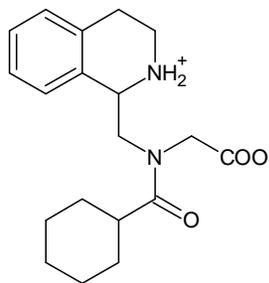
<sup>2</sup>Es la concentración a la cual el 90% de los parásitos están muertos.

un solo compuesto. Esta clase de análogos fueron administrados a ratones infectados por *S. mansoni* por vía transcutánea después de 7 semanas post-infección y por 5 días consecutivos utilizando como drogas de referencia PZQ y artemeter. De los tres compuestos ensayados, el compuesto **1.16** mostró ser el más activo, sin embargo, no superó al PZQ ni al artemeter. La reducción de la carga parasitaria para este compuesto fue de solo un 27% (dosis de 200 mg/kg) mientras que para el PZQ y artemeter fueron de 98 y 41% respectivamente (dosis de 200 mg/Kg (PZQ) y 400 mg/Kg (artemeter)).



**1.16**

Saeed et al (49) sometieron a hidrólisis básica el PZQ originando apertura de la lactama. El compuesto resultante de la hidrólisis, **1.17**, fue sujeto a varias funcionalizaciones en la porción amino y ácido carboxílico, sintetizando un total de 16 derivados. Estos derivados fueron de la clase *N*-alquil, *N*-carboxamida, *N*-sulfonamida y sus respectivos ésteres. Posteriormente, Suleiman et al (50) ensayaron la actividad del compuesto **1.17** mostrando una actividad esquistosomicida algo superior al PZQ. Respecto a los otros derivados, su actividad biológica en *S. mansoni* no fue reportada.

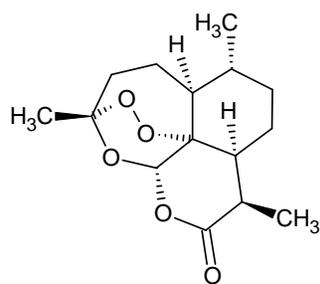


1.17

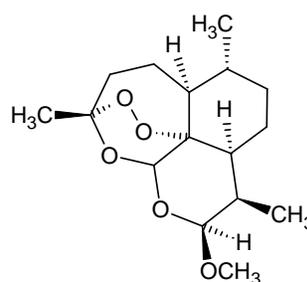
## 2.2 Fármacos ensayados con actividad esquistosomida.

### 2.2.1 Artemisininas y sus derivados.

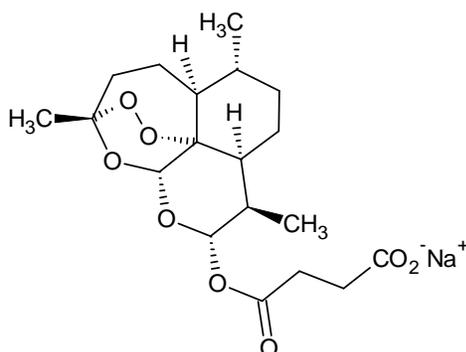
La artemisinina **1.18** es una lactona sesquiterpénica con un grupo endoperóxido, extraída de las hojas de *Artemisia annua* L. Es una planta ampliamente extendida en China y que también está presente en Europa Central, Estados Unidos y Argentina. Una serie de derivados de artemisinina con propiedades antimaláricas tales como: artemeter **1.19**, artesunato **1.20** y arteeter **1.21**, también han mostrado actividad esquistosomida (20, 51, 52).



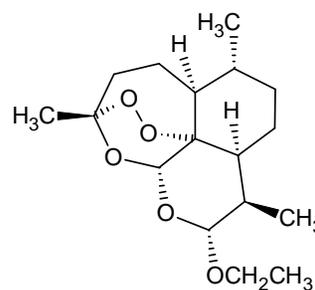
1.18



1.19



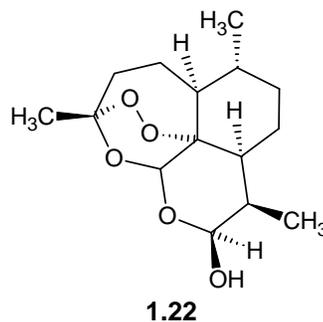
1.20



1.21

Varios estudios han demostrado que **1.19** es más efectivo en esquistosómulos de *S. japonicum* y *S. mansoni* de 5 a 14 días de edad y 14 a 21 días de edad, respectivamente (53).

En cuanto a las alteraciones morfológicas producidas por **1.19**, estas son muy parecidas a las ocasionadas por el PZQ, pero de aparición más lenta que con éste último. La dihidroartemisinina **1.22**, el principal metabolito de **1.19** ha mostrado poseer actividad esquistosomicida (54).

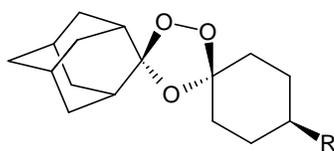


En cuanto a **1.20**, este es menos tóxico que **1.19**. Shaohong et al (55) estudiaron el efecto de este compuesto en infecciones por *S. mansoni* y *S. japonicum* en ratones reportando una eficacia igual a **1.19**.

El mecanismo de acción preciso de la artemisinina y sus derivados contra la malaria y la esquistosomiasis es desconocido. En malaria, se ha propuesto un mecanismo de acción para la artemisinina y sus derivados que involucraría dos pasos secuenciales: 1) Activación de artemisininas dentro del parásito por el complejo hierro-heme conduciendo a la ruptura del puente endoperóxido y a la generación de radicales libres y 2) La formación de enlaces covalentes entre los radicales libres y proteínas específicas del *Plasmodium*,

que matan al parásito (51). Experimentos *in vitro* conducidos por Xiao et al (56) sobre diferentes especies de esquistosoma adultos sugirieron que **1.19** interactúa con la hemina ejerciendo un efecto tóxico en los gusanos.

En vista del gran potencial que han mostrado los derivados semisintéticos de las artemisininas y la dificultad en sintetizar esta clase de compuestos, Xiao et al (57) ensayaron las propiedades esquistosomicidas de una serie de derivados de 1,2,4-trioxolanos (OZ) (ozónidos secundarios), de los cuales, **1.23**, **1.24** y **1.25** fueron altamente efectivos contra las formas juveniles de *S. mansoni* en ratones. Por otro lado, se observaron diferencias notables en la actividad de los OZ contra los esquistosomas adultos entre el modelo hámster y ratón. El derivado **1.23** fue completamente inactivo en ratones y altamente activo en hámsteres infectados con esquistosomas adultos de *S. mansoni*. Diferencias en las respuestas inmunológicas y farmacocinéticas entre las diferentes especies de animales pudieran explicar estos resultados.

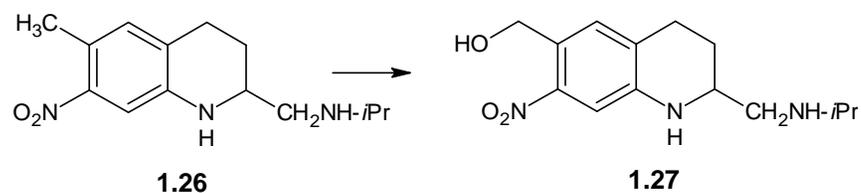


**1.23** R: CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H  
**1.24** R: CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>  
**1.25** R: 4-OH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

### 2.2.2 Oxamniquina, OXA.

La OXA **1.27**, un derivado de tetrahydroisoquinolina, fue obtenida originalmente como un producto de fermentación de UK-3883 **1.26**. El compuesto **1.26** es inactivo contra infecciones por *S. mansoni in vitro*, mientras que **1.27** es activo tanto *in vitro* como *in vivo*. Su efecto es más pronunciado en

esquistosomas machos que en hembras. En cuanto al mecanismo de acción, **1.27** es esterificada enzimáticamente por una sulfotransferasa esquistosomal para dar un éster reactivo que actúa como un agente alquilante uniéndose covalentemente al ADN del esquistosoma. Esta debe ser activada por una enzima presente en el parásito con características de sulfotransferasa (las cepas resistentes a **1.27** carecen de esta enzima) (20, 58, 59).



El compuesto **1.27** presenta un pequeño efecto mutagénico y los efectos colaterales en pacientes son poco frecuentes y pueden ser considerados de baja intensidad. Uno de los pasos sintéticos para la obtención de la droga es la utilización de *Streptomyces sclerotiorum* que requiere grandes cubas de fermentación haciendo la producción de la droga más compleja y costosa (60).

En conclusión, se han realizado grandes esfuerzos por elucidar el mecanismo de acción de PZQ, sin embargo, y en base a los trabajos publicados en el últimos años, pareciera que la acción del PZQ sobre el *Schistosoma* spp es mediada por una diversidad de eventos que actúan sinérgicamente. También, se ha reportado resistencia del *Schistosoma* al PZQ inducida en el laboratorio. Sin embargo, al ser el único fármaco disponible, el fenómeno de resistencia puede aparecer en cualquier momento. A pesar de que varios

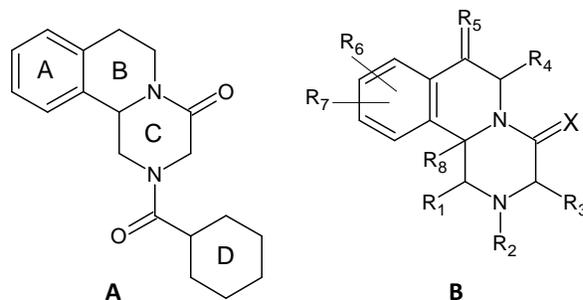
grupos han realizado esfuerzos en desarrollar nuevos compuestos con actividad esquistosomicida igual o superior al PZQ, esto no ha sido posible hasta la fecha. Algunos compuestos han mostrado actividades interesantes, pero necesitan ser mejorados.

### **3. Diseño de derivados y análogos de PZQ, análisis retrosintético y modelado molecular.**

#### **3.1 Análisis de la relación estructura química-actividad biológica (SAR) de derivados y análogos de PZQ y diseño de nuevos derivados y análogos de los mismos.**

Antes de considerar las diferentes posibilidades de compuestos a ser sintetizados utilizando como plantilla el núcleo pirazinoisoquinolínico, se realizó una exploración de la relación estructura química-actividad biológica de los diferentes compuestos reportados en la literatura observándose lo siguiente:

**3.1.1** El PZQ **1.1** está conformado por tres anillos A, B y C que constituyen su núcleo principal, además de la presencia de un grupo ciclohexilcarbonil sobre el nitrógeno en la posición 2 de dicho núcleo (Figura 1.4A). En 1978, Seubert et al (61) patentaron una gran diversidad de derivados y análogos (alrededor de 400) que contenían el núcleo pirazinoisoquinolínico. Las principales modificaciones realizadas son las mostradas en la figura 1.4B. De ese trabajo se obtuvo el PZQ. Si bien la patente indica el tipo de sustituyente y la posición que ocupa en el núcleo pirazinoisoquinolínico, no es clara la combinación con otros sustituyentes en el núcleo.



**Figura 1.4** A) El PZQ esta conformado por 4 anillos: A, B, C y D. B) Principales modificaciones realizadas sobre el núcleo pirazinoisoquinólinico indicadas por Seuber et al (61).

### 3.1.2 Modificación del anillo D (Amida exocíclica).

**3.1.2.1** Las primeras modificaciones realizadas, y unas de las más sencillas desde el punto de vista sintético, consistieron en la sustitución del grupo ciclohexilo (anillo D) por series homólogas, es decir, moléculas que difirieran una de la otra únicamente por un grupo metileno (62). Estas series homólogas pueden ser de dos tipos: derivados alquílicos de cadena abierta y cíclicos. El anillo D fue reemplazado por los siguientes grupos: metilo, propilo, *tert*-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo y ciclopentilo. La actividad esquistosomicida fue probada tanto *in vitro* como *in vivo* en *S. mansoni*. El derivado más activo fue aquel donde el anillo D fue sustituido por ciclopentilo, pero no superior a la actividad mostrada por el PZQ. Iguales resultados fueron obtenidos al reemplazar el anillo D por un el grupo benzoilo.

**3.1.2.2** Abo-Ghalia et al (63) sustituyeron el anillo D por una piridina y el grupo N<sup>α</sup>-nicotinoil-L-aspartil-L-fenilalanina metil éster. La actividad esquistosomicida de estos compuestos fue ensayada en ratones infectados por

*S. mansoni*. Ambos compuestos mostraron actividades biológicas similares entre sí, pero no mejor que el PZQ.

**3.1.2.3** Dong et al (45) sintetizaron una serie de análogos de PZQ reemplazando el anillo D por 4-oxociclohexil **1.7**, 1-adamantil, 2-adamantil, heterociclos saturados y un ozónido **1.8**. El más activo resultó ser el reemplazo del grupo ciclohexilo por 4-oxociclohexilo mostrando una actividad muy cercana a la reportada para el PZQ en vermes adultos de *S. mansoni*.

**3.1.2.4** Liu et al (46) prepararon una serie de derivados de PZQ sustituyendo el anillo D por grupos fenilo disustituidos, con grupos dadores (CH<sub>3</sub>) y combinación de sustituyentes tipo halógeno y atractores de electrones (F y NO<sub>2</sub>), quinolinas, quinolonas y piridintiol. Ninguno de estos compuestos presentó actividad esquistosomicida.

### **3.1.3 Modificaciones de los anillos B y C.**

Hay muy pocos reportes de modificaciones en estas partes del núcleo pirazinisoquinoliníco, ya que desde el punto de vista sintético resulta más difícil hacer variaciones, utilizando las vías sintéticas ya reportadas, en estas partes de la molécula. Estas modificaciones han consistido en:

**3.1.3.1** Liu et al (46) incorporaron sustituyentes en posición 3 en el PZQ: metilo, isopropilo, ciclopropilo, *tert*-butilo y *p*-fluoro-fenilo. La incorporación de estos sustituyentes origina un nuevo centro quiral. El derivado de PZQ con el grupo metilo orientado en la misma dirección que el protón en 11b, mostró actividad esquistosomicida moderada siendo el CE<sub>50</sub> de 1.3 μM.

**3.1.3.2** En el mismo trabajo se incorporó un grupo carboximetilo en posición 6 del PZQ. Este compuesto no mostró actividad esquistosomicida.

### **3.1.4 Modificación del anillo A.**

**3.1.4.1** Liu et al (46) sintetizaron una serie de derivados de PZQ. El compuesto más activo de la serie fue aquel donde el anillo aromático A fue sustituido por un tiofeno, manteniendo el resto de la molécula intacta. La actividad esquistosomicida fue ensayada *in vitro* en *S. mansoni*. El valor de  $CE_{50}$  fue de 0.9  $\mu$ M mientras que para el PZQ fue de 0.18  $\mu$ M. Otro de los derivados que mostró actividad moderada fue el obtenido por la adición de un grupo metoxi en el anillo A en la posición 9 del PZQ siendo la  $EC_{50}$  de 9.7  $\mu$ M. Sin embargo, la incorporación de otro grupo metoxi en posición 8, no mostró ningún efecto sobre el parásito. No existen casi reportes en la literatura de la incorporación de sustituyentes en las posiciones 8, 9, 10 y 11 del PZQ.

### **3.1.5 Misceláneos.**

**3.1.5.1** Dong et al (45) sintetizaron un análogo de PZQ, suprimiendo los anillos B y C, y el anillo D fue sustituido por un ozónido, el cual mostró una actividad esquistosomicida considerable sobre las formas juveniles del parásito pero no en vermes adultos.

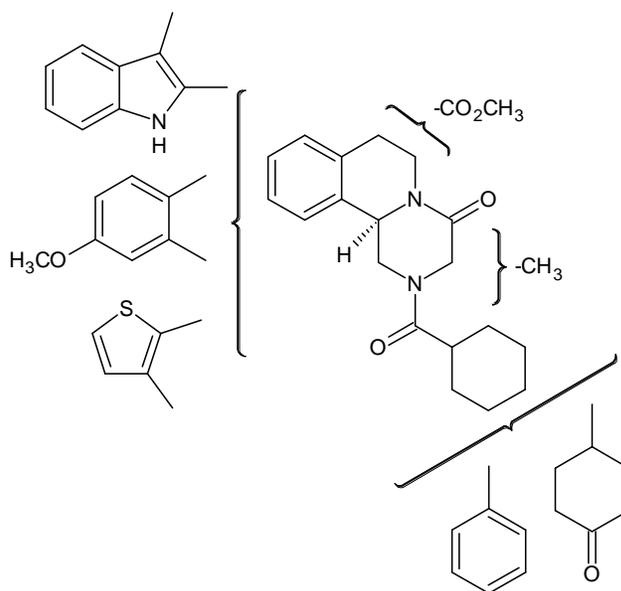
**3.1.5.2** Sadhu et al (47) reemplazaron el anillo A por un grupo indol, manteniendo el resto de intacto. Esta modificación mostró actividad moderada pero no mejor a la observada con el PZQ.

En base al análisis realizado anteriormente, se concluye lo siguiente (Figura 1.5):

**A)** El grupo ciclohexilo (Anillo D) es importante para la actividad esquistosomicida. También, la incorporación de un grupo fenilo mostró actividad esquistosomicida, aunque no tan buena como su contraparte saturada. La escogencia y combinación adecuada de los sustituyentes sobre el fenilo pudiera incrementar la actividad.

**B)** La incorporación de grupos alquílicos ramificados en posición 3 del PZQ disminuye la actividad esquistosomicida.

**C)** La incorporación de un sustituyente del tipo ester en posición 6 en el PZQ no tuvo ningún efecto sobre los parásitos.



**Figura 1.5** Resumen de las diferentes modificaciones sobre el núcleo pirazinoisoquinolínico que han mostrado actividad esquistosomicida pero no superior al PZQ.

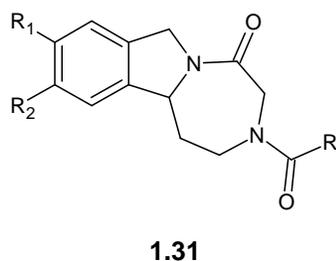
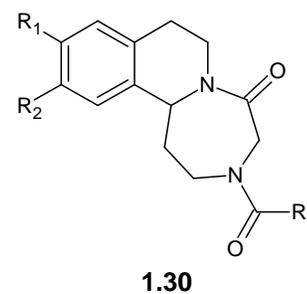
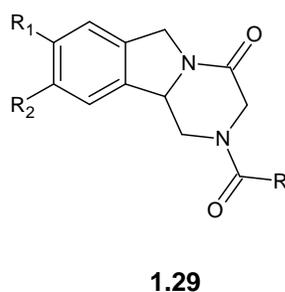
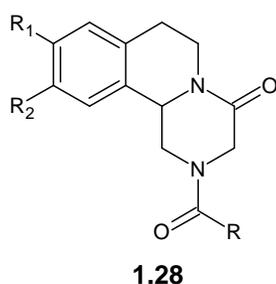
**D)** La sustitución del anillo A por un tiofeno ha mostrado una actividad muy cercana al PZQ. Esto pudiera sugerir que se podría modificar el tamaño del

anillo y ser sustituido por otros heterociclos. Aunque la incorporación de un grupo indol al PZQ fue novedosa, la actividad antiparasitaria fue moderada y no aventajó al PZQ.

**E)** La incorporación de un sustituyente dador de electrones, tal como un grupo metoxi, en posición 10, mostró buena actividad esquistosomicida.

En el diseño de derivados y análogos de PZQ, se utilizó como plantilla el PZQ **1.1** conservando el grado de complejidad del compuesto líder (*Enfoque analógico*) (64). En base a la exploración cualitativa de la relación estructura química-actividad biológica comentada anteriormente, se decidió incorporar sustituyentes de diversa naturaleza en las posiciones 9 y 10 del núcleo pirazinoisoquinolínico, ya que, los compuestos reportados hasta la fecha, presentan muy pocas modificaciones en estas posiciones.

Sirviendo de apoyo lo anterior, se planteó la síntesis de un grupo de derivados de la clase 1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-ona **1.28**, 1,2,3,6,10b-tetrahidropirazino[2,1-*a*]isoindol-4(1*H*)-ona **1.29**, 1,3,4,7,8,12b-hexahidro[1,4]diazepino[7,1-*a*]isoquinolin-5(2*H*)-ona **1.30** y 1,2,3,4,7,11b-hexahidro-5*H*-[1,4]diazepino[7,1-*a*]isoindol-5-ona **1.31**.



Se aplicaron ciertas reglas que ayudaron al diseño y a la exploración de la relación estructura química-actividad biológica cualitativa (64):

**A) Regla 1:** En primer lugar, se debe realizar la *menor cantidad de modificaciones posibles* a la molécula líder. Los pocos cambios introducidos pudieran indicar cuales grupos incrementan o disminuyen la actividad.

**B) Regla 2:** La regla de la *lógica biológica* se basa en la utilización de toda la información biológica disponible (datos bioquímicos, blancos moleculares, rutas metabólicas, etc). De los datos recopilados en la literatura, muy poco se conoce sobre el blanco exacto sobre el cual interacciona el PZQ.

**C) Regla 3:** La regla de la *lógica estructural* se refiere a que, si existe algún elemento estructural que se sabe le confiere actividad a ese compuesto, este elemento no debe ser modificado en principio. Por ejemplo, en el caso del PZQ, este posee un centro quiral en la posición 11b, siendo el enantiómero R el

que posee la actividad esquistosomicida. El PZQ se sintetiza como racemato. Este centro quiral fue conservado en la plantilla. También se sabe, que el grupo ciclohexilo es importante en la actividad esquistosomicida.

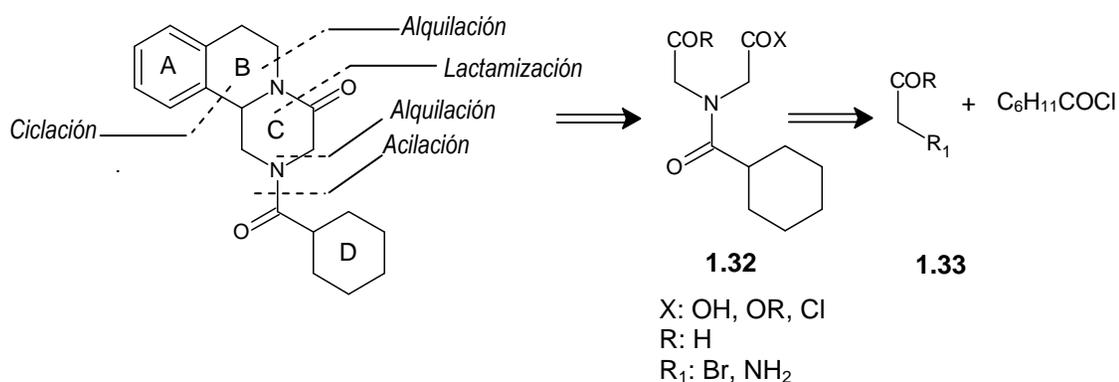
**D) Regla 4: Elección correcta del sustituyente:** Consiste en el reemplazo de grupos de una molécula por otros, con características similares o diferentes desde el punto de vista, electrónico, estérico y lipofílico. En el caso de los compuestos propuestos, algunos átomos de hidrógeno del núcleo pirazinoisoquinolínico, específicamente las posiciones 9 y/o 10 serían reemplazadas por sustituyentes del tipo metoxi y metilendioxi, y en las posiciones 8 y 9, halógenos, para ver como estos influyen sobre la actividad biológica tomando como referencia el PZQ.

**E) Regla 5: Síntesis orgánica fácil:** Ya que la síntesis de nuevos compuestos es muy costosa, la misma debería involucrar el menor número de pasos, ser preferiblemente una síntesis convergente, en la cual el producto de cada paso sea obtenido con el mayor rendimiento posible y en que los reactivos de partida sean económicos y seguros. Como se discutirá a continuación, existen varias síntesis reportadas para la obtención de los compuestos de interés; algunas involucran un mayor número de pasos que otras.

## 3.2 Análisis retrosintético y síntesis previas del PZQ.

### 3.2.1 Análisis retrosintético.

Para cumplir con uno de los objetivos específicos, que es la síntesis de PZQ y sus derivados y análogos, se plantearon diferentes análisis retrosintéticos (Figura 1.6).

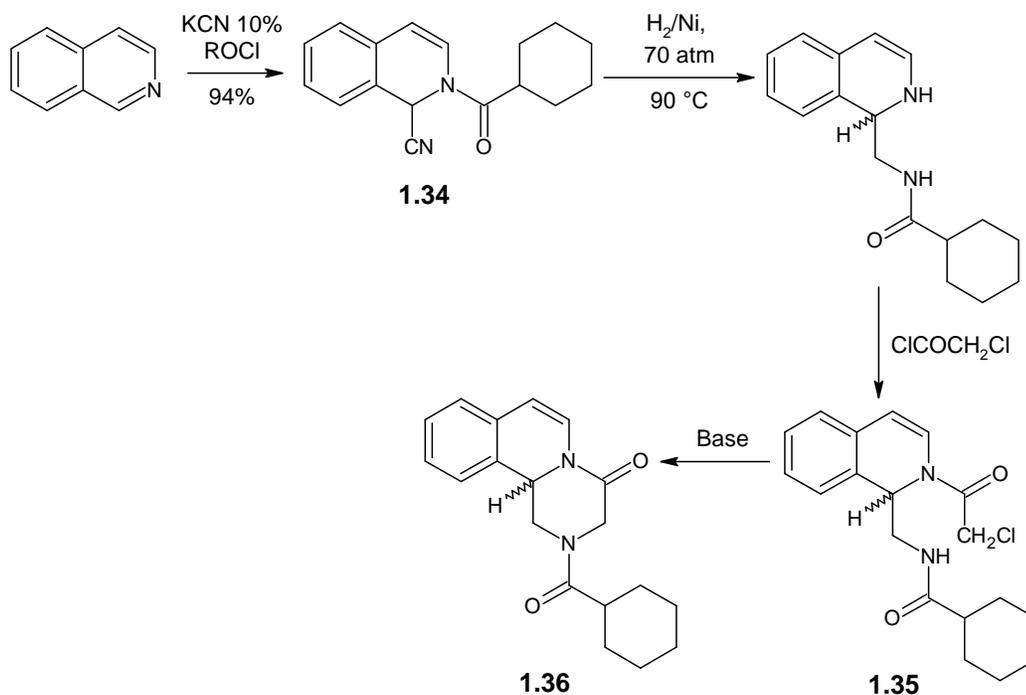


**Figura 1.6** Análisis retrosintético del PZQ.

Si observamos el PZQ, está conformado por tres anillos A, B y C que constituyen su núcleo principal. A su vez, tres principales reacciones pudieran estar involucrados en su síntesis, tales como: una ciclación inter o intramolecular, una reacción de alquilación o una lactamización. La forma de desconexión más factible conduce a un sintón representado por el compuesto **1.32**, que a su vez pudiera ser sintetizado a partir de moléculas pequeñas como **1.33**, tales como, glicina ester, bromacetato de etilo y el ácido ciclohexilcarboxílico (o su respectivo cloruro de ácido).

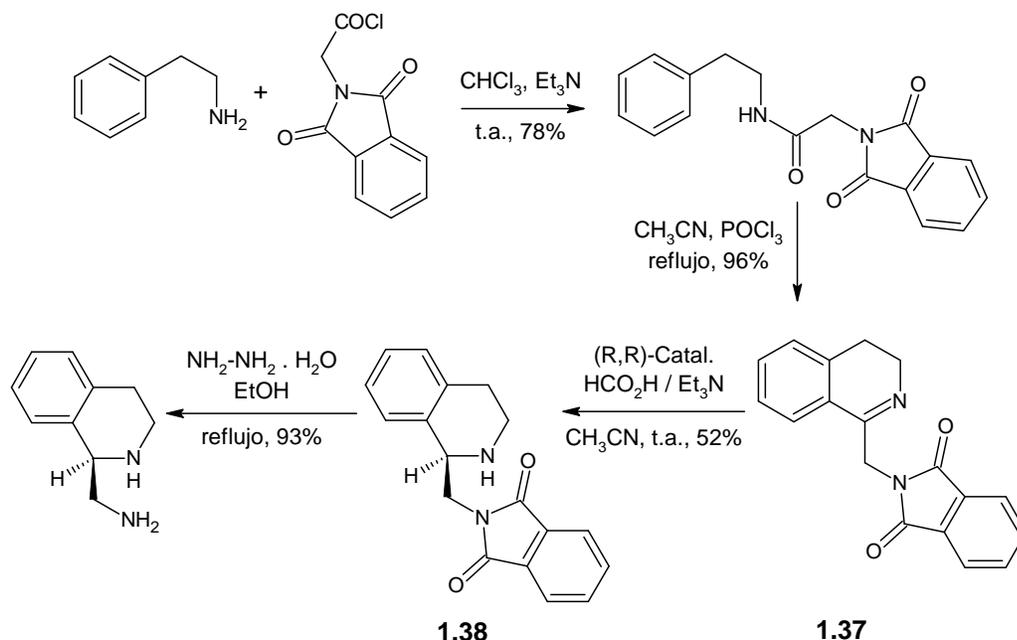
### 3.2.2 Síntesis previas.

La primera síntesis total del PZQ, patentada por los grupos Merck y Bayer fue realizada por Seubert et al (65, 66) la cual involucró la síntesis de una 1,2-dihidroisoquinolina **1.34**, sustituida en las posiciones 1 y 2, a partir de la isoquinolina y finalmente, la construcción del anillo del tipo piperazino, la cual implicó reacciones de acilación para dar **1.35** y alquilación para obtener **1.36** (Esquema 1.1) El paso clave en esta síntesis es la reacción de Reissert, la cual emplea un exceso de KCN, originando grandes volúmenes de desechos acuosos con un alto contenido de cianuro (67), haciendo esta vía de síntesis muy contaminante y peligrosa.



**Esquema 1.1** Síntesis de PZQ por Seubert et al (65).

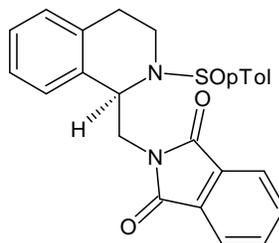
Roszkowski et al (68) reportaron la síntesis asimétrica del PZQ, la cual implicó la formación de la 3,4-dihidroisoquinolina **1.37** mediante una reacción de Bischler-Napieralski y su posterior reducción, empleando un catalizador de Rutenio, favoreciendo el isomero *levo* **1.38**. La transferencia de hidrógeno asimétrica en **1.37** fue realizada bajo las condiciones de Noyori clásicas. El catalizador es una combinación de *N*-tosil-(1*R*,2*R*)-difeniletildiamina y  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-benceno})]_2$ . El resto de los pasos fueron los mismos descritos en la síntesis de Seubert et al (65) (Esquema 1.2).



**Esquema 1.2** Síntesis de PZQ por Roszkowski et al (68).

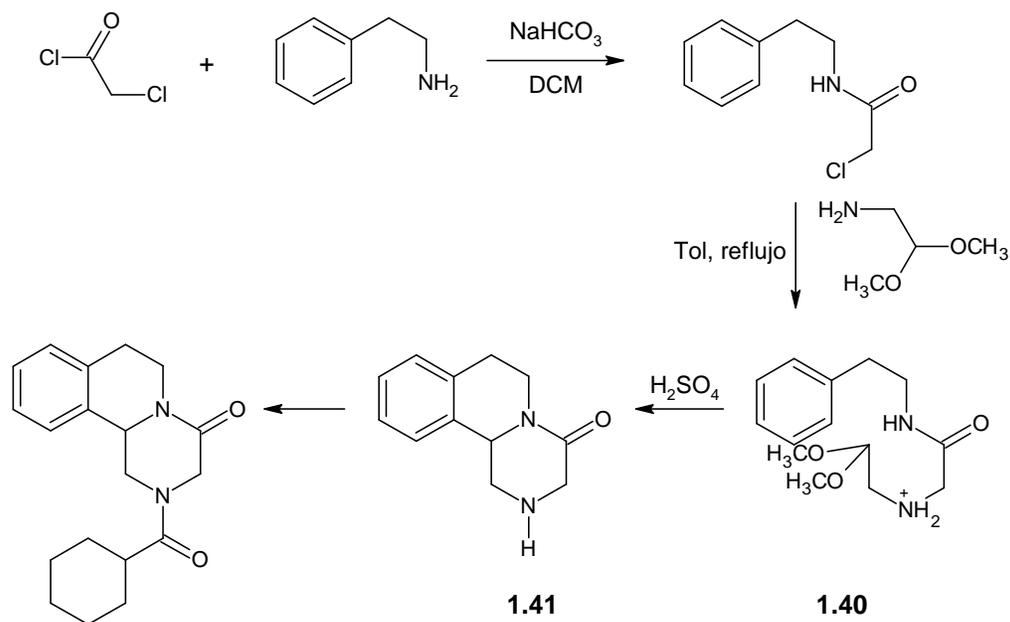
Ma et al (69) también sintetizaron el enantiómero activo del PZQ. Obtuvieron el intermediario **1.38** en una secuencia de pasos diferente a la reportada por Roszkowski et al (68). El intermediario clave fue **1.39** obtenido a

partir de una reacción de condensación y ciclación entre *N*-etilenacetaltalimida<sup>3</sup> y *N*-*p*-toluensulfinilfenetilamina<sup>4</sup> en presencia de trifluoruro de boro eterato.



1.39

Kim et al (70) reportaron la síntesis de PZQ en seis pasos con un rendimiento total del 46%. La estrategia básica de esta síntesis consistió en una amidoalquilación y ciclación del ion iminio del amido acetal **1.40** en medio ácido. El rendimiento de **1.41** fue del 91% (Esquema 1.3).



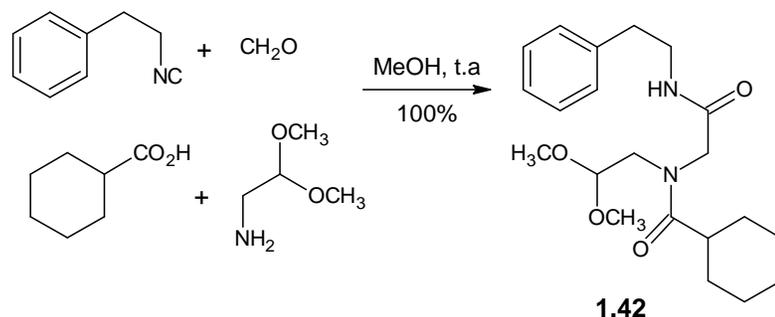
Esquema 1.3 Síntesis de PZQ por Kim et al (70).

<sup>3</sup>Obtenida por reacción entre ftalimida y bromoacetaldehído dimetil acetal en presencia de KOH.

<sup>4</sup>Preparada por tratamiento de fenetilamina con *n*-butil-litio y reacción posterior del anión formado con el reactivo de Andersen (1*S*, 2*R*, 5*S*)-mentil-(*R*)-*p*-toluen-sulfinato).

Yixing Xinyu Chem (Factory process (CN 1003-7911 20050301) obtuvieron el intermediario **1.40** de forma similar a la reportada por Kim et al (70) pero sustituyendo el cloruro de cloroacetilo por el clorhidrato del cloruro de aminoacetilo en el primer paso de la síntesis y el aminoacetaldehído protegido por cloroacetaldehído dimetil acetal en el segundo paso de la misma. La ciclación del intermediario **1.40** se logró empleando ácido dodecatungstofosfórico<sup>5</sup> ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) en diclorometano (DCM) a temperatura ambiente. No se reporta el rendimiento total (71).

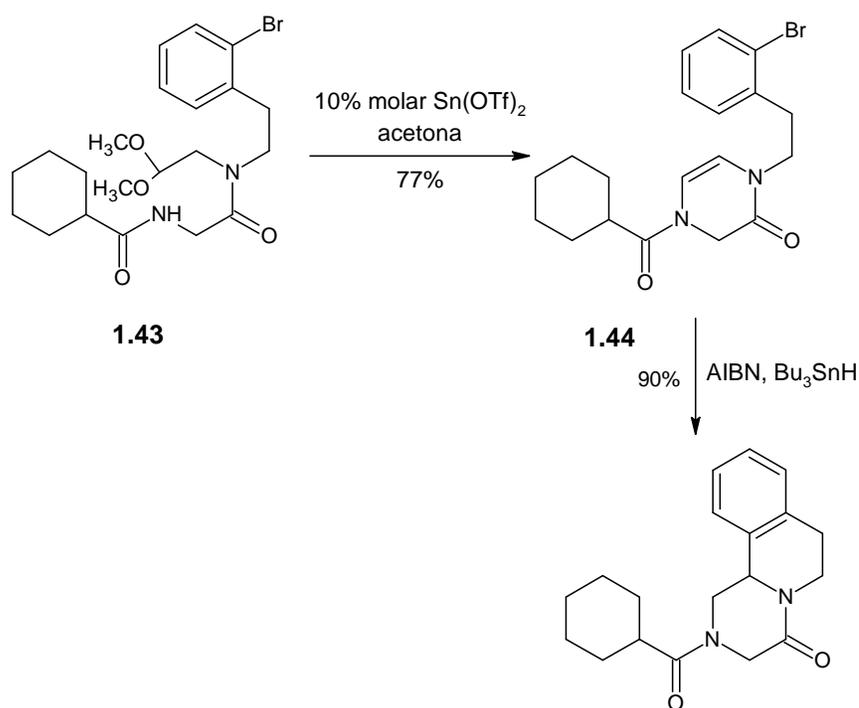
Cao et al (71) sintetizaron el PZQ en una secuencia de dos pasos: 1) Reacción multicomponente de Ugi clásica y 2) Reacción de Pictet-Spengler. En el primer paso ocurre la condensación entre (2-isocianoetil)benceno, paraformaldehído, ác. ciclohexilcarboxílico y aminoacetaldehído dimetil acetal para dar el intermediario de Ugi **1.42**, un intermediario similar a **1.40**. Luego, en el segundo paso, el intermediario de Ugi fue ciclado con ácido metanosulfónico ( $MeSO_3H$ ) a 0 °C y luego calentado a 70 °C por 6 h obteniéndose el PZQ con un rendimiento del 65% (Esquema 1.4).



**Esquema 1.4** Reacción multicomponente de Ugi.

<sup>5</sup>Es un heteropoliácido comúnmente utilizado como catalizador homogéneo, el cual ha mostrado una alta actividad, selectividad y fácil manejo en comparación con otros ácidos minerales.

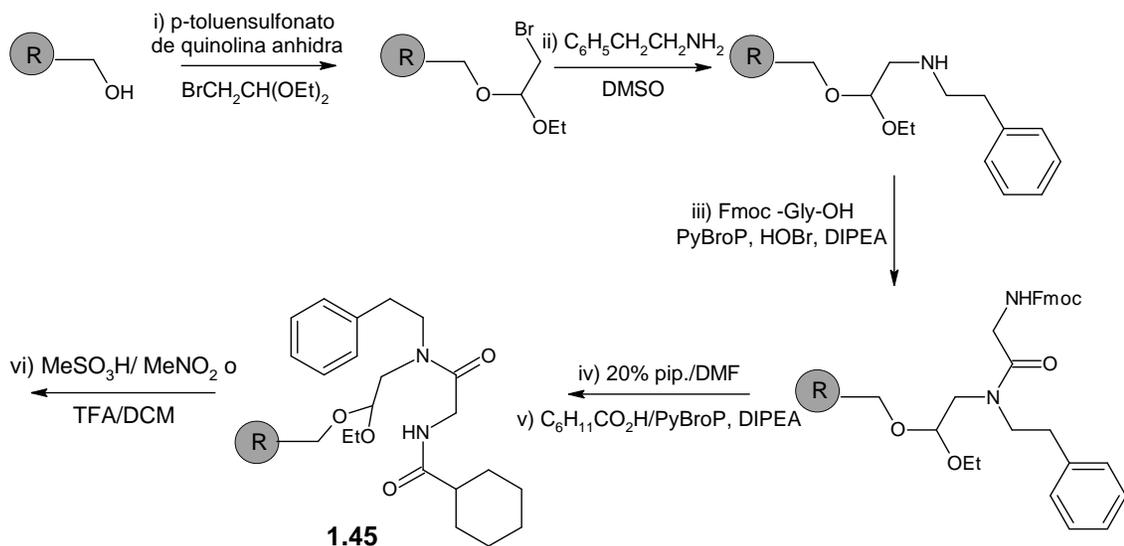
Todd et al (72) sintetizaron el PZQ a través de la formación del anillo piperazino **1.44** a partir de **1.43** y posterior ciclación vía radical. El intermediario **1.43** fue obtenido mediante una secuencia de dos pasos de reacción. La primera reacción involucró una aminación reductiva entre 2-bromofenetilamina y 2,2-dimetoxiacetaldehído obteniéndose la amina secundaria. Luego, esta fue condensada con el derivado de ácido carboxílico originando el intermediario **1.43** (Esquema 1.5).



**Esquema 1.5** Síntesis de PZQ utilizada por Todd et al (72).

La síntesis propuesta por Kim et al (73) condujo también a la formación del intermediario **1.43** (sin el bromo), el cual fue ciclado directamente al PZQ utilizando  $\text{MeSO}_3\text{H}$  en DCM a reflujo por 2 días.

El-Fayyoumy et al (74) publicaron la primera síntesis en fase sólida del PZQ empleando la resina 1-hidroximetilpoliestireno como material de partida. Sintetizaron un intermediario **1.45** similar a **1.43**, el cual fue ciclado utilizando  $\text{MeSO}_3\text{H}$  en nitrometano a  $60\text{ }^\circ\text{C}$  por 16 h (Esquema 1.6).



**Esquema 1.6** Síntesis de PZQ por El-Fayyoumy et al (74).

Todas las rutas sintéticas comentadas anteriormente coinciden en la mayoría de los casos con algunos intermediarios tal como **1.38** y **1.40** o pequeñas variantes de estos como **1.42** y **1.43**.

Otras síntesis de PZQ han sido publicadas por Frehel et al (75), Yuste et al (76), Berkowitz et al (77) y Carvalho et al (78).

Las vías sintéticas utilizadas para la obtención del PZQ, así como, de sus respectivos derivados y análogos serán discutidas en la Sección Resultados y Discusión.

### **3.3 Relación estructura química-actividad biológica cuantitativa (QSAR) como herramienta de diseño molecular en el desarrollo de nuevos fármacos.**

#### **3.3.1 Introducción al QSAR.**

Un estudio cuantitativo de la relación entre la estructura química-actividad biológica (QSAR, Quantitative Structure-Activity Relationships) es un modelo derivado estadísticamente, que puede ser utilizado para predecir propiedades biológicas de moléculas de estructura química conocida (79). Es decir, un estudio QSAR es un intento de correlacionar propiedades (moleculares, atómicas, etc.) con un valor de actividad biológica para un conjunto de compuestos, mediante el establecimiento de una simple función:

$$f(x) = y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + \dots + b_nx_n + c$$

Esta ecuación describe la relación lineal entre los parámetros  $x_1, x_2, x_3 \dots x_n$ , con una propiedad designada como  $f(x)$  ó  $y$  en donde  $b_1, b_2, b_3 \dots b_n$ , son los coeficientes de regresión para cada parámetro y  $c$  es el término constante de ajuste propio de la regresión. La ecuación que muestra esta relación lineal está conformada por una o varias *variables independientes*, que son los descriptores, y la *variable dependiente* que es la actividad biológica del compuesto de interés.

Un análisis QSAR permite explicar la actividad de dichos compuestos y más aún predecir la actividad de compuestos no sintetizados o aun no probados biológicamente.

Existen diferentes clases de métodos computacionales en QSAR dependiendo de los datos que se deseen considerar. El estudio QSAR bidimensional, 2D-QSAR, no considera los arreglos de los átomos en el espacio (80), mientras que un QSAR tridimensional, 3D-QSAR, necesita información sobre la posición de los átomos en el espacio (81).

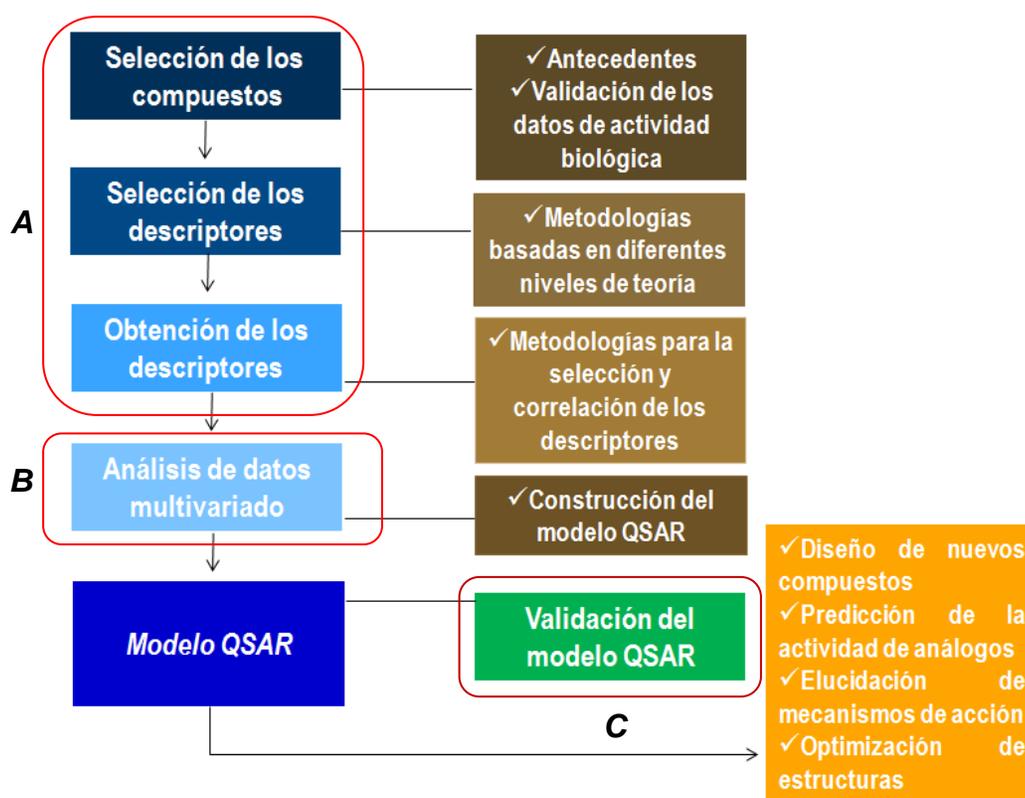
El proceso de desarrollo de un modelo QSAR involucra 3 etapas generales (82) (Figura 1.7):

*a) Etapa A. Preparación de los datos:* Involucra la selección de los compuestos a ser incluidos en el estudio, utilizando como fuente de información la literatura o datos propios. También, implica el cálculo y la selección de los descriptores.

*b) Etapa B. Análisis de los datos:* Consiste en la aplicación de métodos estadísticos para el desarrollo de los modelos QSAR con los descriptores seleccionados. La mayor parte de ellos están basados en regresión lineal múltiple, regresión por mínimos cuadrados parciales y métodos no lineales (como algoritmos genéticos, redes neuronales, etc.).

*c) Etapa C. Validación del modelo:* La validación puede ser definida como una serie de métodos para determinar la validez de los modelos de regresión y es lo mínimo recomendado como estándar en estudios QSAR para asegurar la

confiabilidad, la calidad y la efectividad de los modelos de regresión para propósitos prácticos. Ya que la estadística nunca puede reemplazar a la química, validaciones no estadísticas (validaciones químicas) tales como verificaciones del modelo en términos del mecanismo de acción conocido u otro “conocimiento químico” son también necesarios (83). En cuanto al tipo de validación de un modelo QSAR esta puede ser *interna* o *externa*.



**Figura 1.7** Etapas generales y específicas en el desarrollo de un modelo QSAR.

A continuación se describirá con más detalle cada una de las etapas en el desarrollo de un modelo QSAR.

### 3.3.2 Etapas involucradas en el desarrollo de un modelo QSAR.

#### 3.3.2.1 Etapa A. Preparación de los datos.

**3.3.2.1.1 Selección de los compuestos de la serie de exploración.** El punto de partida de toda metodología QSAR implica la existencia de un *prototipo cabeza de serie*, que se define como un producto que muestra actividad en relación con el objetivo terapéutico buscado (84).

Cuando se dispone de un prototipo, es preciso diseñar una serie de exploración, que está constituida por un conjunto de productos derivados del prototipo, que permita el establecimiento de las primeras relaciones estructura-actividad. Los miembros de la serie de exploración están constituidos por un núcleo común, y unos sustituyentes o fragmentos variables, que son característicos de cada producto de la serie. Los miembros de la serie de exploración deberán ser sintetizados y su actividad biológica ensayada (84).

La calidad de una serie de exploración viene definida principalmente por cuatro aspectos (85,86):

1. *Disimilaridad de la serie*: Los productos de la serie deben ser, respecto a los parámetros elegidos, diferentes entre sí.
2. *Ortogonalidad de la serie*: Los productos deben escogerse de tal forma que la variación en las características se produzca de manera independiente, es decir, si la variación de una propiedad  $X_1$  viene siempre acompañada de la variación en otra propiedad  $X_2$ , no es posible conocer si el cambio de actividad de unos a otros productos se debe al cambio en la propiedad  $X_1$  o a la propiedad  $X_2$ . En

estas situaciones se dice que las propiedades  $X_1$  y  $X_2$  están correlacionadas en la serie. Una serie en la cual las correlaciones son mínimas se dice que es ortogonal.

3. *Homogeneidad*: Se refiere a que los compuestos sean congenéricos, es decir, que tengan un esqueleto común, de esta forma, se garantiza que todos los compuestos actúan a través del mismo mecanismo de acción.

4. *Representatividad*: Dentro del grupo deben haber suficientes niveles de actividad correspondiente a suficientes modificaciones estructurales, que generen suficientes modificaciones en los parámetros seleccionados. Con esta condición se evita que el modelo solo sea representativo de un muy estrecho tipo de condiciones y su valor predictivo sea limitado.

En cuanto al origen de los datos de actividad biológica, se requiere que sean confiables para contruir modelos QSAR también confiables. En términos de actividades biológicas, los datos deberían ser obtenidos mediante un protocolo sencillo, que sea realizado en el mismo laboratorio y por la misma persona. Además, deberían ser protocolos bien estandarizados y los ensayos repetidos al menos tres veces para cada medida y tres o más veces para el experimento general. Los datos de actividad biológica obtenidos de ésta manera tendrán bajo error experimental (87). Si se van a utilizar datos de actividad biológica reportados por otros grupos en la literatura, se deben cumplir las condiciones anteriores.

Antes de construir un modelo QSAR y si se dispone de suficientes datos de actividad biológica u observaciones (preferiblemente mayor de 15), el conjunto de datos suele dividirse en dos grupos: El primer grupo se conoce como *serie de entrenamiento* (en inglés, *training set*) y se utiliza para construir el modelo QSAR y en el proceso de validación interna y el segundo grupo denominado *serie de prueba* (en inglés, *test set*) el cual es empleado para determinar el poder predictivo del modelo y es utilizado durante la validación externa (83).

En cuanto a los métodos empleados para la escogencia de las series de entrenamiento y de prueba pueden ser mediante: 1) Selección manual, 2) Selección al azar, 3) Método de esferas de exclusión y 4) Otros (análisis de grupos, analisis de componente principal, entre otros).

**3.3.2.1.2 Selección y obtención de los descriptores.** Un descriptor es el resultado final de un procedimiento lógico y matemático que transforma la información química codificada dentro de una representación simbólica de una molécula en un número útil o el resultado de algún experimento estandarizado (88). Los descriptores han sido clasificados por categorías, siendo los más importantes y los más utilizados (89): A) Constitucionales B) Topológicos, C) Electrostáticos, D) Geométricos y E) Químico-cuánticos.

Los métodos utilizados para el cálculo de los descriptores se pueden clasificar en dos grupos: a) *Métodos no dependientes del nivel de teoría*, los cuales son obtenidos por reglas no relacionadas directamente con la

descripción mecánico-cuántica del sistema molecular (Ej. Logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua (Log P), entre otros) y b) *Métodos dependientes del nivel de teoría*, refiriéndose el término *nivel de teoría* al método de química computacional, sea semiempírico (90) o de teoría del funcional de la densidad (91) (en inglés, *Density Funcional Theory*, DFT) utilizado para el cálculo de algunos descriptores (Ej. energía HOMO, energía LUMO, etc).

La selección de los descriptores debe ser realizada cuidadosamente. La construcción de un buen modelo depende, en gran parte, de la escogencia de los descriptores: a) Muchos descriptores no contienen información molecular relevante al problema y pudieran estar correlacionados b) La inclusión de demasiados descriptores en el modelo QSAR, incluso, si los descriptores contienen información relevante, puede resultar en un sobreajuste del modelo d) El conocimiento de proceso biológico que esta siendo modelado puede proveer información del tipo de descriptor que pudiera ser relevante para el modelo (92).

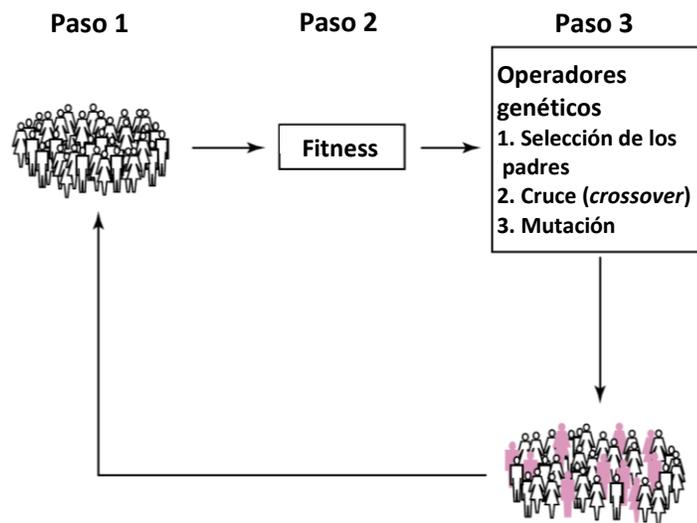
En cuanto a la relación entre la cantidad de datos de actividad biológica (observaciones) y de descriptores debería ser lo más alta posible. Es generalmente aceptado que debe haber al menos entre 4 a 5 observaciones por descriptor (Relación Topliss) para un método de regresión lineal múltiple (93). Otros métodos de regresión lineal emplean más descriptores, pero demasiados descriptores pueden causar dificultades en la interpretación del modelo (83).

**3.3.2.1.2.1 Estandarización de los descriptores.** La mayoría de los descriptores calculados tienen rangos numéricos diferentes, por lo tanto, es necesario estandarizar mediante autoajuste (en inglés, *autoscaling*) los datos antes de proceder a la reducción de variables y al análisis estadístico. Esto permite que cada descriptor tenga la misma oportunidad de contribuir al análisis general (94, 95).

**3.3.2.1.2.2 Aproximación de algoritmo genético como método de reducción de variables.** Generalmente, la cantidad de descriptores seleccionados y calculados es muy grande y no todos pueden ser utilizados para construir una ecuación QSAR. Es por ello que se recurre a la aproximación de algoritmo genético como método para reducir la cantidad de variables independientes y utilizar únicamente aquellas variables que resultaron escogidas por el algoritmo. Los algoritmos genéticos (AGs) están basados en el proceso mediante el cual los organismos vivos, a lo largo de las generaciones, evolucionan de acuerdo a los principios de la selección natural y la supervivencia del “más fuerte”, postulados por Darwin (96).

En la Figura 1.8 se muestra el esquema general de un algoritmo genético. Se parte de una población inicial, siendo sus individuos una posible solución a un determinado problema. Cada individuo en la población está representado por un *cromosoma*, y a su vez, ese cromosoma está constituido por un número determinado de *genes* (descriptores) (Paso 1). A cada individuo se le asigna un valor (en la naturaleza, es el grado de efectividad de un organismo para competir por determinados recursos), aptitud (en inglés,

*fitness*). Mientras más adaptado esté el individuo al problema, mayor será la probabilidad de que sea seleccionado para reproducirse, cruzando su material genético con otro seleccionado de la misma forma (Paso 2). De esta manera se produce una nueva población de posibles soluciones, que contiene mejores características para una posible solución final satisfactoria (Paso 3). Así, a lo largo de las generaciones, las buenas características se propagan a través de la población (97,98).



**Figura 1.8** Esquema general de un algoritmo genético. En el primer paso, se tiene una población inicial de individuos. Luego, la “aptitud” (en inglés, *fitness*) de cada individuo es evaluada (paso 2). La selección de los individuos basada en su “aptitud”, en la aplicación de operadores genéticos, en el cruce (en inglés, *crossover*) y la mutación genera la primera descendencia (paso 3). Los pasos del 1 al 3 son repetidos de forma iterativa (98).

**3.3.2.1.2.3 Dispersión de los datos y distribución.** Una vez que se han seleccionado los descriptores más relevantes mediante la aproximación de algoritmo genético, se debería verificar como es la dispersión de los datos para cada uno de los descriptores seleccionados. Si los valores no muestran variación, estos no deberían incluirse en la ecuación. Un estadístico que puede

ser utilizado para verificar la dispersión de un descriptor es el porcentaje del *Coefficiente de Variación (CV)* (94,95).

**3.3.2.1.2.4 Correlaciones.** Una vez que los descriptores han sido estandarizados y seleccionados por algoritmo genético, se debe verificar la correlación entre los mismos. No tiene sentido en un modelo QSAR incluir descriptores que están correlacionados entre si, es decir, que contribuyen de la misma forma en la ecuación. Esto se realiza a través de una *matriz de correlación* (Figura 1.9), la cual correlaciona todos los descriptores en parejas. Esta genera un número denominado *coeficiente de correlación (r)*, pudiendo tomar los valores entre -1 a 1 (94,95).

	T : C : Confor	U : D : Conne	V : E : Conne	W : F : Conne	X : G : Dipole	Y : H : Electr
T : C : Conformation Minimum Energy (kcal/mol)	1					
U : D : Connectivity Index (order 0, standardized)	-0,335	1				
V : E : Connectivity Index (order 1, standardized)	-0,332	0,968	1			
W : F : Connectivity Index (order 2, standardized)	-0,188	0,968	0,980	1		
X : G : Dipole Moment (debye) Standardized	-0,374	0,631	0,575	0,536	1	
Y : H : Electron Affinity (eV) Standardized	0,189	0,611	0,588	0,675	0,501	1

**Figura 1.9** Ejemplo de una matriz de correlación. Si se fija el valor máximo de correlación en 0.7, los recuadros indicados en amarillo superarían este valor, lo que significa que, que el índice de conectividad de orden 0 correlaciona con el índice de conectividad de orden 1 y no deberían ser utilizados juntos en una ecuación QSAR.

### 3.3.2.2 Etapa B. Análisis de los datos.

Una vez que se han elegido los descriptores aplicando algún método de reducción de variables, se procede a la construcción de la ecuación QSAR. La regresión lineal múltiple es el enfoque estadístico tradicional para derivar modelos QSAR. La regresión lineal múltiple relaciona la variable dependiente  $y$  (actividad biológica) a un número de variables independientes  $x_i$  (predictores

que son los descriptores) utilizando ecuaciones lineales (Ecuación 1.1, Tabla 1.1). Los coeficientes de regresión  $b_j$  en el modelo de regresión lineal pueden ser estimados empleando el procedimiento de mínimos cuadrados.

Existe una variedad de estadísticos o estadígrafos utilizados para caracterizar las ecuaciones de regresión (94,99): 1) El coeficiente de correlación múltiple  $R^2$ , 2) El coeficiente de correlación múltiple ajustado  $R^2_{adj}$ , 3) Error estándar de la predicción  $s$  4) El valor  $F$  y la prueba  $t$ . Las expresiones matemáticas para cada uno de los estadísticos se muestran en la Tablas 1.1A y 1.1B.

### 3.3.2.3 Etapa C. Validación del modelo.

Los modelos QSAR se validan mediante dos procedimientos: a) El primero es la *validación cruzada* empleando una serie de entrenamiento y b) El segundo es una *validación externa* con una serie de prueba. Para la validación del modelo, se requiere que el conjunto de datos (Ej. actividad biológica) sean divididos en 2 grupos: A) Una serie de entrenamiento que será empleado para construir el modelo QSAR y la cual debe contener compuestos con diferentes valores de actividad biológica (actividad baja, media y alta) y B) Una serie de prueba que será utilizada para evaluar la calidad de los diferentes modelos obtenidos. En cuanto al número de datos que deben conformar la serie de prueba, se recomienda disponer entre un 20% y 30% de datos de la serie de entrenamiento (100).

La robustez y la predictividad de un modelo QSAR se valora mediante los siguientes estadísticos (94,99): 1) Error cuadrático medio, 2) Suma de los cuadrados de los residuales predictiva *PRESS*, 3) Validación cruzada  $Q^2$  y 4) Error en la desviación estándar de la predicción. Las ecuaciones matemáticas para cada estadístico pueden ser encontradas en la Tabla 1.2.

También, las *gráficas de residuales* son útiles para descubrir posibles violaciones en los supuestos requeridos para un análisis de regresión. El análisis de residuales se realiza a través de la gráfica de residuales donde se grafica la diferencia entre el valor observado y el valor predicho versus la respuesta observada (datos de actividad biológica). Estas gráficas deben estar libres de cualquier patrón. Deben aparecer como una dispersión aleatoria de puntos respecto a 0 en el eje vertical con más o menos la misma dispersión vertical para todos los valores. Si no hay ningún patrón evidente en la gráfica de residuales, indica que el modelo es adecuado para estos datos (101).

Por otro lado, no todos los datos que conforman la muestra se ajustan a la recta, plano o hiperplano que describe el modelo QSAR pudiendo considerarse como un valor atípico o un *outlier* estadístico (102). Los valores atípicos son observaciones atípicas no frecuentes. Por la forma en que se determina la línea de regresión en la regresión lineal múltiple, los valores atípicos tienen una profunda influencia en la pendiente de la línea de regresión y por lo tanto, sobre el valor de  $r$ . Inclusive, un solo valor atípico es capaz de provocar estos cambios.

**Tabla 1.1A** Parámetros de bondad de ajuste en la regresión lineal múltiple (RLM) (94,99).

Ecuación No.	Definición	Ecuación y términos	Significado
1.1	Ecuación de regresión lineal múltiple	$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_px_p$ <p><math>\hat{y}</math> = variable dependiente calculada.  <math>x_j</math> = variable independiente predictora (descriptor).  <math>b_j</math> = coeficiente de regresión.  <math>b_0</math> = punto de corte en el eje y.</p>	Describe la relación lineal entre dos o más variables independiente $x_1, x_2, \dots, x_p$ , es decir, es un análisis estadístico que permite la asociación entre múltiple variables.
1.2	Coeficiente de determinación múltiple $R^2$	$R^2 = \frac{SS_{reg}}{SS_T} \quad R^2 = \frac{(SS_T - SS_{res})}{SS_T} \quad R^2 = 1 - \frac{SS_{res}}{SS_T}$ <p><math>SS_T = \sum_i (y_i - \bar{y})^2</math> <math>SS_T</math> Suma total de los cuadrados.  <math>SS_{res} = \sum_i (y_i - \hat{y})^2</math> <math>SS_{res}</math> Suma de los cuadrados de los residuales.  <math>SS_{reg} = \sum_i (\hat{y} - \bar{y})^2</math> <math>SS_{reg}</math> Suma de los cuadrados de la regresión.</p> <p><math>y_i</math> = Variable dependiente (valor observado).  <math>\bar{y}</math> = Valor medio de la variable dependiente.  <math>\hat{y}</math> = Variable dependiente calculada.</p>	<p>Mide la calidad de la regresión lineal simple o múltiple. El valor de <math>R^2</math> indica la proporción de la variación en la variable dependiente que es explicada por la ecuación de regresión, es decir, es una medida del grado en que un modelo de regresión se ajusta a un conjunto de datos. Puede tomar valores entre 0 y 1.</p> <p>Un valor <math>R^2</math> de cero corresponde a una situación en que ninguna de las variaciones en las observaciones es explicada por la variación en las variables independientes, sin embargo, un valor de 1 corresponde a una explicación perfecta.</p>
1.3	Coeficiente de determinación múltiple ajustado $R^2_{adj}$	$R^2_{adj} = 1 - \frac{SS_{res}/(n - p - 1)}{SS_T/(n - 1)}$ <p><math>n</math> = número de observaciones.  <math>p</math> = número de variables independientes incluidas en el modelo.</p>	Su interpretación es similar a $R^2$ pero considera el número de grados de libertad. Este valor debe ser mayor de 0.5.

**Tabla 1.1B** Parámetros de bondad de ajuste en la regresión lineal múltiple (94,99).

Ecuación No.	Definición	Ecuación y términos	Significado
1.4	Error estándar de la predicción s	$s = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{(n - p - 1)}}$ <p><math>n =</math> número de observaciones.  <math>p =</math> número de variables independientes incluidas en el modelo.</p>	<p>Indica que tan bien predice la función de regresión los datos observados, es decir, es una medida de la precisión con la que las predicciones pueden ser hechas a partir de la ecuación de regresión. La tendencia a cero de este valor pudiera presuponer mayor calidad en la predicción.</p>
1.5	Valor $F$	$F = \frac{EMS}{RMS} \quad F = \frac{SS_{reg}/p}{SS_{res}/n - p - 1}$ <p><math>RMS = SS_{reg}/(n - p - 1) =</math> cuadrado medio del residual.  <math>EMS = SS_{reg}/p =</math> cuadrado medio explicado.</p>	<p>Es una medida de la significancia general de un modelo de regresión. El valor <math>F</math> es la relación entre la varianza explicada y no explicada para un número de grados de libertad, de manera que cuanto más alejado esté el valor de <math>F</math> del valor crítico más confiable será el modelo, es decir, valores elevados de <math>F</math> indican mayor confianza de la ecuación QSAR.</p>
1.6	Prueba $t$	$t = \frac{b_j}{s_{bj}} \quad s_{bj} = \frac{s}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{MS_g}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$ <p><math>s_{bj} =</math>  desviación estandar del coeficiente de regresión <math>b_j</math> estimada.  <math>\bar{x} =</math> valor promedio de la variable independiente.</p>	<p>Es una medida de la significancia de los términos individuales en una ecuación de regresión. Si el valor obtenido es mayor que el valor tabulado, entonces el coeficiente es considerado significativo.</p>

**Tabla 1.2** Definiciones de robustez y predictividad del QSAR (94,99).

Ecuación No.	Definición	Ecuación y términos	Significado
1.8	Error cuadrático medio, <i>MSE</i>	$MSE = \sum_i^n (y_i - \hat{y}_{i/i})^2 / n$ <p><math>y_i =</math> respuesta observada (Variable Dependiente, <i>VD</i>).</p> <p><math>\hat{y}_{i/i} =</math> respuesta estimada <i>VD</i> obtenida del modelo QSAR.</p>	Se define como el promedio del cuadrado de los residuales. El residual se define como la diferencia entre el valor observado (actividad biológica) y el valor predicho o calculado de la actividad biológica, calculados por el modelo.
1.9	Suma de los cuadrados de los residuales predichos, <i>PRESS</i>	$PRESS = \sum_i (y_i - \hat{y}_{i/i})$ <p><math>y_i =</math> respuesta observada (Variable Dependiente, <i>VD</i>).</p> <p><math>\hat{y}_{i/i} =</math> respuesta estimada <i>VD</i> obtenida del modelo QSAR.</p>	Es otra medida de la capacidad predictiva de un modelo QSAR. Estos son valores de datos que no fueron utilizados para derivar el modelo. <i>PRESS</i> y $Q^2$ están relacionados.
1.10	Validación cruzada $Q^2$ (Varianza explicada en la predicción)	$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{SS_t} = 1 - \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_{i/i})}{(y_i - \bar{y})^2}$ <p><math>SS_t =</math> suma de los cuadrados total.</p> <p><math>y_i =</math> respuesta observada (Variables Dependiente, <i>VD</i>).</p> <p><math>\hat{y}_{i/i} =</math> respuesta estimada <i>VD</i> obtenida del modelo QSAR.</p> <p><math>\bar{y} =</math> promedio del valor de la respuesta del training set.</p>	La forma más simple de validación es la validación cruzada <i>LOO</i> (en inglés, <i>Leave One Out, LOO</i> ). Consiste en eliminar un compuesto del <i>training set</i> , generar un modelo a partir del resto de los compuestos y realizar la predicción del compuesto eliminado. Repitiendo este proceso para cada compuesto conduce a una validación cruzada. Este valor es más bajo que $R^2$ . Es una guía confiable de la capacidad predictiva del QSAR.
1.12	Error en la desviación estándar de la predicción, <i>SDEP</i>	$SDEP = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_{i/i})^2}{n}}$ <p><math>y_i =</math> respuesta observada (Variables Dependiente, <i>VD</i>).</p> <p><math>\hat{y}_{i/i} =</math> respuesta estimada <i>VD</i> obtenida del modelo QSAR.</p> <p><math>n =</math> número de objetos (ej. compuestos) en el training set.</p>	Este estadístico se calcula empleando el valor predicho de las variables dependientes cuando una observación es dejada fuera de la serie de entrenamiento ( <i>training set</i> ) y colocada en la serie de prueba ( <i>test set</i> ).

En conclusión, un modelo con alta calidad estadística debe tener las siguientes características: 1) Un alto poder de predicción, el cual es alcanzado con la menor cantidad de variables independientes posibles y 2) Que exista una baja correlación entre las variables independientes. Para una explicación más extensa referente a la validación de un modelo QSAR se puede consultar las directrices de la Organización para el Desarrollo y Cooperación Económica (en inglés, *Organisation for Economic Co-operation and Development*, OEDC) (99).

#### **3.4 Predicción de la absorción *in vivo*: Regla de los 5 y Reglas de Veber.**

La determinación de propiedades relacionadas con la farmacocinética, tales como, absorción, distribución, metabolismo y excreción (propiedades ADME) son muy importantes, ya que, un gran porcentaje de candidatos a drogas que alcanzan ensayos clínicos no superan esta fase debido a problemas de toxicidad y farmacocinética (103), por lo que, Lipinski et al (104) propusieron una serie de reglas conocidas como las **Reglas de Lipinski o la Regla de los Cinco** como una guía para mejorar la biodisponibilidad oral durante la modificación del compuesto líder.

Estas reglas establecen que un compuesto administrado oralmente probablemente tendrá una buena absorción o permeabilidad si satisface los siguientes criterios: **1)** El número de donadores de puentes de hidrógeno debe ser menor o igual a 5 (entre grupos –OH y –NH), **2)** El número aceptores de puentes de hidrógeno debe ser menor o igual a 10 (entre átomos de O y N), **3)** El peso molecular debe ser menor de 500 g/mol y **4)** El *LogP* debe ser menor

de 5. Si no se cumplen algunas de las reglas mencionadas anteriormente, se está ante una violación de las Reglas de Lipinski. Excepciones a estas reglas son aquellas clases de compuestos que son sustratos para transportadores biológicos y productos naturales.

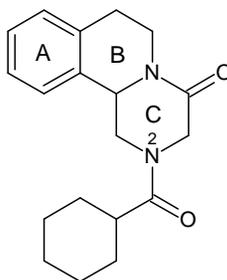
Veber et al (105) midieron la biodisponibilidad oral de 1100 compuestos candidatos a drogas y encontraron que una disminución de la flexibilidad molecular, determinado por el número de enlaces rotables (10 o menos) y una baja área de superficie polar ( $\leq 140 \text{ \AA}^2$ ), determinada por el número total de puentes de hidrógeno entre aceptores y donadores ( $\leq 12$ ) son buenos predictores de la biodisponibilidad oral, independientemente del peso molecular. Se encontró que una baja área de superficie polar correlaciona mejor con un incremento en la velocidad de penetración de la membrana más que la lipofilicidad.

#### 4. Objetivo general.

Diseñar y sintetizar un grupo de pirazinoisoquinolinas sustituidas. Evaluar su actividad biológica como esquistosomicidas y estudiar la posible relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR) para una serie de análogos y derivados de pirazinoisoquinolina.

#### 4.1 Objetivos específicos.

4.1.1 Sintetizar una serie de derivados y análogos de la droga PZQ con diferentes sustituyentes en el anillo A, contracción del anillo B, expansión del anillo C y sustituyentes sobre el nitrógeno en posición 2.



4.1.2. Elucidar estructuralmente los compuestos sintetizados (IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, EM).

4.1.3 Evaluar la actividad biológica de los derivados y análogos de PZQ *in vitro* en cepas de *S. mansoni*.

4.1.4. Estudiar la relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR) para una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas:

4.1.4.1 Realizar el análisis conformacional.

**4.1.4.2** Determinar la densidad electrónica, orbitales frontera (HOMO y LUMO) y potenciales electrostáticos para los compuestos estudiados.

**4.1.4.3** Determinar las medidas geométricas tales como: volúmenes y distancias interatómicas, que estén relacionadas con la actividad de los mismos.

**4.1.4.4** Evaluar toda la información obtenida con el propósito de correlacionar la estructura de los compuestos con la actividad biológica y con toda esta información, de ser posible, diseñar moléculas orgánicas pequeñas con mejores características que las de los compuestos más activos.

## 5. Materiales y Métodos.

### 5.1 Sección química.

Los reactivos empleados fueron de las marcas *Aldrich*, *Merck*, *Riedel de Hæn* e *Iris Biotech*. La pureza de los mismos fue verificada por Espectroscopia de Infrarrojo (EIR), Cromatografía de Capa Fina (CCF) o punto de fusión. En los casos necesarios, estos fueron purificados mediante las técnicas adecuadas. Algunos solventes utilizados eran de grado analítico y no requirieron de purificación adicional. Los solventes de grado técnico fueron destilados.

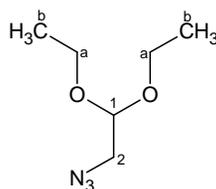
El progreso de todas las reacciones fue monitoreado por CCF utilizando como adsorbente una mezcla de sílica gel CAMAG con 5% de  $\text{CaSO}_4$  y sílica gel DGF con indicador de luz ultravioleta (254 nm) en proporciones 4:1, en capas de 0.25 mm de espesor y placas de 20 x 5 cm. Los cromatogramas desarrollados fueron observados bajo luz ultravioleta (254 y 265 nm). La purificación de los compuestos sintetizados fue realizada empleando Cromatografía de Capa Preparativa (CCP) utilizando como adsorbentes la mezcla de sílica gel utilizada en CCF en capas de 1.00 mm de espesor y placas de 20 x 20 cm. Para la Cromatografía de Columna (CC) el adsorbente utilizado fue sílica gel Scharlau con tamaño de partícula de 70-230 mesh ASTM (0.06-0.2) mm.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Electrothermal® y no fueron corregidos. Los espectros de infrarrojo (EIR) fueron registrados en espectrofotómetros Perkin Elmer 1310 y Spectrum RX y tomados en solución de

CHCl<sub>3</sub>. Las frecuencias fueron expresadas en cm<sup>-1</sup>. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C fueron registrados en instrumentos JEOL de 270 MHz, BRUKER de 300 y 500 MHz. Los desplazamientos químicos (δ) son reportados en partes por millón (ppm) relativo al tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los espectros de masas fueron obtenidos en un sistema de Trampa de Iones Lineal 3200 QTRAP (*Applied Biosystem*) utilizando una fuente “*Turbo Ion Spray*” en modo positivo y un equipo Finnigan TSQ Quantum Ultra AM de cuadrupolo con fuente de ionización química. Las rotaciones ópticas (α) fueron medidas en un polarímetro Perkin Elmer 341 a 589 nm y las concentraciones fueron reportadas en g/mL en el solvente dado.

### 5.1.1 Síntesis I: Síntesis de intermediarios involucrados en la obtención de derivados y análogos de PZQ.

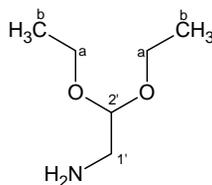
#### 5.1.1.1 Síntesis de 2-azido-1,1-dietoxietano, 1.46.



Fue preparado de acuerdo al procedimiento reportado por Bellur et al (106): La NaN<sub>3</sub> (65 g/mol, 6.094 g, 93.75 mmoles) y el KI (166.01 g/mol, 1.097 g, 6.61 mmoles) fueron adicionados a una solución del bromoacetaldehído dimetil acetal (BADA) (197.08 g/mol, 1.27 g/mL, 10 mL (98%), 12.45 g, 63.17 mmoles) en DMSO (48 mL). Luego calentados a 90 °C por 7 días con agitación. La reacción fue monitoreada por CCF (DCM). Una vez que la mezcla de reacción alcanzó temperatura ambiente, se adicionaron 10 mL de agua y se

realizaron varias extracciones con *n*-pentano. Se combinaron las capas orgánicas y la resultante fue secada con MgSO<sub>4</sub>. El solvente fue evaporado a presión reducida obteniéndose un líquido incoloro. El producto no fue purificado y almacenado a 8 °C. **PM (g/mol):** 159.19. **Rendimiento (%):** 95 (9.530 g). Líquido incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2960, 2920, 2890, 2090, 1440, 1370, 1340, 1260, 1120, 1050, 940. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.21 (t, *J* = 7.12 Hz, 6H, 2 x H-b), 3.21 (d, *J*<sub>2,1</sub> = 5.21 Hz, 2H, H-2), 3.53-3.73 (m, 4H, 2 x H-a), 4.57 (t, *J*<sub>1,2</sub> = 5.18 Hz, 1H, H-1). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 15.35 (2 x C-b), 52.56 (C-2), 63.07 (2 x C-a), 101.51 (C-1).

#### 5.1.1.2 Síntesis de 2,2-dietoxietanamina, 1.47.

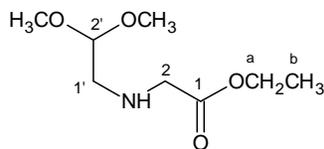


En el recipiente de vidrio del Hidrogenador Parr, se adicionó **1.46** (159.19 g/mol, 0.594 g, 3.73 mmoles) disuelto en EtOH absoluto (15 mL) y 11% en peso, respecto al 2-azido-1,1-dietoxietano, del catalizador Pd/C (10%) (0.063 g) sometiéndose a una presión de hidrógeno de 20 lp<sup>2</sup>. Se dejó en agitación por 3.5 h a 26 °C. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un líquido amarillo. La CCF (1% de MeOH en DCM) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 133.19. **Rendimiento (%):** 86 (0.426 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND (Aldrich, 162-163 (°C)). **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2960, 2920, 2880, 1440, 1370, 1340, 1120, 1050, 1000, 870. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.16 (t, *J* = 7.26

Hz, 6H, 2 x H-b), 1.70 (sa, 2H, NH), 2.70 (d, 2H, H-1'), 3.45-3.68 (m, 4H, 2 x H-a), 4.37 (t, 1H, H-2'). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 15.41 (2 x C-b), 44.58 (C-1'), 62.50 (2 x C-a), 102.13 (C-2').

### 5.1.1.2 Síntesis de derivados de [(2,2-dimetoxietil)amino]ésteres de etilo.

#### 5.1.1.2.1 Síntesis de [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo, 1.48.

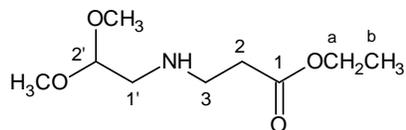


A una solución de aminoacetaldehído dimetilacetal (AADA) (105.14 g/mol, 0.975 g/mL, 10 mL, 9.75 g, 92.73 mmoles) en MeCN (50 mL) fue agregado muy lentamente mediante un embudo de adición el bromoacetato de etilo (167.01 g/mol, 8.002 g, 47.91 mmoles) disuelto en MeCN (10 mL) con agitación. Finalizada la adición, se calentó a 50 °C por 94 h. El curso de la reacción fue seguido por CCF (DCM). Se evaporó el MeCN a presión reducida y se adicionó AcOEt precipitando el bromohidrato del aminoacetal. Se filtró por succión y la solución madre fue evaporada a presión reducida obteniéndose un aceite que fue disuelto en DCM. Se realizaron varios lavados con agua (4 veces), la solución fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y luego el solvente evaporado a presión reducida, aislándose un líquido amarillo. Una pequeña porción del producto aislado fue purificada por CCP, para la caracterización espectroscópica, siendo la placa desarrollada en una mezcla al 1% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 191.22. **Rendimiento (%):** 89 (8.159 g). Líquido amarillo.

**IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3339, 2987, 2940, 2836, 1735, 1465, 1446, 1371, 1197, 1131, 1061, 1028. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.25 (t, *J* = 7.18 Hz, 3H, H-b), 1.78 (sa, 1H, NH), 2.73 (d, *J* = 5.45 Hz, 2H, H-1'), 3.36 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.40 (s, 2H, H-2), 4.16 (c, *J* = 7.18 Hz, 2H, H-a), 4.44 (t, *J* = 5.43 Hz, 2H, H-2'). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.31 (C-b), 50.59 y 50.90 (2 x OCH<sub>3</sub>), 53.85 (C-1' y C-2), 60.84 (C-a), 103.87 (C-2'), 172.35 (C-1).

#### 5.1.1.2.2 Síntesis de 3-[(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo, 1.49.

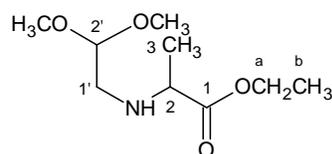
##### Procedimiento general.



A una solución de AADA (105.14 g/mol, 3.120 g, 29.67 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 7 mL, 40.19 mmoles) en MeCN (50 mL) fue agregado muy lentamente el β-bromopropionato de etilo (181.14 g/mol, 4.776 g, 26.37 mmoles) con agitación. Finalizada la adición, se calentó a 50 °C por 168 h. El curso de la reacción fue seguido por CCF (DCM). Se evaporó el MeCN a presión reducida obteniéndose un aceite que fue disuelto en DCM. Se lavó la capa orgánica con agua (4 veces). Esta fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, luego filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un líquido amarillo. La CCF (1% de MeOH en DCM) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. Una pequeña porción del producto aislado fue purificado por CCP, para la caracterización espectroscópica, siendo la placa desarrollada en una mezcla al 1% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 205.25. **Rendimiento**

(%): 55.56 (3.007 g). Líquido amarillo. IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3327, 2985, 2939, 2836, 1727, 1465, 1446, 1376, 1179, 1128, 1072. RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.22 (t,  $J = 6$  Hz, 3H, H-b), 2.47 (t,  $J = 6$  Hz, 2H, H-2), 2.71 (d,  $J = 3$  Hz, 2H, H-1'), 2.86 (t,  $J = 9$  Hz, 2H, H-3), 3.34 (s, 6H, 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 4.10 (c,  $J = 6$  Hz, H-a), 4.42 (t,  $J = 9$  Hz, 1H, H-2'). RMN- $^{13}\text{C}$  (75.48 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 14.15 (C-b), 34.65 (C-2), 45.03 (C-3), 50.86 (C-1'), 53.91 (2 x  $\text{OCH}_3$ ), 103.62 (C-2'), 172.56 (C-1).

### 5.1.1.2.3 2-[(2,2-Dimetoxietil)amino]propanoato de etilo, 1.50.

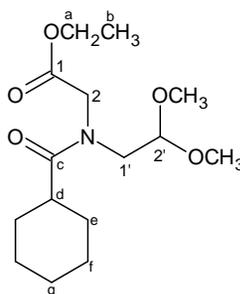


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: AADA (105.14 g/mol, 0.975 g/mL, 2.1 mL, 19.47 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 2.5 mL, 14.35 mmoles), MeCN (30 mL) y  $\alpha$ -bromopropionato de etilo (181.14 g/mol, 3.540 g, 19.54 mmoles). Finalizada la adición, se calentó a 50 °C por 120 h. Se aisló un líquido amarillo. La CCF (1% de EtOH en DCM) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. Una pequeña porción del producto aislado fue purificada por CCP, para la caracterización espectroscópica, siendo la placa desarrollada en una mezcla al 1% de EtOH en DCM **PM (g/mol):** 205.25. **Rendimiento (%):** 81 (3.254 g). Líquido amarillo. IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3621, 2978, 2940, 2837, 1729, 1447, 1393, 1376, 1161, 1130, 1055. RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.22 (t, 3H, H-b), 1.25 (d, 3H, H-3), 1.77 (sa,  $\text{NH}$ ), 2.55 y 2.74 (2d,  $J_{1',2'} = 3$  Hz, H-1'), 2.68-2.74 (m, H-2), 3.31 y 3.32 (2s, 6H, 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 4.13 (c, 2H, H-a), 4.39-4.42 (m,

1H, H-2'). RMN-<sup>13</sup>C (75.48 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ): 14.18 (C-a), 18.94 (C-3), 48.89 (C-1'), 53.11 y 53.99 (2 x OCH<sub>3</sub>), 56.51 (C-2), 60.61 (C-a), 103.65 (C-2'), 175.33 (C-1).

### 5.1.1.3 Síntesis de derivados [(2,2-dimetoxietil)amino]ésteres de etilo *N,N*-disustituídos.

#### 5.1.1.3.1 Síntesis de [ciclohexilcarbonyl(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo, 1.51. Procedimiento general.



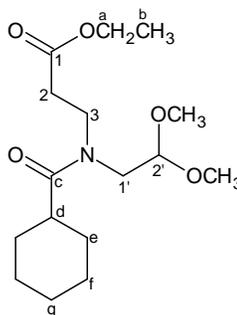
El ácido ciclohexilcarboxílico (128.17 g/mol, 2.040 g, 15.92 mmoles) fue disuelto en Tol seco<sup>6</sup> (26 mL), luego fue adicionado SOCl<sub>2</sub><sup>7</sup> (118.97 g/mol, 1.631 g/mL, 15.5 mL, 212.49 mmoles) y la mezcla calentada a reflujo con agitación por 2 h. El solvente y el exceso de SOCl<sub>2</sub> fueron eliminados por destilación simple. El crudo del cloruro de ácido fue disuelto en Tol seco (20 mL) y la mezcla de reacción enfriada utilizando un baño hielo-sal. Después de 15 min, una solución de **1.48** (191.22 g/mol, 3.699 g, 19.34 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 5.5 mL, 31.57 mmoles) en Tol seco (25 mL) fue agregada muy lentamente con agitación por 1.75 h manteniendo la temperatura del baño de reacción por debajo de 0°C. Luego, se dejó en agitación a 26°C por 15 h. Se

<sup>6</sup>Tol mantenido sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

<sup>7</sup>Recién destilado.

evaporó el Tol a presión reducida. El residuo fue disuelto en DCM y lavado de la siguiente forma: 1) Agua (3 veces), 2) Solución de HCl 3N (2 veces), 3) Agua (2 veces), 4) Solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10% (2 veces) y 5), agua (2 veces). La capa orgánica fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un aceite marrón claro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):** 301.38. **Rendimiento (%):** 80 (3.852 g). Líquido amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3009, 2936, 2857, 1744, 1646, 1452, 1195, 1127, 1086, 1029. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.21-1.29 (2t, H-b), 1.49-1.76 (m, 8H, H-e, H-f y H-g), 2.18-2.28 y 2.51-2.60 (2m, 1H, H-d), 3.35 y 3.39 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.43-3.46 (m, 2H, H-1'), 4.09 y 4.13 (2s, 2H, H-2), 4.09-4.23 (m, 2H, H-a), 4.34-4.39 (c, 1H, H-2'). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.14 y 14.18 (C-b), 25.71 (C-g y C-f), 29.31 (C-e), 40.35 y 40.87 (C-d), 48.83 y 49.72 (C-2), 50.98 y 51.15 (C-1'), 55.00 y 55.15 (2 x OCH<sub>3</sub>), 60.09 y 61.38 (C-a), 104.00 y 104.32 (C-2'), 169.57 y 169.66 (C-c), 177.03 y 177.13 (C-1). **DEPT-135 (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Confirma la asignación del <sup>13</sup>C. **HETCOR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostraron las correlaciones entre protón y carbono esperadas. **IES-EM (m/z):** 324.50 (M + Na<sup>+</sup>).

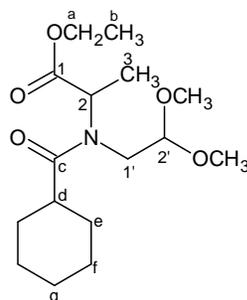
### 5.1.1.3.2 3-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo, 1.52.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: Ácido ciclohexilcarboxílico (128.17 g/mol, 1.851 g, 14.44 mmoles), Tol seco (40 mL) y  $\text{SOCl}_2$  (118.97 g/mol, 1.631 g/mL, 14 mL, 191.93 mmoles). Una vez aislado el crudo del cloruro de ácido, se procedió a la adición de: Compuesto **1.49** (205.25 g/mol, 2.987 g, 14.55 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 5 mL, 28.71 mmoles) en Tol (30 mL). El aceite marrón obtenido fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{-AcOEt}$ ). **PM (g/mol):** 315.41. **Rendimiento (%):** 86 (3.906 g). Líquido amarillo denso. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2980, 2920, 2840, 1710, 1620, 1440, 1370, 1170, 1110, 1050, 910. **RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.16-1.24 (m, H-b), 1.42-1.85 (m, H-g, H-e y H-f), 2.52-2.55 (m, H-d), 2.39- 2.53 (m, H-2), 3.33 y 3.40 (2d,  $J_{1',2'} = 5.5$  Hz, H-1'), 3.36 y 3.37 (2s,  $\text{OCH}_3$ ), 3.58 y 3.65 (2t,  $J_{3,2} = 7.5$  Hz, 2H, H-3), 4.05-4.13 (m, H-a), 4.30 y 4.45 (2t,  $J_{2',1'} = 5.5$  Hz, 1H, H-2'). **RMN- $^{13}\text{C}$  (125.73 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 14.16 (C-b), 25.75 (C-g), 29.36 y 29.59 (C-e y C-f, intercambiables), 32.78 y 34.28 (C-2), 40.47 y 40.63 (C-d), 43.51 y 44.70 (C-3), 48.74 y 50.90 (C-1'), 55.27 y 55.40 (2 x  $\text{OCH}_3$ ), 60.44 y 60.79 (C-a), 103.51 y 104.26 (C-2'), 171.14 y 172.26 (C-c), 176.78 y 177.01 (C-1). **HMQC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

### 5.1.1.3.3 2-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo,

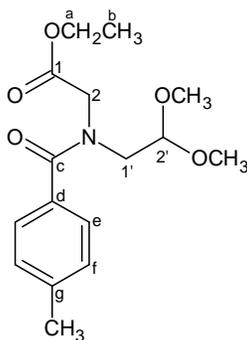
**1.53.**



[69]

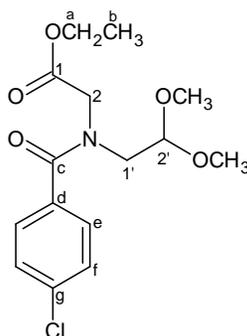
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: Ácido ciclohexilcarboxílico (128.17 g/mol, 1.871 g, 14.60 mmoles), Tol seco (30 mL) y  $\text{SOCl}_2$  (118.97 g/mol, 1.631 g/mL, 15 mL, 205.64 mmoles). Una vez aislado el crudo del cloruro de ácido, se procedió a la adición de: Compuesto **1.50** (205.25 g/mol, 3.012 g, 14.67 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 5.1 mL, 29.28 mmoles) en Tol (25 mL). El aceite marrón obtenido fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{-AcOEt}$ ). **PM (g/mol):** 315.41. **Rendimiento (%):** 83 (3.835 g). Líquido amarillo denso. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2980, 2920, 2840, 1720, 1620, 1440, 1170, 1100, 1060, 910. **RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.17-1.26 (m, H-b), 1.17-1.76 (m, H-g, H-f y H-e), 1.41 y 1.48 (2d,  $J = 6$  Hz, H-3), 2.25-2.35 y 2.51-2.61 (2m, 1H, H-d), 3.36 (d, 1H, H-1'), 3.40 y 3.41 (2s, 6H, 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 4.04-4.22 (m, 4H, H-a y H-2), 4.38-4.41 (2t, H-2'). **RMN- $^{13}\text{C}$  (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 14.14 (C-b), 14.73 (C-3), 25.65-25.86 (C-g y C-f), 29.16 y 29.24 (C-e), 40.57 (C-d), 50.35 (C-2), 55.18 y 55.47 (2 x  $\text{OCH}_3$ ), 56.18 (C-1'), 60.78 (C-a), 103.61 y 104.80 (C-2'), 171.66 (C-c), 177.54 (C-1).

#### 5.1.1.3.4 Síntesis de [(2,2-Dimetoxietil)(4-metilbenzoil)amino]acetato de etilo, 1.54. Procedimiento general.



El cloruro de *p*-metilbenzoilo (154.60 g/mol, 1.17 g/mL, 0.45 mL, 3.41 mmoles) fue disuelto en Tol seco (25 mL) y la mezcla de reacción enfriada utilizando un baño hielo-sal. Después de 15 min, una solución de **1.48** (191.22 g/mol, 1.299 g, 6.79 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1.8 mL, 10.33 mmoles) en Tol (25 mL) fue agregada muy lentamente con agitación por 1.75 h manteniendo la temperatura del baño de reacción por debajo de 0°C. Luego, se dejó en agitación a 26°C por 23 h. Se evaporó el Tol a presión reducida. Para el aislamiento del producto, se siguió el procedimiento descrito en el apartado **5.1.1.3.1**. Se obtuvo un aceite amarillo claro. La CCF (DCM) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. Una pequeña porción del producto aislado fue purificada por CCP, para la caracterización espectroscópica, siendo la placa desarrollada en una mezcla C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt (80-20%). **PM (g/mol):** 309.36. **Rendimiento (%):** 97 (1.024 g). Aceite amarillo. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3014, 2939, 2837, 1744, 1639, 1513, 1454, 1422, 1205, 1126, 1079, 1030, 829. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.21 y 1.27 (2t, *J* = 6 Hz y *J* = 9 Hz, H-b), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.23 y 3.40 (2s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.61 (d, *J* = 3 Hz, H-1'), 4.09 y 4.31 (2s, H-2), 4.14-4.23 (m, H-a), 4.61 (t, H-2'), 7.13-7.16 (m, H-f), 7.30-7.32 (m, H-e). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.15 (C-b), 21.33 (CH<sub>3</sub>), 48.06 y 48.89 (C-1'), 52.11 y 52.39 (C-2), 54.54 y 55.00 (2 x OCH<sub>3</sub>), 61.03 y 61.24 (C-a), 103.54 y 104.20 (C-2'), 126.60 y 126.73 (C-e), 129.08 y 132.80 (C-f), 139.75 y 139.81 (C-d y C-g, intercambiables), 169.32 y 169.63 (C-c), 172.69 (C-1).

### 5.1.1.3.5 [(2,2-Dimetoxietil)(4-clorobenzoil)amino]acetato de etilo, 1.55.



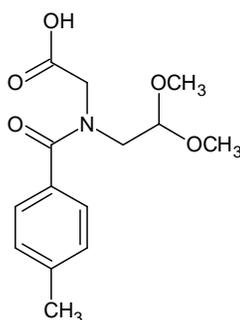
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: cloruro de *p*-clorobenzoil (175.01 g/mol, 1.365 g/mL, 1 mL, 7.80 mmoles), el compuesto **1.48** (191.22 g/mol, 1.944 g, 10.17 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 3.4 mL, 19.52 mmoles) y un volumen total de Tol (45 mL). Se aisló un aceite incoloro. La CCF (50% de AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. Una pequeña porción del producto aislado fue purificada por CCP, para la caracterización espectroscópica, siendo la placa desarrollada en una mezcla C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt (80-20%). **PM (g/mol):** 329.78. **Rendimiento (%):** 78 (1.930 g). Aceite incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2997, 2941, 2838, 1744, 1644, 1599, 1456, 1421, 1302, 1207, 1126, 1080, 838. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.20 y 1.27 (2t,  $J_{b,a} = 6$  Hz, H-b), 3.24 y 3.39 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.36 y 3.61 (2d,  $J_{1',2'} = 6$  Hz, 2H, H-1'), 4.04 y 4.29 (2s, H-2), 4.12 y 4.19 (2c,  $J_{a,b} = 6$  Hz, H-a), 4.33 y 4.58 (2t,  $J_{2',1'} = 6$  Hz, H-2'), 7.32 (s, 2H, 2 x H-f), 7.37 (s, 2H, 2 x H-e). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.19 (C-b), 48.08 y 49.00 (C-1'), 52.10 y 52.31 (C-2), 54.68 y 55.02 (2 x OCH<sub>3</sub>), 61.20 y 61.47 (C-a), 103.41 y 103.85 (C-2'), 128.16 y 128.38 (C-e),

128.82 (2 x C-f), 134.14 (C-g), 135.79 y 135.83 (C-d), 169.12 y 169.45 (C-c), 171.56 (C-1).

#### 5.1.1.4 Síntesis de derivados del ácido (2,2-dimetoxietil)amino] carboxílico.

##### 5.1.1.4.1 Ácido [(2,2-dimetoxietil)(4-metilbenzoil)amino]acético, 1.56.

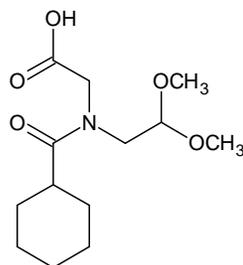
###### Procedimiento general. Método A.



El compuesto **1.54** (309.36 g/mol, 0.860 g, 2.78 mmoles) fue disuelto en EtOH (18 mL). Seguidamente, se adicionó una solución de NaOH 0.6 M (9 mL). La mezcla de reacción fue calentada entre 60-70 °C por 2 h. Posteriormente, se evaporó el EtOH a presión reducida y se agregaron 20 mL de agua. Se ajustó el pH a 8 con una solución de HCl 3N. Se extrajo con DCM (3 veces) la capa acuosa. La capa acuosa fue acidificada con una solución HCl 3N y nuevamente extraída con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con agua, secada con MgSO<sub>4</sub> y filtrada a presión reducida obteniéndose un aceite amarillo. La CCF (40% de AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 281.30. **Rendimiento (%):** 89 (0.693 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2992, 2944, 2839, 1732, 1636, 1456, 1423, 1302, 1266, 1126, 1079, 982.

#### 5.1.1.4.2 Ácido [(ciclohexilcarbonil)(2,2-dimetoxietil)amino]acético, 1.57.

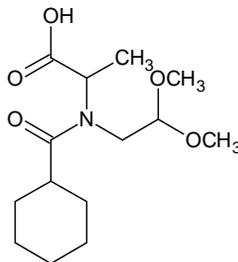
##### Procedimiento general. Método B.



Se siguió el procedimiento descrito por Theodorou et al (107): El compuesto **1.51** (301.38 g/mol, 1.043 g, 3.46 mmoles) fue disuelto en  $\text{CHCl}_3$  (10 mL) y seguidamente adicionado MeOH (1 mL). Por último, se añadió el NaOH (40 g/mol, 0.212 g, 5.30 mmoles). La suspensión se dejó en agitación a 26 °C por 6 h. La reacción fue seguida por CCF (1% de MeOH en DCM). Después de este tiempo, se adicionó agua (10 mL), se ajustó el pH entre 6-7 con una solución HCl 3N y se realizaron varias extracciones con DCM (3 veces). Luego, la capa acuosa a pH 7 fue acidificada a pH 1 con una solución de HCl 3N y extraída con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con agua, secada con  $\text{MgSO}_4$  y filtrada. El solvente fue eliminado a presión reducida obteniéndose un aceite muy denso amarillo claro. La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 273.33. **Rendimiento (%):** 88 (0.830 g). Aceite amarillo denso. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3016, 2937, 2858, 1719, 1646, 1452, 1264, 1174, 1127, 1086, 765.

**5.1.1.4.3 Ácido 2-[ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]propanoico,**

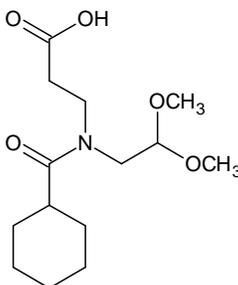
**1.58.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: Compuesto **1.53** (315.41 g/mol, 1.034 g, 3.28 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (10 mL), MeOH (1 mL) y NaOH (40 g/mol, 0.208 g, 5.20 mmoles). Se obtuvo un aceite amarillo claro muy denso. La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 287.41. **Rendimiento (%):** 75 (0.700 g). Aceite amarillo denso. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2980, 2920, 2840, 1710, 1620, 1440, 1120, 1070, 1050, 910.

**5.1.1.4.4 Ácido 3-[(ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]propanoico,**

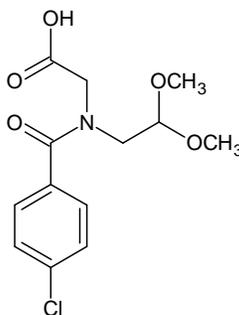
**1.59.**



Se siguió el procedimiento general empleándose las siguientes cantidades: Compuesto **1.52** (315.41 g/mol, 3.869 g, 12.27 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (36 mL), MeOH (4 mL) y NaOH (40 g/mol, 0.736 g, 18.40 mmoles). Se obtuvo un aceite amarillo claro muy denso. La CCF mostró un producto bastante puro que

no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 287.41. **Rendimiento (%):** 88 (3.088 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2900, 2840, 1700, 1610, 1440, 1180, 1120, 1080, 920.

#### 5.1.1.4.5 Ácido [(4-clorobenzoil)(2,2-dimetoxietil)amino]acético, 1.60.

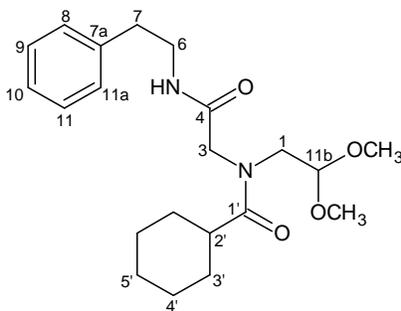


Se siguió el procedimiento general empleándose las siguientes cantidades: Compuesto **1.55** (329.78 g/mol, 0.471 g, 1.43 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (4.5 mL), MeOH (0.5 mL) y NaOH (40 g/mol, 0.077 g, 1.93 mmoles). Se obtuvo un aceite denso amarillo claro. La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 301.72. **Rendimiento (%):** 100 (0.431 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3063, 2993, 2969, 2938, 1732, 1637, 1457, 1256, 1126, 1080, 839.

### 5.1.1.5 Síntesis de intermediarios de la clase diamido acetal.

#### 5.1.1.5.1 Síntesis de *N*-(2,2-dimetoxietil)-*N*-{2-oxo-2-[(2-feniletil)amino]etil}ciclohexilamida, 1.61.

##### Procedimiento general.

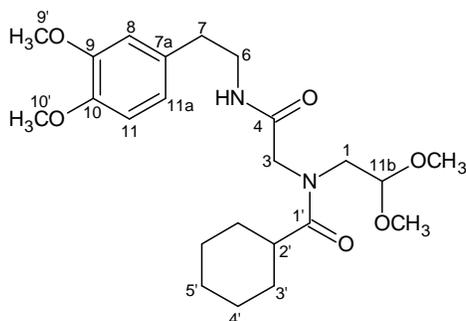


A una solución del ácido **1.57** (273.33 g/mol, 1.267 g, 4.64 mmoles) en  $\text{CHCl}_3$  (20 mL) se adicionaron los siguientes reactivos:  $\text{HOBt} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (153 g/mol, 0.709 g, 4.63 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.85 mL, 4.88 mmoles) y DIC (126.20 g/mol, 0.815 g/mL, 0.72 mL g, 4.65 mmoles). Se agitó por 40 min a  $26^\circ\text{C}$  y luego se agregó la fenetilamina (121.18 g/mol, 0.479 g, 3.95 mmoles). La reacción fue monitoreada por CCF (1% de EtOH en DCM). La mezcla de reacción fue calentada a  $60^\circ\text{C}$  por 25 h. Después de este tiempo, el solvente fue eliminado a presión reducida. El crudo de reacción fue disuelto en DCM y se agregó  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ <sup>8</sup> hasta observar abundante turbidez, precipitando un sólido blanco, debido a la formación de diisopropilurea (DIPU) durante la reacción. Luego de ser decantado, el sólido fue lavado dos veces con una mezcla de  $\text{C}_6\text{H}_{14}$  y DCM. Los lavados fueron combinados y el solvente

<sup>8</sup>La DIPU es soluble en DCM, por lo que, la cantidad adicionada debe ser tal, que no disuelva gran parte de la misma. Por eso, la mezcla utilizada para precipitar DIPU debe contener un mayor porcentaje de  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ . De esta forma, se elimina más del 60% de DIPU.

evaporado a presión reducida. Nuevamente, el crudo de reacción fue disuelto en DCM y se realizaron varias extracciones en el siguiente orden: lavado con agua (2 veces), extracción con una solución 3N de HCl, lavado con agua (2 veces), extracción con una solución de NaHCO<sub>3</sub> al 10%, lavado con agua (3 veces). La capa orgánica fue secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente eliminado a presión reducida obteniéndose un aceite amarillo denso junto con un sólido. El crudo fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM. **PM (g/mol):** 376.49. **Rendimiento (%):** 77 (1.144 g). Aceite amarillo claro denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3437, 3335, 3011, 2936, 2858, 1662, 1540, 1454, 1125, 1083. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.10-1.89 (m, 10H, H-5', H-4' y H-3'), 2.22 y 2.56 (2m, 1H, H-2'), 2.76-2.80 (m, H-7) 3.31 y 3.35 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.35-3.52 (m, H-3 y H-6), 3.96 (d, 2H,  $J_{1,11b} = 4.46$  Hz, H-1), 4.37 y 4.55 (2t,  $J_{11b,1} = 5.2$  Hz y  $J_{11b,1} = 5.18$  Hz, 1H, H-11b), 7.18-7.27 (m, 5H, H-8 a H-11 y H-11a). **RMN-<sup>13</sup>C (67.93 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.60, 25.72 y 25.79 (C-5' y C-4'), 29.38, 29.43 y 29.54 (C-3'), 35.63 y 35.68 (C-7), 40.36 y 41.13 (C-2'), 40.55 y 40.74 (C-6), 50.39 y 51.52 (C-3), 52.22 y 54.13 (C-1), 55.15 y 55.54 (2 x OCH<sub>3</sub>), 102.73 y 103.54 (C-11b), 126.53, 126.69, 128.65, 128.73 y 128.79 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-11a), 138.85 (C-7a), 169.35(C-4), 177.94 y 178.13 (C-1'). **HETCOR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

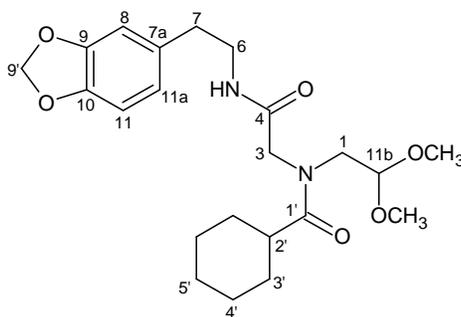
**5.1.1.5.2 N-(2,2-Dimetoxietil)-N-{2-oxo-2-[(2-(3,4-dimetoxifenetil)amino]etil}ciclohexilamida, 1.62.**



Se siguió el procedimiento general 5.1.1.5.1. Sin embargo, no se adicionó DIPEA y la reacción fue realizada a 26 °C. A una solución del ácido 1.57 (273.33 g/mol, 0.617, 2.26 mmoles) en DCM (20 mL) fue adicionada HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.346 g, 2.26 mmoles) y DIC (126.20 g/mol, 0.815 g/mL, 0.35 mL g, 2.01 mmoles). Se agitó por 40 min a 26°C y luego se agregó la 3,4-dimetoxifenetilamina (181.24 g/mol, 0.419 g, 2.31 mmoles) disuelta en DCM (10 mL). La reacción fue monitoreada por CCF (1% en EtOH en DCM). La mezcla de reacción agitada a 26°C por 49 h. La reacción fue tratada como se describió en el apartado 5.1.1.5.1. Se aisló un aceite amarillo denso más algo de DIPU. La CCF (2% de MeOH en DCM) mostró un producto bastante puro por lo que no requirió de purificación adicional. Se purificó una pequeña cantidad por CCP (2% de MeOH en DCM) para su caracterización espectroscópica. **PM (g/mol):** 436.54. **Rendimiento (%):** Cuantitativo. Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3434, 3331, 3011, 2937, 2858, 1662, 1516, 1452, 1263, 1126, 1141, 1084. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.18-1.71 (m, H-5', H-4' y H-3'), 2.20 y 2.56 (2m, H-2'), 2.66-2.75 (m, H-7), 3.31 y 3.35 (2s, OCH<sub>3</sub>), 3.38-3.43 (m, H-3 y H-6), 3.81

y 3.82 (2s, H-9' y H-10'), 3.95 (d, H-1), 4.36 y 4.52 (2t, H-11b), 6.67-6.69 (m, H-8, H-11 y H-11a). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.56, 25.68 y 25.77 (C-5' y C-4'), 29.35 y 29.41 (C-3'), 35.24 (C-7), 40.33 y 41.07 (C-2'), 40.68 y 40.84 (C-6), 50.28 y 51.55 (C-3), 52.11 y 54.06 (C-1), 55.12 y 55.52 (2 x OCH<sub>3</sub>), 55.93 (C-9' y C-10'), 102.83 y 103.56 (C-11b), 111.33, 111.41 y 111.96 (C-8 y C-11), 120.57 y 120.64 (C-11a), 131.03 y 131.31 (C-7a), 147.71 y 147.84 (C-9), 149.06 y 149.18 (C-10), 169.61 (C-4), 177.90 y 178.08 (C-1').

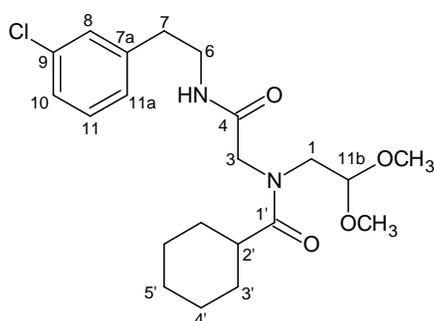
**5.1.1.5.3 N-(2,2-Dimetoxietil)-N-{2-oxo-2-[(2-(3,4-metilendioxifenil)amino)etil]ciclohexilamida, 1.63.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El ácido **1.57** (273.33 g/mol, 0.812 g, 2.97 mmoles), 3,4-metilendioxifenetilamina (195.17 g/mol, 0.650 g, 3.33 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.450 g, 2.97 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1 mL, 5.77 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.373 g, 2.96 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (20 mL), 43 h. **PM (g/mol):** 420.50. **Rendimiento (%):** 28 (0.348 g). Aceite marrón claro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2900, 2980, 1640, 1470, 1430, 1210, 1110, 1030, 920. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.18-1.93 (m, H-5', H-4' y H-3'), 2.15-2.25 y 2.50-2.59 (2m, 1H, H-2'), 2.60-2.71

(m, 2H, H-7), 3.32 y 3.35 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.37-3.42 (2d, H-3), 3.41-3.49 (m, H-6), 3.94 (d,  $J_{1,11b} = 6$  Hz, 2H, H-1), 4.36 y 4.55 (2t,  $J_{11b,1} = 6$  Hz, H-11b), 5.88 (2s, 2H, H-9'), 6.46 y 6.93 (2t, 2H, NH), 6.56-6.60 (dd,  $J_{11a,11} = 9$  Hz y  $J_{11a,8} = 3$  Hz, 1H, H-11a), 6.62-6.64 (2d,  $J_{8,11a} = 3$  Hz, 1H, H-8), 6.69 (d,  $J_{11,11a} = 6$  Hz, 1H, H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (75.48 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.42, 25.55 y 25.64 (C-5' y C-4'), 29.22 y 29.27 (C-3'), 35.16 y 35.22 (C-7), 40.19 y 40.95 (C-2'), 40.58 y 40.75 (C-6), 50.17 y 51.42 (C-3), 52.07 y 53.93 (C-1), 54.97 y 55.37 (2 x OCH<sub>3</sub>), 100.79 y 100.84 (C-9'), 102.61 y 103.38 (C-11b), 108.23 y 108.27 (C-11), 108.81 y 108.99 (C-8), 121.36 y 121.54 (C-11a), 132.15 y 132.45 (C-7a), 146.06 y 146.17 (C-9), 147.65 y 147.78 (C-10), 169.16 y 169.47 (C-4), 177.73 y 177.95 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

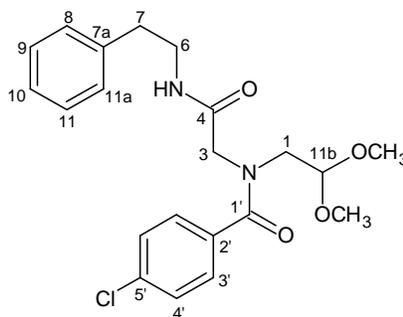
#### 5.1.1.5.4 *N*-(2-[[2-(3-Clorofenil)etil]amino]-2-oxoetil)-*N*-(2,2-dimetoxietil)ciclohexilamida, **1.64**.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El ácido **1.57** (273.33 g/mol, 0.878 g, 3.21 mmoles), 3-clorofenetilamina (155.62 g/mol, 1.263 g, 8.12 mmoles), HOBT.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.487 g, 3.18 mmoles),

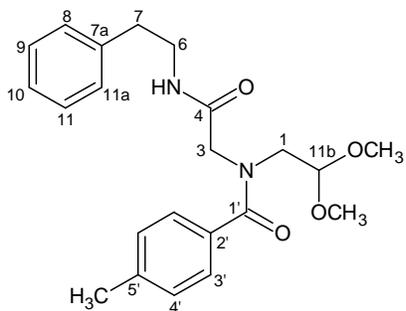
DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1.15 mL, 6.60 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.401 g, 3.18 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (20 mL), 45 h. El crudo fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -DCM y luego incrementando nuevamente la polaridad con una mezcla al 1% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 410.93. **Rendimiento (%):** 81 (1.149 g). Aceite denso de color naranja claro.

**5.1.1.5.5 N-(2,2-Dimetoxietil)-N-{2-oxo-2-[(2-feniletil)amino]etil}-4-clorobenzamida, 1.65.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El ácido **1.60** (301.72 g/mol, 1.612 g, 5.34 mmoles), fenetilamina (121.18 g/mol, 0.663 g, 5.47 mmoles), HOBt. $\text{H}_2\text{O}$  (153 g/mol, 0.810 g, 5.29 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.95 mL, 5.45 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.668 g, 5.30 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (20 mL), 22 h. **PM (g/mol):** 404.89. **Rendimiento (%):** 32 (0.696 g). Aceite amarillo claro. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2874, 1670, 1647, 1541, 1522, 1456, 1125, 1092, 1079, 840.

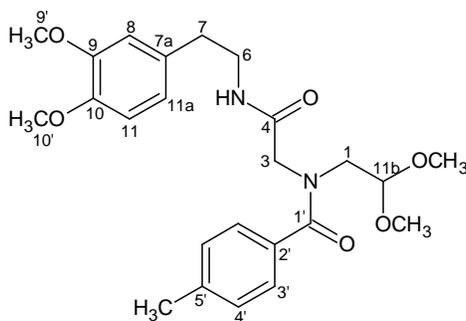
**5.1.1.5.6 N-(2,2-Dimetoxietil)-N-{2-oxo-2-[(2-feniletil)amino]etil}-4-metilbenzamida, 1.66.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El ácido **1.56** (281.30 g/mol, 0.671 g, 2.39 mmoles), fenetilamina (121.18 g/mol, 0.965 g/mL, 0.30 mL, 0.290 g, 2.39 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.355 g, 2.32 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.42 mL, 2.41 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.668 g, 5.30 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (20 mL), 22 h. **PM (g/mol):** 384.47. **Rendimiento (%):** 33 (0.293 g). Aceite denso amarillo claro.

**5.1.1.5.7 N-(2,2-Dimetoxietil)-N-(2-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]amino]-2-oxoetil)-4-metilbenzamida, 1.67.**

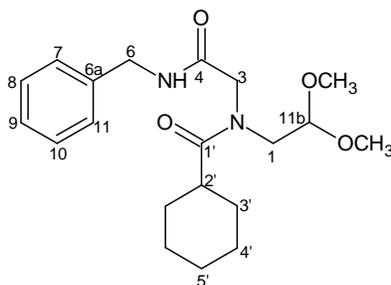


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El ácido **1.56** (281.30 g/mol, 0.321 g, 1.14 mmoles), 3,4-dimetoxifenetilamina (181.24 g/mol, 0.196 g, 1.08 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.191 g, 1.25

mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.815 g/mL, 0.20 mL, 1.29 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (25 mL), 48 h. **PM (g/mol):** 444.52. **Rendimiento (%):** 48 (0.231 g). Aceite amarillo denso. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3012, 2964, 2839, 1668, 1516, 1465, 1420, 1264, 1157, 1078, 1029, 756. **RMN- $^1\text{H}$  (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 2.33 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.77 (t, 2H, H-7), 3.24-3.54 (m, 10H, H-6, H-3 y 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 3.81-4.20 (m, 8H, H-1, H-9' y H-10'), 6.67-6.78 (m, 3H, H-8, H-11 y H-11a), 7.15-7.25 (m, 4H, H-3' y H-4'). **RMN- $^{13}\text{C}$  (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 21.46 ( $\text{C-CH}_3$ ), 35.27 (C-7), 40.76 (C-6 y C-3), 55.95 (C-9', C-10' y 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 102.90 (C-11b), 111.47 y 111.93 (C-8 y C-11), 120.73 (C-11a), 127.10 (C-3'), 129.22 (C-4'), 131.31 y 132.22 (C-5' y C-7a), 147.80 (C-9), 149.17 (C-10), 168.97 (C-4), 173.45 (C-1'). **DEPT-135 y HETCOR (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** En el DEPT solo se observan 2 señales correspondientes a metilenos en vez de 4 señales, lo que sugiere que algunos desplazamientos químicos coinciden. Solamente algunas correlaciones pudieron ser realizadas debido a lo débil de las señales observadas en el HETCOR.

#### 5.1.1.5.8 *N*-[2-(Bencilamino)-2-oxoetil]-*N*-(2,2-dimetoxietil)ciclohexilamida, **1.68**.

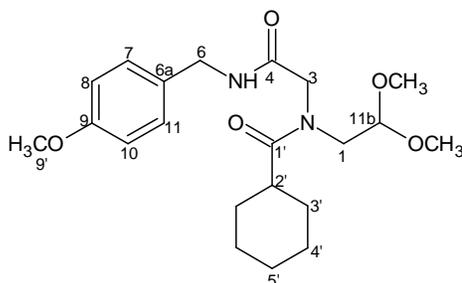


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El ácido **1.57** (273.33 g/mol, 0.955 g, 3.49 mmoles), bencilamina (107.16 g/mol,

0.416 g, 3.88 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.522 g, 3.41 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.62 mL, 3.56 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.427 g, 3.38 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (40 mL), 22 h. **PM (g/mol):** 362.46. **Rendimiento (%):** 50 (0.607 g). Aceite amarillo claro denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3000, 2935, 2859, 1660 y 1652, 1539, 1453, 1245, 1125, 1083. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.15-1.78 (m, 10H, H-5', H-4' y H-3'), 2.24 y 2.69 (2m, H-2'), 3.28 y 3.37 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.49-3.54 (2d, *J* = 6 Hz, 2H, H-6), 4.06 y 4.07 (2s, 2H, H-3), 4.42-4.68 (2d, *J*<sub>1,11b</sub> = 6 Hz, 2H, H-1), 4.64 (t, *J* = 4.95 Hz, H-11b), 7.26-7.53 (m, 5H, H-7, H-8, H-9, H-10 y H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.47 y 25.62 (C-5' y C-4'), 29.32 (C-3'), 40.30 y 41.16 (C-2'), 43.24 y 43.65 (C-1), 50.89 y 51.78 (C-6), 52.51 y 54.56 (C-3), 55.14 y 55.50 (2 x OCH<sub>3</sub>), 102.66 y 103.40 (C-11b), 127.28-128.69 (C-7, C-8, C-9, C-10 y C-11), 137.77 y 138.15 (C-6a), 169.16 y 169.49 (C-4), 178.01 y 178.20 (C-1'). **HETCOR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas. **IES-EM (m/z):** 363.70 (M + H<sup>+</sup>).

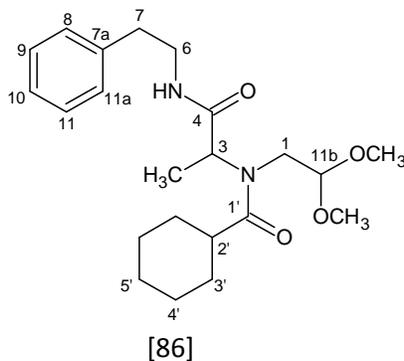
#### 5.1.1.5.9 *N*-(2,2-Dimetoxietil)-*N*-{2-[(4-metoxibenzil)amino]-2-oxoetil} ciclohexilamida, **1.69**.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El ácido **1.57** (273.33 g/mol, 0.759 g, 2.78 mmoles), *p*-metoxibencilamina

(137.18 g/mol, 0.384 g, 2.80 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.412 g, 2.69 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.6 mL, 3.44 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.336 g, 2.66 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (40 mL), 23 h. **PM (g/mol):** 392.49. **Rendimiento (%):** 66 (0.685 g). Aceite denso amarillo. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2940, 2840, 1650, 1490, 1440, 1280, 1200, 1110, 1060, 1020, 910. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.18-1.79 (m, H-5', H-4' y H-3'), 2.20-2.26 y 2.56-2.62 (2m, H-2'), 3.24 y 3.33 (2s, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.44 y 3.47 (2d, *J* = 5.0 Hz, 4H, H-6), 3.75 y 3.76 (2s, 6H, H-9'), 3.99 y 4.00 (2s, 4H, H-3), 4.30 y 4.35 (2d, *J* = 5.5 Hz, 4H, H-1), 4.40 y 4.58 (2t, *J* = 5.5 Hz, 2H, H-11b), 6.81 (dd, *J* = 6.5 Hz, H-8 y H-10), 7.14 (dd, *J* = 6.5 Hz, H-7 y H-11), 7.37 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.46, 25.58, 25.61, 25.67 (C-5' y C-4'), 29.29 y 29.31 (C-3'), 40.28 y 41.13 (C-2'), 42.73 y 43.07 (C-1), 50.84 y 51.72 (C-6), 52.42 y 54.46 (C-3), 55.09 y 55.25 (2 x OCH<sub>3</sub>), 55.45 (C-9'), 102.66 y 103.42 (C-11b), 113.94 y 114.05 (C-8 y C-10), 128.79 y 129.26 (C-7 y C-11), 129.93 y 130.30 (C-6a), 158.88 y 159.11 (C-9), 168.98 y 169.32 (C-4), 177.94 y 178.09 (C-1'). **DEPT-135, HETCOR y HMBC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas. **IES-EM (m/z):** 393.70 (M + H<sup>+</sup>).

**5.1.1.5.10 2-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]-*N*-(2-feniletil)propanamida, 1.70.**



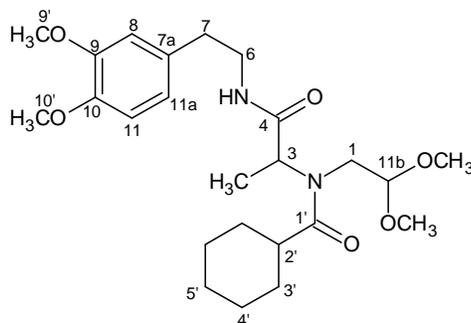
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El ácido **1.58** (287.41 g/mol, 0.687 g, 2.39 mmoles), fenetilamina (121.98 g/mol, 0.326 g, 2.67 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.358 g, 2.34 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1 mL, 5.74 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.294 g, 2.33 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (30 mL), 5 h a 26°C y 41 h a 60°C. El crudo de reacción fue purificado por CCP empleando una solución de 0.5% de MeOH en DCM.

**PM (g/mol):** 390.51. **Rendimiento (%):** 54 (0.490 g). Aceite denso naranja. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2900, 2840, 1630, 1500, 1440, 1220, 1120, 1060, 910.

**RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.34 y 1.42 (2d, CH<sub>3</sub>), 1.14-1.81 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.20-2.30 y 2.61-2.70 (2m, H-2'), 2.70-2.81 (m, *J* = 6 Hz, H-7), 3.36-3.47 y 3.59-3.70 (2m, *J* = 6Hz, H-6), 3.26, 3.31, 3.32 y 3.37 (2 x OCH<sub>3</sub>), 4.27 (d, 1H, H-1), 4.35 y 4.76-4.82 (2t, H-11b), 4.72-4.78 (c, H-3), 7.12-7.29 (m, H-8, H-9, H-10 y H11-a). **RMN-<sup>13</sup>C (75.46 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.10 y 16.43 (CH<sub>3</sub>), 25.51-25.75 (C-4' y C-5'), 29.09, 29.40 y 29.45 (C-3'), 35.54 y 35.69 (C-7), 40.70 y 40.77 (C-6), 40.94 y 41.74 (C-2'), 53.56 (C-3), 55.19, 55.83, 55.89 y 55.95 (2 x OCH<sub>3</sub>), 58.15 (C-1), 102.73 y 103.84 (C-11b), 126.36 y 126.42 (C-8 y C-11a), 128.49 y 128.65 (C-9, C-10 y C-11), 138.87 (C-7a), 171.60 y 171.85 (C-4), 178.49 y 178.76 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

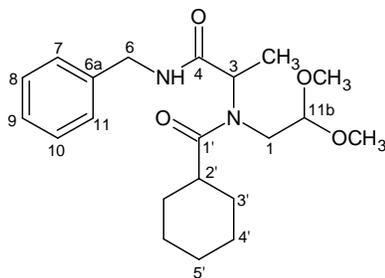
**5.1.1.5.11 2-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]-N-(2-(3,4-dimetoxifenetil)propanamida, 1.71.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El ácido **1.58** (287.41 g/mol, 0.603 g, 2.10 mmoles), 3,4-dimetoxifenetilamina (181.24 g/mol, 0.398 g, 2.20 mmoles), HOBT.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.313 g, 2.05 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1 mL, 5.74 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.260 g, 2.06 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (30 mL), 1 h a 26°C y 41 h a 60°C. La CCF desarrollada en una mezcla de 2% de MeOH en DCM mostró un producto bastante puro por lo que no requirió de purificación adicional. Se purificó una pequeña cantidad por CCP, para su caracterización espectroscópica, empleando la mezcla anterior. **PM (g/mol):** 450.57. **Rendimiento (%):** 96 (0.911 g). Aceite marrón claro denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3280, 2980, 2920, 2860, 1630, 1500, 1460, 1200, 1140, 1020, 940. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.13-1.78 (m, H-5', H-4' y H-3'), 1.34 y 1.42 (2d, CH<sub>3</sub>), 2.25 (m, H-2'), 2.68-2.73 (2t, 2H, H-7), 3.33 y 3.38 (2s, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.40-3.70 (m, H-6), 3.82 y 3.84 (2s, H-9' y H-10'), 4.12 y 4.25 (2d, *J*<sub>1,11b</sub> = 6Hz, H-1), 4.35 y 4.78 (2t, *J*<sub>11b,1</sub> = 6 Hz, H-11b), 4.72-4.79 (c, H-3), 6.68-6.77 (m, 3H, H-8, H-11 y H-11a). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.11 y 16.45 (CH<sub>3</sub>), 25.52-25.76 (C-5', C-4' y C-3'), 29.10, 29.46 y

29.96 (C-3',C-4'y C-5'), 35.17 y 35.31 (C-7), 40.78 y 40.87 (C-6), 42.08 (C-2'), 47.28 (C-1), 53.54 (C-3), 55.82 y 55.85 (2 x OCH<sub>3</sub>, H-9' y H-10'), 102.78 y 103.89 (C-11b), 111.22, 111.74 y 111.82 (C-8 y C-11), 120.53 (C-11a), 131.32 y 131.37 (C-7a), 147.58 y 147.64 (C-9), 148.94 y 148.98 (C-10), 171.68 y 171.87 (C-4), 178.48 y 178.77 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

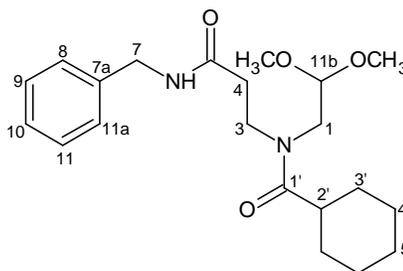
**5.1.1.5.12 2-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]-*N*-bencilpropanamida, 1.72.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El ácido **1.58** (287.41 g/mol, 0.723 g, 2.52 mmoles), bencilamina (107.16 g/mol, 0.332 g, 3.10 mmoles), HOBT.H<sub>2</sub>O (153.00 g/mol, 0.378 g, 2.47 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 0.90 mL, 5.17 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.318 g, 2.52 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (20 mL), 5 h a 26°C y 41 h a 60°C. La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió de purificación adicional. Solo se purificó una pequeña cantidad por CCP empleando una solución al 1% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 376.49. **Rendimiento (%):** 93 (0.865 g). Aceite denso naranja. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2920, 2880, 1640, 1510, 1440, 1240, 1190, 1120, 1070, 920. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.39 y 1.47 (2d, 2H, CH<sub>3</sub>), 1.18-

1.80 (m, H-5', H-4 y H-3'), 2.23-2.32 y 2.62-2.71 (2m, 2H H-2'), 3.14, 3.23 y 3.35 (3s, OCH<sub>3</sub>), 3.42 (d,  $J = 6$  Hz, 2H, H-6), 4.26-4.46 (2d, H-1), 4.15-4.22 y 4.52-4.60 (m, 1H, H-3), 4.77 y 4.36 (2t,  $J_{11b,1} = 9$  Hz, H-11b), 7.11 y 7.88 (t y sa, 2H, NH), 7.22-7.29 (m, H-7, H-8, H-9, H-10 y H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.02 y 16.54 (C<sub>H</sub>3), 25.51-25.69 (C-5', C-4' y C-3'), 29.14, 29.43 y 29.98 (C-3'), 40.82 y 41.83 (C-2'), 43.28 y 43.92 (C-1), 47.35 (C-6), 53.40 (C-3), 55.16 y 55.81 (2 x OCH<sub>3</sub>), 102.73 y 103.73 (C-11b), 127.19 y 128.60 (C-7, C-8, C-9, C-10 y C-11), 137.91 y 138.33 (C-6a), 171.63 (C-4), 178.57 y 178.74 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

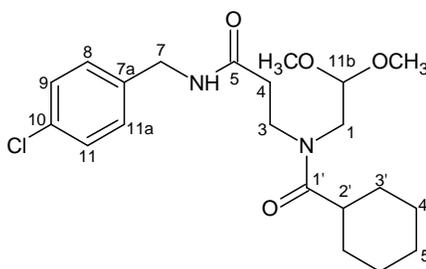
#### 5.1.1.5.13 3-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]-*N*-bencilpropanamida, 1.73.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El ácido **1.59** (287.41 g/mol, 1.925 g, 6.70 mmoles), bencilamina (107.16 g/mol, 0.871 g, 8.13 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 1.023 g, 6.69 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 2.5 mL, 14.35 mmoles), DIC (126.20 g/mol, 0.815 g/mL, 1.04 mL g, 6.72 mmoles), CHCl<sub>3</sub> (40 mL), 24 h a 26°C y 18 h a 50°C. La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió de purificación adicional. Solo se purificó una pequeña cantidad por CCP empleando una solución al 1%

de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 376.49. **Rendimiento (%):** 63 (1.586 g). Aceite denso naranja. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3410, 2980, 2880, 2840, 1620, 1500, 1440, 1180, 1120, 1070. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.15-1.77 (m, H-5', H-4' y H-3'), 2.42-2.51 (m, H-2' y H-4), 3.30 y 3.37 (2s, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.31 y 3.39 (2d, H-1), 3.61 y 3.70 (2t, 2H, H-3), 4.31 y 4.52 (2t, *J*<sub>11b,1</sub> = 6Hz, 1H, H-11b), 4.36-4.39 (2d, 2H, H-7), 6.19 y 6.64 (2t, 1H, NH), 7.22-7.34 (m, H-8, H-9, H-10, H-11 y H-11a). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.64-25.75 (C-3', C-5' y C-4'), 29.30 y 29.61 (C-4' y C-5'), 35.22 y 36.30 (C-2'), 40.39 y 40.46 (C-4), 43.49 y 43.74 (C-7), 43.92 y 45.69 (C-3), 49.26 y 50.73 (C-1), 55.30 y 55.33 (2 x OCH<sub>3</sub>), 103.16 y 103.95 (C-11b), 127.36 y 127.63 (C-10), 127.82 y 127.90 (C-8 y C-11), 128.56 y 128.75 (C-9 y C-11), 150.87 (C-7a), 170.16 y 170.87 (C-5), 177.17 y 177.72 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

#### 5.1.1.5.14 3-[Ciclohexilcarbonil(2,2-dimetoxietil)amino]-*N*-(4-clorobencil)propanamida, 1.74

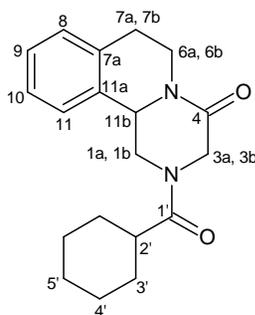


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El ácido **1.59** (287.41 g/mol, 1.163 g, 4.05 mmoles), *p*-clorobencilamina (141.6 g/mol, 0.710 g, 5.01 mmoles), HOBt.H<sub>2</sub>O (153 g/mol, 0.615 g, 4.02 mmoles), DIPEA (129.24 g/mol, 0.742 g/mL, 1.4 mL, 8.04 mmoles), DIC (126.20 g/mol,

0.815 g/mL, 0.6 mL g, 3.87 mmoles),  $\text{CHCl}_3$  (40 mL), 24 h a  $26^\circ\text{C}$  y 18 h a  $50^\circ\text{C}$ . La CCF mostró un producto bastante puro que no requirió de purificación adicional. Solo se purificó una pequeña cantidad por CCP empleando una solución al 1% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 410.93. **Rendimiento (%):** 83 (1.325 g). Aceite denso naranja. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3340, 2960, 2880, 2840, 1620, 1420, 1220, 1180, 1060, 1010, 920. **RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 1.12-1.55 (m, H-4' y H-5'), 1.55-1.80 (m, H-3'), 2.39-2.50 (m, H-2' y H-4), 3.27 y 3.55 (2d, H-1), 3.28 y 3.34 (2s, 2 x  $\text{OCH}_3$ ), 3.57 y 3.66 (2t, H-3), 4.26-4.31 (m, H-7 y H-11b), 4.47 (t,  $J = 6$  Hz, 1H, H-11b), 6.40 y 7.00 (2m, 1H,  $\text{NH}$ ), 7.11-7.16 (m, H-9 y H-11), 7.17-7.25 (m, H-8 y H-11a). **RMN- $^{13}\text{C}$  (75.47 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 25.58, 25.66 y 25.71 (C-3' y C-4'), 29.29 y 29.58 (C-5', C-4' y C-3'), 35.18 y 36.19 (C-2'), 40.38 (C-4), 42.69 y 42.90 (C-7), 43.75 y 45.56 (C-3), 49.08 y 50.62 (C-1), 55.31 (2 x  $\text{OCH}_3$ ), 103.20 y 103.89 (C-11b), 128.59 y 128.79 (C-8 y C-11a), 129.17 (C-9 y C-11), 133.03 y 133.32 (C-10), 136.53 y 137.03 (C-7a), 170.31 y 170.96 (C-5) y 177.15 y 177.81 (C-1'). **HMQC (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

#### 5.1.1.6 Síntesis de 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona (PZQ), 1.1.

La numeración de las posiciones de los átomos de carbono e hidrógeno del núcleo pirazinoisoquinolínico del PZQ utilizada en esta tesis es el sugerido en la literatura (48).



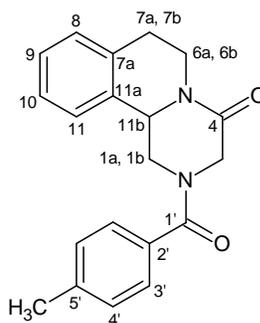
El intermediario **1.61** (376.49 g/mol, 0.520 g, 1.38 mmoles), en un balón de reacción, fue colocado en un baño de hielo-sal y después de 15 min, se adicionó  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 mL, 95-97%). La reacción se mantuvo en el baño de hielo por 20 min sin agitación. Se retiró el baño de hielo y la reacción fue agitada por 3 h a 26 °C. Después de este tiempo, la mezcla de reacción fue vertida en hielo y extraída con DCM. La capa orgánica fue lavada con agua, secada con  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un aceite naranja que pesó 0.429 g. Se purificaron 0.128 g por CCP (1.5% de MeOH en DCM). **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3006, 2937, 2859, 1651, 1454, 1364, 1095, 1080, 1030, 868. La principal diferencia observada entre los espectros de IR del producto comercial y el sintetizado está en el grupo carbonilo. Los espectros de  $\text{RMN}^{-1}\text{H}$  son diferentes. En vista de lo anterior, el resto del crudo de reacción (0.301 g) fue tratado por segunda vez con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 mL, 95-97%) por 4 h. Se repitió el procedimiento descrito anteriormente, excepto que, al crudo de reacción, una vez que fue vertido en hielo, se ajustó el pH entre 7-8 con una solución de NaOH concentrada. Se aisló nuevamente un aceite naranja (0.241 g) que fue purificado por CCP (2% de MeOH en DCM) y vuelto a purificar por CCP (DCM). **PM (g/mol):** 312.41. **Rendimiento (%):** 33 (0.112 g). Sólido rosa

muy claro. **Pf (°C):** 130-132 (lit 132-135 °C, lit 132-133°C). **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3004, 2938, 2858, 1651, 1644, 1451, 1423, 1363, 1328, 1298, 1231, 1122, 1083, 1000. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.24-1.87 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.45-2.56 (2t, H-2'), 2.77-3.02 (m, H-7a, H-7b, H-6b y H-1b), 4.08 (d, *J* = 17.45 Hz, 1H, H-3b), 4.47 (d, *J* = 17.45 Hz, 1H, H-3a), 4.79-4.87(m, H-6a y H-11b), 5.17-5.18 (2d, *J* = 13.5 Hz, 1H, H-1a), 7.18-7.32 (m, H-8 a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.68 (C-5'), 28.69-28.98 (C-3', C-4'), 29.21 (C-7), 39.08 (C-6), 40.77 (C-2'), 45.15 (C-1), 49.00 (C-3), 54.93 (C-11b), 125.43 (C-8), 126.94 (C-9), 127.41 (C-10), 129.25 (C-11), 132.76 y 134.71 (C-7a y C-11a), 164.38 (C-4), 174.74 (C-1'). **DEPT-135 (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>) y COSY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

### 5.1.1.7 Síntesis de derivados y análogos de PZQ.

#### 5.1.1.7.1 2-[(4-Metilfenil)carbonil]-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-ona, 1.75.

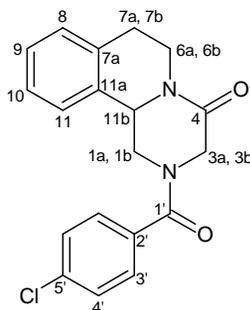
##### Procedimiento general A. Ciclación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%).



El intermediario **1.66** (384.47 g/mol, 0.283 g, 0.74 mmoles) fue colocado en una bañó de hielo y después de 15 min, se adicionó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 mL, 95-97%)

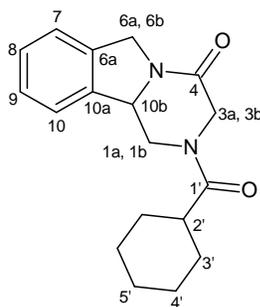
sin agitación. A los 20 min, se retiró el baño de hielo y se agitó por 3.5 h a 26 °C. Luego, se agregó abundante hielo y se ajustó el pH entre 7-8 con una solución de NaOH concentrada. Se realizaron varias extracciones con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con agua, secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un aceite amarillo muy denso (0.108 g) que fue purificado por CCP (30% AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). **PM (g/mol): 319.40 Rendimiento (%): 32 (0.075 g).** Aceite denso amarillo. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>): 2980, 1620, 1410, 1200, 1080, 1000, 930, 830. RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>, δ): 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.86-2.93 (H-7a y H-7b), 3.36-3.44 (m, H-1b y H-6b), 3.46 y 3.51 (2d, *J* = 13.69 Hz, H-3a y H-3b), 3.79-3.88 (m, H-1a y H-6a), 4.79 (sa, 1H, H-11b), 7.19-7.21 (d, *J*<sub>4',3'</sub> = 9 Hz, H-4'), 7.23-7.31 (m, H-8, H-9, H-10 y H-11), 7.39-7.42 (d, *J*<sub>3',4'</sub> = 9 Hz, H-3'). RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>, δ): 21.27 (CH<sub>3</sub>), 34.73 (C-7), 47.26 (C-1 y C-6), 51.20 (C-3), 78.79 (C-11b), 127.04 (C-4'), 128.53 (C-3'), 129.23-129.60 (C-8, C-9, C-10 y C-11), 133.32 (C-2'), 140.26 (C-7a y C-11a), 140.71 (C-5'), 166.15 (C-4), 171.00 (C-1'). HMQC (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas. IES-EM (m/z): 321.60 (M+H).**

**5.1.1.7.2 2-[(4-Clorofenil)carbonil]-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.76.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El intermedio **1.65** (404.89 g/mol, 0.696 g, 1.72 mmoles), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.5 mL, 95-97%). Se aisló un aceite amarillo muy denso (0.492 g) que fue purificado por CCP (30% de AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). **PM (g/mol):** 340.80. **Rendimiento (%):** 52 (0.302 g). Aceite denso rosa claro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 1620, 1410, 1200, 1080, 1000, 930, 830. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, δ):** 2.86-2.93 (m, H-7a y H-7b), 3.36-3.45 (m, H-1b y H-6b), 3.48-3.53 (2d, H-3a y H-3b), 3.80-3.89 (m, H-1a y H-6a), 4.80 (sa, H-11b), 7.19-7.31 (m, 4H, H-8, H-9, H-10 y H-11), 7.46 (d, *J* = 6 Hz, 2H, H-4'), 7.54 (d, *J* = 6 Hz, 2H, H-3'). **RMN-<sup>13</sup>C (125.72 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, δ):** 34.72 (C-7), 47.39 (C-1 y C-6), 51.17 y 51.31 (C-3), 78.72 y 78.81 (C-11b), 127.05 (C8 y C-11), 129.23 y 129.60 (C-9, C-10, C-4', C-3'), 130.31 (C-2'), 135.00 (C-5'), 135.99 (C-7a), 140.22 (C-11a), 166.05 (C-4), 169.81(C-1'). **HMQC (500 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, δ):** Mostró las correlaciones esperadas. **IES-EM (m/z):** 341.50 (M+H).

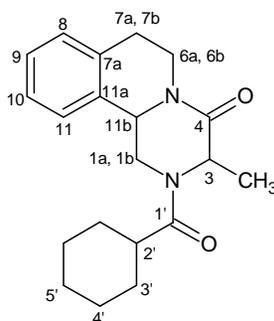
### 5.1.1.7.3 2-(Ciclohexilcarbonyl)-2,3,6,10b-tetrahidropirazino[2,1-a]isoindol-4(1H)-ona, 1.77.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El intermediario **1.68** (362.46 g/mol, 0.495 g, 1.37 mmoles), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.5 mL, 95-

97%). El tiempo de reacción fue de 6 h. Se aisló un aceite color naranja muy denso que fue purificado por CCP (30% AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). **PM (g/mol):** 298.38. **Rendimiento (%):** 54 (0.221 g). Aceite denso incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2920, 2840, 1620, 1420, 1200, 1050, 900. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.19-1.76 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.46 (m, H-2'), 2.97-2.99 (d, *J* = 10 Hz, H-6) 3.38 (d, *J* = 6.5 Hz, H-1), 3.86 y 4.17 (2d, *J* = 15 Hz, H-3a y H-3b), 4.00-4.07 y 4.39-4.49 (2m, H-1), 4.39-4.49 (m, H-6), 4.77-4.85 (d, H-10b), 5.21 (sa, H-10b), 7.26-7.33 (m, H-7, H-8, H-9 y H-10). **RMN-<sup>13</sup>C (125.75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.65, 28.98 y 29.27 (C-3', C-4' y C-5'), 40.23 y 40.76 (C-2'), 45.09 (C-6), 46.45 (C-3), 46.97 (C-10b), 49.31 (C-1), 76.74 (C-10b), 127.78 (C-10a), 128.43 y 128.77 (C-7, C-8, C-9 y C-10), 136.46 (C-6a), 165.18 y 166.16 (C-4), 175.86 y 176.39 (C-1'). **IES-EM (m/z):** 299.16 (M+H).

#### 5.1.1.7.4 2-(Ciclohexilcarbonil)-3-metil-9,10-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.78.

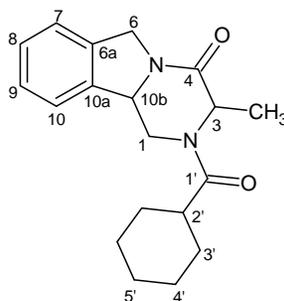


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El intermediario **1.70** (390.52 g/mol, 0.210 g, 0.54 mmoles), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.5 mL, 95-97%). Se aisló un aceite marrón claro muy denso (0.161 g) que fue purificado

por CCF siendo la placa desarrollada en una mezcla al 2% de EtOH en DCM.  
**PM (g/mol):** 326.43. **Rendimiento (%):** 40 (0.070 g). Aceite denso incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2920, 2840, 1620, 1420, 1200, 1030. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.18-1.76 (m, H-5', H-4' y H-3'), 1.32 y 1.46 (2d, *J* = 7 Hz, CH<sub>3</sub>), 2.29-2,42 (m, H-2'), 2.75-2.97 (m, H-7a y H-7b), 3.18 (d, *J* = 13 Hz, H-1b), 3.32-3.40 (m, H-6b), 3.61-3.66 (m, H-1a), 3.88-3.96 (m, H-6a), 4.65 (sa, H-11b), 4.93-4.98 (c, 1H, *J* = 7 Hz, H-3), 7.16-7.27 (m, H-8 a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (125.75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 15.71 y 17.99 (CH<sub>3</sub>), 25.52-25.77 (C-5' y C-4'), 29.23-29.37 (C-3'), 33.73 y 33.97 (C-7), 40.03-40.62 (C-2'), 40.88 (C-6), 45.28 (C-1), 47.47 y 47.61 (C-6), 51.07 y 54.25 (C-3), 77.20 y 78.87 (C-11b), 126.47 (C-8), 126.58-128.93 (C-9, C-10 y C-11), 138.77-138.99 (C-7a y C-11a), 168.28 y 169.49 (C-4), 175.34 y 176.78 (C-1'). **DEPT-135 (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones esperadas. **IES-EM (m/z):** 327.70 (M+H).

#### 5.1.1.7.5 2-(Ciclohexilcarbonil)-3-metil-2,3,6,10b-tetrahidropirazino

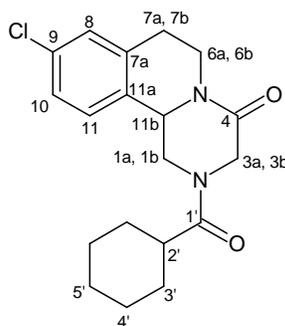
##### [2,1-*a*]isoindol-4(1*H*)-ona, 1.79.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
 El intermediario **1.72** (376.49 g/mol, 0.200 g, 0.531 mmoles), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.5 mL, 95-97%). Se aisló un aceite marrón claro muy denso que fue purificado por CCF

empleando una solución al 2% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 312.41. **Rendimiento (%):** 30 (0.051 g). Aceite denso incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2920, 2840, 1630, 1420, 1180, 1020, 920. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1,36 y 1.52 (2d, *J* = 6 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.14-1.80 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.30-2.50 (m, H-2'), 2.89 (dd, *J* = 3 Hz y *J* = 15 Hz, H-1), 3.36 (dd, *J* = 3 Hz y *J* = 15 Hz, H-1), 3.91 (d, *J* = 3 Hz y *J* = 15 Hz, H-1), 4.55-4.59 (m, H-1 y H-10b), 3.68-3.79 (m, H-3), 4.31-4.45 (m, H-3), 4.97-5.07 (m, H-3), 4.05, 4.08, 5.17 y 5.25 (4d, *J* = 15 Hz, H-6), 4.71-4.81 (m, H-10b), 4.97-5.07 (m, H-10b), 7.19-7.31 (H-7 a H-10). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 15.88 y 18.19 (CH<sub>3</sub>), 25.39-25.74 (C-3' y C-5'), 29.15-29.38 (C-3' y C-4'), 40.05-40.61 (C-2'), 41.08 y 45.67 (C-1), 42.13 y 44.46 (C-3), 46.89 y 47.09 (C-6), 51.15, 54.32, 76.30 y 76.60 (C-10b), 127.44-128.73 (C-7, C-8, C-9 y C-10), 136.56-136.64 (C-6a y C-10a), 168.47 y 169.60 (C-4), 175.43 y 176.73 (C-1'). **IES-EM (m/z):** 313.60 (M+H).

#### 5.1.1.7.6 9-Cloro-2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.80.

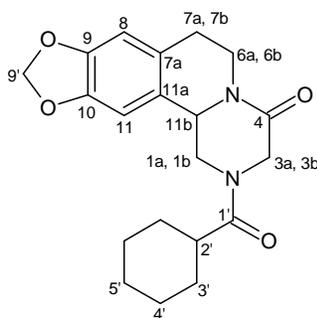


La obtención de este derivado involucró un hecho particular el cual será explicado en la sección de Resultados y Discusión (Sección 6.1). Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El intermediario

**1.64** (410.93 g/mol, 0.607g, 1.48 mmoles), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.5 mL, 95-97%). El tiempo de reacción fue de 4 h. Se aisló un aceite muy denso que fue purificado por CCF empleando una solución al 2% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 346.85. **Rendimiento (%):** 22 (0.114 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2940, 2840, 1650, 1640, 1440, 1410, 1200, 1080, 1030, 920. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.12-1.80 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.34-2.50 (m, H-2'), 2.93 (d, *J* = 12 Hz, H1b), 3.08 (t, *J* = 9 Hz, H-7a y H-7b), 3.27 (d, *J* = 12 Hz, H-3b), 3.40-3.65 (m, H-1b y H-6b), 3.78-4.00 (m, H-3a y H-6a), 4.30-4.42 (m, H-3a y H-1a), 4.46-4.80 (m, H-11b), 7.10 (d, *J* = 9 Hz, H-11), 7.12 (d, *J* = 3 Hz, H-8), 7.32 (dd, *J* = 3 Hz y *J* = 9 Hz, H-10). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.59-29.37 (C-3', C-4' y C-5'), 32.76 (C-7), 40.11 y 40.68 (C-2'), 45.07 y 45.31 (C-1 y C-6), 46.27 (C-1), 49.03 (C-3), 78.30 y 78.57 (C-11b), 127.28 (C-11), 128.96 (C-10), 129.55 (C-8), 132.30 (C-11a), 133.25 (C-9), 138.89 (C-7a), 165.21 y 166.36 (C-4), 175.81 y 176.16 (C-1').

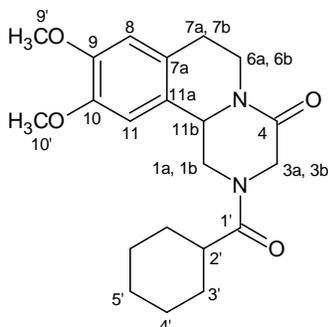
**5.1.1.7.7 2-(Ciclohexilcarbonil)-9,10-metilendioxi-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.81.**

**Procedimiento general B. Ciclación con TFA/HOAc.**



Se adicionó HOAc (2.5 mL, 99%) y TFA (1.5 mL, 99%) al intermediario **1.63** (420.50 g/mol, 0.332 g, 0.79 mmoles). La mezcla de reacción fue calentada a 75 °C por 5.5 h. Una vez que la reacción alcanzó temperatura ambiente, se vertió sobre hielo triturado. Luego, se ajustó el pH entre 6-7 con una solución de NaOH al 5%. Se realizaron extracciones con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con H<sub>2</sub>O (3 veces) y posteriormente secada con MgSO<sub>4</sub>. Se aisló un aceite rosado claro (0.292 g) que fue purificado por CCP siendo la placa desarrollada en una solución de 0.5% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 356.41. **Rendimiento (%):** 47 (0.132 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3000, 2920, 2840, 1630, 1480, 1410, 1310, 1220, 1030. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.22-1.86 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.39-2.44 (m, H-2'), 2.60-2.83 (m, H-7a, H-7b, H-6b y H-1b), 3.46-3.50 (c, H-6), 4.03 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, H-3b), 4.41 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, H-3a), 4.64 (dd, *J* = 3 Hz, H-11b), 4.72 (m, H-6a), 5.01-5.04 (dd, *J*<sub>1a,1b</sub> = 13.5 Hz y *J*<sub>1a,11b</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-1a), 5.93 (s, H-9'), 6.58 y 6.70 (2s, H-8 y H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 28.67 (C-3'y C-5), 28.67 y 28.94 (C-3'y C-4'), 29.18 (C-7), 39.31 (C-6), 40.72 (C-2'), 45.36 (C-1), 48.95 (C-3), 54.85 (C-11 b), 101.17 (C-9'), 105.38 (C-11), 108.80 (C-8), 128.26 y 125.54 (C-7a y C-11a), 146.82 y 146.95 (C-9 y C-10), 164.29 (C-4), 174.69 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

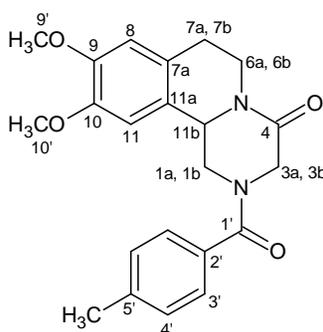
**5.1.1.7.8 2-(Ciclohexilcarbonil)-9,10-dimetoxi-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.82.**



Se utilizó el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El intermediario **1.62** (436.54 g/mol, 1.008 g, 2.31 mmoles), HOAc (5.0 mL, 99%), TFA (3.0 mL, 99%). La mezcla de reacción fue calentada por 7 h a 75 °C. Se aisló un aceite de color rojo (0.957 g) que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM aislándose un aceite rosa claro denso (0.618 g). Este aceite fue purificado nuevamente por CCP siendo la placa desarrollada en una solución de 2% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 372.45. **Rendimiento (%):** 41(0.355 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3012, 2937, 2858, 1645, 1515, 1465, 1452, 1424, 1364, 1267, 1029. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.24-1.83 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.47 (tt, 1H, H-2'), 2.68 (d, *J* = 15 Hz, 1H, H-7a), 2.76-2.95 (m, 3H, H-1b, H-6b, H-7b), 3.86 y 3.87 (2s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 4.09 (d, *J*<sub>3a,3b</sub> = 17.5 Hz, 1H, H-3b), 4.47 (d, *J*<sub>3b,3a</sub> = 17.5 Hz, 1H, H-3a), 4.71-4.74 (m, 1H, H-11b), 4.84-4.87 (m, 1H, H-6a), 5.10-5.13 (dd, *J* = 3.0 Hz y *J* = 13.5 Hz, 1H, H-1a), 6.63 (s, 1H, H-8), 6.72 (s, 1H, H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (125.73 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.64 (C-5'), 28.20 y 28.96 (C-3'y C-4'), 29.19 (C-7), 39.07 (C-6), 40.72 (C-2'), 45.31 (C-1), 48.94 (C-3), 54.76 (C-11b),

55.87 y 56.04 (C-9' y C-10'), 107.09 (C-11), 111.56 (C-8), 124.31 (C-7a), 126.83 (C-11a), 148.01 y 148.20 (C-9 y C-10), 164.29 (C-4), 174.82 (C-1'). **COSY (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protones esperadas.

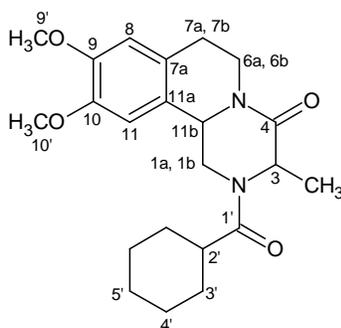
**5.1.1.7.9 2-[(4-Metilfenil)carbonil]-9,10-dimetoxi-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.83.**



Se adicionó HOAc (2.5 mL, 99%) y TFA (1.5 mL, 99%) al intermediario **1.67** (444.52 g/mol, 0.237 g, 0.53 mmoles). La mezcla de reacción fue calentada a 70 °C por 7 h. Se aisló un aceite rosado claro (0.163 g) que fue purificado por CCF siendo la placa desarrollada en una solución de 0.5% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 380.44. **Rendimiento (%):** 59 (0.120 g). Aceite denso incoloro. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3013, 2938, 1644, 1514, 1465, 1444, 1421, 1364, 1315, 1289, 1258, 1074, 759. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, Acetona-*d*<sub>6</sub>, δ):** 2.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.73-2.89 (m, H-7a, H-7b, H-6b, H-1b), 3.15 (t, H-1a), 3.75 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 4.00-4.10 (d, H-3b), 4.35 (sa, H-3a), 4.70-4.72 (m, H-6b y H-11b), 4.90-4.94 (m, H-1a), 6.77 (s, H-8 y H-11), 7.29-7.32 (d, *J*<sub>4',3'</sub> = 7.91 Hz, H-4'), 7.42-7.45 (d, *J*<sub>3',4'</sub> = 7.91 Hz, H-3'). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 21.51(C<sub>H</sub><sub>3</sub>), 28.38 (C-7 y C-6), 39.15 (C-1), 56.01 y 56.29 (2 x OCH<sub>3</sub>), 108.33 (C-11), 111.90

(C-8), 127.64 (C-3'), 129.35 (C-4'), 141.14 (C-7a y C-11a), 148.21 y 148.51 (C-9 y C-10), 164.00 (C-4), 170.52 (C-1'). **EM (m/z):** 379.

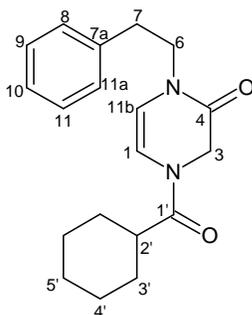
**5.1.1.7.10 2-(Ciclohexilcarbonil)-3-metil-9,10-dimetoxi-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, 1.84.**



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El intermediario **1.71** (450.57 g/mol, 0.302 g, 0.67 mmoles), HOAc (2.5 mL, 99%) y TFA (1.5 mL, 99%). Se aisló un aceite amarillo muy denso (0.240 g) que fue purificado por CCF siendo desarrollada en DCM (3 veces) y luego empleando una solución al 0.5% de MeOH en DCM. **PM (g/mol):** 386.48. **Rendimiento (%):** 43 (0.111 g). Aceite denso amarillo. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2880, 2840, 1630, 1590, 1410, 1340, 1210, 1010, 910. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.14-1.80 (m, H-3', H-4' y H-5'), 1.53- 1.55 (d, CH<sub>3</sub>), 2.31 (m, 1H, H-2'), 2.68-3.07 (m, H-7a, H-7b y H-6b), 3.65-3.68 (d, H-1b), 3.83 y 3.82 (2s, 6H, H-9' y H-10'), 4.30-4.52 (m, H-1a, H-3 y H6a), 4.63 (s, H-11b), 6.60 (s, 1 H, H-8), 6.82 (s, 1H, H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 19.75 (CH<sub>3</sub>), 25.52 y 25.68 (C-3', C-4' y C-5'), 27.51 (C-7), 29.11 y 29.89 (C-3' y C-4'), 40.50 (C-2'), 40.77 (C-6), 40.92 (C-1), 53.98 (C-11b), 54.44 (C-3), 55.84 y 56.01 (C-9' y C-10'), 107.91 (C-11), 111.43 (C-8), 125.67 (C-7a), 127.06 (C-11a), 147.54 (C-10),

148.17 (C-9), 168.37 y 168.40 (C-4), 175.11 (C-1'). **HMQC (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas. **IES-EM (m/z):** 387.70 (M+H).

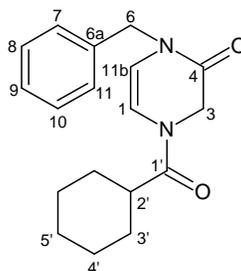
#### 5.1.1.7.11 Síntesis de 4-(ciclohexilcarbonil)-1-(2-feniletil)-3,4-dihidropirazin-2(1H)-ona, **1.85**. Procedimiento general.



El intermediario **1.61** (376.49 g/mol, 0.302 g, 0.80 mmoles) fue disuelto en CHCl<sub>3</sub> (20 mL). Se adicionó PTSA (177.22 g/mol, 0.150 g, 0.85 mmoles) y la mezcla de reacción fue calentada a reflujo por 5 h siendo seguida por CCF (1% de EtOH en DCM). Después de este tiempo, se dejó que alcanzara temperatura ambiente, se adicionó agua y se ajustó el pH entre 5-6. Se realizaron varias extracciones con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con agua, secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un sólido. Se purificó por CCP (DCM) obteniéndose un sólido blanco. **PM (g/mol):** 312.46. **Rendimiento (%):** 65 (0.163 g). Sólido blanco. **Pf (°C):** 124-125 (Lit. 128-130 °C). **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3014, 2937, 2858, 1675 y 1654, 1454, 1424, 1403, 1346, 1096, 1072. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.20-1.82 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.44 (m, 1H, H-2'), 2.87 (t, 2H, H-7), 3.73 (t, 2H, H-6), 4.29 (s, 2H, H-3), 5.35 (d,  $J_{1,11b} = 5.94$  Hz, 1H, H-1), 6.09 (d,  $J_{11b,1} =$

6.18 Hz, 1H, H-11b), 7.16-7.27 (m, 5H, H-8 a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (67.93 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.73 (C-3' y C-5'), 28.98 (C-3' y C-4'), 34.63 (C-7), 40.94 (C-2'), 45.96 (C-3), 47.83 (C-6), 108.97 (C-11b), 113.97 (C-1), 126.74 (C-10), 128.70 y 128.96 (C-8, C-9, C-11 y C-11a), 138.13 (C-7a), 163.68 (C-4), 173.86 (C-1'). **DEPT-135 (67.93 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Sus señales coincidieron con la asignación de los carbonos. **HETCOR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

**5.1.1.7.12 1-Bencil-4-(ciclohexilcarbonil)-3,4-dihidropirazin-2(1H)-ona, 1.86.**

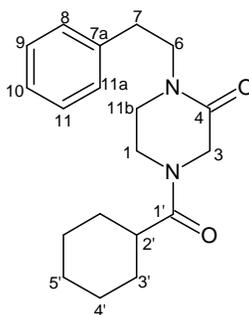


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El intermediario **1.68** (362.46 g/mol, 0.406 g, 1.12 mmoles), PTSA (177.22 g/mol, 0.253 g, 1.43 mmoles) y CHCl<sub>3</sub> (18 mL). El tiempo de reacción fue de 4 h. Se aisló un sólido color naranja que fue purificado por CCP (DCM). **PM (g/mol):** 298.38 **Rendimiento (%):** 47 (0.158 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 144-146. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3013, 2936, 2858, 1673, 1448, 1425, 1401, 1346, 1280, 1094, 1071, 985. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.20-1.80 (m, 10H, H-3', H-4' y H-5'), 2.40-2.52 (m, 1H, H-2'), 4.37 (s, 2H, H-6), 4.70 (s, 2H, H-3), 5.52 (d,  $J_{1,11b} = 5.91$  Hz, 1H, H-1), 6.19 (d,  $J_{11b,1} = 6.18$  Hz, 1H, H-11b), 7.22-7.34 (m, 5H, H-7

a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (67.93 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.72 (C-3', C-4' y C-5'), 28.99 (C-3'), 40.92 (C-2'), 46.04 (C-6), 48.70 (C-3), 109.59 (C-11b), 112.67 (C-1), 128.07 y 128.94 (C-7 a C-11), 136.05 (C-6a), 163.84 (C-4), 173.92 (C-1').

### 5.1.1.7.13 Síntesis de 4-(ciclohexilcarbonyl)-1-(2-feniletil)piperazin-2-ona,

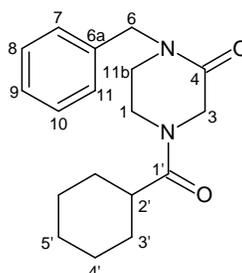
#### 1.87. Procedimiento general.



En el recipiente de vidrio del Hidrogenador Parr se colocó el intermediario **1.85** (312.46 g/mol, 0.114 g, 0.37 mmoles) disuelta en EtOH absoluto (15 mL) y luego Pd/C al 10% (0.013 g, 10% p/p). La mezcla de reacción fue sometida a una presión inicial de hidrógeno de 40  $\text{lp}^2$  con agitación por 4 h a 26 °C. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un sólido color crema. El producto fue purificado por CCP (DCM) obteniéndose un sólido crema. **PM (g/mol):** 310.41. **Rendimiento (%):** 81 (0.092 g). Sólido crema. **Pf (°C):** 115-117. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3011, 2936, 2858, 1647, 1455, 1429, 1339, 1218, 1088, 988. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.21-1.80 (m, H-3', H-4' y H-5'), 2.36 (m, 1H, H-2'), 2.88 (t, 2H, H-7), 3.10 (t, 2H, H-6), 3.52- 3.66 (m, 4H, H-1 y H-11b), 4.12 (s, 2H, H-3), 7.19-7.25 (m, 5H, H-8 a H-11a). **RMN-<sup>13</sup>C (67.93 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.77 (C-3', C-4' y C-5'), 29.18 (C-3'), 33.55 (C-7), 38.77 (C-11b), 40.75 (C-2'), 46.87 (C-6), 49.03 (C-1), 49.21 (C-3),

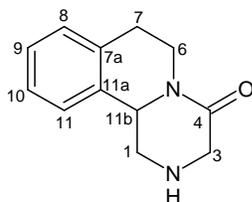
126.73 (C-10), 128.70 y 128.86 (C-8, C-9, C-11 y C-11a), 138.48 (C-7a), 164.78 (C-4), 174.64 (C-1'). **COSY (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: Mostró las correlaciones entre protones esperadas. **HETCOR (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: Mostró las correlaciones entre protones y carbonos esperada.

#### 5.1.1.7.14 1-Bencil-4-(ciclohexilcarbonil)piperazin-2-ona, 1.88.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El intermediario **1.86** (298.38 g/mol, 0.116 g, 0.39 mmoles), Pd/C al 10% (0.009 g, 10%) y EtOH (20 mL). Se aisló un aceite denso que fue purificado por CCP (DCM). **PM (g/mol)**: 300.08. **Rendimiento (%)**: 75 (0.088 g). Aceite amarillo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>)**: 3011, 2936, 2858, 1648, 1496, 1453, 1430, 1325, 1239, 1090, 980. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ)**: 1.18-1.79 (m, 10 H, H-3', H-4' y H-5'), 2.37-2.44 (m, 1H, H-2'), 3.22 (t,  $J_{1,11b} = 6$  Hz, 2H, H-1), 3.73 (t,  $J_{11b,1} = 6$  Hz, 2H, H-11b), 4.23 (s, 2H, H-6), 4.59 (s, 2H, H-3), 7.21-7.35 (m, 5H, H-7 a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ)**: 25.66 (C-3' y C-5'), 29.10 (C-3', C-4' y C-5'), 38.77 (C-11b), 40.66 (C-2'), 45.19 (C-1), 49.05 (C-6), 50.00 (C-3), 127.82 (C-9), 128.18 (C-8 y C-10), 128.78 (C-7 y C-11), 135.94 (C-6a), 164.82 (C-4), 174.57 (C-1'). **HMQC (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**: Mostró las correlaciones entre protón y carbono esperadas.

### 5.1.1.7.15 Síntesis de *rac*-Praziquanamina: Hidrólisis de *rac*-PZQ, 1.89.

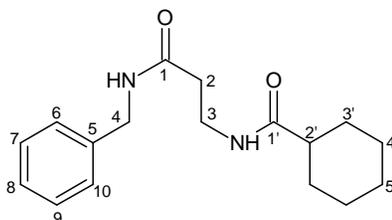


Se siguió el procedimiento descrito por Wolfle (108): Dos pastillas de PZQ<sup>9</sup> comercial fueron pulverizados y seguidamente se adicionó EtOH (10 mL). Se calentó suavemente y se filtró. El filtrado fue evaporado a presión reducida aislándose un aceite muy denso color naranja (312.41 g/mol, 1.271 g, 3.90 mmoles). Al PZQ libre de excipiente fue adicionado EtOH (10 mL) y HCl 1N (37 mL) y luego calentada a reflujo por 24 h. Una vez que la mezcla de reacción alcanzó temperatura ambiente, se adicionó agua (20 mL) y luego se realizaron extracciones con AcOEt (3 veces). Seguidamente, la capa acuosa fue basificada con una solución concentrada de NaOH y extraída con DCM (3 veces). Una vez que la capa orgánica fue lavada con agua (2 veces), esta fue secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un aceite rojizo denso. La CCF reveló un producto bastante puro, sin embargo, se purificó una pequeña cantidad para su caracterización por RMN. **PM (g/mol):** 202.25. **Rendimiento (%):** 74 (0.788 g). Aceite rojizo denso. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3410, 2990, 1620, 1430, 1410, 1350, 1330, 1280, 1200, 1030, 920. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.06 (s, 1H, NH), 2.68-3.01 (m, H1b, H6b, H-7a y H-7b), 3.46-3.67(2d, *J* = 18 Hz, 2H, H-3a y H-3b), 3.67- 3.74 (m, 1H, H-1a), 4.75-4.86 (m, 2H, H-6a, H-11b), 7.09-7.21 (m, 4H, H-8 a H-11). **RMN-<sup>13</sup>C**

<sup>9</sup>PZQ NOVA ARGENTIA-Milano, Italy 600 mg-USP24.

**(75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 28.73 (C-7), 38.72 (C-6), 49.70 y 49.92 (C-1 y C-3, intercambiables), 56.73 (C-11b), 124.63 (C-8), 126.55 y 126.95 (C-9 y C-10), 129.31 (C-11), 134.10 y 134.85 (C-7a y C-11a, intercambiables), 167.18 (C-4).  
**IES-EM (m/z):** 203.50 (M+H).

**5.1.1.7.16 Obtención de N-[3-(bencilamino)-3-oxopropil]ciclohexano carboxamida, 1.90.**



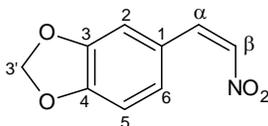
El derivado **1.90** fue obtenido a partir del tratamiento de **1.73** (376.49 g/mol, 1.293 g, 3.43 mmoles) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 mL, 95-97%) siguiendo el procedimiento general descrito en el apartado 5.1.1.7.1. Se aisló un aceite denso color marrón claro que peso 0.988 g. Se purificó una pequeña cantidad por CCP, para su caracterización espectroscópica, empleando una solución de 1% de MeOH en DCM. El producto aislado resultó ser el correspondiente derivado aldehído de **1.73**, por lo que, se trató el crudo de reacción (330.19 g/mol, 0.723 g, 2.19 mmoles) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.5 mL, 95-97%) calentando en un baño de María entre 40 a 60 °C por 3.5 h. Para el aislamiento del producto, se siguió el procedimiento descrito en el apartado 5.1.1.7.1. Se aisló un aceite denso marrón que pesó 0.607 g. Se purificó por CCP (1% de MeOH en DCM).  
**PM (g/mol):** 288.38. **Rendimiento (%):** 25 (0.160 g). **Sólido amarillo. Pf (°C):** 135-138. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 2920, 2820, 1610, 1490, 1430, 1180, 1010, 910. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.13-1.75 (m, H-3', H-4' y H-5'), 1.93-2.03

(m, 1H, H-2'), 2.40 (t, 3H, H-2), 3.45 (c, 2H, H-3), 4.37 (d, 2H, H-4), 6.49 (t, 1H, NH), 6.59 (sa, 1H, NH), 7.19-7.31 (m, H-6 a H-10). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>,δ)**: 25.62 (C-5' y C-4'), 29.49 (C-3'), 35.40 y 35.49 (C-2 y C-3, intercambiables), 43.12 (C-4), 45.30 (C-2'), 127.41, 127.64 y 128.58 (C-6 al C-10), 138.10 (C-5), 171.64 y 176.64 (C-1' y C-1, intercambiables). **ESI-EM (m/z)**: 289.27 (M+H).

## 5.1.2 Síntesis de intermediarios involucrados en la preparación de derivados de fenetilamina.

### 5.1.2.1 *Trans*-3,4-metilendioxi-β-nitroestireno, 1.91.

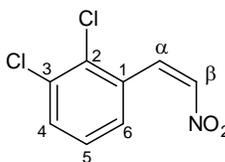
#### Procedimiento general.



Una mezcla de 3,4-metilendioxi-benzaldehído (150.13 g/mol, 6.324 g, 42.12 mmoles), nitrometano (61.04 g/mol, 1.127 g/mL, 15 mL, 16.91 g, 276.94 mmoles), acetato de sodio (66 g/mol, 1.397 g, 21.17 mmoles) y clorhidrato de metilamina (67 g/mol, 1.363 g, 20.34 mmoles) fue agitada a 26 °C por 6 h. La reacción fue seguida por CCF siendo desarrollada en una mezcla al 50% de C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> en DCM. Se adicionó agua (40 mL) a la mezcla de reacción y se realizaron varias extracciones con AcOEt (5 veces). La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un sólido amarillo siendo recrystalizado en AcOEt. **PM (g/mol)**: 193. **Rendimiento (%)**: 95 (7.719 g). **Sólido amarillo**. **Pf (°C)**: 159-

161 (Acros Organics, 159-163 (°C). IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2903, 1632, 1605, 1505, 1490, 1453, 1337, 1262, 1108, 1041, 968, 933. RMN- $^1\text{H}$  (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 5.98 (s, 2H, H-3'), 6.85 (d,  $J_{5,6} = 7.91$  Hz, 1H, H-5), 6.98 (d,  $J_{2,6} = 1.67$  Hz, 1H, H-2), 7.06 (dd,  $J_{6,5} = 7.91$  Hz y  $J_{6,2} = 1.65$  Hz, 1H, H-6), 7.45 (d,  $J_{trans} = 13.53$  Hz, 1H, H- $\beta$ ), 7.90 (d,  $J_{trans} = 13.53$  Hz, 1H, H- $\alpha$ ). RMN- $^{13}\text{C}$  (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 102.16 (C-3'), 107.06 (C-2), 109.14 (C-5), 124.24 (C-1), 126.73 (C-6), 135.44 (C- $\beta$ ), 139.20 (C- $\alpha$ ), 148.83 y 151.46 (C-3 y C-4, intercambiables).

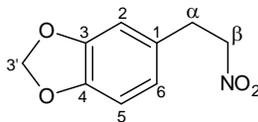
#### 5.1.2.2 *Trans*-2,3-dicloro- $\beta$ -nitroestireno, 1.92.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 2,3-diclorobenzaldehído (175.01 g/mol, 3.939 g, 22.51 mmoles), nitrometano (61.04 g/mol, 1.127 g/mL, 22 mL, 406.19 mmoles), acetato de sodio (66 g/mol, 0.676 g, 10.24 mmoles) y clorhidrato de metilamina (67 g/mol, 0.635 g, 9.48 mmoles). El tiempo de reacción fue de 8 h. El sólido obtenido fue recristalizado en EtOH. **PM (g/mol):** 217. **Rendimiento (%):** 59 (2.867 g). Sólido amarillo ocre en forma de agujas. **Pf (°C):** ND. IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3113, 3061, 3032, 1638, 1560, 1523, 1454, 1413, 1345, 1158, 1049, 962.

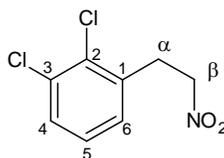
### 5.1.2.3 Síntesis de 3,4-dimetoxifenetilnitro, 1.93.

#### Procedimiento general.



El derivado **1.91** (193 g/mol, 3.376 g, 17.49 mmoles) fue disuelto en IPA (30 mL) y  $\text{CHCl}_3$  (150 mL). Se adicionó silica gel 60 (34.980 g) y luego, se agregó en cuatro porciones el  $\text{NaBH}_4$  (37.83 g/mol, 2.640 g, 67.79 mmoles). Finalizada la adición del agente reductor, se dejó en agitación por 4 h a 26 °C. La reacción fue monitoreada por CCF desarrollada en una mezcla al 30% de AcOEt en  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ . Se adicionó HCl 6N gota a gota hasta no observar efervescencia en el medio de reacción. Se filtró por succión y la solución fue evaporada a presión reducida y el residuo disuelto en AcOEt. La sílica fue lavada con pequeños volúmenes de AcOEt (3 veces) y combinados con la solución obtenida de la primera filtración. La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -AcOEt. **PM (g/mol):** 195.17. **Rendimiento (%):** 62 (2.108 g). Líquido marrón claro. **Pe (°C):** ND. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2894, 1556, 1505, 1491, 1447, 1380, 1251, 1102, 1043, 938. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 3.21 (t, 2H, H- $\alpha$ ), 4.54 (t, 2H, H- $\beta$ ), 5.93 (s, 2H, H-3'), 6.64 (d, 2H, H-2 y H-6), 6.74 (d,  $J_{5,6} = 7.67$  Hz, 1H, H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 33.29 (C- $\alpha$ ), 76.63 (C- $\beta$ ), 101.20 (C-3'), 108.70 y 108.96 (C-2 y C-5 intercambiables), 121.79 (C-6), 129.29 (C-1), 146.99 (C-4), 148.10(C-3).

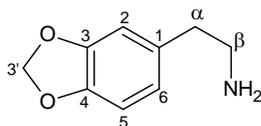
#### 5.1.2.4 2,3-Diclorofenetilnitro, 1.94.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El derivado **1.92** (217 g/mol, 1.965 g, 9.06 mmoles), NaBH<sub>4</sub> (37.83 g/mol, 1.400 g, 37.00 mmoles), sílica gel 60 (18.205 g), IPA (27 mL) y CHCl<sub>3</sub> (144 mL). El tiempo de reacción fue de 22 h. Se aisló un líquido amarillo que fue purificado por CCP siendo la placa desarrollada en una mezcla al 10% de AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>. **PM (g/mol):** 220.05. **Rendimiento (%):** 90 (1.786 g). Líquido rojizo oscuro **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 1557, 1453, 1424, 1379, 1210, 1058, 867. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 3.46 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H, H-α), 4.64 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H, H-β), 7.14-7.16 (m, 2H, H-4 y H-6), 7.39 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 32.21 (C-α), 73.93 (C-β), 127.67 (C-6), 129.19 y 129.94 (C-4 y C-5 intercambiables), 132.35 y 133.77 (C-2 y C-3, intercambiables), 135.71 (C-1).

#### 5.1.2.5 Síntesis de 3,4-dimetoxifenetilamina, 1.95.

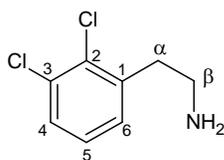
##### Procedimiento general.



En un recipiente de vidrio especial para hidrogenaciones catalíticas se colocó el derivado **1.93** (195.17 g/mol, 1.618 g, 8.29 mmoles,) disuelto en EtOH

absoluto (20 mL). Se adicionó 10% en peso del catalizador Pd/C al 10% (0.162 g), respecto al derivado fenetilnitro, y fue sometido a una presión inicial de hidrógeno de 45  $\text{lp}^2$ . Se dejó en agitación por 5 h a 26 °C. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un líquido amarillo. Se purificó una pequeña cantidad por CCP siendo la placa desarrollada en una mezcla de 1% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 165.19. **Rendimiento (%):** 97 (1.322 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3200, 2920, 1600, 1580, 1480, 1430, 1350, 1240, 1080, 1030, 930. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 2.63 (t,  $J = 6.93$  Hz, 2H, H- $\alpha$ ), 2.88 (t,  $J = 6.93$  Hz, 2H, H- $\beta$ ), 5.89 (s, 2H, H-3'), 6.62-6.69 (m, H-2, H-5 y H-6). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 39.69 (C- $\alpha$ ), 43.50 (C- $\beta$ ), 100.87 (C-3'), 108.27 y 109.19 (C-2 y C-5, intercambiables), 121.74 (C-6), 133.58 (C-1), 145.96 (C-4), 147.72 (C-3).

#### 5.1.2.6 2,3-Diclorofenetilamina, 1.96.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: El derivado **1.94** (220.05 g/mol, 1.761 g, 8.00 mmoles),  $\text{PtO}_2$  (0.175 g) y EtOH (30 mL) siendo sometido a una presión inicial de hidrógeno 44  $\text{lp}^2$  por 6 h a 26 °C. Se aisló un aceite rojizo oscuro. Se purificó una pequeña cantidad por CCP siendo la placa desarrollada en una mezcla que contenía 1% de EtOH en DCM. **PM (g/mol):** 189.01. **Rendimiento (%):** 90 (1.566 g). Aceite rojizo oscuro. **Pe (°C):** ND. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 2.89-2.95 (m, H- $\alpha$  y H- $\beta$ ), 7.08-7.13 (m,

H-5 y H-6), 7.30 (dd,  $J_{4,5} = 7.00$  Hz y  $J_{4,6} = 2.5$  Hz, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (125.72 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 38.55 (C-α), 41.56 (C-β), 126.73 (C-4), 128.52 y 128.94 (C-5 y C-6), 132.34 y 133.25 (C-2 y C-3, intercambiables), 139.69 (C-1).

## **5.2 Sección biológica. Evaluación *in vitro* de la actividad esquistosomicida de derivados y análogos de PZQ en *S. mansoni*.**

### **5.2.1 Equipos, materiales y reactivos.**

Recipientes de vidrio (150 mL y 1000 mL), pinzas largas, tabla de disección, rejilla (10 x 10 cm), pincel de punta fina, solución salina isotónica, cápsulas de Petri, placas de ELISA de 96 pozos, pipetas Pasteur, tubos de recolección de sangre libres de ác. etilendiamintetracético (EDTA), tubos para microcentrífuga y centrífuga de 1.5 mL y 50 mL respectivamente, equipo de perfusión, balanza analítica (0.00001 g) (OHAUSS), microscopio invertido (Leika), campana de flujo laminar (Labconco), incubadora, medio de cultivo RPMI 1640 (Gibco), suero fetal bovino (Gibco), DMSO para análisis (Riedel-de Haën), PZQ NOVA-ARGENTIA (0.600 g), solución de Penicilina/Estreptomina (10.000 unidades/mL y 10.000 µg/mL, Gibco).

### **5.2.2 Animales.**

Se utilizaron ratones Swiss heterocigotos y hámsteres heterocigotos, los cuales fueron suministrados por el bioterio del Instituto de Medicina Tropical (UCV). Se obtuvo la correspondiente autorización del Comité de Bioética del Instituto de Medicina Tropical.

### **5.2.3 Parásitos.**

Se emplearon vermes adultos de *S. mansoni* obtenidos de ratones que fueron previamente infectados (8 semanas antes) con cercarias provenientes de caracoles de *B. glabrata*.

Para ensayar la actividad esquistosomicida de derivados y análogos de PZQ se emplearon vermes adultos de *S. mansoni*, los cuales fueron obtenidos de la siguiente manera:

#### **5.2.4 Obtención de los vermes adultos de *S. mansoni*.**

La obtención de los vermes adultos de *S. mansoni* fue realizada en 2 pasos: A) Infección percutánea del hospedador mamífero y B) Recuperación de los vermes adultos, utilizando para ambos, procedimientos descritos por Smithers et al (109):

##### **5.2.4.1 Infección percutánea del hospedador mamífero.**

Las cercarias de *S. mansoni* fueron obtenidas de caracoles *B. glabrata* infectados. Los ratones o hámsteres fueron colocados en recipientes de vidrio de tamaño adecuado, permitiendo la inmersión de los miembros inferiores y abdomen. En dichos recipientes se colocó previamente una suspensión de cercarias (cepa JL, suministrada por el Dr. Italo Cesari (IVIC)) en agua libre de cloro (100-150 cercarias por ratón y 400-500 cercarias por hámsteres) por 1 h. Los frascos fueron cerrados con tapas perforadas que permitiera la respiración del animal. Luego, los animales fueron retirados cuidadosamente de los recipientes con ayuda de pinzas y transferidos a sus respectivas jaulas con lecho seco y suficiente agua y comida.

##### **5.2.4.2 Recuperación de los vermes adultos de *S. mansoni*.**

Después de 8 semanas de infección, los animales fueron evaluados para verificar características de parasitosis (signos y síntomas). Después de la

confirmación de la parasitosis, los animales fueron sacrificados y los vermes adultos de *S. mansoni* fueron recuperados de los mismos, por perfusión. Los vermes fueron colocados en una capsula de Petri, con la ayuda de un pincel, en solución salina isotónica y luego examinados observando sexo y grado de madurez.

### **5.2.5 Evaluación biológica *in vitro* de la actividad esquistosomicida de derivados y análogos de PZQ. Ensayos de viabilidad.**

El protocolo descrito a continuación fue diseñado y ejecutado en la Sección de Biohelmintiasis del Instituto de Medicina Tropical (UCV):

**5.2.5.1** Todo el material utilizado fue esterilizado.

**5.2.5.2** Los gusanos obtenidos en la sección 5.2.4.2 fueron colocados en una capsula de Petri con medio de cultivo conformado por: suero fetal bovino (2.5 mL), solución de Penicilina/Estreptomina (Pen/Strep) de concentración 10 mg/mL (1mL) completando hasta 50 mL con medio de cultivo RPMI 1640 (Gibco).

**5.2.5.3** Se prepararon soluciones de concentración 0.5 y 1.0 µg/mL en DMSO para cada uno de los derivados y análogos de PZQ.

**5.2.5.4** Se empleo como fármaco de referencia el PZQ comercial. Se prepararon soluciones de PZQ a las concentraciones indicadas en el apartado 5.2.5.3.

**5.2.5.5** Los ensayos de la actividad esquistosomicida fueron realizados en una placa de Elisa. Se utilizó como control negativo, medio de cultivo (apartado 5.2.5.2) y como control positivo PZQ comercial (concentraciones de

0.5 y 1.0 µg/mL). Se utilizaron 10 vermes por compuesto y cada verme fue colocado individualmente, con la ayuda de una pipeta Pasteur, en un pozo de la placa de Elisa donde previamente habían sido adicionados 200 µL de medio de cultivo más 200 µL de una solución conformada por medio de cultivo y la solución del compuesto que se deseaba evaluar a las concentraciones ya mencionadas (apartado 5.2.5.3).

**5.2.5.6** La placa de Elisa fue tapada y sellada con papel parafilm en los bordes y luego incubada a 37°C en una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> por 48 h.

**5.2.5.7** Transcurridas las primeras 24 h, se estimó la sobrevivencia de los vermes observando la motilidad de los mismos empleando un microscopio invertido (10X). Además de motilidad, se cuantificó la cantidad de vermes vivos y muertos (macho y/o hembra). En el caso de los vermes vivos, se observó el tipo de movimiento de cada verme (lento, moderado o rápido).

**5.2.2.8** Se repitió el apartado 5.2.5.7 transcurridas 48 h.

**5.2.2.9** Finalizadas las observaciones, se procedió a la interpretación del conjunto de resultados.

### 5.3 Sección Modelado Molecular. Estudio de la relación cuantitativa entre la estructura química-actividad biológica (QSAR) de una serie de derivados de PZQ.

En esta sección, se describen los programas computacionales utilizados, servidores web, así como, los procedimientos relacionados con la selección de la serie de exploración, selección y cálculo de los descriptores, el análisis multivariado de datos para la reducción de descriptores y construcción del modelo QSAR.

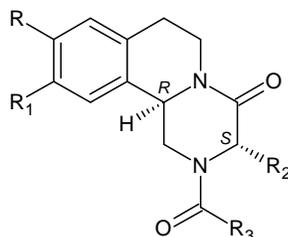
#### 5.3.1 Programas computacionales y servidores web.

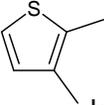
Todos los programas fueron ejecutados en un computador personal *Siragon All in one* MT-1900 Series con un procesador Intel (R) Core (TM)i3 (3.20 GHz) **A)** Programa de modelado molecular *CAChe WorkSystem Pro* versión 6.01 (CAChe group, Fujitsu America) **B)** Programa *ProjectLeader* (CAChe WorkSystem Pro versión 6.01, CAChe group, Fujitsu America), **C)** Programa *MS Modeling* versión 3.2.0.0 (Accelrys) **D)** Programa de estadística *Minitab 16* (Minitab Inc.) (Demo), **E)** Programa *Accord* para Excel versión 7.1.5 (Accelrys) (Demo), **F)** Programa *Pallas Pro-logP* (Demo) **G)** Banco de datos de proteínas (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) **H)** Cálculo de pCE<sub>50</sub>: <http://www.sanjeevslab.org/tools-IC50.html> **I)** Cálculo de descriptores: <http://www.vcclab.org/lab/edragon/>.

### 5.3.2 Selección de la serie de exploración.

La serie de exploración consistió de 8 derivados de PZQ, incluyendo este último. Los datos de actividad biológica expresados como  $CE_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) fueron obtenidos de Liu et al (46). Los derivados de PZQ fueron ensayados *in vitro* en gusanos adultos de *S. mansoni*. Los compuestos seleccionados junto con sus valores de  $CE_{50}$  y  $pCE_{50}$  (logaritmo de  $1/CE_{50}$ ) son mostrados en la Tabla 1.3. La razón para utilizar los datos reportados en la literatura y no datos propios será explicada en la sección de discusión de resultados. Los datos de actividad biológica son las variables dependientes.

**Tabla 1.3.** Serie de exploración: Conjunto de derivados de PZQ seleccionados para el análisis.



<b>Compuesto<sup>a</sup></b>	<b>R</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>CE<sub>50</sub></b> <b>(<math>\mu\text{M}</math>)</b>	<b>pCE<sub>50</sub></b>
<b>PZQ</b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	0.37	6.43
<b>PZQ8a</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	9.70	5.01
<b>PZQ8c</b>		H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	0.90	6.05
<b>PZQ9a</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	1.30	5.89
<b>PZQ9d</b>	H	H	CHCH <sub>2</sub> (i-Pr)	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	43.7	4.36
<b>PZQ10b</b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3.90	5.41
<b>PZQ10c</b>	H	H	H	<i>o,p</i> (CH <sub>3</sub> )C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	46.8	4.33
<b>PZQ10d</b>	H	H	H	<i>m</i> (NO <sub>2</sub> ), <i>p</i> (F)C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	9.90	5.00

<sup>a</sup>Se utilizó la identificación de los compuestos de la publicación.

El PZQ posee un centro asimétrico en la posición 11b. Únicamente el enantiómero *R* posee actividad esquistosomicida *in vitro* e *in vivo*. Los compuestos fueron sintetizados como mezclas racémicas, por lo que se consideró para este estudio que la actividad biológica de los compuestos reside en el enantiómero *R*. Sin embargo, la síntesis de los los compuestos PZQ9a y PZQ9d generó diastereoisómeros, siendo el producto mayoritario identificado por estudios de RMN bidimensional (2D-NOESY) como el *11bR,3S*.

### 5.3.3 Selección del conjunto de descriptores para el análisis QSAR.

Una vez seleccionada la serie de exploración y para poder obtener un modelo QSAR, los compuestos deben ser representados por descriptores, es decir, una representación numérica de una propiedad de la estructura química o de cada una de los átomos que conforman esa estructura química. Por lo tanto, antes calcular los descriptores, los diferentes derivados de PZQ deben ser construidos y su estructura optimizada. Para ello, se procedió de la siguiente manera:

**5.3.3.1 Construcción y optimización de la geometría.** El paso inicial fue la construcción y el refinamiento de los derivados de PZQ utilizando el programa *CAChe* 6.01. Los derivados fueron construidos a partir de la estructura cristalina del PZQ co-cristalizada con la glutatona S-transferasa (GST) de *S. japonicum* (Código PDB: 1GTB) depositada en el banco de datos de proteínas. Se verificó que la hibridización y la valencia de cada átomo en la molécula construida fuera la correcta. La geometría de las estructuras fue

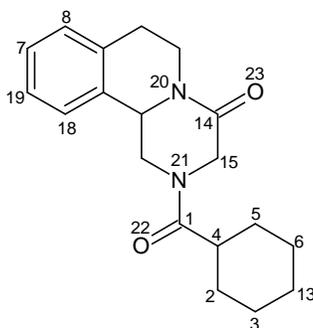
optimizada empleando mecánica molecular (MM): a) *Campo de fuerza*: CAChe MM3 aumentado. b) *Algoritmo de minimización*: gradiente conjugado y “block diagonal Newton-Raphson” c) *Valor de convergencia*: 0.001 Kcal/mol.

**5.3.3.2 Búsqueda de la conformación de menor energía (Dinámica molecular).** Una vez optimizadas las estructuras según lo descrito en el apartado 5.3.3.1, se procedió a la búsqueda del conformero de menor energía. Las condiciones utilizadas fueron las siguientes: a) *Campo de fuerza*: CAChe MM3 aumentado, b) *Condiciones de la simulación*: b.1) Temperatura: 300 K, b.2) Período de equilibrio: 5 ps, b.3) Duración de la simulación: 20 ps, b.4) Timestep: 0.001 ps

**5.3.3.3 Cálculo de los descriptores.** Debido a que el mecanismo de acción del PZQ no es claro, el criterio utilizado en la selección de los descriptores se basó en seleccionar unos pocos parámetros, cada uno representativo de una característica fisicoquímica diferente y lo más general posible. Las conformaciones de menor energía de los derivados de PZQ obtenidas bajo las condiciones del apartado 5.3.3.2 fueron refinadas nuevamente realizando una optimización de la geometría en MOPAC utilizando el método semiempírico PM3 del programa CAChe 6.01.

Seguidamente, se procedió a la tabulación de los descriptores a través del programa *ProjectLeader* 6.01 incluyendo descriptores moleculares y químico-cuánticos (Tabla 1.4). En cuanto a los descriptores químico-cuánticos, dado que las variaciones de la serie tienen como estructura común el núcleo

pirazinoisoquinolínico, solo se consideraron algunos átomos pesados (C, N y O). La nomenclatura utilizada para identificar estos átomos se muestra en la Figura 1.10. La lista y el significado de los descriptores moleculares se encuentran en el programa *ProjectLeader* 6.01.



**Figura 1.10** Nomenclatura de los átomos seleccionados para la evaluación de los descriptores químico-cuánticos.

**Tabla 1.4.** Distribución por categorías y total del número de descriptores calculados para cada una de las ocho moléculas de la serie de exploración con *ProjectLeader* 6.01.

Tipo de descriptor	Descriptor	Cantidad	Total por Categoría
Moleculares	Log P (Pro-LogP) <sup>a</sup>	1	5
	Peso molecular	1	
	Índice de conectividad Chi(Orden 0,1 y 2)	1	
	Índice de forma Kier (Orden 2 y 3)	1	
	Índice de conectividad de valencia Chi (orden Chi0V y Chi1V)	1	
	Refractividad molar	1	
	Momento dipolar	1	
Químico-Cuánticos	Carga parcial	17	170
	Calor de formación	17	
	Densidad HOMO	17	
	Densidad LUMO	17	
	Suceptibilidad a electrófilo	17	
	Suceptibilidad a nucleófilo	17	
	Suceptibilidad a radical	17	
	Superdeslocalización electrofílica	17	
	Superdeslocalización nucleofílica	17	
	Superdeslocalización radical	17	
	Afinidad electrónica	1	
	Energía estérica <sup>b</sup>	1	
	Energía total	1	
	Calor de formación	1	
	Energía HOMO	1	
	Energía LUMO	1	
	<b>Total</b>		
<b>Descriptores</b>			

<sup>a</sup>Calculado con el Programa Pallas Pro-LogP. <sup>b</sup>Equivalente a la conformación de mínima energía.

### 5.3.4. Proceso de selección de los descriptores para el modelo QSAR.

#### Aproximación de algoritmo genético.

Se calcularon 175 descriptores. No todos los descriptores son utilizados para construir la(s) ecuación(es) QSAR, por lo que se debe reducir la cantidad de los mismos al mínimo posible mediante el uso de la aproximación del algoritmo genético. Antes de proceder a la aplicación del algoritmo, los descriptores fueron estandarizados. Para ello, se utilizó el módulo de estadística del programa *MS Modeling* 3.2.0. Luego, se aplicó el algoritmo al conjunto de descriptores. Los descriptores calculados (Tabla 1.4) fueron agrupados en tres conjuntos: a) Conjunto de descriptores moleculares, b) conjuntos de descriptores químico-cuánticos y c) combinación del conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos. Los descriptores son las variables independientes. Los parámetros empleados para la aplicación del algoritmo a cada uno de los conjuntos fueron los siguientes:

1. *Número de descriptores por cromosoma (individuo)*: 2 descriptores.
2. *Poblaciones iniciales*: 250, 500 y 1000 individuos.
3. *Número máximo de generaciones*: 2500, 5000 y 10000 generaciones para las poblaciones iniciales de 250, 500 y 10000 individuos respectivamente. Estos valores de generaciones corresponden a 10 veces el valor de la población inicial.
4. *Probabilidad de mutación*: 0.01 unidades de probabilidad, lo que es igual a una ocurrencia del 1% en la población, magnitud análoga a la frecuencia de mutación observada en los sistemas biológicos.
5. *Función de evaluación*: Friedman LOF.

6. *Resultados de la aplicación del algoritmo genético:* Los mejores modelos QSAR fueron seleccionados en base al gráfico de ocurrencia del descriptor versus el número de generaciones y a los resultados obtenidos de la función de evaluación Friedman LOF y de los parámetros estadísticos tales:  $R^2$ ,  $R^2_{adj}$ ,  $Q^2$  y  $F$ . Estos modelos corresponden a la población élite resultante de la aplicación del algoritmo.

Luego de haber seleccionado los descriptores por el algoritmo, se examinó la distribución de los valores para cada uno de ellos. Esto se logró calculando la covarianza (sección 3.3.2.1.2.3). Además, se verificó las correlaciones entre los mismos para evitar la *sobre-representación* en la información, es decir, repetición de la información contenida en los datos. La matriz de correlación se obtuvo a través del módulo de estadística del programa *MS Modeling 3.2.0*. El valor de correlación utilizado fue 0.7.

### **5.3.5 Construcción del modelo QSAR. Análisis de regresión lineal simple y multivariada.**

Luego, se construyeron las ecuaciones QSAR mediante un análisis de regresión lineal simple y multivariada entre los descriptores seleccionados (variables independientes) y los datos de actividad biológica ( $pCE_{50}$ ) (variables dependientes). Es importante recordar que la ecuación QSAR debe contener un máximo de dos descriptores, ya que se trabajó con un conjunto de datos de actividad biológica muy pequeño. La relación de Topliss indica que debe seleccionarse un descriptor por cada 4 o 5 compuestos, por lo tanto, para un

conjunto de datos de 8 compuestos, el número máximo de descriptores sería de dos, es decir, la ecuación QSAR debe tener un máximo de dos variables independientes, una cantidad mayor de descriptores puede conducir a un sobreajuste del modelo.

Una vez aplicada la regresión, se muestran los valores de actividad biológica calculados por el modelo, los valores residuales para cada punto de predicción y los parámetros estadísticos de la regresión ( $s$ ,  $r$ ,  $r^2$ ,  $Q^2$  y  $F$ ).

### **5.3.6 Predicción de la actividad biológica de derivados y análogos de PZQ.**

La predicción de la actividad biológica de los derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis, se realizó utilizando la ecuación QSAR que mostró los mejores parámetros estadísticos para cada uno de los conjuntos descriptores. Para ello, fue necesario calcular esos descriptores a partir de las estructuras optimizadas, empleando las mismas condiciones anteriormente comentadas (apartados 5.3.2.1 a 5.3.2.3).

### **5.3.7 Predicciones *in silico* de propiedades ADME para derivados y análogos de PZQ.**

Se realizó una predicción de la capacidad de absorción *in vivo* de una serie de derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis, así como, los derivados de PZQ publicados por Liu et al (46). Estas reglas han sido ampliamente utilizadas como filtros para el desarrollo de programas de diseño de drogas. Los cálculos teóricos se realizaron empleando el programa *Accord* para *Excel* versión 7.1.5.

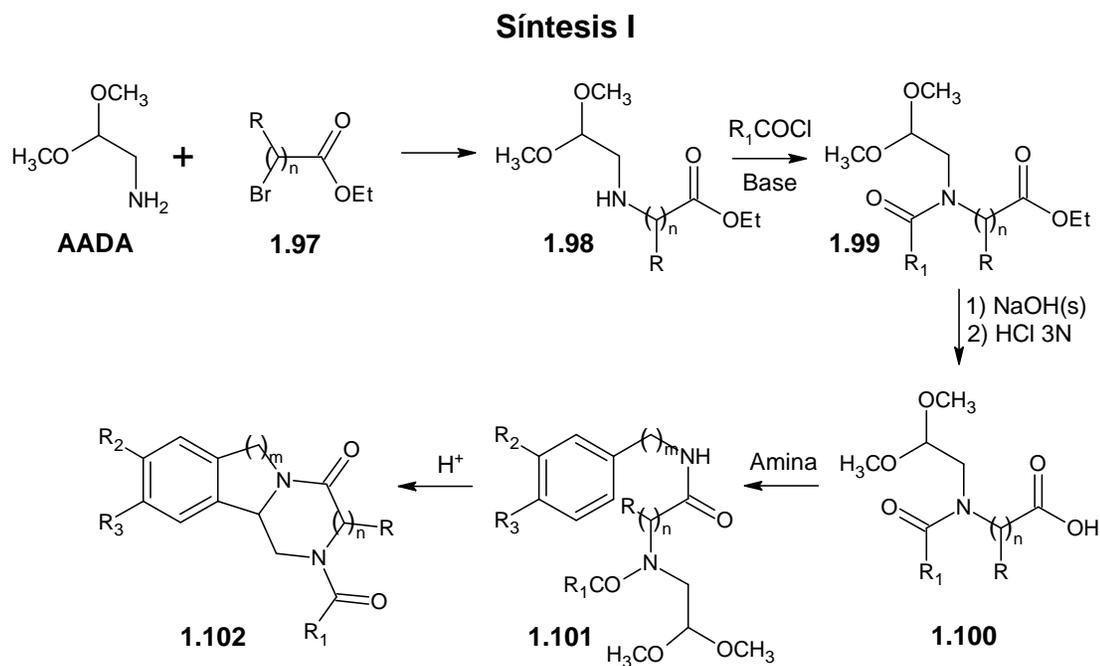
## 6.1 Resultados y Discusión. Sección Química.

Hasta la fecha, se han publicado diversas síntesis de PZQ obteniéndose en la mayoría de los casos la mezcla racémica. También, han sido reportadas síntesis enantioselectivas del enantiómero biológicamente activo. En este trabajo, se logró sintetizar el PZQ, además de una serie de derivados y análogos del mismo. La estrategia de síntesis utilizada permitió obtener el PZQ con un exceso enantiomérico (ee) del enantiómero biológicamente activo. A continuación, se explicará la vía de síntesis utilizada, así como, otra ruta de síntesis probada que no dio el resultado esperado, sin embargo, los resultados obtenidos fueron muy interesantes. El PZQ fue obtenido mediante la denominada *Síntesis I*, la cual será explicada en detalle a continuación.

### 6.1.1 Síntesis de PZQ, sus derivados y análogos: *Síntesis I*.

El PZQ, sus derivados y análogos fueron obtenidos en cinco pasos de reacción: 1) Reacción de sustitución nucleofílica bimolecular ( $SN_2$ ) entre el aminoacetaldehído dimetil acetal (AADA) y derivados bromados en las posiciones alfa ( $\alpha$ ) o beta ( $\beta$ ) de ésteres etílicos **1.97**, obteniéndose la correspondiente amina secundaria **1.98** 2) Luego, la reacción entre un ácido carboxílico o cloruro de ácido con la amina secundaria **1.98** generándose la respectiva amida **1.99** 3) Saponificación del éster etílico del intermediario **1.99**, obteniéndose el respectivo ácido carboxílico **1.100** 4) Seguidamente, una reacción de condensación entre el ácido **1.100** y un derivado de fenetil o bencilamina mono o di sustituida, generó un intermediario diamido-acetal **1.101**

y 5) La ciclación intramolecular en medio ácido originó los compuestos de interés **1.102** (Esquema 1.7).

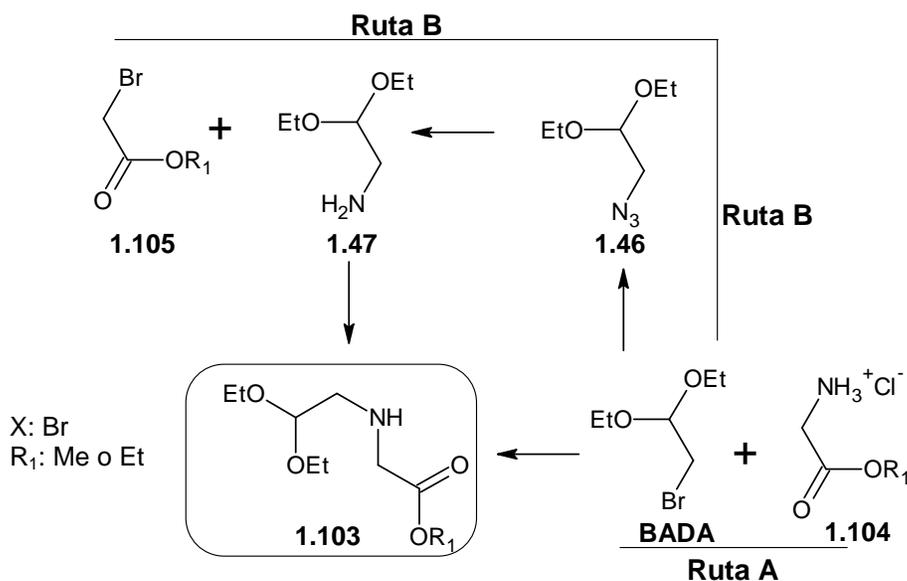


**Esquema 1.7 Síntesis I.** Esquema general de síntesis de PZQ, sus derivados y análogos siendo n y m 1 o 2.

A continuación, se describirá de manera detallada la obtención de cada uno de los intermediarios involucrados en la **Síntesis I** del PZQ, derivados y análogos del mismo.

**6.1.1.1 Paso 1. Síntesis de derivados de [(2,2-dialcoxi)etil]amino]ésteres de etilo o metilo.** El primer paso de la síntesis consistió en la obtención del intermediario [(2,2-dietoxi)etil]amino]acetato de etilo **1.103** siendo sintetizado como compuesto de prueba, el cual fue obtenido a través de dos diferentes rutas de síntesis: **Rutas A y B** (Esquema 1.8). Es importante mencionar que, para el momento de comenzar la síntesis del PZQ,

no se disponía del AADA. Las dos rutas ensayadas dan el compuesto esperado, sin embargo, la **Ruta B** fue la mejor. Seguidamente, se describirá cada una de las mismas.

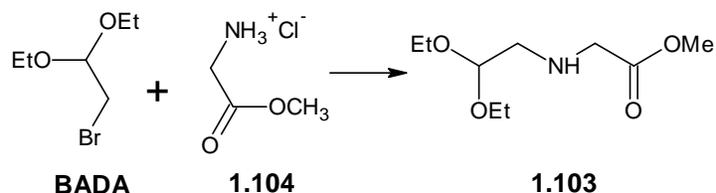


**Esquema 1.8** Rutas ensayadas en la obtención de [(2,2-dietoxietil)amino]éster de etilo o metilo.

**6.1.1.1.1 Ruta A:** Una reacción  $S_N2$  entre el clorhidrato de la glicina metil éster **1.104** y el bromoacetaldehído dietilacetal (BADA) ensayándose varias condiciones de reacción (Tabla 1.5). El primer inconveniente en llevar a cabo esta reacción fue conseguir un solvente en el cual todos los reactantes fueran solubles. Se probaron dos solventes: 1) Un solvente no polar tal como  $CHCl_3$  y 2) Un solvente aprótico polar como el MeCN. Ningunos de los solvente utilizados disolvió la glicina metil éster. Sin embargo, la adición de una base orgánica, tal como TEA, o inorgánica, como  $Na_2CO_3$ , desprotonaría la glicina, ayudando a solubilizarla. Se ha reportado en la literatura (110), la

desprotonación del clorhidrato de la glicina metil éster con un exceso de *N*-metilpiperidina en  $\text{CHCl}_3$ .

**Tabla 1.5** Síntesis de [(2,2-dietoxietil)amino]acetato de etilo, **1.103**, Ruta A.



Reacción	Relación molar			Solvente	Tiempo (h)	R <sup>c</sup> (%)
	BADA	Glicina ester	Base <sup>b</sup>			
<b>378<sup>a</sup></b>	1.0	1.0	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (5.0)	MeCN	35	61
<b>380<sup>a</sup></b>	1.0	2.0	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (4.0)	MeCN	20	100
<b>404<sup>d</sup></b>	1.0	1.0	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (2.0)	MeCN/DMF <sub>gotas</sub>	24	16
<b>407<sup>a</sup></b>	1.0	2.0	TEA (2.0)	$\text{CHCl}_3$	24	—
<b>408<sup>a,d</sup></b>	1.0	2.0	TEA (3.0)	$\text{CHCl}_3$	76	63
<b>426<sup>a,e</sup></b>	1.0	2.0	TEA (3.0)	MeCN	192	31
<b>440<sup>f</sup></b>	1.0	3.0	DIPEA <sub>exc</sub>	DIPEA	23	24

<sup>a</sup>26 °C. <sup>b</sup>El número entre paréntesis indica el número de moles. <sup>c</sup>Rendimiento crudo de reacción. <sup>d</sup>90-100 °C. <sup>e</sup>Reflujo. <sup>f</sup>100 °C.

En R378, la reacción fue realizada en MeCN empleándose cantidades equimolares de los reactantes y un gran exceso de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , siendo la reacción realizada a 26 °C por 35 h. De la reacción, se aisló un líquido amarillo con un rendimiento del 61%. El espectro de IR reveló una banda intensa en  $1735\text{ cm}^{-1}$  debida a la frecuencia de estiramiento del grupo carbonilo, además de las bandas correspondientes al grupo acetal en  $1040$  y  $1120\text{ cm}^{-1}$ . También, se observó una banda de mediana intensidad debida a la frecuencia de estiramiento del enlace C-Br en  $680\text{ cm}^{-1}$  indicando la presencia de BADA que

no reaccionó. Por otro lado, el EM mostró una señal con una relación m/z de 206.4 uma (peso molecular esperado es de 205.25 g/mol). Todo esto indicó que el producto aislado era el esperado. La CCF mostró el producto de interés más otros productos secundarios. El crudo de reacción aislado no fue purificado.

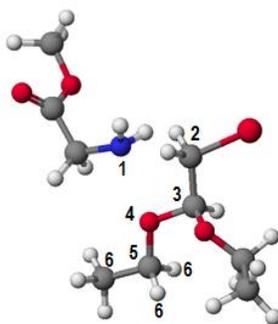
Las condiciones utilizadas en R380 incrementaron significativamente el rendimiento de la reacción. En cuanto al resto de las condiciones ensayadas en R404, R407, R408, R426 y R440 (Tabla 1.5), las diferentes variaciones realizadas a las condiciones de reacción, no lograron mejorar notablemente el rendimiento, y en algunos casos lo empeoraron.

De todos los intentos de reacción probados el mejor fue R380. Las mejores condiciones fueron aquellas donde se utilizó como base  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y MeCN como solvente, a temperatura ambiente, donde el tiempo de reacción influye en el rendimiento de la misma. Sin embargo, dichos resultados no fueron reproducibles.

Al principio, se pensó que el problema era la desprotonación de **1.104**. Almeida et al (111) reportaron la preparación de la glicina metil éster a partir de **1.104** suspendida en éter seco y burbujeando rápidamente de manera intermitente amoníaco. Los autores comentan que la glicina metil éster polimeriza, almacenada a temperatura ambiente, por lo que debe ser guardada a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , por períodos cortos, sin descomposición significativa. En base a este comentario, en algunos casos el bajo rendimiento pudiera ser debido a una

descomposición de la glicina metil éster, especialmente cuando se dejaba largos períodos de tiempo y con calentamiento.

También, se pensó en un problema de impedimento estérico del BADA para ser atacado por la glicina metil éster. Esto pudiera ser explicado por la *Regla de Seis* establecida por Newman (112) que indica que aquellos átomos que son más efectivos en ejercer impedimento estérico, están separados del átomo atacante, en el estado de transición, por una cadena de cuatro átomos. Esto significa que si el átomo atacante es designado como 1, el átomo bloqueante estará en la posición 6. En el caso de la reacción entre el BADA y la glicina metil éster, si se asigna la posición 1 al átomo de nitrógeno de la glicina metil éster y la posición 2 al átomo de carbono unido al átomo de Br y se continúa la numeración sobre el BADA, se observan dos posibles átomos bloqueantes en la posición 6, pudiendo ser H o C (Figura 1.11). Esto pudiera explicar la falta de reactividad de BADA a un ataque nucleofílico.



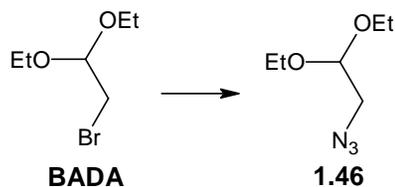
**Figura 1.11** Regla de seis aplicada a la reacción SN<sub>2</sub> entre el BADA y glicina metil éster.

**6.1.1.1.2 Ruta B:** En base a los resultados obtenidos en la **Ruta A**, se decidió ensayar la **Ruta B**, más larga que la anterior, la cual consideró la

preparación de aminoacetaldehído dietilacetal **1.47** en dos pasos de reacción: 1) Síntesis de 2-azido-1,1-dietoxietano **1.46** y 2) Reducción catalítica del grupo azido a la amina primaria **1.47**. Luego, la reacción de condensación con bromoacetato de etilo **1.105** (compuesto de prueba) generando el correspondiente derivado **1.103**.

El compuesto **1.46** fue obtenido por un desplazamiento del ion bromuro por el grupo azido de la  $\text{NaN}_3$ . Se utilizaron las condiciones reportadas por Bellur et al (106) en la síntesis del mismo producto. Se obtuvo con una pureza aceptable y con un rendimiento del 95% (Tabla 1.6). La estructura sintetizada fue confirmada por las técnicas espectroscópicas adecuadas: EIR, RMN- $^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$  (Espectro 1.46) coincidiendo con los datos reportados en la literatura (106). Vale la pena comentar que en este espectro se observan dos multipletes entre 3.53 y 3.73 ppm correspondientes a los protones metilénicos del dietilacetal. La razón para esta multiplicidad es debida a que estos protones son diastereotópicos.

**Tabla 1.6** Síntesis de 2-azido-1,1-dietoxietano, **1.46**.



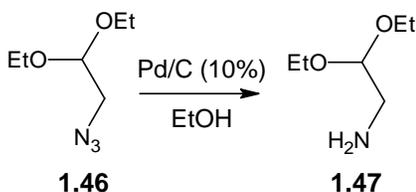
Reacción	Relación molar			Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R <sup>a</sup> (%)
	BADA	$\text{NaN}_3$	KI				
<b>485</b>	1.0	1.5	0.1	DMSO	90	168	95

<sup>a</sup>Rendimiento crudo de reacción.

Se ensayó otra condición de reacción muy utilizada en nuestro laboratorio en esta clase de desplazamiento (Acetona/Agua y exceso de  $\text{NaN}_3$ ). Bajo estas condiciones no hubo reacción.

Posteriormente, se procedió a la hidrogenación catalítica de **1.46** utilizando un 10% del catalizador Pd/C (10%), aislándose el compuesto **1.47**. Se probaron varias condiciones de reacción variando principalmente el tiempo de reacción y en algunos casos el porcentaje de catalizador utilizado (Tabla 1.7).

**Tabla 1.7** Síntesis de aminoacetaldehído dietilacetil, **1.47**.



Reacción	Catalizador (%)	Presión $\text{H}_2$ ( $\text{lp}^2$ ) <sup>a</sup>	Tiempo (h)	R <sup>b</sup> (%)
<b>510</b>	10	20	3.5	86
<b>519</b>	20	20	4	85
<b>526</b>	20	21	7	74

<sup>a</sup> $\text{lp}^2$ : Libras por pulgada al cuadrado. <sup>b</sup>Rendimiento crudo de reacción.

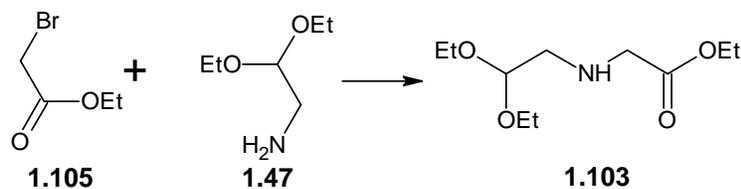
La primera condición de reacción ensayada es la mostrada en R510. Se empleó un porcentaje de catalizador del 10%, con una presión inicial del 20  $\text{lp}^2$  y un tiempo de 3.5 h aislándose un aceite amarillo con un alto rendimiento. En R519, se incrementó al doble el porcentaje de catalizador manteniéndose la presión inicial. El cambio no fue significativo, ya que el rendimiento del producto deseado fue similar al alcanzado en R510. Se pensó que un incremento en el tiempo de reacción pudiera incrementar el rendimiento. Sin embargo, esto no

fue así, todo lo contrario, se observó una disminución del mismo de más de 10%.

En todos los casos, en el espectro de IR se observó ausencia de la señal debida a la frecuencia de estiramiento del grupo azido en  $2100\text{ cm}^{-1}$ . Sin embargo, en el espectro de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Se observan algunas señales, poco intensas, del producto de partida. La pureza del producto aislado fue analizada por CCF indicando que el mismo estaba bastante puro para ser utilizado en el siguiente paso de reacción.

Luego, la reacción entre **1.47** y el éster **1.105** condujo al intermediario **1.103** (Tabla 1.8). En los ensayos R522 y R524, el reactivo limitante de la reacción fue el éster **1.105**.

**Tabla 1.8** Síntesis de [(2,2-dietoxietil)amino]acetato de etilo, **1.103**, Ruta B.



Reacción	Relación molar			Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R (%)
	BAE <sup>a</sup>	AADEA <sup>b</sup>	Base				
<b>522</b>	1.0	1.2	TEA (2.0)	DCM	26	66	47 <sup>c</sup>
<b>544</b>	1.0	2.0	TEA (1.9)	CHCl <sub>3</sub>	50-60	144	76 <sup>d</sup>

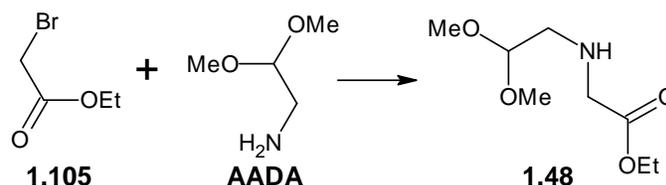
<sup>a</sup>BAE: BromoAcetato de Etilo, **1.105**. <sup>b</sup>Aminoacetaldehído dietil acetal, **1.47**. <sup>c</sup>Rendimiento crudo de reacción. <sup>d</sup>Rendimiento producto purificado.

Las condiciones utilizadas en R522, condujeron al producto esperado con bajo rendimiento. También es importante comentar que, el producto aislado

se oscurecía con el paso de los días, a pesar de ser almacenado en un frasco ámbar y a 5 °C. La CCF mostró la aparición de otros productos secundarios. El espectro de IR mostró las señales esperadas para este intermediario.

La adquisición de AADA comercial permitió la obtención del intermediario [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo **1.48** mediante una sola reacción de condensación con el éster **1.105**. Se ensayaron varias condiciones de reacción (Tabla 1.9) las cuales sirvieron para sintetizar el resto de los derivados de esta clase de compuestos (Tabla 1.10). Es importante mencionar que, la síntesis del intermediario [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de *t*-butilo ya ha sido reportada (113).

**Tabla 1.9** Síntesis de [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo, **1.48**.



Reacción	Relación molar			Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R <sup>c</sup> (%)
	BAE <sup>a</sup>	AADA	Base				
<b>613</b>	1.0	2.0	TEA	Tol	60-90	112	67
<b>627</b>	1.2	1.0	NaHCO <sub>3</sub>	SDS <sup>b</sup> /agua	80	31	22
<b>1017</b>	1.0	2.0	AADA	MeCN	50	94	89

<sup>a</sup>BAE: BromoAcetato de Etilo. <sup>b</sup>SDS: Dodecil sulfato de sodio. <sup>c</sup>Rendimiento crudo de reacción.

Al principio, se realizaron varios ensayos utilizando condiciones de las *Ruta A* y *B* (datos no mostrados). La CCF de estas reacciones reveló, además del producto esperado, otros productos secundarios con R<sub>f</sub> similares al producto de interés, lo cual hizo muy difícil el proceso de purificación.

Las condiciones utilizadas en R613 condujeron a la formación de la amina secundaria pero con un rendimiento del 67%. Se purificó una pequeña cantidad siendo analizada EIR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (Espectro 1.48), confirmando la obtención de la misma.

De acuerdo a un trabajo publicado por Singh et al (114) la *N*-alquilación directa de aminas primarias a aminas secundarias o terciarias y de aminas secundarias a aminas terciarias ha sido alcanzada con excelentes rendimientos empleando haluros de diversa naturaleza: haluros de alquil, bencil y alil, en presencia de NaHCO<sub>3</sub> en un medio acuoso a 80 °C y utilizando una pequeña cantidad de dodecilsulfato de sodio (SDS) actuando como un catalizador de transferencia de fase. Se utilizaron estas condiciones en R627, en el cual el rendimiento del producto deseado alcanzó solo un 22%.

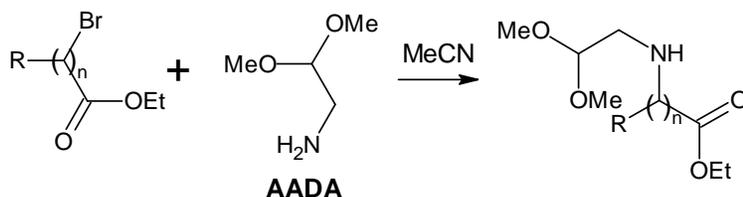
Se ensayaron las condiciones reportadas en R1017. La CCF del producto aislado mostró que el mismo estaba bastante puro, no requiriendo purificación adicional y utilizándose así para las siguientes reacciones.

Para la síntesis de los otros derivados de [(2,2-dimetoxietil)amino]ésteres de etilo **1.49** y **1.50**, se probaron las condiciones que dieron el mejor rendimiento en la síntesis de **1.48**, es decir, las condiciones R1017 (Tabla 1.10).

En el caso de la síntesis de 3-[(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo **1.49**, R833, se aisló el producto deseado bastante puro con un rendimiento del 62%. El espectro de IR mostró una señal en 1727 cm<sup>-1</sup> debida al estiramiento del enlace carbonílico. Con la idea de mejorar el rendimiento de R833, se

incrementó la temperatura y luego el tiempo de reacción, manteniendo la misma relación molar. Si bien, el espectro de IR de R967 es similar al de R833, la CCF mostró un producto muy impuro siendo difícil de purificar. Las condiciones utilizadas en R1057 dieron el producto deseado con una pureza similar al aislado en R833, sin embargo, el rendimiento obtenido fue algo menor. En este caso, el equivalente adicionado en exceso del AADA fue sustituido por DIPEA, siendo la principal ventaja de estas condiciones, ya que evita el gasto innecesario de AADA. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C mostraron que el producto era el esperado.

**Tabla 1.10** Síntesis de derivados [(2,2-dimetoxietil)amino]ésteres de etilo, **1.49** (R: H, n:2) y **1.50** (R: CH<sub>3</sub>, n:1).



Reacción	R	Relación molar			T (°C)	Tiempo (horas)	R <sup>b</sup> (%)
		BEE <sup>a</sup>	AADA	DIPEA			
<b>833</b>	H (n:2)	1.0	2.0	—	65	75	62
<b>967</b>	H (n:2)	1.0	2.0	—	136	44	—
<b>1057</b>	H (n:2)	1.0	1.1	1.5	50	168	56
<b>969<sup>c</sup></b>	CH <sub>3</sub> (n:1)	1.0	2.0	—	reflujo	68	—
<b>1020</b>	CH <sub>3</sub> (n:1)	1.0	1.0	1.0	60	120	81

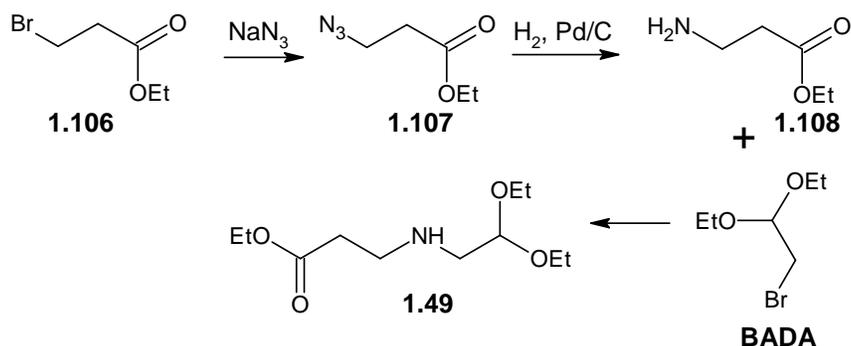
<sup>a</sup>BEE: Bromoéster de etilo. <sup>b</sup>Rendimiento crudo de reacción. <sup>c</sup>Se adicionó cantidades catalíticas de KI.

De igual forma, la síntesis de 2-[(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo **1.50** se logró a través de las condiciones descritas en R1020. Se obtuvo

un producto de pureza aceptable que fue utilizado en el siguiente paso de reacción. El espectro de IR mostró una señal asignada al grupo carbonilo con una frecuencia de estiramiento en  $1729\text{ cm}^{-1}$  y las señales esperadas en RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Respecto a las condiciones probadas en R969, estas dieron una mezcla compleja de productos muy difícil de purificar.

En un trabajo publicado por Todd et al (72) sintetizaron el [(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de bencilo, con un rendimiento del 38% a través de una aminación reductiva entre el dimetoxiacetaldehído y el aminoacetato de bencilo, utilizando triacetoxiborohidruro de sodio ( $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ ) como agente reductor.

No conforme con el rendimiento obtenido en la síntesis de **1.49**, se planteó su obtención usando la misma secuencia de la *Ruta B* citada antes (Esquema 1.9):



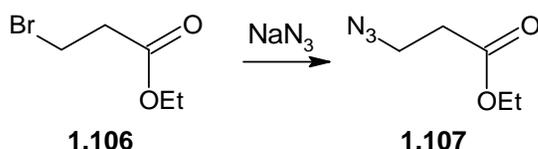
**Esquema 1.9** Síntesis propuesta de 3-[(2,2-dimetoxietil)amino]propanoato de etilo.

1) Una reacción  $\text{S}_{\text{N}}2$  entre el  $\beta$ -bromopropionato de etilo **1.106** y  $\text{NaN}_3$  en un solvente polar obteniéndose **1.107** 2) Reducción catalítica del grupo azido

empleando Pd/C como catalizador para dar el  $\beta$ -aminopropionato de etilo **1.108** y 3) Condensación entre **1.108** y BADA generando el producto deseado.

El primer paso de la síntesis consistió en la reacción  $SN_2$  entre **1.106** y  $NaN_3$  ensayándose varias condiciones para la misma para dar **1.107** (Tabla 1.11).

**Tabla 1.11** Síntesis de 3-azido-propionato de etilo, **1.107**.



Reacción	Relación molar			Solvente	T (°C)	Tiempo (horas)	R <sup>b</sup> (%)
	$\beta$ -BPE <sup>a</sup>	$NaN_3$	KI				
<b>991</b>	1.0	3.0	—	Acetona/H <sub>2</sub> O	reflujo	20	31
<b>994</b>	1.0	6.0	0.1	Acetona/H <sub>2</sub> O	reflujo	46	33
<b>998</b>	1.0	1.5	0.1	DMSO	90	120	5
<b>1003</b>	1.0	2.0	—	MeOH	reflujo	6	34

<sup>a</sup> $\beta$ -BPE : $\beta$ -Bromo-Propionato de Etilo, **1.106**. <sup>b</sup>Rendimiento producto purificado.

El azido éster **1.107** fue obtenido bajo las condiciones de reacción utilizadas en R991, siendo el rendimiento de apenas un 31%. La señal más importante en el espectro de IR fue la correspondiente al estiramiento del grupo azido en 2106  $cm^{-1}$ . Sin embargo, debido al bajo rendimiento obtenido, se decidió modificar dichas condiciones. En R994, un incremento en la relación molar de la  $NaN_3$  y tiempo de reacción, además de la adición de cantidades catalíticas de KI, apenas mejoró el rendimiento en un 2% respecto al obtenido en R991. En R988, se utilizaron las condiciones utilizadas en la síntesis de

**1.46** (Tabla 1.6). Estas variaciones afectaron considerablemente el rendimiento, en comparación con R991 y R994, siendo de solo un 5%. Este intermediario fue sintetizado previamente por Weber (115) obteniéndose un líquido amarillo claro con un rendimiento del 43%. Se reprodujeron estas condiciones en R1003, sin embargo, el rendimiento obtenido de **1.107** fue igual a R991 y R994. En todos los casos, las reacciones fueron monitoreadas por CCF empleando una mezcla al 5% de acetato de etilo (AcOEt) en hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) y purificadas mediante CC utilizando la misma mezcla.

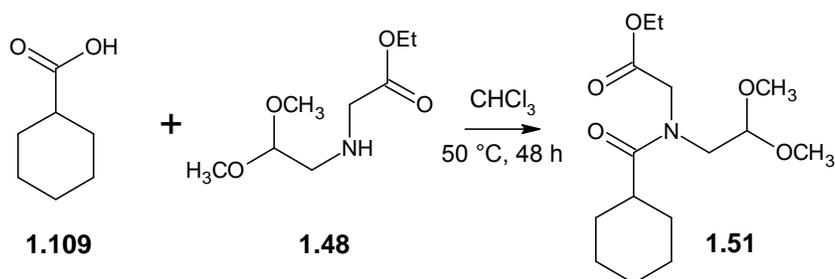
En vista de que los rendimientos obtenidos en la síntesis de este intermediario fueron muy bajos, se descartó esta ruta de síntesis. A pesar del bajo costo de los reactivos necesarios para esta vía sintética, la misma involucraría 3 pasos de reacción, que deberían producir excelentes rendimientos para que ésta pudiera competir con la ruta de un solo paso, la cual produjo un 56% de rendimiento (R1057).

Los bajos rendimientos obtenidos de los productos **1.49** y **1.107** podrían deberse a que el átomo de bromo, ubicado sobre el átomo de carbono β, respecto al carbonilo del éster, disminuye la electrofilicidad de este carbono haciéndolo poco susceptible a un reacción del tipo SN<sub>2</sub>.

**6.1.1.2 Síntesis de intermediarios amido ester acetal.** El siguiente paso correspondió a una reacción de acilación de las aminas secundarias obtenidas en el primer paso, es decir, los productos obtenidos en R1017 (**1.48**), R1020 (**1.49**) y R1057 (**1.50**), con un cloruro de ácido o un ácido carboxílico

activado obteniéndose la respectiva amida. Para buscar las mejores condiciones, se utilizaron como compuestos modelo el derivado **1.48** y el ácido ciclohexilcarboxílico **1.109**, ensayándose dos métodos (Tablas 1.12A y 1.12B).

**Tabla 1.12A** Síntesis de *N*-[(ciclohexilcarbonyl)(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo, **1.51**.



Reacción	Relación molar					R <sup>b</sup> (%)
	Ácido	AEA <sup>a</sup>	DIC	HOBt	DIPEA	
<b>683</b>	1.3	1.0	1.2	1.2	2.0	81

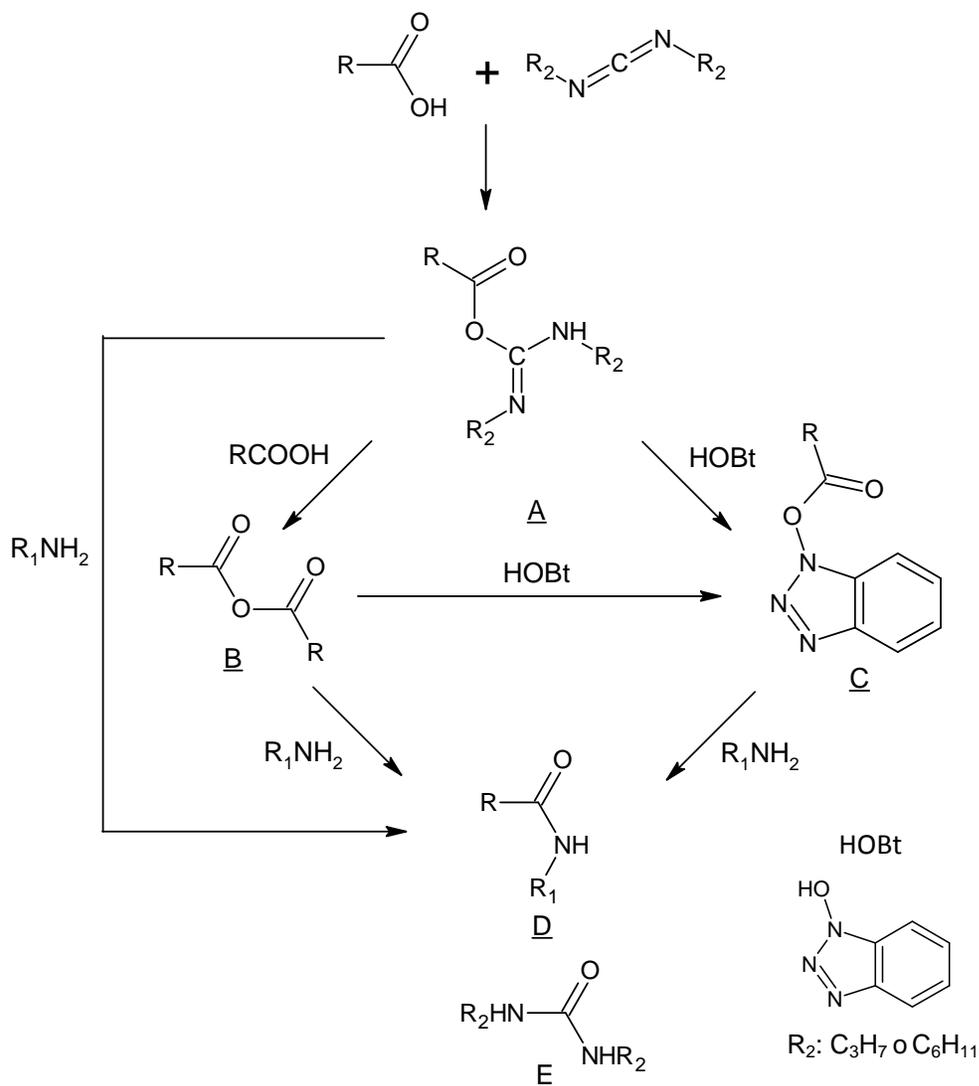
<sup>a</sup>AEA:AminoEsterAcetal,**1.48**. <sup>b</sup>Rendimiento producto purificado.

El primer método, R683, consistió en la formación de un enlace tipo amida mediante la reacción del ácido **1.109** activado con diisopropilcarbodiimida (DIC), el aditivo 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), en presencia de una base (DIPEA) y el derivado **1.48**.

La formación del enlace tipo amida ocurriría según lo indicado en el Esquema 1.10 (116):

**1)** El ataque del ácido carboxílico o su respectivo carboxilato al carbono central de la carbodiimida origina la correspondiente *O*-acilisourea, A, siendo la primera especie activa formada en la reacción de acoplamiento. Aunque las carbodiimidas pueden formar derivados de guanidinas con aminas, esta

reacción es demasiado lenta para competir efectivamente con la formación de la *O*-acilisourea (117).



**Esquema 1.10** Mecanismo de reacción de la formación de enlace tipo amida mediada por una carbodiimida en presencia de HOBt.

2) El intermediario **A** puede sufrir ataque por el grupo amino formándose la amida **D** y el derivado de urea **E**. 3) Alternativamente, otra molécula de ácido carboxílico puede reaccionar con **A** obteniéndose el anhídrido simétrico **B**. Esta

es otra especie acilante muy reactiva que puede reaccionar con el componente amino para dar la amida D.

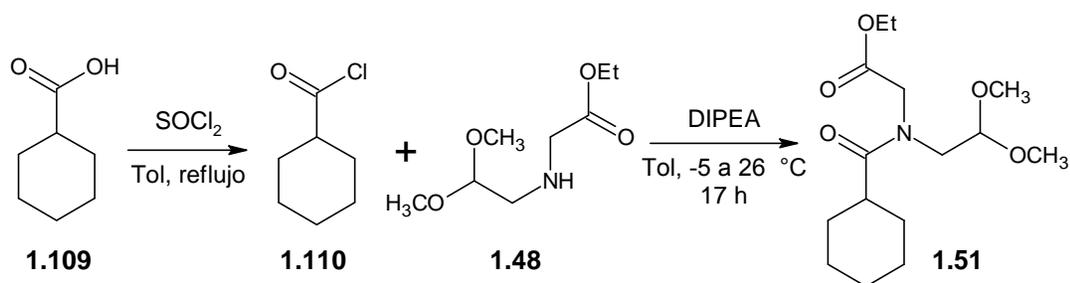
Como toda reacción, esta no está exenta de sufrir reacciones colaterales. Muchas de estas reacciones ocurren cuando la activación es realizada únicamente con carbodiimidas. Dichas reacciones pueden ser evitadas mediante el uso de un aditivo en la mezcla de reacción. El aditivo captura los intermediarios A y B formando un agente acilante de baja reactividad, que todavía sigue siendo lo suficientemente reactivo para reaccionar con la amina formando la amida. Los intermediarios A o B reaccionan con el HOBt para dar un derivado de éster de benzotriazol C. Este último puede ser atacado por la amina produciendo la amida.

La principal dificultad observada con esta reacción fue la eliminación de la diisopropilurea (DIPU) formada durante la reacción, requiriendo filtraciones sucesivas, invirtiendo mucho tiempo en este proceso, y conduciendo a pérdida de producto.

En cuanto al segundo método (Tabla 1.12B), si bien para la obtención del producto se requirieron dos pasos de síntesis, se eliminó el proceso tedioso de la eliminación de DIPU. Primero se sintetizó el cloruro de ácido **1.110** utilizando un exceso de cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ) en Tol. Una vez aislado el cloruro de ácido, se procedió a la acilación de **1.48**. Una vez que se aisló el producto crudo y se purificó por CC, se obtuvo un líquido amarillo algo denso con un rendimiento del 80% y cuya estructura fue confirmada por los métodos

espectroscópicos usuales. Lo más importante a destacar en los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C es la presencia de algunas señales duplicadas debido a la presencia de 2 rotámeros. Estas señales son el metilo y metileno del éster etílico (1.21-1.29 ppm y 4.09-4.23 ppm) y el metino del grupo ciclohexilo (2.18-2.28 ppm y 2.51-2.60 ppm) (Espectro 1.51).

**Tabla 1.12B** Síntesis de *N*-[(ciclohexilcarbonyl)(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo, **1.51**.



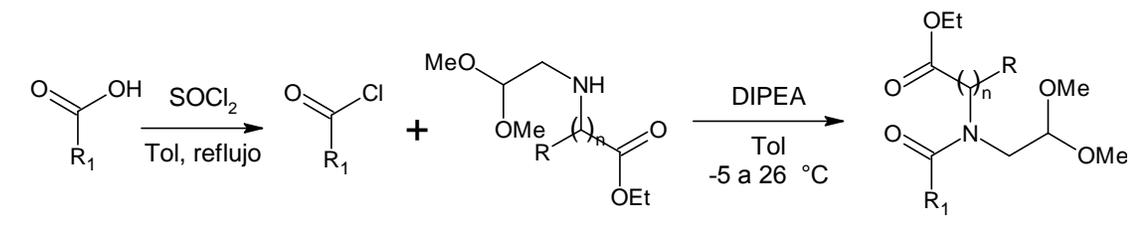
Reacción	Relación molar				R <sup>b</sup> (%)
	Ácido	SOCl <sub>2</sub>	AEA <sup>a</sup>	Base	
<b>1018</b>	1.0	13.0	1.2	2.0	80

<sup>a</sup>AEA:AminoEsterAcetal, **1.48**. <sup>b</sup>Rendimiento producto purificado.

En cuanto al resto de los derivados, estos fueron preparados por el último método descrito arriba (Tabla 1.13). En algunos casos, se emplearon cloruros de ácido disponibles comercialmente. En general, los rendimientos alcanzados superaron el 70%, excepto en el caso de R982 cuyo rendimiento fue del 59%. En todas las reacciones, se aislaron líquidos densos. Algunos de los intermediarios requirieron purificación por CC, tales como en R1062 (**1.52**) y R1027 (**1.53**), sin embargo, en otros casos, como ocurrió en R977 (**1.54**) y R982 (**1.55**), no fue necesario ningún tipo de purificación. La estructura de los

productos obtenidos fue confirmada por las técnicas espectroscópicas de IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C.

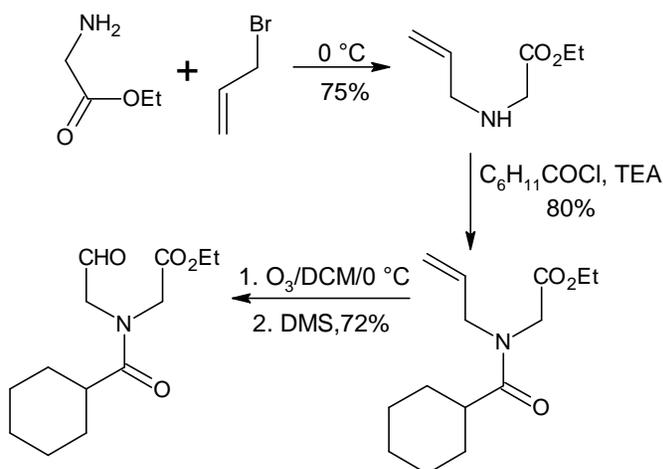
**Tabla 1.13** Síntesis de intermediarios del tipo amidoéster acetal, **1.52** a **1.55**.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar				Tiempo (h)	R (%)
			Ácido <sup>a</sup>	SOCl <sub>2</sub>	AEA <sup>b</sup>	Base		
<b>977</b>	H (n:1)	4-CH <sub>3</sub> Ph	1	—	2.0	3.0	23	78 <sup>c</sup>
<b>982</b>	H (n:1)	4-ClPh	1	—	1.3	2.5	22	59 <sup>c</sup>
<b>1027</b>	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	1	14	1.0	2.0	17	83 <sup>d</sup>
<b>1062</b>	H (n:2)	Chx <sup>e</sup>	1	14	1.0	2.0	17	86 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>En algunos casos se utilizó el cloruro de ácido, como en R977 y R982. <sup>b</sup>AEA: AminoEsterAcetal. <sup>c</sup>Rendimiento producto sin purificar. <sup>d</sup>Rendimiento producto purificado. <sup>e</sup>Chx: Ciclohexilo.

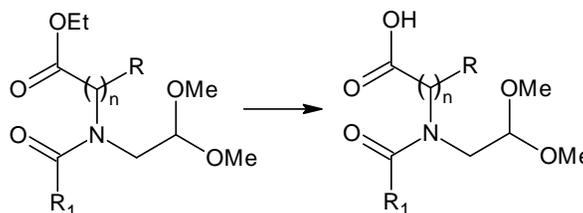
Carvalho et al (78) sintetizaron el intermediario correspondiente al aldehído del *N*-[(ciclohexilcarbonyl)(2,2-dimetoxietil)amino]acetato de etilo (R1018), en tres pasos de reacción (Esquema 1.11).



**Esquema 1.11** Síntesis de *N*-(2-oxo-etil)-*N*-(ciclohexilcarbonyl)aminoetanoato de etilo (78).

**6.1.1.1.3 Hidrólisis básica de los ésteres de los intermediarios amidoéster acetal obtenidos en el paso 6.1.1.1.2.** La saponificación de los intermediarios amidoéster acetal no presentó ninguna dificultad. Se ensayaron dos procedimientos, el primero empleó como solventes una mezcla EtOH/agua, con calentamiento alrededor de los 60 °C. En el segundo, se ensayó un procedimiento descrito por Theodorou et al (107) donde la hidrólisis de un éster fue realizada con NaOH en condiciones no acuosas, empleando una mezcla CHCl<sub>3</sub>-MeOH y a temperatura ambiente. Los rendimientos obtenidos en ambos procedimientos fueron muy similares. Las condiciones ensayadas son las mostradas en el Tabla 1.14.

**Tabla 1.14** Saponificación de derivados del tipo amido éster acetal, **1.56** a **1.60**.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar		Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R <sup>b</sup> (%)
			Ester	NaOH				
<b>714</b>	H( n:1)	4-CH <sub>3</sub> Ph	1.0	4.0	EtOH/agua	60	4.0	81
<b>754</b>	H( n:1)	Chx	1.0	4.0	EtOH/agua	60	4.0	85
<b>1007</b>	H( n:1)	4-ClPh	1.0	1.4	CHCl <sub>3</sub> /MeOH <sup>a</sup>	26	3.0	100
<b>1042</b>	H( n:1)	Chx	1.0	1.5	CHCl <sub>3</sub> -MeOH <sup>a</sup>	26	6.0	88
<b>1064</b>	H( n:2)	Chx	1.0	1.5	CHCl <sub>3</sub> -MeOH <sup>a</sup>	26	6.0	88
<b>1033</b>	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	1.0	1.6	CHCl <sub>3</sub> -MeOH <sup>a</sup>	26	5.5	75

<sup>a</sup>La relación de volúmenes utilizada de la mezcla CHCl<sub>3</sub>/MeOH fue de 9:1. <sup>b</sup>Rendimiento crudo de reacción.

Las mezclas finales de la hidrólisis básica fueron acidificadas con una solución de HCl 6 N hasta pH 1, obteniéndose los productos como aceites

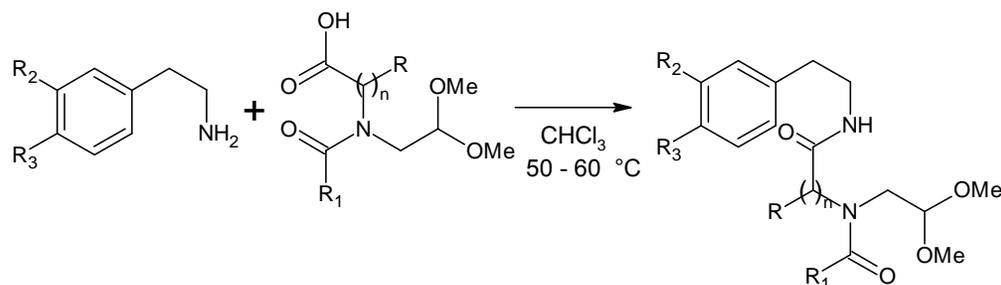
amarillo claro, muy densos. El espectro de IR mostró una señal intensa debida al enlace carbonílico del ácido carboxílico (alrededor de  $1710\text{ cm}^{-1}$ ) en una frecuencia diferente a la que se observa para el grupo carbonílico del éster (alrededor de  $1740\text{ cm}^{-1}$ ). Además, se observa la banda ancha característica del ácido carboxílico centrada en  $3000\text{ cm}^{-1}$ , debida a la frecuencia de estiramiento del OH. Ninguna de estas estructuras fue caracterizada por RMN.

Para ambos procedimientos, se encontró que el tiempo óptimo para llevar a cabo la hidrólisis estuvo entre 3 y 6 h. Tiempos menores no lograban la hidrólisis completa del éster, ya que, cuando se llevaba a cabo el siguiente paso de la síntesis, es decir, la reacción de condensación entre el derivado de ácido obtenido en este paso y el derivado de fenetilamina o bencilamina (apartado 6.1.1.1.4) y se procedía a la purificación del producto, se recuperaba amidoéster acetal sin hidrolizar (apartado 6.1.1.1.2). Con un tiempo superior a 6 h, el rendimiento del ácido disminuía hasta casi un 10%, debido probablemente a la hidrólisis parcial de la amida, sin embargo, esto no fue confirmado. La principal ventaja de realizar la saponificación utilizando el segundo procedimiento es el empleo de únicamente un pequeño exceso de NaOH, a diferencia de otros métodos, en los cuales se utiliza un gran exceso de la base.

**6.1.1.1.4 Síntesis de intermediarios diamidoacetal.** Seguidamente, se procedió a una reacción de condensación entre un intermediario amidoacetal carboxilato y un derivado de fenetil o bencilamina formando la respectiva amida. La formación de la amida procedió previa activación del derivado de ácido

carboxílico con DIC y el aditivo HOBt, en presencia de una base como DIPEA. Como se comentó en el apartado 6.1.1.1.2, la utilización de DIC como agente activante genera DIPU como producto colateral, soluble en algunos solventes orgánicos en los cuales el derivado diamidoacetal también es soluble (DCM, EtOH, AcOEt). Buena parte de la DIPU fue eliminada por filtraciones sucesivas, precipitando la misma con una mezcla C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM, con un alto porcentaje de C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>. Se sintetizaron 9 intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina (Tabla 1.15).

**Tabla 1.15** Síntesis de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina, 1.61 a 1.67, 1.70 y 1.71.



Reac.	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Relación molar					T (h)	R (%)
					FEA <sup>a</sup>	Acido	DIC	HOBt	DIPEA		
719	H(n:1)	<i>p</i> CH <sub>3</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1.0	1.1	1.2	1.2	—	48	48 <sup>b</sup>
756 <sup>d</sup>	H(n:1)	Chx	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1.1	1.1	1.0	1.1	—	49	100 <sup>c</sup>
953	H(n:1)	Chx	H	H	1.0	1.2	1.2	1.2	1.2	25	77 <sup>b</sup>
983	H(n:1)	<i>p</i> CH <sub>3</sub> Ph	H	H	1.0	1.0	2.0	1.0	1.0	22	33 <sup>b</sup>
985	H(n:1)	<i>p</i> ClPh	H	H	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	22	32 <sup>b</sup>
989	H(n:1)	Chx	OCH <sub>2</sub> O		1.1	1.0	1.0	1.0	1.9	43	28 <sup>b</sup>
1035	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	H	H	1.1	1.0	1.0	1.0	2.5	46	54 <sup>b</sup>
1040	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1.1	1.0	1.0	1.0	2.8	42	96 <sup>c</sup>
1082 <sup>e</sup>	H(n:1)	Chx	Cl	H	2.0	1.0	1.0	1.0	2.0	45	81 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>FEA: Derivados de FenEtilAmina. <sup>b</sup>Rendimiento producto purificado. <sup>c</sup>Rendimiento crudo de reacción. <sup>d</sup>26 °C. <sup>e</sup>En R1082 se utilizó 2,3-diclorofenetilamina, por razones de espacio no se indicó de manera adecuada los sustituyentes en la tabla.

En la síntesis de péptidos, los acoplamientos son realizados con relaciones molares entre el aminoácido protegido en el grupo amino y la carbodiimida de 2:1 o 1:1. Si se utiliza la primera relación molar y se permite que la mezcla alcance el equilibrio, se formará el anhídrido simétrico, el cual es adicionado al aminoácido con el grupo amino libre. En cuanto a la segunda relación molar, es decir, 1:1, se ha argumentado que el anhídrido simétrico todavía se formaría porque el grupo carboxílico del aminoácido *N*-protegido reaccionará más rápidamente con la *O*-acilisourea que con la carbodiimida. Por otro lado, el solvente juega un rol importante en la estabilidad del intermediario *O*-acilisourea siendo favorecido en solventes tal como  $\text{CHCl}_3$  o DCM (116).

En base al comentario anterior, lo conveniente hubiera sido utilizar un exceso molar del derivado de ácido carboxílico (apartado 6.1.1.1.3). Sin embargo, la síntesis de todos los intermediarios fue realizada con una relación molar entre el ácido carboxílico y DIC de 1:1 (en la mayoría de los casos, excepto en R983). Utilizar un exceso molar del ácido carboxílico que había sido obtenido a partir de 3 pasos de síntesis y no poder recuperarlo, no resultaba conveniente. Es por ello que se decidió utilizar esta relación molar entre el agente acoplante y el ácido carboxílico. Los rendimientos obtenidos fueron muy variables (Tabla 1.15). En algunos casos, se decidió no purificar el crudo de reacción (Ej. R756 o R1040) debido a que la CCF reveló un producto bastante puro. Sin embargo, después de algunos días solidificaba algo de DIPU en los productos, a pesar de haber eliminado la mayoría por filtraciones sucesivas, tal como se había descrito anteriormente. En otros casos, donde el intermediario

fue purificado (Ej. R953 y R983) todavía parecía quedar restos de DIPU. Es importante resaltar el hecho que los R<sub>f</sub> del intermediario y del derivado de urea son muy cercanos, por lo que la eliminación completa de la urea no fue posible. Por lo tanto, los rendimientos de los derivados diamidoacetal podrían ser algo menores a los reportados. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de todos los derivados sintetizados mostraron señales correspondientes a DIPU, en algunos casos con intensidad considerable. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **1.61** (R953) por ejemplo, indicó que había ocurrido la reacción de condensación entre la FEA y el derivado **1.57** observándose a campo bajo, entre 7.18 ppm y 7.27 ppm, las señales del grupo fenilo y a campo alto, entre 1.10-1.89 ppm, las señales debidas al grupo ciclohexilo correspondientes a los protones H-3', H-4' y H-5'. También, se observan señales duplicadas debido a la presencia de rotámeros, tal como la del proton H-2' (Espectro 1.61).

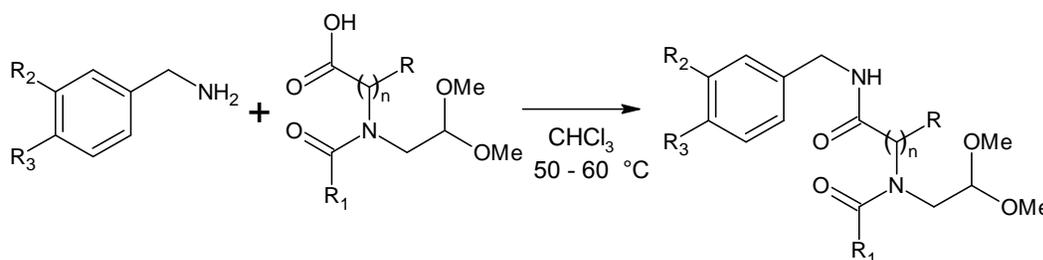
El inconveniente creado por DIPU puede ser superado con la utilización de un agente acoplante soluble en agua y en solventes orgánicos tal como el clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC), cuyo derivado de urea es soluble en agua, lo que permitiría la purificación del producto de forma más eficiente.

Es importante mencionar, que antes de sintetizar esta clase de intermediarios por el método descrito anteriormente, se intentó la formación de los mismos mediante una reacción intermolecular entre la 3,4-dimetoxifenetilamina y el derivado **1.51**, como reactantes de prueba, sin éxito, ensayándose varias condiciones de reacción tales como: 1) Reflujo de los

reactantes en Tol por 24 h 2) Se empleo radiación de microondas<sup>10</sup>, utilizando 220 y 550 vatios de potencia de forma intermitente 3) Reflujo de los reactantes en MeCN en un exceso molar de HOAc (99%).

Además de la síntesis de los intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina, se sintetizaron 5 intermediarios derivados de bencilamina. Los rendimientos se ubicaron por encima del 50% (Tabla 1.16).

**Tabla 1.16** Síntesis de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de bencilamina, 1.68 y 1.69, 1.72 a 1.74.



Reac.	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Relación molar					T (h)	R (%)
					DBA <sup>a</sup>	Acido	DIC	HOBt	DIPEA		
976	H(n:1)	Chx	H	OCH <sub>3</sub>	1.1	1.0	1.0	1.0	1.3	23 <sup>f</sup>	66 <sup>c</sup>
1036	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	H	H	1.3	1.0	1.0	1.1	2.1	47 <sup>d</sup>	93 <sup>b</sup>
1065	H(n:2)	Chx	H	Cl	1.3	1.0	1.0	1.1	2.1	42 <sup>d</sup>	83 <sup>b</sup>
1066	H(n:2)	Chx	H	H	1.2	1.0	1.0	1.0	2.1	42 <sup>d</sup>	63 <sup>b</sup>
974	H(n:1)	Chx	H	H	1.1	1.0	1.0	1.0	1.1	22 <sup>e</sup>	50 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>DBA: Derivados de BencilAmina. <sup>b</sup>Rendimiento producto purificado. <sup>c</sup>Rendimiento crudo de reacción. <sup>d</sup>Se agitó por 24 h a 26°C y luego entre 50-60 °C por 18 h. <sup>e</sup>Se agitó por 14 h a 26°C y luego entre 50-60 °C por 26 h. <sup>f</sup>Calentamiento a 60°C.

Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de los intermediarios diamidoacetal resultaron ser muy complejos, ya que se observan una gran cantidad de señales (en su mayoría multipletes) casi todas duplicadas. Se pensó en la

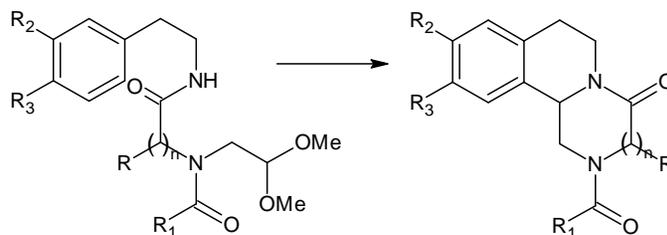
<sup>10</sup>Microondas doméstico, marca Welbit, modelo MR622W.

presencia de al menos dos rotámeros. Se llevaron a cabo distintos experimentos de RMN a temperatura ambiente y a 50 °C en  $\text{CDCl}_3$  observándose en los espectros a ésta última temperatura, la ausencia o disminución de la intensidad de una de las señales de cada par, confirmando lo expuesto anteriormente (Espectros 1.69).

**6.1.1.1.5 Ciclación de los intermediarios del tipo diamidoacetal.** Por último, una reacción de Pictet-Spengler en medio ácido, de los intermediarios diamidoacetal derivados de fenetilamina, sintetizados en el apartado 6.1.1.1.4, originó en la mayoría de los casos, el núcleo pirazinoisoquinolínico con rendimientos moderados (Tabla 1.17).

La primera condición probada es la mostrada en R708, donde el derivado **1.62** (R756, Tabla 1.15) fue tratado con una solución de HCl 3N a 100 °C por 17 h. Se aisló un aceite junto con un sólido que no fue posible purificar debido a la poca cantidad recuperada. Al comparar los espectros de IR del producto de partida **1.62** y el crudo de reacción de R708, la diferencia más notable está en la frecuencia de estiramiento del enlace carbonílico: El primero en  $1662\text{ cm}^{-1}$  y el segundo en  $1636\text{ cm}^{-1}$ . También, al comparar las zonas de los espectros por encima de  $2800\text{ cm}^{-1}$ , estas son muy diferentes. No es clara la presencia de las señales correspondientes a la frecuencia de deformación del enlace C-O del grupo acetal.

**Tabla 1.17** Ciclación de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de fenetilamina.



Reac.	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Relación molar		Solvente	T (°C)	Tiem. (h)	R <sup>c</sup> (%)
					DAA <sup>a</sup>	Acido <sup>b</sup>				
708	H(n:1)	Chx	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1	HCl 3N <sub>exc</sub>	HCl 3N	100	17.0	—
725	H(n:1)	<i>p</i> CH <sub>3</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1	TFA <sub>exc</sub>	HOAc	70	7.0	59
757	H(n:1)	Chx	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1	TFA <sub>exc</sub>	HOAc	75	7.0	41
760	H(n:1)	Chx	H	H	1	TFA <sub>exc</sub>	HOAc	75	7.0	—
810	H(n:1)	Chx	H	H	1	PTSA <sub>anh</sub>	CHCl <sub>3</sub>	69	5.0	—
801	H(n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	1.0	—
802	H(n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	3.0	31
960	H(n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	3.3	47
965	H(n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	4.0	33
1009	H(n:1)	<i>p</i> ClPh	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	3.8	52
1015	H(n:1)	<i>p</i> CH <sub>3</sub> Ph	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	3.8	32
1044	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	3.8	40
1049	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1	TFA <sub>exc</sub>	HOAc	75	5.0	43
1052	H(n:1)	Chx	OCH <sub>2</sub> O		1	TFA <sub>exc</sub>	HOAc	75	5.0	47
1084	H(n:1)	Chx	Cl	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	4.0	22

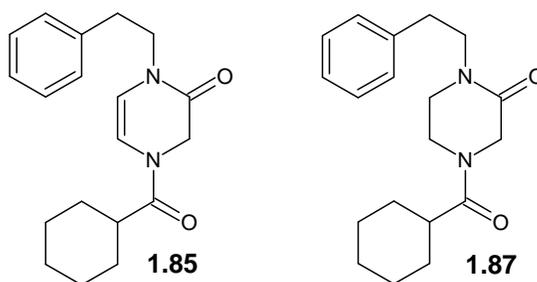
<sup>a</sup>DAA: Diamido acetal. <sup>b</sup>Se utilizó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97)% (Fluka). <sup>c</sup>Producto purificado.

En base a lo anterior, no fue posible concluir si el intermediario diamidoacetal había ciclizado debido también a la poca cantidad recuperada del crudo de reacción. Se pensó en una posible hidrólisis del derivado **1.62** o del producto de la ciclación. Esta condición de reacción no fue ensayada nuevamente.

En la búsqueda de otras condiciones de reacción, las utilizadas en R725 permitieron la ciclación **1.67** obteniéndose el compuesto **1.83** empleando una mezcla de TFA (99%) y HOAc (99%), en una proporción 1:1.6, y calentando la mezcla de reacción a 70 °C por 7 h. Una vez que el crudo de reacción fue purificado, se aisló un aceite de color rosa claro, con tendencia a solidificar, con un 60% de rendimiento. El espectro de IR mostró una señal intensa con una frecuencia de estiramiento en 1644 cm<sup>-1</sup> debida al enlace carbonílico tipo amida. Esta señal del espectro de IR es muy similar en frecuencia e intensidad a la observada en el espectro de IR del PZQ comercial. Por otro lado, una vez que el intermediario es ciclado y bajo las condiciones de reacción utilizadas se esperaría una mezcla de enantiómeros, en principio racémica. Los espectros de RMN (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT-135 y HETCOR) son complejos debido a la mezcla de enantiómeros y rotámeros del grupo *p*-metilbenzoílo. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H fue tomado primero en CDCl<sub>3</sub> y luego en acetona-*d*<sub>6</sub>. Este cambio de solvente ayudó a resolver algunas señales entre 2-4 ppm. También, el EM mostró una señal con una relación m/z de 379 una coincidiendo con el peso molecular esperado.

Las condiciones de reacción utilizadas en R725 fueron empleadas en la obtención del derivado **1.82** (R757). Después de la purificación, se aisló un aceite amarillo denso con un rendimiento del 41%. El espectro de IR del derivado **1.82** mostró una señal intensa debida al enlace carbonílico en 1645 cm<sup>-1</sup>. En cuanto a los espectros de RMN (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y COSY) mostraron las señales esperadas.

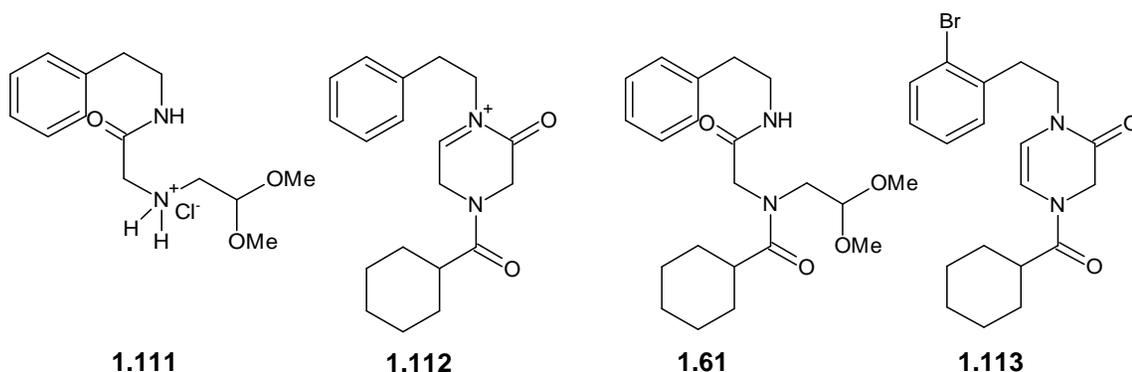
En R760, se intentó la ciclación del intermediario diamidoacetal **1.61** bajo las condiciones utilizadas en R725 para obtener **1.83**. Una vez que el crudo de reacción fue purificado, se aisló un sólido color crema claro. En el espectro de IR de este producto se observó una señal intensa en  $1656\text{ cm}^{-1}$ . Al compararlo con el espectro de IR del PZQ comercial, estos son diferentes. En R810, el derivado **1.61** fue tratado con APTS, obteniéndose el mismo producto aislado en R760. El análisis de los espectros de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  indicó que se trataba de la enamida 4-(ciclohexilcarbonyl)-1-(2-feniletíl)-3,4-dihidropirazin-2(1*H*)-ona, **1.85** (Figura 1.12). En el espectro de RMN- $^1\text{H}$ , las señales más características para este compuesto son un par de dobletes en 5.35 ppm y 6.09 ppm, con una *J* de 5.94 Hz, debidos a los protones sobre el doble enlace presente en la enamida. La enamida **1.85** fue sometida a hidrogenación catalítica obteniendo el compuesto **1.87** con buen rendimiento (Figura 1.12), confirmando la obtención del producto **1.85**. En el espectro de RMN- $^1\text{H}$  del compuesto **1.87** se observa claramente la ausencia de las señales debidas a la olefina y la presencia de un multiplete entre 3.52 y 3.66 ppm.



**Figura 1.12** Estructuras de la 4-(ciclohexilcarbonyl)-1-(2-feniletíl)-3,4-dihidropirazin-2(1*H*)-ona, **1.85** y de la 4-(ciclohexilcarbonyl)-1-(2-feniletíl)piperazin-2-ona **1.87**.

Kim et al (70) reportaron la ciclación de un intermediario similar a **1.61**, el clorhidrato de un derivado aminoamidoacetal **1.111** (Figura 1.13), empleando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, siendo la reacción realizada a 5 °C durante la adición del ácido y posterior agitación a temperatura ambiente por 3.5 h, obteniéndose el compuesto denominado Praziquanamina **1.89**. A diferencia del anterior, los intermediarios ciclados en esta tesis tienen el nitrógeno acilado.

En otro trabajo reportado por Kim et al (73), encontraron que el tratamiento del intermediario **1.61** con ácido metanosulfónico en DCM a temperatura ambiente por 3 h, condujo a la obtención de la enamida **1.85** con un 95% de rendimiento. Luego, al tratar esta enamida con ácido metanosulfónico calentado a reflujo en dicloroetano por 6 h, se obtenía el producto ciclado, es decir, el PZQ con 85% de rendimiento, lo que indicaría que, para obtener el producto ciclado, se pasaría a través de un intermediario del tipo ión *N*-aciliminio **1.112**.



**Figura 1.13.** Comparación de los intermediarios sintetizados por Kim et al **1.111**, en esta tesis **1.61**, por Todd et al **1.113** y el intermediario del tipo ión *N*-aciliminio **1.112**.

Sin embargo, Cao et al (71) al tratar el diamidoacetal **1.61** bajo una de las condiciones reportadas por Kim et al, en cuanto al ácido y al solvente utilizado pero refluendo toda la noche, encontraron que únicamente “trazas” de PZQ fueron obtenidas, además de que la mayoría del material de partida sufrió descomposición. Al repetir el ensayo, bajo las mismas condiciones anteriores, pero refluendo la reacción por 6 h, aislaron el PZQ con un rendimiento del 37%.

Por otro lado, Todd et al (72) sintetizaron el PZQ a través de una reacción de ciclación iniciada por radicales libres del intermediario 1-[2-(2-bromofenil)etil]-4-(ciclohexanocarbonil)-3,4-dihidropirazin-2(1*H*)-ona **1.113** (Figura 1.13) empleando hidruro de tributilestaño ( $\text{Bu}_3\text{SnH}$ ) y 2,2'-azo *bis*isobutironitrilo (AIBN) en Tol bajo reflujo obteniéndose el PZQ con un 90% de rendimiento y con una relación de rotámeros aproximada de 1:3.

Se probaron las condiciones reportadas por Kim et al (70),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, en R801. El intermediario **1.61** fue tratado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) por 1 h en vez de 3.5 h como lo reporta la publicación. El crudo de reacción recuperado mostró un espectro de IR similar al producto de partida. Este crudo de reacción fue tratado nuevamente con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) por 3 h, R802. De ésta reacción fue aislado un aceite muy denso. El producto fue purificado por CCP (1% de MeOH en DCM) obteniéndose nuevamente un aceite. El rendimiento fue del 31%. La CCF mostró un producto mayoritario junto con algunas impurezas. En la CCF se utilizó como patrón de comparación, PZQ comercial purificado, mostrando éste un *Rf* igual al producto sintetizado, además, revelando igual en iodo y luz UV. El espectro de IR mostró ser igual al espectro de IR del PZQ

comercial. Debido a la poca cantidad aislada y a que el producto no estaba muy puro no fue caracterizado por RMN. Sin embargo, había suficientes evidencias para pensar que el producto obtenido era el PZQ.

En R960, nuevamente el intermediario **1.61** fue tratado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%) por 3.3 h. Se aisló un aceite muy denso que fue purificado por CCP (1.5% de MeOH en DCM). El espectro de IR mostró ser similar al del PZQ comercial, sin embargo, se observaron diferencias bien significativas, como la frecuencia de estiramiento del enlace carbonílico (1651 cm<sup>-1</sup> para el producto obtenido en R960 y 1644 cm<sup>-1</sup> para el PZQ comercial) entre otras. La elucidación de la estructura de este compuesto mediante RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C fue difícil, no pudiendo asignar la mayoría de las señales en el espectro (Espectro 1.1A). Este espectro de RMN se comparó con el del PZQ comercial siendo diferentes. Lo que si está claro es la ausencia de los singletes correspondientes a los metilos del grupo acetal, lo que haría pensar que el producto habría ciclado. El EM mostró una señal con una relación m/z en 312 uma, que coincide con el peso molecular del producto ciclado esperado (NOTA: El producto aislado en R960 se denominará compuesto **1.1A**)

Con los datos espectroscópicos recopilados hasta el momento, era muy difícil confirmar que se había obtenido el PZQ. Se pensó que se requería mayor tiempo de ciclación. Es por ello que el producto obtenido de R960, fue tratado nuevamente con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%) por 4 h (R965). Se aisló un aceite denso que fue purificado por CCP (2% de MeOH en DCM), aislándose un aceite de color rosa claro con tendencia a solidificar con un rendimiento del 33%. Al

comparar los espectros de IR y de RMN ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) del producto obtenido en R965 y del PZQ comercial se encontró que eran iguales. También, el peso molecular observado en el EM del producto de R965 coincide con el peso molecular esperado. Hay que recordar que el PZQ presenta un carbono asimétrico, el átomo C11b. Sin embargo, el espectro de RMN- $^1\text{H}$  no permite visualizar la presencia de una mezcla racémica. Dicho espectro es bastante complejo. Los protones sobre los C1, C3 y C6, principalmente, muestran diferentes desplazamientos químicos dependiendo de si se encuentran bajo el plano de la molécula (protones **a**) o sobre él (protones **b**). También, debido a la cantidad de acoplamientos geminales y vecinales observados para dichos protones. De todas maneras fue posible asignar todas las señales observadas y corroborar algunas asignaciones con la ayuda del DEPT-135 y COSY (Espectro 1.1). En la Tablas 1.18A y 1.18B se muestran los desplazamientos químicos de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para el PZQ reportados en la literatura. En la mayoría de los casos, no se hace mención a la estereoquímica del PZQ.

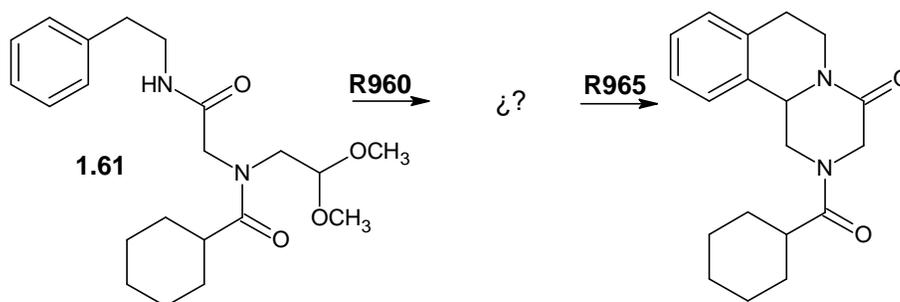
**Tabla 1.18A** Datos de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de PZQ reportados en la literatura.

Referencia	$\delta$ (ppm)
Yuste et al (76)	<p><b>RMN-<math>^1\text{H}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b> 1.0-2.05 (10H, m, Chx), 2.20-3.15 (5H, m CHCON, H-6, H-1, H-7 y H-7'), 4.0 (1H, d, <math>J = 18</math> Hz, H-3), 4.45 (1H, d, <math>J = 18</math> Hz, H-3'), 4.50-4.95 (2H, m, H1' y H-11b), 5.10 (1H, d, <math>J = 15</math> Hz, H-6'), 7.22 (4H, s, aromáticos).</p> <p><b>RMN-<math>^{13}\text{C}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>):</b> 25.76(t), 28.81(t, C7), 29.29 (t), 39.04 (t, C6), 40.80 (d), 45.40 (t, C1), 48.94 (t, C3), 55.19 (d, C11b), 125.39 (d, C10), 126.96 (d, C9), 127.50 (d, C11), 129.35 (d, C8), 132.84 (s, C11a), 135.01 (s, C7a), 164.53 (d, CON, Chx), 174.56 (d, CON, C4).</p>

**Tabla 1.18B** Datos de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de PZQ reportados en la literatura.

Referencia	δ (ppm)
Kim et al (70)	<p><b>RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>):</b> 1.24-1.79 (10H, m, Chx), 2.45 (1H, m, CHCON), 2.74-2.97 (4H, m, H1, H-6, 2 x H-7), 4.06 (1H, d, J = 16.5 Hz, H-3), 4.45 (1H, d, J = 16.5 Hz, H-3)', 4.76-4.81 (2H, m, H-1' y H-11b), 5.15 (1H, dd, J = 13.4, 2.8 Hz, H-6'), 7.16-7.27 (4H, m, aromáticos).</p> <p><b>RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):</b> 25.75, 28.77, 29.04, 29.26, 39.12, 40.82, 45.21, 49.06, 54.98, 125.46, 127.46, 129.30, 132.83, 134.79, 164.41, 174.76.</p>
Todd et al (72)	<p><b>RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>):</b> 1.26 (m,3), 1.52 (m, 2), 1.76 (m, 5), 2.44 (m) (total 1), 2.55 (m), 2.85 (m) (total 4), 3.23 (t, J = 12.0 Hz), 3.83 (d, J = 18.5 Hz) (total 1), 4.06 (d, J = 17.5 Hz), 4.35 (d, J = 12.5 Hz, (total 1), 4.45 (d, J = 17.5 Hz), 4.79 (m, 2), 5.14 (1H, dd, J = 13.5, 2.5 Hz), 7.22 (m,4). Relación de rotámeros 1:3.</p> <p><b>RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>):</b> 25.7, 28.7, 28.9, 29.2, 39.0, 40.7, 45.1, 49.0, 54.9, 125.4, 126.9, 127.4, 129.2, 132.7, 134.7, 164.3, 174.7.</p>

Si el producto obtenido en R965, a partir del tratamiento, por segunda vez, del producto obtenido en R960 con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, resultó ser el PZQ 1.1, la pregunta sería ¿**Qué se obtuvo en R960?** (Figura 1.14).



**Figura 1.14** Secuencia de reacciones en la obtención del PZQ.

Ya que los enantiómeros difieren en su interacción con el plano de luz polarizada, se midió la rotación óptica<sup>11</sup> ( $\alpha$ ) de los compuestos obtenidos de la

<sup>11</sup>Se utilizó un polarímetro Perkin-Elmer 341, C<sub>960</sub> = 4 mg/mL y C<sub>965</sub> = 5 mg/mL, longitud de la celda (l) = 1 cm.

purificación de R960 y R965, en EtOH a 26°C, utilizando la línea del sodio (589 nm), encontrándose lo siguiente: Los valores de  $\alpha$  para los compuestos son diferentes en magnitud y en signo (R960  $\alpha = +2$  y R965  $\alpha = -5$ ). De este resultado, lo que más llama la atención es el signo de  $\alpha$ . Una mezcla racémica o racemato contiene proporciones iguales de ambos enantiómeros (50% enantiómero levo y 50% del dextro). Es decir, que si se determina la rotación específica del racemato, ésta será cero, ya que los valores de  $\alpha$  serán de igual magnitud pero de signo contrario. Entonces, en base al comentario anterior, existen evidencias de que no se obtuvo una mezcla racémica, sino más bien un exceso enantiomérico de uno los enantiómeros en cada reacción.

Por otro lado, cuando se evaluó la actividad biológica *in vitro* de los productos obtenidos en R960 (compuesto **1.1A**) y R965 (PZQ **1.1**) contra esquistosomas del parásito *S. mansoni*, se encontró que el primero no mostró ninguna actividad mientras que para el segundo, el comportamiento fue igual al PZQ comercial, inclusive mejor, matando los esquistosomas rápidamente. El PZQ comercial es administrado como mezcla racémica siendo el *R*-enantiómero (levo) el biológicamente activo. Es decir, que si el producto de R960, **1.1A**, no mostró ningún efecto sobre el parásito, se pudiera pensar que se obtuvo únicamente el *S*-enantiómero (dextro), o un exceso de éste.

Es importante resaltar, el hecho, de que el intermediario **1.61** está acilado y esto pudiera favorecer la ciclación para obtener un determinado enantiómero. La “primera ciclación”, R960, daría origen al *S*-enantiómero (*S*-PZQ) en mayor

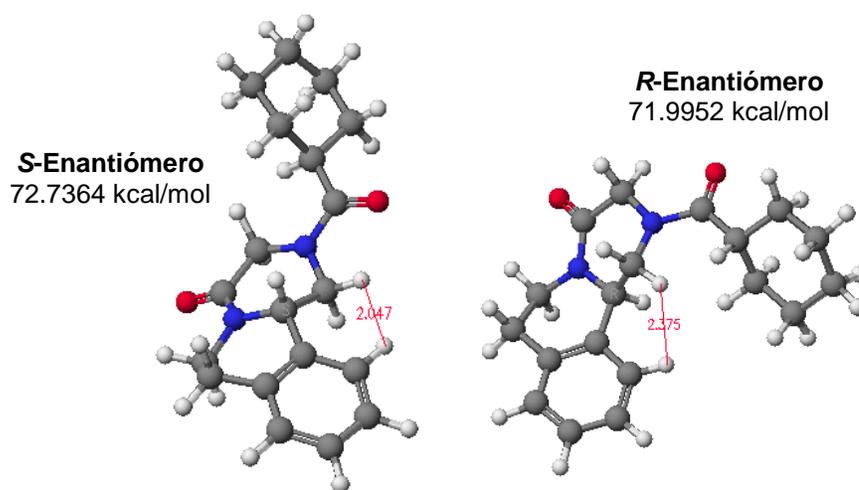
proporción. Luego, en la “segunda ciclación”, R965, se formaría el *R*-enantiómero (*R*-PZQ) en mayor proporción. Ahora bien, **¿Cómo se puede explicar este resultado?**

Para poder explicar este resultado, se recurrió a los modelos computacionales de los enantiómeros *R* y *S* del PZQ, utilizando para ello el programa *CAChe 6.01* (Fujitsu Limited). El *R*-PZQ se encuentra co-cristalizado con la proteína Glutathion S-Transferasa (GST) de *S. japonicum*, depositada en el Banco de Datos de Proteínas. El *S*-PZQ fue construido a partir del *R*-PZQ únicamente invirtiendo el centro quiral. La geometría de ambas estructuras fue optimizada empleando MM: a) Campo de fuerza: MM3 aumentado b) Algoritmo de minimización: gradiente conjugado y Block diagonal c) Convergencia: 0.001 kcal/mol.

Una vez que fueron optimizadas las distancias y ángulos de enlace, se realizó una DM a cada uno de los enantiómero bajo las siguientes condiciones: a) Tiempo equilibrio: 5 picosegundos (ps) b) Tiempo de la DM: 20 ps c) Tiempo del paso: 0.001 ps y d) Temperatura (K): 300.

En base al conjunto de resultados experimentales y computacionales se infiere lo siguiente: A) En el *S*-PZQ (inactivo biológicamente), con el protón H-11b hacia arriba, obtenido como producto de la primera ciclación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, R960, la mayor repulsión se observa entre el protón H-11 y uno de los protones sobre el C-1, el H-1b, siendo la distancia entre ambos de 2.047 Å. En el *R*-PZQ, la distancia entre el protón H-11 y el protón más cercano a él, H-1a, es

mayor, siendo de 2.375 Å, sugiriendo menor impedimento estérico. Por otro lado, al comparar las energías entre ambos enantiómeros, esta diferencia de energía puede ser suficiente para dirigir un cambio de configuración (Figura 1.15).

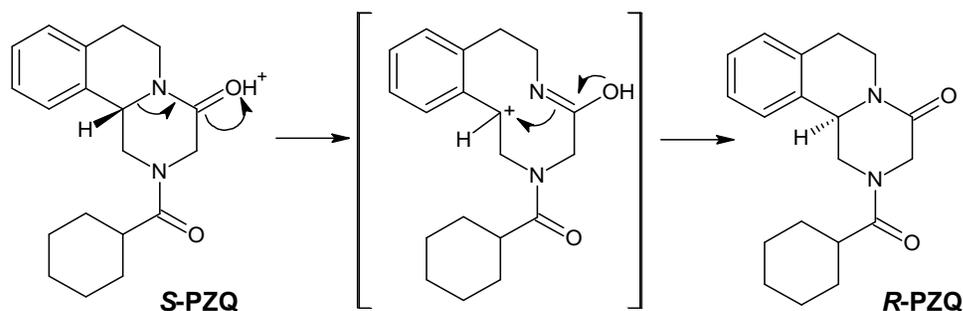


**Figura 1.15** Análisis estructural de los enantiómeros S-PZQ y R-PZQ.

El hecho de que se obtenga en la primera ciclación el S-PZQ (*dextro*), se explicaría por la necesidad de pasar por un estado de transición con menos repulsiones entre otros átomos de la molécula.

Ahora bien, cuando el producto de la primera ciclación es tratado nuevamente con  $H_2SO_4$ , se protona el oxígeno del C-4, se desplaza el doble enlace hacia el oxígeno protonado, se abre el enlace C-11b-N-5 y se forma un doble enlace entre N-5 y C-4, creando un ión carbonio bencílico en C-11b, estable, más aún en este medio. Los enlaces de este carbono se acercarían a la planaridad y cuando el enlace C-11b-N-5 se forma de nuevo, se obtendría el

producto con menor repulsión estérica, el *R*-PZQ (levo), activo, con el H-11b hacia abajo. El mecanismo propuesto se muestra en la Figura 1.16.



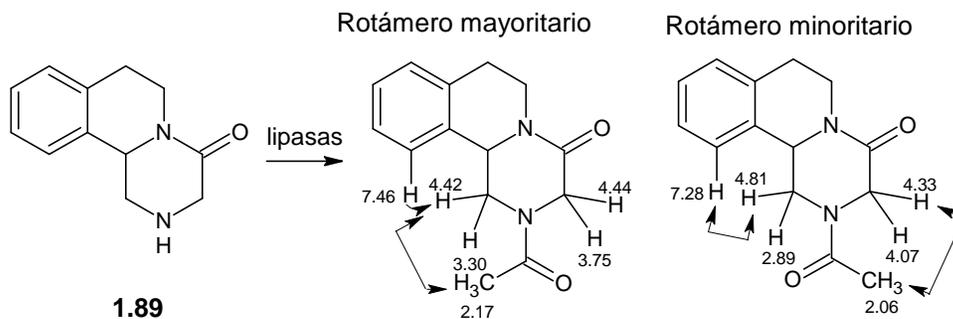
**Figura 1.16** Mecanismo propuesto para la inversión de configuración del enantiómero *S*-PZQ al *R*-PZQ.

Para tratar de confirmar el mecanismo propuesto, el PZQ comercial fue tratado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (95-97%) bajo las mismas condiciones de reacción anteriormente mencionadas. Una vez aislado el crudo de reacción, éste fue purificado por CCP (2% de MeOH en DCM). El espectro de IR de este producto mostró ser igual al producto de partida. Sin embargo, cuando se midió la rotación óptica de ambos productos, resultó que para el PZQ comercial, no tratado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , el valor de  $\alpha$  fue cero, lo que es de esperarse para una mezcla racémica, mientras que el PZQ comercial, tratado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , dio un valor de  $\alpha$  de -0.2. Nuevamente, lo interesante del valor de  $\alpha$  es su signo, lo que indicaría que existe un exceso del enantiómero *R*, biológicamente activo.

En cuanto al resto de los derivados y análogos de PZQ derivados de fenetilamina (Tabla 1.17), fueron ciclados empleando en algunos casos TFA (R1049 **1.84** y R1052 **1.81**) y en otros  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (R1009 **1.76**, R1015 **1.75**, R1044

**1.78**, R1084 **1.80**). En casos con sustituyentes dadores de electrones (dimetoxi y metilendioxi), en el anillo aromático, estos ciclaron utilizando TFA sin dificultad. Por el contrario, en los casos en los cuales no había sustituyentes en el anillo aromático fue necesario utilizar H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para obtener el producto ciclado. La estructura de todos los compuestos fue confirmada por las técnicas espectroscópicas de IR, RMN-1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT-135), RMN-2D (COSY y HMQC) y EM.

Es común observar tanto en los espectros de RMN-<sup>1</sup>H como de RMN-<sup>13</sup>C de los derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis, señales duplicadas. Lo observado en estos espectros coincide con lo reportado por Laurent et al (48). Ellos intentaron la resolución cinética de **1.89** (Figura 1.17) por una reacción de acilación enzimática con diferentes lipasas y diferentes agentes acilantes en una variedad de solventes. En todos los casos, los agentes acilantes utilizados dieron una mezcla racémica de acilpraziquanamina. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H de uno de los derivados de acilpraziquanamina (Figura 1.17) mostró dos rotámeros, debido a la lenta rotación del enlace amida a temperatura ambiente. En DMSO-*d*<sub>6</sub>, se observaron dos singletes en 2.06 y 2.17 ppm asignados al grupo metilo del acetilo del rotámero minoritario y mayoritario respectivamente. Cuando el espectro de RMN fue registrado a 313 K, se observó unión de los singletes. En base a estos antecedentes, es de esperar que en los espectros de RMN de los compuestos sintetizados en esta tesis, se observen señales para dos rotámeros.

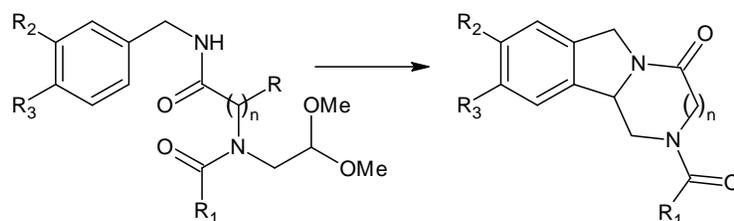


**Figura 1.17** Acetilación de praziquanamina **1.89** con lipasas. Fuerte Efecto Nuclear Overhauser (NOE) (2-3 Å) de los dos rotámeros de acetilpraziquanamina reportados por Laurent et al (48).

En cuanto a R1084, se pensó que se había obtenido el correspondiente derivado diclorado en las posiciones 8 y 9 del PZQ, a partir de la ciclación con  $H_2SO_4$  del intermediario diamidoacetal correspondiente. El espectro de RMN- $^1H$  mostró que el patrón de acoplamiento entre los protones aromáticos correspondía a la presencia de un átomo de Cl en posición 9 en el anillo aromático y no a dos átomos de Cl en los carbonos 8 y 9. Esto sugirió que durante la síntesis de la 2,3-diclorofenetilamina (apartado 6.1.3.3) obtenida a partir de la hidrogenación catalítica del 2,3-diclorofenilnitro, la posición 2 del anillo aromático fue hidrogenada con desplazamiento del átomo de Cl. El espectro de RMN- $^1H$  de este derivado de fenetilamina no fue muy clarificador al respecto.

En cuanto a la ciclación de los intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de bencilamina, solo fue posible sintetizar 2 de ellos bajo las condiciones mostradas en R988 (**1.77**) y R1047 (**1.79**) (Tabla 1.19).

**Tabla 1.19** Ciclación de intermediarios del tipo diamidoacetal derivados de bencilamina.



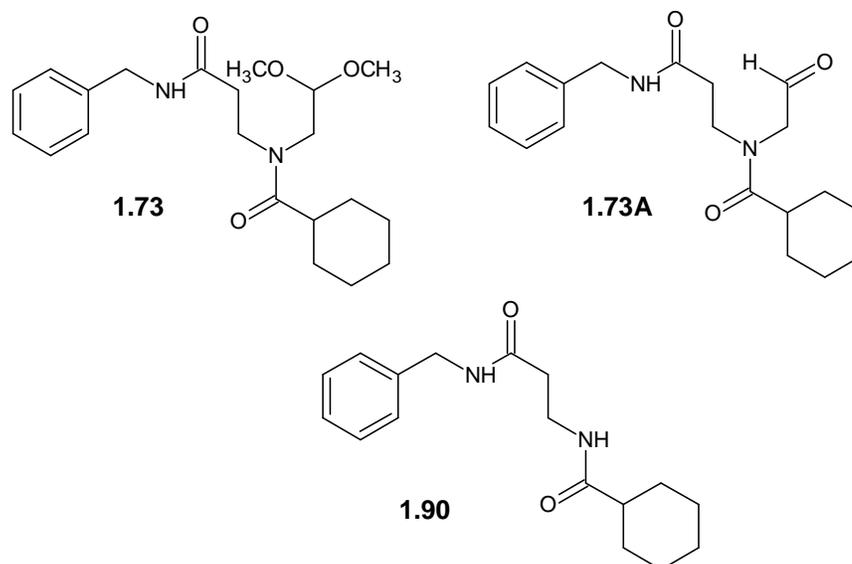
Reac.	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Relación molar		Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R <sup>c</sup> (%)
					DAA <sup>a</sup>	Acido <sup>b</sup>				
<b>988</b>	H(n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	6	49
<b>1047</b>	CH <sub>3</sub> (n:1)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	4	31
<b>1067A</b>	H(n:2)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	4	—
<b>1067B</b>	H(n:2)	Chx	H	H	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	45-60	4	—
<b>1068</b>	H(n:2)	Chx	H	Cl	1	H <sub>2</sub> SO <sub>4 exc</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0 → 26	4	—

<sup>a</sup>DAA: Diamido acetal. <sup>b</sup>Se utilizó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97)% (Fluka). <sup>c</sup>Producto purificado.

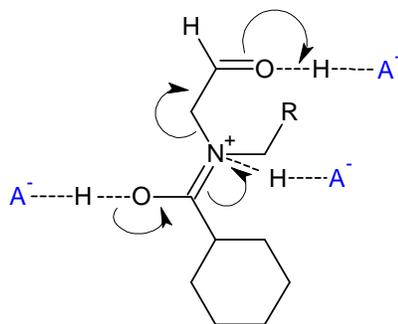
Ambas estructuras fueron caracterizadas por las técnicas espectroscópicas adecuadas (IR, RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y EM). En el caso de R1047, se esperaría una mezcla de diastereoisómeros debida a la presencia de dos carbonos asimétricos C11b y C3. Sin embargo, en esta tesis no se separaron los diastereoisómeros y las asignaciones de RMN se realizaron sobre las mezclas. Esta misma situación se presentó en los productos obtenidos de las reacciones R1044 y R1049 (Tabla 1.17).

En cuanto a la reacción R1067A (Tabla 1.19), el tratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> del intermediario diamidoacetal **1.73** no originó el producto ciclado esperado. A pesar de la complejidad del espectro de RMN-<sup>1</sup>H, fue claro un singlete en aproximadamente 10 ppm debido al protón del aldehído, indicando la

desprotección del acetal. No fue posible observar la presencia del acetal en el espectro debido a la gran cantidad de señales en esta zona del espectro, pero se sospechó que el producto formado era **1.73A**. En R1067B, el compuesto **1.73A** fue tratado nuevamente con  $H_2SO_4$  calentando la reacción entre 45 y 60 °C. Después de aislar y purificar el producto de reacción, el espectro de RMN- $^1H$  indicó claramente que el producto obtenido era el **1.90**.



El mecanismo de reacción sugerido para la obtención de **1.90** sería el mostrado en la Figura 1.18.



**Figura 1.18** Mecanismo propuesto para la obtención del derivado **1.90**.

Se ha reportado que la ciclación del ion *N*-aciliminio para formar anillos de 5 o 7 miembros no es posible (118). Bajo las condiciones empleadas fue posible formar un anillo de 5 miembros fusionado con otro, piperazino, de 6 miembros, pero formar anillos de 5 miembros en combinación con otro de 7 miembros, no fue posible. La misma situación observada en R1067B se presentó para R1068 donde no fue posible obtener el producto ciclado.

Para finalizar, es importante comentar, que cuando el intermediario diamidoacetal **1.68** derivado de bencilamina era tratado con TFA, el producto obtenido era la correspondiente enamida **1.86** (resultado similar al obtenido de tratar el intermediario diamidoacetal derivado de fenetilamina con TFA). La enamida **1.86** fue sometida a hidrogenación catalítica obteniéndose **1.88**.

### **6.1.2 Otra estrategia propuesta en la obtención del núcleo pirazinoisoquinolínico.**

Otra estrategia sintética planteada y ensayada fue la *Síntesis II* (Esquema 1.12). El primer paso de la síntesis era la obtención del núcleo tetrahidroisoquinolínico **1.114**, a partir de la reacción entre la fenetilamina y cloroacetaldehído dimetilacetal CADA, ensayándose varias condiciones de reacción. Ninguna de las condiciones de reacción probadas dio el producto deseado.

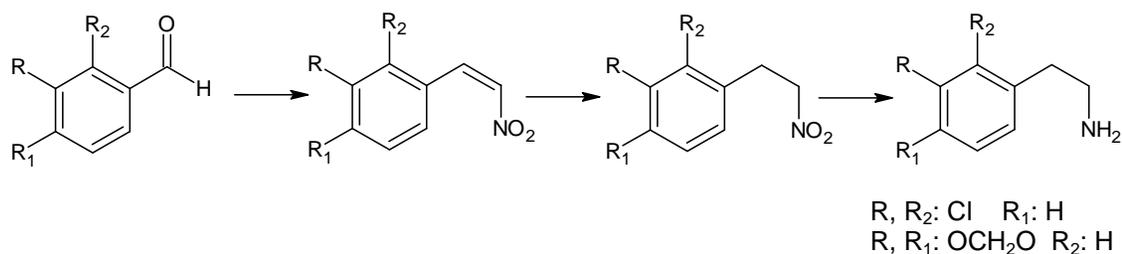
En un trabajo publicado por Lee et al (119), sintetizaron compuestos similares empleando derivados de sulfonamidas; ésto obligó a introducir una



Una vez formada la sulfonamida correspondiente, la formación del derivado 1-(bromometil)-2-[(4-metilfenil)sulfonyl]-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina **1.115** ocurrió sin dificultad con un rendimiento del 80%. El siguiente paso, que era el desplazamiento del ión bromuro por el grupo azido **1.116** presentó dificultades obteniéndose el producto con un rendimiento de tan solo un 13% y el cual no fue posible mejorar bajo las diversas condiciones de reacción ensayadas. Se ensayaron otras transformaciones sin éxito (Esquema 1.13). En un futuro, esta síntesis será retomada, ya que esta clase de intermediarios permite hacer una serie de variaciones estructurales interesantes.

### 6.1.3 Síntesis de derivados de fenetilaminas: 3,4-metilendioxi y 2,3-diclorofenetilamina.

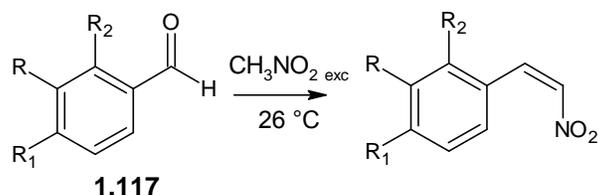
Con el propósito de ir sintetizando los distintos derivados y análogos de PZQ y en vista del alto costo de algunas fenetilaminas sustituidas, a excepción de la 3,4-dimetoxifenetilamina, se plantearon varias rutas de síntesis para la obtención de las mismas. En base a una serie de análisis retrosintéticos realizados, se consideró que la vía más conveniente es la mostrada en el Esquema 1.14.



**Esquema 1.14** Esquema sintético utilizado en la obtención derivados de fenetilamina.

**6.1.3.1 Paso 1. Síntesis de derivados de  $\beta$ -nitroestireno:** Los  $\beta$ -nitroestirenos fueron sintetizados con excelente rendimiento mediante la reacción de Henry, a partir de un benzaldehído sustituido **1.117** y nitrometano, en presencia de un catalizador ácido-base conformado por acetato de sodio (NaOAc) y clorhidrato de metilamina ( $\text{CH}_3\text{NH}_3^+\text{Cl}^-$ ); seguida por deshidratación del  $\beta$ -nitroalcohol resultante (Tabla 1.20), en base al trabajo reportado por Castedo et al (120). En todos los casos, se obtuvieron sólidos que fueron fácilmente purificados por recristalización y caracterizados por las técnicas espectroscópicas de IR, RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

**Tabla 1.20** Condiciones de reacción en la síntesis de derivados de  $\beta$ -nitroestireno, **1.91** y **1.92**.



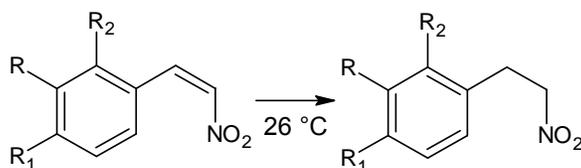
Reacción	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Relación molar			Tiempo (h)	R <sup>a</sup> (%)
				Aldehído	AcONa	$\text{CH}_3\text{NH}_3^+\text{Cl}^-$		
<b>879</b>	OCH <sub>2</sub> O	H	H	2.0	1.0	1.0	6	95
<b>902</b>	Cl	H	Cl	2.0	1.0	1.0	8	59

<sup>a</sup>Producto purificado.

**6.1.3.2 Paso 2. Síntesis de derivados del fenetilnitro:** Para la reducción de los  $\beta$ -nitroestirenos se probó la condición de reacción mostrada en Tabla 1.21 (121). Se utilizó como agente reductor borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ), sílica gel 60 para CC y una combinación de solventes apróticos y próticos tales como  $\text{CHCl}_3$  e IPA originando los correspondientes nitroalcanos

sin la formación de productos diméricos. La cantidad de sílica gel sugerida para suprimir la formación de los productos diméricos es de 2 g/mmol de  $\beta$ -nitroestireno. Los rendimientos obtenidos dependieron del tipo de sustitución en el anillo y del tiempo de reacción, siendo en la mayoría de los casos superior al 50%.

**Tabla 1.21** Condiciones de reacción en la síntesis de derivados del fenetilnitro, **1.93** y **1.94**.

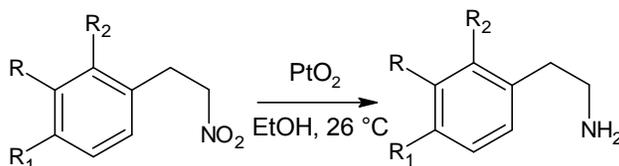


Reac.	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Relación molar			Solvente	Tiempo (h)	R <sup>b</sup> (%)
				$\beta$ -nitro	NaBH <sub>4</sub>	Sílica gel <sup>a</sup> (g/mmol)			
<b>970</b>	OCH <sub>2</sub> O	H	H	1.0	4.0	2.0	CHCl <sub>3</sub> /IPA	4	62
<b>903</b>	Cl	H	Cl	1.0	4.4	2.0	CHCl <sub>3</sub> /IPA	6	55

<sup>a</sup>Sílica gel 60 para CC: (0.06-0.2)mm / (70-230) mesh. <sup>b</sup>Producto purificado.

**6.1.3.3 Paso 3. Síntesis de derivados de fenetilamina:** Por último, se llevó a cabo la reducción del fenetilnitro al derivado de fenetilamina, empleando el catalizador de Adams (PtO<sub>2</sub>), siendo los rendimientos variables dependiendo del sustituyente (Tabla 1.22). Cada una de las estructuras sintetizadas fue verificada con las técnicas espectroscópicas adecuadas (IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C).

**Tabla 1.22** Condiciones de reacción en la síntesis de derivados de fenetilamina, **1.95** y **1.96**.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	PtO <sub>2</sub> <sup>a</sup> (%)	Presión (lp <sup>2</sup> )	Tiempo (h)	R (%)
<b>987</b>	OCH <sub>2</sub> O	H	H	10	45	5	97 <sup>b</sup>
<b>1080</b>	Cl	H	Cl	10	45	6	17 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Porcentaje de catalizador utilizado respecto al peso (g) del derivado de fenetilnitro.

<sup>b</sup>Rendimiento del producto sin purificar. <sup>c</sup>Rendimiento asumiendo producto diclorado.

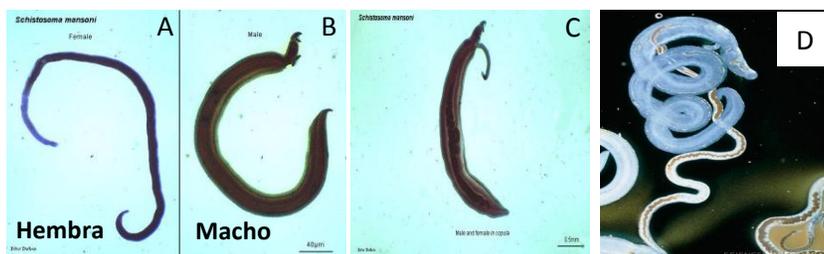
Los derivados de fenetilamina también pudieran ser obtenidos mediante reducción directa del  $\beta$ -nitroestireno a la correspondiente fenetilamina. Según Kohno et al (122), la transformación directa de  $\beta$ -nitroestirenos a las correspondientes fenetilaminas se logró empleando Pd/C tipo K al 5% a 1 atmósfera de presión y a 0 °C con rendimientos superiores al 65%. No fue posible conocer las características de este catalizador ni reproducir las condiciones de reacción con el catalizador disponible en el laboratorio.

Otro método también muy utilizado para llevar a cabo esta conversión fue la reportada por Bermejo et al (123) mediante el uso de Hidruro de Aluminio y Litio (LiAlH<sub>4</sub>). Sin embargo, debido a las exigentes condiciones experimentales requeridas para su uso, su alto costo, así como los rendimientos, no muy buenos (50-60)%, reportados para estas reducciones esta vía no fue ensayada.

## 6.2. Resultados y Discusión. Sección biológica.

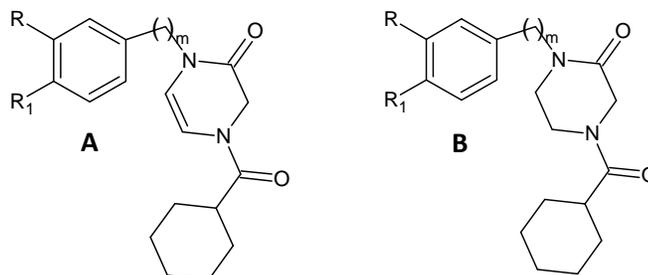
Se evaluó la actividad esquistosomicida *in vitro* de 15 derivados y análogos de PZQ en *S. mansoni* (Tablas 1.23 y 1.24). También, se comparó la actividad esquistosomicida del PZQ comercial y el sintetizado en este trabajo de investigación (PZQ sintético). El PZQ comercial mostró ser el compuesto más efectivo de todos los derivados y análogos ensayados. Sin embargo, el PZQ sintético mostró ser más efectivo en matar los vermes adultos que el PZQ comercial. La explicación para este resultado podría ser el hecho de que el PZQ sintético presentó un exceso del enantiómero *R* biológicamente activo, mientras que el PZQ comercial es una mezcla racémica, es decir, proporciones iguales de los enantiómeros *R* y *S*. El exceso enantiomérico del PZQ sintético fue verificado midiendo la rotación óptica.

A las concentraciones ensayadas, 0.5 y 1.0  $\mu\text{g/mL}$ , ninguno de los compuestos ensayados mostró algún efecto importante sobre los vermes machos y hembras de *S. mansoni*. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado y monitoreados a las 24 y 48 h. En la figura 1.19, se muestra las diferentes formas que adoptan los vermes de *S. mansoni* cuando son expuestos a los diferentes compuestos ensayados. En general, en todos los compuestos, se observó buena motilidad de los parásitos de ambos sexos, observándose formas extendidas o en copula.



**Figura 1.19** Verme de *S. mansoni* relajado o extendido (A y B) y en copula (C). En A, B y C el parásito está vivo. También, algunos vermes muertos presentan una forma de tirabuzón (D).

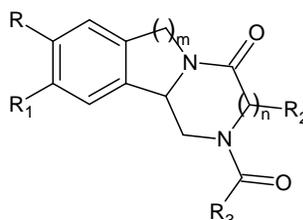
**Tabla 1.23** Porcentaje de vermes de *S. mansoni* vivos después de 48 h de exposición de diferentes análogos de PZQ.



Compuesto	R	R <sub>1</sub>	m <sup>a</sup>	Viabilidad (%) (0.5 µg/mL)	Viabilidad (%) (1.0 µg/mL)
<b>1.85A</b>	H	H	2	100	100
<b>1.87B</b>	H	H	2	100	100
<b>1.86A</b>	H	H	1	100	100
<b>1.88B</b>	H	H	1	100	100

<sup>a</sup>Número de átomos de carbono.

**Tabla 1.24** Porcentaje de vermes de *S. mansoni* vivos después de 48 h de exposición a los derivados y análogos de PZQ.



Compuesto	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	m <sup>c</sup>	n <sup>d</sup>	Viabilidad (%) (0.5 µg/mL)	Viabilidad (%) (1.0 µg/mL)
<b>1.83</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	<i>p</i> -CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2	1	100	100
<b>1.82</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	100	100
<b>1.1 (PZQ)<sup>a</sup></b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	0	0
<b>1.1A</b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	100	8.7
<b>1.75</b>	H	H	H	<i>p</i> -CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2	1	100	100
<b>1.76</b>	H	H	H	<i>p</i> -ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	2	1	100	100
<b>1.77</b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	1	1	100	100
<b>1.89</b>	H	H	H	---	2	1	100	100
<b>1.79</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	1	1	100	100
<b>1.78</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	100	100
<b>1.84</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	100	100
<b>1.81</b>		OCH <sub>2</sub> O	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	100	100
<b>PZQ<sup>b</sup></b>	H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	2	1	0	0

<sup>a</sup>PZQ sintético. <sup>b</sup>PZQ comercial. <sup>c,d</sup>Número de átomos de carbono.

Otra observación importante de destacar es que el compuesto **1.1** (PZQ sintético) fue obtenido al tratar el compuesto **1.1A** con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97)% y el compuesto **1.1A** fue obtenido de la ciclación del intermediario **1.61**. Los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C indicaron que el producto obtenido, **1.1A** estaba ciclado, sin embargo, y tal como se discutió en la sección química, los espectros eran diferentes a los espectros obtenidos para el PZQ comercial. Sin embargo, el peso molecular mostrado en el espectro de masas del compuesto **1.1A** coincidía con el peso molecular esperado. Se decidió tratar el compuesto **1.1A** con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97)% y en ésta ocasión, el espectro de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para el compuesto **1.1** fue igual al del PZQ comercial. Por otro lado, se midió la rotación óptica a ambos compuestos, encontrándose que eran diferentes. El signo de la rotación óptica del compuesto **1.1A** era positivo y en el compuesto **1.1** era negativo. Esto sugiere que el compuesto **1.1A**, probablemente, contiene un exceso del enantiómero no activo y el compuesto **1.1** pudiera presentar un exceso del enantiómero más activo, explicando el porque de su actividad *in vitro*. También, el compuesto **1.1** al presentar un exceso enantiomérico, se esperaría que fuera más eficaz que la mezcla racémica. Esto quedó confirmado cuando este compuesto mató a todos los vermes en menos de 24 h observándose algunos de ellos en forma de tirabuzón producto de la fuerte contracción muscular en el verme, mientras que el PZQ comercial requirió de 48 h para matar a los mismos. Esto se observó a las dos concentraciones ensayadas.

Es importante mencionar que la síntesis y la evaluación *in vitro* de los compuestos **1.82** y **1.78** ya fue reportada por Liu et al (46). El compuesto **1.82** no presentó ningún efecto sobre el parásito, siendo el mismo resultado obtenido por Liu et al. El compuesto **1.78**, sintetizado por Liu et al, mostró un valor de CE<sub>50</sub> de 1.3  $\mu$ M (0.424  $\mu$ g/mL). La cantidad ensayada para este compuesto en esta tesis fue de 0.5  $\mu$ g/mL, por lo que se esperaba ver algún efecto sobre el verme, sin embargo, esto no ocurrió. Se pudiera pensar que la estereoquímica del carbono en la posición 3, unido al grupo metilo, del núcleo pirazinoisoquinolínico, influye en la actividad. Es importante recordar que en el caso del compuesto **1.78** sintetizado por mi persona, los diastereoisómeros no fueron separados y se asumió una mezcla.

En general, si bien ninguno de los compuestos sintetizados mostró una actividad mayor o cercana a la del PZQ comercial, las concentraciones ensayadas fueron tan bajas que sería prematuro decir que ninguno de los compuestos diseñados pudiera funcionar como esquistosomicida, por lo que se sugiere realizar otros ensayos, con un rango amplio de concentraciones, por ejemplo, entre 0.5 a 200  $\mu$ M y determinar nuevamente la actividad esquistosomicida.

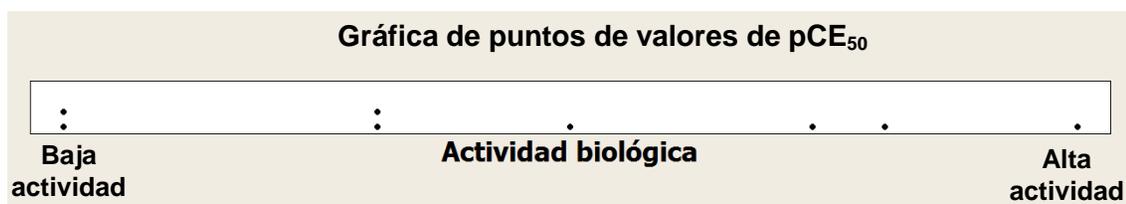
### 6.3 Resultados y Discusión. Sección Modelado Molecular.

#### 6.3.1 Proceso de selección de la serie de exploración.

En vista de los resultados obtenidos durante la evaluación biológica de los compuestos sintetizados, y que dichos datos no pueden ser empleados para desarrollar un modelo QSAR, se decidió buscar en la literatura un grupo de compuestos que pudiesen ser usados para este propósito. Recientemente Liu et al (46) sintetizaron una serie de derivados de PZQ, los cuales fueron evaluados *in vitro* en gusanos adultos de *S. mansoni* y similares a los sintetizados en esta tesis. Es por ello que se consideró utilizar estos datos reportados en la literatura para generar una o varias ecuaciones QSAR que puedan predecir la actividad biológica de los compuestos sintetizados en esta tesis.

Liu et al sintetizaron y evaluaron 26 derivados de PZQ. Sin embargo, solamente 8 compuestos fueron utilizados por mí para derivar una o varias ecuaciones QSAR, debido a que el resto de los mismos presentaron valores de  $CE_{50}$  mayores a 100  $\mu$ M, o no tenían ningún efecto sobre el parásito. Los compuestos seleccionados para desarrollar el QSAR deben ser homogéneos, es decir, que todos los productos tengan un esqueleto común. Esta característica se cumple puesto que todos los compuestos seleccionados comparten el núcleo pirazinoisoquinolínico, esto garantiza que todos los compuestos tengan el mismo mecanismo de acción. Por otro lado, la serie de exploración debe ser representativa, es decir, deben existir suficientes variaciones estructurales que se vean reflejadas en los datos de actividad. En

la serie de exploración utilizada se observan compuestos con baja, media y alta actividad. Esto puede ser visualizado en una gráfica de puntos, la cual se utiliza para evaluar y comparar distribuciones al graficar los valores a lo largo de una línea de números. Esta fue obtenida empleando el programa de estadística *Minitab 16* (Gráfica 1.1). El rango de actividades biológicas se ubica entre 4.36 y 6.43. Al observar la gráfica, hacia la zona de baja actividad, algunos compuestos muestran actividades muy cercanas originando “espacios vacíos de actividad”. La situación ideal sería aquella donde los datos de actividad biológica cubrieran un amplio rango y en proporciones similares (baja, media y alta actividad biológica). Esta gráfica da una idea de cómo están distribuidos los datos de actividad biológica en la serie de exploración. También, se verificó que los datos de actividad biológica presentaran una distribución normal (Anexo IA).



**Gráfica 1.1** Gráfica de puntos de valores de actividad biológica expresada en pCE<sub>50</sub>.

Por otro lado, cuanto mayor sea la serie de exploración, mayor será el número de grados de libertad y más confiables serán las predicciones del modelo final. La cantidad de compuestos seleccionados para desarrollar el modelo QSAR fueron ocho. Si bien la serie de exploración no tiene el tamaño adecuado, no existen suficientes datos en la literatura, que permitan crear un modelo incorporando un mayor número de compuestos.

### 6.3.2 Proceso de selección y obtención del conjunto inicial de descriptores.

Una vez verificada la normalidad de los datos de actividad biológica, el paso inicial para la obtención de los descriptores fue la construcción de los derivados de PZQ utilizando el programa *CAChe* 6.01, a partir de la estructura cristalina del PZQ depositada en el banco de datos de proteínas. Estas estructuras para ser usadas en los cálculos dependientes del nivel de teoría fueron optimizadas para llevarlas a un punto cerca al mínimo de su energía potencial. Por lo tanto, la geometría de las estructuras fue optimizada mediante MM empleando como campo de fuerza MM3 aumentado. Luego, se procedió a realizar una búsqueda conformacional a través de dinámica molecular y se seleccionó el conformero de menor energía. Después de haber seleccionado las conformaciones de menor energía, estas fueron refinadas nuevamente realizando una optimización de la geometría en MOPAC utilizando el método semiempírico PM3 del programa *CAChe* 6.01 (Sección 5.3.4).

A partir del refinamiento realizado con PM3 de los derivados de PZQ, se procedió a la selección y tabulación de los descriptores a través del programa *ProjectLeader* 6.01 incluyendo descriptores moleculares y químico-cuánticos (Tabla 1.4). En cuanto a los descriptores químico-cuánticos solo fueron calculados sobre algunos átomos (Figura 1.10, apartado 5.3.4.).

### 6.3.3 Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético.

Una vez obtenidos los descriptores calculados por el nivel de teoría PM3, estos fueron estandarizados. Luego, los descriptores que serían utilizados en la(s) ecuación(es) QSAR fueron seleccionados utilizando la aproximación de algoritmo genético. La aplicación del algoritmo sobre el conjunto inicial de descriptores generó una serie de resultados que indicaron cual de estos están consistentemente relacionados con la actividad biológica. Se crearon tres conjuntos de descriptores: A) Moleculares, B) Químico-cuántico y C) Moleculares y químico-cuánticos.

Para los tres conjuntos bajo estudio, el proceso de reducción del número de descriptores generó una serie de gráficos de ocurrencia para cada una de las poblaciones iniciales de 250, 500 y 1000 individuos. Solo se muestran las gráficas para una población inicial de 1000 individuos (Anexo IB), siendo la más estable de las 3 poblaciones estudiadas y con una probabilidad de mutación de 0.01. Las gráficas solo muestran los descriptores más importantes que deberían ser considerados para construir la ecuación QSAR. Además de la evaluación de la gráfica, la aplicación del algoritmo generó una serie de estadísticos, típicos de una regresión lineal múltiple, que indican la bondad de ajuste del modelo de regresión y de predicción tales como:  $R^2$ ,  $R^2_{adj}$ ,  $Q^2$  y  $F$ . En base a todo lo anterior, se pudieron determinar cuales y cuantos descriptores destacaban sobre los demás, al aparecer con una alta frecuencia en cada población.

Los descriptores seleccionados fueron: A) Descriptores moleculares:  $\log P$  (Calculado mediante el Programa Pallas Pro-Log P), índice de forma  ${}^3\kappa$  ( $\kappa_3$ ), Energía total  $ET$  (Hartree), Energía de la conformación de mínima energía  $E_{min}$ , B) Descriptores químico-cuánticos: Superdeslocalización radical (S) C8, C19 y O22, Orbital frontera radical (F) C8 y Orbital frontera electrofílica (F) C15 y C) Descriptores moleculares y químico-cuánticos:  ${}^3\kappa$ , densidad LUMO C1, Densidad LUMO N20. Los valores de los descriptores para cada una de los compuestos se pueden encontrar en el Anexo I.C.

Antes de construir las ecuaciones QSAR, se verificaron las correlaciones entre los descriptores a través de la matriz de correlación (Anexo I.C) para cada uno de los conjuntos de descriptores. En los casos, donde existía correlación, estos descriptores no fueron incluidos juntos en la ecuación. También, se calculó el porcentaje de covarianza de los descriptores para verificar la dispersión de los mismos (datos no mostrados).

#### 6.3.4 Desarrollo de los modelos QSAR, validación e interpretación.

Para la construcción de las ecuaciones QSAR, se utilizaron 8 compuestos derivados de PZQ, incluyendo este último. Se calcularon un total de 175 descriptores para los tres conjuntos de descriptores. Debido a que la serie de entrenamiento (datos de actividad biológica) era tan reducida, únicamente se realizó una validación interna de la clase LOO y LON ( $Q^2_{LOO}$  y  $Q^2_{LON}$ ).

**6.3.4.1 Modelos QSAR con descriptores moleculares.** Partiendo de los cuatro descriptores seleccionados utilizando los resultados del algoritmo genético, análisis de la matriz de correlación (Anexo IB) y determinación de la posible redundancia de los descriptores, se realizó la construcción de los modelos mediante el uso de una regresión lineal simple y múltiple. Como se ha descrito anteriormente, la ecuación solo debe tener un máximo de 2 descriptores, por lo que, los cuatro descriptores fueron combinados generando varias ecuaciones. Los descriptores de energía total y energía de la conformación de mínima energía están correlacionados, por lo que no se utilizaron juntos en la construcción de las ecuaciones. Las ecuaciones obtenidas y sus respectivos estadísticos son mostrados en la Tabla 1.25.

**Tabla 1.25** Resultados del análisis de regresión lineal simple y múltiple para el conjunto de descriptores moleculares.

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	F
1.13	pCE <sub>50</sub> = - 0.584 * <sup>3</sup> κ + 5.310	8	0.55	0.75	0.57	0.33	7.93
1.14	pCE <sub>50</sub> = - 0.198 * LogP + 5.310	8	0.80	0.26	0.07	-0.78	0.42
1.15	pCE <sub>50</sub> = 0.059 * E <sub>min</sub> + 5.310	8	0.83	0.08	0.01	-0.56	0.03
1.16	pCE <sub>50</sub> = - 0.588 * <sup>3</sup> κ - 0.021 * LogP + 5.310	8	0.60	0.76	0.57	-0.08	3.31

En base a los estadísticos obtenidos tanto de las regresiones lineales simples como multivariadas de las ecuaciones 1.13 a la 1.16, ninguna de ellas pudiera ser utilizada para predecir la actividad de compuestos que no han sido sintetizados todavía. Uno de los parámetros de bondad de ajuste de una regresión lineal tal como R<sup>2</sup>, es mayor de 0.5 en las ecuaciones 1.13 y 1.16, indicando que la serie de datos de actividad biológica se ajustan bastante bien a la ecuación de regresión, sin embargo, otro estadístico que debe ser

considerado es  $Q^2$ , el cual indica la predictividad de un modelo de regresión y este debe ser mayor de 0.5. Todas las ecuaciones obtenidas tienen valores de  $Q^2$  inferiores a 0.5 y en algunos casos valores negativos. Por lo tanto, para el conjunto de datos utilizados y empleando descriptores moleculares, no fue posible establecer una relación lineal entre la actividad biológica de los derivados de PZQ con esta clase de descriptores.

En vista de los resultados anteriores, se calcularon otros descriptores moleculares y geométricos con el programa *E-dragon* 1.0 y después de ejecutar cada uno de los pasos anteriormente mencionados, se intentó construir algunas ecuaciones con buenos parámetros de bondad de ajuste de la regresión; sin embargo, esto no fue posible (datos no mostrados).

#### 6.3.4.2 Modelos QSAR con descriptores químico-cuánticos.

Partiendo de los cinco descriptores químico-cuánticos seleccionados, se realizó la construcción del(os) modelo(s) mediante el uso de una regresión lineal simple y múltiple. Las ecuaciones obtenidas y sus respectivos estadísticos son mostrados en la Tabla 1.26.

**Tabla 1.26** Resultados del análisis de regresión lineal múltiple para el conjunto de descriptores químico-cuánticos (2 descriptores)

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	$R^2$	$Q^2$	F	$F_{crit(0.05)2,5}$
1.17	$pCE_{50} = 0.793 * S_{C8} - 0.295 * S_{C19} + 5.310$	8	0.36	0.92	0.84	0.68	13.54	5.79
1.18	$pCE_{50} = 0.703 * S_{C8} + 0.100 * F_{C15} + 5.310$	8	0.47	0.86	0.74	0.60	7.19	5.79
1.19	$pCE_{50} = 0.740 * S_{C8} + 0.193 * S_{O22} + 5.310$	8	0.43	0.88	0.78	0.59	8.88	5.79

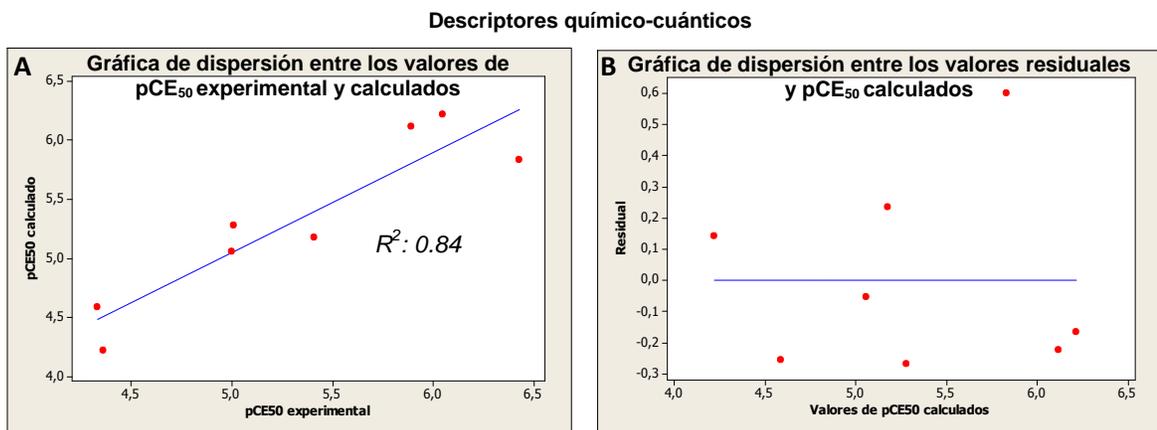
El mejor modelo QSAR es la ecuación 1.17 (Tabla 1.26) con valores de  $R^2$  y  $Q^2$  de 0.84 y 0.68 respectivamente, fue obtenido utilizando descriptores  $S$ , específicamente en los átomos C8 y C19. Este descriptor mide la susceptibilidad del compuesto a un ataque por un radical y revela los sitios reactivos basados en la distribución de los electrones en los orbitales frontera. Otro estadístico que debe ser considerado es el valor de  $F$ , el cual es una medida de la significación global del ajuste. Si el valor de  $F$  calculado es mayor que el  $F$  tabulado ( $F$  crítico), la ecuación es significativa para un nivel de confianza particular. El valor  $F$  calculado para la ecuación 1.17 (13.54) es mayor que el valor  $F$  tabulado (5.79) con un nivel de confianza del 95%, por lo que esta ecuación es significativa para el nivel de confianza dado. La tabla 1.27 muestra los valores de estos descriptores, actividades observadas (experimental) y calculadas (predichas) de derivados de PZQ contra *S. mansoni*.

**Tabla 1.27** Valores de descriptores, actividades observadas (experimental) y calculadas (calculado) para el mejor modelo QSAR, ecuación 1.17, de derivados de PZQ contra *S. mansoni*.

$$pCE_{50} = 0.793 * S_{C8} - 0.295 * S_{C19} + 5.310 \quad \text{Ec. 1.17}$$

Compuesto	$S_{C8}$	$S_{C19}$	$pEC_{50}$	$pEC_{50}$
			experimental	calculado
PZQ	0.222	0.217	6.43	5.83
PZQ8a	0.222	0.222	5.01	5.27
PZQ8c	0.224	0.218	6.05	6.22
PZQ9a	0.223	0.217	5.89	6.12
PZQ9d	0.217	0.218	4.36	4.22
PZQ10b	0.221	0.219	5.41	5.18
PZQ10c	0.217	0.216	4.33	4.59
PZQ10d	0.218	0.215	5.00	5.06

La relación gráfica de las actividades observadas contra los valores calculados, así como, la gráfica de dispersión entre los residuales versus las actividades observadas para la ecuación 1.17 son mostradas en la gráfica 1.2. Las otras dos ecuaciones, 1.18 y 1.19, también muestran buenos parámetros de bondad de ajuste para cada una de los modelos de regresión, sin embargo, la ecuación 1.17 es la mejor de todas ellas.



**Gráfica 1.2** A) Gráfica de dispersión entre los valores de pCE<sub>50</sub> experimental y calculado para la ecuación 1.17 B) Gráfica de dispersión entre los valores residuales y pCE<sub>50</sub> calculados.

En la gráfica 1.2 A, para la ecuación 1.17, concerniente a la dispersión entre los valores de pCE<sub>50</sub> experimentales versus los valores calculados, se observa que la mayoría de los puntos están próximos a la recta, excepto los valores extremos del rango de los datos de actividad, 4.33 y 6.43, pudiendo identificarse como posibles valores atípicos. En cuanto a la gráfica de residuales, gráfica 1.2 B, debería observarse una dispersión aleatoria de puntos respecto a 0 en el eje vertical con más o menos la misma dispersión. En esta gráfica, se pueden observar más puntos debajo del eje vertical. En cuanto a los puntos por encima del eje, son escasos y pudieran identificarse como posibles

valores atípicos. Este valor atípico corresponde al PZQ. Lo correcto sería eliminar este dato de la serie de entrenamiento temporalmente y construir una nueva ecuación QSAR y evaluar los estadísticos, pero debido a la poca cantidad de datos de la serie esto no se realizó.

También fue posible construir una ecuación QSAR con un solo descriptor, la ecuación 1.20 (Tabla 1.28), siendo la variable independiente la  $S_{C8}$ , con valores de  $R^2$  y  $Q^2$  mayores de 0.5 y donde el valor de  $F$  calculado es mayor que el tabulado con un nivel de confianza de 95%, siendo el modelo QSAR estadísticamente significativo. El resto de las ecuaciones, 1.21-1.23, no muestran un buen ajuste al modelo de regresión (valores de  $Q^2$  menores de 0.5 y negativos y valores  $F$  calculados muy por debajo del valor  $F$  tabulado).

**Tabla 1.28** Resultados del análisis de regresión lineal simple para el conjunto de descriptores químico-cuánticos (1 descriptor).

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	$R^2$	$Q^2$	F	$F_{(0.05),1,5}$
1.20	$pEC_{50} = 0.661 * S_{C8} + 5.31$	8	0.43	0.85	0.73	0.59	16.10	6.61
1.21	$pEC_{50} = 0.061 * S_{C19} + 5.31$	8	0.83	0.08	0.01	-0.53	0.03	6.61
1.22	$pEC_{50} = -0.198 * F_{C15} + 5.31$	8	0.81	0.26	0.07	-0.69	0.42	6.61
1.23	$pEC_{50} = -0.108 * S_{O22} + 5.31$	8	0.82	0.14	0.02	-0.48	0.12	6.61

La tabla 1.29 muestra el valor del descriptor  $S_{C8}$  para cada derivado de PZQ, así como, las actividades observadas (experimental) y calculadas (predichas). La relación gráfica de las actividades observadas versus los valores calculados, así como, la gráfica de dispersión entre los valores residuales versus las actividades calculadas para la ecuación 1.20 son mostradas en la gráfica 1.3. En la gráfica 1.3A, se puede observar que la

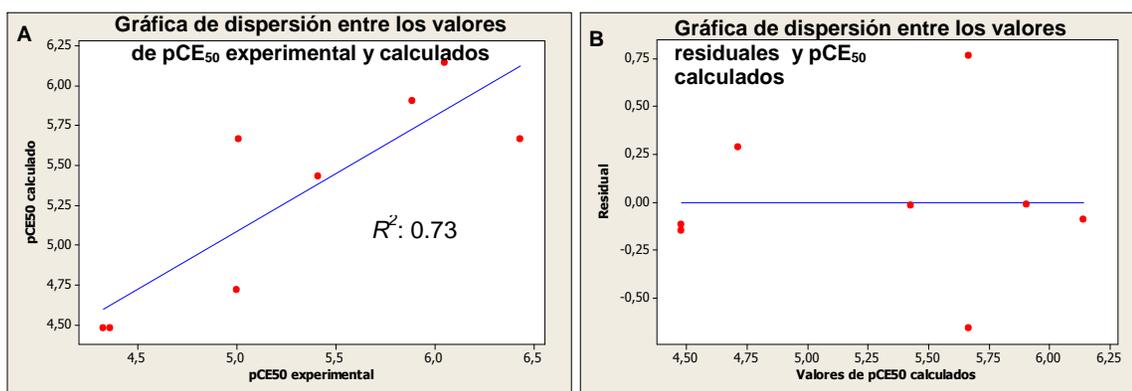
mayoría de los puntos se alejan un poco más de la recta, si se compara con la gráfica 1.2A y en cuanto a la gráfica 1.3B, los comentarios realizados para la gráfica 1.2B son válidos para este caso.

**Tabla 1.29** Valor del descriptor sobre el átomo C8, actividades experimentales (observadas) y calculadas (predichas) para el mejor modelo QSAR, ecuación 1.20, de derivados de PZQ contra *S. mansoni*.

$$pEC_{50} = 0.661 * S_{C8} + 5.310 \quad \text{Ec. 1.20}$$

Compuesto	$S_{C8}$	$pEC_{50}$	$pEC_{50}$
		experimental	calculado
PZQ	0.222	6.43	5.67
PZQ8a	0.222	5.01	5.67
PZQ8c	0.224	6.05	6.14
PZQ9a	0.223	5.89	5.90
PZQ9d	0.217	4.36	4.48
PZQ10b	0.221	5.41	5.43
PZQ10c	0.217	4.33	4.48
PZQ10d	0.218	5.00	4.72

#### Descriptores químico-cuánticos



**Gráfica 1.3** A) Gráfica de dispersión entre los valores de pCE<sub>50</sub> experimental y calculado para la ecuación 1.20 B) Gráficas de dispersión entre los valores residuales y pCE<sub>50</sub> calculados.

**6.3.4.3 Descriptores moleculares y químico-cuánticos.** Partiendo de los tres descriptores seleccionados utilizando los resultados del algoritmo

genético, análisis de la matriz de correlación y determinación de la posible redundancia de los descriptores, se realizó la construcción del(os) modelo(s) mediante el uso de una regresión lineal simple y múltiple. Las ecuaciones obtenidas y sus respectivos estadísticos son mostrados en la Tabla 1.30.

**Tabla 1.30** Resultados del análisis de regresión lineal multivariada con el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos.

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	F	F <sub>(0.05) 2,5</sub>
1.24	pCE <sub>50</sub> = - 0.456 * LUMON <sub>20</sub> - 0.666 * <sup>3</sup> K + 5.310	8	0.28	0.95	0.90	0.76	23.66	5.79
1.25	pEC <sub>50</sub> = - 0.378 * LUMOC <sub>1</sub> - 0.678 * <sup>3</sup> K + 5.310	8	0.41	0.89	0.79	0.50	9.58	5.79

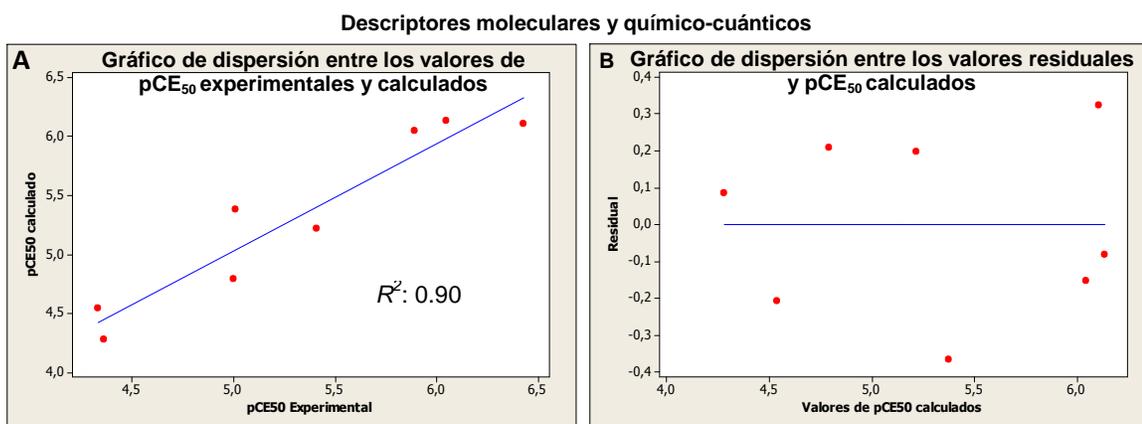
Las ecuaciones 1.24 y 1.25 pudieran ser utilizadas, sin embargo, la ecuación 1.24 es la que tiene los mejores estadísticos. Esta ecuación fue obtenida empleando los descriptores densidad LUMON<sub>20</sub> y <sup>3</sup>K. La densidad LUMO es una medida de la susceptibilidad de un compuesto a ser atacado por un nucleófilo. El índice de forma molecular Kappa es un descriptor topológico y compara los grafos moleculares máximo y mínimo. Un grafo o gráfica es un conjunto de objetos llamados vértices o nodos unidos por enlaces llamados aristas o arcos, que permite representar relaciones binarias entre elementos de un conjunto. Un grafo se representa gráficamente como un conjunto de puntos (vértices o nodos) unidos por líneas (aristas). En el caso de moléculas, los nodos son los átomos y las aristas, los enlaces. La tabla 1.31 muestra el valor de los descriptores <sup>3</sup>K y densidad LUMON<sub>20</sub> para cada derivado de PZQ, así como, las actividades biológicas observadas (experimental) y calculadas (predichas).

**Tabla 1.31** Valores de descriptores, actividades observadas (experimental) y calculadas (predichas) para el mejor modelo QSAR, la ecuación 1.24, de derivados de PZQ contra *S. mansoni*.

$$pCE_{50} = - 0.456 * LUMO_{N20} - 0.666 * {}^3K + 5.310 \quad \text{Ec 1.24}$$

Compuesto	${}^3K$	$LUMO_{N20}$	pEC <sub>50</sub> experimental	pEC <sub>50</sub> calculado
PZQ	3.25	0.002	6.43	6.11
PZQ8a	3.70	0.001	5.01	5.38
PZQ8c	3.34	0.000	6.05	6.13
PZQ9a	3.24	0.003	5.89	6.04
PZQ9d	4.16	0.004	4.36	4.28
PZQ10b	3.25	0.012	5.41	5.21
PZQ10c	3.58	0.013	4.33	4.54
PZQ10d	4.02	0.001	5.00	4.79

La relación gráfica de las actividades observadas versus los valores calculados, así como, la gráfica de dispersión entre los valores residuales versus las actividades calculadas para la ecuación 1.24 son mostradas en la gráfica 1.4.



**Gráfica 1.4** A) Gráfico de dispersión entre los valores de pCE<sub>50</sub> experimental y calculado para la ecuación 1.24 B) Gráficas de dispersión entre los valores residuales y pCE<sub>50</sub> calculados.

Se construyeron varias ecuaciones QSAR empleando un solo descriptor (Tabla 1.32). Ninguno de los descriptores fue capaz de producir un buen modelo QSAR.

**Tabla 1.32** Resultados del análisis de regresión lineal simple para el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos (1 descriptor).

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	F	F <sub>(0.05)1,5</sub>
1.26	pCE <sub>50</sub> = - 0.584 * <sup>3</sup> K + 5.310	8	0.54	0.75	0.56	0.33	7.93	6.61
1.27	pCE <sub>50</sub> = - 0.335 * LUMO <sub>N20</sub> + 5.310	8	0.75	0.43	0.18	-0.41	1.38	6.61
1.28	pCE <sub>50</sub> = - 0.209 * LUMO <sub>C1</sub> + 5.310	8	0.80	0.26	0.07	-1.96	0.47	6.61

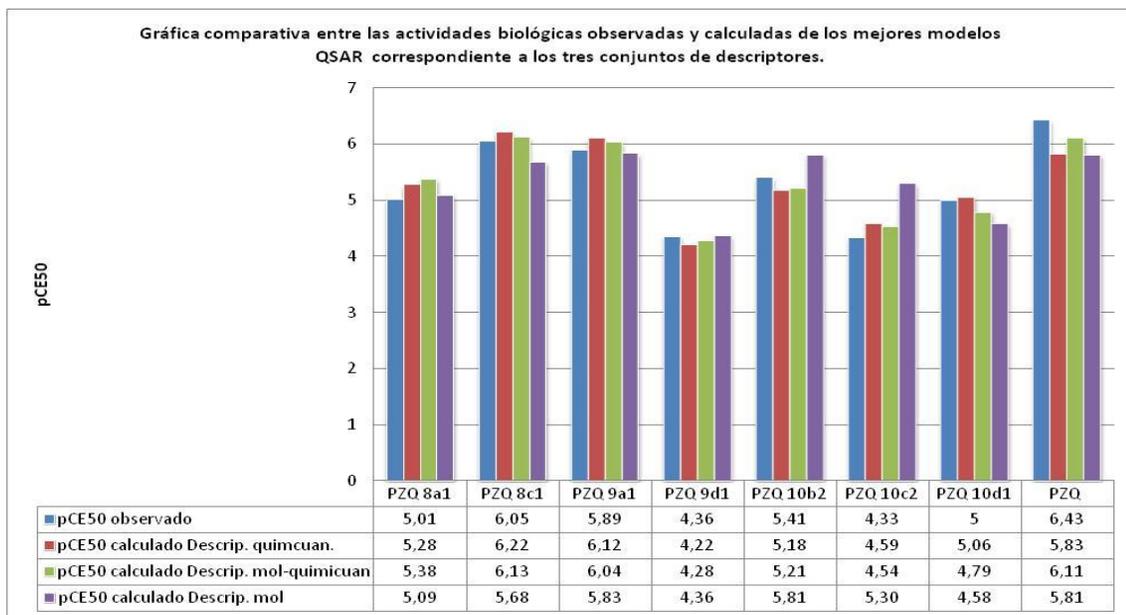
Alternativamente, se combinó el mejor descriptor químico-cuántico y molecular siendo la S<sub>C8</sub> y <sup>3</sup>K. Se intentó establecer una ecuación QSAR. Sin embargo, estos descriptores están correlacionados. Este descriptor químico-cuántico fue sustituido por S<sub>C19</sub>. La combinación de estos dos descriptores originó una ecuación QSAR que no es estadísticamente significativa, ya que el valor de F calculado es menor que el valor de F tabulado (Tabla 1.33).

**Tabla 1.33** Resultados del análisis de regresión lineal multivariada para el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos (2 descriptores).

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	F	F <sub>(0.05)2,5</sub>
1.32	pCE <sub>50</sub> = -0.052 * S <sub>C19</sub> - 0.594 * <sup>3</sup> K + 5.310	8	0.6	0.76	0.57	-0.21	3.36	6.61

Se compararon los valores experimentales de actividad biológica con los valores calculados de los mejores modelos QSAR correspondiente a los tres

conjuntos de descriptores (moleculares, químico-cuántico y combinación de ambos) (Gráfica 1.5).



**Gráfica 1.5** Gráfica comparativa de los valores de pCE<sub>50</sub> calculados y el valor experimental de los mejores modelos QSAR para los tres conjuntos de descriptores.

En los tres conjuntos evaluados se observó sobrepredicción y subpredicción. Por ejemplo, para el conjunto de descriptores químico-cuánticos, se observa sobre y subpredicción de la actividad biológica. Lo mismo ocurre con los otros dos conjuntos de descriptores. Sin embargo, el conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos muestran la mejor predicción de actividad biológica. También, la mejor estimación de la actividad biológica fue para el compuesto PZQ9d1, para los tres conjuntos de descriptores. En cuanto a la capacidad predictiva para el PZQ, se puede observar en la gráfica subpredicción para todos los conjuntos de descriptores evaluados. Es importante recordar, que no fue posible la validación externa

para establecer la predictividad de los modelos QSAR obtenidos, debido al tamaño de la serie de entrenamiento. Hasta la fecha, no hay trabajos de QSAR para esta clase de compuestos, lo que significa, un humilde aporte en esta área.

Se estimó la actividad biológica de los derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis, empleando la mejor ecuación QSAR, la ecuación 1.24. Los resultados son mostrados en la Tabla 1.34.

**Tabla 1.34** Estimación de la actividad biológica de derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis empleando la ecuación 1.24.

$$pCE_{50} = - 0.456 * LUMO_{N20} - 0.666 * {}^3K + 5.310 \quad \text{Ec. 1.24}$$

Compuesto	${}^3K$	$LUMO_{N20}$	$pEC_{50}$ calculado	$EC_{50}$ ( $\mu M$ ) calculado
1.75	3.486	0.013	2.98	1047.12
1.76	3.486	0.001	2.98	1047.12
1.77	2.922	0.001	3.36	436.52
1.79	2.909	0.003	3.37	426.58
1.80	3.486	0.002	2.98	1047.13
1.81	3.338	0.003	3.09	812.83
1.82	4.025	0.001	2.63	2344.23
1.83	4.258	0.013	2.47	3388.44
1.84	4.000	0.001	2.66	2187.76
1.89	1.744	0.001	4.14	72.44

Según los resultados de aplicar la Ecuación 1.24, ninguno de los compuestos sintetizados sería más activo que el PZQ y de todos los compuestos evaluados, el compuesto PZQamina sería el más activo pero no más activo que el PZQ. Todos estos resultados deberán ser confirmados cuando los compuestos sean nuevamente evaluados *in vitro* en *S. mansoni*.

### 6.3.5 Propiedades ADME de derivados y análogos de PZQ.

Se estimó la capacidad de absorción *in vivo* de los derivados y análogos de PZQ sintetizados en esta tesis y los publicados por Liu et al (46) por medio de cálculos teóricos realizados con el programa Accord para Excel para ayudar a establecer las reglas de Lipinski y Veber. Este enfoque ha sido ampliamente utilizado como un filtro para compuestos que pudieran ser incluidos en un programa de diseño de drogas. Los resultados de los cálculos para todos los compuestos sintetizados y reportados en la literatura mostraron que tendrían potencialmente una buena absorción *in vivo*, ya que satisface ambas reglas sin violaciones (Tablas 1.35A, 1.35B, 1.36A y 1.36B).

**Tabla 1.35A** Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados y análogos de PZQ calculados por el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto <sup>a</sup>	Peso Molecular	MLog P <sup>b</sup>	Donadores H	Aceptores H	Satisface RO5
<b>PZQ</b>	312.183	2.591	0	4	si
<b>1.75</b>	320.391	2.846	0	4	si
<b>1.76</b>	340.809	3.114	0	4	si
<b>1.77</b>	298.385	2.358	0	4	si
<b>1.79</b>	312.413	2.591	0	4	si
<b>1.80</b>	346.857	3.086	0	4	si
<b>1.81</b>	356.421	2.607	0	6	si
<b>1.82</b>	372.464	2.018	0	6	si
<b>1.99</b>	380.443	2.264	0	6	si
<b>1.84</b>	386.491	2.236	0	6	si
<b>1.85</b>	312.412	2.058	0	4	si
<b>1.86</b>	298.385	2.276	0	4	si
<b>1.87</b>	314.428	2.591	0	4	si
<b>1.88</b>	300.401	2.358	0	4	si

<sup>a</sup>Compuestos sintetizados en esta tesis. <sup>b</sup>Es el valor de Log P calculado por el método de Moriguchi et al (124,125).

**Tabla 1.35B** Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados y análogos de PZQ calculados por el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto	Peso Molecular	MLog P <sup>c</sup>	Donadores H	Aceptores H	Satisface RO5
<b>1.89<sup>a</sup></b>	202.256	1.324	1	3	si
<b>PZQ8a<sup>b</sup></b>	342.194	2.298	0	5	si
<b>PZQ8c<sup>b</sup></b>	368.155	2.879	0	4	si
<b>PZQ9a<sup>b</sup></b>	326.199	2.818	0	4	si
<b>PZQ9d<sup>b</sup></b>	368.246	3.475	0	4	si
<b>PZQ10b<sup>b</sup></b>	306.136	2.619	0	4	si
<b>PZQ10c<sup>b</sup></b>	334.168	3.069	0	4	si
<b>PZQ10d<sup>b</sup></b>	369.112	3.048	0	7	si

<sup>a</sup>Compuestos sintetizados en esta tesis. <sup>b</sup>Compuestos sintetizados por Liu et al. <sup>c</sup>Es el valor de Log P calculado por el método de Moriguchi et al (124,125).

**Tabla 1.36A** Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados y análogos de PZQ calculados con el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto <sup>a</sup>	ASP <sup>b</sup>	Enlaces rotables	Satisface Veber
<b>PZQ</b>	41.306	2	si
<b>1.75</b>	41.306	2	si
<b>1.76</b>	41.306	2	si
<b>1.77</b>	41.306	2	si
<b>1.79</b>	41.306	2	si
<b>1.80</b>	41.306	2	si
<b>1.81</b>	59.166	2	si
<b>1.82</b>	59.166	4	si
<b>1.83</b>	59.166	4	si
<b>1.84</b>	59.166	4	si
<b>1.85</b>	41.306	5	si
<b>1.86</b>	41.306	4	si
<b>1.87</b>	41.306	5	si
<b>1.88</b>	41.306	4	si
<b>1.89</b>	33.463	0	si

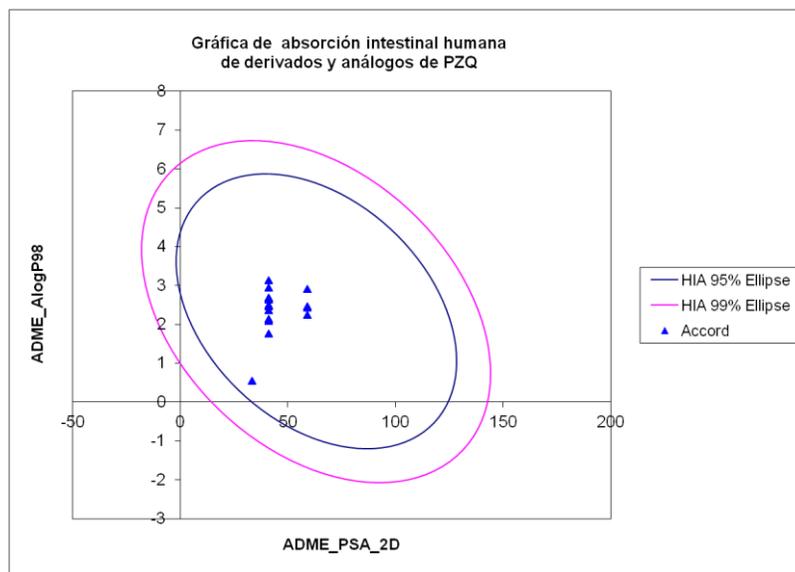
<sup>a</sup>Compuestos sintetizados en esta tesis. <sup>b</sup>Area de superficie polar

**Tabla 1.36B** Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados de PZQ calculados con el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

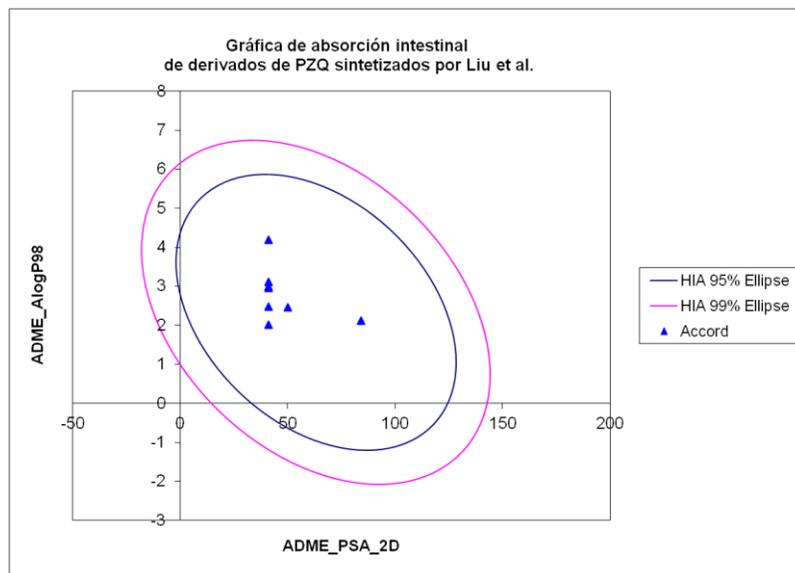
Compuesto <sup>a</sup>	ASP <sup>b</sup>	Enlaces rotables	Satisface Veber
<b>PZQ8a</b>	50.236	3	si
<b>PZQ8c</b>	41.306	2	si
<b>PZQ9a</b>	41.306	2	si
<b>PZQ9d</b>	41.306	4	si
<b>PZQ10b</b>	41.306	2	si
<b>PZQ10c</b>	41.306	2	si
<b>PZQ10d</b>	84.129	2	si

<sup>a</sup>Compuestos sintetizados por Liu et al. <sup>b</sup>Area de superficie polar

También, a través del mismo programa, fue posible graficar las propiedades ADME en términos de Log P y el área de superficie polar para los compuestos sintetizados y reportados (Gráficas 1.6 y 1.7). Este modelo predice la absorción intestinal humana después de la administración oral. Un compuesto que se absorba bien tendrá al menos un 90% de absorción en el torrente sanguíneo humano. El modelo de absorción intestinal incluye elipses con niveles de confianza de absorción de un 95 y 99%, en donde el eje y corresponde al logaritmo del coeficiente de partición (ADME\_AlogP98) y en el eje x corresponde al área de superficie polar (ADME\_PSA\_2D). Estas elipses definen regiones donde los compuestos que son bien absorbidos caen dentro de las regiones de la elipse con niveles de confianza de 95 y 99%. Cualquier punto fuera de la elipse, indica que la absorción tiende a caer rápidamente (126, 127). Como puede observarse en ambas gráficas, los compuestos bajo estudio caen dentro de la elipse con un nivel de confianza de un 95%, lo que significa que los compuestos tendrían una buena absorción.



**Gráfica 1.6** Gráfica de las propiedades ADME \_AlogP98 (logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua versus ADME\_PSA\_2D (área de superficie polar) de derivados y análogos de PZQ.



**Gráfica 1.7** Gráfica de las propiedades ADME \_AlogP98 (logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua versus ADME\_PSA\_2D (área de superficie polar) de derivados de PZQ sintetizados por Liu et al (46).

## 7. Conclusiones y Recomendaciones.

### 7.1 Conclusiones.

**7.1.1** Se logró la síntesis del PZQ mediante una secuencia de cinco reacciones, obteniéndose un exceso del enantiómero *levo*, biológicamente activo, lo cual fue confirmado determinando el signo de la rotación óptica. El rendimiento de todos los pasos de reacción estuvo por encima del 70%, excepto el último, que involucró una reacción de Pictet-Spengler, con un rendimiento del 33%, como producto purificado. Los espectros de IR y RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C del PZQ sintético mostraron ser iguales a los del PZQ comercial.

**7.1.2** La reacción Pictet-Spengler del intermediario diamido acetal **1.61**, precursor del PZQ, dio origen a un producto ciclado, distinto al PZQ. Estudios de RMN, EM y rotación óptica parecieran indicar que el producto obtenido era el PZQ con un exceso del enantiómero *dextro* no activo. Este producto fue probado en gusanos adultos de *S. mansoni* y mostró ser menos activo que el PZQ.

**7.1.3** Se logró la conversión del PZQ anterior a PZQ con un exceso del enantiómero *levo* activo, empleando en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%) a temperatura ambiente. El mecanismo propuesto para explicar este cambio de configuración se basa en la posibilidad de formar un ión carbonio estable en el carbono quiral y en la disminución de las repulsiones entre algunos átomos, al pasar de un enantiómero al otro. Al parecer, dicho mecanismo sería facilitado por un ácido tal como el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%). Hasta la fecha, no existe ningún reporte en la literatura al respecto.

**7.1.4** Se realizó una prueba para confirmar el cambio de configuración observado, tratando el PZQ comercial con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%). Se observó un pequeño cambio en la rotación óptica, hacia un valor negativo.

**7.1.5** Además, se sintetizaron catorce derivados y análogos de PZQ empleando la misma vía sintética con rendimientos, para la última reacción, entre un 20 y 60%.

**7.1.6** La reacción de Pictet-Spengler para dar el núcleo pirazinoisoquinolínico o sus análogos, fue muy dependiente de los sustituyentes sobre el anillo fenílico, del tamaño de los anillos a formar y del ácido usado para la reacción.

**7.1.7** Se obtuvo el análogo 2-(ciclohexilcarbonil)-2,3,6,10b-tetrahidropirazino[2,1-a]isoindol-4(1*H*)-ona, **1.77**. Para el grupo de Liu et al no fue posible obtener este análogo bajo las condiciones de ciclación utilizadas.

**7.1.8** Para los derivados y análogos de PZQ, no se observó el cambio en la frecuencia de estiramiento del grupo carbonilo, al hacer el tratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (95-97%) de segunda vez. La rotación óptica de estos compuestos será medida posteriormente.

**7.1.9** No fue posible sintetizar análogos del PZQ en los cuales el anillo piperazino, de seis miembros, fuera sustituido por un anillo de siete miembros.

**7.1.10** En cuanto a los derivados de fenetilamina, necesarios para la síntesis de los derivados y análogos de PZQ, estos fueron obtenidos en tres

pasos de reacción con rendimientos moderados. Sin embargo, este método resultó inadecuado para obtener ciertos derivados halogenados de fenetilamina. Se observó que la hidrogenación catalítica del 2,3-diclorofenilnitro condujo a la hidrogenólisis del enlace C2-Cl, obteniéndose la 3-clorofenetilamina. Cuando este producto fue utilizado para sintetizar un derivado de PZQ, el espectro de RMN-<sup>1</sup>H mostró un patrón de sustitución en la zona aromática indicando que la fenetilamina utilizada era la 3-clorofenetilamina.

**7.1.11** La síntesis empleada para la obtención del PZQ, sus derivados y análogos, involucró reacciones muy sencillas desde el punto de vista experimental. En la mayoría de los casos, los reactivos utilizados son accesibles y económicos y cada uno de los pasos pudiera ser optimizado, elevando el rendimiento considerablemente.

**7.1.12** En cuanto a la actividad biológica de los compuestos sintetizados, estos fueron ensayados en cepas de *S. mansoni*. El PZQ obtenido mostró ser más activo que el PZQ comercial, utilizado como referencia. Esto debido probablemente al exceso del enantiómero *levo*, activo. El resto de los derivados y análogos de PZQ no mostraron ser activos contra el parásito a las concentraciones ensayadas.

**7.1.13** Empleando como fuente de datos la actividad biológica de derivados de PZQ reportados por Liu et al, fue posible cuantificar la relación entre la estructura química y la actividad biológica de derivados de PZQ siendo los descriptores índice de forma de orden 3 (<sup>3</sup> $\kappa$ ) y la energía LUMO<sub>N20</sub>

determinantes en la actividad biológica. Esta ecuación fue utilizada para predecir la actividad biológica de los compuestos sintetizados en esta tesis.

## **7.2 Recomendaciones.**

**7.2.1** Sustituir el agente acoplante DIC por EDC. Esta última carbodiimida forma como producto colateral, un derivado de úrea, soluble en agua, que permitiría eliminarla rápida y fácilmente, situación que no ocurre con el derivado de úrea formado por DIC.

**7.2.2** Intentar la formación del intermediario diamidoacetal en un solo paso de reacción entre un derivado de fenetilamina y el amidoéster acetal. De esta forma, no sería necesaria la saponificación previa del éster, reduciendo el número de paso de reacción.

**7.2.3** Ensayar la reacción de Pictet-Spengler del intermediario diamido acetal, **1.61**, con diferentes ácidos y determinar si el cambio de configuración es dependiente del ácido empleado.

**7.2.4** Buscar otro método de síntesis para derivados de fenetilamina con sustituyentes halógeno.

**7.2.5** En cuanto a la actividad biológica de los compuestos sintetizados, deben ser ensayados un mayor rango de concentraciones, ya que las concentraciones ensayadas eran muy bajas para observar algún efecto sobre el parásito.

**7.2.6** Una vez determinados los valores de  $CE_{50}$  de los compuestos sintetizados en esta tesis, verificar la ecuación QSAR obtenida con los datos reportados en la literatura y determinar su poder predictivo o establecer una nueva ecuación empleando datos de actividad biológica propios

## **Parte II.**

**Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alquildiaminoquinolina sustituidas en las posiciones 6 y/o 7 con posible actividad leishmanicida.**

## Parte II. Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alquildiaminoquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

### 8. Aspectos generales de la Leishmaniasis.

Los parásitos del género *Leishmania*, transmitidos al hombre por insectos flebotomíneos en las regiones calientes del Viejo y del Nuevo Mundo, causan infecciones denominadas **Leishmaniasis** que afectan particularmente el Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM). Los protozoarios que causan las leishmaniasis humanas son flagelados (de la familia **Trypanosomatidae** y del género **Leishmania**) caracterizados por presentar apenas dos formas durante su ciclo vital, una forma **amastigote** y otra **promastigote** (2). Todas las especies de *Leishmania* son parásitos intracelulares en macrófagos de mamíferos (128).

Todas las infecciones comienzan con la introducción de los organismos en la piel por la picadura de un mosquito infectado. Sin embargo, hay una diversidad considerable dentro del género, con al menos diez especies de *Leishmania* que son patogénicas para el hombre. Diferentes especies de *Leishmania* infectan al hombre tales como: *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. donovani* y *L. major*, entre otras (2).

Todas las especies de *Leishmania* son transmitidas por dípteros de la familia **Psychodidae** y la subfamilia **Phebotominae**. Dos géneros son realmente importantes para la epidemiología de la leishmaniasis: 1) **Lutzomyia** que comprende la mayoría de las especies del nuevo Mundo y casi todas

aquellas cuyas hembras pican al hombre 2) ***Phlebotomus*** que incluyen los transmisores de leishmaniasis del África, Europa y de Asia. Los animales silvestres constituyen sus fuentes normales de alimentación sanguínea, sin embargo, algunas especies también pican al hombre, es decir, son antropófilas, y adquieren importancia en la transmisión de la leishmaniasis en la población humana (2).

### 8.1 Ciclo evolutivo de la *Leishmania* spp.

Las especies de *Leishmania* son morfológicamente similares y exhiben dos principales estados de desarrollo a través de su ciclo de vida: 1) Una forma **amastigote** que reside dentro de las células reticuloendoteliales del hospedador vertebrado, la cual es la forma celular relevante para la enfermedad y 2) Una forma **promastigote** que se reproduce en el intestino de un insecto flebotomíneo (129,130) (Figura 2.1):

**A)** El ciclo de vida comienza cuando el hospedador vertebrado es picado por un insecto infectado. La saliva del insecto contiene factores químicos que potencian el poder infectante del parásito y ejercen un efecto quimiotáctico sobre las células reticuloendoteliales, las cuales son atraídas al lugar de la inoculación. **B)** Los parásitos son entonces fagocitados por las células reticuloendoteliales y esto promueve su reproducción y supervivencia. Los parásitos se replican profusamente dentro de las células reticuloendoteliales y finalmente estallan libremente desde los macrófagos infectados, infectando nuevas células y extendiendo la enfermedad dentro del hospedador mamífero.

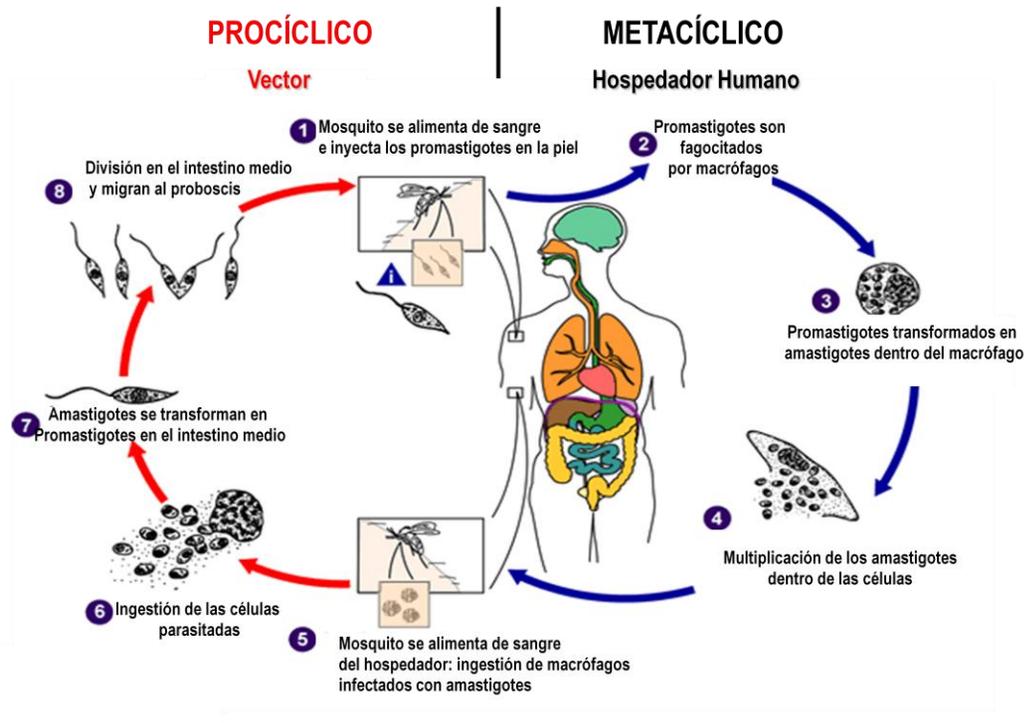


Figura 2.1. Ciclo evolutivo del *Leishmania* spp. (131).

**C)** Cuando un nuevo insecto pica a un hospedador vertebrado infectado, el insecto ingiere macrófagos infectados y el parásito se diferencia en **promastigotes** flagelados migrando hacia el intestino medio. Los promastigotes flagelados son parásitos extracelulares del tracto digestivo de sus hospedadores. Aquí, ellos sufren **metaciclogénesis**, un proceso de diferenciación resultando en la aparición de promastigotes infectivos (o metacíclicos). **D)** El estado de desarrollo del parásito introducido en el hospedador mamífero ha sido denominado como **metacíclico** y las formas inmaduras presentes en el mosquito como **procíclico**.

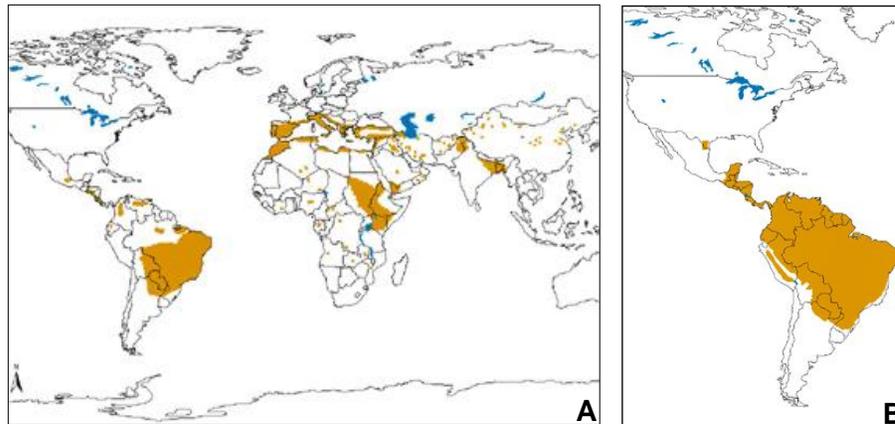
## 8.2 Manifestaciones clínicas y diagnóstico.

La leishmaniasis ha sido clasificada en tres grupos de acuerdo a las manifestaciones clínicas de la enfermedad (2): A) Leishmaniasis Cutánea (LC) producida por *L. mexicana* y *L. amazonensis*, B) Leishmaniasis Mucocutánea (LMC) o cutáneo-mucosa siendo el causante principal de estas anomalías la *L. braziliensis* y C) Leishmaniasis Visceral (LV) o Kala-azar producida por *L. donovani*, *L. infantum* y *L. chagasi*.

El diagnóstico definitivo de la leishmaniasis se fundamenta en la presencia del parásito en las lesiones de los pacientes y la identificación de la especie a la cual pertenece el parásito. A nivel clínico, se diagnostica en el paciente la presencia de lesiones, signos y síntomas. A nivel epidemiológico, se analiza si la zona donde vive el paciente pertenece a alguna de las áreas endémicas conocidas (132).

## 8.3 Epidemiología a nivel mundial y nacional.

La leishmaniasis se localiza en 22 países en el Nuevo Mundo y en 66 del Viejo Mundo. No se encuentra en el Sureste de Asia. Esta enfermedad es endémica en 88 países en 4 continentes, de los cuales, 72 se encuentran en vías de desarrollo. Más del 90% de la LC ocurre en Irán, Afganistán, Siria, Arabia Saudita, Brasil y Perú. Más del 90% de los casos de LV ocurren en Bangladesh, Brasil, India, Nepal y Sudan. Y más del 90% de la LMC ocurre en Bolivia, Brasil y Perú (133,134) (Figura 2.2).



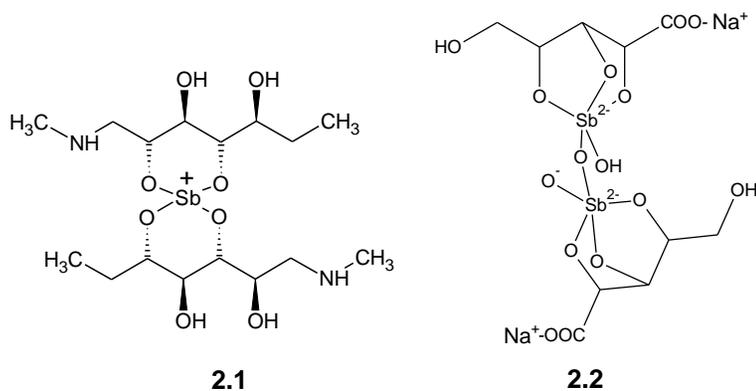
**Figura 2.2. A)** Distribución geográfica de la LV en el Viejo y Nuevo Mundo **B)** Distribución geográfica de LC y LMC en el Nuevo Mundo (135).

En Venezuela, la LC es endémica en todo el país encontrándose en los valles del sistema montañoso de la costa, la depresión de Yaracuy, algunas regiones de los llanos y de los Andes, el sur del Orinoco, la zona montañosa y boscosa de Táchira, Mérida, Trujillo, Lara, Miranda, Sucre, Carabobo y Aragua. La alerta epidemiológica 2012 de la novena semana (del 26 de febrero al 5 de Marzo de 2012) publicada por el Ministerio del Poder Popular para la Salud (Venezuela), ha notificado 32 casos de leishmaniasis de los cuales solo 2 casos son de LV, representando apenas el 0.01% de los casos de notificación obligatoria (136).

#### **8.4 Tratamiento.**

La elección del tratamiento dependerá de la especie de *Leishmania*. Históricamente, la quimioterapia de la leishmaniasis se ha basado en el uso de metales pesados tóxicos, especialmente compuestos de antimonio. Los

antimoniales pentavalentes (Sb(V)) tales como antimoniato de meglumina **2.1** (Glucantime®) y estibogluconato de sodio **2.2** (Pentostam®) son los compuestos de primera línea utilizados en el tratamiento de la LC y LV.

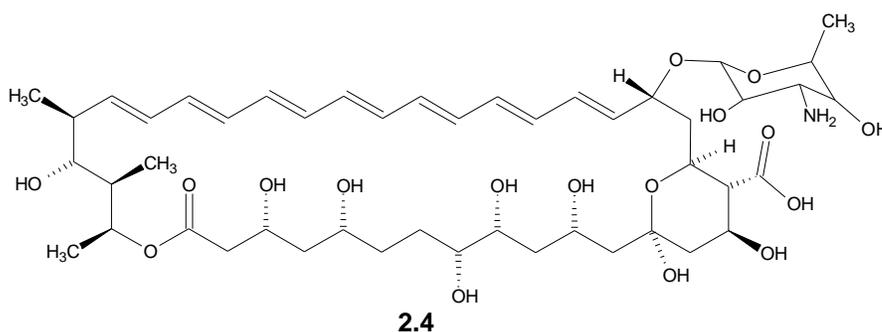
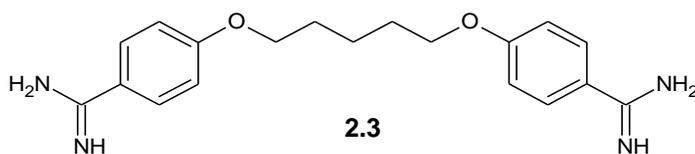


El modo de acción de estos compuestos como leishmanicidas no es claro, sin embargo, se han propuesto dos modelos: 1) El modelo prodroga, donde Sb(V) es reducido a Sb(III) con el fin de ejercer su actividad leishmanicida y 2) El modelo de Sb(V) activo, en donde el Sb(V) es la especie que muestra actividad leishmanicida. Se ha demostrado con el compuesto **2.2** la inhibición específica de la Topoisomera I de *L. donovani*. También, se ha reportado la formación de un complejo entre adenina y Sb(V) (137).

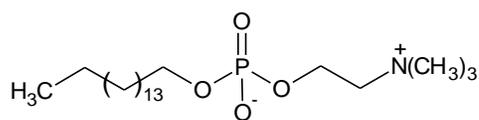
La ulamina, es una presentación genérica bioequivalente de pentacloruro de antimonio más el compuesto **2.1**, preparada en el Laboratorio de Quimioterapia y Control de Investigaciones Parasitológicas “José W. Torrealba” del Núcleo Universitario Rafael Rangel de la Universidad de Los Andes. Ha sido probada en diferentes modelos animales, y al compararla con un patentado comercial de amplio uso en América, exhibieron comportamientos

farmacocinéticos semejantes. Se ha demostrado su efectividad terapéutica en el tratamiento de la LC localizada (3,138).

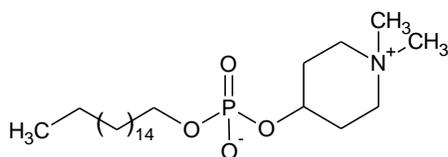
Cuando esta clase de tratamiento falla, se recomienda la utilización de pentamidina **2.3** o anfotericina B **2.4** (Fungizona®). Estos medicamentos no son activos oralmente y requieren administración parenteral lo cual implica hospitalización durante el tratamiento debido a la severidad de los posibles efectos secundarios. El mecanismo de acción leishmanicida de **2.3** es poco conocido, aunque se sabe que actúa a nivel del complejo mitocondrial-kinetoplasto. En cuanto al mecanismo de acción de **2.4**, éste ha mostrado una alta afinidad por los esteroides y fosfolípidos de la membrana celular del parásito *Leishmania*, específicamente el ergosterol, principal esteroide de la membrana plasmática de estos flagelados. De esta forma, se perturba irreversiblemente la permeabilidad y el transporte de la membrana, formándose poros por donde se liberan iones y otras moléculas del citoplasma del parásito afectando así al protozoo (3).



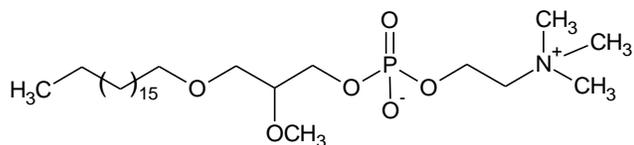
La miltefosina **2.5**, una hexadecilfosfocolina (139), desarrollada inicialmente como una droga anticancerígena, ha sido hasta ahora el único tratamiento oral contra la Leishmaniasis (140). Es efectiva en el tratamiento de la LC y LV (141) inclusive en infecciones resistentes a compuestos antimoniales. Los mecanismos moleculares que contribuyen a la actividad leishmanicida de **2.5** son todavía desconocidos. Un estudio llevado a cabo por Paris et al (142) y Marinho et al (143) concluyeron que **2.5** mata promastigotes de *L. donovani* y de *L. amazonensis* por un mecanismo indirecto, parecido a la muerte celular apoptótica. Debido a su toxicidad, se han preparado formulaciones liposomales (Impavido™, Zentaris). Otros alquilfosfolípidos como perifosina **2.6** (144) ha mostrado actividad *in vivo* en *L. amazonensis* y ha sido considerada como un tratamiento potencial para la LC; y la edelfosina **2.7** mostró, en promastigotes y amastigotes, diferentes sensibilidades en diferentes especies de *Leishmania* (145).



**2.5**



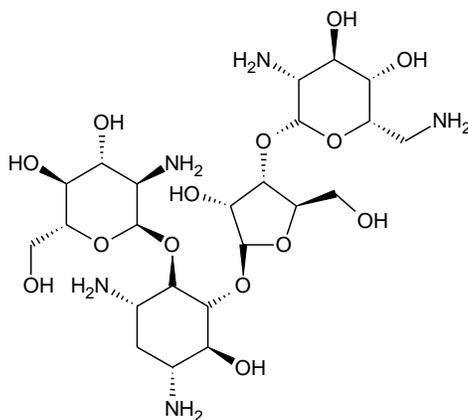
**2.6**



**2.7**

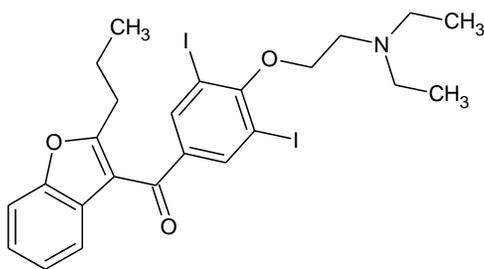
La paromomicina **2.8**, un antibiótico aminoglicósido, ha mostrado eficacia en el tratamiento de LC y LV (11,146). El compuesto **2.8** es utilizado en combinación con Sb para reducir la duración del tratamiento. El mecanismo de

acción de **2.8** no es claro, pero su actividad podría ser debida a una disfunción respiratoria y despolarización de la membrana mitocondrial. También, parece que **2.8** afecta la producción de óxido nítrico (147).



**2.8**

La amiodarona **2.9**, una droga antiarrítmica clase III, además de poseer actividad biológica contra el parásito *T. cruzi*, también ha mostrado actividad contra *Leishmania*. Serrano-Martín et al (148) demostraron que a concentraciones terapéuticas, **2.9** tiene un profundo efecto sobre la viabilidad de promastigotes de *L. mexicana*, siendo mayor en amastigotes de la misma especie. Estudios indicaron que **2.9** desestabiliza la homeostasis intracelular de Ca<sup>2+</sup> y afecta la biosíntesis de 5-deshidroepisterol, lo cual resulta en la acumulación de escualeno, sugiriendo que **2.9** inhibe la actividad de la escualeno epoxidasa del parásito. Recientemente, De Macedo-Silva et al (149) reportaron los efectos antiproliferativos, fisiológicos y ultraestructurales de **2.9** en *L. amazonensis*. Por los momentos, este fármaco no está disponible para el tratamiento de la leishmaniasis.



Por otra parte, el parásito ha desarrollado resistencia a la mayoría de estos fármacos reduciendo su eficacia (129,150-153). Aunque hay un gran número de productos que están siendo desarrollados, hasta la fecha, ninguno de ellos ha demostrado ser completamente efectivo contra el parásito.

### **8.5 Aspectos generales relacionados a la biología celular del parásito *Leishmania* spp. y su interacción con el sistema inmune del hospedador vertebrado.**

La inmunidad puede definirse como el estado de protección contra una enfermedad infecciosa. El sistema inmune es capaz de reconocer ligeras diferencias químicas que distinguen un patógeno o cuerpo extraño de otro, y de discriminar entre moléculas extrañas y células propias del cuerpo. Por lo general, la infección por *Leishmania* induce una reacción inmunitaria muy compleja. Según sea la especie de *Leishmania* que interviene en el proceso infeccioso, la forma clínica de la enfermedad y su cronicidad, se observa un espectro de respuestas inmunitarias, desde mecanismos de inmunidad innata hasta mecanismos de inmunidad específica a través de células y anticuerpos (154). Un revisión publicada por Mougneau et al (155) expone los eventos que forman la respuesta inmune a la *Leishmania* y los mecanismos de evasión

inmune que permiten al parásito diferenciarse, crecer, mutiplicarse y sobrevivir en las células del hospedador vertebrado.

Como se ha descrito anteriormente, el proceso de infección se inicia con la picadura del mosquito infectado inoculando formas infectivas maduras de promastigotes (formas metacíclicas) en la dermis del hospedador (estudios han demostrado que cada picadura entrega un promedio de 1000 promastigotes metacíclicos) (155)). El primer obstáculo que encuentra esta forma de promastigote en el nuevo medio ambiente es la necesidad de escapar a los efectos líticos del suero sanguíneo (128). El sistema complemento, uno de los componentes fundamentales de la respuesta inmunitaria, juega un rol central en la defensa del hospedador contra el parásito *Leishmania*. Está conformado por un grupo de proteínas séricas (proteínas solubles y enlazadas a células) que participan en una cascada enzimática. La mayoría circula en el suero de forma inactiva funcionalmente (zimógenos) hasta que ocurre el clivaje proteolítico exponiendo el sitio activo (156). Existen tres mecanismos por los cuales se activa el sistema complemento: 1) La vía clásica, la cual es activada primariamente por complejos inmunes, 2) La vía alternativa, un componente del sistema inmune innato, es activado por la unión directa del componente C3<sup>12</sup> a la superficie del parásito y 3) La vía de la lectina. Estudios tanto *in vitro* como *in vivo* sugirieron que la mayoría de los promastigotes introducidos en el hospedador son destruidos rápidamente por la activación del sistema complemento alternativo (128).

---

<sup>12</sup>La activación del sistema complemento alternativo involucra 4 proteínas séricas, entre las que se encuentra C3.

Por otro lado, una de las proteínas más abundantes en la superficie del promastigote es la leishmanolisina o gp63 (128), la cual está también presente en el flagelo y el bolsillo flagelar del parásito. Se ha reportado que esta glicoproteína media la entrada de la *Leishmania* hacia el interior del macrófago, aumentando la fagocitosis y la supervivencia dentro del macrófago, siendo identificada como un factor de virulencia del parásito. Además, se ha demostrado que la actividad de la gp63 ejerce control sobre la activación del complemento, resultando en un aumento de la resistencia a la lisis mediada por el complemento (157). Brittingham et al (158,159) publicaron algunos trabajos sobre el rol de la gp63 y la lisis mediada por el complemento. La estructura cristalina de esta glicoproteína anclada a glicofostatidilinositol (*siglas en inglés*, GPI) de *L. major* fue publicada por Schlagenhauf et al (160), siendo identificada como una zinc metaloproteasa. Esta enzima ha sido propuesta como un candidato atractivo para el desarrollo de una vacuna contra *Leishmania* (161). La expresión de la gp63 en otras especies de *Leishmania* es algo diferente y su función no es clara (128) y en amastigotes es baja (160).

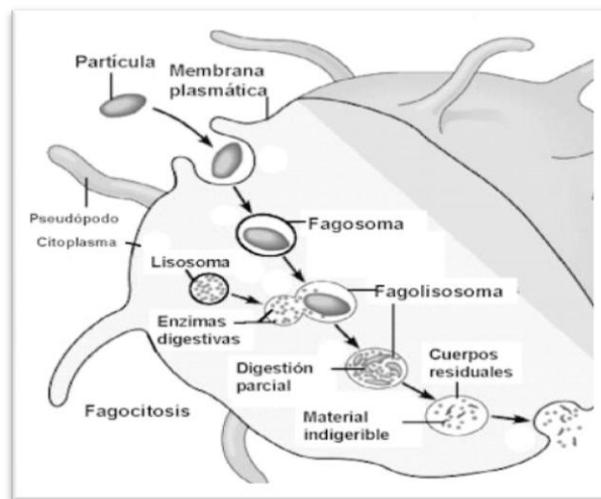
Además de la gp63, el otro conjunto de moléculas de superficie de promastigotes son la familia de los fosfoglicanos, los cuales comprenden un conjunto de glicoproteínas y glicolípidos que contienen unidades repetidas de Gal( $\beta$ 1-4)Man( $\alpha$ 1-) $\text{PO}_4$ <sup>13</sup>. La familia incluye lipofosfoglicano (162,163), fosfoglicano y proteofosfoglicano (164). Estudios indicaron que, únicamente el lipofosfoglicano juega un papel importante en la infección del macrófago,

---

<sup>13</sup>Gal( $\beta$ 1-4)Man( $\alpha$ 1-) $\text{PO}_4$ : unidades de galactosa-manosa fosfato.

mientras que la pérdida de otros componentes de superficie tiene poca influencia en la virulencia de promastigotes en el hospedador mamífero. También, el lipofosfoglicano protege a los promastigotes de especies de oxígeno reactivas generadas durante la fagocitosis (165).

La fagocitosis es un mecanismo importante para la erradicación del parásito *Leishmania*. El proceso de la fagocitosis es realizado por los macrófagos (células mononucleares que pertenecen al SFM). La fagocitosis comprende la unión de dos eventos principales: *la unión y la internalización* (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Representación del proceso de fagocitosis (166).

En el primer evento, los macrófagos son atraídos y movidos hacia el microorganismo invasor (parásitos, bacterias, etc.) mediante un proceso conocido como quimiotaxis, seguido por la adherencia del microorganismo a la membrana celular del macrófago. En el segundo evento, la adherencia induce

protusiones en la membrana llamados pseudópodos extendiéndose alrededor del material unido. La fusión de estos pseudópodos encierra el material dentro de una estructura enlazada a la membrana llamada fagosoma. El fagosoma se mueve hacia el interior de la célula fusionándose con el lisosoma para formar el fagolisosoma. El lisosoma contiene lisozima y otras enzimas hidrolíticas que degradan el material ingerido (parásitos, bacterias, etc.). Luego, el macrófago libera el material degradado por un mecanismo de exocitosis (156).

Se ha asumido que los macrófagos son las principales células hospedadoras infectadas por *Leishmania*. Sin embargo, monocitos y monocitos derivados de células dendríticas son frecuentemente abundantes en lesiones inflamatorias, en el drenaje de nodos linfáticos, mientras otras células del hospedador en estos tejidos (eosinófilos, neutrófilos y fibroblastos) también pueden estar infectadas. Los promastigotes metacíclicos inoculados en la piel por el mosquito son fagocitados en primer lugar por neutrófilos y células dendríticas residentes, antes que los macrófagos. Los promastigotes liberados de los neutrófilos apoptóticos son posteriormente fagocitados por macrófagos y monocitos reclutados en el sitio de la infección (167).

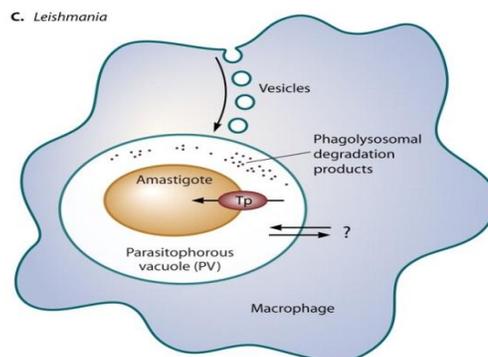
Paradójicamente, los macrófagos son la “casa” del parásito y también el medio de su destrucción. Para mantener su ciclo de vida, el parásito *Leishmania* ha desarrollado varias estrategias para enfrentarse con los mecanismos de defensa de su hospedador mamífero. Una revisión al respecto fue publicada por Bodgan et al (168) entre las que destacan: 1) Generación o retiro hacia un compartimiento intracelular seguro, 2) Supresión de la síntesis

de radicales libres mediante la inhibición de la expresión o de la actividad de la Oxido Nítrico Sintasa inducible (iNOS), 3) Modulación de la apoptosis del macrófago, 4) Modulación de la producción de citocinas, y 5) Inhibición de la presentación de antígenos y estimulación de las células T. Otros trabajos han sido publicados referentes a las interacciones macrófago-*Leishmania*, la biología redox implicada en dicha interacción y las vías metabólicas requeridas para la supervivencia intracelular del parásito *Leishmania* (147,167).

Como se ha descrito anteriormente, la primera etapa en la infección por *Leishmania* involucra la fijación de promastigotes en el fagosoma enlazado a la membrana. En este punto, antes de la internalización, el parásito se encuentra en un medio extracelular. Una vez que el parásito es internalizado, la fusión del fagosoma con el lisosoma da origen al fagolisosoma o la *Vacuola Parasitófora* (VP) (Figura 2.4). La diferenciación, crecimiento y multiplicación de los amastigotes ocurren dentro de este organelo. Estudios adicionales han demostrado que la VP que contiene a la *Leishmania* exhibe un pH ácido (pH 4.7-5.2), conteniendo varias hidrolasas acídicas activas y limitadas por una membrana enriquecida con proteínas. Mientras que el citoplasma del parásito es mantenido activamente a pH neutro, la superficie de la membrana de los amastigotes se adapta a un pH ácido permitiendo al parásito adquirir nutrientes a pesar de su exposición a concentraciones de protones extracelulares extremadamente altas. También, la superficie de los amastigotes de *Leishmania* es cubierta por una denso glicocalix compuesto principalmente por moléculas de bajo peso molecular tal como glicoinositolfosfolípidos y glicoesfingolípidos.

Esta capa puede proteger la superficie del parásito del medio hostil de la VP (169).

Aunque todas las VP de *Leishmania* estudiadas poseen muchas características comunes, no todas son idénticas morfológica y funcionalmente (130,128), inclusive depende de la célula hospedadora involucrada (167). Por otra parte, se ha encontrado que el lipofosfoglicano, componente principal de la membrana plasmática de promastigotes, juega un rol importante en los primeros pasos en la biogénesis de la VP (130). Revisiones sobre la biogénesis de la VP y sus propiedades han sido publicadas por Antoine et al (130) y Burchmore et al (169).



**Figura 2.4.** Representación de amastigotes de *Leishmania* dentro de la VP dentro del macrófago hospedador mamífero (170).

Se ha propuesto que la fagocitosis mediada por el retículo endoplasmático (RE) es un mecanismo alternativo empleado por fagocitos para internalizar grandes partículas y microorganismos (171).

El parásito *Leishmania* ha desarrollado mecanismos de captura de nutrientes eficientes para su supervivencia y desarrollo. La VP está en comunicación con la célula del hospedador a través de transportadores de membrana localizados en la membrana plasmática del parásito (transportadores de glucosa, nucleósidos, poliaminas y  $Fe^{2+}$ ), endocitosis mediada por receptores y por fusión con otros compartimientos. Los requerimientos nutricionales de los amastigotes provienen de la VP (169). Una revisión sobre los diferentes transportadores de membrana, denominadas permeasas, fue publicada recientemente por Landfear (170).

## 9. Quimioterapia de la Leishmaniasis.

### 9.1 Identificación de posibles dianas para el diseño racional de fármacos leishmanicidas.

Los procesos más importantes en el desarrollo de una nuevo fármaco son: 1) La identificación de un blanco en el patógeno, el cual debería estar ausente en el hospedador 2) El blanco seleccionado debería ser absolutamente necesario para la supervivencia del patógeno y ensayado fácilmente. Una revisión de los blancos potenciales susceptibles a intervención farmacológica fue descrita por Liñares et al (172), Croft et al (173) y recientemente por Chawla et al (174): **A) Inhibición de la biosíntesis de esteroides** (Los tripanosomátides sintetizan ergosterol y otros esteroides que son necesarios para su crecimiento y la viabilidad), **B) Inhibición de la vía glicolítica** (El metabolismo energético de tripanosomátides depende únicamente de las fuentes de carbono disponibles en

el hospedador), **C) Recuperación de Purinas** (El parásitos *Leishmania* carece de enzimas para sintetizar purinas *de novo* y por lo tanto, dependen de las purinas sintetizadas por el hospedador mamífero. Sin embargo, se ha encontrado que esta enzima no es esencial para la supervivencia del parásito, **D) Inhibición de la biosíntesis de GPI** (Los glicolípidos GPI ubicados en la superficie celular del parásito *Leishmania*, protegen al parásito de la vía complemento alternativo e hidrolasas externas, además, son esenciales para la infectividad de promastigotes en el hospedador mamífero y en el vector, **E) Inhibición de la biosíntesis de folato** (Las enzimas timidilato sintasa (TS) (EC. 2.1.1.45) y la dihidrofolato reductasa (DHFR)(EC 1.5.1.3) son responsables de convertir dihidrofolato a tetrahidrofolato, un cofactor importante en la síntesis de timina y **F) Inhibición del metabolismo de los tioles** (La tripanotona es crucial en el mantenimiento del potencial redox siendo esencial en la supervivencia del parásito. Ha sido uno de los sistemas más estudiados junto con otras enzimas relacionadas al metabolismo de tioles (175,176).

## **9.2 Actividad biológica de 2-alquilquinolinas y compuestos relacionados y su utilidad en el tratamiento de la Leishmaniasis.**

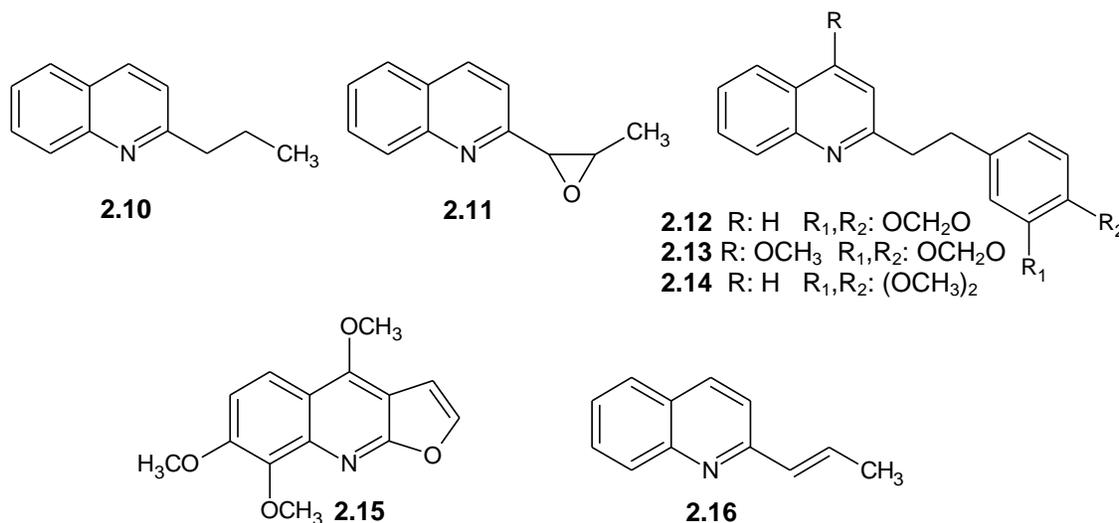
Debido a la limitada disponibilidad de productos farmacéuticos efectivos, la mayoría de las personas que habitan en áreas donde la leishmaniasis es endémica, depende en gran medida de los tratamientos populares y de la medicina tradicional para aliviar los síntomas. En la medicina tradicional, el tratamiento de la enfermedad usualmente consiste de la administración oral de extractos crudos de plantas para la forma sistémica de la enfermedad o

preparaciones tópicas de los mismos para el tratamiento de las infecciones en piel. La evaluación científica de plantas medicinales utilizadas en la preparación de remedios populares ha proporcionado a la medicina moderna, fármacos efectivos para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos protozoarios, tales como quinonas, terpenos y *alcaloides* (177-179).

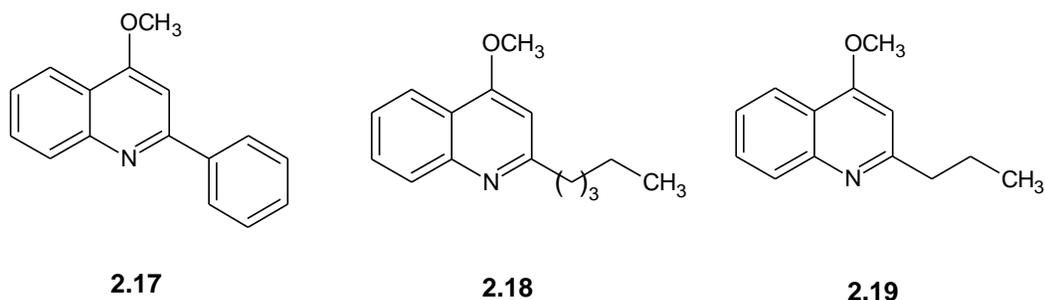
Los alcaloides son los compuestos naturales más importantes con actividad leishmanicida (180). Específicamente, los alcaloides del tipo quinolínico han mostrado ser muy activos en el tratamiento de enfermedades parasitarias. Durante una investigación etnofarmacológica en Bolivia, Fournet et al (181) aislaron del extracto clorofórmico y del éter de petróleo una serie de 12 alcaloides quinolínicos del tipo 2-alkil y 2-arylquinolinas provenientes de *Galipea longiflora* Krause de la familia *Rutaceae*, que mostraron ser activos contra promastigotes de diferentes especies de *Leishmania*.

Posteriormente, Fournet et al (182) ensayaron la actividad *in vivo* de diez de estos alcaloides en ratones BALB/c infectados con *L. amazonensis* PH8 (o H-142) o *L. venezuelensis* por vía subcutánea, un día después de la infección, utilizando como droga de referencia a **2.1**. El tamaño de la lesión fue utilizado como criterio de eficacia de los compuestos. Dos alcaloides, la 2*n*-propilquinolina **2.10** y la 2-(1',2'-*trans*-epoxipropil)quinolina **2.11** (Chimanina D) fueron más activos que **2.1** contra *L. amazonensis* PH8, y no mostraron toxicidad en los animales durante el experimento. También, el compuesto **2.10** exhibió actividad significativa contra una cepa virulenta de *L. venezuelensis*.

Otros alcaloides: 2-(3,4-metilendioxfeniletil)quinolina **2.12**, cusparina **2.13**, 2-(3,4-dimetoxifeniletil)quinolina **2.14**, skimmianina **2.15** y 2-propenilquinolina **2.16** (Chimanina B) mostraron ser tan efectivos como **2.1**.

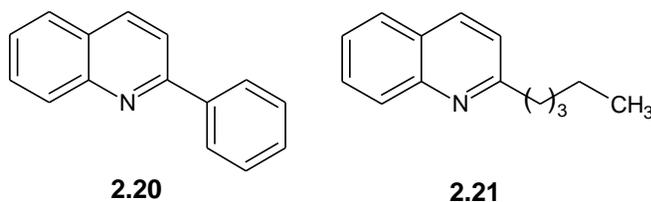


Otros tres alcaloides mostraron actividad moderada respecto a **2.1**: 4-metoxi-2-fenilquinolina **2.17**, 4-metoxi-2-*n*-pentilquinolina **2.18** y Chimanina A **2.19**. La presencia de un grupo metoxi en posición 4 en estos alcaloides disminuyó la actividad leishmanicida.



Nuevamente, Fournet et al (183) estudiaron la actividad de 2 alcaloides relacionados a los anteriores: 2-fenilquinolina **2.20** (principal alcaloide presente

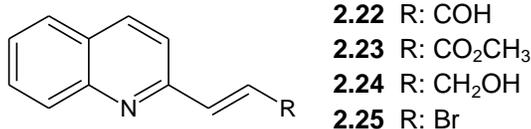
en la corteza del tallo y la raíz) y 2-*n*-pentilquinolina **2.21**, evaluados de la misma forma que los anteriores y utilizando como drogas de referencias **2.1** y **2.3**. El compuesto **2.20** fue tan potente como **2.1** contra cepa H-142 *L. amazonensis*, pero menos activa que **2.1** contra la cepa PH8 de la misma especie. El compuesto **2.21** no mostró ninguna actividad.



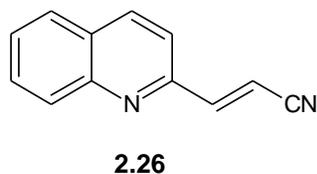
Fournet et al (184) determinaron la eficacia *in vivo* de **2.10**, **2.11**, **2.12**, **2.16**, **2.20** y **2.21** administradas por vía oral e intralesión a ratones BALB/c infectados con *L. amazonensis* y *L. venezuelensis*. De todos los alcaloides, los compuestos **2.10** y **2.16** resultaron ser los más efectivos.

En vista de la interesante actividad exhibida por esta clase de alcaloides quinolínicos, Fakhfakh et al (185) evaluaron la citotoxicidad (CI<sub>50</sub>) de un grupo de alquenil y alquiniquinolinas en macrófagos y en amastigotes de *L. amazonensis* y *L. infantum*. Además, se probó la actividad antirretroviral en células infectadas por HIV-1. A este estudio, se incorporaron quinolinas sustituidas en posición 3 y disustituidas. La mayoría de las quinolinas activas fueron aquellas con la cadena lateral de tres átomos de carbono, del tipo alquenil, en posición 2, tales como **2.22**, **2.23**, **2.24** y **2.25** conteniendo funciones electrofílicas reactivas. De todos los compuestos sintetizados, los compuestos **2.22**, **2.24** y **2.25** presentaron valores de CI<sub>50</sub> menores de 4 μM en amastigotes de *L.*

*amazonensis* e *L. infantum*, pero la toxicidad en macrófagos fue alta. El compuesto **2.23** mostró un valor de  $Cl_{50}$  de 8  $\mu$ M en amastigotes de *L. infantum*, y superior a 200  $\mu$ M en amastigotes de *L. amazonensis*. Mostró baja toxicidad en macrófagos. El mecanismo por el cual estas quinolinas son activas contra parásitos es desconocido.

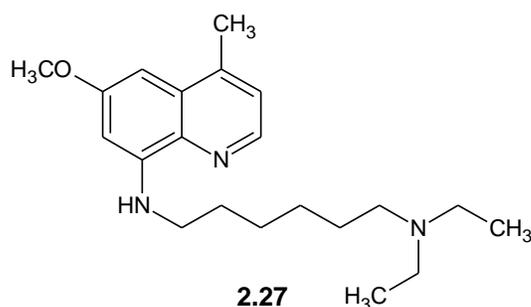


Nakayama et al (186) evaluaron la eficacia *in vivo* de los compuestos sintetizados por Fakhfakh et al (185) en *L. amazonensis*, *L. infantum* y *L. donovani*, encontrándose que el compuestos **2.24** fue el más activo. Nakayama et al (187) determinaron la actividad *in vitro* e *in vivo* de la (*E*)-3-quinolin-2-il-acrilonitrilo **2.26**, contra *L. donovani* y utilizando **2.5** como fármaco de referencia, encontrándose que el valor de  $Cl_{50}$  en promastigotes fue de 38.6  $\mu$ M y en amastigotes 2.4  $\mu$ M. En los ensayos *in vivo*, se observó una reducción de la carga parasitaria de 72.5%.

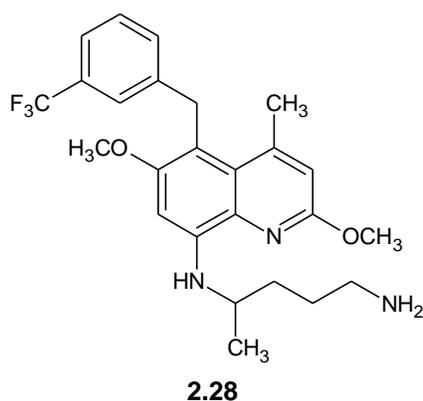


Kinnamon et al (188) evaluaron la actividad *in vivo* de una serie de lepidinas (derivados de 6-metoxi-4-metil-8-aminoquinolina) en el modelo hamster infectados con *L. donovani*. Los miembros de esta clase fueron más

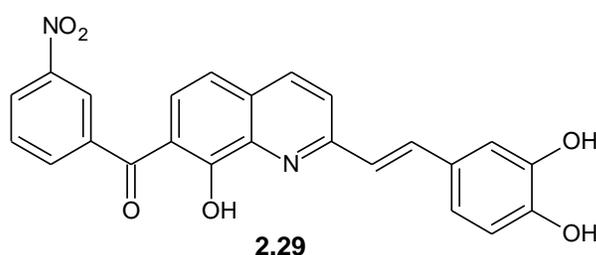
activos que la droga de referencia **2.1**. El compuesto más activo de la serie resultó ser la 8-(6-dietilaminohexilamina)-6-metoxi-4-metilquinolina **2.27**, conocido como sitamaquina (WR-6026), siendo 700 veces más efectiva que **2.1** administrada por vía oral. Para el año 2005, el compuesto **2.27**, estaba siendo estudiado para el tratamiento de LV encontrándose en la fase II de los estudios clínicos (189). Al igual que **2.5**, el compuesto **2.27** mostró ser efectivo vía oral pero no por vía tópica (190).



La tafenoquina **2.28**, otra 8-aminoquinolina, mostró actividad *in vitro* contra diferentes especies de *Leishmania* (191), incluyendo amastigotes de *L. donovani*, con valores de  $CI_{50}$  entre 0.1 a 4  $\mu$ M.



Recientemente, Loiseau et al (192) evaluaron la actividad leishmanicida y citotóxica, *in vitro*, de una serie de 2-estirilquinolinas sustituidas en posición 7 con grupos benzoilo. De todos los compuestos sintetizados, el derivado **2.29** mostró un valor de  $CI_{50}$  1.2  $\mu$ M en amastigotes de *L. donovani*, siendo más activo que sitamaquina y miltefosina con valores de  $CI_{50}$  de 9.7 y 13.4  $\mu$ M respectivamente.



Hasta la fecha, el mecanismo de acción de estas quinolinas sustituidas en *Leishmania* no ha sido investigado. Sin embargo, algunos datos referentes al modo de acción de quinolinas relacionadas, tal como el compuesto **2.27**, han sido descritos. Coimbra et al (190) encontraron que **2.27** interacciona primero con las cabezas polares aniónicas de los fosfolípidos, mientras que las colas, de naturaleza no polar, se insertan dentro de la membrana, acumulándose rápidamente en el citosol de la *Leishmania* por difusión. Sin embargo, la afinidad de la membrana por **2.27** fue transitoria debido a un proceso de eflujo dependiente de energía, sugiriendo la presencia de un transportador el cual no ha sido caracterizado todavía.

Por otra parte, se ha encontrado un efecto inhibitorio de **2.10** en la actividad de la P-glicoproteína de células intestinales (193). Esta P-

glicoproteína es una proteína transportadora de medicamentos, conocida como un transportador ABC y la cual está asociada a la resistencia de especies de *Leishmania* a fármacos (194).

## **10. Diseño de derivados de 2-alquilquinolina y estrategias sintéticas.**

### **10.1 Análisis de la relación estructura química-actividad biológica (SAR) de 2-alquil y 2-alquenilquinolinas y diseño de nuevos derivados de los mismos.**

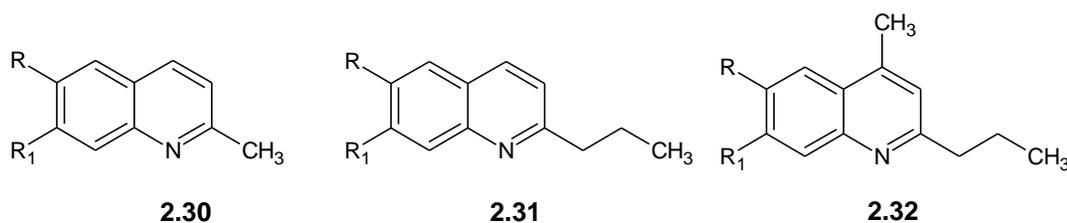
Antes de considerar las diferentes posibilidades de compuestos a ser diseñados y sintetizados, se debería decidir qué clase de estrategia va a ser utilizada en base a la información disponible en la literatura. La idea inicial era la síntesis de un grupo de quinolinas sustituidas y el tipo de sustituciones que serían las más adecuadas, para que ésta clase de nuevos compuestos presentaran la actividad biológica deseada.

En base a los antecedentes previamente mencionados (Sección 9.2), la elección de un grupo alquil o alquenil en la posición 2 del anillo quinolínico estaría basada en los siguientes criterios: *A)* Para obtener la máxima actividad leishmanicida, la longitud óptima de la cadena alquílica en la posición 2 del núcleo quinolínico no debería exceder de 5 átomos de carbono, *B)* Es conveniente tener cadenas no saturadas (ej. 2-alquenil) en la posición 2 del anillo quinolínico, ya que esto permite llevar a cabo una serie transformaciones químicas en esta posición y *C)* La posición de un grupo alquílico, tipo metil o etil, en la posición 4 del núcleo quinolínico incrementa la actividad

leishmanicida. Otros grupos tales como hidroxil, hidroximetil, aminometil o metoxi reducen considerablemente la actividad leishmanicida.

Se utilizaron como plantillas, los compuestos **2.10** y **2.16**, conservando el grado de complejidad del compuesto líder (*Enfoque analógico*) (64). Se decidió incorporar sustituyentes de diversa naturaleza en las posiciones 6 y 7 del núcleo quinolínico, ya que los compuestos reportados hasta la fecha, solo presentan sustituciones en la posición 2 de dicho núcleo.

Sirviendo de apoyo lo anterior, se planteó la síntesis de un grupo de 2-metil **2.30**, 2-propil **2.31** y 4-metil-2-propilquinolinas **2.32**, sustituidas. Los derivados del tipo 2-metilquinolina han sido sintetizados y probados en diversas líneas celulares cancerosas, pero no, en el parásito *Leishmania*. Se decidió sintetizar derivados de **2.10** y **2.16**, ya que, dos de los alcaloides aislados de *Galipea longiflora* con mayores actividades respecto a **2.1** fueron **2.10** y **2.16**. En cuanto a los derivados del tipo 4-metil-2-propilquinolina, esta clase de compuestos fueron inspirados en base a la presencia de un grupo metilo en posición 4 en **2.27**, encontrándose que este grupo era imprescindible para la actividad, obteniendo de esta manera compuestos con ambas características, lo cual se esperaba que condujera a una mejor actividad.



Si bien, la clase de compuestos propuestos son estructuralmente sencillos, además de basarse en los antecedentes ya comentados, se aplicaron ciertas reglas que ayudaron al diseño y a la exploración de la relación estructura química-actividad biológica cualitativa (64):

**A) Regla 1:** En primer lugar, se deben realizar la *menor cantidad de modificaciones posibles* a la molécula líder. Los pocos cambios introducidos pudieran indicar cuales grupos incrementan o disminuyen la actividad.

**B) Regla 2. La regla de la lógica biológica:** Se basa en la utilización de toda la información biológica disponible (datos bioquímicos, blancos moleculares, rutas metabólicas, etc). De datos recopilados en la literatura, se sabe que alcaloides del tipo quinolínico presentan una diversidad de actividades biológicas y específicamente, las quinolinas sustituidas en posición 2 han sido evaluadas como leishmanicidas con excelentes resultados. Lamentablemente, muy poco se sabe del mecanismo de acción de estos compuestos, aunque, ciertos datos pudieran ser extrapolados de compuestos similares.

**C) Regla 3. La regla de la lógica estructural:** Se refiere a que, si existe algún elemento estructural que se sabe le confiere actividad a ese compuesto, este elemento no debe ser modificado en principio. Por ejemplo, en el caso de los compuestos que se desea sintetizar, el núcleo quinolínico por sí mismo, así como, el número de átomos de carbono de la cadena alquílica en posición 2, son elementos estructurales importantes que deben ser mantenidos.

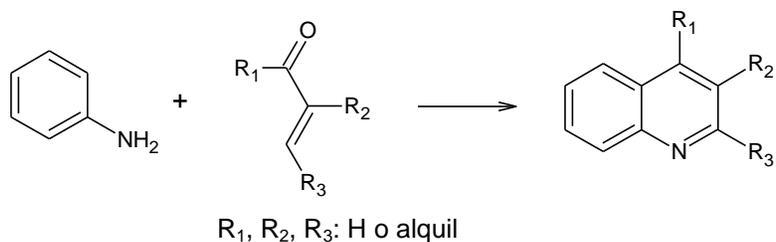
**D) Regla 4. Elección correcta del sustituyente:** Consiste en el reemplazo de grupos de una molécula por otros, con características similares o diferentes desde el punto de vista, electrónico, estérico y lipofílico. En el caso de los compuestos propuestos, algunos átomos de hidrógeno del núcleo quinolínico serían reemplazados por sustituyentes del tipo metoxi, metilendioxi o halógenos para ver como estos influyen sobre la actividad biológica, tomando como referencia los compuestos líderes.

**E) Regla 5. Síntesis orgánica fácil:** Ya que la síntesis de nuevos compuestos es muy costosa, la misma debería involucrar el menor número de pasos, ser preferiblemente una síntesis convergente, en la cual el producto de cada paso sea obtenido con el mayor rendimiento posible y que los reactivos de partida sean económicos y seguros. Como se discutirá a continuación, existen varias síntesis reportadas para la obtención de los compuestos de interés; algunas involucran un mayor número de pasos que otras.

## **10.2 Métodos clásicos para la obtención de 2-alkilquinolinas.**

La síntesis del núcleo quinolínico ha sido tema de interés por muchos años, debido a las diversas actividades biológicas mostradas por compuestos con esta clase de núcleo. Una variedad de síntesis clásicas de quinolinas permiten la obtención de este núcleo, y además, con los sustituyentes en las posiciones deseadas. Kouznetsov et al (195) describieron los avances más recientes en la síntesis de quinolinas. Entre las síntesis clásicas (196) más importantes destacan:

**10.2.1 Síntesis de Doebner-Von Miller:** Consiste en la reacción entre un compuesto carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado con anilinas, para dar la quinolina sustituida en la posiciones 2,3 y 4 (Esquema 2.1). La principal ventaja de este método de síntesis es la obtención del compuesto deseado en un solo paso. Sin embargo, existen algunas desventajas: A) El compuesto carbonílico sufre polimerización bajo condiciones ácidas; B) La velocidad de adición al aldehído o cetona influye en el rendimiento; C) El aislamiento del producto resulta difícil debido a productos colaterales formados durante la reacción.

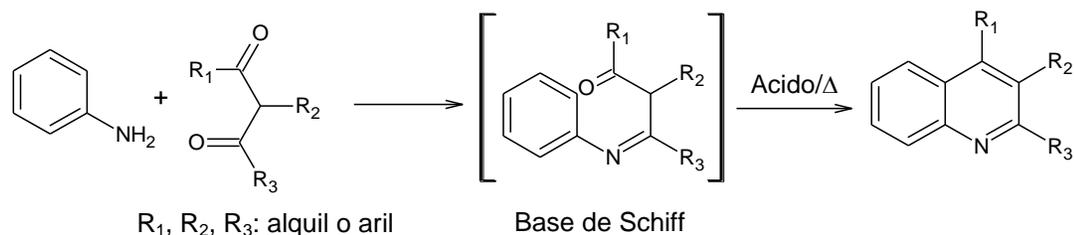


**Esquema 2.1** Síntesis de Doebner-Von Miller.

Matsugi et al (197) reportaron una modificación a esta síntesis empleando un sistema bifásico permitiendo una preparación más limpia del producto y a gran escala. Recientemente, Safari et al (198) sintetizaron un grupo de 2-metilquinolinas, también denominadas quinaldinas, en un solo paso de reacción, a partir de derivados de anilina y acetaldehído empleando alúmina impregnada con HCl (37%) bajo irradiación de microondas (600 vatios por 7 min) sin solvente. Los rendimientos fueron superiores al 70% (198). Ranu et al (199) obtuvieron quinaldinas a partir de derivados de anilina y alquil vinilcetonas empleando una superficie de sílica gel impregnada con cloruro de indio (III) bajo radiación de microondas, sin solvente, con excelentes rendimientos.

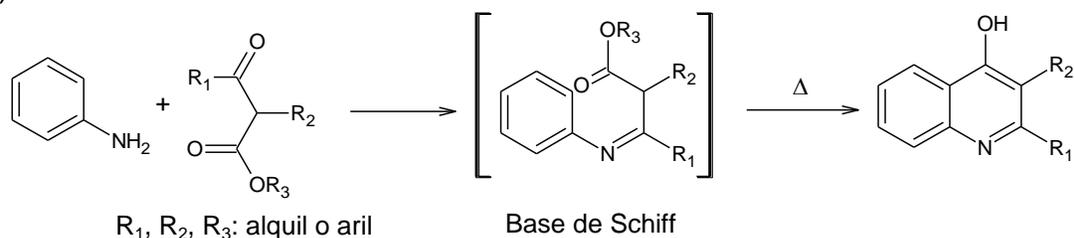
Chaskar et al (200) desarrollaron un método para la síntesis de quinaldinas en un solo paso a partir de la reacción de crotonaldehído o metil vinilcetona usando ácido fosfomolibdico como un catalizador ácido sólido en un medio micelar. El catalizador es fácilmente recuperado y puede ser reutilizado. Los rendimientos superan el 70%.

**10.2.2 Síntesis de Combes:** La quinolina se obtiene a partir de la condensación de derivados de anilina con  $\beta$ -dicetonas formándose la correspondiente base de Schiff, seguida por ciclación catalizada por ácido (201) (Esquema 2.2).



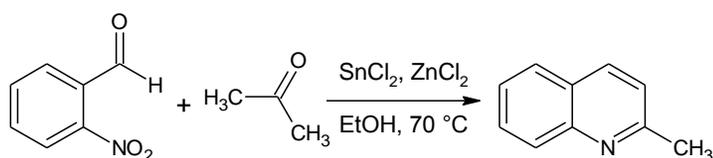
**Esquema 2.2** Síntesis de Combes (201).

**10.2.3 Síntesis de Conrad-Limpach:** Esta síntesis está relacionada a la síntesis de Combes, en donde la  $\beta$ -dicetona es sustituida por un  $\beta$ -cetoéster. Una vez que ocurre la reacción con la anilina, ésta es seguida por ciclación de la base de Schiff para dar como producto la 4-hidroxiquinolina (201)(Esquema 2.3).



**Esquema 2.3** Síntesis de Conrad-Limpach (201).

**10.2.4 Síntesis de Friedländer:** Consiste en la condensación de *o*-aminobenzaldehídos con cetonas con grupos metilo o metileno en posición  $\alpha$  al grupo carbonilo. Dependiendo de la cetona involucrada en la reacción pueden obtenerse quinolinas sustituidas en las posiciones 2 y 3. La principal desventaja de esta síntesis es la poca variedad de *o*-aminobenzaldehídos disponibles comercialmente. McNaughton et al (202) sintetizaron la 2-metilquinolina con un 90% de rendimiento en un paso de reacción. Para ello emplearon dos sales inorgánicas anhidras  $\text{SnCl}_2$  y  $\text{ZnCl}_2$  siendo la reacción realizada en EtOH absoluto, en presencia de tamices moleculares 4 Å y bajo atmósfera inerte por 3 h (Esquema 2.3A)



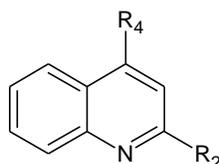
**Esquema 2.3A** Síntesis de 2-metilquinolina (202) .

## 11. Objetivo general.

Diseñar y sintetizar un grupo de quinolinas sustituidas. Evaluar su actividad biológica como leishmanicidas y estudiar la posible relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR) para una serie de derivados de quinolinas.

### 11.1 Objetivos específicos.

11.1.1 Sintetizar una serie de derivados de quinolinas sustituidas en las posiciones 2 y/o 4, con diferentes sustituyentes en las posiciones 6 y/o 7.



R<sub>4</sub>: H, alquilo.  
R<sub>2</sub>: alquilo, alquénil, aminoalquil.

11.1.2 Elucidar estructuralmente los compuestos sintetizados (IR, RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, EM).

11.1.3 Evaluar la actividad biológica *in vitro* de los derivados quinolínicos contra cepas de referencia internacional (WHO) de *Leishmania mexicana* (la especie causante de leishmaniasis cutánea reportada con mayor frecuencia en el país).

11.1.4 Estudiar la relación cuantitativa estructura química-actividad biológica (QSAR) para una serie de derivados de quinolinas:

11.1.4.1 Realizar el análisis conformacional.

11.1.4.2 Determinar la densidad electrónica, orbitales frontera (HOMO y LUMO) y potenciales electrostáticos para los compuestos estudiados

11.4.1.3 Determinar medidas geométricas tales como: volúmenes y

distancias interatómicas, que estén relacionadas con la actividad de los mismos.

**11.1.4.4** Evaluar toda la información obtenida con el propósito de correlacionar la estructura de los compuestos con la actividad biológica y con toda esta información, de ser posible, diseñar moléculas orgánicas pequeñas con mejores características que las de los compuestos más activos.

## 12. Materiales y Métodos.

### 12.1 Sección química.

Los reactivos empleados fueron de las marcas *Aldrich*, *Merck*, *Riedel de Hæn* e *Iris Biotech*. La pureza de los mismos fue verificada por Espectroscopia de Infrarrojo, Cromatografía de Capa Fina (CCF) y/o punto de fusión. En los casos necesarios, estos fueron purificados mediante las técnicas adecuadas. Algunos solventes utilizados eran de grado analítico y no requirieron de purificación adicional. Los solventes de grado técnico fueron destilados.

El progreso de todas las reacciones fue monitoreado por CCF utilizando como adsorbente una mezcla de sílica gel CAMAG con 5% de  $\text{CaSO}_4$  y sílica gel DGF con indicador de luz ultravioleta (254 nm) en proporciones 4:1, en capas de 0.25 mm de espesor y placas de 20 x 5 cm. Los cromatogramas desarrollados fueron observados bajo luz ultravioleta (254 y 265 nm). La purificación de los compuestos sintetizados fue realizada empleando Cromatografía de Capa Preparativa (CCP) utilizando como adsorbentes la mezcla de sílica gel utilizada en CCF en capas de 1.00 mm de espesor y placas de 20 x 20 cm. Para la Cromatografía de Columna (CC) el adsorbente utilizado fue sílica gel Scharlau con tamaño de partícula de 70-230 mesh ASTM (0.06-0.2) mm.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Electrothermal® y no fueron corregidos. Los espectros de infrarrojo (EIR) fueron registrados en espectrofotómetros Perkin Elmer 1310 y Spectrum RX, tomados en solución de  $\text{CHCl}_3$  y pastillas de KBr. Las frecuencias fueron expresadas en  $\text{cm}^{-1}$ . Los

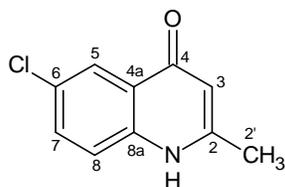
espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C fueron registrados en instrumentos JEOL de 270 MHz y BRUKER de 300 y 500 MHz. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) son reportados en partes por millón (ppm) relativo al tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los espectros de masas fueron obtenidos en un sistema de Trampa de Iones Lineal 3200 QTRAP (*Applied Biosystem*) utilizando una fuente “*Turbo Ion Spray*” en modo positivo. Las hidrogenaciones catalíticas fueron realizadas en un hidrogenador Parr.

### 12.1.1 Método A. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

#### 12.1.1.1 Pasos 1 y 2. Síntesis de 2-metil-quinolin-4(1H)-onas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

##### 12.1.1.1.1 Síntesis de 6-cloro-2-metilquinolin-4(1H)-ona, 2.33.

#### Procedimiento general.

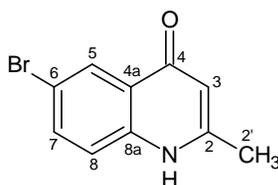


La *p*-cloroanilina (127.57 g/mol, 4.823 g, 37.81 mmoles) y el acetoacetato de etilo (130.14 g/mol, 6.399 g, 49.17 mmoles) fueron disueltos en EtOH absoluto (90 mL). Se adicionó HOAc (99%, 14 gotas) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a 55 °C por 89 h. La reacción fue monitoreada por CCF (DCM) y EIR. Se evaporó el EtOH a presión reducida obteniéndose un líquido marrón claro que pesó 10.354 g<sup>14</sup>. Este líquido fue adicionado muy lentamente

<sup>14</sup>El crudo de reacción no fue purificado.

al Ph<sub>2</sub>O (5 mL) calentado previamente a 200 °C. Después de 50 min, se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente e inmediatamente, se adicionaron 40 mL de C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> para precipitar la quinolona. Se filtró por succión aislándose un sólido amarillo claro bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol):** 193.63. **Rendimiento (%):** 13 (0.954 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** >310<sup>15</sup>. **IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3060, 2869, 2775, 1637, 1598, 1558, 1350, 1296, 885, 832, 818. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 2.34 (s, 3H, H-2'), 5.95 (s, 1H, H-3), 7.53 (d, *J*<sub>8,7</sub> = 8.91 Hz, 1H, H-8), 7.64 (dd, *J*<sub>7,8</sub> = 8.91 Hz y *J*<sub>7,5</sub> = 2.64, 1H, H-7), 7.96 (d, *J*<sub>5,7</sub> = 2.64 Hz, 1H, H-5), 11.75 (s, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 20.03 (C-2'), 109.17 (C-3), 120.76 (C-8), 124.31 (C-5), 132.11 (C-7), 126.07 (C-6), 127.92 (C-4a), 139.24 (C-8a), 150.79 (C-2), 176.02 (C-4).

#### 12.1.1.1.2 6-Bromo-2-metilquinolin-4(1H)-ona, 2.34.

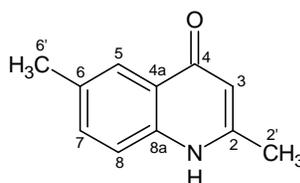


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-bromoanilina (172.03 g/mol, 0.662 g, 3.85 mmoles), acetoacetato de etilo (130.14 g/mol, 1.989 g, 15.28 mmoles), EtOH (30 mL) y HOAc (99%, 4 gotas). Para la ciclación se utilizó Ph<sub>2</sub>O (2 mL, 50 min). Se aisló un sólido color crema bastante puro. **PM (g/mol):** 238.08. **Rendimiento (%):** 32 (0.290 g). **Pf (°C):**

<sup>15</sup>Funde con descomposición.

>305<sup>16</sup>. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 2.34 (s, 3H, H-2'), 5.96 (s, 1H, H-3), 7.46 (d,  $J_{8,7} = 8.91$  Hz, 1H, H-8), 7.76 (dd,  $J_{7,8} = 8.91$  Hz y  $J_{7,5} = 2.32$ , 1H, H-7), 8.11 (d,  $J_{5,7} = 2.30$  Hz, 1H, H-5), 11.75 (s, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 20.06 (C-2'), 109.28 (C-3), 115.88 (C-6), 120.96 (C-8), 126.51 (C-4a), 127.53 (C-5) y 134.72 (C-7), 139.53 (C-8a), 150.82 (C-2), 175.91 (C-4).

#### 12.1.1.1.3 2,6-Dimetil-quinolin-4(1H)-ona, 2.35.



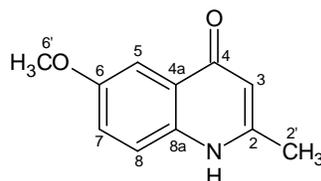
Se siguió el procedimiento general<sup>17</sup> empleando las siguientes cantidades: *p*-metilanilina (107.16 g/mol, 0.798 g, 7.45 mmoles), acetoacetato de etilo (130.14 g/mol, 0.631 g, 4.85 mmoles), EtOH (30 mL) y HOAc (99%, 4 gotas). Para la ciclación se utilizó Ph<sub>2</sub>O (5 mL, 30 min). Se aisló un sólido color crema bastante puro. **PM (g/mol):** 173.21. **Rendimiento (%):** 21 (0.178 g). Sólido color crema. **Pf (°C):** 277-279<sup>18</sup>. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 2.32 (s, 3H, H-6'), 2.38 (s, 3H, H-2'), 5.86 (s, 1H, H-3), 7.37-7.41 (m, 2H, H-7 y H-8), 7.82 (s, 1H, H-5), 11.48 (sa, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 19.96 (C-6'), 21.27(C-2'), 108.70 (C-3), 118.20 (C-8), 124.65 (C-5), 133.29 (C-7), 125.01 (C-4a), 132.38 (C-6), 138.75 (C-8a), 149.68 (C-2), 177.11 (C-4).

<sup>16</sup>Funde con descomposición.

<sup>17</sup>En este caso, se utilizó un pequeño exceso del derivado de anilina y el intermediario fue ciclado entre 230-256 °C.

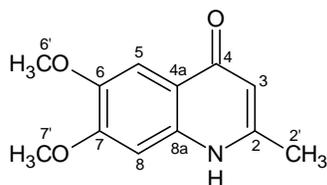
<sup>18</sup>Funde con descomposición.

#### 12.1.1.1.4 2-Metil-6-metoxiquinolin-4(1H)-ona, 2.36.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-metoxianilina (123.15 g/mol, 3.604 g, 29.27 mmoles), acetoacetato de etilo (130.14 g/mol, 4.607 g, 35.40 mmoles), EtOH (100 mL) y HOAc (99%, 8 gotas). Para la ciclación se utilizó Ph<sub>2</sub>O (4 mL, 70 min). Se aisló un sólido color naranja bastante puro. **PM (g/mol):** 189.22. **Rendimiento (%):** 35 (1.956 g). Sólido naranja. **Pf (°C):** 300-305<sup>19</sup>. **IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3257, 3101, 2984, 1597, 1552, 1383, 1300, 1082, 1032, 826. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 2.32 (s, 3H, H-2'), 3.81 (s, 3H, H-6'), 5.88 (s, 1H, H-3), 7.23 (dd, 1H, *J*<sub>7,8</sub> = 7.29 Hz y *J*<sub>7,5</sub> = 2.97 Hz, H-7), 7.44-7.47 (m, 2H, H-5 y H-8), 11.57 (s, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ):** 19.91 (C-2'), 56.83 (C-6'), 104.82 (C-3), 107.96 (C-5), 120.00 y 122.27 (C-7 y C-8, intercambiables), 126.02 (C-4a), 135.25 (C-8a), 149.12 (C-6), 155.76 (C-2), 176.66 (C-4).

#### 12.1.1.1.5 6,7-Dimetoxi-2-metilquinolin-4(1H)-ona, 2.37.

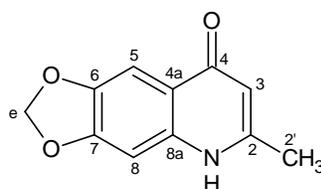


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 3,4-dimetoxianilina (153.18 g/mol, 3.909 g, 25.52 mmoles), acetoacetato de etilo

<sup>19</sup>Funde con descomposición.

(130.14 g/mol, 4.038 g, 31.03 mmoles), EtOH (100 mL) y HOAc (99%, 10 gotas). Para la ciclación se utilizó Ph<sub>2</sub>O (4 mL, 70 min). Se aisló un sólido color crema bastante puro. **PM (g/mol):** 219.24. **Rendimiento (%):** 46 (2.581 g). Sólido color crema. **Pf (°C):** 279-283<sup>20</sup>. **IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3253, 3088, 2965, 1634, 1615, 1548, 1410, 1275, 1172, 1093.

#### 12.1.1.1.6 6,7-Metilendioxi-2-metilquinolin-4(1H)-ona, 2.38.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 3,4-metilendioxianilina (137.14 g/mol, 4.556 g, 33.22 mmoles), acetoacetato de etilo (130.14 g/mol, 5.618 g, 43.17 mmoles), EtOH (93 mL) y HOAc (99%, 10 gotas). Para la ciclación se utilizó Ph<sub>2</sub>O (5 mL, 50 min). Se aisló un sólido color crema bastante puro. **PM (g/mol):** 203.19. **Rendimiento (%):** 55 (3.718 g). Sólido color crema. **Pf (°C):** > 320<sup>21</sup>. **IR (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3050, 2869, 1645, 1622, 1260, 1213, 1045, 936.

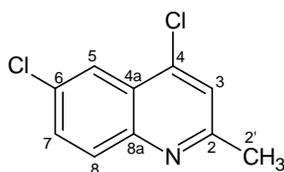
#### 12.1.1.2 Paso 3: Síntesis de 4-cloro-2-metilquinolinas sustituidas en posición 6 y/o 7.

##### 12.1.1.2.1 4,6-Dicloro-2-metilquinolina, 2.39.

##### Procedimiento general.

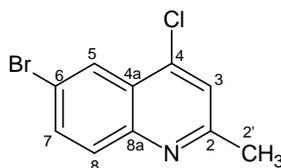
<sup>20</sup>Funde con descomposición.

<sup>21</sup>A esa temperatura el sólido se descompuso pero no fundió.



El compuesto **2.33** (193.63 g/mol, 0.459 g, 2.37 mmoles) fue tratado con un exceso de  $\text{POCl}_3$  (6.5 mL) y calentado a reflujo por 4 h con agitación. La mezcla de reacción fue vertida en hielo triturado y basificada con una solución de  $\text{NaOH}$  (10% p/v) hasta pH 8. Se extrajo con DCM (4 veces). La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y filtrada. El solvente fue evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido que fue purificado por CCP utilizando como fase móvil DCM. **PM (g/mol):** 212.08. **Rendimiento (%):** 82 (0.415 g). Sólido blanco. **Pf (°C):** 79-81. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2960, 1580, 1460, 1370, 1310, 1080, 980, 920, 870, 830. **RMN- $^1\text{H}$  (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 2.68 (s, 3H, H-2'), 7.37 (s, 1H, H-3), 7.62 (dd,  $J_{7,8} = 8.91$  Hz y  $J_{7,5} = 2.21$  Hz, 1H, H-7), 7.91 (d,  $J_{8,7} = 8.91$  Hz, 1H, H-8), 8.11 (d,  $J_{5,7} = 2.21$  Hz, 1H, H-5), **RMN- $^{13}\text{C}$  (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 25.20 (C-2'), 122.74 y 122.99 (C-3 y C-5, intercambiables), 125.51 (C-4a), 130.69 (C-8), 131.33 (C-7), 132.76 (C-6), 141.51 (C-4), 147.08 (C-8a), 159.28 (C-2).

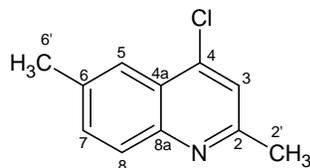
#### 12.1.1.2.2 6-Bromo-4-cloro-2-metilquinolina, 2.40.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El compuesto **2.34** (238.08 g/mol, 0.290 g, 1.22 mmoles),  $\text{POCl}_3$  (3 mL).

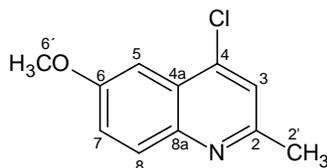
Purificado por CCP (1% MeOH en DCM). **PM (g/mol):** 256.53. **Rendimiento (%):** 92 (0.287 g). Sólido blanco. **Pf (°C):** 75-77. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2960, 1580, 1470, 1370, 1300, 1060, 975, 920, 860. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.55 (s, 3H, H-2'), 7.25 (s, 1H, H-3), 7.63 (dd,  $J_{7,8} = 8.91$  Hz y  $J_{7,5} = 1.99$  Hz, 1H, H-7), 7.72 (d,  $J_{8,7} = 8.91$  Hz, 1H, H-8), 8.16 (d,  $J_{5,7} = 1.99$  Hz, 1H, H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.25 (C-2'), 120.84 (C-6), 122.73 (C-3), 125.97(C-4a), 126.30 (C-5), 130.78 y 133.91 (C-7 y C-8, intercambiables), 141.41 (C-4), 147.32 (C-8a), 159.46 (C-2). **HETCOR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre los protones y los carbonos esperada.

#### 12.1.1.2.3 4-Cloro-2,6-dimetilquinolina, 2.41.



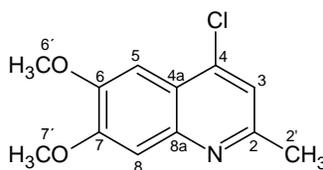
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El compuesto **2.35** (173.21 g/mol, 0.166 g, 0.96 mmoles), POCl<sub>3</sub> (2.8 mL). Purificado por CCP (DCM). **PM (g/mol):** 191.66. **Rendimiento (%):** 90 (0.165 g). Sólido color crema. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.54 (s, 3H, H-6'), 2.68 (s, 3H, H-2'), 7.33 (s, 1H, H-3), 7.54 (dd,  $J_{7,8} = 8.59$  Hz y  $J_{7,5} = 2.00$  Hz, 1H, H-7), 7.88-7.91 (2s, 2H, H-8 y H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 21.80 (C-2'), 25.08 (C-6'), 121.96 (C-5), 122.83 (C-3), 122.84 (C-4a), 128.72 (C-8), 132.66 (C-7), 136.79 (C-6), 141.86 (C-4), 147.22 (C-8a), 157.86 (C-2).

#### 12.1.1.2.4 4-Cloro-2-metil-6-metoxiquinolina, 2.42.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El compuesto **2.36** (189.22 g/mol, 1.306 g, 6.90 mmoles), POCl<sub>3</sub> (7 mL). Se purificó por CC (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 207.66. **Rendimiento (%):** 77 (1.104 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 81-84. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3017, 2962, 1625, 1592, 1501, 1480, 1404 1324, 1268 1209. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.65 (s, 3H, H-2'), 3.94 (s, 3H, H-6'), 7.35 (d, *J* = 8.37 Hz, 2H, H-7 y H-5), 7.90 (d, *J*<sub>8,7</sub> = 8.64 Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 24.86 (C2'), 56.71 (C-6'), 101.76 (C-5), 122.16 (C-3), 123.06 (C-7), 125.69 (C-4a), 130.57 (C-8) 141.07(C-4), 144.75 (C-8a), 156.10 y 158.12 (C-2 y C-6, intercambiables).

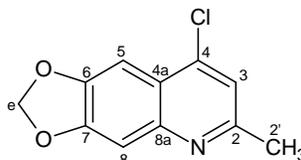
#### 12.1.1.2.5 4-Cloro-2-metil-6,7-dimetoxiquinolina, 2.43.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:  
El compuesto **2.37** (219.24 g/mol, 2.054 g, 9.37 mmoles), POCl<sub>3</sub> (20 mL). Se purificó por CC (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 237.68. **Rendimiento (%):** 54 (1.197 g). Sólido color crema. **Pf (°C):** 128-129. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3022, 2966, 2942, 1623, 1587, 1505, 1464, 1434, 1322, 1138, 1138, 885, 858. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.60 (s, 3H, H-2'), 4.00 (s, 6H, H-6' y H-7'), 7.21 (s, 1H, H-3), 7.35 (s,

2H, H-5 y H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 24.84 (C2'), 56.21 y 56.29 (C-6' y C-7'), 101.75 (C-5), 107.80 (C-8), 120.01 (C-4a), 120.10 (C-3), 140.58 (C-4), 145.70 (C-8a), 150.00 (C-6), 153.05 (C-7), 156.56 (C-2).

#### 12.1.1.2.6 4-Cloro-6,7-metilendioxiquinolina, 2.44.

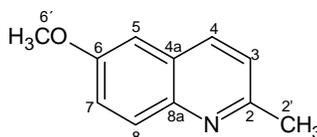


Para la síntesis de este intermediario fue necesaria la adición DMF seco (8 gotas). Se utilizaron las siguientes cantidades: El compuesto **2.38** (203.19 g/mol, 2.165 g, 10.66 mmoles) y POCl<sub>3</sub> (26 mL). Se purificó por CC (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 221.64. **Rendimiento (%):** 58 (1.374 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 119-121. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3015, 2961, 2910, 1616, 1591 1498, 1467, 1323, 1242, 1041, 948, 876, 861. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.62 (s, 3H, H-2'), 6.10 (s, 2H, H-e), 7.21 (s, 1H, H-3), 7.28 (s, 1H, H-8), 7.40 (s, 1H, H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 24.77 (C-2'), 99.72 (C-e), 102.01 (C-5), 105.59 (C-8), 120.32 (C-3), 121.54 (C-4a), 141.13 (C-4), 147.15 (C-8a), 148.24 (C-6), 151.32 (C-7), 156.65 (C-2).

#### 12.1.1.3 Paso 4. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas.

##### 12.1.1.3.1 Síntesis de 2-metil-6-metoxiquinolina, 2.45.

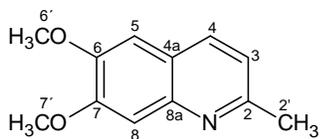
##### Procedimiento general.



En un recipiente de vidrio especial para hidrogenaciones catalíticas se colocó el compuesto **2.42** (207.66 g/mol, 1.104 g, 5.316 mmoles) disuelto en EtOH absoluto (35 mL), TEA (101.19 g/mol, 0.726 g/mL, 0.75 mL, 5.38 mmoles) y 10% en peso del catalizador Pd/C al 10% (0.109 g), respecto al derivado de la 4-cloro-2-metilquinolina, y se sometió a una presión inicial de 35  $\text{lp}^2$  de hidrógeno. Se dejó en agitación por 6 h a 26 °C. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido color marrón, el cual fue disuelto en DCM realizando varios lavados con agua. La capa orgánica fue secada con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose nuevamente un sólido marrón. El producto fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -DCM.

**PM (g/mol):** 173.21. **Rendimiento (%):** 67 (0.568 g). Sólido marrón claro. **Pf (°C):** 54-55. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3014, 2958, 2838, 1627, 1605, 1501, 1463, 1376, 1235, 1161, 1115, 1033. **RMN- $^1\text{H}$  (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 2.67 (s, 3H, H-2'), 3.88 (s, 3H, H-6'), 7.00 (d,  $J_{5,7} = 2.7$  Hz, 1H, H-5), 7.20 (d,  $J_{3,4} = 8.40$  Hz, 1H, H-3), 7.30 (dd,  $J_{7,8} = 9.15$  Hz y  $J_{7,5} = 2.7$  Hz, 1H, H-7), 7.89 (d,  $J_{8,7} = 9.15$  Hz, 1H, H-8), 7.91 (d,  $J_{4,3} = 8.40$  Hz, 1H, H-4). **RMN- $^{13}\text{C}$  (67.94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 25.08 (C-2'), 55.56 (C-6'), 105.26 (C-5), 121.96 y 122.31 (C-3 y C-7, intercambiables), 127.37 (C-4a), 130.03 (C-8), 135.13 (C-4), 143.91 (C-8a), 156.39 y 157.19 (C-2 y C-6, intercambiables).

#### 12.1.1.3.2 2-Metil-6,7-dimetoxiquinolina, 2.46.

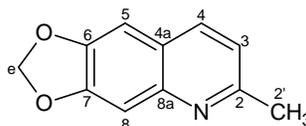


[251]

Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El compuesto **2.43** (237.68 g/mol, 1.189 g, 5.00 mmoles), EtOH (30 mL), TEA (101.19 g/mol, 0.726 g/mL, 0.70 mL, 5.02 mmoles), Pd/C al 10% (0.117 g). **PM (g/mol):** 203.24. **Rendimiento (%):** 76 (0.769 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 41-43. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3021, 2964, 2942, 1627, 1602, 1507, 1464, 1413, 1341, 1123, 999, 856. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.64 (s, 3H, H-2'), 3.94 y 3.97 (2s, 6H, H-6' y H-7'), 6.95 (s, 1H, H-5), 7.09 (d,  $J_{3,4} = 8.42$  Hz, 1H, H-3), 7.32 (s, 1H, H-8), 7.83 (d,  $J_{4,3} = 8.42$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.03 (C-2'), 56.01 y 56.12 (C-6' y C-7'), 105.14 (C-5), 107.57 (C-8), 120.13 (C-3), 121.75 (C-4a), 134.53 (C-4), 144.78 (C-8a), 149.12 (C-6), 152.34 (C-7), 156.57 (C-2).

#### 12.1.1.3.3 2-Metil-6,7-metilendioxiquinolina, 2.47.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades:

El compuesto **2.44** (221.64 g/mol, 1.363 g, 6.15 mmoles), EtOH (25 mL), TEA (101.19 g/mol, 0.726 g/mL, 0.86 mL, 6.17 mmoles) y Pd/C al 10% (0.138 g). Se purificó por CC (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 187.19. **Rendimiento (%):** 99 (1.144 g). Sólido color crema. **Pf (°C):** 145-147. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2951, 2907, 1621, 1516, 1502, 1461, 1329, 1239, 1041, 960, 938. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.64 (s, 3H, H-2'), 6.05 (s, 1H, H-e), 6.98 (s, 1H, H-5), 7.10 (d,  $J_{3,4} = 8.40$  Hz, 1H, H-3), 7.29 (s, 1H, H-8), 7.82 (d,  $J_{4,3} = 8.42$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 24.99 (C-2'), 101.60 (C-e), 102.73 (C-5), 105.42 (C-8), 120.21

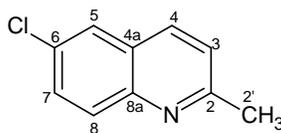
(C-3), 123.17 (C-4a), 135.12 (C-4), 146.12 (C-8a), 147.18 (C-6), 150.62 (C-7), 156.66 (C-2).

### 12.1.2 Método B. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

Por este método, se sintetizaron derivados de 2-metilquinolina en un sólo paso de reacción. Sin embargo, no se utilizó un único procedimiento experimental para sintetizar los mismos, por lo que, se describirán dos procedimientos generales: Método B.1 y Método B.2.

#### 12.1.2.1 Método B.1. Síntesis de 6-cloro-2-metilquinolina, 2.48.

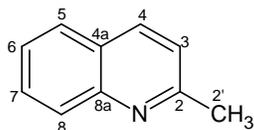
##### Procedimiento general.



Se siguió el procedimiento descrito por Matsugi et al (197): La *p*-cloroanilina (127.57 g/mol, 3.858 g, 30.24 mmoles) fue adicionada a una solución de HCl 6N (130 mL), cuidadosamente, con agitación y luego calentada 110 °C. Mediante un embudo de adición, se procedió a la adición de Tol gota a gota (36 mL) y seguidamente el crotonaldehído (70.09 g/mol, 4.441 g, 63.36 mmoles) gota a gota. Después de 2 h, se dejó que la reacción llegara a temperatura ambiente. Se separó la capa acuosa ácida de la capa orgánica. La capa acuosa ácida fue lavada con DCM (3 veces) y posteriormente basificada con una solución concentrada de NaOH hasta pH 14. Se procedió a la

extracción con DCM (4 veces). La capa orgánica fue lavada con agua, secada con  $K_2CO_3$ , filtrada y el solvente eliminado a presión reducida. Se purificó por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $C_6H_{14}$ -AcOEt). **PM (g/mol):** 177.63. **Rendimiento (%):** 68 (3.676 g). Sólido marrón claro. **Pf (°C):** 85-88. **IR ( $CHCl_3$ ,  $cm^{-1}$ ):** 2960, 1601, 1561, 1491, 1303, 1072, 879, 832, 762. **RMN- $^1H$  (270 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ):** 2.70 (s, 3H, H-2'), 7.27 (d,  $J_{3,4} = 8.42$  Hz, 1H, H-3), 7.58 (dd,  $J_{7,8} = 8.88$  Hz y  $J_{7,5} = 2.48$  Hz, 1H, H-7), 7.72 (d,  $J_{5,7} = 2.46$  Hz, 1H, H-5), 7.92 (d,  $J = 8.66$  Hz, 2H, H-4 y H-8). **RMN- $^{13}C$  (67.94 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ):** 25.39 (C-2'), 122.94 (C-3), 126.24 (C-5), 127.14 (C-4a), 130.34 (C-8 y C-7), 131.36 (C-6), 135.30 (C-4), 146.30 (C-8a), 159.43 (C-2).

#### 12.1.2.2 2-Metilquinolina, 2.49.

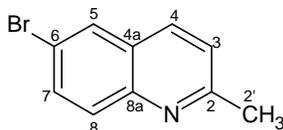


La acetanilida (135.16 g/mol, 2.142 g, 15.85 mmoles) fue adicionada a una solución de HCl 6N (75 mL). Se calentó por 3 h a 100 °C. Se agregó Tol gota a gota (20 mL) mediante un embudo de adición y luego el crotonaldehído (70.09 g/mol, 2.220 g, 31.68 mmoles). El tiempo de reacción fue de 45 h. Para el aislamiento del producto, se siguió el procedimiento descrito en el apartado 12.1.2.1. **PM (g/mol):** 143.18. **Rendimiento (%):** 31 (0.699 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR ( $CHCl_3$ ,  $cm^{-1}$ ):** 3062, 2957, 1623, 1604, 1509, 1425, 1376, 1313, 1220, 821. **RMN- $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ):** 2.72 (d, 1H, H-2'), 7.24 (d,  $J_{3,4} = 8.40$  Hz, 1H, H-3), 7.44 (td,  $J_{6,5} = 7.95$  Hz,  $J_{6,7} = 7.83$  Hz y  $J_{6,8} = 0.87$  Hz, 1H,

H-6), 7.65 (td,  $J_{7,6} = 8.43$  Hz,  $J_{7,8} = 8.34$  Hz y  $J_{7,5} = 1.38$  Hz, 1H, H-7), 7.73 (dd,  $J_{5,6} = 8.46$  Hz y  $J_{5,7} = 1.29$  Hz, 1H, H-5), 8.00 (d,  $J_{4,3} = 8.34$  Hz, 2H, H-4 y H-8).  
**RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.27 (C-2'), 121.91 (C-3), 125.59 (C-6), 126.44 (C-4a), 127.40 (C-5), 128.59 y 129.33 (C-7 y C-8, intercambiables), 136.08 (C-4), 147.84 (C-8a), 158.91 (C-2). **IES-EM (m/z):** 144.40 (M + H<sup>+</sup>).

### 12.1.2.3 Método B.2. Síntesis de 6-bromo-2-metilquinolina, 2.50.

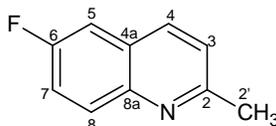
#### Procedimiento general.



Se adicionó HCl 6N (5 mL) a una solución que contenía *p*-bromoanilina (172.03 g/mol, 1.108 g, 6.44 mmoles) en 10 mL de IPA en agitación. Cuando la temperatura del baño de reacción alcanzó los 50 °C, se agregó CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O sólido (170.48 g/mol, 1.104 g, 6.48 mmoles) y la mezcla de reacción fue calentada a reflujo. Seguidamente, el crotonaldehído (70.09 g/mol, 0.676 g, 9.64 mmoles) fue adicionado muy lentamente mediante un embudo de adición. Finalizada la adición, se dejó en reflujo por 1.5 h más. Una vez que la mezcla de reacción alcanzó temperatura ambiente, se evaporó el IPA a presión reducida y la capa acuosa resultante fue llevada a pH entre 4 y 5 con una solución de NaOH al 10%. Se realizaron varias extracciones con Et<sub>2</sub>O. Durante la extracción, se observó la aparición de un sólido abundante en la interfase que fue separado por filtración. La capa acuosa fue basificada a pH 10 con una solución de NaOH al 10% y extraída varias veces con DCM. Ambas capas

orgánicas, por separado, fueron lavadas con agua, secadas con  $K_2CO_3$  y filtradas. El solvente fue evaporado a presión reducida. Se obtuvieron 2 fracciones: 1) En la fracción “etérea” se obtuvo un aceite marrón muy denso que posteriormente solidificó y 2) En la fracción de DCM se aisló un sólido negro cristalino. La CCF desarrollada en DCM reveló que ambos productos eran lo mismo, por lo que se unieron. Se purificó por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $C_6H_{14}$ -DCM). **PM (g/mol):** 222.08. **Rendimiento (%):** 66 (0.942 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 90-92. **IR ( $CHCl_3$ ,  $cm^{-1}$ ):** 3013, 2970, 2934, 1596, 1495, 1074, 814, 762. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ):** 2.73 (s, 3H, H-2'), 7.30 (d,  $J_{3,4} = 8.67$  Hz, 1H, H-3), 7.74 (dd,  $J_{7,8} = 8.64$  Hz y  $J_{7,5} = 2.48$  Hz, 1H, H-7), 7.88 (d,  $J_{8,7} = 8.67$  Hz, 1H, H-8), 7.92 (d,  $J_{5,7} = 2.48$  Hz, 1H, H-5), 7.95 (d,  $J_{4,3} = 8.67$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ):** 25.43 (C-2'), 119.43 (C-6), 122.91 (C-3), 127.69 (C-4a), 129.58 (C-5), 130.48 (C-8), 132.88 (C-7), 135.19 (C-4), 146.51 (C-8a), 159.59 (C-2).

#### 12.1.2.4 6-Flúor-2-metilquinolina, 2.51.

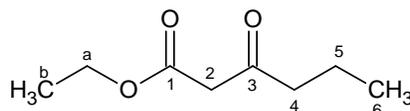


Se siguió el procedimiento general empleándose las siguientes cantidades: *p*-fluoranilina (111.12 g/mol, 2.077 g, 18.70 mmoles), crotonaldehído (70.09 g/mol, 1.990 g, 28.39 mmoles),  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  (170.48 g/mol, 3.200 g, 18.77 mmoles), IPA (12 mL) y HCl 6N (7 mL). **PM (g/mol):** 161.18 **Rendimiento (%):** 6 (0.183 g). Sólido pastoso marrón. **Pf (°C):** 37- 40.

**IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2960, 1631, 1611, 1566, 1504, 1345, 1239, 1141, 1108, 870, 834. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 2.71 (t, 3H, H-2'), 7.28 (d,  $J_{3,4} = 8.24$  Hz, 1H, H-3), 7.37 (td,  $^3J_{7F} = 8.64$  Hz o  $J_{7,8} = 8.64$  Hz y  $J_{7,5} = 2.89$  Hz, 1H, H-7), 7.44 (dd,  $^3J_{5F} = 8.66$  Hz y  $J_{5,7} = 2.89$  Hz, 1H, H-5), 7.97 (d,  $J_{3,4} = 8.26$  Hz, 1H, H-4), 8.00 (d,  $^4J_{8F} = 5.37$  Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 25.23 (C-2'), 110.54 (d,  $^2J_{5F} = 21.80$  Hz, C-5), 119.29 (d,  $^2J_{7F} = 25.43$  Hz, C-7), 122.78 (C-3), 127.03 (d,  $^4J_{4aF} = 9.86$  Hz, C-4a), 131.08 (d,  $^2J_{8F} = 9.34$  Hz, C-8), 135.54 (d,  $^4J_{4F} = 5.25$  Hz, C-4), 145.01 (C-8a), 158.21 (C-2), 160.08 (d,  $^1J_{6F} = 240.30$  Hz, C-6). **IES-EM (m/z):** 162.50 (M + H<sup>+</sup>).

### 12.1.3 Método A. Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolina.

#### 12.1.3.1 Síntesis de 3-oxohexanoato de etilo, 2.52.



El NaH<sup>22</sup> (24 g/mol, 4.68 g, 195.4 mmoles) fue lavado dos veces con 20 mL de Tol seco<sup>23</sup>. Durante los lavados, el sistema fue purgado con nitrógeno. Luego, se adicionó el carbonato de dietilo<sup>24</sup> (118.13 g/mol, 27 mL, 26.33 g, 222.89 mmoles). Se colocó en un embudo de adición la 2-pentanona (86.13 g/mol, 0.809 g/mL, 7 mL, 65.75 mmoles) junto con 3.5 mL de carbonato de dietilo. Nuevamente, el sistema fue purgado con nitrógeno por 5 min. El NaH y el carbonato de dietilo fueron calentados a 60 °C y seguidamente, se procedió a

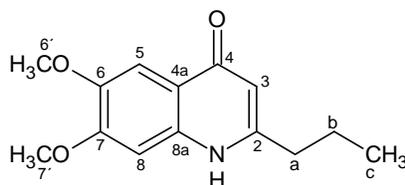
<sup>22</sup>Se utilizó NaH al 60% disperso en aceite mineral.

<sup>23</sup>El Tol fue secado previamente con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro.

<sup>24</sup>El carbonato de dietilo utilizado fue mantenido sobre tamices moleculares 3Å.

la adición de la 2-pentanona gota a gota por 1 h. Se mantuvo el calentamiento por 1 h más. La reacción fue monitoreada por CCF (DCM). Se dejó que la reacción alcanzara temperatura ambiente y se llevó a pH 4 con HOAc (99%) e inmediatamente se adicionó agua fría. Se agitó por 10 min y se extrajo con AcOEt (4 veces). Los extractos orgánicos fueron combinados, lavados con agua y secados con MgSO<sub>4</sub>. Este fue eliminado por filtración y el solvente evaporado a presión reducida. Se obtuvo un líquido amarillo el cual no fue purificado<sup>25</sup>. **PM (g/mol):** 158.19. **Rendimiento (%):** Cuantitativo. Líquido amarillo claro. **Pe(°C):** ND (Aldrich, 104 °C/22 mmHg). **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2980, 1730, 1720, 1700, 1460, 1400, 1370, 1250, 1010, 845. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.89 (t, *J*<sub>6,5</sub> = 7.38 Hz, 3H, H-6), 1.24 (t, *J*<sub>b,a</sub> = 7.17 Hz, 3H, H-b), 1.59 (sxt, *J* = 7.38 Hz, 2H, H-5), 2.49 (t, *J* = 7.26 Hz, 2H, H-4), 3.40 (s, 2H, H-2), 4.16 (q, *J*<sub>a,b</sub> = 7.17 Hz, 2H, H-a). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.49 (C-6), 14.05 (C-b), 16.91 (C-5), 44.84 (C-4), 49.29 (C-2), 61.27 (C-a), 167.21 (C-1), 202.75 (C-3).

### 12.1.3.2 Paso 1 y 2: Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolin-4(1H)-ona, 2.53.

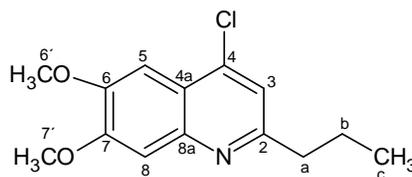


El compuesto **2.52** (153.18 g/mol, 3.553 g, 23.19 mmoles), 3,4-dimetoxianilina (158.19 g/mol, 3.039 g, 19.21 mmoles) y (AcO)<sub>2</sub>Zn·2H<sub>2</sub>O (219.44

<sup>25</sup>El exceso de carbonato de dietilo fue eliminado en el rotavapor.

g/mol, 0.252 g, 1.148 mmoles) fueron calentados entre 60-70 °C, con agitación por 48 h. La reacción fue seguida por CCF (DCM). Se aisló un líquido rojizo que pesó 6.943 g. Este líquido fue adicionado muy lentamente a Ph<sub>2</sub>O (5 mL) calentado previamente a 240 °C. Finalizada la adición, se incrementó la temperatura hasta 250 °C. El tiempo de ciclación fue de 40 min. Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente y seguidamente se adicionaron 15 mL de C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> para precipitar la quinolona. Se filtró por succión aislándose un sólido marrón bastante puro que no requirió purificación adicional. **PM (g/mol): 247.29 Rendimiento (%): 67 (3.912 g).** Sólido marrón. **Pf (°C): 234-239<sup>26</sup>.**

### 12.1.3.3 Paso 3: Síntesis de 4-cloro-6,7-dimetoxi-2-propilquinolona, 2.54.

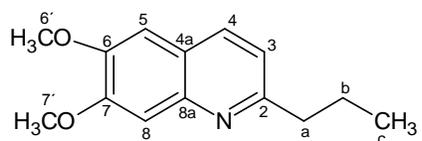


El compuesto **2.53** (247.29 g/mol, 3.912 g, 15.82 mmoles) fue tratado con un exceso de POCl<sub>3</sub> (20 mL) y sometida a reflujo por 5 h. La mezcla de reacción fue vertida en hielo triturado y basificada con una solución de NaOH (10% p/v) hasta pH 8. Se realizaron varias extracciones con DCM. La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y filtrada. El solvente fue evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido marron oscuro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM. **PM (g/mol): 265.74. Rendimiento (%): 16 (0.660 g).** Sólido marrón. **IR (CHCl<sub>3</sub>,**

<sup>26</sup>Funde con descomposición.

$\text{cm}^{-1}$ ): 3013, 2965, 2938, 1623, 1587, 1504, 1465, 1434, 1254, 1137, 1033, 855.  
**RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.79 (m, 2H, H-b), 2.84 (t, 2H, H-a), 4.01 (2s, 6H, H-6' y H-7'), 7.23 (s, 1H, H-3), 7.34 y 7.36 (2s, 2H, H-5 y H-8, intercambiables). **RMN-<sup>13</sup>C (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ):** 14 (C-c), 23.33 (C-b), 40.82 (C-a), 56.22 y 56.31 (C-6' y C-7'), 101.77 (C-5), 107.99 (C-8), 119.55 (C-3), 120.24 (C-4a), 140.61 (C-4), 145.76 (C-8a), 150.06 (C-6), 153.04 (C-7), 160.65 (C-2).

#### 12.1.3.4 Paso 4: Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolina, 2.55.



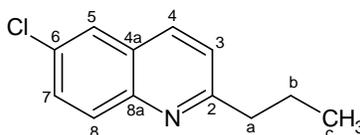
En un recipiente de vidrio especial para hidrogenaciones catalíticas se colocó el compuesto **2.54** (265.74 g/mol, 0.594 g, 2.24 mmoles) disuelto en EtOH absoluto (20 mL), luego TEA (101.19 g/mol, 0.726 g/mL, 0.35 mL, 2.51 mmoles) y 10% en peso del catalizador Pd/C al 10% (0.059 g) respecto al derivado de la 4-cloro-2-propilquinolina, se sometió a una presión inicial de 35  $\text{lp}^2$  de hidrógeno. Se dejó en agitación por 4 h a 26 °C. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido color marrón, el cual fue disuelto en DCM y lavado con agua (3 veces). La capa orgánica fue secada con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose nuevamente un sólido marrón. El producto fue purificado por CCP (20% DCM en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). **PM (g/mol):** 231.29. **Rendimiento (%):** 32 (0.164 g). Líquido marrón claro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3012, 2964,

2939, 1625, 1601, 1506, 1493, 1465, 1258, 1160, 1008, 857. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.98 (t, 3H, H-c), 1.78 (sxt, 2H, H-b), 2.86 (t, 2H, H-a), 3.96 y 3.99 (2s, 6H, H-6' y H-7'), 6.98 (s, 1H, H-5), 7.12 (d,  $J_{3,4} = 8.15$  Hz, 1H, H-3), 7.36 (s, 1H, H-8), 7.87 (d,  $J_{4,3} = 8.40$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.09 (C-c), 23.55 (C-b), 41.14 (C-a), 56.05 y 56.16 (C-6' y C-7'), 105.15 (C-5), 107.80 (C-8), 119.58 (C-3), 122.02 (C-4a), 134.52 (C-4), 144.86 (C-8a), 149.16 (C-6), 152.32 (C-7), 160.65 (C-2).

#### 12.1.4 Método B. Síntesis de 2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

##### 12.1.4.1 Síntesis de 6-cloro-2-propilquinolina, 2.56.

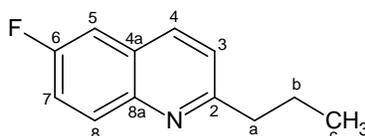
###### Procedimiento general.



La *p*-cloroanilina (127.57 g/mol, 2.695 g, 21.13 mmoles), fue adicionada a una solución de HCl 6N (100 mL) y calentada a 100 °C con agitación. A esa temperatura, se procedió a la adición gota a gota de Tol (15 mL). Seguidamente, se añadió gota a gota el *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 4.150 g, 42.24 mmoles). Este sistema bifásico se dejó en agitación y calentamiento por 120 h. Se dejó que alcanzara temperatura ambiente y se separó la capa orgánica de la acuosa. Esta última fue basificada (pH 12) con una solución concentrada de NaOH y extraída con AcOEt. Esta capa orgánica fue lavada

con agua, secada con  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y el solvente evaporado a presión reducida obteniéndose un sólido marrón, el cual fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -AcOEt). Se aisló un líquido rojizo que pesó 0.630 g que fue nuevamente purificado por CCP (5% de AcOEt en  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ). **PM (g/mol):** 205.68. **Rendimiento (%):** 6 (0.123 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 2964, 2937, 2875, 1601, 1558, 1492, 1458, 1302, 1077, 879, 834. **RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.81 (sxt, 2H, H-b), 2.91 (t, 2H, H-a), 7.28 (d,  $J_{3,4} = 8.46$  Hz, 1H, H-3), 7.56-7.60 (dd,  $J_{7,8} = 8.94$  Hz y  $J_{7,5} = 2.37$  Hz, 1H, H-7), 7.72 (d,  $J_{5,7} = 2.40$  Hz, 1H, H-5), 7.94 (d,  $J = 8.61$  Hz, 2H, H-4 y H-8). **RMN- $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 13.91 (C-c), 23.03 (C-b), 41.16 (C-a), 122.23 (C-3), 126.10 (C-5), 127.29 (C-4a), 130.11 y 130.49 (C-7 y C-8, intercambiables), 131.25 (C-6), 135.13 (C-4), 146.32 (C-8a), 163.21 (C-2).

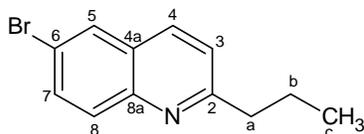
#### 12.1.4.2 6-Flúor-2-propilquinolina, 2.57.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-fluoranilina (111.12 g/mol, 2.874 g, 25.86 mmoles), *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 5.08 g, 51.76 mmoles), HCl 6N (100 mL) y Tol (33 mL). Se aisló un líquido de color negro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -AcOEt). Se aisló un líquido rojizo que pesó 1.090 g que fue nuevamente purificado por CC ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ -AcOEt). **PM (g/mol):** 189.23.

**Rendimiento (%):** 7 (0.328 g). Líquido naranja. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2936, 2875, 1630, 1610, 1566, 1506, 1479, 1230, 1142, 1110, 870, 834. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.81 (sxt, 2H, H-b), 2.90 (t, 2H, H-a), 7.27 (d,  $J_{3,4} = 8.22$  Hz, 1H, H-3), 7.97 (d,  $J_{3,4} = 8.46$  Hz, 1H, H-4), 7.41-7.45 (dd,  $^3J_{5,7} = 8.58$  Hz y  $J_{5,7} = 2.85$  Hz, 1H, H-5), 7.33-7.39 (m,  $^3J_{7,8} = 8.55$  Hz,  $J_{7,8} = 8.55$  Hz y  $J_{7,5} = 2.85$  Hz, 1H, H-7), 7.98-8.02 (dd,  $^4J_{8F} = 5.19$  Hz,  $^4J_{8F} = 5.34$  Hz y  $J_{8,7} = 9.24$  Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (75.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.92 (C-c), 23.09 (C-b), 41.08 (C-a), 110.42 (d,  $^2J_{5F} = 21$  Hz, C5), 119.29 (d,  $^2J_{7F} = 25.50$  Hz, C-7), 122.11 (C-3), 127.19 (d,  $^4J_{4aF} = 9.75$  Hz, C-4a), 131.23 (d,  $^2J_{8F} = 9$  Hz, C-8), 135.43 (d,  $^4J_{4F} = 5.25$  Hz, C-4), 145.01 (C-8a), 161.88 (d,  $^1J_{6F} = 245.25$  Hz, C-6), 162.19 (C-2).

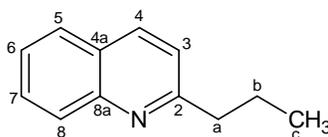
#### 12.1.4.3 6-Bromo-2-propilquinolina, 2.58.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-bromoanilina (172.03 g/mol, 2.572 g, 14,95 mmoles), *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 2.961 g, 30.17 mmoles), HCl 6N (75 mL) y Tol (20 mL). Se aisló un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):** 250.13. **Rendimiento (%):** 19 (0.727 g). Líquido rojo claro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2965, 2875, 1597, 1490, 1302, 1061, 880, 836. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.82 (sxt, 2H, H-b), 2.91 (t, 2H, H-a), 7.28 (d,  $J_{3,4} = 8.49$  Hz, 1H, H-3), 7.71 (dd,  $J_{7,8} = 8.97$  Hz,

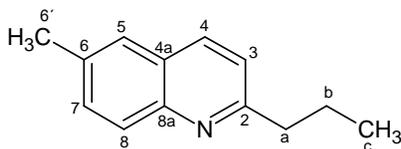
$J_{7,5} = 2.22$  Hz, 1H, H-7), 7.89 (d,  $J_{5,7} = 2.25$  Hz, 1H, H-5), 7.89 (d,  $J_{8,7} = 9.21$  Hz, 1H, H-8), 7.94 (d,  $J = 8.49$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ)**: 13.94 (C-c), 23.03 (C-b), 41.21 (C-a), 119.32 (C-6), 122.23 (C-3), 127.86 (C-4a), 129.48 (C-5), 130.64 (C-8), 132.68 (C-7), 135.07 (C-4), 146.53 (C-8a), 163.39 (C-2).

#### 12.1.4.4 2-Propilquinolina, 2.59.



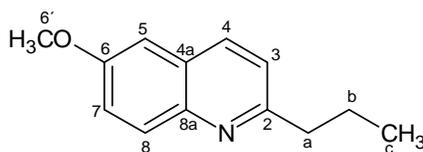
La acetanilida (135.16 g/mol, 1.918 g, 14.19 mmoles) fue desprotegida empleando HCl 6N (70 mL) por 3 h a 100 °C. Luego, se procedió a la adición gota a gota del Tol (20 mL) e inmediatamente, la adición lenta de *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 1.395 g, 14.22 mmoles). Se obtuvo un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol)**: 171.23. **Rendimiento (%)**: 18 (0.447 g). Líquido amarillo. **Pe (°C)**: ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>)**: 3064, 2964, 2936, 2875, 1619, 1602, 1564, 1506, 1427, 1314, 1120. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ)**: 1.00 (t, 3H, H-c), 1.83 (sxt, 2H, H-b), 2.93 (t, 2H, H-a), 7.27 (d,  $J_{3,4} = 8.43$  Hz, 1H, H-3), 7.45 (td,  $J_{6,5} = 8.43$  Hz,  $J_{6,7} = 8.43$  Hz y  $J_{6,8} = 1.11$  Hz, 1H, H-6), 7.65 (td,  $J_{7,5} = 8.43$  Hz,  $J_{6,7} = 8.43$  Hz y  $J_{6,8} = 1.47$  Hz, 1H, H-7), 7.74 (dd,  $J_{5,6} = 8.16$  Hz y  $J_{5,7} = 1.11$  Hz, 1H, H-5), 8.03 (d,  $J_{8,7} = 8.34$  Hz, 1H, H-8), 8.02 (d,  $J = 8.34$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ)**: 13.98 (C-c), 23.27 (C-b), 41.26 (C-a), 121.36 (C-3), 126.68 (C-4a), 127.44 (C-5), 128.78 (C-8), 129.27 (C-7), 136.12 (C-4), 147.86 (C-8a), 162.87 (C-2).

#### 12.1.4.5 6-Metil-2-propilquinolina, 2.60.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-toluidina (107.16 g/mol, 2.736 g, 25.53 mmoles), *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 4.991 g, 50.86 mmoles), HCl 6N (100 mL) y Tol (33 mL). Se aisló un líquido rojizo que peso 2.436 g, el cual fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):**185.26. **Rendimiento (%):** 12 (0.565 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2964, 2936, 2874, 1602, 1564, 1498, 1122, 882, 839. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.02 (t, 3H, H-c), 1.84 (sxt, 2H, H-b), 2.52 (s, 3H, H-6'), 2.93 (t, 2H, H-a), 7.25 (d, *J*<sub>3,4</sub> = 8.37 Hz, 1H, H-3), 7.51 (dd, *J*<sub>7,8</sub> = 8.46 Hz y *J*<sub>7,5</sub> = 2.01 Hz, 1H, H-7), 7.52 (sa, 1H, H-5), 7.94 (d, *J*<sub>8,7</sub> = 9.15 Hz, 1H, H-8), 7.97 (d, *J*<sub>4,3</sub> = 8.73 Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.96 (C-c), 21.41 (C-6'), 23.23 (C-b), 41.20 (C-a), 121.30 (C-3), 126.33 (C-5), 126.73 (C-4a), 128.55 (C-8), 131.47 (C-7), 135.30(C-6), 135.44 (C-4), 146.53 (C-8a), 161.90 (C-2).

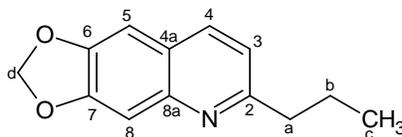
#### 12.1.4.6 6-Metoxi-2-propilquinolina, 2.61.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-anisidina (123.16 g/mol, 2.523 g, 20.49 mmoles), *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol 4.061 g, 41.38 mmoles), HCl 6N (100 mL) y Tol (20 mL). Se aisló un líquido

rojizo claro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):** 201.26. **Rendimiento (%):** 23 (0.950 g). Aceite amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3015, 2963, 1626, 1602, 1503, 1483, 1464, 1379, 1162, 1116, 1032, 855, 834. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.98 (t, 3H, H-c), 1.80 (sxt, 2H, H-b), 2.88 (t, 2H, H-a), 3.88 (s, 3H, H-6'), 7.01 (d,  $J_{7,5} = 1.62$  Hz, 1H, H-5), 7.21 (d,  $J_{5,7} = 5.07$  Hz, 1H, H-3), 7.30 (dd,  $J_{7,8} = 5.52$  Hz y  $J_{7,5} = 1.68$  Hz, 1H, H-7), 7.91 (d,  $J_{8,7} = 5.52$  Hz, 1H, H-8), 7.93 (d,  $J_{4,3} = 4.98$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.95 (C-c), 23.30 (C-b), 40.96 (C-a), 55.44 (C-6'), 105.17 (C-5), 121.57 y 121.73 (C-3 y C-7, intercambiables), 127.51 (C-4a), 130.16 (C-8), 134.98 (C-4), 143.88 (C-8a), 157.11 (C-6), 160.29 (C-2).

#### 12.1.4.7 6,7-Metilendioxi-2-propilquinolina, 2.62.

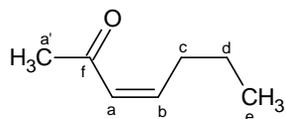


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 3,4-metilendioxianilina (137.14 g/mol, 2.392 g, 17.45 mmoles), *trans*-2-hexenal (98.14 g/mol, 3.384 g, 34.48 mmoles), HCl 6N (80 mL) y Tol (20 mL). Se aisló un líquido rojizo claro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):** 215.25. **Rendimiento (%):** 39 (1.463 g). Sólido amarillo. **Pf (°C):** 99-101. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2935, 1621, 1516, 1503, 1464, 1439, 1402, 1247, 1172, 1041, 944, 862. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.98 (t, 3H, H-c), 1.79 (sxt, 2H, H-b), 2.84 (t, 2H, H-a), 6.04 (t, 2H,

Hd), 6.98 (s, 1H, H-5), 7.11 (d,  $J_{3,4} = 8.31$  Hz, 1H, H-3), 7.31 (s, 1H, H-8), 7.83 (d,  $J_{4,3} = 8.31$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.02 (C-c), 23.41 (C-b), 40.94 (C-a), 101.51 (C-d), 102.64 (C-5), 105.51 (C-8), 119.54 (C-3), 123.34 (C-4a), 135.05 (C-4), 146.07 (C-8a), 147.10 (C-6), 150.48 (C-7), 160.61 (C-2). **IES-EM (m/z):** 216.50 (M + H<sup>+</sup>).

### 12.1.5 Método B. Síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

#### 12.1.5.1 Síntesis (3E)-hept-3-en-2-ona (Aducto Wittig), 2.63.

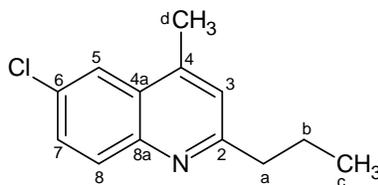


El metilcarbonilmetilentrifenilfosforano (318.34 g/mol, 37.383 g, 117 mmoles), sintetizado con un rendimiento del 99% a partir de la desprotonación de la sal de fosfonio formada entre cloroacetona y PPh<sub>3</sub>, fue adicionado en tres porciones a 100 mL de una solución de butiraldehído (72.11 g/mol, 7.523 g, 104 mmoles) en DCM bajo atmósfera de nitrógeno a una temperatura entre 40-50 °C y mantenido en agitación constante por 5 días. Se evaporó el DCM a presión reducida. Se adicionó pentano al crudo de reacción para precipitar la mayor cantidad de OPPh<sub>3</sub> y luego el sólido fue eliminado por filtración y el solvente evaporado, obteniéndose un líquido amarillo de olor dulce. **PM (g/mol):** 112.17. **Rendimiento (%):** 94 (10.99 g). Líquido amarillo claro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3016, 2964, 2934, 2876, 1692, 1668, 1626, 1362, 1262, 978. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.90 (t, 3H, H-e), 1.45 (sxt, 2H, H-d),

2.17 (c, 2H, H-c), 2.21 (s, 3H, H-a'), 6.02 (d,  $J_{trans} = 16.06$  Hz, 1H, H-a), 6.73.-6.78 (dt,  $J_{trans} = 16.06$  Hz, H-b). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 13.71 (C-e), 21.39 (C-d), 26.85 (C-a'), 34.49 (C-c), 131.47 (C-a), 148.35 (C-b), 198.75 (C-f).

### 12.1.5.2 Síntesis de 6-cloro-4-metil-2-propilquinolina, 2.64.

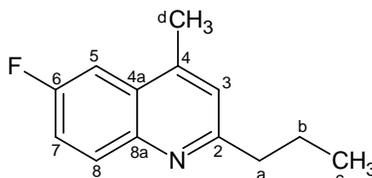
#### Procedimiento general.



La *p*-cloroanilina (127.57 g/mol, 0.186 g, 1.46 mmoles) fue agregada lentamente a una solución de HCl 6N (7 mL). La solución resultante fue calentada a 100 °C. A esta temperatura, se procedió a la adición de Tol (3 mL) gota a gota. Seguidamente, se añadió gota a gota **2.63** (112.16 g/mol, 0.326 g, 2.90 mmoles). Este sistema bifásico se dejó en agitación y calentamiento por 48 h. Se dejó que alcanzara temperatura ambiente y se separó la capa orgánica de la acuosa. Esta última fue neutralizada con una solución concentrada de NaOH para dar un sólido marrón, el cual fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 219.71. **Rendimiento (%):** 56 (0.181 g). Aceite marrón. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2874, 1604, 1559, 1496, 1438, 1217, 1093, 874, 832. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.80 (sxt, 2H, H-b), 2.61 (s, 3H, H-d), 2.85 (t, 2H, H-a), 7.12 (s, 1H, H-3), 7.57 (dd,  $J_{7,8} = 8.91$  Hz y  $J_{7,5} = 2.24$  Hz, 1H, H-7), 7.87 (d,  $J_{7,5} = 2.21$  Hz, 1H, H-5), 7.94 (d,  $J_{8,7} = 8.91$  Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.10

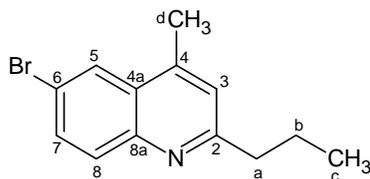
(C-c), 18.68 (C-d), 23.20 (C-b), 41.17 (C-a), 122.80 y 122.92 (C-3 y C-5, intercambiables), 127.62 (C-4a), 129.84 (C-7), 131.01 (C-8), 131.22 (C-6), 143.42 (C-4), 146.22 (C-8a), 162.98 (C-2).

### 12.1.5.3 6-Flúor-4-metil-2-propilquinolina, 2.65.



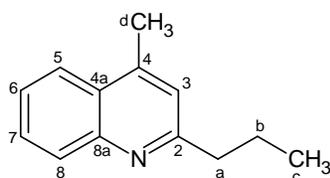
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-fluoranilina (112.12 g/mol, 1.559 g, 13.90 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 3.139 g, 27.99 mmoles) HCl 6N (70 mL) y Tol (18 mL). Se aisló un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 203.26. **Rendimiento (%):** 10 (0.296 g). Líquido marrón oscuro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2874, 1624, 1610, 1560, 1515, 1232, 1174, 935, 873, 833. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.00 (t, 3H, H-c), 1.81 (sxt, 2H, H-b), 2.60 (s, 3H, H-d), 2.86 (t, 2H, H-a), 7.14 (s, 1H, H-3), 7.37-7.45 (td, <sup>3</sup>J<sub>7F</sub> = 8.23 Hz, J<sub>7,8</sub> = 9.07 Hz y J<sub>7,5</sub> = 2.88 Hz, 1H, H-7), 7.49-7.54 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5F</sub> = 9.88 Hz y J<sub>5,7</sub> = 2.88 Hz, 1H, H-5), 7.98-8.04 (dd, <sup>4</sup>J<sub>8F</sub> = 5.77 Hz, <sup>4</sup>J<sub>8F</sub> = 5.34 Hz y J<sub>8,7</sub> = 9.50 Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.07 (C-c), 18.74 (C-d), 23.24 (C-b), 41.09 (C-a), 107.23 (d, <sup>2</sup>J<sub>5F</sub> = 21.79, C-5), 118.90 (d, <sup>2</sup>J<sub>7F</sub> = 25.42, C-7), 122.71 (C-3), 127.59 (d, C-4a), 131.74 (d, <sup>3</sup>J<sub>8F</sub> = 9.34, C-8), 143.58 (d, <sup>3</sup>J<sub>4F</sub> = 5.70, C-4), 144.89 (C-8a), 160.04 (d, <sup>1</sup>J<sub>6F</sub> = 249.12, C-6), 161.88 (C-2).

#### 12.1.5.4 6-Bromo-4-metil-2-propilquinolina, 2.66.



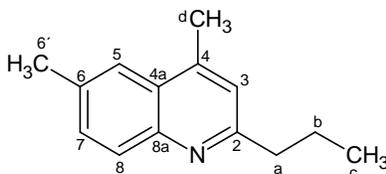
Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-bromoanilina (172.03 g/mol, 1.611 g, 9.36 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 2.019 g, 18.00 mmoles), HCl 6N (47 mL) y Tol (12 mL). Se obtuvo un líquido naranja que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 264.16. **Rendimiento (%):** 33 (0.822 g). Aceite amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2964, 2874, 1602, 1558, 1493, 1437, 1383, 1073, 877, 831. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.81 (sxt, 2H, H-b), 2.61 (s, 3H, H-d), 2.87 (t, 2H, H-a), 7.13 (s, 1H, H-3), 7.69-7.72 (dd, *J*<sub>7,8</sub> = 8.91 Hz y *J*<sub>7,5</sub> = 1.97 Hz, 1H, H-7), 7.90 (d, *J*<sub>8,7</sub> = 8.91 Hz, 1H, H-8), 8.06 (d, *J*<sub>5,7</sub> = 1.99 Hz, 1H, H-5). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.10 (C-c), 18.73 (C-d), 23.19 (C-b), 41.07 (C-a), 119.50 (C-6), 122.93 (C-3), 126.17 (C-5), 128.17 (C-4a), 131.02 (C-8), 132.54 (C-7), 143.62 (C-4), 146.21 (C-8a), 163.09 (C-2). **DEPT-135 (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** C-c, C-d (CH<sub>3</sub>); C-3, C-5, C-8, C-7 (CH); C-a, C-b, (CH<sub>2</sub>).

#### 12.1.5.5 4-Metil-2-propilquinolina, 2.67.



La acetanilida (135.16 g/mol, 1.903 g, 14.08 mmoles) fue desprotegida empleando HCl 6N (70 mL) por 3 h a 100 °C. Luego, se procedió a la adición gota a gota del Tol (18 mL) e inmediatamente, la adición lenta de **2.63** (112.16 g/mol, 3.187 g, 28.41 mmoles). Se obtuvo un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-AcOEt). **PM (g/mol):** 185.26. **Rendimiento (%):** 62 (1.617 g). Líquido amarillo. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2962, 2935, 1605, 1563, 1510, 1449, 1413, 1092, 871. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.00 (t, 3H, H-c), 1.82 (sxt, 2H, H-b), 2.65 (s, 3H, H-d), 2.88 (t, 2H, H-a), 7.12 (s, 1H, H-3), 7.47-7.51 (td,  $J_{6,5} = J_{6,7} = 8.18$  Hz y  $J_{6,8} = 1.24$  Hz, 1H, H-6), 7.62-7.68 (td,  $J_{7,6} = J_{7,8} = 8.40$  Hz y  $J_{7,5} = 1.49$  Hz, 1H, H-7), 7.91-7.95 (dd,  $J_{5,6} = 8.42$  Hz, y  $J_{5,7} = 0.97$  Hz, 1H, H-5), 8.01-8.05 (dd,  $J_{8,7} = 8.64$  Hz y  $J_{8,6} = 0.73$  Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.16 (C-c), 18.79 (C-d), 23.40 (C-b), 41.27 (C-a), 122.19 (C-3), 123.67 (C-5), 125.48 (C-6), 126.87 (C-4a), 129.10 (C-7), 129.38 (C-8), 144.25 (C-4), 147.77 (C-8a), 162.66 (C-2). **HETCOR (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Mostró las correlaciones entre protones y carbonos esperados.

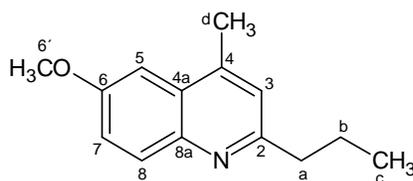
#### 12.1.5.6 4,6-Dimetil-2-propilquinolina, 2.68.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-toluidina (107.16 g/mol, 1.347 g, 12.57 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 2.831 g, 25.24 mmoles), HCl 6N (63 mL) y Tol (16 mL). Se aisló un líquido marrón que

fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 199.29. **Rendimiento (%):** 54 (1.360 g). Líquido amarillo oscuro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2934, 2874, 1605, 1561, 1508, 1456, 881. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.00 (t, 3H, H-c), 1.81 (sxt, 2H, H-b), 2.52 (s, 3H, H-6'), 2.62 (s, 3H, H-d), 2.85 (t, 3H, H-a), 7.07 (s, 1H, H-3), 7.46-7.49 (dd, *J*<sub>7,8</sub> = 8.66 Hz y *J*<sub>7,5</sub> = 1.65 Hz, 1H, H-7), 7.67 (sa, 1H, H-5), 7.91 (d, *J*<sub>8,7</sub> = 8.64 Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.07 (C-c), 18.70 (C-d), 21.78 (C-6'), 23.30 (C-b), 41.16 (C-a), 122.10 y 122.65 (C-3 y C-5, intercambiables), 126.78 (C-4a), 129.14 (C-8), 131.13 (C-7), 135.09 (C-6), 143.42 (C-4), 146.32 (C-8a), 161.59 (C-2). **IES-EM (m/z):** 201.50 (M + H<sup>+</sup>).

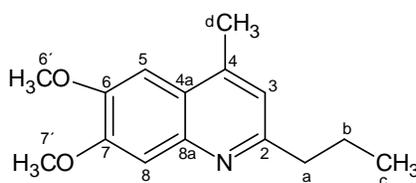
#### 12.1.5.7 6-Metoxi-4-metil-2-propilquinolina, 2.69.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: *p*-anisidina (123.16 g/mol, 2.035 g, 16.52 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 3.966 g, 35.36 mmoles), HCl 6N (80 mL) y Tol (22 mL). Se aisló un líquido marrón que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 215.29. **Rendimiento (%):** 35 (1.252 g). Aceite denso marrón. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3009, 2962, 2937, 2874, 1624, 1606, 1512, 1465, 1245, 1036, 833. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.99 (t, 3H, H-c), 1.80 (sxt, 2H, H-b), 2.60 (s, 3H, H-d), 2.84 (t, 3H, H-a), 3.91 (s, 3H, H-6'), 7.08 (s, 1H, H-3), 7.14 (d, *J*<sub>5,7</sub> = 2.89 Hz, 1H, H-5), 7.29-7.33 (dd, *J*<sub>7,8</sub> = 9.07 Hz y *J*<sub>7,5</sub>

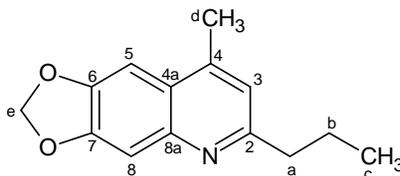
= 2.89 Hz, 1H, H-7), 7.93 (d,  $J_{8,7} = 9.07$  Hz, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.06 (C-c), 18.85 (C-d), 23.33 (C-b), 40.97 (C-a), 55.55 (C-6'), 102.23 (C-5), 120.90 (C-7), 122.32 (C-3), 127.58 (C-4a), 130.86 (C-8), 142.71 (C-4), 143.73 (C-8a), 157.14 (C-6), 160.02 (C-2). **IES-EM (m/z):** 216.00 (M + H<sup>+</sup>).

#### 12.1.5.8 6,7-Dimetoxi-4-metil-2-propilquinolina, 2.70.



Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 3,4-dimetoxianilina (153.18 g/mol, 0.696 g, 4.54 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 1.009 g, 9.00 mmoles), HCl 6N (23 mL) y Tol (6 mL). Se aisló un aceite negro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 245.32. **Rendimiento (%):** 47 (0.520 g). Aceite marrón claro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3013, 2963, 2937, 2874, 1624, 1603, 1509, 1490, 1465, 1432, 1254, 1151, 856. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.98 (t, 3H, H-c), 1.77 (sxt, 2H, H-b), 2.58 (s, 3H, H-d), 2.82 (t, 2H, H-a), 3.99 (2s, 6H, H-6' y H-7'), 6.98 (s, 1H, H-3), 7.08 (s, 1H, H-5), 7.37 (s, 1H, H-8). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.14 (C-c), 18.97 (C-d), 23.57 (C-b), 41.04 (C-a), 56.02 y 56.13 (C-6' y C-7', intercambiables), 101.68 (C-5), 108.28 (C-8), 120.57 (C-3), 121.77 (C-4a), 142.50 (C-4), 144.68 (C-8a), 148.85 (C-6), 151.91 (C-7), 160.44 (C-2). **DEPT-135 (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** Cc, Cd, C6', C7' (CH<sub>3</sub>); C3, C8, C5 (CH); Ca, Cb, (CH<sub>2</sub>). **IES-EM (m/z):** 246.50 (M + H<sup>+</sup>).

### 12.1.5.9 6,7-Metilendioxi-4-metil-2-propilquinolina, 2.71.

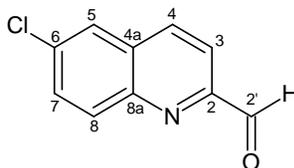


Se siguió el procedimiento general empleando las siguientes cantidades: 3,4-metilendioxi-anilina (137.14 g/mol, 1.737 g, 12.67 mmoles), **2.63** (112.16 g/mol, 2.835 g, 25.28 mmoles), HCl 6N (63 mL) y Tol (16 mL). La reacción se dejó por 24 h. Se aisló un aceite marrón oscuro que fue purificado por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). **PM (g/mol):** 229.27. **Rendimiento (%):** 40 (1.152 g). Líquido marrón claro. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2963, 2934, 2874, 1623, 1522, 1503, 1470, 1447, 1238, 1042, 947, 865, 852. **RMN- <sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 0.98 (t, 3H, H-c), 1.77 (sxt, 2H, H-b), 2.54 (s, 3H, H-d), 2.80 (t, 2H, H-a), 6.05 (s, 2H, H-e), 6.98 (s, 1H, H-3), 7.17 (s, 1H, H-5), 7.33 (s, 1H, H-8). **RMN- <sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 14.12 (C-c), 19.19 (C-d), 23.46 (C-b), 40.87 (C-a), 99.39 (C-e), 101.56 (C-5), 105.98 (C-8), 120.66 (C-3), 123.23 (C-4a), 143.00 (C-4), 145.91 (C-8a), 147.15 (C-6), 150.11 (C-7), 160.38 (C-2). **IES-EM (m/z):** 230.04 (M + H<sup>+</sup>).

### 12.1.6 Síntesis de intermediarios para la obtención de 2-alquildiaminoquinolina.

#### 12.1.6.1 Síntesis de quinolin-2-carbaldehídos.

### 12.1.6.1.1 Síntesis de 6-cloroquinolin-2-carbaldehído, 2.72.

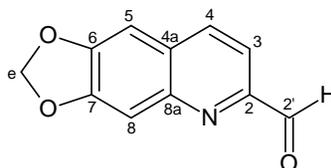


El dioxano (10 mL), el  $\text{SeO}_2$  sublimado (110.96 g/mol, 0.221 g, 1.99 mmoles) y agua (0.5 mL) fueron calentados y cuando la temperatura alcanzó los 95 °C, se adicionó **2.48** (177.63 g/mol, 0.236 g, 1.33 mmoles) con agitación. Luego, la temperatura del baño de reacción se incrementó a 150 °C y se dejó por 2 h. Durante este tiempo, se observó la formación de un sólido rojo oscuro<sup>27</sup>. El progreso de la reacción fue observado por CCF (DCM). La reacción fue filtrada en caliente para remover el sólido formado. Se evaporó el dioxano y se adicionó agua y  $\text{NaHCO}_3$  sólido hasta no observarse más efervescencia. Se realizaron extracciones con DCM (3 veces). La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con  $\text{MgSO}_4$  y el solvente evaporado a presión reducida aislándose un sólido marrón-rojizo que fue purificado por CCP (50%  $\text{C}_6\text{H}_{14}$  en DCM). **PM (g/mol):** 191.61. **Rendimiento (%):** 51 (0.129 g). Sólido naranja claro. **Pf (°C):** 135-136. **IR ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ):** 3029, 2989, 2842, 1713, 1606, 1560, 1494, 1458, 1376, 1117, 1071, 882, 834. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ):** 7.74 (dd,  $J_{7,8} = 9.15$  Hz y  $J_{7,5} = 2.2$  Hz, 1H, H-7), 7.87 (d,  $J_{7,5} = 2.21$  Hz, 1H, H-5), 8.03 (d,  $J_{3,4} = 8.64$  Hz, 1H, H-3), 8.17 (d,  $J_{8,7} = 9.39$  Hz, 1H, H-8), 8.21 (d,  $J_{4,3} = 8.42$  Hz, 1H, H-4), 10.18 (s, 1H, H-2'). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz,**

<sup>27</sup>En algunas ocasiones, se observa la precipitación de un sólido negro muy fino en la reacción.

**CDCl<sub>3</sub>, δ):** 118.34 (C-3), 126.63 (C-5), 130.64 (C-4a), 131.64 (C-7), 132.05 (C-8), 135.33 (C-6), 136.53 (C-4), 146.36 (C-8a), 152.78 (C-2), 193.38 (C-2').

#### 12.1.6.1.2 6,7- Metilendioxiquinolin-2-carbaldehído, 2.73.

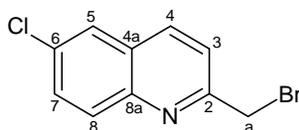


El dioxano (10 mL) y el SeO<sub>2</sub> sublimado (110.96 g/mol, 0.135 g, 1.22 mmoles) fueron calentados a reflujo e inmediatamente, se adicionó **2.48** (177.63 g/mol, 0.236 g, 1.33 mmoles) con agitación. La reacción fue seguida por CCF (DCM). Después de 3 h, se dejó que la suspensión alcanzara los 80 °C y se agregó NaHCO<sub>3</sub> sólido. Se filtró a través de una mezcla de Celite 541 y Florisil®. Se evaporó el solvente a presión reducida aislándose un líquido de color marrón que pesó 1.320 g, mayor de lo esperado. Se purificó por CC empleando una mezcla de polaridad creciente (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>-DCM). Se obtuvo un sólido amarillo. **PM (g/mol):** 201.18 **Rendimiento (%):** 31 (0.075 g). **Pf (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3023, 2909, 2839, 1705, 1503, 1470, 1262, 1132, 1040, 968, 942, 865. **RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 6.15 (s, 1H, H-e), 7.09 (s, 1H, H-5), 7.45 (s, 1H, H-8), 7.86 (d, *J*<sub>3,4</sub> = 8.40 Hz, 1H, H-3), 8.05 (d, *J*<sub>4,3</sub> = 8.40 Hz, 1H, H-4), 10.12 (s, 1H, H-2'). **RMN-<sup>13</sup>C (67.94 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 102.35 (C-e), 102.79 (C-5), 106.34 (C-8), 116.40 (C-3), 128.14 (C-4a), 135.74(C-4), 146.45 (C-8a), 150.21 (C-6), 150.84 (C-7), 151.68 (C-2), 193.71 (C-2').

### 12.1.6.2 Síntesis de 2-(bromometil)quinolina sustituida en las posiciones 6 y/o 7.

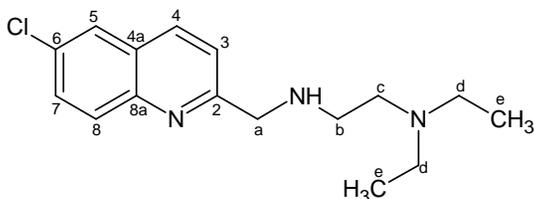
#### 12.1.6.2.1 Síntesis de 2-(bromometil)-6-cloroquinolina, 2.74.

##### Procedimiento general.



El compuesto **2.48** (177.63 g/mol, 0.170 g, 0.96 mmoles) fue disuelto en ACN (5 mL). Se adicionó NBS sólido (177.98 g/mol, 0.204 g, 1.15 mmoles) y la solución fue irradiada con un bombillo de 250 vatios por 5 h y luego calentada a 90 °C por 4 h. Se dejó que alcanzara temperatura ambiente y se evaporó el ACN a presión reducida obteniéndose un sólido marrón que fue purificado por CCP (5% AcOEt en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>). **PM (g/mol):** 256.53. **Rendimiento (%):** 41 (0.100 g). Sólido blanco. **Pf (°C):** 133-135. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 2974, 1598, 1560, 1492, 1465, 1374, 1303, 1206, 1124, 1076, 880, 834. **RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 4.67 (s, 2H, H-a), 7.56 (d,  $J_{3,4} = 8.52$  Hz, 1H, H-3), 7.64 (dd,  $J_{7,8} = 9.00$  Hz y  $J_{7,5} = 2.34$  Hz, 1H, H-7), 7.77 (d,  $J_{5,7} = 2.05$  Hz, 1H, H-5), 7.98 (d,  $J_{8,7} = 9$  Hz, 1H, H-8), 8.06 (d,  $J_{4,3} = 8.55$  Hz, 1H, H-4). **RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 34.06 (C-a), 122.07 (C-3), 126.19 (C-5), 127.85 (C-4a), 130.84 y 130.88 (C-7 y C-8), 132.81(C-6), 136.35 (C-4), 145.84 (C-8a), 157.20 (C-2).

**12.1.6.2.2 Síntesis de 2-dietilaminoetilendiaminometilen-6-cloroquinolina,  
2.75.**



El compuesto **2.74** (256.53 g/mol, 0.111 g, 0.43 mmoles), junto la *N,N*-dietil-etilendiamina (116.21 g/mol, 0.827 g/mL, 0.12 mL, 0.85 mmoles) fueron disueltas en ACN (10 mL) y la reacción calentada a 65 °C por 22 h. Una vez que la reacción alcanzó temperatura ambiente, se evaporó el solvente a presión reducida y el crudo de reacción fue redisolto el DCM. La capa orgánica fue lavada con agua (3 veces), secada con MgSO<sub>4</sub>, filtrada y el solvente eliminado a presión reducida obteniéndose un aceite de color rojizo siendo purificado por CCP (1% de MeOH en DCM). **PM (g/mol):** 291.82 **Rendimiento (%):** 40 (0.052 g). Aceite amarillo denso. **Pe (°C):** ND. **IR (CHCl<sub>3</sub>, cm<sup>-1</sup>):** 3380, 3000, 2960, 1640, 1500, 1480, 1170, 1050, 900, 860. **RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 1.07 (t, 6H, H-e), 2.61 (q, 4H, H-d), 2.71 (t, 2H, H-c), 3.56 (q, 2H, H-b), 7.66 (dd,  $J_{7,8} = 9.00$  Hz y  $J_{7,5} = 2.30$  Hz, 1H, H-7), 7.82 (d,  $J_{5,7} = 2.25$  Hz, 1H, H-5), 8.02 (d,  $J_{8,7} = 9.00$  Hz, 1H, H-8), 8.18 (d,  $J_{3,4} = 8.55$  Hz, 1H, H-3), 8.29 (d,  $J_{4,3} = 8.50$  Hz, 1H, H-4), 8.55 (sa, 1H, NH). **RMN-<sup>13</sup>C (125.72 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ):** 12.07 (C-e), 37.51 (C-c), 47.22 (C-d), 51.75 (C-a y C-b), 119.77 (C-3), 126.35 (C-5), 129.74 (-C4a), 130.97 (C-7), 131.36 (C-8), 133.64 (C-6), 136.38 (C-4), 150.31 (C-8a), 164.13 (C-2). **DEPT-135 (127.52 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** C-d (CH<sub>3</sub>); C-3, C-4, C-5, C-7, C-8, (CH); C-b, C-c, C-d (CH<sub>2</sub>). **IES-EM (m/z):** 235.50 (M<sup>+</sup>-(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

## **12.2 Sección biológica. Evaluación *in vitro* de la actividad leishmanicida en promastigotes de *L. mexicana* de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas.**

### **12.2.1 Equipos, materiales y reactivos.**

Microscopio Nikon Eclipse E400, campana de flujo laminar (Nuair), balanza analítica (Beckman), pHmetro (Beckman), placas de ELISA de 96 pozos (Falcon), lámina de cubreobjetos y portaobjetos, medio RPMI 1640 (Sigma), suero fetal bovino (Suermer), NaHCO<sub>3</sub> (Riedel-de Haën), NaCl (Riedel-de-Haën), NaOH (Riedel-de-Haën), DMSO (Riedel-de Haën), colorante supravital azul de tripano (Sigma), Gentamicina (Genven), Penicilina (Genven), Estreptomina (Genven), Glucantime (Aventis).

### **12.2.2 Composición del medio de cultivo.**

**12.2.2.1** Se preparó el medio de cultivo denominado infusión cerebro-corazón (en inglés, *Brain Heart Infusión* BHI) constituido por: Infusión de cerebro de ternero (200 g/L), infusión de corazón de res (250 g/L), bacto agar (15 g/L), bacto dextrosa (2 g/L), bacto proteasa peptona (10 g/L), NaCl (5 g/L) y fosfato disódico (2.5 g/L).

**12.2.2.2** Se disolvió BHI (52 g) en agua destilada (1 L) previamente calentada a 100 °C.

**12.2.2.3** Se esterilizó (121-124 °C) durante 15 min, ajustándose el pH a  $7.4 \pm 0.2$  con una solución de NaOH (0.1 N)

**12.2.2.4** Luego, el medio fue suplementado con una solución salina glucosada (0.85% de NaCl y 1% de glucosa) en presencia de los antibióticos: Gentamicina, penicilina y estreptomicina (0.1 mg/mL de cada uno).

### **12.2.3 Parásitos y mantenimiento de las cepas.**

Para la realización de los ensayos, se emplearon formas promastigotes de *L. mexicana* cepa Bel 21. Las cepas fueron mantenidas en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino (SFB) descomplementado al 10%, NaHCO<sub>3</sub> (5%) y gentamicina (100 µg/mL). De esta forma, se logró la adaptación de los parásitos al medio de cultivo para su posterior ensayo de viabilidad.

### **12.2.4 Preparación de las soluciones de los derivados quinolínicos.**

Los derivados quinolínicos fueron disueltos 1 mL de DMSO. Luego se realizaron varias diluciones hasta obtener distintas concentraciones para realizar las evaluaciones: 1.25 µg/mL, 2.5 µg/mL, 12.5 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL y 1000 µg/mL. Las soluciones fueron almacenadas a 8 °C.

### **12.2.5 Actividad leishmanicida *in vitro*.**

**12.2.5.1** Se utilizaron placas de ELISA de 96 pozos. Se emplearon 2 pozos como controles: A) En el primero, se adicionó RPMI 1640 (100 µL) y B) En el segundo, se adicionó RPMI conteniendo 1% de DMSO. En el resto de los pozos, se adicionaron los derivados quinolínicos (100 µL) a las concentraciones indicadas en el apartado **12.2.4**. El Glucantime fue utilizado como compuesto de referencia y control positivo. La concentración final de DMSO en el medio de

cultivo nunca excedió del 1% y no tiene efecto sobre la proliferación extracelular.

**12.2.5.2** Se añadieron los parásitos (100  $\mu$ L) ajustados a  $1 \times 10^5$  parásitos/mL en cada uno de los pozos.

**12.2.5.3** La placa fue incubada a temperatura ambiente por 4 h.

**12.2.5.4** Método de Brener (203): Después de este tiempo, se procedió a la coloración de la placa con un colorante supravital tal como azul de tripano y al conteo de los parásitos. La cuantificación del número de organismos vivos por mililitro de medio de cultivo se realizó de la siguiente manera: A) Sobre un vidrio de reloj, se mezcló el contenido del pozo de cultivo (5  $\mu$ L) con el colorante supravital azul de tripano (5  $\mu$ L). Después de 5 min a 27 °C, la mezcla (5  $\mu$ L) fue depositada en una lámina portaobjetos y cubierta con un cubreobjetos (22 mm x 22 mm) presionando suavemente hasta observar una superficie homogénea. Luego, bajo el microscopio de luz (400 X), se procedió al conteo de los parásitos con citoplasma sin tinción azulada<sup>28</sup> y se determinó el número de parásitos por volumen (parásitos/mL).

**12.2.5.5** El apartado 12.2.5.4 fue repetido a las 6, 8, 24, 48 y 72 h.

**12.2.5.6** Para cada experimento, la concentración de cada compuesto fue ensayada por triplicado en dos tiempos diferentes.

**12.2.5.7** Se determinó el porcentaje de viabilidad y mortalidad. Se utilizó el porcentaje de viabilidad para determinar la  $CI_{50}$ .

---

<sup>28</sup>La ecuación que permitió calcular el número de parásitos/mL fue la siguiente:  $OC \times Fm \times Fd$ , donde, OC (número de parásitos contados, Fm (factor del microscopio) y Fd (factor de dilución).

### 12.3 Sección Modelado Molecular. Estudio de la relación cuantitativa entre la estructura química-actividad biológica (QSAR) de una serie de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina.

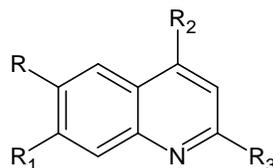
#### 12.3.1 Programas computacionales y servidor web.

Todos los programas fueron ejecutados en un computador personal *Siragon All in one* MT-1900 Series con un procesador Intel (R) Core (TM)i3 (3.20 GHz) **A)** Programa de modelado molecular *CAChe WorkSystem Pro* versión 6.01 (CAChe group, Fujitsu America) **B)** Programa *CAChe ProjectLeader* (CAChe WorkSystem Pro versión 6.01, CAChe group, Fujitsu America), **C)** Programa *MS Modeling* versión 3.2.0.0 (Accelrys) **D)** Programa de estadística *Minitab 16* (Minitab Inc.) (Demo), **E)** Programa *Accord* para *Excel* versión 7.1.5 (Accelrys) (Demo) **F)** Cálculo de  $pCl_{50}$ : <http://www.sanjeevslab.org/tools-IC50.html>.

#### 12.3.2 Selección de la serie de exploración.

La serie de exploración consistió de 14 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina. Los datos de actividad biológica fueron expresados como  $pCl_{50}$  ( $\text{Log } 1/Cl_{50}$ ). Los compuestos seleccionados junto con sus valores de  $Cl_{50}$  y  $pCl_{50}$  son mostrados en la Tabla 2.1. Se seleccionó el compuesto **2.67** como compuesto de la serie de prueba, mientras que el resto de los compuestos conformaron la serie de entrenamiento.

**Tabla 2.1** Serie de exploración: Derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina.



Compuesto <sup>a</sup>	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Cl <sub>50</sub> (μM)	pCl <sub>50</sub>
2.50	Br	H	H	CH <sub>3</sub>	2269.41	2.64
2.49	H	H	H	CH <sub>3</sub>	17.46	4.76
2.47	OCH <sub>2</sub> O		H	CH <sub>3</sub>	1024.05	2.99
2.51	F	H	H	CH <sub>3</sub>	2133.05	2.67
2.55	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	86.47	4.06
2.59	H	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	430.97	3.37
2.57	F	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	452.88	3.34
2.62	OCH <sub>2</sub> O		H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	6.97	5.16
2.61	OCH <sub>3</sub>	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	389.63	3.41
2.68	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	58.21	4.24
2.65	F	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	161.01	3.79
2.69	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	91.50	4.04
2.67	H	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	204.57	3.69
2.64	Cl	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	296.75	3.53

<sup>a</sup>Se utilizó la identificación de la sección química 12.1 (Materiales y métodos).

### 12.3.3 Selección del conjunto de descriptores para el análisis QSAR.

Una vez seleccionada la serie de exploración y para poder obtener un modelo QSAR, los compuestos deben ser representados por descriptores. Por lo tanto, antes calcular los mismos, los diferentes derivados quinolínicos fueron construidos y su estructura optimizada. Para ello, se procedió de la siguiente manera:

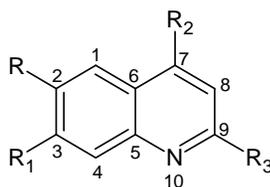
**12.3.3.1 Construcción y optimización de la geometría.** El paso inicial fue la construcción y el refinamiento de los derivados quinolínicos utilizando el programa CAChe 6.01, a partir de la estructura del naftaleno depositada en la librería de fragmentos del mismo programa. Se verificó que la hibridación y la valencia de cada átomo en la molécula construida fuera la correcta y se consideró la forma no protonada de los derivados quinolínicos considerando el pH fisiológico 7.4. La geometría de las estructuras fue optimizada empleando MM: a) *Campo de fuerza:* CAChe MM3 aumentado, b) *Algoritmo de minimización:* gradiente conjugado y “block diagonal Newton-Raphson” y c) *Valor de convergencia:* 0.001 Kcal/mol.

**12.3.3.2 Búsqueda de la conformación de menor energía.** Una vez minimizadas las estructuras según lo descrito en el apartado 12.3.3.1, se procedió a la búsqueda del conformero de menor energía mediante dinámica molecular, únicamente a los derivados de 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina. Las condiciones utilizadas fueron las siguientes: a) *Campo de fuerza:* CAChe MM3 aumentado, b) *Condiciones de la simulación:* b.1) Temperatura: 300 K, b.2) Período de equilibrio: 5 ps, b.3) Duración de la simulación: 20 ps, b.4) Timestep: 0.001 ps.

**12.3.3.3 Cálculo de los descriptores.** Debido a que el mecanismo de acción de esta clase de compuestos no ha sido estudiado todavía, el criterio utilizado en la selección de los descriptores se basó en seleccionar parámetros, cada uno representativo de una característica fisicoquímica diferente y lo más

general posible. Las conformaciones de menor energía de los derivados de 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina junto con los derivados de 2-metilquinolina fueron refinados nuevamente realizando una optimización de la geometría en MOPAC utilizando dos métodos semiempíricos AM1 y PM3 del programa CAChe 6.01, es decir, se calcularon los descriptores para cada uno de los 14 compuestos utilizando 2 niveles de teoría diferentes.

Seguidamente, se procedió a la tabulación de los descriptores, mediante el programa *ProjecLeader 6.01* para cada uno de los niveles de teoría, los cuales fueron agrupados de la siguiente manera: a) Descriptores moleculares y b) Descriptores químico-cuánticos (Tabla 2.2). En cuanto a los descriptores químico-cuánticos, dado que las variaciones de la serie tienen como estructura común el núcleo quinolínico, solo se consideraron algunos átomos pesados (C y N). La nomenclatura utilizada para identificar estos átomos se muestra en la Figura 2.5. La lista y el significado de los descriptores moleculares se encuentran en el programa *ProjecLeader 6.01*.



**Figura 2.5** Nomenclatura de los átomos seleccionados para la evaluación de los descriptores químico-cuánticos.

**Tabla 2.2** Distribución por categorías y el total del número de descriptores calculados para cada uno de los 14 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina con *ProjectLeader 6.01*.

Tipo de descriptor	Descriptor	Cantidad	Total por Categoría
Moleculares	Log P	1	14
	Peso molecular	1	
	Índice de conectividad Chi (Orden 0,1 y 2)	1	
	Índice de forma Kappa (Orden 0, 1 y 2)	1	
	Índice de conectividad de valencia Chi (Orden Chi0V, Chi1V y Chi2V)	1	
	Refractividad molar	1	
	Energía estérica <sup>a</sup>	1	
	Energía total	1	
	Calor de formación <sup>a</sup>	1	
	Energía HOMO	1	
	Energía LUMO	1	
	Momento dipolar	1	
	Afinidad electrónica	1	
	Energía de la conformación de mínima energía	1	
Químico-cuánticos	Carga parcial	8	72
	Densidad HOMO	8	
	Densidad LUMO	8	
	Suceptibilidad a electrófilo	8	
	Suceptibilidad a nucleófilo	8	
	Suceptibilidad a radical	8	
	Superdeslocalización electrofílica	8	
	Superdeslocalización nucleofílica	8	
	Superdeslocalización radical	8	
		<b>Total Descriptores</b>	<b>86</b>

<sup>a</sup>Valores de energía iguales.

### 12.3.4 Proceso de selección de los descriptores para el modelo QSAR.

#### Aproximación de algoritmo genético.

Se calcularon 86 descriptores los cuales fueron considerados como variables independientes. Luego de ser estandarizados (Módulo de estadística del programa *MS Modeling 3.2.0*), se aplicó el algoritmo a los descriptores (Tabla 2.2) que fueron agrupados en fueron agrupados en 3 conjuntos: a)

Conjunto de descriptores moleculares, b) Conjunto de descriptores químico-cuánticos y c) Combinación del conjunto de descriptores moleculares y químico-cuánticos. Se emplearon los mismos parámetros del apartado 5.3.4, para la aplicación del algoritmo genético, excepto el número de descriptores por cromosoma que fueron 3.

Una vez seleccionados los descriptores por el algoritmo, se examinó la distribución de los valores para cada uno de ellos (Sección 3.3.2.1.2.3). Se verificó las correlaciones entre los descriptores mediante una matriz de correlación (Módulo de estadística del programa *MS Modeling 3.2.0.*) siendo el valor de correlación utilizado fue 0.7.

El proceso anteriormente descrito fue realizado para los dos niveles de teoría AM1 y PM3.

### **12.3.5 Construcción de los modelos QSAR. Análisis de regresión lineal simple y multivariada.**

Se construyeron las ecuaciones QSAR mediante un análisis de regresión lineal simple y multivariada entre los descriptores seleccionados (variables independientes) y los datos de actividad biológica ( $pCl_{50}$ ) (variables dependientes). Es importante recordar que la ecuación QSAR debería contener un máximo de 3 descriptores de acuerdo a la relación de Topliss para la serie de entrenamiento de 13 compuestos. La calidad estadística de las ecuaciones QSAR obtenidas fueron evaluadas empleando los parámetros estadísticos de regresión:  $R^2$ ,  $Q^2$ ,  $F$  y  $s$ .

### **12.3.6 Predicción de la actividad biológica de derivados quinolónicos.**

#### **Validación externa.**

La predicción de la actividad biológica de los derivados quinolónicos se realizaría a través de la serie de prueba conformada por un solo compuesto, el derivado **2.67**. Tal como se explicará en la sección de discusión de resultados del modelado molecular, dicha validación externa no pudo ser realizada.

### **12.3.7 Predicción *in silico* de propiedades ADME para derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina.**

Se realizó una predicción de la capacidad de absorción *in vivo* de una serie de derivados quinolónicos sintetizados en esta tesis. Estas reglas han sido ampliamente utilizadas como filtros para el desarrollo de programas de diseño de drogas. Los cálculos teóricos se realizaron empleando el programa *Accord* para *Excel* versión 7.1.5.

### 13.1 Resultados y Discusión. Sección Química.

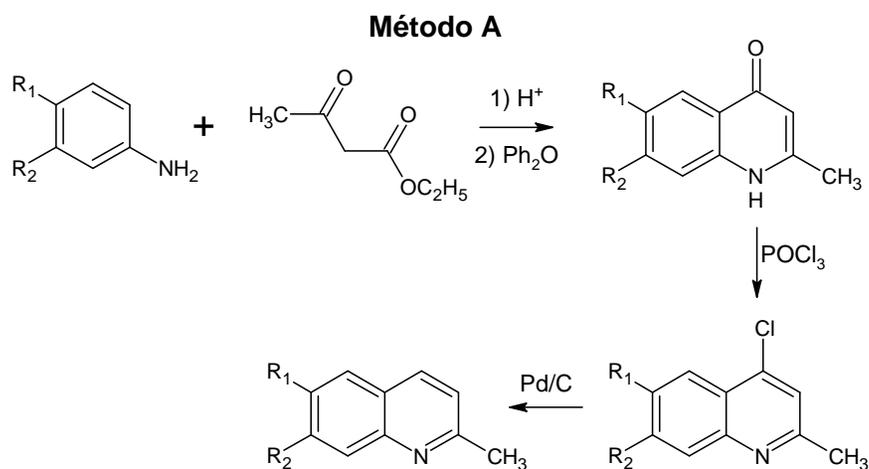
Hay una gran variedad de métodos publicados en la literatura en relación a la síntesis de derivados del tipo 2-metil, 2-propil y 2-alquenilquinolinas, incluso, algunos de los compuestos sintetizados en este trabajo ya han sido reportados. Sin embargo, los mismos no han sido probados como posibles leishmanicidas. Se sintetizaron veintidós quinolinas del tipo 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alquildiaminquinolinas. A continuación, se describirá en forma detallada cada uno de los pasos involucrados en la síntesis de dichos compuestos.

#### 13.1.1 Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

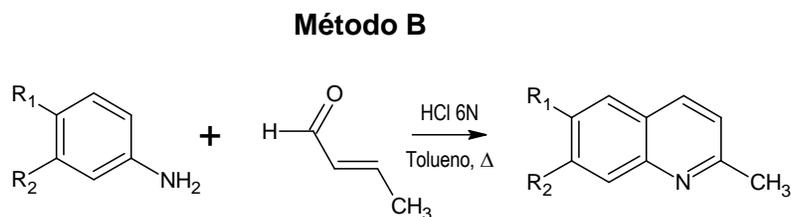
Para la obtención del grupo de compuestos del tipo 2-metilquinolinas, se exploraron dos rutas de síntesis denominadas **Método A y B**. Ambos métodos han sido reportados en la literatura.

El **Método A** involucró la reacción de Conrad-Limpach en la cual un derivado de anilina reacciona con un  $\beta$ -cetoéster, el acetoacetato de etilo, formando la base de Schiff correspondiente, la cual tautomeriza al  $\beta$ -anilincrotonato de etilo, seguido por la ciclación térmica en  $\text{Ph}_2\text{O}$  originando 2-metil-4(1*H*)-quinolona. Luego, el tratamiento con  $\text{POCl}_3$  conduce a la obtención de la 4-cloro-2-metilquinolina. Seguidamente, mediante una hidrogenólisis catalítica de esta última, se obtiene la 2-metilquinolina de interés (Esquema 2.4). Los resultados obtenidos mediante esta secuencia sintética serán discutidos más adelante.

Por otro lado, ésta clase de compuestos también pueden ser obtenidos en un solo paso de reacción a través de la reacción de Doebner-Miller, **Método B**, en un sistema bifásico conformado por HCl 6N y Tol (197) para dar la respectiva 2-metilquinolina sustituida (Esquema 2.5).



**Esquema 2.4** Método A. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 6,7.



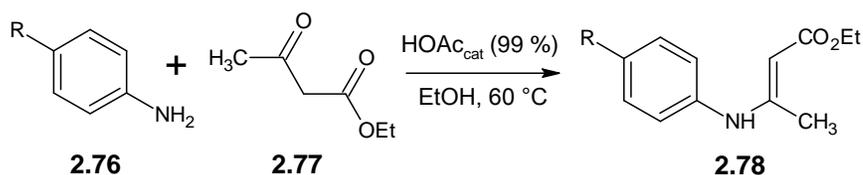
**Esquema 2.5** Método B. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 6,7.

### 13.1.1.1 Método A.

**13.1.1.1.1 Paso 1. Síntesis de derivados de  $\beta$ -anilincrotonato de etilo:** La síntesis de derivados del tipo 2-metilquinolina, procedió a través de la formación del  $\beta$ -anilincrotonato respectivo. El método, generalmente utilizado en la preparación de ésta clase de intermediarios, implica la reacción entre un

compuesto  $\beta$ -dicarbonílico y un derivado de anilina en un solvente como benceno, con remoción azeotrópica de agua, en presencia de cantidades catalíticas HOAc glacial (204). Sin embargo, se utilizó el procedimiento descrito por Kuo et al (205): La síntesis se inició mediante una reacción de condensación entre una anilina sustituida en posición *para*, **2.76** y acetoacetato de etilo, **2.77**, en presencia de cantidades catalíticas de HOAc (99%), a 60 °C en EtOH, generando el correspondiente  $\beta$ -anilincrotonato de etilo **2.78**. Se utilizaron como compuestos de prueba la *p*-metilanilina, *p*-cloroanilina y la *p*-anisidina. En todos los casos, se varió la relación molar de los reactantes involucrados y el tiempo de reacción (Tabla 2.3).

**Tabla 2.3** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de los  $\beta$ -anilincrotonatos de etilo **2.78**.



Reacción	R	Relación molar		Tiempo (h)
		Derivado de anilina	Acetoacetato de etilo	
554	CH <sub>3</sub>	1.0	1.5	72
562	CH <sub>3</sub>	1.5	1.0	47
659	Cl	1.0	1.3	89
563	Cl	1.5	1.0	46
557	OCH <sub>3</sub>	1.0	1.7	71
643	OCH <sub>3</sub>	2.0	1.0	120

No resultó fácil el seguimiento de la reacción por CCF, por lo que la formación de **2.78** también fue seguida por EIR. En R554, se utilizó un exceso

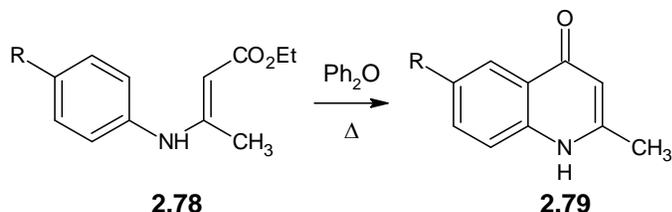
de **2.77**. La CCF (DCM) reveló la formación de un producto diferente a los reactantes, además de la presencia de los mismos. Sin embargo, cuando se utilizó un exceso de la *p*-metilanilina, tal como se indica en R562, tanto la CCF como el espectro de IR mostraron la formación de derivado **2.78** respectivo y ausencia de **2.77**. El mismo resultado anterior se observó para R659-R563 y R557-R643. Se concluyó que las mejores condiciones de reacción eran aquellas donde se había utilizado **2.77** como reactivo limitante.

En todos los casos ensayados, los derivados de **2.78** no fueron purificados, por lo que no se reporta el rendimiento de los mismos. La razón de esto fue la siguiente: Se intentó su purificación sin lograr en ningún momento el aislamiento del producto puro. Cuando se compararon los espectros de IR del crudo de reacción donde estaban ausentes las señales correspondientes a **2.77** y los espectros de IR de las fracciones aisladas de la purificación por CC de dicho crudo de reacción, se observó en estos últimos señales intensas correspondientes a los grupos carbonílicos de **2.77**, lo que hizo pensar en la posibilidad de la reversibilidad de la base de Schiff durante el proceso de purificación. Es importante mencionar que, en la mayoría de los trabajos reportados en la literatura, esta clase de productos son líquidos que son purificados por destilación al vacío (206,207). En algunos casos, estos productos no son purificados y utilizados inmediatamente en el siguiente paso de reacción (205) y en otros, por ejemplo en la síntesis de  $\beta$ -enaminonas, catalizada por nitrato de amonio cérico (CAN), los productos fueron purificados por CC previo tratamiento de la sílica gel con TEA (208).

La temperatura a la cual se llevó a cabo la reacción fue determinante en la obtención de los derivados **2.78**. Esta no fue superior a los 60 °C. Temperaturas por encima de los 130 °C conducirían a la formación de derivados del tipo acetoacetanilida por ataque del derivado **2.76** al carbonilo del éster en **2.77** (206,209).

**13.1.1.1.2 Paso 2. Síntesis 2-metil-4(1H)-quinolona sustituidas:** Una vez sintetizados los derivados **2.78**, se procedió a la ciclación térmica de los mismos en Ph<sub>2</sub>O para obtener las respectivas 2-metil-4(1H)-quinolonas **2.79** (Tabla 2.4).

**Tabla 2.4** Condiciones de reacciones probadas para la obtención de 2-metil-4(1H)-quinolonas **2.79**.



Reacción	R	T (°C)	Tiempo (min)	Rendimiento <sup>a</sup> (%)
<b>556</b>	CH <sub>3</sub>	240-250	13	7
<b>564</b>	CH <sub>3</sub>	238-250	30	31
<b>567</b>	Cl	238-250	30	37
<b>659</b>	Cl	200-204	50	13
<b>643</b>	OCH <sub>3</sub>	240-250	30	46
<b>560</b>	OCH <sub>3</sub>	240-250	30	32

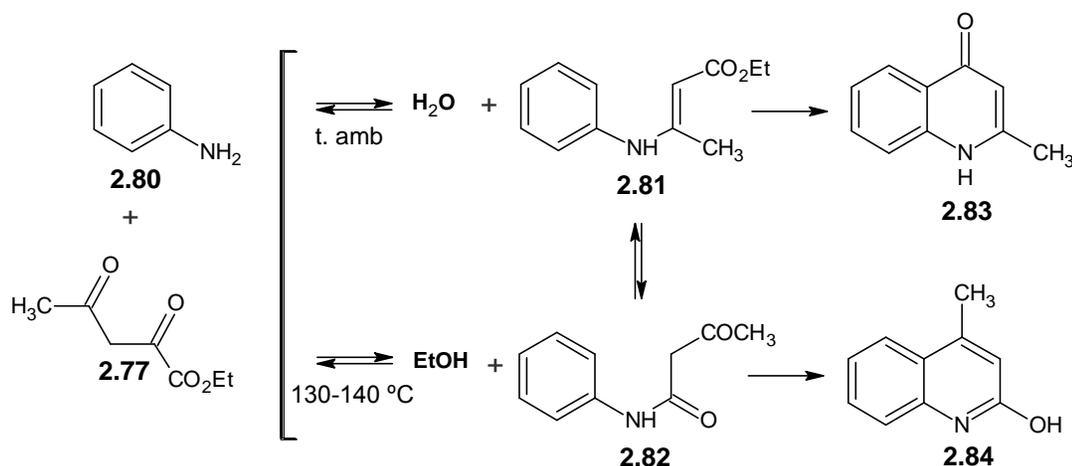
<sup>a</sup>Rendimiento de la quinolona precipitada con C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>.

Cuando se realizaron los primeros intentos de ciclación, se utilizaron derivados de **2.78** para cuya obtención el reactivo limitante fue la amina (reacciones R554, R659 y R557, Tabla 2.3). Se confirmó por espectroscopía de

RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C que los sólidos aislados en R556, R560 y R659 obtenidos por precipitación con C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> eran los correspondientes derivados **2.79**. Los rendimientos obtenidos fueron muy bajos en todos los casos. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la quinolona aislada en R659, la 6-cloro-2-metilquinolin-4(1*H*)-ona **2.33**, muestra un singlete en 2.34 ppm asignado a los protones del grupo metilo. A campo más bajo se observa un singlete en 5.95 ppm debido al protón en posición alfa al grupo carbonilo. El patrón de acoplamiento de las señales comprendidas entre 7.53 y 7.96 ppm, ubicadas en la zona aromática, confirman que el producto cicló en la posición deseada. Un singlete ancho en 11.75 corresponde al protón del nitrógeno de la quinolona. El espectro de RMN-<sup>13</sup>C mostró todas las señales esperadas para este compuesto (Espectro 2.33).

Cuando se emplearon derivados de **2.78** obtenidos utilizando un exceso de **2.76** (R562, R563 y R643), se incrementó significativamente el rendimiento de la reacción, obteniéndose un producto diferente al esperado (R564, R643 y R567), siendo muy insoluble en comparación con los derivados **2.79** aislados anteriormente. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de R643 sugirió la formación de un derivado de difenilurea: El espectro de RMN-<sup>1</sup>H mostró a campo bajo dos dobletes entre 6.85 y 7.33 ppm con una constante de acoplamiento *orto* ( $J = 8.91$  Hz) y un singlete en 8.37 ppm debido al protón sobre el nitrógeno de la úrea. A campo alto, se observó un singlete en 3.70 ppm debido a los protones del grupo OCH<sub>3</sub>. El mismo resultado fue obtenido con otros derivados de **2.78**.

En un trabajo publicado por Hauser et al (206) describieron lo siguiente: Se encontró que **2.77** y la anilina **2.80** reaccionaban a temperatura ambiente para formar **2.81**. Sin embargo, si la reacción era calentada entre 130-140 °C se producía la acetoacetanilida **2.82**. La ciclación de estos productos condujo a la obtención de la 4-hidroxi-2-metilquinolina **2.83** y 4-metil-2-hidroxiquinolina **2.84** respectivamente (Esquema 2.6).



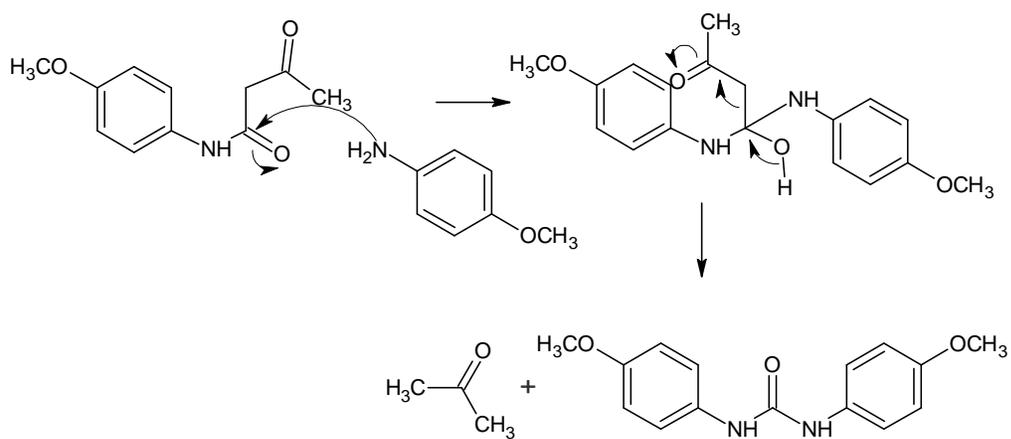
**Esquema 2.6** Obtención de  $\beta$ -anilicrotonato **2.81** y anilida **2.82** a partir de anilina y acetoacetato de etilo.

Se encontró que la formación de **2.81** y **2.82** son procesos reversibles: el compuesto **2.81** es convertido a **2.82** por calentamiento con un equivalente de agua y trazas de un ácido entre 130-140 °C, mientras que la transformación inversa tomó lugar calentando a ebullición la anilida con EtOH y Drierite<sup>29</sup>. Los derivados de **2.81** formados fueron purificados por destilación a presión reducida. Durante el proceso de destilación se formó difenilurea aparentemente de la anilida que fue producida durante el calentamiento a 130 °C ó durante la

<sup>29</sup>Drierite: Forma especial de sulfato de calcio anhidro que tiene una estructura granular altamente porosa y una gran afinidad por el agua.

destilación. Oppenheim et al (206) reportaron que el calentamiento de la anilida con anilina produjo difenilurea y acetona.

Utilizando como base los resultados anteriores para explicar la formación del derivado de urea se planteó lo siguiente: Cuando se utilizó **2.78** sintetizado a partir de un exceso de amina, este exceso no fue eliminado. Al proceder a la ciclación en Ph<sub>2</sub>O por encima de los 200 °C, el derivado **2.78**, a esa temperatura, se convirtió en la anilida y el exceso de amina atacó el carbonilo de la amida con liberación de acetona, originando la urea respectiva (Esquema 2.7)



**Esquema 2.7** Mecanismo propuesto para la formación del 1,3-bis(4-metoxifenil)urea.

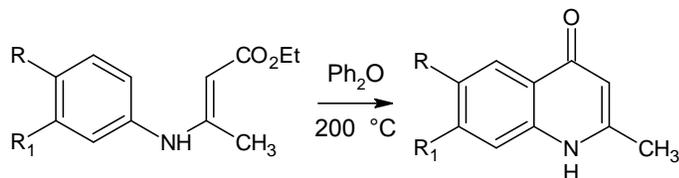
Debido a lo anterior, fue necesario sintetizar nuevamente todos los derivados de **2.78**<sup>30</sup> a partir de un exceso de **2.77**<sup>31</sup>, para luego ser ciclados con Ph<sub>2</sub>O a 200 °C alrededor de 1 h (Tabla 2.5). En todos los casos, los

<sup>30</sup>Los distintos derivados de β-anilinoacrilato no fueron purificados y utilizados así para su posterior ciclación.

<sup>31</sup>Se utilizó entre 0.3-0.5 exceso molar del β-cetoéster.

rendimientos no superaron el 50%, excepto para la 6,7-metilendioxi-2-metilquinolin-4(1*H*)-ona siendo del 55%.

**Tabla 2.5** Nuevas condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-metil-4(1*H*)-quinolonas.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Tiempo (min)	Rendimiento <sup>a</sup> (%)
645	OCH <sub>3</sub>	H	60	35
651 <sup>b</sup>	OCH <sub>3</sub>	H	75	6
646	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	60	46
660	OCH <sub>2</sub> O		50	55
665 <sup>c</sup>	Cl	H	45	45
605	Br	H	60	32

<sup>a</sup>Rendimiento reportado después de precipitar y lavar la quinolona con C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>. <sup>b</sup>La temperatura de ciclación fue de 180 °C. <sup>c</sup>El β-anilincrotonato de R665 fue sintetizado utilizando un exceso molar de p-cloroanilina. El exceso de la misma fue eliminado precipitando como sal del ácido oxálico.

En cuanto a cómo afectó el tipo de sustituyente sobre el anillo aromático el rendimiento de la reacción, se pudiera inferir lo siguiente: 1) Sustituyentes dadores de electrones ubicados en posición *para* al sitio de ciclación, favorecerían la reacción de sustitución electrofílica (SEA), incrementando la densidad electrónica sobre dicho sitio de ciclación. De hecho, si se observan los rendimientos obtenidos, por ejemplo, en R645, el grupo OCH<sub>3</sub> estaría ubicado en una posición *meta* respecto al punto de ciclación. Si se compara con el rendimiento obtenido en R646, éste se incrementó en un 10%. Además de existir un grupo OCH<sub>3</sub> en posición *meta*, también hay un grupo OCH<sub>3</sub> en

posición *para*, siendo este último grupo, probablemente, el determinante en la ciclación. En R660, el grupo metilendioxi favorece aún más la ciclación. Esto sugiere que electrones de los átomos de oxígeno del grupo metilendioxi pueden deslocalizarse hacia el anillo aromático, para lo cual, deben adquirir una hibridización  $sp^2$ . Esto estaría favorecido por el aumento de la estabilidad termodinámica del sistema formado. En esta forma se aumenta la densidad electrónica en el sitio de ciclación, aumentando así el rendimiento de la misma.

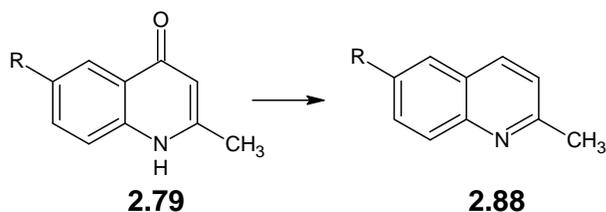
Por otro lado, es importante comentar que cuando se midió el punto de fusión de las quinolonas sintetizadas, algunas fundían y otras no, observándose en ambos casos, descomposición, pudiendo ser una de las posibles razones para el bajo rendimiento obtenido. Es por ello que, cuando se sintetizaron nuevamente las quinolonas, la temperatura de ciclación fue de 200 °C y no superior a los 230 °C (Tabla 2.5). En R651, se intentó la ciclación a 180 °C por 75 min, sin embargo, el rendimiento obtenido de la 2-metil-4(1*H*)-quinolona apenas fue del 6%.

Existen muy pocos reportes en la literatura sobre la transformación directa de quinolonas a quinolinas. Por ejemplo, derivados del ácido acridin-4-carboxílico fueron obtenidos en dos pasos: 1) Reducción de las acridonas con una amalgama de Al/Hg y luego, 2) Tratamiento con FeCl<sub>3</sub>. Los rendimientos obtenidos se ubicaron entre el 20 y 70%. En aquellos compuestos que contenían halógenos, se observó que la hidrogenólisis tuvo lugar (210). También, se reportaron condiciones similares para la reducción de la misma clase de compuestos sustituyendo la amalgama de Al/Hg por una solución 1M

de  $\text{BH}_3\text{-THF}$  seguido por tratamiento con  $\text{FeCl}_3$  en  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  a  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , siendo los rendimientos superiores al 80% (211).

También, se investigó la posibilidad de reducir en un solo paso la 2-metil-4(1*H*)-quinolona **2.79** a 2-metilquinolina **2.88** (Tabla 2.6).

**Tabla 2.6** Intentos de transformación directa de 2-metil-4(1*H*)-quinolonas **2.79** a 2-metilquinolinas **2.88**.



Reacción	R	Relación molar <sup>a</sup>			Solvente	T (°C)	Tiempo (h)
		Quinolona	Agente reductor	Otros			
625	Br	1.0	$\text{NaBH}_4(4.0)$	TEA(1.0)	$\text{CHCl}_3$	26 →reflujo	4.0
623	Br	1.0	$\text{NaBH}_4(1.3)$	CDF <sup>b</sup> (1.0), DIPEA(1.0)	EtOH	26	4.0
649	$\text{OCH}_3$	1.0	$\text{NaBH}_4(4.0)$	LiBr(1.0)	EtOH	Reflujo	4.5

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican la relación molar utilizada. <sup>b</sup>CDF: Cloruro de difenilfosfinilo.

Se pensó que el  $\text{NaBH}_4$  podía actuar como un agente reductor de la 2-metil-4(1*H*)-quinolona. Bajo las condiciones utilizadas en R625, no se logró obtener **2.88**, recuperándose en su totalidad el reactante.

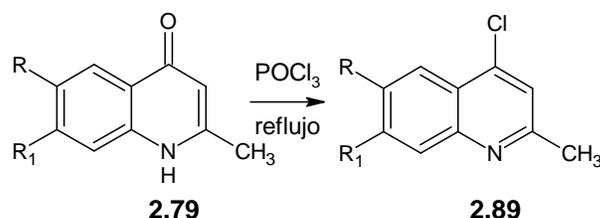
Se consideró que transformar **2.79** en un intermediario similar al que se forma cuando se trata una 4(1*H*)-quinolona con  $\text{POCl}_3$ , es decir, convertir el átomo de oxígeno en posición 4 en un buen grupo saliente y la posterior adición de una fuente de hidruro tal como  $\text{NaBH}_4$ , pudiera conducir a la formación de la respectiva quinolina. Para ello, se utilizó el cloruro de difenilfosfinilo (CDF) con

este fin. Las condiciones utilizadas en R623 no condujeron al producto deseado. También, en R649 se utilizó LiBr ya que es bien conocida la capacidad de coordinación del Li con el oxígeno. Bajo estas condiciones tampoco se logró obtener **2.88**

### 13.1.1.1.3 Paso 3. Síntesis de 4-cloro-2-metilquinolinas sustituidas:

El siguiente paso fue la transformación de **2.79** en la respectiva 4-cloro-2-metilquinolina **2.89** utilizando  $\text{POCl}_3$  recién destilado, método ampliamente utilizado en este tipo de transformación (212) (Tabla 2.7).

**Tabla 2.7** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 4-cloro-2-metilquinolinas.



Reacción	R	R	Tiempo (h)	Rendimiento <sup>a</sup> (%)
<b>573</b>	CH <sub>3</sub>	H	3	90
<b>616</b>	OCH <sub>3</sub>	H	4	78
<b>668</b>		OCH <sub>2</sub> O	5	58
<b>615</b>	Cl	H	4	82
<b>611</b>	Br	H	3	92

<sup>a</sup>Rendimiento obtenido del derivado 4-cloro-2-metilquinolina purificado por CC.

En general, no se presentó ninguna dificultad con esta reacción, solo en R668 fue necesario adicionar unas gotas de DMF para disolver la 6,7-metilendioxi-2-metil-4(1*H*)-quinolona **2.38**. La cantidad de DMF adicionada fue

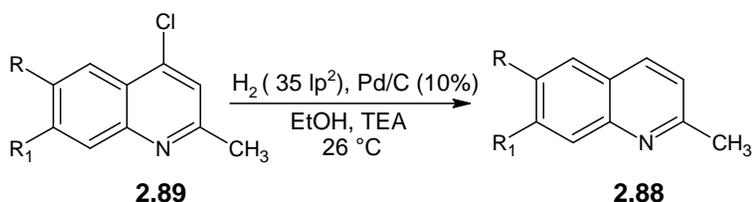
la mínima necesaria, debido a que la DMF puede reaccionar con el  $\text{POCl}_3$  formándose el reactivo de Vilsmeier.

En todos los casos ensayados, los rendimientos, con una excepción, estuvieron por encima del 70% y no se observó ningún efecto claro del tipo de sustituyente sobre el rendimiento de la reacción. Se confirmó la estructura de cada uno de los compuestos sintetizados por espectroscopia de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . El espectro de RMN- $^1\text{H}$  del compuesto obtenido en R615, la 4,6-dicloro-2-metilquinolina **2.39**, mostró a campo alto, un singlete en 2.68 ppm debido a los protones del grupo metilo. A campo bajo, se observan un conjunto de señales entre 7.37 y 8.11: a) Un singlete 7.37 ppm debido al protón en posición 3 del núcleo quinolínico, b) Un doblete de dobletes en 7.62 ppm con constantes de acoplamiento ( $J$ ) de 8.91 Hz y de 2.21 Hz correspondientes a acoplamientos *orto* y *meta* y que fue asignado al proton H-7 c) Un doblete en 7.91 ppm con una  $J$  de 8.91 Hz, debido al protón H-8, el cual está acoplado con H-7 y d) Nuevamente un doblete en 8.11 ppm asignado al protón H-5 con una  $J$  de 2.21 Hz, acoplado con H-7 ubicado en posición *meta*. En cuanto al espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , el número de señales esperadas coinciden con las observadas (Espectro 2.39).

**13.1.1.1.4 Paso 4. Síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas:** El último paso fue la hidrogenólisis de **2.89** para obtener la respectiva **2.88**. Se utilizó un 10% del catalizador Pd/C (10%) y una presión inicial de hidrógeno de 35  $\text{lp}^2$  a

26 °C. Las quinolinas con grupos sustituyentes oxigenados se obtuvieron con buen rendimiento (Tabla 2.8).

**Tabla 2.8** Síntesis de 2-metilquinolinas **2.88**.



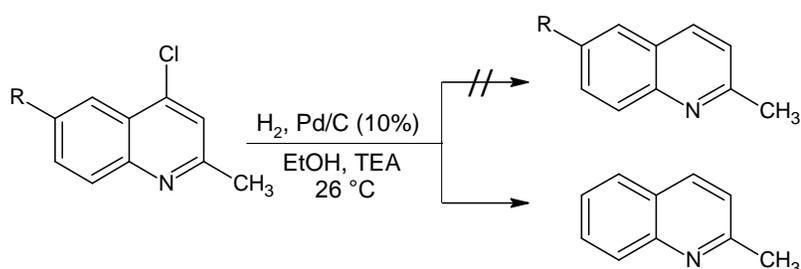
Reacción	R	R	Tiempo (h)	Rendimiento <sup>a</sup> (%)
667	OCH <sub>3</sub>	H	6	67
669	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6	76
671	OCH <sub>2</sub> O		5	100

<sup>a</sup>Rendimiento obtenido del derivado 2-metilquinolina purificado por CCP.

En cuanto a los derivados de **2.88** con halógenos en posición 6 (Cl y Br), durante la hidrogenación catalítica se encontró que estos enlaces C-halógeno sufrieron hidrogenólisis (Tabla 2.9). Inclusive, se utilizaron presiones más bajas que las mostradas aquí. También, se ensayó otra forma de hidrogenación tal como se muestra en R632, utilizando HCO<sub>2</sub>H, TEA y Pd/C como catalizador, sin obtener el producto esperado. Por lo tanto, esta vía de síntesis no es adecuada para esta clase de derivados. En R612 y R617 el producto aislado fue la quinaldina cuya estructura fue evidenciada por RMN-<sup>1</sup>H y C<sup>13</sup> (Espectro 2.49). En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H, el conjunto de señales que evidencia la obtención de la 2-metilquinolina y no la 6-cloro-2-metilquinolina, se observa a campo bajo entre 7.44 y 8.00 ppm. El patrón de acoplamiento cambió completamente para los protones H-5 y H-7 (El protón H-5 paso de ser un doblete a un doblete de

dobletes y el protón H-7 de un doblete de dobletes a un triplete de dobletes). Esto es debido a la presencia del protón en H-6, lo que indica que esta posición fue hidrogenada. En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C, la presencia de una señal en 125.59 ppm y su intensidad, indican que no corresponde a un carbono cuaternario, confirmando lo observado en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H.

**Tabla 2.9** Condiciones ensayadas para la hidrogenación de 4-cloro-2-metilquinolinas con sustituyentes halógeno en posición 6.



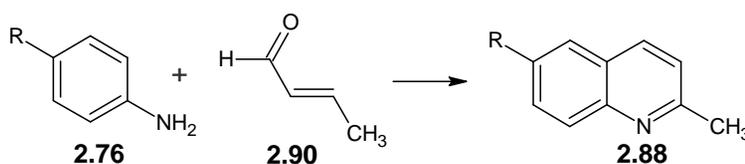
Reacción	R	Presión (Ip <sup>2</sup> )	Tiempo (h)
612	Br	56	4
617	Cl	53	4
632	Br	<b>Otras:</b> HCO <sub>2</sub> H (5 eqv.), Pd/C (10%), TEA (6 eqv.), reflujo, 3h.	

Una posible explicación a estos resultados estaría en la diferencia de las fuerzas de enlace entre C (sp<sup>2</sup>)-X (X: Br o Cl) y C(sp<sup>2</sup>)-O. Al comparar dichas energías (KJ/mol) para los enlaces C-Cl (330), C-Br (275) y C-O (355-380) (213), se puede observar que las dos primeras son menores que la energía del enlace C-O. Ésta diferencia sería suficiente para permitir la ruptura de los enlaces C-halógeno pero no la de los C-O.

### 13.1.1.2 Método B.

Las quinolinas con átomos de halógeno en posición 6 no pudieron ser sintetizadas por el *Método A*, por lo que éstas fueron obtenidas en un solo paso de reacción empleando la reacción de Doebner-Miller, en la que un derivado de **2.76** es condensado con un aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **2.90**, en este caso, crotonaldehído, en presencia de un ácido prótico, tal como HCl, formando la quinolina (Tabla 2.10).

**Tabla 2.10** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-metilquinolinas sustituidas.



Reacción	R	Relación molar			Solvente	T (°C)	Tiempo (h)	R <sup>c</sup> (%)
		Anilina	Aldehído	Ox <sup>d</sup>				
<b>716</b>	Br	1.0	1.5	CuCl <sub>2</sub> <sup>a</sup>	IPA/HCl 6N	reflujo	2.5	66
<b>721</b>	F	1.0	1.5	CuCl <sub>2</sub> <sup>a</sup>	IPA/HCl 6N	reflujo	2	5
<b>798</b>	Cl	1.0	2.3	pCIA <sup>b</sup>	IPA/HCl 6N	100-110	2	49
<b>733</b>	Cl	1.0	2.0	—	Tol/HCl 6N	100-110	2	65
<b>905</b>	Cl	1.0	2.0	—	Tol/HCl 6N	100-110	21	66
<b>678</b>	Cl	1.0	1.3	—	HCl 6N	reflujo	2	31
<b>881</b>	H	1.0	2.0	—	Tol/HCl 6N	100-110	45	31
<b>928</b>	CH <sub>3</sub>	1.0	2.0	—	Tol/HCl 6N	100-110	22	40
<b>741</b>	OCH <sub>3</sub>	1.0	2.0	—	Tol/HCl 6N	100-110	2	69

<sup>a</sup>Dihidratado. <sup>b</sup>pCIA: *p*-cloroanil. <sup>c</sup>Rendimiento reportado como producto puro. <sup>d</sup>Oxidante.

Se han publicado algunos trabajos donde se reporta el uso de agentes oxidantes tales como CuCl<sub>2</sub> y *p*-cloranil en este tipo de reacciones (214). Los autores reportan mejoras del rendimiento en presencia de los mismos. En la

mayoría de las publicaciones, los rendimientos de los derivados **2.88** no superan el 50%. Se describe la formación de un aceite denso de color negro, probablemente un producto de polimerización del crotonaldehído, disminuyendo notablemente el rendimiento (197,215).

En las reacciones R716 y R721, se utilizó *p*-bromoanilina y *p*-fluoranilina y un exceso del crotonaldehído en presencia de HCl 6N y CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, utilizando como solvente IPA, y calentando a reflujo alrededor de 2.5 h. En el caso de R716, en la cual se utilizó *p*-bromoanilina, el rendimiento obtenido de la respectiva quinolina fue del 66% como producto puro. Por el contrario, el rendimiento fue de un 5% en el caso de R721, donde se utilizó *p*-fluoranilina. Es decir, en este caso, como es de esperarse, existe una fuerte dependencia entre el tipo de sustituyente y el rendimiento de la reacción. En R798, se utilizaron las mismas condiciones descritas anteriormente, pero sustituyendo el CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O por *p*-cloroanil y utilizando *p*-cloroanilina. El rendimiento de ésta quinolina fue del 49%.

Matsugi et al (197), describieron la obtención de **2.88** utilizando un sistema bifásico Tol/HCl 6N, empleando un gran exceso del **2.90**. Estas condiciones fueron ensayadas en R733 y R905 obteniéndose la 6-cloro-2-metilquinolina con un buen rendimiento. En R905, se incrementó el tiempo a 21 h con respecto a R733. Esto mejoró el rendimiento en apenas un 1%. Bajo condiciones similares se realizó R678, pero en ausencia de Tol. El rendimiento fue tan solo del 31%.

A pesar de haber sintetizado, algunos derivados de **2.88**, con grupos dadores de electrones, por el **Método A**, se sintetizaron nuevamente bajo las condiciones del **Método B**. Los rendimientos estuvieron por encima del 40%. Para R881, donde el producto obtenido fue la quinaldina, el rendimiento fue tan solo del 31%. Vale la pena comentar que en todos los casos ensayados, se observó la formación del aceite negro, tal como se han descrito en todos los trabajos publicados hasta la fecha. Cada una de las estructuras sintetizadas fue confirmada por los métodos espectroscópicos adecuados.

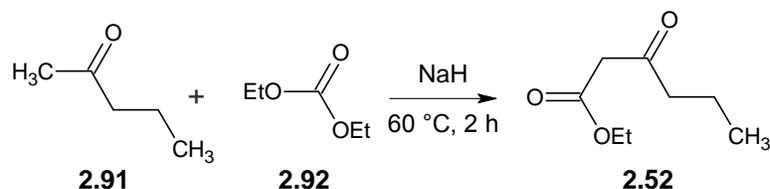
### 13.1.2 Síntesis de 2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

Los derivados de la clase 2-propilquinolina fueron sintetizados simultáneamente con los derivados de **2.88**. De igual forma se ensayaron dos rutas de síntesis: **Método A y B**. La mayoría de las dificultades observadas en la síntesis de **2.88** también se presentaron en la síntesis de 2-propilquinolinas.

#### 13.1.2.1 Método A.

**13.1.2.1.1 Síntesis del 3-oxohexanoato de etilo:** Antes de comenzar con la secuencia de reacciones descritas anteriormente para este método, fue necesario sintetizar el  $\beta$ -cetoéster correspondiente, el 3-oxohexanoato de etilo **2.52**, utilizando un procedimiento descrito en la literatura para la síntesis de 2-carboetoxiciclooctanona (216) con algunas modificaciones. Se llevó a cabo la reacción entre la 2-pentanona **2.91** y carbonato de dietilo **2.92** en presencia de NaH (217) en reflujo (Esquema 2.8). La síntesis de este  $\beta$ -cetoéster no presentó mayor dificultad y el producto no requirió de purificación. Los

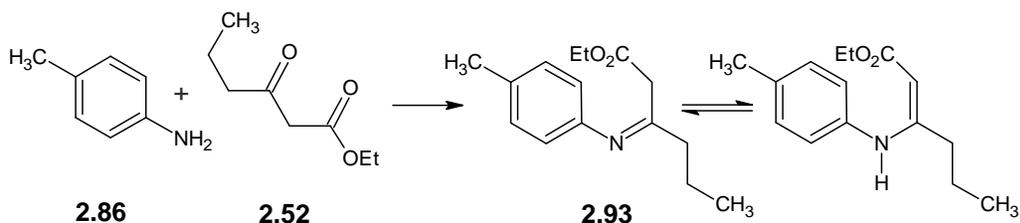
espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C confirmaron la obtención del producto deseado (Espectro 2.52).



**Esquema 2.8** Síntesis del 3-oxohexanoato de etilo.

**13.1.2.1.2 Paso 1. Síntesis de los derivados enaminoésteres:** Una vez sintetizado **2.52**, se procedió a la condensación con **2.86** como compuesto de prueba, en presencia de cantidades catalíticas de un ácido, generando el correspondiente enaminoéster. A diferencia del **Método A** descrito en la síntesis de derivados de **2.88**, en ésta oportunidad se ensayaron otras condiciones de reacción (Tabla 2.11).

**Tabla 2.11** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de los enaminoésteres.



Reacción	Relación molar		Catalizador	Solvente	T (°C)	Tiempo (h)
	Amina	β-cetoéster				
<b>436</b>	1.0	1.0	PTSA	Tol	reflujo	8
<b>553</b>	1.0	1.1	HOAc, 99%	EtOH	50-60	123
<b>500</b>	1.0	1.1	CAN <sup>a</sup>	DCM	26	5
<b>509</b>	1.2	1.0	(AcO) <sub>2</sub> Zn·2H <sub>2</sub> O <sup>a</sup>	—	55-60	24
<b>687<sup>b</sup></b>	1.2	1.0	(AcO) <sub>2</sub> Zn·2H <sub>2</sub> O <sup>a</sup>	—	70	48

<sup>a</sup>Se utilizó entre 5-6% molar del catalizador. <sup>b</sup>La amina fue 3,4-dimetoxianilina.

Una de las primeras condiciones ensayadas, R436, fue la utilización de cantidades catalíticas de PTSA anhidro utilizando como solvente Tol y reflujo la reacción por 8 h. El otro ácido empleado fue HOAc (99%), tal como se indica en R553 utilizando como solvente EtOH y con calentamiento suave. Ambas reacciones fueron monitoreadas por CCF y EIR. En ninguno de los casos, el reactivo limitante fue consumido completamente y las mezclas finales fueron usadas así para la siguiente reacción.

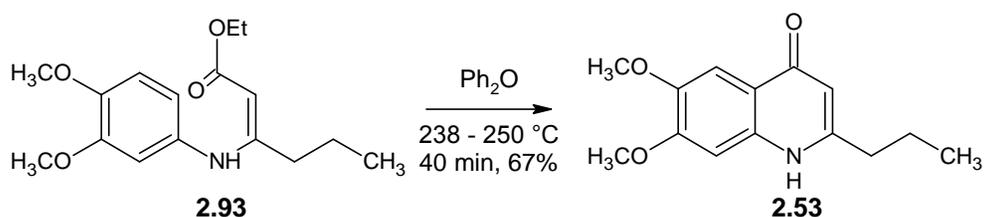
No conforme con los resultados obtenidos, se continuó en la búsqueda de unas mejores condiciones en las cuales alguno de los reactantes se consumiera en su totalidad. En un trabajo publicado sobre la síntesis de  $\beta$ -enaminoas se encontró que el uso de bajos porcentajes molares de CAN, conducía al producto con altos rendimientos (208). Tal como se indica en R500, se utilizó un pequeño exceso de **2.52**, 5% molar de CAN en DCM a temperatura ambiente. Tanto la CCF como el espectro de IR revelaron mezclas y no un único producto. La mezcla final de reacción no fue purificada.

El mismo año, se reportó el uso de  $\text{AcO}_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  como ácido Lewis en la síntesis de enaminoésteres utilizando porcentajes molares alrededor del 5% (218). En R509 el reactivo limitante fue **2.52** y la reacción fue realizada sin solvente. El espectro de IR mostró ausencia de las señales pertenecientes a **2.52**. Sin embargo, en la CCF además de verse la formación del producto, también se observó **2.86** y **2.52**. Nuevamente, la mezcla de reacción no fue purificada y utilizada así para la siguiente reacción.

De todas las reacciones que se habían ensayado hasta la fecha, se encontró que el empleo de  $\text{AcO}_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  como catalizador Lewis conducía a la formación de los enaminoésteres respectivos, consumiéndose prácticamente en su totalidad todo el  $\beta$ -cetoéster.

En R687, se sintetizó el derivado enaminoéster de la 3,4-dimetoxianilina, utilizando las últimas condiciones citadas. Se empleó un pequeño exceso de la anilina, un 6% molar de  $\text{AcO}_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  alrededor de los  $70\text{ }^\circ\text{C}$  por 48 h. Los espectros de IR de ambos productos mostraron la ausencia de las señales correspondientes a **2.52** aunque la CCF reveló algo del mismo.

**13.1.2.1.3 Paso 2. Síntesis de derivados del tipo 2-propil-4(1H)-quinolona:** El siguiente paso fue la ciclación térmica de **2.93** empleando  $\text{Ph}_2\text{O}$  a altas temperaturas originando **2.53**. La temperatura óptima de ciclación fue por encima de los  $238\text{ }^\circ\text{C}$  y un incremento del tiempo de ciclación, mejoró el rendimiento<sup>32</sup> (Esquema 2.9).



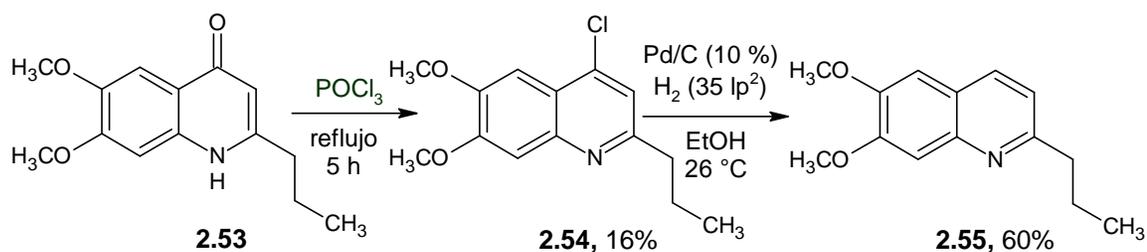
**Esquema 2.9** Síntesis de 6,7-dimetoxi-2-propilquinolin-4(1H)-ona, **2.53**.

Al igual que ocurrió con los derivados de la 2-metilquinolona, al medir en punto de fusión de **2.53**, se observó descomposición por encima de los  $180\text{ }^\circ\text{C}$ ,

<sup>32</sup>Datos no mostrados.

pudiendo ser esta una de las posibles razones del bajo rendimiento obtenido. La obtención de esta estructura no fue confirmada por RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, sin embargo, se logró la transformación de este compuesto a la respectiva 4-cloro-2-propilquinolina (apartado 12.1.3.3), indicando que el producto obtenido era **2.53**.

**13.1.2.1.4 Paso 3 y 4. Síntesis de derivados del tipo 4-cloro-2-propilquinolina y 2-propilquinolina:** La 2-propil-4(1*H*)-quinolona **2.53** al ser tratada con POCl<sub>3</sub> bajo reflujo dio origen a la formación de la 4-cloro-2-propilquinolina **2.54**. Se aisló el producto de interés con un rendimiento inferior al 20%. Seguidamente, se procedió a la hidrogenólisis de la posición 4 de **2.54** utilizando como catalizador Pd/C al 10% con una presión inicial de hidrógeno de 35 lp<sup>2</sup> a temperatura ambiente. La 2-propilquinolina **2.55** fue aislada y purificada sin dificultad con un rendimiento aceptable (Esquema 2.10).



**Esquema 2.10** Síntesis de la 4-cloro-6,7-dimetoxi-2-propilquinolina **2.54** y 6,7-dimetoxi-2-propilquinolina, **2.55**.

Ambas estructuras sintetizadas fueron confirmadas por los métodos espectroscópicos de IR, RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H del derivado

**2.54**, se puede evidenciar a campo alto, entre 0.99 y 2.84 ppm, las señales correspondientes a los protones alifáticos del grupo propilo. Llama la atención, la multiplicidad de los protones del metileno unido al núcleo quinolínico en posición 2: ésta se muestra como triplete esperado, pero la señal central de mayor intensidad, se observa también como un triplete. Esto puede deberse a que estos dos protones con desplazamientos químicos muy similares, acoplados a otros dos protones (acoplamiento vecinal) con constantes de acoplamientos muy similares, pueden dar origen a un patrón de acoplamiento como el observado para estos protones metilénicos. Los dos singletes cercanos a 4.00 ppm corresponden a los protones de los dos grupos metoxi. El resto de las señales a campo bajo entre 7.23 y 7.36 ppm pertenecen a los protones del sistema quinolínico, H-3, H-5 y H-8 (Espectro 2.54). El espectro de RMN-<sup>13</sup>C confirmó el número y tipos de carbonos esperados.

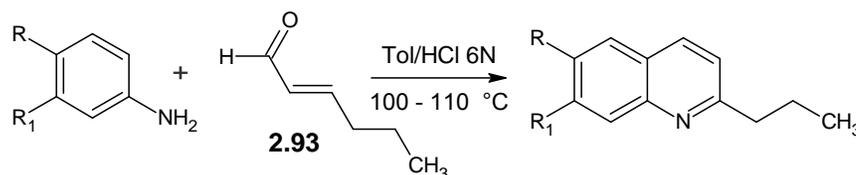
El cuanto al espectro de RMN-<sup>1</sup>H del derivado **2.55**, se observa que a campo alto (0.98-2.86 ppm) éste es parecido al espectro del derivado **2.54**. Las señales a campo bajo, entre 6.98 y 7.87 ppm, corresponden al patrón de acoplamiento esperado para **2.55**. El espectro de RMN-<sup>13</sup>C mostró todas las señales esperadas para **2.55**.

Al igual que en la síntesis de derivados del tipo 2-metilquinolina con sustituyentes halógeno, este método no fue adecuado para sintetizar los mismos debido a los problemas ya antes mencionados, por lo que esta clase de compuestos fueron sintetizados por el *Método B*.

### 13.1.2.2 Método B.

En la síntesis de 2-propilquinolinas, se emplearon las mismas condiciones descritas para las 2-metilquinolinas, es decir, un sistema bifásico Tol/HCl 6 N a una temperatura alrededor de los 110 °C y variándose el tiempo dependiendo del derivado de anilina utilizado. Estos se hicieron reaccionar con el 2-hexenal **2.93**. Como puede verse, los rendimientos no son mayores del 40%. Sin embargo, este método involucró un solo paso de reacción (Tabla 2.12).

**Tabla 2.12** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 2-propilquinolinas.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar		Tiempo (h)	Rendimiento (%)
			Anilina	Hexenal		
886 <sup>a</sup>	H	H	1.0	2.0	24	18
888	CH <sub>3</sub>	H	1.0	2.0	68	12
947	OCH <sub>3</sub>	H	1.0	2.0	120	23
891	OCH <sub>2</sub> O		1.0	2.0	115	39
894	Br	H	1.0	2.0	120	16
896	Cl	H	1.0	2.0	120	6
899	F	H	1.0	2.0	120	7

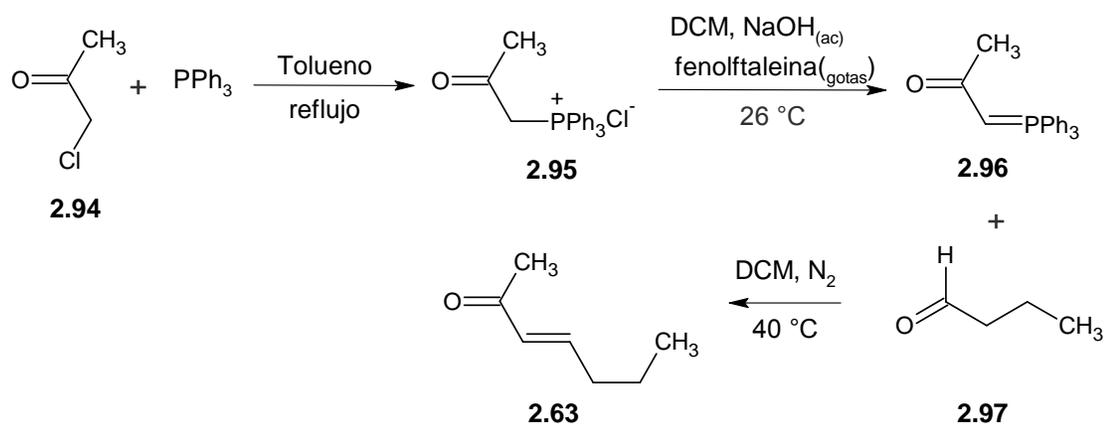
<sup>a</sup>Se utilizó acetanilida.

En todos los casos, se observó la formación de un aceite negro como ocurrió durante la síntesis de los derivados de la 2-metilquinolina. Cada una de

las estructuras de los productos purificados fueron confirmadas empleando las técnicas espectroscópicas adecuadas: IR, RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y EM.

### 13.1.3 Síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7.

La síntesis de los derivados del tipo 4-metil-2-propilquinolina se logró a través del **Método B** utilizado en la síntesis de 2-metil y 2-propilquinolinas. Antes de proceder con la síntesis de las respectivas quinolinas, fue necesario sintetizar la cetona  $\alpha,\beta$  insaturada, la (3*E*)-hept-3-en-2-ona<sup>33</sup> **2.63** mediante una secuencia, la cual involucró las siguientes reacciones: 1) Reacción de sustitución nucleofílica bimolecular, SN<sub>2</sub>, del cloro de la cloroacetona **2.94** por trifenilfosfina obteniéndose la sal de fosonio **2.95** 2) Formación del fosforano **2.96** en medio básico aislándose con un excelente rendimiento y 3) Reacción del fosforano con butiraldehído **2.97** (Reacción de Wittig) obteniéndose la cetona  $\alpha,\beta$  insaturada **2.63** con un 95% de rendimiento (Esquema 2.11).



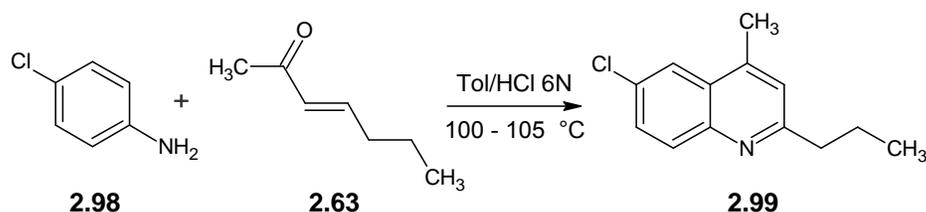
**Esquema 2.11** Síntesis de (3*E*)-hept-3-en-2-ona.

<sup>33</sup>La (3*E*)-hept-3-en-2-ona es un producto comercial.

Los más importante de destacar en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **2.63** son las señales correspondiente a los protones olefínicos entre 6.00 y 6.79 ppm, en conjugación con el carbonilo cetónico, con una constante de acoplamiento *trans* (16.06 Hz) (Espectro 2.63).

Una vez sintetizada **2.63** se procedió a la condensación con *p*-cloroanilina **2.98** como compuesto de prueba, en sistema bifásico Tol/HCl 6N alrededor de los 105 °C. Se variaron los tiempos de reacción, siendo las condiciones de R749 las mejores, aislándose el producto deseado **2.99** con un 56% de rendimiento (Tabla 2.13).

**Tabla 2.13** Condiciones de reacción ensayadas en la síntesis de 4-metil-2-propilquinolinas **2.99**.

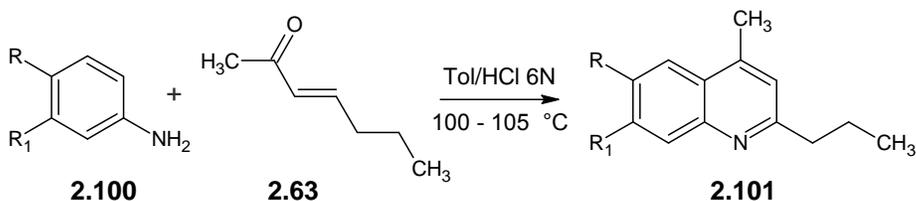


Reacción	Relación molar		Tiempo (horas)	Rendimiento (%)
	<i>p</i> -cloroanilina	Cetona $\alpha,\beta$ -insaturada		
<b>737</b>	1.0	2.0	2	14
<b>738</b>	1.0	2.0	4	27
<b>739</b>	1.0	2.0	23	41
<b>749</b>	1.0	2.0	45	56

Se sintetizó el resto de los derivados **2.101** utilizando las condiciones de R749. Como puede observarse en la tabla 2.14, los mejores rendimientos fueron obtenidos utilizando derivados de anilinas con sustituyentes dadores de

electrones a diferencia de los obtenidos con sustituyentes halógeno. Cada una de las estructuras sintetizadas fue confirmada por las técnicas espectroscópicas adecuadas: IR, RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C y EM.

**Tabla 2.14** Síntesis de derivados del tipo 4-metil-2-propilquinolina.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar		Tiempo (h)	Rendimiento (%)
			Derivado Anilina	Cetona α,β-insaturado		
<b>855<sup>a</sup></b>	H	H	1.0	2.0	6	62
<b>766</b>	CH <sub>3</sub>	H	1.0	2.0	43	54
<b>773</b>	OCH <sub>3</sub>	H	1.0	2.0	48	35
<b>750</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1.0	2.0	48	47
<b>750</b>	OCH <sub>2</sub> O		1.0	2.0	48	40
<b>751</b>	Br	H	1.0	2.0	48	33
<b>739</b>	Cl	H	1.0	2.0	64	41
<b>767</b>	F	H	1.0	2.0	64	10

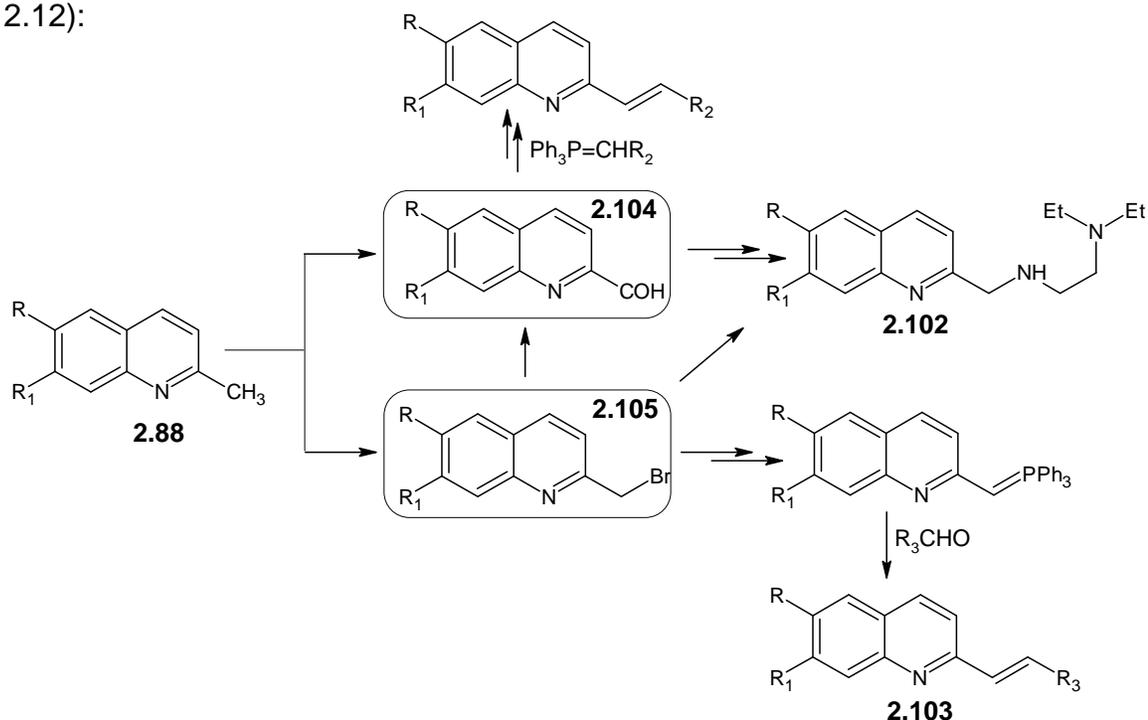
<sup>a</sup>Se utilizó acetanilida.

El espectro de RMN-<sup>1</sup>H del derivado 6,7-metilendioxi-4-metil-2-propilquinolina **2.71** mostró a campo alto, entre 0.98 y 2.54 ppm, las señales debidas a los protones alifáticos del grupo propilo. Se observó que los protones del metileno unido al núcleo quinolínico en posición 2, muestran un triplete pero con la señal central de mayor intensidad dividida nuevamente como triplete. A su vez, la señal de los protones metilénicos cuya multiplicidad es un sextuplete, muestra el mismo fenómeno. La razón para observar esta multiplicidad fue explicada en el apartado 13.1.2.1.4. También, se observa un singlete en 2.80

ppm asignado a los protones del grupo metilo. En 6.05 ppm, un singlete debido a los protones del metileno del grupo metilendioxi. Se pueden observar a campo bajo tres singletes (6.98, 7.17 y 7.33 ppm), asignados a los protones H-3, H-5 y H-8 del núcleo quinolínico. En cuanto al espectro de RMN-<sup>13</sup>C mostró todas las señales esperadas para **2.71** (Espectro 2.71).

### 13.1.4 Síntesis de derivados del tipo 2-alquenil y 2-metilenaminoalquilamino quinolinas sustituidas en posiciones 6 y/o 7.

Además de la síntesis de los grupos ya mencionados, se planteó la síntesis de algunos derivados del tipo 2-metilenaminoalquilamino **2.102** y 2-alquenilquinolina **2.103**. Para la síntesis de derivados **2.102**, existen dos intermediarios claves en la obtención de esta clase de compuestos (Esquema 2.12):



**Esquema 2.12** Intermediarios involucrados en la síntesis de derivados del tipo 2-alquenil y 2-alquidiamino quinolinas.

1) *Transformación de la 2-metilquinolina en quinolin-2-carbaldehído 2.104* que luego reaccionaría con un derivado alquildiamina, tal como *N,N*-dietil-etilendiamina originando la imina que seguidamente sería reducida dando la correspondiente quinolina con una cadena alquildiamina en posición 2 y 2) *Bromación del metilo en posición 2 del núcleo quinolínico obteniéndose la respectiva 2-bromometilquinolina 2.105*. Luego, una reacción de  $SN_2$  con la *N,N*-dietil-etilendiamina conduciría al producto deseado.

Por otro lado, los derivados del tipo 2-alquenilquinolina se obtendrían mediante una reacción de Wittig ya sea a partir de un derivado del **2.104** y el respectivo fosforano ó del metilfosforano de la quinolina<sup>34</sup> y un aldehído. En ambos casos, el tipo de sustituyente  $R_2$  y  $R_3$  pueden ser radicales del tipo: alquil o éster.

**13.1.4.1 Obtención de quinolin-2-carbaldehídos sustituidos en las posiciones 6 y/o 7:** Compuestos heteroaromáticos y aromáticos con grupos metilo pueden ser oxidados con  $SeO_2$ , para dar los correspondientes aldehídos y/o ácidos carboxílicos. Sin embargo, en algunos casos la oxidación ha resultado en bajos rendimientos y en la formación de productos colaterales indeseados. En un trabajo publicado por Pérez-Melero et al (219) sintetizaron una serie de quinolincarbaldehídos en distintas posiciones del núcleo quinolínico a partir de metilquinolinas por oxidación con  $SeO_2$  en xileno a reflujo con rendimientos entre 50 y 80%.

---

<sup>34</sup>El fosforano de la quinolina se formaría a partir de la desprotonación de sal de fosfonio formada entre la 2-bromometilquinolina y  $PPh_3$ .

En un trabajo muy interesante publicado por Achremowicz (220) en donde estudió algunos parámetros<sup>35</sup> que podían influir en la oxidación de 2 y 4-metilquinolina con  $\text{SeO}_2$  o  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  en dioxano a ebullición, se encontró que los mejores rendimientos fueron alcanzados si se utilizaba un exceso del oxidante y que la calidad y tipo de oxidante ( $\text{SeO}_2$  o  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ) no afectaba el curso de la reacción. Además, el contenido de agua en el dioxano utilizado podía alcanzar hasta un 30%. Los rendimientos obtenidos en la oxidación de la 2-metilquinolina (quinaldina) y 4-metilquinolina (lepidina) fueron del 55 y 78% respectivamente. La oxidación de la quinaldina a temperatura ambiente fue del 70% pero la reacción tardó 2 semanas.

Kaplan (221) publicó un trabajo donde la insuficiencia de oxidante, es decir,  $\text{SeO}_2$  almacenado por largos periodos de tiempo, resultó en una disminución del contenido de  $\text{SeO}_2$ , lo que causó una notable disminución en el rendimiento del aldehído e incrementó la cantidad de productos colaterales.

En busca de mejorar el rendimiento en esta clase de reacción, se han publicado una serie de trabajos orientados en este sentido. La oxidación de grupos metilo, presentes en compuestos heteroaromáticos, utilizando  $\text{SeO}_2$ , fue mejorada en presencia de 70% de *t*-butil-hidroperóxido (TBHP) en dioxano para dar el correspondiente aldehído o ácido carboxílico con buenos rendimientos. La quinaldina fue oxidada bajo estas condiciones<sup>36</sup> obteniéndose con un

---

<sup>35</sup>Relación molar (metilquinolina/ $\text{SeO}_2$ ), tiempo de reacción, temperatura, contenido de agua en el  $\text{SeO}_2$ .

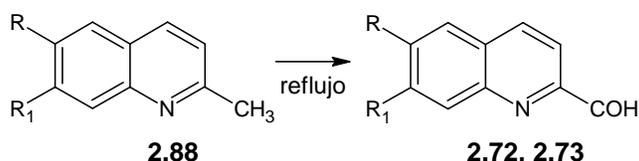
<sup>36</sup>La relación molar utilizada: quinaldina/ $\text{SeO}_2$ / 70% TBHP (1:1:2.3), 1h, 50 °C.

rendimiento del 80% (222). Cuando se intentó la misma transformación, pero utilizando  $\text{SeO}_2$ <sup>37</sup> en dioxano en 1 h a 50 °C, no hubo reacción.

Jampilek et al (223) oxidaron la quinaldina utilizando  $\text{SeO}_2$ <sup>38</sup> en dioxano a reflujo por 8 h al respectivo ácido quinolin-2-carboxílico con un rendimiento del 57%.

En base a todo lo anterior, se ensayaron varias condiciones de reacción en la obtención de **2.72** y **2.73** (Tabla 2.15). Las principales variaciones que se realizaron en las condiciones experimentales fueron: a) Variación de la relación molar entre los reactantes, derivado de quinaldina y agente oxidante y b) Tiempo de reacción.

**Tabla 2.15** Condiciones de reacciones probada en la obtención de quinolin-2-carbaldehído, **2.72** y **2.73**.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar		Solvente	Tiempo (h)	T (°C)	R <sup>a</sup> (%)
			Quinaldina	SeO <sub>2</sub>				
<b>923</b>	Cl	H	1.2	1.0	dioxano	7	reflujo	27
<b>784</b>	Cl	H	1.0	1.5	dioxano/H <sub>2</sub> O(5%)	2	reflujo	51
<b>1039</b>	OCH <sub>2</sub> O		1.0	1.5	dioxano/H <sub>2</sub> O(5%)	1	reflujo	13

<sup>a</sup>Rendimiento obtenido del producto purificado.

En la reacción R923, se utilizó un pequeño exceso del derivado **2.88** respecto al  $\text{SeO}_2$ . El solvente utilizado fue dioxano y se calentó a reflujo. El

<sup>37</sup>La relación molar utilizada: quinaldina/ $\text{SeO}_2$  (1:2.3).

<sup>38</sup>La relación molar utilizada: quinaldina/ $\text{SeO}_2$  (1:2.3).

rendimiento del producto purificado fue de tan solo 27%. Como es bien sabido, los aldehídos pueden sobreoxidarse a sus respectivos ácidos carboxílicos. Es por ello que se pensó que un exceso del agente oxidante podía favorecer este proceso, por lo que en R923 se utilizó como reactivo limitante. Sin embargo, a pesar de los reportes publicados se encontró todo lo contrario (220).

En base a lo anteriormente expuesto, en R784 se incrementó la cantidad del agente oxidante, siendo el reactivo limitante **2.88**, se disminuyó el tiempo de reacción y se adicionó un 5% de agua al dioxano. El rendimiento obtenido fue del 51%. En R1039, se utilizaron las condiciones de R784 pero la reacción se mantuvo a reflujo por 1 h. El rendimiento del producto fue tan solo del 13%. Se ensayaron otras condiciones para mejorar el rendimiento del producto deseado pero no fue posible (datos no mostrados).

Es importante comentar que en todos los casos ensayados, durante la reacción, la solución se tornó amarilla y luego roja. Además, se observó la formación de un precipitado negro, siendo éste Selenio metálico, eliminado por filtración en caliente. Una vez evaporado el solvente, se obtuvo un sólido rojizo difícil de disolver en cualquier solvente orgánico. Este sólido rojizo es Selenio coloidal el cual es muy difícil de filtrar, y algo del mismo permanece enlazado al sustrato orgánico. La eliminación completa de todo el Selenio de la mezcla de reacción es difícil (224). Efectivamente, la principal dificultad observada en esta clase de transformación utilizando como agente oxidante  $\text{SeO}_2$ , fue la purificación de la mezcla de reacción, cuando se intentaba sintetizar mayores cantidades de **2.72** y **2.73**.

Se han descrito en la literatura una serie de soluciones a este problema:

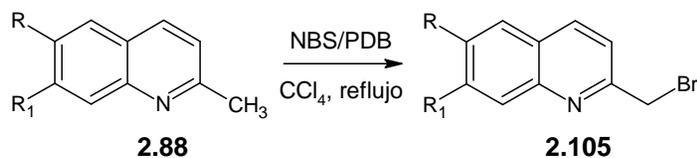
1) La eliminación del Selenio coloidal puede lograrse calentando con DMF, precipitando el Selenio como un sólido negro, que puede ser eliminado por filtración (224). Sin embargo, hay reportes de que este procedimiento no es el más adecuado. Ren et al (225) describieron un procedimiento eficiente y sencillo para la eliminación completa del Selenio coloidal en mezclas de reacción por simple agitación con  $\text{NaHCO}_3$  sólido, para eliminar el  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4$  anhidro, para eliminar el agua, y por último filtrando a través de una delgada capa de Celite® y Florisil® en iguales proporciones. De esta manera se obtiene una mezcla de reacción libre de especies de Selenio. Efectivamente, los crudos de reacción de R923, R784 y R1039 fueron tratados como se detalló anteriormente, lográndose una más fácil purificación.

En la literatura, se ha descrito la oxidación de posiciones bencílicas con nitrato de amonio cérico (CAN) con un rendimiento aceptable del aldehído o del ácido carboxílico respectivo. Se utilizaron algunas de las condiciones reportadas en la literatura para la oxidación del grupo metilo en posición 2 del núcleo quinolínico. En ninguno de los casos ensayados, se logró la obtención del producto deseado.

Las señales más características observadas en el espectro de RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del derivado **2.72** son un singlete en 10.18 ppm debido al protón unido al carbono carbonílico del aldehído y una señal en 193.38 ppm debido al carbono carbonílico del aldehído respectivamente.

**13.1.4.2 Obtención de 2-bromometilquinolinas, sustituidas en las posiciones 6 y/o 7:** Uno de los reactivos más ampliamente utilizados en bromaciones de posiciones bencílicas y alílicas es la NBS, en presencia de un iniciador de radicales libres, tal como PDB en CCl<sub>4</sub>. En nuestro laboratorio, se han llevado a cabo este tipo de bromaciones utilizando las condiciones anteriormente mencionadas obteniéndose el producto monobromado con rendimientos superiores al 80%. En este caso, se procedió a la bromación de compuestos heterocíclicos, específicamente, derivados de la 2-metilquinolina (Tabla 2.16).

**Tabla 2.16** Condiciones de reacciones ensayadas en la obtención de 2-bromometilquinolina.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar			Tiempo (h)
			2-metil quinolina	NBS	PDB <sup>a</sup>	
672	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1.0	1.4	21	23
681		OCH <sub>2</sub> O	1.0	1.2	21	4

<sup>a</sup>Porcentaje molar.

En la reacción R672, la mezcla de todos los reactantes fue calentada a reflujo por 23 h, mientras que en R681, la respectiva 2-metilquinolina disuelta en CCl<sub>4</sub> fue calentada hasta 80 °C e inmediatamente adicionada la NBS y por último el PDB. En el primer caso, la CCF reveló una mezcla de productos difícil

de purificar, mientras que en el segundo caso, la CCF mostró 2-metilquinolina sin reaccionar.

Cuando se realizan bromaciones bencílicas o alílicas, inicialmente la reacción presenta un color naranja intenso que con el transcurso del tiempo desaparece, observándose una solución casi incolora con la aparición de un sólido blanco debido a la succinimida formada. En R672 y R681, ésto no se observó, sino todo lo contrario, la mezcla de reacción se oscureció y la precipitación de succinimida fue escasa.

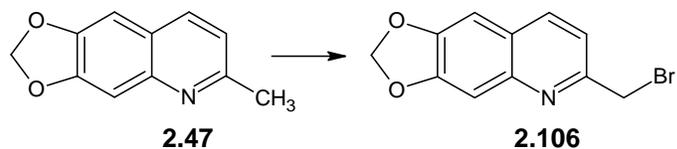
En vista de los resultados anteriores, se intentó nuevamente la bromación utilizando irradiación de microondas. Se han descrito una serie de trabajos donde la utilización de esta clase de irradiación conduce a la bromación de grupos metilo en heterociclos. Goswami et al (226) reportaron la síntesis de una serie de derivados mono y dibromados de compuestos mono y dimetil heterocíclicos, en un solo paso, en ausencia de un iniciador de radicales libres y solvente utilizando irradiación de microondas<sup>39</sup>, obteniéndose productos mono y dibromados, excepto en el caso de derivados de 2-acetamido-6-metilpiridinas donde la bromación ocurrió principalmente sobre el anillo piridínico y en muy poca extensión en el grupo metilo. Se realizaron varios ensayos de bromación vía irradiación con microondas<sup>40</sup> sin solvente y en ausencia de PDB. En la tabla 2.17, se muestran algunos intentos de bromación de la **2.47**.

---

<sup>39</sup>Microondas doméstico BPL 800G. Condiciones: NBS, 450 vatios, 9-15 min.

<sup>40</sup>Microondas doméstico, marca Welbit, modelo MR622W.

**Tabla 2.17** Condiciones de reacciones en la obtención de 2-(bromo)metil-6,7-metilendioxiquinolina, **2.106**.



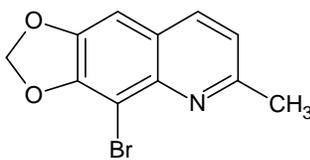
Reacción	Relación molar		Potencia (Vatios)	Tiempo (min)
	2-metil quinolina	NBS		
<b>693</b>	1.0	1.2	550	5
<b>694</b>	1.0	1.0	550	2-3 <sup>a</sup>
<b>697</b>	1.0	1.0	220	3-5-10 <sup>a</sup>
<b>698</b>	1.0	1.6	220	8-8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Indica intervalos de tiempo.

En el primer ensayo realizado, R693, se procedió a la bromación del grupo metilo utilizando un pequeño exceso de NBS, irradiando por 5 min a 550 vatios. Se aisló un sólido de color marrón oscuro muy insoluble en DCM. La CCF del sólido aislado y el espectro de IR mostraron que se trata de succinimida. No se recuperó la quinolina.

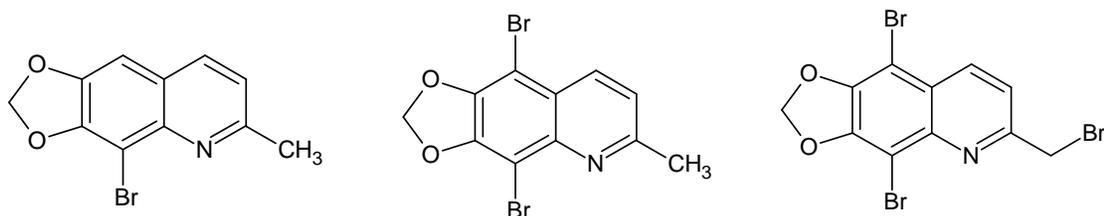
En R694, luego de mezclar bien el derivado **2.47** y la NBS, estos fueron calentados por 2 min a 550 vatios. Una vez que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente, se repitió el procedimiento anterior, pero por 3 min. Nuevamente, se aisló un sólido marrón oscuro, más soluble en DCM que el aislado en R693 y el cual fue purificado por CCP. Se obtuvo un sólido color crema. El espectro de IR mostró un producto diferente a la quinolina utilizada.

En R697 se disminuyó la potencia a 220 vatios y la irradiación se realizó en tres intervalos de tiempo: 3, 5 y 10 min, dejando que alcanzara temperatura ambiente entre cada uno y monitoreando el avance de la misma por CCF. El sólido aislado fue purificado por CCF obteniéndose un sólido color crema con características similares al conseguido en R694. El espectro de IR mostró ser diferente a **2.47**. El EM exhibió una señal intensa con una relación m/z de 266.30 amu, coincidiendo con la masa calculada del producto deseado. Sin embargo, los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C sugirieron que la bromación había ocurrido sobre el núcleo quinolínico y no en el grupo metilo. Al comparar este espectro con el de **2.47** se tiene lo siguiente: un singlete en 2.71 ppm correspondiente al grupo metilo. Si la bromación hubiera ocurrido sobre este grupo, esta señal estaría ausente y se observaría un singlete a campo más bajo. A campo bajo, entre 7.0 y 7.8 ppm se pueden observar todas las señales correspondientes a los protones aromáticos, excepto el protón H-8, el cual está ausente indicando que esta posición fue bromada. El DEPT-135 mostró una sola señal con fase negativa correspondiente al metileno del grupo metilendioxi. De haberse bromado el grupo metilo, este se convertiría en un grupo metileno observándose claramente en el DEPT-135. En base al análisis anterior, todo pareciera indicar que el producto aislado fue la 8-bromo-6,7-metilendioxi-2-metilquinolina **2.107**. El rendimiento obtenido fue de tal solo un 29%.



**2.107**

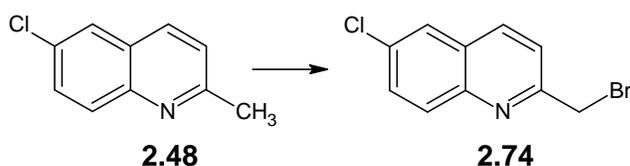
En cuanto a R698, se empleó la misma potencia que en R697 pero aumentado el intervalo de tiempo a 8 min. Una vez purificada la reacción por CCP, se aislaron dos sólidos color crema de aspectos similares. Una vez realizado los espectros de IR de ambos sólidos y al compararlos con el producto obtenido en R697 se encontró lo siguiente: el compuesto más polar, resultó ser el mismo aislado en R697, es decir, el derivado **2.107**, mientras que el compuesto menos polar, mostró un espectro de IR diferente. Se realizó un espectro de RMN-<sup>1</sup>H a este último indicando una mezcla: A campo bajo se observan dos dobletes con constantes de acoplamiento *orto* diferentes entre sí, 7.91 y 8.42 Hz. Los singletes correspondientes a los protones H-5 y H-8 están ausentes indicando que ambas posiciones fueron bromadas. Por otro lado, a campo más alto, exactamente en 4.71 ppm, se observa una singlete no muy intenso que pudiera ser asignado al grupo metileno unido a bromo. Sin embargo, se sigue observando el singlete correspondiente al grupo metilo en 2.74 ppm indicando que la bromación en esta posición fue muy minoritaria. También, en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H se observan algunas señales no muy intensas de **2.107**. Todos los posibles productos formados son mostrados en la figura 2.6.



**Figura 2.6** Mezcla de productos aislados en R698.

Al no poder dirigir la bromación a la posición deseada bajo radiación de microondas, se intentó nuevamente la misma utilizando una fuente de calor convencional, en ausencia de PDB y en un medio polar. Esta vez, se utilizó como compuesto de prueba la 6-cloro-2-metilquinolina **2.48**. Para ello se ensayaron diversas condiciones de reacción (Tabla 2.18).

**Tabla 2.18** Condiciones de reacción en la obtención de 2-(bromo)metil-6-cloroquinolina, **2.74**.



Reacción	R	R <sub>1</sub>	Relación molar			Solvente	Tiempo/T (horas/°C)	R <sup>a</sup> (%)
			2-metil quinolina	NBS	Otros			
<b>916</b>	Cl	H	1.0	1.0	NaOAc	Ac <sub>2</sub> O	14/110 °C	—
<b>918</b>	Cl	H	1.0	1.5	—	Ac <sub>2</sub> O	22/120 °C	38
<b>935</b>	Cl	H	1.0	1.2	h <sub>v</sub> <sup>b</sup>	ACN	5/ 26 °C	41
					h <sub>v</sub> <sup>b</sup>		4/ 90 °C	
<b>979</b>	Cl	H	1.0	1.2	—	ACN	20/80 °C	39

<sup>a</sup>Rendimiento obtenido del producto purificado. <sup>b</sup>Se utilizó una lámpara de 250 vatios.

En R916, se ensayaron unas condiciones similares a las reportadas por Bottino et al (227) sustituyendo el Br<sub>2</sub> por NBS y el HOAc glacial por Ac<sub>2</sub>O. Se aisló un sólido color marrón, el cual fue purificado por CCF aislándose dos productos de diferente polaridad. El espectro de IR del producto menos polar resultó ser **2.48** mientras que el más polar resultó ser succinimida.

En el caso de R918, se utilizó un exceso de la NBS en ausencia del NaOAc. La NBS fue adicionada cuando la temperatura del baño de reacción

alcanzó los 80 °C y seguidamente, la temperatura fue elevada a 120 °C por 22 h. Al igual que la reacción anterior, se aisló un sólido marrón. La CCF mostró dos productos diferentes de polaridades similares a la 6-cloro-2-metilquinolina y ausencia de esta última. Las diferencias observadas entre los espectros de IR de ambos productos y la 6-cloro-2-metilquinolina son muy pequeñas: 1) El compuesto más polar mostró dos bandas intensas, 880 y 833  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que el compuesto menos polar, además de mostrar las dos bandas anteriores, se observó otra banda en 817  $\text{cm}^{-1}$  2) En el compuesto más polar, se pueden advertir dos bandas de mediana intensidad en 1465 y 1124  $\text{cm}^{-1}$  que están ausente en el compuesto menos polar, así como, en el espectro de **2.48**. A este compuesto no se le realizó RMN- $^1\text{H}$ .

Simultáneamente a R918, se realizó otro intento de bromación, R935, utilizando como guía un trabajo publicado por Goswami et al (228), donde se indicó la bromación de la 2,6-dimetilnaftiridina con NBS en ACN en presencia de luz<sup>41</sup> sin la adición de PDB o agua obteniéndose la 2,6-dibromometilnaftiridina y la 2-bromometil-6-metilnaftirina con un rendimiento del 20 y 25% respectivamente. La mezcla de reacción, R935, fue irradiada con un bombillo de 250 vatios por 5 h. Después de este tiempo, la CCF mostró la aparición de un producto distinto a la quinolina de partida, sin embargo, se observó quinolina sin reaccionar. La mezcla de reacción fue calentada a 90 °C por 4 h manteniendo la irradiación. Después de ese tiempo, la CCF no mostró producto de partida. El sólido marrón obtenido fue purificado por CCP

---

<sup>41</sup>Bombillo de 250 vatios.

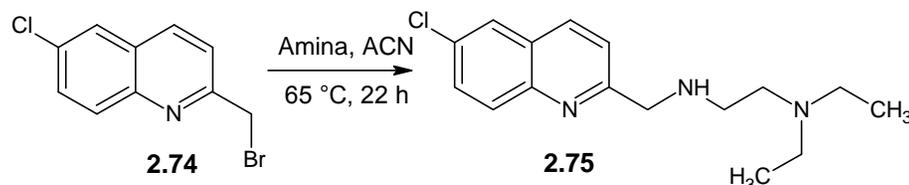
aislándose un sólido amarillo muy fino. El espectro de RMN-<sup>1</sup>H indicó que el producto obtenido era la 2-(bromometil)-6-cloroquinolina **2.74**: La señal más evidente de la obtención del producto fue la desaparición de un singlete en 2.70 ppm asignada al grupo metilo en **2.48** y la presencia de un singlete a campo bajo, en 4.67 ppm asignado a los protones metilénicos vecinales al átomo de bromo. No se observó bromación del núcleo quinolínico. El rendimiento obtenido del producto esperado fue del 41%.

Al comparar el espectro de IR del compuesto aislado en R935, con el espectro de IR del compuesto más polar en R918, se encontró que son iguales, indicando que las condiciones utilizadas en R918 también dieron origen al compuesto monobromado en el metilo con un rendimiento de tan solo un 38%.

Se decidió repetir la experiencia de R935, en R979, pero en ausencia de luz, calentando a 80 °C por 20 h, encontrándose que esta fuente de radiación no era necesaria para que ocurriera la bromación. Se obtuvo **2.74** con un rendimiento del 39%. Se intentaron estas nuevas condiciones de bromación en **2.47**. No se obtuvo el respectivo derivado bromado.

En todas las reacciones ensayadas, llama la atención la formación de succinimida, lo que indicaría la liberación de bromo. La cantidad de succinimida recuperada es mayor del 50%. Sin embargo, la bromación de la 2-metilquinolina sustituida es difícil reflejándose en los rendimientos obtenidos del producto monobromado que no superan el 50% de rendimiento.

**13.1.4.3 Síntesis de *N'*[(6-Cloroquinolin-2-il)metil]-*N,N*-dietiletano-1,2-diamina:** Una vez obtenido el derivado bromado **2.74** se hizo reaccionar con la *N,N*-dietilendiamina vía una reacción  $S_N2$  en ACN a 65 °C por 22 h. El producto deseado fue obtenido con un 40% de rendimiento. El espectro de RMN- $^1H$ ,  $^{13}C$  y EM confirmó que la estructura sintetizada era la esperada (Espectro 2.75).



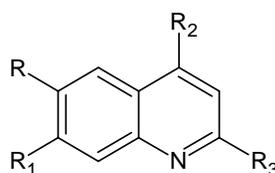
#### 13.1.4.4 Síntesis de derivados del tipo 2-alquenilquinolina.

La síntesis de esta clase de compuestos no fue posible bajo las condiciones de reacción ensayadas. Los compuestos se obtendrían mediante una reacción de Wittig entre el fosforano de **2.74** y acetaldehído o reacción entre el aldehído **2.72** y el fosforano generado *in situ* del ioduro del etiltrifenilfosfonio (fosforano no estabilizado). En el primer caso, no se aisló la respectiva sal de fosfonio de **2.74**, y en el segundo caso, no se logró la reacción entre el aldehído **2.72** y fosforano no estabilizado bajo las condiciones utilizadas. La reacción de Wittig ha sido muy utilizada en nuestro laboratorio en la generación de olefinas con excelentes rendimientos, sin embargo, los compuestos quinolínicos sustituidos utilizados (6-Cl o 6,7-OCH<sub>2</sub>O) no generaron los productos esperados. Se ensayaron algunas condiciones reportadas en la literatura sin éxito (185, 229).

### 13.2 Resultados y Discusión. Sección biológica.

Se evaluó la actividad leishmanicida *in vitro* de 22 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina contra promastigotes de *L. mexicana* (cepa Bel 21) empleando el método de conteo directo en una cámara de Neubauer o hemocitómetro. Las actividades *in vitro* de 14 de ellos, determinadas como  $CI_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$  o  $\mu\text{M}$ ), son mostradas en la Tabla 2.19. El Glucantime fue utilizado como fármaco de referencia.

**Tabla 2.19** Actividades *in vitro* de 14 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina contra promastigotes de *L. mexicana*.

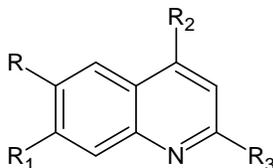


Compuesto <sup>a</sup>	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	CI <sub>50</sub>	CI <sub>50</sub>
					( $\mu\text{g/mL}$ )	( $\mu\text{M}$ )
2.50	Br	H	H	CH <sub>3</sub>	504.1	2269.41
2.49	H	H	H	CH <sub>3</sub>	2.5	17.46
2.47	OCH <sub>2</sub> O		H	CH <sub>3</sub>	191.7	1024.05
2.51	F	H	H	CH <sub>3</sub>	343.8	2133.05
2.55	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	20.0	86.47
2.59	H	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	73.8	430.97
2.57	F	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	85.7	452.88
2.62	OCH <sub>2</sub> O		H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.5	6.97
2.61	OCH <sub>3</sub>	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	78.3	389.03
2.68	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	11.6	58.21
2.65	F	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	39.5	161.01
2.69	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	19.7	91.50
2.67	H	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	37.9	204.57
2.64	Cl	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	65.2	296.75
<b>Glucantime</b>					200.0	

<sup>a</sup>Se utilizó la identificación de la sección química 12.1 (Materiales y métodos).

Las actividades del resto de los derivados son mostrados en la Tabla 2.20. La razón de esta separación se debe a que durante la determinación de la  $CI_{50}$ , algunos compuestos, mostraron dos valores de  $CI_{50}$ . En la tabla, se muestra estos valores para el primer y segundo ensayo. En algunos casos, los valores se mantuvieron después de la repetición (Ej. **2.58** y **2.66**), en otros, los valores son muy diferentes (Ej. **2.46**, **2.48** y **2.70**) o los ensayos no fueron repetidos (Ej. **2.56** y **2.60**).

**Tabla 2.20** Actividades *in vitro* de 8 derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina contra promastigotes de *L. mexicana*.



Compuesto <sup>a</sup>	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	CI <sub>50</sub> (I) <sup>b</sup> (µg/mL)	CI <sub>50</sub> (II) <sup>c</sup> (µg/mL)
<b>2.48</b>	Cl	H	H	CH <sub>3</sub>	22.4	200.0
					60.0	
<b>2.71</b>	OCH <sub>2</sub> O		CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	10.8	28.4
					29.0	
<b>2.70</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	36.8	0.5
<b>2.66</b>	Br	H	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	18.8	0.5
						15.4
<b>2.58</b>	Br	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.6	0.5
					24.1	15.6
<b>2.60</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.9	ND <sup>d</sup>
					24.2	
<b>2.56</b>	Cl	H	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.2	ND <sup>d</sup>
					45.7	
<b>2.46</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	22.8	0.4
					131.6	14.2

<sup>a</sup>Se utilizó la identificación de la sección química 12.1 (Materiales y métodos). <sup>b</sup>Primer ensayo. <sup>c</sup>Segundo ensayo. <sup>d</sup>ND: No determinado.

De todos los derivados quinolínicos ensayados (Tabla 2.19), los que mostraron una actividad prometedora fueron los compuestos **2.49** y **2.62** con valores de  $CI_{50}$  de 2.5 y 1.5  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. En cuanto al resto de los derivados, pareciera que los compuestos con átomos de halógeno disminuyen la actividad leishmanicida, excepto para el compuesto **2.65**, con un átomo de flúor en posición 6 del núcleo quinolínico. Curiosamente, el compuesto **2.67** presenta una  $CI_{50}$  similar a **2.65**. Esta similitud en la actividad biológica pudiera ser explicada ya que el flúor es un isómero del átomo de hidrógeno. La misma analogía puede hacerse para los compuestos **2.57** y **2.59**. Los únicos compuestos para los cuales esto no se observó fueron los derivados **2.49** y **2.51** que mostraron valores de  $CI_{50}$  muy diferentes. Los compuestos que tienen grupos dadores de electrones, ya sea por efecto inductivo o de resonancia, muestran ser más activos que sus contrapartes halogenadas, excepto el derivado **2.47**, el cual mostró ser poco activo.

El compuesto **2.59** fue evaluado *in vitro* por Viera et al (230) en promastigotes de *L. donovani* LV9 WT con un valor de  $CI_{50}$  de 122.3  $\mu\text{M}$ . El valor obtenido de  $CI_{50}$  en *L. mexicana* fue de 430.97  $\mu\text{M}$ , sugiriendo esto que la actividad leishmanicida es dependiente de la especie de *Leishmania*. También, es importante comentar que si bien este compuesto no mostró una actividad leishmanicida *in vitro*, en promastigotes, considerable, estudios *in vivo* han demostrado todo lo contrario, siendo uno de los compuestos más activos entre la serie de 2-alkilquinolinas y con una actividad mejor o cercana a los fármacos de referencia utilizados. Esta diferencia de actividades *in vitro* e *in*

vivo podría indicar que este derivado actuaría como una prodroga (Sección 9.2, Antecedentes Leishmaniasis).

También, se observó que la actividad leishmanicida del fármaco de referencia Glucantime es inferior a los derivados quinolínicos probados. Sin embargo, únicamente los derivados **2.50** y **2.51** mostraron una actividad inferior a este, es decir, menos activos que Glucantime. Estos dos compuestos presentan un átomo de halógeno en posición 6.

Por otra parte, los compuestos indicados en la Tabla 2.20 mostraron dos valores de  $CI_{50}$ . Estos ensayos fueron repetidos, sin embargo, se obtuvieron nuevamente dos valores de  $CI_{50}$ , en algunos casos muy diferentes al primer ensayo y en otros, los valores de  $CI_{50}$  no difieren mucho entre sí. Algunas explicaciones para la obtención de estos resultados pudieran ser (231): **A)** Con el método de conteo directo pudieran cometerse errores derivados de un conteo incorrecto a través del microscopio y pudiera no ser adecuado para evaluar muchos compuestos de manera simultánea. La razón para haber empleado un método de conteo directo y no indirecto (método colorimétrico) es que el primero no requiere de un equipo costoso y es sencillo y **B)** Por otro lado, llama la atención que, cuando el ensayo es repetido por segunda vez, específicamente para el compuesto **2.58**, se obtiene nuevamente dos valores de  $CI_{50}$  muy similares a los obtenidos en el primer ensayo. Esto pudiera indicar reversibilidad del efecto leishmanicida para este derivado quinolínico.

En base a los resultados obtenidos, pareciera que átomos de halógeno en posición 6 del núcleo quinolínico, desfavorecen la actividad leishmanicida *in vitro* contra promastigotes de *L. mexicana*, con excepción del compuesto **2.65**, mientras que grupos dadores de electrones, tipo metilo o dimetoxi, incrementan la actividad leishmanicida, excepto para el compuesto **2.47**.



Una vez evaluada la distribución y normalidad de los datos de actividad biológica, la serie de exploración fue dividida en dos grupos: la serie de entrenamiento (13 compuestos) y la serie de prueba (1 compuesto). La serie de prueba sería utilizada para la validación externa y poder determinar la predictividad de la ecuación QSAR. En cuanto al criterio para la selección de la serie de prueba, se calculó el promedio de las actividades biológicas de la serie de entrenamiento y se seleccionó un compuesto que estuviera cerca del valor promedio. Este compuesto correspondió a **2.67**.

### **13.3.2 Proceso de selección y obtención del conjunto inicial de descriptores.**

Una vez establecida la serie de entrenamiento y de prueba, el siguiente paso fue la obtención de los descriptores. Para ello fue necesario construir los derivados quinolínicos utilizando el programa *CAChe 6.01* a partir del naftaleno depositado en la librería de fragmentos de dicho programa. Estas estructuras para ser utilizadas en los cálculos dependientes del nivel de teoría fueron optimizadas para llevarlas a un punto cercano al mínimo de su energía potencial. Por lo tanto, la geometría de las estructuras fue optimizada mediante mecánica molecular empleando como campo de fuerza MM3 aumentado. Luego, se procedió a realizar una búsqueda conformacional a través de dinámica molecular únicamente a los derivados 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina. Una vez seleccionadas las conformaciones de menor energía, los 14 derivados quinolínicos fueron refinados nuevamente realizando una

optimización de la geometría en MOPAC utilizando dos métodos semiempíricos AM1 y PM3 (dos niveles de teoría).

A partir del refinamiento realizado con AM1 y PM3, por separado, para cada uno de los derivados quinolínicos, se procedió a la selección y tabulación de los descriptores a través del programa *ProjectLeader 6.01* (Tabla 2.2). En cuanto a los descriptores químico-cuánticos solo fueron calculados en algunos átomos (Figura 2.5).

### **13.3.3 Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético.**

Los descriptores calculados para los dos niveles de teoría AM1 y PM3, fueron estandarizados. Luego, los descriptores que serían utilizados en las ecuaciones QSAR fueron seleccionados a partir del algoritmo genético. Se evaluaron tres conjuntos de descriptores: A) Descriptores moleculares, B) Descriptores químico-cuánticos y C) Descriptores moleculares y químico-cuánticos.

**13.3.3.1 Selección de descriptores por aproximación de algoritmo genético para el nivel de teoría AM1.** Para los tres conjuntos bajo estudio, el proceso de reducción del número de descriptores generó una serie de gráficos de ocurrencia para cada una de las poblaciones iniciales de 250, 500 y 1000 individuos (Datos no mostrados). Las gráficas solo muestran los descriptores más importantes que deberían ser considerados para construir la ecuación QSAR. Además de la evaluación de las gráficas, la aplicación del algoritmo

generó una serie de estadísticos, típicos de una regresión lineal múltiple, que indican la bondad de ajuste del modelo de regresión y de predicción tales como:  $R^2$ ,  $R^2_{adj}$ ,  $Q^2$  y  $F$ . En base a todo lo anterior, se pudieron determinar cuales y cuantos descriptores destacaban sobre los demás, al aparecer con una alta frecuencia en cada población.

Los descriptores seleccionados fueron: A) Descriptores moleculares: Índice de conectividad chi-2 ( $^2\chi$ ), peso molecular (PM), índice de conectividad de valencia de orden 2 (Kier 2) e índice de forma de orden 2 ( $^2\kappa$ ), B) Descriptores químico-cuánticos: Carga parcial C4 ( $q_{C4}$ ) y orbital frontera radical C1 y C7 ( $F_{C1}$  y  $F_{C7}$ ), estando estos dos descriptores correlacionados, y superdeslocalización nucleofílica C4 ( $S^+_{C4}$ ) y C) Descriptores moleculares y químico-cuánticos: Índice de conectividad chi-1 y chi-2 ( $^1\chi$  y  $^2\chi$ ), e índice de conectividad de valencia de orden 1 (Kier 1), estando estos tres descriptores altamente correlacionados y superdeslocalización nucleofílica C2 ( $S^+_{C2}$ ).

**13.3.3.2 Proceso de selección de descriptores por aproximación de algoritmo genético para el nivel de teoría PM3.** Los comentarios descritos en el apartado 13.3.3.1 son válidos para el conjunto de descriptores calculados por el nivel de teoría PM3. Los descriptores seleccionados por la aproximación del algoritmo genético fueron: A) Descriptores moleculares: Índice de conectividad de orden chi-1 y chi-2 ( $^1\chi$  y  $^2\chi$ ) e índice de forma de orden 2 ( $^2\kappa$ ), correlacionando estos tres descriptores y la afinidad electrónica (AE), B) Descriptores químico-cuánticos: Superdeslocalización radical C3, C8 y N10

( $S_{C3}$ ,  $S_{C8}$  y  $S_{N10}$ ) y carga parcial C7 ( $qC7$ ). Este último descriptor está correlacionado con  $S_{C8}$  y C) Descriptores moleculares y químico-cuánticos: Refractividad molar (RM) e índice de forma 1 ( $^1\kappa$ ), los cuales están correlacionados, orbital frontera nucleofílica C1 ( $F_{C1}^+$ ), superdeslocalización nucleofílica C4 ( $S_{C4}^+$ ) y superdeslocalización radical C3 ( $S_{C3}$ ). Las gráficas para una población inicial de 1000 individuos con una probabilidad de mutación de 0.01, los valores calculados para cada uno de los descriptores y la matriz de correlación son mostradas en el Anexo IIB y IIC.

### 13.3.4 Desarrollo de los modelos QSAR, validación e interpretación.

Independientemente del nivel de teoría utilizado para el cálculo de los descriptores, se incorporaron un máximo de tres descriptores en las ecuaciones QSAR. También, se desarrollaron ecuaciones con uno y dos descriptores. Los estadísticos utilizados para estimar la calidad de la regresión lineal simple o multivariada no fueron satisfactorios, lo que significa, que los datos no se ajustan de forma adecuada a la línea de regresión, por lo que la validación externa no fue realizada.

#### 13.3.4.1 Desarrollo de los modelos QSAR, validación e interpretación con el nivel de teoría AM1.

**13.3.4.1.1 Modelos QSAR con descriptores moleculares.** Partiendo de los cuatro descriptores seleccionados y utilizando los resultados del algoritmo genético, análisis de la matriz de correlación y determinación de la posible redundancia de los descriptores, se encontró que todos estos

descriptores correlacionaban, por lo que no pudieron ser utilizados juntos en la ecuación QSAR, por lo que se utilizó un solo descriptor por ecuación generándose cuatro ecuaciones. Sin embargo, en base a los estadísticos obtenidos que caracterizan las ecuaciones de regresión, ninguna de las ecuaciones fueron estadísticamente significativas y no podrían ser utilizadas con fines predictivos.

**13.3.4.1.2 Modelos QSAR con descriptores químico-cuánticos.** Se plantearon once ecuaciones QSAR con uno, dos y tres descriptores. Se encontró que los descriptores de  $F_{C1}$  y  $F_{C7}$  correlacionaban, por lo que no pudieron ser utilizados juntos en la ecuación QSAR. En base a los estadísticos obtenidos que caracterizan las ecuaciones de regresión, ninguna de las ecuaciones es estadísticamente significativa.

**13.3.4.1.3 Modelos QSAR con descriptores moleculares y químico-cuánticos.** De las siete ecuaciones QSAR obtenidas a partir de los modelos de regresión lineal simple y multivariada, empleando uno y dos descriptores, ninguna de las ecuaciones es estadísticamente significativa.

**13.3.4.2 Desarrollo de los Modelos QSAR, validación e interpretación con el nivel de teoría PM3.**

**13.3.4.2.1 Modelos QSAR con descriptores moleculares.** Partiendo de los cuatro descriptores seleccionados, se plantearon siete ecuaciones QSAR con uno y dos descriptores. En base a los estadísticos obtenidos que caracterizan las ecuaciones de regresión, ninguna de las ecuaciones son

estadísticamente significativas (Valor  $F$  calculado es menor que el valor  $F$  crítico) y no pudieran ser utilizadas con fines predictivos (Valor de  $Q^2$  menor de 0.5 y en casi todos los casos negativos).

**13.3.4.2.2 Modelos QSAR con descriptores químico-cuánticos.** De las once ecuaciones QSAR planteadas, solamente tres de ellas pudieran ser utilizadas con fines predictivos (Tabla 2.21). A pesar que el valor de  $Q^2$  es inferior a 0.5, el valor  $F$  calculado es algo mayor que el valor tabulado, indicando que los modelos son bastantes confiables.

**Tabla 2.21** Resultados del análisis de regresión lineal multivariada para el conjunto de descriptores químico-cuánticos por el nivel de teoría PM3 (2 y 3 descriptores).

Ec.	Ecuación QSAR	N	s	r	$R^2$	$Q^2$	F	F
2.1	$pCE_{50} = -0.488 * S_{C3} - 0.490 * S_{N10} + 3.692$	13	0.55	0.75	0.56	0.30	6.39	4.10 <sub>(0.05)2,10</sub>
2.2	$pCE_{50} = -0.547 * S_{C3} + 0.251 * S_{C8} - 0.565 * S_{N10} + 3.692$	13	0.51	0.81	0.66	0.37	5.85	3.86 <sub>(0.05)3,9</sub>
2.3	$pCE_{50} = 0.205 * q_{C7} - 0.487 * S_{C3} - 0.531 * S_{N10} + 3.692$	13	0.52	0.79	0.63	0.29	5.14	3.86 <sub>(0.05)3,9</sub>

Sin embargo, el criterio que se utilizó en esta tesis para escoger una ecuación QSAR que fuera confiable y con fines predictivos sería aquel, en que el valor de  $R^2$  y  $Q^2$  fuera superior a 0.5 y que además el valor  $F$  fuera mayor que el valor tabulado. Por esta razón, estas ecuaciones no fueron utilizadas para predecir la actividad de la serie de prueba (Validación externa).

**13.3.4.2.3 Modelos QSAR con descriptores moleculares y químico-cuánticos.** Se plantearon doce ecuaciones QSAR con uno, dos y tres descriptores. Sin embargo, ninguna de las ecuaciones es estadísticamente significativa.

En conclusión, se plantearon 39 ecuaciones QSAR para los tres conjuntos de descriptores (moleculares, químico-cuánticos y moleculares químico-cuánticos) para los niveles de teoría AM1 y PM3. Con el nivel de teoría AM1, no se logró establecer ninguna ecuación QSAR que fuera estadísticamente significativa debido a que los estadísticos obtenidos de las ecuaciones de regresión indicaron que los datos de la serie de entrenamiento no se ajustan de forma adecuada a una recta. En cuanto al nivel de teoría PM3, se logró establecer tres ecuaciones con dos y tres descriptores, que podrían ser utilizadas para predecir la actividad biológica de compuestos que no han sido sintetizados todavía. Sin embargo, los parámetros estadísticos obtenidos deberían ser mejores.

Al comparar los dos niveles de teoría empleados AM1 y PM3, el segundo nivel de teoría resultó más adecuado para establecer algunas ecuaciones QSAR aunque no con la calidad estadística deseada, por lo que en un futuro, pudiera ensayarse otros niveles de teoría.

Algunas de las razones por la cuales no fue posible obtener ninguna ecuación QSAR adecuada para predecir la actividad biológica de esta clase de compuestos pudieran ser: 1) En cuanto a los *datos de actividad biológica*, estos

deben ser confiables para poder construir modelos QSAR predictivos confiables. Tal como se comentó en el apartado 3.3.1, los datos deberían ser obtenidos mediante un protocolo sencillo, realizado en el mismo laboratorio y por la misma persona. Esta última condición fue quebrantada, aunque los ensayos fueron realizados en el mismo laboratorio, estos fueron efectuados por dos investigadores. Además, deberían ser protocolos bien estandarizados y los ensayos repetidos al menos tres veces para cada medida y tres o más veces para el experimento general. Era la primera vez, que esta clase de ensayos se realizaba en el laboratorio, por lo que la estandarización del método requirió tiempo. En la mayoría de los casos, solo se hicieron duplicados de los ensayos de forma simultánea pero no fueron evaluados en tiempos diferentes. Otra de las dificultades observadas fue la lectura de la motilidad de los promastigotes, la cual fue realizada mediante conteo directo y tal como se explicó en la Sección biológica 13.2, podría haber errores en el conteo de los parásitos. En un futuro, se plantea la repetición de estos ensayos empleando un método colorimétrico, tal como, MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio), siendo uno de los más utilizados en esta clase de ensayos, 2) No todos los compuestos sintetizados fueron incluidos en este trabajo de modelado, debido a que ocho de los derivados quinolínicos arrojaron dos valores de  $CI_{50}$ . Los datos de actividad biológica que serán utilizados para el QSAR no deben ser ambiguos. Las posibles razones para haber obtenido dos valores de  $CI_{50}$  ya fueron comentadas en la Sección 13.2.

### 13.3.5 Predicción *in silico* de propiedades ADME para derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas.

Se estimó la biodisponibilidad oral de derivados de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propilquinolina, por medio de cálculos teóricos, realizados con el programa *Accord* versión 7.1.5 para *Excel* para ayudar a establecer las Reglas de Lipinski y Veber. Los resultados de los cálculos para todos los compuestos sintetizados mostraron que tendrían potencialmente una buena absorción *in vivo*, ya que satisfacen ambas reglas sin violaciones (Tablas 2.22A, 2.22B, 2.23).

**Tabla 2.22A** Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados quinolínicos calculados por el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto	Peso Molecular	MLog P <sup>a</sup>	Donadores H	Aceptores H	Satisface RO5
2.48	177.633	2.494	0	1	si
2.71	229.278	2.674	0	3	si
2.70	245.322	2.118	0	3	si
2.66	264.170	3.440	0	1	si
2.68	199.296	3.043	0	1	si
2.65	203.259	3.180	0	1	si
2.69	215.295	2.430	0	2	si
2.55	231.294	1.862	0	3	si
2.50	222.089	2.636	0	1	si
2.58	250.143	3.180	0	1	si
2.49	143.188	1.935	0	1	si
2.67	185.269	2.779	0	1	si
2.59	171.242	2.507	0	1	si
2.60	185.269	2.779	0	1	si
2.56	205.687	3.047	0	1	si
2.57	189.232	2.912	0	1	si
2.62	215.251	2.411	0	3	si

<sup>a</sup>Es el valor de Log P calculado por el método de Moriguchi et al (124,125).

**Tabla 2.22B** Descriptores moleculares para las reglas de Lipinski de derivados quinolínicos calculados por el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto	Peso Molecular	MLog P <sup>a</sup>	Donadores H	Aceptores H	Satisface RO5
<b>2.64</b>	219.714	3.311	0	1	si
<b>2.47</b>	187.197	1.858	0	3	si
<b>2.46</b>	203.240	1.327	0	3	si
<b>2.51</b>	161.178	2.350	0	1	si
<b>2.61</b>	201.268	2.166	0	2	si

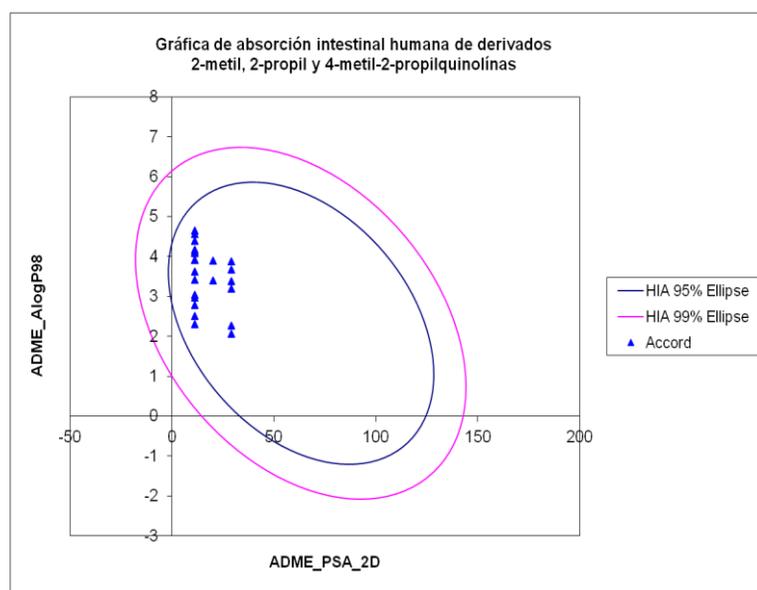
<sup>a</sup>Es el valor de Log P calculado por el método de Moriguchi et al (124,125).

**Tabla 2.23** Descriptores moleculares para las reglas de Veber de derivados quinolínicos calculados con el programa *Accord* para *Excel* (Accelrys).

Compuesto	ASP <sup>a</sup>	Enlaces rotables	Satisface Veber
<b>2.48</b>	11.261	0	si
<b>2.71</b>	29.121	2	si
<b>2.70</b>	29.121	4	si
<b>2.66</b>	11.261	2	si
<b>2.68</b>	11.261	2	si
<b>2.65</b>	11.261	2	si
<b>2.69</b>	20.191	3	si
<b>2.55</b>	29.121	4	si
<b>2.50</b>	11.261	0	si
<b>2.58</b>	11.261	2	si
<b>2.49</b>	11.261	0	si
<b>2.67</b>	11.261	2	si
<b>2.59</b>	11.261	2	Si
<b>2.60</b>	11.261	2	si
<b>2.56</b>	11.261	2	si
<b>2.57</b>	11.261	2	si
<b>2.62</b>	29.121	2	si
<b>2.64</b>	11.261	2	si
<b>2.47</b>	29.121	0	si
<b>2.46</b>	29.121	2	si
<b>2.51</b>	11.261	0	si
<b>2.61</b>	20.191	3	si

<sup>a</sup>Area de superficie polar.

También, a través del mismo programa, fue posible graficar las propiedades ADME en términos de Log P y el ASP para los compuestos sintetizados (Gráfica 2.2). Este modelo predice la absorción intestinal humana después de la administración oral. Un compuesto que se absorba bien en el intestino tendrá al menos un 90% de absorción en el torrente sanguíneo humano. El modelo de absorción intestinal incluye elipses con niveles de confianza de absorción de un 95 y 99%, en donde el eje y corresponde al logaritmo del coeficiente de partición (ADME\_AlogP98) y el eje x corresponde al área de superficie polar (ADME\_PSA\_2D). Estas elipses definen regiones donde los compuestos que son bien absorbidos caen dentro de las regiones de la elipse con niveles de confianza de 95 y 99%. Cualquier punto fuera de la elipse, indica que la absorción tiende a caer rápidamente (126,127). Como puede observarse en la gráfica 2.2, los compuestos bajo estudio caen dentro de la elipse con un nivel de confianza de un 95%, lo que significa que los compuestos tendrían una buena absorción.



**Gráfica 2.2** Gráfica de las propiedades ADME\_AlogP98 (logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua) versus ADME\_PSA\_2D (área de superficie polar) de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas.

## 14. Conclusiones y recomendaciones

### 14.1 Conclusiones

**14.1.1** Se hizo una extensa búsqueda de las síntesis conocidas de derivados de la clase 2-alkilquinolinas y se ensayaron aquellas dentro de mis posibilidades. Primero, se repitieron las condiciones reportadas y luego se modificaron hasta lograr los mejores resultados posibles. Para algunas de ellas, no fue posible reproducir los resultados reportados, aún para el mismo sustrato y para otras, se obtuvieron resultados sobre los cuales no parece haber reportes.

**14.1.2** Se sintetizó un total de 22 derivados quinolínicos de las clases 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alkildiaminoquinolina. La síntesis de los compuestos fue realizada por dos vías diferentes. La primera involucró cuatro pasos de reacción, **Método A**, mientras que la segunda, **Método B**, permitió la obtención de los diferentes derivados quinolínicos en un solo paso de reacción empleando la reacción de Doebner-Miller en un sistema bifásico conformado por Tol/HCl 6N a 105 °C.

**14.1.3** El **Método A** no permitió obtener todos los derivados quinolínicos deseados, específicamente aquellos con sustituyentes halógeno (F, Cl y Br), en la posición 6, ya que durante el proceso de hidrogenación catalítica de los intermediarios 4-cloro-2-metil o 4-cloro-2-propilquinolina (Paso 3), además de la hidrogenación de la posición 4, que era lo deseado, también, se produjo la hidrogenólisis del enlace C6-halógeno, aislándose la 2-metilquinolina o la 2-propilquinolina.

**14.1.4** Otras dificultades encontradas en el Método A fueron los pobres resultados en la obtención de los  $\beta$ -anilincrotonatos de etilo y de las 2-metil y 2-propil-4(1*H*)-quinolonas, lo cual disminuyó notablemente el rendimiento total de la síntesis.

**14.1.5** El **Método B** permitió obtener todos los derivados quinolínicos con rendimientos que oscilaron entre 6 y 70%. Los rendimientos más bajos fueron obtenidos con sustituyentes halógeno, obedeciendo ésto a un efecto electrónico inductivo, atractor de electrones, por estar los sustituyentes ubicados en posición *meta* del sitio de ciclación.

**14.1.6** El compuesto 3-oxohexanoato de etilo, **2.52**, utilizado para la síntesis de los derivados de 2-propilquinolina, fue sintetizado en un solo paso de reacción con un rendimiento cuantitativo.

**14.1.7** El intermediario (3*E*)-hept-3-en-2-ona, **2.63**, utilizado en la síntesis de los derivados 4-metil-2-propilquinolina, se obtuvo en tres pasos de reacción con un rendimiento del 95%.

**14.1.8** No fue posible obtener los derivados de la 2-alquenilquinolina bajo las condiciones de reacción ensayadas. Esta clase de derivados podrían ser obtenidos empleando como productos de partida un derivado de 2-(bromo)metil-quinolina o quinolin-2-carbaldehído sustituidos, mediante una reacción de Wittig con los fosforanos correspondientes. Sin embargo, los rendimientos obtenidos de los productos de partida fueron tan bajos que no

permitieron realizar más ensayos para lograr la síntesis de los derivados del tipo 2-alquenilquinolina.

**14.1.9** Algunos de los derivados quinolínicos sintetizados en esta tesis ya han sido reportados por otros grupos de investigación y evaluados como posibles anticancerígenos. Sin embargo, su actividad como posibles leishmanicidas no había sido ensayada hasta la fecha.

**14.1.10** Se evaluó la actividad leishmanicida de 14 derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas sustituidas en promastigotes de *L. mexicana*. De todos los compuestos, la 2-metilquinolina y la 6,7-metilendioxi-2-propilquinolina mostraron ser los más prometedores de la serie evaluada, con valores de  $CI_{50}$  de 17.46 y 6.97  $\mu$ M respectivamente, siendo más activos que el fármaco utilizado como referencia, Glucantime.

**14.1.11** Durante la evaluación de los derivados quinolínicos, algunos de ellos mostraron dos valores de  $CI_{50}$  pudiendo indicar la reversibilidad del efecto leishmanicida de estos compuestos.

**14.1.12** La síntesis del derivado 2-dietilaminoetilendiaminometilen-6-cloroquinolina, **2.75**, no ha sido reportada hasta la fecha. La actividad biológica de este derivado no fue ensayada.

**14.1.13** En cuanto a los estudios QSAR, no fue posible encontrar una ecuación representativa que relacionara la actividad biológica con la estructura química a partir de los datos de actividad biológica disponibles.

## **14.2 Recomendaciones**

**14.2.1** Con la ayuda de modelado molecular, realizar cálculos semiempíricos de la susceptibilidad radical y electrófila de 2-metilquinolinas sustituidas en las posiciones 6 y/o 7 con sustituyentes dadores de electrones, (metoxi y metilendioxi) y tratar de explicar las razones por las cuales la bromación del metilo en posición 2 de estas quinolinas no fue posible. El mismo enfoque pudiera ser empleado para estudiar la oxidación del mismo metilo con  $\text{SeO}_2$ .

**14.2.2** En cuanto a los datos de actividad biológica, repetir los ensayos empleando un método colorimétrico.

**14.2.3** Realizar ensayos en amastigotes de *L. mexicana*.

**14.2.4** Una vez evaluada la actividad leishmanicida de los derivados quinolínicos por el método colorimétrico, repetir el QSAR y comparar con los resultados obtenidos previamente.

## 15. Referencias.

- (1) Meléndez Crespo EJ, Sánchez Chirinos JA. Parasitología Médica básica: Helmintiasis. Barquisimeto: Ediciones Fundaeducó, 1998.p.103-15.
- (2) Rey, L. Bases Da Parasitología Médica. 3<sup>a</sup>. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- (3) Yépez JY, Scorza JV. Quimioterapia de la leishmaniasis cutánea localizada. Boletín de malariología y salud ambiental. 2003; XLIII (1), 9-20.
- (4) Feliu C, García CZ. Relación entre los vectores de la leishmaniasis y pequeños mamíferos silvestres. [Internet] 2004 [acceso 5 de Septiembre de 2004]. Disponible en: <http://www.ivic.ve/Ecologia/silvestres.htm>.
- (5) Padrón M, Díaz E, Romero A, Machuca C, Ponte Sucre, A. Valor pronóstico de los cambios fisiológicos asociados a la quimio-resistencia en *Leishmania*. VITAE. Academia Biomedica Digital [revista en internet] 2007 octubre-diciembre [acceso 03 de Abril de 2012]. Disponible en: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=39&n=1165>
- (6) Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. Clin Microbiol Rev. 2008; 21 (2): 334-59.
- (7) Pécoul B, Chirac P, Trouiller P, Pinel J. Access to essential drugs in poor countries: a lost battle?. JAMA. 1999; 281(4):361-7.
- (8) Caffrey CR, Secor WE. Schistosomiasis: from drug deployment to drug development. Curr Opin Infect Dis. 2011; 24(5):410-7.
- (9) Fallon PG, Doenhoff MJ. Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. Am J Trop Med Hyg. 1994; 51(1): 83-8.
- (10) Esquistosomiasis. Organización Mundial de la Salud [sede Web] [acceso 22 de Enero de 2012]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/es/>.
- (11) Croft SL, Barrett MP, Urbina JA. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. Trends Parasitol. 2005; 21(11) 508-12.
- (12) Alarcón de Noya B, Balzan C, Arteaga C, Césari I, Noya O. The Last Fifteen Years of Schistosomiasis in Venezuela Features and Evolution. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94(2): 139-46.

- (13) Centers for Disease Control and Prevention CDC [sede Web]. Laboratory of Identification of Parasites of Public Health Concern [acceso 21 de Enero de 2012]. Disponible en: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/html/Schistosomiasis.htm>.
- (14) Utzinger J, N'goran EK, Caffrey CR, Keiser J. From innovation to application: social-ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. *Acta Trop*. 2011; 120 Suppl 1:S121-37.
- (15) Rabello A. Diagnosing schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997; 92 (5): 669-76.
- (16) Feldmeier H, Poggensee G. Diagnostic techniques in schistosomiasis control. A review. *Acta Trop*. 1993; 52(4):205-20.
- (17) Cioli D, Pica-Mattoccia L. Praziquantel. *Parasitol Res*. 2003; 90 Supp 1: S3-9.
- (18) Mansour TE. *Chemotherapeutic Targets in Parasites: Contemporary Strategies*. United Kingdom: Cambridge University Press, 2002.
- (19) Day TA, Bennett JL, Pax RA. Praziquantel: The enigmatic antiparasitic. *Parasitol Today*. 1992; Vol. 8 (10): 342-4.
- (20) Abdul-Ghani R, Loutfy N, el-Sahn A, Hassan A. Current chemotherapy arsenal for *schistosomiasis mansoni*: alternatives and challenges. *Parasitol Res*. 2009; 104(5): 955-65.
- (21) Harder A. Chemotherapeutic approaches to schistosomes: current knowledge and outlook. *Parasitol Res*. 2002; 88(5):395-7.
- (22) Ribeiro-dos-Santos G, Verjovski-Almeida S, Leite LC. Schistosomiasis-a century searching for chemotherapeutic drugs. *Parasitol Res*. 2006; 99(5):505-21: 505-21.
- (23) Pohkle R, Loebich F, Seubert J, Tomas H, inventores; Prazinoisoquinolines as antihelminth agents. Patente Europea. 3,993,760. 23 de Noviembre de 1976.
- (24) Shu-Hua X, Catto BA. Comparative *in vitro* e *in vivo* activity of racemic and its levorotated isomer on *Schistosoma mansoni*. *J Infect Dis*. 1989; 159(3): 589-92.
- (25) Wu W, Wang W, Huang YX. New insight into praziquantel against various developmental stages of schistosomes. *Parasitol Res*. 2011; 109(6): 1501-7.

- (26) Matsuda H, Tanaka H, Nogami S, Muto M. Mechanism of action of praziquantel on the eggs of *Schistosoma japonicum*. Jpn J Exp Med. 1983; 53(6): 271-4.
- (27) Angelucci F, Basso A, Bellelli A, Brunori M, Pica Mattoccia L, Valle C. The anti-schistosomal drug praziquantel is an adenosine antagonist. Parasitology, 2007; 134(Pt 9):1215-21.
- (28) Tallima H, El Ridi R. Praziquantel binds *Schistosoma mansoni* adult worm actin. Int J Antimicrob Agents. 2007; 29(5): 570-5.
- (29) Gnanasekar M, Salunkhe AM, Mallia AK, He YX, Kalyanasundaram R. Praziquantel affects the regulatory myosin light chain of *Schistosoma mansoni*. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(3): 1054-60.
- (30) McTigue MA, Williams DR, Tainer JA. Crystal structures of a schistosomal drug and vaccine target: glutathione S-transferase from *Schistosoma japonica* and its complex with the leading antischistosomal drug praziquantel. J Mol Biol. 1995; 246(1): 21-7.
- (31) Greenberg RM. Are Ca<sup>2+</sup> channels targets of praziquantel action?. Int J Parasitol. 2005; 35(1): 1-9.
- (32) Redman CA, Robertson A, Fallon PG, Modha J, Kusel JR, Doenhoff MJ, et al. Praziquantel: an urgent and exciting challenge. Parasitol Today. 1996; 12(1): 14-20.
- (33) Pica-Mattoccia L, Orsini T, Basso A, Festucci A, Liberti P, Guidi A, et al. *Schistosoma mansoni*: lack of correlation between praziquantel-induced intra-worm calcium influx and parasite death. Exp Parasitol. 2008; 119(3): 332-5.
- (34) Abath FG, Werkhauser RC. The tegument of *Schistosoma mansoni*: functional and immunological features. Parasite Immunol. 1996; 18(1): 15-20.
- (35) Fallon PG, Cooper RO, Probert AJ, Doenhoff MJ. Immune-dependent chemotherapy of schistosomiasis. Parasitology. 1992; 105 Suppl: S41-8.
- (36) Brindley PJ, Sher A. Immunological involvement in the efficacy of praziquantel. Exp Parasitol. 1990; 71(2): 245-8.
- (37) Brindley PJ. Relationships between chemotherapy and immunity in schistosomiasis. Adv Parasitol. 1994; 34:133-61.
- (38) Pearce EJ, MacDonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. Nat Rev Immunol. 2002; 2(7): 499-511

- (39) Troiani AR, Pica-Mattoccia L, Valle C, Cioli D, Mignogna G, Ronketti F, et al. Is actin the praziquantel receptor?. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 30(3): 280-1.
- (40) Milhon JL, Thiboldeaux RL, Glowac K, Tracy JW. *Schistosoma japonicum* GSH S-transferase Sj26 is not the molecular target of praziquantel action. *Exp Parasitol*. 1997; 87(3): 268-74.
- (41) Schepmann D, Blaschke G. Isolation and identification of 8-hydroxypraziquantel as a metabolite of the antischistosomal drug praziquantel. *J Pharm Biomed Anal*. 2001; 26(5-6): 791-9.
- (42) Geerts S, Gryseels B. Drug resistance in human helminths: current situation and lessons from livestock. *Clin Microbiol Rev*. 2000; 13(2): 207-22
- (43) Fallon PG, Tao LF, Ismail MM, Bennett JL. Schistosome resistance to praziquantel: Fact or artifact? *Parasitol Today*. 1996; 12(8): 316-20.
- (44) Doenhoff MJ, Kusel JR, Coles GC, Cioli D. Resistance of *Schistosoma mansoni* to praziquantel: is there a problem? *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002; 96(5): 465-9.
- (45) Dong Y, Chollet J, Vargas M, Mansour NR, Bickle Q, Alnouti Y, et al. Praziquantel analogs with activity against juvenile *Schistosoma mansoni*. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010; 20(8): 2481-84.
- (46) Liu H, William S, Herdtweck E, Botros S, Dömling A. MCR Synthesis of Praziquantel derivatives. *Chem Biol Drug Des*. 2012; 79(4): 470-7.
- (47) Sadhu PS, Kumar SN, Chandrasekharam M, Pica-Mattoccia L, Cioli D, Rao VJ. Synthesis of new praziquantel analogues: Potential candidates for the treatment of schistosomiasis. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012; 22(2): 1103-6.
- (48) Laurent SAL, Boissier J, Cosledan F, Gornitzka H, Robert A, Meunier B. Synthesis of "Trioxaquantel"® derivatives as potential new antischistosomal drugs. *European J Org Chem*. 2008; 208(5): 895-13.
- (49) Saeed AEM, Karim ELA, Ahmed BM, Ibrahim KEE, Suleiman ML, Suleiman SM. Synthesis of some derivatives of the open lactam from praziquantel and their in vitro/in vivo cyclization. *Saudi Pharm Society*. 2003; 11(4): 172-83.
- (50) Suleiman MI, A/Karim EI, Saad AM, Ibrahim KE, Ahmed BM, Saeed AEM, et al. Antichistosomal efficacy study of praziquantel, its alkaline hydrolysis and the sun-decomposed products. *Saudi Pharm J*. 2005; 13(4):171-8.

- (51) Utzinger J, Xiao S, N'Goran EK, Bergquist R, Tanner M. The potential of artemether for the control of schistosomiasis. *Int J Parasitol.* 2001; 31(14): 1549-62.
- (52) Doenhoff MJ, Cioli D, Utzinger J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Curr Opin Infect Dis.* 2008; 21(6): 659-67.
- (53) Xiao S, Shen B, Chollet J, Utzinger J, Tanner M. Tegumental changes in adult *Schistosoma mansoni* harbored in mice treated with artemether. *J Parasitol.* 2000; 86(5): 1125-32.
- (54) Xiao S, Shen BG, Utzinger J, Chollet J, Tanner M. Transmission electron microscopic observations on ultrastructural damage in juvenile *Schistosoma mansoni* caused by artemether. *Acta Trop.* 2002; 81(1): 53-61
- (55) Shaohong L, Kumagai T, Qinghua A, Xiaolan Y, Ohmae H, Yabu Y, et al. Evaluation of the anthelmintic effects of artesunate against experimental *Schistosoma mansoni* infection in mice using different treatment protocols. *Parasitol Int.* 2006; 55(1): 63-8.
- (56) Xiao S, Chollet J, Utzinger J, Matile H, Mei J, Tanner M. Artemether administered together with haemin damages schistosomes *in vitro*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001; 95(1): 67-71.
- (57) Xiao SH, Keiser J, Chollet J, Utzinger J, Dong Y, Endriss Y, Vennerstrom JL, Tanner M. *In vitro* and *in vivo* activities of synthetic trioxolanes against major human schistosome species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51(4): 1140-5.
- (58) el-Hamouly W, Pica-Mattoccia L, Cioli D, Schwartz HM, Archer S. Studies on some derivatives of oxamniquine. *J Med Chem.* 1988; 31(8): 1629-31.
- (59) Pica-Mattoccia L, Carlini D, Guidi A, Cimica V, Vigorosi F, Cioli D. The schistosome enzyme that activates oxamniquine has the characteristics of a sulfotransferase. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006; 101 Suppl 1: 307-12.
- (60) de Oliveira Penido ML, Zech Coelho PM, de Mello RT, Piló-Veloso D, de Oliveira MC, Kusel JR, et al. Antischistosomal activity of aminoalkanethiols, aminoalkanethiosulfuric acids and the corresponding disulfides. *Acta Trop.* 2008(2-3); 108: 249-55.

- (61)** Seubert J, Pohkle R, Tomas H, Andrews P, inventores; Ring substituted pyrazino-isoquinoline derivatives and their preparation. Patente Americana. 4,120,961. 17 de Octubre de 1978.
- (62)** Schepers H, Brasseur R, Goormaghtigh E, Duquenoy P, Ruyschaert JM. Mode of insertion of praziquantel and derivatives into lipid membranes. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37(8): 1615-23.
- (63)** Abo-Ghalia MH, Soliman AE. Synthesis and antischistosomal activity of a new 2-nicotinoyl dipeptide analogue of praziquantel. *Arzneimittelforschung.* 1996; Vol. 46(2): 207-9.
- (64)** Wermuth CG. The practice of medicinal chemistry. Application strategies for primary structure-activity relationship exploration. San Diego: Academic Press, 2003.p.289-300.
- (65)** Seubert J, Pohlke R, Loebich F. Synthesis and properties of praziquantel, a novel broad spectrum anthelmintic with excellent activity against Schistosomes and Cestodes. *Experientia.* 1977; 33(8):1036-7.
- (66)** Seubert J, Herbet T, Andrews P, inventores; 2-Acyl-4-oxo pyrazinoisoquinoline derivatives and process for the preparation thereof. Patente europea. 4,001,411 4. Enero de 1977.
- (67)** Shen Z, Han B, Wickramasinghe S. Cyanide removal from industrial praziquantel wastewater using integrated coagulation–gas-filled membrane absorption. *Desalination*, 2006; 195(1-3): 40-50.
- (68)** Roszkowski P, Maurin JK, Czarnocki Z. Enantioselective synthesis of R-(-)-praziquantel (PZQ). *Tetrahedron Asymmetry.* 2006; 17(9): 1415-9.
- (69)** Ma C, Zhang Q-F, Tan Y-B, Wang L. Total Synthesis of (-)-praziquantel: an anthelmintic drug. *J Chem Res.* 2004. 35 (40): 186-7.
- (70)** Kim HJ, Lee YS, Park H, Kim CS. Formation of pyrazinoisoquinoline ring system by the tandem amidoalkylation and *N*-acyliminium ion cyclization: An efficient synthesis of praziquantel. *Tetrahedron*, 1998; 54(26): 7395-7400.
- (71)** Cao H, Liu H, Domling A. Efficient multicomponent reaction synthesis of the Schistosomiasis drug praziquantel. *Chemistry.* 2010; 16(41): 12296-8.
- (72)** Todd MH, Ndubaku C, Bartlett PA. Amino acid derived heterocycles: Lewis acid catalyzed and radical cyclizations from peptide acetals. *J Org Chem.* 2002; 67(12): 3985-8.

- (73) Kim JH, Lee YS, Kim CS. Synthesis of praziquantel via *N*-acylminium ion cyclization of amido acetals through several synthetic routes. *Heterocycles*. 1998; 48(11): 2279-85.
- (74) El-Fayyoumy S, Mansour W, Todd MH. Solid phase synthesis of praziquantel. *Tetrahedron Lett*. 2006; 47(8) 1287-90.
- (75) Frehel D, Maffrand J-P. New synthesis of praziquantel: 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino(2,1-a)isoquinolin-4-ona. *Heterocycles*. 1983; 20(9): 1731-35.
- (76) Yuste F, Pallás Y, Barrios H, Ortíz B, Sánchez-Obregón R. A short synthesis of praziquantel. *J Heterocycl Chem*. 1986; 23: 189-90.
- (77) Berkowitz WF, John TV. An internal imino-Diels-Alder route to a tetrahydroisoquinoline. *J Org Chem*. 1984; 49(26): 5269-71.
- (78) Carvalho MR, de Souza JP, de Araújo HC. Síntese do anti-helmíntico praziquantel, a partir da glicina. *Quim Nova*. 1999; 22(1): 5-10.
- (79) Pratim Roy P, Paul S, Mitra I, Roy K. On two novel parameters for validation of predictive QSAR models. *Molecules*. 2009; 14(5): 1660-701.
- (80) Perkins R, Fang H, Tong W, Welsh WJ. Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. *Environ Toxicol Chem*. 2003; 22(8): 1666-79.
- (81) Verma J, Khedkar V, Coutinho E. 3D-QSAR in drug design-A review. *Curr Top Med Chem*. 2010; 10(1): 95-115.
- (82) Golbraikh A, Shen M, Xiao Z, Xiao YD, Lee KH, Tropsha A. Rational selection of training and test sets for the development of validated QSAR models. *J Comput Aided Mol Des*. 2003; 17 (2-4): 241-53.
- (83) Kiralj R, Ferreira M. Basic validation procedures for regression models in QSAR and QSPR studies: Theory and application. *L Braz Chem Soc*. 2009; 20(4): 770-87.
- (84) Pastor M, Alvarez-Builla J. Real Academia Nacional de farmacia. [documento Web] [acceso 23 de Junio de 2012]. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/334/353>.
- (85) The EDISFAR Programs. Rational drug series design. *Quant Struct-Act Relat*. 1991; 10 (4): 350-8.

- (86) Pleiss MA, Unger SH. The design of test series and the significance of QSAR relationships. In Quantitative Drug Design: Pergamon Press, 1990.
- (87) Cronin MT, Schultz TW. Pitfalls in QSAR. *Theochem*. 2003; 622 (1-2); 39-51.
- (88) Sumathy K. "Chemical Descriptors" From QSARWorld - A Strand Life Sciences Web Resource. [Internet] [acceso 26 de Junio de 2012]. Disponible en: <http://www.qsarworld.com/insilico-chemistry-chemical-descriptors.php>.
- (89) Deeb O. Recent Applications of Quantitative Structure-Activity Relationships in Drug Design, Medicinal Chemistry and Drug Design, Deniz Ekinci (Ed.), ISBN: 978-953-51-0513-8, InTech,. [Internet] [acceso 27 de Junio de 2012] Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/medicinal-chemistry-and-drug-design/recent-applications-of-quantitative-structure-activity-relationships-in-drug-design>.
- (90) Stewart JJ. MOPAC: a semiempirical molecular orbital program. *J Comput Aided Mol Des*. 1990; 4(1):1-105.
- (91) Geerlings P, De Proft F, Langenaeker W. Conceptual density functional theory. *Chem Rev*. 2003; 103(5): 1793-873.
- (92) Winkler D. The role of quantitative structure-activity relationships (QSAR) in biomolecular discovery. *Briefings in Bioinformatic*. 2002; 3: 73-86.
- (93) Topliss J, Costello R. Chance correlations in structure-activity studies using multiple regression analysis. *J Med Chem*. 1972; 15(10):1066-8.
- (94) Leach A, Gillet VJ. An introduction to chemoinformatics. Netherlands: Springer, 2007.
- (95) QSAR World. [Internet] [acceso sábado de Junio de 2012]. Disponible en: <http://www.qsarworld.com/statistics.php>.
- (96) Zavala A, González JB, Chacón L. Estudio QSAR por algoritmos genéticos de reconocedores de surco del DNA. *Biológicas*. 2010; 12(2): 108-115.
- (97) Euskal H, Larrañaga P. Tema 2. Algoritmos genéticos. Departamento de Ciencias de la computación e Inteligencia Artificial. Universidad del País Vasco [documento Web] [acceso 20 de Junio de 2012]. Disponible en: <http://www.redksr.com/~talos/t2geneticos.pdf>.
- (98) Terflloth L, Gasteiger G. Neural networks and genetic algorithms in drug design. *Drug Discov Today*. 2001; 6(15)(Suppl): S102-08

- (99) Guidance document on the validation of (Quantitative) structure -activity relationships (QSAR) Models. OECD. [documento Web] [acceso 28 de Junio de 2012]. Disponible en: [http://www.oecd.org/document/4/0,3746,en\\_2649\\_34379\\_42926724\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/4/0,3746,en_2649_34379_42926724_1_1_1_1,00.html).
- (100) Yasri A, Hartsough D. Toward an optimal procedure for variable selection and QSAR model building. *J Chem Inf Comput Sci.* 2001; 41(5): 1218-27.
- (101) Mendenhall W, Beaver RJ, Beaver BM. Introducción a la probabilidad y estadística. 12<sup>a</sup>. Mexico: Thomson, 2008.
- (102) Escalona JC, Carrasco R, Padrón JA. Introducción al diseño racional de fármacos. La Habana: Editorial Universitaria, 2008.
- (103) Silverman R. The Organic chemistry of drug design and drug action. 2<sup>a</sup>. San Diego: Elsevier, 2004.
- (104) Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; Vol. 46(1-3): 3-26.
- (105) Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J Med Chem.* 2002; 45(12): 2615-23.
- (106) Bellur E, Langer P. Synthesis of functionalized pyrroles and 6,7-dihydro-1H-indol-4(5H)-ones by reaction of 1,3-dicarbonyl compounds with 2-azido-1,1-diethoxyethane. *Tetrahedron Lett.* 2006; 47(13): 2151-4.
- (107) Theodorou V, Skobridis K, Tzakos AG, Ragoussis V. A simple method for the alkaline hydrolysis of esters. *Tetrahedron Lett.* 2007; 48(46): 8230-3.
- (108) Woelfe M. The resolution of praziquantel. [Internet] [acceso 15 de Julio de 2012]. Disponible en: <http://www.thesynapticleap.org/node/296>.
- (109) Smithers SR, Terry RJ. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. *Parasitology.* 1965; 55(4): 695-700.
- (110) Doomes E, Overton BM. Synthesis and reactivity of *N*-Substituted-1-amino-2-(methylsulfonyl)-3-phenyl-2-propenes. *J Org Chem.* 1987; 52(8): 1544-8.

- (111) Almeida JF, Naya J, Martin N, Grande M, Moran JR, Caballero MC. New enantioselective synthesis of 4-hydroxy-2-oxopyrrolidine-N-acetamide (oxiracetam) from malic acid. *Tetrahedron Asymmetry*. 1992; 3(11): 1431-40
- (112) Gould ES. *Mechanism and Structure in Organic Chemistry*. Holt-Rinehart-Winston, 1959.
- (113) Su T, Zhu B-Y, Scarborough RM, inventores; Selective factor Xa inhibitors. Patente Americana. 6,369,063. 9 de Abril de 2002.
- (114) Singh CB, Kavala V, Samal AK, Patel BK. Aqueous-Mediated N-alkylation of Amines. *European J Org Chem*. 2007; 2007(8): 1369-77.
- (115) Weber V, inventor; Conjugates of 2-fluoro-2-deoxy-glucose and their uses as anti cancer agents. Patente Europea. 1881000. Francia de 2006.
- (116) Lloyd- Williams P, Albericio F, Giralt E. *Chemical approaches to the synthesis of peptide and proteins*. Boca Raton: CRC Press, 1997.
- (117) DeTar DF, Silverstein R. Reactions of Carbodiimides. II. The reactions of dicyclohexylcarbodiimide with carboxylic acids in the presence of amines and phenols. *J Am Chem Soc*. 1966; 88(5):1020-3.
- (118) Maryanoff E, Zhang H-C, Cohen JH, Turchi IJ, Maryanoff CA. Cyclizations of *N*-acyliminium ions. *Chem Rev*. 2004; 104(3): 1431-628.
- (119) Lee JS, Kim SH, Yoon HS, Lee C-H. Synthesis of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-2-sulfonic Acids. *Bull Korean Chem Soc*. 2003; Vol. 24(7): 1041-4.
- (120) Castedo L, Granja A, Rodríguez De Lera A, Villaverde MC. Structure and synthesis of goudotianine, a new 7-methyldehydroaporphine from *guatteria goudotiana*. *J Heterocycl Chem*. 1988 Vol. 25(5): 1561-6.
- (121) Sinhababu AK, Bocharde RT. Silica gel-assisted reduction of nitrostyrenes to 2-aryl-1-nitroalkanes with sodium borohydride. *Tetrahedron Lett*. 1983; 24(3): 227-30.
- (122) Kohno S, Murahashi. Synthesis of Phenethylamines by Hydrogenation of beta-Nitrostyrenes. *Rodium*. [documento Web] [acceso 28 de Noviembre de 2011]. Disponible en: <http://www.erowid.org/archive/rhodium/chemistry/ns.hydrogenation.html>.
- (123) Bermejo A, Andreu I, Suvire F, Léonce S, Caignard DH, Renard P, et al. Syntheses and antitumor targeting G1 phase of the cell cycle of

benzoyldihydroisoquinolines and related 1-substituted isoquinolines. *J Med Chem.* 2002; 45(23): 5058-68.

**(124)** Moriguchi I, Hirono S, Liu Q, Nakagome I, Matsushita Y. Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient. *Chem Pharm Bull.* 1992; 40(1): 127-30.

**(125)** Moriguchi I, Hirono S, Liu Q, Nakagome I, Hirano H. Comparison of Reliability of logP Values for Drugs Calculated by Several Methods. *Chem Pharm Bull* 1994; 42(4): 976-8.

**(126)** Egan WJ, Lauri G. Prediction of intestinal permeability. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54(3): 273-89.

**(127)** Egan WJ, Merz KM Jr, Baldwin JJ. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. *J Med Chem.* 2000; 43(21): 3867-77.

**(128)** Handman E. Cell biology of *Leishmania*. *Adv Parasitol.* 1999; 44: 1-39.

**(129)** Ponte-Sucre A. Physiological consequences of drug resistance in *Leishmania* and their relevance for chemotherapy. *Kinetoplastid Biol Dis.* 2003; 2(1):14

**(130)** Antoine JC, Prina E, Lang T, Courret N. The biogenesis and properties of the parasitophorous vacuoles that harbour *Leishmania* in murine macrophages. *Trends Microbiol.* 1998; 6(10): 392-401.

**(131)** Centers for disease Control & Prevention. Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/leishmaniasis.htm>.

**(132)** Organización Panamericana de la Salud. Manual de lucha contra la Leishmaniasis Visceral. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.ops-oms.org/Spanish/AD/DPC/CD/leishmaniasis-manual.htm>.

**(133)** TDR. Leishmaniasis disease information. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/info/en/index.html>.

**(134)** WHO. Burden of disease. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>.

**(135)** Essential leishmaniasis maps. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: [http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis\\_maps/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/index.html).

- (136) Ministerio del Poder Popular para la Salud. Alertas Epidemiológicas 2012. [Internet] [acceso 25 de Marzo de 2012]. Disponible en: [http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com\\_content&view=article&id=927&Itemid=915](http://www.mpps.gob.ve/index.php?option=com_content&view=article&id=927&Itemid=915).
- (137) Frézard F, Demicheli C, Ribeiro RR. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. *Molecules*. 2009; 14(7): 2317-36.
- (138) Scorza JV, Morales C, Petit de Pena Y. Synthesis of a pentavalent antimonial complex (Ulamina) and its experimental application for treatment of localized cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Bol Mal Salud Amb*. 2006; 46(1): 59-65.
- (139) Kuhlencord A, Maniera T, Eibl H, Unger C. Hexadecylphosphocholine: oral treatment of visceral leishmaniasis in mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992; 36(8): 1630-4.
- (140) Sundar S, Jha TK, Thakur CP, Engel J, Sindermann H, Fischer C, et al. Oral miltefosine for Indian visceral leishmaniasis. *N Engl J Med*. 2002; 347(22): 1739-46.
- (141) Berman JD. Development of miltefosine for the leishmaniasis. *Mini Rev Med Chem*. 2006; 6 (2): 145-51.
- (142) Paris C, Loiseau PM, Bories C, Bréard J. Miltefosine induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(3): 852-9.
- (143) Marinho Fde A, Gonçalves KC, Oliveira SS, Oliveira AC, Bellio M, d'Avila-Levy CM, Santos AL, Branquinha MH. Miltefosine induces programmed cell death in *Leishmania amazonensis* promastigotes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2011;106(4): 507-9.
- (144) Cabrera-Serra MG, Valladares B, Piñero JE. In vivo activity of perifosine against *Leishmania amazonensis*. *Acta Trop*. 2008;108(1): 20-5.
- (145) Escobar P, Matu S, Marques C, Croft SL. Sensitivities of *Leishmania* species to hexadecylphosphocholine (miltefosine), ET-18-OCH(3) (edelfosine) and amphotericin B. *Acta Trop*. 2002; 81(2): 151-7.
- (146) Kedzierski L, Sakthianandeswaren A, Curtis JM, Andrews PC, Junk PC, Kedzierska K. Leishmaniasis: current treatment and prospects for new drugs and vaccines. *Curr Med Chem*. 2009; 16(5): 599-614.

- (147) Van Assche T, Deschacht M, da Luz RA, Maes L, Cos P. *Leishmania*-macrophage interactions: insights into the redox biology. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51(2): 337-51.
- (148) Serrano-Martín X, García-Marchan Y, Fernandez A, Rodriguez N, Rojas H, Visbal G, et al. Amiodarone destabilizes intracellular  $Ca^{2+}$  homeostasis and biosynthesis of sterols in *Leishmania mexicana*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(4): 1403-10.
- (149) de Macedo-Silva ST, de Oliveira Silva TL, Urbina JA, de Souza W, Rodrigues JC. Antiproliferative, ultrastructural, and physiological effects of amiodarone on promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonensis*. *Mol Biol Int*. 2011; 2011:876021
- (150) Ouellette M, Drummelsmith J, Papadopoulou B. Leishmaniasis: drugs in the clinic, resistance and new developments. *Drug Resist Updat*. 2004; 7: 257-66.
- (151) Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(1): 111-26.
- (152) Natera S, Machuca C, Padrón-Nieves M, Romero A, Díaz E, Ponte-Sucre A. *Leishmania* spp.: proficiency of drug-resistant parasites. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 29 (6): 637-42.
- (153) Pérez-Victoria FJ, Sánchez-Cañete MP, Seifert K, Croft SL, Sundar S, Castanys S, et al. Mechanisms of experimental resistance of *Leishmania* to miltefosine: Implications for clinical use. *Drug Resist Updat*. 2006; 9(1-2): 26-39.
- (154) Hernández-Ruiz J, Becker I. [CD8+ cytotoxic lymphocytes in cutaneous leishmaniasis]. *Salud Publica Mex*. 2006; 48(5): 430-9.
- (155) Mougneau E, Bihl F, Glaichenhaus N. Cell biology and immunology of *Leishmania*. *Immunol Rev*. 2011; 240(1): 286-96.
- (156) Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. *Kuby Immunology*. 4<sup>a</sup>. United States of America: Freeman, 2000.
- (157) Lieke T, Nylén S, Eidsmo L, McMaster WR, Mohammadi AM, Khamesipour A, et al. *Leishmania* surface protein gp63 binds directly to human natural killer cells and inhibits proliferation. *Clin Exp Immunol*. 2008; Vol. 153(2): 221-30.
- (158) Brittingham A, Morrison CJ, McMaster WR, McGwire BS, Chang KP, Mosser DM. Role of the *Leishmania* surface protease gp63 in complement

fixation, cell adhesion, and resistance to complement-mediated lysis. *J Immunol.* 1995; 155(6): 3102-11.

**(159)** Brittingham A, Mosser DM. Exploitation of the complement system by *Leishmania* promastigotes. *Parasitol Today.* 1996; 12(11):444-7.

**(160)** Schlagenhaut E, Etges R, Metcalf P. The crystal structure of the *Leishmania* major surface proteinase leishmanolysin (gp63). *Structure.* 1998; 6(8):1035-46.

**(161)** Nascimento E, Mayrink W, da Costa CA, Michalick MS, Melo MN, Barros GC, et al. Vaccination of humans against cutaneous leishmaniasis: cellular and humoral immune responses. *Infect Immun.* 1990; 58(7): 2198-203.

**(162)** Beverley SM, Turco SJ. Lipophosphoglycan (LPG) and the identification of virulence genes in the protozoan parasite *Leishmania*. *Trends Microbiol.* 1998; 6(1): 35-40.

**(163)** de Assis RR, Ibraim IC, Nogueira PM, Soares RP, Turco SJ. Glycoconjugates in New World species of *Leishmania*: Polymorphisms in lipophosphoglycan and glycoinositolphospholipids and interaction with hosts. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1820(9): 1354-65

**(164)** Secundino N, Kimblin N, Peters NC, Lawyer P, Capul AA, Beverley SM, Turco SJ, Sacks D. Proteophosphoglycan confers resistance of *Leishmania major* to midgut digestive enzymes induced by blood feeding in vector sand flies. *Cell Microbiol.* 2010; 12(7): 906-18.

**(165)** Naderer T, McConville MJ. The *Leishmania*-macrophage interaction: a metabolic perspective. *Cell Microbiol.* 2008; 10(2): 301-8.

**(166)** [Internet] [acceso 31 de Marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/REyAG.html>.

**(167)** McConville MJ, Naderer T. Metabolic pathways required for the intracellular survival of *Leishmania*. *Annu Rev Microbiol.* 2011; 6: 543-61.

**(168)** Bogdan C, Röllinghoff M. How do protozoan parasites survive inside macrophages? *Parasitol Today.* 1999; 15(1): 22-8.

**(169)** Burchmore RJ, Barrett MP. Life in vacuoles-nutrient acquisition by *Leishmania* amastigotes. *Int J Parasitol.* 2001; 31(12):1311-20.

- (170) Landfear SM. Nutrient transport and pathogenesis in selected parasitic protozoa. *Eukaryot Cell*. 2011; 10(4): 483-93.
- (171) Ndjamen B, Kang BH, Hatsuzawa K, Kima PE. Leishmania parasitophorous vacuoles interact continuously with the host cell's endoplasmic reticulum; parasitophorous vacuoles are hybrid compartments. *Cell Microbiol*. 2010; 12(10): 1480-94.
- (172) Liñares GE, Ravaschino EL, Rodriguez JB. Progresses in the field of drug design to combat tropical protozoan parasitic diseases. *Curr Med Chem*. 2006; 13(3): 335-60.
- (173) Croft SL, Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr Pharm Des*. 2002; 8(4): 319-42.
- (174) Chawla B, Madhubala R. Drug targets in *Leishmania*. *J Parasit Dis*. 2010; 34(1):1-13.
- (175) Krauth-Siegel RL, Comini MA. Redox control in trypanosomatids, parasitic protozoa with trypanothione-based thiol metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1780 (11): 1236-48.
- (176) Krauth-Siegel RL, Inhoff O. Parasite-specific trypanothione reductase as a drug target molecule. *Parasitol Res*. 2003; 90 Suppl 2: S77-85.
- (177) Chan-Bacab MJ, Peña-Rodríguez LM. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat Prod Rep*. 2001; 18(6): 674-88.
- (178) Rocha LG, Almeida JR, Macêdo RO, Barbosa-Filho JM. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*. 2005; 12(6-7): 514-35.
- (179) Akendengue B, Ngou-Milama E, Laurens A, Hocquemiller R. Recent advances in the fight against Leishmaniasis with natural products. *Parasite*. 1999; 6(1): 3-8
- (180) Mishra BB, Singh RK, Srivastava A, Tripathi VJ, Tiwari VK. Fighting against Leishmaniasis: search of alkaloids as future true potential anti-Leishmanial agents. *Mini Rev Med Chem*. 2009; 9(1): 107-23.
- (181) Fournet A. Les chimanines, nouvelles quinoleines substituées en 2, isolées d'une plante bolivienne antiparasitaire: *Galipea longiflora*. *J Nat Prod*. 1993; 56: 1547-52.

- (182) Fournet A, Barrios AA, Muñoz V, Hocquemiller R, Cavé A, Bruneton J. 2-Substituted quinoline alkaloids as potential antileishmanial drugs. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37(4): 859-63.
- (183) Fournet A, Barrios AA, Muñoz V, Hocquemiller R, Roblot F, Cavé A, et al. Antiprotozoal activity of quinoline alkaloids isolated from *Galipea longiflora*, a Bolivian plant used as a treatment for Cutaneous Leishmaniasis. *Phytother Res.* 1994; 8: 174-78.
- (184) Fournet A, Ferreira ME, Rojas De Arias A, Torres De Ortiz S, Fuentes S, Nakayama H, et al. In vivo efficacy of oral and intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental treatment of new world cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; Vol. 40(11): 2447-51.
- (185) Fakhfakh MA, Fournet A, Prina E, Mouscadet JF, Franck X, Hocquemiller R, Figadère B. Synthesis and biological evaluation of substituted quinolines: potential treatment of protozoal and retroviral co-infections. *Bioorg Med Chem.* 2003; 11(23): 5013-23.
- (186) Nakayama H, Loiseau PM, Bories C, Torres de Ortiz S, Schinini A, Serna E, et al. Efficacy of orally administered 2-substituted quinolines in experimental murine cutaneous and visceral leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005(12); 49: 4950-6.
- (187) Nakayama H, Desrivot J, Bories C, Franck X, Figadère B, Hocquemiller R, Fournet A, Loiseau PM. *In vitro* and *in vivo* antileishmanial efficacy of a new nitroquinoline against *Leishmania donovani*. *Biomed Pharmacother.* 2007, Vol. 61(2-3): 186-8.
- (188) Kinnamon KE, Steck EA, Loizeaux PS, Hanson WL, Chapman WL Jr, Waits VB. The antileishmanial activity of lepidines. *Am J Trop Med Hyg.* 1978; 27(4): 751-7.
- (189) Wasunna MK, Rashid JR, Mbui J, Kirigi G, Kinoti D, Lodenyo H, et al. A phase II dose-increasing study of sitamaquine for the treatment of visceral leishmaniasis in Kenya. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 73 (5): 871-6.
- (190) Coimbra ES, Libong D, Cojean S, Saint-Pierre-Chazalet M, Solgadi A, Le Moyec L, et al. Mechanism of interaction of sitamaquine with *Leishmania donovani*. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65(12): 2548-55.

- (191) Yardley V, Gamarro F, Croft SL. Antileishmanial and antitrypanosomal activities of the 8-aminoquinoline tafenoquine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(12): 5356-8.
- (192) Loiseau PM, Gupta S, Verma A, Srivastava S, Puri SK, Sliman F, et al. In vitro activities of new 2-substituted quinolines against *Leishmania donovani*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55(4): 1777-80.
- (193) Belliard AM, Leroy C, Banide H, Farinotti R, Lacour B. Decrease of intestinal P-glycoprotein activity by 2n-propylquinoline, a new oral treatment for visceral leishmaniasis. *Exp Parasitol.* 2003; 103(1-2): 51-6.
- (194) Osorio E, Robledo SM, Arango GJ, Muskus CE. *Leishmania*: papel de la glicoproteína P en la mediación de resistencia a medicamentos y estrategias de reversión. *Biomedica.* 2005; 25(2): 242-60.
- (195) Kouznetsov VV, Vargas LY, Meléndez CM. Recent progress in the synthesis of quinolines. *Curr Org Chem.* 2005; 9(2): 141-61.
- (196) Kurti L, Czako B. Strategic applications of named reactions in organic synthesis. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005: 414-5.
- (197) Matsugi M, Tabusa F, Minamikawa J. Doebner-Miller synthesis in a two-phase system: practical preparation of quinolines. *Tetrahedron Lett.* 2000; 41(44): 8523-25.
- (198) Safari J, Banitaba SH, Samiei SS. One-pot synthesis of quinaldine derivatives by using microwave irradiation without any solvent - A green chemistry approach. *J Chem Sci.* 2009; 121(4): 481-4.
- (199) Ranu BC, Hajra A, Dey SS, Jana U. Efficient microwave-assisted synthesis of quinolines and dihydroquinolines under solvent-free conditions. *Tetrahedron.* 2003; 59(6): 813-9.
- (200) Chaskar A, Padalkar V, Phantangare K, Langi B, Shah C. Micellar-mediated phosphomolybdic acid: highly effective reusable catalyst for synthesis of quinoline and its derivatives. *Synth Commun.* 2010; 40(15): 2336-40.
- (201) Kurti L, Czako B. Strategic applications of named reactions in organic synthesis. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005: 94-5.
- (202) McNaughton BR, Miller BL. A mild and efficient one-step synthesis of quinolines. *Org Lett.* 2003; 5(23): 4257-9.

- (203) Brener Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1962; 4: 389-96.
- (204) Reynolds GA, Hauser C. Organic synthesis. Ethyl  $\beta$ -anilincrotonato. 1955; 3: 74-5.
- (205) Kuo SC, Lee HZ, Juang JP, Lin YT, Wu TS, Chang JJ, et al. Synthesis and cytotoxicity of 1,6,7,8-substituted 2-(4'-substituted phenyl)-4-quinolones and related compounds: identification as antimitotic agents interacting with tubulin. J Med Chem. 1993; 36(9): 1146-56.
- (206) Hauser CR, Reynolds GA. Reactions of  $\beta$ -keto esters with aromatic amines. Synthesis of 2-and 4-hydroxyquinoline derivatives. J Am Chem Soc. 1948; 70(7): 2402-4.
- (207) Adams DR, Domínguez JN, Pérez J. Synthesis of quinolines by reaction of anilinobutenoates. Tetrahedron Lett. 1983; 24(5): 517-8.
- (208) Sridharan V, Avendaño C, Menéndez JC. General, mild and efficient synthesis of  $\beta$ -enaminones catalyzed by ceric ammonium nitrate. Synlett. 2007; 2007(6): 881-4.
- (209) Gemma S, Savini L, Altarelli M, Tripaldi P, Chiasserini L, Sanna S. Development of antitubercular compounds based on a 4-quinolyldiazine scaffold. Further structure-activity relationship studies. Bioorg Med Chem. 2009; 17(16): 6063-72.
- (210) Atwell GJ, Rewcastle GW, Baguley BC, Denny WA. Potential antitumor agents. 50. In vivo solid-tumor activity of derivatives of N-[2-(dimethylamino)ethyl]acridine-4-carboxamide. J Med Chem. 1987; 30(4): 664-9.
- (211) Desbois N, Gardette M, Papon J, Labarre P, Maisoniaux A, Auzeloux P, et al. Design, synthesis and preliminary biological evaluation of acridine compounds as potential agents for a combined targeted chemo-radionuclide therapy approach to melanoma. Bioorg Med Chem. 2008; 16(16): 7671-90.
- (212) Nasr M, Drach JC, Smith SH, Shipman C Jr, Burckhalter JH. 7-Aminoquinolines. A novel class of agents active against Herpesviruses. J Med Chem. 1988; 31(7): 1347-51
- (213) Smith MB, March J. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, mechanisms, and structure. 5<sup>a</sup>. United States of America: Wiley-Interscience publication, 2001.

- (214) Zhiguo Song E, Hughes DL, investores; 7-Chloroquinaldine synthesis. Patente Americana. 5,126,456. 30 de Junio de 1992.
- (215) Leir CM. An improvement in the Doebner-Miller synthesis of quinaldines. J Org Chem. 1977; 42(5): 911-3.
- (216) Krapcho P, Diamanti C, Cayen C, Bingham R. 2-Carboethoxycyclooctanone. Organic Syntheses Coll. 1973; 5: 198.
- (217) Soloway SB, LaForge FB. The Synthesis of some  $\beta$ -keto esters. J Am Chem Soc. 1947; 69(11): 2677-8.
- (218) Vohra RK, Renaud J-L, Bruneau. Tertiary 3-aminopropenones and 3-aminopropenoates: Their preparation, with and without lewis acid, from secondary amines and 1,3-diketo compounds. Synthesis. 2007; 2007(5): 731-8.
- (219) Pérez-Melero C, Maya ABS, del Rey B, Peláez, Caballero E, Medarde M. A new family of quinoline and quinoxaline analogues of combretastatins. Bioorg Med Chem Lett. 2004; 14(14): 3771-4.
- (220) Achremowicz L. A new approach to the oxidation of methylquinolines with selenium dioxide. Synth Commun. 1996; 26(9): 1681-4.
- (221) Kaplan H. The Use of selenium dioxide in the preparation of quinoline aldehydes. J Am Chem Soc. 1941; 63(10): 2654-5.
- (222) Tagawa Y, Yamashita K, Higuchi Y, Goto Y. Improved oxidation of active methyl group of *N*-heteroaromatic compounds by selenium dioxide in the presence of *ter*-butyl hydroperoxide. Heterocycles. 2003; 60(4): 953-7.
- (223) Jampilek JF, Dolezal M, Kunes J, Buchta V. Quinaldine derivatives preparation and their antifungal activity. 8th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry. ECSOC-8. 1-30 November 2004 [Internet] 2004[acceso 10 de julio 2011]. Disponible en: <http://www.usc.es/congresos/ecsoc/8/BOCNP/005/index.htm>
- (224) Fieser LF, Fieser M. Reagents for organic synthesis. New York: Wiley, 1967; 8: 439.
- (225) Ren RX, Nakanishi K. Clean and efficient procedure for the complete removal of reddish, colloidal Selenium from reaction mixtures. Aldrichimia Acta. 1997; 30(4): 106.
- (226) Goswami S, Dey S, Jana S, Adak AK. Side chain bromination of mono and dimethyl heteroaromatic and aromatic compounds by solid phase *N*-

bromosuccinimide reaction without radical initiator under microwave. Chem Lett. 2004; 33(7): 916-7.

**(227)** Bottina F, Di Pasqueale G, Pollicino A, Recca A. Synthesis and characterization of new quinoline monomers. J Heterocycl Chem. 1989; 26(4): 929-31.

**(228)** Goswami S, Ghosh K, Mukherjee R, Adak A, Mahapatra A. *N*-Bromosuccinimide reactions of some heterocycles in the presence or absence of water: An overview of ring versus side chain bromination for the synthesis of important brominated heterocyclic synthons. J Heterocycl Chem. 2001; 38: 173-8.

**(229)** Conrad PC, Kwiatkowski PL, Fuchs PL. Synthesis via vinyl sulfones. 18. Rapid access to a series of highly functionalized  $\alpha,\beta$ -unsaturated cyclopentenones. A caveat on aminospicyclization. J Org Chem. 1987; 52(4): 586-91.

**(230)** Vieira NC, Herrenknecht C, Vacus J, Fournet A, Bories C, Figadère B, et al. Selection of the most promising 2-substituted quinoline as antileishmanial candidate for clinical trials. Biomed Pharmacother. 2008; 62(10): 684-9.

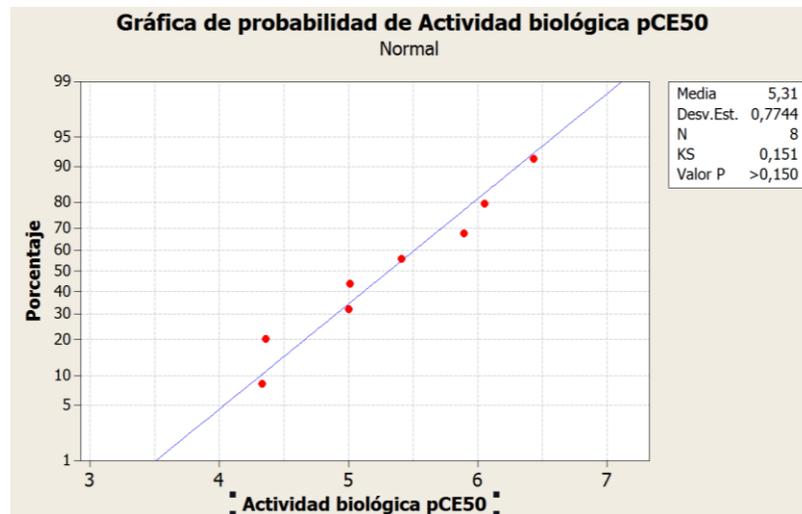
**(231)** Fumarola L, Spinelli R, Brandonisio O. *In vitro* assays for evaluation of drug activity against *Leishmania* spp. Res Microbiol. 2004; 155(4): 224-30.

## **Anexo I.**

**Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de derivados y análogos de pirazinoisoquinolinas con posible actividad esquistosomicida.**

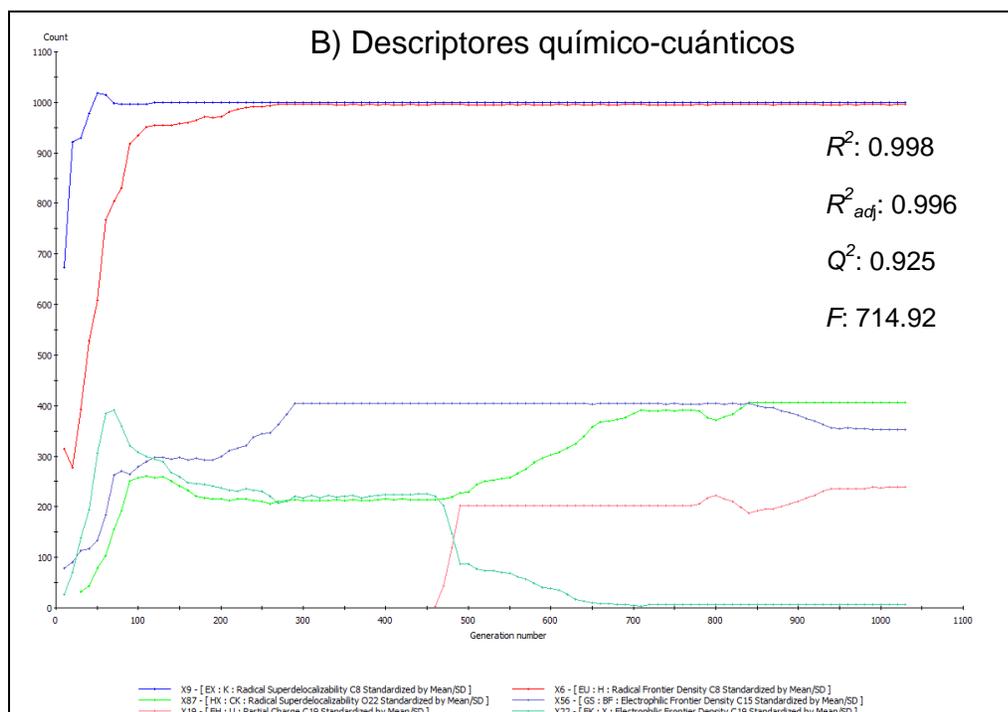
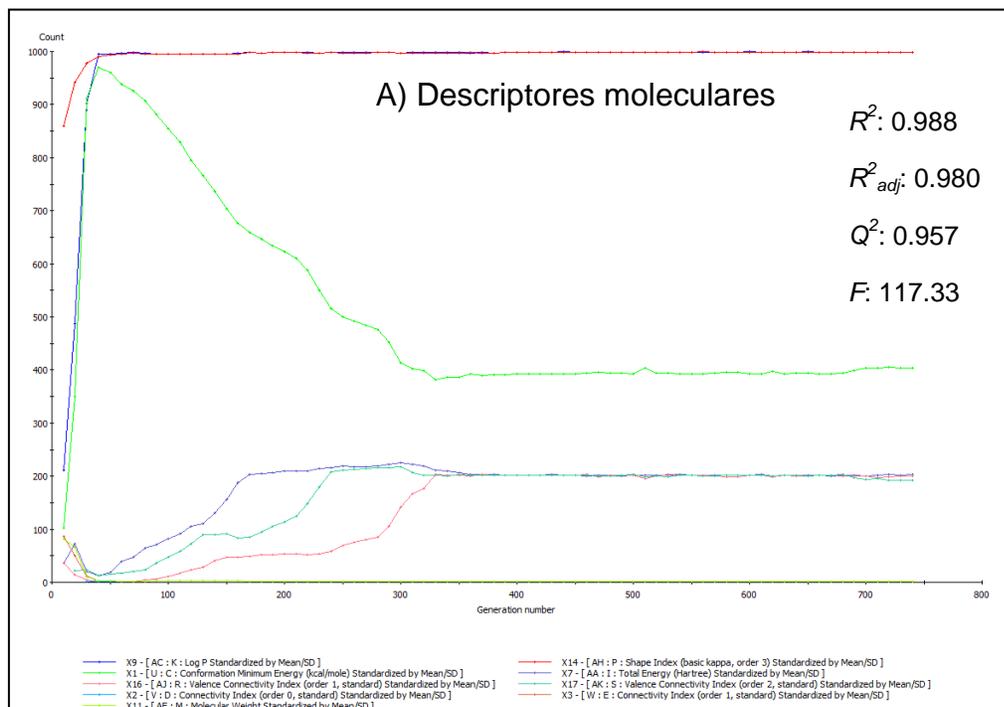
## IA. Verificación de la distribución normal de los datos de actividad biológica para los derivados de PZQ sintetizados por Liu et al.

La normalidad de los datos es importante cuando van a ser empleados en cálculos de regresión lineal. Para ello, se aplicó la *prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov*. La aplicación de esta prueba genera una gráfica de probabilidad normal y realiza una prueba de hipótesis para examinar si las observaciones siguen o no una distribución normal. Para la prueba de normalidad, las hipótesis son: hipótesis nula  $H_0$ , los datos siguen una distribución normal versus hipótesis alternativa  $H_1$ , los datos no siguen una distribución normal. Como puede observarse en la Gráfica IA, los datos de actividad biológica muestran una distribución normal, ya que, los puntos de la gráfica conforman una línea aproximadamente recta. Por otro lado, el valor de  $p$  (0.150) es mayor que el valor de  $\alpha$  (0.05), aceptando la  $H_0$ .

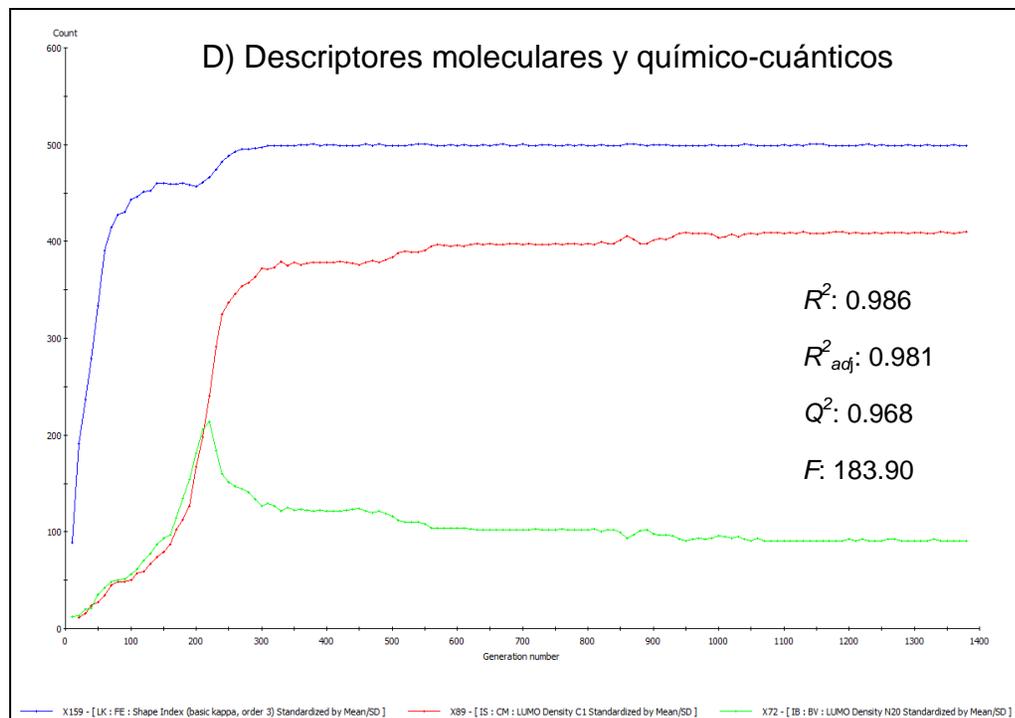
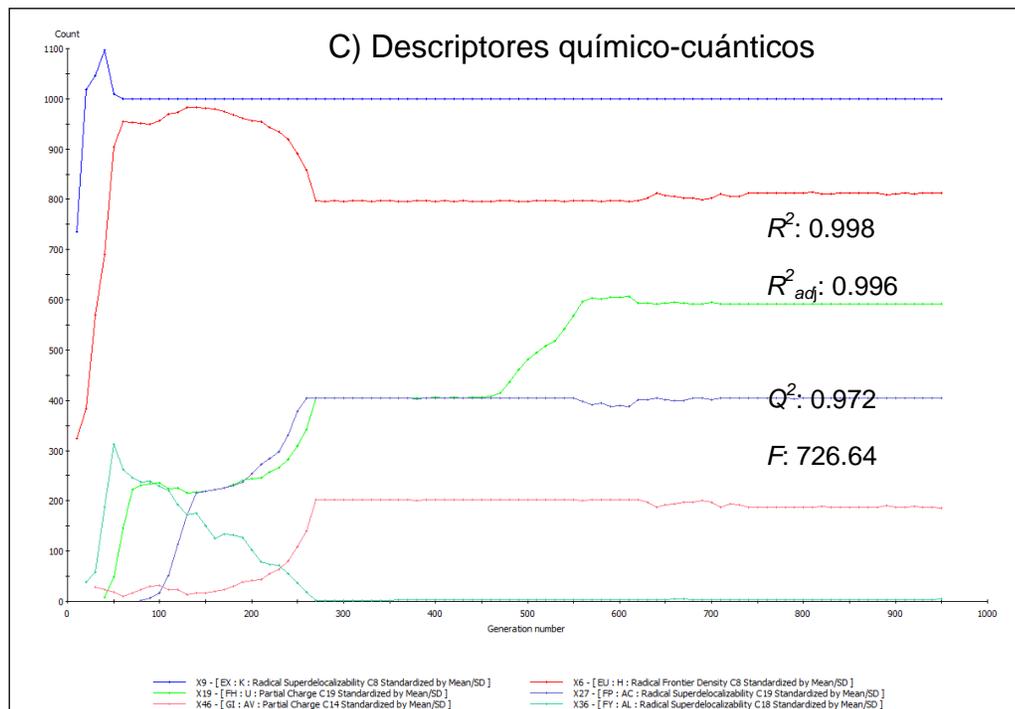


**Gráfica IA.a** Gráfica de probabilidad de la actividad biológica de derivados y análogos de PZQ expresada en pCE<sub>50</sub>.

**IB. Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético.**



**Gráfica IB.a** Resultados gráficos expresados como “Número de ocurrencias del descriptor versus Número de generación” para un tamaño de población de 1000 individuos y una probabilidad de mutación de de 0.01 para el **nivel de teoría** PM3 para cada uno de los conjuntos de descriptores: A) Moleculares y B) Químico-cuánticos.



**Gráfica I.B.b** Resultados gráficos expresados como “Número de ocurrencias del descriptor versus Número de generación” para un tamaño de población de 1000 individuos y una mutación de probabilidad de 0.01 para el nivel de teoría PM3 utilizadas en el algoritmo genético para el conjunto de descriptores: C) Químico-cuánticos y D) Moleculares y químico-cuánticos.

IC. Valores de los descriptores para cada uno de los compuestos de la serie de entrenamiento para los tres conjuntos de descriptores seleccionados por la aproximación de algoritmo genético.

### I.C.a Descriptores moleculares.

Compuesto	$E_{min}$	ET (Hartree)	${}^3K$	ProLog P
PZQ	-74.698	-0.119	3.254	2.710
PZQ 8a1	-112.324	-0.179	3.704	2.650
PZQ 8c1	-52.390	-0.083	3.338	3.250
PZQ 9a1	-78.035	-0.124	3.241	3.150
PZQ 9d1	-92.232	-0.147	4.160	4.260
PZQ 10b2	-23.236	-0.037	3.254	1.950
PZQ 10c2	-39.746	-0.063	3.575	3.070
PZQ 10d1	-69.419	-0.111	4.025	2.040

### Matriz de correlación.

	$E_{min}$	ET (Hartree)	${}^3K$	ProLog P
$E_{min}$	1	0.9999	-0.4514	-0.3661
ET (Hartree)	0.9999	1	-0.4544	-0.3630
${}^3K$	-0.4514	-0.4544	1	0.3050
Log P	-0.3661	-0.3630	0.3050	1

### Descriptores químico-cuánticos.

#### Descriptores.

Compuesto	$F_{C8}$	$S_{C8}$	$S_{C19}$	$F_{C15}$	$S_{O22}$
PZQ	0.182	0.222	0.217	0.011	0.198
PZQ 8a1	0.168	0.222	0.222	0.004	0.195
PZQ 8c1	0.176	0.224	0.218	0.005	0.198
PZQ 9a1	0.165	0.223	0.217	0.016	0.201
PZQ 9d1	0.157	0.217	0.218	0.021	0.198
PZQ 10b2	0.098	0.221	0.219	0.015	0.201
PZQ 10c2	0.089	0.217	0.216	0.011	0.201
PZQ 10d1	0.064	0.218	0.215	0.009	0.206

### Matriz de correlación.

	$F_{C8}$	$S_{C8}$	$S_{C19}$	$F_{C15}$	$S_{O22}$
$F_{C8}$	1	0.6495	0.5155	-0.0665	-0.8116
$S_{C8}$	0.6495	1	0.4490	-0.4235	-0.4071
$S_{C19}$	0.5155	0.4490	1	-0.1092	-0.7866
$F_{C15}$	-0.0665	-0.4235	-0.1092	1	0.1905
$S_{O22}$	-0.8116	-0.4071	-0.7866	0.1905	1

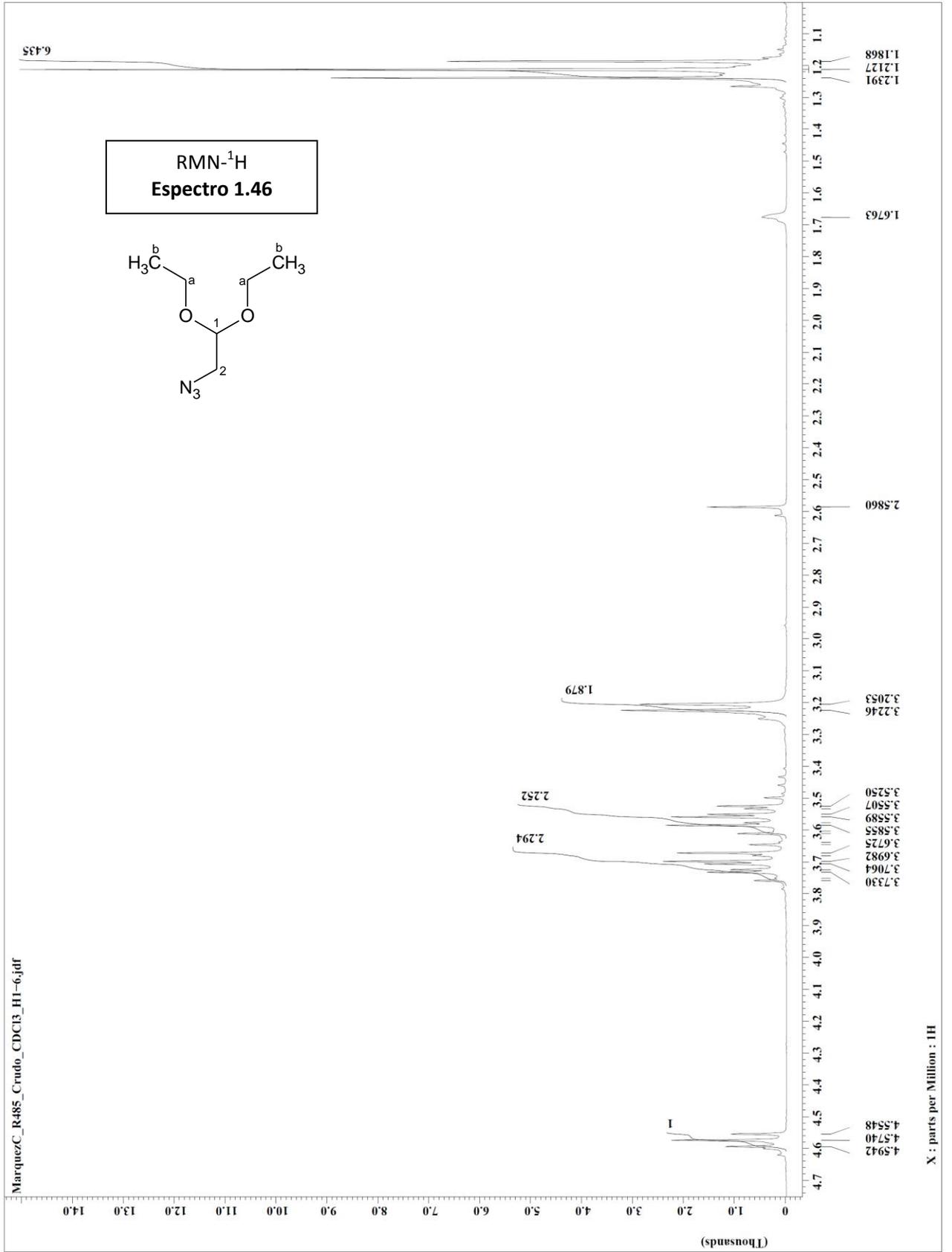
## Descriptores moleculares y químico-cuánticos

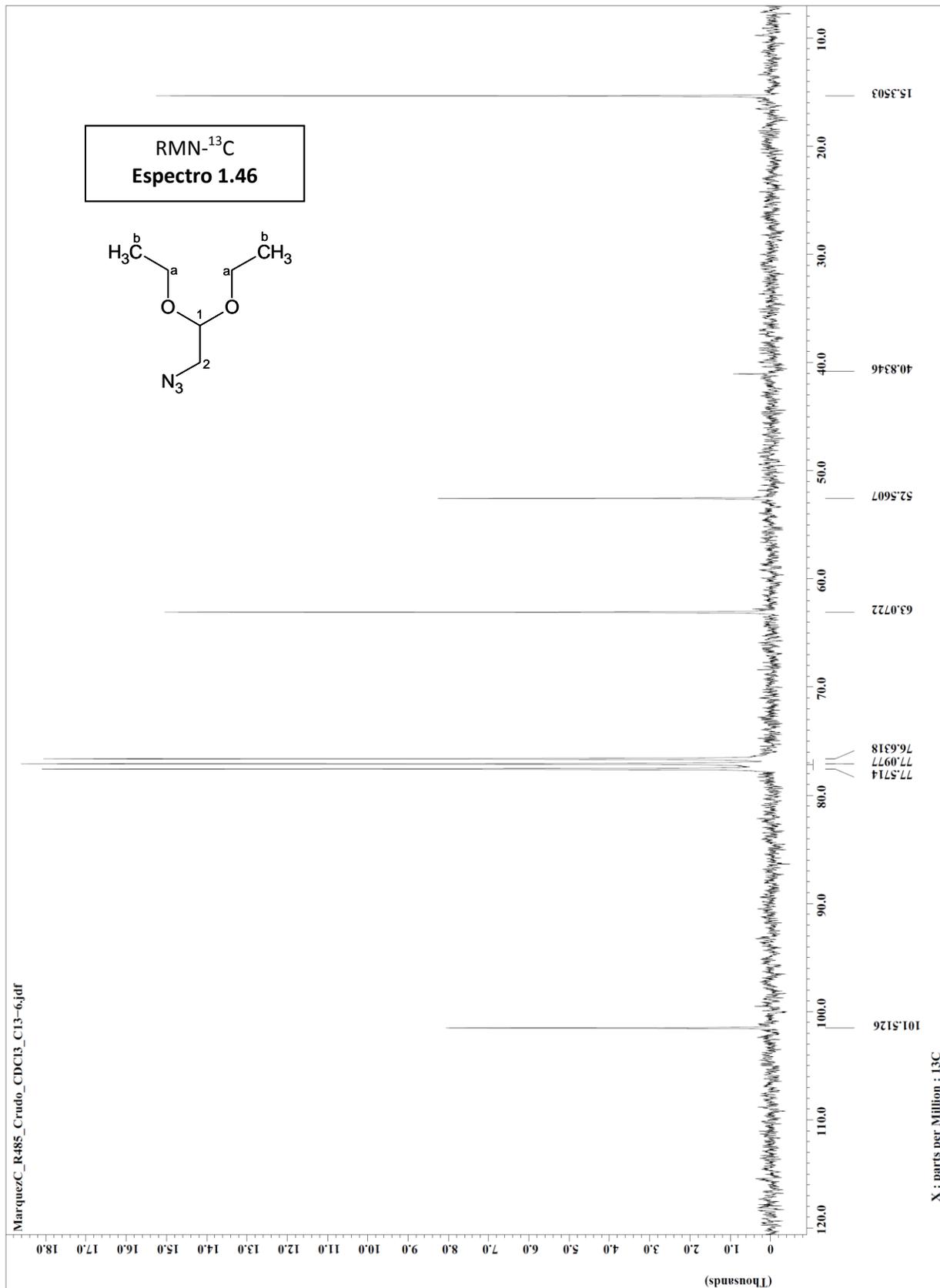
### Descriptores.

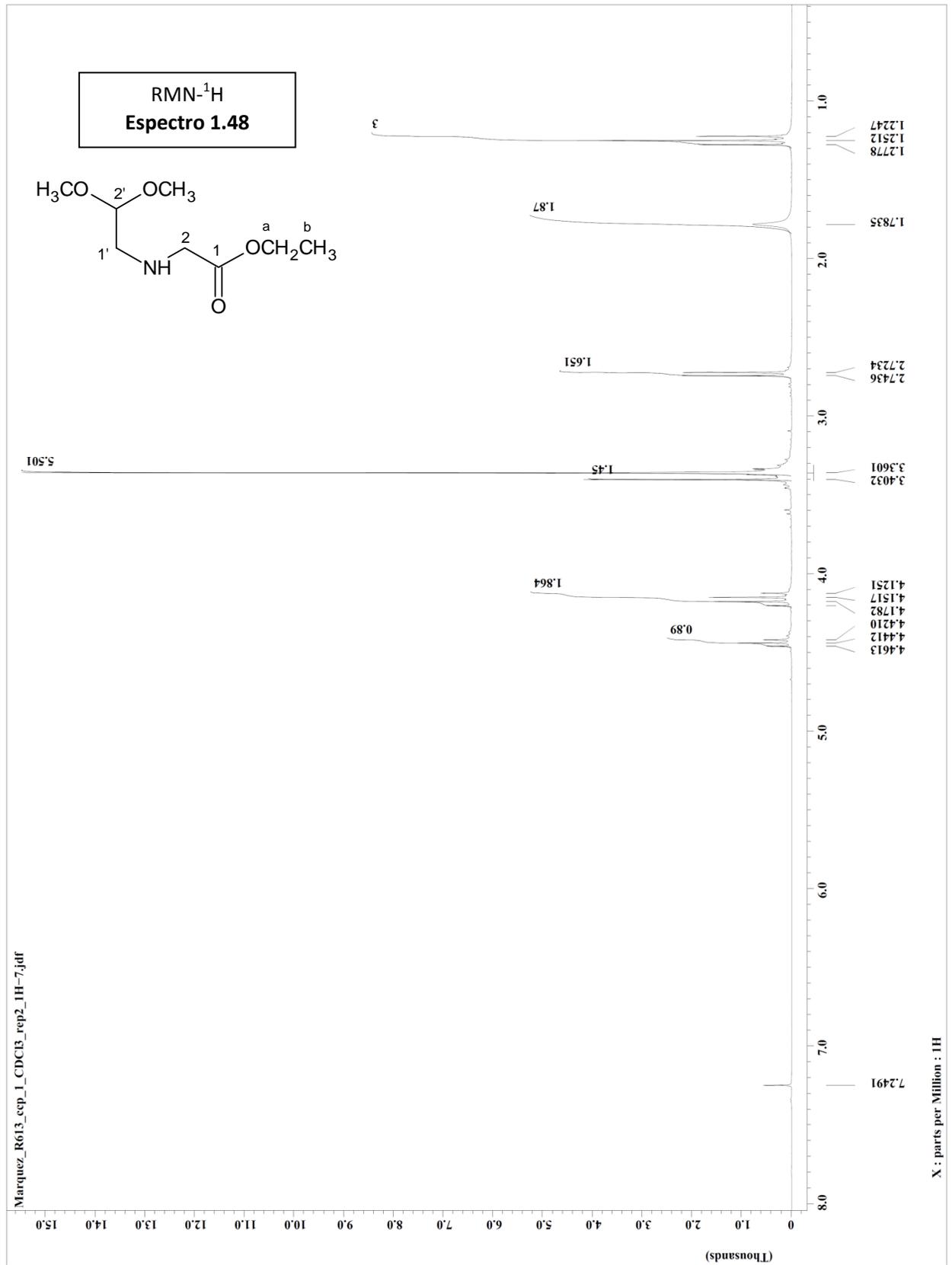
Compuesto	${}^3K$	$LUMO_{N20}$	$LUMO_{C1}$
PZQ	3.254	0.001	0.001
PZQ 8a1	3.704	0.002	0.001
PZQ 8c1	3.338	0.001	0.000
PZQ 9a1	3.241	0.000	0.002
PZQ 9d1	4.160	0.003	0.003
PZQ 10b2	3.254	0.004	0.015
PZQ 10c2	3.575	0.012	0.008
PZQ 10d1	4.025	0.013	0.001

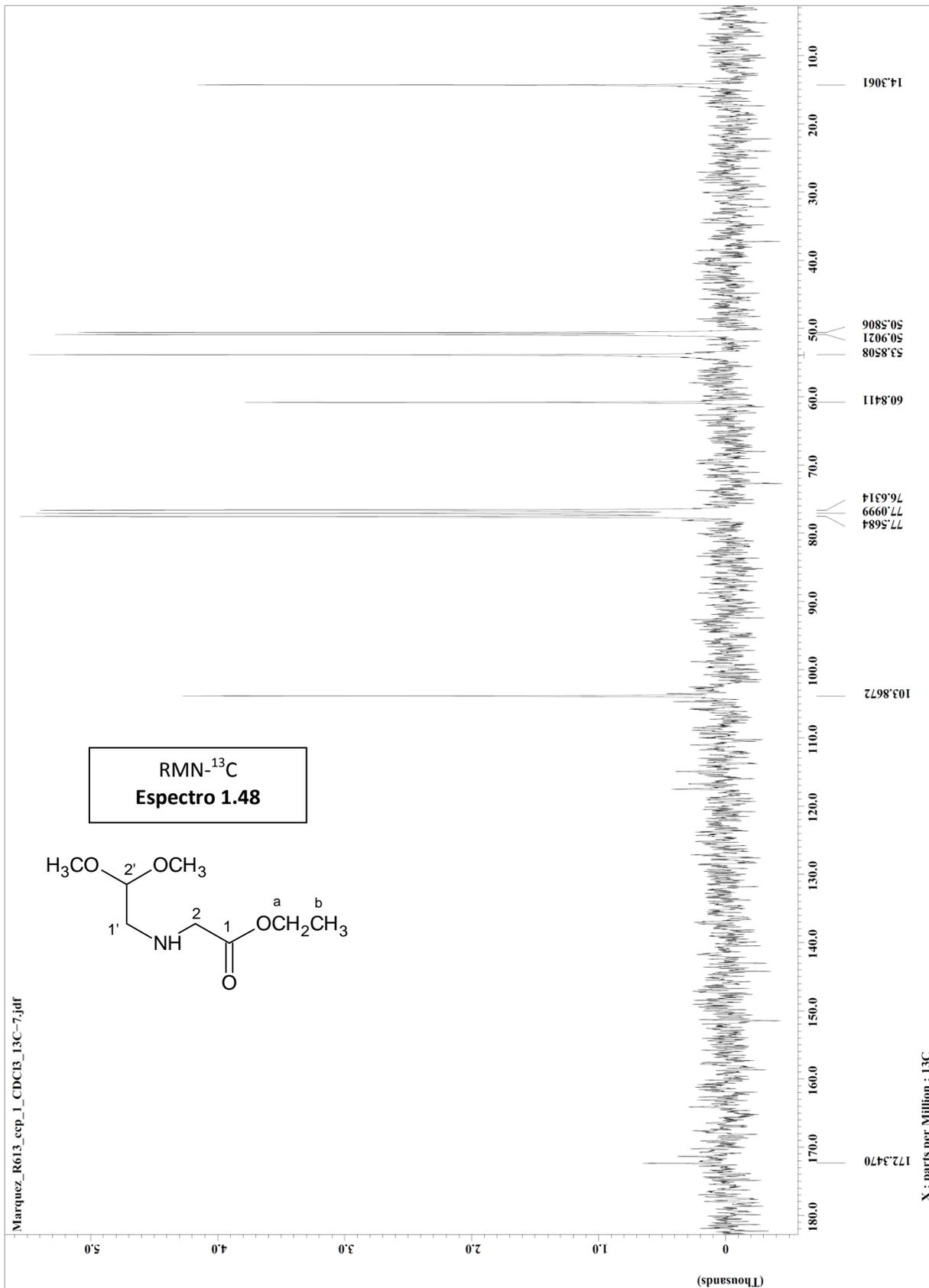
### Matriz de correlación.

	$LUMO_{N20}$	$LUMO_{C1}$	${}^3K$
$LUMO_{N20}$	1	0.9076	-0.1806
$LUMO_{C1}$	0.9076	1	-0.2495
${}^3K$	-0.1806	-0.2495	1









Carlos Marquez / Angelita Lorenzo / UCVCMAL-R-963-A. / CDCl<sub>3</sub>.  
 Protones.

1.21  
1.23  
1.24  
1.26  
1.27  
1.29  
1.49  
1.53  
1.64  
1.67  
1.72  
1.76

2.18  
2.20  
2.21  
2.22  
2.23  
2.25  
2.26  
2.27

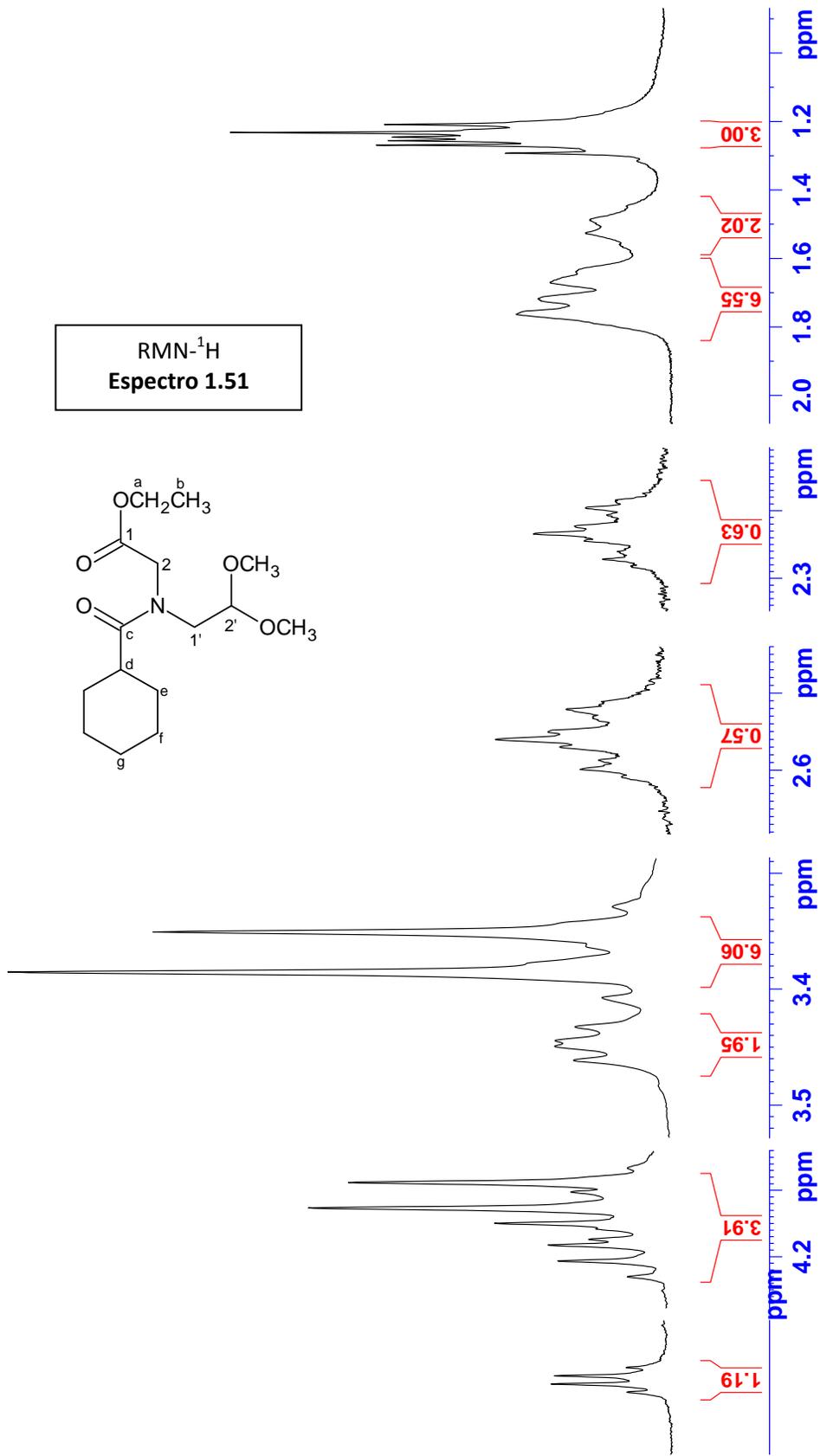
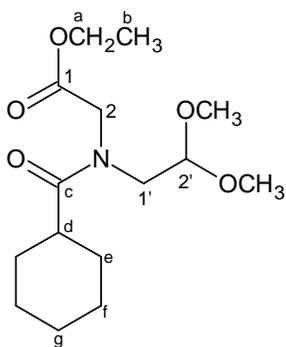
2.51  
2.52  
2.53  
2.55  
2.56  
2.57  
2.59  
2.60  
2.61

3.33  
3.35  
3.39  
3.41  
3.43  
3.44  
3.45  
3.46

4.09  
4.10  
4.13  
4.15  
4.17  
4.18  
4.21  
4.23

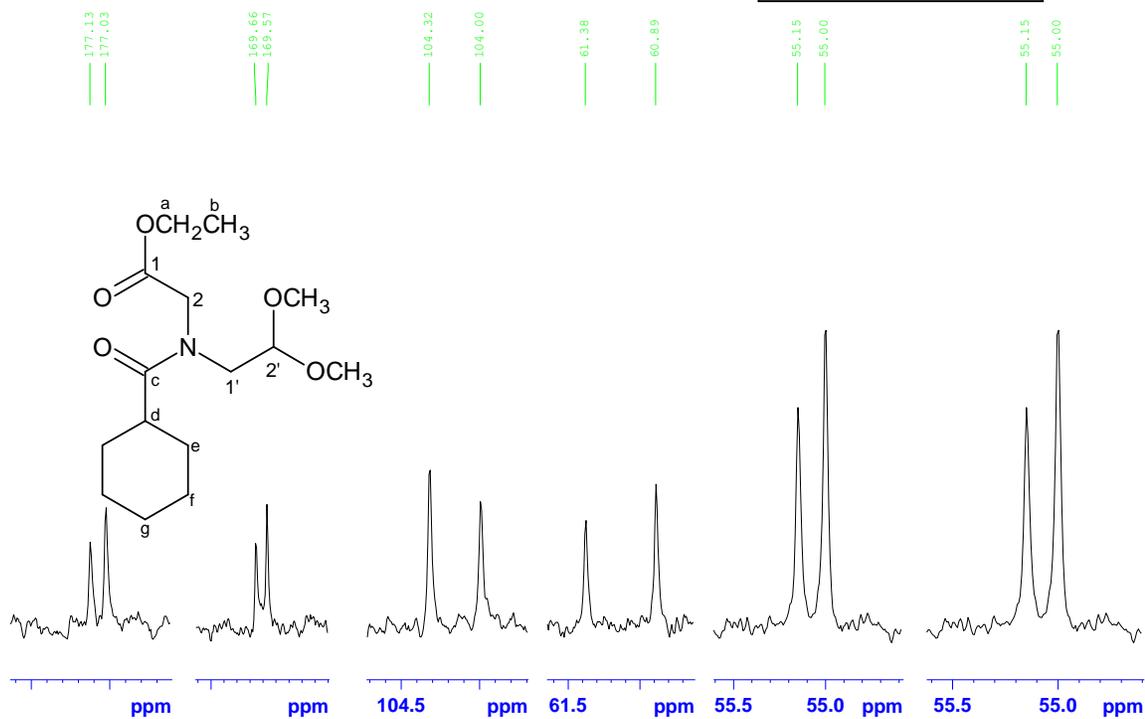
4.34  
4.36  
4.37  
4.39

RMN-<sup>1</sup>H  
 Espectro 1.51

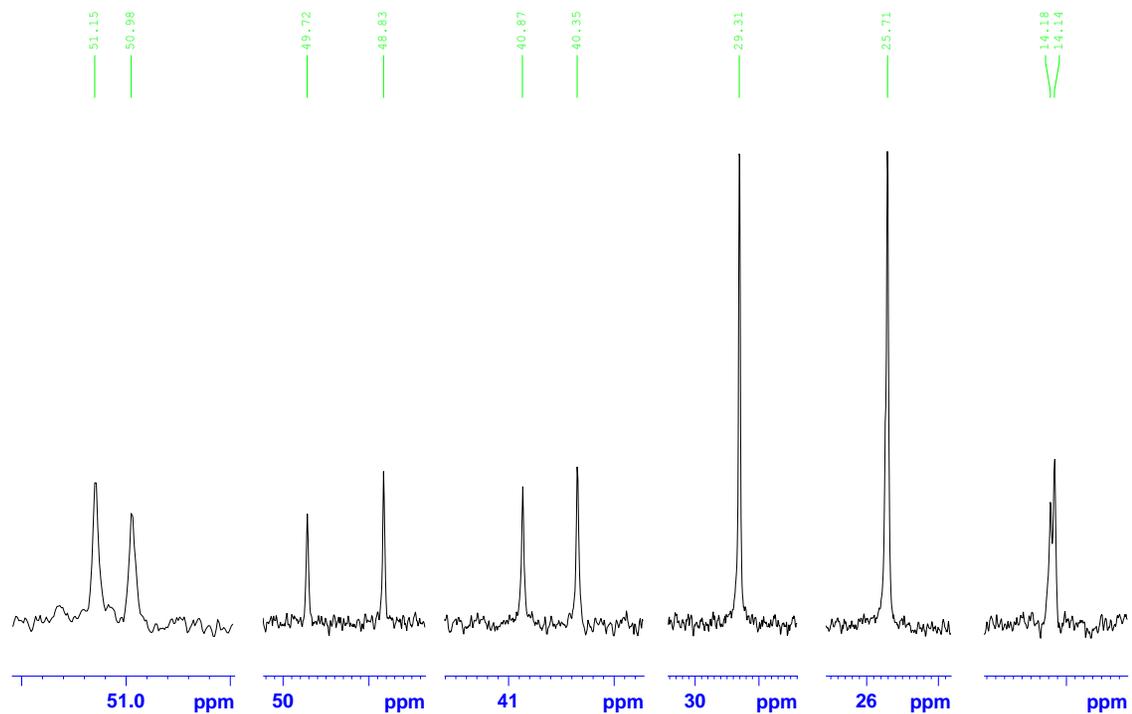


Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-963-A. / CDC13.  
Carbono.

RMN-<sup>13</sup>C  
Espectro 1.51



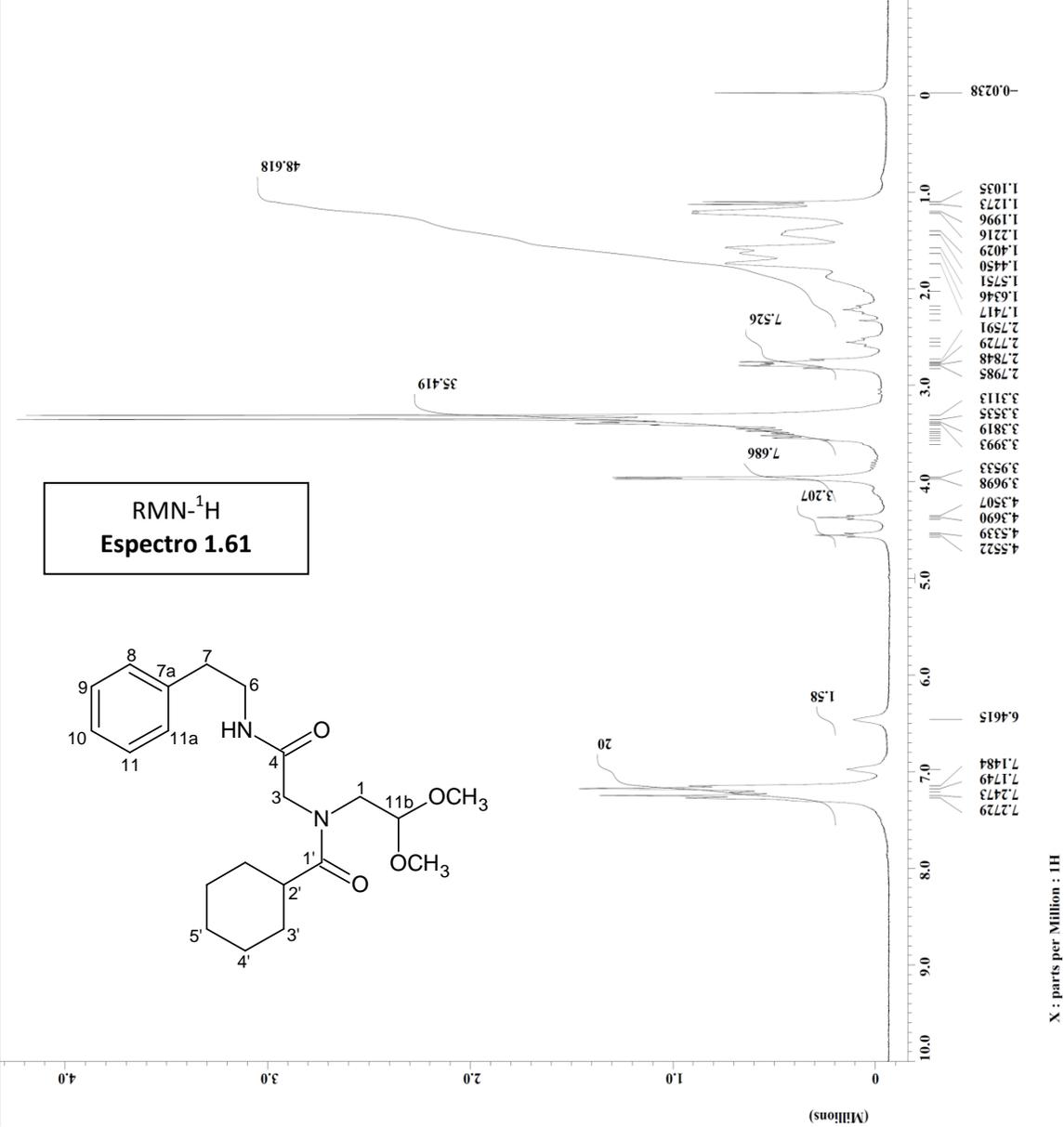
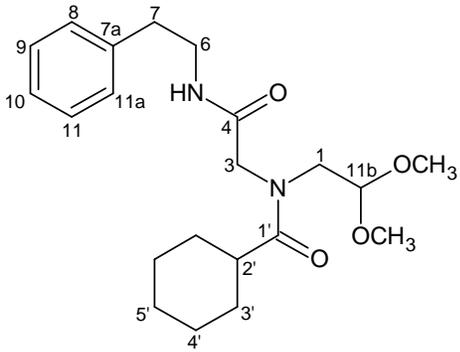
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-963-A. / CDC13.  
Carbono.





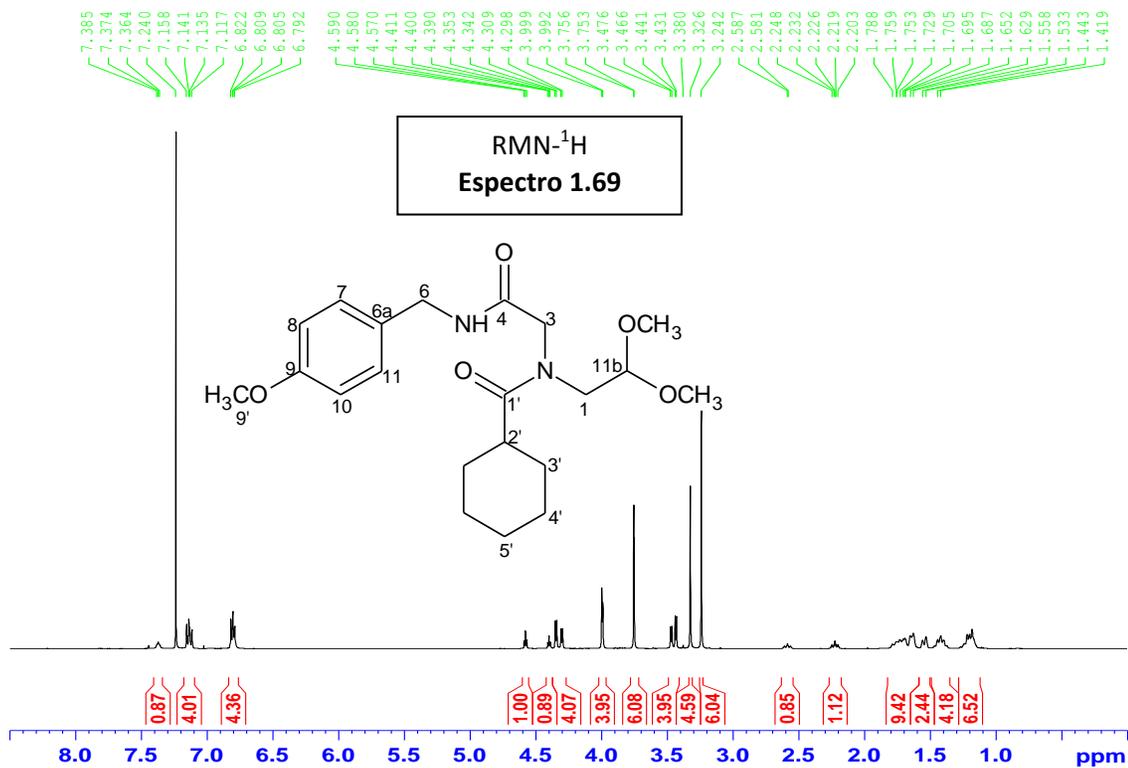
Filename = AL\_R812A\_1QH-5.jdf  
Author = rmlab  
Experiment = single\_pulse.exp  
Sample\_id = AL\_R812A  
Solvent = CHLOROFORM-D  
Creation\_time = 17-MAY-2009 17:51:54  
Resonance\_time = 14-MAY-2010 16:48:28  
Current\_time = 14-MAY-2010 16:48:28  
Content = Single Pulse Experiment  
Data format = ID COMPLEX  
Dim size = 16384  
Dim title = 1H  
Dim units = [ppm]  
Dimensions = X  
Site = alipse.400  
Spectrometer = DELTA\_NMR  
Field strength = 6.345446[T] (270 [MHz])  
X acq\_duration = 4.0419328[s]  
X domain = 1H  
X freq = 270.16608844 [MHz]  
X offset = 5[ppm]  
X points = 16384  
X prescans = 0  
X prescan\_delay = 0.24740639[Hz]  
X resolution = 4.05350628[kHz]  
X sweep = FALSE  
Clipped = FALSE  
Mod return = 1  
Scans = 16  
Total\_scans = 16  
X 90\_width = 11.7[us]  
X acq\_time = 45.419328[s]  
X delay = 45[us]  
X pulse = 5.85[us]  
Initial wait = 1[s]  
Phase preset = 3[us]  
Recvr Gain = 18  
Relaxation\_delay = 4[s]  
Temp\_get = 22[dc]  
Unblank\_time = 2[us]

RMN-<sup>1</sup>H  
Espectro 1.61

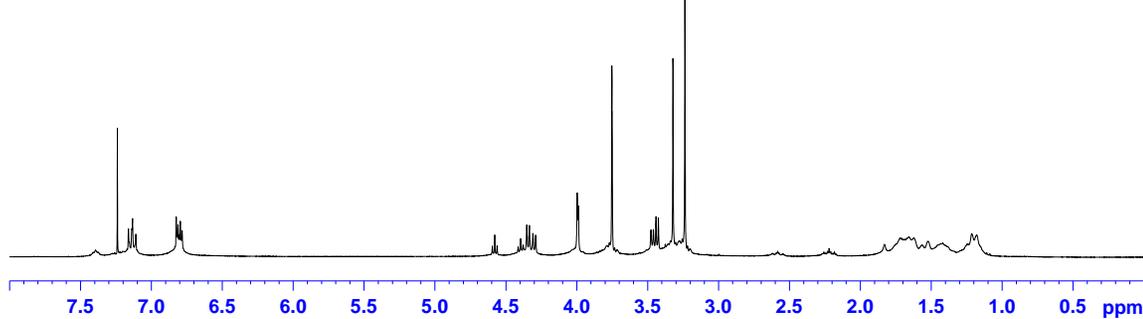


X : parts per Million : 1H

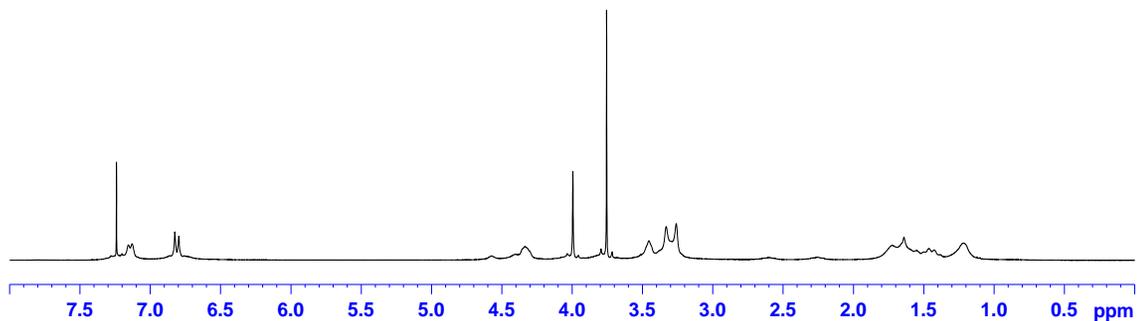




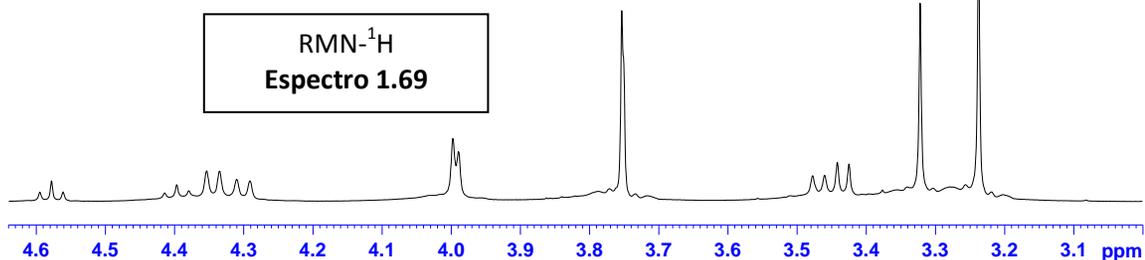
Carlos Marquez / Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDCl<sub>3</sub>.  
Protones. (25 / 08 / 2011).



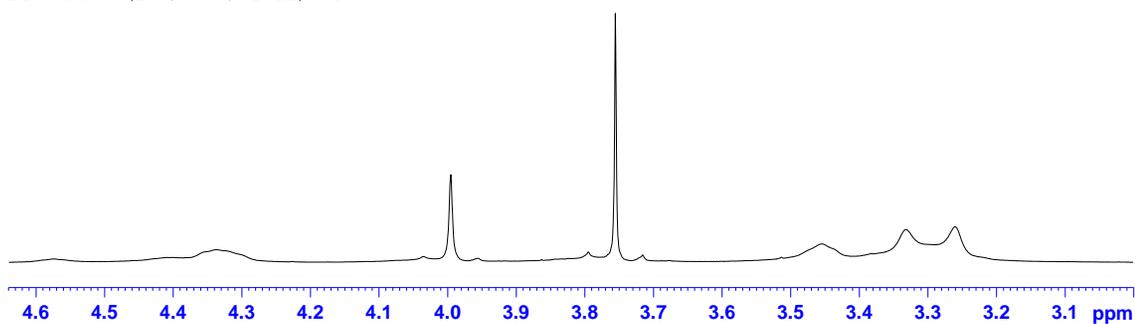
Carlos Marquez / Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDCl<sub>3</sub>.  
Protones. (25 / 08 / 2011). T=50.



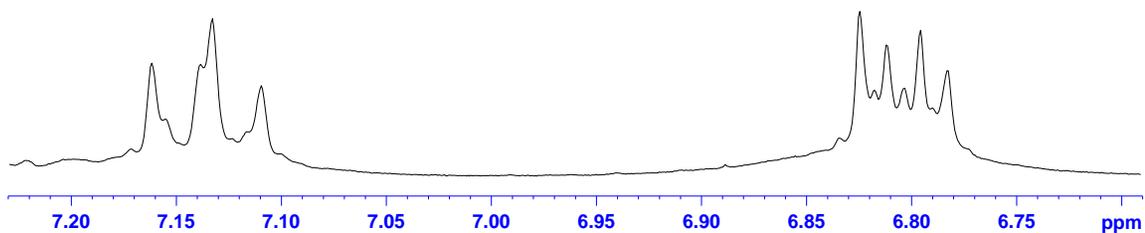
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDC13. T ambiente  
Protones. (25 / 08 / 2011).



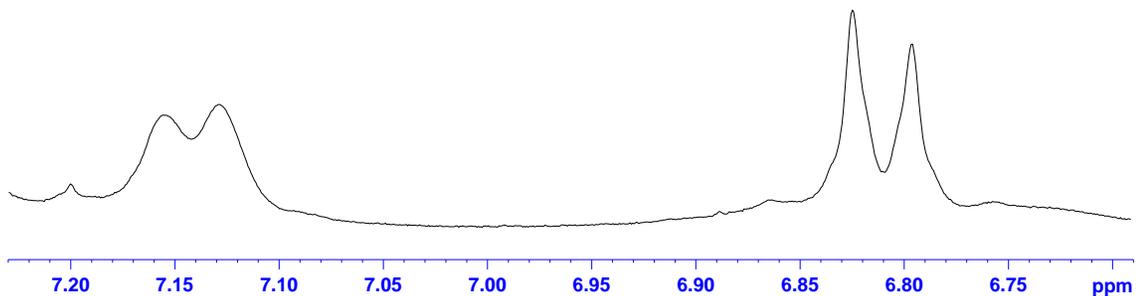
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDC13.  
Protones. (25 / 08 / 2011). T=50.



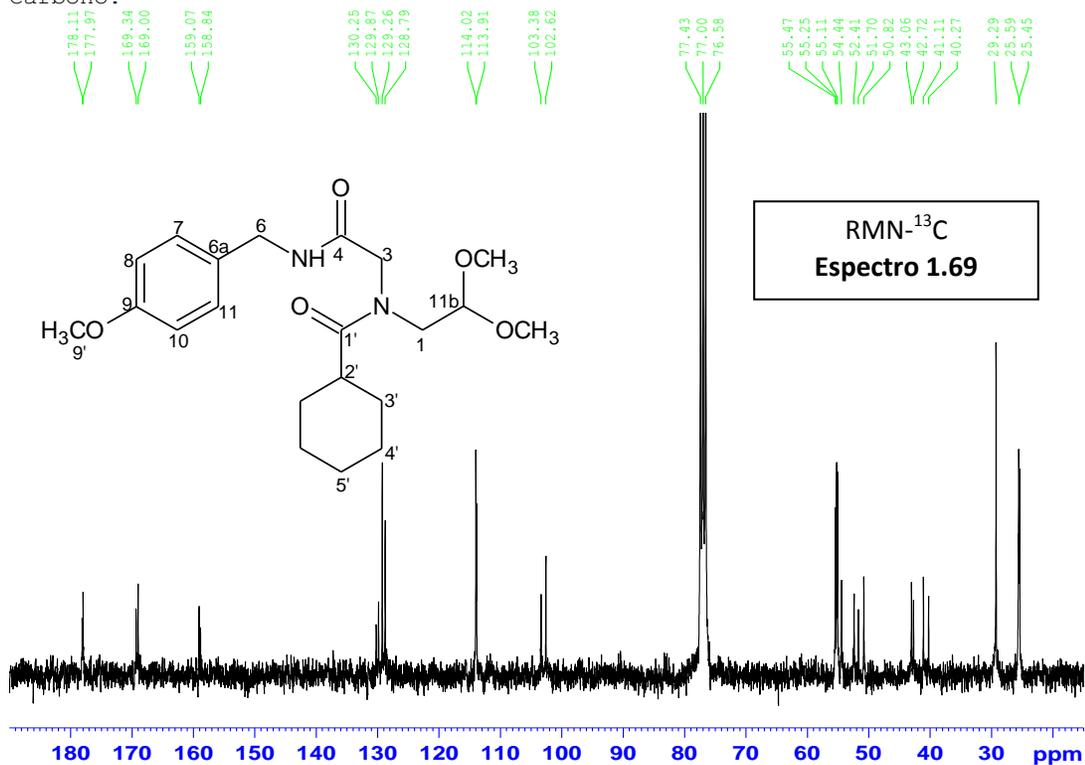
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDC13. T ambiente  
Protones. (25 / 08 / 2011).



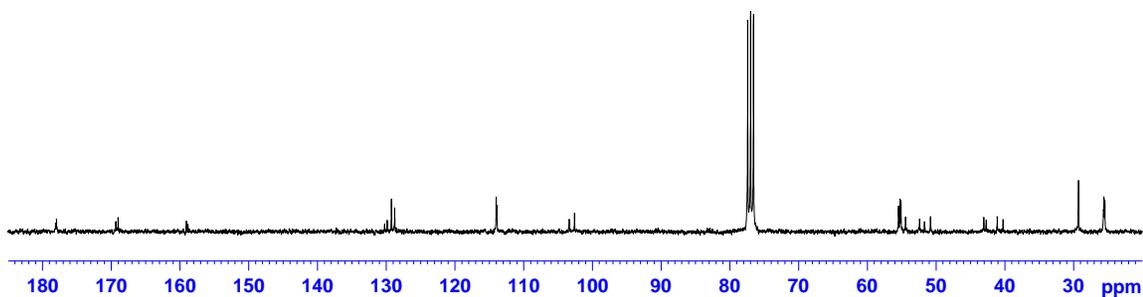
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDC13.  
Protones. (25 / 08 / 2011). T=50.



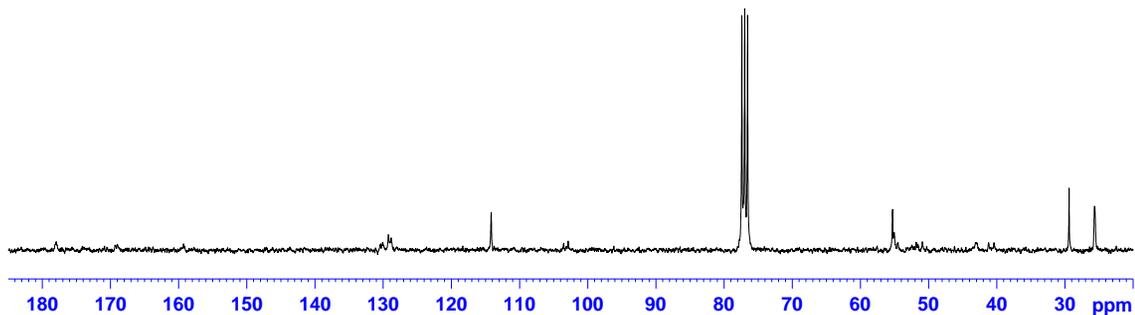
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDCl3.  
Carbono.



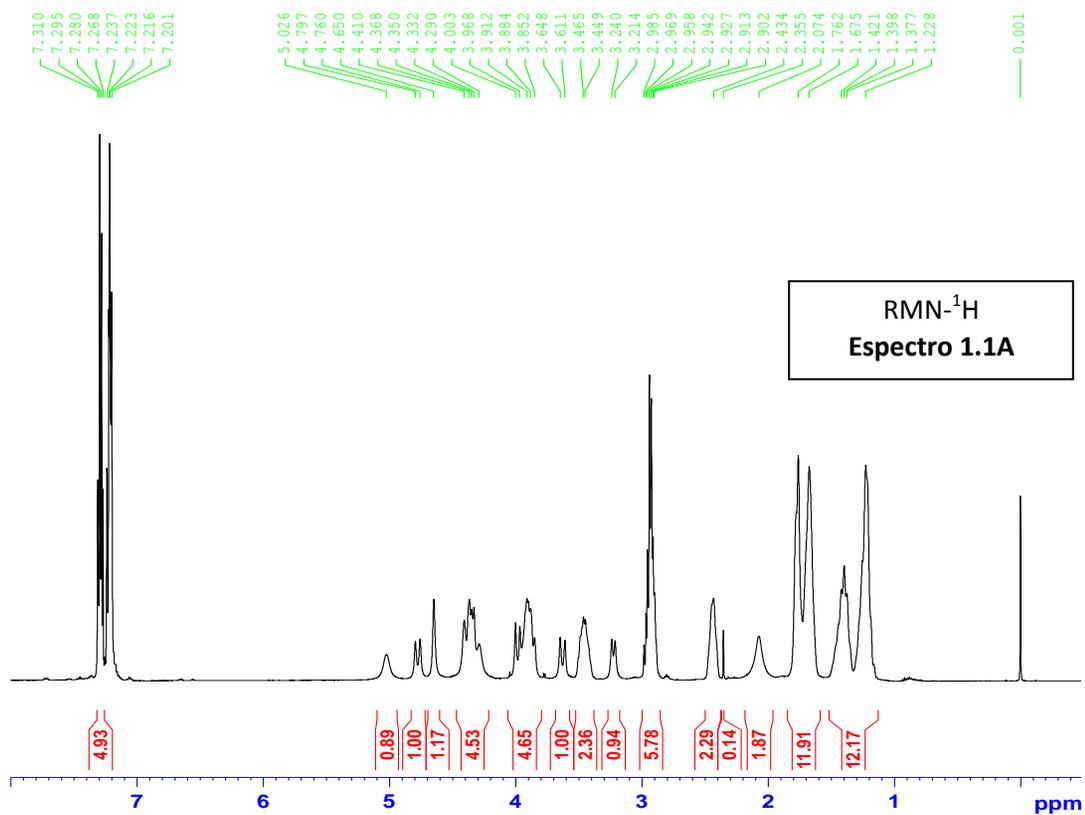
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDCl3. T ambiente  
Carbono.



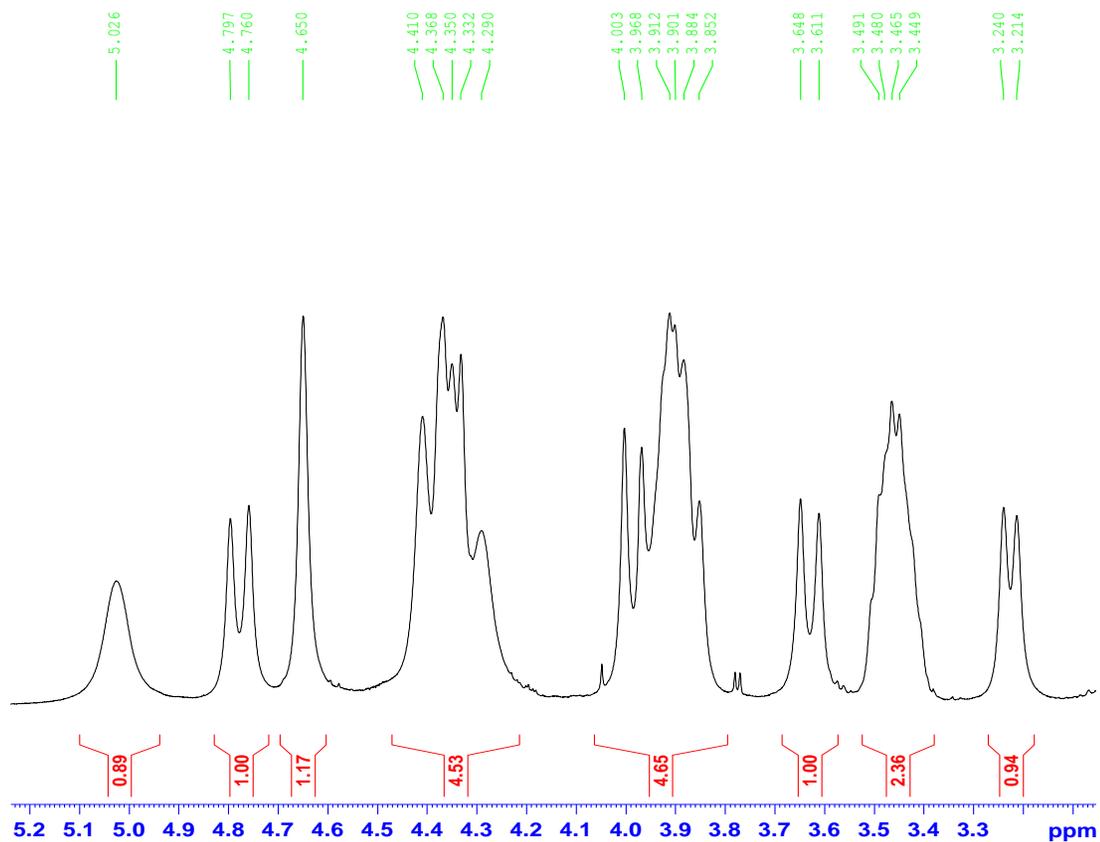
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-976-A. / CDCl3.  
Carbono. (25 / 08 / 2011). T=50.



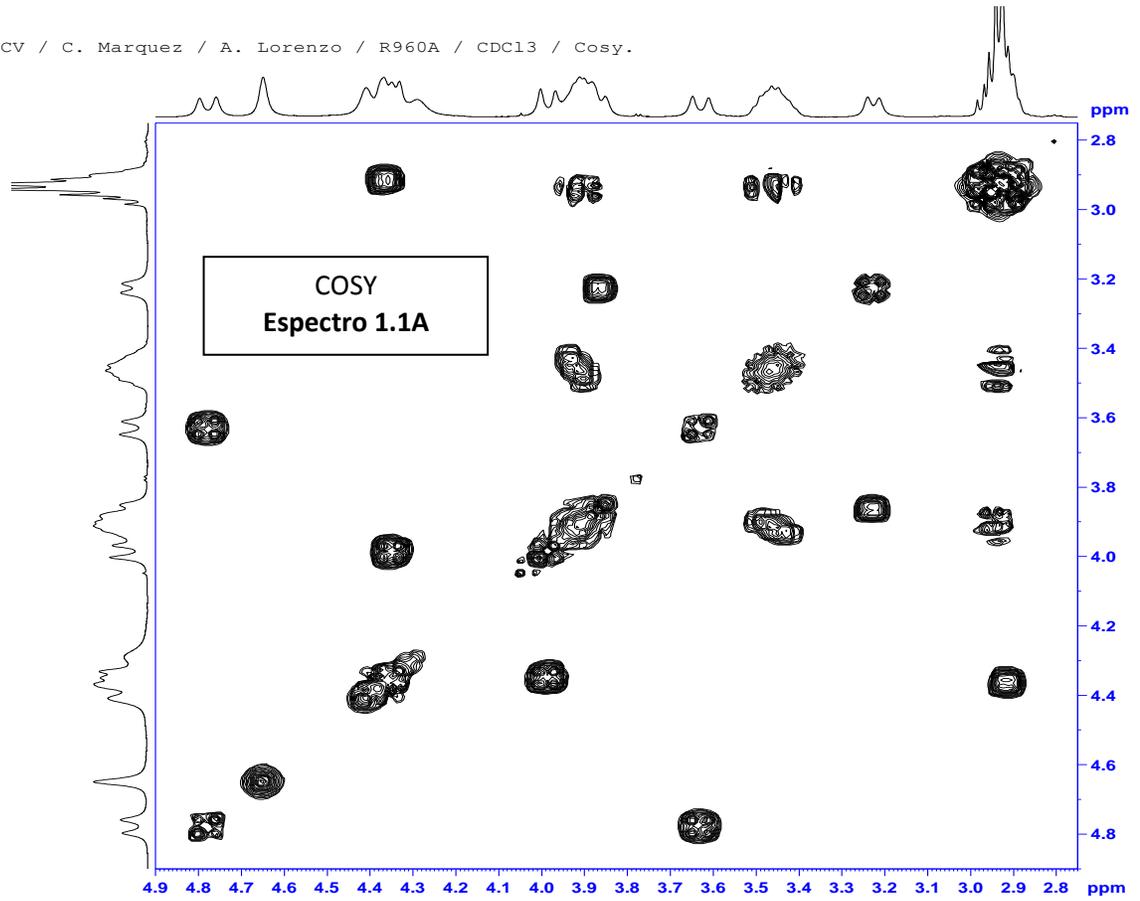
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDC13 / Protones.



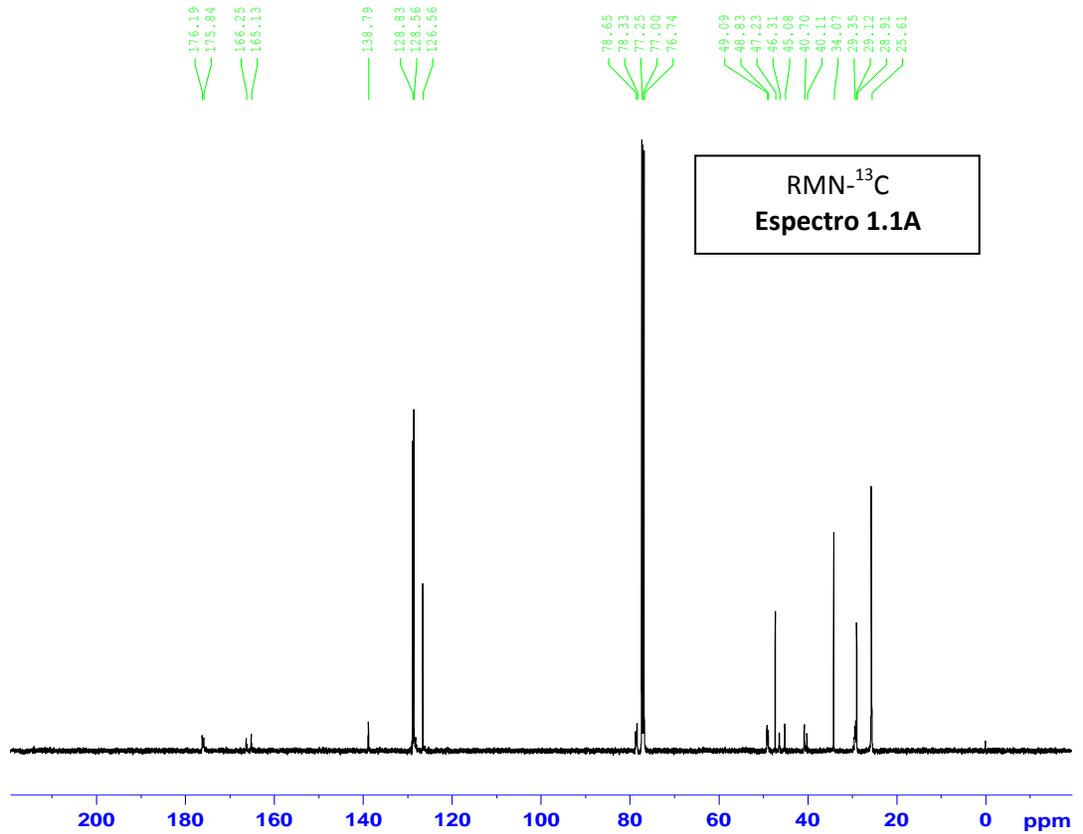
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDC13 / Protones.



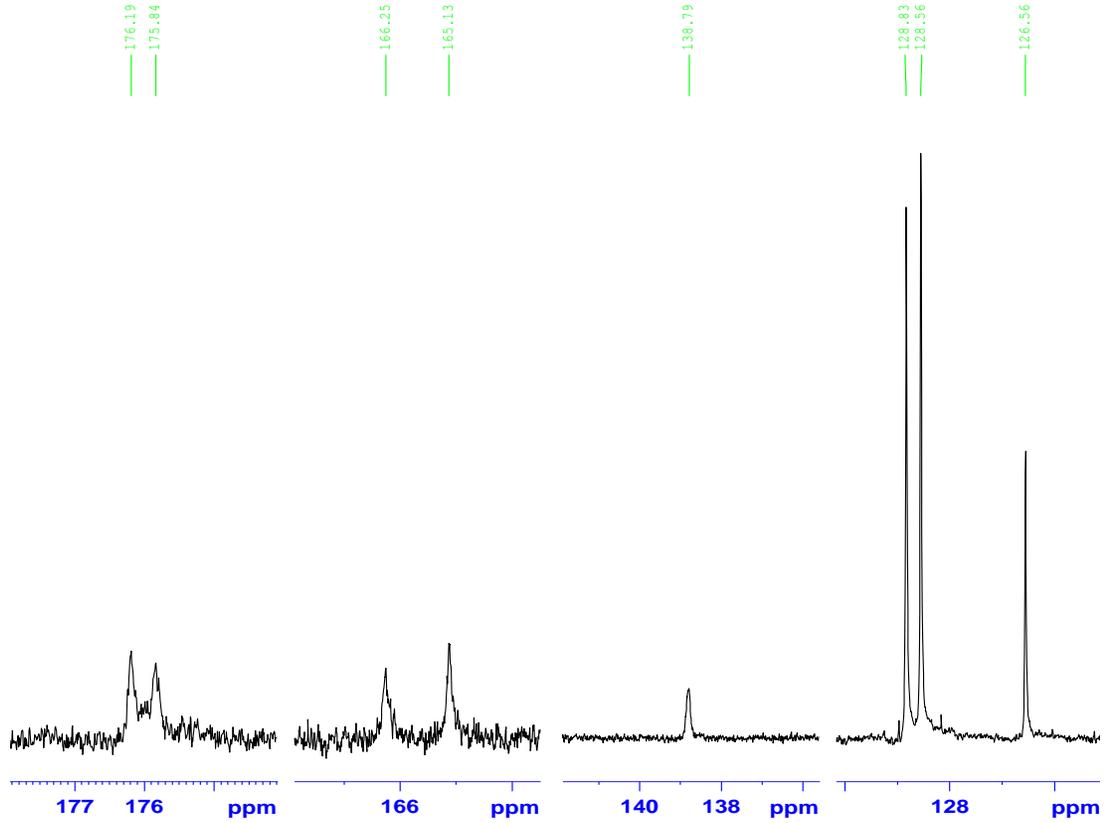
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Cosy.



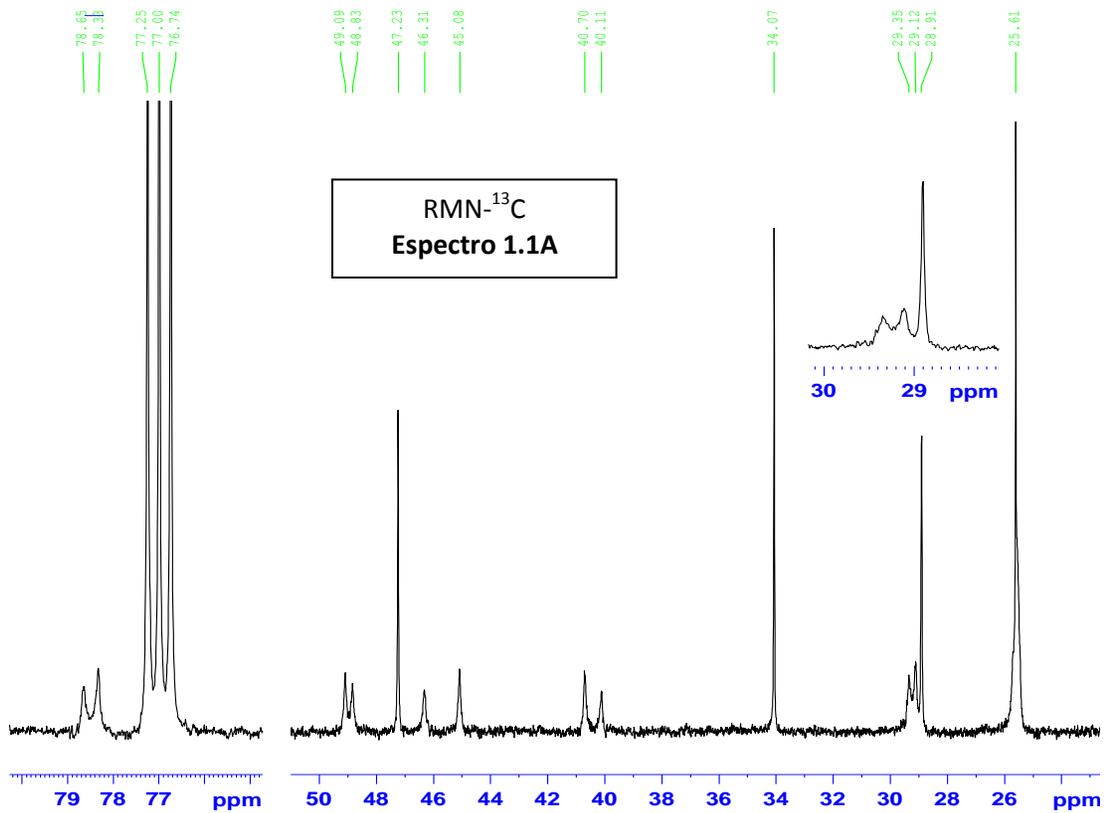
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Carbono.



UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Carbono.

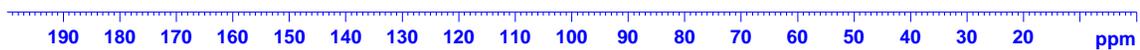


UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Carbono.

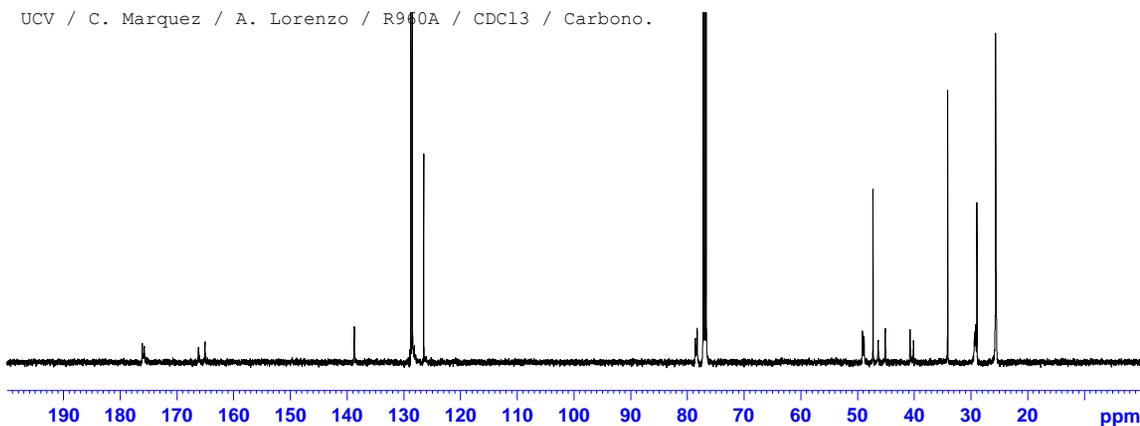


UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Dept-135.

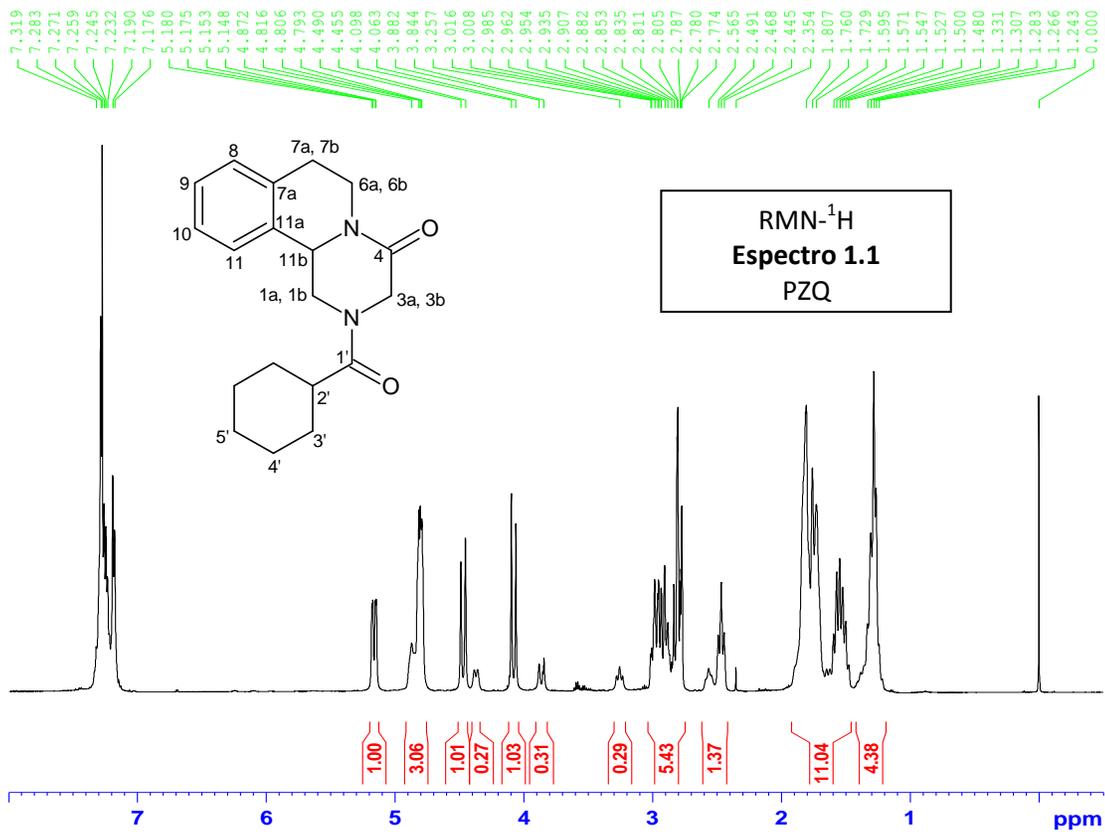
DEPT-135  
Espectro 1.1A



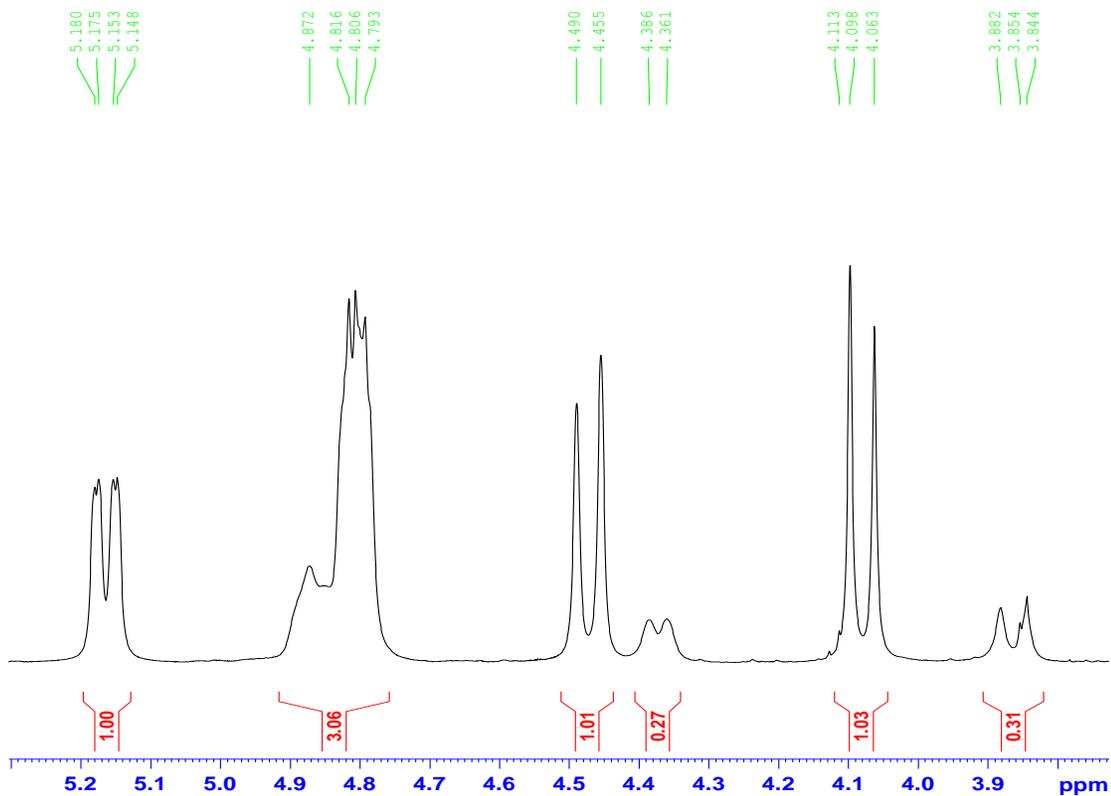
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R960A / CDCl3 / Carbono.



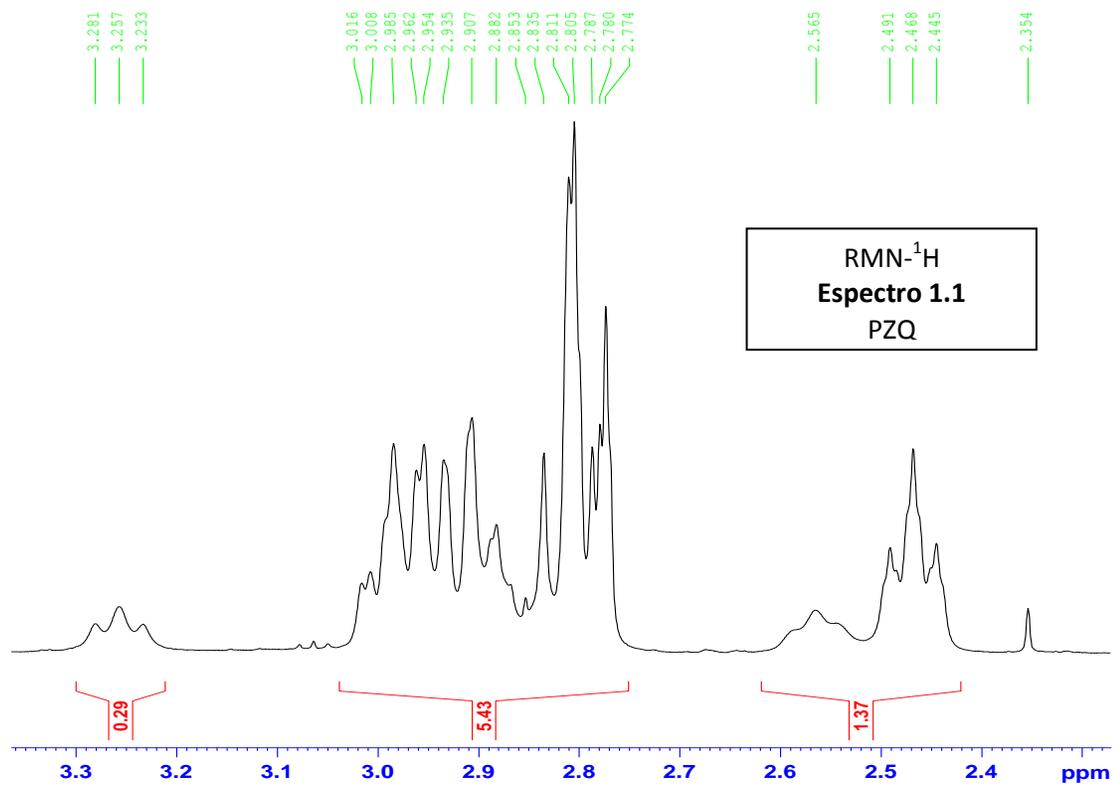
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Protones.



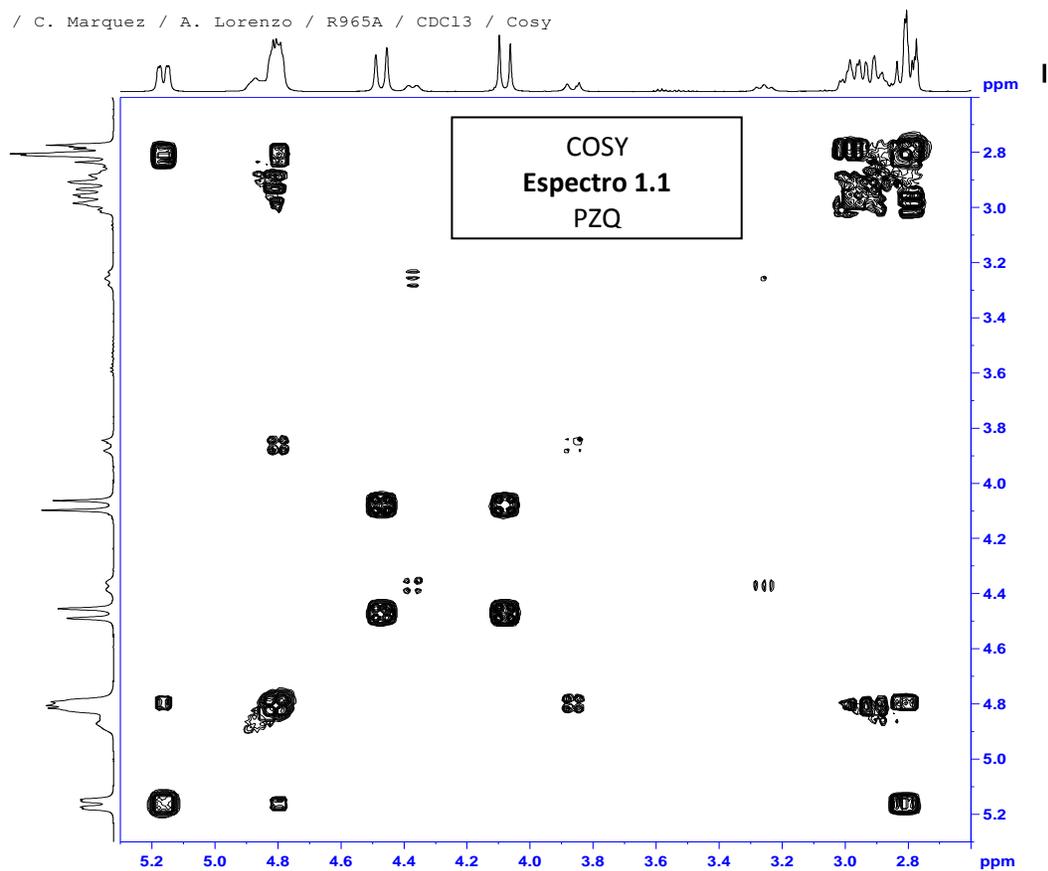
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Protones.



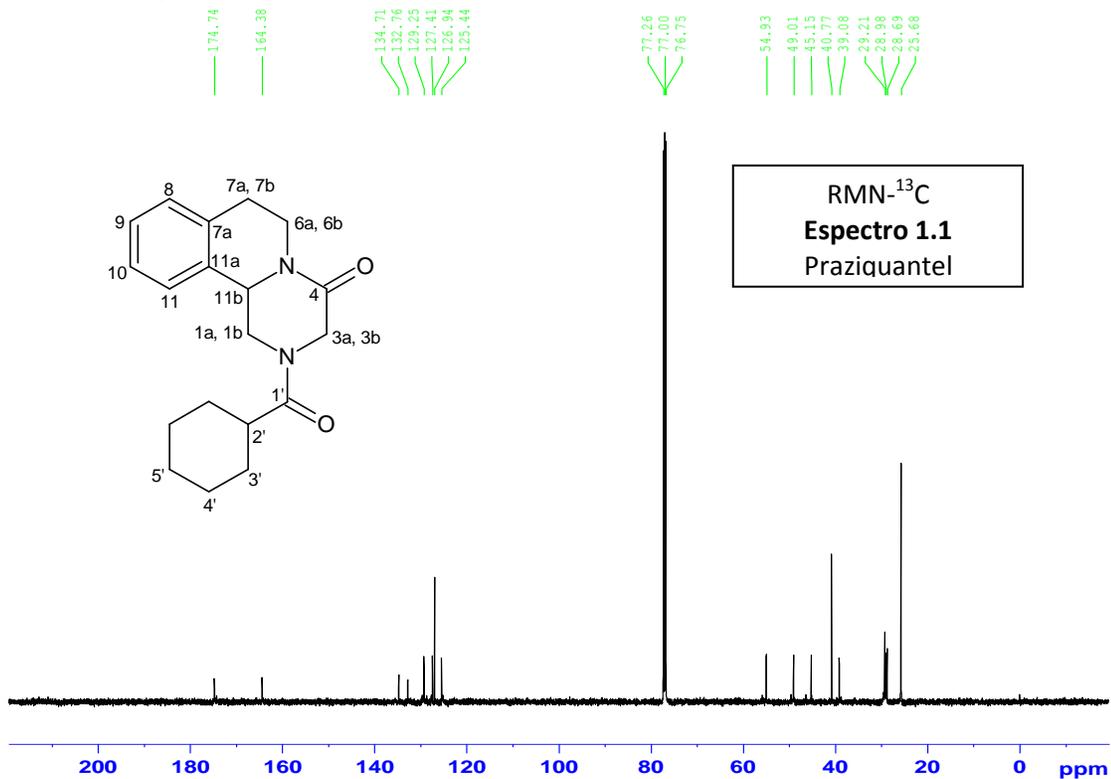
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Protones.



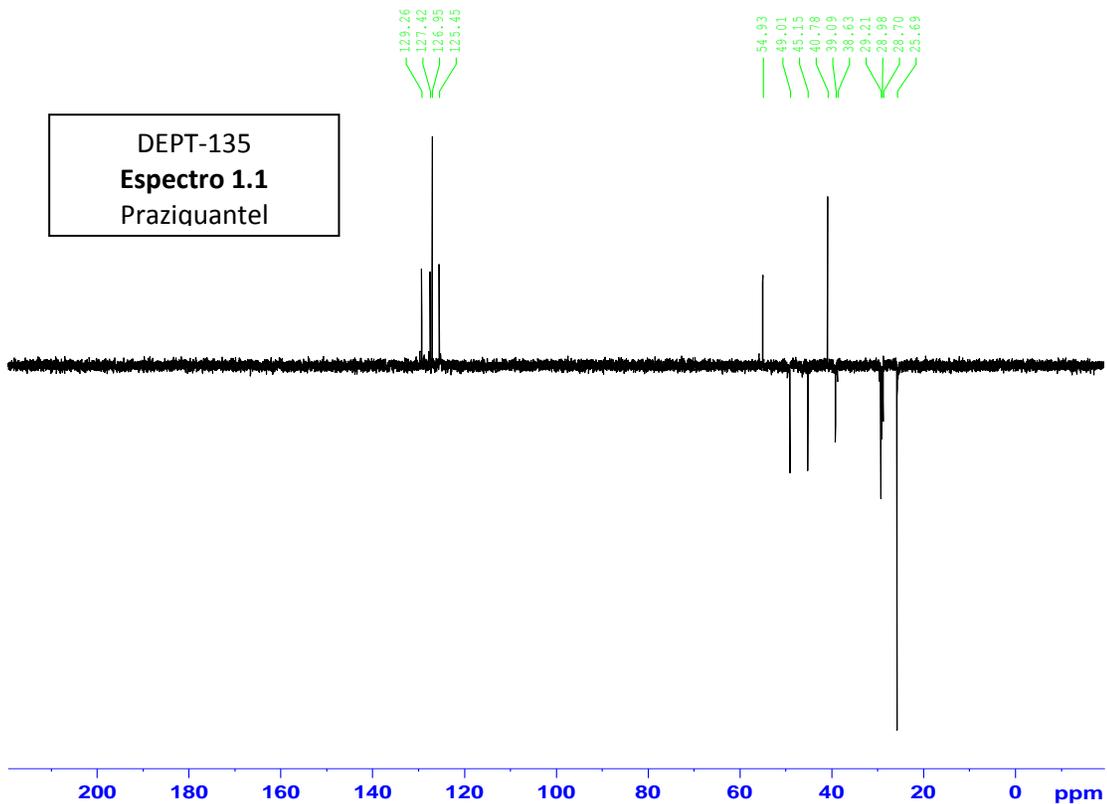
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Cosy

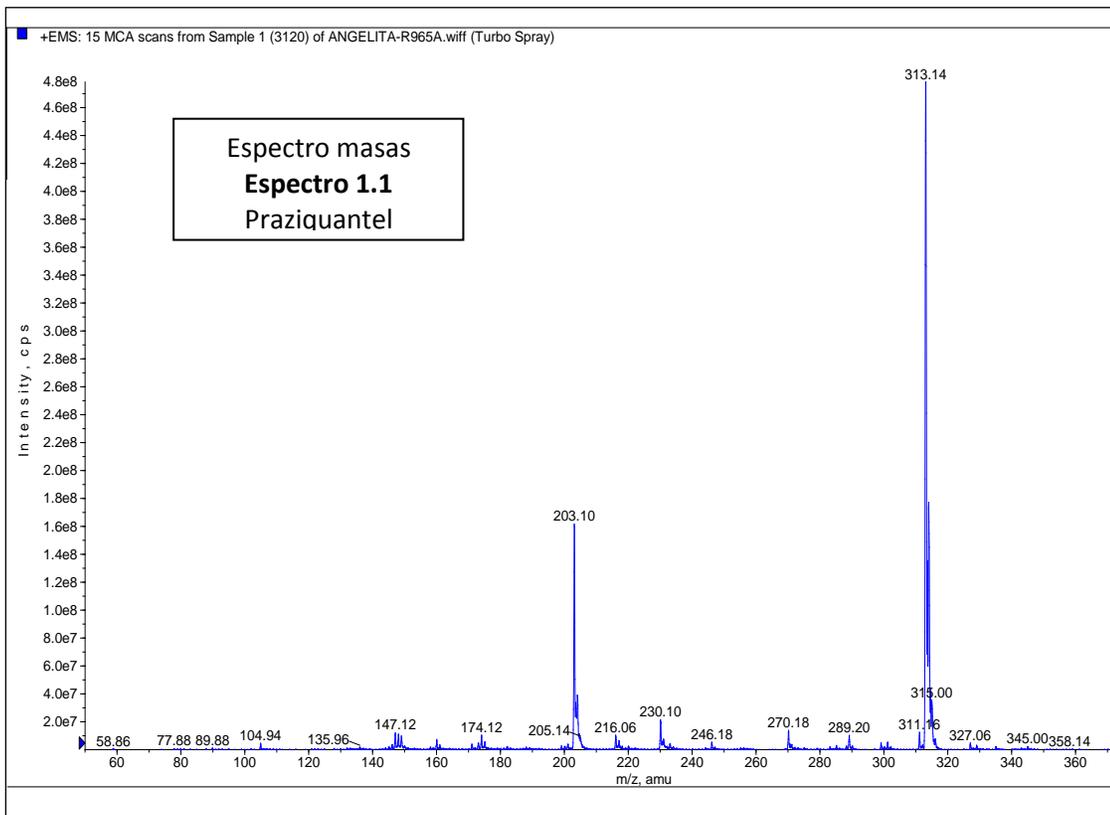


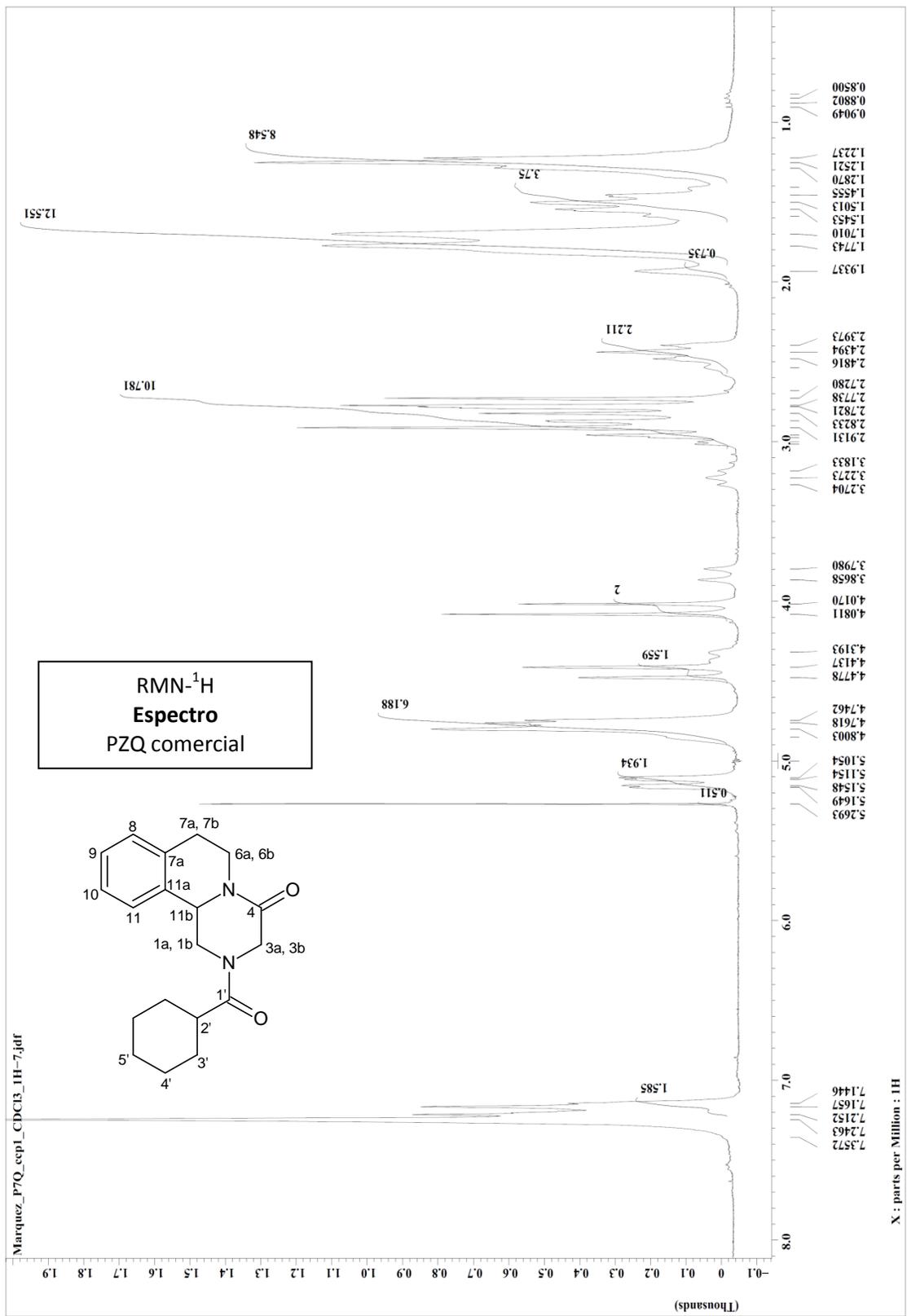
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Carbono.

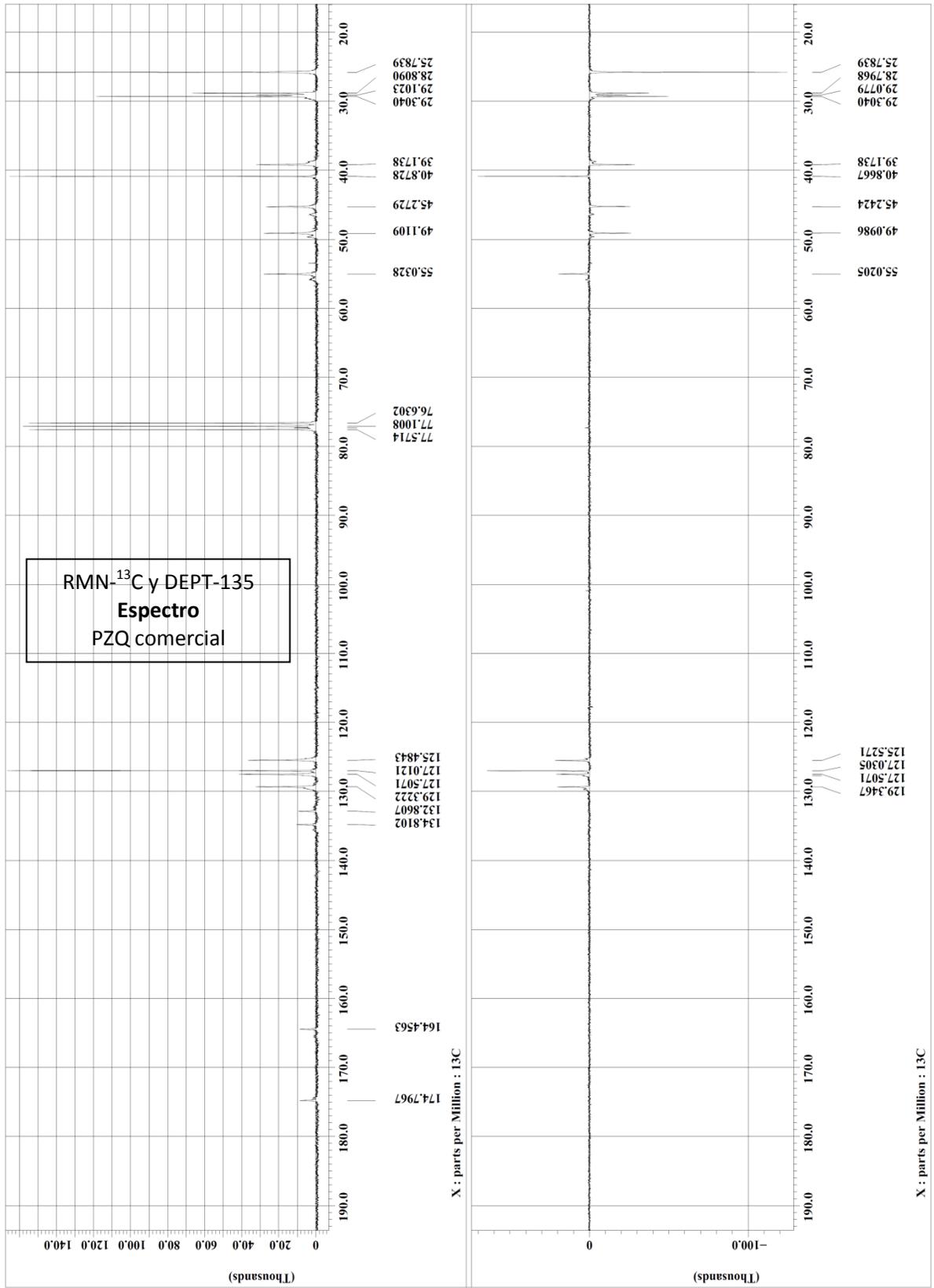


UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R965A / CDCl3 / Dept-135.







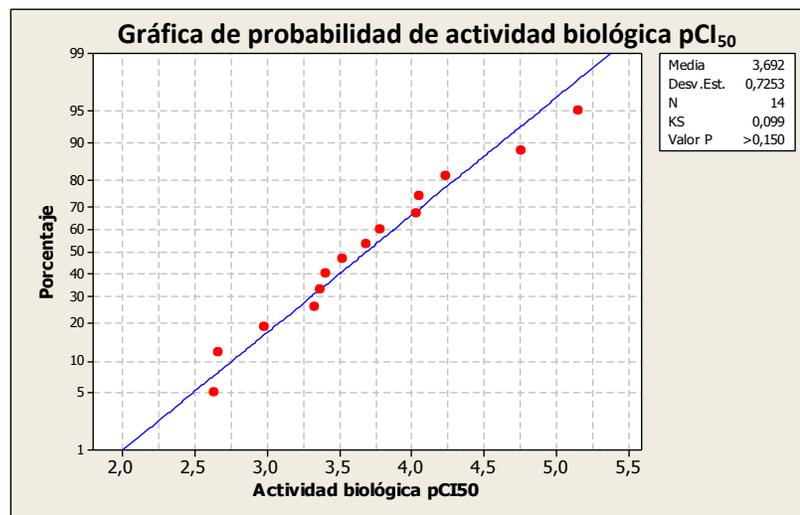


## **Anexo II.**

**Diseño, síntesis y evaluación biológica de una serie de 2-metil, 2-propil, 4-metil-2-propil y 2-alquildiaminoquinolina sustituidas en las posiciones 6 y/o 7 con posible actividad leishmanicida.**

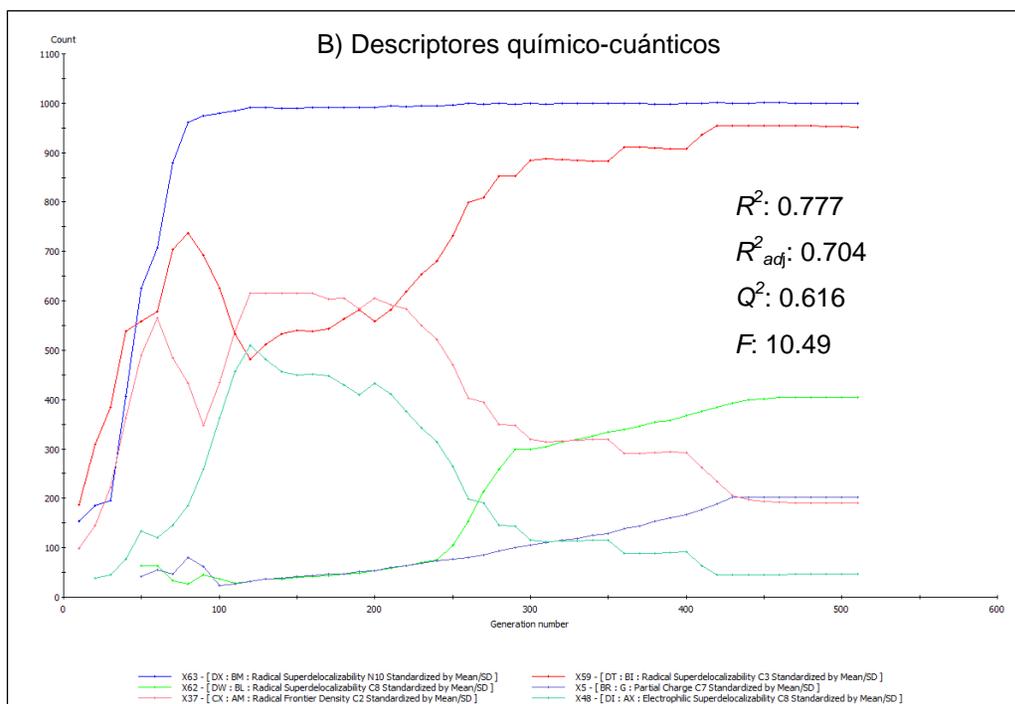
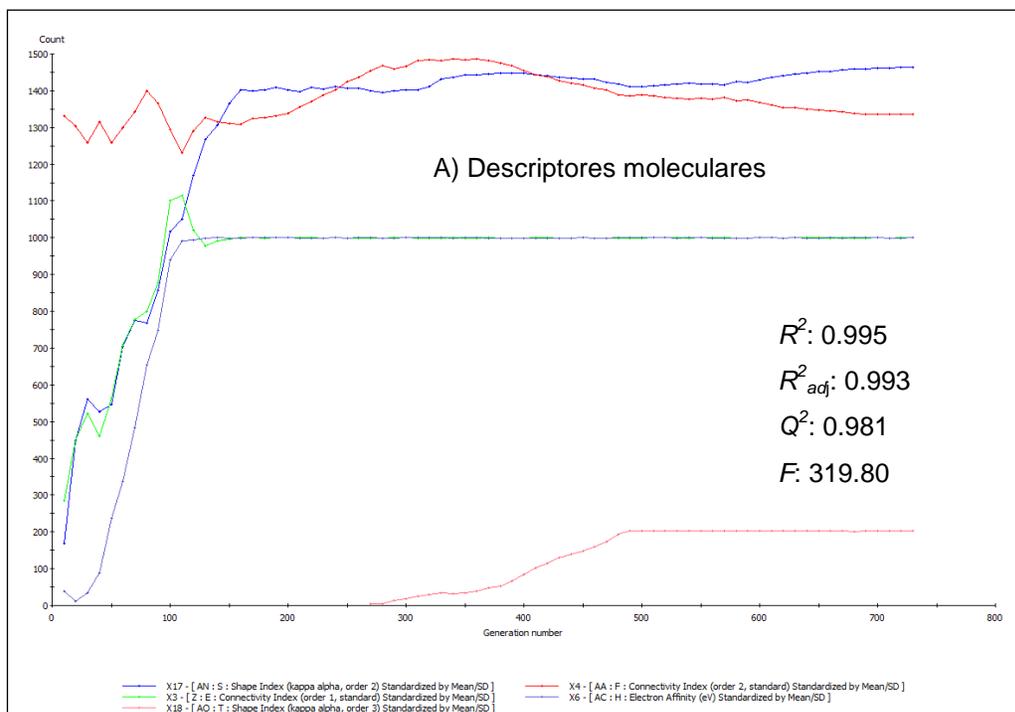
## IIA. Verificación de la distribución normal de los datos de actividad biológica de los derivados para los derivados 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolinas.

Se aplicó la prueba de normalidad *Kolmogorov-Smirnov*, la cual genera una gráfica de probabilidad normal y realiza una prueba de hipótesis para examinar si las observaciones siguen o no una distribución normal. La gráfica 2.& muestra que los datos de actividad biológica muestran una distribución normal, ya que, los puntos de la gráfica conforman una línea aproximadamente recta. Además, el valor de  $p$  (0.150) es mayor que el valor de  $\alpha$  (0.05) aceptando la  $H_0$ .

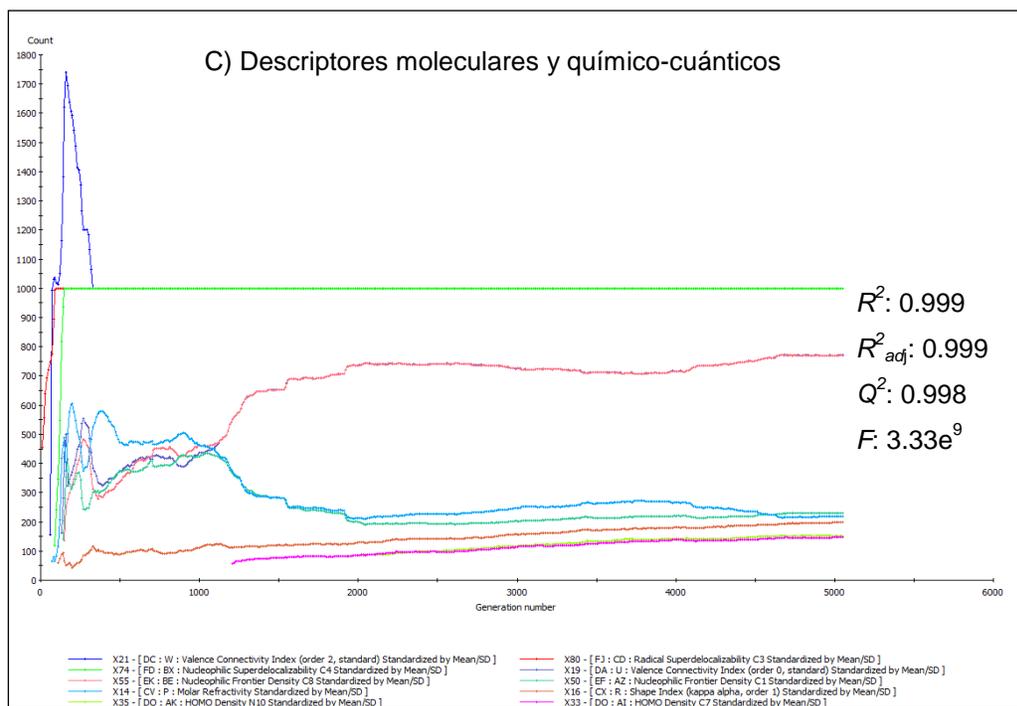


**Gráfica IIA.a** Gráfica de probabilidad de la actividad biológica de derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina.

## IIB. Proceso de selección de los descriptores a incluir en el modelo QSAR mediante la aproximación del algoritmo genético (Nivel de teoría PM3)



**Gráfica IIB.a** Resultados gráficos expresados como “Número de ocurrencias del descriptor versus Número de generación” para un tamaño de población de 1000 individuos y una probabilidad de mutación de 0.01 para el nivel de teoría PM3 para cada uno de los conjuntos de descriptores por el A) Moleculares y B) Descriptores químico-cuánticos.



**Gráfica IIB.b** Resultado gráfico expresado como “Número de ocurrencias del descriptor versus Número de generación” para un tamaño de población de 1000 individuos y una probabilidad de mutación de 0.01 para el **nivel de teoría PM3** para cada uno de los conjuntos de descriptores: C) Moleculares y químico-cuánticos.

IIC. Valores de los descriptores para cada uno de los compuestos de la serie de entrenamiento para los descriptores seleccionados por la aproximación de algoritmo genético para el nivel de teoría PM3.

**Descriptores químicos-cuánticos.**

Compuesto	$S_{C3}$	$S_{C8}$	$S_{N10}$	$S^+_{C4}$	$q_{C7}$	$F^+_{C1}$
2.50	0.223	0.225	0.248	1.021	-0.047	0.255
2.49	0.222	0.225	0.248	0.999	-0.049	0,248
2.47	0.223	0.225	0.247	1.030	-0.051	0.240
2.51	0.223	0.225	0.248	1.034	-0.053	0.259
2.55	0.223	0.225	0.246	0.991	-0.053	0.240
2.59	0.222	0.225	0.248	0.998	-0.052	0.249
2.57	0.223	0.225	0.248	1.034	-0.056	0.259
2.62	0.222	0.225	0.246	1.032	-0.053	0.240
2.61	0.224	0.225	0.246	1.026	-0.066	0.223
2.68	0.222	0.226	0.247	0.980	-0.022	0.237
2.65	0.223	0.227	0.248	1.026	-0.024	0.255
2.69	0.224	0.226	0.246	1.027	-0.030	0.220
2.67	0.222	0.227	0.247	0.986	-0.020	0.243
2.64	0.223	0.228	0.248	1.005	-0.021	0.265

**Matriz de correlación descriptores moleculares y químico-cuánticos.**

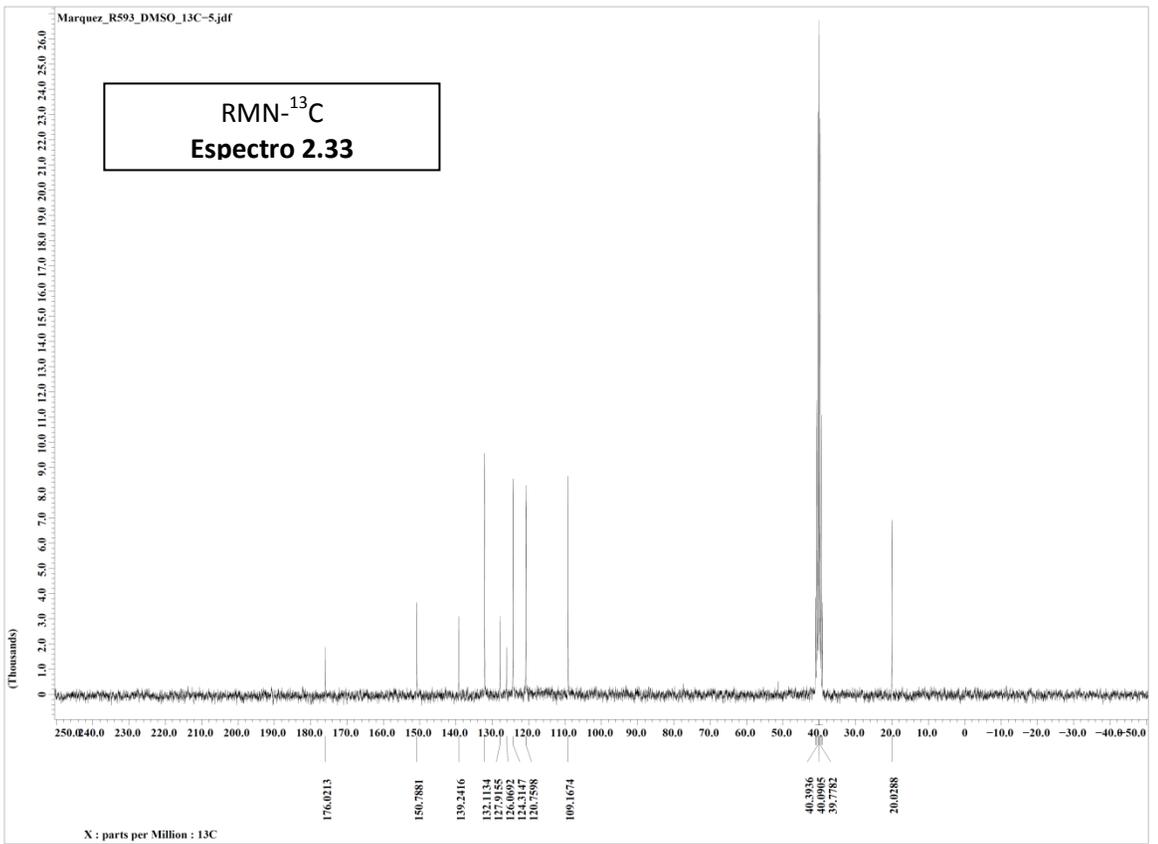
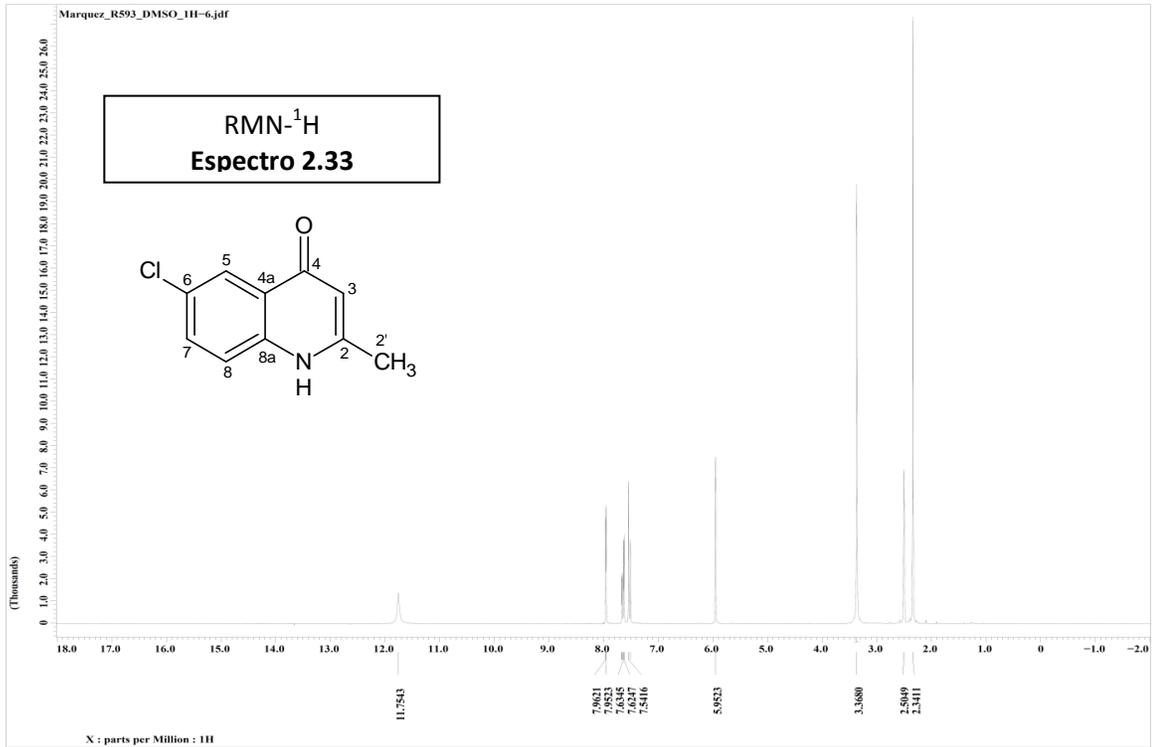
	$^1\chi$	$^2\chi$	AE (eV)	RM	$^1K$	$^2K$	$q_{C7}$	$F^+_{C11}$	$S^+_{C4}$	$S_{C3}$	$S_{C8}$	$S_{N10}$
$^1\chi$	1	0.94	-0.35	0.89	0.93	0.89	0.18	-0.49	-0.06	0.28	0.26	-0.76
$^2\chi$	0.94	1	-0.17	0.81	0.85	0.74	0.33	-0.37	0.06	0.26	0.37	-0.67
AE	-0.36	-0.17	1	-0.39	-0.31	-0.39	0.04	0.77	0.60	0.11	0.20	0.63
RM	0.89	0.81	-0.39	1	0.97	0.94	0.44	-0.42	-0.31	0.28	0.47	-0.60
$^1K$	0.93	0.85	-0.31	0.95	1	0.98	0.33	-0.40	-0.18	0.38	0.42	-0.63
$^2K$	0.90	0.74	-0.39	0.92	0.98	1	0.21	-0.42	-0.23	0.37	0.32	-0.63
$q_{C7}$	0.18	0.33	0.04	0.43	0.33	0.21	1	0.15	-0.33	-0.08	0.86	0.20
$F^+_{C11}$	-0.49	-0.37	0.77	-0.42	-0.39	-0.42	0.15	1	0.03	-0.35	0.28	0.86
$S^+_{C4}$	-0.06	0.06	0.60	-0.31	-0.18	-0.23	-0.33	0.03	1	0.49	-0.16	-0.03
$S_{C3}$	0.28	0.26	0.11	0.28	0.38	0.37	-0.07	-0.35	0.49	1	0.13	-0.33
$S_{C8}$	0.26	0.37	0.20	0.47	0.41	0.32	0.86	0.28	-0.16	0.13	1	0.22
$S_{N10}$	-0.76	-0.66	0.63	-0.60	-0.63	-0.62	0.20	0.86	-0.03	-0.33	0.22	1

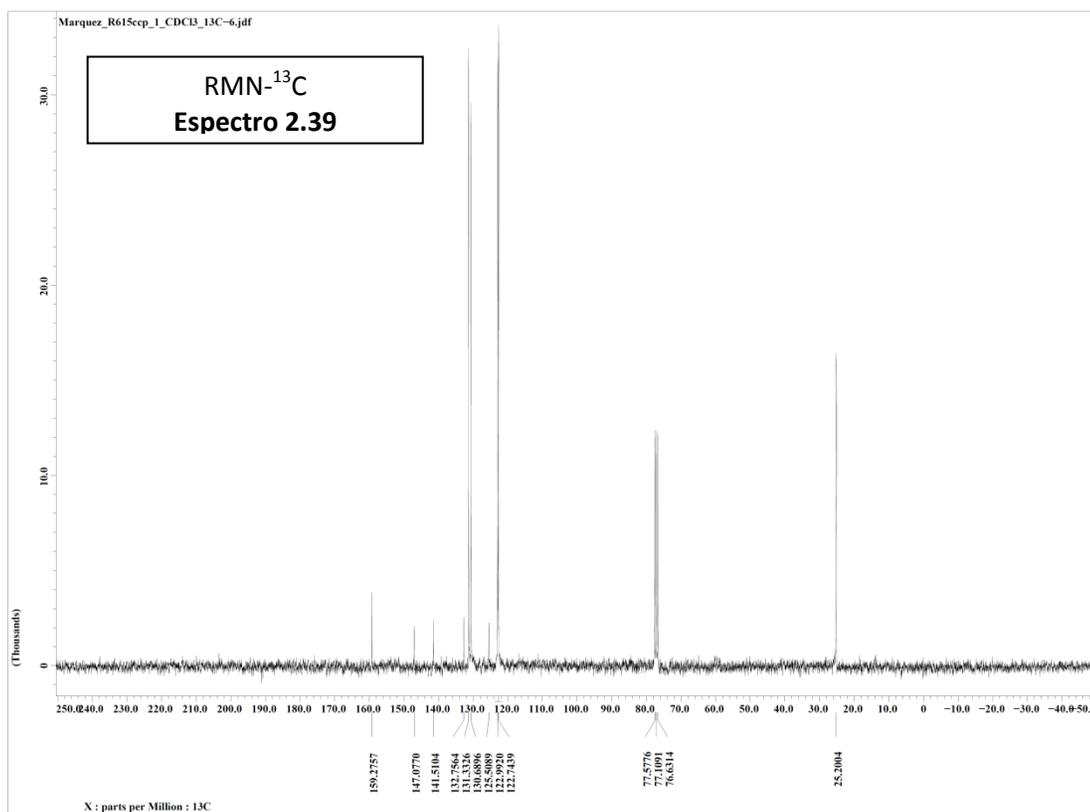
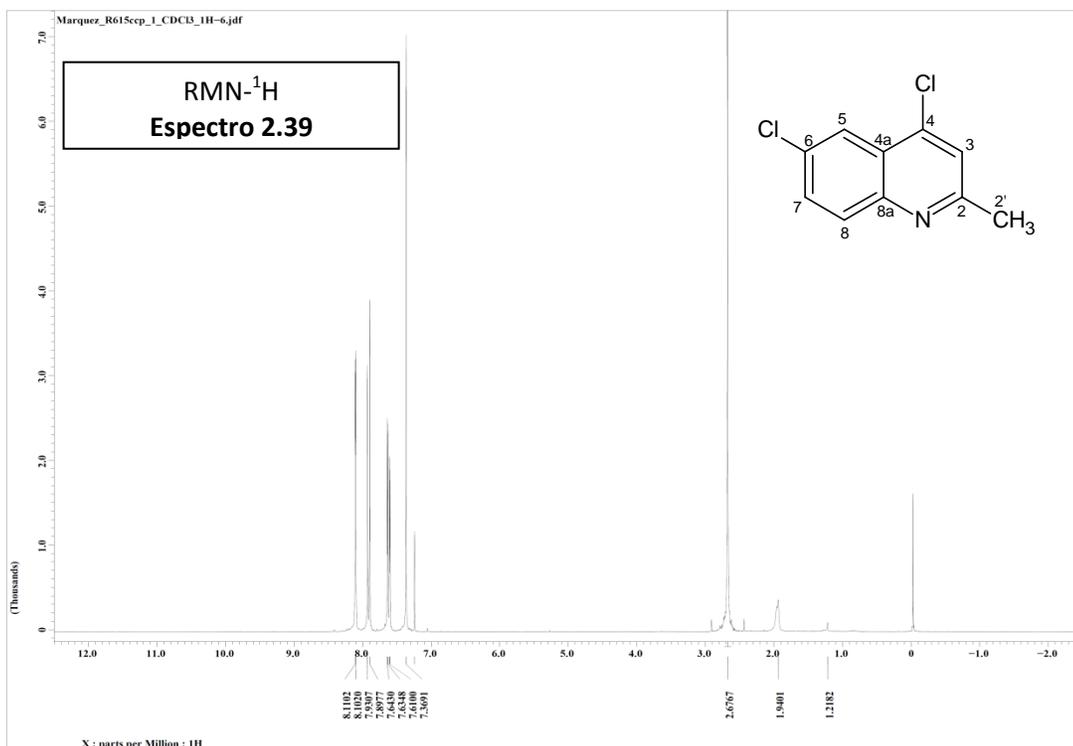
**IID. Porcentaje de viabilidad de promastigotes de *L. mexicana* expuestos a derivados de 2-metil, 2-propil y 4-metil-2-propilquinolina.**

Compuesto ( $\mu\text{g/mL}$ )	Porcentaje de viabilidad de promastigotes de <i>L. mexicana</i>					
	12,5	25	50	100	150	300
2.48	65	46	53	38	18	0
2.71	42	58	8	0	0	0
2.70	77	59	-	0	0	-
2.66	77	23	0	0	0	0
2.68	46	50	13	0	0	0
2.65	69	83	25	7	0	0
2.69	91	20	0	0	0	0
2.55	83	28	23	0	0	0

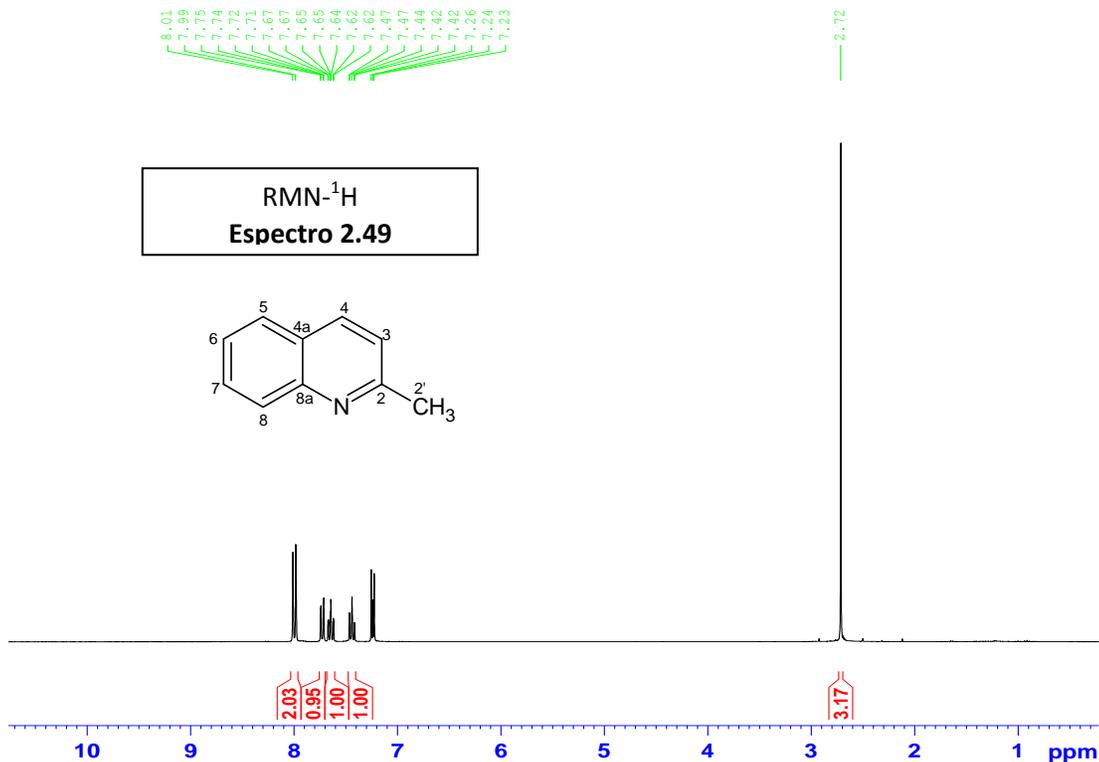
Compuesto ( $\mu\text{g/mL}$ )	Porcentaje de viabilidad de promastigotes de <i>L. mexicana</i>					
	12,5	100	300	375	750	1500
2.50	91	91	85	71	10	13

Compuesto ( $\mu\text{g/mL}$ )	Porcentaje de viabilidad de promastigotes de <i>L. mexicana</i>							
	1,25	2,5	12,5	50	100	250	500	1000
2.58			59	30	3			-
2.49	65	50	43	32	17	0	0	0
2.67	81	78	71	40	9	0	0	0
2.59	88	78	82	69	29	0	0	0
2.60	29	17	64	19	0	0	0	0
2.56	47	56	73	47	13	0	0	0
2.57	83	61	53	60	46	0	0	0
2.62	63		12	7	0	0	0	0
2.64	78	58	63	67	11	0	0	0
2.47	89	87	75	86	83	29	26	0
2.46	92	90	69		58	20	0	0
2.51	80	85	84	78	76	77	5	0
2.61	96	99	87	63	40	0	0	0

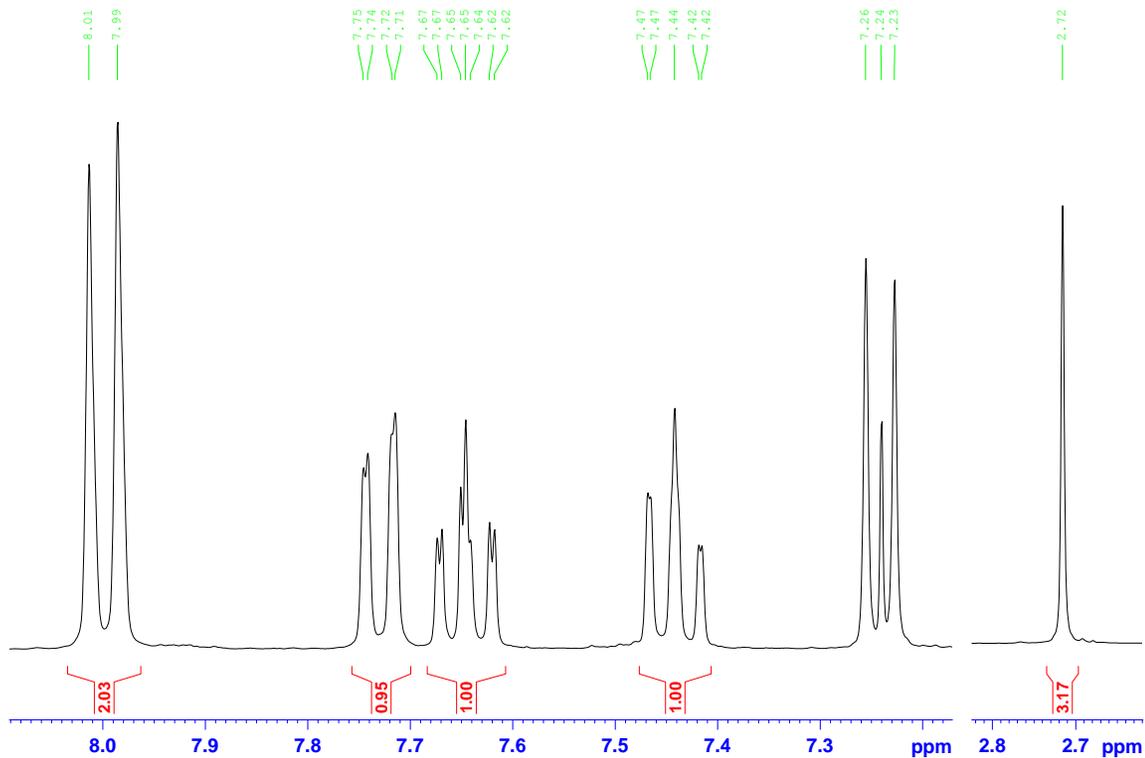




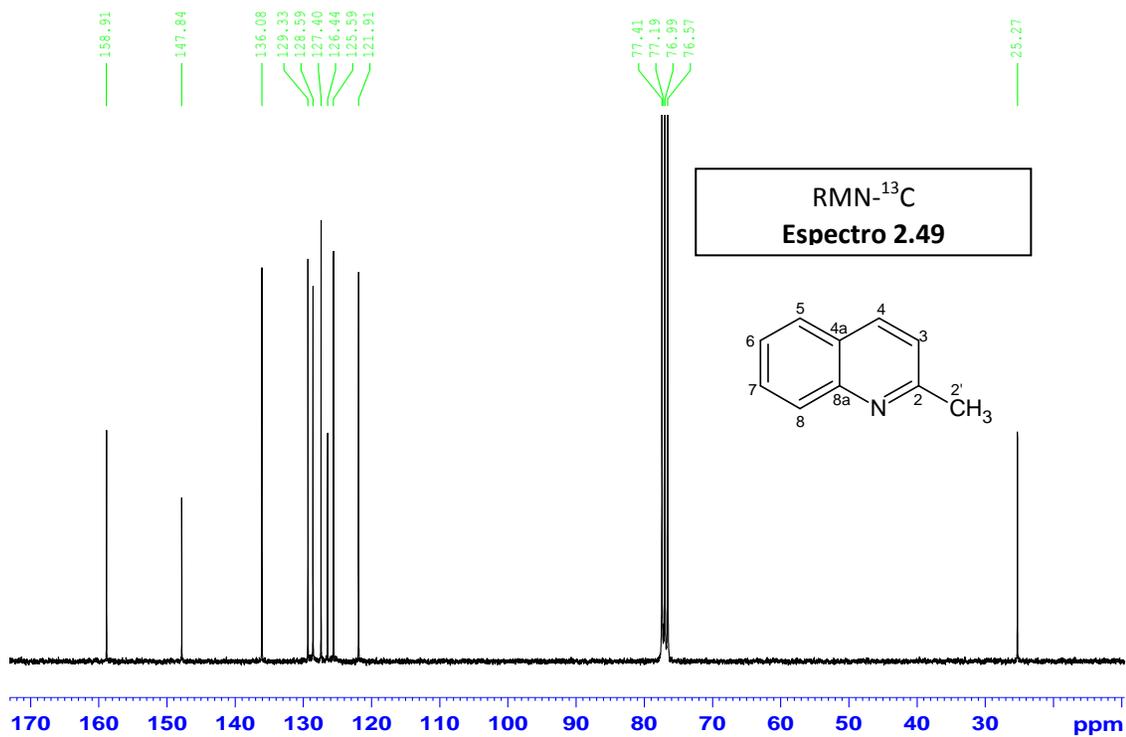
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R881A. / CDC13.  
Protones.



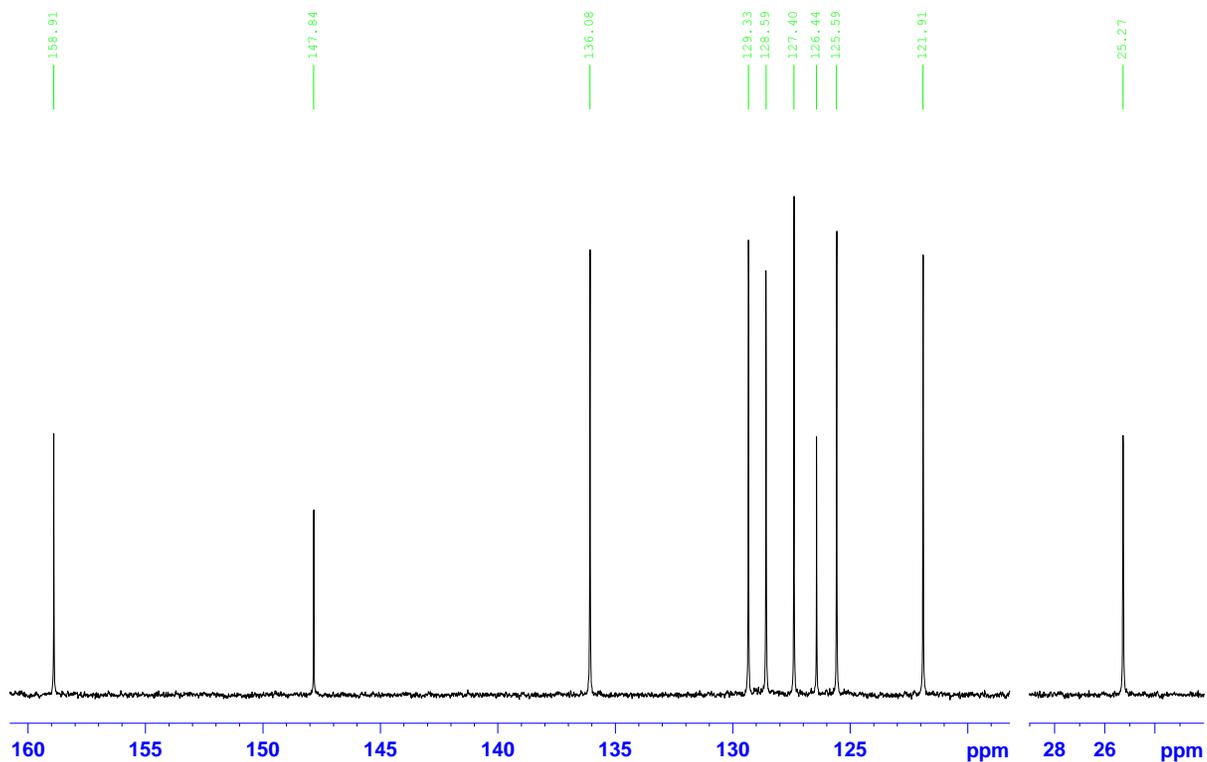
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R881A. / CDC13.  
Protones.



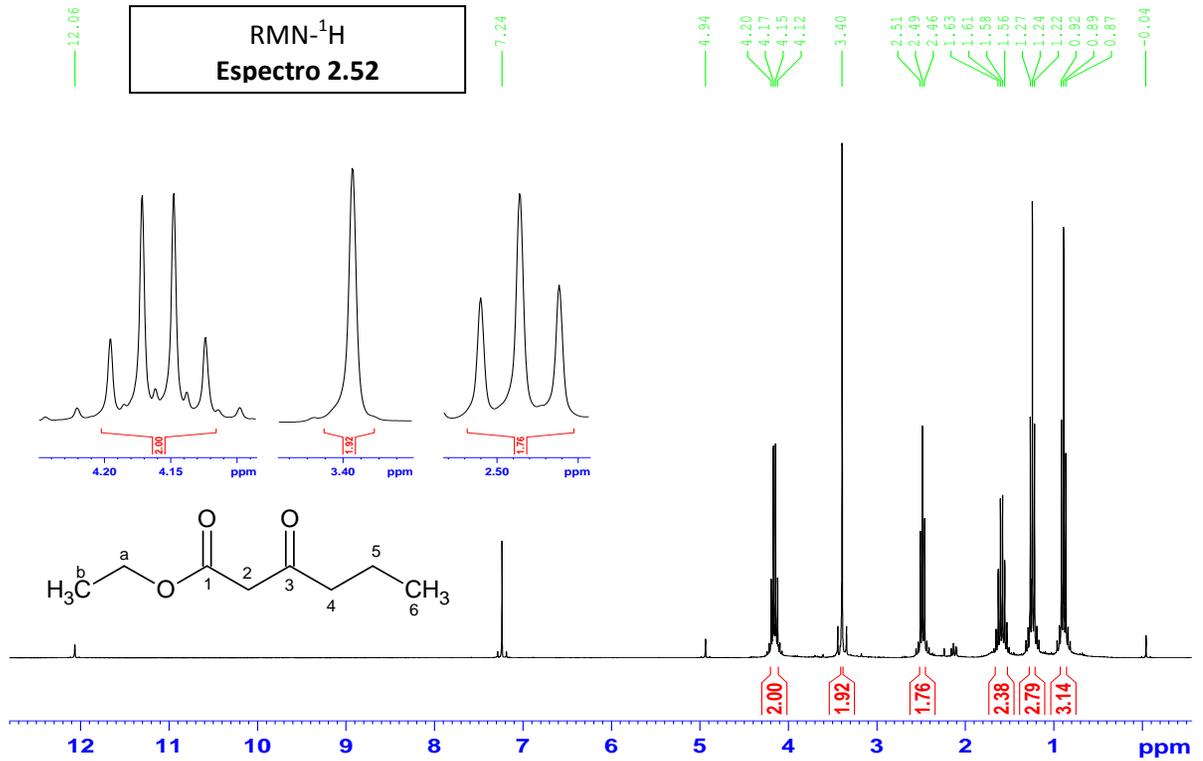
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R881A. / CDC13.  
Carbono.



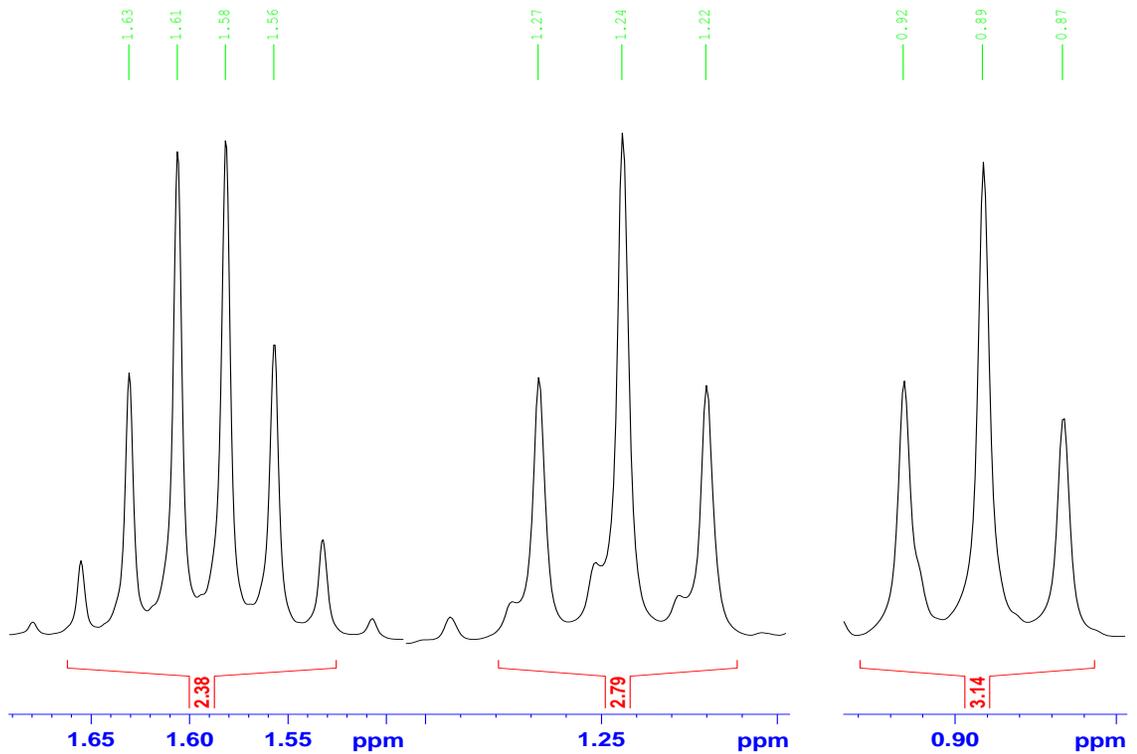
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R881A. / CDC13.  
Carbono.



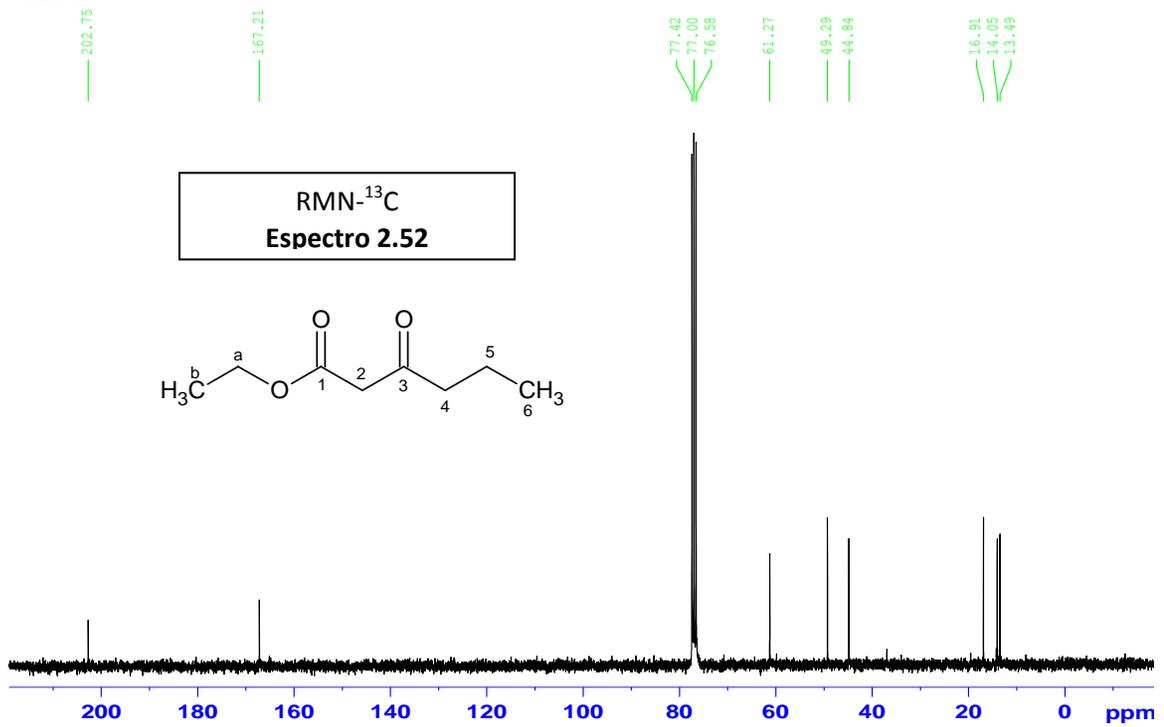
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVCMAL-EBA. / CDCl3.  
Protones.



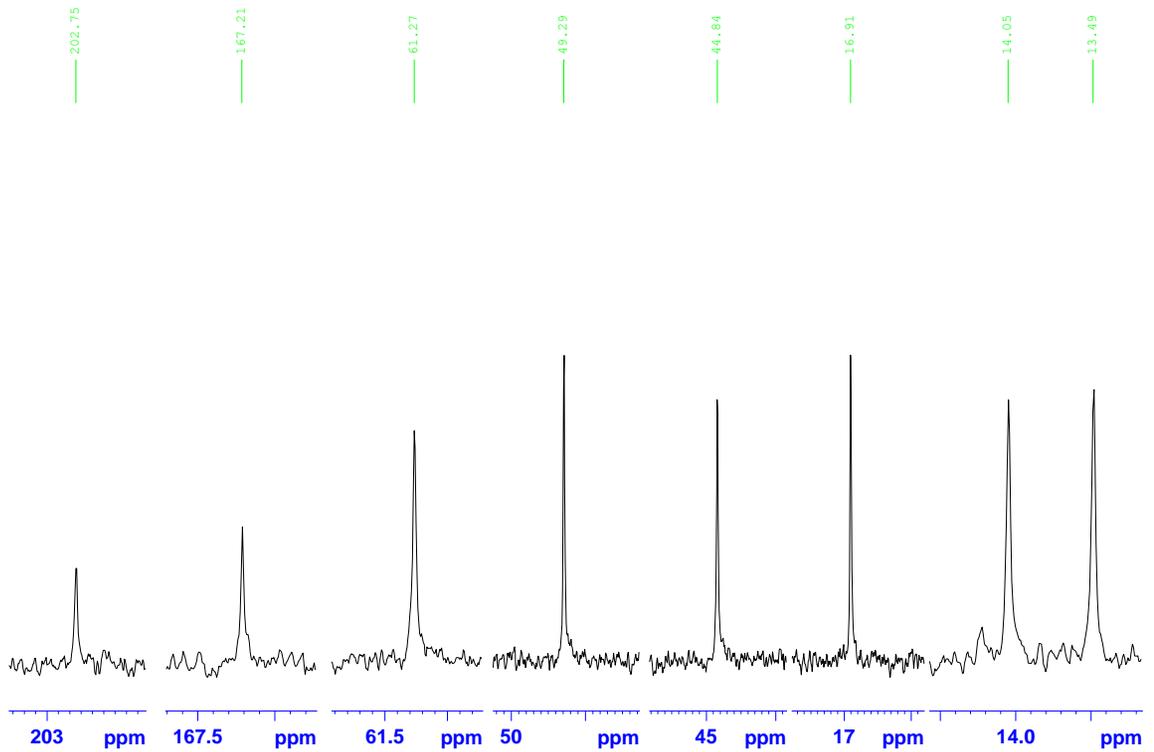
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVCMAL-EBA. / CDCl3.  
Protones.

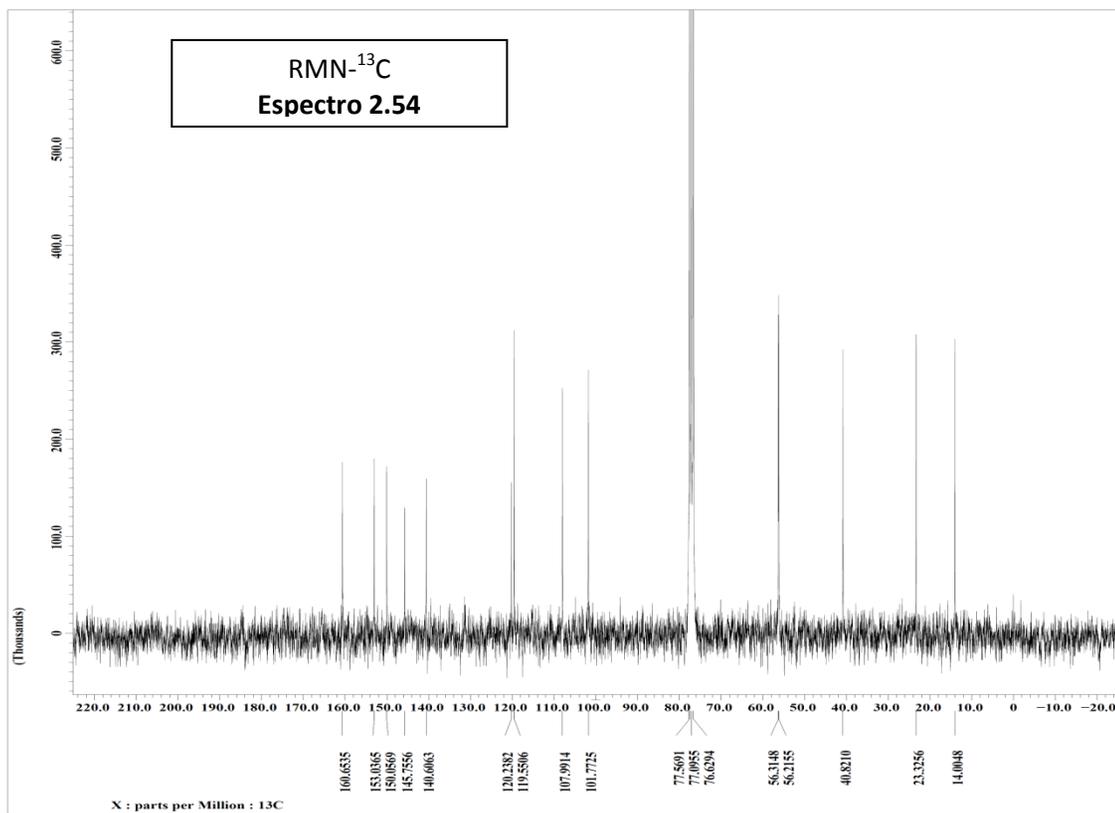
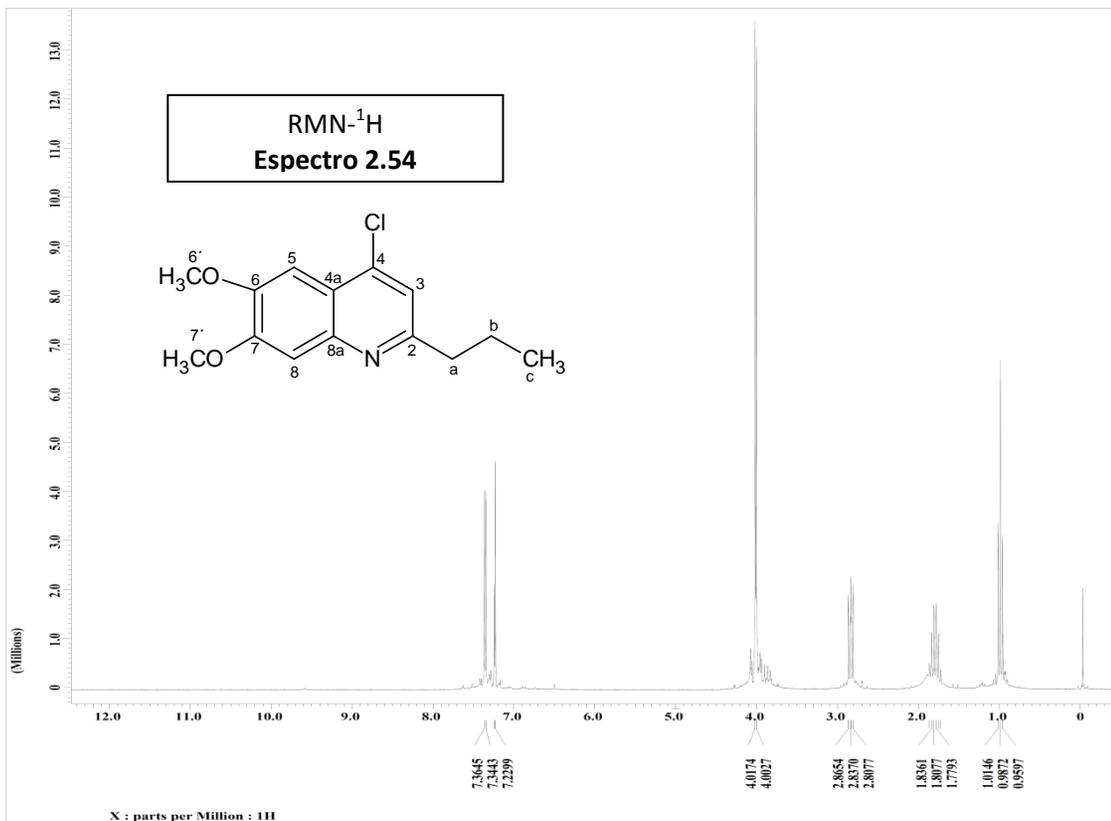


Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-EBA. / CDCl<sub>3</sub>.  
Carbono.

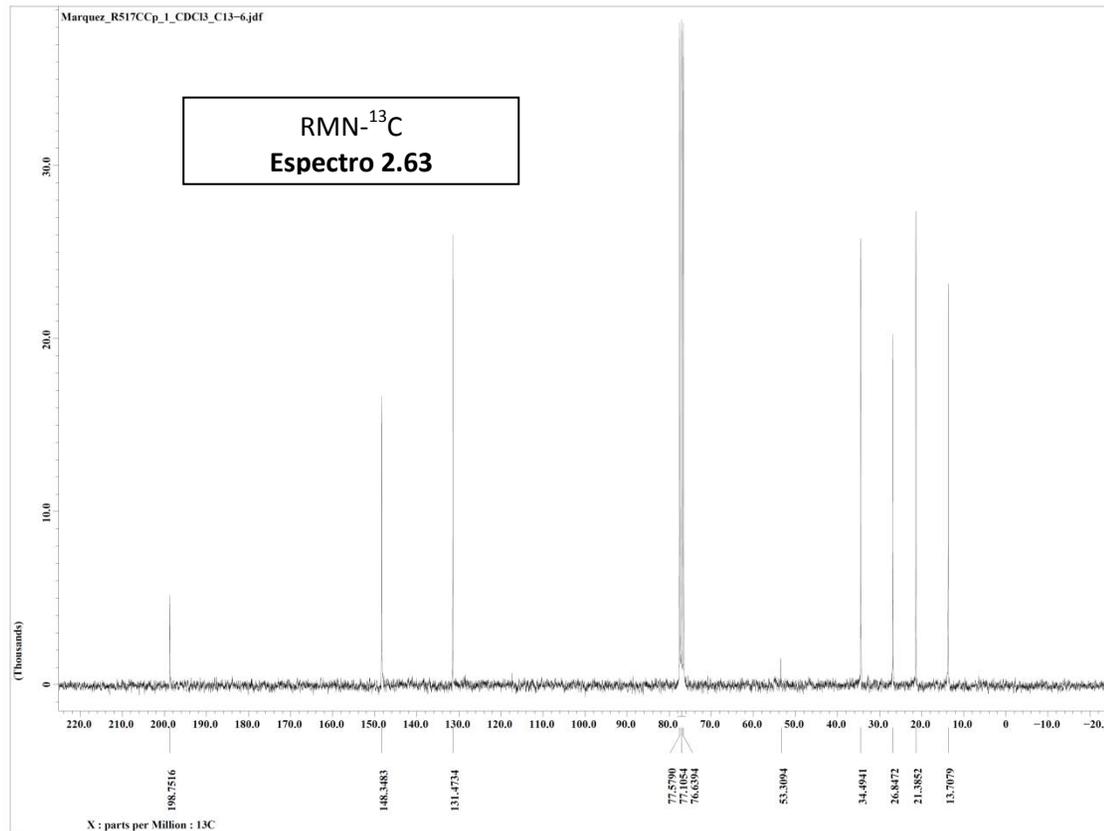
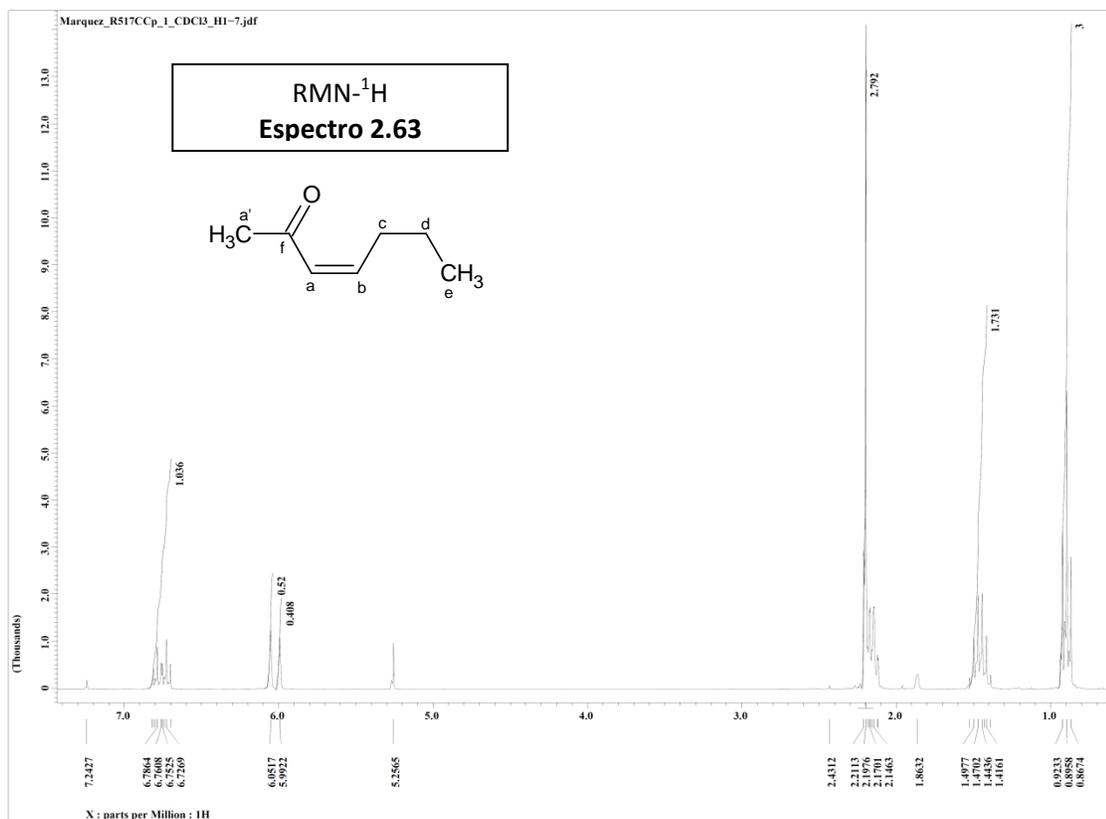


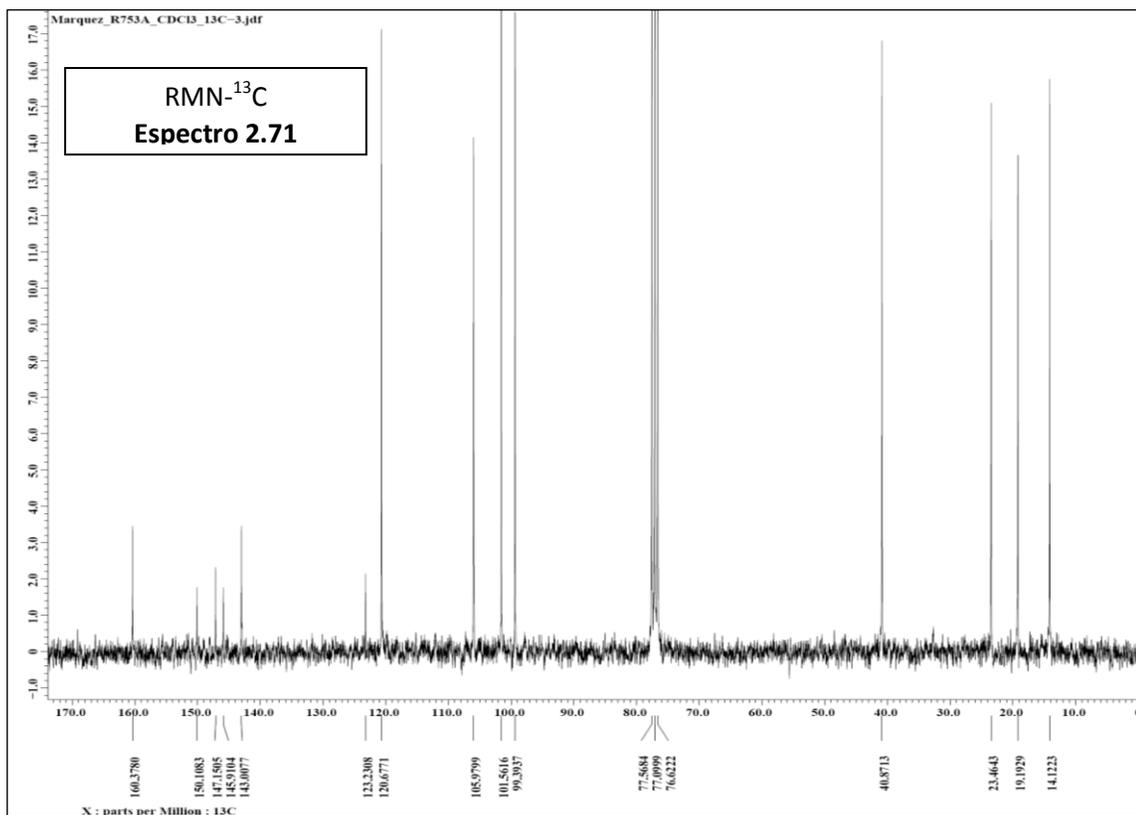
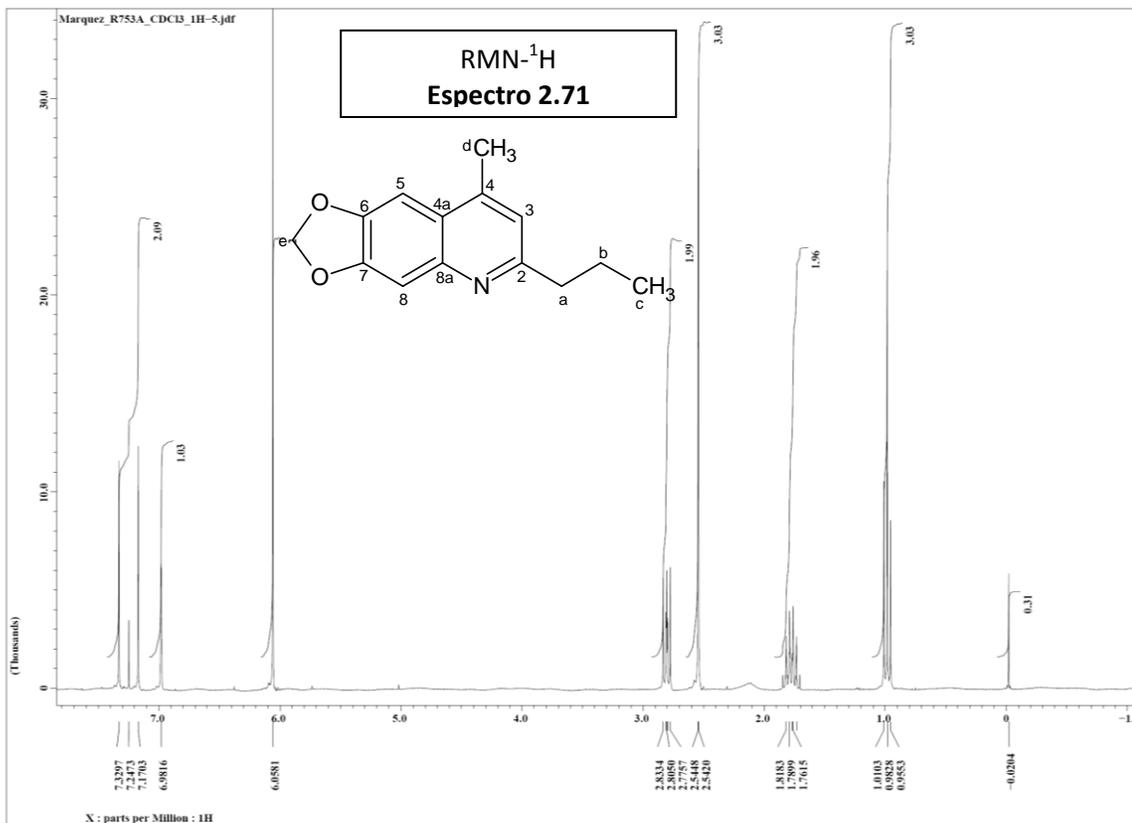
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-EBA. / CDCl<sub>3</sub>.  
Carbono.

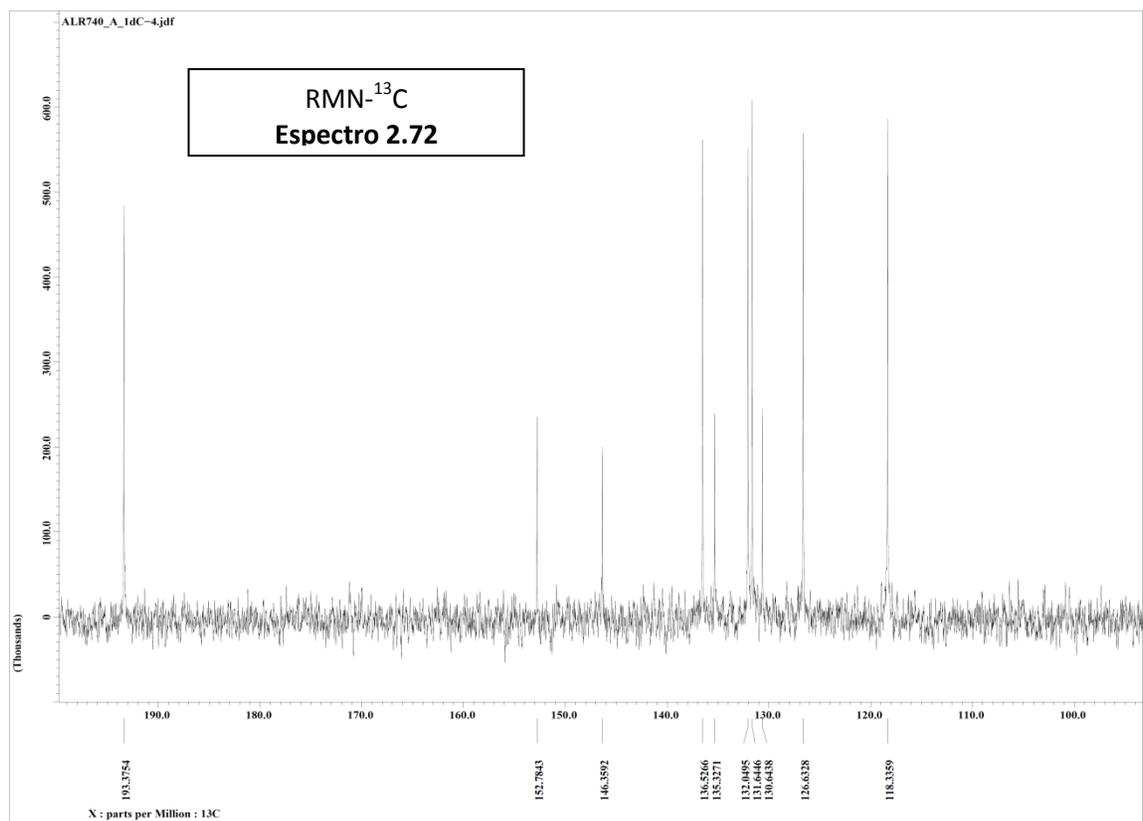
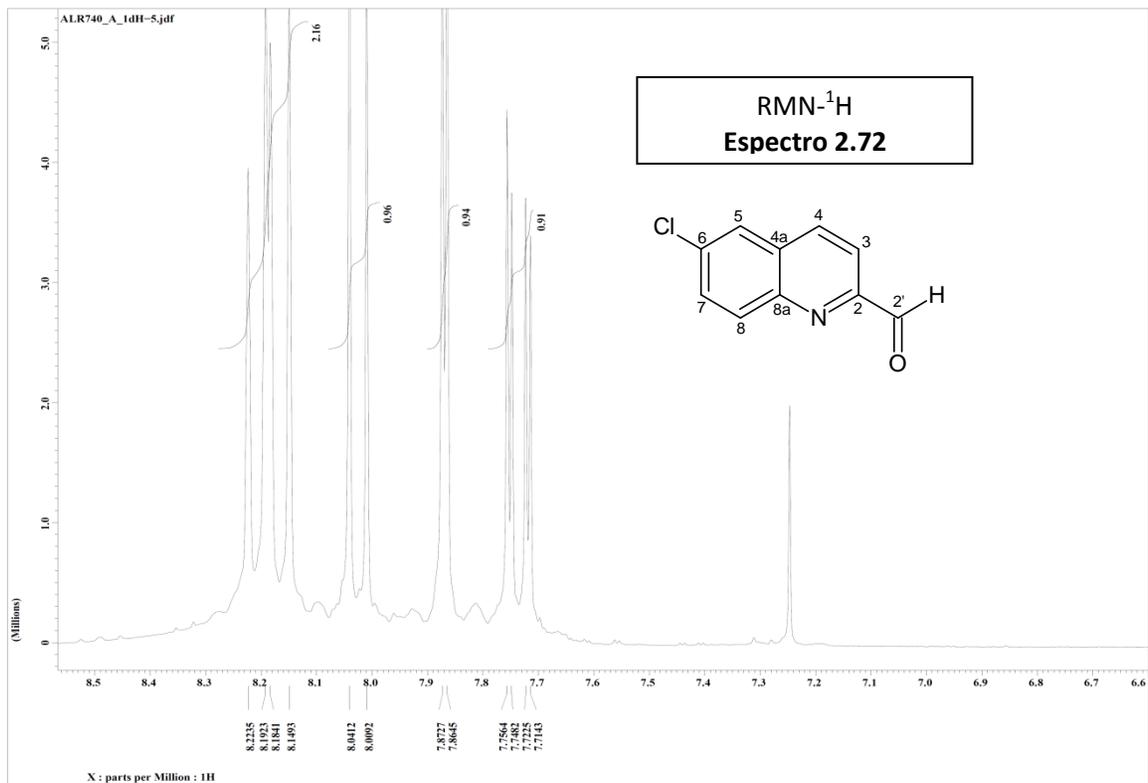




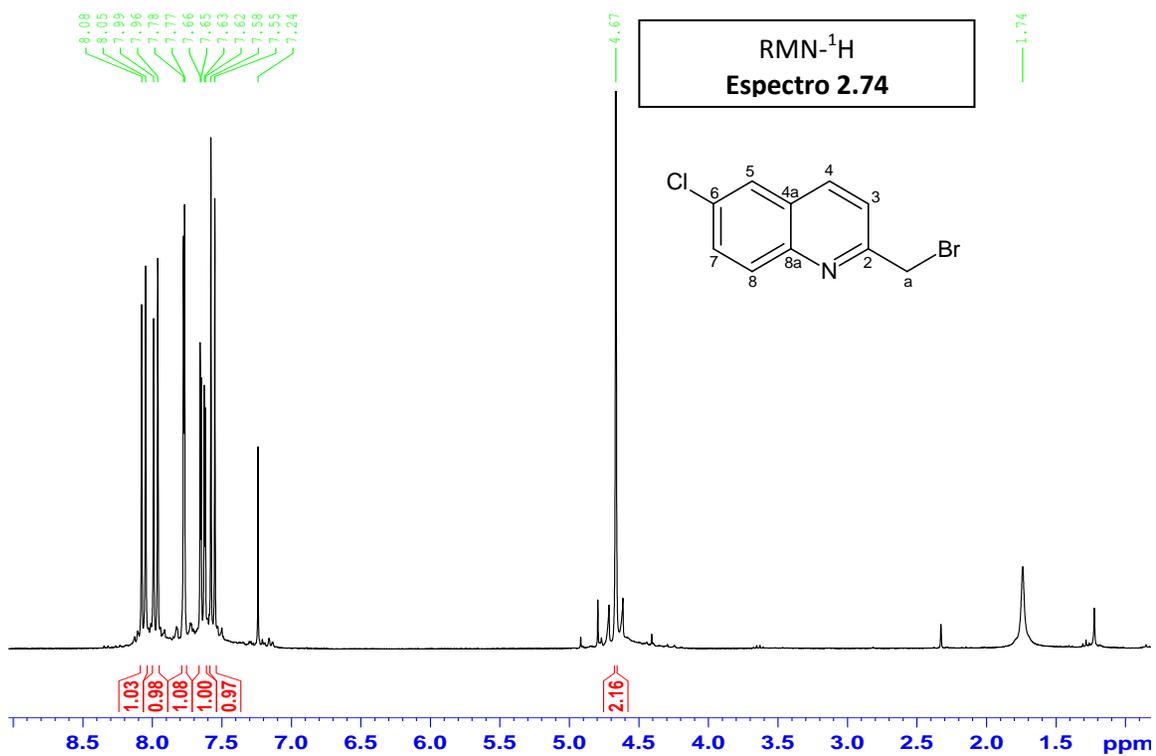




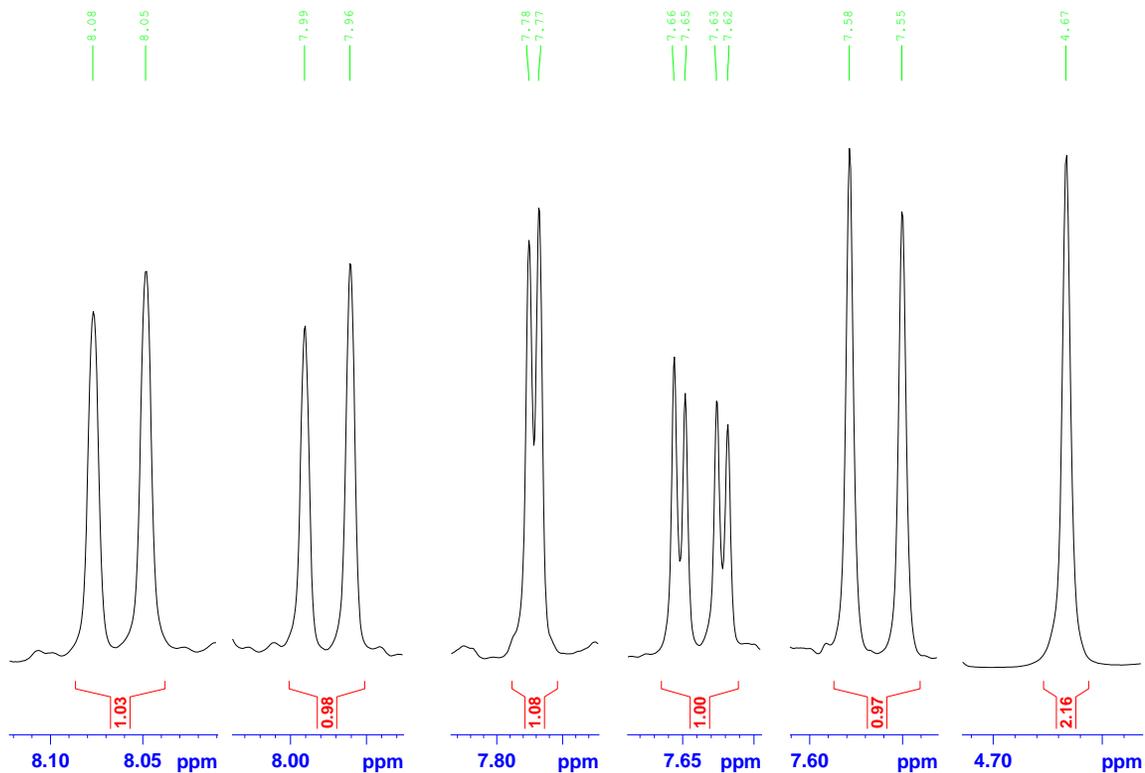




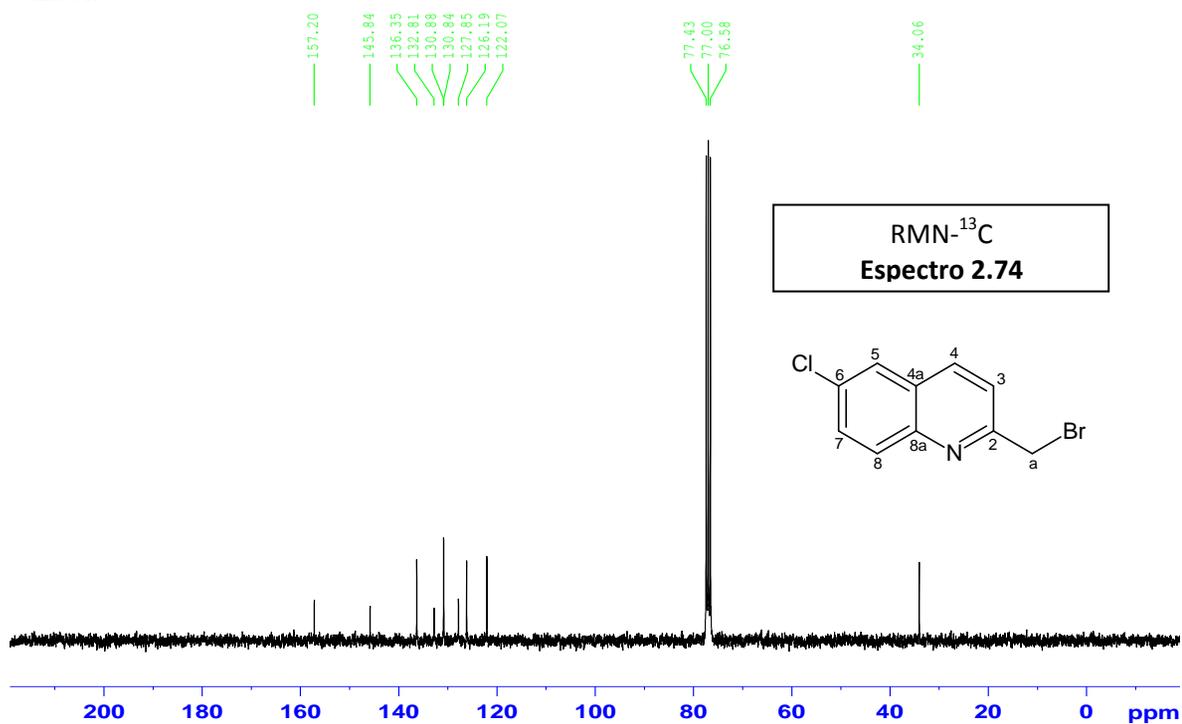
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-935-A / CDCl3.  
Protones.



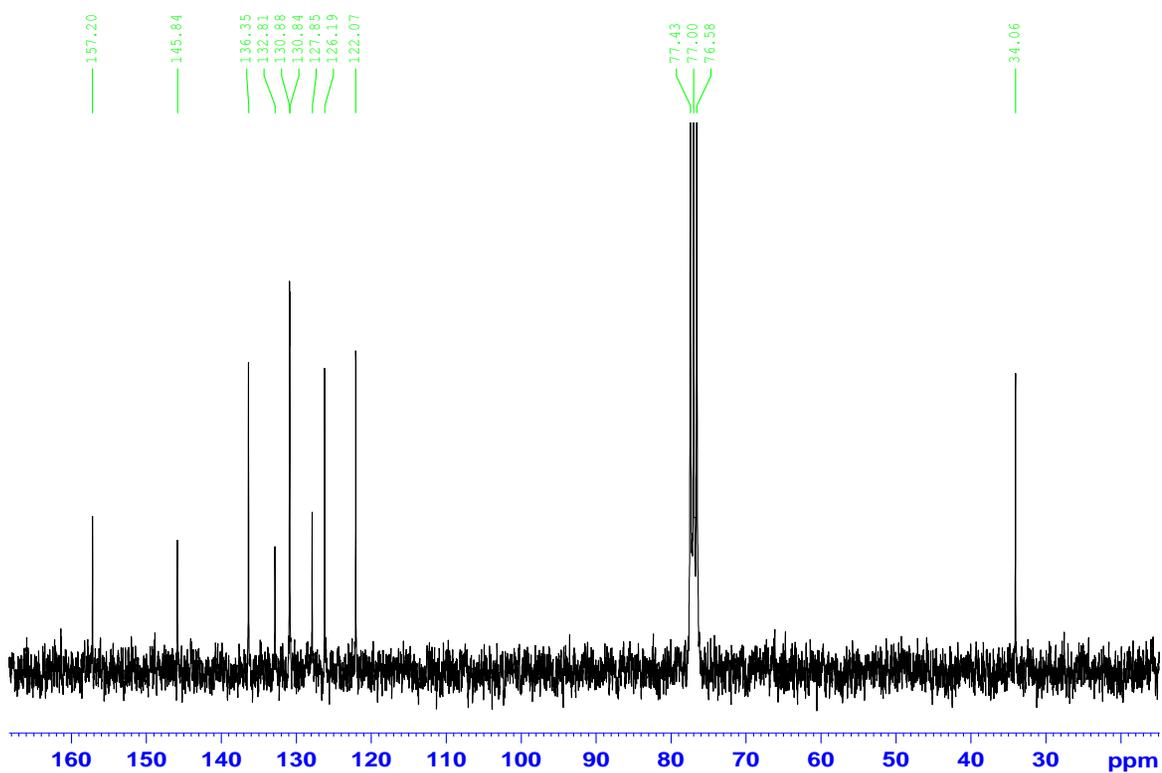
Carlos Marquez /Angelita Lorenzo / UCVMAL-R-935-A / CDCl3.  
Protones.



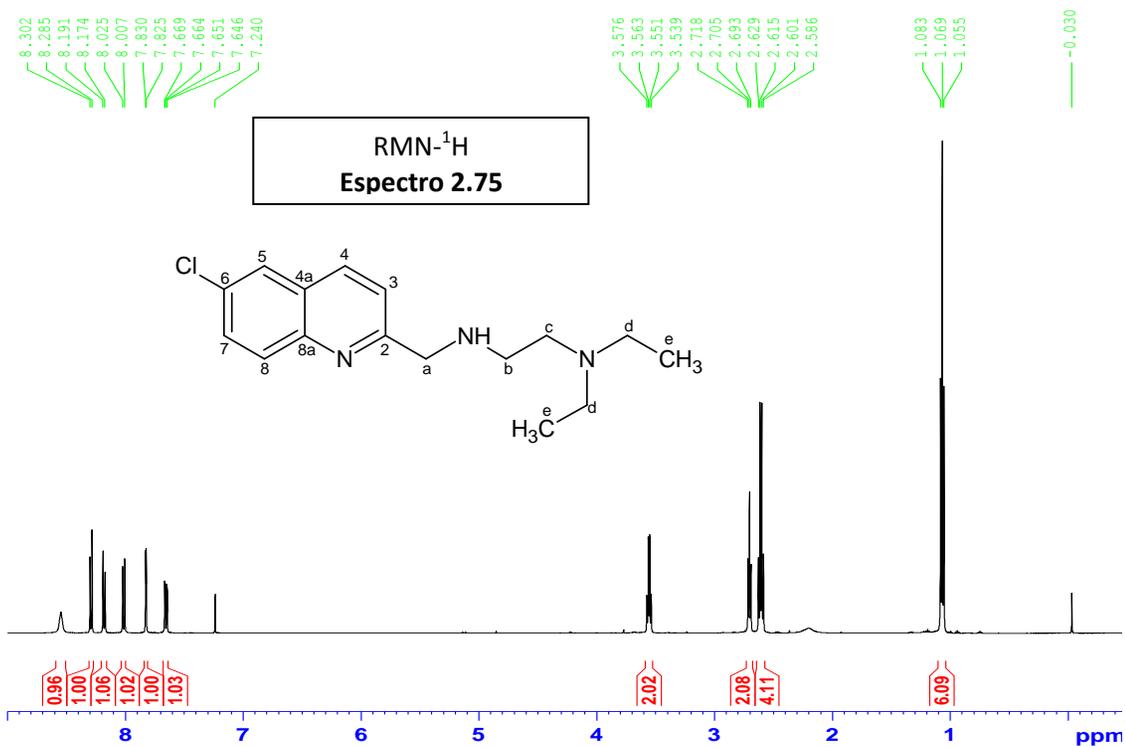
Carlos Marquez / Angelita Lorenzo / UCVCMAL-R-935-A / CDC13.  
Carbono.



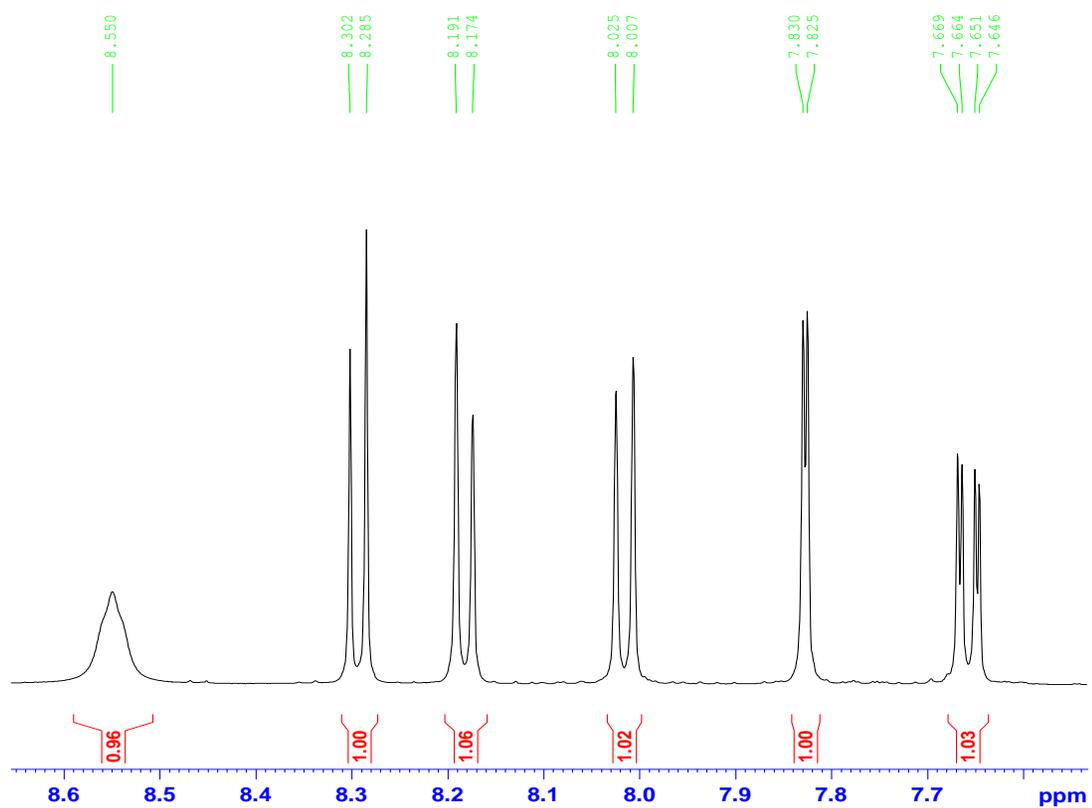
Carlos Marquez / Angelita Lorenzo / UCVCMAL-R-935-A / CDC13.  
Carbono.



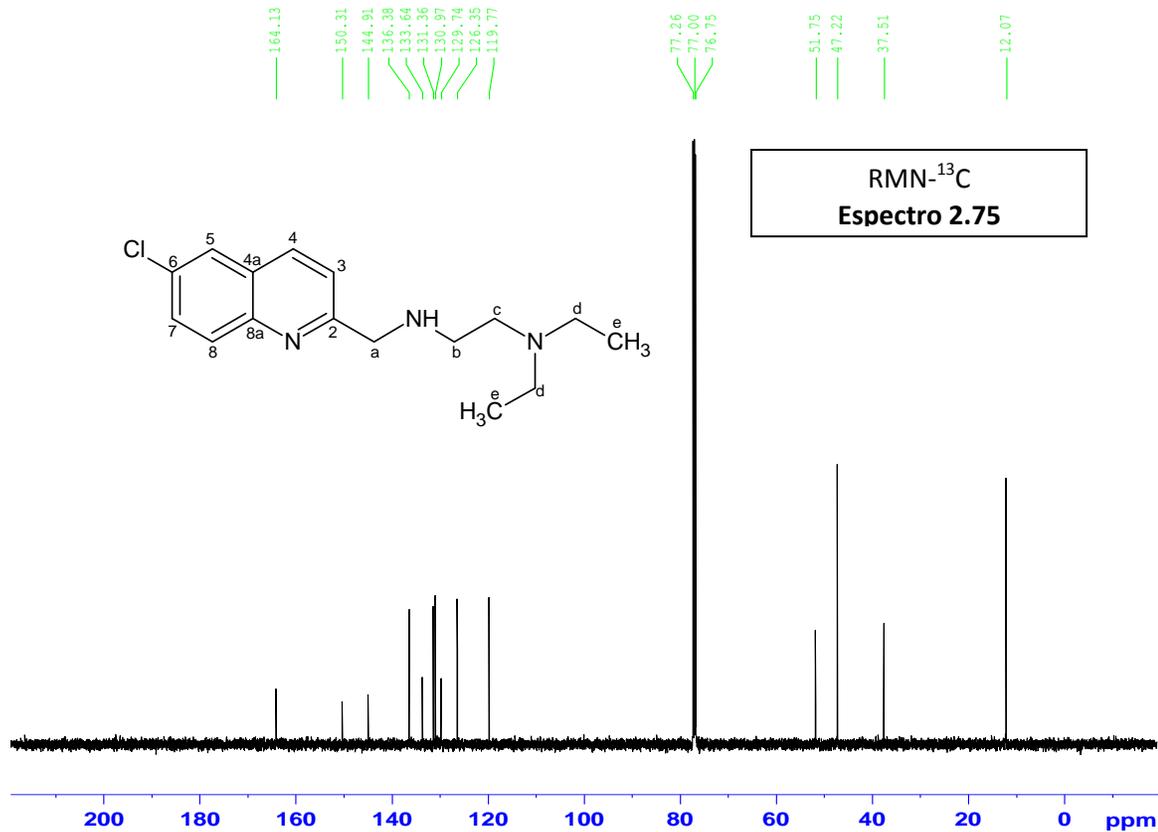
UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R957A / CDC13 / Protones.



UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R957A / CDC13 / Protones.



UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R957A / CDCl3 / Carbono.



UCV / C. Marquez / A. Lorenzo / R957A / CDCl3 / Carbono.

