



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS Y ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DEL PRODUCTO NATURAL
PRENOSTODIONA Y SUS ANÁLOGOS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.I. ALDAHIR RAMOS OREA

Dr. ROBERTO MARTÍNEZ
INSTITUTO DE QUÍMICA

INSTITUTO DE QUÍMICA, CDMX, FEBRERO 2020

JURADO ASIGNADO

Dr. Rubén Trinidad Sánchez Obregón	Presidente
Dr. José Alfredo Vázquez Martínez	Vocal
Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	Vocal
Dr. Luis Chacón García	Vocal
Dra. Daniela Araiza Olivero Toro	Secretaria

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la asesoría del **Dr. Roberto Martínez** con el apoyo económico de la beca de maestría otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a Aldahir Ramos Orea, (No. de CVU 770510).

Los resultados de la presente investigación fueron presentados en:

- **La XV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica 2019**, modalidad cartel. Abril 8-12 de 2019, Cuernavaca, Morelos.
- **Simposio Interno del Instituto de Química 2019**, modalidad cartel. Junio 19-21 de 2019, UNAM, Ciudad México.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Martínez por brindarme la oportunidad de formar parte su equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos, por el apoyo profesional y personal el cual siempre contribuyo de manera positiva en mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por acogerme durante mis estudios de Maestría. Asimismo, al Posgrado en Ciencias Químicas y su personal administrativo por el apoyo en la realización oportuna de cada uno de los tramites requeridos durante mis estudios de maestría.

Al CONACyT, por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría (No. de CVU 770510) la cual permite a estudiantes al igual que yo continuar superándonos. Asimismo, al PAPIIT (proyecto IN204619), A-1 016584 de CONACyT, y al Programa Institucional Nuevas Alternativas de Tratamiento para Enfermedades Infecciosas (NUATEI-IIB-UNAM), por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

A cada miembro del H. jurado por sus valiosas aportaciones que contribuyeron a enriquecer este trabajo: Dr. Rubén Trinidad Sánchez Obregón, Dr. José Alfredo Vázquez Martínez, Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano, Dr. Luis Chacón García y a la Dra. Daniela Araiza Olivero Toro

Al personal técnico y académico del instituto de Química de la UNAM, Elizabeth Huerta y Ángeles Peña (RMN), QFB. Ma del Roció Patiño Maya (IR), Javier Pérez, y Carmen García (E. Masas), por el apoyo en los experimentos realizados, así como por las facilidades brindadas para el uso de los equipos. A las Dras. Mayra Silvia Miranda, E. Segura Salina y Clara I. Espitia Pinzón del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM por los bioensayos en *Mycobacterium tuberculosis*, a la M. en C. Ma. Teresa Ramírez Apan por los bioensayos sobre líneas celulares cancerosas.

A mi familia Álvaro Ramos, Rosalía Orea y a Rogelio Ramos Orea que siempre estuvieron presentes en todo momento, ellos son mi motor, mi vida y luz en este camino.

A cada una de las personas que conocí durante esta etapa, con las que compartí grandiosos momentos que quedaron impregnados en mi corazón. Son en este momento un recuerdo más de esta maravillosa historia que llamamos vida. De forma muy especial agradezco a los grandiosos integrantes y exintegrantes del 2-11: Gustavo Pretelín, Silvia Becerra, Karla Villanueva, Angela Báez, Luis Fernando, Rogelio Pedraza, Rosa María Chávez, Raúl Aguilar.

También agradezco a unos magníficos amigos que siempre han sido un pilar importante en mi vida David Gordillo, Diego Hernández, Kevin Mendoza, Alejandro Hernández, Juan José Peralta, Maeli Palacios sin ustedes este camino no hubiera sido posible.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES	6
2.1 Prenostodiona (3a) y su relación estructural con otros productos naturales..	6
2.2 Síntesis de la Prenostodiona	6
2.3 Síntesis de Badenock	7
2.3 Síntesis de Rasapalli	7
2.4 Síntesis de Sampak	9
2.5 Segunda síntesis de Badenock.	9
2.6 Protección de ácidos carboxílicos.....	11
2.7 Indol y su funcionalización en C-2	12
2.8 La química de los xantatos y sus aplicaciones	14
2.9 Reacción de sustitución radical-oxidativa aromática	15
2.10 Condensación de Knoevenagel	17
2.11 Multirresistencia	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. HIPÓTESIS	20
5. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general.....	21
5.2 Objetivos específicos	21
6. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO.....	22
7. ESQUEMA DE SÍNTESIS	23
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
8.1 Preparación de las materias primas	24
8.2 Alquilación radical oxidativa del indol 34	26
8.3 Síntesis de 31a mediante una condensación tipo Knoevenagel.....	27
8.4 Hidrólisis regioselectiva	33
9. ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	37
9.1 Actividad antiproliferativa	37
9.2 Actividad antituberculosis	41
10. CONCLUSIONES.....	44
11. SECCIÓN EXPERIMENTAL	45

Síntesis del 2-((etoxicarbonotioil)tio)acetato de metilo (33)	45
Síntesis del <i>terc</i> -butil 1 <i>H</i> -indol-3-carboxilato (34)	46
Síntesis del <i>terc</i> -butil-2-(2-metoxi-2-oxoetil)-1 <i>H</i> -indol-3-carboxilato (32).....	47
Procedimiento general para la síntesis de los acrilatos de metilo 31a-31k	47
Procedimiento general para síntesis de los ácidos 3a-3k	53
11.1 Ensayos de actividad biológica	58
12. BIBLIOGRAFÍA	64
ESPECTROS	70

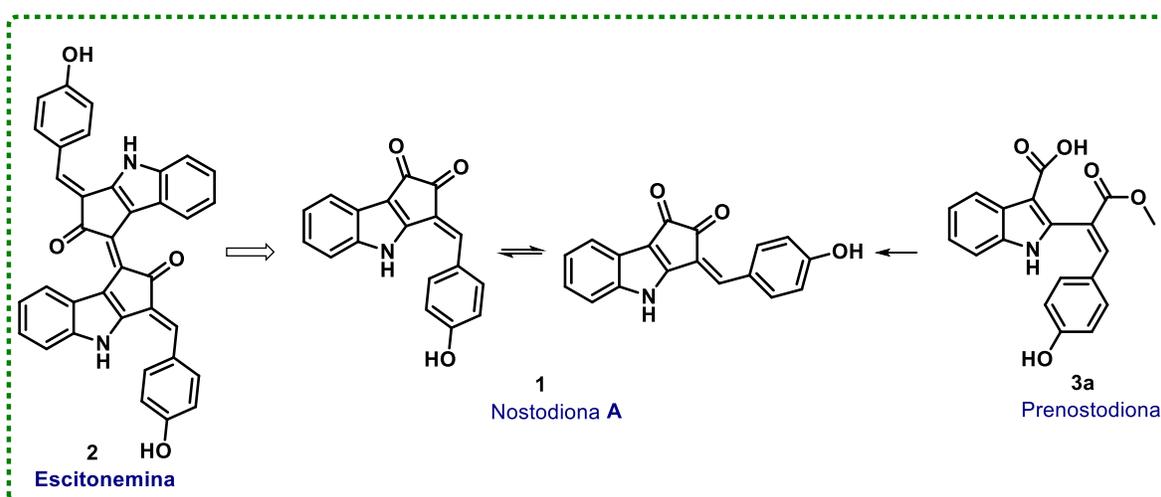
ABREVIATURAS Y FORMULAS

AcOEt	Acetato de etilo
AlCl ₃	Tricloruro de Aluminio
Boc ₂ O	Dicarbonato de di- <i>tert</i> -butilo
°C	Grados Celsius
Ccf	Cromatografía en capa fina
CaH ₂	Hidruro de Calcio
CH ₃ COOH	Ácido acético
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ CN	Acetonitrilo
(COCl) ₂	Cloruro de Oxalilo
cm ⁻¹	Reciproco de centímetros
δ	Desplazamiento químico
DCE	Dicloroetano
DLP	Peróxido de dilauroílo
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
EM	Espectrometría de masas
EM AR	Espectrometría de masas de alta resolución
EM IE	Espectrometría de masas por Impacto Electrónico
Eq	Equivalente
g	Gramos
GPs	Grupos Protectores
h	Hora
H ₂ O	Agua
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50
IR	Espectroscopía de infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
KBr	Bromuro de Potasio

KOH	Hidróxido de potasio
KO ^t Bu	<i>Terc</i> -butóxido de potasio
LDA	Diisopropil amiduro de litio
LED	Diodo emisor de luz
M ^{•+}	Ión molecular
MHz	Megahertz
MIC	Concentración mínima inhibitoria
min	Minutos
mL	Mililitros
μM	micromolar
mmol	milimol
m/z	Relación masa carga
N ₂	Nitrógeno molecular
NA	No activo
ND	No determinado
NaH	Hidruro de Sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NOESY	Espectroscopía del Efecto Nuclear Overhauser
p.f.	Punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
t.a.	Temperatura ambiente
TFA	Ácido trifluoroacético
^t BuOH	<i>Terc</i> -butanol
uma	Unidad de masa atómica
UV	Radiación ultravioleta
v	Longitud de onda

1. INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son una fuente de alcaloides indólicos que, en algunos casos, tienen actividad biológica.¹ Por ejemplo, la Nostodiona A (**1**) inhibe la mitosis y se ha comprobado la actividad antiparasitaria en contra de toxoplasma gondii² mientras que la Escitonemina (**2**) posee actividad antiproliferativa y antiinflamatoria.³ Por otra parte, la Prenostodiona (**3a**), precursor biosintético de **1**, se aisló en el año 2001 de la bacteria *Nostoc sp.*⁴



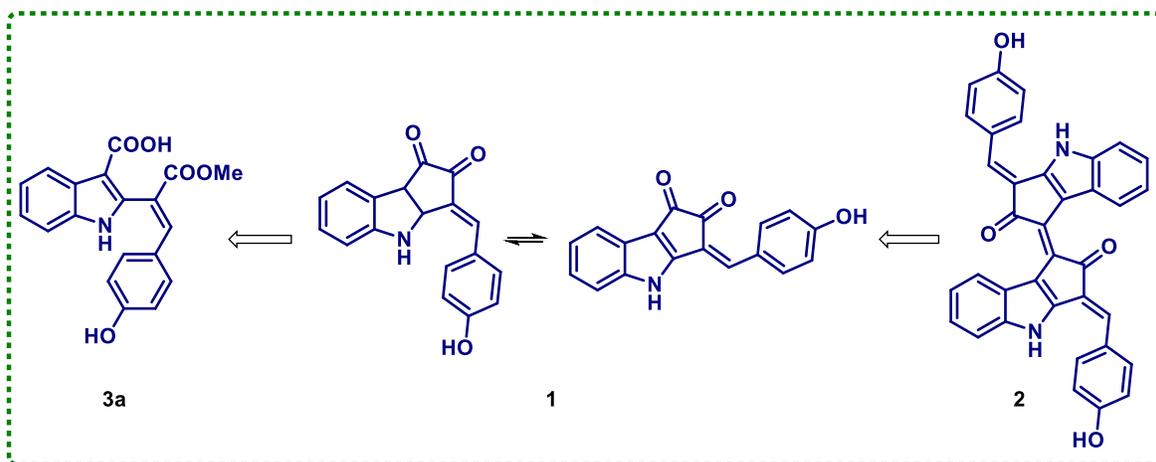
Esquema 1. Relación biosintética entre la Prenostodiona **3a** y la Nostodiona A **1**.

No obstante, hasta el día de hoy no se han investigado las posibles actividades biológicas de **3a**, tal vez porque la cantidad que se obtiene de la cianobacteria es pequeña, y aunque existen 2 rutas de síntesis para producir este compuesto, estas requieren un gran número de pasos, tiempos de reacción largos y baja regioselectividad.^{5,6} El presente trabajo describe una nueva síntesis de **3a** y la de los análogos **3b-k** en cuatro pasos de reacción, de manera eficiente y regioselectiva. También informa los resultados de la evaluación biológica de los compuestos **3a-k** en 5 líneas celulares cancerosas y contra *M. tuberculosis* H37Rv.

2. ANTECEDENTES

2.1 Prenostodiona (3a) y su relación estructural con otros productos naturales.

Las plantas, hongos, especies marinas, por mencionar algunos⁷ contienen un número extenso de compuestos con una diversidad estructural extraordinaria.⁸ Las cianobacterias son un grupo de organismos que tienen metabolitos secundarios con actividad biológica.⁹ En particular, los compuestos aislados de *Nostoc sp.* como la Nostodiona **A** (**1**) inhibe la mitosis y tienen actividad en contra de *Toxoplasma gondii*,² mientras que la Escitonemina (**2**) es capaz de inducir la producción de especies reactivas de oxígeno y la disfunción mitocondrial, lo que resulta en la muerte programada de células linfoides T, también ayuda a controlar la producción de óxido nítrico en células RAW264 de macrófagos murinos.¹⁰ Aunque la Prenostodiona (**3a**) se aisló de la misma cianobacteria en el año 2001 y se propuso como precursor biogénico de **1** y **2**, a la fecha no se le ha evaluado su posible actividad biológica.^{5,6}



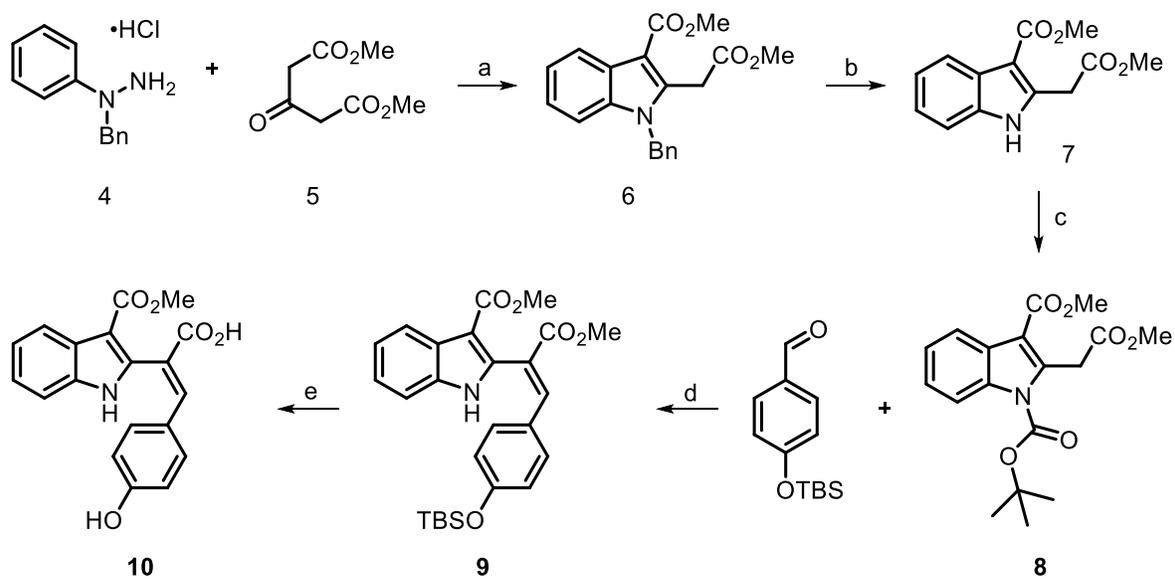
Esquema 2. Alcaloides indólicos aislados de *Nostoc sp.*

2.2 Síntesis de la Prenostodiona

Los intentos informados para sintetizar la Prenostodiona son cuatro: dos de ellos lo lograron,⁵⁻⁶ aunque con un gran número de pasos y tiempos de reacción prolongados; los otros dos produjeron la Isoprenostodiona y pirazolonas, respectivamente.^{11,12}

2.3 Síntesis de Badenock

En el año 2013, Badenock y colaboradores describieron la primera aproximación sintética para obtener la Prenostodiona. La síntesis inició con la reacción del hidrocloreto de *N*-bencil-*N*-fenilhidrazina **4** y el 3-oxo-1,5-pentanodiató de metilo **5** que dio el indol **6**. Posteriormente, se eliminó el grupo bencilo de **6** con AlCl_3 para producir **7**, cuyo *N*-indol se protegió con el dicarbonato de di-*tert*-butilo para generar el *tert*-butilcarbamato **8**. La condensación de **8** con el 4-oxo-*tert*-butildimetilsililbenzaldehído, LDA como base, y la posterior adición de CaH_2 dio el compuesto **9** con geometría *E*, que está presente en el producto natural Prenostodiona. En el último paso, la hidrólisis de **9** con KOH y metanol dio la Isoprenostodiona **10**, con un rendimiento total de 5.5%, ya que la hidrólisis no fue regioselectiva.¹¹



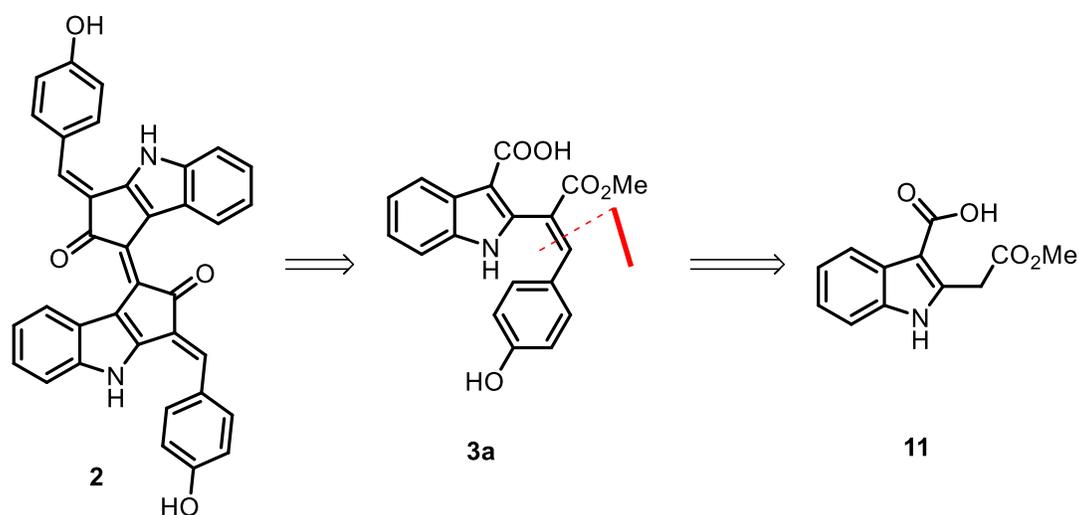
(a) MeOH, Δ , 57%, (b) AlCl_3 , C_6H_6 , Δ , 0.5 h, 85%, (c) Boc_2O , DMAP, THF, t.a. 100%
(d) LDA, THF, -78°C ; CaH_2 , THF, Δ , 1h, 46% (e) KOH, MeOH, Δ , 4h, 25%

Esquema 3. Síntesis de la Isoprenostodiona.

2.3 Síntesis de Rasapalli

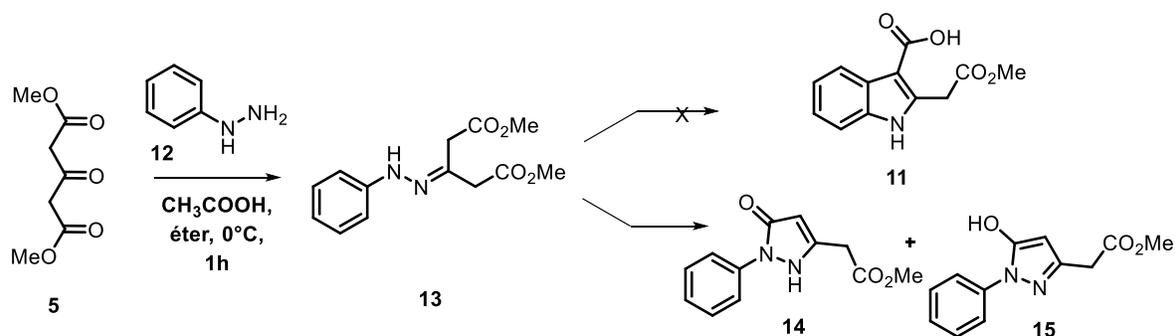
La síntesis de la Prenostodiona, propuesta por Rasapalli y colaboradores, trató de imitar la ruta biosintética planteada para obtener la Escitonemina **2**, en la que el

intermediario clave era el indol **11**, que previamente ya había sido reportado por Stanoviniks *et al.*¹³



Esquema 4. Retrosíntesis para la Prenostodion propuesta por Rasapalli y colaboradores.

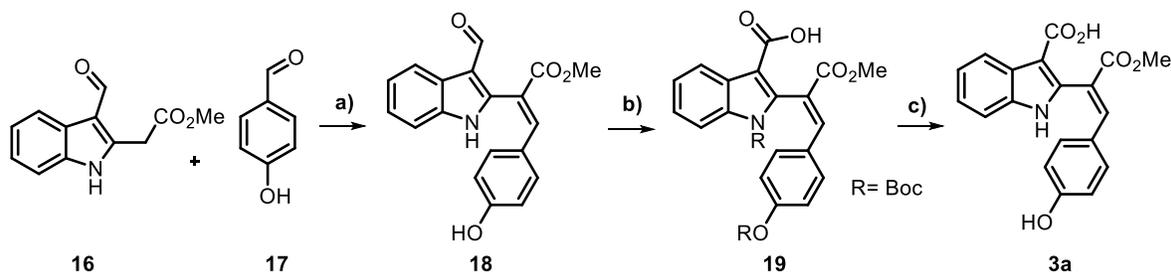
El primer paso para obtener **11** fue hacer reaccionar fenilhidrazina (**12**) con el 3-oxo-1,5-pentanodiató de metilo (**5**) en ácido acético y éter dietílico, a 0 °C. Empero, tras varios intentos solo se produjeron las pirazolonas **14** y **15**, que se habían descrito como subproductos de esta reacción.¹³ La formación de **14** y **15** tiene sentido bajo la hipótesis que el grupo carbonilo del éster metílico está siendo activado y sufre un ataque nucleofílico intramolecular del nitrógeno β de la hidrazona **13** y que el equilibrio imina-enamina y el reordenamiento sigmatrópico que generaría el compuesto **11**, no se ven favorecidos por las condiciones de reacción.¹²



Esquema 5. Síntesis propuesta para obtener el intermediario **11**.

2.4 Síntesis de Sampak

El grupo de investigación de Sampak realizó la primera síntesis de la Prenostodiona en 3 pasos de reacción (Esquema 6). La materia de partida es el indol **16**, aunque no hace mención de cómo lo preparó y no es comercialmente accesible, pensando que el metileno de **16** era útil para una reacción de condensación, tipo Knoevenagel, con aldehídos en presencia de un ácido y una base, el uso de L-prolina como organocatalizador bifuncional fue la mejor opción. Así, la reacción de **16** con el 4-hidroxibenzaldehído (**17**) y L-prolina, en atmósfera de N₂, y 80 horas produjo el compuesto **18**, con un rendimiento del 76%. Después, se protegió el nitrógeno del indol y el oxígeno del fenol de **18**, para posteriormente oxidar el aldehído unido a la posición 3 del indol, vía oxidación de Pinnick. Por último, la desprotección del nitrógeno indólico y el oxígeno fenólico (**19**) con una mezcla de diclorometano/ ácido trifluoroacético, dio la Prenostodiona **3a** en un rendimiento total de 61%. Cabe mencionar, que el rendimiento total, implicando la formación de **16** sería del 24-28%.^{5,14-18}



a) L-prolina, DMSO, t.a. 80 h, 76% b) Boc₂O, DMAP, DCM, t.a. 3h, NaClO₂, NaH₂PO₄, 2-metil-2-buteno, *t*-BuOH/H₂O 3:1, 90% c) DCM/TFA 3:1, t.a. 8h, 91%

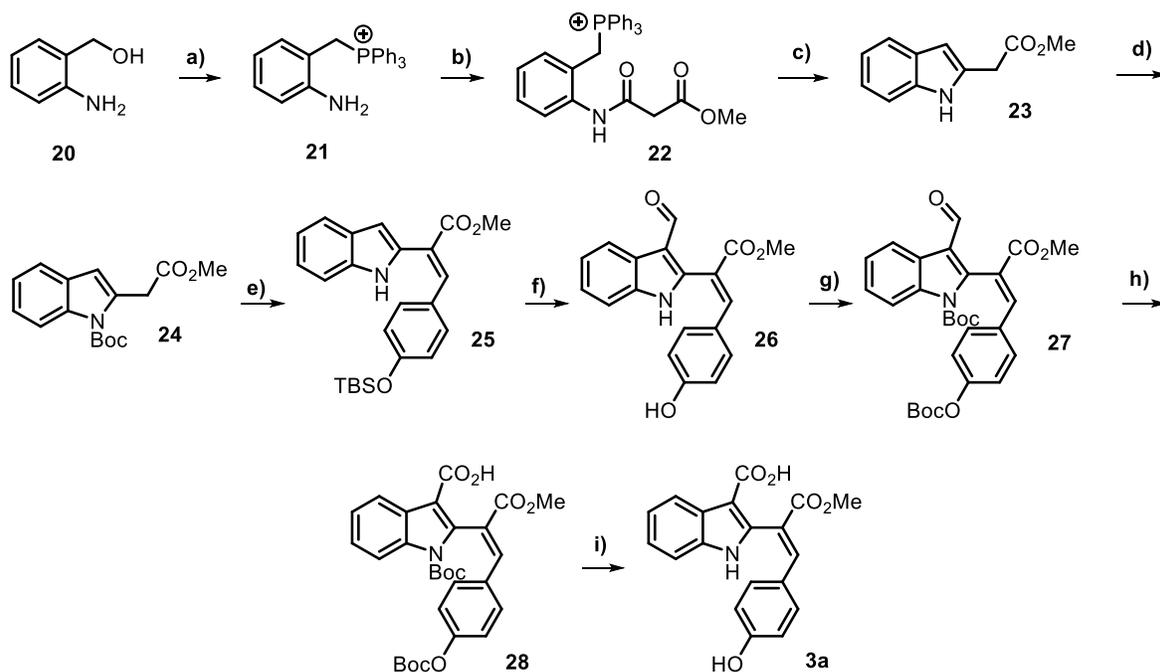
Esquema 6. Síntesis de Sampak.

2.5 Segunda síntesis de Badenock.

En el año 2018, Badenock propuso una nueva estrategia para sintetizar **3a**, en la que combinó algunas reacciones de su síntesis previa y la de Sampak.^{5,11} En esta nueva vía, usó la 2-(hidroximetil)anilina (**20**) como materia de partida. El tratamiento de **20** con el hidrobromuro de trifenilfosfina generó la sal de fosfonio **21**, que se hizo reaccionar con el 3-cloro-3-oxopropionato de metilo para obtener el intermediario

22. El indol **23** se preparó al hacer reaccionar **22** con *tert*-butóxido de potasio en tolueno, y después de proteger con Boc₂O, el compuesto **24**, se condensó con el 4-oxo*tert*-butildimetilsililbenzaldehído y LDA. La adición de NaH en este mismo paso, favoreció la desprotección del indol para lograr el éster **25** con la estereoquímica adecuada. Es digno de mencionar que **25** se descompone en CDCl₃.

La formilación de **25** también desprotegió el éter de silicio generando el formilhidroxibenceno (**26**). Los intentos por oxidar el aldehído de **26** al correspondiente ácido carboxílico fracasaron, por lo que se decidió proteger tanto al NH del indol, como al hidroxilo del benceno con Boc₂O para obtener el compuesto **27**, que si se oxidó al ácido (**28**). La síntesis terminó con la eliminación del grupo protector de **28** con ácido trifluoroacético y diclorometano. Esta elegante síntesis de la Prenestodiona (**3a**) es larga, presenta 9 pasos de reacción, lo que hace que su rendimiento global sea del 3.5%.⁶



a) PPh₃•HBr, CH₃CN, 88%, b) MeO₂CCH₂COCl, CH₂Cl₂, 3h, 79% c) KO^t-Bu, PhMe, Δ, 6h, 74% d) BocO₂, DMAP, THF, t.a. 96% e) LDA, TBSOC₆H₄CHO, THF, -78°C, 1h; NaH, Δ, 2h, 44% f) POCl₃, DMF, 1h, Δ, 79%, g) BocO₂, DMAP, CH₂Cl₂ t.a. 100% h) NH₂SO₃H, NaClO₂, NaH₂PO₄, *t*-BuOH/H₂O 3:1, t.a. 8h, 87% i) TFA, CH₂Cl₂, 0°C, 8h, 24%.

Esquema 7. Síntesis de Badenock.

En resumen, los retos para mejorar la síntesis de la Prenestodiona **3a** son: evitar la protección y desprotección de -NH indólico y del -OH del fragmento estirénico, la incorporación del ácido carboxílico en la posición 3 del indol, dirigir la estereoquímica del doble enlace estirénico y la alquilación en C-2.

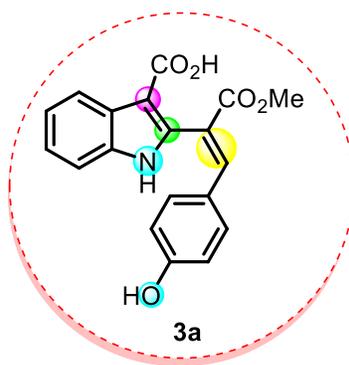


Figura 1. Fragmentos claves para optimizar la síntesis de la Prenestodiona **3a**.

2.6 Protección de ácidos carboxílicos

Los grupos protectores (GPs) son una herramienta útil para la construcción de moléculas con un alto grado de complejidad. Sin embargo, la elección de este debe de cumplir con varios requisitos como son:

- De fácil y eficiente incorporación y remoción
- Barato y de fácil acceso
- Fácil de caracterizar y evitar complicaciones como: la creación de centros estereogénicos.
- Estable en cromatografía
- Estable a una amplia variedad de condiciones de reacción
- Los subproductos de la desprotección deben de ser fácilmente separados del sustrato.

En la actualidad, existe un catálogo amplio de GPs que permite hacer una elección de acuerdo con el grupo funcional a proteger, y las condiciones de reacción a que se someterá el compuesto protegido. En la Figura 2 se presentan los grupos

protectores clásicos de un ácido carboxílico, aunque se debe de tener en cuenta que existen variaciones de las mismas.

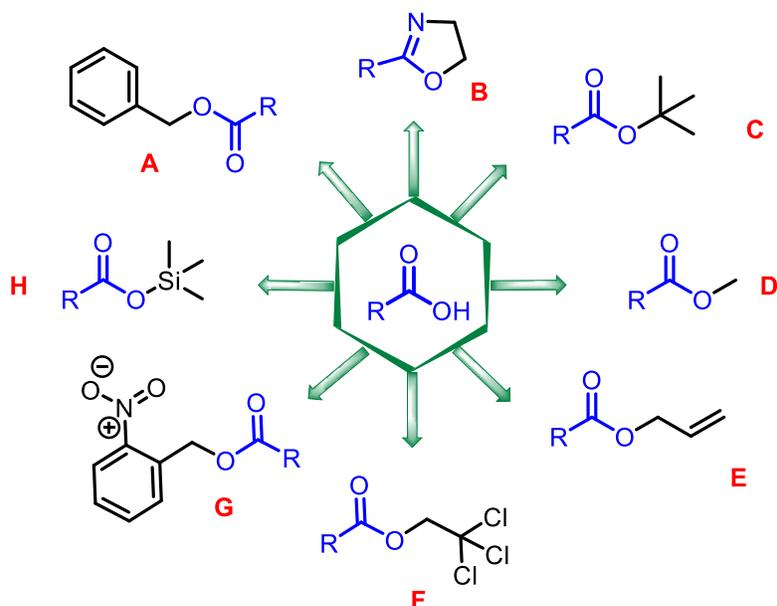


Figura 2. Grupos protectores (GPs) de ácidos carboxílicos.

Por otra parte, la clasificación de estas protecciones está determinada por su forma de desprotección. Es decir, que el grupo protector puede ser removido ya sea por hidrogenación (A), ácidos (B, C, D), bases (D) metales de transición (E), eliminación reductiva (F), luz ultravioleta (G) y fluoruros (H).¹⁹

2.7 Indol y su funcionalización en C-2

El indol es un heterociclo formado por la fusión de un anillo de benceno y uno de pirrol. El esqueleto de indol, además de ser parte de una amplia variedad de productos naturales, es un bloque de construcción para la síntesis de nuevas moléculas con distintas aplicaciones. En particular, en el área farmacéutica se encuentra presente en 24 medicamentos que lo convierten en la cuarta estructura heterocíclica más frecuente en ellos.²⁰ Cabe mencionar, que las estrategias sintéticas que dan acceso al sistema bicíclico, por lo regular necesitan que los grupos funcionales finales estén preinstalados en los reactivos de partida, lo que las hace poco atractivas. En cambio, la funcionalización de indoles es una herramienta muy útil para la modificación de compuestos biológicamente activos, y mejor aún como punto de partida para la síntesis de moléculas complejas.

Para la introducción de grupos funcionales en las posiciones C2 y C3 del indol, se han descrito un extenso número de métodos.²⁰ En la Figura 3 se ilustran las diferentes formas de realizar reacciones de sustitución en C2.^{14-18,21-50} En particular, se describe la reacción de Sustitución Radical Oxidativa, ya que tiene virtudes como: formación de enlaces C-C, tolerancia a grupos funcionales y otros esqueletos heterocíclicos, condiciones suaves, uso de reactivos accesibles y de bajo costo.³⁴⁻⁴⁰ Los radicales libres se pueden generar de compuestos halogenados, diazocompuestos, peróxidos, sales de sulfinatos, y xantatos (ditiocarbonatos).³⁴⁻⁴⁰ Estos últimos son una herramienta útil en otro tipo de reacciones, como los procesos de transferencia de grupo, desoxigenación, eliminación, adición intra e intermolecular.^{34-37,51-53}

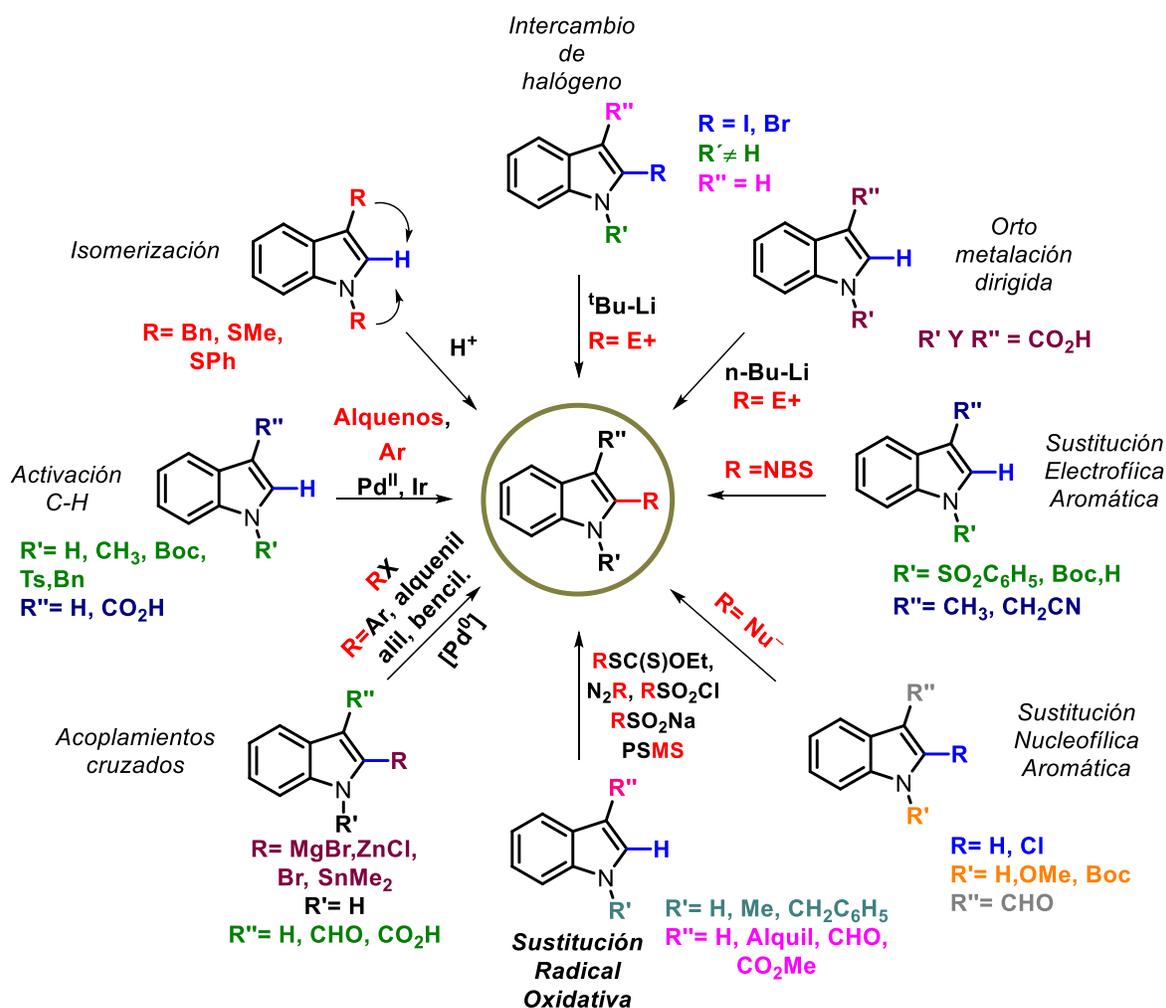
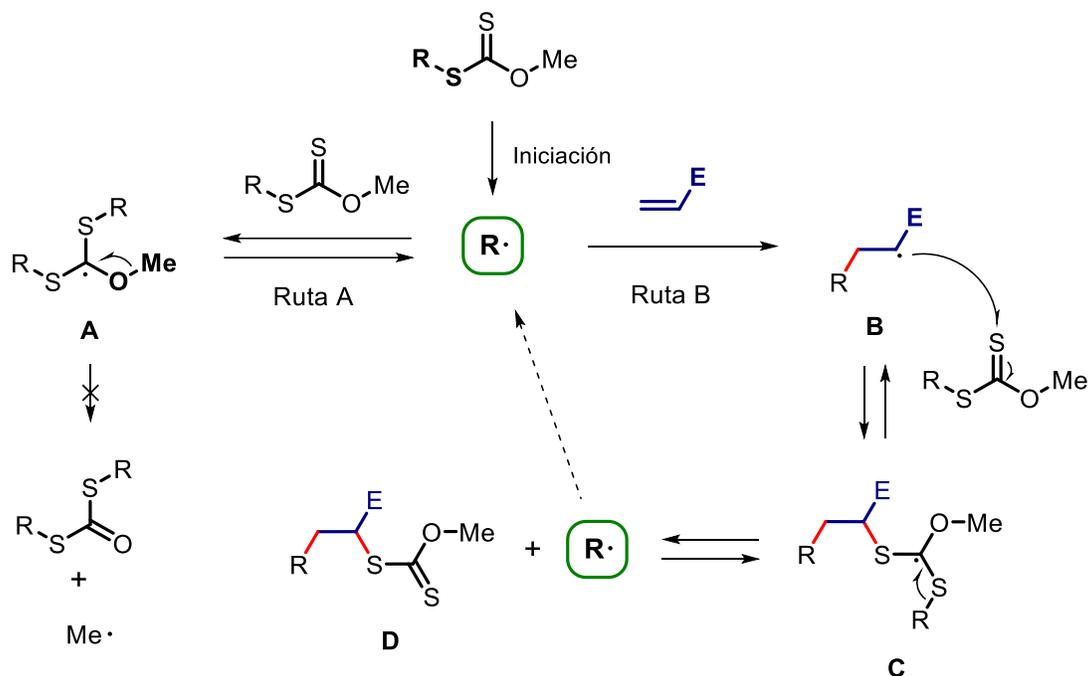


Figura 3. Funcionalización del indol en C2.

2.8 La química de los xantatos y sus aplicaciones

De forma histórica, el primer caso que demostró la utilidad de los ditiocarbonatos fue la eliminación de Chugaev, en la que un alcohol se transforma en un xantato y luego este se elimina produciendo el correspondiente alqueno.⁵¹ Posteriormente, el interés sobre los xantatos aumentó considerablemente con el advenimiento de la reacción de Barton-McCombie, desarrollada para la desoxigenación de alcoholes. Esta transformación tuvo un gran impacto en síntesis, lográndose con ella la preparación de carbohidratos y esteroides modificados, además de ser una fuente conveniente de radicales a partir de alcoholes.⁵²

A finales del siglo pasado, Zard documentó otro uso de los xantatos tomando ventaja de los radicales generados.⁵³ Este nuevo uso se basó en favorecer la ruptura del enlace carbono-azufre sobre la unión carbono-oxígeno, el cual es el enlace que se fragmenta en la desoxigenación de Barton (Esquema 8). Este proceso comienza después de la etapa de iniciación, a partir de la cual se produce el radical $R\cdot$, el cual tiene la opción de reaccionar con otra molécula de xantato (Ruta A) o bien con una trampa de radicales, como lo es una olefina (Ruta B). Si la primera posibilidad toma lugar, esto conduciría al aducto **A** para el cual la ruptura β del enlace carbono-oxígeno es muy poco favorable, ya que produce el radical metilo, que es termodinámicamente menos estable que $R\cdot$. Por otro lado, la escisión del enlace carbono-azufre, conduce de nueva cuenta al radical $R\cdot$ y al xantato de partida. Esta vía no consume el intermediario $R\cdot$, pero lo que si hace es aumentar su tiempo de vida efectivo en el medio de reacción, lo que permite que el radical sea capturado por trampas poco reactivas que normalmente no pueden ser empleadas con otros sistemas de generación de radicales. Ahora bien, la captura de $R\cdot$ por la trampa, derivaría en el aducto radical **B**, que a su vez podría reaccionar con otra molécula del xantato de partida produciendo así un nuevo ditiocarbonato (**D**) y regenerando el radical $R\cdot$. En resumen, en este proceso dos nuevos enlaces pueden ser formados, uno de ellos de tipo carbono-carbono y el segundo carbono-azufre.

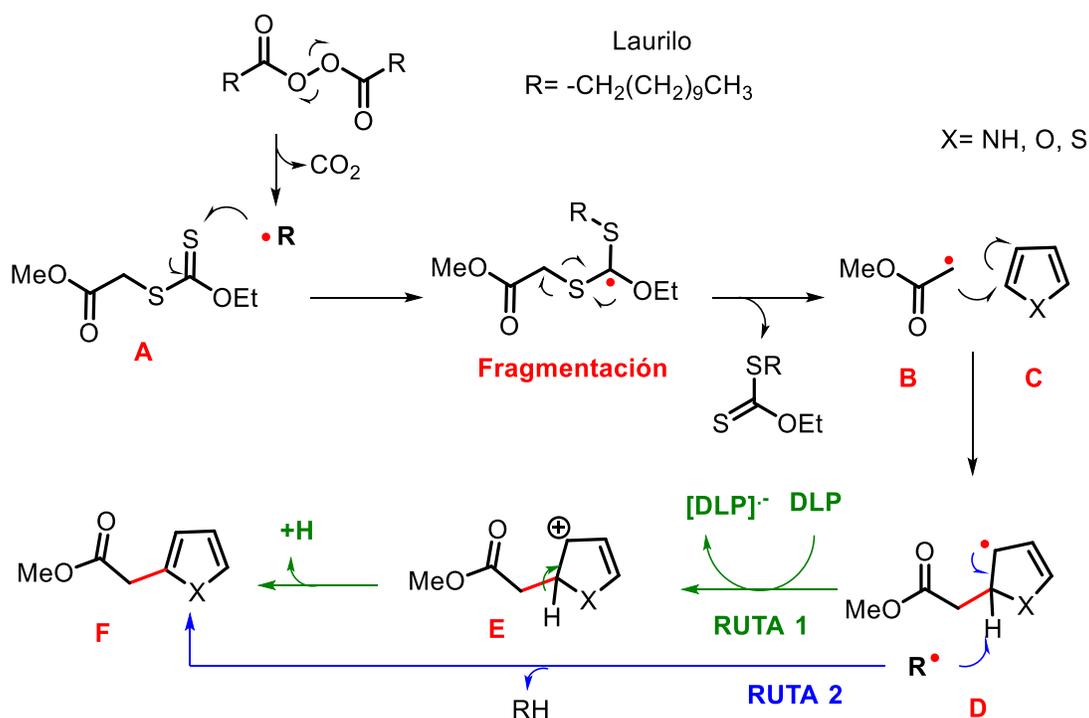


Esquema 8. Modificación de la reacción de Barton-McCombie propuesta por Zard.

2.9 Reacción de sustitución radical-oxidativa aromática

Después de la modificación de la reacción de Barton por parte de Zard, diversas estrategias han sido desarrolladas y publicadas basándose en este cambio. De todos estos métodos descritos, la sustitución radical oxidativa aromática desarrollada por Miranda y colaboradores³⁴ ha resultado ser una metodología sobresaliente, ya que por este medio pueden realizarse alquilaciones sobre sistemas homo y heteroaromáticos,^{35,37,54,55} por ejemplo, sustituciones directas en la posición 2 de indoles y pirroles, no importando la presencia de un sustituyente en C-3 o si el átomo de nitrógeno se encuentra o no protegido, lo cual representa una ventaja en síntesis. El mecanismo propuesto para esta transformación (Esquema 9) inicia con la fragmentación homolítica del enlace O-O en el peróxido de dilauroilo (DLP), seguida de la escisión β del radical $RC(O)O\cdot$ generando con ello dos moléculas de CO_2 y dos del radical libre $R\cdot$. Luego, la adición de $R\cdot$ hacia el azufre del tiocarbonilo del xantato **A** y posteriores fragmentaciones generan el radical **B**, que puede adicionarse al sistema aromático **C** originando así un nuevo radical (**D**). La recuperación de la aromaticidad puede ocurrir por medio de dos vías distintas: (Ruta 1) la transferencia del electrón desapareado proveniente del radical **D** al

peróxido, lo que deriva en la formación de un radical anión y el catión **E**, que al perder un protón rearomatiza el sistema y conduce al producto de la sustitución radical-oxidativa aromática **F**; y (Ruta 2) en la que se cree que un radical R• adquiere el hidrógeno del intermediario **D**, regenerando con esto la aromaticidad del sistema. Es importante destacar que en ambas rutas se requiere una cantidad estequiométrica de DLP para completar la reacción, ya que no son pasos de propagación.



Esquema 9. Mecanismo propuesto para la reacción de sustitución radical oxidativa.

El uso de xantatos como precursores de radicales libres proporcionan varias ventajas como son: no emplear metales pesados, condiciones libres de estaño (pueden provocar una reducción prematura de nuestro sustrato), tiempos de reacción cortos y últimamente han surgido nuevas estrategias que involucran el uso de luz LED azul para la generación de radicales empleando cantidades catalíticas del xantato y temperaturas suaves.³⁴⁻³⁶

La utilidad sintética de esta reacción se ha demostrado con la preparación de diferentes compuestos que se muestran en la Figura 4.⁵⁶⁻⁶¹

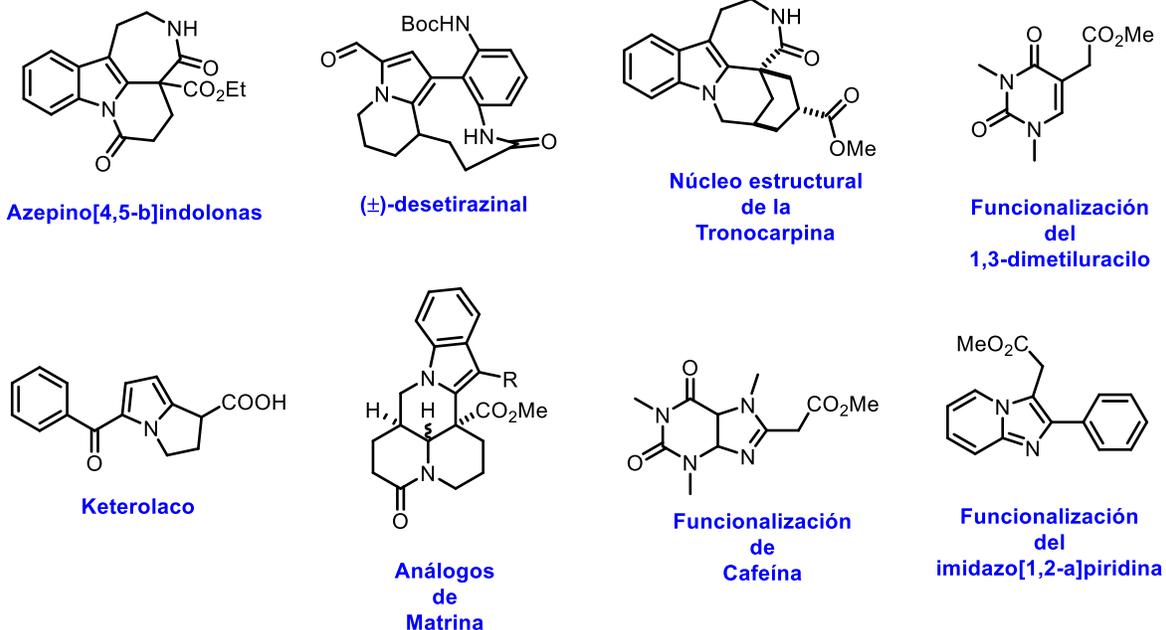
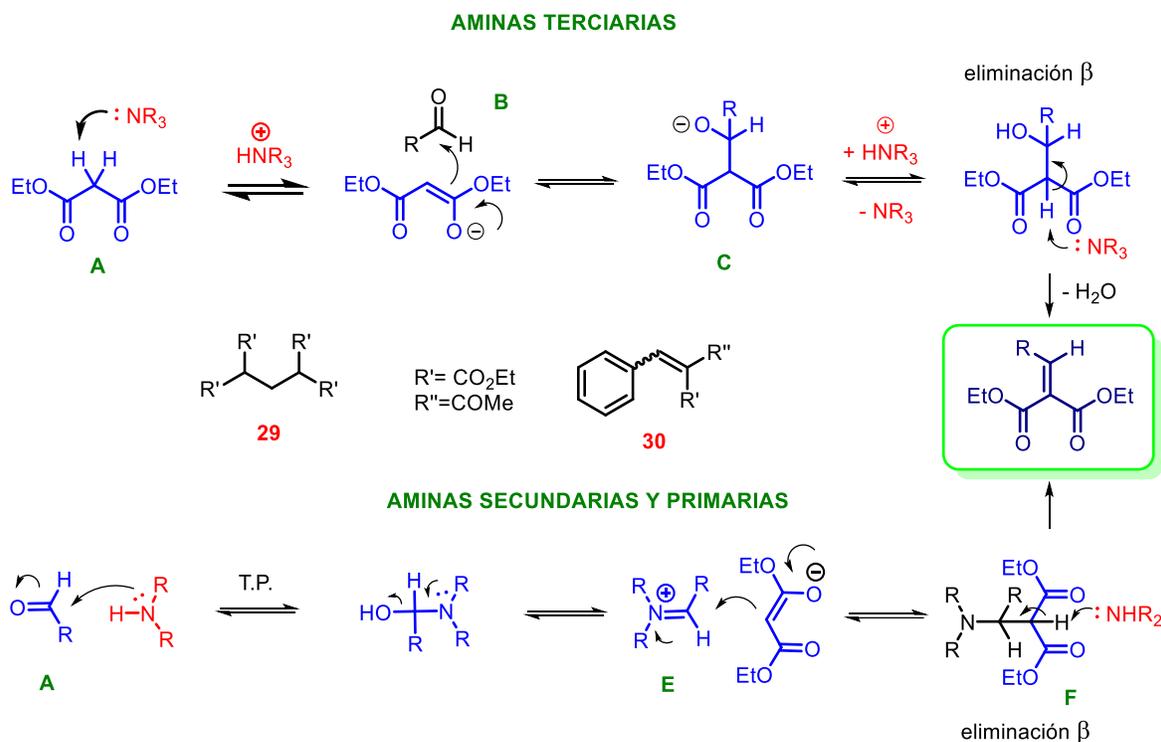


Figura 4. Ejemplos de compuestos obtenidos mediante la reacción de sustitución.

2.10 Condensación de Knoevenagel

La reacción del malonato de dietilo, formaldehído y dietilamina como catalizador, para obtener el compuesto **29**, fue descrita primera vez en 1894 por E. Knoevenagel. Posteriormente, la reacción de benzaldehído, acetoacetato de etilo y piperidina como catalizador dio el compuesto **30**. Las reacciones tipo Knoevenagel son aquéllas donde se hace reaccionar: un aldehído o cetona con un metileno α a un grupo carbonilo, un catalizador como las aminas, ácidos de Lewis, un agente deshidratante y disolventes apróticos. Existen dos propuestas de mecanismo de reacción, que depende de la amina utilizada (Esquema 10). En la primera de ellas, la amina abstrae uno de los hidrógenos ácidos del metileno **A**, generando el enolato correspondiente que procede a atacar el carbono del carbonilo **B**, obteniendo el intermediario **C**, el cual se protona, y después elimina H_2O vía una β -eliminación para así obtener el producto de condensación. La segunda propuesta inicia con el ataque nucleofílico del nitrógeno de la amina (primaria o secundaria) al carbono del carbonilo para dar la sal de iminio **E**, que reacciona con el enolato procedente de **A**, produciendo el intermediario **F**, que finalmente sufre una β -eliminación para generar el producto de condensación.⁶²



Esquema 10. Mecanismos propuestos para la reacción de Knoevenagel.

2.11 Multirresistencia

El surgimiento de especies patógenas multirresistentes a antibióticos representa un serio problema de salud mundial. Inicialmente, estas especies fueron registradas en hospitales, pero ahora las podemos encontrar en todas partes. Entre las bacterias Gram positivas que generan más problemas se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*; y por las Gram negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. La producción de enzimas degradantes, baja permeabilidad son algunos de los mecanismos utilizados por las bacterias para resistir a los antibióticos. La multirresistencia causada por la mutación en respuesta de un fármaco implica que conforme transcurre el tiempo, existirán menos agentes antimicrobianos para tratar las infecciones bacterianas, lo que dificultará aún más el tratamiento de infecciones por microorganismos resistentes.⁶³ La globalización, el uso excesivo de antibióticos en animales de ganadería y acuicultura, el empleo de agentes de múltiple espectro y la falta de una adecuada administración,⁶⁴ son factores que contribuyen a la resistencia a los antibióticos. Una manera de

coadyuvar a la disminución de la farmacorresistencia, es buscar métodos alternativos para el control de patógenos resistentes mediante el descubrimiento de nuevos fármacos con mejor selectividad y menores efectos tóxicos.



Figura 5. Farmacorresistencia.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las síntesis de la Prenostodiona descritas hasta el momento, dan bajos rendimientos y requieren de secuencias de reacción largas.

4. HIPÓTESIS

La síntesis de la Prenostodiona **3a** y sus análogos **3b-k** se puede lograr mediante una ruta sintética con menos pasos y con mejor rendimiento.

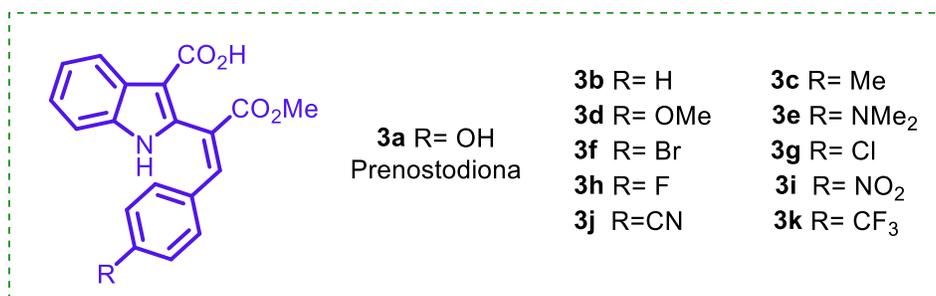


Figura 6. Prenostodiona **3a** y sus análogos **3b-3k**.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Realizar la síntesis y evaluación biológica de la Prenostediona **3a** y sus análogos **3b-k**.

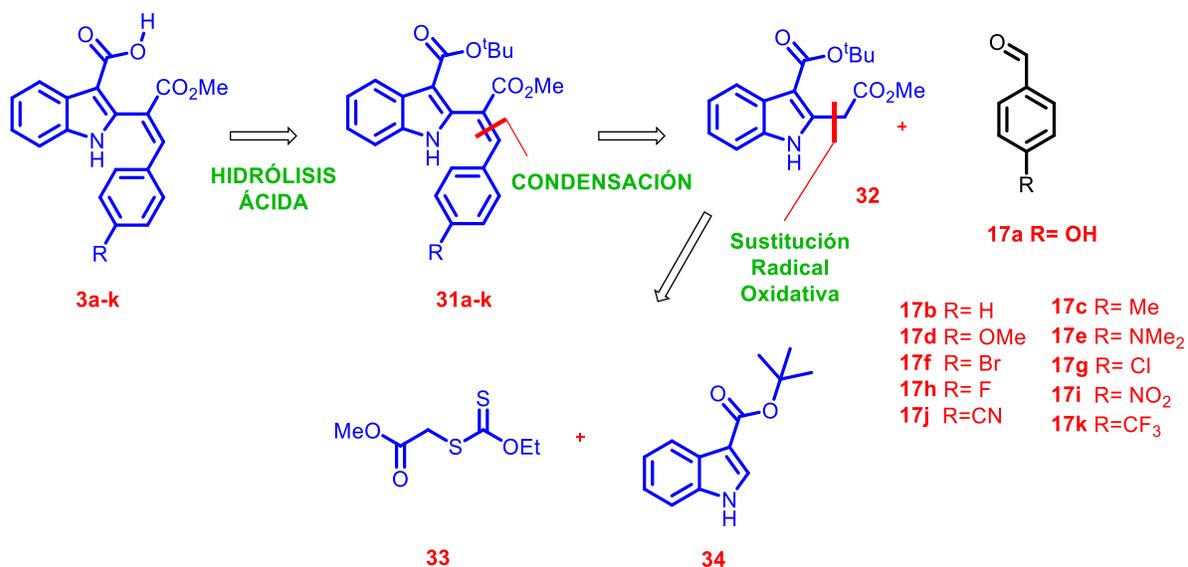
5.2 Objetivos específicos

Sintetizar los compuestos **3a-k** mediante una estrategia de síntesis estereoselectiva, que involucre pocos pasos de reacción y utilice materias primas asequibles.

Determinar las condiciones de reacción óptimas para cada una de las etapas de la ruta de síntesis.

Realizar la evaluación de la actividad de los compuestos **3a-k** contra *M. tuberculosis*, y en líneas celulares cancerosas.

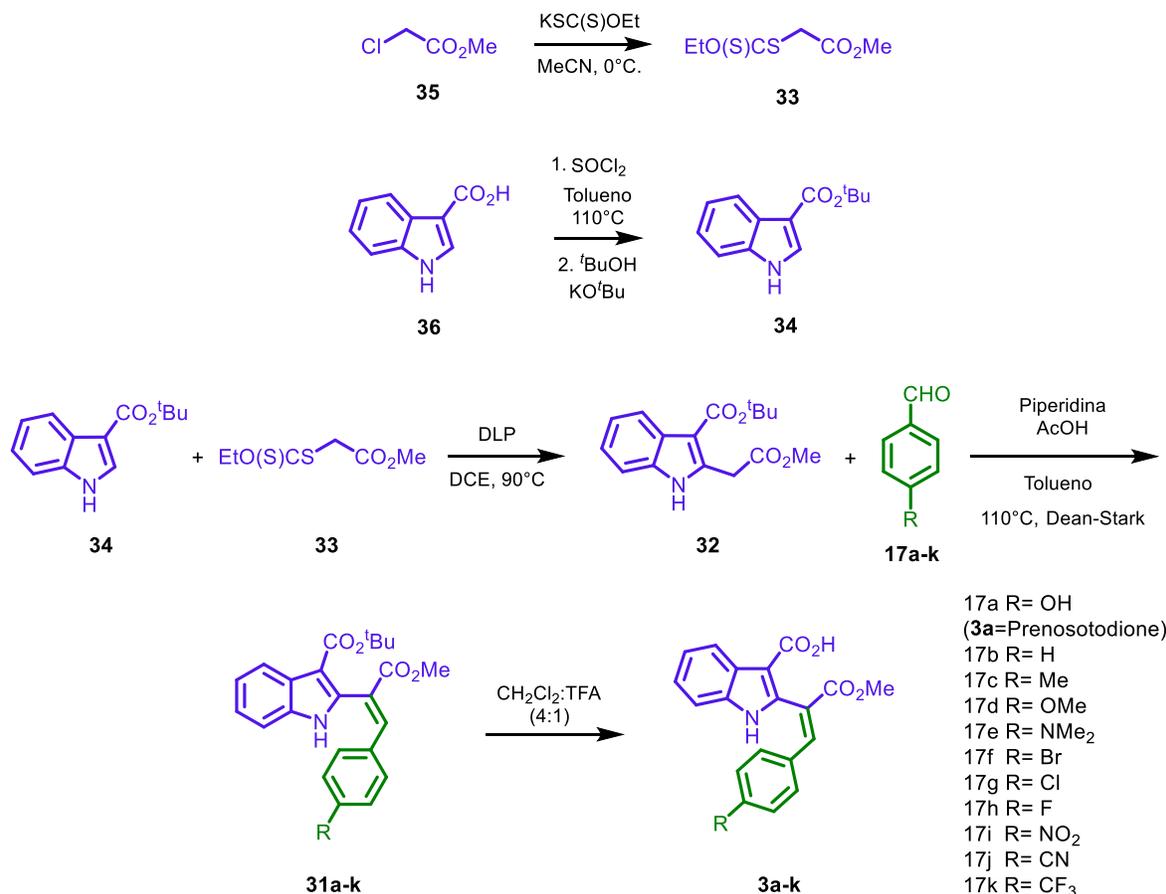
6. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO



Esquema 11. Propuesta retrosintética para obtener los compuestos **3a-k**.

Con el fin de solucionar uno de los principales problemas que han tenido los grupos de investigación que han intentado la síntesis de la Prenestodiona **3a**, se consideró que el intermediario **32** sería el intermediario clave para favorecer la condensación con los benzaldehídos **17a-k**, ya que contiene el ácido carboxílico enmascarado en la posición 3 del indol y un metileno activado por un grupo electroattractor. En el esquema retrosintético, el intermediario sintético avanzado **31a-k** se puede hidrolizar, de forma selectiva, y provenir de **32** por una reacción de condensación de tipo Knoevenagel. A su vez, **32** provendría de una reacción intermolecular entre **33** y **34** por una reacción de sustitución radical oxidativa.

7. ESQUEMA DE SÍNTESIS

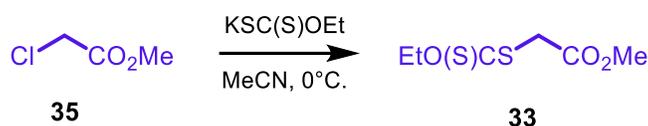


Esquema 12. Ruta de síntesis de **3a-k**.

La síntesis propuesta para obtener los compuestos **3a-k**, se muestra en el Esquema 12. La propuesta inicia con la formación de las materias primas **33** y **34**. El xantato **33** se genera mediante una reacción de sustitución nucleofílica entre la sal de potasio del ditiocarbonato de *O*-etilo y **35**. Por su parte, el éster *tert*-butílico **34** se elabora por la reacción del cloruro de ácido, previamente preparado por la reacción entre cloruro de tionilo y el ácido **36**, con *tert*-butóxido de potasio. La síntesis continua con la alquilación en C2 de **34** con el xantato **33** para generar el intermediario **32**, mediante una reacción de sustitución radical oxidativa. La condensación, tipo Knoevenagel, de **32** con los aldehídos **17a-k** produce los estirenos **31a-k**. Finalmente, la desprotección de los ésteres *tert*-butílicos **31a-k**, en condiciones ácidas, da la Prenestodiona **3a** y sus análogos **3b-k**.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Preparación de las materias primas

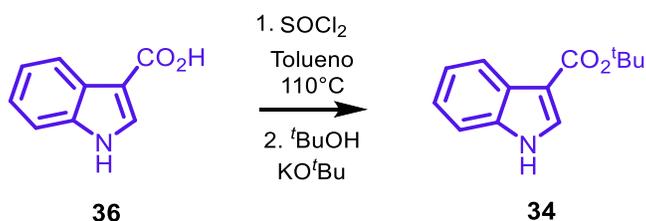


Esquema 13. Obtención del Xantato **33**.

La preparación de las materias primas dio inicio con la síntesis del xantato **33**, de acuerdo con la metodología descrita por Reyes-Gutierrez,⁵⁶ al hacer reaccionar la sal de potasio del ditiocarbonato de *O*-etilo con el cloroacetato de metilo (**35**), en acetonitrilo a 0°C. En esta reacción es muy importante cuidar la temperatura, y el tiempo, ya que en el primer experimento se observaron 2 subproductos, que no se aislaron, que disminuyeron el rendimiento y que fue necesaria la purificación del compuesto **33** por cromatografía en columna. En la Tabla 1 se muestran los experimentos realizados para la preparación del xantato **33**.

Tabla 1. Condiciones de reacción para la obtención del xantato (**33**).

Ensayo	Equivalentes 35 /KSC(S)OEt	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1	1/1.1	0 → 25	1 → 0.5	83
2	1/1.1	0	1	98

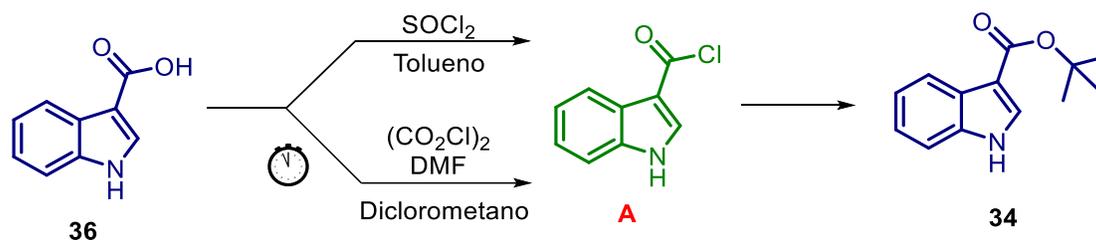


Esquema 14. Obtención del 3-indolcarboxilato de *terc*-butilo **34**.

La preparación del compuesto **34** comenzó con la formación del cloruro de acilo del ácido 3-indolcarboxílico **36**, mediante su tratamiento con cloruro de tionilo, sin destilar, y tolueno anhidro a reflujo. El seguimiento de la reacción, por ccf, a las 6 h indicó que no había conversión completa de la materia prima **36**. Después de

eliminar la mezcla de cloruro de tionilo-tolueno, el crudo de reacción se disolvió en *tert*-butanol y se le agregaron 3 porciones de *tert*-butóxido de potasio, a 0°C e inmediatamente se obtuvo el compuesto **34**, en rendimientos moderados (Tabla 2). Con la finalidad de mejorar el rendimiento del producto **34**, se realizó otro experimento con el cloruro de tionilo destilado, y se observó por ccf que a las 5 horas de reacción desaparecía el ácido **36** con una mejora en el rendimiento. Posteriormente, cuando se aumentó el número de equivalentes de SOCl₂, el rendimiento de **34** también aumentó. Estos resultados mostraron que la formación del cloruro de acilo (**A**) es clave para lograr un buen rendimiento de **34**, por lo que se intentó sintetizar **34** utilizando el procedimiento de Linton y colaboradores,⁶⁵ en el cual se usa el cloruro de oxalilo como agente clorante. Sin embargo, no se logró la conversión completa de la materia prima **36**, aún con tiempos de reacción más largos, y el rendimiento de **34** disminuyó considerablemente.

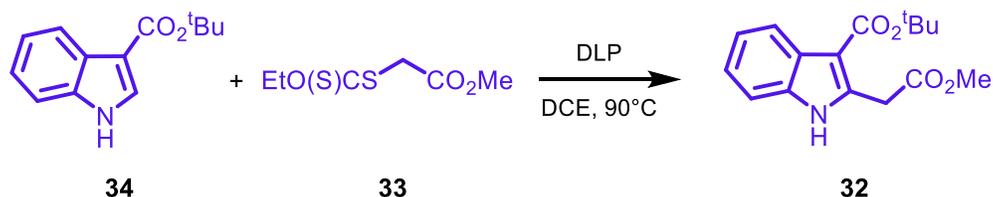
Tabla 2. Condiciones empleadas para la obtención de **34**.



Ensayo	Fuente de cloruros, Eq	Eq. KO ^t Bu	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Rendimiento (%)
1	SOCl ₂ , 10 (sin destilar)	1.5	6	110	42
2	SOCl ₂ , 10 (destilado)	1.5	5	110	76
3	SOCl ₂ , 25 (destilado)	1.5	4	110	85
4	(COCl) ₂ , 3	1.5	24	25	25

Por otra parte, la esterificación de Fischer podría ser una opción para formar **34**, pero se debe tener en cuenta que esta reacción se lleva a cabo con alcoholes primarios y secundarios poco impedidos, en condiciones ácidas (catalíticas) y a temperaturas altas; y que, en este caso, el *tert*-butanol es un alcohol terciario que es susceptible a sufrir una reacción de eliminación debido a las condiciones de reacción. A pesar de saber que estas reacciones están en competencia, se decidió intentar la reacción de esterificación. El seguimiento de la reacción mostró varios productos, sin predominio de ninguno (mezcla compleja) por lo que se abandonó esta opción.

8.2 Alquilación radical oxidativa del indol **34**



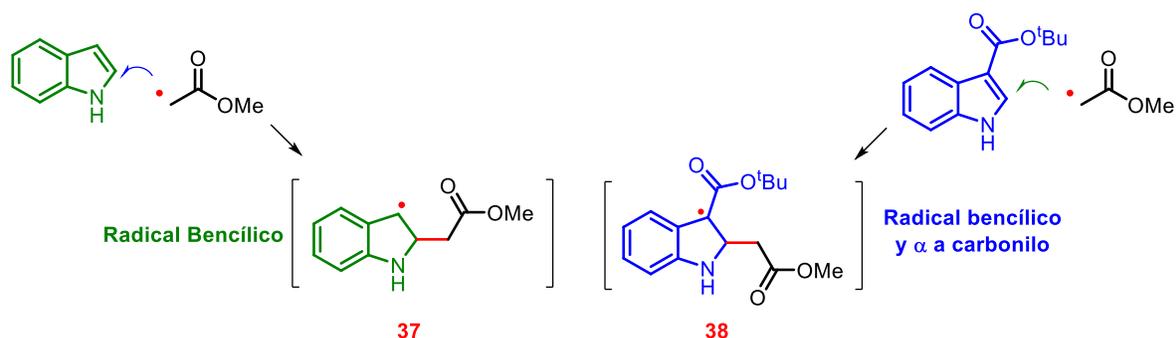
Esquema 15. Condiciones de reacción para la formación de **32**.

La preparación del compuesto **32** se realizó por medio de una reacción de sustitución radical-oxidativa de **34** con el xantato **33**, (Esquema 15). Para ello se siguió la metodología descrita por Miranda *et al.*³⁴ con la variante de que el DLP fue adicionado en 6 tandas con un intervalo de tiempo de una hora entre cada adición, modificación que fue realizada por Torres-Ochoa.⁶⁶ También se modificó el número de equivalentes de DLP agregados, obteniendo el mejor rendimiento de **32**, con 1.8 equivalentes (Tabla 3)

Tabla 3. Condiciones de reacción para la obtención de **32**.

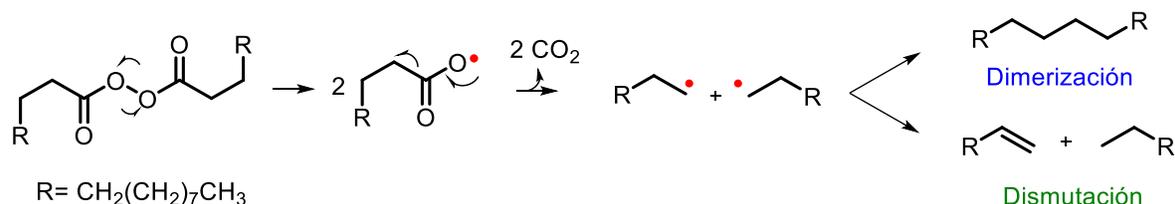
Ensayo	Eq. de DLP	Eq. de Xantato 33	Tiempos de reacción (h)	Rendimiento de 32 (%)
1	1.2	1.5	6	64
2	1.5	1.5	6	67
3	1.8	1.5	6	72
4	2	1.5	6	44

El rendimiento que se logró se atribuyó a dos hechos: el primero de ellos fue que, el proceso de purificación se facilitó por la presencia del éster *tert*-butílico en **32** lo que permitió utilizar fases móviles, de mediana polaridad, que proporcionaron una mejor resolución en cromatografía en placa y columna. El segundo hecho es que el radical intermediario formado **38** es más estable que **37**.^{34,35,67}



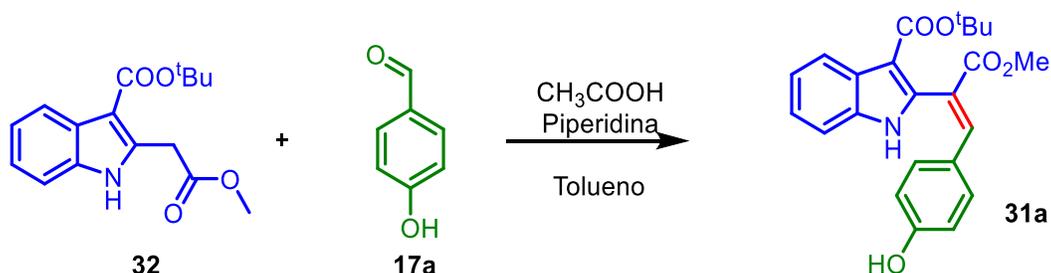
Esquema 16. Comparación de estabildades de los radical.

Por otra parte, el aumento de la cantidad estequiométrica de DLP generó una drástica disminución de rendimiento. La explicación es que, cuando la concentración de DLP es mayor que la del xantato, se favorece la dimerización y la dismutación, por lo cual la cantidad efectiva para favorecer el radical metilacetato disminuye.



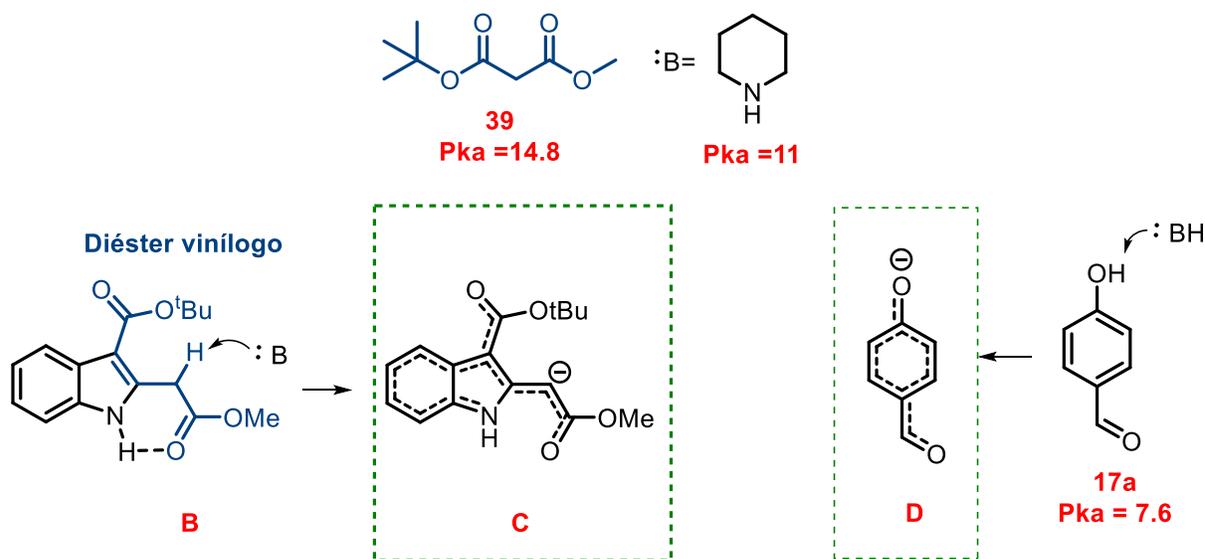
Esquema 17. Dimerización y dismutación del DLP.

8.3 Síntesis de 31a mediante una condensación tipo Knoevenagel



Esquema 18. Condensación aldólica cruzada.

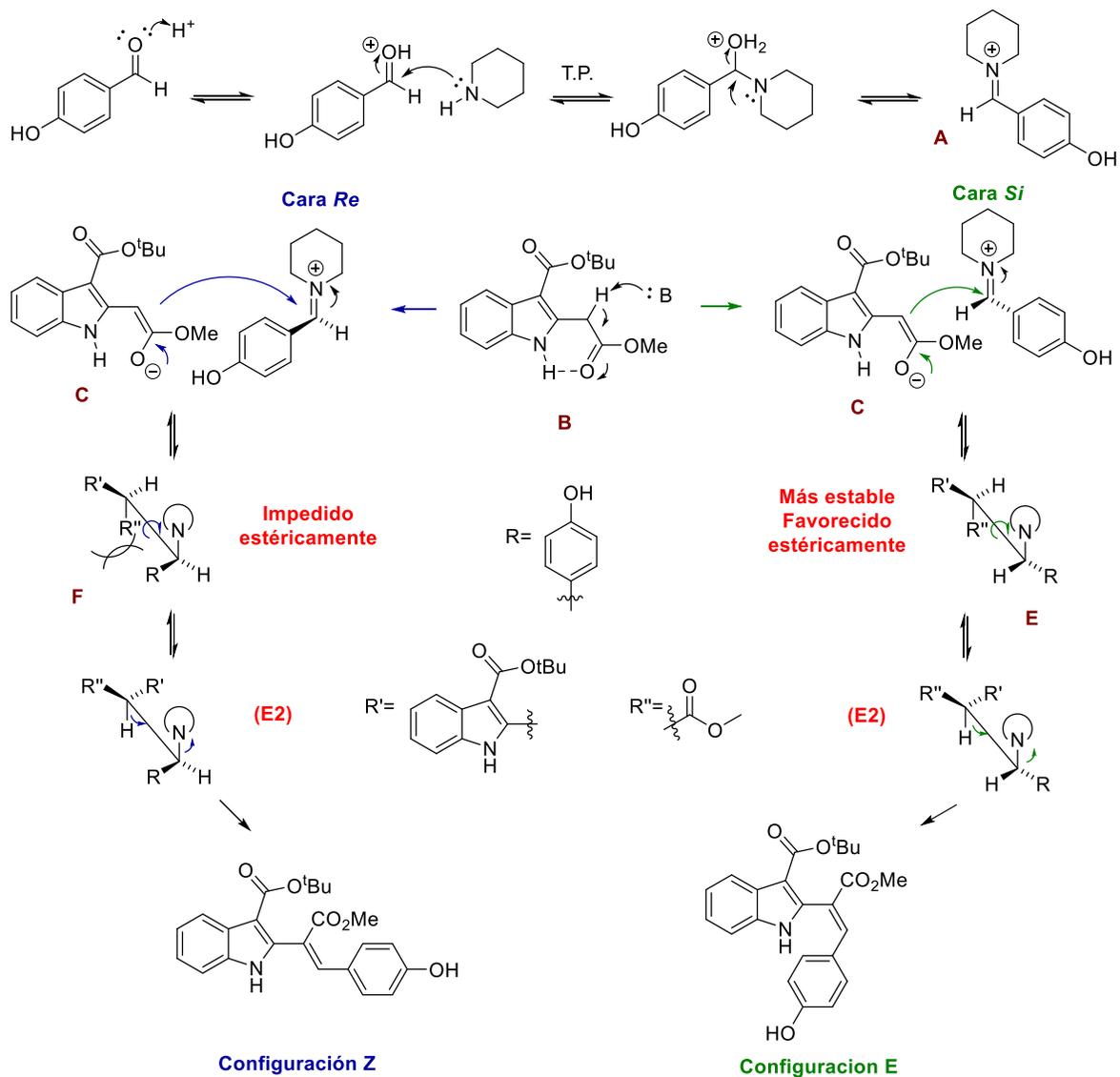
El primer experimento consistió en hacer reaccionar el éster protegido **32** y p-hidroxibenzaldehído **17a**, utilizando como catalizadores una mezcla de ácido acético y piperidina, en reflujo de tolueno por una hora (condensación tipo Knoevenagel),⁶⁷ que produjo el estireno **31a** en un rendimiento de 73%. Con el propósito de conseguir mejor rendimiento, se realizó un segundo experimento que consistió en hacer el seguimiento del progreso de la reacción cada hora, hasta observar que la materia prima se había consumido, lo cual sucedió a las 6 horas. Después de purificar el crudo de reacción y se obtuvo el compuesto **31a**, en un rendimiento del 91%. El mecanismo de reacción que se propone para la condensación entre **32** y **17a** inicia con la formación de la sal de iminio de la piperidina (**A**), Esquema 20, y la desprotonación del metileno (**B**). La desprotonación del metileno (**B**) se debe favorecer porque son los protones más ácidos, debido a la vinilografía con el diéster **39** que tiene un $pK_a = 11.86$, y si bien el pK_a del 4-hidroxibenzaldehído (**17a**) es de 7.6, la base conjugada **C** se encuentra estabilizada por los dos carbonilos y el anillo de indol, mientras que **D** solo por el anillo de benceno y el carbonilo del aldehído.



Esquema 19. Estabilidad del carbanión **C** Y **D**.

A continuación, el ataque nucleofílico por parte del enolato **C** hacia la cara *Si* de la sal de piperidinio genera el intermediario **E**, que es más estable y estéricamente

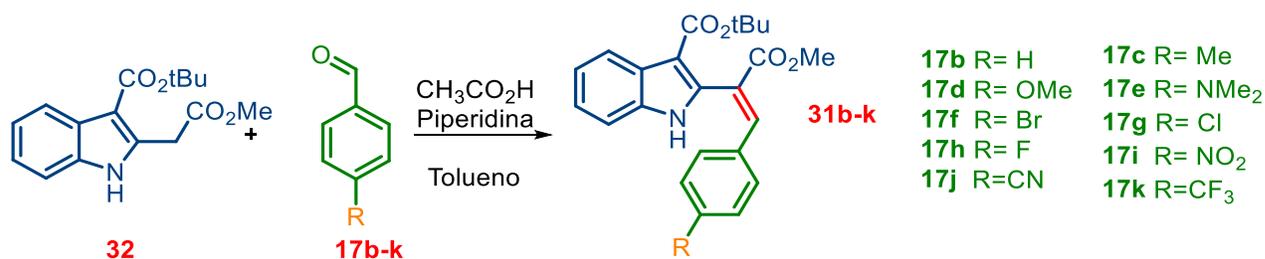
menos impedido que el intermediario **F**, generado por el ataque a la cara *Re*. Por último, la eliminación bimolecular (E2) conduce al alqueno *E*.



Esquema 20. Mecanismo propuesto para explicar la estereoselectividad de la reacción de condensación.

Los alcances de las condiciones de reacción, logradas en la condensación entre **32** y **17a**, se exploraron usando diferentes benzaldehídos (Tabla 4). Una de las precauciones vitales fue la verificación por cromatografía en capa fina de la ausencia del ácido benzoico correspondiente, ya que en presencia de este la reacción no procedía.

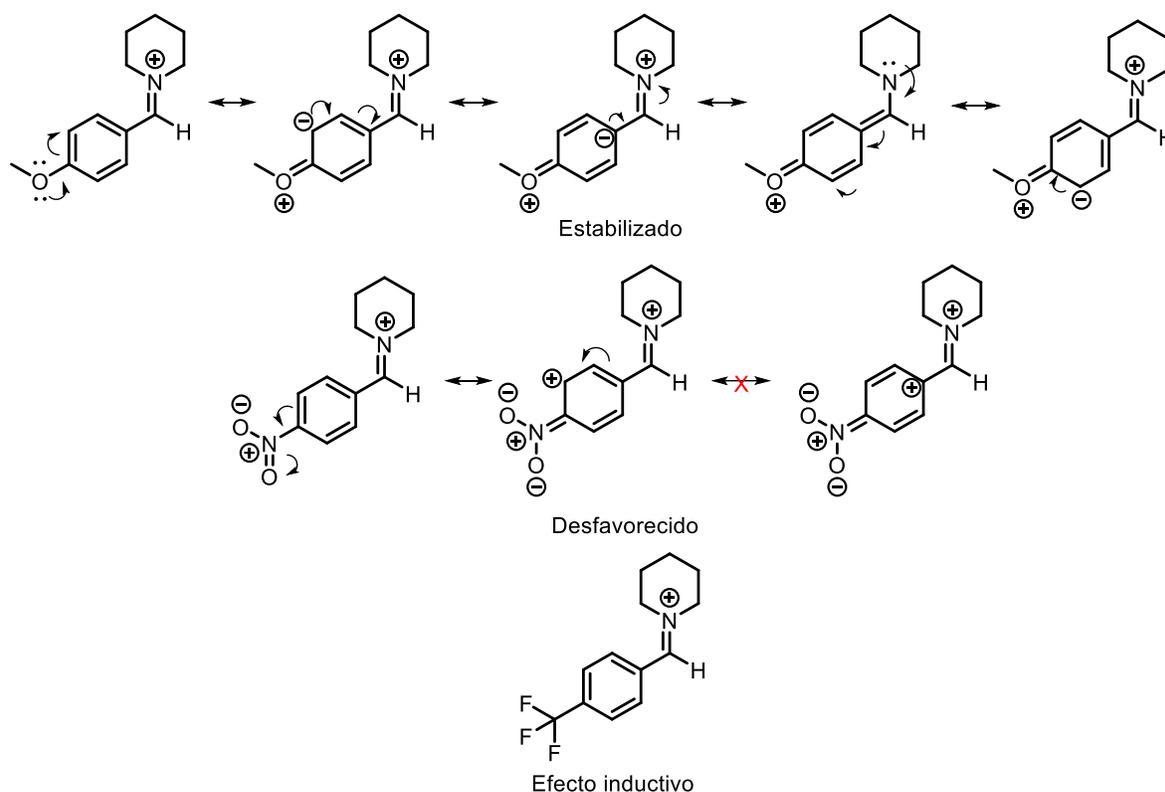
Tabla 4. Condiciones de reacción para la obtención de **31b-k**.



Compuesto	R	Tiempo (h)	Equivalentes 32/17b-k	Rendimiento (%)
31b	H	2	1/1.2	92
31c	Me	2	1/1.2	90
31d	OMe	6	1/1.2	89
31e	N(CH₃)₂	6	1/1.2	93
31f	Br	6	1/1.2	74
31g	Cl	6	1/1.2	74
31h	F	6	1/1.2	73
31i	NO₂	24	1/1.2	60
31j	CN	24	1/1.2	65
31k	CF₃	6	1/1.2	74

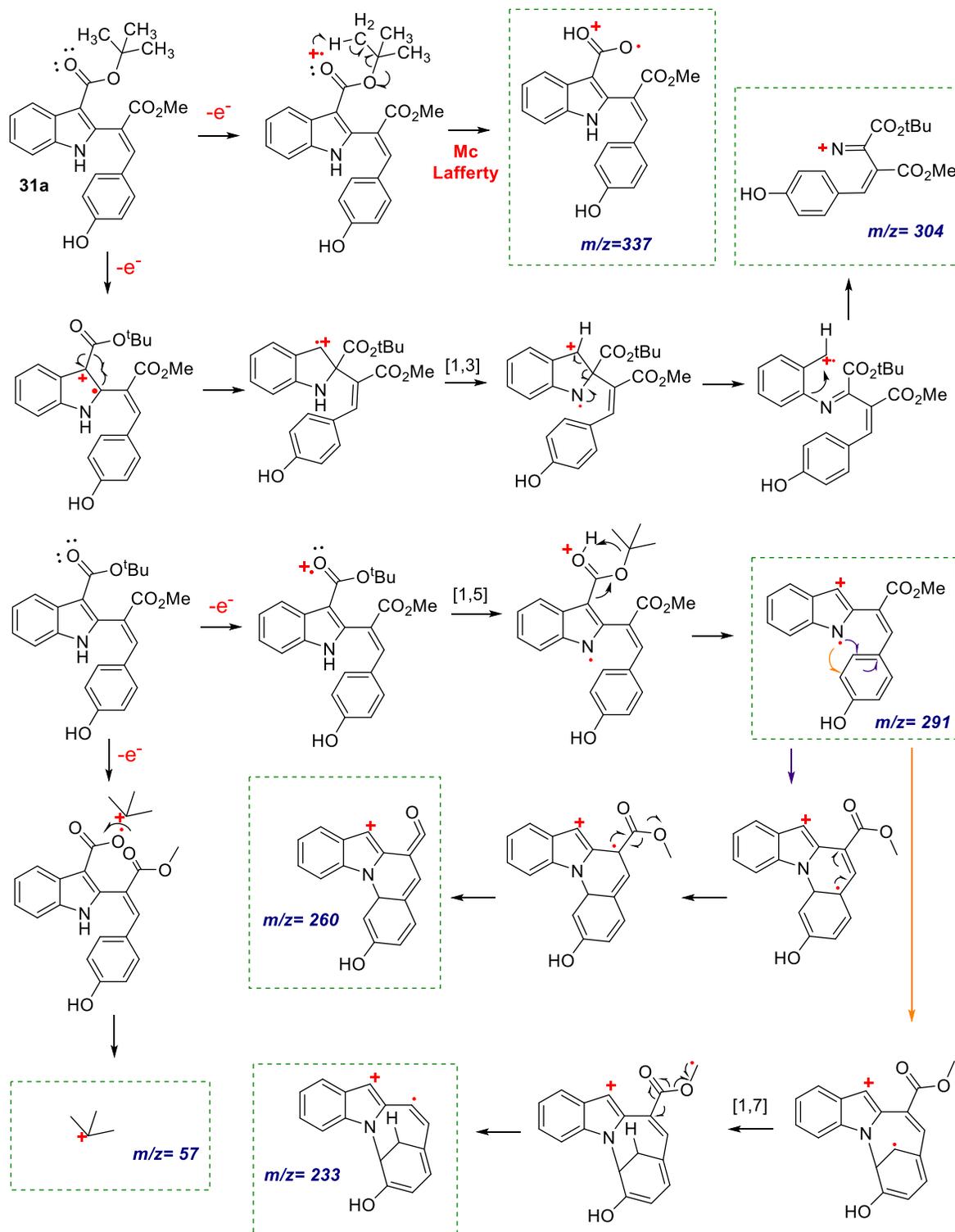
Como se puede observar en la Tabla 4, la reacción se beneficia por la presencia de grupos electrodonadores con tiempos de reacción cortos y buenos rendimientos, lo que sugiere que la sal de piperidinio se encuentra estabilizada por efecto de resonancia (Esquema 21). En contraparte, la reacción se perjudica por la presencia de grupos electroattractores lo que produce tiempos de reacción largos y rendimientos moderados, probablemente por efectos de resonancia, a pesar del incremento de la electrofilia de la sal de piperidinio. La disminución en el tiempo de reacción para los compuestos **31b** y **31c** es justificada por su analogía con las sales

de piperidinio reportadas por Apple y colaboradores, las cuales demuestran que son más electrofílicas que las que contienen grupos activadores sobre el anillo.⁶⁸



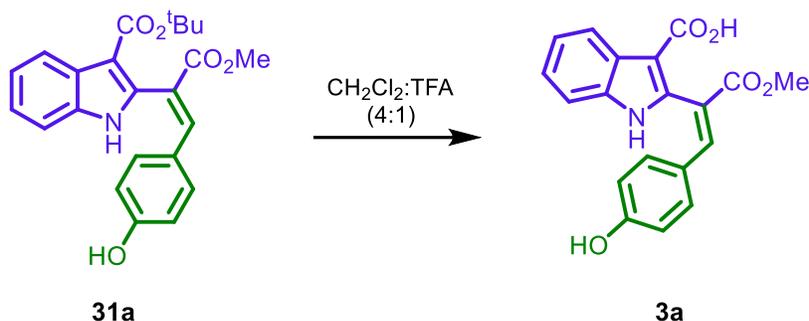
Esquema 21. Reactividad de los iones piperidinio en función del tipo de sustituyente presente en el grupo fenilo.

Los espectros de IR, RMN de ^1H y ^{13}C , así como los espectros de masas de los compuestos **31a-k** permitieron corroborar su estructura. El patrón de fragmentación de los espectros de masas por impacto electrónico de los compuestos **31b-k** es relevante, porque cuando los sustituyentes en el fenilo son H, CH_3 , OH, CH_3O , y $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, se observa su ion molecular. Mientras que cuando los sustituyentes son halógenos y grupos electroattractores, el ion molecular es muy pequeño, o no se observa. La posible explicación para este comportamiento es que el carbonilo del éster unido a C-3 del indol, esta conjugado con el grupo fenilo sustituido, lo cual debilita el enlace $\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ del éster, favoreciendo su ruptura vía una fragmentación tipo McLafferty, y genera el fragmento a m/z ($\text{M}^+ - 56$), pico base. Además, los espectros de masas de los compuestos **31a-k** muestran la pérdida de 56, 73, 89, 102, 133 y 160 uma.



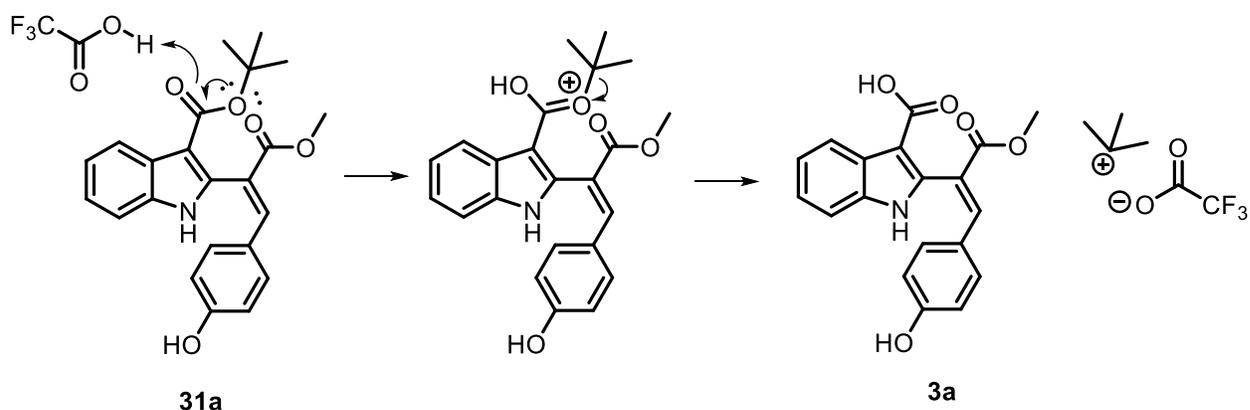
Esquema 22. Patrón de fragmentación de 31a.

8.4 Hidrólisis regioselectiva



Esquema 23. Reacción de Hidrólisis ácida.

La hidrólisis regioselectiva del diéster **31a** con ácido trifluoroacético en diclorometano, de acuerdo con el protocolo de Castellano y colaboradores,⁶⁹ dio la Prenostodiona **3a**. Una precaución muy importante para el éxito de esta reacción es agregar el ácido trifluoroacético a la mezcla de reacción que contiene el diéster en diclorometano cuando ya se está a 0°C, debido a que hay una reacción exotérmica y el ácido es muy higroscópico. Las condiciones de reacción de esta hidrólisis favorecen la desprotección del éster *tert*-butílico sobre la del éster metílico, debido a que el catión *tert*-butilo generado es más estable que el carbocatión primario que produciría el éster metílico (Esquema 24).



Esquema 24. Mecanismo propuesto de la hidrólisis ácida del compuesto **31a**.

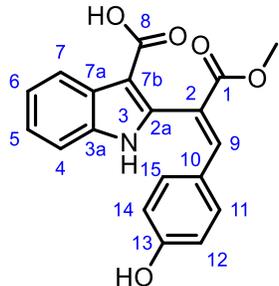
Ya que la hidrólisis de **31a** se realizó en condiciones suaves, y de fácil de manipulación, se usó para hidrolizar los ésteres **31b-k** para obtener los análogos de la Prenostodiona **3b-k**. En la Tabla 5 se muestran los rendimientos obtenidos.

Tabla 5. Condiciones de reacción para la hidrólisis ácida de los compuestos **31a-k**.

Sustrato	Producto	R	Tiempo (h)	Volumen DCM:TFA (mL)	Rendimiento (%)
31a	3a	OH	1.5	4:1	79
31b	3b	H	1.5	4:1	80
31c	3c	Me	1.5	4:1	79
31d	3d	OMe	1.5	4:1	87
31e	3e	N(CH ₃) ₂	1.5	4:1	79
31f	3f	Br	1.5	4:1	89
31g	3g	Cl	1.5	4:1	87
31h	3h	F	1.5	4:1	70
31i	3i	NO ₂	1.5	4:1	78
31j	3j	CN	1.5	4:1	76
31k	3k	CF ₃	1.5	4:1	77

La comprobación de la estructura de **3a** se realizó mediante el análisis de sus espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H y ¹³C, y espectrometría de masas. La comparación de las señales mostradas, tanto en el espectro de resonancia magnética de ¹H y como en el de ¹³C, con las señales descritas para la Prenostodiona se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de RMN de ^1H y ^{13}C del producto natural y el sintetizado en este trabajo.

				
Posición	Producto Natural (δC)	3a (δC)	Producto Natural (δH)	3a (δH)
1	166.9	165.6		
1-OMe	52.1	51.9	3.63 s	3.64 s
2	120.4	120.2		
2a	139.3	139.1		
3			11.82 s	11.84 sa
3a	135.8	135.6		
4	112.1	111.8	7.37 d (8.8 Hz)	7.39 m
5	122.5	122.3	7.20 m	7.19 m
6	121.2	121.0	7.18 m	7.19 m
7	121.2	121.0	8.03 d (8.7 Hz)	8.06 m
7a	127.1	126.9		
7b	105.8	105.6		
8	165.8	166.6		
9	142.3	142.0	7.78 s	7.79 s
10	124.8	124.6		
11,15	132.3	132.1	6.84 d (8.7 Hz)	6.85 (8.3 Hz)
12, 14	115.8	115.5	6.58 d (8.7 Hz)	6.59 (8.3 Hz)
13	159.6	159.3		
13-O			9.99 s	10.01 s

Asimismo, la estereoquímica del doble enlace de la Prenostodiona **3a** se estableció mediante el experimento NOESY. Se observó que existe una interacción entre el protón N-H del indol y los protones 11, 15 del anillo de fenilo, lo que indica que el anillo de fenilo se encuentra del mismo lado que el anillo de indol, adoptando una configuración *E* como se observa en la Figura 7.

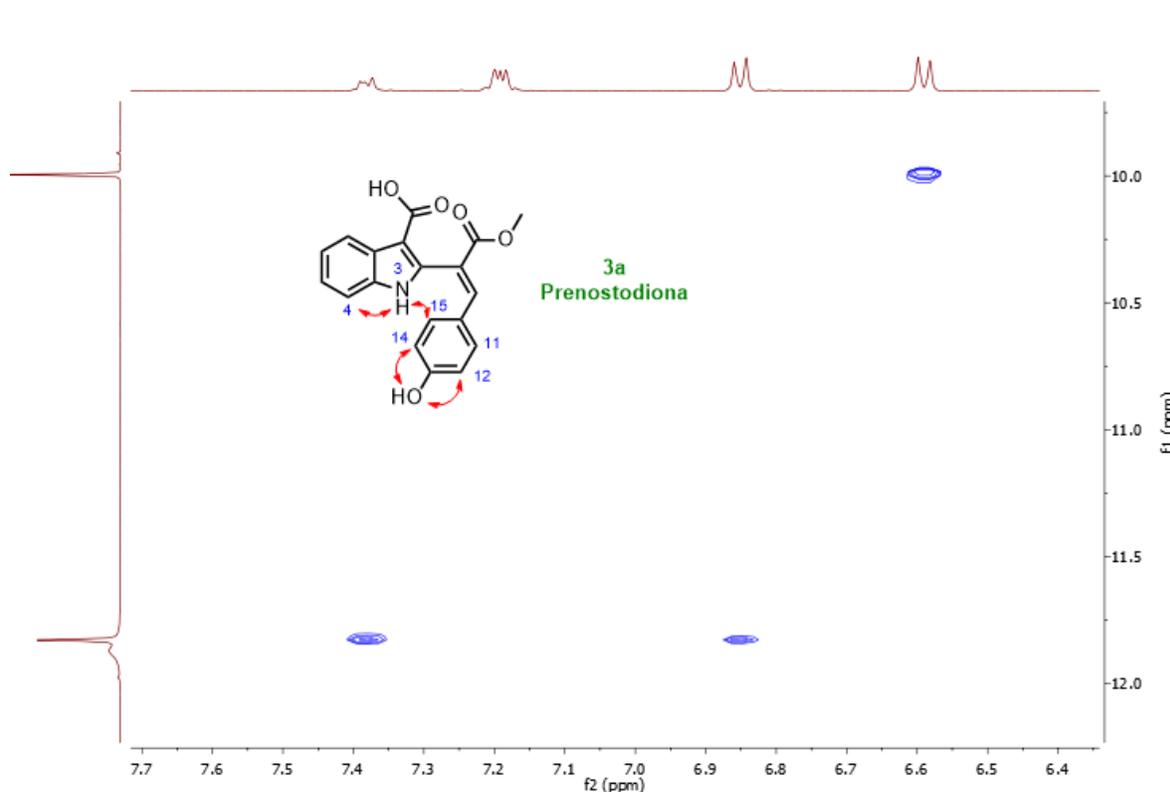


Figura 7. Ampliación del espectro NOESY.

En este punto podemos informar que nuestra síntesis representa una mayor ventaja sobre las ya descritas en cuanto al número de pasos y rendimientos. Por otra parte, la síntesis de Sampak no reporta la síntesis de su producto de partida, la cual puede ser obtenida en rendimientos del 46% lo que involucra una etapa más en su síntesis y una disminución en su rendimiento. Del mismo modo Badenock en su primera síntesis sólo consiguió llegar a la Isoprenostodiona.^{5,6,11}

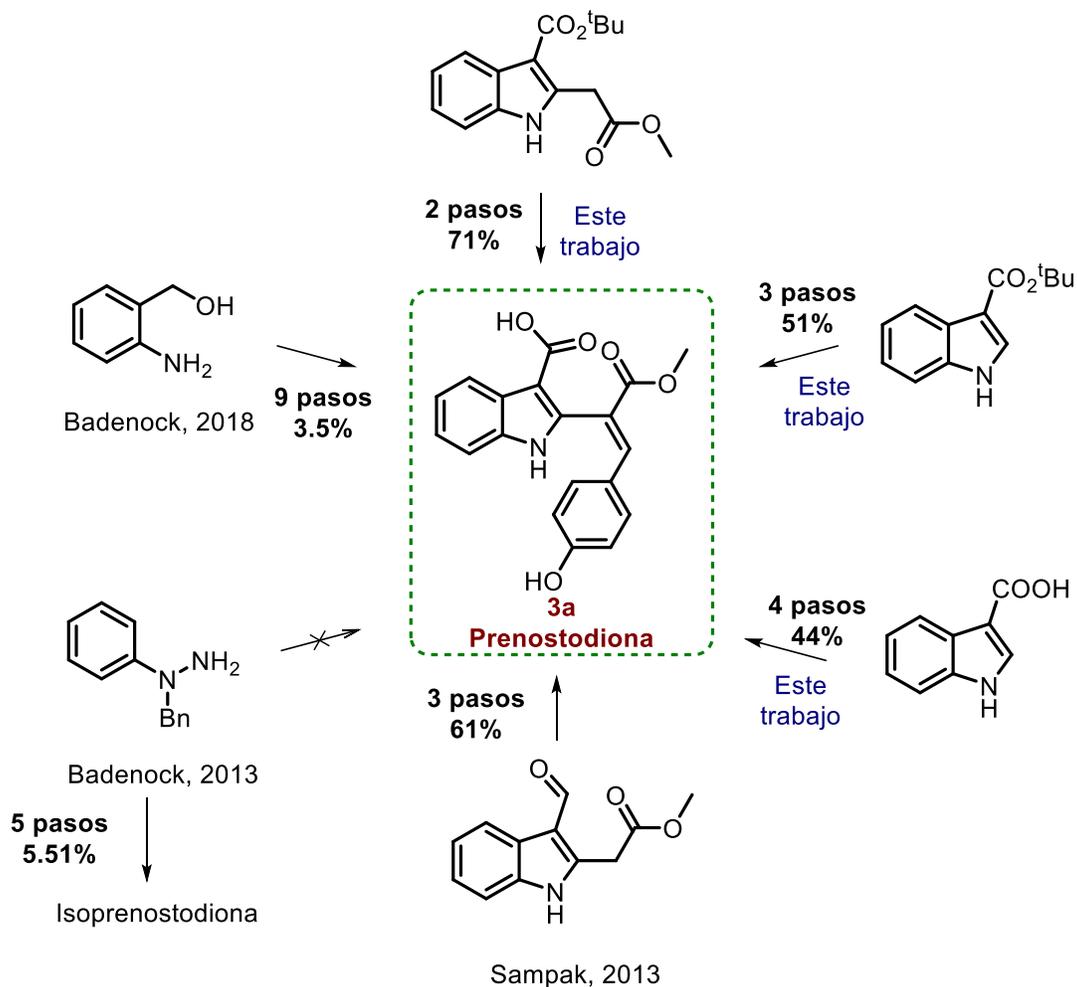


Figura 8. Comparación del número de pasos y rendimiento, de cada una de las síntesis de la Prenostodiona **3a** descritos hasta el momento.

9. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

9.1 Actividad antiproliferativa

Inhibición del crecimiento de líneas celulares neoplásicas con los compuestos **31a-k** y **3a-k**.

Las pruebas de inhibición de crecimiento celular fueron realizadas por la M. en C. Ma. Teresa Obdulia Ramírez Apan en el Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM, empleando las líneas celulares neoplásicas U251 (Glioblastoma), PC-3 (Cáncer de próstata), K562 (Leucemia), HCT-15 (Cáncer de colon), MCF-7 (Cáncer de mama), SKLU (Adenocarcinoma de pulmón). Para la

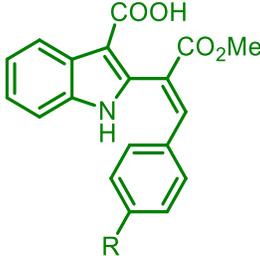
determinación del porcentaje de inhibición del crecimiento celular se empleó el método de tinción de proteínas con Sulforodamina B (SRB), a una concentración de 25 μM , la cual consideramos teóricamente como la concentración máxima para una clasificación en compuestos activos (cuando inhiben más del 50% del crecimiento celular) e inactivos (NA), inhibición menor al 50% del crecimiento celular. Como un control positivo de citotoxicidad, se utilizó 5-fluorouracilo a la misma concentración y como blanco negativo se utilizaron las mismas líneas celulares sin compuesto. La Tabla 7 muestra los porcentajes de inhibición exhibidos por los compuestos **31a-k**.

Tabla 7. Porcentaje de inhibición de crecimiento celular de los compuestos **31a-k** a una concentración de 25 μM .^a

Comp	R	% de inhibición					
		U251 (SNC)	PC-3 (próstata)	K562 (leucemia)	HTC-15 (colon)	MCF-7 (mama)	SKUL-1 (Pulmón)
31a	OH	18.9	6.5	18.6	7	NA	NA
31b	H	57.3	35.5	73.0	60.0	54.1	63.9
31c	Me	50.6	36.7	67.1	69.3	61.6	66.5
31d	OMe	62.5	79	51.7	15.6	100	93.6
31e	N(CH ₃) ₂	42.0	42.0	47.9	23.6	34	71.7
31f	Br	63.8	83.1	58.5	7.1	70.3	59.7
31g	Cl	55.9	71	67.4	48.9	53.2	68.8
31h	F	26.3	1.1	26.9	82.6	16.6	41.5
31i	NO ₂	57.7	16.3	50.2	24.7	52.2	63.5
31j	CN	72.0	65.1	NA	ND	2.6	NA
31k	CF ₃	21.8	25.3	53.4	68.4	47	54.7
Fluoracilo		24.2	65.89	62.2	57.5	51	66.4

^a25 μM . NA= sin actividad. ND= No determinado. Determinado mediante técnica de sulforodamina B.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición de crecimiento celular de la Prenostodiona **3a** y sus análogos **3b-k**, a una concentración de 25 μM .^a

							
Comp	R	% de inhibición					
		U251 (SNC)	PC-3 (próstata)	K562 (leucemia)	HTC-15 (colon)	MCF-7 (mama)	SKUL-1 (Pulmón)
3a	OH	NA	23.81	10.5	5.27	7.5	10.8
3b	H	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3c	Me	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3d	OMe	7.1	NA	NA	NA	NA	3.0
3e	N(CH ₃) ₂	7.3	21.9	32.5	ND	10.6	9.2
3f	Br	NA	NA	19.5	32.5	33	26.0
3g	Cl	NA	NA	38.6	28.9	46	25.9
3h	F	NA	NA	NA	5.1	NA	22.5
3i	NO ₂	24.0	0.4	7.6	NA	18.5	32.3
3j	CN	10.9	2.5	29.7	ND	17.2	19.5
3k	CF ₃	NA	NA	59.1	38.4	37	32.0
Fluoracilo		24.2	65.89	62.2	57.5	51	66.4

^a25 μM . NA= sin actividad. ND= No determinado. Determinado mediante técnica de sulforodamina B.

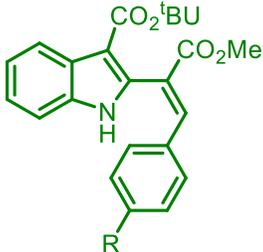
El análisis de los resultados de % de inhibición de crecimiento, tanto de los ésteres *tert*-butílicos **31a-k** como el de la Prenostodiona **3a** y sus análogos **3b-k**, reveló que estos últimos son poco activos y en algunos casos como **31b** y **31c** su actividad se vio completamente afectada al transformar el éster 3-carboxilato de *tert*-butilo al ácido carboxílico (**3b** y **3c**), en este sentido los compuestos **31h** y **31k** los cuales son precursores sintéticos de **3h** y **3k** respectivamente, disminuyeron su actividad en la línea celular HTC-15, línea en la que presentaban mayor efecto citotóxico.

La comparación entre los compuestos **3a-k** y **31a-k** muestra que la presencia del *tert*-butil éster es importante para un mejor efecto citotóxico. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, los compuestos **31b** y **31c**, presentan un porcentaje de inhibición mayor del 50% en las líneas celulares U251, K562, HTC-15, MCF-7 y SKLU-1, lo que los hace ser poco específicos al igual que el blanco positivo (5-fluoracilo), pero candidatos para determinar su concentración inhibitoria cincuenta. Los resultados del compuesto **31d** indican que es poco selectivo y muy toxico (MCF-7). Sin embargo, **31h** demuestra ser más específico para HCT-15. El compuesto **31i** tiene porcentajes de inhibición muy similares al compuesto **31b** en las líneas celulares U251 y SKLU-1 pero a diferencia de **31b**, su porcentaje de inhibición en otras líneas es menor lo que lo hace a **31i** más selectivo.

El compuesto **31k** comparado con el control positivo resulto ser más sensible para la línea celular HTC-15. Adicionalmente este compuesto muestra menor sensibilidad en las 5 líneas celulares restantes con respecto al control positivo. Por lo que la continuidad de su análisis resulta interesante.

Una vez que se analizaron los resultados anteriores, se procedió a determinar el valor de la concentración inhibitoria cincuenta (IC₅₀) para los compuestos que presentaron 50 o más por ciento de inhibición de crecimiento, a partir de una curva de %IC (respuesta) vs. concentración de cada compuesto, para cada línea celular en ensayo. De esta manera, la concentración inhibitoria cincuenta se define como la concentración del fármaco a la cual se inhibe en un 50% el crecimiento celular. En el caso ideal se busca un compuesto que posea selectividad por una línea celular y con un valor pequeño de IC₅₀. El rango de concentraciones para esta determinación fue de 50, 25, 12.5 y 6.25 µM. En la Tabla 9 se comparan los valores de los medicamentos utilizados para el tratamiento del cáncer⁷⁰⁻⁷⁵ vs los valores de IC₅₀ exhibidos por los compuestos seleccionados anteriormente (**31b**, **31c**, **31i** y **31k**). Los resultados del compuesto **31h** no encuentran reportados debido a que está en evaluación.

Tabla 9. IC₅₀ de los compuestos **31b, c, i, k.**

						
Compuesto	R	U251 (SNC)	PC-3 (próstata)	K562 (leucemia)	HCT-15 (colon)	SKLU-1 (pulmón)
31b	H	16.3±0.5	24.3±1.4	10.5±2.8	24.0±3.0	18.7±1.8
31c	Me	18.56±1.1	24.9±1.5	34.5±3.8	33.88±2.7	14.4±2.4
31i	NO₂	24.9±0.8	ND	ND	ND	14.8±2.1
31k	CF₃	ND	ND	ND	25.2±2.7	16.92±0.3
Topotecan					0.05±0.05	2.0±0.1
Irinotecan					33.09±3.4	34.62±2.3
Etoposido		1.7±0.3		11.3±2.5		4.1±0.6
Cisplatino		3.3±0.06	8.3±0.7			

ND= No determinado debido a que presentan porcentajes de inhibición menor al 50%. Los resultados muestran la concentración que produce una inhibición del crecimiento celular del 50%, este parámetro se midió usando la técnica de sulforodamina B utilizando rangos de concentración de 50, 25, 12.5 y 6.25 µM para todos los compuestos.

Como se muestra en la Tabla 9, los compuestos con mejor actividad son: el compuesto **31b** el cual demuestra ser más activo en las líneas celulares K562, HTC-15 y SKLU-1 que los medicamentos de referencia (Etoposio e Irinotecan) lo que le proporciona poca especificidad y el compuesto **31k** que resulto ser mejor que Irinotecan en las dos líneas celulares en las que actúa.

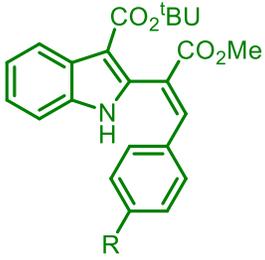
9.2 Actividad antituberculosis

Actividad antituberculosis

La actividad antituberculosis de los precursores **31a-k** como de la Prenostodiona y sus análogos **3a-k**, fueron evaluadas por las Dras. Mayra Silva Miranda, E. Segura Salina y Clara I. Espitia Pinzón en el Laboratorio de Alta Seguridad BSL-3 del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. La determinación de la

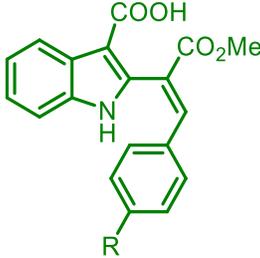
concentración mínima inhibitoria (MIC) de cada compuesto se valoró a una concentración de 500 µg/mL, empleando el ensayo en placa con Resazurina (REMA) que permite identificar compuestos líderes, los cuales deben presentar una MIC ≤ 10 µg/mL. Del mismo modo, se determinó la concentración mínima inhibitoria 50 (IC₅₀) por medio del ensayo basado en el colorante tetrazolio (MTT) en células Vero; y se calculó el índice de selectividad (SI) de los compuestos, considerando selectivos aquéllos que presenten un SI > 10. La referencia en los ensayos antes mencionados es la Rifampicina.

Tabla 10. Actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv de los compuestos **31a-k**.

				
compuesto	R	MIC (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	SI
31a	OH	250	373	1.492
31b	H	>500	50.7	ND
31c	Me	>500	280	ND
31d	OMe	>500	356	ND
31e	N(CH ₃) ₂	>500	330	ND
31d	Br	>500	20.8	ND
31g	Cl	500	Menor a 50	ND
31h	F	500	PD	ND
31i	NO ₂	500	PD	ND
31j	CN	125	107	0.856
31k	CF ₃	500	MENOR A 50	ND
Rifampicina		0.06	>1000	>16,666

ND= No determinado. PD= pendiente (en evaluación)

Tabla 11. Actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv de los compuestos **3a-k**.

				
Compuesto	R	MIC (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)	SI
3a	OH	125	33.3	0.2664
3b	H	250	643	2.572
3c	Me	500	245	0.49
3d	OMe	500	379	0.758
3e	N(CH₃)₂	>500	307	ND
3d	Br	250	211	0.844
3g	Cl	500	237	0.474
3h	F	500	PD	ND
3i	NO₂	500	PD	ND
3j	CN	250	379	1.516
3k	CF₃	250	136	0.544
Rifampicina		0.06	>1000	>16,666

ND= No determinado. PD= pendiente (en evaluación)

Las características ideales para un compuesto con actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* es aquel que presenta una MIC ≤ 10 µg/mL (líder) una IC₅₀ >500 µg/mL y un SI > 10, con base en estas características podemos concluir que nuestros compuestos no presentan actividad importante contra *M. tuberculosis*.

Los valores no determinados para el SI son debido a que la MIC rebasa la concentración máxima valorada en el ensayo, por lo que no se tiene una concentración específica con la cual calcular el IS.

10. CONCLUSIONES

Se desarrolló una ruta nueva y eficiente de síntesis estereo y regioselectiva de la Prenostodiona **3a** y sus análogos **3b-k**, en 4 pasos de reacción usando materias primas asequibles, con un rendimiento global para **3a** del 44% y del 30-47% para los análogos **3b-k** y comparado con los reportes informados previamente resulta ser mejor en cuanto al número de pasos, rendimiento y tiempos de reacción.

Las condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de la Prenostodiona son compatibles con la presencia de varios grupos funcionales, y la protección y desprotección del NH del indol y el OH del benzaldehído no es necesaria.

La evaluación de la actividad antiproliferativa de los compuestos **31a-k** y **3a-k** sobre las líneas celulares estudiadas mostraron que la mayoría son activos, sin embargo, unos necesitan de altas concentraciones lo que los hace poco específicos. El compuesto **31b** comparado con el medicamento de referencia tienen mejor actividad contra las líneas celulares **K562** (Leucemia), **HTC-15** (Colon), **SKLU** (Pulmón); mientras que **31k** comparado con Irinotecan en **HTC-15** (Colon) y **SKLU** (Pulmón) resultó ser mejor, aunque para ambos casos es poco específico.

La evaluación de la actividad antituberculosa de los compuestos **31a-k** y **3a-k** contra *M. tuberculosis* H37Rv indicó que son inactivos.

11. SECCIÓN EXPERIMENTAL

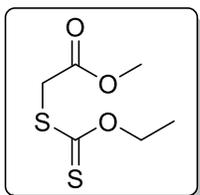
Todos los puntos de fusión fueron determinados en capilares abiertos empleando un aparato Mel-Temp II. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H) fueron adquiridos con los espectrómetros Eclipse 300 MHz Jeol y Fourier 300 MHz Bruker usando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO}-d_6$); los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C) se adquirieron a 75 MHz en los mismos aparatos. Los desplazamientos químicos (δ) se informan en partes por millón (ppm). Las formas de los picos se indican de la siguiente manera: s, singulete; d, doblete; dd, doble de dobles; t, triplete; q, cuarteto; m, multiplete; sa, señal ancha. Los valores de la constante de acoplamiento (J) se expresan en hercios (Hz).

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron obtenidos en un espectrómetro FTIR Tensor 27 Bruker, empleando pastilla de KBr o película. Por otra parte, los espectros de masas se obtuvieron en el equipo JEOL SX 102 A, utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico (70 eV, modo positivo). El seguimiento de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (ccf), y para su visualización se usó una lámpara de luz UV (SPECTROLINE MODEL ENF-260C) a longitudes de onda de 254 y 365 nm. La purificación de las mezclas de reacción se realizó por cromatografía en columna (CC), utilizando como fase estacionaria gel de sílice 60 Mesh (230-400 mallas ASTM) y como fase móvil mezclas de hexano/acetato de etilo, con aumento gradual de la polaridad. Los reactivos empleados fueron adquiridos de las compañías comerciales Merck y Sigma Aldrich. Los disolventes fueron destilados bajo atmósfera de nitrógeno, empleando los desecantes apropiados: hidruro de calcio (acetonitrilo, dicloroetano) y benzofenona-sodio (tolueno).

Síntesis del 2-((etoxicarbonotioil)tio)acetato de metilo (**33**)

A un matraz de fondo redondo de 100 mL, provisto de un agitador magnético, se le agregaron 3000 mg (27.64 mmol) de cloroacetato de metilo (**35**) y 48 mL de acetonitrilo. La disolución se enfrió a 0°C , y posteriormente se le añadieron 5080 mg (30.40 mmol) de la sal de potasio del ditiocarbonato de *O*-etilo. La mezcla de

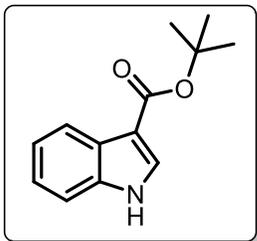
reacción se dejó en agitación por una hora, después de la cual el disolvente se eliminó a presión reducida. Al residuo orgánico se le adicionó agua destilada y se le extrajo con CH₂Cl₂ (3 X 50 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente fue removido en el rotavapor, para obtener el xantato **33**, como un aceite amarillo con un rendimiento del 98% (5024 mg).¹⁸



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) 4.63 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 1.41 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H).

Síntesis del *tert*-butil 1*H*-indol-3-carboxilato (**34**)

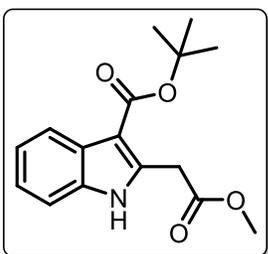
A un matraz de fondo redondo de 100 mL, provisto de un agitador magnético, se le agregaron 2330 mg (14.45 mmol) de ácido 1*H*-indol-3-carboxílico (**36**) y 25 mL de tolueno anhidro. La suspensión obtenida se agitó y se le adicionaron 26 mL (exceso 361.25 mmol) de cloruro de tionilo con ayuda de un embudo de adición, durante 10 min. La mezcla de reacción se dejó en agitación y se reflujo por 4h, y después se dejó sin calentamiento hasta alcanzar la temperatura ambiente. A continuación, se conectó un equipo de destilación para remover la mayor cantidad de cloruro de tionilo y tolueno. La eliminación completa de ambos se logró utilizando un rotavapor. El crudo de reacción fue un sólido color rojo, que se disolvió en 25 mL de *tert*-butanol, la solución se enfrió a 0°C, y enseguida se adicionaron 4050 mg (36.21 mmol) de *tert*-butóxido de potasio en tres porciones. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 10 min a 0°C y después, una hora a temperatura ambiente. Por último, el disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo de reacción se trató con una solución saturada de carbonato de potasio y diclorometano. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y el disolvente fue evaporado a presión reducida para así obtener 2642 mg (85%) del indol **34** como un aceite amarillo.



RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.03 (sa, 1H), 8.18 (d, *J*= 8.6 Hz, 1H), 7.84 (d, *J*=3.0 Hz, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.27 (m, 1H), 7.24 (m, 1H), 1.66 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 165.3, 136.3, 131.2, 125.8, 123.0, 121.9, 121.5, 111.7, 110.5, 80.3, 28.7.

Síntesis del *tert*-butil-2-(2-metoxi-2-oxoetil)-1*H*-indol-3-carboxilato (**32**)

A un matraz balón de dos bocas, provisto de un agitador magnético, se le agregaron 750 mg (3.45 mmol) del indol **34** y 804 mg (4.14 mmol) del xantato **33** en 10 mL de dicloroetano. La disolución fue agitada y desoxigenada, burbujeando N₂ durante 30 minutos con una cánula. Enseguida, la mezcla se calentó a 90°C y se le adicionaron 2476 mg (6.21 mmol) de DLP en porciones de 412 mg (1.03 mmol/h) en un periodo de 6h, después de lo cual se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se disolvió en acetonitrilo y se lavó con hexano hasta eliminar la capa oleosa formada. Después de eliminar el acetonitrilo, se purificó por cromatografía en columna (sílica gel malla 230-400), y hexano/acetato de etilo 90:10 v/v como eluyente, obteniendo 718 mg (72%) del compuesto **32**, como un sólido de color amarillo, de punto de fusión 98-100°C.

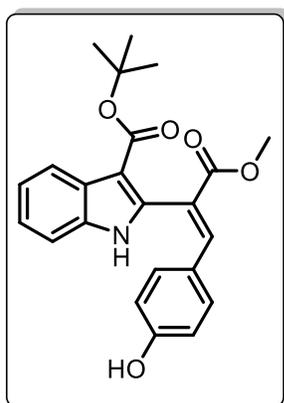


RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.66 (sa, 1H), 8.10 (dd, *J*= 6.0, 3.0 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J*= 6.0, 3.0 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J*= 6.0, 3.0 Hz, 2H), 4.38 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 1.66 (s, 9H) **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 171.6, 165.2, 138.1, 134.8, 126.6, 122.8, 121.8, 121.6, 111.2, 106.7, 80.3, 52.5, 32.2, 28.7. **IR (KBr):** 3270 (NH), 1737 (arC=O), 1654 (C=O, alifático) cm⁻¹ **EM (IE, 70eV):** *m/z* (%) 289 [M⁺] (58), 73 (100). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₁₆H₁₉N₁O₄ + H]: 290.1392; encontrada: 290.1393.

Procedimiento general para la síntesis de los acrilatos de metilo **31a-31k**

A un matraz de fondo redondo de 25 mL, equipado con un refrigerante, una trampa de Dean-Stark, y agitador magnético, se le agregó 1 eq del indol **32**, 1.2 eq del

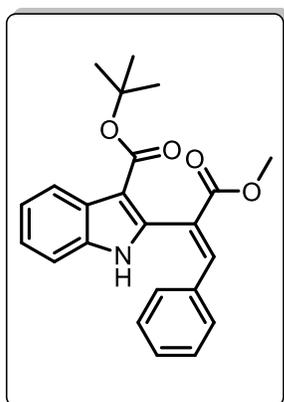
aldehído correspondiente (**17a-17k**), 12 mL de tolueno anhidro, y piperidina y ácido acético como catalizadores (dos gotas de cada uno). A continuación, la mezcla de reacción se calentó a reflujo de 2 a 24h, dependiendo del aldehído utilizado. Una vez que la reacción termina se le dejó enfriar a temperatura ambiente, y el disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de sílica gel, utilizando como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo, para obtener el acrilato correspondiente.



(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-hidroxifenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31a**)

50 mg del indol **32** (0.17281 mmol) y 25 mg de 4-hidroxibenzaldehído **17a** (0.20737 mmol), dieron 62 mg de **31a** (91%), sólido amarillo de p.f. 172-174°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.62 (sa, 1H), 8.19 (d, *J*= 7.5 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.21 (m, 3H), 7.04 (sa, 1H), 6.75 (d, *J*= 8.6 Hz, 2H), 6.50 (d, *J*= 8.6 Hz, 2H), 3.66 (s, 3H), 1.48 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 167.8, 164.9, 158.1, 143.4, 137.9, 135.4, 132.4, 127.1, 125.7, 123.9, 122.0, 121.8, 120.7, 116.0, 111.6, 108.5, 80.7, 52.4, 28.5. **IR (KBr)** 3284 (NH), 1689 (arC=O), 1661 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 393 [M⁺] (4), 337 (100) 304 (96), 291 (35), 260 (37), 233 (30), 204 (15), 137 (19), 69 (31), 57 (35), 41 (22). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₃H₂₃N₁O₅]: 393.1576; encontrada: 393.1561.

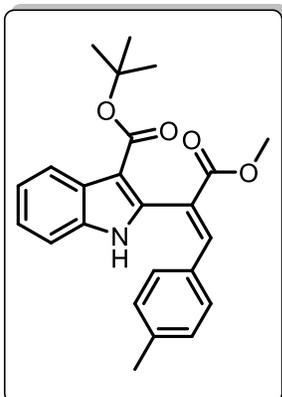


(*E*)-3-*tert*-butil-2-(1-fenil-3-metoxi-3-oxo-prop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31b**)

60 mg del indol **32** (0.20737 mmol) y 26 mg de benzaldehído **17b** (0.24885 mmol), dieron 72 mg de **31b** (92%), sólido amarillo de p. f. 60-62°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.45 (sa, 1H), 8.24 (d, *J*= 8.6 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.24 (m, 4H), 7.16 (dd, 7.4 Hz, 2H), 7.03 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 1.51 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm)

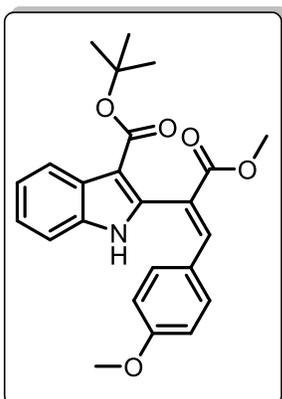
167.2, 164.3, 143.0, 137.2, 135.4, 133.7, 130.3, 130.0, 128.8, 127.1, 124.3, 123.3, 122.0, 121.9, 111.5, 109.0, 80.4, 52.5, 28.4. **IR (película)** 3299 (NH), 1690 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1665 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV): m/z (%)** 337 [M^+] (5), 321 (100), 304 (17), 288 (17), 288 (90), 275 (88), 244 (75), 221 (22), 217 (55), 161 (22), 69 (17), 41 (17). **EM AR (IE⁺):** calculada para $[\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_4]$: 377.1627; encontrada: 377.1640.



(*E*)-*tert*-butil-2-(3-metoxi-3-oxo-1-(*p*-tolil)prop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31c**).

50 mg del indol **32** (0.17281 mmol) y 24 mg de 4-metilbenzaldehído **17c** (0.20737 mmol) dieron 61 mg de **31c** (90%), sólido amarillo de p. f. 86-88°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl_3) δ (ppm) 8.27 (m, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.27 (m, 3H), 7.00 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.53 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 167.3, 164.3, 143.1, 140.6, 137.4, 135.3, 130.9, 130.4, 129.6, 127.2, 123.3, 122.0, 121.9, 111.4, 109.0, 80.3, 52.5, 28.5, 21.5. **IR (KBr)** 3293 (NH), 1690 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1663 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV): m/z (%)** 391 [M^+] (5), 335 (100), 318 (20), 302 (85), 275 (15), 258 (80), 231 (42), 230 (40), 69 (15), 57 (22), 41 (20). **EM AR (IE⁺):** calculada para $[\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_1\text{O}_4]$: 391.1784; encontrada: 391.1794.

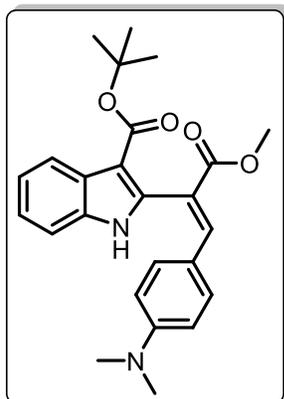


(*E*)-*tert*-butil-2-(3-metoxi-1-(4-metoxifenil)-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31d**).

70 mg del indol **32** (0.24193 mmol) y 39 mg de 4-metoxibenzaldehído **17d** (0.29032 mmol) dieron 88 mg de **31d** (89%), sólido amarillo claro de p.f. 146-148°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl_3) δ (ppm) 8.33 (sa, 1H), 8.26 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.29 (m, 2H), 7.25 (m, 1H), 6.96 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.67 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 1.51 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 167.4, 164.3, 161.0, 142.8, 137.6, 135.3, 132.3, 127.3, 126.3, 123.2, 121.9, 121.6, 114.3, 111.4, 108.9, 80.2, 55.3, 52.35, 28.4. **IR (KBr)**

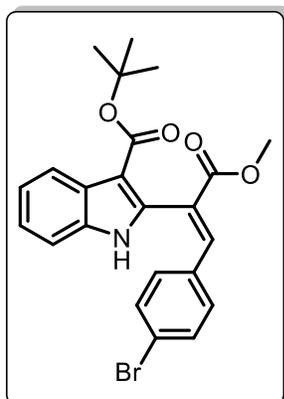
3258 (NH), 1710 (ν C=O), 1655 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV):** m/z (%) 407 [M^+] (5), 351 (100), 318 (82), 305 (50), 274 (52), 247 (25), 204 (40), 151 (40), 57 (45), 41 (30). **EM AR (IE⁺):** calculada para [$\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{NO}_5 + \text{H}$]: 408.1811; encontrada: 408.1828.



(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-(dimetilamino)fenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31e**)

60 mg del indol **32** (0.20737 mmol) y 37 mg de 4-(dimetilamino)benzaldehído **17e** (0.24885 mmol) dieron 81 mg de **31e** (93%), sólido amarillo de p. f. 112-114°C.

RMN ¹H (300MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.28 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 8.24 (sa, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.30 (m, 2H), 7.24 (m, 1H), 6.89 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 6.46 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.91 (s, 6H), 1.50 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 164.5, 151.2, 143.7, 138.5, 135.3, 132.4, 127.6, 123.0, 122.0, 121.8, 118.4, 112.0, 111.4, 80.1, 52.2, 40.2, 28.5. **IR (KBr)** 3277 (NH), 1685 (C=O) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV):** m/z (%) 420 [M^+] (5), 364 (100), 347 (10), 319 (20), 288 (25), 287 (22), 204 (10), 57 (25), 41 (22). **EM AR (IE⁺):** calculada para [$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4 + \text{H}$]: 421.2127; encontrada: 421.2128.

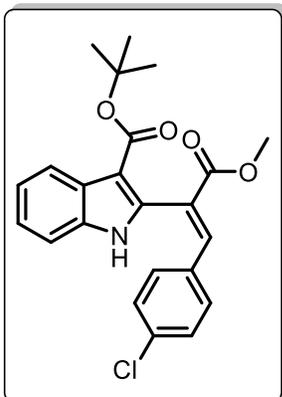


(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-bromofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31f**).

60 mg del indol **32** (0.20737 mmol) y 46 mg de 4-bromobenzaldehído **17f** (0.24885 mmol) dieron 70 mg de **31f** (74%), sólido amarillo de p. f. 84-86°C.

RMN ¹H (300MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8.23 (m, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.29 (m, 5H), 6.89 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 1.52 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166.9, 164.2, 141.5, 136.6, 135.4, 132.6, 132.1, 131.6, 127.0, 125.0, 124.4, 123.5, 122.1, 121.9, 111.4, 109.2, 80.5, 52.6, 28.4. **IR (KBr)** 3301 (NH), 1688 (ν C=O), 1662 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV):** m/z (%) 399 (100), 366 (50), 354 (40), 320 (37), 275 (40), 214 (75), 57

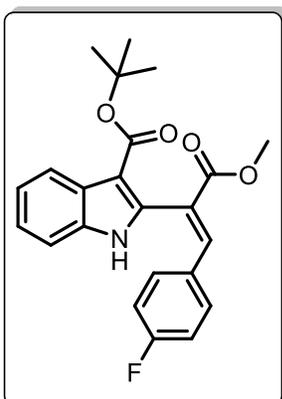
(38), 41 (25). **EM AR (IE⁺)**: calculada para [C₂₃H₂₂Br₁N₁O₄]: 455.0732; encontrada: 455.0725.



(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-clorofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31g**).

50 mg del indol **32** (0.17281 mmol) y 29 mg de 4-clorobenzaldehído **17g** (0.20737 mmol) dieron 53 mg de **31g** (74%), sólido amarillo de p. f. 238-240°C.

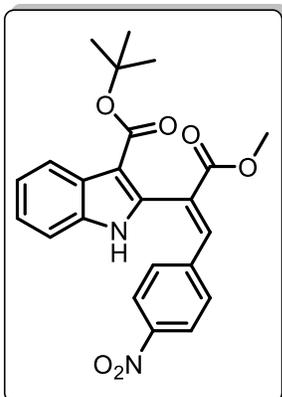
RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.47 (sa, 1H), 8.21 (d, *J*= 7.7 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.24 (m, 3H), 7.12 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 6.93 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 1.50 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 167.0, 164.9, 141.5, 136.7, 136.0, 135.4, 132.2, 131.4, 129.1, 127.0, 124.9, 123.5, 122.1, 121.9, 111.5, 109.2, 80.3, 52.5, 28.3. **IR (KBr)** 3292 (NH), 1691 (arC=O), 1664 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 355 (40), 322 (20), 298 (70), 282 (40), 252 (60), 217 (100), 186 (65), 161 (62), 131 (60), 60 (65), 43 (90). **EM AR (IE⁺)**: calculada para [C₂₃H₂₂Cl₁N₁O₄]: 411.1237; encontrada: 411.1244.



(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-fluorofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31h**).

50 mg del indol **32** (0.17281 mmol) y 25 mg de 4-fluorobenzaldehído **17h** (0.20737 mmol) dieron 59 mg de **31h** (73%), sólido amarillo con p. f. de 168-170°C.

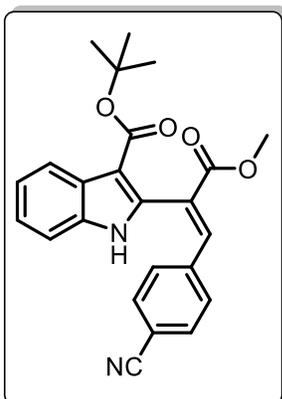
RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.32 (sa, 1H), 8.23 (m, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.28 (m, 3H), 7.02 (m, 2H), 6.86 (m, 2H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 167.1, 165.1, 164.2, 141.8, 136.8, 135.4, 132.3, 130.0, 127.1, 123.9, 123.5, 122.1, 116.2, 115.9, 111.4, 109.2, 80.5, 52.6, 28.5. **IR (KBr)** 3292 (NH), 1690 (arC=O), 1663 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 395 [M⁺] (5), 339 (100), 306 (70), 293 (37), 262 (35), 235 (30), 139 (10), 57 (10), 41 (5). **EM AR (IE⁺)**: calculada para [C₂₃H₂₂F₁N₁O₄]: 395.1533; encontrada: 395.1538.



(*E*)-*tert*-butil-2-(3-metoxi-1-(4-nitrofenil)-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-3-carboxilato (**31i**).

80 mg del indol **32** (0.27650 mmol) y 50 mg de 4-nitrobenzaldehído **17i** (0.33180 mmol) dieron 70 mg de **31i** (60%), sólido café de p. f. 68-70°C.

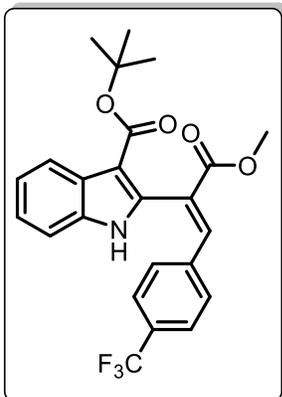
RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.20 (m, 2H), 8.02 (d, *J*= 8.9 Hz, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.29 (m, 3H), 7.21 (d, *J*= 8.9 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.54 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 166.4, 164.1, 147.8, 140.2, 139.8, 135.7, 135.5, 130.7, 128.2, 126.8, 123.9, 122.4, 122.1, 111.5, 109.8, 80.7, 52.7, 28.4. **IR (KBr)** 3273 (NH), 1718 (arC=O), 1686 (C=O, éster α,β-insaturado), 1518 (arNO₂) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 366 (100), 333 (35), 320 (35), 289 (22), 214 (32), 204 (15), 57 (25). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₃H₂₂N₂O₆]: 422.1478; encontrada: 422.1457.



(*E*)-*tert*-butil-2-(1-(4-cianofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato(**31j**).

70 mg del indol **32** (0.24193 mmol) y 38 mg de 4-formilbenzonitrilo **17j** (0.29032 mmol) dieron 63 mg de **31j** (65%), sólido amarillo de p. f. de 96-98°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.37 (sa, 1H), 8.20 (d, *J*= 7.4 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.43 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H), 7.27 (m, 3H), 7.12 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 1.52 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 166.5, 164.1, 140.3, 138.3, 135.9, 135.5, 132.4, 130.4, 127.7, 126.8, 123.8, 122.4, 122.1, 118.3, 112.9, 111.5, 109.7, 80.7, 52.8, 28.5. **IR (KBr)** 3282 (NH), 2227 (arCN), 1690 (arC=O), 1663 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 402 [M⁺] (2), 346 (100), 329 (40), 313 (98), 300 (88), 286 (25), 269 (80), 257 (25), 242 (70), 229 (32), 214 (40), 69 (32), 57 (62), 41 (39). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₄H₂₂N₂O₄+H]: 403.1657; encontrada: 403.1663.



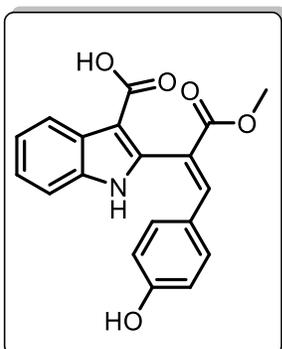
(*E*)-*tert*-butil-2-(3-metoxi-3-oxo-(1-(4-trifluorometil)-fenil)-prop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxilato (**31k**).

50 mg del indol **32** (0.17281 mmol) y 36 mg de 4-(trifluorometil)benzaldehído **17k** (0.20737 mmol) dieron 57 mg de **31k** (74%), sólido amarillo de p. f. de 48-50°C.

RMN ¹H (300MHz. CDCl₃) δ (ppm) 8.32 (sa, 1H), 8.22 (d, *J*= 8.3 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.42 (d, *J*= 8.3 Hz, 2H), 7.27 (m, 3H), 7.14 (d, *J*= 8.3 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 1.52 (s, 9H). **RMN ¹³C** (75MHz, CDCl₃) δ (ppm) 166.7, 164.1, 141.0, 137.2, 136.2, 135.4, 130.3, 127.2, 126.9, 126.7, 125.7, 123.6, 122.2, 122.0, 111.5, 109.5, 80.6, 52.7, 28.4. **IR (KBr)** 3292 (NH), 1693 (arC=O), 1664 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 389 (100), 372 (32), 356 (80), 329 (15), 312 (60), 285 (42), 215 (40), 73 (40), 57 (49), 41 (35). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₄H₂₂F₃N₁O₄] 445.1501; encontrada: 445.1515.

Procedimiento general para síntesis de los ácidos **3a-3k**

A un matraz balón de 5 mL, provisto de un agitador magnético, se le agregaron 50 mg del indol **31a-k** y 2 mL de diclorometano. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y después se le adicionaron 0.5 mL de ácido trifluoroacético se mantuvo en agitación por 30 minutos, y posteriormente se dejó a temperatura ambiente por 1 hora. El disolvente se eliminó a presión reducida usando un rotavapor y el crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna, utilizando mezclas de hexano-acetato de etilo como eluyente.

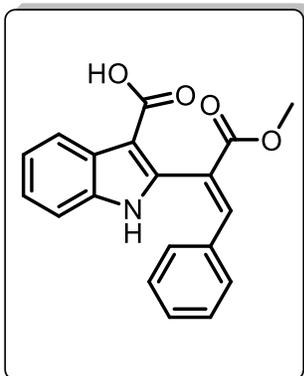


Ácido (*E*)-2-(1-(4-hidroxifenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3a**).

50 mg del diéster **31a** (0.12708 mmol) dieron 34 mg de **3a** (79%), sólido rojo de p. f. 170-172°C.

RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.84 (sa, 2H), 10.00 (s, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.85 (d, *J*= 8.3 Hz, 2H), 6.59 (d, *J*= 8.3 Hz, 2H), 3.64 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.6, 165.6, 159.3, 142.0, 139.1, 135.6, 132.1, 126.9, 124.6,

122.3, 121.0, 121.0, 120.2, 115.5, 111.8, 105.6, 51.9. **IR (KBr)** 3277 (NH), 2951 (COO-H), 1670 ($\nu_{\text{arC=O}}$), 1656 (C=O) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV): m/z (%)** 337 [M^+] (32), 293 (100), 260 (30), 233 (100), 204 (50), 137 (40), 44 (29). **EM AR (IE⁺):** calculada para [$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_1\text{O}_5$]: 337.0950; encontrada: 337.0937.

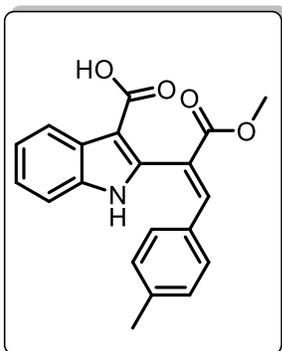


Ácido (*E*)-2-(1-fenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3b**).

50 mg del diéster **31b** (0.13247 mmol) dieron 34 mg de **3b** (80%), sólido rojo de p. f. 116-118°C.

RMN ¹H (300MHz. DMSO- d_6) δ (ppm) 12.00 (sa, 1H), 11.89 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.22 (m, 5H), 7.04 (d, $J= 8.06$ Hz, 2H), 3.68 (s, 3H). **RMN ¹³C**

(75MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 166.8, 166.2, 142.2, 138.9, 136.1, 134.1, 130.4, 129.1, 127.2, 124.7, 122.9, 121.6, 121.5, 112.4, 106.4, 52.6. **IR (KBr)** 3280 (NH), 2951 (COO-H), 1695 ($\nu_{\text{arC=O}}$), 1652 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV): m/z (%)** 321 [M^+] (60), 288 (70), 275 (50), 244 (50), 217 (100), 161 (32), 69 (38), 45 (30), 18 (40). **EM AR (IE⁺):** calculada para [$\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_1\text{O}_4$]: 321.1001; encontrada: 321.0989.

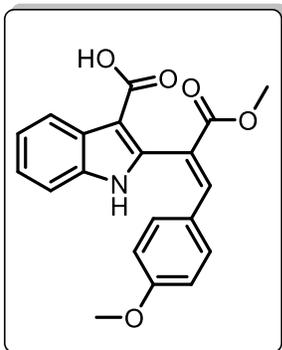


Ácido (*E*)-2-(1-(4-metilfenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3c**).

50 mg del diéster **31c** (0.12772 mmol) dieron 34 mg de **3c** (79%), sólido amarillo de p. f. 124-126°C.

RMN ¹H (300MHz. DMSO- d_6) δ (ppm) 11.95 (sa, 1H), 11.85 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.37 (m, 1H), 7.19 (m, 1H),

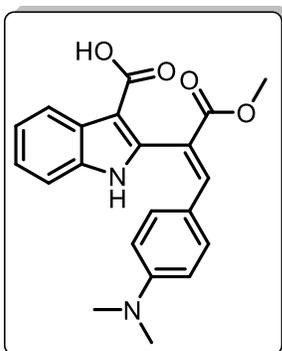
7.04 (d, $J= 8.0$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J= 8.0$ Hz, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.20 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 166.5, 165.7, 141.9, 140.0, 138.7, 135.6, 130.9, 130.0, 129.3, 126.8, 123.2, 122.4, 121.1, 121.0, 112.0, 105.9, 52.1, 20.8. **IR (KBr)** 3281 (NH), 2950 (COO-H), 1697 ($\nu_{\text{arC=O}}$), 1655 (C=O, éster α,β -insaturado) cm^{-1} . **EM (IE, 70eV): m/z (%)** 335 [M^+] (100), 302 (98), 289 (60), 258 (65), 231 (60), 135 (22), 43 (20). **EM AR (IE⁺):** calculada para [$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_1\text{O}_4$]: 335.1158; encontrada 335.1151.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-metoxifenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3d**).

60 mg del diéster **31d** (0.14725 mmol) dieron 45 mg de **3d** (87%), sólido rojo de p. f. 98-100°C.

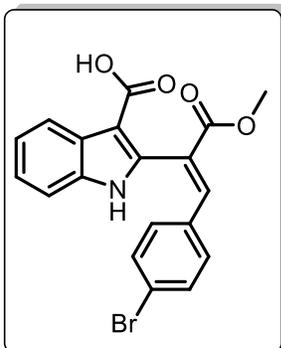
RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.88 (s, 2H), 8.05 (m, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 6.98 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H), 6.80 (d, *J*=8.4 Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.66 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 167.2, 166.2, 161.2, 142.3, 139.5, 136.2, 132.5, 127.5, 126.7, 122.9, 121.9, 121.7, 121.6, 114.8, 112.5, 106.3, 55.8, 52.6. **IR (KBr)** 3285 (NH), 2952 (COO-H), 1695 (arC=O), 1653 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 351[M⁺] (100), 318 (70), 307 (30), 274 (32), 204 (30), 151 (25), 43 (48). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₀H₁₇N₁O₅]: 351.1107; encontrada 351.1117.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-dimetilaminofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3e**).

60 mg del diéster **31e** (0.14268 mmol) dieron 41 mg de **3e** (79%), sólido café de p. f. 230°C.

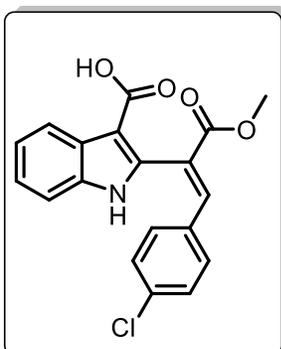
RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.82 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.39 (m, 1H), 7.18 (m, 2H), 6.82 (d, *J*= 8.9 Hz, 2H), 6.50 (d, *J*= 8.9 Hz, 2H), 3.62 (s, 3H), 2.86 (s, 6H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.9, 165.7, 151.2, 142.7, 139.8, 135.6, 131.9, 127.1, 122.2, 121.0, 120.9, 120.7, 117.5, 111.9, 111.5, 105.3, 51.7. **IR (KBr)** 3280 (NH), 2918 (COO-H), 1735 (arC=O), 1648 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 364 [M⁺] (100), 332 (25), 319 (29), 288 (55), 260 (25), 164 (20). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₁H₂₀N₂O₄]: 364.1423; encontrada: 364.1435.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-bromofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3f**).

50 mg del diéster **31f** (0.10956 mmol) dieron 39 mg de **3f** (89%), sólido rojo de p. f. 158-160 °C.

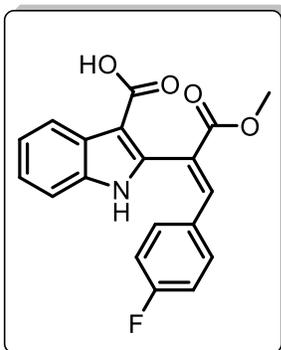
RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.03 (sa, 1H), 11.87 (s,1H), 8.04 (m, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.45 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 7.38 (m, 1H), 7.20 (m, 2H), 6.98 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H) 3.68 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.3, 165.6, 140.5, 137.9, 135.7, 133.0, 131.7, 126.7, 125.0, 123.4, 122.6, 121.2, 121.1, 112.0, 106.2, 52.2. **IR (KBr)** 3285 (NH), 2950 (COO-H), 1700 (arC=O), 1655 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 399 [M⁺] (60),368 (62), 355 (50), 322 (30), 295 (15), 215 (50), 183 (30), 43 (100). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₁₉H₁₄Br₁N₁O₄]: 399.0106; encontrada: 399.0103.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-clorofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3g**).

40 mg del diéster **31g** (0.09711 mmol) dieron 30 mg de **3g** (87%), sólido rojo de p. f. 78-80°C.

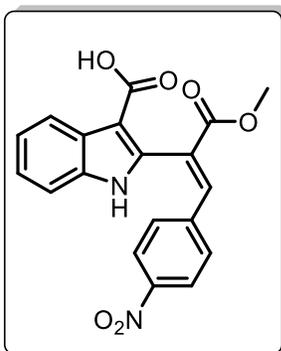
RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.86 (s, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.32 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 7.20 (m, 1H), 7.05 (d, *J*= 8.5 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.8, 166.2, 141.0, 138.5, 136.2, 135.0, 133.3, 132.0, 129.3, 127.3, 125.5, 123.1, 121.8, 121.6, 112.6, 106.7, 52.8. **IR (KBr)** 3293 (NH), 2952 (COO-H), 2851 (CH₃O),1701 (arC=O), 1655 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 335 [M⁺] (90), 311 (95), 278 (50), 251 (65), 216 (100), 115 (22), 58 (100). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₁₉H₁₄Cl₁N₁O₄]: 355.0611; encontrada: 355.0603.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-fluorofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3h**).

50 mg del diéster **31h** (0.12653 mmol) dieron 30 mg de **3h** (70%), sólido café con p. f. 160-162°C.

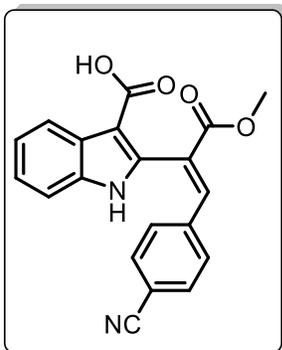
RMN ¹H (300MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.88 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.19 (m, 2H), 7.10 (d, *J*=7.2 Hz, 5H), 3.67 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.9, 166.2, 164.8, 141.2, 138.7, 136.2, 132.8, 130.9, 127.3, 124.5, 123.1, 121.7, 116.5, 116.2, 112.6, 106.6, 52.7. **IR (KBr)** 3286 (NH), 2955 (COO-H), 1731 (*ar*C=O), 1698 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 339 [M⁺] (100), 320 (15), 306 (95), 293 (30), 262 (35), 235 (42), 139 (20), 43 (60). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₁₉H₁₄F₁N₁O₄]: 339.0907; encontrada: 339.0895.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-nitrofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3i**).

50 mg del diéster **31i** (0.11836 mmol) dieron 34 mg de **3i** (78%), sólido rojo de p. f. 144-146°C.

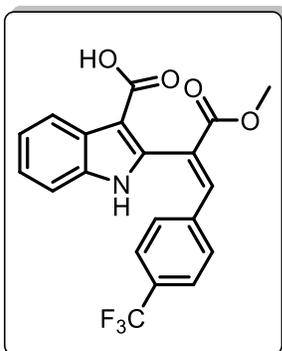
RMN ¹H (300MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 11.90 (s, 1H), 8.09 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 8.04 (m, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.36 (m, 1H), 7.31 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.20 (m, 2H), 3.71 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 165.6, 147.3, 140.5, 139.3, 137.3, 135.8, 130.7, 128.0, 126.6, 123.6, 122.8, 121.4, 121.1, 112.1, 106.7, 52.5. **IR (KBr)** 3281 (NH), 2948 (COO-H), 1704 (*ar*C=O), 1656 (C=O, éster α,β-insaturado), 1517 (*ar*NO₂) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 366 [M⁺] (55), 333 (20), 322 (100), 289 (22), 262 (15), 216 (60), 157 (30), 69 (42), 44 (32). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₁₉H₁₄N₂O₆]: 366.0852; encontrada: 366.0848.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-cianofenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3j**).

50 mg del diéster **31j** (0.12423 mmol) dieron 33 mg de **3j** (76%) sólido rojo de p. f. 150-152°C.

RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.07 (sa, 1H), 11.90 (s, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.71 (d *J*= 8.2 Hz, 2H), 7.37 (m, 1H), 7.20 (d, *J*= 8.2 Hz, 4H), 3.69 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 165.5, 139.7, 138.4, 137.4, 135.7, 132.4, 130.3, 127.3, 126.6, 122.7, 121.3, 121.1, 118.3, 112.0, 111.7, 106.4, 52.4. **IR (KBr)** 3281 (NH), 2952 (COO-H), 2229 (arCN) 1705 (arC=O), 1656 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 346 [M⁺] (98), 313 (100), 300 (70), 289 (60), 242 (100), 214 (35), 58 (29). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₀H₁₄N₂O₄]: 346.0954; encontrada: 346.0966.



Ácido (*E*)-2-(1-(4-trifluorometilfenil)-3-metoxi-3-oxoprop-1-en-2-il)-1*H*-indol-3-carboxílico (**3k**).

40 mg del diéster **31k** (0.08980 mmol) dieron 27 mg de **3k** (77%), sólido rojo de p. f. 102-104°C.

RMN ¹H (300MHz. DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12.08 (sa, 1H), 11.87 (s, 1H), 8.05 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.62 (d, *J*= 8.1 Hz, 2H), 7.37 (m, 1H), 7.25 (d, *J*= 8.1 Hz, 2H), 7.20 (m, 2H), 3.70 (s, 3H). **RMN ¹³C** (75MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.7, 166.2, 140.5, 138.4, 138.2, 136.3, 130.9, 127.4, 127.2, 126.0, 124.4, 123.2, 122.6, 121.9, 121.6, 112.6, 107.0, 52.9. **IR (KBr)** 3289 (NH), 2953 (COO-H), 1702 (arC=O), 1657 (C=O, éster α,β-insaturado) cm⁻¹. **EM (IE, 70eV): *m/z* (%)** 389 [M⁺] (98), 356 (100), 312 (54), 285 (50), 189 (20), 130 (100), 119 (45), 43 (49). **EM AR (IE⁺):** calculada para [C₂₀H₁₄F₃N₁O₄]: 389.0875; encontrada: 389.8079.

11.1 Ensayos de actividad biológica

Los ensayos de citotoxicidad se realizaron en el Instituto de Química de la U.N.A.M en el laboratorio de pruebas biológicas bajo la misma metodología empleada que el Instituto Nacional del Cáncer de los E.U.A.⁷⁶

Líneas celulares y medio de cultivo

Los compuestos antes sintetizados se probaron en 6 líneas celulares de cáncer humano: PC-3 (próstata), MCF-7 (mama), U251 (glioblastoma), SKLU (pulmón), K562 (leucemia), HTC-15 (colon). Las líneas celulares fueron cultivadas en medio RPMI-1640 enriquecido con 10% de suero fetal bovino inactivado, 2mM de L-glutamina y una mezcla de antibióticos-antimicóticos al 10%. A estas células se les caracterizó el tiempo de duplicación y con ello se estableció la densidad de inóculo que se deposita en cada micropozo. Ver Tabla 12

Tabla 12 Tiempo de duplicación celular

Línea Celular	Órgano de origen	Tiempo de duplicación (hrs.)	Células/ Pozo
PC-3	Próstata	28.7	7,500
MCF-7	Mama	25.6	5,000
U251	S.N.C	25.4	7,500
SKLU	Pulmón	25.4	7,500
K562	CLM	19	5,000
HCT-15	Colón	18.1	10,000

(CML: Leucemia mieloblástica crónica. SNC: sistema nervioso central)

Ensayo citotóxico

Para determinar la actividad citotóxica en los compuestos **31a-k** y **3a-k** se utilizó el bioensayo colorimétrico de Sulforodamida B (SRB). El procedimiento general se divide en 2 etapas: obtención del porcentaje de inhibición y determinación del IC₅₀

1.- En dos placas (A1 y A2), de 96 pozos cada una, se colocaron por duplicado 100 µL de cada línea celular en evaluación y de blanco (medio de crecimiento), como se muestra en la Figura 11. Una tercera placa (B) se utilizó como testigo (evaluación a tiempo cero) en la cual se colocaron los mismos volúmenes de cada línea celular y blanco. Las densidades celulares que fueron colocadas por pozo son las indicadas

en la Tabla 12. A continuación cada placa se incubó durante 24 horas, a 37°C con atmosfera del 5% de CO₂.

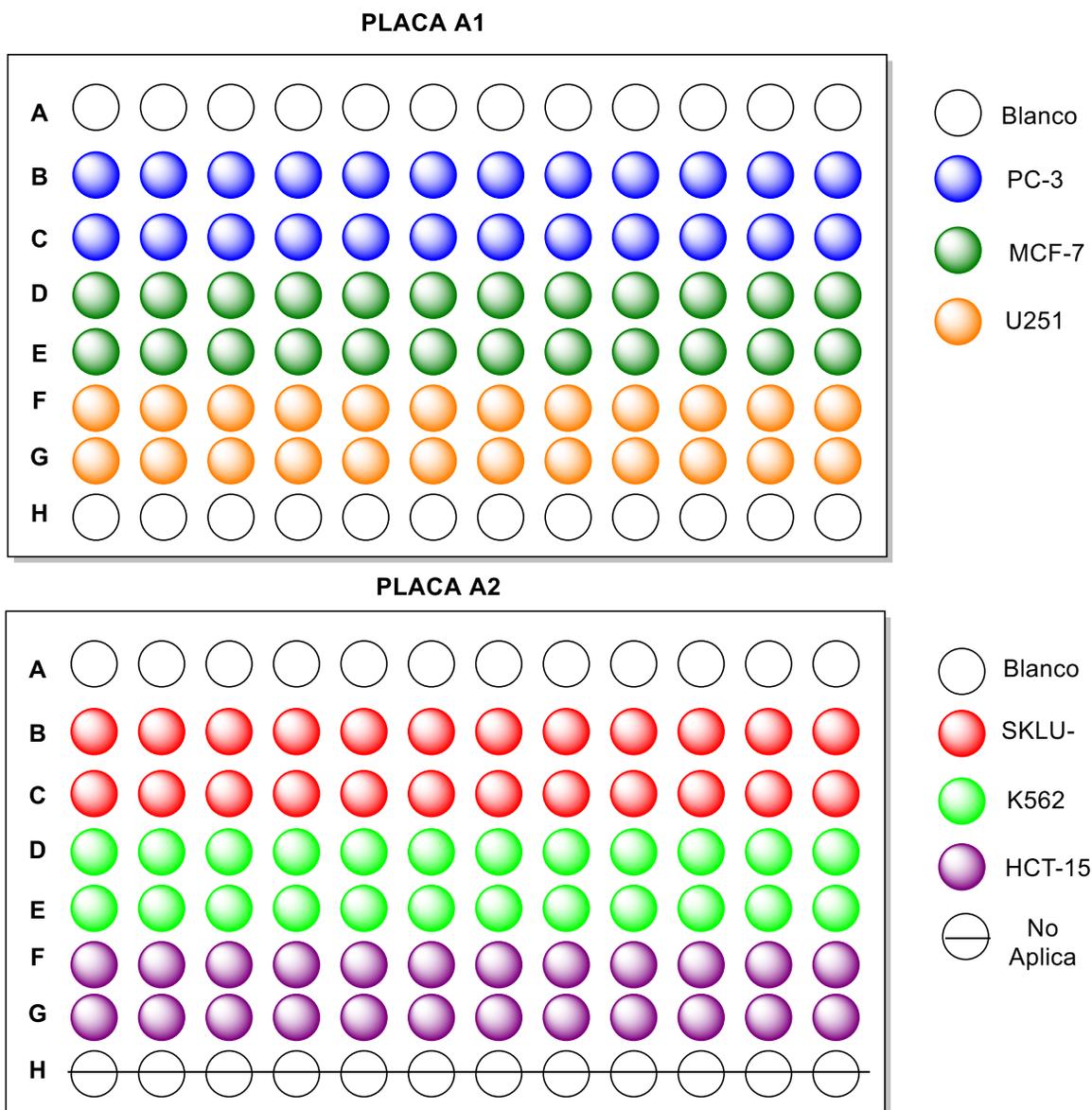


Figura 11 Placas de microcultivo

Posteriormente se prepararon los compuestos a evaluar a una concentración de 25 μ M utilizando DMSO y medio RPMI-1640. La concentración del DMSO debe ser menor al 0.1% para no interferir en los resultados.

Una vez concluidas las 24 horas, se adicionaron en las placas A1 y A2 100 μ L de los compuestos previamente preparados. Las placas se incubaron por 48 horas bajo

las mismas condiciones previamente descritas. Por su parte, a la placa B sólo se le agregaron 100 µL del medio de cultivo RPMI-160 y se llevó a las mismas condiciones de incubación.

Una vez terminado el tiempo de incubación de cada placa, las células se fijaron con una solución acuosa de ácido tricloroacético (TCA) al 50% (50 µL/pozo). La placa se incubó durante 60 minutos a 4°C. Los sobrenadantes se desecharon, la placa se lavó tres veces con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente. Posteriormente las células se trataron con 100 µL de SRB al 0.4% durante 30 minutos a temperatura ambiente. La SRB se une a los aminoácidos básicos de las proteínas de las células cancerosas que fueron fijadas con TC. Después, la SRB no unida es removida por tres lavados con ácido acético al 1% y se deja secar al medio ambiente. El colorante se extrajo con 100 µL de una solución buffer de tris (Tris(hidroximetil)aminometano). Por último, se mide la densidad óptica (DO) de las muestras tratadas en un lector de microplacas a una longitud de onda de 515nm. La intensidad de color es directamente proporcional al número de células vivas, por tanto, a mayor coloración en pozos, menos porcentaje de inhibición del crecimiento celular.

El porcentaje de inhibición de crecimiento celular (%IC) se calculó para cada concentración y para cada línea celular utilizando las siguientes ecuaciones.

$$\%IC = 100 - \left(\frac{B}{AX100} \right)$$

Donde:

%IC= Porcentaje de inhibición de crecimiento

B= Densidad óptica real promedio de las células tratadas con el compuesto en estudio

A= Densidad óptica promedio de las células sin tratar

Concentración inhibitoria 50 (IC₅₀)

La obtención de la IC₅₀ se aplicó solo a los compuestos **31b**, **31c**, **31i** y **31k** solo en las líneas celulares que presentaron más del 50% de IC. Estos compuestos, fueron evaluados a concentraciones de 50, 25, 12.5 y 6.5 µM bajo el mismo protocolo mencionado para la determinación de IC. Obteniendo así una curva respuesta para cada compuesto.

Metodología empleada para la evaluación de la actividad antituberculosa

La actividad antimicobacteriana de los compuestos **3a-k** y sus precursores **31a-k** se evaluaron sobre la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*, en cada experimento fue incluida la curva de calibración del fármaco de referencia rifampicina.

Stock de los compuestos a evaluar. Se prepararon soluciones stock de los compuestos (**3a-k** y **31a-k**) en DMSO a concentraciones de 500 µg/mL, 250 µg/mL.

Metodología para la evaluación de la actividad antituberculosa

Stock de los compuestos a evaluar. Se prepararon soluciones stock de todos los compuestos en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 10 mg/mL. Para el ensayo de microtitulación de rezarunia (REMA), los compuestos se diluyeron en medio Middlebrook 7H9 (TH9) sin tiloxapol. Para los medicamentos de referencia, se prepararon soluciones stock con una concentración de 64 µg/mL la cual fue filtrada usando una membrana con un diámetro de poro de 0.22 µm (Millipore; Darmstadt) Todas las soluciones de trabajo se refrigeraron a -20°C hasta que se evaluaron.

Cultivo de células

Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo utilizando celular Vero (Riñón de mono verde) de ATCC. Estas células fueron cultivadas en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 10% y aminoácidos no esenciales.

Ensayo de citotoxicidad

Para la evaluación citotóxica de cada compuesto, se colocaron 10,000 células Vero en una placa de 96 pozos y se incubaron por 24 horas en 100 µL de medio RPMI.

Después de la incubación, la placa se lavó y se añadió el compuesto a evaluar disuelto en medio RPMI a diferentes concentraciones. Posteriormente la placa se incubó durante 48 horas a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%. Al finalizar el tiempo de incubación se agregó a cada pozo una solución de 10 µL de bromuro de 3-(4,5-difeniltetrazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolio (MTT) y 5 mg/ mL de una solución buffer de fosfato salino estéril (PBS) y se incubó por 4 horas más. Seguido se removió el medio y se solubilizo el formazán con 100 µL de DMSO. Por último, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm y la citotoxicidad se calculó como:

$$\% \text{ de Toxicidad} = \left(1 - \left[\frac{\text{problema ABS}}{\text{Control ABS}} \right] \right) \times 100$$

Las células control fueron células sin tratamiento.

Preparación de inóculos de *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis H37Rv fueron cultivadas en un medio 7H9-glicerol-10% de albumina dextrosa catalasa (ADC)-0.01% y tyloxapol a 37°C hasta una densidad óptica (DO) de 0.4 a una longitud de onda de 600 nm. La solución de bacterias de trabajo se preparó mediante dilución 1:25 en 7H9-ADC al 10%.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana utilizando REMA

Los pozos exteriores de una placa de 96 pozos se llenaron de 200 µL de PBS estéril para evitar la deshidratación durante el tiempo de incubación (8 días). La rifampicina se utilizó como fármaco de referencia y controles de DMSO, DMSO + *Mtb*, medio 7H9, medio 7H9 + *Mtb* y compuesto. Los compuestos fueron evaluados a varias concentraciones de 0.98 a 500 µg/mL y por triplicado en ensayos independientes. Las placas se incubaron durante 6 días; luego, 30 µL de 0.01% de resazurina fue añadido a cada pozo y las placas fueron incubadas por 2 días más.

Los valores de MIC se definieron a partir de la primera concentración a la que se observó el color azul (inspección visual). La presencia de color rosado indica que existe crecimiento

12. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Singh, R. K.; Tiwari, S. P.; Rai, A. K.; Mohapatra, T. M. Cyanobacteria: An Emerging Source for Drug Discovery. *J. Antibiot.* **2011**, *64*, 401–412.
- 2.- McNulty, J.; Keskar, K.; Bordón, C.; Yolken, R.; Jones-Brando, L. Total Synthesis of the Cyanobacterial Metabolite Nostodione A: Discovery of Its Antiparasitic Activity against *Toxoplasma Gondii*. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 8904–8907.
- 3.- Dominguez, H.; Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals 1st ed. Woodhead Publishing, **2013**, p. 317.
- 4.- Ploutno, A.; Carmeli, S. Prenostodione, a Novel UV-Absorbing Metabolite from a Natural Bloom of the Cyanobacterium *Nostoc* Species. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 544–545.
- 5.- Biswas, S.; Jaiswal, P. K.; Singh, S.; Mobin, S. M.; Samanta, S. L-Proline Catalyzed Stereoselective Synthesis of (E)-Methyl- α -Indol-2-yl- β -Aryl/Alkyl Acrylates: Easy Access to Substituted Carbazoles, γ -Carbolines and Prenostodione. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7084–7087.
- 6.- Green, I. L.; Jordan, J. J.; Badenock, J. C. A Formal Approach to the Cyanobacterial Sunscreen Indole, Prenostodione. *Arkivoc* **2018**, *2018*, 183–194.
- 7.- Saldívar-González, F. I.; Pilon-Jiménez, B. A.; Medina-Franco, J. L. Chemical Space of Naturally Occurring Compounds. *Phys. Sci. Rev.* **2018**, *4*, 1–14.
- 8.- Rosén, J.; Gottfries, J.; Muresan, S.; Backlund, A.; Oprea, T. I. Novel Chemical Space Exploration via Natural Products. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1953–1962.
- 9.- Burja, A. M.; Banaigs, B.; Abou-Mansour, E.; Grant Burgess, J.; Wright, P. C. Marine Cyanobacteria - A Prolific Source of Natural Products. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9347–9377.
- 10.- Pathak, J.; Pandey, A.; Maurya, P. K.; Rajneesh, R.; Sinha, R. P.; Singh, S. P. Cyanobacterial Secondary Metabolite Scytonemin: A Potential Photoprotective and Pharmaceutical Compound. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.* **2019**.
- 11.- Badenock, J. C.; Jordan, J. A.; Gribble, G. W. Synthetic Approaches toward the Marine Alkaloid Prenostodione. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 2759–2762.
- 12.- Rasapalli, S.; Fan, Y.; Yu, M.; Rees, C.; Harris, J. T.; Golen, J. A.; Jasinski, J. P.; Rheingold, A. L.; Kwasny, S. M.; Opperman, T. J. Detour of Prenostodione Synthesis towards Pyrazolones for Antibacterial Activity. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3235–3238.
- 13.- Bevk, D.; Svete, J.; Stanovnik, B. Transformations of Phenylhydrazones of Dialkyl 2-Oxo-Propane-1,3- Dicarboxylate and of Ethyl Acetoacetate in Concentrated Sulfuric Acid. *J. Heterocycl. Chem.* **2005**, *42*, 1413–1415.

- 14.- Yamada, F.; Fukui, Y.; Shinmyo, D.; Somei, M. Introduction of Nucleophiles or Ethyl Group to the Indole Nucleus through Nucleophilic Substitution and/or Radical Reactions of 1-Methoxyindole-3- and -2-Carbox-Aldehyde. *Heterocycles* **1993**, *35*, 99–104.
- 15.- Somei, M.; Yamada F.; Yamamura Gaku. Novel and Simple Synthesis of 5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole(γ -Carboline) Derivates Having a Methoxycarbonyl Group at the 4-Position Based on 1-Hydroxyindole Chemistry). *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 191-198.
- 16.- Somei, M.; Tanimoto, A.; Orita H.; Yamada, F.; Ohta, T. Syntheses of wasaby phytoalexin (Methyl 1-methoxyindole-3-carboxylate) and its 5-iodo derivate, and nucleophilic substitution reaction. *Heterocycles*. **2011**, *54*, 425-432.
- 17.- Yamada, F.; Shinmyo, D.; Nakajou, M.; Somei, M. Nucleophilic Substitution Reaction of 1-Methoxyindole-3-Carbaldehyde. *Heterocycles* **2012**, *86*, 435–453.
- 18.- Canche-Chay, C.I. (2015). Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- 19.- Kocienski P. J.; *Protecting Groups*, 3^{ra} ed., Thieme, Germany, **2005**, p. 2-16.
- 20.- Leitch, J. A.; Bhonoah, Y.; Frost, C. G. Beyond C2 and C3: Transition-Metal-Catalyzed C-H Functionalization of Indole. *ACS Catal.* **2017**, *7*, 5618–5627.
- 21.- Shirley, D. A.; Rouse, P. A. Metalation of Indole, N-Methylindole and N-Phenylindole with n-Butyllithium. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 375–378.
- 22.- Liu, Y.; Gribble, G. W. Generation and Reactions of 2, 3-Dilithio-N-Methylindole. Synthesis of 2, 3-Disubstituted Indoles. *Tetrahedron Lett* **2001**, *42*, 2949–2951.
- 23.- Herbert, J. M.; Maggiani, M. Generation and Reactivity of 1,2-Dilithioindole. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 947–951.
- 24.- Liu, Y.; Gribble, G. W. Selective Lithiation of 2,3-Dibromo-1-Methylindole. A Synthesis of 2,3-Disubstituted Indoles. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7135–7137.
- 25.- Katritzky, A. R.; Wei-Qiang, F. Carbon Dioxide: A Reagent for the Simultaneous Protection of Nucleophilic Centres and the Activation of Alternative Locations to Electrophilic Attack: Part 11. A New Synthetic Route to the 2-substituted Thiazolidines. *Acta Chim. Sin. English Ed.* **1988**, *6*, 359–363.
- 26.- Somei, M.; Nakagawa, K. Lithiation of 3-Dimethylaminomethyl- and 3-Dimethylaminoethyl-1-Methoxyindole Derivatives. *Heterocycles* **1994**, *39*, 31-34.
- 27.- Zhang, P.; Liu, R.; Cook, J. M. Regiospecific Bromination of 3-Methylindoles With N-Bromosuccinimide. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3103–3106.
- 28.- Mistry, A. G.; Smith, K.; Bye, M. R. A Superior Synthetic Method for the Bromination of Indoles and Benzimidazoles. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1051–1054.

- 29.- Somei, M.; Kawasaki, T.; Fuki, Y.; Yamada, F.; Kobayashi, T.; Aoyama, H.; Shinmyo, D. The chemistry of 1-Hydroxyindole derivatives: Nucleophilic substitution reactions on indole nucleus. *Heterocycles*. **1992**, *34*, 1877–1884.
- 30.- Yamada, F.; Shinmyo, D.; Somei, M. Nucleophilic substitution reactions on indole nucleus: Syntheses of 2-substituted indole-3-carboxaldehydes. *Heterocycles* **1994**, *38*, 273-276.
- 31.- Feldman, K. S.; Karatjas, A. G. Extending Pummerer Reaction Chemistry. Application to the Oxidative Cyclization of Tryptophan Derivatives. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2849–2852.
- 32.- Yamada, K.; Yamada, F.; Shiraishi, T.; Tomioka, S.; Somei, M. Nucleophilic Substitution Reaction in Indole Chemistry: 1-Methoxy-6-Nitroindole-3-Carbaldehyde as a Versatile Building Block for 2,3,6-Trisubstituted Indoles. *Heterocycles* **2009**, *77*, 971–982.
- 33.- Majumder, S.; Bhuyan, P. J. The Tertiary Amino Effect: An Efficient Method for the Synthesis of α -Carbolines. *Synlett* **2011**, *2*, 173–176.
- 34.- Osornio, Y. M.; Cruz-Almanza, R.; Jiménez-Montaña, V.; Miranda, L. D. Efficient, Intermolecular, Oxidative Radical Alkylation of Heteroaromatic Systems under “Tin-Free” Conditions. *Chem. Commun.* **2003**, *3*, 2316–2317.
- 35.- Guerrero, M. A.; Miranda, L. D. Et₃B-Mediated Radical Alkylation of Pyrroles and Indoles. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2517–2520.
- 36.- Schweitzer-Chaput, B.; Horwitz, M. A.; de Pedro Beato, E.; Melchiorre, P. Photochemical Generation of Radicals from Alkyl Electrophiles Using a Nucleophilic Organic Catalyst. *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 129–135.
- 37.- López-Mendoza, P.; Díaz, J. E.; Loaiza, A. E.; Miranda, L. D. Visible Light/Ir(III) Photocatalytic Initiation of Xanthate-Based Radical-Chain Reactions: Xanthate Group Transfer and Oxidative Addition to Aromatic Systems. *Tetrahedron* **2018**, *74*, 5494–5502.
- 38.- Ji, Y.; Brueckl, T.; Baxter, R. D.; Fujiwara, Y.; Seiple, I. B.; Su, S.; Blackmond, D. G.; Baran, P. S. Innate C-H Trifluoromethylation of Heterocycles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 14411–14415.
- 39.- Nagib, D. A.; Macmillan, D. W. C. Trifluoromethylation of Arenes and Heteroarenes by Means of Photoredox Catalysis. *Nature* **2011**, *480*, 224–228.
- 40.- Ciszewski, Ł. W.; Durka, J.; Gryko, D. Photocatalytic Alkylation of Pyrroles and Indoles with α -Diazo Esters. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 7028–7032.
- 41.- Gribble G. W. Topics in Heterocyclic Chemistry Vol. 26 *Heterocyclic Scaffolds II: Reactions and Applications of Indoles*, Springer, Verlag Berlin Heidelberg 2010. p. 193-234.

- 42.- Takagi, J.; Sato, K.; Hartwig, J. F.; Ishiyama, T.; Miyaura, N. Iridium-Catalyzed C-H Coupling Reaction of Heteroaromatic Compounds with Bis(Pinacolato)Diboron: Regioselective Synthesis of Heteroarylboronates. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5649–5651.
- 43.- Grimster, N. P.; Gauntlett, C.; Godfrey, C. R. A.; Gaunt, M. J. Palladium-Catalyzed Intermolecular Alkenylation of Indoles by Solvent-Controlled Regioselective C-H Functionalization. *Angew. Chem - Int. Ed.* **2005**, *44*, 3125–3129.
- 44.- Lane, B. S.; Brown, M. A.; Sames, D. Direct Palladium-Catalyzed C-2 and C-3 Arylation of Indoles: A Mechanistic Rationale for Regioselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8050–8057.
- 45.- Maehara, A.; Tsurugi, H.; Satoh, T.; Miura, M. Regioselective C-H Functionalization Directed by a Removable Carboxyl Group: Palladium-Catalyzed Vinylation at the Unusual Position of Indole and Related Heteroaromatic Rings. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1159–1162.
- 46.- Zhao, J.; Zhang, Y.; Cheng, K.; Angew, Z. J. Palladium-Catalyzed Direct C-2 Arylation of Indoles with Potassium Aryltrifluoroborate Salts. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7428–7431.
- 47.- García-Rubia, A.; Urones, B.; Arrayás, R. G.; Carretero, J. C. PdII-Catalysed C-H Functionalisation of Indoles and Pyrroles Assisted by the Removable N-(2-Pyridyl)Sulfonyl Group: C2-Alkenylation and Dehydrogenative Homocoupling. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9676–9685.
- 48.- Plate, R.; Ottenheijm, H. C. J. Synthesis of 2-(alkylthio)indoles. *Tetrahedron* **1986**, *42* (16), 4511-4516.
- 49.- Hamel, P.; Girard, Y.; Atkinson, J. G. Acid-Catalyzed Isomerization of 3-Indolyl Sulfides to 2-Indolyl Sulfides: First Synthesis of 3-Unsubstituted 2-(Arylthio)Indoles. Evidence for a Complex Intermolecular Process. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2694–2699.
- 50.- Wiedenau, P.; Monse, B.; Blechert, S. Total Synthesis of (±)-cis-Trikentrin A. *Tetrahedron.* **1995**, *51*, 1167–1176.
- 51.- L. Chugaev. L. Tschugaeff: Ueber eine neue Methode sur Darstellung ungesättigter Kohlenwasserstoffe. *Chem. Ber* **1899**, *32*, 3332.
- 52.- Barton, D. H. R.; McCombie. S. W. A new method for the deoxygenation of secondary alcohols. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1975**, *16*, 1574-1582
- 53.- Zard, S. Z. On the Trail of Xanthates: Some New Chemistry from an Old Functional Group. *Angew. Chem. Int Ed.* **1997**, *36* (7), 672–684.
- 54.- Ibarra-Rivera, T. R.; Gámez-Montaña, R.; Miranda, L. D. Efficient Oxidative Radical Spirolactamization. *Chem. Commun.* **2007**, *33*, 3485–3487.

- 55.- Millán-Ortiz, A.; López-Valdez, G.; Cortez-Guzmán, F.; Miranda, L. D. A Novel Carbamoyl Radical Based Dearomatizing Spiroacylation Process. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 8345–8348.
- 56.- Reyes-Gutiérrez, P. E.; Torres-Ochoa, R. O.; Martínez, R.; Miranda, L. D. Synthesis of Azepino[4,5-b]Indolones via an Intermolecular Radical Oxidative Substitution of N-Boc Tryptamine. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1388–1396.
- 57.- Paleo, E.; Osornio, Y. M.; Miranda, L. D. Synthesis of (±)-Desethylrhazinal Using a Tandem Radical Addition-Cyclization Process. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 361–362.
- 58.- Torres-Ochoa, R. O.; Reyes-Gutiérrez, P. E.; Martínez, R. Synthesis of the Pentacyclic Framework of the Alkaloid Tronocarpine. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 48–52.
- 59.- Pérez, V. M.; Fregoso-López, D.; Miranda, L. D. Xanthate-Based Microwave-Assisted C–H Radical Functionalization of Caffeine, 1,3-Dimethyluracil, and Imidazo[1,2-a]Pyridines. *Tetrahedron Lett.* **2017**, *58*, 1326–1329.
- 60.- Flórez-López, E.; Gomez-Pérez, L. B.; Miranda, L. D. Solvent Free Oxidative Radical Substitution Process. Synthesis of Pyrrole Fused Systems. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6000–6002.
- 61.- Olguín-Uribe, S.; Mijangos, M. V.; Amador-Sánchez, Y. A.; Sánchez-Carmona, M. A.; Miranda, L. D. Expedited Synthesis of Matrine Analogues through an Oxidative Cascade Addition/Double-Cyclization Radical Process. *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 2481–2485.
- 62.- Kürti L.; Czakó B. *Strategic Application of Named Reactions in Organic Synthesis*; 1^a ed. Elsevier, United States of America **2005**. p. 242.
- 63.- Tanwar, J.; Das, S.; Fatima, Z.; Hameed, S. Multidrug Resistance: An Emerging Crisis. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* **2014**, 1-7.
- 64.- Vivas, R.; Barbosa, A. A. T.; Dolabela, S. S.; Jain, S. Multidrug-Resistant Bacteria and Alternative Methods to Control Them: An Overview. *Microb. Drug Resist.* **2019**, *25*, 890–908.
- 65.- Linton, E. C.; Kozlowski, M. C. Catalytic Enantioselective Meerwein-Eschenmoser Claisen Rearrangement: Asymmetric Synthesis of Allyl Oxindoles. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16162–16163.
- 66.- Torres Ochoa, RO (2014) Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- 67.- López Salazar, F. (2018) Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- 68.- Appel, R.; Chelli, S.; Tokuyasu, T.; Troshin, K.; Mayr, H. Electrophilicities of Benzaldehyde-Derived Iminium Ions: Quantification of the Electrophilic Activation of Aldehydes by Iminium Formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 6579–6587.
- 69.- Castellano, S.; Spannhoff, A.; Milite, C.; Dal Piaz, F.; Cheng, D.; Tosco, A.; Viviano, M.; Yamani, A.; Cianciulli, A.; Sala, M.; et al. Identification of Small-Molecule Enhancers of Arginine Methylation Catalyzed by Coactivator-Associated Arginine Methyltransferase 1. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9875–9890.
- 70.- Florea, A. M.; Büsselberg, D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers (Basel)*. **2011**, *3*, 1351–1371.
- 71.- Larkin, J.; Lao, C. D.; Urba, W. J.; McDermott, D. F.; Horak, C.; Jiang, J.; Wolchok, J. D. Efficacy and Safety of Nivolumab in Patients with BRAF V600 Mutant and BRAF Wild-Type Advanced Melanoma: A Pooled Analysis of 4 Clinical Trials. *JAMA Oncol.* **2015**, *1*, 433–440
- 72.- Phelps, M. A.; Sparreboom, A. Irinotecan Pharmacogenetics: A Finished Puzzle *J. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 2287–2289.
- 73.- Hackshaw, A.; Roughton, M.; Forsyth, S.; Monson, K.; Reczko, K.; Sainsbury, R.; Baum, M. Long-Term Benefits of 5 Years of Tamoxifen: 10-Year Follow-up of a Large Randomized Trial in Women at Least 50 Years of Age with Early Breast Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2011**, *29*, 1657–1663.
- 74.- Khalife, R.; Hodroj, M. H.; Fakhoury, R.; Rizk, S. Thymoquinone from *Nigella Sativa* Seeds Promotes the Antitumor Activity of Noncytotoxic Doses of Topotecan in Human Colorectal Cancer Cells in Vitro. *Planta Med.* **2016**, *82*, 312–321
- 75.- Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C. DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs. *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 421–433.
- 76.- Vichai, V.; Kirtikara, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature protocols.* **2006**, *1*, 1112-1116

ESPECTROS

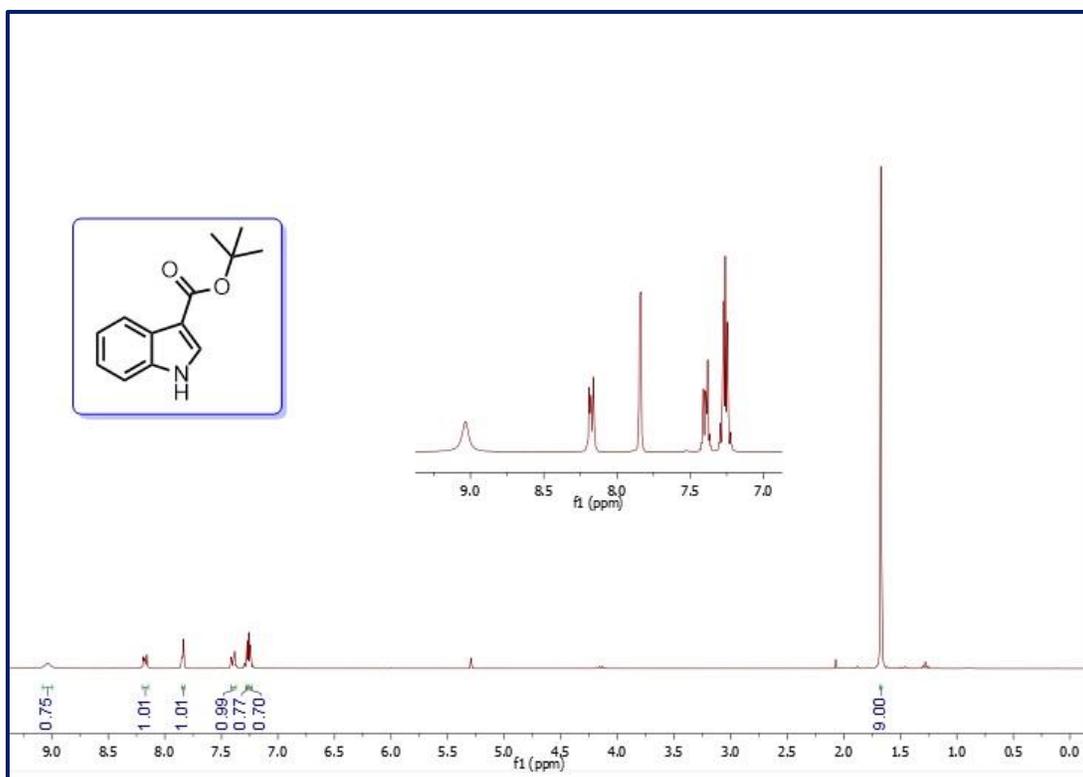


Figura 9. Espectro de RMN ^1H de **34** (300 MHz, CDCl_3).

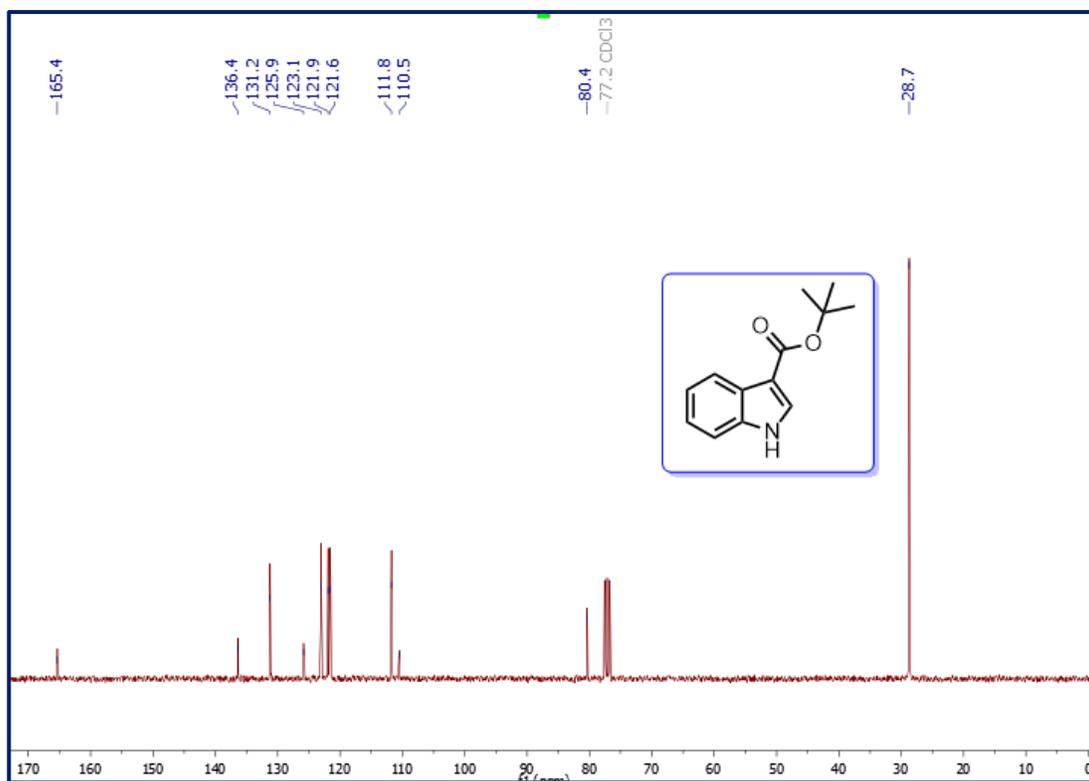


Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C de **34** (75 MHz, CDCl_3).

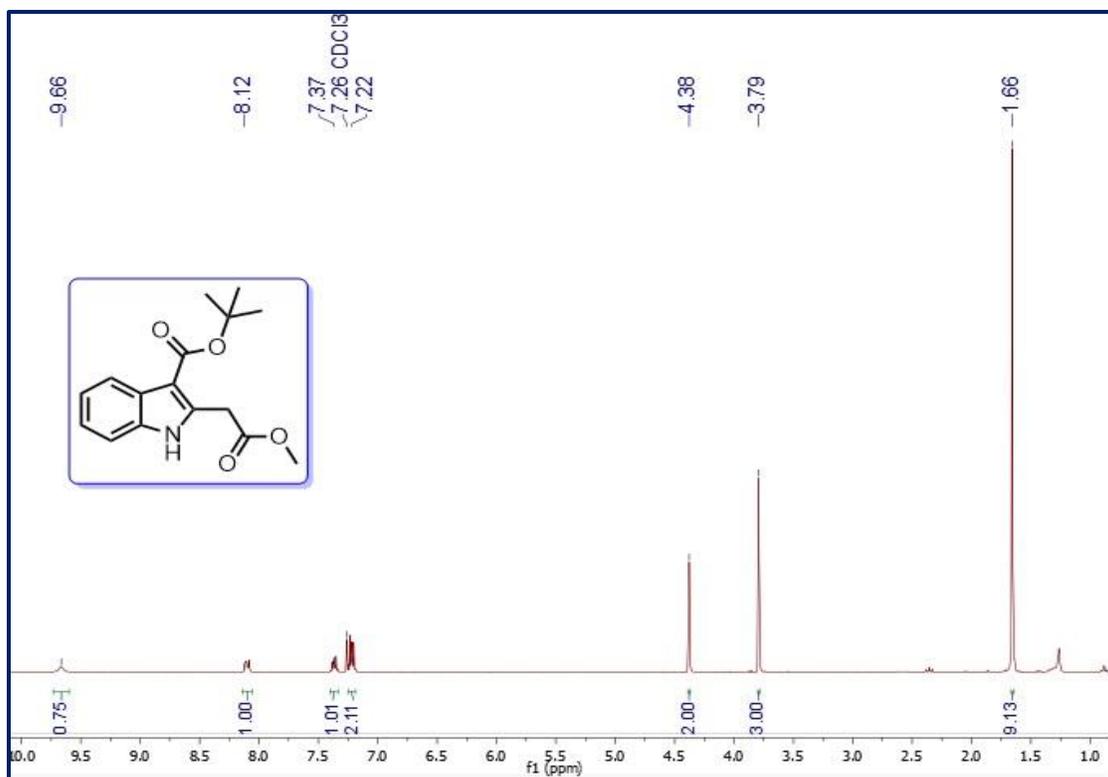


Figura 11. Espectro de RMN ^1H de **32** (300 MHz, CDCl_3).

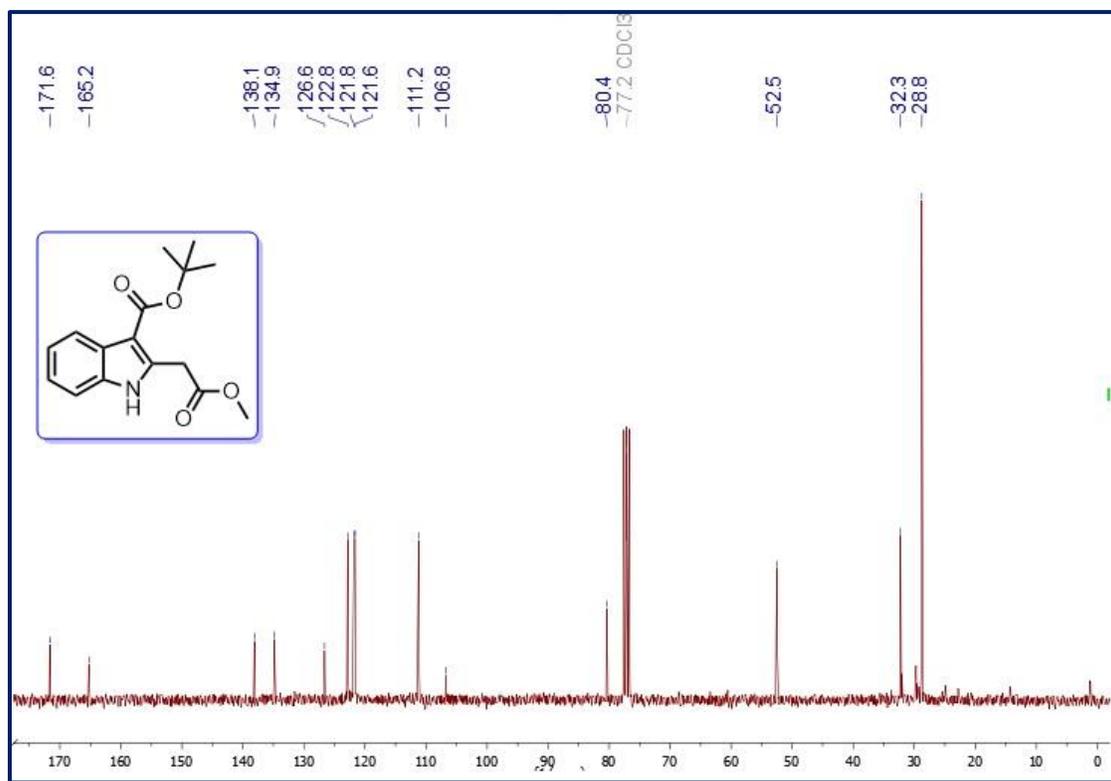


Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C de **32** (75 MHz, CDCl_3).

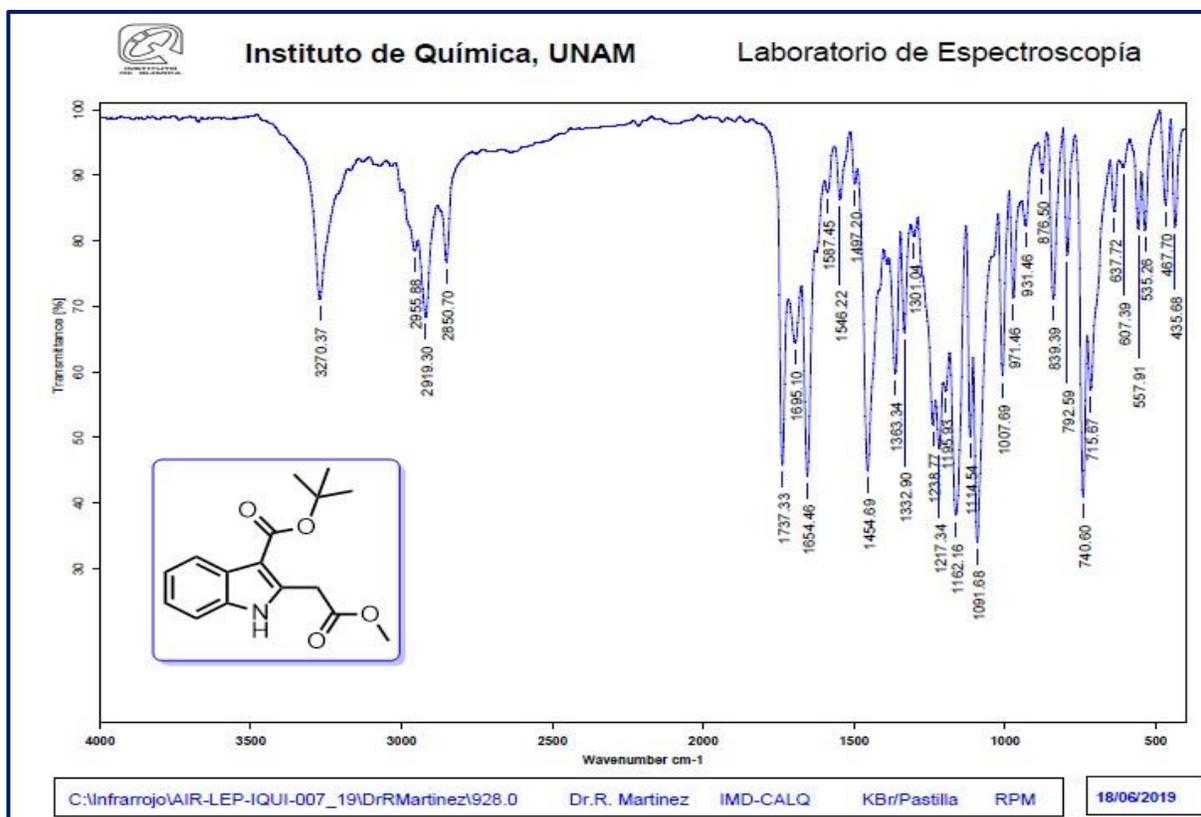


Figura 13. Espectro de IR de **32**.

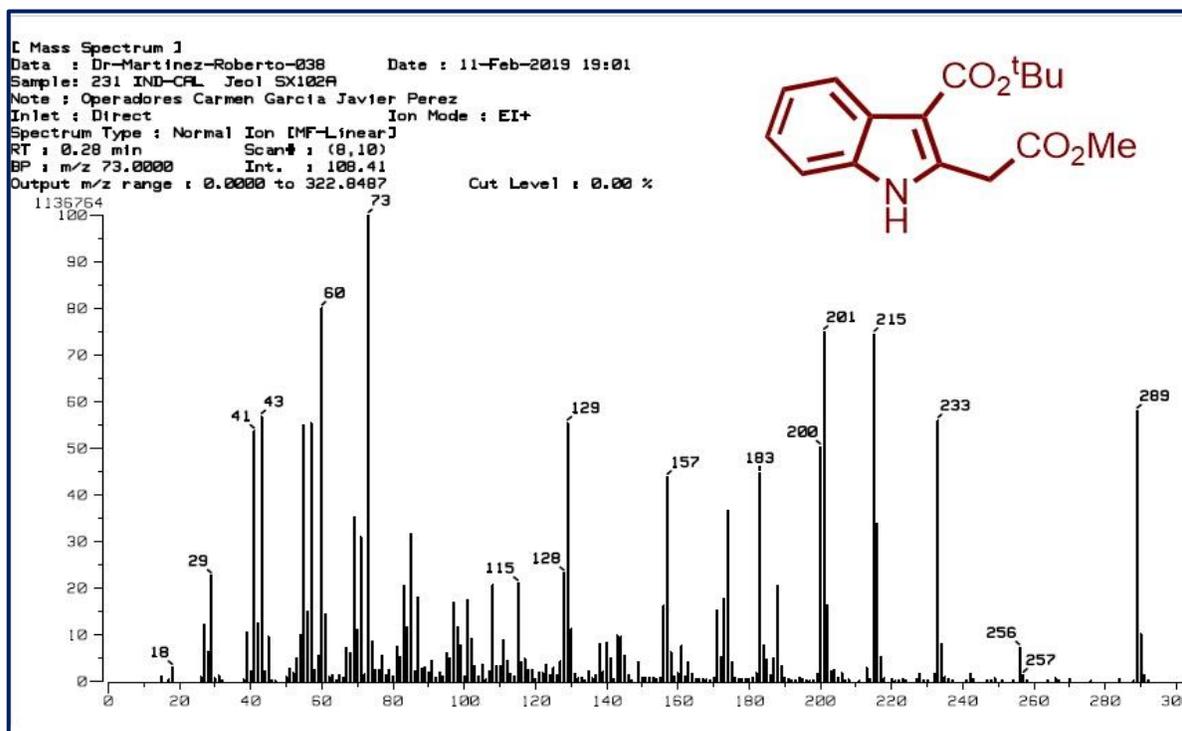


Figura 14. Espectro de masas de **32** por técnica de I.E.

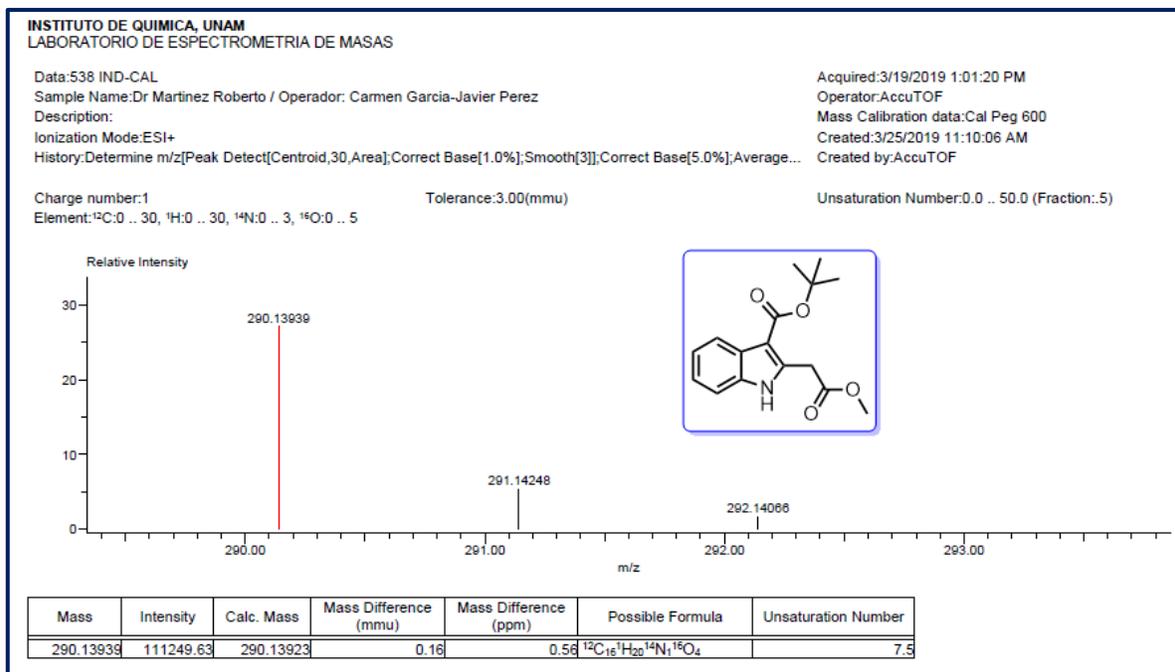


Figura 15. Espectro de masas alta resolución de **32** por técnica de I.E.

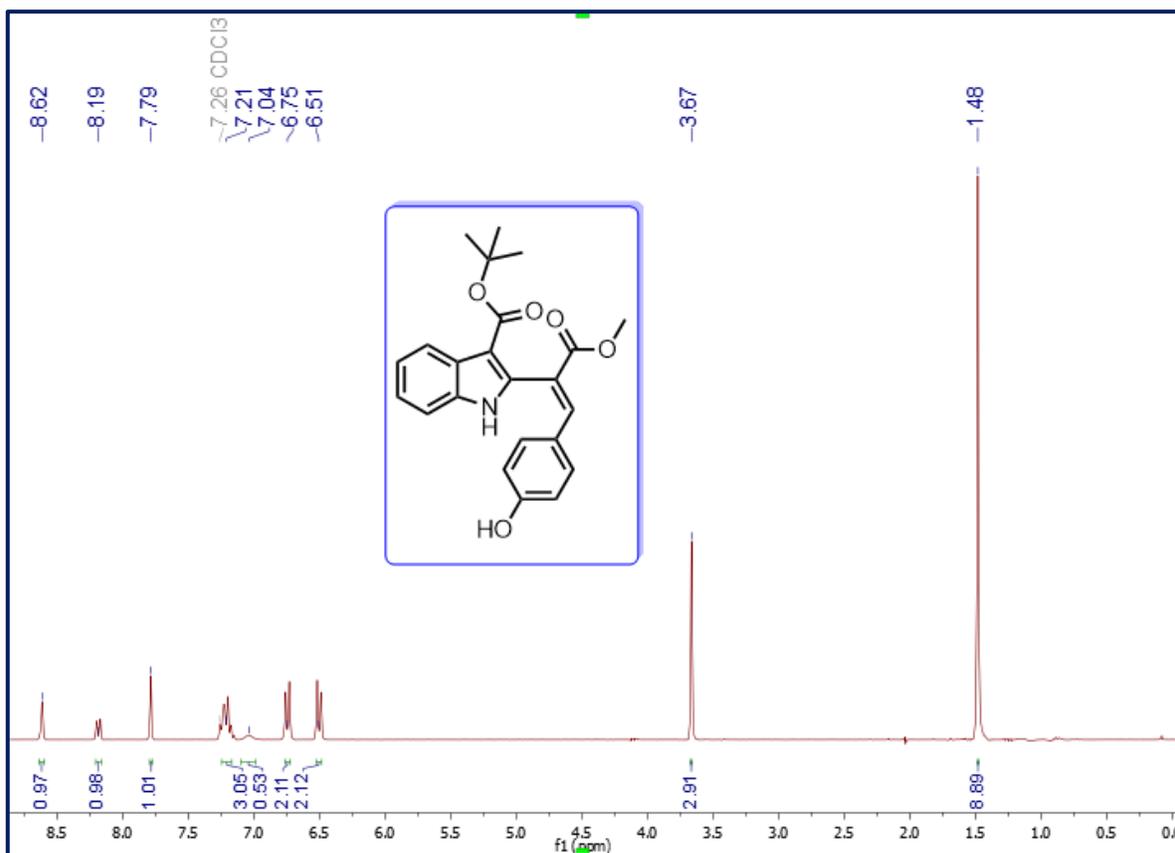


Figura 16. Espectro de RMN ¹H de **31a** (300 MHz, CDCl₃).

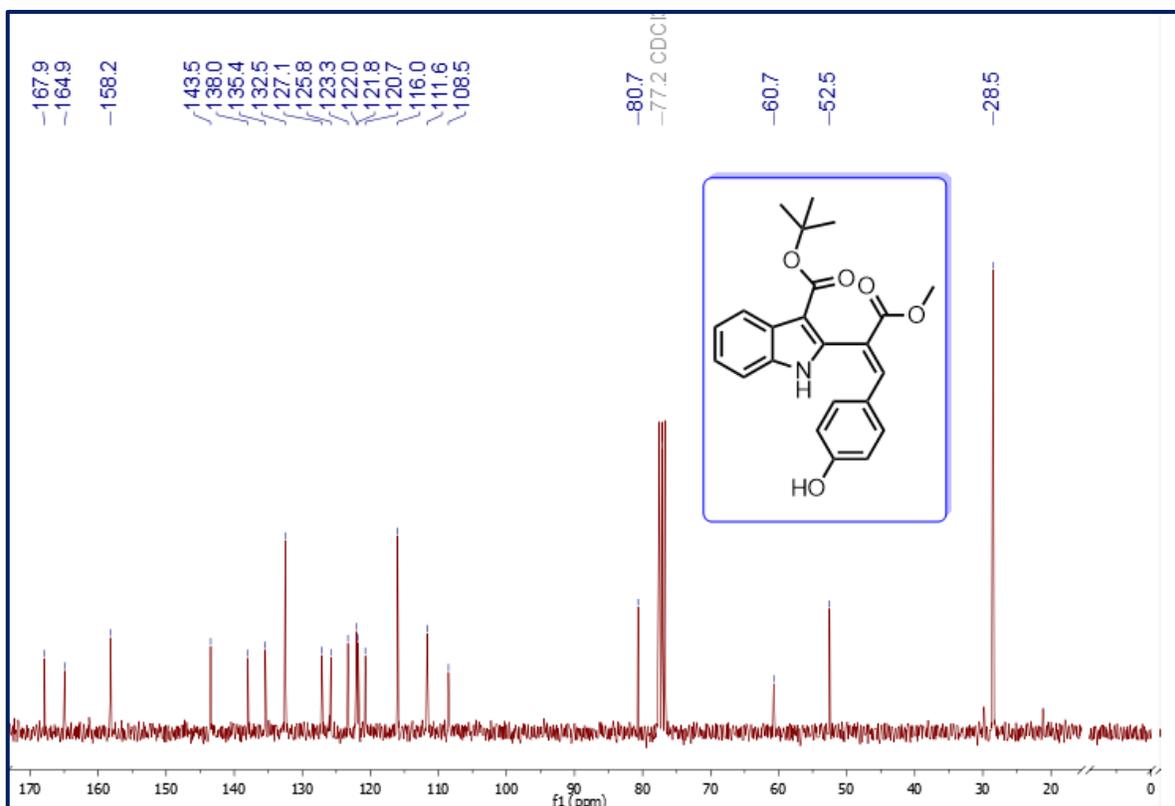


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C de 31a (75 MHz, CDCl_3).

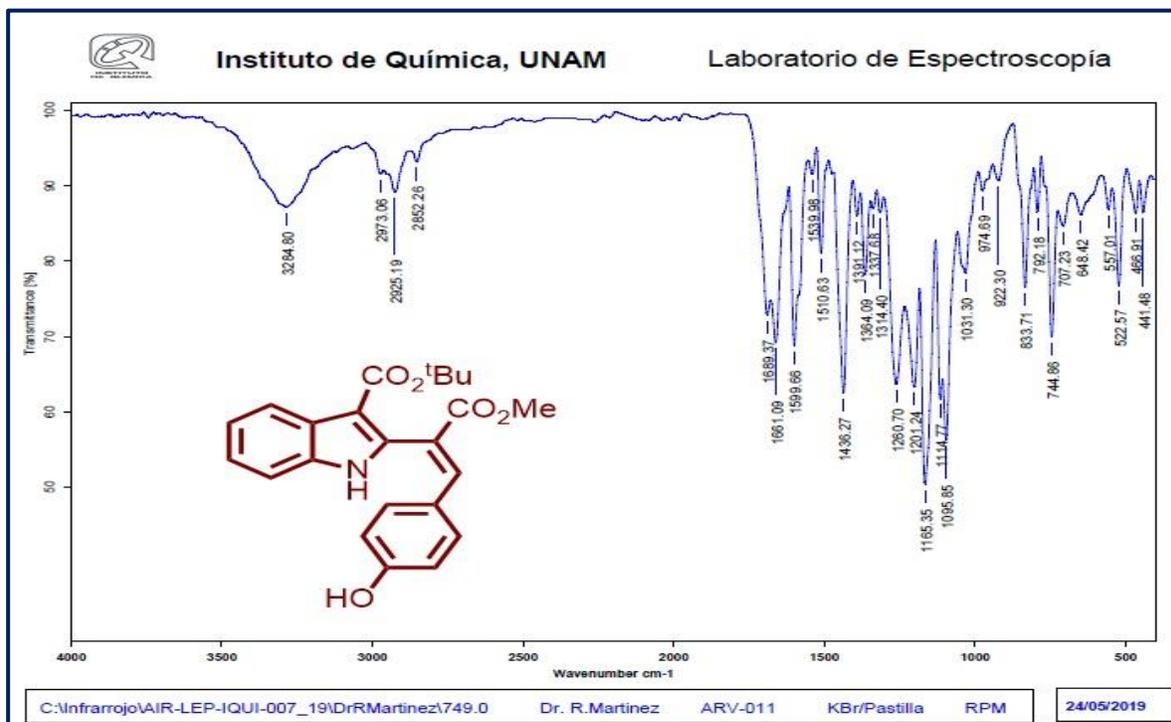


Figura 18. Espectro de IR de 31a.

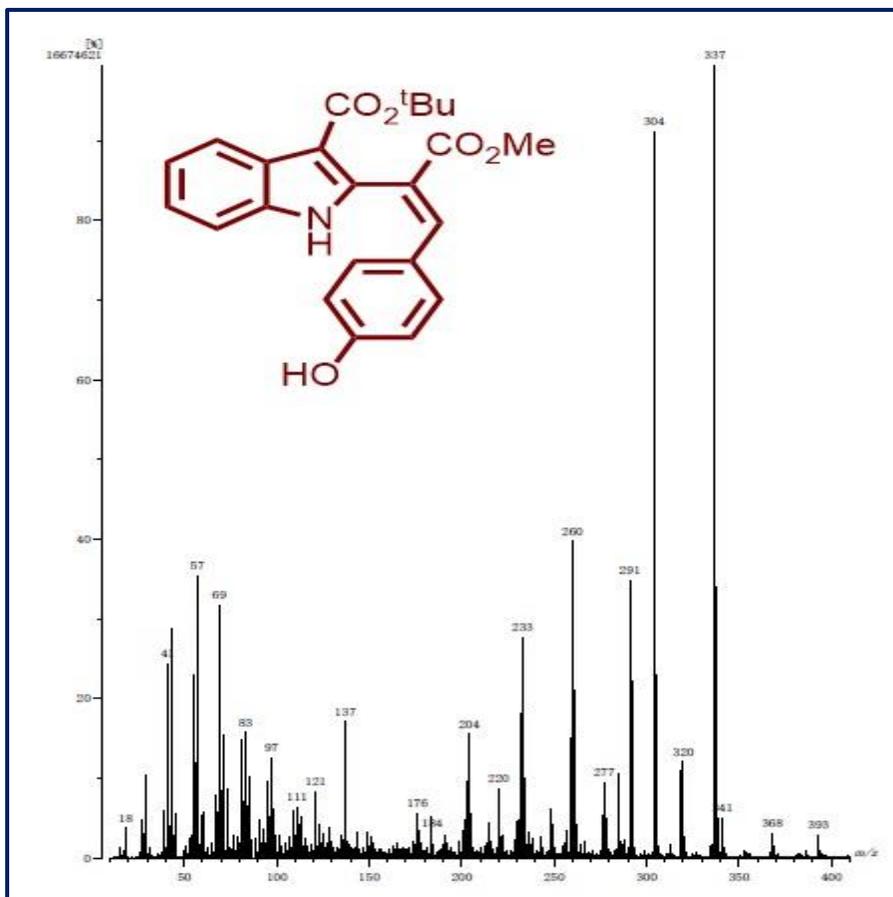


Figura 19. Espectro de 31a por técnica de I.E.

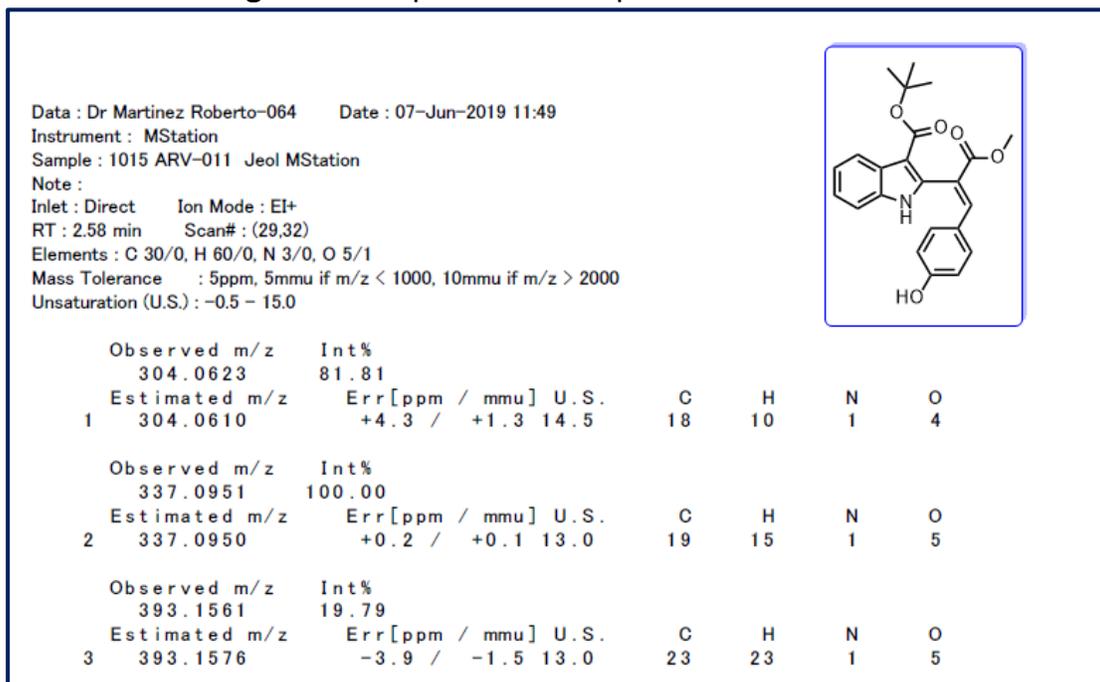


Figura 20. Espectro de masas de alta resolución de 31a por técnica de I.E.

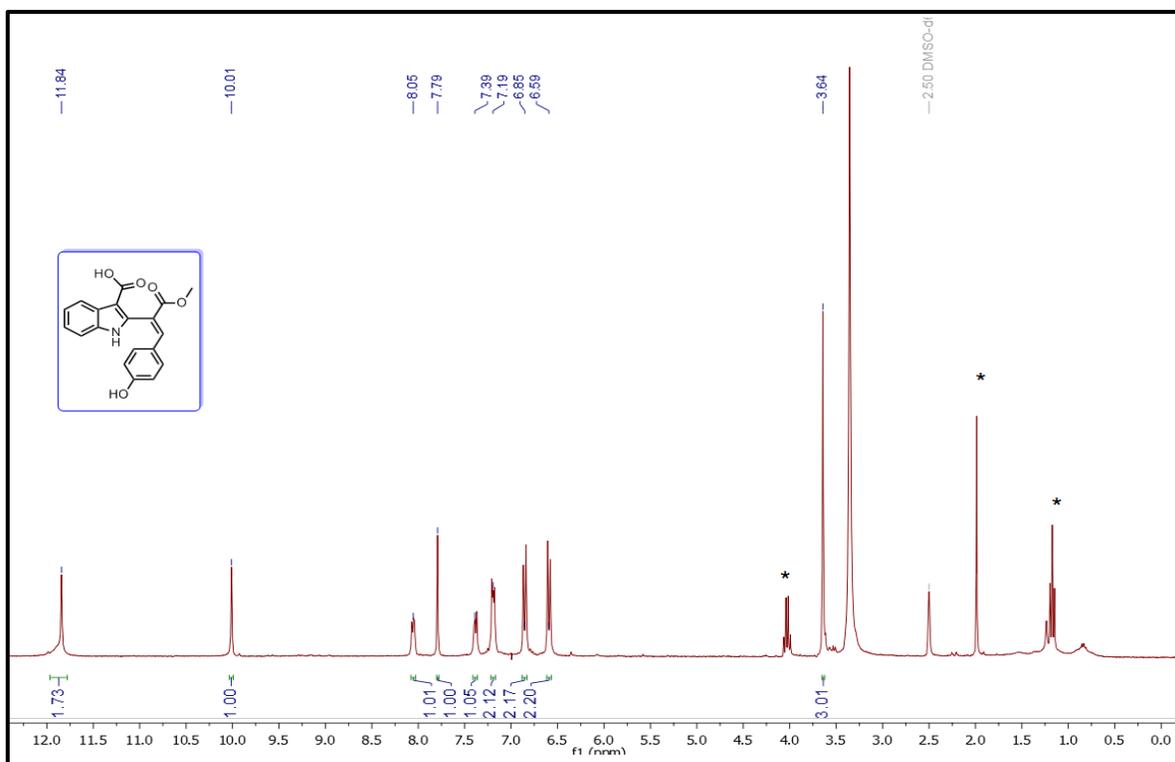


Figura 21 Espectro de RMN ^1H de **3a** (300 MHz, DMSO- d_6).

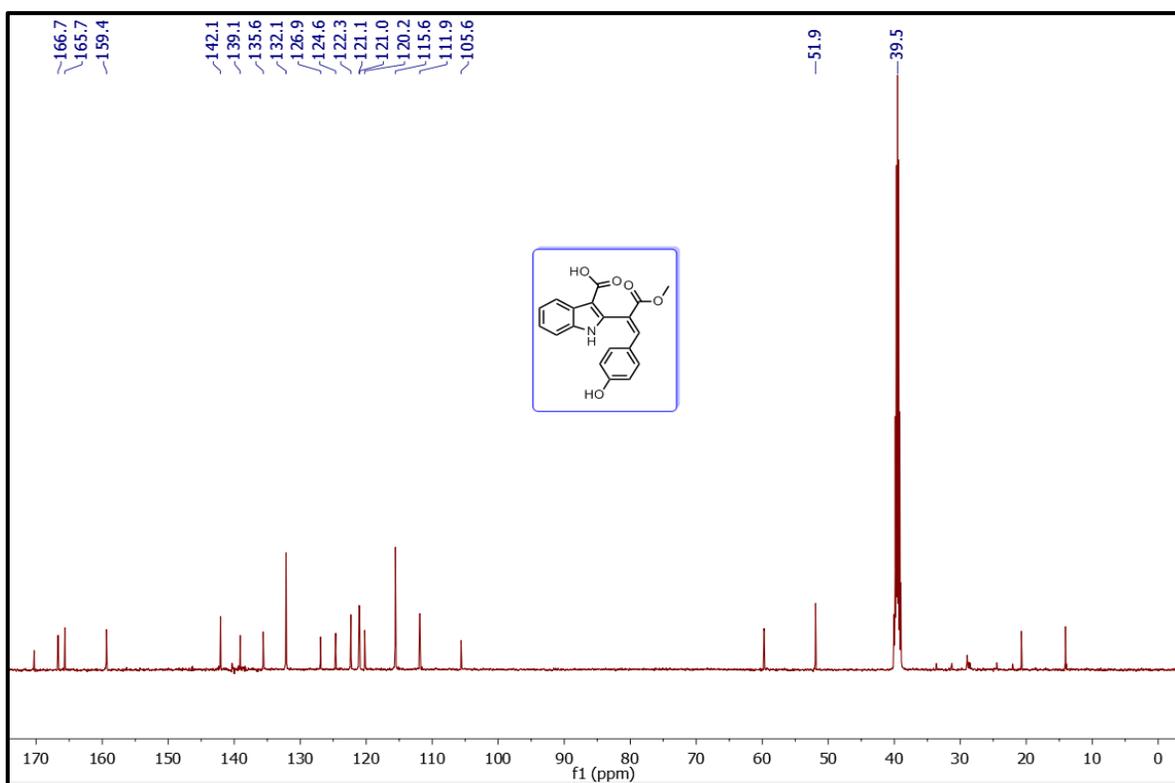


Figura 22 Espectro de RMN ^{13}C de **3a** (75 MHz, DMSO- d_6).

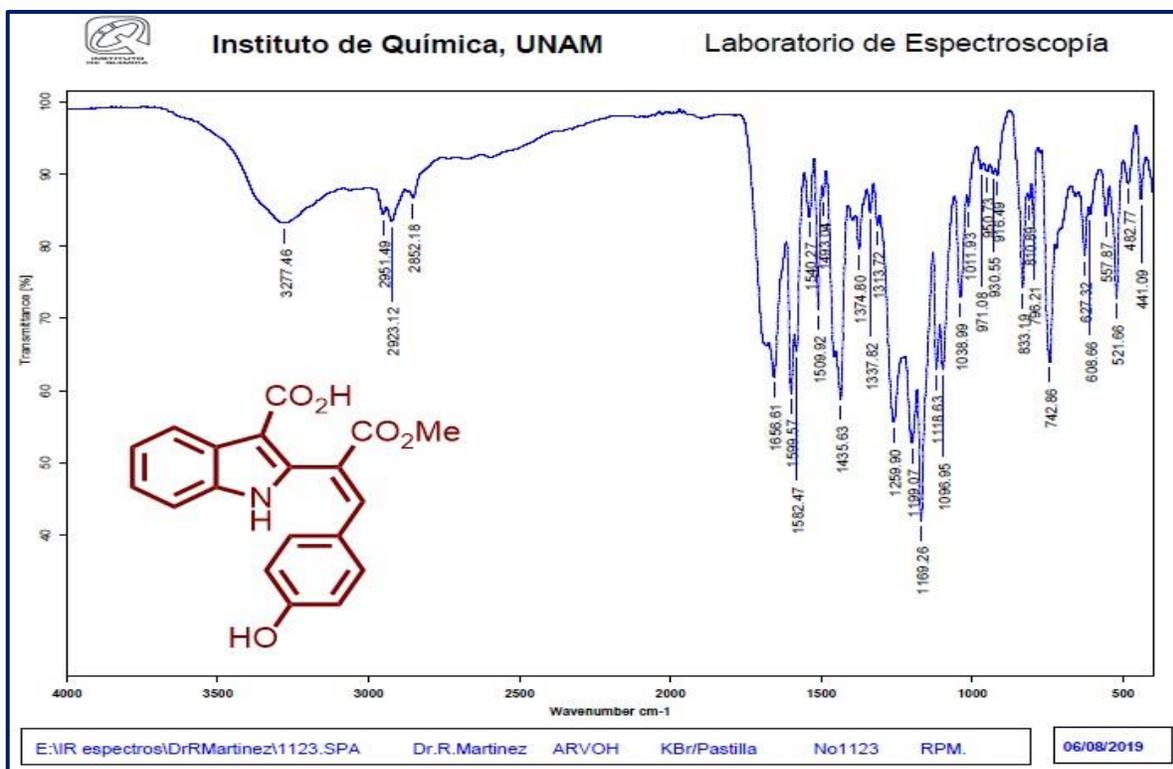


Figura 23. Espectro de IR de 3a.

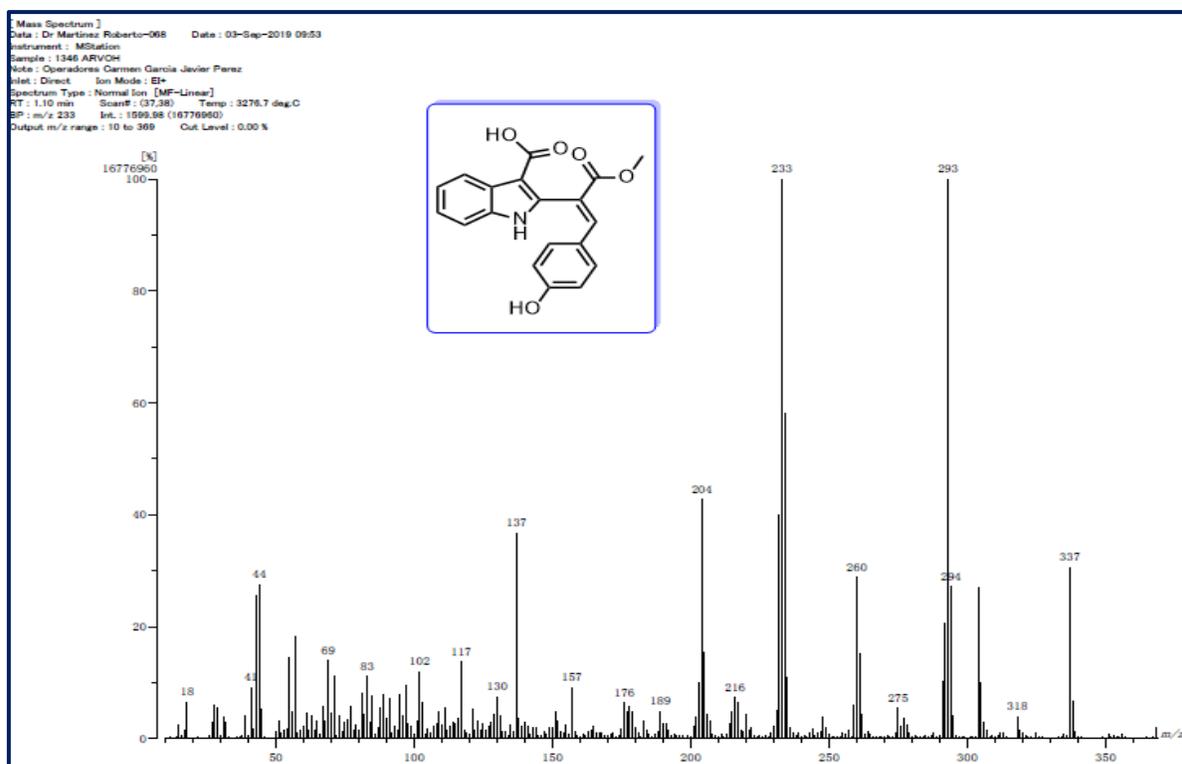


Figura 24. Espectro de Masas de 3a por técnica de I.E.

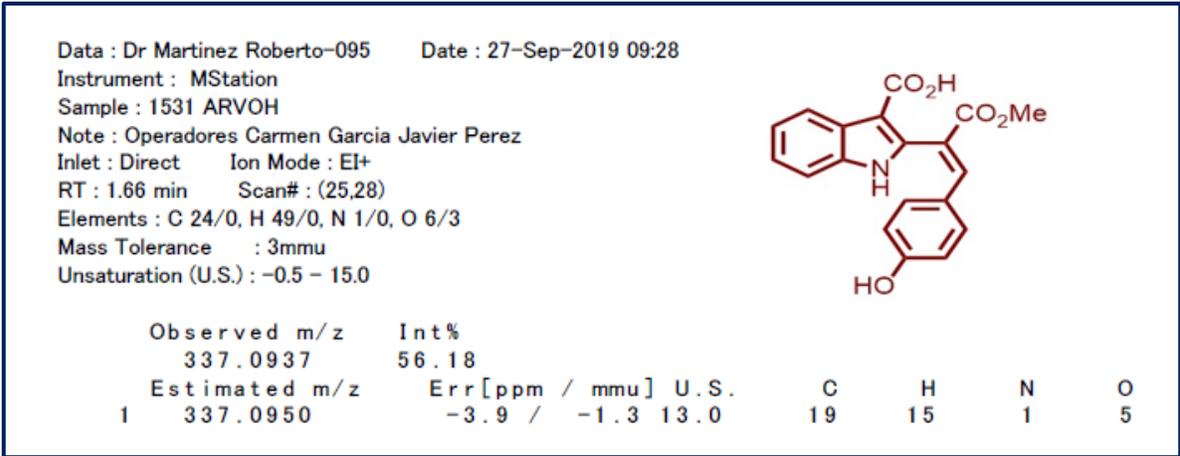


Figura 25. Espectro de masas de alta resolución de **3a** por técnica de I.E.