

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**SINTESIS DE 1-BENZOIL-1,2-DIHIROQUINOLINAS SUSTITUIDAS COMO  
POSIBLES INHIBIDORES DE LA POLIMERIZACIÓN DE TUBULINA**

Trabajo Especial de Grado  
presentado ante la ilustre  
Universidad Central de  
Venezuela por el Br. Miguel  
Dario Toyo Iorio, para optar  
por el título de Licenciado en  
Química.

Caracas, Junio 2009

Yo Profesor Carlos Márquez, Investigador del Laboratorio de Química Medica y Síntesis Orgánica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela y el Profesor Wilmer Guzmán, Investigador del Laboratorio de Química de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela.

Certificamos que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

“SINTESIS DE 1-BENZOIL-1,2-DIHIDROQUINOLINAS SUSTITUIDAS COMO POSIBLES INHIBIDORES DE LA POLIMERIZACION DE TUBULINA”

Que presenta el Br. Miguel Dario Toyo Iorio, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Química Medica y Síntesis Orgánica de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección durante los años 2008 y 2009 y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, Junio de 2009

---

Prof. Carlos Márquez  
Tutor

---

Prof. Wilmer Guzmán  
Tutor

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: "Síntesis de 1-benzoil-1,2-dihidroquinolinas sustituidas como posibles inhibidores de la polimerización de Tubulina". Presentado por el Br. Miguel Dario Toyo Iorio, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

---

Prof. Carlos Márquez  
(Director)

---

Prof. Wilmer Guzmán  
(Director)

---

Prof. Maria Rodríguez  
Jurado

---

Prof. Reinaldo Compagnone  
Jurado

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios padre todopoderoso por ser mi guía y fuente de inspiración a lo largo de estos años. Gracias Señor por hacerme ver que la mayor fuerza se debe manifestar en la debilidad.

A mi familia, Maria Esperanza, José Miguel y Pascual por tantos sacrificios durante estos años de carrera, al apoyo incondicional que siempre me han brindado y vayan mis reconocimientos para ustedes porque este logro también es de ustedes. Los amo.

A ti, Maria Virginia por ser mi soporte en los momentos más duros, por confiarme la nobleza de tus sentimientos y hacer de mí una persona completa. Te quiero mucho mi vida.

Al Prof. Carlos Márquez, por guiarme y aportar valiosas sugerencias en pro de la buena elaboración del Trabajo Especial de Grado. Además de constituir un ejemplo de referencia a la dedicación, esfuerzo y trabajo en la Escuela de Química.

Al Prof. Wilmer Guzmán, porque siempre estuvo dispuesto a participar con nuevas ideas y sus aportes fueron fundamentales en buena parte del Trabajo Especial de Grado.

A mis amigos, Cesar, Luis (Caripito), Yves, Jacobo, Paúl, Jonathan, Manuel y Marco Rondón por sus manifestaciones de aprecio y apoyo durante las experiencias compartidas en las aulas de clase durante la carrera. Gracias a todos.

## INDICE GENERAL

1. Introducción.....	11
2. Revisión Bibliográfica.....	12
2.1 Ciclo Celular.....	12
2.2 Clasificación de las células de acuerdo a su capacidad de proliferación.....	14
2.2.1 Células lábiles.....	14
2.2.2 Células estables.....	14
2.2.3 Células permanentes.....	14
2.3 Papel del ciclo celular y principios básicos en el desarrollo del cáncer.....	14
2.4 Las ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas del ciclo celular.....	16
2.5 Puntos de control específicos en el ciclo celular.....	18
2.5.1 Punto de control G <sub>1</sub> .....	18
2.5.2 Punto de control S.....	18
2.5.3 Punto de control G <sub>2</sub> .....	18
2.5.4 Punto de control del huso mitótico.....	19
2.6 ¿Cómo se propagan las células cancerosas?.....	20
2.7 Tipos de cáncer.....	22
2.7.1 Carcinoma.....	22
2.7.2 Sarcoma.....	23
2.7.3 Leucemia.....	23
2.7.4 Linfoma.....	23
2.8 Las posibles causas del cáncer.....	23
2.8.1 Factores hereditarios.....	24
2.8.2 Infecciones.....	24
2.8.3 Radiaciones.....	24

2.8.4	Productos químicos.....	25
2.8.5	Factores ambientales.....	25
2.9	Las cifras del cáncer en Venezuela.....	26
2.10	¿Cómo se diagnostica?.....	29
2.11	Los tratamientos.....	31
2.11.1	Cirugía.....	31
2.11.2	Radioterapia.....	31
2.11.3	Quimioterapia.....	32
2.11.4	Modulación de la respuesta biológica.....	32
2.12	Los fármacos antineoplásicos.....	33
2.12.1	Fármacos antitumorales que forman enlaces covalentes con el ADN.....	33
2.12.2	Fármacos antitumorales que forman interacciones no covalentes.....	34
2.13	Síntesis orgánica asistida por microondas.....	44
2.13.1	Origen del calentamiento por microondas.....	45
2.13.2	Efectos específicos de las microondas.....	46
2.13.3	Los equipos microondas usados en síntesis orgánica.....	47
3.	Síntesis previas.....	50
3.1	Síntesis de Skraup y Doebner-Miller.....	50
3.2	Síntesis de Wiebe.....	52
3.3	Síntesis de Kobayashi.....	53
3.4	Síntesis de Yavari.....	54
4.	Síntesis propuestas.....	55
5.	Objetivos.....	61
5.1	Objetivo general.....	61

5.2	Objetivos específicos.....	61
6.	Parte Experimental.....	62
6.1	Reactivos.....	62
6.2	Solventes.....	62
6.3	Equipos.....	63
6.4	Determinación de datos físicos.....	63
6.5	Cromatografía.....	65
6.6	Metodología empleada.....	66
7.	Discusión de resultados.....	87
8.	Conclusiones.....	120
9.	Recomendaciones.....	121
10.	Referencias Bibliograficas.....	122
11.	Apéndice.....	127

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales tipos de cáncer diagnosticados en Venezuela en el año 2004. Cifras del Ministerio de Salud.....	26
Tabla 2. Factor de disipación ( $\tan \delta$ ) de diferentes solventes.....	46
Tabla 3. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con acrilato de metilo <u>2</u> .....	87
Tabla 4. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con 3-bromopropionato de etilo <u>4</u> ...	88
Tabla 5. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con 3-bromopropionato de etilo <u>4</u> en microondas.....	90
Tabla 6. Obtención de 3-bromopropionato de piperonilo <u>9</u> .....	93
Tabla 7. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con 3-bromopropionato de piperonilo <u>9</u> en microondas.....	95
Tabla 8. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con acrilato de metilo <u>2</u> en microondas.....	96
Tabla 9. Obtención de la N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida <u>13</u> .....	99
Tabla 10. Reacciones de la N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida <u>13</u> con acrilato de metilo <u>2</u> .....	100
Tabla 11. Obtención del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo <u>16</u> .....	102

Tabla 12. Intento de síntesis de 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo <u>5</u> ....	103
Tabla 13. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina <u>1</u> con acrilato de metilo <u>2</u> en 1,4-dioxano y usando N(Et) <sub>3</sub> como catalizador.....	104
Tabla 14. Obtención de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo <u>5</u> .....	105
Tabla 15. Intento de síntesis de la 5,6,7-trimetoxi-2,3-dihidroquinolin-4-ona <u>17</u> .....	109
Tabla 16. Obtención de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo <u>20</u> .....	113
Tabla 17. Intentos de síntesis del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilmalonato de dietilo <u>21</u> por hidrogenación catalítica.....	115
Tabla 18. Intento de síntesis del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilmalonato de dietilo <u>21</u> .....	116
Tabla 19. Reacciones de ciclación de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo <u>20</u> con difenil éter.....	117

## INDICE DE FIGURAS

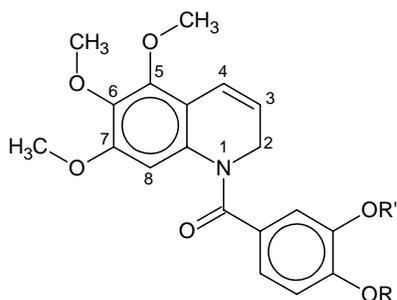
Figura 1. Ciclo celular.....	13
Figura 2. Las principales causas de muerte por cáncer en mujeres en el año 2004.....	27
Figura 3. Las principales causas de muerte por cáncer en hombres en el año 2004.....	27
Figura 4. La organización de las subunidades de tubulina en microtúbulos.....	37
Figura 5. Gradiente de temperatura invertido en calentamiento por microondas versus calentamiento por baño de arena.....	45
Figura 6. Estabilización relativa de un E.T. más polar cuando es comparado con el E.I. (mecanismo polar).....	47
Figura 7. Horno domestico multimodos.....	48
Figura 8. Horno microondas modificado para experimentos fotoquímicos.....	49
Figura 9. Reactores monomodos (Synthwave 402 <sup>®</sup> Prolabo).....	49
Figura 10. Enumeración de Newman para el acrilato de metilo en una estructura helicoidal.....	97
Figura 11. Estructura helicoidal del estado de transición para la adición al acrilato.....	97
Figura 12. Modelo helicoidal del 3-bromopropionato de etilo.....	98
Figura 13. Cation N-(3-etoxi-3-oxopropil)-3,4,5-trimetoxianilinio.....	112

## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es considerado como una enfermedad del ciclo celular, un proceso complejo que consta de cuatro fases: gap 1 ( $G_1$ ), síntesis de ADN (S), gap 2 ( $G_2$ ) y mitosis (M). Los quimioterapéuticos actúan sobre las diversas fases del ciclo celular; uno de sus modos de acción es la inhibición de la mitosis celular por despolimerización de los microtúbulos, evitando así la formación del huso mitótico, la segregación cromosómica y la citocinesis.

Entre los despolimerizadores de microtúbulos están: la Colchicina y derivados, la Esteganacina, las Combretastatinas y análogos. Estos compuestos presentan similitudes estructurales que les permiten unirse a un sitio común denominado “sitio de Colchicina” inhibiendo la polimerización de los microtúbulos.

Por esta razón, se diseñó la síntesis de un grupo de 1-benzoil-1,2-dihidroquinolinas con características estructurales semejantes a la de algunos de los compuestos mencionados arriba, entre las que destacan un anillo trimetoxibencénico y un anillo aromático con dos sustituyentes oxigenados adyacentes:



1.  $R' = OH$  ;  $R = CH_3$
2.  $R' = CH_3$  ;  $R = CH_3$
3.  $R' = R = -CH_2-$

Las caracterizaciones se realizarán por los diferentes métodos espectroscópicos: Infrarrojo (IR), Espectroscopia de Masas y Resonancia Magnética Nuclear.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El cuerpo humano se puede ver como una sociedad cuyos miembros son las células, que se reproducen por división celular y se organizan en tejidos. La mutación, la competición y la selección natural dentro de una población de células son los ingredientes básicos del cáncer; una afección que ampara mas de 100 modalidades y en el que las células mutantes comienzan a prosperar a expensas de sus células vecinas y que al final destruyen la sociedad entera y causan la muerte. Las células malignas tienen dos propiedades heredables: 1) se reproducen desafiando las restricciones normales de proliferación y 2) invaden y colonizan territorios que normalmente están reservados para otras células. Es la combinación de tales características lo que hace al cáncer peculiarmente peligroso [1]. Por lo tanto, entendemos por *cáncer* el crecimiento tisular patológico originado por la proliferación continua de células anormales que produce una enfermedad, por su capacidad para elaborar sustancias con capacidad biológica nociva, por su capacidad de expansión local o por su potencial de invasión o destrucción de los tejidos adyacentes o a distancia [2].

### 2.1 Ciclo Celular

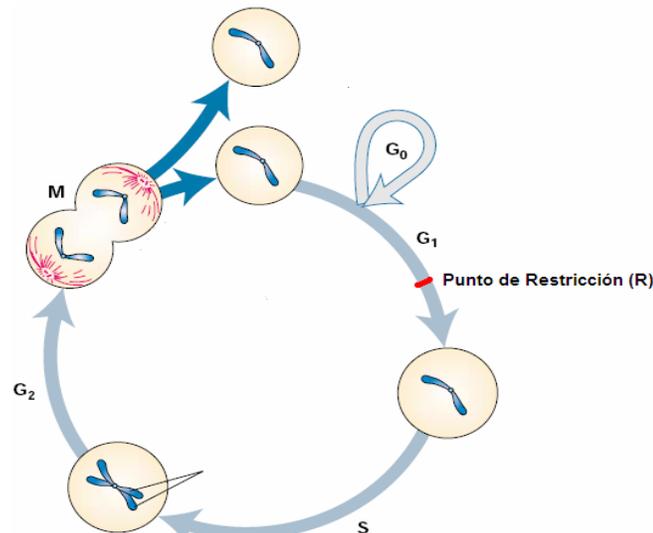
El ciclo celular es un conjunto de eventos que culmina con el crecimiento de la célula y su división. La progresión del ciclo celular se asocia con la expresión de un conjunto de genes específicos. Tales genes codifican las proteínas y moléculas específicas que controlan la progresión del ciclo celular o funcionan en procesos metabólicos unidos a él. El ciclo celular se divide en cuatro fases (Fig.1): gap 1 ( $G_1$ ), síntesis (S), gap 2 ( $G_2$ ) y mitosis (M). La fase  $G_1$ , se “inicia” con una célula que proviene de una división previa. Durante esta fase se capacita a la célula para crecer y producir todas las proteínas necesarias para la síntesis del ADN. La célula aumenta de tamaño y

se sintetiza nuevo material citoplasmático (material fuera del núcleo), sobre todo proteínas y ARN.

La fase S, es el periodo en que tiene lugar la duplicación del ADN. Cuando termina esta fase, el núcleo contiene el doble de ADN y proteínas nucleares.

En la fase  $G_2$ , se sigue sintetizando ARN y proteínas, se incrementan las proteínas citoplasmáticas y organelos, por lo que la célula aumenta de tamaño y hay cambios visibles en la estructura celular, que nos indica el principio de la mitosis. El periodo de tiempo que transcurre entre dos mitosis y que comprende los periodos  $G_1$ , S y  $G_2$ , se le denomina interfase. La fase M o mitosis, es el periodo de división nuclear y celular, en él los cromosomas se separan y ocurre la citocinesis.

Existe una quinta fase llamada  $G_0$ , que esta fuera del ciclo. En esta fase la célula esta “quiescente”, es decir, no esta en división.



**Figura 1. Ciclo celular**

## 2.2 Clasificación de las células de acuerdo a su capacidad de proliferación

Las células se agrupan por su capacidad proliferativa y su relación con el ciclo celular de la siguiente forma:

**2.2.1 Células lábiles:** son las que entran continuamente al ciclo celular y permanecen proliferando a lo largo de toda su vida, sustituyendo a las células que mueren y manteniendo la homeostasis tisular (balance entre proliferación y muerte). Los tejidos con células lábiles son los epitelios de superficie como el de la piel, tracto digestivo, respiratorio, genito-urinario y tejido hematopoyético.

**2.2.2 Células estables:** poseen un índice de replicación bajo porque están en fase  $G_0$ ; no obstante, pueden desarrollar una división rápida en respuesta a estímulos, por lo que son capaces de regenerar un determinado tejido. En este grupo se incluyen células de tejidos del hígado, riñón, páncreas, entre otros.

**2.2.3 Células permanentes:** abandonan el ciclo celular y no pueden desarrollar o realizar una división mitótica en la vida post-natal. A este grupo pertenecen las células nerviosas, las de los músculos esqueléticos y cardíaco [3].

## 2.3 Papel del ciclo celular y Principios básicos en el desarrollo del cáncer

Las células tumorales descienden de una célula ancestral común, que en algún momento, inició un programa de reproducción indebido causado por la acumulación de mutaciones en sus genes específicos y estos serían la clave para entender las raíces del cáncer [4].

Los genes son una secuencia lineal de nucleótidos en la molécula de ADN cromosómico que contiene la información necesaria para la síntesis de una

macromolécula con función celular [5]. Un gen codifica una secuencia de aminoácidos que se engranan entre si para formar una proteína que realiza el trabajo del gen. Cuando un gen se activa, la célula responde sintetizando la proteína codificada. Las mutaciones genéticas alteran la cantidad o la actividad del producto proteico y perturban el funcionamiento normal de la célula.

En el comienzo del cáncer ejercen un papel fundamental dos clases de genes que en sus versiones normales, controlan el ciclo de la vida de la célula. Los protooncogenes “activan” el crecimiento, mientras que los genes supresores de tumores lo inhiben.

Los protooncogenes codifican proteínas que participan en cadenas moleculares de transmisión de señales estimuladoras del crecimiento, señales que se transmiten desde el exterior celular hasta los sitios mas recónditos del interior de la célula.

Tal sistema de señales célula-célula suele comenzar cuando una célula libera factores de crecimiento. Una vez liberadas, estas proteínas se mueven a través del espacio intercelular y terminan incrustadas en receptores específicos que hay en la superficie de otras células cercanas. Los receptores se alojan en la membrana exterior de la célula objetivo, uno de sus extremos se orienta hacia el espacio extracelular y el otro hacia el citoplasma (interior de la célula). Cuando un factor estimulador del crecimiento se une a un receptor, este transmite una señal de proliferación a otras proteínas presentes en el citoplasma. A su vez, estas proteínas emiten señales estimuladoras a toda una sucesión de proteínas distintas en una cascada que acaba en el núcleo. En el núcleo, otras proteínas, los factores de trascrición, responden activando a un conjunto de genes que contribuyen a que la célula entre en su ciclo de crecimiento.

Cuando mutan, los protooncogenes pueden convertirse en oncogenes que obligan a la célula a sobreproducir factores de crecimiento que alteran la ruta estimuladora de crecimiento y la mantiene permanentemente activa cuando no debería estarlo, saliéndose de control el crecimiento celular.

Para convertirse en malignas las células deben hacer algo más que sobreexcitar la maquinaria que promueve el crecimiento. Deben buscar la manera de evadir o ignorar las señales de freno emitidas por las células vecinas normales. Los mensajes inhibitorios recibidos en células normales fluyen hacia el núcleo a través de cascadas moleculares. En las células cancerosas esas cascadas están desactivadas porque los componentes críticos de las mismas, que son los productos de los genes supresores de tumores faltan o están silenciados.

No solo la perturbación de las cascadas de señales celulares conspira contra la salud y el equilibrio celular, otro responsable es el descontrol del reloj del ciclo celular. El reloj, formado por un conjunto de proteínas nucleares (ciclina, quinasas dependientes de ciclina e inhibidores de quinasas) que interaccionan entre si, integra los mensajes procedentes de las cascadas estimuladoras e inhibitorias y, si prevalecen los mensajes estimuladores, pone en marcha el programa de división celular [4].

#### **2.4 Las ciclina y quinasas dependientes de ciclina del ciclo celular**

Las ciclina son proteínas que aparecen y desaparecen cíclicamente durante el ciclo celular; ellas son reguladores claves en la transición del ciclo celular y fueron las primeras en ser descubiertas. Después se descubrieron las quinasas, dependientes de ciclina (CDKs). En realidad la ciclina y la quinasas dependiente de ciclina constituyen una sola molécula con actividad de cinasa (transfieren el grupo fosfato terminal desde el ATP a un sustrato); ninguna de las dos son funcionales cuando están separadas. Y por

último, se descubrieron los inhibidores de quinasas. El papel de las ciclinas en la actividad de las quinasas es doble. Por un lado, asegura una ventana temporal para la activación de su respectiva cinasa; de forma que controlando la presencia de ciclina, es posible regular la producción de la cinasa; y por otro lado, es la ciclina la que mantiene el orden de los eventos del ciclo celular. De ahí que, cada ciclina tenga una localización subcelular diferente. Las ciclinas son clasificadas según la fase del ciclo en que estas funcionen. La presencia de inhibidores de quinasas puede regular también su actividad [3].

La progresión a través de las cuatro etapas del ciclo celular depende en gran medida de que se alcancen niveles elevados de ciclinas: primero la de tipo D, luego la E, A y finalmente, la B. Un momento crucial del ciclo tiene lugar al final de la fase  $G_1$ , en el punto restrictivo (R), cuando la célula decide si debe o no cerrar el ciclo. Para que la célula pase a través de ese punto y entre en la fase S, es preciso que un conmutador pase del estado “apagado” a “encendido”. Tal conmutación procede de la siguiente manera: conforme suben los niveles de ciclinas D y E, estas proteínas se combinan con las quinasas dependientes de ciclinas CDK4 y CDK6, y las activan. Estas enzimas (mientras forman parte del complejo quinasas-ciclina) arrebatan grupos fosfato de las moléculas de ATP (trifosfato de adenosina) y los transfieren a una proteína pRB, el freno maestro del reloj del ciclo celular. Si pRB no está fosforilada, bloquea el ciclo celular (conmutador en “apagado”), secuestrando otras proteínas, los denominados factores de transcripción. Pero cuando el complejo ciclina-quinasa añade suficientes fosfatos a pRB, el freno deja de actuar y libera los factores de transcripción, que quedan libres para activar a los genes, que sintetizarán las proteínas requeridas en la continuación del ciclo celular. En ciertos cánceres se ha detectado una sobreactividad de proteínas estimuladoras, las ciclinas D y E y la quinasa CDK4; y también la inactivación de algunas proteínas inhibitoras [4]. Entre las proteínas afectadas se encuentran p53 (ausente o ineficaz en más de la mitad de todos los tipos de tumores por alteraciones en el gen WAF1/CIP1) y por ende p21, ya que la primera induce a la

segunda a unirse específicamente a los complejos ciclina-quinasa inhibiendo su actividad, mientras que en ciertos tipos de cáncer, aberraciones al gen supresor INK4 inactiva a p16 que se une de forma específica a CDK4 y CDK6, inhibiendo la fosforilación de Rb.

## 2.5 Puntos de control específicos en el ciclo celular

Las moléculas que monitorean la terminación exitosa de cada fase del ciclo celular reciben el nombre de *puntos de control o verificación*. Estos puntos de control son especialmente sensibles a alteraciones del ADN y operan en todas las fases. El mecanismo mediante el cual realizan su función, frecuentemente involucra la activación o inactivación de un complejo ciclina-quinasa. En el ciclo celular hay 4 puntos de control:

**2.5.1 Punto de control  $G_1$ :** ubicado en el punto de restricción (R) y las moléculas presentes en este punto son: los complejos ciclina D/CDK4 o ciclina E/CDK6, los inhibidores de quinasas p21 y p16 y las proteínas pRb y p53.

**2.5.2 Punto de control  $S$ :** tras exposición a agentes que dañan el ADN, como la radiación ionizante, el p21 es capaz de inhibir la actividad del complejo ciclina A/CDK2 inhibiendo la síntesis de ADN.

**2.5.3 Punto de control  $G_2$ :** se basa en la regulación de la localización subcelular del complejo ciclina B/CDK2 que normalmente está en el citoplasma y luego pasa al núcleo, conforme la célula progresa de  $G_2$  a M. La movilización depende del nivel de fosforilación de p34. Los complejos ciclina B son retenidos en el citoplasma en respuesta a la radiación ionizante, con lo cual se detiene el ciclo celular en  $G_2$ .

**2.5.4 Punto de control del huso mitótico:** Detiene la evolución del ciclo celular en la mitosis hasta que todos los cromosomas estén unidos apropiadamente al huso.

Las alteraciones estructurales o funcionales que impiden el funcionamiento de los controles del ciclo pudieran llevar a la progresión de ciclos celulares alterados y, por tanto, a la oncogénesis [3].

A pesar de la falla de estos controles, el cuerpo humano equipa a sus células con ciertos sistemas auxiliares. Uno de esos sistemas auxiliares, provoca el suicidio celular (apoptosis), si alguno de sus componentes esenciales resulta dañado o si sus sistemas de control se desregulan. Así, un daño en el ADN cromosómico, puede poner en marcha la apoptosis, al igual que la formación de un oncogen o la inutilización de un gen supresor de tumores. Pero en su transformación cancerosa, la célula utiliza varios medios para cercar la apoptosis, la proteína p53, que ayuda a poner en marcha el suicidio celular se encuentra inactiva por razones de aberración en el gen WAF1/CIP1

Un segundo mecanismo de defensa es capaz de contar y limitar el número total de veces que la célula puede replicarse. Ciertos segmentos de ADN, denominados telómeros, presentes en los extremos de los cromosomas, son los que computan el número de generaciones de replicación que tienen lugar en una población de células y, en el momento adecuado, inician el proceso de senescencia y de crisis.

Los telómeros protegen de posibles daños a los extremos cromosómicos. En la mayoría de las células humanas, los telómeros se van acortando un poco cada vez que el cromosoma se replica durante la fase S del ciclo celular. Cuando la disminución de los telómeros sobrepasa cierta longitud crítica, suena una alarma que avisa a las células para que se inicie la fase de senescencia. Si las células hacen caso omiso, la progresión en el acortamiento de los telómeros dispara la crisis, ya que el excesivo

acortamiento de los telómeros provoca que los cromosomas se fusionen unos con otros o se rompan, creando un caos genético que es fatal para la célula.

Pero esta última defensa se rompe durante el desarrollo de la mayoría de las células cancerosas, gracias a la activación de un gen que codifica la telomerasa. Esta enzima, presente en casi todas las células tumorales, reemplaza los segmentos teloméricos que se pierden en cada ciclo celular. La telomerasa mantiene así la integridad de los telómeros y permite que las células se repliquen sin fin [4].

## **2.6 ¿Cómo se propagan las células cancerosas?**

La *metástasis*, es la diseminación de las células cancerosas por el cuerpo y es el fenómeno responsable del carácter letal del cáncer. Para acometer una metástasis, las células cancerosas deben abandonar su asentamiento de origen, invadir un vaso sanguíneo o linfático, viajar por la circulación hasta un lugar lejano y establecer una nueva colonia celular.

Una célula presenta en su superficie un sistema de dirección que señala donde le corresponde estar a dicha célula. En tejidos normales, las células se adhieren entre si y a la matriz extracelular; consistiendo esta última en una red insoluble de proteína que se extiende por el espacio intercelular.

Las moléculas de adhesión intercelular ayudan a retener en su sitio las células. En las células cancerosas, se pierde parcial o completamente la E-Cadherina, una molécula de adhesión intercelular. Por consiguiente, la pérdida de la restricción adhesiva intercelular constituye una etapa importante e inicial del proceso de invasión.

Por otro lado, las células no pueden multiplicarse hasta que se unen a una superficie, este fenómeno se conoce como *dependencia de anclaje*. Las *integrinas* son

las moléculas de la superficie celular que se unen a la matriz celular. Frisch, Martin, y Bissell han demostrado [6] que solo la unión que involucra integrinas satisface los requisitos de dependencia de anclaje.

Si una célula se desprende detiene su crecimiento porque se agota la proteína nuclear (el complejo ciclina E-CDK2), que regula el crecimiento y división celular. Sin embargo, las células cancerosas se zafan de esta obligación y no tienen dependencia de anclaje. Las versiones mutadas de los protooncogenes, sintetizan proteínas que portan un mensaje falso al núcleo (le comunican que la célula esta bien anclada cuando en realidad no lo esta); evitando que las células detengan su crecimiento y mueran por apoptosis.

Posteriormente, los tumores formados ponen en marcha un fenómeno denominado *angiogénesis*, termino aplicado a la formación de nuevos vasos sanguíneos. Los tumores en desarrollo segregan una sustancia, el factor tumoral de angiogénesis o ATF, que va a los receptores de las células endoteliales. Luego, el factor de crecimiento vascular endotelial o VEGF (el endotelio es la capa interna de los vasos sanguíneo) produce una cascada de respuestas que desembocan en la formación de una nueva red vascular, esta nueva red vascular suministra oxígeno y nutrientes para el crecimiento del tumor [7].

Las células epiteliales están separadas del resto del cuerpo por una delgada capa de matriz extracelular especializada denominada *membrana basal*. Las membranas basales tejen una barrera que muchas células normales no pueden atravesar; pero las membranas basales que conforman la nueva red vascular tienen una membrana mas débil y las células cancerosas pueden atravesarlos. Para lograr esa proeza, las células cancerosas y los leucocitos liberan metaloproteinasas, enzimas que disuelven membranas basales y otras matrices extracelulares.

Después de que una célula cancerosa ha atravesado la membrana basal viaja por el sistema linfático o por la circulación general. La llegada de las células a la circulación no significa la formación inevitable de tumores secundarios. De cada 10.000 células cancerosas que alcanza el torrente sanguíneo menos de una tendrá la posibilidad de causar tumor en un sitio remoto. El obstáculo está en que debe unirse al forro interno de un vaso sanguíneo, atravesarlo y penetrar en la membrana basal en su nueva instalación, invadir los tejidos alejados y empezar a multiplicarse.

La circulación sanguínea explica bastantes aspectos de la diseminación preferente de diversos cánceres metastáticos por ciertos tejidos. Las células tumorales circulantes acostumbran a terminar atrapadas en la primera red de capilares, los vasos sanguíneos más finos, que encuentran al abandonar su punto de origen. De acuerdo con esa pauta, los pulmones constituyen el destino habitual de la metástasis, seguido por el hígado. Hay otros cánceres que muestran una acentuada preferencia por órganos distintos de los que reciben su sangre venosa, esta tendencia puede deberse a la afinidad entre los receptores localizados sobre las células tumorales de la próstata y las moléculas de los tejidos óseos [6].

## **2.7 Tipos de cáncer**

De acuerdo al tipo de tejido originario, el cáncer se clasifica en:

**2.7.1 Carcinoma:** es el tumor maligno que se origina en la capa que recubre (células epiteliales) los órganos. Aproximadamente el 80% de los tumores cancerosos son carcinomas. Algunas de estas células tienen diferentes características y por tanto su nombre puede ser algo distinto. Adenocarcinoma (cáncer que se origina en el tejido glandular; Ej.: mamas y próstata), carcinoma de células escamosas (cáncer en células no glandulares; Ej.: esófago, cuello de útero), y melanoma (tumor maligno que se origina en los melanocitos, que se encargan de pigmentar la piel).

**2.7.2 Sarcoma:** se trata de un tumor maligno que se origina en los tejidos conectivos, tales como los cartílagos, la grasa, los músculos o los huesos. Dependiendo de la célula que lo origina pueden recibir diferentes nombres, siendo los más conocidos: Osteosarcoma (huesos), liposarcoma (grasa), condrosarcoma (cartílago).

**2.7.3 Leucemia:** es una enfermedad de la médula, el centro esponjoso de los huesos que produce las células sanguíneas. En la leucemia, el cuerpo produce demasiados glóbulos blancos anormales, los que pueden provocar: infecciones (en algunos tipos de leucemia, las células leucémicas carecen de la capacidad que tienen los glóbulos blancos normales para luchar contra las infecciones); anemia (la producción de glóbulos rojos disminuye a medida que aumenta el número de células leucémicas en la médula) y sangrado excesivo (provocado por la disminución de plaquetas, que son las encargadas de la coagulación sanguínea) [10]. Las leucemias se pueden clasificar según el estado de maduración de las células leucémicas, pudiendo ser: aguda o crónica; siendo la aguda, la más padecida por los niños y jóvenes.

**2.7.4 Linfoma:** se denomina así al cáncer del sistema linfático. El sistema linfático es una red de ganglios y vasos finos que existe en todo el cuerpo, siendo su función el combatir las infecciones. El linfoma afecta a un grupo de glóbulos blancos llamados linfocitos. Los dos tipos principales de linfomas son la enfermedad de Hodgkin y el linfoma no Hodgkin.

## **2.8 Las posibles causas del cáncer**

Ciertos factores son capaces de provocar un cáncer en un porcentaje de los individuos expuestos a ellos. Entre éstos se encuentran la herencia, las infecciones, las radiaciones ionizantes, los productos químicos y factores ambientales.

**2.8.1 Factores Hereditarios:** se calcula que de un 5 a un 10% de los cánceres tienen un origen hereditario. Algunas formas de cáncer son más frecuentes en algunas familias: el cáncer de mama es un ejemplo de ello. El cáncer de colon es más frecuente en las familias con tendencia a presentar pólipos de colon. En algunos trastornos hereditarios, los cromosomas tienen una fragilidad intrínseca; estos procesos conllevan un riesgo elevado de cáncer.

**2.8.2 Infecciones:** existen cada vez más evidencias de que algunas infecciones pueden llegar a provocar cáncer, en concreto, aquellas relacionadas con los cánceres de estómago, hígado, cuello uterino y con el sarcoma de Kaposi (un tipo especial de cáncer que aparece en enfermos de SIDA).

Se ha relacionado la bacteria *Helicobacter pylori* con el cáncer de estómago. Distintos estudios demuestran que personas infectadas con esta bacteria tienen cuatro veces más probabilidad de desarrollar este tipo de cáncer [2].

Aunque en algunos cánceres se han hallado virus y partículas víricas, en especial en pacientes con cáncer de mama, no se ha logrado demostrar que los virus sean la causa de la enfermedad. Existen pruebas indirectas de que algunos virus de herpes están relacionados con determinados cánceres humanos. El ADN vírico utiliza el contenido celular para replicarse, provocando la muerte de algunas células y la perturbación de otras, que de este modo, se multiplican indefinidamente y forman un tumor [8].

**2.8.3 Radiaciones:** los elementos radiactivos naturales, como el uranio, radio y torio son carcinogénicos a causa de las radiaciones ionizantes que emiten, al igual que las explosiones que proceden de armas nucleares. La radiación produce cambios en el ADN, como roturas o trasposiciones cromosómicas en las que los cabos rotos de dos cromosomas pueden intercambiarse. La radiación actúa como un iniciador de la

carcinogénesis, induciendo alteraciones que progresan hasta convertirse en cáncer después de un periodo de latencia de varios años.

**2.8.4 Productos químicos:** algunos actúan como iniciadores. Sólo se requiere una única exposición, pero el cáncer no aparece hasta pasado un largo periodo de latencia y tras la exposición a otro agente denominado promotor. Los iniciadores producen cambios irreversibles en el ADN. Los promotores no producen alteraciones en el ADN pero sí un incremento de su síntesis y una estimulación de la expresión de los genes. Su acción sólo tiene efecto cuando ha actuado previamente un iniciador, y cuando actúan de forma repetida. Un ejemplo es el cigarrillo que contiene ambas sustancias, iniciadoras y propagadoras, pero su capacidad de propagación se ve coartada significativamente si se elimina este hábito [2].

La exposición prolongada a la inhalación de partículas de asbesto origina un tipo de tumor poco frecuente. Los factores responsables son la forma y tamaño del amianto, y no su composición. Los compuestos derivados de berilio, cadmio, cromo, níquel, plomo y arsénico, pueden ser causa de cánceres humanos. Los aceites bituminosos y el alquitrán de hulla son las causas que contribuyen al desarrollo de cánceres cutáneos debido a la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos [8].

**2.8.5 Factores ambientales:** se calcula que los factores ambientales son la causa del 80% de los cánceres. La relación causa efecto más demostrada es la del humo del tabaco, inhalado de forma activa o pasiva; es responsable de cerca del 30% de las muertes por cáncer. Los factores alimentarios pueden ser responsables de un 40%, pero la relación causal no está tan establecida, y no se conocen con exactitud los constituyentes de la dieta que son responsables. La obesidad es un factor de riesgo para algunos cánceres como los de mama, colon, útero y próstata. El alto contenido en grasa saturada (de origen animal) y el bajo contenido en fibra de la dieta se asocian con

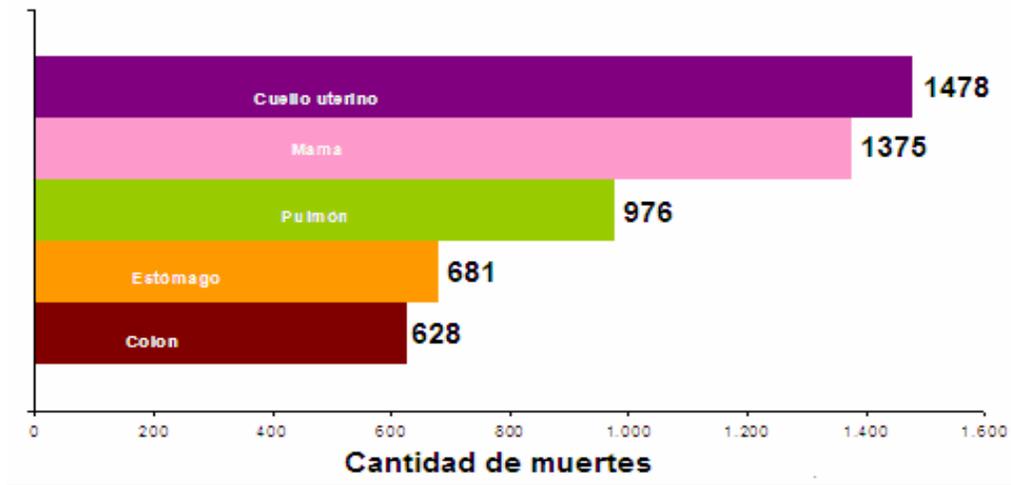
una alta incidencia de cáncer de colon. Al igual que ocurre con el alcohol, las grasas y la obesidad parecen actuar como promotores [9].

## 2.9. Las cifras del cáncer en Venezuela

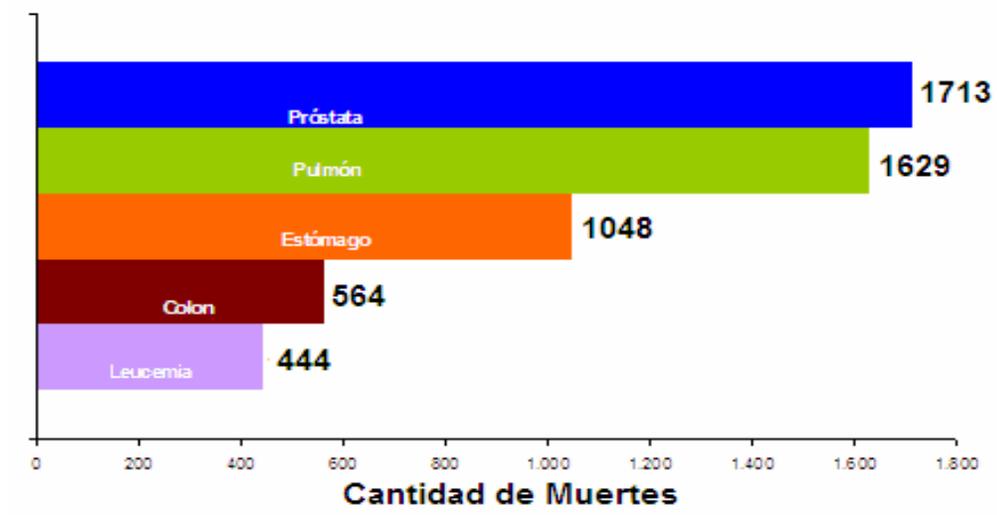
Las cifras actualizadas y confirmadas por el M.S.D.S. son las pertenecientes a los años 2004 y 2005 (este último incompleto); las presentadas aquí fueron suministradas por la Sociedad Anticancerosa de Venezuela y muestran los cánceres con mayor incidencia en nuestra población para el año 2004 (*Ver tabla 1*) y las principales causas de muerte por cáncer ese mismo año en hombres y mujeres (Fig. 2 y Fig. 3). [11]:

*Tabla 1. Principales tipos de cáncer diagnosticados en Venezuela en el año 2004. Cifras Oficiales del Ministerio de Salud.*

<b>Mujeres</b>		<b>Hombre</b>	
Tipos de cáncer	Diagnósticos	Tipos de cáncer	Diagnósticos
Piel	5.060	Piel	7.054
Cuello uterino	3.547	Próstata	4.197
Mama	3.370	Pulmón	1.872
Colon	1.220	Estomago	1.361
Pulmón	1.141	Colon	1.097
Estomago	843	Leucemia	784
<b>Total</b>	<b>20.966</b>	<b>Total</b>	<b>22.037</b>



**Figura 2.** Las principales causas de muerte por cáncer en mujeres en el año 2004. Grafico elaborado por la Soc. Anticancerosa de Venezuela en base a cifras del Ministerio de Salud.



**Figura 3.** Las principales causas de muerte por cáncer en hombres en el año 2004. Grafico elaborado por la Soc. Anticancerosa de Venezuela en base a cifras del Ministerio de Salud.

Si tomamos en cuenta las cifras presentadas en la tabla anterior, observamos que en el año 2004 se presentaron una totalidad de 43.003 diagnósticos, de los cuales 22.037 son pacientes masculinos y 20.966 son femeninos. De estas estadísticas se observa que los hombres son mas propensos que las mujeres a padecer de cáncer, y la leucemia constituye un ejemplo de esto, en el año 2004 todos los casos se

diagnosticaron en hombres, de los cuales el 90% tenían menos de 15 años de edad, por consiguiente, podemos afirmar que la leucemia afecta selectivamente a la población infantil y juvenil con mayor probabilidad en el género masculino. También llama la atención que el número de defunciones presentadas en ese año por leucemia todos eran hombres.

Es de resaltar la gran cantidad de casos diagnosticados en hombres y mujeres por melanoma (cáncer de piel): 5.060 de los casos diagnosticados en mujeres y 7.054 en hombres. La causa está en nuestra ubicación geográfica; Venezuela es un país ubicado en la zona intertropical del planeta, las radiaciones solares inciden con mayor intensidad y es razonable pensar que esta pudiera ser la causa principal del melanoma. En otras regiones del planeta, la incidencia de este tipo de cáncer es menor que en nuestro país. Una asombrosa observación es que, el melanoma no produjo defunciones en 2004 a pesar de la alta incidencia, probablemente sea por el carácter menos agresivo de los melanocitos cancerosos y sus tumores o por la eficiente aplicación de tratamientos que ayudaron a frenar la marcha del cáncer, o quizás una combinación de ambos factores que hizo retroceder al cáncer.

Los cánceres de mama y cuello uterino son los de mayor incidencia en mujeres, se presentan con mayor frecuencia en mujeres mayores de 21 años y menores de 64 años, fuera de ese rango otros tipos de cáncer se hacen más importantes, se observa que los tumores que se presentan en estos casos son muy malignos o letales por que es la principal causa de muerte en un amplio número de casos. Igual comportamiento se observa en el cáncer de próstata, que a mediados de los años noventa se convirtió en la forma de cáncer que causó más defunciones en hombres desplazando al cáncer de pulmón como causa de muerte.

El cáncer de pulmón presenta un alto número de incidencia y mortalidad; cabe destacar que en los pulmones se haya una gran cantidad de capilares sanguíneos que son el sitio de preferencia de muchas células malignas que conforman otro tipo de cáncer; la invasión de los pulmones por parte de células malignas de otras localidades favorece la formación de tumores y por esta razón la alta mortalidad que presenta la población venezolana. Esta pudiera ser otra de las razones del porque no se observaron fallecimientos por melanoma; el melanoma oculta su carácter maligno induciendo la metástasis en los pulmones. Aunque este factor ayuda a incrementar el número de casos y muerte, la causa principal de este tipo de cáncer es el cigarrillo.

### **2.10 ¿Cómo se diagnostica?**

Cuanto más temprano sea el diagnóstico y el tratamiento, mayores posibilidades de curación habrá. Las pruebas de detección precoz en pacientes aparentemente sanos permiten realizar el diagnóstico antes del desarrollo de los síntomas, en una fase en la que el cáncer es más curable. Algunos de los cánceres más mortíferos, como los de mama, colon, recto, cuello uterino y próstata, pueden ser puestos en evidencia mediante pruebas de detección.

El diagnóstico precoz de las formas de cáncer para las que no existe una prueba práctica de detección depende de la identificación por parte del paciente de los signos tempranos de la enfermedad. Los síntomas enumerados en la siguiente lista pueden señalar la existencia de un cáncer:

- Cambios en el ritmo intestinal o urinario.
- Heridas que no cicatrizan
- Hemorragias inhabituales

- Bultos en las mamas o en otras regiones del organismo
- Dificultad para tragar alimentos
- Cambios repentinos en el aspecto de verrugas cutáneas
- Tos persistente o ronquera
- Pérdida de peso
- Pérdida de apetito

El diagnóstico del cáncer comienza por la obtención de una historia clínica y una exploración física completa, que incluya la inspección y palpación de todas las localizaciones corporales accesibles, en especial piel, cuello, mamas, abdomen, testículos y ganglios linfáticos accesibles. Debe realizarse una exploración de los orificios corporales, en particular un examen rectal para los cánceres de recto y próstata, y un examen pélvico para los cánceres del cuello y del cuerpo del útero.

La biopsia, que consiste en la obtención de una muestra del tejido tumoral o de una metástasis para analizarla, sigue siendo el único método definitivo para el diagnóstico del cáncer. Diversas técnicas recientes han reducido la necesidad de realizar biopsias quirúrgicas abiertas. La mayor parte de los tumores en cualquier localización corporal son accesibles a la biopsia a través de una fina aguja flexible (biopsia por aspiración) dirigida por palpación o tomografía axial computarizada (TAC). Con el diagnóstico previo a la cirugía, el médico puede realizar una mejor planificación del tratamiento y de la cirugía, si es preciso

## 2.11 Los tratamientos

Las medidas terapéuticas tradicionales incluyen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. En la actualidad se estudia la utilidad de la inmunoterapia y la modulación de la respuesta biológica [2]. Los tratamientos son diseñados para matar o remover directamente a las células cancerosas o para llevarlas a su muerte por medio de la privación de señales necesarias para la división celular o para estimular sus defensas propias.

Aunque el cáncer engloba una serie de trastornos muy dispares, comparten rasgos críticos, ellos son: el crecimiento incontrolado, la invasión hística y la metástasis son la triada de procesos contra los que combaten la mayoría de las terapias en uso [12].

**2.11.1 Cirugía:** muchas veces es el primer tratamiento para varios tumores sólidos. En los casos donde el cáncer es detectado en una etapa temprana, la cirugía puede ser suficiente para curar al paciente al remover todas las células cancerosas. Las limitaciones mas importantes de este tratamiento son: 1) la extracción quirúrgica no garantiza la eliminación de las expansiones microscópicas que con frecuencia se presentan en el cáncer 2) a menudo, el cáncer afecta a estructuras vitales que escapan a las posibilidades de cirugía [8] y 3) las formas de cáncer diseminado, como la leucemia, no pueden atacarse quirúrgicamente [12].

**2.11.2 Radioterapia:** la radioterapia es superior a la cirugía, por cuanto destruye eficazmente un tumor y a la vez provoca el mínimo daño posible a los tejidos que lo rodean [8]. Este método recurre a poderosos rayos X y rayos gamma para irradiar la región afectada por el tumor canceroso. El fundamento de la radioterapia es doble: se persigue una agresión suficiente para la destrucción directa de las células o, indirecta, a través de la inducción de la apoptosis. A pesar de todas esas virtudes, la

radioterapia se muestra impotente al igual que la cirugía frente a metástasis avanzadas que terminarían por formar numerosos focos tumorales [11].

**2.11.3 Quimioterapia:** consiste en la utilización de fármacos para el tratamiento del cáncer. Puesto que los fármacos se distribuyen en el organismo a través del sistema circulatorio, la quimioterapia es útil para aquellos tumores cuya diseminación los hace inaccesibles a la cirugía o a la radioterapia.

El tejido canceroso tiene una mayor proporción de células en división que los tejidos normales. Dentro de los tejidos normales, los que tienen una tasa de proliferación más rápida son la médula ósea y las células de recubrimiento del tracto gastrointestinal. Son los dos tejidos más sensibles al efecto de la quimioterapia y del grado de lesión de éstos depende la toxicidad, que limitará la máxima dosis tolerable de los fármacos anticancerosos. Para que el tratamiento sea efectivo, la sensibilidad del tumor debe ser superior a la del tejido normal más sensible [2].

Lamentablemente la mayoría de las formas de cáncer más comunes no se remedian con la sola quimioterapia y deberá integrarse en un plan de ataque global en el que entren también la cirugía y la radioterapia [12]. Dependiendo de cuando se administre la quimioterapia podemos hablar de: *Quimioterapia de inducción* (La quimioterapia se administra en primer lugar, antes de cualquier tratamiento local como la radioterapia o la cirugía), *Quimioterapia concomitante* (Se administra de forma simultánea a otro tratamiento, generalmente de radioterapia) y *Quimioterapia coadyuvante* (Se realiza de forma complementaria a otro tratamiento para prevenir la recaída) [13].

**2.11.4 Modulación de la respuesta biológica:** Estos tratamientos usan las proteínas normales que ocurren naturalmente en nuestros cuerpos para estimular las defensas propias contra el cáncer [14].

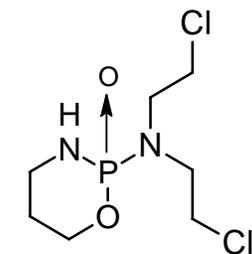
## 2.12 Los fármacos antineoplásicos

Los fármacos antineoplásicos son aquellos que se utilizan para el tratamiento (curativo o paliativo) de los procesos tumorales y que actúan sobre uno o todos los puntos de control en la replicación celular, es decir: 1) la regulación de la síntesis de ADN, 2) el ingreso en la mitosis, y 3) la separación de las cromátidas [3]. Pueden clasificarse según su modo de interacción en:

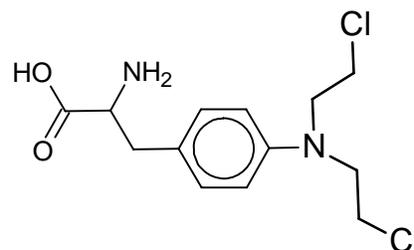
### 2.12.1 *Fármacos antitumorales que forman enlaces covalentes con el ADN:*

son compuestos que funcionan como especies electrofílicas; entre ellos se encuentran los agentes alquilantes, procarbazida y algunos antibióticos [15].

- **Agentes alquilantes:** el mecanismo de acción de estas drogas involucra la ciclación intramolecular para formar el ion etilenimonio, que puede transferir directa o indirectamente a través de la formación de un carbocatión, un grupo alquilo a un constituyente celular [16]. El mayor sitio de alquilación es el nitrógeno 7 de la guanina. Tal agresión puede resultar en roturas y enlaces indebidos entre cadenas o en el interior de una misma. Si este fenómeno no puede corregirse con los diversos mecanismos de reparación del ADN de que dispone la célula, la lesión provocada por los fármacos pondrá en marcha el programa de suicidio celular. Ej.: ciclofosfamida, melfalán, clorambucilo, entre otras.



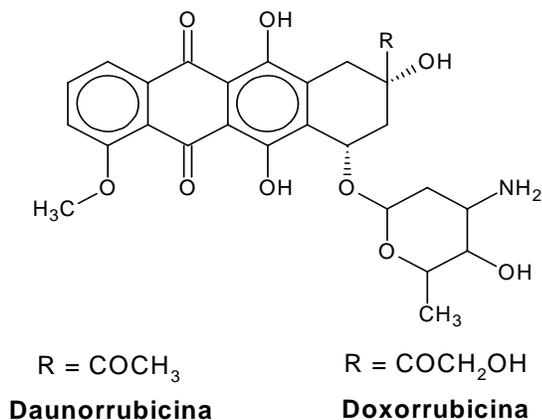
**Ciclofosfamida**



**Melfalán**

- **Procarbazida:** es un derivado sintético de la hidracina que para resultar activa como antitumoral, debe convertirse en un azoderivado. El modo de acción puede consistir en una alquilación del ADN o en la transmetilación aberrante que provoca la inhibición de la duplicación del ADN [8].

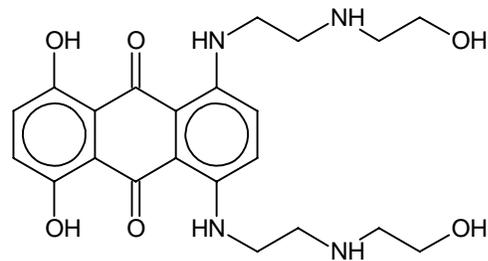
- **Antibióticos:** se conocen diferentes antibióticos que poseen actividad contra el cáncer; los más activos en la práctica clínica actual son las actinomicinas. Algunos actúan como agentes alquilantes de estructura compleja, otros parecen actuar por covalente intercalación en el ADN y otros mecanismos. Ej.: Actinomicina D, bleomicinas y antraciclinas (Doxorrubicina y Daunorrubicina) [16].



**2.12.2 Fármacos antitumorales que forman interacciones no covalentes:** son los compuestos que se intercalan entre los pares de bases, distorsionan la doble hélice e interfieren la acción de enzimas, como las topoisomerasas y polimerasas del ARN [15].

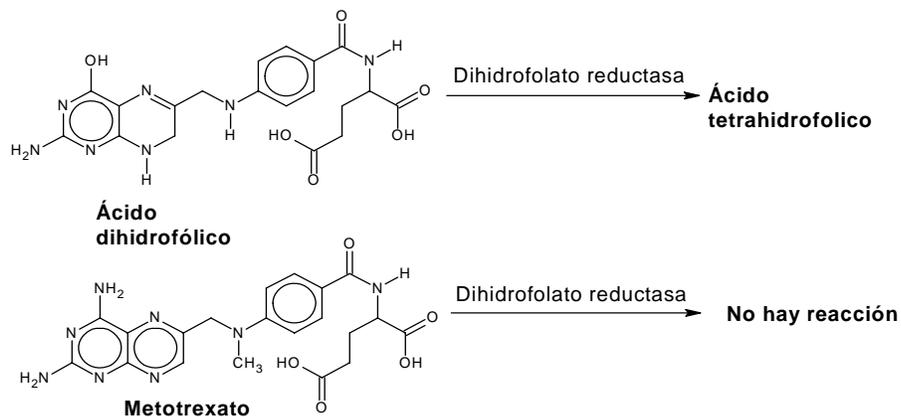
- **Inhibidores de la topoisomerasa:** la replicación del material genético celular necesita de un medio que separe la doble hélice de ADN en dos cadenas. Se reserva esa segregación para la topoisomerasa. Esta enzima especial corta transitoriamente una cadena, pasa la otra por el hiato abierto y vuelve luego a pegar los extremos libres. Las sustancias que inhiben la capacidad que tienen las enzimas

topoisomerasas de empalmar los segmentos cortados posibilitan la fragmentación generalizada de las cadenas de ADN en las células en división, proceso que provocará la muerte de estas células [12]. Ej.: Mitoxantrona.

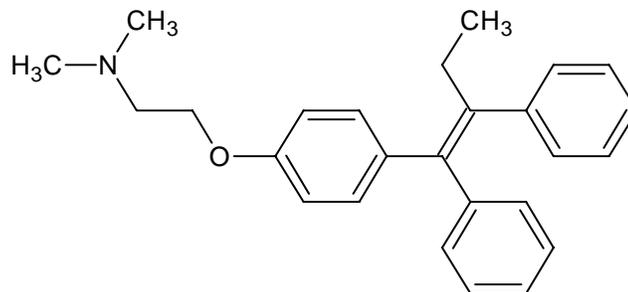


**Mitoxantrona**

- **Antimetabolitos:** los antimetabolitos inhiben una vía metabólica esencial para la reproducción de las células cancerosas, a través del bloqueo de los mecanismos del folato, purina, pirimidina o nucleósidos de pirimidina, necesarios para la síntesis del ADN [8]. El fármaco metotrexato (MTX) actúa como antifolato al unirse de forma casi irreversible con la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR); interfiriendo con la síntesis del ácido tetrahidrofólico. La ausencia de este cofactor interrumpe la síntesis de timidina (enzima), nucleótidos purinicos, y los aminoácidos serina y metionina, interfiriendo con la formación de ADN, ARN y proteínas [16].



- **Asparaginasa:** debido a que las células tumorales carecen de asparagina sintetasa (a diferencia de las células normales), ellas requieren de un suministro externo (por la sangre) de L-asparagina. La asparaginasa es una enzima que hidroliza la L-asparagina inhibiendo la síntesis de proteínas en las células tumorales [16].
- **Terapia hormonal:** puesto que las hormonas del sexo están implicadas activamente en el estímulo y el control de la proliferación y la función de ciertos tejidos finos, incluyendo las glándulas mamarias y de la próstata, los cánceres que se presentan en estos tejidos finos, se pueden inhibir o estimular por los cambios apropiados en equilibrio hormonal. El cáncer de mama y el cáncer de la próstata pueden ser tratados con eficacia a través de la terapia de hormonas sexuales o la extirpación de los órganos endocrinos apropiados. Ej.: Tamoxifen, un andrógeno usado en pacientes con cáncer de mama.

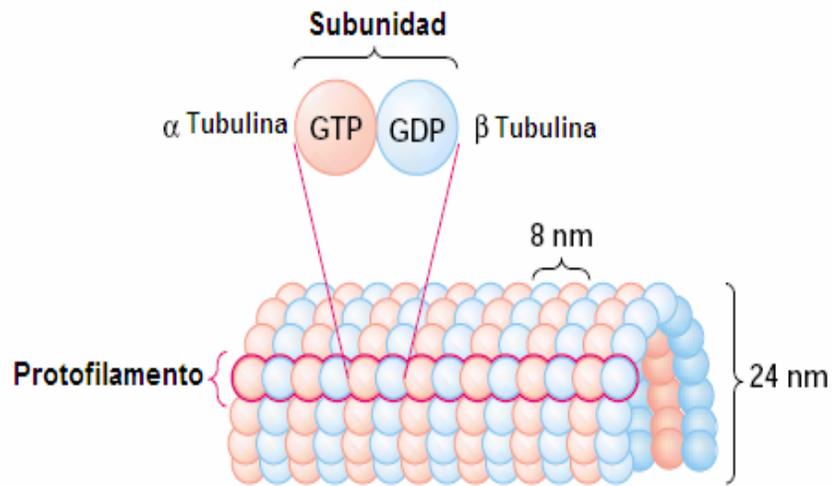


**Tamoxifen**

Otra clase de fármacos interfieren en el proceso de mitosis sin afectar directamente al ADN, pero para ello es necesario indagar sobre los microtúbulos y las fases de la mitosis [16].

Un microtúbulo es un polímero de subunidades globulares, un heterodímero de  $\alpha$  y  $\beta$  tubulina, dispuestas en un tubo cilíndrico que mide 24nm de diámetro, de longitud

variable y constitución rígida que evita que se deforme cuando le corresponda generar fuerza de empuje. Cada subunidad de tubulina fija dos moléculas de GTP. En la  $\alpha$  tubulina existe un sitio fijador de GTP (Trifosfato de Guanosina), que lo une en forma irreversible sin hidrolizarlo, mientras que un segundo, localizado en la  $\beta$  tubulina, fija el GTP de forma reversible y lo hidroliza a GDP (Difosfato de Guanosina).



**Figura 4.** La organización de las subunidades de tubulina en microtúbulos

En un microtúbulo, los contactos longitudinales entre los extremos de subunidades adyacentes une las subunidades cabeza con cola y se forman los *protofilamentos* mientras que a través de las interacciones laterales, los protofilamentos se asocian formando un cilindro (Fig. 4). La disposición cabeza con cola de los dímeros  $\alpha$  y  $\beta$  tubulina en un protofilamento le confiere una polaridad general al microtúbulo, debido a que todos los protofilamentos tienen la misma orientación, un extremo del microtúbulo tiene un anillo de  $\alpha$  tubulina, mientras que el extremo opuesto tiene un anillo de  $\beta$  tubulina. Los dos extremos de un microtúbulo se designan como extremo (+) al extremo de  $\beta$  tubulina y extremo (-), al extremo de  $\alpha$  tubulina. La velocidad con que se adhieren subunidades de tubulina es mayor en el extremo (+) que en el extremo (-)

En diversos análisis se observa que los microtúbulos citosólicos se organizan de forma radial partiendo del *centrosoma* (zona que rodea a los centriolos), que representa el principal *centro organizador de los microtubulos (COMT)*. Dado que los microtubulos se organizan a partir del COMT, su polaridad se fija en una orientación característica y los extremos (-) de los microtubulos están mas cercanos al COMT. Un microtúbulo puede oscilar entre fases de crecimiento y de acortamiento. Este comportamiento dinámico permite que la célula ensamble y disocie con rapidez las estructuras microtubulares.

La mitosis es el periodo donde la célula construye y luego desarma los microtúbulos para adosar y capturar los cromosomas, alinearlos y luego separarlos, para distribuir el material genético de manera equitativa a las células hijas. Si bien los procesos tienen lugar en forma continua, por convención se dividen en subetapas: *profase* (temprana y prometafase), *metafase*, *anafase* (A y B), *telofase* y *citocinesis*. En la interfase  $G_2$ , los cromosomas, cada uno con sus cromátidas hermanas, aun están dispersos y son invisibles como estructuras diferenciadas.

La profase es la primera etapa de la mitosis, los centrosomas y los centriolos hijos empiezan a desplazarse hacia los polos opuestos de la célula. Los cromosomas comienzan a condensarse y se visualizan como hebras largas. Posteriormente, la célula entra en la prometafase, fase que se caracteriza por la condensación completa de los cromosomas. Cada cromosoma visible está compuesto por dos cromátidas hermanas que se mantienen unidas por los centrómeros. Se comienza a desintegrar la envoltura nuclear y comienzan a irradiarse las fibras del huso de microtúbulos en la adyacencia de los centrosomas, algunas fibras del huso llegan de un polo al otro; los cromosomas se unen con los microtúbulos a través de los cinetocoros de los centrómeros.

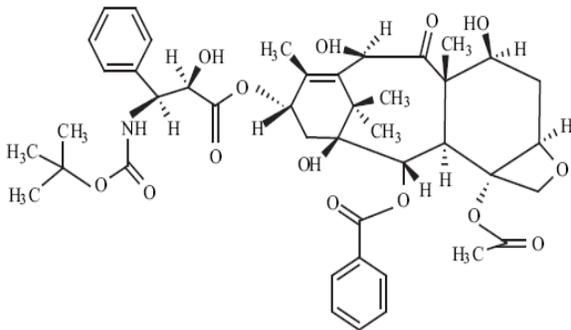
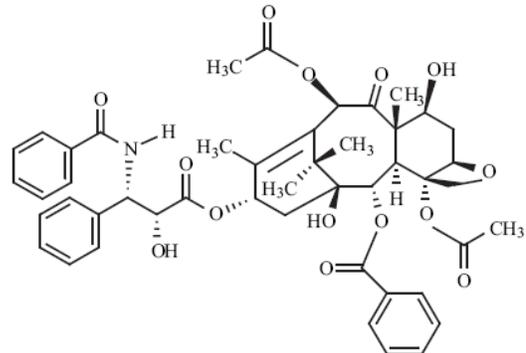
En la metafase, los cromosomas se desplazan hasta alinearse con el plano ecuatorial de la célula y se alcanza un equilibrio de fuerzas que mantienen el aparato

mitótico estático. Basta que uno solo de los microtúbulos cinetocóricos no esté fijado al cinetocoro para impedir el ingreso a la anafase.

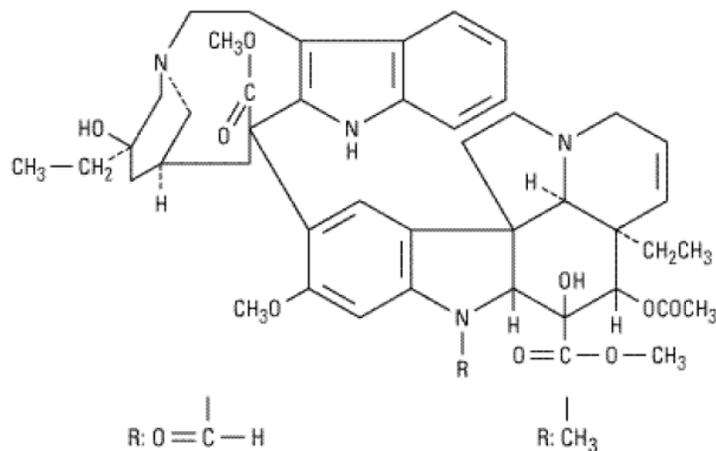
Cuando la célula entra en anafase, se rompe el equilibrio de fuerzas y las dos cromátidas hermanas se separan para formar cromosomas independientes. Cada cromosoma unido a un microtúbulo cinetocórico se mueve hacia uno de los polos del huso. Simultáneamente, los polos del huso se mueven alejándose uno del otro provocando el estiramiento de la célula y la formación de la hendidura de escisión. Y por último, en la telofase, se forman membranas nucleares nuevas alrededor de los núcleos hijos; se despliegan los cromosomas y se tornan indistinguibles, la citocinesis es casi completa y desaparece el huso a medida que se despolimerizan los microtúbulos. Durante la mitosis crece el centríolo “hijo” en cada polo, y al llegar la telofase, cada hija emergente tiene dos centríolos de longitud completa [5].

- **Agentes antimitóticos:** los inhibidores mitóticos afectan las funciones de los microtúbulos durante la mitosis, la segregación de los cromosomas y la fase de división celular, frenando el crecimiento celular [17]. Los fármacos antimitóticos solo se unen específicamente a la  $\alpha,\beta$ -tubulina o los microtúbulos, y pueden clasificarse en dos grupos: los polimerizadores y los despolimerizadores de microtúbulos.

Los **taxanos** son polimerizadores de microtúbulos, los dos taxanos en uso clínico son paclitaxel (Taxol<sup>®</sup> de Bristol-Myers-Squibb) y docetaxel (Taxotere<sup>®</sup> de Aventis), ambos compuestos extraídos vía semí-sintética de la corteza del árbol del tejo del pacífico [17]. Los taxanos son diterpenoides que se fijan fuertemente a los microtúbulos y los estabilizan, de esta manera inhiben la dinámica de los microtúbulos (la prolongación y el acortamiento de microtúbulos). Esto frena el crecimiento de la célula en la transición metafase/anafase de la mitosis [5].

**Docetaxel****Paclitaxel**

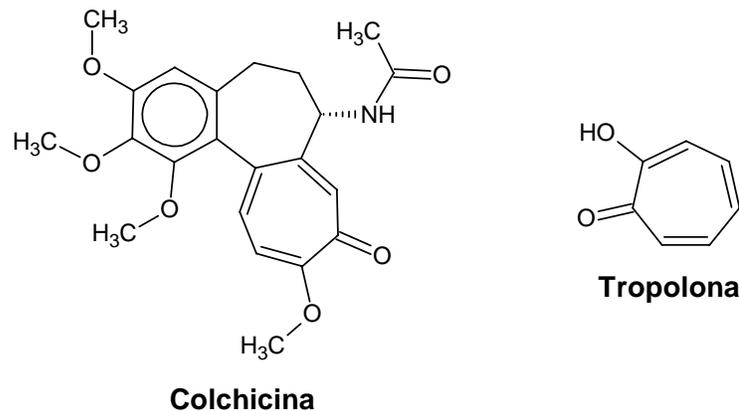
De manera similar a los taxanos actúan la vinblastina y la vincristina, alcaloides (grupo de compuestos débilmente alcalinos que contienen nitrógeno, derivados en su mayoría de plantas, de complejidad molecular moderada y que producen efectos fisiológicos) derivados de la *Vinca rosea*, cuando se administran a bajas concentraciones. No obstante, concentraciones elevadas de vinblastina o vincristina favorecen la despolimerización de los microtúbulos [16,5].

**Vincristina****Vinblastina**

Entre los compuestos de origen natural que constituyen los despolimerizadores de microtúbulos se encuentran: la Colchicina y derivados, la Podofilotoxina, la Esteganacina, las Combretastatinas, entre ellas la A4 y el Fenstatin.

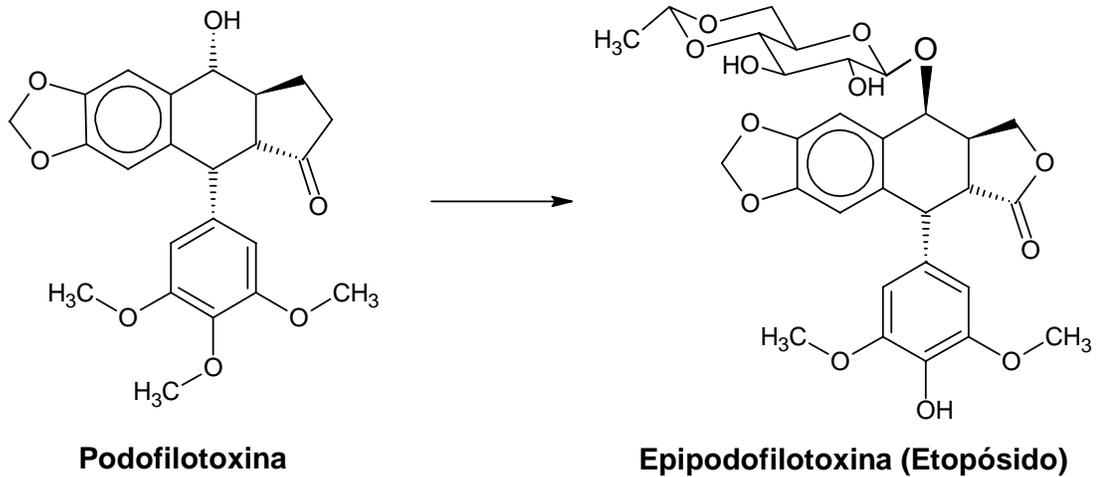
Los estudios realizados con la Colchicina mostraron que esta interacciona con la Tubulina en un sitio, denominado por ello “Sitio de la Colchicina”. El resto de los compuestos citados interaccionan también en el Sitio de la Colchicina, lo cual ha sido demostrado en experimentos de inhibición competitiva.

La **colchicina** es un alcaloide extraído de la hierba cólquico (*Colchicum autumnale*). Cada dimero de tubulina presenta un sitio de unión de alta afinidad para la colchicina a través del anillo de trimetoxibenceno aunque la presencia de un anillo tropolónico en su estructura sugiere que haya otro sitio de enlace a la tubulina, ya que la tropolona inhibe competitivamente el enlace de la colchicina a la tubulina [18]. Los dimeros de tubulina que portan colchicina, se agregan al extremo de un túbulo en crecimiento. No obstante, la presencia de una o dos tubulinas portadoras de colchicina impide el posterior agregado o pérdida de subunidades de tubulina. Como consecuencia de esta variación dinámica de los microtúbulos no se forma el huso mitótico y la célula detiene su crecimiento durante la fase M [5].

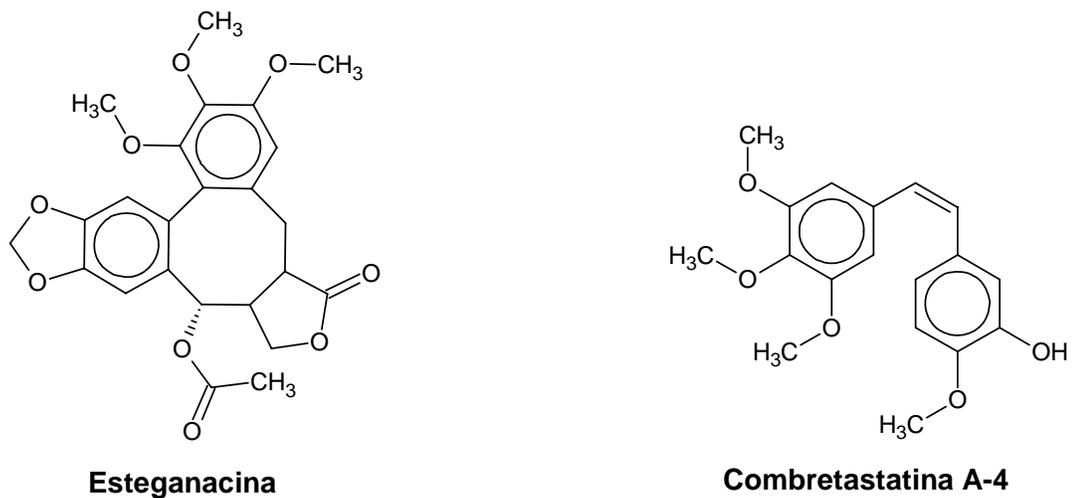


La **podofilotoxina**, se aísla del *Podophyllum peltatum*, inhibe competitivamente el enlace de la colchicina a la tubulina. Posee un grupo metilendioxi-benceno, el cual se supone sea otro sitio de enlace a la tubulina. Es un inhibidor de metafase, ya que previene la polimerización de las tubulinas [19]. Aunque la podofilotoxina no ha

encontrado aplicación terapéutica, algunos de sus derivados en C-4 (epipodofilotoxinas) son muy utilizados en el tratamiento del cáncer, uniéndose de forma no intercalante al ADN, estabilizando un complejo ternario AND-topoisomerasa II-fármaco[15].



La **esteganacina**, que proviene de la *Steganataenia araliacea*, también inhibe competitivamente el enlace de la colchicina a la tubulina. Además de inhibir la polimerización de la tubulina, causa una lenta despolimerización de los microtúbulos ya formados [20].



Recientemente las investigaciones se han enfocado en algunas drogas que despolimerizan tubulina y que interrumpen la vasculatura asociada al tumor. La neovascularización o angiogénesis (formación de nuevos vasos) es esencial para el crecimiento desmesurado de los tumores sólidos. Existen diferencias entre el endotelio vascular de tejidos tumorales y el de tejidos sanos; esta diferencia es el objetivo potencial para la terapia contra el cáncer. Estos agentes provocan un colapso vascular interrumpiendo los vasos tumorales para inducir una necrosis hemorrágica (muerte patológica del tejido por el aporte insuficiente de sangre o isquemia). Esta clase de compuestos está representada por las combretastatinas, una serie de compuestos aislados de la corteza del árbol de sauce *Combretum cafferum*.

De la corteza del *Combretum cafferum* se han aislado una serie de estilbenos, dibencilos, fenantrenos, dihidrofenantrenos, fenantraquinonas y dos lactonas ó macrocíclicas y especies relacionadas. De todas las especies aisladas, la *combretastatina A4 (CA-4)*, un estilbeno, fue el agente antivascular y antimitótico más potente; la CA-4 actúa uniéndose al sitio de la colchicina y presenta actividad frente a células cancerosas resistentes a múltiples fármacos (quimiorresistencia adquirida por ciertos tumores tras varios ciclos de tratamientos). No obstante, CA-4 presenta un pobre efecto antitumoral en modelos in vivo, al menos en parte, por su lipofilia y baja solubilidad en agua. Los estudios de la relación estructura-actividad (SAR) demostraron que es esencial la orientación cis de los anillos de benceno y que los sustituyentes 3, 4, 5-trimetoxi en el anillo A de CA-4 son indispensables para su potente citotoxicidad [21]. Es notoria la presencia en todos estos compuestos, de ciertos detalles estructurales comunes, como son: el anillo trimetoxibenceno y otro anillo aromático con dos sustituyentes oxigenados adyacentes, el primero de los cuales se sabe que es importante para la interacción con la tubulina [22].

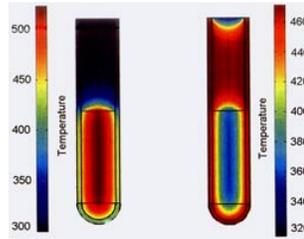
En base a esta observación nos hemos propuestos sintetizar un grupo de compuestos que presenten las características estructurales encontradas en los compuestos mencionados.

### **2.13 Síntesis orgánica asistida por microondas**

En años recientes, la influencia de la energía de las microondas sobre el calentamiento y la dinámica de las reacciones químicas se ha convertido en un tema de creciente popularidad entre la comunidad científica. Esta técnica de calentamiento está dejando de ser una curiosidad experimental para establecerse como una técnica ampliamente usada por la academia y la industria. La eficiencia del “calentamiento flash por microondas” en la reducción dramática de los tiempos de reacción (de días y horas a minutos y segundos) es una de las diversas ventajas. En los próximos párrafos se resaltarán los principios teóricos y los equipos usados en síntesis orgánica.

En general, la mayoría de las reacciones orgánicas se han calentado usando los equipos de transferencia de calor tradicionales, tales como: baños de arena o aceite y mantas de calentamiento. Esta forma de calentamiento es, sin embargo, más lenta y se desarrolla un gradiente de temperatura dentro de la muestra. Además, un sobrecalentamiento local puede conducir a la descomposición del producto, sustrato o reactivo.

Por el contrario, en el calentamiento dieléctrico de microondas, la radiación microonda pasa a través de las paredes del recipiente y se calientan solo los reactivos y el solvente. Si el aparato está diseñado apropiadamente, el aumento de la temperatura en la muestra será uniforme y conduciría a menores productos colaterales o de descomposición. (Fig. 5).



**Figura 5.** Gradiente de temperatura invertido en calentamiento por microondas (izquierda) versus calentamiento por baño de arena (derecha)

**2.13.1 Origen del calentamiento por microondas:** la radiación microonda se divide en un componente campo eléctrico y un componente campo magnético. El primero es el responsable del calentamiento dieléctrico, que es efectuado a través del mecanismo de polarización dipolar y el mecanismo de conducción [23].

- **Mecanismo de polarización bipolar:** para que una sustancia genere calor cuando sea irradiada con microondas debe poseer un momento dipolar. Un dipolo es sensible a los campos eléctricos externos e intentara alinearse con el campo por rotación. Por lo tanto, en la medida que el dipolo se re-orienta para alinearse con el campo, el campo eléctrico va cambiando y generando una diferencia de fase entre la orientación del campo y la del dipolo. Esta diferencia de fase, le provoca una perdida de energía al dipolo por fricción molecular y colisiones, lo que da lugar al calentamiento dieléctrico.

- **Mecanismo de conducción:** es la segunda interacción de mayor importancia entre el componente campo eléctrico y una muestra. Durante la conducción iónica, las partículas cargadas disueltas en una muestra (usualmente iones) oscilan de un lado a otro bajo la influencia del componente eléctrico de la radiación microonda. Estas partículas colisionan con los átomos o moléculas vecinas. Y, estas colisiones causan agitación o movimiento, generando calor. El principio de la conductividad es un efecto mucho más fuerte que el mecanismo de rotación dipolar si se considera la capacidad generadora de calor de ambos mecanismos [24].

Bajo microondas, la transferencia de energía no es producida por conducción o convección, sino por pérdida dieléctrica. Lo que hace que una muestra sea más propensa a calentarse por microondas son sus propiedades dieléctricas, el factor de pérdida dieléctrica ( $\epsilon''$ ) y la constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ). La constante dieléctrica representa la habilidad de una sustancia para absorber microondas, mientras que el factor de pérdida dieléctrica representa la habilidad de una sustancia para transformar esta energía en calor. Un factor de disipación grande ( $\tan \delta = \epsilon''/\epsilon'$ ) es responsable de una mayor susceptibilidad a energía microonda. Los factores de disipación de algunos solvente orgánicos se resumen en la *Tabla 2* [25].

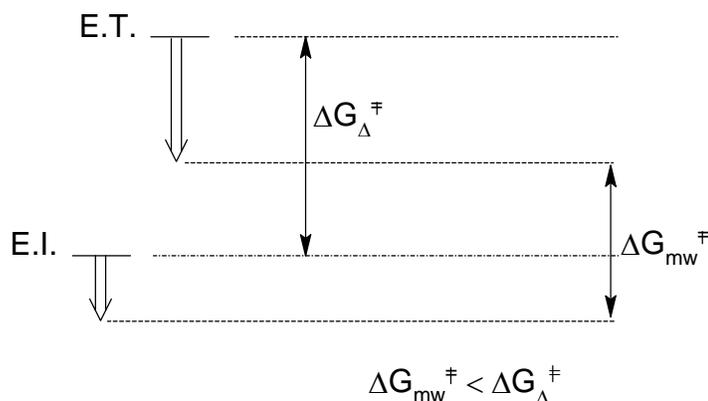
*Tabla 2. Factor de disipación (tan  $\delta$ ) de diferentes solventes*

<b>Solvente</b>	<b>Tan<math>\delta</math></b>	<b>Solvente</b>	<b>tan<math>\delta</math></b>
Etilenglicol	1,350	Agua	0,123
Etanol	0,941	Cloroformo	0,091
DMSO	0,825	Acetato de etilo	0,059
Metanol	0,659	Acetona	0,054
Ácido acético	0,174	Diclorometano	0,042
DMF	0,161	Hexano	0,020

**2.13.2 Efectos específicos de las microondas:** los efectos de las microondas derivan del fenómeno de polarización dipolar, mientras mayor sea la polaridad de una molécula más pronunciado es el efecto de las microondas. En términos de reactividad, el efecto específico depende del mecanismo de reacción y como la polaridad del sistema es alterado durante el progreso de la reacción.

Se espera una mayor influencia de los efectos específicos de las microondas para un mecanismo polar, cuando la polaridad aumenta durante la reacción desde el estado inicial hacia el estado de transición. El resultado es dependiente esencialmente del medio y del mecanismo de reacción. Si la estabilización por interacciones electrostáticas dipolo-dipolo del estado de transición (E.T.) es más efectiva que la del

estado inicial (E.I.), esto resulta en un mejoramiento de la reactividad por disminución de la energía de activación (Fig. 6)

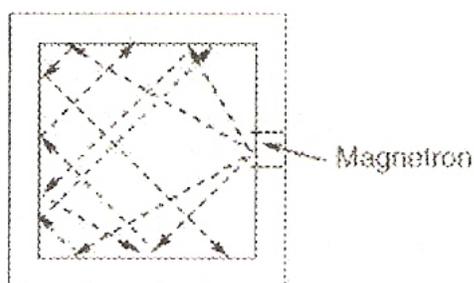


**Figura 6.** Estabilización relativa de un E.T. más polar cuando es comparado con el E.I. (mecanismo polar).

Típicamente, algunas reacciones que no ocurren por calentamiento clásico o que conducen a rendimientos muy bajos se pueden llevar a cabo con mejores rendimientos bajo irradiación con microondas. Algunos autores sugieren la existencia de un efecto específico derivado del campo de las microondas, reconocido como “efecto de las microondas”, y no de calentamiento rápido. El efecto de las microondas puede ser importante en la selectividad de ciertas reacciones. Cuando dos reacciones competitivas están involucradas, el E.I. es común para ambos procesos. El mecanismo favorecido es el que ocurre vía un E.T. más polar bajo irradiación de microondas

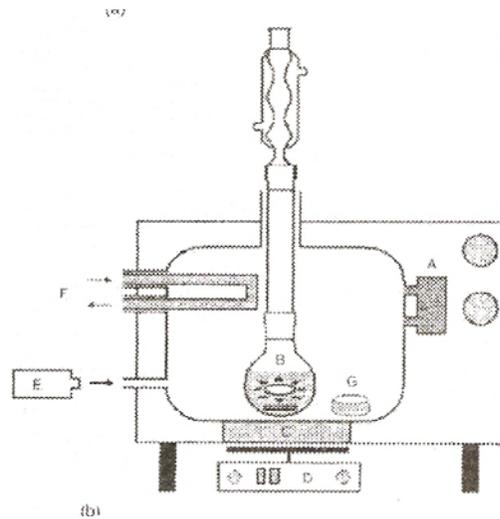
**2.13.3 Los equipos microondas usados en síntesis orgánica:** el equipo mas popular y económico es el horno domestico (con poder limitado 800-1000W). La distribución del campo eléctrico es heterogénea. Esta distribución es compleja y posiblemente inestable en el tiempo y su uso para propósitos sintéticos requiere una cartografía para determinar los sitios calientes (lugar del horno donde inciden

preferencialmente mayor número de microondas) de alta energía usando una hoja de papel de filtro impregnada con una solución de cloruro de cobalto. La potencia no es sostenible en el tiempo y de hecho, la muestra siempre esta sometida a niveles máximos de potencia por periodos variables de tiempo. Sin embargo, una variedad de síntesis orgánicas se pueden realizar con este aparato, en especial reacciones libres de solvente (Figura 7).



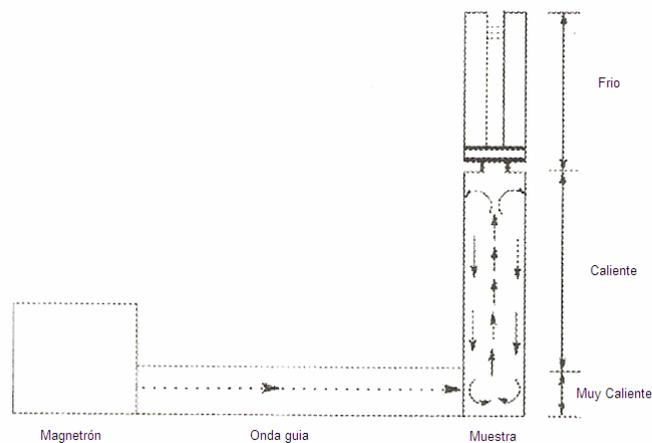
**Figura 7. Horno domestico multimodos**

Para llevar a cabo reacciones orgánicas más seguras y precisas, se pueden modificar los hornos microondas caseros agujereándolos en la parte alta de la cavidad. Esto permite la introducción de un tubo condensador (actuando como enfriador) para mantener las reacciones bajo reflujo, o bajo atmósfera inerte, o permitiendo la adición de compuesto en procedimientos de pasos múltiples (Figura 8).



**Figura 8.** Horno microondas modificado para experimentos fotoquímicos. (A) Magnetron, (B) mezcla de reacción con un agitador magnético, (C) plato de aluminio, (D) agitador magnético, (E) pirómetro infrarrojo, (F) circulación de agua, (G) receptor de radiaciones.

Si se requieren resultados mas precisos y reproducibles se necesita un aparato mas sofisticado. Ellos usan propiedades de ondas progresivas y estacionarias; las ondas electromagnéticas son enfocadas con una distribución homogénea en energía lo que permite tener mayores rendimientos de energía. Esos reactores están disponibles comercialmente como Synthewave 402<sup>®</sup> de Prolabo o CEM Discover (Figura 9).



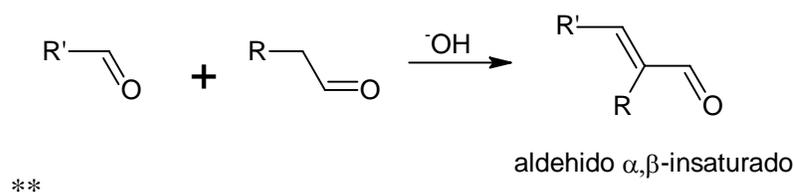
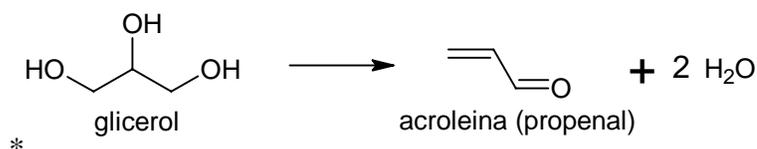
**Figura 9.** Reactores monomodos (Synthewave 402<sup>®</sup> Prolabo)

### 3. SÍNTESIS PREVIAS

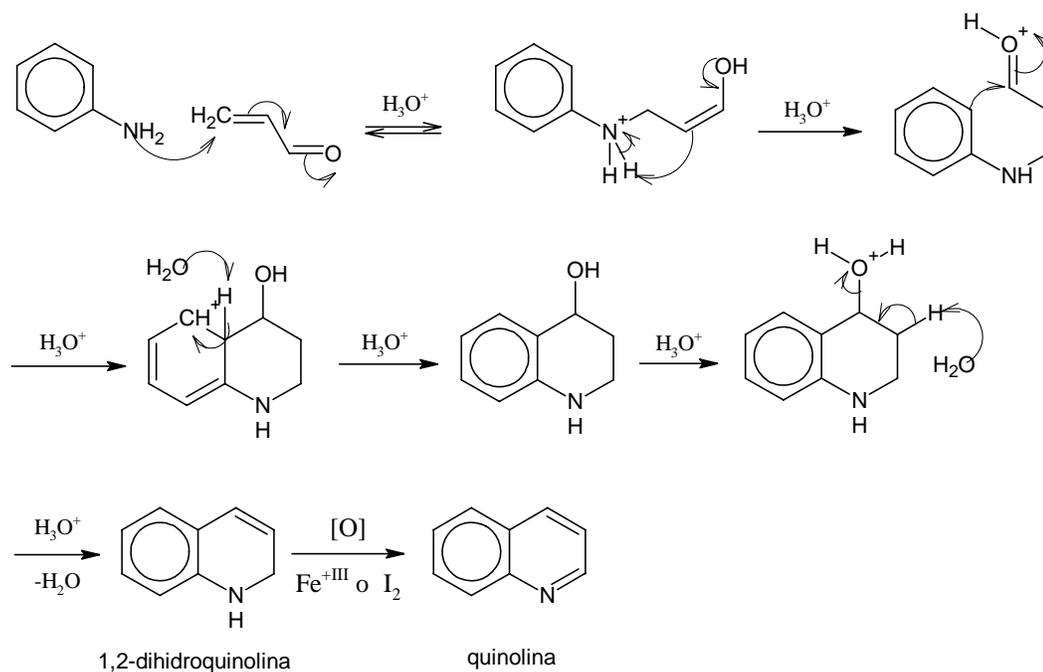
La mayoría de las síntesis de quinolinas involucran la formación de una 1,2-dihidroquinolina. Entre las primeras síntesis de quinolinas en las cuales se obtuvo previamente una 1,2-dihidroquinolina destacan las síntesis de Skraup y Doebner-Miller.

#### 3.1 Síntesis de Skraup\* y Doebner-Miller\*\*

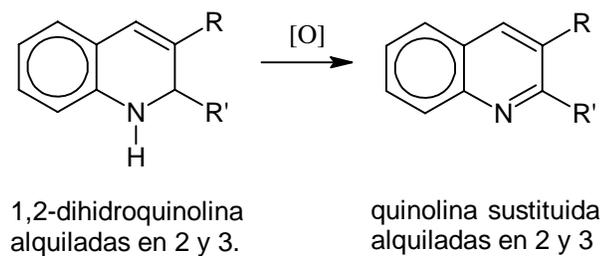
La diferencia entre estas síntesis es la preparación del aceptor Michael. En la síntesis de **Skraup** el compuesto  $\alpha,\beta$ -insaturado es preparado por deshidratación de glicerol para obtener la acroleína (propenal). Por el contrario, en la síntesis de **Doebner-Miller** se sintetiza una acroleína sustituida, mediante una condensación aldólica.



Una vez sintetizado el compuesto  $\alpha,\beta$ -insaturado, este se hace reaccionar con la anilina a través de una adición de Michael, luego el cierre del anillo por ataque del mismo al C oxigenado. El alcohol secundario formado se deshidrata a 1,2-dihidroquinolina por el ácido fuerte y la posterior oxidación a quinolina.

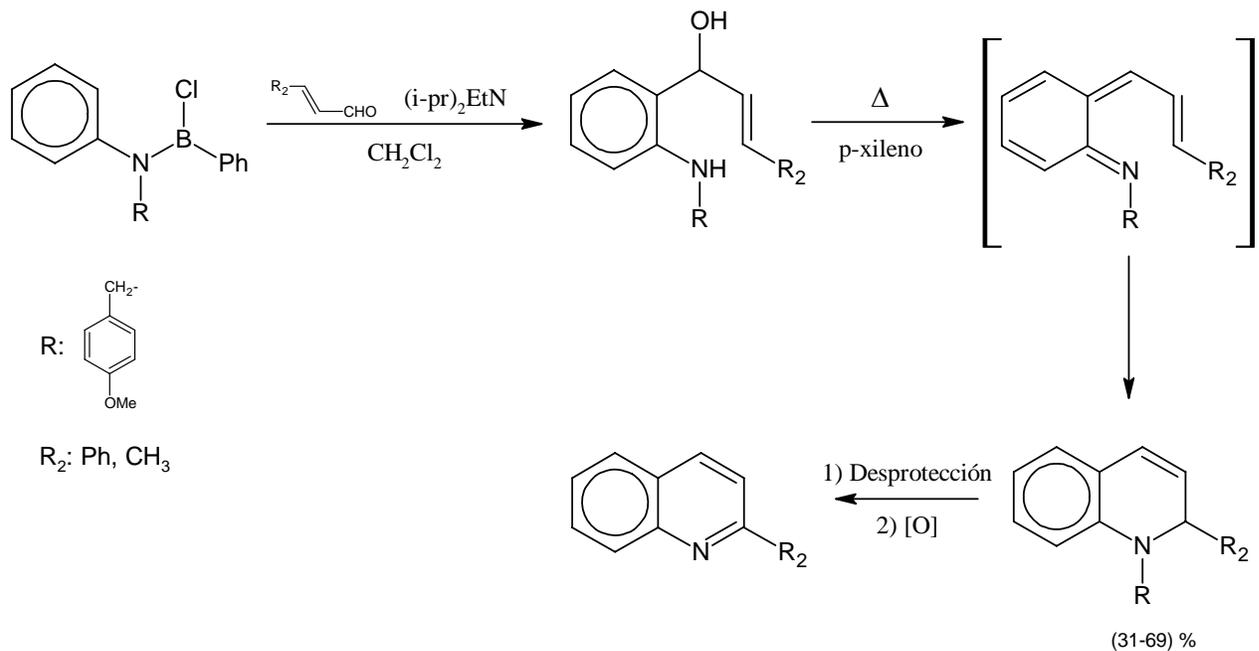


Para el caso de la síntesis de Doebner-Miller obtendríamos la correspondiente 1,2-dihidroquinolina y quinolina sustituida.



### 3.2 Síntesis de Wiebe

**Jennifer M. Wiebe** y colaboradores publicaron en 1996 una síntesis de quinolinas sustituidas en la posición 2 donde uno de los intermediarios era la N-bencil-1,2-dihidroquinolina:

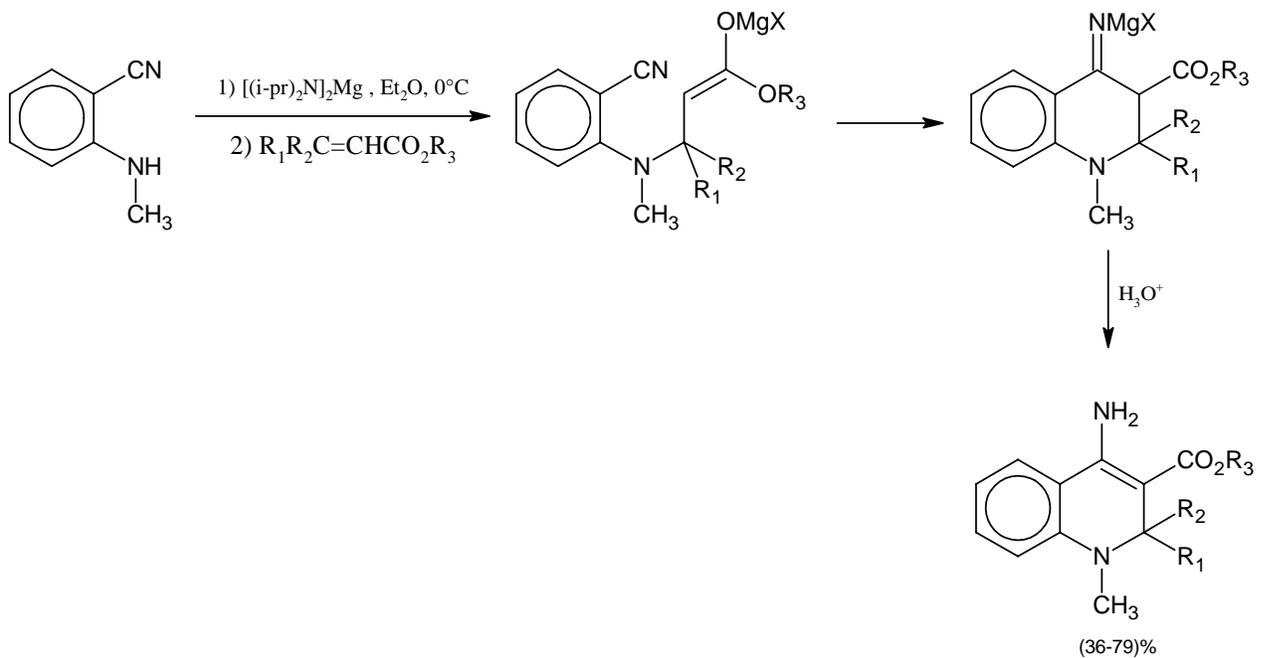


En esta síntesis, el N-bencil-anilino-fenilcloroborano se hace reaccionar con un aldehído en medio básico para obtener el alcohol o-aminobencílico, que posteriormente mediante calentamiento a reflujo en xileno produce un intermediario que da origen a la N-bencil-dihidroquinolina sustituida en posición 2. La desprotección y oxidación conduce a la quinolina respectiva.

Se han publicado síntesis donde el objetivo fue la obtención de 1,2-dihidroquinolinas, a continuación se muestran un par de ellas:

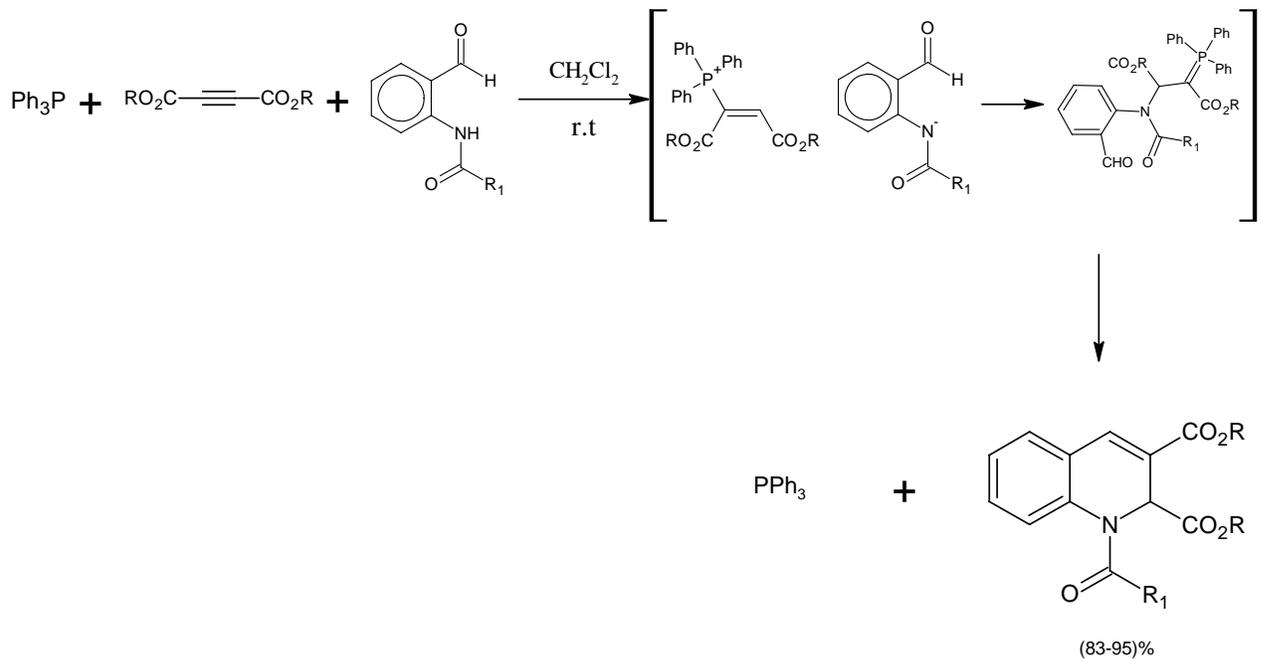
### 3.3 Síntesis de Kobayashi

En 1997, **Kazuhiro Kobayashi** y sus colaboradores obtuvieron derivados del ácido 4-amino-1,2-dihidro-3-quinolincarboxílico, mediante una síntesis de tres pasos que consiste en tratar sucesivamente 2-(metilamino)benzonitrilo con magnesio-bis(diisopropilamida) (generada in situ en la reacción entre bromuro de etilmagnesio y diisopropilamina), con un ester  $\alpha,\beta$  insaturado en dietil eter a 0°C; la dicción conjugada y la posterior ciclación da el correspondiente 4-amino-1,2-dihidro-3-quinolincarboxilato con rendimientos entre 36-79%.

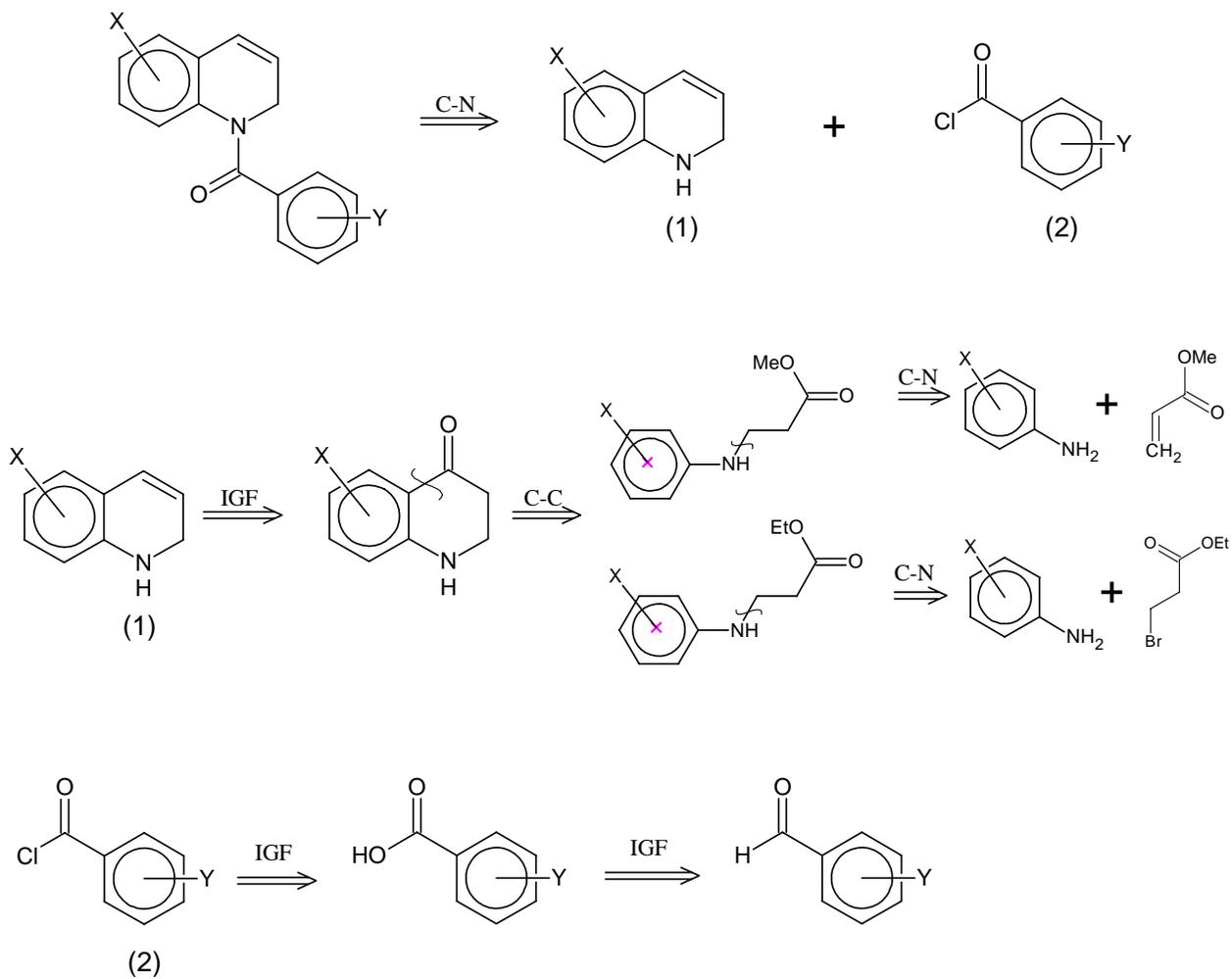


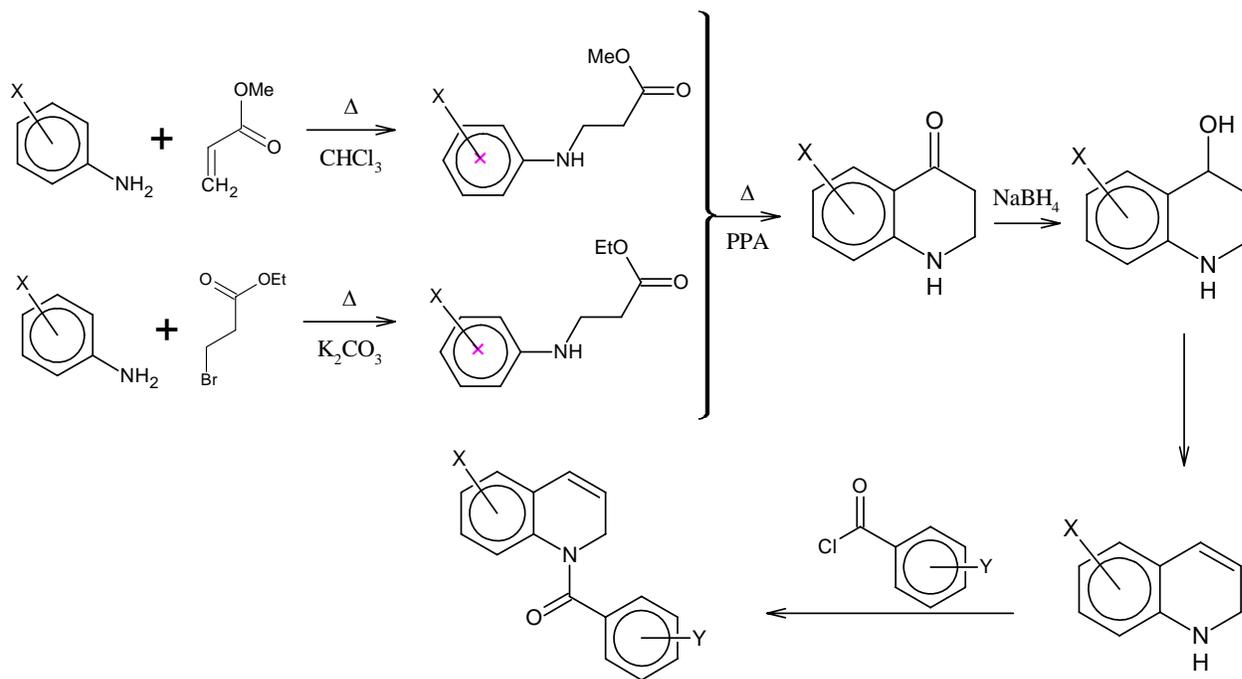
### 3.4 Síntesis de Yavari

**Issa Yavari** y colaboradores, sintetizaron en 1997, en un solo paso una dialquil 1,2-dihidroquinolina-2,3-dicarboxilato, mediante la reacción de la amida derivada del 2-aminobenzaldehído con dialquilacetilendicarboxilato-trifenilfosfina en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a través de una reacción de Wittig interna cuyos productos fueron obtenidos con altos rendimientos.

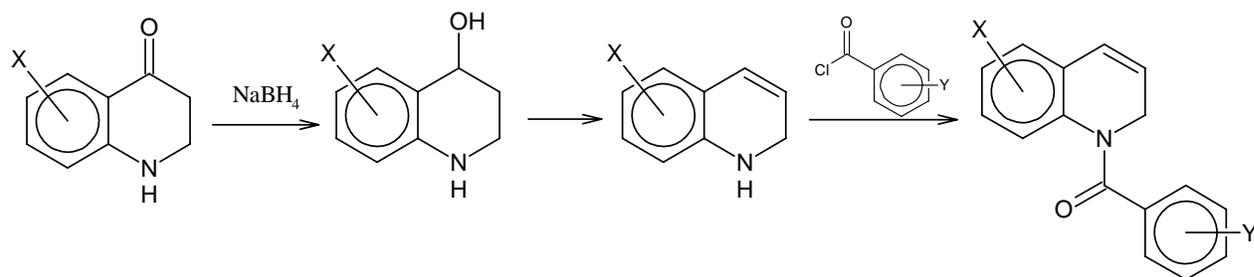
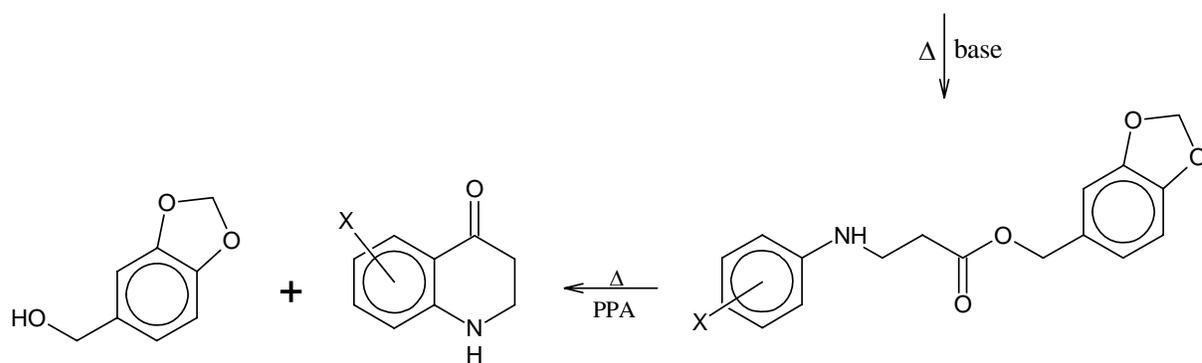
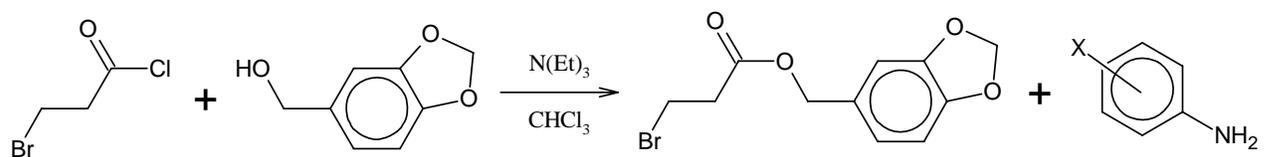


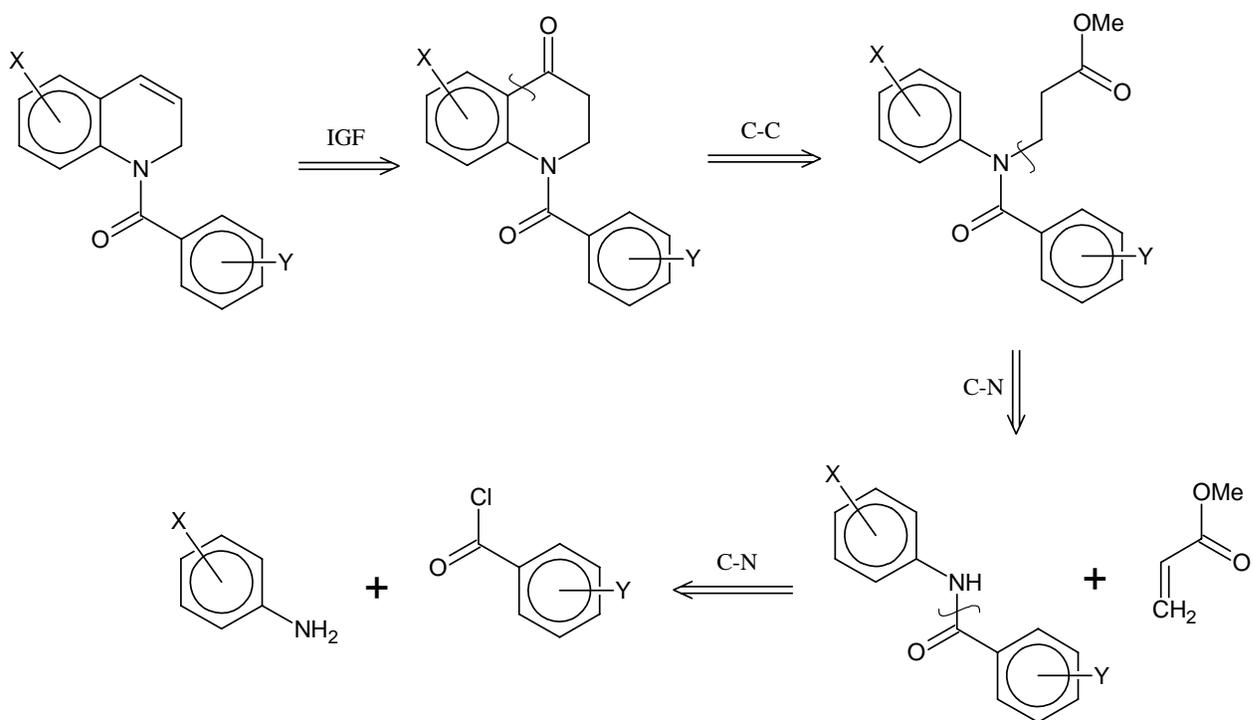
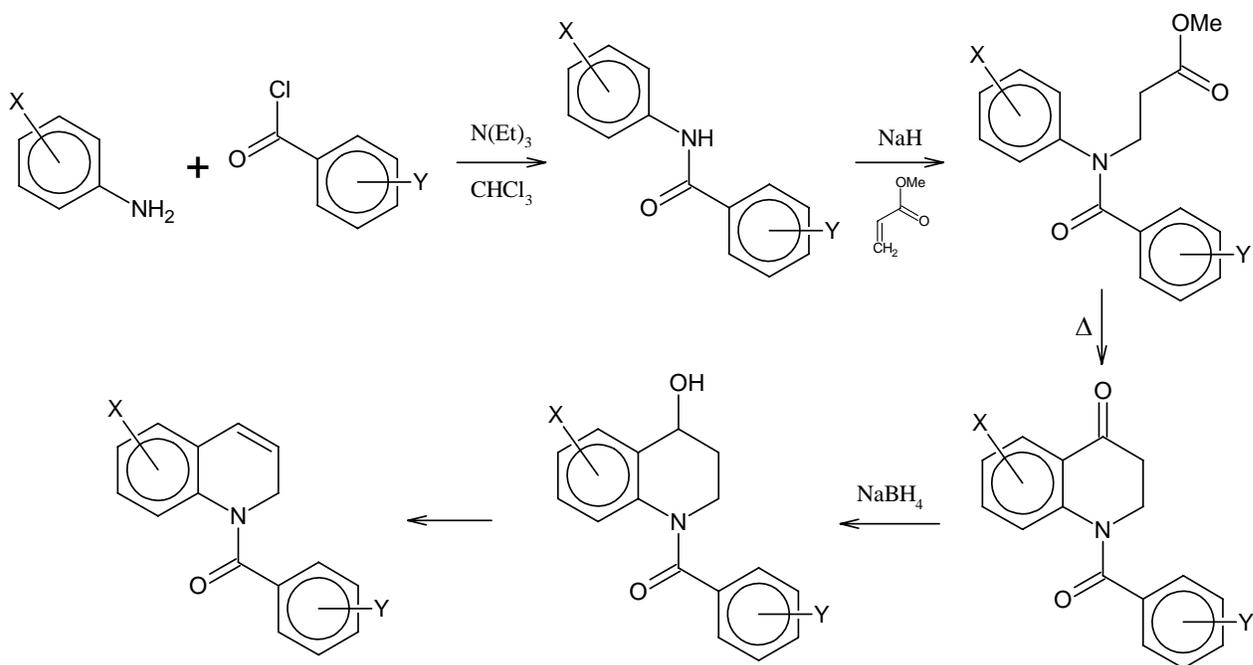
## 4. SÍNTESIS PROPUESTAS

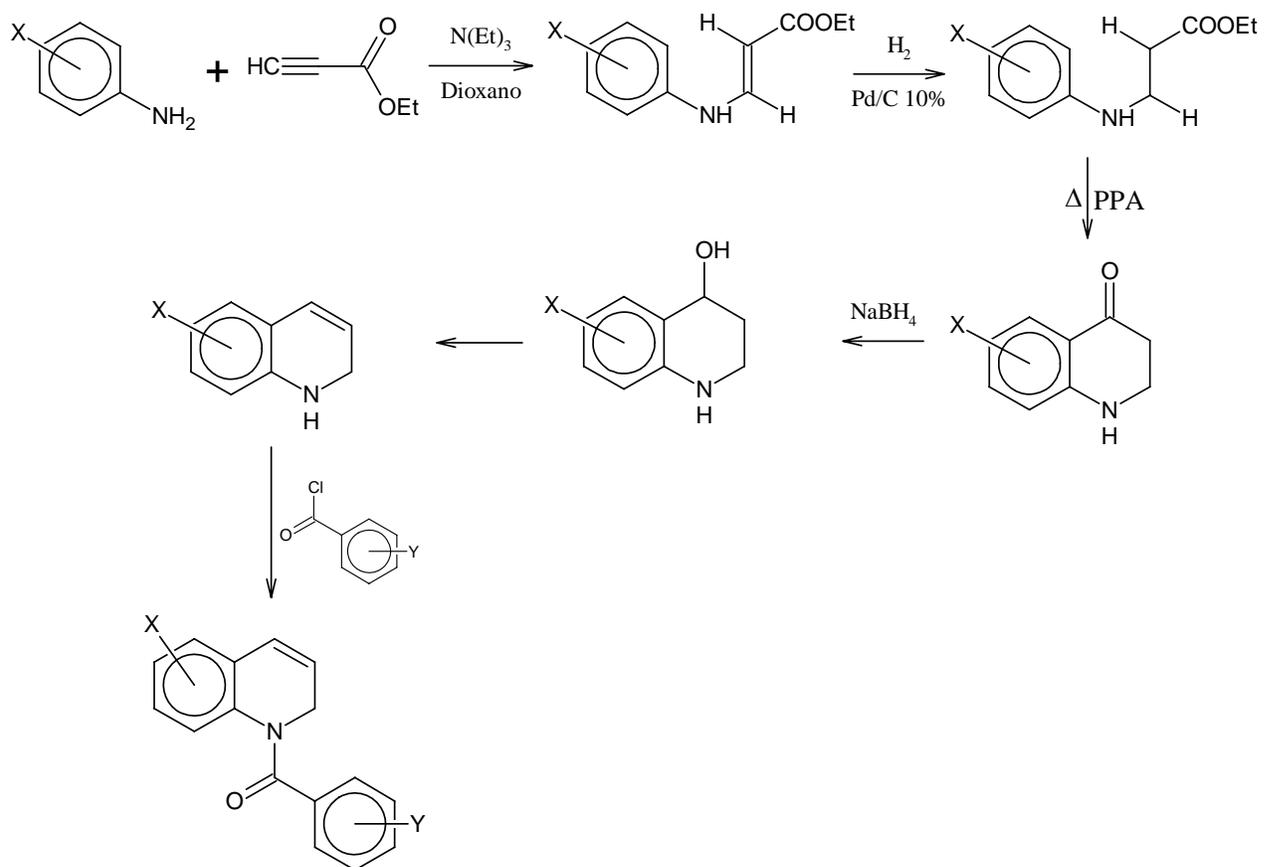
*Retrosíntesis I*

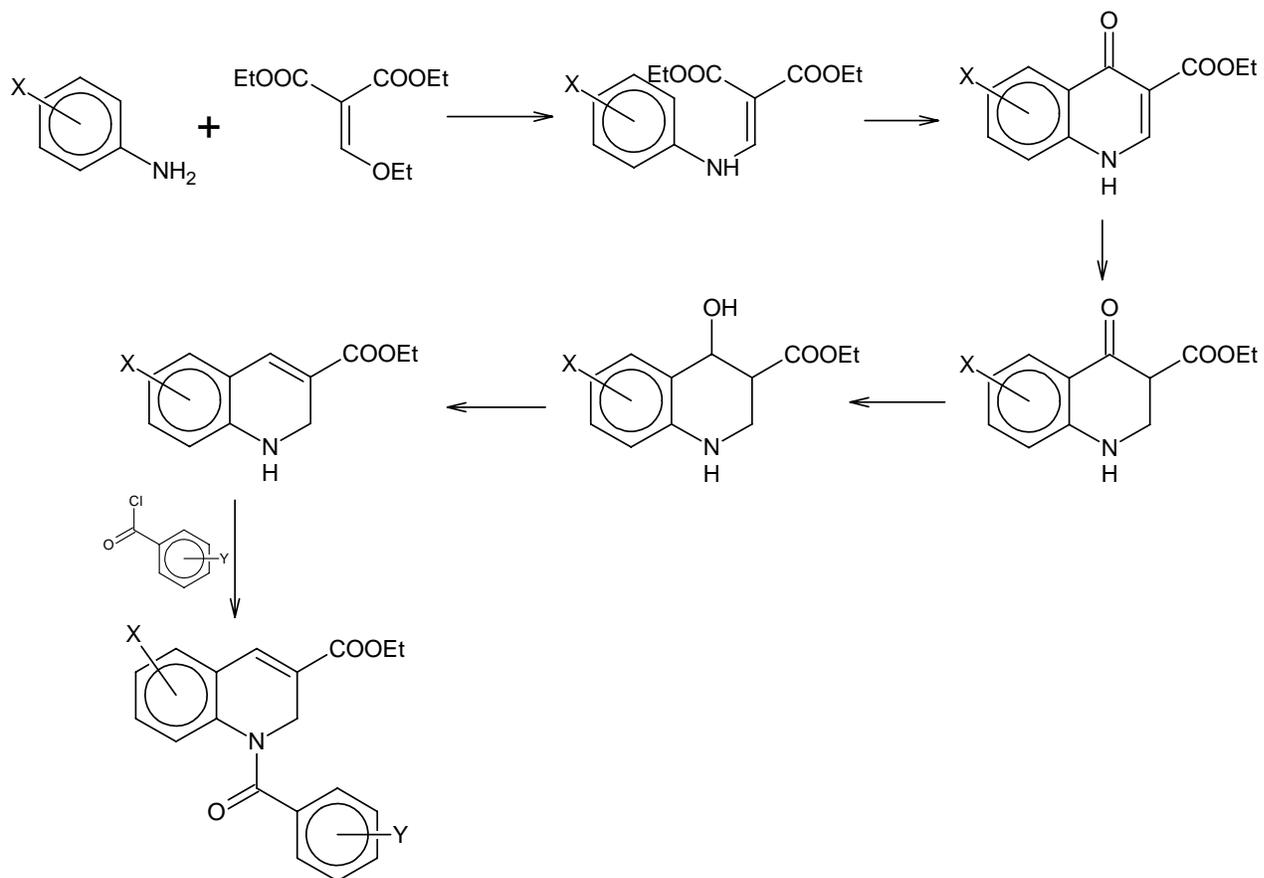
**Síntesis I**

## Síntesis II



**Retrosíntesis II****Síntesis III**

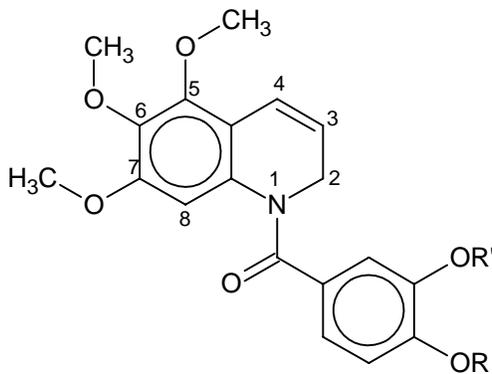
**Síntesis IV**

**Síntesis V**

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

- Sintetizar un grupo de 1-benzoil-1,2-dihidroquinolinas sustituidas, con las siguientes estructuras:



- $R' = H ; R = CH_3$
- $R' = CH_3 ; R = CH_3$
- $R' = R = -CH_2-$

### 5.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar la 5,6,7-trimetoxi-1,2-dihidroquinolina.
- Realizar la benzoilación del grupo anterior con los tres cloruros de ácido seleccionados.
- Caracterizar espectroscópicamente cada uno de los productos obtenidos utilizando Resonancia Magnética Nuclear de  $^1H$  y  $^{13}C$ , Infrarrojo (IR) y espectrometría de masas (EM).

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1 *Reactivos:*

Las marcas de los reactivos empleados fueron las siguientes: **Aldrich, Merck y Riedel de Haen.**

### 6.2 *Solventes:*

- Acetato de etilo (AcOEt), destilado
- Cloroformo (CHCl<sub>3</sub>), destilado
- Diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), destilado
- 1,4-Dioxano (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O), destilado
- Metanol (CH<sub>3</sub>OH), destilado
- Etanol absoluto (EtOH)
- Hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), destilado
- Dimetilsulfoxido (DMSO)
- N,N-dimetilformamida (DMF), secada previamente sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, posteriormente sobre tamices moleculares y eluida a través de una columna de alumina.
- Trietilamina (Et<sub>3</sub>N)
- Tolueno (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), destilado y secado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro.
- Ácido polifosfórico (PPA)
- Oxidloruro de fosforo (POCl<sub>3</sub>)
- Difenileter (Ph<sub>2</sub>O)
- Etilenglicol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>)

### 6.3 Equipos:

Horno microondas WELBILT. En posición COOK, la potencia de salida equivale a 550W. En posición DEFROST equivale a 220W.

Horno: Aldrich Kogelrohr Oven

### 6.4 Determinación de datos físicos:

- **Puntos de fusión (p.f.):**

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato **Electrothermal**<sup>®</sup> y no fueron corregidos.

- **Espectros de infrarrojo (I.R.):**

Los espectros de IR fueron tomados en una solución de  $\text{CHCl}_3$  o en pastillas de bromuro de potasio, y fueron registrados en un espectrómetro Perkin Elmer 1310, los valores de transmitancia están en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los valores de número de onda en  $\text{cm}^{-1}$ , pueden estar seguidos por una abreviatura referida a una característica de absorción. Estas abreviaturas son las siguientes:

a = ancha

m = media

d = débil

i = intensa

- ***Espectros de resonancia magnética nuclear de protones (RMN <sup>1</sup>H) y carbono 13 (RMN<sup>13</sup>C):***

Los espectros de RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C, fueron registrados en instrumentos JEOL modelo Eclipse de 270Mz. Se empleó cloroformo deuterado y dimetilsulfoxido deuterado como solventes. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) vienen dados en ppm y se emplean las siguientes abreviaturas para describir las señales:

a = ancha

s = singlete

d = doblete

t = triplete

c = cuadruplete

q = quintuplete

m = multiplete

J = constante de acoplamiento

- ***Espectro de Masa (E.M):***

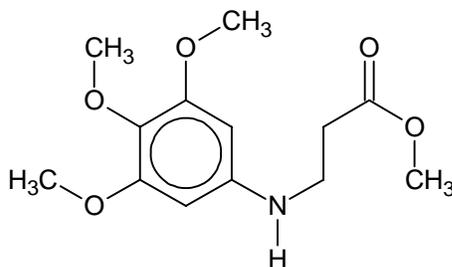
El análisis de masas fue realizado en un sistema de trampa de iones lineal 3200 QTRAP (Applied Biosystem). El compuesto fue disuelto en una solución agua/acetonitrilo/ácido fórmico en proporciones 70/30/0,01%-MeOH. Todos los análisis fueron realizados utilizando una fuente "Turbo Ion Spray" en modo positivo: A) ESI-MS fue realizado mediante infusión directa con una velocidad de flujo de 10 $\mu$ L/min. B) gas nebulizador: N<sub>2</sub>. C) Voltaje de IonSpray: 4500V. D) El "declustering potencial" fue de 70V y la energía de colisión de 10V. La adquisición de los datos fue realizada escaneando la relación masa/carga (m/z) desde 50 a 500 uma.

## 6.5 Cromatografía

- **Cromatografía de capa fina (C.C.F.):** se utilizó como adsorbente una mezcla 3 a 2 de sílica gel D y sílica gel DGF (UV - 254nm) de Riedel Hæn, en capas de 0,25mm de espesor sobre placas de vidrio de dimensiones 20cm x 5cm.
- **Cromatografía de capa preparativa (C.C.P.):** se empleó como adsorbente una mezcla 3 a 2 de sílica gel D y sílica gel DGF (UV – 254nm) de Riedel Hæn, en capas de 1,00mm de espesor sobre placas de vidrio de dimensiones 20cm x 20cm.
- **Cromatografía de Columna (C.C.):** el adsorbente utilizado fue sílica gel Machery-Nagel y Riedel Hæn con tamaño de partícula 0,05mm – 0,2mm.

## 6.6 Metodología empleada

### Intentos de síntesis del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)propanoato de metilo, 3



**3**

P.M. = 269,3

Método A: Se disolvieron 0,637g (3,48mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 en 15mL de EtOH y se agregó con agitación 0,32mL (0,334g; 3,88mmol) de acrilato de metilo 2. La mezcla se calentó a reflujo por 18 horas. La reacción fue seguida por C.C.F. usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente. Posteriormente, se agregaron 2 gotas de HCl y se dejó en reflujo por 26 horas. Se evaporó el solvente a presión reducida. Se neutralizó con solución de NaOH al 5% y se realizaron extracciones con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> por triplicado.

No se obtuvo el producto

Método B: Se disolvieron 0,636g (3,47mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 en 50mL de CHCl<sub>3</sub> seco y se le agregaron con agitación 0,32mL (0,334g; 3,88mmol) de acrilato de metilo 2. La mezcla se calentó a reflujo bajo atmósfera inerte. La reacción fue seguida por C.C.F. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Luego de 24 horas, se adicionaron 0,16mL (0,167g; 1,94mmol) de acrilato de metilo 2 y se mantuvo el reflujo por otras 24 horas y se siguió la reacción por C.C.F. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Una vez detenida la reacción se realizó C.C.

No se obtuvo el producto

Método C: En un tubo de ensayo se dispusieron 0,412g (2,45mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina **1**, 0,22mL (0,210g, 2,44mmol) de acrilato de metilo **2** y 0,8mL de agua destilada. La mezcla de reacción se mezcló íntimamente hasta homogeneizarla, luego se introdujo en el horno microondas en posición "COOK" y se programó para tiempos de 2 a 12 minutos, se dejó enfriar el tubo de ensayo. Se realizaron extracciones con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> por triplicado, luego se agruparon estos extractos para secarlos con MgSO<sub>4</sub> anhidro y finalmente se evaporó el solvente a presión reducida.

No se obtuvo el producto

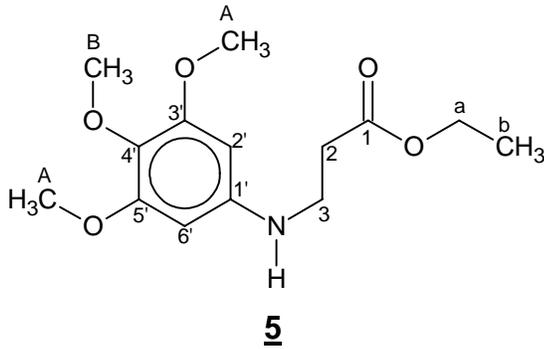
Método D: En un balón de 50mL se disuelven 0,200g (1,09mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina **1** en 21mL de 1,4-dioxano (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O). Se colocó el balón en un baño de arena precalentado a 100°C. Luego se añadieron 0,39mL (0,376g, 4,37mmol) de acrilato de metilo **2** y 2 gotas de N(Et)<sub>3</sub>. La reacción permaneció en reflujo y agitación por 5 horas. La reacción fue seguida por C.C.F. (AcOEt). Se evaporó a presión reducida la mayor cantidad de C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O y N(Et)<sub>3</sub> para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó por C.C. usando como eluyente una mezcla AcOEt/C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> en proporción 30:70 obteniéndose un líquido viscoso amarillo.

Cantidad de producto obtenido: 0,216g

Rendimiento: 39%

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 7): 3380 m, 3020 m, 1720 i, 1590 i, 1220 i.

**3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo, 5**



P.M. = 283,32

Método A: Se vertieron 0,307g (1,68mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 previamente disueltos en 15mL de  $\text{CHCl}_3$  seco a un balón de dos bocas, luego se añadieron 0,2mL (0,282g, 1,56mmol) de 3-bromopropionato de etilo 4. La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo bajo atmósfera inerte por 144 horas y fue seguida por C.C.F. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). La mezcla de reacción fue extraída con solución de  $\text{NaHCO}_3$  5% por triplicado y luego lavada por duplicado con agua destilada. La fase orgánica se secó con  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtró la solución y se evaporó el solvente a presión reducida quedando un residuo al fondo del balón (una mezcla sólido-líquido amarilla), residuo que fue lavado con  $\text{C}_6\text{H}_{14}$ , se decantó el líquido y se evaporó a presión reducida el solvente obteniéndose un líquido amarillo.

Cantidad de producto obtenido: 0,157g

Rendimiento: 33%

**IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 1):** 3400 m, 3020 m, 1725 i, (1605, 1501) i, (1220, 1010) i.

Método B: En un balón de dos bocas se vertieron 0,300g (1,64mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina **1** previamente disueltos en 15mL de  $\text{CHCl}_3$ , luego se añadieron 0,21mL (0,296g, 1,64mmol) de 3-bromopropionato de etilo **4** y 0,019g (0,114mmol) de yoduro de potasio (KI). La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo bajo atmósfera inerte por 20 horas y fue seguida por C.C.F. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). La mezcla de reacción fue extraída con solución de  $\text{NaHCO}_3$  5% por triplicado y luego lavada por duplicado con agua destilada. La fase orgánica se secó con  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtró la solución y se evaporó el solvente a presión reducida.

No se obtuvo el producto

Método C: En un tubo de ensayo se colocaron 0,300g (1,64mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina **1**, 0,346g (3,26mmol) de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agitó lo suficiente hasta lograr la homogeneidad de la mezcla, posteriormente se agregaron 0,2mL (0,282g, 1,56mmol) de 3-bromopropionato de etilo **4** gota a gota agitando en cada adición. Se cerró el tubo de ensayo con la tapa roscada, se introdujo la mezcla en el horno microondas posición "COOK" y se expuso a tiempo variables. Se dejó enfriar el tubo a temperatura ambiente y se extrae por triplicado la mezcla con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Luego de agrupar estos extractos, se secaron con  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtró la solución y se evaporó el solvente a presión reducida. Se tomaron 100mg del producto crudo para purificar por C.C.P. usando como eluyente una mezcla  $\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en la proporción 60:40. Se obtuvo un líquido amarillo viscoso

Cantidad de producto obtenido: 0,042g

Rendimiento: 42%

**Método D:** En un balón de 200mL se colocaron 5,000g (27,30mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina **1**; 3,772g (27,30mmol) de  $K_2CO_3$  y se agitó con una varilla de vidrio hasta asegurar la homogeneidad de la mezcla. Posteriormente se agregaron 3,5mL (4,940g, 27,30mmol) de 3-bromopropionato de etilo **4** a la mezcla y se llevó el balón a un baño de arena precalentado a 120°C para iniciar el reflujo. La reacción fue seguida por C.C.F. (AcOEt). Luego de 2,5 horas en reflujo, se adicionaron 3,5mL (4,940g, 27,30mmol) 3-bromopropionato de etilo **4**. Después de 19,5 horas se detuvo el calentamiento de la reacción, se disolvió con  $CH_2Cl_2$  y se extrajo por triplicado con agua destilada. Una vez secada la fase orgánica con  $MgSO_4$ , se filtró la solución y se evaporó a presión reducida el solvente. El producto fue aislado por C.C. usando como primer eluyente una mezcla  $C_6H_{14}/CH_2Cl_2$  en la proporción 90:10 y aumentando progresivamente la polaridad. Se obtuvo un líquido amarillo viscoso.

Cantidad de producto obtenido: 5,083g

Rendimiento: 66%

**IR ( $CHCl_3$ )  $\nu(cm^{-1})$  (Espectro 8):** 3400 m, 3030 m, 1720 i, 1590 i, 1220 i, 1020 i.

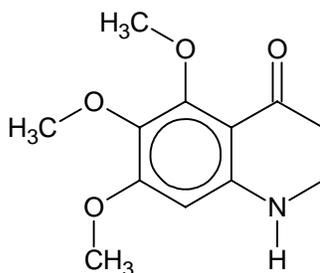
**RMN- $^1H$  ( $CDCl_3$ ) (Espectro 9)  $\delta$ :** 5,86 (1H, s, H-2',6'); 4,14 (2H, c, J= 7,26Hz, H-a); 3,79 (6H, s, H-A); 3,74 (3H, s, H-B); 3,40 (2H, t, J= 6,26Hz, H-3); 2,60 (2H, t, J= 6,26Hz, H-2); 1,24 (3H, t, J= 7,26Hz, H-b), ppm.

**RMN- $^{13}C$  ( $CDCl_3$ ) (Espectro 10)  $\delta$ :** 172,48 (C-1); 154,07 (C-3', 5'); 144,24 (C-1'); 130,61 (C-4'); 91,03 (C-2',6'); 61,15 (C-a); 60,79 (C-B); 56,05 (C-A); 40,22 (C-3); 33,31 (C-2); 14,27 (C-b), ppm.

Método E: Se pesaron 0,200g (0,71mmol) de 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo **16**, 0,040g de catalizador de Pd/C al 10% y se añadieron 15mL de EtOH en un recipiente de vidrio que va a un hidrogenador Parr. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y fue sometida a 40 libras por pulgada cuadrada (lbs/plg<sup>2</sup>) de presión por 24 horas. Transcurrido este tiempo, la mezcla fue filtrada y luego se evaporó el solvente a presión reducida.

No se obtuvo el producto

### Intentos de síntesis de la 5,6,7-trimetoxi-2,3-dihidroquinolin-4-ona, 17



17

P.M.= 237,25

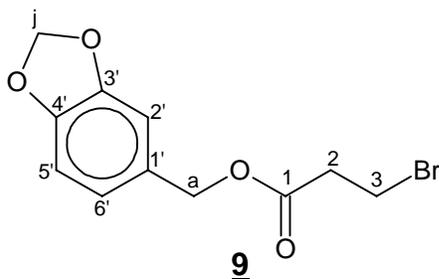
Método A: En un balón de 50mL se colocaron con una varilla de vidrio 7,243g de ácido polifosfórico (PPA) y se adicionaron 0,611g (2,16mmol) de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo. La mezcla fue llevada a un baño de arena precalentado inicialmente a 150°C. Una vez alcanzada la coloración roja intenso para la mezcla, se disminuyó la temperatura a 60°C y se agregó hielo para detener la reacción. La mezcla se extrajo 5 veces con AcOEt de 30mL cada extracción, luego se lavó por duplicado con agua destilada, después se lavo con 30mL de solución de NaOH 5%. Por ultimo, se lavó con agua destilada nuevamente y luego con solución salina. La fase orgánica se seco con MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el solvente para obtener el posible producto ciclado.

No se obtuvo el producto

Método B: En un balón de 50mL se vertieron 3,104g de ácido polifosfórico (PPA), 0,305g (1,08mmol) de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo 5 y 0,5mL (0,823g, 5,36mmol) de oxiclورو de fósforo (POCl<sub>3</sub>). Se llevó la mezcla de reacción a un baño de arena precalentado a 130°C por 2 horas. Luego, para finalizar la reacción se agregó una mezcla hielo-agua, se realizaron extracciones por triplicado con AcOEt,

luego se lavó esta fase con agua destilada por triplicado y se secó con  $\text{MgSO}_4$  anhidro. Se filtró la solución y se evaporó el solvente a presión reducida para obtener un líquido marrón remanente.

No se obtuvo el producto

**3-bromopropionato de piperonilo, 9**

P.M.= 287,11

En un balón de 3 bocas se disolvieron 2,000g (13,14mmol) de alcohol piperonílico 7 en 10mL de  $\text{CHCl}_3$  previamente secado en  $\text{MgSO}_4$  y se adicionaron 1,83mL (1,330g, 13,14mmol) de  $\text{N}(\text{Et})_3$ . Luego se vertieron 1,59mL (2,704g, 15,77mmol) de cloruro de  $\beta$ -bromopropionilo 8 en un embudo de adición que posteriormente fue adaptado al balón. Se añadió lentamente el cloruro de  $\beta$ -bromopropionilo 8. El remanente se arrastro con 5mL de  $\text{CHCl}_3$ . La reacción se llevo a cabo en atmósfera de nitrógeno, con agitación y a temperatura ambiente. Luego de 2 horas y 20 minutos, se agregaron gotas adicionales de  $\text{N}(\text{Et})_3$  hasta que no se generaron más gases de la mezcla de reacción. La reacción fue seguida por C.C.F. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). La reacción se detuvo luego de 15 horas y se realizaron extracciones sucesivas con  $\text{NaHCO}_3$  y agua destilada. Luego se realizaron varias extracciones con HCl 5% y agua destilada. Finalmente, se secó la fase de  $\text{CHCl}_3$  con  $\text{MgSO}_4$  anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida, obteniéndose un líquido amarillo muy viscoso.

Cantidad de producto obtenido: 2,136g
---------------------------------------

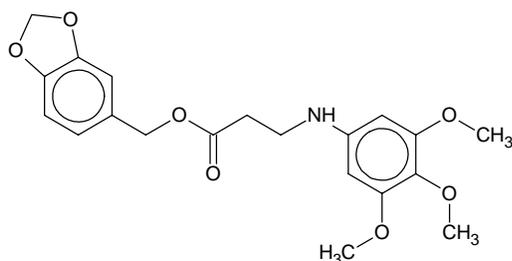
Rendimiento: 57%
------------------

IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 2): 3025 m, 2880 i, 2760 d, 1715 i, 1320 – 1160 a.

**RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (Espectro 3)**  $\delta$ : 2,92 (2H, t, J<sub>23</sub>= 6,75Hz, H-2); 3,56 (2H, t, J<sub>32</sub>= 6.75Hz, H-3); 5,07 (2H, s, H-a); 5,94 (2H, s, H-j), ppm.

**RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) (Espectro 4)**  $\delta$ : 170,37 (C-1); 147,75 (C-3'); 147,04 (C-4'); 134,95 (C-1'); 122,35 (C-6'); 109,06 (C-5'); 108,24 (C-2'); 101,18 (C-j); 66,78 (C-a); 37,72 (C-2); 25,78 (C-3), ppm

**Intentos de síntesis del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)propanoato de piperonilo, 10**



**10**

P.M.= 389,40

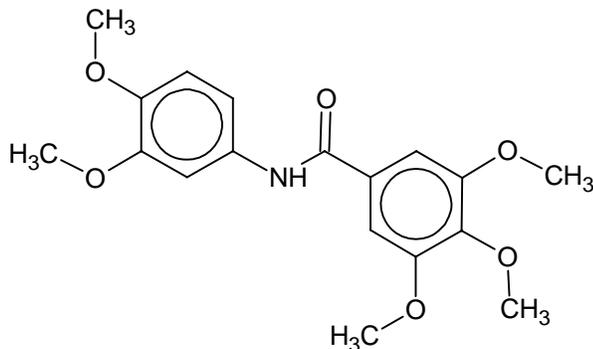
Método A: En un tubo de ensayo se colocaron 0,078g (0,43mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 y 0,044g (0,41mmol) de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Se disolvió la mezcla con aproximadamente 2mL de etilenglicol y se agregaron 0,118g (0,41mmol) de 3-bromopropionato de piperonilo 9. Se llevó la mezcla de reacción al microondas y se programó para tiempos de 1, 2, 4 minutos en posición “DEFROST”. La reacción fue seguida por C.C.F. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

No se obtuvo el producto

Método B: Se dispusieron en un tubo de ensayo 0,121g (0,66mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1, 0,096g (0,69mmol) de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 0,210g (0,73mmol) de 3-bromopropionato de piperonilo 9, se agitó la mezcla hasta pulverizarla, se expuso al microondas en posición “COOK” por tiempo de 1, 2, 4 minutos. La reacción fue seguida por C.C.F. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

No se obtuvo el producto

**N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida, 13**



P.M.= 347,40

En un balón de 2 bocas de 100mL se pesaron 1,000g (6,53mmol) de 4-aminoveratrol 11 que luego fueron disueltos en 30mL de  $\text{CHCl}_3$  previamente secado en  $\text{MgSO}_4$ , luego se agregaron 0,91mL (0,660g, 6,53mmol) de  $\text{N}(\text{Et})_3$ . La mezcla se colocó en un baño hielo-agua. En una fiola esmerilada se pesaron 1,506g (6,53mmol) de cloruro de trimetoxibenzoilo 12, posteriormente se disolvió en la menor cantidad posible de  $\text{CHCl}_3$  seco y se vertió en un embudo de adición. Se agregó muy lentamente el cloruro de trimetoxibenzoilo 12 a la mezcla. La reacción fue seguida por C.C.F. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) y se detuvo 41 horas mas tarde. Se realizo extracción con HCl 10% por triplicado, luego con  $\text{NaHCO}_3$  en otras tres oportunidades y finalmente con agua destilada seis veces. La capa orgánica se secó con  $\text{MgSO}_4$ , se filtró la solución y se evaporó el solvente a presión reducida. La purificación de la reacción se realizó con una C.C. usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como eluyente y luego 1% MeOH en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se obtuvo un solido vinotinto.

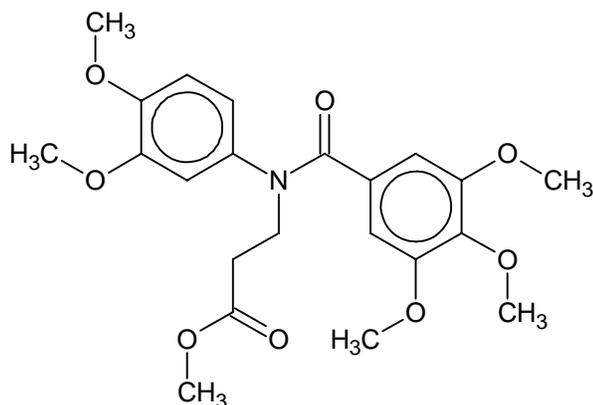
Cantidad de producto obtenido: 0,982g

Rendimiento: 44%

Punto de fusión: 173°C

**IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 5):** 3410 d, 3020 m, (2980,2880) m, (2920,2820) m, 1650 i, 1570 i, (1220,1020) i.

**3-(N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamido)propanoato de metilo, 14**



P.M.= 433,40

Método A: Se pesaron 0,113g (4,71mmol) de NaH en un balón de 50mL, se lavó tres veces con hexano seco (presecado en MgSO<sub>4</sub>, secado sobre Na y pasado a través de una columna de alumina). El balón se colocó en un baño hielo-sal. Se agregó sobre el NaH, poco a poco, 0,274g (0,79mmol) de N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida **13** previamente disuelta en el mínimo posible de DMF. Luego de 5 minutos se agregó, gota a gota, 0,07mL (0,067g, 0,78mmol) de acrilato de metilo **2** disuelto en el mínimo posible de DMF. La reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno y con agitación. La reacción alcanzó la temperatura ambiente y se desmontó 4 horas más tarde y se llevó hasta pH 7. Se evaporó la mayor cantidad posible de DMF a presión reducida, se agregó agua destilada y finalmente se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

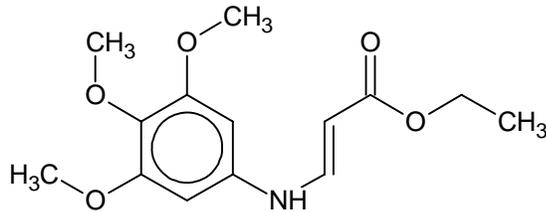
No se obtuvo el producto

Método B: Se pesaron 0,079g (3,29mmol) de NaH en un balón de 50mL, se lavó tres veces con C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> seco (presecado en MgSO<sub>4</sub>, secado sobre Na y pasado a través de una columna de alumina). El balón se colocó en un baño hielo-sal. Se agregó sobre el

NaH, poco a poco, 0,190g (0,55mmol) de N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida **13** previamente disuelta en el mínimo posible de DMF. Luego de 5 minutos se agregó, gota a gota, 0,05mL (0,047g, 0,55mmol) de acrilato de metilo **2** disuelto en el mínimo posible de DMF. La reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno y se inicio el reflujo a una temperatura de 130°C. La reacción fue seguida por C.C.F. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Luego de 18 horas se detuvo el reflujo, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se llevó a pH 7. Se evaporó la mayor cantidad posible de DMF a presión reducida, se agregó agua destilada y finalmente se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

No se obtuvo el producto

**3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo, 16**



P.M.= 281,30

En un balón de 25mL se disolvieron 0,374g (2,04mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 en 6mL de 1,4-dioxano (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O). Luego se colocó el balón en un baño de arena y se llevó a 100°C, se añadieron 0,21mL (0,203g, 2,07mmol) de propiolato de etilo 15 y 1 gota de N(Et)<sub>3</sub>. La reacción se siguió por C.C.F. (AcOEt). La reacción se detuvo luego de 30 horas en reflujo. La trietilamina y el dioxano se evaporaron a presión reducida en un rotavapor. Se obtuvo sólido beige.

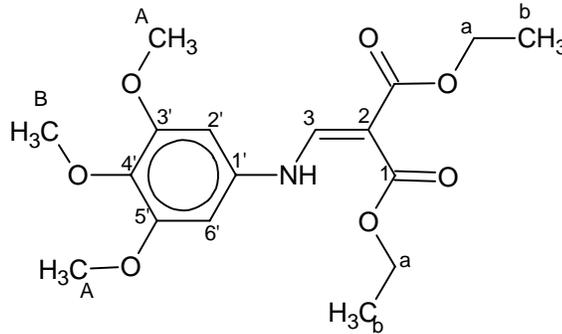
Cantidad de producto obtenido: 0,298g

Rendimiento: 52%

Punto de fusión: 92°C

**IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu$ (cm<sup>-1</sup>) (Espectro 6):** 3400 d, 3020 m, (2960,2840) i, 2920 i, 1710 i, 1690 i, (1220,1020) i.

**2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo, 20**



**20**

P.M.= 353,37

En un balón de 200mL se disolvieron 4,012g (21,9mmol) de 3,4,5-trimetoxianilina 1 en 85mL de tolueno previamente secado en MgSO<sub>4</sub>, se colocó el balón en un baño de arena precalentado a 98°C, luego se adicionaron 4,47mL (4,783g, 21,9mmol) de etoximetilenmalonato de dietilo 19 y se inició el reflujo. La reacción fue seguida por C.C.F. (MeOH 1,67% en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Luego se evaporó el solvente y el producto crudo fue recristalizado en C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>.

Cantidad de producto obtenido: 5,013g

Rendimiento: 65%

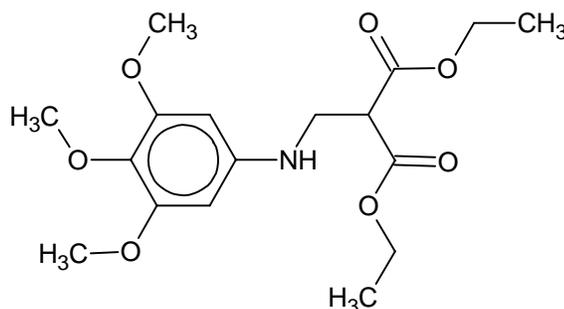
Punto de fusión: 102°C

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 13): 3260 d, 3030 m, 1680 i, (1630,1590) i, (1230,1020) i.

**RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (Espectro 14)**  $\delta$ : 10,99 (1H,d, J= 13,53Hz, NH); 8,42 (1H,d, J= 13,53Hz, H-3); 6,31 (2H,s,H-2',6'); 4,27 (4H,c,J= 7,26Hz, H-a); 3,85 (6H,s,H-A); 3,79 (3H,s,H-B); 1,33 (6H,t, J= 7,26Hz, H-b) ppm.

**RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) (Espectro 15)**  $\delta$ : 169,24 (C-1); 154,24 (C-3',5'); 152,20 (C-3); 135,47 (C-1',4'); 95,01 (C-2',6'); 93,29 (C-2); 60,48 (C-B); 56,79 (C-A); 14,41 (C-b)

**Intentos de síntesis del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilmalonato de dietilo, 21**



**21**

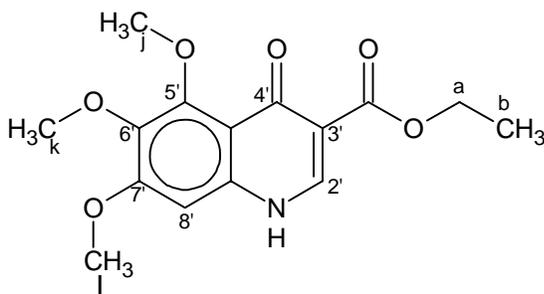
P.M.= 355,38

Método A: En el recipiente de un hidrogenador Parr se colocaron 0,200g (0,57mmol) de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20, 0,025g de Pd/C al 10% y 15mL de EtOH. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y se sometió a una presión de 42 libras por pulgada cuadrada durante 3 horas. La mezcla fue filtrada y se evaporó el solvente a presión reducida.

Método B: En un balón de 125mL se disolvieron 0,400g (1,13mmol) de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20 en 7mL de EtOH, luego se adicionaron 0,24mL (0,265g, 3,39mmol) de DMSO. La mezcla de reacción se colocó en un baño hielo-agua (-5°C) y se agregaron 0,086g (2,26mmol) de NaBH<sub>4</sub> en varias porciones cada 10 minutos. La reacción fue seguida por C.C.F. (AcOEt). La reacción se mantuvo en agitación durante 3 horas. La purificación de la reacción se realizó por C.C.P. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de donde se extrajo la banda más amplia.

No se obtuvo el producto

**5,6,7-trimetoxi-3-etoxicarbonil-4-quinolona, 22**



**22**

P.M.= 307,30

En un balón de 100mL se vertieron 1mL (1,066g, 6,26mmol) de difenileter ( $\text{Ph}_2\text{O}$ ) y se colocó en un horno Kugelrohr Aldrich a  $200^\circ\text{C}$ . Una vez alcanza dicha temperatura se agregaron al balón 1,000g (2.83mmol) de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20 y 1mL de (1066mg, 6,26mmol) de difenileter adicionales. Se adaptó el condensador al balón. Una vez completada la hora de reacción se disminuyó la temperatura de la reacción a  $25^\circ\text{C}$  y se agregó hexano para inducir la precipitación de la quinolona y arrastrar el difenileter, luego se decantó el hexano, este procedimiento se realizó por triplicado hasta extraer el difenileter. Se obtuvo un sólido muy fino de color crema.

Cantidad de producto obtenido: 0,379g

Rendimiento: 44%

Punto de fusión: (244-246) $^\circ\text{C}$

**IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu(\text{cm}^{-1})$  (Espectro 17):** 3020 d, 1690 i, 1650 i, (1600,1560) i, 1290 i.

**RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (Espectro 18) δ:** 11,88 [1H,s(a),N-H]; 8,31 (1H,d,J= 5,94Hz,H-2'); 6,85 (1H,s,H-8'); 4,18 (2H,c, J= 6,939,H-a); 3,87 (3H,s, H-j); 3,75 (3H,s,H-l); 3,72 (3H,s,H-k); 1,25 (3H,t,J= 6,939,H-b)

## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Considerando que el núcleo 5,6,7-trimetoxi-1,2-dihidroquinolina es el intermediario principal en la síntesis de las 1-benzoil-1,2-dihidroquinolinas sustituidas, se emprendieron un conjunto de reacciones para alcanzar tal finalidad. La adición conjugada a compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados constituye una de las vías más usadas para obtener compuestos  $\beta$ -amino carbonílicos [26,27]. Por esta razón, nos referimos a la síntesis I planteada anteriormente para iniciar la síntesis.

El primer paso de la síntesis fue la reacción entre la 3,4,5-trimetoxianilina 1 y el acrilato de metilo 2 mediante una reacción de adición Michael.

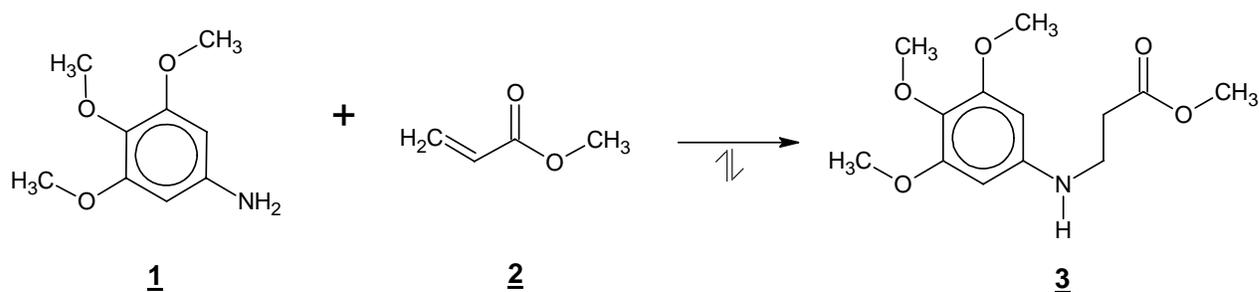


Tabla 3. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina 1 con acrilato de metilo 2

Relación molar ( <u>1</u> : <u>2</u> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <u>3</u>
1:1	78,4	44	HCl (2 gotas)	-----	-----
1:1,5	62	48	-----	-----	-----

La entrada 1 implicó el uso de etanol como solvente del reflujo, luego de 18 horas las placas de cromatografía de capa fina (C.C.F.) no mostraron avance alguno y

se agregaron 2 gotas de HCl concentrado a la mezcla de reacción para facilitar la adición nucleofílica de la anilina **1** al acrilato **2**. Transcurridas 26 horas desde la adición de HCl, la reacción se oscureció y la C.C.F. reveló muchas manchas presumiblemente producto de la descomposición. Previendo una posible descomposición, se decidió realizar el reflujo bajo atmósfera inerte (N<sub>2</sub>) y se sustituyó el solvente por CHCl<sub>3</sub>. Dado que no se evidenció avance de la reacción se decidió aumentar la cantidad de acrilato de metilo **2** en medio equivalente. La reacción se desmontó luego de 48 horas tras evidenciarse que no había progreso de la misma.

Los resultados negativos de estas reacciones nos condujeron a una reacción alternativa para lograr la síntesis del 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5** que luego pudiera ciclarse para obtener la 5,6,7-trimetoxi-1,2-dihidroquinolina. La 3,4,5-trimetoxianilina **1** actuando como nucleófilo puede sustituir al bromo del 3-bromopropionato de etilo **4** formando el ester **5** según la siguiente reacción:

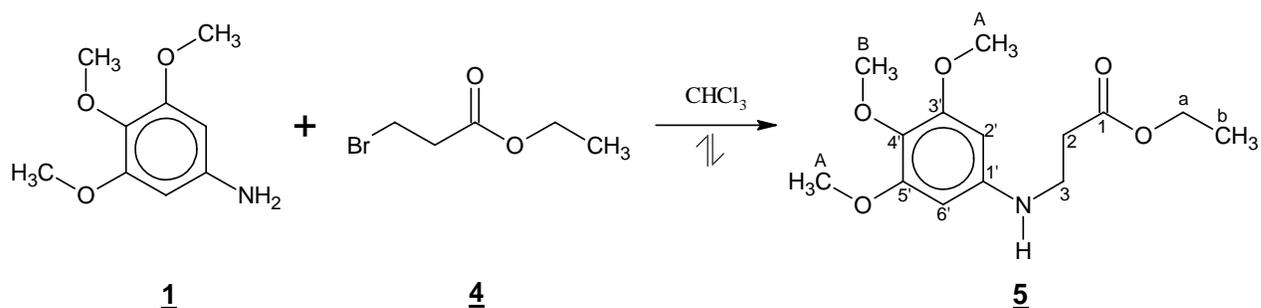


Tabla 4. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** con 3-bromopropionato de etilo **4**

Relación molar ( <b>1:4</b> )	Temperatura (±1 °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>5</b>
1:1	62	144	-----	33	Líquido amarillo
1:1	62	20	KI (0,019g, 0,114mmol)	-----	-----

En primer lugar, se intentó la síntesis mediante un reflujo bajo atmósfera de  $N_2$  y usando  $CHCl_3$  como solvente. Se obtuvieron 0,157g de un líquido amarillo viscoso. En el espectro IR (Espectro 1) se evidencia la banda de absorción carbono-oxígeno correspondiente al grupo carbonilo del éster en  $1725\text{cm}^{-1}$ , la banda de absorción a  $3400\text{cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento N-H de la amina secundaria y la banda de absorción a  $1605\text{cm}^{-1}$  a los enlaces C=C del anillo aromático. Los picos a  $1220\text{cm}^{-1}$  y  $1010\text{cm}^{-1}$  corresponden a los modos de vibración de los grupos metoxilo (C-O-C). El tiempo de reacción, excesivamente largo, no garantizó el avance de la misma y el aislamiento del 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5** fue largo y engorroso.

Otra alternativa fue usar KI (yoduro de potasio) como catalizador de la reacción de sustitución, la polarizabilidad del yodo lo hace un buen nucleófilo que desplazaría con mayor facilidad al bromo, esta situación favorecería un ataque posterior de la 3,4,5-trimetoxianilina al 3-yodopropionato de etilo, debido a que el yodo es mejor grupo saliente que el bromo, y obtener de esta manera el éster **5**. Desafortunadamente una gran cantidad de manchas en las placas de C.C.F., evidenciando mezclas complejas, hizo imposible separarlas para caracterizarlas por los métodos espectroscópicos.

Los largos tiempos y el escaso rendimiento de la reacción por calentamiento convencional nos llevaron a usar un tipo diferente de calentamiento. Los reactivos se sometieron a condiciones más severas de reacción a través del uso de microondas. La irradiación por microondas produce un calentamiento interno más eficiente por acoplamiento directo de la energía de la microonda con las moléculas que están presentes en la mezcla de reacción [23,24,25].

El microondas casero tiene dos posiciones que regulan la potencia de salida del horno, una es "COOK" correspondiente a la máxima potencia (550W; genera mayor temperatura en las reacciones) y la otra posición es "DEFROST" que corresponde a una

potencia menor (220W; se alcanzan temperaturas mas bajas). Las reacciones se llevaron a cabo sin solvente y mezclando íntimamente el  $K_2CO_3$  con la anilina **1** antes de agregar el éster sustituido **4**. El recipiente de reacción utilizado fue un tubo de ensayo parcialmente cerrado.

*Tabla 5. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** con 3-bromopropionato de etilo **4** en microondas*

Relación molar ( <b>1:4</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (min)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>5</b>
1:1	MW "COOK"	2	$K_2CO_3$ (exceso)	42	Líquido amarillo viscoso
1:1 a 1:3	MW "COOK"	2,5	$Na_2CO_3$ (exceso)	~35	Líquido amarillo viscoso
2:1 a 1:1	MW "COOK"	2	$K_2CO_3$ (0,155g;1,12mmol)	~35	Líquido amarillo viscoso
1:1	MW "COOK"	2 – 8	$K_2CO_3$ (0,155g;1,12mmol)	~20	Líquido amarillo viscoso
1:1	MW "COOK"	2 – 8	$K_2CO_3$ (0,155g;1,12mmol) TBAB (catalíticas)	~40	Líquido amarillo viscoso

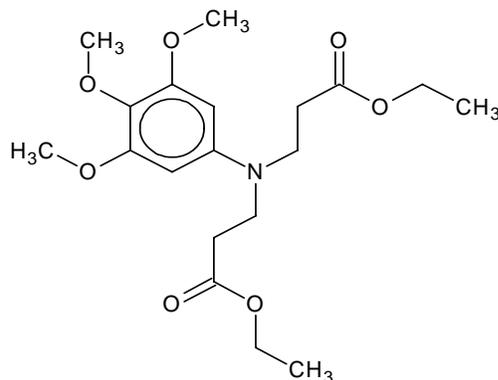
En la primera reacción se observó un resultado interesante, dado que aumentó el rendimiento en comparación con el calentamiento convencional (de 33% a 42%). Sin embargo, no se completó la reacción y en los siguientes ensayos se buscaron las condiciones para alcanzar este propósito variando algunos parámetros (relación molar, el tiempo de exposición y catalizadores).

Para la siguiente reacción se aumentó progresivamente la relación molar entre la 3,4,5-trimetoxianilina 1 y el 3-bromopropionato de etilo 4, comenzando por la proporción 1:1 hasta 1:3, manteniendo constante el tiempo de exposición en 2 minutos con 30 segundos. De los resultados observados se concluyó que un aumento de 3-bromopropionato de etilo 4 no incrementaba el rendimiento de la reacción.

En la reacción de la tercera entrada se planeaba agregar paulatinamente el éster 4 hasta alcanzar la equivalencia con la anilina 1, se esperaba fuera reaccionando en la medida que se agregaba. No obstante, tras las primeras adiciones y exposiciones al microondas las placas de C.C.F. no mostraron avance alguno de la reacción, solo se obtuvo el producto una vez que se alcanzó a agregar la cantidad equivalente a la 3,4,5-trimetoxianilina 1. Por tanto, el rendimiento fue similar al de intentos anteriores.

En esta oportunidad, las variaciones en las relaciones molares de los reactivos no causaron diferencias notables en el rendimiento de la reacción. Se planeó elevar los tiempos de exposición al microondas (entrada 4, tabla 5) dejando invariable la relación molar entre reactivos. Para tiempos de exposición de 2 a 4 minutos los resultados fueron similares a los obtenidos en ensayos anteriores, luego de 6 minutos de exposición, la mezcla se iba oscureciendo y una vez que estaba fundida tendía a escapar del tubo de ensayo.

Es notable la disminución del rendimiento de la reacción con el aumento del tiempo que se expone la misma al microondas; la C.C.F. revela la aparición de un compuesto menos polar que el 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo 5. Análisis posteriores revelaron que se trataba del compuesto disustituido 3,4,5-trimetoxianilino-N,N-dipropanoato de etilo 6. Las condiciones de reacción favorecen la formación del producto disustituido por encima del producto monosustituido 5 logrando disminuir la proporción de este último en la reacción.

**6**

En la última reacción se distribuyeron de manera mas uniforme los reactivos, adsorbiéndoles sobre carbonato de potasio; para ello se disolvió la 3,4,5-trimetoxianilina en la menor cantidad  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se añadió el bromo éster, luego se saturó con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y finalmente se evaporó el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a presión reducida quedando los reactivos adsorbidos sobre el carbonato.

El éxito en las reacciones de sustitución ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ) depende de la fuerza del nucleófilo. Recientes investigaciones han encontrado la vía para hacer reaccionar nucleófilos cuyo par libre esta deslocalizado (como es el caso de la 3,4,5-trimetoxianilina **1**) usando catalizadores como el bromuro de tetrabutilamonio (TBAB) [28]. Se sabe que el efecto de las microondas se debe a la interacción onda-materia y al fenómeno de polarización dipolar; mientras mayor sea la polaridad de una molécula mas pronunciado es el efecto de las microondas si se considera el aumento de temperatura. El TBAB le aporta al medio una mayor polaridad y se esperaba un aumento en la reactividad que incrementara los rendimientos de la reacción. Sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios y se repitieron las experiencias anteriores.

La dificultad inherente a estas reacciones en el horno microondas deriva, entre otras posibles razones, de la volatilidad del 3-bromopropionato de etilo **4**. Fue un obstáculo hacerlo permanecer el mayor tiempo posible junto con la mezcla de reacción. Por esta razón, se planteó la síntesis de un éster menos volátil que permaneciera más tiempo en la mezcla de reacción con la 3,4,5-trimetoxianilina **1**. Se procedió a obtener el 3-bromopropionato de piperonilo a partir del alcohol piperonílico **7** y cloruro de 3-bromopropionilo **8** tal como se muestra en la siguiente reacción:

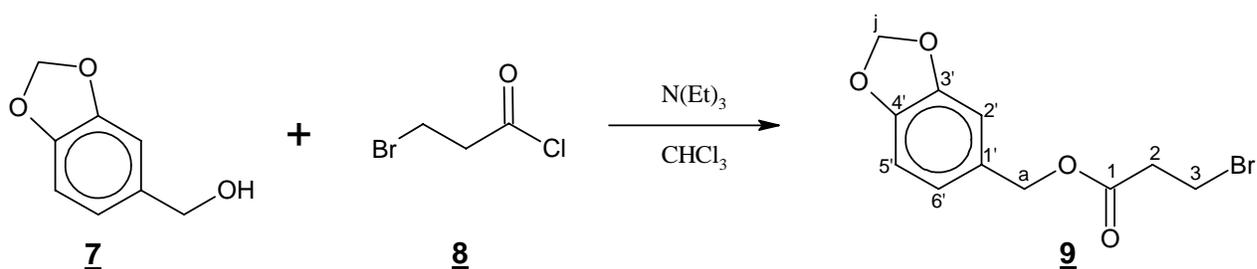


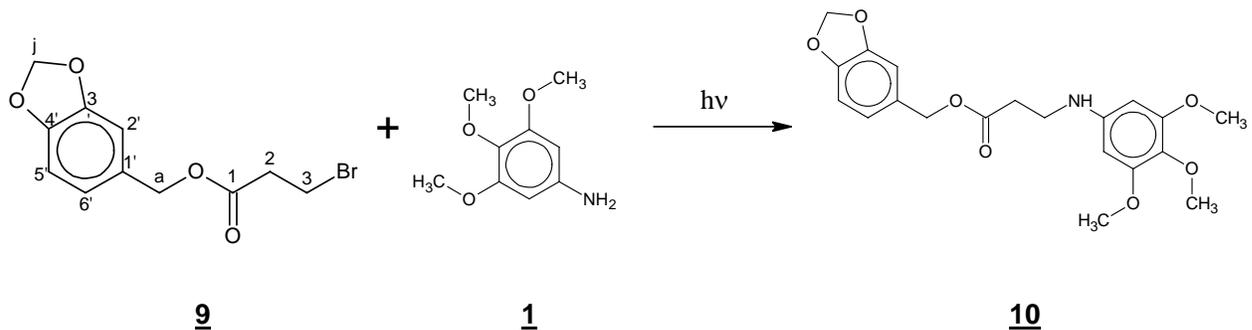
Tabla 6. Obtención de 3-bromopropionato de piperonilo **9**

Relación molar ( <b>7:8</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>9</b>
1:1	26	15	N(Et) <sub>3</sub> (1,83mL; 1,330g; 13,14mmol)	57	Líquido amarillo muy viscoso

Como se aprecia en la Tabla 6 el rendimiento no fue el esperado, en parte por las pérdidas en la etapa de purificación del producto. Sin embargo, se obtuvo una cantidad suficiente para el siguiente paso de la síntesis. En el espectro IR (Espectro 2) se puede observar la presencia de la banda de absorción anillo aromático-hidrogeno a  $3025\text{cm}^{-1}$ , las bandas de absorción a  $2880\text{cm}^{-1}$  y  $2760\text{cm}^{-1}$  correspondientes a los

modos de vibración del enlace C-H de los metilenos. Se evidencia la banda de absorción carbono-oxígeno correspondiente al grupo carbonilo del éster en  $1715\text{cm}^{-1}$  y la banda de las absorciones carbono-oxígeno del grupo metilendioxi. Se comprueba la ausencia de una banda de absorción alrededor de  $3400\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace oxígeno-hidrógeno de los alcoholes.

En los espectros de RMN- $^1\text{H}$  (Espectro 3) se observa alrededor de 2,92ppm ( $J=6,75\text{Hz}$ ) un triplete correspondiente a los protones metilénicos-2 y un triplete a 3,56ppm ( $J=6,75\text{Hz}$ ) correspondiente a los protones metilénicos-3 del éster. En 5,07ppm se observa un singlete asignado a los protones metilénicos-a, alrededor de 5,94ppm se aprecia un singlete correspondiente a los protones j de los metilendioxi. Finalmente y debido a la baja resolución del espectro, se aprecian muy unidas las señales que corresponden a los desplazamientos químicos de los protones aromáticos en una zona que va desde los 6,75ppm y 6,85ppm. En los espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  (Espectro 4) se observa la señal a 170,37ppm correspondiente al carbono carbonílico del éster; en 147,75ppm la señal del carbono 3'; en 147,04ppm la señal asignada al carbono 4'; las señales en 134,95ppm; 122,35ppm; 109,06ppm; 108,24ppm corresponden a los carbonos 1', 6', 5' y 2' respectivamente. Una señal en 101,18ppm le corresponde al carbono j; en 66,78ppm se aprecia la señal asignada al carbono-a. Las señales de los carbonos metilénicos del éster se observan en 37,72ppm para el carbono 2 y 25,78ppm para el carbono 3. Una vez obtenido el 3-bromopropionato de piperonilo **9** se procedió a hacerlo reaccionar con la 3,4,5-trimetoxianilina **1** según la siguiente reacción:



*Tabla 7. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina 1 con el 3-bromopropionato de piperonilo 9 en microondas.*

<b>Relación molar (1:9)</b>	<b>Temperatura (<math>\pm 1</math> °C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Catalizador (cantidad)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Características físicas <u>10</u></b>
1:1	MW "COOK" / "DEFROST"	1 - 4	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,044g; 0,41mmol)	-----	-----
1:1	MW "COOK"	1 - 4	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (0,096g; 0,69mmol)	-----	-----

En la primera reacción se desprendieron gases de la mezcla de reacción en el microondas impidiendo que la reacción alcanzara el minuto de reacción. Se realizaron pequeñas extracciones antes de realizar la C.C.F. y los resultados mostraron una gran cantidad de manchas incluyendo la generada por el 3-bromopropionato de piperonilo muy difíciles de separar. El etilenglicol tiene un factor de disipación elevado (mayor que el del agua), por tanto, alcanza temperaturas muy altas cuando se irradia con microondas; para garantizar las condiciones de sustitución necesarias del bromo en el 3-bromopropionato de piperonilo por la 3,4,5-trimetoxianilina se consideró como solvente en esta reacción. La potencia del horno microondas provocó el aumento acelerado de la temperatura en la mezcla impidiendo que se completara el tiempo de reacción. En las próximas experiencias, la potencia del horno microondas fue reducida de COOK a DEFROST con la finalidad de cumplir con los tiempos de exposición a la radiación, pautados previamente para cada reacción.

Catalogando como muy severas las condiciones de reacción anteriores, se procedió a realizar de nuevo la reacción, esta vez sin solvente en el medio. Para tiempos de exposición de 1 a 4 minutos los resultados fueron negativos.

Algunos investigadores [29,30] han propuesto el uso de agua como solvente en reacciones de adición Michael promovidas por irradiación de microondas para mejorar el rendimiento de las mismas, dado que, se incrementa la polaridad del medio y se facilitaría un posible efecto micelar del agua en la protonación del enolato que resulta por la adición de la amina, lo que completaría la reacción. A continuación se exponen las condiciones usadas para estos ensayos (tabla 8, *vide infra*):

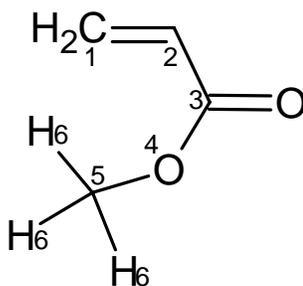
**Tabla 8.** Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina 1 con acrilato de metilo 2 en microondas

Relación molar ( <u>1:2</u> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (min)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <u>3</u>
1:1	Mw "COOK"	2 - 12	-----	-----	-----

Cuando se expuso la mezcla de reacción a 2, 4, 6 y 8 minutos no se evidenciaron progresos en la reacción por C.C.F. pero al exponerse por 10 y 12 minutos las placas mostraron múltiples manchas: se presume la descomposición de la mezcla de reacción por las altas temperaturas y tiempo de exposición largo alcanzados en el horno microondas. La volatilidad del acrilato de metilo y la falta de un condensador adaptado al horno para hacer reflujo no le permitían permanecer en la mezcla escapando del seno de la misma evitando reaccionar con la 3,4,5-trimetoxianilina. Se descartó el uso del horno microondas para reacciones posteriores.

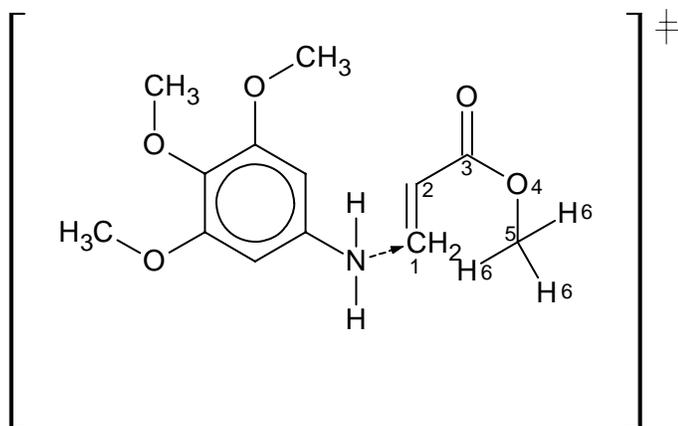
La obtención de resultados adversos en reacciones de adición con acrilato de metilo 2, nos sugieren que hay impedimentos estéricos en el sustrato que evitan la aproximación de la 3,4,5-trimetoxianilina 1. Tal sugerencia se apoya en la *regla de los seis de Newman* [31] que reza "si se enumeran los átomos en compuestos ramificados comenzando con el átomo del grupo insaturado mas distante de la cadena entonces, mientras mayor sea el numero de átomos en posición seis, mayor será el impedimento

estérico a la adición. Por esta razón, suponiendo que el acrilato de metilo **2** tiene una estructura helicoidal, con longitudes y ángulos de enlace normales, es posible demostrar, que los tres átomos de hidrogeno del metilo en posición seis se acercan al doble enlace (*fig. 10*). En este sentido, la aproximación de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** esta impedida en una de las direcciones.



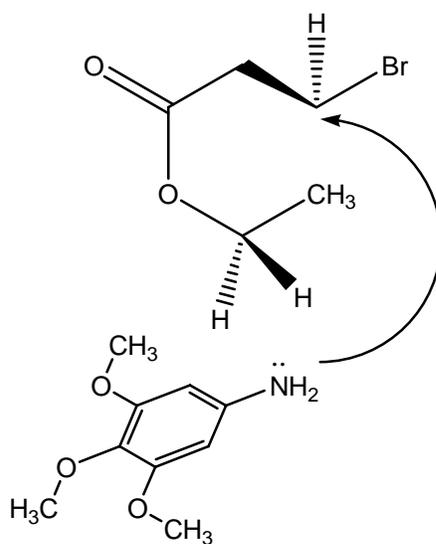
**Figura 10.** Enumeración de Newman para el acrilato de metilo en una estructura helicoidal

Sin embargo, algunos autores como E.S. Gould [32] señalan que aquellos átomos que son más efectivos en la obstrucción estérica a la adición, están separados del átomo atacante en el estado de transición por una cadena de cuatro átomos (*Fig. 11*). En este caso el carbono del grupo metilo (y por consiguiente los tres átomos de hidrogeno) esta mas cerca del camino que recorre el agente atacante.



**Figura 11.** Estructura helicoidal del estado de transición para la adición al acrilato

Los factores estéricos son particularmente importantes para las reacciones que transcurren por mecanismo  $S_N2$ . La formación del enlace con el nucleófilo forma parte del paso que controla la velocidad. A medida que el nucleófilo se aproxima al centro de reacción, aumenta la congestión estérica. Un modelo helicoidal de la molécula de 3-bromopropionato de etilo **4** muestra que la aproximación de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** desde el lado opuesto se encuentra fuertemente impedida por el grupo etilo de la porción alcohólica del éster (*Fig. 12*). Aunque la interpretación es paralela, la regla de seis de Newman no es aplicable para predecir el efecto estérico en reacciones de sustitución nucleofílica porque los átomos de carbono que sufren la sustitución no son tetraédricos en el estado de transición.



**Figura 12.** Modelo helicoidal del 3-bromopropionato de etilo

Las vías de síntesis consideradas hasta ese momento no produjeron los resultados esperados y se decidió explorar una nueva ruta sintética, planteada en la síntesis III, que consistía en tres pasos: 1. Preparación de la amida, 2. Alquilación de la amida con acrilato de metilo y 3. Ciclación.

La amida se obtuvo a partir de 4-aminoveratrol **11** y cloruro de 3,4,5-trimetoxibenzoilo **12** tal como se muestra en la siguiente reacción:

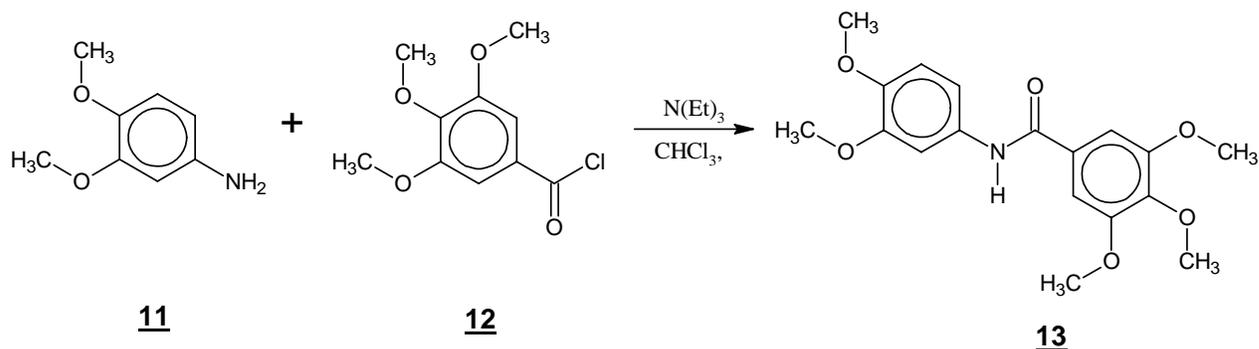
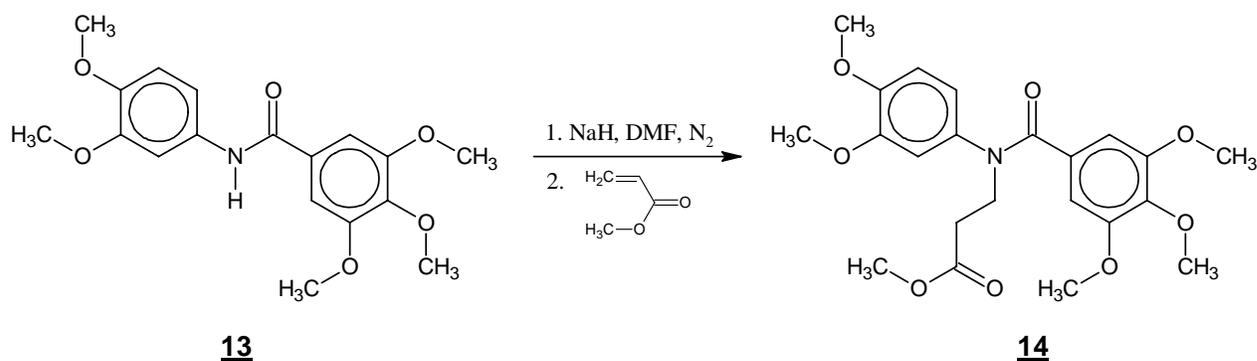


Tabla 9. Obtención de la N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida **13**

Relación molar ( <b>11:12</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>13</b>
1:1	0	41	N(Et) <sub>3</sub> (0,91mL; 0,660g; 6,53mmol)	44	Sólido vinotinto

En el espectro IR (Espectro 5) se evidencia la aparición de un solo pico en la zona de absorción N-H, la banda de absorción carbono-oxígeno del grupo carbonilo se aprecia a  $1650\text{cm}^{-1}$ , una longitud de onda mas larga (menor frecuencia) de lo usual debido a la gran deslocalización electrónica en la amida. Las bandas de absorción carbono-hidrogeno del grupo metilo corresponden a  $2980\text{cm}^{-1}$  y  $2880\text{cm}^{-1}$ , mientras que, las bandas de absorción carbono-hidrogeno del grupo metileno corresponden a  $2920\text{cm}^{-1}$  y  $2820\text{cm}^{-1}$ . Las bandas de absorción a  $1220\text{cm}^{-1}$  y  $1020\text{cm}^{-1}$  se les asignaron a los modos de vibración de los enlaces carbono-oxígeno de los grupos metoxilo en los anillos.

El segundo paso de la reacción consistía en la adición de la benzamida **13** al acrilato de metilo **2**, considerando la baja nucleofilidad de la benzamida (deslocalización electrónica del par libre sobre el nitrógeno) se decidió previamente abstraer el protón con hidruro de sodio y aumentar la reactividad de la misma para obtener el propanoato 3-[N-(3,4)-dimetoxifenil]-3,4,5-trimetoxibenzamido] de metilo **14** según la siguiente reacción:



*Tabla 10.* Reacciones de la N-(3,4-dimetoxifenil)-3,4,5-trimetoxibenzamida **13** con acrilato de metilo **2**

Relación molar ( <b>13:2</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>14</b>
1:1	- 5 inicial 25 final	3	-----	-----	-----
1:1	-5 inicial 130 reflujo	20	-----	-----	-----

Al agregar la benzamida **13** al NaH se observó una gran cantidad de burbujas que sugieren la formación de la amida sódica, la reacción fue seguida por C.C.F. luego

de la adición del acrilato de metilo. Después de 1 hora en agitación a  $-5^{\circ}\text{C}$  se dejó en agitación a temperatura ambiente por 2 horas, los resultados de C.C.F. revelaron que se trataba de la benzamida de partida **13**. Estos resultados nos llevaron a usar condiciones de reacción más severas. Posterior a la adición del acrilato de metilo se inicio un reflujo por 20 horas pero las placas de C.C.F. revelaron manchas con el mismo Rf que el producto de partida. Esta evidencia fue corroborada por espectroscopia luego de aislar 20mg de un sólido de la mezcla de reacción y analizarla por IR, las bandas de absorción observadas se asemejan a las de la benzamida **13**. La alquilación infructuosa de la benzamida supuso el fin de esta ruta alternativa de síntesis.

Una vez más, ante los resultados negativos de las reacciones anteriores, se decidió usar una reacción diferente para la preparación del núcleo quinolinico y se intento realizar la adición nucleofílica de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** al propiolato de etilo **15** seguida de una reducción por hidrogenación catalítica al doble enlace del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo **16** tal y como se planteo en la síntesis propuesta IV.

Para la reacción entre la 3,4,5-trimetoxianilina **1** y el propiolato de etilo **15** se empleó como catalizador la trietilamina obteniéndose el 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo **16**.

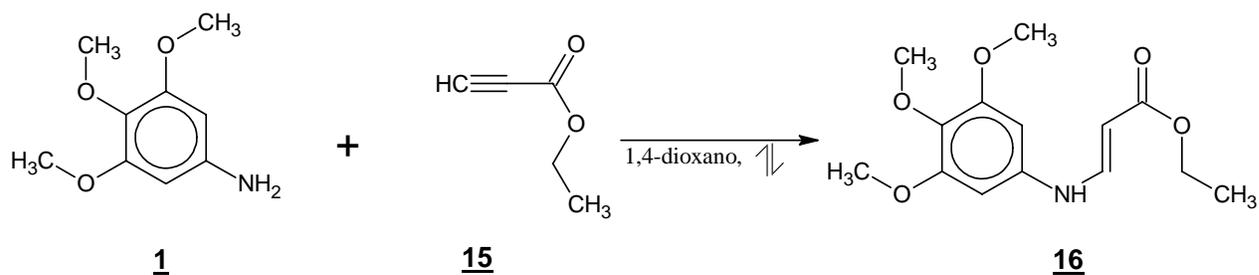


Tabla 11. Obtención del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de etilo **16**

Relación molar ( <b>1:15</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>16</b>
1:1	100	30	N(Et) <sub>3</sub> (1 gota)	52	Líquido amarillo

En el espectro IR (Espectro 6) se evidencia la banda de absorción débil para las vibraciones de estiramiento N-H a  $3400\text{cm}^{-1}$ ; en  $1710\text{cm}^{-1}$  se aprecia la banda de absorción carbono-oxígeno del grupo carbonilo del éster y en  $1590\text{cm}^{-1}$  la banda de absorción característica del estiramiento C=C de alquenos conjugados. Se destaca la ausencia de la banda de absorción entre  $3340\text{cm}^{-1}$  y  $3250\text{cm}^{-1}$  asignables a las vibraciones de estiramiento H-C≡C, así como también las asignadas a las vibraciones de estiramiento C≡C entre  $2260\text{cm}^{-1}$  y  $2100\text{cm}^{-1}$ .

Se probó la reducción del acrilato **16** en el hidrogenador Parr usando Pd/C 10% como catalizador de la hidrogenación catalítica a temperatura ambiente.

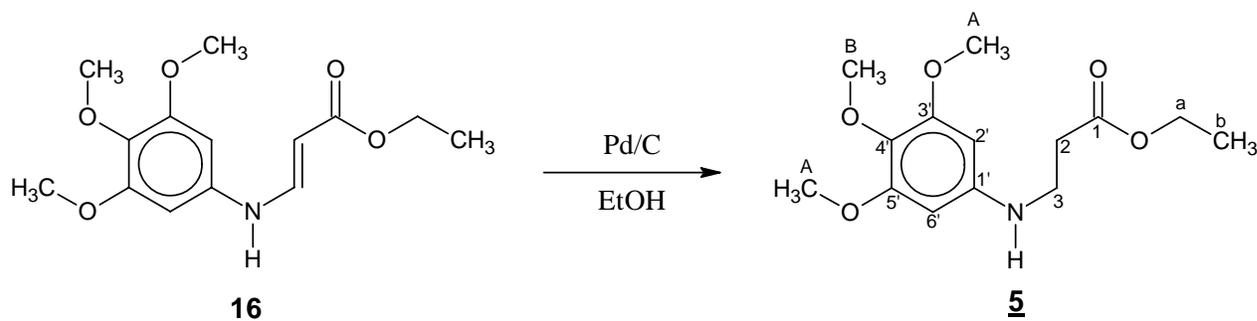


Tabla 12. Intento de síntesis de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**

Moles de acrilato <b>16</b>	Gramos de catalizador	Presión (lbs/pulg <sup>2</sup> )	Tiempo (h)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>5</b>
0,75mmol (0,2g)	0,040	40	24	-----	-----

Una vez aislado el “posible producto” se le realizó una C.C.F. comparativa con el producto de partida, se observaron una variedad de manchas entre las que se encontraba la del acrilato **16**. Posteriormente, se realizó un espectro IR al “posible producto” constatándose que no se redujo la banda de absorción C=C característica de la insaturación del éster en  $\alpha,\beta$  a 1590cm<sup>-1</sup>. Este resultado negativo evidenció que las hidrogenaciones catalíticas del doble enlace a sistemas fenilaminoacrilatos son difíciles de realizar, la complicación surgiría por la conjugación con el nitrógeno, creando un sistema con mucha deslocalización que estabiliza el sistema y por lo tanto hace más difícil que ocurra la reacción.

Debido a los resultados obtenidos con el propiolato de etilo **15**, se decidió ensayar bajo estas mismas condiciones la reacción entre la 3,4,5-trimetoxianilina **1** y el acrilato de metilo **2**. Se esperaba que el carbono terminal del doble enlace olefinico en el acrilato fuese mas susceptible a la adición nucleofílica que el carbono terminal del triple enlace en el propiolato, debido a que este último presenta mayor densidad electrónica. De este modo se evitaba también la reducción posterior.

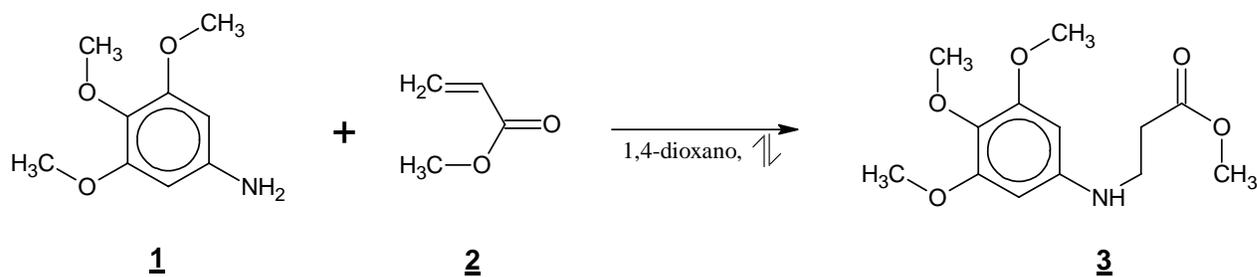


Tabla 13. Reacciones de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** con acrilato de metilo **2** en 1,4-dioxano y usando N(Et)<sub>3</sub> como catalizador

Relación molar ( <b>1:2</b> )	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>3</b>
1:3	101	8	N(Et) <sub>3</sub> (2 gotas)	8	Líquido amarillo
1:4	101	5	N(Et) <sub>3</sub> (2 gotas)	39	Líquido amarillo
1:5	101	6	N(Et) <sub>3</sub> (3 gotas)	15	Líquido amarillo

Durante la fase de exploración de la reacción (entradas 1 y 2) se observó como el aumento de acrilato en el medio favorecía la formación del 3-(3,4,5-trimetoxifenilamino)acrilato de metilo **3**. Sin embargo, se apreció una disminución del rendimiento cuando se aumentó la relación molar de los reactivos **1** y **2** desde 1:4 a 1:5, se presume que las cantidades superiores en el último ensayo (entrada 3) requerían un tiempo mayor de exposición al reflujo, sin embargo se logró aislar un líquido amarillo que fue caracterizado por espectroscopia infrarrojo (IR).

En el espectro IR (Espectro 7) se evidencia la presencia de una sola banda de absorción a  $3380\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la amina secundaria, la banda de absorción a  $1720\text{cm}^{-1}$  corresponde a la absorción carbono-oxígeno del éster que pierde la conjugación y aparece a una frecuencia más alta.

La severidad de las condiciones de reacción (en comparación con aquellas usadas en los primeros ensayos) garantiza la adición nucleofílica de la 3,4,5-trimetoxianilina **1** al acrilato de metilo **2**. Sin embargo, los resultados alcanzados no satisficieron las consideraciones expuestas previamente a la realización del ensayo y se obtuvo un mejor rendimiento con propiolato que con acrilato de metilo. Los hechos sugieren que, el propiolato de metilo es más reactivo que el acrilato de metilo frente a una adición nucleofílica. Esta observación está soportada en los cálculos *Ab initio*, que

indican que en el estado de transición de una adición nucleofílica, se forman enlaces mas fuertes carbono-hidrogeno que estabilizan el HOMO de los alquinos en comparación con el de los alquenos, de este modo la estabilización de la transferencia de carga en el estado de transición es mayor para los alquinos [33]. Esta vía sintética se descartó por los bajos rendimientos alcanzados.

Considerando que el obstáculo principal en las reacciones con microondas era la dificultad para mantener el 3-bromopropionato de etilo **4** en la mezcla de reacción, se planteó realizar un reflujo solamente con los reactivos (sin solventes) como lo detalla la siguiente reacción:

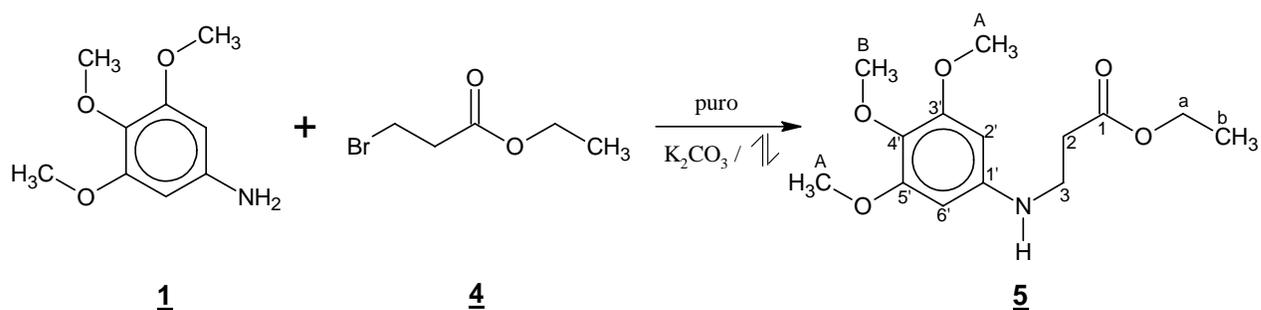


Tabla 14. Obtención de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**

Relación molar (1:4)	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>5</b>
1:2	115	4	-----	82	Líquido amarillo viscoso
1:2	115	22	-----	66	Líquido amarillo viscoso

Bajo estas condiciones se superaron los rendimientos alcanzados por otras vías, se obtienen los productos mas limpios que en ensayos anteriores haciendo que las labores de purificación del producto sean mucho mas sencillas. En la primera reacción se obtuvieron 127mg de un líquido amarillo viscoso con un rendimiento de 82%. Dados los resultados, se procedió a repetir las condiciones de reacción con mayor cantidad de reactivos para obtener suficiente 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo 5, necesarios para los siguientes pasos de la síntesis.

La segunda reacción se llevó a cabo siguiendo los pasos del ensayo precedente, solo que en esta ocasión los tiempos de reacción se aumentaron debido a la gran cantidad de reactivo que permanecía sin reaccionar. La reacción fue seguida por C.C.F. y luego de 22 horas fue desmontada porque la proporción de las manchas no variaba. Debido a que la reacción no se completó (como si ocurrió con la reacción 33) se procedió a purificar 8112mg de producto crudo a través de una columna cromatográfica (C.C.). Durante el seguimiento de las fracciones eluidas por C.C.F. se aprecia la aparición de la mancha menos polar (previamente comentada en la reacción con microondas), estas fracciones fueron reunidas y aislada para análisis posteriores, finalmente se obtuvieron 5083mg de un líquido amarillo viscoso que fue caracterizado por técnicas espectroscópicas IR, RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$ .

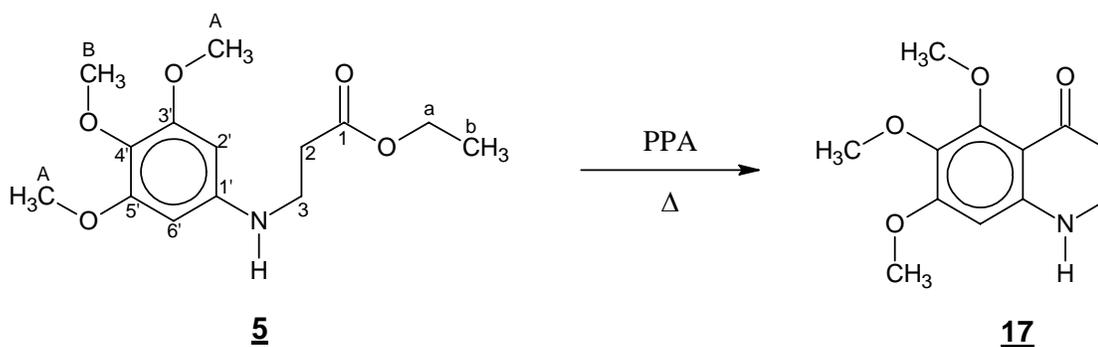
En el espectro de IR (Espectro 8) se puede observar la presencia de una sola banda de absorción media en  $3400\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace nitrógeno-hidrogeno del grupo amino secundario, la banda de absorción en  $1720\text{cm}^{-1}$  corresponde al enlace carbono-oxigeno del grupo carbonilo del éster, la banda en  $1590\text{cm}^{-1}$  se atribuye al doble enlace carbono-carbono de los aromáticos y las bandas intensas en  $1200\text{cm}^{-1}$  y  $1020\text{cm}^{-1}$  a los modos de estiramiento del enlace carbono oxigeno de los grupos metoxilo.

En los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (Espectro 9) se observa alrededor de 4,14ppm (J= 7,26Hz) un cuádruplete correspondiente a los protones metilénicos del éster y un triplete en 1,24ppm (J= 7,26Hz) de los protones metílicos del éster. Los protones de los grupos metoxilos A y B se observan como señales intensas en 3,79ppm y en 3,74ppm respectivamente; en 3,40ppm se observa un triplete que fue asignado a los protones metilénicos 3 (β al carbonilo) (J= 6,26Hz) y alrededor de 2,60ppm se observa un triplete que fue asignado a los protones metilénicos 2 (α al carbonilo) (J= 6,29Hz); en 5,86ppm un singlete que fue asignado a los protones 2' y 6'. El singlete que se observa alrededor de 7,24ppm fue asignado al protón de restos de cloroformo no deuterado.

En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Espectro 10) se observa el número de señales esperadas para el compuesto, entre ellas a 172,48ppm la correspondiente al carbono carbonílico del éster, a 154,07ppm para los carbonos cuaternarios 3' y 5'; 144,24ppm correspondiente al carbono cuaternario 1'; 130,61ppm para el carbono 4'; 91,03ppm de los carbonos 2' y 6'; 61,15ppm del carbono metilénico a; 56,05ppm correspondiente a los carbonos de los grupos metoxilos A y 60,79ppm del carbono del grupo metoxilo B; 40,22ppm del carbono metilénico 3; 33,21 señal del carbono metilénico 2 y finalmente a 14,27ppm la señal del carbono b. Se realizó una C.C.F. comparativa entre el grupo de fracciones aisladas y el 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**, se comprobó que el R<sub>f</sub> de este conjunto era mayor que el R<sub>f</sub> mostrado por la mancha del producto. Luego se tomaron 20mg de estas fracciones para realizar un espectro IR (Espectro 11), donde se aprecia un aumento (en comparación con el espectro de 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**) de las intensidades en 1720cm<sup>-1</sup> que corresponde a la absorción carbono-oxígeno del carbonilo, en 2960cm<sup>-1</sup> y 2920cm<sup>-1</sup> correspondiente a los grupos alquilo y en 1200cm<sup>-1</sup> y 1020cm<sup>-1</sup> correspondiente a los estiramientos del enlace C-O del éster. Posteriormente a esta fracción se le realizó un espectro de masas (Espectro 12) para verificar que se trataba del 3,3-(3,4,5-trimetoxianilino)dipropoato de dietilo **6**. Un pico para el ión molecular a 384,4 uma

corroborar la formación de este compuesto cuyo peso molecular es 383,43 g/mol. La formación de este subproducto se debió al mayor tiempo de exposición a calentamiento a la que fue sometida la mezcla de reacción. En la primera reacción no se formó, quizás, porque el tiempo de reacción fue mucho más corto y se usó un volumen de recipiente grande para las cantidades de reactivos usadas; en cambio para la segunda reacción, la relación volumen del recipiente/cantidades de reactivos no fue el mismo lo que pudo llevar a un sobrecalentamiento local que devino en la formación del producto disustituido. Esto pareciera un detalle insignificante pero no siempre aumentar las cantidades conlleva a los mismos resultados como se verificó en esta reacción.

Una vez obtenido el 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5** se procedió a intentar la ciclación con ácido polifosfórico (PPA). El PPA es un líquido incoloro, higroscópico y extremadamente viscoso que consiste en una mezcla de ácidos fosfóricos condensados (ácido ortofosfórico, ácido pirofosfórico y ácidos polifosfóricos lineales) que tiene un contenido teórico de  $P_2O_5$  de 81% a 85% [34]. Entre las ventajas que tiene el uso del PPA están: (1) la simplicidad de los montajes para la reacción; (2) la reacción se puede seguir fácilmente; (3) los rendimientos son muy altos y los productos tiene elevada pureza; (4) se evitan las reacciones colaterales, como el clivaje de ésteres y la sulfonación; (5) el material de partida no necesita estar puro y (6) es aplicable a un gran numero de ciclaciones [35]. La reacción de ciclación es la siguiente:



Los factores claves que inciden en el rendimiento de las reacciones de ciclacion con el PPA son la temperatura y el tiempo de reacción. Para determinar la temperatura óptima requerida para la ciclacion del 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**, se realizaron una serie de ensayos que se observan en la tabla a continuación (*vide infra*):

Tabla 15. Intento de síntesis de la 5,6,7-trimetoxi-2,3-dihidroquinolin-4-ona **17**

Moles de ester <b>5</b>	Gramos de PPA	Temperatura ( $\pm 1$ °C)	Tiempo (h)	Rendimiento (%)	Características físicas <b>17</b>
1,81mmol (0,514g)	2,954g	Variable de -5 a 27	0,37	-----	-----
1,89mmol (0,535g)	2,026g	Variable de 60 a 120	7,5	-----	-----
0,94mmol (0,266g)	3,435g	180	1,5	-----	-----
2,16mmol (0,611g)	7,243g	150	0,75	-----	-----
0,35mmol (0,100g)	0,327g	90	3	-----	-----
0,43mmol (0,121g)	0,207g	130	0,5	-----	-----
1,08mmol (0,305g)	3,104g y 0,5mL (0,823g, 5,36mmol) de POCl <sub>3</sub>	130	2	-----	-----

Los investigadores sugieren seguir el cambio de color de la mezcla, de un amarillo claro a un rojo intenso como indicio de culminación para la reacción. En el primer ensayo (tabla 15, fila 1), la temperatura inicial de la mezcla fue de  $-5^{\circ}\text{C}$  (baño hielo-agua), la coloración amarilla de la mezcla permaneció constante, por lo tanto, se debía aumentar la temperatura de la reacción, se removió el balón del baño hielo-agua para dejarlo alcanzar la temperatura ambiente. La mezcla cambiaba de un color amarillo a uno marrón oscuro, se decidió seguir la reacción por C.C.F. (en AcOEt, se diluyó una gota de la muestra de reacción con una mezcla agua-hielo, se neutralizó la solución y se realizó una microextracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  que luego se aplicó en las placas) y la misma reveló una sola mancha cuyo  $R_f$  era el mismo que el del producto de partida. Se concluye que la temperatura de ciclacion fue baja.

Se realizó de nuevo el montaje para la reacción, la temperatura inicial fue  $60^{\circ}\text{C}$  y se apreció el cambio de color de la mezcla de amarillo a rojo intenso (indicado por la literatura). Se decidió realizar una C.C.F. para confirmar el progreso de la reacción, la placa indicaba una mancha del mismo  $R_f$  que la mancha del producto de partida. Se aumentó la temperatura del baño a  $85^{\circ}\text{C}$  y finalmente a  $120^{\circ}\text{C}$  pero las placas de C.C.F. evidenciaron el estancamiento de la reacción. En este punto se decidió cambiar el solvente de extracción a AcOEt debido a las emulsiones formadas cuando se empleaba  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

En los próximos dos ensayos se decidió aumentar la proporción en peso de PPA / 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5**, pasando de 5:1 a 10:1. A pesar que se requirieron cantidades proporcionales de agua para diluir la mezcla de reacción, se esperaba que un aumento en la cantidad de PPA usada aumentara el rendimiento de la reacción. A la mezcla de reacción realizada a  $180^{\circ}\text{C}$  fue imposible realizarle extracción debido a una emulsión estable formada, aún cuando se empleo AcOEt.

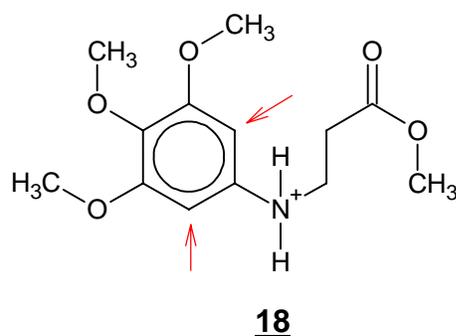
Cuando la reacción se expuso en un baño a 150°C, la mezcla adquirió la coloración roja intensa. Se obtuvo un sólido amarillo impuro que fue purificado por cromatografía de capa preparativa (C.C.P.); solo se extrajo la franja mas ancha y se realizó un espectro infrarrojo de este sólido purificado. En el espectro IR se evidencia la ausencia de las absorciones para el estiramiento N-H alrededor de  $3400\text{cm}^{-1}$ , del estiramiento carbono-oxígeno del grupo carbonilo en la zona de  $1700\text{cm}^{-1}$ . Evidentemente, no es el producto de interés sino algún producto de la descomposición del éster 5.

Para los intentos cuatro y cinco (tabla 15, filas 5 y 6) se disminuyó la proporción PPA / éster 5. Las nuevas proporciones 3:1 para el intento cuatro y 2:1 para el intento cinco, se utilizaron ya que, por tratarse de una acilación intramolecular no era necesario usar cantidades muy grandes de PPA. La reacción fue seguida por C.C.F. pero no se observaron manchas adicionales a la provocada por el producto de partida. De estos ensayos se apreció que se lograba extraer mejor con AcOEt cuando el pH durante la neutralización era 4 en lugar de 8. Esta observación se aplicó en el ensayo siguiente.

En los reportes originales de Snyder y Werber [36] sobre las ciclodeshidrataciones con PPA, se describió que cuando se intentó la ciclación con PPA únicamente, no se logró aislar el producto y que se requería la presencia en el medio de una pequeña cantidad de  $\text{POCl}_3$ . Considerando esta posibilidad se realizó un nuevo ensayo usando  $\text{POCl}_3$  en la mezcla de reacción. La reacción procedió de una manera mas limpia, se extrae más eficientemente con AcOEt y no se observó la emulsión de las reacciones anteriores. La C.C.F evidenció varias manchas que fueron separadas por C.C.P., lográndose aislar un líquido marrón, al cual se le realizó un espectro IR.

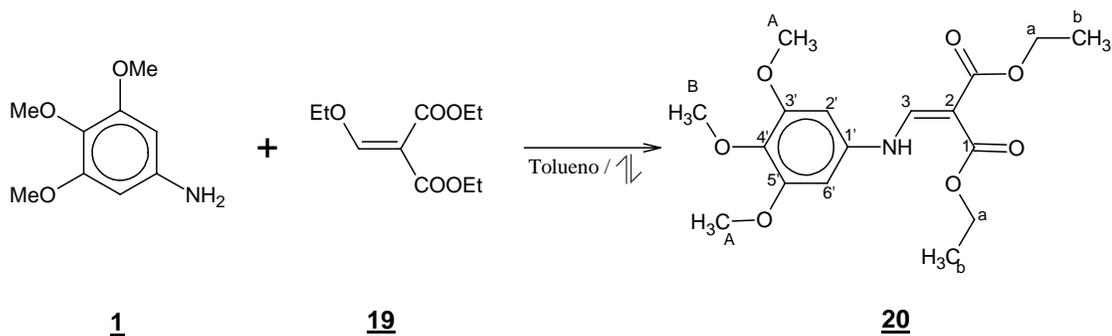
El espectro IR no confirmo la obtención de la 5',6',7'-trimetoxi-2,3-dihidroquinolin-4-ona (17).

Aunque la reactividad del carbonilo de éster no es muy alta para una acilación intramolecular, se esperaba que la ciclación ocurriese sin problemas por la presencia de grupos metoxilos en el anillo aromático y las condiciones fuertes de la reacción. La dificultad para ciclar el (3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5** se debió posiblemente a la formación del catión N-(3-etoxi-3-oxopropil)-3,4,5-trimetoxianilinio **18** (fig. 9). La cercanía de la carga positiva del grupo  $^+\text{NH}_2\text{R}$  desactiva por inducción electrostática el anillo con respecto al ataque electrofílico.



**Figura 13.** Catión N-(3-etoxi-3-oxopropil)-3,4,5-trimetoxianilinio. La proximidad de la carga positiva sobre el nitrógeno desactivando el anillo aromático.

Nuevamente, los resultados nos forzaron a abandonar la primera ruta sintética y considerar una alternativa para obtener el núcleo quinolinico. En esta oportunidad, se optó por realizar una reacción de sustitución conjugada, como se muestra en la síntesis propuesta V, usando etoximetilenmalonato de dietilo **19**. La reacción es la siguiente:



**Tabla 16. Obtención de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20**

<b>Relación molar (1:19)</b>	<b>Temperatura (<math>\pm 1</math> °C)</b>	<b>Tiempo (h)</b>	<b>Catalizador (cantidad)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Características físicas <u>20</u></b>
1:1	98	22	-----	65	Agujas crema
1:1	98	27,5	-----	65	Agujas crema

El progreso de la reacción fue seguido por C.C.F., la segunda reacción fue sometida a un tiempo de reacción mayor por las cantidades de reactivos empleados.

En el espectro IR (Espectro 13) se aprecia una sola banda en  $3260\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibraciones estiramiento del enlace N-H de una amina secundaria; en  $3030\text{cm}^{-1}$  se observa la banda de absorción de las vibraciones Ar-H y en  $1680\text{cm}^{-1}$  la banda de absorción de carbono-oxígeno correspondiente al grupo carbonilo de éster, que aparece a una frecuencia menor a la reportada para un éster debido a la deslocalización electrónica. En  $1630\text{cm}^{-1}$  y  $1590\text{cm}^{-1}$  se observan las bandas de absorción características para los enlaces C=C vinílicos y C=C de los anillos aromáticos. El doble enlace deslocalizado por el sistema se mueve hacia frecuencias menores. Las bandas de absorción en  $1230\text{cm}^{-1}$  y  $1020\text{cm}^{-1}$  se deben a los modos de vibración carbono-oxígeno de los grupos metoxilos.

En los espectros RMN- $^1\text{H}$  (Espectro 14) se observa en 10,99ppm ( $J= 13,53\text{Hz}$ ) un doblete correspondiente al protón de la amina y un doblete en 8,42ppm ( $J= 13,53\text{Hz}$ ) del protón 3 ( $\beta$  al carbonilo del éster); en 6,31ppm se observa una sola señal que son asignados a los protones 2' y 6'. Se aprecia un cuadruplete alrededor de 4,27ppm ( $J= 7,26\text{Hz}$ ) correspondiente a los protones metilénicos del éster y en 1,33ppm ( $J= 7,26\text{Hz}$ ) un triplete que se asignaron a los protones metílicos del éster. El singlete observado en

3,85ppm corresponde a los seis protones de los grupos metoxilo A, mientras que el singlete a 3,79ppm corresponde al desplazamiento del protón B del grupo metoxilo.

En los espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  (Espectro 15) se divisan las señales esperadas para este compuesto, entre ellas: 169,24ppm correspondiente al carbono carbonílico del ester; 154,24ppm se asigna a los carbonos cuaternarios 3' y 5', el carbono 3 (C- $\alpha$  al grupo amino) presenta una señal en 152,20ppm; 135,47ppm es la señal correspondiente a los carbonos cuaternarios 1' y 4'; en 95,01ppm la señal corresponde a los desplazamientos de los carbonos cuaternarios 2' y 6'; en 93,29ppm para el carbono 2 ( $\alpha$  al grupo carbonilo del ester); 60,48ppm corresponde a la señal del metilo del grupo metoxilo B y la señal en 56,79ppm corresponde a los metilos del grupo metoxilo A. Por ultimo, la señal de desplazamiento en 14,41ppm se debe a los carbonos b de la porción alcohólica del ester respectivamente.

El siguiente paso consistía en la reducción del doble enlace del 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo **20** y para ello se realizaron intentos de hidrogenación catalítica a temperatura ambiente mediante la siguiente reacción:

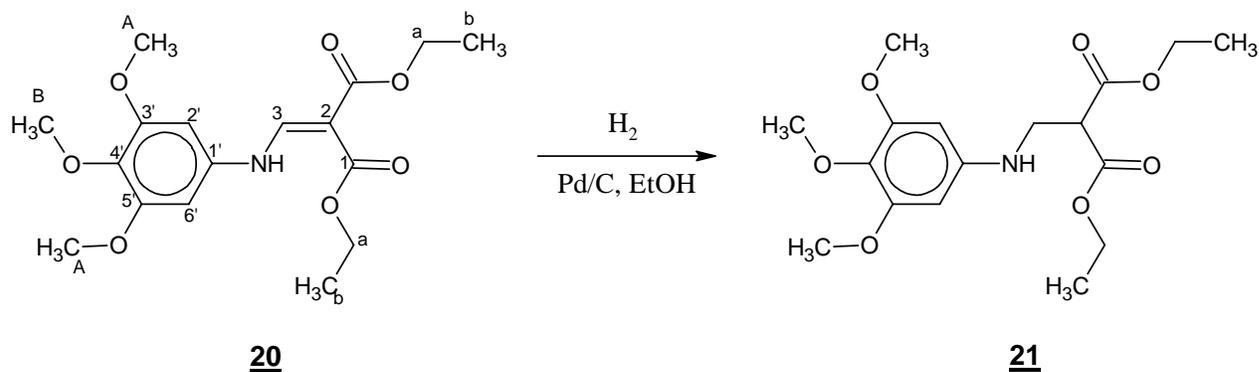


Tabla 17. Intentos de síntesis del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilmalonato de dietilo 21 por hidrogenación catalítica

Moles de acrilato <u>20</u>	Gramos de catalizador	Presión (Lbs/plg <sup>2</sup> )	Tiempo (h)	Rendimiento (%)	Características físicas <u>21</u>
0,57mmol (0,200g)	0,020	22	18,5	-----	-----
0,57mmol (0,200g)	0,025	42	3	-----	-----

Luego de filtrar el catalizador y evaporar el EtOH se observó un sólido que fue caracterizado por espectroscopia IR. Las bandas de absorción del espectro IR revelaron que se trataba del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20, producto de partida.

Se probó la reducción del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20 con NaBH<sub>4</sub> en sulfoxido de dimetilo (DMSO) según la siguiente reacción:

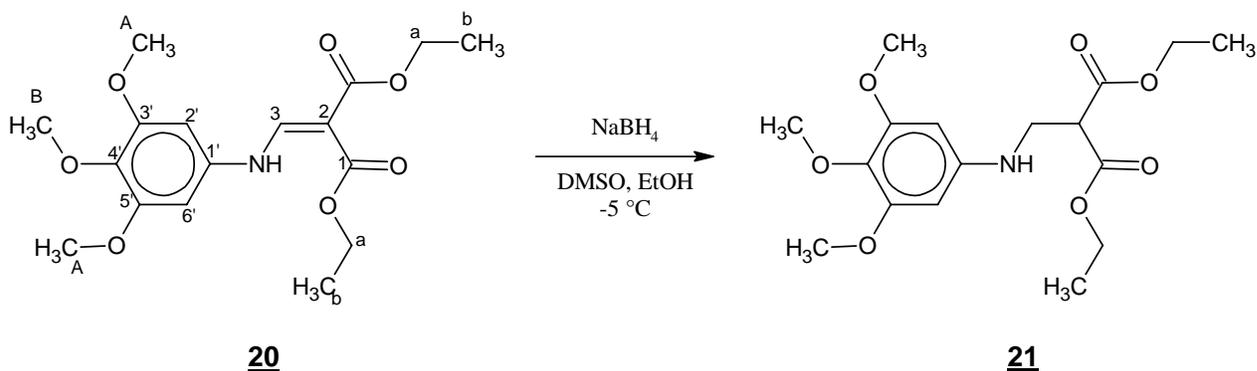
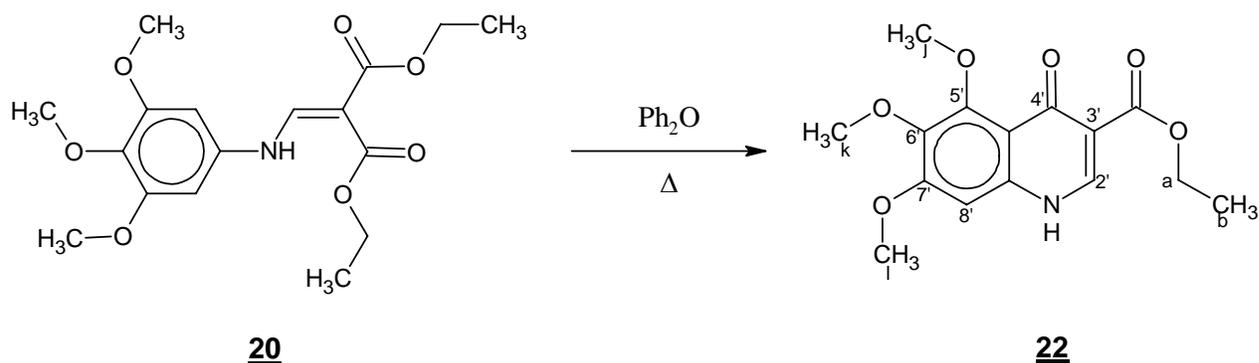


Tabla 18. Intento de síntesis del 2-(3,4,5-trimetoxifenilamino)metilmalonato de dietilo 21

Relación molar ( <u>20</u> :NaBH <sub>4</sub> :DMSO)	Temperatura (±1 °C)	Tiempo (h)	Catalizador (cantidad)	Rendimiento (%)	Características físicas <u>21</u>
1:2:3	Inicial: -5 Final: 26	3	-----	-----	-----

La reacción fue seguida por C.C.F. y se tomaron 120mg de la mezcla de reacción para purificar por C.C.P. Se extrajo la banda mas ancha, luego se caracterizó por espectroscopia IR. El espectro IR evidencia las dos bandas de absorción características de las aminas primarias a  $3440\text{cm}^{-1}$  y  $3380\text{cm}^{-1}$  y la banda de absorción  $\text{C}=\text{C}$  del anillo aromático a  $1600\text{cm}^{-1}$ . La banda ancha  $1220\text{cm}^{-1}$  corresponde al enlace carbono-oxígeno de los grupos metoxilos. Las bandas que se aprecian coinciden con aquellas observadas en el espectro para la 3,4,5-trimetoxianilina.

Considerando que los resultados de la reducción del 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20 no fueron satisfactorios por ninguna de las dos vías, se procedió primero a ciclar usando difenil éter ( $\text{Ph}_2\text{O}$ ) y luego intentar reducir el doble enlace quinolónico. La reacción de ciclacion es la siguiente:



*Tabla 19. Reacciones de ciclacion de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo 20 con difenil éter*

<b>Moles de acrilato <u>20</u></b>	<b>Gramos de catalizador</b>	<b>Temperatura (<math>\pm 1</math> °C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Características físicas <u>22</u></b>
0,68mmol (0,240g)	1mL (1,066g, 6,26mmol)	260	25	-----	-----
0,68mmol (0,240g)	1mL (1,066g, 6,26mmol)	220	30	-----	-----
0,57mmol (0,200g)	1mL (1,066g, 6,26mmol)	200	45	12	Sólido marrón
0,57mmol (0,200g)	1mL (1,066g, 6,26mmol)	200	45	-----	-----
5,66mmol (2,000g)	3mL (3,198g, 18,80mmol)	190	50	17	Sólido marrón
2.83mmol (1,000g)	2mL (2,132g, 12,52mmol)	200	75	-----	-----
2.83mmol (1,000g)	2mL (2,132g, 12,52mmol)	200	60	44	Sólido marrón

En la primera reacción, el producto crudo se purificó a través de C.C.P. por duplicado debido a que la carbonización de la mezcla de reacción conllevó a productos

de descomposición. El sólido marrón eluido fue caracterizado por espectroscopia IR y las similitudes espectrales con el producto de partida nos llevó a descartar las condiciones aplicadas en este ensayo.

Considerando los resultados previos y la carbonización de la mezcla de reacción, Se decidió disminuir la temperatura del horno a 220°C pero no fue suficiente para evitar la carbonización de la mezcla de reacción.

La temperatura fue disminuida a 200°C, finalizado el tiempo de reacción se realizo una C.C.F. y se evidencio que aun quedaba producto de partida sin ser ciclado. Se concluye que, aunque la cantidad de 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo **20** no es muy significativa se debió prolongar el tiempo de reacción para lograr la ciclacion. En la cuarta reacción se obtuvo un sólido oscuro, la C.C.F. revelo una variedad de manchas difíciles de separar.

Para la próxima se reacción se adaptó un condensador al balón y se estableció en 190°C la temperatura del horno Aldrich Kugelrohr. Cuando se agotó el tiempo de reacción se realizó una C.C.F. comprobándose la ausencia del producto de partida. Una vez aislado el sólido, se realizó un espectro IR. En el espectro IR (Espectro 16) se evidencian las dos bandas de absorción carbono-oxígeno de los grupos carbonilos éster y cetonas  $\alpha,\beta$  insaturados a  $1690\text{cm}^{-1}$  (éster) y  $1650\text{cm}^{-1}$  (cetona), además se aprecia la banda de absorción por el estiramiento carbono-oxígeno del carbono carbonílico (-C(=O)-O) a  $1290\text{cm}^{-1}$ . El escaso rendimiento de la reacción nos llevó a pensar que parte del compuesto se disolvía en  $\text{C}_6\text{H}_{14}$  durante los lavados para extraer el difenileter y éste se estaba descartando.

La ausencia del condensador adaptado al balón y el mayor tiempo de reacción en el siguiente intento de ciclación demostraron que el difenil éter lograba escapar de la mezcla de reacción, lo que facilitaba la carbonización del producto.

En la siguiente reacción, se adaptó el condensador al balón, se aumentó el tiempo de reacción a sesenta minutos para garantizar que todo el 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo **20** ciclase efectivamente. Se logró aumentar el rendimiento de la reacción a 44% y se comprobó por C.C.F, una vez evaporado el difenil éter, que parte del producto se arrastraba en los lavados con C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>.

En el espectro IR (Espectro 17) se evidencian las dos bandas de absorción carbono-oxígeno de los grupos carbonilos éster y cetonas  $\alpha,\beta$  insaturados a 1690cm<sup>-1</sup> (éster) y 1650cm<sup>-1</sup> (cetona), además se aprecia la banda de absorción por el estiramiento carbono-oxígeno del carbono carbonílico (-C(=O)-O) a 1290cm<sup>-1</sup>.

En los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (Espectro 18) se observa una señal de absorción ancha centrada en 11,88ppm correspondiente al protón NH y un doblete a 8,31ppm (J= 5,94Hz) para el protón aromático 2' causado por el acoplamiento con NH. En 4,18ppm (J= 6,94Hz) se aprecia un cuadruplete correspondiente a los protones metilénicos del éster y un triplete a 1,25ppm (J= 6,94Hz) de los protones metílicos del éster. En 6,85ppm un singlete que se asigna al protón aromático 8'. Los protones de los metoxilos j se observan como un singlete a 3,87ppm, los protones de los metoxilos l se aprecian como una señal intensa en 3,75ppm y finalmente en 3,72ppm la señal intensa de los protones metoxilos k.

## 8. CONCLUSIONES

1. Se ensayaron 5 rutas sintéticas diferentes para lograr la síntesis de las 1-benzoil-1,2-dihidroquinolinas sustituidas. La dificultad para obtener el intermediario común, la 1,2-dihidroquinolina, fue el obstáculo principal en cada una de las vías sintéticas.

2. Debido a las características estructurales de los sustratos, acrilato de metilo y 3-bromopropionato de etilo, las cuales presentan un fuerte impedimento estérico al ataque de la anilina, se requirieron condiciones severas de reacción para la obtención del anilinopropanoato.

3. Las síntesis del anilinopropanoato asistida por microondas es una alternativa viable siempre que sea posible adaptar al horno un condensador para reflujo.

4. Se logró la síntesis del 3-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)propanoato de etilo **5** con alto rendimiento usando reactivos puros (sin solventes) y calentamiento convencional. Se puede obtener el producto disustituido aumentando los tiempos de reacción.

5. La formación de emulsiones estables durante el aislamiento del producto hacen que la ciclación del anilinopropanoato de etilo usando PPA no sea eficiente, debido a la dificultad de aislar el producto.

6. La adición nucleofílica al propiolato de etilo proporciona mejores rendimientos que con el acrilato de metilo.

7. Se logró la síntesis de la 5,6,7-trimetoxi-3-etoxicarbonil-4-quinolona **22** por ciclación del 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo **20** vía térmica usando difenil éter.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Ensayar la reducción de la 5,6,7-trimetoxi-3-etoxicarbonil-4-quinolona usando el catalizador de Adams, ya que resulta una vía factible para la obtención del núcleo de 1,2-dihidroquinolina.
2. Se sugiere la síntesis del 2-(3',4',5'-trimetoxifenilamino)metilenmalonato de dietilo **20** agregando unas gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en la mezcla de reacción.
3. Seguir buscando las condiciones experimentales necesarias para la reducción de sistemas anilinoacrilato.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bruce, A. **“Molecular biology of the cell”**. Segunda Edición. Editorial Garland Publish. 646 (1983).
2. Biblioteca de consulta **Microsoft Encarta 2006**. Cáncer (medicina).
3. Rodríguez L., Hernández E., Reyes J., **“El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cancer”** Biotecnología aplicada. 21: 60-69 (2004).
4. Weinberg, R. A. **“Así se produce el cancer”**, Investigación y ciencia., 242: 10-18, (1996).
5. Lodish, Berk, Zipursky, Matsudaira, Baltimore, Darnell. **“Biología celular y molecular”**. Cuarta edición. España. 295 (2005).
6. Ruoslahti E. **“Así se propaga el cáncer”**. Investigación y ciencia. 242: 20-26: (1996).
7. **[www.todocancer.com/esp/](http://www.todocancer.com/esp/)**
8. Foye W.O. **“Principios de química farmacéutica”**. Editorial Reverte. Barcelona. 881-907, (1991).
9. **[www.noah-health.org/es/cancer/](http://www.noah-health.org/es/cancer/)**
10. **[www.lls.org](http://www.lls.org). The leukemia & Lymphoma Society.**

11. [www.sociedadanticancerosa.org](http://www.sociedadanticancerosa.org)
12. Hellman S., Vokes E. “**Avances en el tratamiento habitual del cáncer**”, *Investigación y ciencia*, 242: 70-75, (1996)
13. [www.todocancer.com/ESP/Informacion+Cancer/Tratamientos/Quimio+terapia/cual+es+su+finalidad.htm](http://www.todocancer.com/ESP/Informacion+Cancer/Tratamientos/Quimio+terapia/cual+es+su+finalidad.htm)
14. [www.cancerquest.org/index.cfm?page=183&lang=spanish](http://www.cancerquest.org/index.cfm?page=183&lang=spanish)
15. Avendaño C. “**Introducción a la química farmacéutica**”. Primera Edición. Editorial Garland Publish. 531-568, (1993)
16. Katzung, B. “**Basic & Clinical Pharmacology**”. Octava Edición. Editorial McGraw-Hill. 923-958, (2001).
17. Jiang Ning, Xiaoxing W., Yang Y. Wei Dai. “**Advances in Mitotic Inhibitors for Cancer Treatment**”. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 6: 885-895, (2006).
18. Cortese F., Bhattacharyya B., Wolf J. “**Podophylotoxins as a probe for the colchicines binding site of tubulin**”. *Journal biological Chemistry*. 252: 1134-1140 (1977).
19. Zabala F. Guenard D., Robin J.P., Brown E. “**Structure-Antitubulin Activity Relationships in Steganacin Congeners and Analogues. Inhibition of tubulina polimerization *in vitro* by (±)-Isodeoxypodophyllotoxin**”. *J. Med. Chem.* 23: 546-549, (1980).

20. Wang R., Rebhun L. I., Kupchan S. M. **“Antimitotic and Antitubulin Activity of the tumor inhibitor Steganacin”**. *Cancer Research*. 37: 3071-3079, (1977).
21. Hsieh H. P., Liou J.P., Mahindroo N. **“Pharmaceutical Design of Antimitotic Agents Based on Combrestatins”**. *Current Pharmaceutical Design*. 11: 1655-1677, (2005).
22. Lorenzo M. A., Guzmán W., Márquez C. **“Potenciales Antimitóticos. 2. Síntesis de 1-bencil-3-carboetoxi-2-quinolonas”**. *Acta Científica Venezolana*. 53: 119-123, (2002).
23. Bougrin, K.; *J. of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 6: 141-167 (2005).
24. Lindström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. **“Microwave assisted organic synthesis- a review”**. *Tetrahedron* 57: 9225-9283 (2001)
25. Kappe, C. O. **“Microwave Chemistry”** *Angew. Chem Int. Ed.* 43: 6250-6284 (2004).
26. Varala, R.; Alam, M. M.; Adapa, S. R. **“Chemoselective Michael type addition of aliphatic amines to  $\alpha,\beta$ -ethylenic compounds using bismuth triflate catalyst”**. *Synlett*. 1: 720 (2003)
27. Bartola, G.; Bosco, M.; Marcatoni, E.; Petrini, M.; Sambri, L.; Torregiani, E. **“Conjugated addition of amines to  $\alpha,\beta$ -enones promoted by**

- CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O – NaI system supported in silica gel**” J. Org. Chem. 66: 9052 (2001).
28. Bogdal, D.; Pielichowski, J.; Boron, A. **“Remarkable fast microwave-assisted N-alkylation of phthalimide in dry media”**. Synlett 1: 873 (1996).
29. Moghaddam, M.; Mohammadi, M.; Hosseinnia, A. **“Water promoted michael addition of secondary amines to a,b-unsaturated carbonyl compounds under microwave irradiation”** Synth. Commun. 30: 643 (2000).
30. Lubineau A.; Augé, J. **“Water-promoted Organic Reactions. Michael Addition of Nitroalkanes to Methylvinylketone under Neutral Conditions”** Tetrahedron Lett. 33: 8073 (1992).
31. Newman, M. **“Some Observations Concerning Steric Factors”** J. Am. Chem. Soc. 72: 4783 (1950).
32. Gould, E. S. **“Mechanism and Structure in Organic Chemistry”**. Primera Edicion. Editorial Holt, Rinehart & Winston. 322-325 (1959).
33. Lowry, T. H.; Richardson, K.S. **“Mechanism and Theory in Organic Chemistry”**. Tercera Edicion. Editorial HarperCollinsPublishers. 620-623 (1976).
34. Popp, F.; McEwen, W.E. **“Polyphosphoric Acid as a Reagent in Organic Chemistry”** Chem. Rev. 58: 321-362 (1957)

35. Koo, J. "**Studies in Polyphosphoric Acid Cyclizations**" J. Am. Chem. Soc. 75: 1891-1894 (1952).
36. Snyder, H.R.; Werber, F. "**Polyphosphoric acid as a Dehydrating Agent II. Intramolecular Acylations**" J. Am. Chem. Soc.; 72: 2965-2967 (1950).

## 11. APENDICE

