



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

**Síntesis de lactonas bicíclicas vía  
Trifluorometansulfonato de 1-  
[(trifluorometil) sulfonil] piridinio y  
acetales de bis(trimetilsilil) cetenas**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. A. Nadia Gualo Soberanes



TUTOR: Dr. Cecilio Álvarez Toledano

AÑO: 2007

## **H. JURADO**

**Presidente :** Dr. Armando Cabrera Ortíz

**Vocal:** Dra. Teresa Mancilla Percino

**Secretario:** M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

**1er Suplente:** Dr. Rubén Alfredo Toscano

**2do Suplente:** Dr. René Miranda Ruvalcaba

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Inorgánica 4 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección del Dr. Cecilio Álvarez Toledano.

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al Dr. Cecilio Álvarez Toledano.**

**A los Doctores José Guadalupe López y Carmen Ortega Alfaro.**

**A los miembros del H. Jurado.**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México.**

**Al Instituto de Química de la U.N.A.M.**

**A los Técnicos de IR, EM, Difracción de Rayos X y Pruebas biológicas:**

Q.F.B. Rocío Patiño, M. en C. Francisco Javier Pérez, Dr. Rubén  
Alfredo Toscano y M. en C. Ma. Teresa Ramírez Apan

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT** por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría (No. de registro 205419) y al proyecto No. 46824-Q

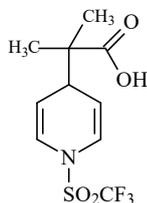
**A la DGPA-PAPIIT-UNAM** por el apoyo otorgado al proyecto de investigación.

**Al personal de la Coordinación del posgrado en Ciencias Químicas, Sección Escolar, Depto. de Becas, Biblioteca del Instituto de Química**

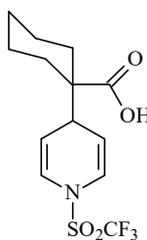
**A todos aquellos que contribuyeron en la realización de este trabajo.**

<b>INDICE</b>	<b>PÁG.</b>
<b>Introducción</b>	
<b>I. Antecedentes</b>	3
I.1. Piridina y sus derivados	3
I.2. Acetales de <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena	8
I.3. Química de las lactonas	11
<b>II. Hipótesis</b>	17
<b>III. Objetivos</b>	18
III.1 Objetivo General	18
III.1.1 Metas	18
<b>IV. Resultados y análisis</b>	20
<b>IV.1 Síntesis y caracterización</b>	20
Síntesis de los acetales de <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena	20
Síntesis de los ácidos de <i>N</i> -[(trifluorometan)sulfonil]	
1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos	21
Síntesis de <i>N</i> -[(trifluorometan)sulfonil] iodolactonas	
bicíclicas [3.3.1]	30
<b>IV.2 Actividad biológica</b>	40
Actividad citotóxica	40
Actividad anti-inflamatoria	42
<b>V. Conclusiones</b>	44
<b>VI. Parte Experimental</b>	45
VI.1 Instrumentación y reactivos utilizados	45
VI.2 Método general para preparar ésteres de trimetilsilicio	46
VI.3 Método general para preparar acetales de <i>bis</i> (trimetilsilil)cetena	47
VI.4 Método general para preparar ácidos <i>N</i> -[(trifluorometan)sulfonil]-1,4-dihidro- 4-piridinilcarboxílicos	48
VI.5 Método general para preparar <i>N</i> -[(trifluorometan)sulfonil]- iodolactonas bicíclicas[3.3.1]	50
VI.6 Procedimiento de ensayo biológico	51
Ensayo de citotoxicidad	51
Actividad anti-inflamatoria	54

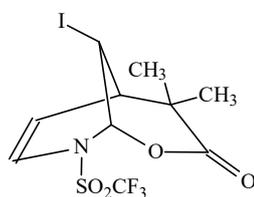
**NUEVOS COMPUESTOS SINTETIZADOS**



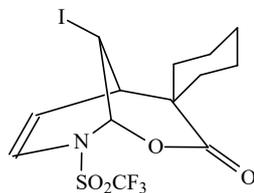
**ácido 2-metil-2-{1-[(trifluorometan)sulfonil]-1,4-dihidro-4-piridinil}  
propanoico (4a)**



**ácido 1-{1-[(trifluorometan)sulfonil]-1,4-dihidro-4-piridinil}-1-  
ciclohexancarboxílico (4b)**



**9-iodo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometan)sulfonil]-2-oxa-8-azabicyclo [3.3.1]  
non-6-en-3-ona (5a)**



**9-iodo-4-espirociclohexan-8-[(trifluorometan)sulfonil]-2-oxa-8-azabicyclo [3.3.1]  
non-6-en-3-ona (5b)**

**ABREVIATURAS**

Tf <sub>2</sub> O	Anhídrido trifluorometansulfónico
Å	Angstrom
TMSCI	Clorotrimetilsilano
M	Concentración molar
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
δ	Desplazamiento químico
Et <sub>2</sub> O	Dietil éter
LDA	Diisopropilamido de litio
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer (Distorsión reducida por transferencia de polarización)
E <sup>+</sup>	Electrófilo
EM	Espectrometría de masas
IR	Espectroforometría de absorción infrarroja
FAB <sup>+</sup>	Fast atom bombardment (bombardeo con átomos rápidos)
Ph	Fenilo
Hz	Hertz
EI	Electron impact (impacto electrónico)
(iPr) <sub>2</sub> NH	Diisopropilamina
M <sup>+</sup>	Catión radical
λ	Longitud de onda
mL	Mililitros
MHz	Mega Hertz
Me	Metilo
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butillitio
nm	Nanómetros
TFP	<i>N</i> -trifluorometansulfonilpiridinio
Nu	Nucleófilo
ppm	Partes por millón
Py	Piridina

% ar	Porcentaje de abundancia relativa
pb	Punto de ebullición
pf	Punto de fusión
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
RMN de <sup>13</sup> C	Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C
RMN de <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup> H
<i>c</i>	Señal cuádruple
<i>cd</i>	Señal cuarteto dobleteado
<i>d</i>	Señal doble
<i>dd</i>	Señal doble de doble
<i>ddd</i>	Señal doble de doble de doble
<i>m</i>	Señal múltiple
<i>s</i>	Señal sencilla
<i>t</i>	Señal triple
<i>td</i>	Señal triple dobleteada
<i>tc</i>	Señal triple cuatripleteada
T	Temperatura
THF	Tetrahidrofurano
TfO <sup>-</sup>	Triflato
TMS	Trimetilsilano
δ	Vibración de deformación
ν	Vibración de tensión

## INTRODUCCIÓN

Las lactonas son ésteres cíclicos que se encuentran distribuidas en la naturaleza y cuyas propiedades han sido estudiadas ampliamente, esta clase de compuestos pueden obtenerse por distintos métodos, entre los cuales destacan la anillación intramolecular de ácidos carboxílicos y la halolactonización.

Por otra parte, la piridina es un compuesto heterocíclico que se encuentra distribuido en la naturaleza y forma parte de moléculas biológicamente activas, por lo que se ha empleado en la síntesis de numerosos compuestos con aplicaciones farmacéuticas.

De acuerdo con lo descrito en la literatura se pueden realizar reacciones de adición nucleofílica sobre la piridina al activarla con cloroformiato de metilo obteniéndose como productos los ácidos 1,4-dihidro-4-piridinil carboxílicos y sus lactonas correspondientes.<sup>1</sup>

Las reacciones de adición de nucleófilos como alilsilanos a compuestos azaaromáticos activados (con cloroformiato de metilo) se promueven con la adición catalítica del ion triflato;<sup>2</sup> de tal forma que la piridina activada como trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonil]piridonio será capaz de reaccionar como electrófilo frente a diversas cetena generando los ácidos carboxílicos correspondientes.

Por lo anterior en este trabajo, se propone un método de síntesis de dos pasos de lactonas bicíclicas, en un primer paso la preparación de los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonil]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos obtenidos a través de la adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonil]piridonio; los ácidos carboxílicos obtenidos serán capaces de transformarse en lactonas bicíclicas mediante una reacción de iodolactonización.

---

<sup>1</sup> Rudler, H.; Denise, B.; Xu, Y.; Parlier, A.; Vaissermann, J.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3724-3744

<sup>2</sup> Yamaguchi, R.; Nakayasu, T.; Hatano, B.; Nagura, T.; Kozima, S.; Fujita, K.; *Tetrahedron*, **2001**, 57,109-118

Con base en lo reportado por nuestro grupo de trabajo<sup>3</sup> las lactonas bicíclicas presentan actividad biológica, como agentes anticancerígenos frente a líneas celulares de cáncer de mama y leucemia por lo que se realizó la prueba de actividad antineoplásica utilizando diferentes líneas celulares de cáncer humano; como células de adenocarcinoma de colón, leucemia mieloblástica crónica, adenocarcinoma de glándula mamaria, adenocarcinoma de próstata, adenocarcinoma de pulmón y células cancerígenas del Sistema Nervioso Central, con el objetivo de conocer su actividad como agentes cancerígenos.

Por otro lado, de acuerdo con lo reportado en la literatura<sup>4</sup> las lactonas también actúan como agentes anti-inflamatorios es por ello que con los productos obtenidos se realizaron pruebas de actividad sobre el edema inducido con TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol) en oreja de ratones macho, con el propósito de conocer su actividad como anti-inflamatorios.

En ambas pruebas de actividad biológica se observa que su capacidad como agentes citotóxicos y anti-inflamatorios depende de la estructura de los compuestos particularmente de los sustituyentes en la posición  $\alpha$  al grupo carbonilo de la lactona.

---

<sup>3</sup> Aldeco, P.E.; “*Síntesis de lactonas policíclicas vía complejos de tricarbonilcromo y acetales de bis(trimetilsilil)cetenas*”, **2006**, UNAM,

<sup>4</sup> Southwell, I.A.; *Tetrahedron Lett.* **1975**, 24, 1885-1888

## I. ANTECEDENTES

### I.1. Piridina y sus derivados

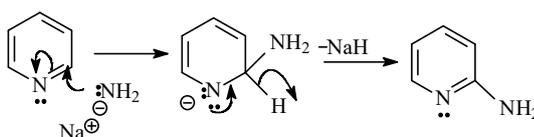
La piridina (Figura 1) es un compuesto heterocíclico formado por un anillo de seis miembros con nitrógeno como heteroátomo y cinco átomos de carbono con hibridación  $sp^2$ .



Figura 1

Fue descubierta en 1849 por Anderson al aislarla como base libre a partir de aceite de hueso,<sup>5</sup> este compuesto se encuentra muy distribuido en la naturaleza como parte estructural de algunas moléculas que poseen actividad biológica; por ejemplo en la nicotina, la vitamina B<sub>6</sub> como piridoxina, piridoxilamina y piridoxal, la coenzima adenin-nicotinamida que participa en reacciones de transferencia de electrones<sup>6</sup> además es el anillo base de muchos fármacos, colorantes y alcaloides.

La piridina reacciona con nucleófilos fuertes en las posiciones 2, 4 y 6 por nucleófilos fuertes, por ejemplo, la reacción de Chichibabin<sup>7</sup> ésta reacciona con sodamida formando un ión intermediario que se rearomatiza con la pérdida del ion hidruro para obtener la 2-aminopiridina (Esquema 1).



Esquema 1

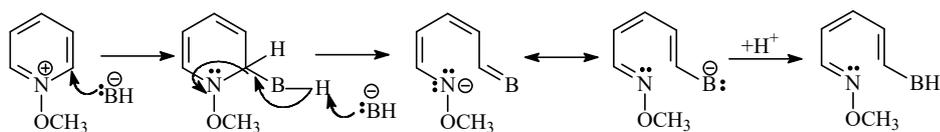
Además de los productos de sustitución, pueden obtenerse productos de la apertura del anillo de piridina, cuando el nucleófilo tiene un protón (Esquema 2).<sup>8</sup>

<sup>5</sup> Acheson, R.M.; *An Introduction To The Chemistry Of Heterocyclic Compounds*, third edition, New York, **1977**, 228-229

<sup>6</sup> Paquette, L.A.; *Fundamentos de Química Heterocíclica*, Limusa, México, **1987**, 367-368

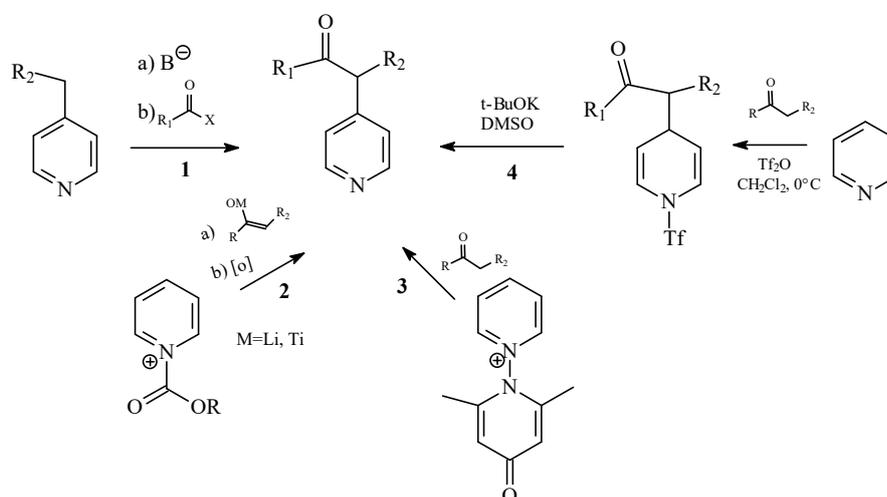
<sup>7</sup> Chichibabin, A.E.; Zeide, O.A.; *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, **1914**, 46, 1216

<sup>8</sup> Katritzky, A.R.; Lunt, E.; *Tetrahedron*, **1969**, 25, 4921-4305



Esquema 2

La funcionalización de compuestos aza-aromáticos es una herramienta muy poderosa utilizada en la síntesis de productos naturales y sustancias bioactivas, un ejemplo de ello es la adición regioselectiva del grupo β-oxoalquilo en la posición 4 de la piridina, esta reacción puede darse a través de distintos métodos (Esquema 3):



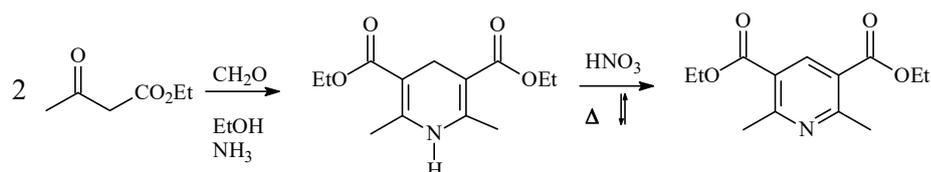
Esquema 3

1. El tratamiento de 4-alkilpiridina con un éster<sup>10</sup>.
2. El tratamiento de 1-oxocarboxilpiridonio con enolatos de litio o titanio seguida de la reacción con azufre y 5% Pd/C en naftaleno.<sup>9</sup>
3. A partir de la sal de *N*-(2,6-dimetil-4-oxo-1,4-dihidropiridinil)piridonio.<sup>10</sup>
4. Mediante la reacción entre cetonas y la piridina activada con anhídrido trifílico con 92% de rendimiento.<sup>10</sup>

<sup>9</sup> Comins, D.L.; Sandelier, M.J.; Grillo, T.A.; *J. Org. Chem.*, **2001**, 3(8), 6829-6832

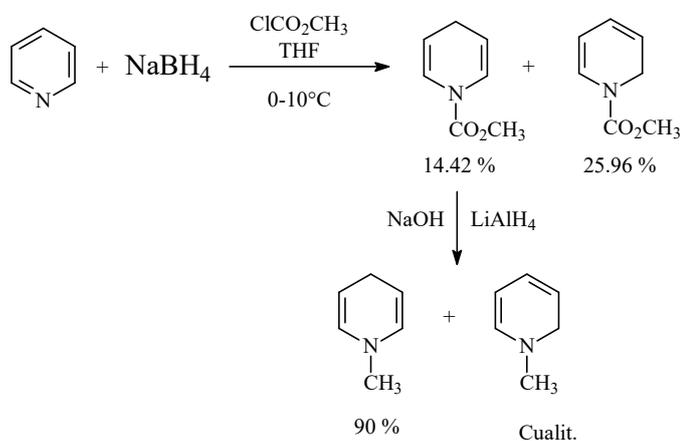
<sup>10</sup> Katritzky, A.R.; Zhang, S.; Kurz, T.; Wang, M.; *Org. Lett.*, **2001**, 3(8), 2807-2809

Un compuesto derivado de la piridina de gran importancia por sus propiedades farmacológicas es el anillo de 1,4-dihidropiridina obtenido por primera vez en 1882 como intermediario de la síntesis de piridinas de Hantzsch, este método de síntesis es el más conocido y consiste en condensar un aldehído con dos equivalentes de un  $\beta$ -cetoéster y amoniaco (Esquema 4).



Esquema 4

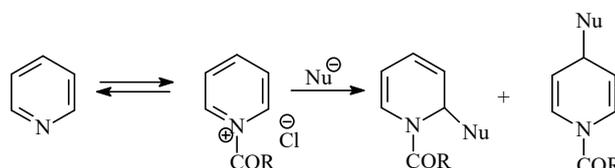
Además de la síntesis de Hantzsch existen otros métodos para obtener 1,2- o 1,4-dihidropiridinas por ejemplo mediante la reacción de piridina activada con cloroformiato de metilo en presencia de un agente reductor como borohidruro de sodio se obtiene la *N*-carbometoxi-1,2 o 1,4-dihidropiridina (Esquema 5) que al ser reducidas con hidruro de litio y aluminio forman una mezcla de *N*-metil-1,2 y 1,4-dihidropiridinas.<sup>11</sup>



Esquema 5

<sup>11</sup> Fowler, F.W.; *J. Org. Chem.*, **1972**, 37(9), 1321-1323

Otro método versátil de síntesis de dihidropiridinas es la reacción de adición de nucleófilos a *N*-acilpiridonio generado mediante la adición del haluro de acilo al compuesto aza-aromático (Esquema 6).<sup>12</sup>



Esquema 6

En esta reacción el *N*-acilpiridonio positivo es susceptible al ataque de nucleófilos en las posiciones 2 y 4 formando una mezcla de isómeros de la dihidropiridina correspondiente, el ataque en la posición 4 se ve favorecida debido a la presencia del sustituyente voluminoso en la posición 1.<sup>13</sup>

Las dihidropiridinas homólogas de la 1,4-dihidropiridina sintetizada por Hantzsch, tienen propiedades farmacológicas interesantes por ejemplo pueden utilizarse en el tratamiento de tuberculosis, diabetes<sup>14</sup> e hipertensión, por ejemplo la Nifedipina y Amlodipina (Figura 2).<sup>15</sup>

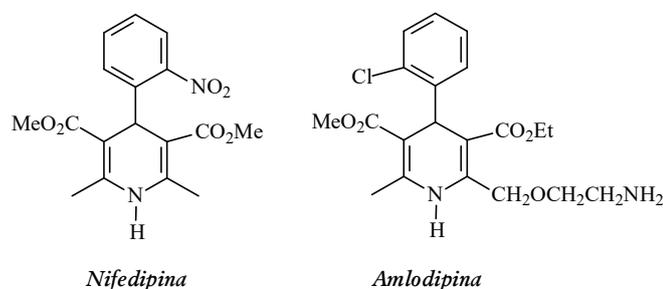


Figura 2

En este punto, es importante mencionar que la reacción de adición de alilsilanos a compuestos aza-aromáticos activados con cloroformiato de fenilo, se ve

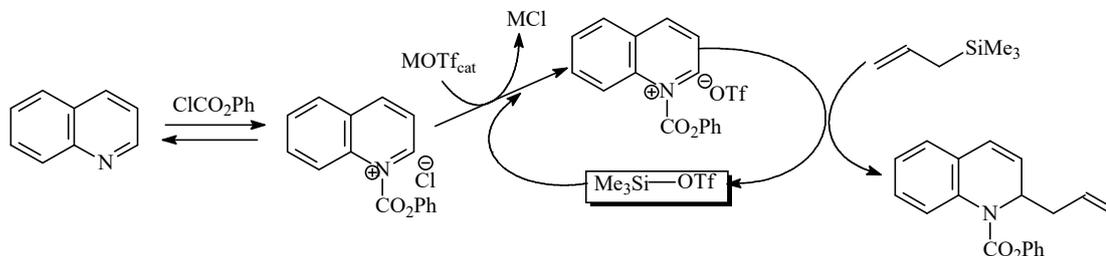
<sup>12</sup> Pabel, J.; Hösl, C.E.; Maurus, M.; Ege, M.; Wanner, K.; *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 9272-9275

<sup>13</sup> Haase, M.; Goerls, H.; Anders, E.; *Synthesis*, **1998**, 195-200

<sup>14</sup> Cai, X.; Yang, H.; Zhang, G.; *Can. J. Chem.*, **2005**, 83, 273-275

<sup>15</sup> Peri, R.; Padmanabhan, S.; Rutledge, A.; Singh, S.; Triggler, D.J.; *J. Med. Chem.*, **2001**, 43, 2906-2914

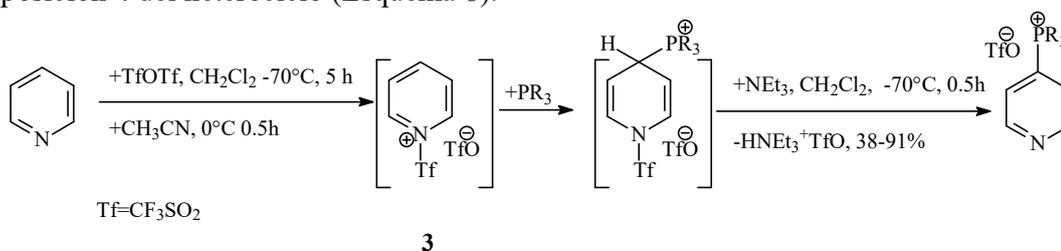
favorecida con la adición catalítica del ión triflato (Esquema 7) obteniéndose la 2-allyl-1,2-dihidroquinolina correspondiente.<sup>16</sup>



Esquema 7

Los catalizadores utilizados para favorecer éste tipo de reacción son; trifluorometansulfonato de plata (AgOTf), trifluorometansulfonato de sodio (NaOTf), trifluorometansulfonato de litio (LiOTf), trifluorometansulfonato de metilsilano ( $\text{Me}_3\text{SiOTf}$ ), la adición nucleofílica se promueve debido a la disminución de la nucleofilia del contraion y al incremento de la electrofilia del *N*-acilpiridonio, incluso cuando el nucleófilo es poco reactivo frente al *N*-alquilcloroformiato de piridonio.<sup>17</sup>

Un ejemplo más de este tipo de reacción fue propuesto por Hasse utilizando como nucleófilos diferentes fosfinas  $\text{P}(\text{OR})_3$  y  $\text{PR}_3$ , obteniendo la adición en la posición 4 del heterociclo (Esquema 8).<sup>18</sup>



Esquema 8

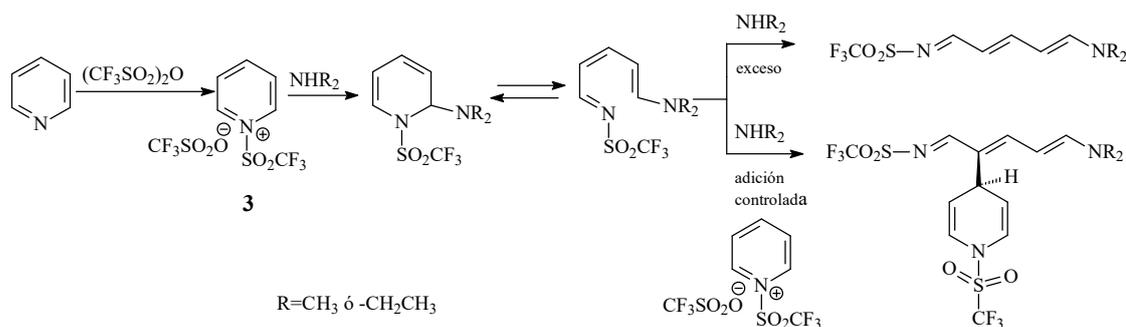
En nuestro grupo de trabajo se ha estudiado este tipo de reacciones adicionando aminas secundarias a trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonil]piridonio **3** (Esquema 9), observando que la adición de la amina procede en la posición 2 cuando ésta última se encuentra en exceso y tras la

<sup>16</sup> Yamaguchi, R.; Nakayasu, T.; Hatano, B.; Nagura, T.; Kozima, S.; Fujita, K.; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 109-118

<sup>17</sup> Yamaguchi, R.; Moriyasu, M.; Yoshioka, M.; Kawanisi, M.; *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3507-3512

<sup>18</sup> Haase, M.; Goerls, H.; Anders, E.; *Synthesis*, **1998**, 195-200

apertura nucleofílica del anillo forma 6-amino-1-trifluorometansulfonil-1-aza-hexa-1,3,5-trienos (Esquema 9).<sup>19</sup> Sin embargo cuando la amina secundaria se adiciona en cantidad estequiométrica se forma la 1,4-dihidropiridina correspondiente, éste tipo de compuestos mostraron actividad bacteriostática<sup>20</sup> hacia microorganismos *Gram(+)* y frente a *Enterococos fecalis*,<sup>21</sup> debido a su analogía estructural con las sulfanilamidas.



Esquema 9

## I.2. Acetales de bis(trimetilsilil)cetena

Las reacciones de “sililación” de compuestos orgánicos son una parte importante de la química orgánica, para la protección de distintos grupos funcionales incrementando la volatilidad, la estabilidad térmica y la solubilidad de los compuestos en disolventes no polares,<sup>22</sup> además proporciona ventajas sintéticas incrementando la reactividad de los compuestos en las posiciones adyacentes a él,<sup>23</sup> es por ello que se ha investigado ampliamente la síntesis de éste grupo de compuestos.<sup>24</sup>

A este respecto Ainsworth en 1971,<sup>25</sup> sintetizó acetales de sililtrialquilcetena en alto rendimiento (Esquema 10) mediante la reducción con sodio/xileno de ésteres

<sup>19</sup> Moya, M.C.; “Síntesis de derivados N-trifluorometansulfonil-1-azahexa-1,3,5-trienos a partir de la apertura nucleofílica de sales de piridonio”, Marzo 2001, UNAM, 6

<sup>20</sup> Bell, P.H.; Robilin, R.O.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, 64, 2905-2917

<sup>21</sup> Toscano, R.A.; Hernández-Galindo, M.C.; Rosas, R.; García-Mellado, O.; Del Rio Portilla, F.; Amabile-Cuevas, C.; Álvarez-Toledano, C.; *Chem. Pharm. Bull.*, 1997, 45(6), 957-961

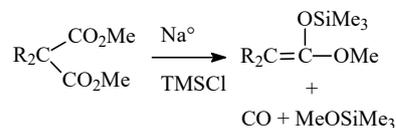
<sup>22</sup> Klebe, J.F.; *Accounts Chem. Res.*, 1970, 3, 299-312

<sup>23</sup> Kita, Y.; Haruta, J.; Segawa, J.; Tamura, Y.; *Tetrahedron Lett.*, 1979, 44, 4311

<sup>24</sup> Holmes, R.; *Chem. Rev.*, 1996, 96, 917

<sup>25</sup> Ainsworth, C.; Chen, F.; Kuo, Y.; *J. Organomet. Chem.*, 1972, 46, 59-71

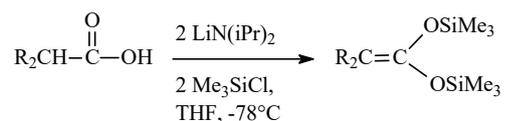
malónicos disustituídos obteniendo un equivalente de monóxido de carbono y el acetal correspondiente.<sup>26</sup>



Esquema 10

De acuerdo con Ainsworth, existen tres métodos de preparación de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena al hacer reaccionar los  $\alpha$  aniones de ácidos carboxílicos con clorotrimetilsilano:<sup>27</sup> el primero de ellos es una reacción de dos pasos en la que primero se prepara el éster de trimetilsilicio mediante el tratamiento básico del ácido carboxílico seguido de la adición del clorotrimetilsilano;<sup>28</sup> y en un segundo paso se hace reaccionar el éster de trimetilsililo con el diisopropilamido de litio y tras la adición de clorotrimetilsilano se obtiene el acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena correspondiente; de acuerdo con lo descrito el producto se obtiene con rendimientos que oscilan entre el 35 y el 65 % dependiendo del ácido utilizado.

En un segundo método los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena se obtienen mediante la reacción de un equivalente del ácido carboxílico con dos equivalentes de diisopropilamido de litio y dos equivalentes de clorotrimetilsilano, los rendimientos descritos con éste método de síntesis son del 90 al 95 %. (Esquema 11)



Esquema 11

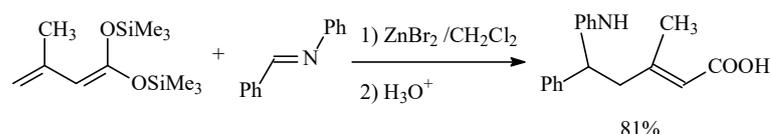
Estos métodos de síntesis han sido muy utilizados para realizar la “sililación” de compuestos orgánicos, por ejemplo; alcoholes, ácidos carboxílicos, mercaptanos y amidas utilizando como agentes “sililantes” clorotrimetilsilano, sililaminas, sililamidas, sililacetatos y sililéteres.

<sup>26</sup> Kuo, Y.; Chen, F.; Ainsworth, C.; *Chem. Commun.*, **1971**, 136

<sup>27</sup> Ainsworth, C.; Kuo, Y.N.; *J. Organomet. Chem.*, **1972**, 46, 73-87

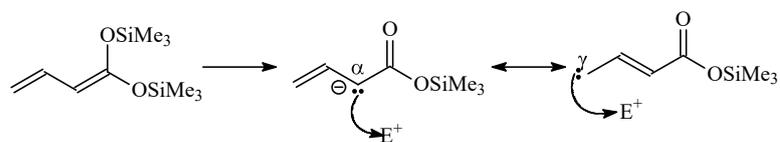
<sup>28</sup> Brownbridge, P.; *Synthesis*, **1983**, 1, 85-104

Debido a sus características estructurales los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena se comportan como excelentes nucleófilos en reacciones de condensación aldólica formando el correspondiente éster o ácido carboxílico enantioselectivamente en alto rendimiento.<sup>29</sup> Otro ejemplo es la reacción de adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a imidas aromáticas (Esquema 12) utilizando distintos catalizadores como el bromuro de zinc obteniéndose un  $\beta$ -arilaminoácido en buen rendimiento.<sup>30</sup>

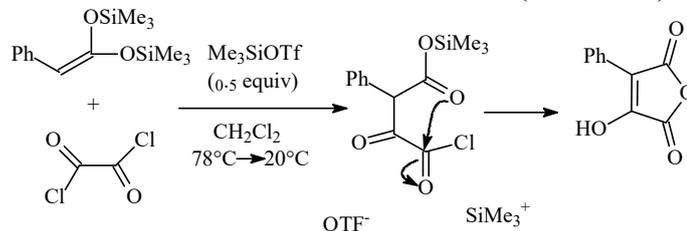


Esquema 12

Los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena que en su estructura tienen dobles enlaces conjugados reaccionan como enolatos frente a electrófilos (Esquema 13) y dependiendo de las condiciones de reacción la adición se da en las posiciones  $\alpha$  o  $\gamma$  al doble enlace.<sup>31</sup>

Esquema 13 Acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena conjugados

Este grupo de reactivos también puede reaccionar como binucleófilos, por ejemplo de la reacción entre el acetal de 1,1-*bis*(trimetilsilil)cetena con la 2,3-butanodiona se obtiene como producto de anillación el anhídrido maléico (Esquema 14) en presencia de trimetilsilil trifluorometansulfonato ( $\text{Me}_3\text{SiOTf}$ ).<sup>32</sup>



Esquema 14

<sup>29</sup> Tokuyasu, T.; Mayr, H.; *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2791-2796

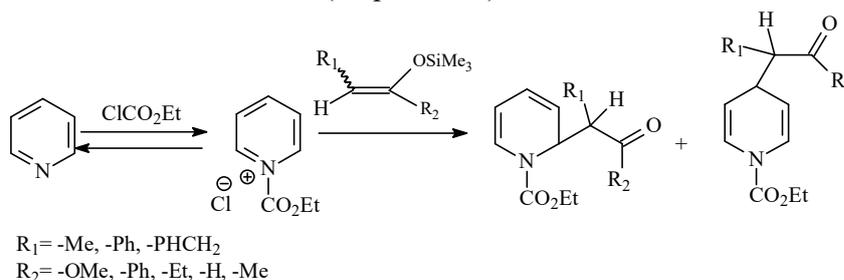
<sup>30</sup> Mladenova, M.; Bellassoued, M.; *Synth. Commun.*, **1993**, 23(6), 725-736

<sup>31</sup> Rudler, H.; Denise, B.; Xu, Y.; Parlier, A.; Vaissermann, J.; *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3724-3744

<sup>32</sup> Ullah, E.; Langer, P.; *Synlett*, **2004**, 15, 2782-2784

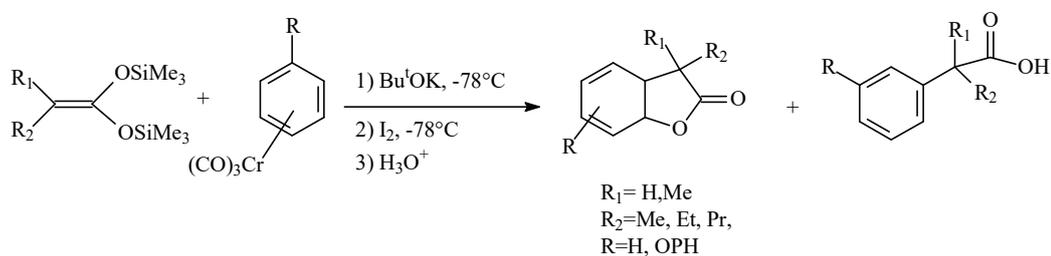
Como ya se mencionó los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena constituyen un grupo de nucleófilos de gran interés en la química orgánica ya que pueden reaccionar frente a compuestos aromáticos electrofílicos cuando éstos se encuentran activados.

Por ejemplo con piridina activada con cloroformiato de etilo llevan a cabo reacciones de adición nucleofílica (Esquema 15).<sup>33</sup>



Esquema 15

De acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro grupo de trabajo estos acetales reaccionan frente a los complejos de arentricarbonil cromo en presencia de *t*-butóxido de potasio y tras la oxidación con yodo forman las  $\gamma$ -lactonas bicíclicas [4.3.0] correspondientes (Esquema 16).<sup>34, 35</sup>



Esquema 16

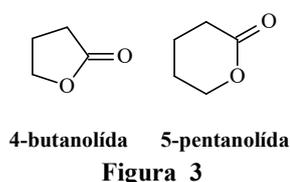
<sup>33</sup> Akiba, K.; Nishihara, Y.; Wada, M.; *Tetrahedron*, **1983**, 24(47), 5269-5272

<sup>34</sup> Rudler, H.; Harris, P.; Parlier, A.; Cantagriel, F.; Denise, B.; Bellassoued, M.; Vaisermann, J.; *J. Organomet. Chem.*, **2001**, 624, 186

<sup>35</sup> Rudler, H. Álvarez, C.; Parlier, A.; Pérez, E.; Denise, B.; Xu, Y.; Vaisermann, J.; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 2409-2411

### I.3. Química de las lactonas

Las lactonas son ésteres cíclicos derivados de ácidos hidroxicarboxílicos que se obtienen mediante esterificación intramolecular. Éstos compuestos se nombran reemplazando el prefijo *ácido* y el sufijo *oico* del ácido carboxílico por el sufijo *olida* de la lactona indicando la posición del átomo de carbono oxigenado con un número por ejemplo la 4-butanolida y la 5-pentanolida también conocidas como  $\gamma$ -butirolactona y  $\delta$ -valerolactona (Figura 3).<sup>36</sup>



De acuerdo con el tamaño del anillo en los espectros de infrarrojo de las lactonas se observan bandas de estiramiento características del grupo carbonilo cuyos valores típicos son:

Lactona	Señal IR $\text{cm}^{-1}$
$\alpha$	1895
$\beta$	1840-1810
$\gamma$	1795-1760
$\delta$	1750-1735
$\varepsilon$	1740

Para lactonas de tamaños más grandes los valores van de 1740 a 1730  $\text{cm}^{-1}$  en frecuencias observadas para ésteres alifáticos.<sup>37</sup>

Las lactonas más estables son la  $\gamma$ - y la  $\delta$ -lactona, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza como butenolidas sesquiterpénicas o carotenoides (butenolidas esteroidales) y antibióticos; un ejemplo de este tipo de compuestos son la lactona del vino, cuyo nombre es 3,5,7-tetrahidro-3,6-

<sup>36</sup> Carey, F.A.; "Organic Chemistry", sixth edition, Mc Graw Hill, New York, 2006, 845

<sup>37</sup> Boyd, G.V.; en "The Chemistry of acid derivatives", Supplement B, vol 1 (part 1), edited by Patai, S.; John Wiley & Sons., London, 1979, cap. 8, 495

dimetilbenzofuran2(3H-ona)<sup>38</sup> (Figura 4) que es responsable del *bouquet*,<sup>39</sup> de este tipo lactonas se conocen también la lactona del Whisky y la del Cognac.<sup>40</sup>

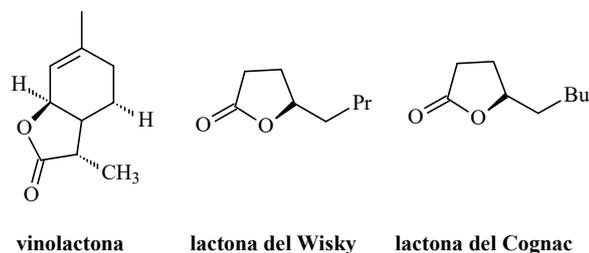


Figura 4

Algunas lactonas confieren propiedades organolépticas (Figura 5) a los alimentos por lo que son muy utilizadas en la industria alimentaria, un ejemplo es la  $\gamma$ -butirolactona responsable del aroma a coco y la  $\delta$ -decanolida con aroma característico a melocotón.<sup>41</sup>

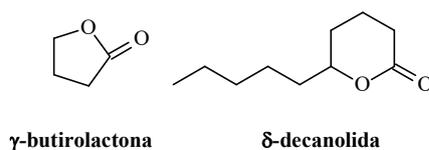


Figura 5

Otro ejemplo de lactona encontrada en la naturaleza y cuyas aplicaciones biológicas son interesantes es la crusatina (Figura 6) aislada del azafrán *Sativus crocus* (*Indacea*) y utilizada en farmacia como antiespasmódico, sedante nervioso, antitumoral e hipolipidémico.<sup>42</sup>

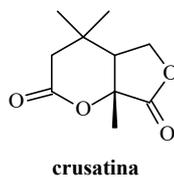


Figura 6

<sup>38</sup> Hinterholzer, en Chavan, S.P.; Kharol, R.K.; Sharma, A.; *Tetrahedron asymmetry*, **2001**, 12, 2985-2988

<sup>39</sup> Bergner, E.; Helmechen, G.; *Eur. J. Org. Chem.*; **2000**, 419-423

<sup>40</sup> Tejeira, M.; Suarez, P.L.; Gómez, G.; Terán, C.; Fall, Y.; *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5889

<sup>41</sup> Pittet, A. O.; Kaiba, E. M.; *J. Agric Food Chem.*, **1997**, 23 (6) 1189

<sup>42</sup> Li, C. Y.; Wu, T. S.; *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 1452-1456

La lactona (+)-muconina (Figura 7) es un agente antitumoral y pesticida encontrado en *Rollinia mucosa* (*Annonaceae*) que actúa como inhibidor de la respiración mitocondrial afectando la actividad de la NADH oxidasa de las plantas y de las células tumorales exhibiendo potente actividad citotóxica *in vitro* sobre líneas celulares pancreáticas y de glándula mamaria.<sup>43</sup> Otra lactona que presenta actividad citotóxica frente a células tumorales de próstata humana es la (+)-squamotacina (Figura 7).<sup>44</sup>

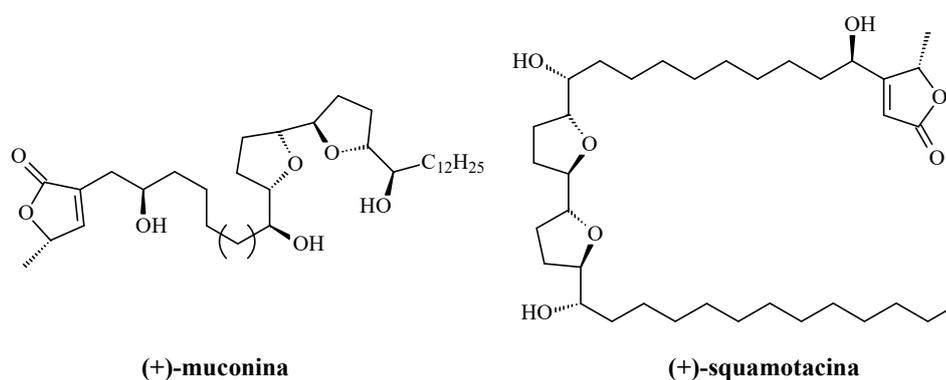


Figura 7

Por otro lado, algunas lactonas han presentado actividad antibacteriana, un ejemplo de ello, es la gentanina (Figura 9) extraída de *Xentiana butia* y sintetizada por Kametani en 1976.<sup>45</sup>

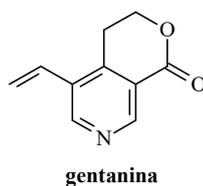


Figura 8

Debido a las interesantes propiedades biológicas de este tipo de compuestos, se han desarrollado diversos métodos de síntesis de lactonas, en la mayoría de ellos se utilizan como materia de partida, ácidos hidroxicarboxílicos y sus derivados (hidroxiésteres y halogenuros de acilo) y ácidos olefinicos los cuales pueden

<sup>43</sup> Yoshimitsu, T.; Makino, T.; Nagaoka, H.; *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 1993-1998

<sup>44</sup> Sinha, S.C.; Keinan, E.; *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 7067-7073

<sup>45</sup> Kametani, T.; Takeshita, M.; Ihanra, M.; Fukumoto, K.; *J. Org. Chem.*, **1976**, 41(15), 2542-2545

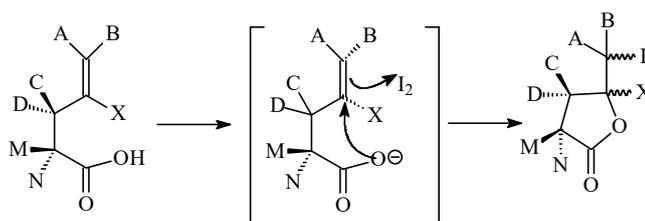
convertirse en lactonas mediante reacciones de anillación intramolecular<sup>46</sup> que depende del tamaño del anillo, por ejemplo las  $\gamma$ -lactonas se forman muy fácilmente debido a la cercanía de los centros de reacción.<sup>47</sup> Los métodos comúnmente utilizados comprenden reacciones como la doble adición a enlaces  $\pi$ -activados, hidrocarboxilación, reacciones de oxidación de éteres, reacciones de anillación intramolecular, halolactonización, reacción de anillación fotoquímica y electroquímica, entre otras.

Uno de los métodos más empleados por su sencillez es la reacción de lactonización de ácidos hidroxicarboxílicos en presencia de ácidos minerales, que se ha aplicado extensamente en la preparación de  $\gamma$ - y  $\delta$ -lactonas, durante la destilación de ácidos  $\alpha$ ,  $\beta$ -,  $\beta$ ,  $\gamma$ - y  $\gamma$ ,  $\delta$ -olefínicos.<sup>48</sup> (Esquema 17)<sup>49</sup>



Esquema 17

Asimismo, la reacción de halolactonización consiste en la formación de halolactonas a partir de ácidos carboxílicos olefínicos, mediante la reacción nucleofílica de un doble o triple enlace de ácido  $\gamma$ -insaturado al halógeno,<sup>50</sup> formándose como intermediario el ion iodonio que al anillarse estereoespecíficamente forma la  $\gamma$ -lactona correspondiente (Esquema 18).<sup>51</sup>



Esquema 18

<sup>46</sup> Oligaruso, M.A.; Wolfe, J.F.; "Synthesis of lactones and lactams", John Wiley & Sons., London, **1993**, 3

<sup>47</sup> Heine, H.W.; Becker, E.; Lane, J.F.; *J. Amer. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 4514

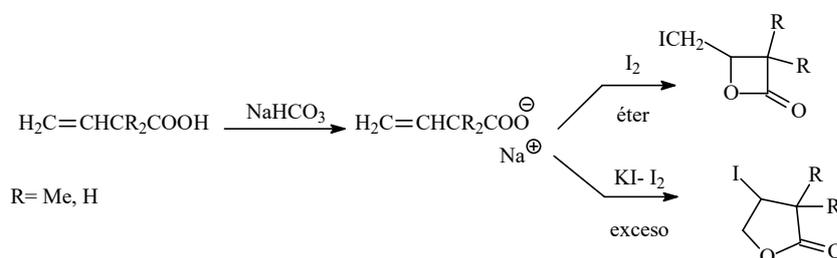
<sup>48</sup> Boorman, E.J.; Lindstead, R.P.; *J. Chem. Soc.*, **1935**, 258

<sup>49</sup> Clarke, B-J; Hildebrand, R.P.; *J. Inst. Brew*, **1967**, 73(1), 60-70, *Chem Abst*, **1967**, 67, 32303a

<sup>50</sup> Amaral, L.; Melo, S.C.; *J. Org. Chem.*, **1973**, 38(4), 800-802

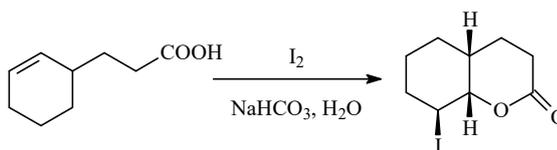
<sup>51</sup> Rangnathan, S.; Muraleedharan, K.M.; Vaish, N.K., Jayaraman, N.; *Tetrahedron*, **2004**, 60, 5273-5308

Un caso particular de esta reacción es la iodolactonización, que se lleva a cabo mediante la adición de yodo en medio básico acuoso.<sup>52</sup> El tamaño del anillo y la posición de los sustituyentes en la lactonas obtenidas mediante éste procedimiento se ve directamente afectado por las condiciones de reacción, por ejemplo; si la iodolactonización del ácido  $\beta$ ,  $\gamma$ -insaturado se realiza utilizando un exceso de yoduro de potasio durante un periodo largo de reacción se obtiene una  $\beta$ -yodo- $\gamma$ -lactona (Esquema 19), mientras que en la iodolactonización estequiométrica y en un periodo de reacción corto se forma la  $\gamma$ -yodo- $\beta$ -lactona correspondiente; lo que indica que las  $\beta$ -lactonas son el producto cinético de la reacción.<sup>53</sup>



Esquema 19

El tamaño de la lactona formada también se ve afectado por el volumen de los sustituyentes del ácido, por ejemplo; en algunas reacciones se puede formar la  $\gamma$ -lactona preferentemente sobre la  $\delta$ -lactona, debido a la preferencia en la formación de las *cis* lactonas fusionadas en reacciones de iodolactonización, (Esquema 20).<sup>54</sup>



Esquema 20

Por último, cabe hacer mención que existen otros reactivos útiles para llevar a cabo halolactonizaciones por ejemplo,  $I^+$ (colidina)<sub>2</sub>  $PF_6^+$ ,<sup>55</sup>  $KI$  /persulfato de sodio,<sup>56</sup>  $Br_2$  y  $Tl_2CO_3$ .<sup>57</sup>

<sup>52</sup> Van Tamelen, E.E.; Shamma, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 2315-2317

<sup>53</sup> Cardillo, G.; Orena, M.; *Tetrahedron*, **1990**, 46(10), 3321-3408

<sup>54</sup> House, H.O.; Carlson, R.G.; Babad, H.; *J. Org. Chem.*, **1963**, 3359-3361

<sup>55</sup> Homsí, F.; Rousseau, G.; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5255-5258

<sup>56</sup> Royer, A.C.; Mebane, R.C.; Swalford, A.M.; *Synlett.*, **1993**, 889-89

<sup>57</sup> Cambie, R.C., Rotledge, P.S.; Somerville, R.F., Woodgate, P.D.; *Synthesis*, **1988**, 1009-1010

## **II. HIPÓTESIS**

Sí la reacción de adición de nucleófilos como los alilsilanos a compuestos azaaromáticos activados con cloroformiato de metilo es catalizada al adicionar el ion triflato; entonces es posible obtener los ácidos 1,4-dihidropiridinil carboxílicos y las lactonas bicíclicas correspondientes mediante la reacción de adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] piridonio.

### III. OBJETIVOS

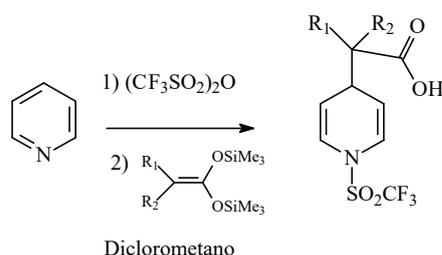
Las lactonas son esteres cíclicos con propiedades biológicas y estructurales interesantes por lo que han sido utilizadas como intermediarios en la síntesis de compuestos de origen natural, además son responsables de las propiedades organolépticas de algunos alimentos y poseen un interés farmacológico; por ello consideramos importante sintetizar nuevas lactonas bicíclicas cuyas propiedades químicas y estructurales, puedan ser de utilidad en la elaboración de nuevos compuestos biológicamente activos.

#### III.1. OBJETIVO GENERAL

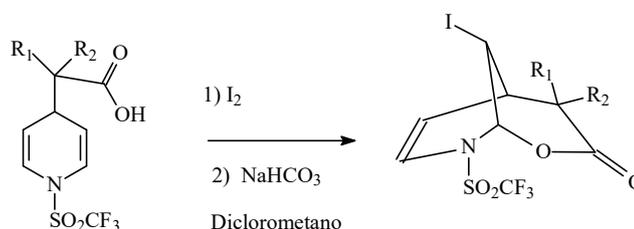
Sintetizar y realizar un estudio de la actividad biológica de ácidos carboxílicos y iodolactonas bicíclicas obtenidas mediante la adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] piridonio.

#### III.2. Metas

∞ Sintetizar ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinil carboxílicos mediante la adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] piridonio generado *in situ*.



☞ Sintetizar *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] iodolactonas bicíclicas [3.3.1] mediante la iodolactonización de ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinil carboxílicos.



☞ Evaluar la actividad citotóxica de los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos y las *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] iodolactonas bicíclicas[3.3.1] obtenidas, en líneas celulares de cáncer humano de; sistema nervioso central, próstata, leucemia, colon, glándula mamaria y pulmón.

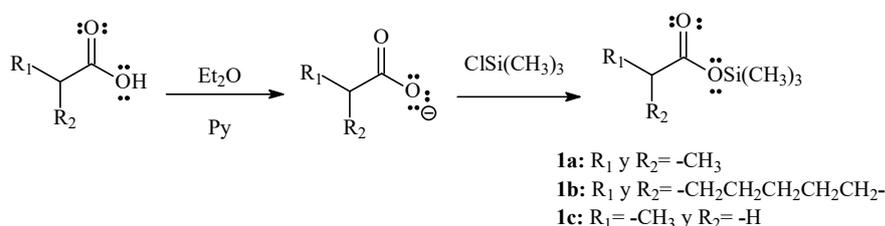
☞ Evaluar la actividad antiinflamatoria de los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos y *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] iodolactonas bicíclicas[3.3.1] obtenidos.

## IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### IV.1. Síntesis y caracterización

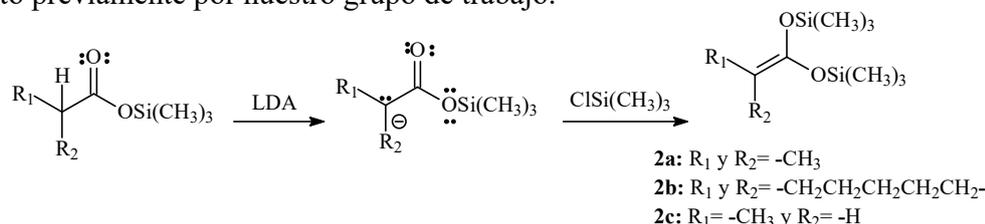
#### Síntesis de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

Los ésteres de trimetilsilicio derivados de ácidos carboxílicos se utilizan como materia prima en la preparación de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena. Por lo que en el presente trabajo se empleó el método de síntesis reportado por Ainsworth,<sup>58</sup> para lo cual se inició con la preparación de los ésteres de trimetilsilicio mediante la reacción ácido base entre la piridina y el ácido carboxílico correspondiente, seguido de la reacción con clorotrimetilsilano. (Esquema 21)



Esquema 21 Síntesis de ésteres de trimetilsilicio

Una vez sintetizados los ésteres de trimetilsilicio **1a** y **1b**, se procedió a preparar los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena; la síntesis consiste en una reacción ácido base entre el éster de trimetilsilicio con el diisopropilamido de litio, el cual extrae el protón en la posición  $\alpha$  al carbonilo del éster, el intermediario aniónico formado se adiciona nucleofílicamente sobre el clorotrimetilsilano obteniéndose los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena **2a** y **2b**. (Esquema 22), sus datos espectroscópicos coinciden con lo descrito previamente por nuestro grupo de trabajo.<sup>59</sup>



Esquema 22 Síntesis de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

<sup>58</sup> Ainsworth, C.; Kuo, Y.N.; *J. Organomet. Chem.*, **1972**, 46, 73-87

<sup>59</sup> Aldeco, P.E.; “*Síntesis de lactonas policíclicas vía complejos de tricarbonilo de cromo y acetales de bis(trimetilsilil)acetenas*”, **2006**, U.N.A.M.

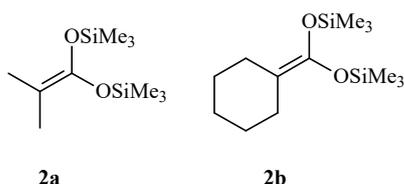
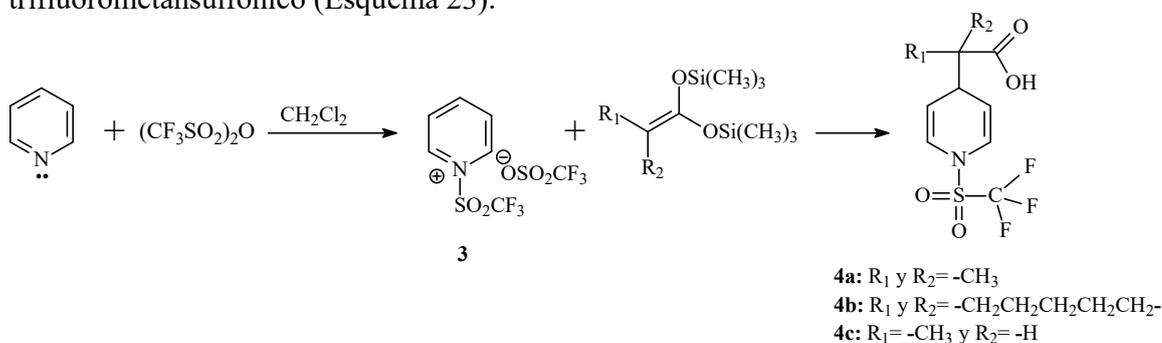


Figura 9 Acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena

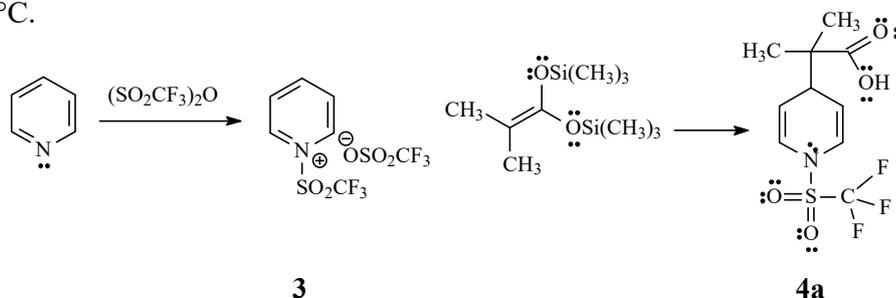
### Síntesis de los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos:

Nuestro trabajo consiste en obtener productos de la adición nucleofílica de acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena a piridina, activada previamente con anhídrido trifluorometansulfónico (Esquema 23).



Esquema 23 Síntesis de los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidropiridinilcarboxílicos

Primero se realizó la reacción de adición nucleofílica del acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena **2a** sobre el trifluorometansulfonato de piridonio **3** generado *in situ* (Esquema 24), el proceso de síntesis fue monitoreado mediante cromatografía en capa fina utilizando como revelador reactivo de Dragendorff, el compuesto **4a** se obtuvo con un rendimiento de 75.42 % como un sólido cristalino de color blanco que funde entre 107.1 y 108.4 °C.



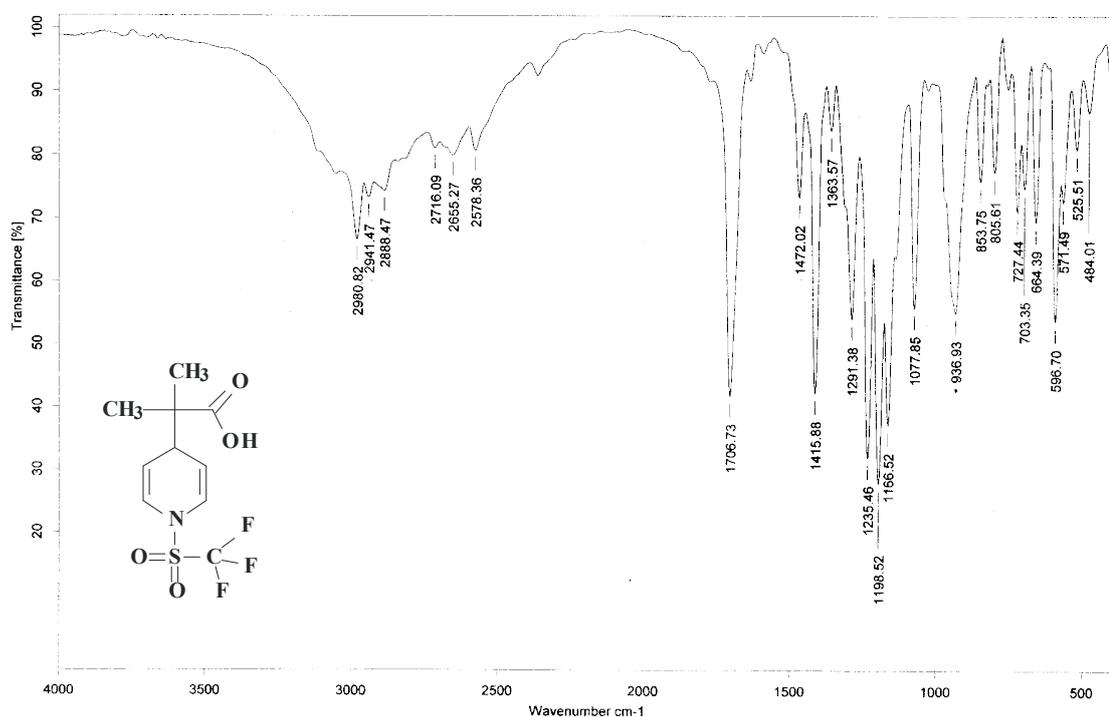
Esquema 24 Síntesis del ácido 2-metil-2-[1-(trifluorometil)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinil}propanoico (**4a**)

En el espectro de infrarrojo del ácido **4a** (Espectro 1) se observan las bandas características del grupo carboxílico, la banda ancha  $\nu_{OH}$  entre  $3300$  y  $2500\text{ cm}^{-1}$  característica de la presencia de puentes de hidrógeno<sup>60</sup>(Figura 10), la banda  $\nu_{C=O}$  en  $1706\text{ cm}^{-1}$  y las bandas  $\delta_{OC-OH}$  y  $\delta_{OH}$  en  $1291$  y  $1415\text{ cm}^{-1}$  respectivamente.

Además una banda ancha débil  $\nu_{SC}$  en  $517\text{ cm}^{-1}$ , una banda aguda muy intensa  $\nu_{SO}$  simétrica y asimétrica en  $1415\text{ cm}^{-1}$  y una banda media en  $1166\text{ cm}^{-1}$  de la sulfonilamida y dos bandas  $\nu_{CF}$  en  $1235$  y  $703\text{ cm}^{-1}$  del grupo trifluorometano.

La banda débil en  $727\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración  $\delta_{C=C(Z)}$  fuera del plano.

Finalmente se observan las bandas de intensidad media  $\delta_{CH_3}$  asimétrica y simétrica en  $1472$  y  $1363\text{ cm}^{-1}$  respectivamente.



Espectro 1 Espectro de infrarrojo KBr del ácido **4a**

<sup>60</sup> Silverstein, R.M.; Clayton, G.S.; *Spectrometric Identification of organic compounds*, second edition, New York, 1967, 89

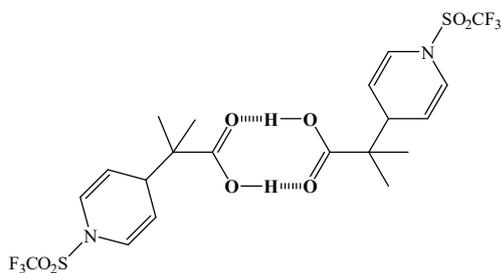
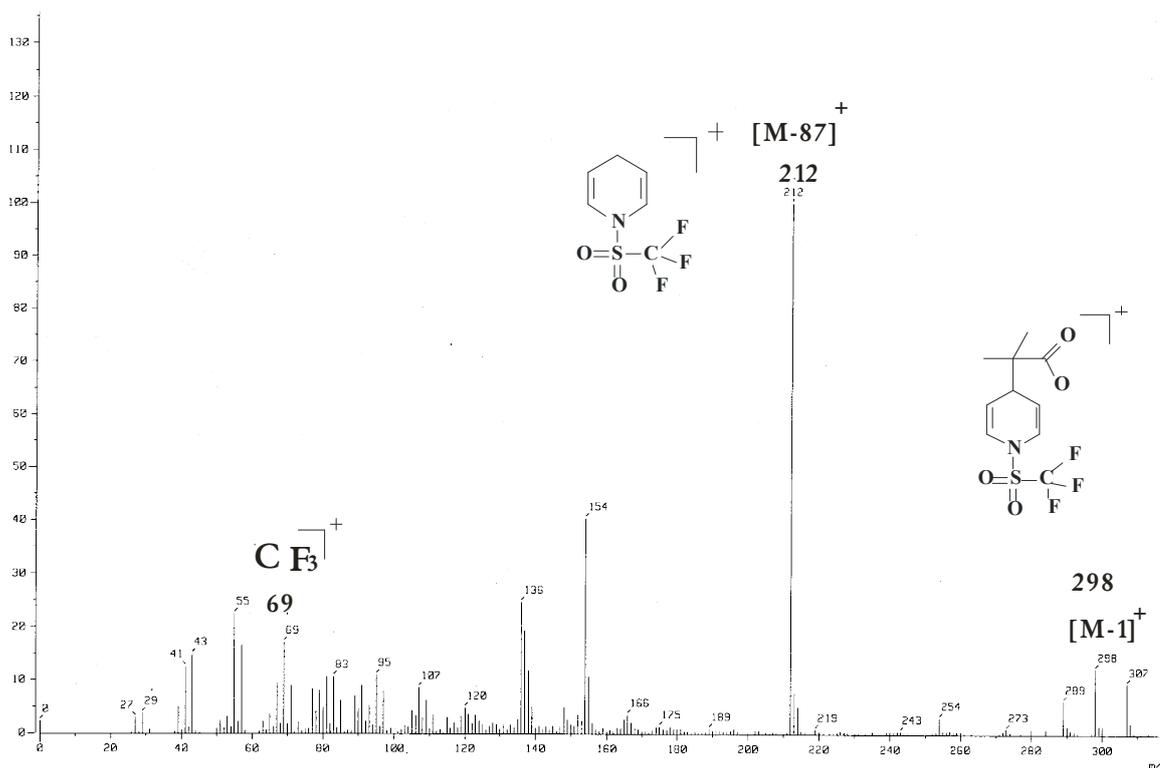


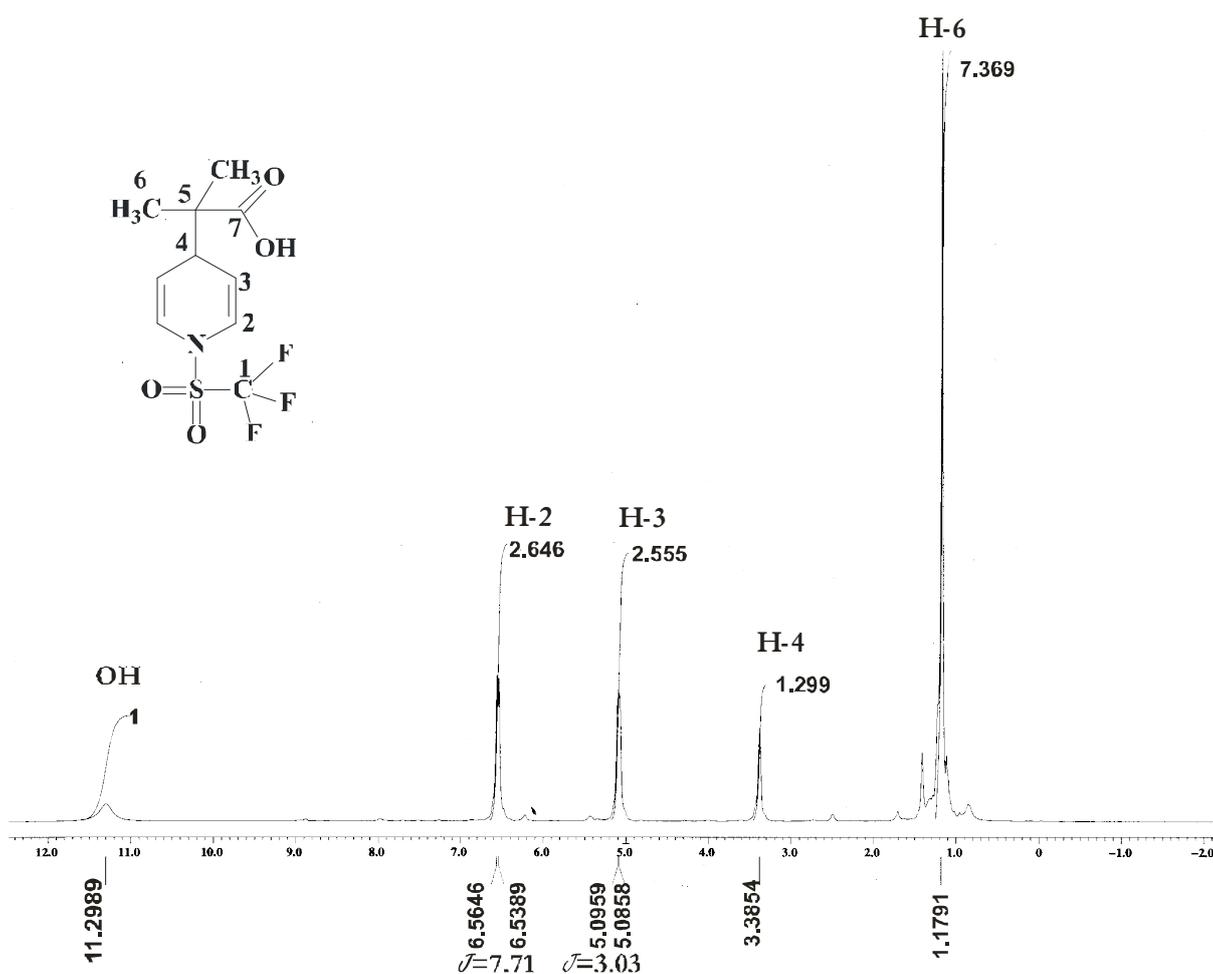
Figura 10 Puentes de hidrógeno del ácido 4a

El espectro de masas del ácido 4a (Espectro 2) muestra el pico correspondiente al ion  $[M-1]^+$  de  $m/z$  298, además el pico base de  $m/z$  212 correspondiente al ion fragmento  $N$ -[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidropiridonio y el ion fragmento de  $m/z$  69 del fragmento trifluorometilo.



Espectro 2 Espectro de masas IE del ácido 4a

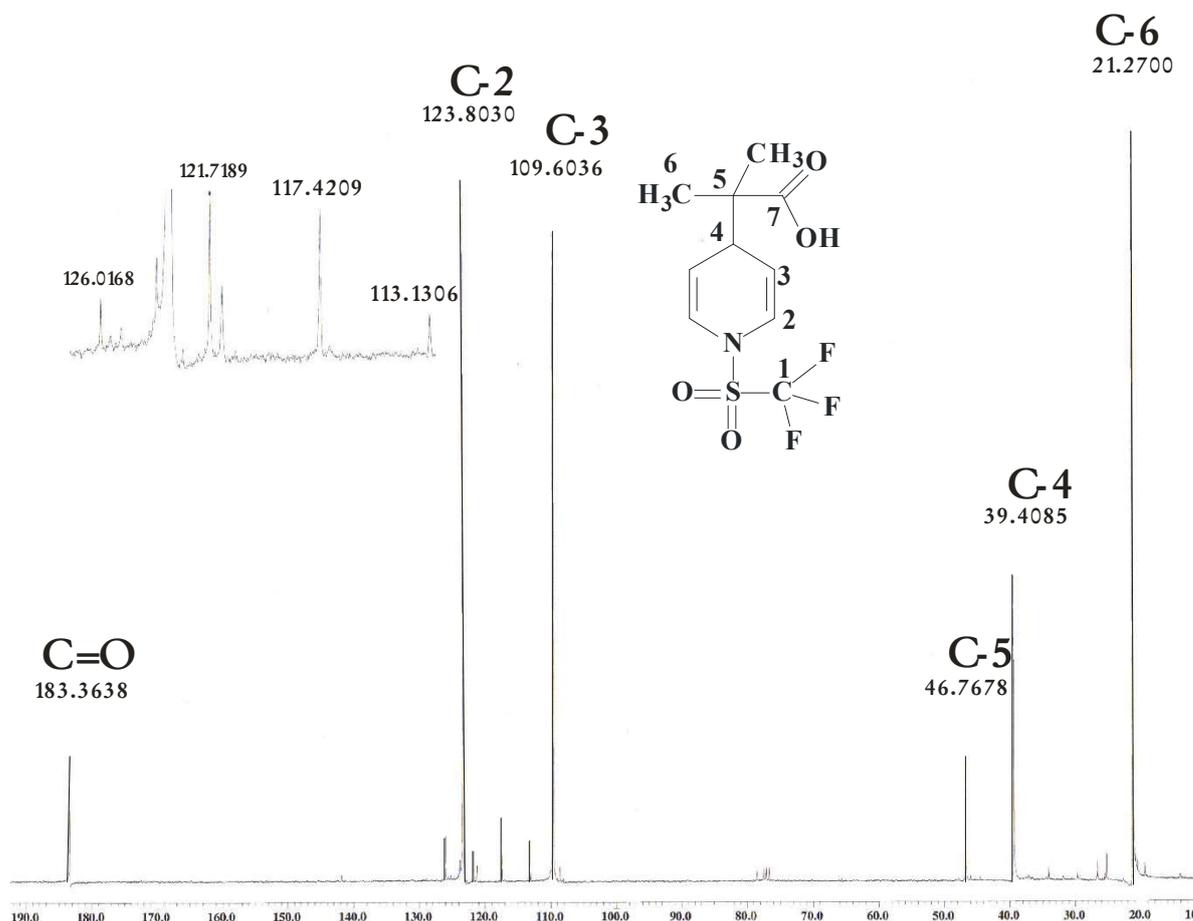
En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del ácido **4a** (Espectro 3) se observa una señal simple en 1.18 ppm correspondiente a los protones de los grupos metilo, además una señal simple ancha en 3.39 ppm asignada al protón H-4 y una señal doble en 5.09 ppm que corresponde a los protones H-3 y una señal doble en 6.55 ppm que pertenece a los protones H-2. Finalmente se observa la señal simple ancha correspondiente al protón del grupo hidroxilo del ácido en 11.30 ppm.



Espectro 3 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) del ácido **4a**

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del ácido **4a** (Espectro 4) se observa en 21.3 ppm la señal de los dos grupos metilo, además la señal del átomo de carbono C-4 del anillo de 1,4-dihidropiridina, en 39.4, en la zona de dobles ligaduras aparecen las señales de los átomos de carbono C-3, en 109.60 ppm y de los átomos de carbono C-2 en 123.80 ppm. También se observa una señal en 46.77 ppm correspondiente al átomo de carbono cuaternario C-5 y

una señal cuádruple en 119.6 ppm correspondiente al átomo de carbono cuaternario del grupo trifluorometilo ( $J = 324.8$  Hz), finalmente la señal correspondiente al carbonilo del ácido en 183.4 ppm.



Espectro 4 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) del ácido 4a

El ácido **4b** se obtuvo a partir de la adición de los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena **2b** sobre el trifluorometansulfonato de piridonio **3** (Esquema 24).

El espectro de infrarrojo del compuesto **4b** al igual que el del ácido **4a** mostró las bandas de absorción de los grupos funcionales correspondientes al grupo carboxilo del ácido y al grupo trifluorometansulfonilo (Tabla 1).

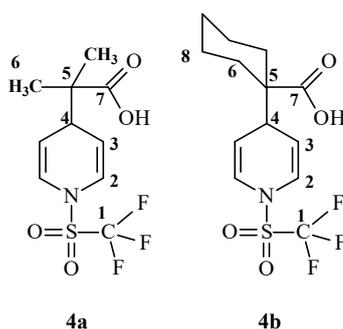
Tabla 1 Bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) en el espectro de infrarrojo de los ácidos **4a** y **4b**

Banda de absorción ( $\text{cm}^{-1}$ ) de	<b>4a</b>	<b>4b</b>
$\nu_{\text{COO-H}}$	3300-2500	3300-2500
$\nu_{\text{C=O}}$	1706	1688
$\nu_{\text{R-SO}_2\text{-N as, si}}$	1415 y 1166	1412 y 1166
$\nu_{\text{C-F}_3}$	1235 y 703	1245 y 700
$\delta_{\text{C=C}}$	727	724

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del ácido **4b** (Tabla 2) confirman la estructura del ácido 1,4-dihidropiridinil carboxílico.

Tabla 2 Datos de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los ácidos **4a** y **4b**

Posiciones	Desplazamientos químicos (ppm)			
	<b>4a</b>		<b>4b</b>	
	$\text{RMN } ^1\text{H}$	$\text{RMN } ^{13}\text{C}$	$\text{RMN } ^1\text{H}$	$\text{RMN } ^{13}\text{C}$
1	-	119.6	-	119.5
2	6.55	123.8	6.54	120.9
3	5.09	109.6	5.10	108.5
4	3.39	39.4	3.19	38.6
5	-	46.8	-	50.2
6	1.18	21.3	2.04	33.4 y 33.6
7	-	183.4	-	171.7
8	-	-	1.17-1.39	20.3 y 20.7
9	-	-	1.67	25.1
OH	11.30	-	9.27	-



Además, la estructura del ácido **4b** fue establecida mediante los datos de difracción de rayos X de monocristal (Tabla 3).

**Tabla 3** Datos cristalográficos y refinamiento del ácido 1-(1-Trifluorometanosulfonil-1,4-dihidropiridin-4-il)-ciclohexano carboxílico

Parámetro	Valor
<i>Datos del compuesto</i>	
Fórmula empírica	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub> S
Peso molecular (g / mol)	339.33
<i>Parámetros de la celda</i>	
a (Å)	6.138 (1)
b (Å)	11.391 (1)
c (Å)	12.146 (1)
α (°)	64.292 (2)
β (°)	79.281 (2)
γ (°)	82.662 (2)
Volumen (Å <sup>3</sup> )	750.8
Grupo espacial	<i>P-1</i>
Valor de Z	2
Densidad calculada ρ (g / cm <sup>3</sup> )	1.501
Coefficiente de absorción μ (MoKα) (mm <sup>-1</sup> )	0.265
Temperatura (K)	294 (2)
Intervalo de 2θ <sub>max</sub> para los datos de colección (°)	1.88 a 25.38
F(000)	352
Reflexiones colectadas	6353
No de obs. refin.	2757
No de parámetros	231
S	1.016
Indices R finales (I>2σ(I))	
R1:	0.0502
wR2:	0.1146
Índices R todos los datos	
R1:	0.0689
wR2:	0.1238
Δρ <sub>max/min</sub> Å <sup>-3</sup>	0.224 y -0.213

De acuerdo con los resultados obtenidos en la difracción de rayos X del ácido **4b** la suma de los ángulos de enlace del átomo N(8) es 359° lo que indica que tiene una geometría trigonal plana indicada para una hibridación sp<sup>2</sup> cuyo par de electrones libres se encuentra deslocalizado con el doble enlace de grupo sulfonilo, lo que sugiere la participación de los orbitales 3d del azufre y 2p del nitrógeno en el fenómeno de retrodonación, de tal forma que la magnitud de éste enlace se considera prácticamente la de

un doble enlace (1.611 Å), respecto a la longitud de enlace de la sulfonamida (1.710 Å) descrito en la literatura.<sup>61</sup>

El ángulo de enlace del átomo de carbono cuaternario C(4)\* en el anillo heterocíclico de 109.6° y el aumento en la longitud de enlace C(4)-C(5) de 1.400 Å<sup>62</sup> en la piridina a 1.496 Å en el ácido **4b** confirman la formación de la 1,4-dihidropiridina.

Como se puede observar el ciclohexano en la molécula tiene una conformación de silla, lo que se confirma al comparar los resultados obtenidos en las longitudes de enlace y los ángulos de enlace internos de 111.7° en nuestra molécula con lo reportado en la literatura para ésta conformación.<sup>63</sup>

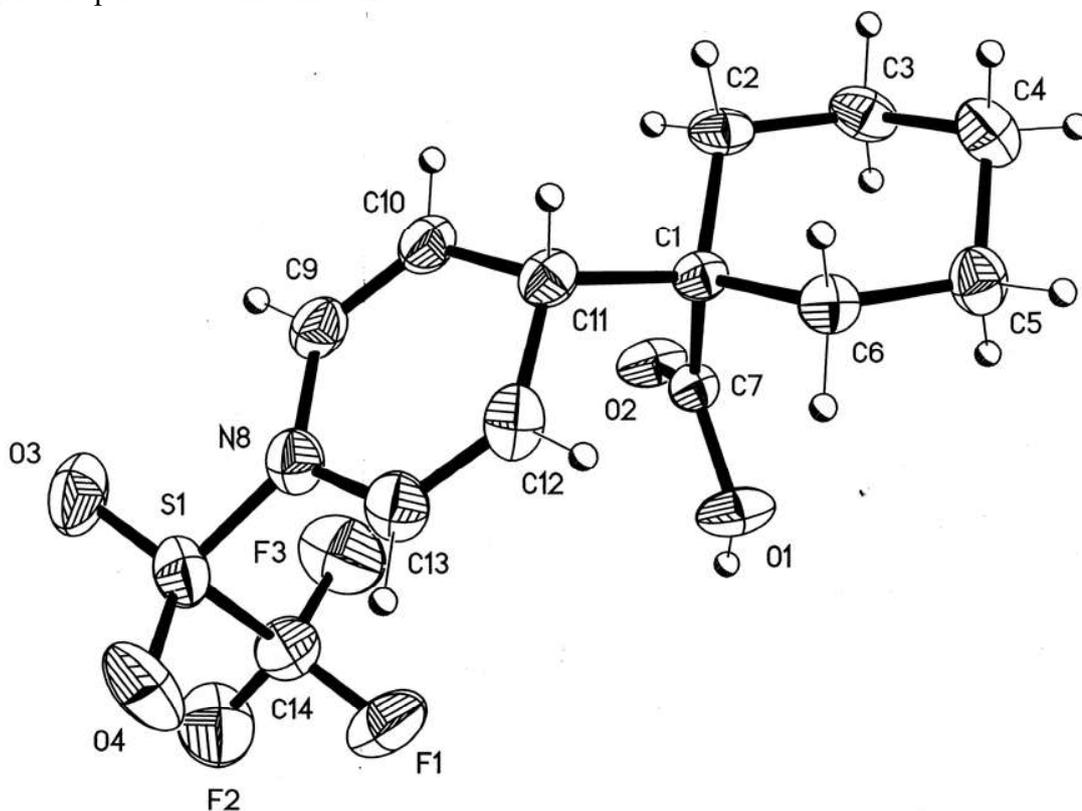


Figura 11 Estructura de rayos X del ácido **4b**

\*Numeración correspondiente a la nomenclatura IUPAC

<sup>61</sup> Peter, K.C.; Vollhardt, N.E.; "Química Orgánica estructura y función" tercera edición, Omega, Barcelona, 1999, 14-15

<sup>62</sup> Acheson, R.M.; *An Introduction to the Chemistry of heterocyclic compounds*, third edition, New York, 1977, 228-229

<sup>63</sup> Allen, F.H.; Kennard, O.; Watson, D.G., *J. Chem. Perkin Trans. II*, 1987, S 1-S 19

Tabla 4 Distancias y ángulos de enlace del ácido 1-(1-trifluorometanosulfonil-1,4-dihidro-piridin-4-il)-ciclohexano carboxílico 4b

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
S(1)-O(4)	1.399 (2)	O(4)-S(1)-O(3)	122.65 (14)
S(1)-O(3)	1.412 (2)	O(4)-S(1)-N(8)	109.15 (2)
S(1)-N(8)	1.611 (2)	O(4)-S(1)-C(14)	106.04 (16)
S(1)-C(14)	1.826 (3)	C(9)-N(8)-S(1)	120.70 (17)
F(1)-C(14)	1.302 (15)	C(10)-C(9)-N(8)	122.1 (2)
F(2)-C(14)	1.302 (16)	C(9)-C(10)-C(11)	124.3 (2)
F(3)-C(14)	1.299 (17)	C(7)-N(8)-S(1)	122.1 (2)
N(8)-C(9)	1.412 (3)	C(9)-N(8)-C(13)	117.2 (2)
N(8)-C(13)	1.416 (3)	C(12)-C(11)-C(10)	109.6 (2)
C(9)-C(10)	1.310 (3)	C(12)-C(11)-C(1)	114.04 (17)
C(10)-C(11)	1.496 (3)	C(10)-C(11)-C(1)	113.58 (18)
C(1)-C(11)	1.576 (3)	C(13)-C(12)-C(11)	124.6 (2)
C(11)-C(12)	1.490 (3)	C(12)-C(13)-N(8)	121.9 (2)
C(12)-C(13)	1.310 (3)	C(7)-C(1)-C(11)	107.67 (16)
O(1)-C(7)	1.301 (2)	C(2)-C(1)-C(11)	109.55 (16)
O(2)-C(7)	1.217 (2)	C(6)-C(1)-C(11)	108.99 (16)
C(1)-C(7)	1.516 (3)	O(1)-C(7)-C(1)	115.13 (18)
C(1)-C(2)	1.536 (3)	C(7)-C(1)-C(2)	109.80 (16)
C(1)-C(6)	1.540 (3)	C(7)-C(1)-C(6)	111.85 (16)
C(2)-C(3)	1.511 (3)	C(2)-C(1)-C(6)	108.95 (17)
C(3)-C(4)	1.514 (3)	C(3)-C(2)-C(1)	113.85 (18)
C(4)-C(5)	1.523 (3)	C(2)-C(3)-C(4)	111.74 (19)
C(5)-C(6)	1.514 (3)	C(3)-C(4)-C(5)	110.5 (2)
		C(5)-C(6)-C(1)	113.38 (17)

En la proyección ORTEP de rayos X del ácido **4b** (Figura 11) y la red cristalina (Figura 12) se observa que el grupo trifluorometansulfonilo y el carboxilo del ácido se encuentran en una orientación *syn*, contrario a lo que se esperaría ya que ambos grupos son muy voluminosos, debido a que durante el empaquetamiento de las moléculas el grupo trifluorometansulfonilo se ve impedido con otra molécula de ácido adyacente a lo largo del eje **b** de la red cristalina.

Como se observa en la red cristalina (Figura 12) el ácido **4b** se encuentra como dímero formando puentes de hidrógeno (Tabla 5) entre el átomo de hidrógeno de una molécula del ácido con el átomo de oxígeno del carbonilo de otra molécula lo que se había propuesto con los datos de la espectrofotometría de absorción infrarroja (Figura 10).

Tabla 5 Enlaces de hidrógeno [Å y °] para el ácido 1-(1-Trifluorometanosulfonil-1,4- dihidro-piridin-4-il)-ciclohexano carboxílico 4b

O-H...O	d(O-H)	d(H...O)	D(O...O)	<(OHO)
O(1)-H(1)...O(2)#1	0.88 (3)	1.82 (3)	2.699 (2)	177 (3)

Transformación de simetría usada en la generación de átomos equivalentes:#1 -x,-y+1,-z

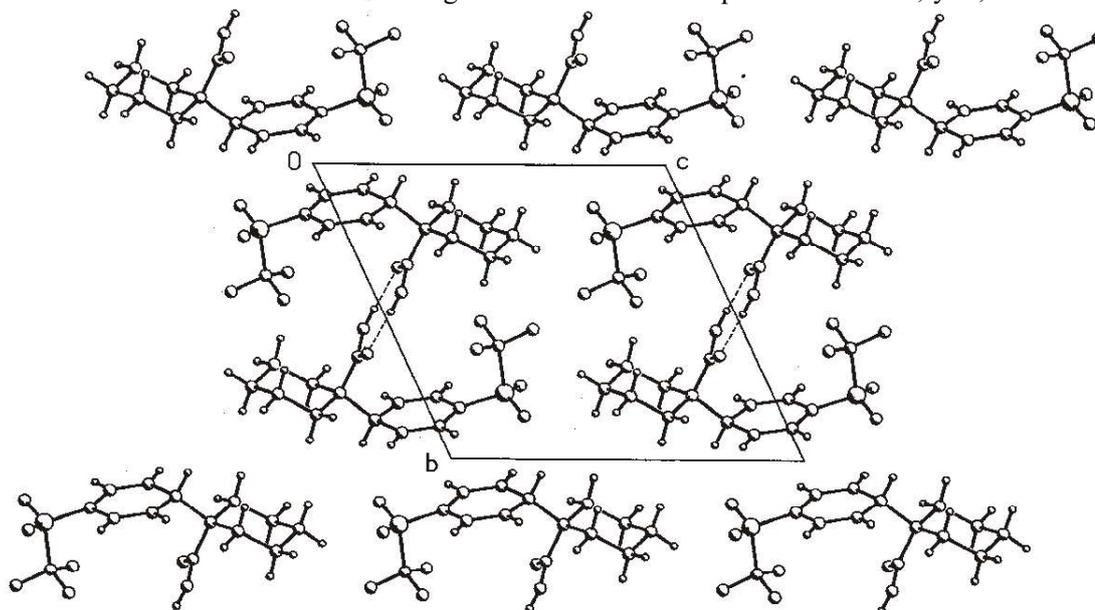
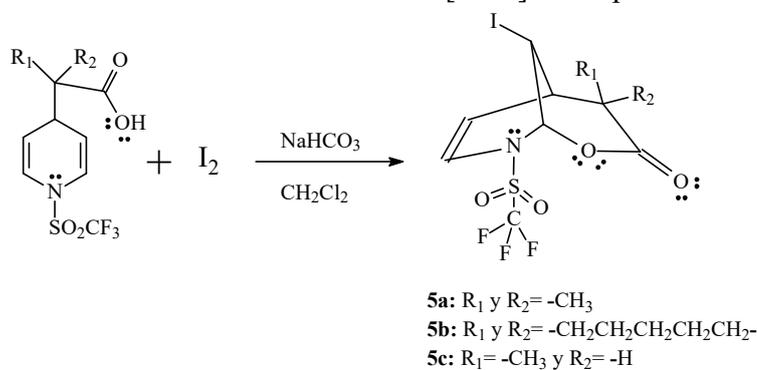


Figura 12 Red cristalina primitiva del ácido 4b

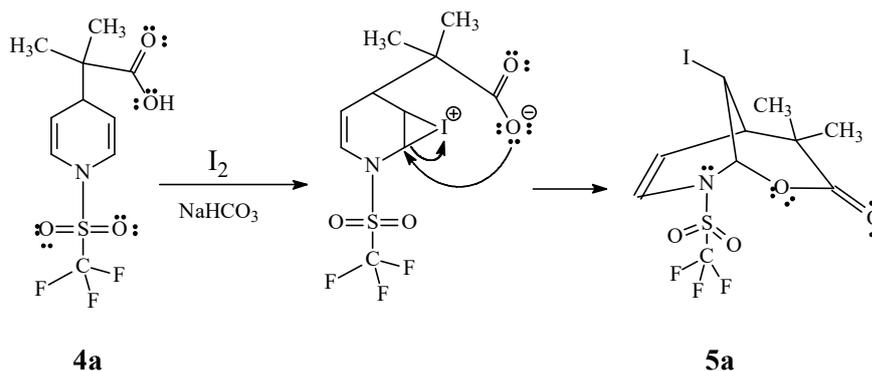
### Síntesis de *N*-[(trifluorometan)sulfonil] iodolactonas bicíclicas [3.3.1]

Una vez obtenidos los ácidos carboxílicos **4a** y **4b** se decidió llevar a cabo la formación de sus lactonas, para esto se llevó a cabo una reacción de iodolactonización con el objetivo de sintetizar las iodolactonas bicíclicas [3.3.1] correspondientes (Esquema 25).



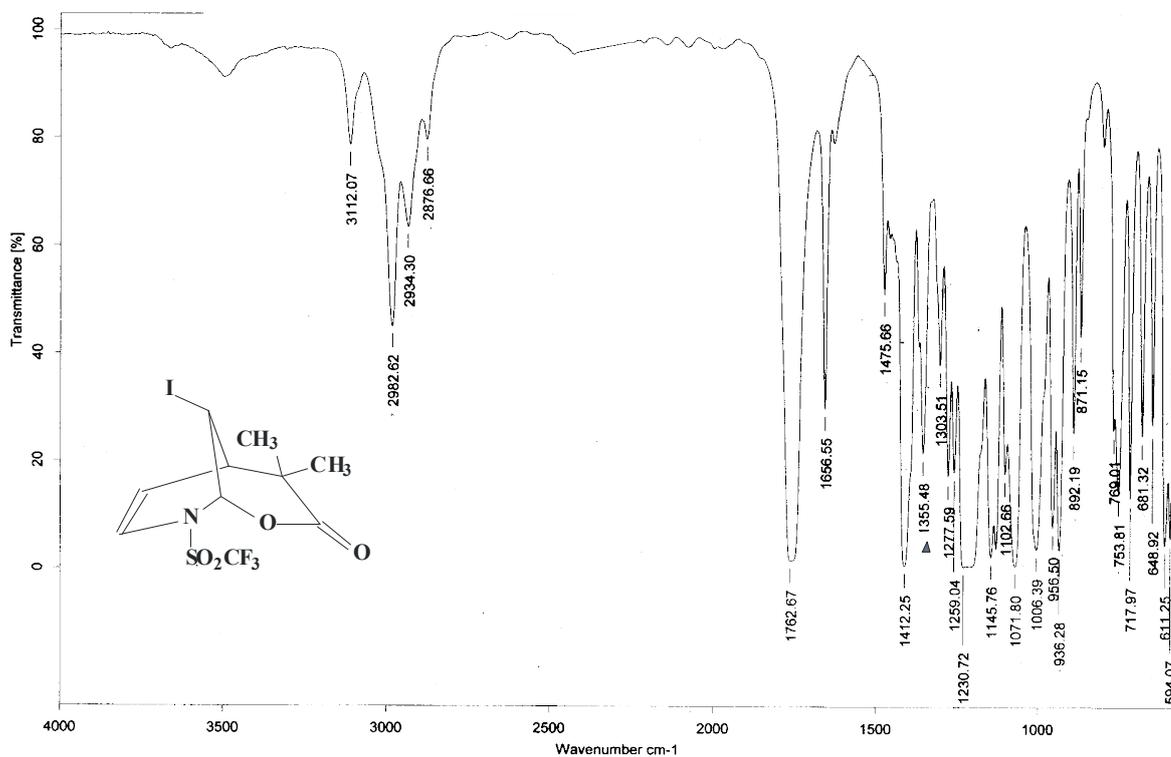
Esquema 25 Reacción de iodolactonización de ácidos *N*-[(trifluorometil)sulfonil]-1,4- dihidropiridincarboxílicos

En una primera etapa se llevo a cabo la obtención de la lactona **5a** mediante la reacción del ácido **4a** con yodo en medio básico, que procede vía el ion iodonio formado a partir del ataque nucleofílico de la doble ligadura del ácido al iodo, que a través de una anillación regioespecífica forma la iodolactona bicíclica **5a** (Esquema 26) con un rendimiento de 74.34 %, como un sólido cristalino que funde entre 110.3 a 111.4 °C.



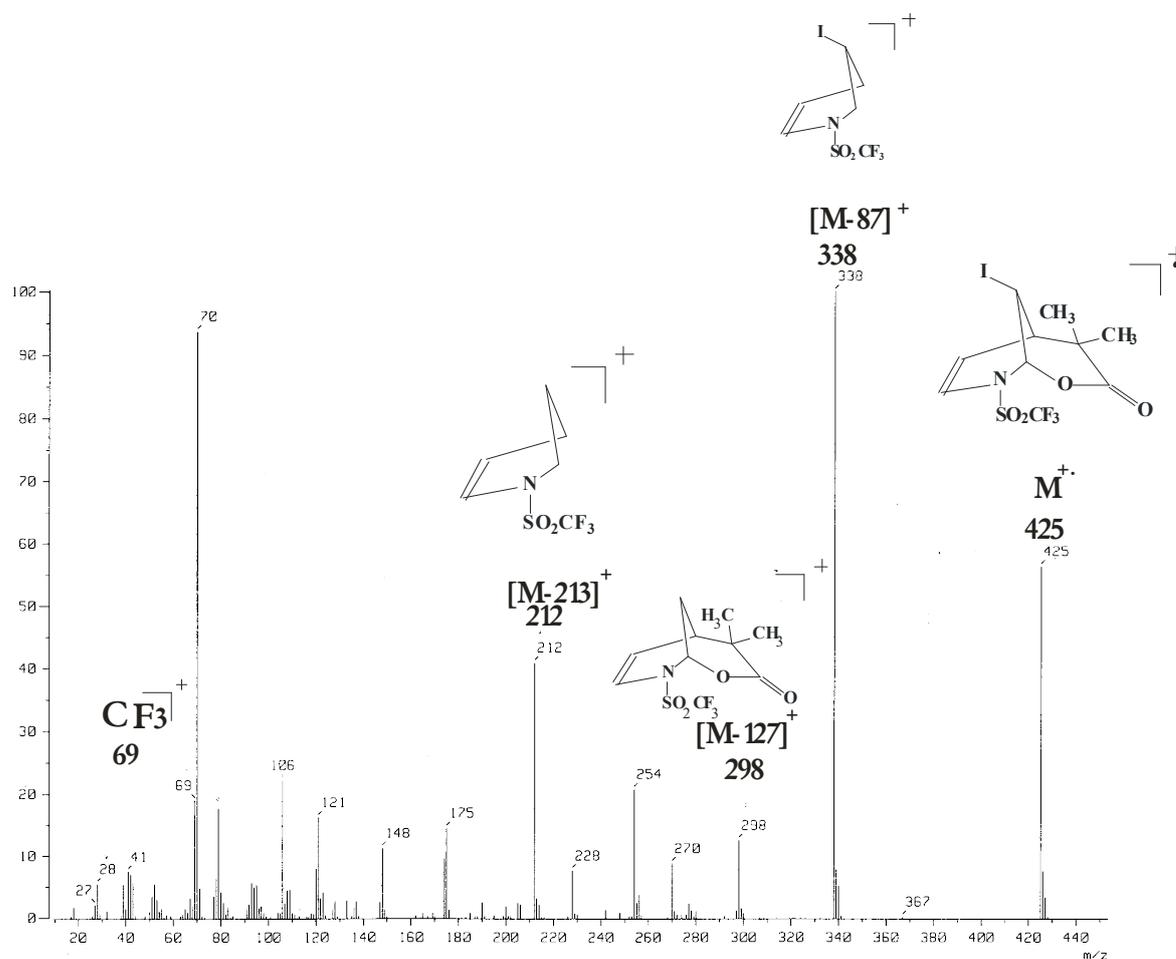
Esquema 26 Formación de la iodolactona bicíclica [3.3.1] **5a**

En el espectro de infrarrojo de la lactona **5a** (Espectro 5) se observa la banda característica  $\nu_{C=O}$  de una  $\delta$ -lactona en  $1762\text{ cm}^{-1}$ , dos bandas  $\nu_{C-O}$  en  $1355$  y  $1071\text{ cm}^{-1}$ , además en  $1412$  y  $1145\text{ cm}^{-1}$  las bandas  $\nu_{S=O}$  simétrica y asimétrica de la sulfonilamida y dos bandas  $\nu_{C-F}$  en  $1230$  y  $717\text{ cm}^{-1}$  del grupo trifluorometilo y dos bandas débiles en  $1656$  y  $717\text{ cm}^{-1}$  de  $\nu_{C=C}$  y  $\delta_{C=C}$  fuera del plano del enlace  $C=C$  (Z).



**Espectro 5** Espectro de infrarrojo en película de la lactona **5a**

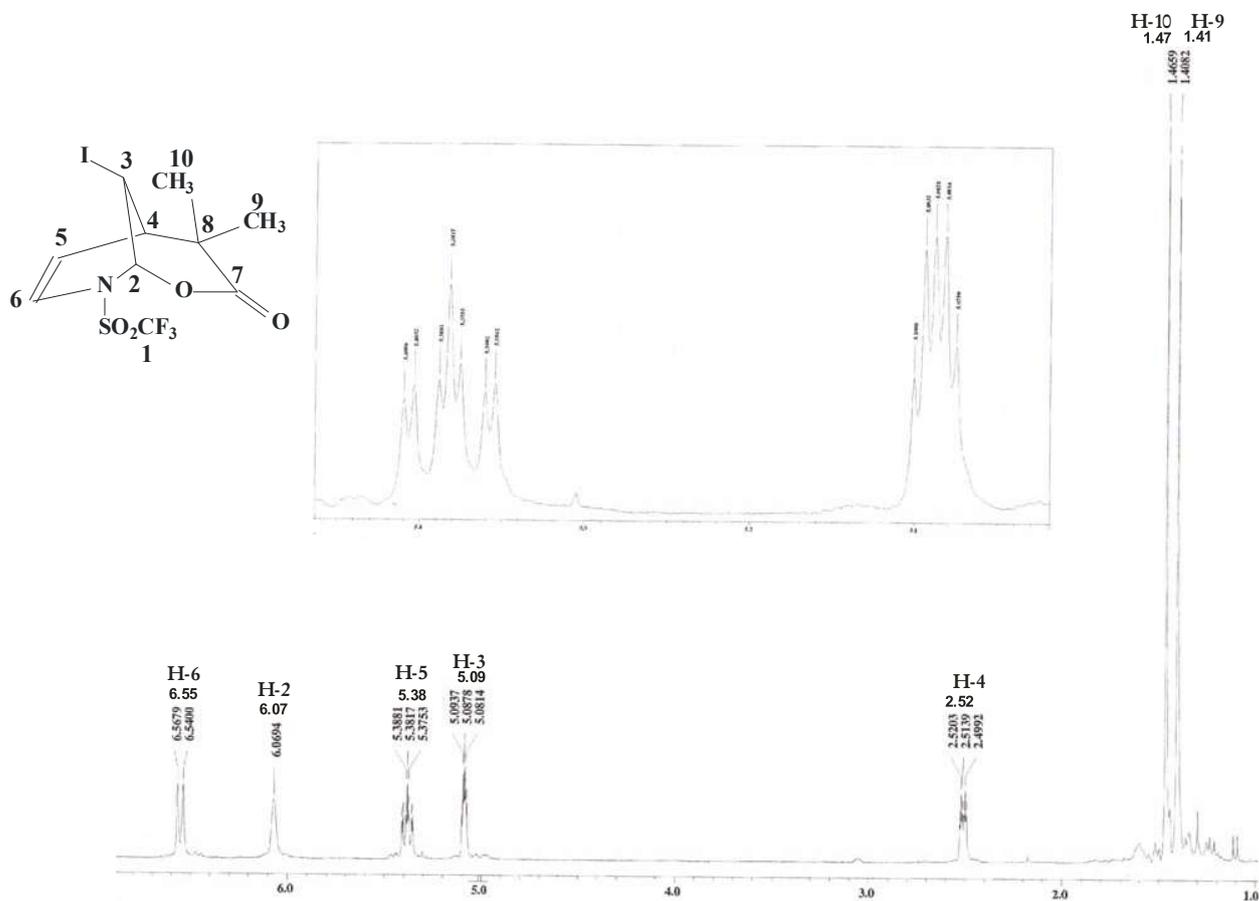
El espectro de masas de la lactona **5a** (Espectro 6) muestra el ión molecular  $M^+$  de  $m/z$  425, el pico base de  $m/z$  338, el fragmento correspondiente a la pérdida del átomo de yodo de  $m/z$  298 y un pico de  $m/z$  212 correspondiente al ion fragmento *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,2,3,4-tetrahidropiridonio.



Espectro 6 Espectro de masas IE de la lactona 5a

El espectro de RMN de <sup>1</sup>H de la lactona **5a** (Espectro 7) muestra dos señales simples en 1.47 y 1.41 ppm de los protones de los metilos, cuya diferencia en desplazamientos químicos puede deberse a que se encuentran en ambiente magnético distinto, una señal múltiple en 2.52 ppm fue asignada para H-4 y que se encuentra acoplado con los protones H-3 y H-5 cuyos desplazamientos químicos son 5.09 y 5.38 ppm respectivamente, la señal doble en 6.55 ppm se asignó al protón H-6 y la señal ancha en 6.07 ppm pertenece al protón H-2, está muy desplazada debido al efecto inductivo de los heteroátomos de las posiciones adyacentes. Es interesante observar que el protón H-3 se

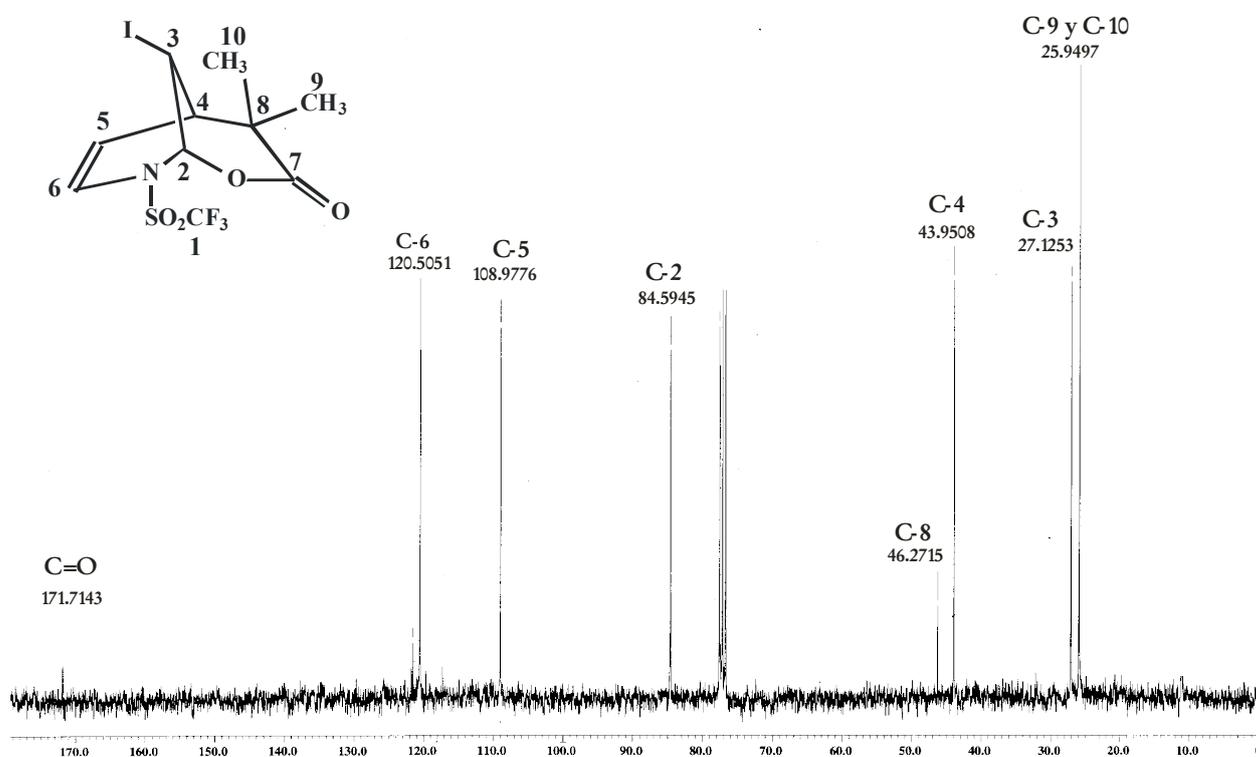
desplaza a campo bajo debido a la desprotección paramagnética que ejerce el átomo yodo<sup>64</sup>.



Espectro 7 Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) de la lactona **5a**

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C de la lactona **5a** (Espectro 8) se observa una señal en 26.0 ppm debida a dos grupos metilo, la señal en 46.3 ppm del átomo de carbono cuaternario C-8; además de las señales correspondientes a los átomos de carbono alifáticos del anillo de 1,2,3,4-tetrahidropiridina en 27.1 la del átomo de carbono C-3, en 44.0 la del átomo C-4, en 84.6 la correspondiente al átomo de carbono C-2, así mismo, se observan las señales de los átomos de carbono de la doble ligadura C-5 y C-6 en 109.0 y 120.5 ppm respectivamente.

<sup>64</sup> Nathan, P.J.; Días- Torres, E.; “Elementos de resonancia magnética nuclear de hidrógeno”, segunda edición, Grupo Editorial Iberoamericana, México, 1992, 50-51

Espectro 8 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) de la lactona **5a**

Finalmente se observa la señal del  $\text{CF}_3$  un cuarteto en 119 ppm ( $J = 320.7$  Hz) y la señal del carbonilo de la lactona en 171.7 ppm.

La lactona **5b** se obtuvo con un rendimiento de 96.67 mediante el mismo procedimiento de iodolactonización (Esquema 25), como sólido cristalino que funde de 131.8 a 133.5 °C.

Los espectros de infrarrojo del compuesto **5b** al igual que la lactona **5a** mostraron las bandas de absorción típicas de los grupos funcionales presentes en la molécula (Tabla 6).

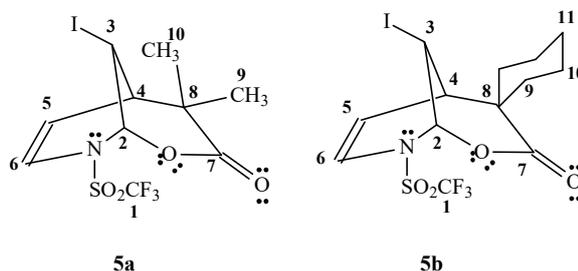
Tabla 6 Bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) en el espectro de infrarrojo de las lactonas bicíclicas **5a** y **5b**

Banda de absorción ( $\text{cm}^{-1}$ ) de	<b>5a</b>	<b>5b</b>
$\nu_{\text{C=O}}$	1762	1753
$\nu_{\text{C-O si}}$	1355 y 1071	1354 y 1072
$\nu_{\text{R-SO}_2\text{-N, si, as}}$	1412 y 1145	1412 y 1122
$\nu_{\text{CF}_3}$	1230 y 717	1225 y 714

Las señales observadas en los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de las lactonas **5b** confirman estructura de la iodolactona bicíclica [3.3.1] (Tabla 7).

Tabla 7 Datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de los ácidos **5a** y **5b**

Posiciones	Desplazamientos químicos (ppm)			
	<b>5a</b>		<b>5b</b>	
	$\text{RMN}^1\text{H}$	$\text{RMN}^{13}\text{C}$	$\text{RMN}^1\text{H}$	$\text{RMN}^{13}\text{C}$
1	-	119.0	-	119.4
2	6.07	84.6	6.04	83.8
3	5.09	27.1	5.05	32.4
4	2.51	44.0	2.90	38.5
5	5.38	109.0	5.37	108.3
6	6.56	120.5	6.57	120.8
7	-	171.7	-	171.7
8	-	46.3	-	50.1
9	1.41	26.2	2.07	33.1 y 33.5
10	1.47		1.44	20.7 y 21.3
11	-	-	1.77	25.1



La estructura de la lactona **5a** fue plenamente confirmada ya que se obtuvieron monocristales adecuados para su estudio de difracción de rayos X.

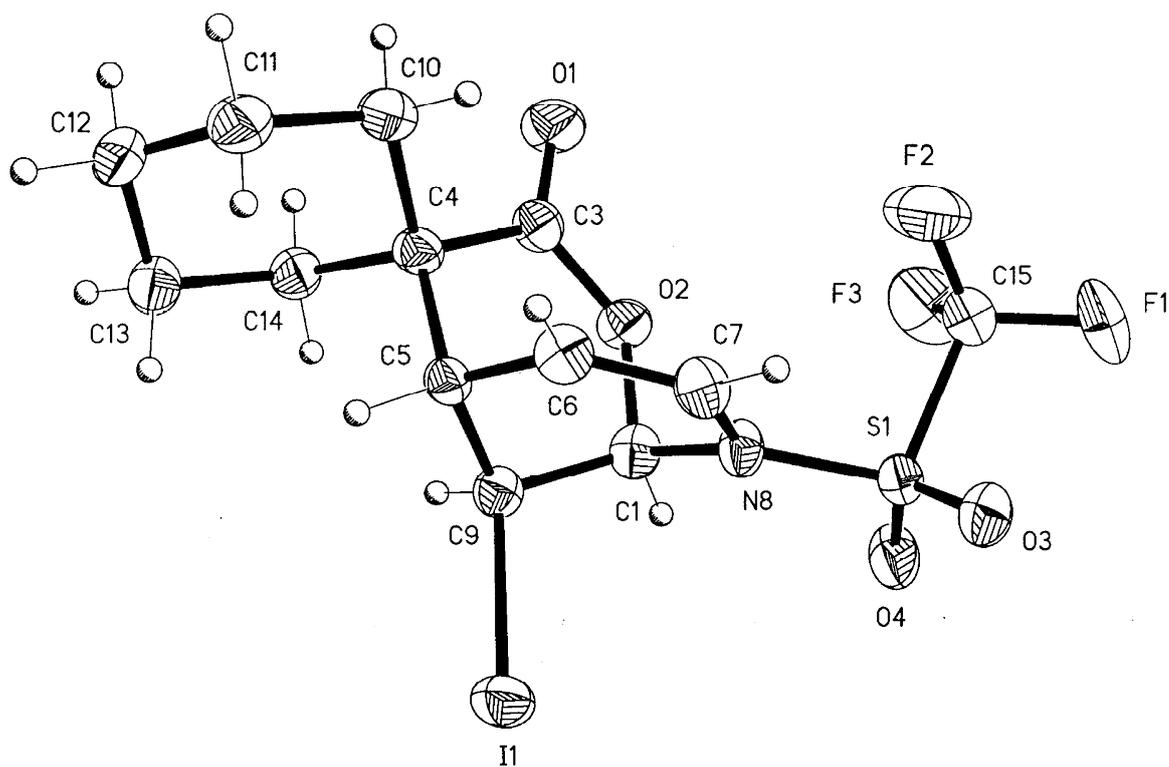
**Tabla 8 Datos cristalográficos y refinamiento estructural de la 9-iodo-4-espirociclohexan-8-[(trifluorometan)sulfonyl]-2-oxa-8-azabicyclo[3.3.1]non-6-en-3-ona 5b**

Parámetro	Valor
<i>Datos del compuesto</i>	
Fórmula empírica	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> F <sub>3</sub> INO <sub>4</sub> S
Peso molecular (g / mol)	465.22
<i>Parámetros de la celda</i>	
a (Å)	15.368(1)
b (Å)	9.430 (1)
c (Å)	22.369 (1)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volumen (Å <sup>3</sup> )	3241.7
Grupo espacial	Pbca
Valor de Z	8
Densidad calculada ρ (g / cm <sup>3</sup> )	1.906
Coefficiente de absorción μ (MoKα) (mm <sup>-1</sup> )	2.153
Temperatura (K)	298 (2)
Intervalo de 2θ <sub>max</sub> para los datos de colección (°)	1.82 a 25.34
F(000)	1824
Reflexiones colectadas	22761
No de obs. refin.	2965
No de parámetros	236
S	0.817
Indices R finales (I>2σ(I))	
R1:	0.0292
wR2:	0.0488
Índices R todos los datos	
R1:	0.0477
wR2:	0.0520
Δρ <sub>max/min</sub> Å <sup>-3</sup>	0.685 y -0.366

En la proyección ORTEP de rayos X de la lactona **5b** se confirma claramente la estructura de la iodolactona de seis miembros [C(1)-O(2)-C(3)-C(4)-C(5)-C(9)] formada a partir la iodolactonización del ácido **4b**, como de era de esperarse el átomo de yodo se encuentra enlazado con el átomo de carbono C(9). Las longitudes y ángulos de enlace internos del anillo de ciclohexano confirman que tiene una conformación de silla.

Si comparamos los resultados cristalográficos del ácido **4b** (Tabla 4) es evidente el cambio de hibridación de los átomos de carbono C(2) y C(3)\* del anillo de dihidropiridina del ácido que tienen geometría trigonal plana e hibridación  $sp^2$ , a la hibridación  $sp^3$  con geometría tetraédrica de los átomos de carbono C(1) y C(9) en el anillo de tetrahidropiridina de la lactona (Tabla 9), esto también se manifiesta en los cambios de las longitudes de enlace de 1.310 Å en el ácido a 1.493 Å de la lactona, confirmándose claramente que el átomo de carbono de la dihidropiridina del ácido involucrado en la anillación se encuentra adyacente al átomo de nitrógeno.

La suma de los ángulos de enlace del átomo de N(8) es  $359^\circ$ , lo que indica que tiene una geometría trigonal plana indicada para una hibridación  $sp^2$ , que presenta el fenómeno de retrodonación con el átomo de azufre del grupo trifluorometansulfonilo.



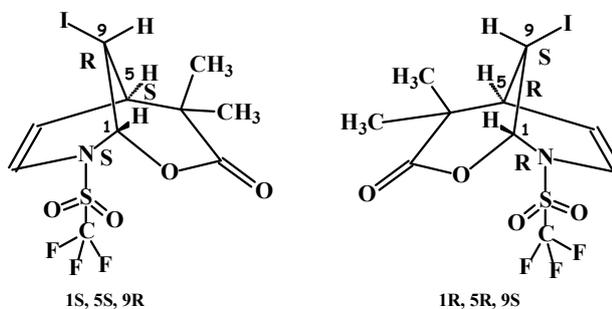
**Figura 13** Estructura de rayos X de la lactona **5b**

\*Numeración correspondiente a la nomenclatura IUPAC

Tabla 9 Distancias y ángulos de enlace de la 9-iodo-4-espirociclohexan-8-[(trifluorometil)sulfonyl]-2-oxa-8-azabicyclo[3.3.1]non-6-en-3-ona **5b**

Distancias (Å)		Ángulos (°)	
S(1)-O(3)	1.406 (2)	C(1)-N(8)-S(1)	120.6 (2)
S(1)-N(8)	1.616 (2)	C(6)-C(5)-C(9)	108.5 (2)
S(1)-C(15)	1.830 (3)	C(6)-C(5)-C(4)	112.1 (2)
C(15)-F(3)	1.299 (3)	C(9)-C(5)-C(4)	108.9 (2)
I(1)-C(9)	2.161 (3)	C(7)-C(6)-C(5)	123.7 (3)
O(1)-C(3)	1.195 (3)	C(6)-C(7)-N(8)	121.6 (3)
C(1)-O(2)	1.446 (4)	C(7)-N(8)-C(1)	116.2 (3)
C(1)-C(9)	1.493 (4)	C(7)-N(8)-S(1)	122.1 (6)
O(2)-C(3)	1.362 (4)	C(1)-C(9)-I(1)	110.8 (2)
C(3)-C(4)	1.526 (4)	C(5)-C(9)-I(1)	113.3 (2)
C(4)-C(5)	1.551 (4)	O(2)-C(1)-N(8)	109.8 (2)
C(5)-C(9)	1.515 (4)	O(2)-C(1)-C(9)	109.1 (2)
C(1)-N(8)	1.460 (4)	N(8)-C(1)-C(9)	110.1 (3)
C(5)-C(6)	1.498 (4)	C(3)-O(2)-C(1)	125.6 (2)
C(6)-C(7)	1.306 (4)	O(1)-C(3)-O(2)	116.0 (2)
C(7)-N(8)	1.418 (4)	C(3)-C(4)-C(5)	109.6 (2)
C(4)-C(10)	1.537 (4)	C(10)-C(4)-C(14)	107.2 (2)
C(4)-C(14)	1.553 (4)	C(11)-C(10)-C(4)	111.7 (3)
C(10)-C(11)	1.533 (4)	C(12)-C(11)-C(10)	111.5 (3)
		C(11)-C(12)-C(13)	111.7 (3)

La estructura de rayos X del compuesto **5b** contiene tres átomos de carbono estereogénicos por lo que podrían obtenerse ocho estereoisómeros, sin embargo considerando las tensiones moleculares en una *trans* lactona y el impedimento estérico del sustituyente en la posición C-4, únicamente se formaron dos estereoisómeros *cis*, cuya configuración relativa en cabeza de puente será 1S, 5S o 1R, 5R, (Figura 14) el isómero que se muestra en la figura 13 es el que tiene la configuración 1R, 5R, 9S.

Figura 14 Posibles estereoisómeros de la 9-Iodo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometil)sulfonyl]-2-oxa-8-azabicyclo[3.3.1]non-6-en-3-ona **5b**

## IV.2. Actividad biológica

Las lactonas son un grupo de compuestos que poseen actividad biológica considerable como agentes anti-inflamatorios y antitumorales sobre líneas celulares pancreáticas, de próstata y glándula mamaria, además estudios previos mostraron que el trifluorometansulfonato de *N*-trifluorometansulfonilpiridonio y pentametinos derivados de la misma presentan actividad biológica como antimicrobianos<sup>65</sup>.

### Actividad Citotóxica

El cáncer es una enfermedad genética muy compleja causada primeramente por factores ambientales, muchos tipos de cáncer son causados por mutaciones que ocurren en un tejido afectado durante el curso de la carcinogénesis.<sup>66</sup> Los agentes carcinogénicos pueden estar presentes en alimentos, el agua, el aire y muchas sustancias químicas a las que las personas se encuentran expuestas. Con base en su comportamiento los tumores se clasifican en benignos o malignos; los tumores benignos son generalmente masas expansivas que crecen lentamente invadiendo los alrededores del tejido, mientras que los tumores malignos crecen rápidamente invadiendo los alrededores del tejido (tumor primario) e incluso colonizando órganos distantes (tumor secundario).

Por otro lado, la citotoxicidad celular se refiere al efecto de un organismo o sustancia sobre una célula causándole la muerte, los ensayos biológicos de citotoxicidad en líneas celulares se refieren a la medición de muerte celular que causa una sustancia de interés sobre células cancerosas y puede realizarse mediante diferentes pruebas como son: *prueba de azul de tripano (B)*, *ensayo de sulforodamina B(SRB)* y *ensayo clonogénico*.<sup>67</sup>

Con base en lo anterior, los compuestos **4a**, **4b**, **5a** y **5b** se sometieron a pruebas biológicas haciendo un ensayo primario con seis líneas celulares de cáncer humano; tales como células de adenocarcinoma de colón (HCT-15), de leucemia mieloblástica crónica (K562), de adenocarcinoma de glándulas mamarias (MCF-7), de adenocarcinoma de próstata (PC-3), de adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1) y cancerígenas del Sistema

---

<sup>65</sup> Moya, M.C.; “*Síntesis de derivados N-trifluorometansulfonil-1-azahexa-1,3,5-trienos a partir de la apertura nucleofílica de sales de piridonio*”, Marzo 2001, UNAM, 48-49

<sup>66</sup> De la Chapelle, A.; *Nat. rev.* 2004, Vol 4, 769-780

<sup>67</sup> Alison, M.R.; *Encyclopedia of life science*, 2001, 1-8

Nervioso Central (U251), el porcentaje de inhibición del crecimiento celular se determinó por un método colorimétrico utilizando como cromóforo a la sulforodamina B (SRB), que es un colorante aniónico capaz de reaccionar con los grupos sulfónicos y sulfhídricos protéicos formando un complejo soluble en soluciones básicas débiles.

En esta prueba se observó que las lactonas **5a** y **5b** (Tabla 10) inhiben el crecimiento celular en las líneas celulares estudiadas, además poseen mayor actividad citotóxica que los ácidos de partida **4a** y **4b**. La lactona **5b** presento un porcentaje mayor de inhibición en líneas celulares de leucemia que la lactona **5a**, siendo la única que presenta un porcentaje de inhibición superior al 50 % en líneas celulares de cáncer de próstata y pulmón.

Tabla 10 Ensayo preliminar, evaluación de citotoxicidad a la concentración de 50µM

Cáncer de Compuesto	Inhibición celular (%)					
	HTC-15 colón	K-562 Leucemia mieloblástica	MCF7 G. mamaria	PC-3 Próstata	SKLU-1 Pulmón	U251 SNC
<b>5-fluorouracilo</b>	71.3	73.7	65.1	45.4	70.5	64.2
4 a	SA	33.5	17.86	11.8	11.8	5.8
4b	25.3	38.8	18.7	25.8	25.86	25.6
5 a	SA	<b>57.1</b>	SA	19	12.3	7.9
5b	SA	<b>80.23</b>	48.8	<b>66.3</b>	<b>54.9</b>	30.2

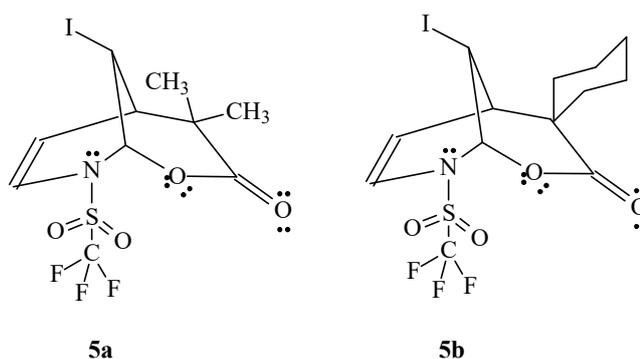
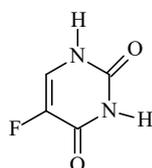


Figura 15 *N*-[trifluorometan)sulfonil] iodolactonas bicíclicas[3.3.1]

Por otro lado al comparar la actividad de la lactona **5b** con el 5-fluorouracilo (Figura 16), potente agente antitumoral,<sup>68</sup> se observa que la lactona que posee el fragmento

<sup>68</sup> Aldrich, *Reactivos y Kits Bioquímicos*, 2007-2007, 1044

ciclohexano **5b** presentó mayor actividad citotóxica, en células de leucemia mieloblástica crónica y próstata con 80.23 y 66.3 % de inhibición celular respectivamente.



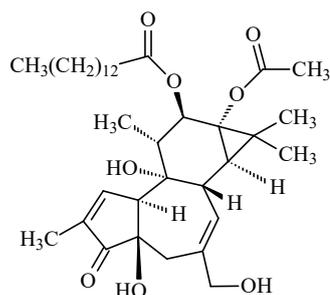
5-Fluorouracilo

Figura 16

### Actividad anti-inflamatoria

La inflamación es una de las primeras respuestas del sistema inmune a una infección o trauma,<sup>69</sup> se produce por las sustancias eicosanoides y citosinas liberadas por las células heridas o infectadas, causando fiebre y dilatación de los vasos sanguíneos y atracción de leucocitos, por lo que los síntomas de ésta son el enrojecimiento e inchazón de los tejidos.<sup>70,71</sup> La principal respuesta del sistema inmunológico es destruir las células anormales mediante las “células T asesinas” y en algunas ocasiones con células ayudantes.<sup>72</sup>

El 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) (Figura 17) es un agente irritante capaz de causar inflamación aguda y es utilizado en la evaluación de anti-inflamatorios de tipo esterooidal y no esterooidal.<sup>73</sup>



13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol

Figura 18

<sup>69</sup> Kawai, T.; Akira, S.; *Nat immunol*, **2006**, 7 (2), 131-137

<sup>70</sup> Miller, S.B.; *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **2006**, 36(1), 37-49

<sup>71</sup> Ogawa, Y.; Calhoun, W.J.; *J Allergy clin immunol*, **2006**, 118 (4), 789-798

<sup>72</sup> Romero, P.; Cerottini, J.C.; Speiser, D.E.; *Adv. Immunol*, **2006**, 92, 187-224

<sup>73</sup> Roitt, I.M.; Brostoff, J.; Male, D.K.; *Inmunología*, 3 ed., Ediciones científicas y técnicas S.A., México, **1989**, 15.

En éste ensayo se evaluó la actividad anti-inflamatoria de los ácidos y lactonas **4a**, **4b**, **5a** y **5b** disueltas en mezcla de disolventes acetona: diclorometano (1:1), el método es un modelo de experimentación animal *in vivo*, utilizando ratones macho a los que se les administraron las sustancias por vía cutánea, determinando el edema por la diferencia de pesos en miligramos del tejido tratado (oreja derecha) y tejido no tratado (oreja izquierda).

Tabla 11 Resultados de actividad anti-inflamatoria de edema inducido con TPA

Compuesto	Dosis por oreja	Edema (mg)	Inhibición (%)
Control	-	14.83 ±0.93	-
Indometacina	1 µmol	-	79.3*
4a	1 µmol	11.63±1.21	21.57
4b	1 µmol	<b>8.40±0.87*</b>	<b>43.37</b>
5 a	1 µmol	12.40±0.40	16.40
5b	1 µmol	<b>10.20±2.06*</b>	<b>31.24</b>

\* Estimación teórica de inhibición

Los datos representan el promedio de tres animales ± el error estándar de la media (X±EEM).

Los resultados se analizaron mediante una prueba de t de Student y los valores de  $p \leq 0.05$  (\*) se consideraron como diferencia significativa con respecto al control de concentración 0.

De acuerdo con los resultados que se muestran en la tabla 11 todos los compuestos tienen una actividad anti-inflamatoria baja, considerando que la actividad en todos los casos es menor a la obtenida con el fármaco de referencia. Sin embargo se puede llegar a algunas conclusiones; el ácido **4b** es más activo que el **4a**, ya que es capaz de reducir el edema producido con TPA de 14.83 mg a 8.40 mg teniendo un porcentaje de inhibición del 43.37 %; si comparamos el ácido con su lactona correspondiente **5b**, la presencia de éste anillo disminuye la actividad reduciendo el edema en un 31.24 %.

Con lo anterior es posible deducir que la capacidad anti-inflamatoria de los ácidos y las lactonas obtenidos de trifluorometansulfonato de piridonio dependen de estructuralmente del sustituyente en la posición adyacente al carbonilo de la lactona ya que cuando este es muy voluminoso (ciclohexano) se obtiene una mayor actividad por lo que será interesante estudiar otros análogos con diferentes sustituyentes que probablemente mejoren la actividad.<sup>74</sup>

<sup>74</sup> Recio, M.C.; Giner, R.M.; Uriburu, L; Máñez, S.; Cerda, M.; Dela Fuente, J.R.; Ríos, J.L.; *Life Sciences*, 2000, 66, 26, 2509-2518

## V. CONCLUSIONES

Los acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena actúan como nucleófilos capaces de reaccionar en una primera fase con trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]piridonio obteniéndose como producto los ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos con buen rendimiento.

Los rendimientos de los ácidos carboxílicos obtenidos dependen de la estructura de los mismos, los productos con sustituyentes simétricos como el ciclohexano y dimetilo son cristalinos y fáciles de purificar.

Los ácidos **4a** y **4b** reaccionan en condiciones de iodolactonización formando iodolactonas bicíclicas [3.3.1] en alto rendimiento, que se obtienen como mezcla de estereoisómeros la reacción procede regioselectivamente en la posición 2 del anillo 1,4-dihidropiridina.

Los estudios de actividad citotóxica revelaron que la actividad de las lactonas como agentes antitumorales es mayor que la de sus ácidos carboxílicos correspondientes y su capacidad inhibitoria depende del sustituyente en la posición adyacente al grupo carbonilo.

La capacidad anti-inflamatoria de los ácidos y lactonas derivados de trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]piridonio depende igualmente del sustituyente en la posición adyacente al grupo carboxilo del ácido y de la lactona.

### *Perspectivas:*

- ☞ Realizar la síntesis de lactonas empleando un inductor quiral para favorecer la formación de uno de los estereoisómeros.
- ☞ Con los productos ópticamente puros realizar nuevamente las pruebas de actividad biológica para conocer su efectividad real.
- ☞ Realizar la síntesis de distintos ácidos carboxílicos y lactonas modificando los sustituyentes de los mismos.

## **VI. PARTE EXPERIMENTAL**

### **VI.1. Instrumentación y reactivos utilizados**

La espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se realizó en un espectrómetro JEOL Eclipse +300, utilizando como disolventes cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) y dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-D). Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hertz (Hz). Las abreviaturas de las señales s, d, dd, ddd, t, td, tc, m y c, cd indican la multiplicidad de las mismas.

Los espectros de IR se realizaron en un espectrofotómetro Nicolet FT-1 Magna 750 en el intervalo de 4000 a  $600\text{ cm}^{-1}$  utilizando una pastilla de KBr.

La espectrometría de masas se realizó utilizando un espectrómetro JEOL JMS-AX 505 HA a 70 eV presión  $10^{-5}$  a  $10^{-4}$  mmHg usando la técnica de impacto electrónico ( $\text{EI}^+$ ).

El análisis por difracción de rayos X de monocristal, se llevó a cabo en un difractómetro Brüker Smart Apex CCD con detector de área de radiación monocromática de Mo  $\text{K}\alpha$  ( $0.71073\text{ \AA}$ ) y la resolución estructural de los compuestos por Métodos Directos<sup>75</sup> mediante el programa SHELXL-97<sup>76</sup> y refinadas por el método de Cuadrados Mínimos (Full Matrix Least-squares). Las distancias interatómicas se expresan en Angstroms ( $\text{\AA}$ ) y los ángulos en grados ( $^\circ$ ), los valores en los paréntesis son las desviaciones estándar de la última cifra significativa.

Los reactivos utilizados fueron marca Aldrich y se utilizaron sin purificación previa. Los disolventes anhidros destilaron bajo atmósfera inerte, el tetrahidrofurano (THF) sobre sodio y benzofenona, y el diclorometano sobre cloruro de calcio. La diisopropilamina se destiló y almacenó sobre potasa.

---

<sup>75</sup> Altomare, G.; Cascarano, C.; Giacovazzo, A.; Burla, M.C.; Polidori, G.; Canalli, M.J.; *Appl. Cryst.* **1994**, *27*, 435

<sup>76</sup> Sheldrick, G.M. Shelxl-97, Program for refinement of Crystal Structures, University of Goettingen, Germany, **1997**.

## **VI.2. Método general para preparar éteres de trimetilsilicio 1a y 1b**

En un reactor de tres bocas con agitación mecánica equipado con un embudo de adición y bajo atmósfera de nitrógeno se colocaron; 90 mL de dietil éter anhidro como disolvente, el ácido carboxílico correspondiente y cloruro de trimetilsilano, posteriormente usando el embudo de adición se agregó piridina gota a gota. Se dejó reaccionar la mezcla a reflujo durante dos horas. Transcurrido el tiempo se filtró la mezcla con celita seca y finalmente se purificó evaporando el disolvente y destilando el producto a presión reducida.

### **☞ 2-Metilpropanoato de 1,1,1-trimetilsililo (1a)**

El 2-metilpropanoato de 1,1,1-trimetilsililo **1a** se preparó a partir de 14.82 mL (14.08 gramos, 15.99 mmoles) de ácido 2-metilpropanoico, 12.92 mL (12.64 gramos, 15.99 mmoles) de piridina y 12.92 mL (12.64 gramos, 15.99 mmoles) de cloruro de trimetilsilano, el producto es un líquido incoloro de olor característico que destiló a 50°C, con un rendimiento de 62.98 % (16.12 gramos, 100.60 mmoles), fórmula mínima  $C_7H_{16}O_2Si$ , peso molecular 160.86 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300 MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 0.19 (s, 9H,  $SiMe_3$ ,  $H^1$ ), 1.07 (d, 6H,  $CH_3$ ,  $H^4$ ,  $J=7.0$ ), 2.4 (c, 1H, CH,  $H^3$ ,  $J=7.0$ ).

### **☞ Ciclohexanocarboxilato de 1,1,1-trimetilsililo (1b)**

Para preparar el compuesto se utilizaron 64g (320 mmoles) de ácido ciclohexano carboxílico, 40 mL de cloruro de trimetilsilano (34.6 gramos, 320 mmoles) y 26 mL de piridina (25.28 gramos, 320 mmoles). El producto obtenido es un líquido incoloro que destiló a 71°C, con un rendimiento de 48.07 % (43.57 gramos, 217.46 mmoles) fórmula mínima  $C_{10}H_{20}O_2Si$ , peso molecular 200.35 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 0.19 (s, 9H,  $SiMe_3$ ,  $H^1$ ), 1.28 (m, 2H,  $CH_2$ ,  $H^6$ ,  $J=11.4, 12.9$ ), 1.6137 (d, 4H,  $CH_2$ ,  $H^5$ ,  $J=28.14$ ), 1.8307 (d, 4H,  $CH_2$ ,  $H^4$ ,  $J=9.18$ ), 2.2 (m, 1H, CH,  $H^3$ )

### **VI.3. Método general para preparar acetales de *bis*(trimetilsilil)cetena**

En un reactor de tres bocas equipado con un embudo de adición en atmósfera inerte, se preparó diisopropialamido de litio (LDA) a  $-78^{\circ}$  utilizando como disolvente 80 mL de tetrahidrofurano anhidro (THF). Transcurrido el tiempo se adicionó gota a gota el acetal de trimetilsilil éster, después de 30 minutos a  $-78^{\circ}\text{C}$  se adiciono gota a gota el cloruro de trimetilsilano. La mezcla se dejó reaccionar durante 2 horas a temperatura ambiente. Transcurrido éste tiempo la mezcla de reacción se filtró sobre celita bajo atmósfera de nitrógeno. Finalmente el producto se purificó por destilación a presión reducida.

#### **☞ 2-Metil-1-[(1,1,1-trimetilsilil)oxi]-1-propenil(1,1,1-trimetilsilil)éter (2a)**

El compuesto **2a** se preparó con 16 mL (16.13 gramos, 100.61 mmoles) del compuesto **1a**, 15.50 mL (11.19 gramos, 110 mmoles) de diisopropilamina, 94.82 mL (1.16M, 110 mmoles) de *n*-BuLi y 13.48 mL (11.95 gramos, 110 mmoles) de cloruro de trimetilsilano, el producto es un líquido incoloro de aroma característico que destiló a  $68^{\circ}\text{C}$  con rendimiento de 49.28 % (11.53 gramos, 49.59 mmoles), fórmula mínima  $\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Si}_2$ , peso molecular 232.47 g/mol.  $^1\text{H RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz)  $\delta_{\text{max}}$  ppm: 0.17 (s, 18H,  $\text{SiMe}_3$ ,  $\text{H}^1$ ), 1.50 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{H}^4$ );  $^{13}\text{C RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75MHz)  $\delta_{\text{max}}$  ppm: 0.3 (6C,  $\text{SiMe}_3$ ,  $\text{C}^1$ ), 17.1 (2C,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}^4$ ), 88.1 (CH,  $\text{C}^3$ ), 144.8 (C=C,  $\text{C}^2$ ).

#### **☞ Ciclohexiliden[(1,1,1-trimetilsilil)oxi]metil-(1,1,1-trimetilsilil)éter (2b)**

Para preparar el compuesto se partió de 15 mL (~15 gramos, 6.25 mmoles) de ciclohexanocarboxilato de 1,1,1-trimetilsililo **1b**, 9.62 mL (6.94 gramos, 68 mmoles) de diisopropilamina, 43.2 mL (1.59 M, 68 mmoles, 1.59M) de *n*-butil litio (*n*-BuLi) y 8.6 mL (7.46 gramos, 68 mmoles) de cloruro de trimetilsilano. Se obtuvo un líquido incoloro de aroma característico que destiló a  $90^{\circ}\text{C}$ , con rendimiento de 80.35 %

(14.64 gramos, 53.71 mmoles), fórmula mínima  $C_{13}H_{28}O_2Si_2$ , peso molecular 272.53 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 0.16 (s, 18H,  $SiMe_3$ ,  $H^1$ ), 0.24 (s, 2H,  $CH_2$ ,  $H^6$ ), 1.42 (s, 4H,  $CH_2$ ,  $H^5$ ), 2.0 (s, 4H,  $CH_2$ ,  $H^4$ );  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 0.28 (6C,  $SiMe_3$ ,  $C^1$ ), 27.0 ( $CH_2$ ,  $C^6$ ), 27.5 (4C,  $CH_2$ ,  $C^{4,5}$ ), 96.8 (C=C,  $C^3$ ), 142.5 (C=C,  $C^2$ ).

#### **VI.4. Método general para preparar Ácidos *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinilcarboxílicos**

En un matraz de fondo redondo de 100 mL con agitador magnético bajo atmósfera de inerte de Nitrógeno y en baño de acetona-hielo seco a  $-30^\circ C$ , se colocaron 20 ml de diclorometano anhidro como disolvente y adicionaron gota a gota y con jeringa, piridina y anhídrido trifluorometansulfónico, observándose la formación de un precipitado blanco (trifluorometansulfonato de *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]piridonio) la solución se dejó en agitación durante 10 minutos manteniendo la temperatura constante; transcurrido el tiempo se adicionó gota a gota el acetal de *bis*(trimetilsilil)cetena correspondiente. Después de cinco minutos se retiró el baño y dejó alcanzar la temperatura ambiente, la mezcla se dejó en agitación durante diecisiete horas.

Posteriormente, a la solución de color verde oscuro obtenida se adicionaron 30 mL de agua destilada y se realizó la extracción con diclorometano (4 X 10 mL), las fracciones orgánicas colectadas se evaporaron en el rotavapor a temperatura ambiente; el producto obtenido se purificó mediante extracción selectiva con diclorometano y solución básica de  $Na_2CO_3$  (pH 9) y HCl al 37%, obteniéndose un producto blanco.

#### **☞ Ácido 2-Metil-2-{1-(trifluorometan)sulfonyl}-1,4-dihidro-4-piridinil}propanoico (4a)**

En la síntesis de **4a** se utilizaron 0.5 mL (0.51 gramos, 6.47 mmoles) de piridina, 1 mL (1.83 gramos, 6.47 mmoles) de anhídrido trifluorometansulfónico, y 2.25 mL (2.25 gramos, 9.71 mmoles) de acetal **2a** después de purificar mediante

extracción selectiva se obtuvo un producto sólido cristalino que funde de 107.1 a 108.4 °C con rendimiento de 75.42 % (1.46 gramos, 4.87 mmoles), fórmula mínima  $C_{10}H_{12}NSO_4F_3$ , peso molecular 299.26 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz,)  $\delta_{max}$  ppm: 1.18 (s, 6H,  $CH_3$ ,  $H^6$ ), 3.39 (s, CH,  $H^4$ ), 5.09 (dd, 2H, CH,  $H^3$ ,  $J=3.03$ ), 6.55 (d, 2H, CH,  $H^2$ ,  $J=7.71$ ), 11.30 (s, OH);  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 21.3 (2C,  $CH_3$ ,  $C^6$ ), 39.4 (CH,  $C^4$ ), 46.8 (C,  $C^5$ ), 109.6 (2C, CH,  $C^3$ ), 123.8 (2C, CH,  $C^2$ ), 119.6 ( $CF_3$ ,  $C^1$ ,  $J=324.79$ ), 183.4 (C=O,  $C^7$ ); IR  $\nu_{max}$ : 3200-2500, 1706, 936 (ácido carboxílico), 1472 y 1363 (metilos); 1415, 1166, 1235 y 703 (trifluorometansulfonilo); **EM-IE**<sup>+</sup> [M-1]<sup>+</sup>=298 (m/z).

### ☞ **Ácido 1-{1-[(Trifluorometan)sulfonil]-1,4-dihidro-4-piridinil}-1-ciclohexanocarboxílico (4b)**

Para sintetizar el ácido **4b** se preparó *in situ* la sal de piridonio, utilizando 2 mL (2.04 gramos, 25.88 mmoles,) de piridina y 4.34 ml (7.29 gramos , 25.88 mmoles) de anhídrido trifluorometansulfónico, a la que se adicionaron 7 mL (7.03 gramos, 25.88 mmoles,) de ciclohexiliden[(1,1,1-trimetilsilil)oxi]metil-(1,1,1-trimetilsilil) éter **2b** después de purificar se obtuvo un sólido blanco con punto de fusión de 133.9 a 135.8 °C en rendimiento de 96.63 % (8.46 gramos, 24.93 mmoles), fórmula mínima  $C_{13}H_{16}NSO_4F_3$ , peso molecular 339.33 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz,)  $\delta_{max}$  ppm: 1.17-1.39 (m, 4H,  $CH_2$ ,  $H^8$ ), 1.67 (d, 2H,  $CH_2$ ,  $H^9$ ,  $J=8.4$ ), 2.04 (d, 4H,  $CH_2$ ,  $H^6$ ,  $J=12.0$ ), 3.19 (s, CH,  $H^4$ ), 5.10 (dd, 2H, CH,  $H^3$   $J=4.1, 4.2, 8.4$ ), 6.54 (d, 2H, CH,  $H^2$ ,  $J=8.1$ ), 9.27 (s, OH);  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 20.3 ( $CH_2$ ,  $C^8$ ), 20.7 ( $CH_2$ ,  $C^{8'}$ ), 25.1 ( $CH_2$ ,  $C^9$ ), 33.4 ( $CH_2$ ,  $C^6$ ), 33.6 ( $CH_2$ ,  $C^{6'}$ ), 38.6 (CH,  $C^4$ ), 50.2 (C,  $C^5$ ), 108.5 (2C, CH,  $C^3$ ), 120.9 (2C, CH,  $C^2$ ), 119.5 ( $CF_3$ ,  $C^1$ ,  $J=319.75$ ), 171.7 (C=O,  $C^7$ ,  $J=321.75$ , 315 y 322.5); IR  $\nu_{max}$ : 3300-2500, 1688 y 941 (ácido carboxílico); 2945, 2856, 2617, 1452 y 724 (metilenos); 1412, 1166, 1245 y 700 (trifluorometansulfonilo); **EM-IE**<sup>+</sup> [M-1]<sup>+</sup>=338 (m/z)

## VI.5. Método general para preparar *N*-[(trifluorometan)sulfonyl] iodolactonas bicíclicas [3.3.1]

En un matraz de fondo redondo de 100 mL con agitador magnético bajo atmósfera de inerte de Nitrógeno, se colocaron el ácido *N*-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinil carboxílico correspondiente y 40 ml de diclorometano como disolvente, posteriormente se adicionó con cánula una solución de yodo ( $I_2$ ) en 10 mL de solución saturada de carbonato de sodio ( $Na_2CO_3$ ), la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 4 días a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se observó una solución anaranjada, a la cual se le adicionaron 40 mL de sulfito de sodio ( $Na_2SO_3$ ) al 10 % y posteriormente se realizaron extracciones con diclorometano (4 X 10 mL), después de evaporar el disolvente con rotavapor a temperatura ambiente, el producto obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de sílica utilizando como eluyentes hexano / acetato de etilo.

### ☞ 9-Iodo-4,4-dimetil-8-[(trifluorometan)sulfonyl]-2-oxa-8-azabicyclo[3.3.1]non-6-en-3-ona (5a)

La lactona **5a** se preparó con 0.51 gramos (1.69 mmoles) de ácido **4a** y 457 gramos (1.8 mmoles) de yodo ( $I_2$ ), después de purificar se obtuvo un sólido cristalino de color amarillo que funde de 110.3 a 111.4 °C con rendimiento de 74.34 % (0.5386 gramos, 1.26 mmoles), fórmula mínima  $C_{13}H_{15}NISO_4F_3$ , peso molecular 425.159 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz),  $\delta_{max}$  ppm: 1.41 (s, 3H,  $CH_3$ ,  $H^9$ ), 1.47 (s, 3H,  $CH_3$ ,  $H^{10}$ ), 2.51 (m, CH,  $H^4$ ,  $J=1.9$  y 4.4), 5.09 (m, CH,  $H^3$   $J=1.7$ , 1.9, 1.95), 5.38 (ddd, CH,  $H^5$ ,  $J=1.9$ ), 6.07 (s, CH,  $H^2$ ), 6.56 (d, CH,  $H^6$ ,  $J=8.4$ );  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ , 75MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 26.0 (2C,  $CH_3$ ,  $C^{9,10}$ ), 27.1 (CH,  $C^3$ ), 44.0 (CH,  $C^4$ ), 46.3 (C,  $C^8$ ), 84.6 (CH,  $C^2$ ), 109.0 (CH,  $C^5$ ), 120.5 (CH,  $C^6$ ), 119.0 ( $CF_3$ ,  $C^1$ ,  $J=320.7$  Hz), 171.7 (C=O,  $C^7$ ); IR  $\nu_{max}$ : 1762, 1355 y 1071 (carbonilo de  $\delta$ -lactona); 2934 y 2876, 1475 (metilos); 1412, 1145, 1230 y 717 (trifluorometansulfonyl), <600 (halogenuro); EM-IE<sup>+</sup>  $M^+=425$  ( $m/z$ ).

### ☞ 9-Iodo-4-espirociclohexan-8-[(trifluorometan)sulfonyl]-2-oxa-8-azabicyclo[3.3.1]non-6-en-3-ona (**5b**)

Para preparar la lactona **5b** se utilizaron 0.5 gramos (1.47 mmoles) de ácido 1-{1-[(trifluorometan)sulfonyl]-1,4-dihidro-4-piridinil}-1-ciclohexanocarboxílico **4b** y 0.37 gramos (1.47 mmoles) de yodo ( $I_2$ ), el producto obtenido es un sólido cristalino amarillo pálido con punto de fusión 131.8-133.5°C con rendimiento de 96.67 % (0.66 gramos, 1.42 mmoles), fórmula mínima  $C_{13}H_{15}NISO_4F_3$ , peso molecular 465.22 g/mol.  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 300MHz,)  $\delta_{max}$  ppm: 1.44 (m, 4H,  $CH_2$ ,  $H^{10}$ ), 1.77 (m, 2H,  $CH_2$ ,  $H^{11}$ ) 2.07 (m, 4H,  $CH_2$ ,  $H^9$ ) 2.90 (dd, CH,  $H^4$ ,  $J=6.3$ ), 5.05 (m, CH,  $H^3$   $J=1.8$  y 1.8), 5.37 (ddd, CH,  $H^5$ ,  $J=1.9$  y 2.6), 6.04 (s, CH,  $H^2$ ), 6.57 (d, CH,  $H^6$ ,  $J=8.4$ );  $^{13}C$  RMN( $CDCl_3$ , 75MHz)  $\delta_{max}$  ppm: 20.7 y 21.3 ( $CH_2$ ,  $C^{10}$ ), 25.1 ( $CH_2$ ,  $C^{11}$ ), 32.4 (CH,  $C^3$ ), 33.1 y 33.5 ( $CH_2$ ,  $C^9$ ), 38.5 (CH,  $C^4$ ), 50.1 (C,  $C^8$ ), 83.8 (CH,  $C^2$ ), 108.3 (CH,  $C^5$ ), 120.8 (CH,  $C^6$ ), 119.4 ( $CF_3$ ,  $C^1$ ,  $J=319.3$  Hz), 171.7 (C=O,  $C^7$ ); IR  $\nu_{max}$ : 2948, 2870 y 1460 (metilenos); 1753, 1354 y 1072 (carbonilo de lactona); 1412, 1122, 1225<sup>77</sup> y 714(trifluorometansulfonyl); <600 (halogenuro); EM-IE<sup>+</sup>  $M^+=464$  ( $m/z$ ).

## VI.6. Procedimiento de ensayo de ensayo biológico

Los compuestos sintetizados fueron sometidos a distintos ensayos biológicos cuyos procedimientos son los siguientes:

### ☞ Ensayo de citotoxicidad:

Para este ensayo se utilizaron seis distintas líneas celulares de cáncer humano que pertenecen al panel del NCI (National Cancer Institute):

- HCT-15; Células de adenocarcinoma de colon.
- K562; Células de leucemia mieloblástica crónica.
- MCF-7; Células de adenocarcinoma de glándulas mamarias.
- PC-3; Células de adenocarcinoma de próstata.

- SKLU-1; Células de adenocarcinoma de pulmón.
- U251; Células cancerígenas del Sistema Nervioso Central.

*Preparación de las líneas celulares:*

Las células se adaptaron a un medio de cultivo RPMI-1640 (medio 1640 del Roswell Park Memorial Institute), adicionando suero fetal bobino al 5 %, en una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10 % y solución 2 mM de glutamina. Debido a que la líneas celulares se adicionan a las paredes de los recipientes durante la cosecha celular se adiciona 1 mL de tripsina-EDTA al 0.05 %; la tripsina actúa digiriendo las proteínas de adherencia, mientras que el EDTA quelata los cationes divalentes de calcio (II) y manganeso (II) inhibiendo así la adhesión celular, además se adicionaron de 5 a 10 mL de medio de cultivo; para formar el paquete celular las células en suspensión se depositaron en tubos Ependorf y centrifugaron durante 3 minutos, posteriormente se resuspendieron nuevamente en medio de cultivo con 0.05 mL del inocuo y 0.45 mL de azul de tripano, (colorante que permite el conteo de células viables).

*Conteo de células viables*

Se realizó con microscopio en una cámara Neubauer con una alícuota de 10  $\mu$ L de suspensión celular, el conteo celular corresponde a la cuenta de linfocitos localizados en los cuadrantes. El número de células por mililitro de suspensión se calcula con la ecuación:

$$C = (RC)(10^{-4})$$

Donde:

C es el número de células en un mililitro de suspensión

RC es el promedio de células obtenidas de la cuenta en la cámara Neubauer

Una vez determinado el número de células por mililitro se depositó el inocuo en un volumen celular de 100  $\mu$ L / pozo a la densidad indicada en la tabla .

Tabla 1 Tiempo de duplicación de células cancerosas

Línea celular	Tipo de cáncer	Tiempo de duplicación	Células / pozo
HTC-15	Colon	18.1	10000
K-562	Leucemia mieloblástica	19	5000
MCF7	Glándula mamaria	25.6	5000
PC-3	Próstata	28.7	7500
SKLU-1	Pulmón	24.5	10000
U251	Sistema nervioso central	24.5	10000

*Ensayo biológico pruebas preliminares*

Para el ensayo se utilizaron micro placas de plástico con 96 pozos, en cada placa se inocularon dos líneas celulares por triplicado; primero preinocularon las células durante 24 horas a 37 °C bajo atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5 % y 100 % de humedad relativa, para que una vez que las células se encuentren en fase exponencial de crecimiento se adicionen los compuestos sintetizados **4a**, **4b**, **5a** y **5b** con una concentración de 50 µM en DMSO en un volumen de 100 µL teniendo un volumen final de 200 µL, finalmente se incubó durante 48 horas bajo las mismas condiciones de incubación. Al finalizar el periodo de incubación se fijaron las células *in situ* añadiendo 50 µL de ácido tricloroacético al 50 % y al 80 %, para las células adheridas y en suspensión respectivamente, dejándolas incubar durante 60 minutos a 4 °C. Posteriormente el sobrenadante se desechó y las placas se lavaron cinco veces con agua desionizada dejándolas secar al ambiente. Las células se tiñeron con 100 µL de sulforodamina B al 0.4 % (SRB) e incubaron durante treinta minutos a temperatura ambiente, posteriormente se lavó 3 veces con ácido acético al 1 % para eliminar restos de SRB y dejó secar al ambiente. Se adicionaron 100 µL de solución *buffer tris* y agitaron durante 10 minutos para favorecer la solubilización del complejo, finalmente se midió la densidad óptica (DO) en un lector de microplacas con una longitud de onda de 515 nm.

## ☞ Actividad anti-inflamatoria

Este ensayo es un modelo de experimentación animal *in vivo* los animales utilizados se adquirieron en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, manipulándolos de acuerdo a las condiciones establecidas por el Comité de usos y cuidados de animales de experimentación.

Se emplearon grupos de cinco ratones macho de la cepa NIH con un peso comprendido entre los 25 y 30 gramos. Los animales se dividieron al azar en los siguientes grupos:

- Control; aquellos que recibieron TPA (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol) y vehículo.
- Prueba; aquellos que recibieron TPA y los compuestos problema.
- Referencia; recibieron TPA y indometacina o ácido ursólico)

Las soluciones del compuesto se prepararon tomando una muestra de 2 mg de **4a**, **4b**, **5a** y **5b** disueltas en mezcla de disolventes acetona: diclorometano (1:1).

Los ratones se anestesiaron con 0.25 mL de pentobarbital (Sedalforte ®, 0.063 gramos por mililitro) por vía intraperitoneal. Posteriormente una disolución etanólica de 2.5 µg / 10 µL de TPA (Sigma) se administró en el pabellón de la oreja derecha de todos los animales (5 µL en cada lado). Las sustancias de prueba y los fármacos de referencia se aplicaron 10 minutos después (10 µL en cada lado). La oreja izquierda sirvió como control negativo, primero se administraron 10 µL de etanol y luego 20 µL del vehículo correspondiente. Después de cuatro horas, los animales se sacrificaron por dislocación cervical y de ambas orejas se obtuvieron las biopsias con ayuda de un sacabocados circular de 9 mm de diámetro.

El edema se determinó de la diferencia de pesos en miligramos del tejido tratado (oreja derecha) y tejido no tratado (oreja izquierda). Los porcentajes de inhibición del edema (%IE) se calcularon de acuerdo a la ecuación:

$$\%IE = 100 - [B / A \times 100]$$

Dónde:

A es el valor promedio del edema en el grupo control

B es el valor promedio del edema en el grupo de prueba o de referencia