

Síntesis y caracterización de nuevos híbridos moleculares estirilquinolina-quinazolin-4-ona a partir de (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas

Juan Guillermo Bernal Yepes

Trabajo de Grado para Optar al Título de Químico

Director

Alirio Palma Rodríguez

Químico, *Ph.D.*

Codirector

Diana Marcela Ardila Rodríguez

Química, *M.Sc.* en Química.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Química

Bucaramanga

2024

### **Dedicatoria**

A mis amigos de vida Andrés Ardila “Rolo” y Sebastián Balcucho, por brindarme todo el apoyo necesario para terminar este Trabajo Grado.

### Agradecimientos

El autor expresa sus agradecimientos a:

El profesor Alirio Palma Rodríguez, director del presente proyecto de Grado, por permitirme hacer parte de su grupo de investigación, por su paciencia y dedicación, y, por todos los conocimientos transmitidos sobre la química orgánica.

A Diana Marcela Ardila Rodríguez, co-directora del presente proyecto de Grado, por todos sus aportes como profesional, por su apoyo, y tenerme demasiada paciencia durante este largo proceso.

Los profesores Carlos Mario Sanabria y Juan Manuel Urbina, por su colaboración como evaluadores del presente trabajo.

A la profesora Elena Stashenko del Laboratorio de Cromatografía de la UIS por la toma de los espectros de CG-MS.

El profesor Daniel Molina y Mary Helena Torres del Laboratorio de RMN de la UIS, por la toma de los espectros de RMN.

A mis compañeros del LSO Geraldine, Elizabeth “María” y Diana V pues su compañía se ha convertido en una gran amistad y alegrarme todos los días en el laboratorio.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	14
1. Estado del arte.....	16
1.1 Aspectos biológicos y sintéticos de las quinolinas .....	16
1.2 Aspectos biológicos y sintéticos de las 4-estirilquinolinas.....	20
1.3 Aspectos biológicos y sintéticos de las quinazolin-4-onas .....	25
1.4 Aspectos biológicos y sintéticos de los híbridos moleculares quinolina-quinazolin-4-ona ...	29
2. Objetivos.....	31
2.1 Objetivo General.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
3. Planteamiento del problema e hipótesis.....	32
4. Parte experimental .....	34
4.1 Preparación de las ( <i>E</i> )-2-metil-4-estirilquinolinas 2a-j.....	36
4.2 Preparación de los ( <i>E</i> )-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos 3a-j.....	38
4.3 Síntesis de los híbridos moleculares ( <i>E</i> )-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3 <i>H</i> )-onas 4a-j .....	40
5. Resultados y análisis.....	48
5.1 Síntesis de las ( <i>E</i> )-2-metil-4-estirilquinolinas 2 .....	49
5.2 Síntesis de las ( <i>E</i> )-4-estirilquinolin-2-carbaldehído 3a-j .....	60
5.3 Síntesis de los nuevos híbridos moleculares las ( <i>E</i> )-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3 <i>H</i> )- onas 4a-j.....	70

6. Evaluación de la actividad anticancerígena de los nuevos híbridos moleculares estirilquinolina–quinazolinona 4.....	92
6.1 Generalidades.....	92
6.2 Protocolo y parámetros empleados para la evaluación de la actividad anticancerígena.....	96
6.3 Resultados del ensayo a una dosis (10 $\mu\text{M}$ ) de los compuestos seleccionados. ....	98
6.4 Resultados del ensayo a cinco dosis (100, 10, 1, 0.1, 0.01 $\mu\text{M}$ ) para el derivado 4e. ....	103
6.5 Predicción de propiedades fisicoquímicas <i>in silico</i> . ....	110
7. Conclusiones .....	120
8. Recomendaciones .....	121
Referencias Bibliográficas .....	122
Apéndices.....	133

**Lista de Tablas**

Tabla 1. Diferentes condiciones de reacción empleadas para la síntesis de los nuevos híbridos moleculares <b>4</b> . .....	71
Tabla 2. Masas exactas y observadas para cada una de las combinaciones isotópicas. ....	77
Tabla 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento (GI %) de los compuestos <b>4a-c</b> , <b>4e-j</b> evaluados in vitro a 10 $\mu$ M sobre un panel de 60 líneas celulares de cáncer humano. ....	100
Tabla 4 Concentración de la inhibición del crecimiento (GI <sub>50</sub> , $\mu$ M), concentración de la inhibición total del crecimiento (TGI, $\mu$ M) y la concentración letal (LC <sub>50</sub> , $\mu$ M) del compuesto <b>4e</b> evaluado a cinco concentraciones diferentes sobre todas las líneas celulares de cáncer. ....	105
Tabla 5. Valores promedio (MG-MID) de las concentraciones de inhibición del crecimiento GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)/selectividad para los sub-paneles I-IX, TGI ( $\mu$ M) y LC <sub>50</sub> ( $\mu$ M) sobre los 9 sub-paneles ejercidas por el compuesto <b>4e</b> . ....	109
Tabla 6. Valores de los parámetros de Lipinski óptimos para que un compuesto sea acreedor de un perfil “drug-like”. ....	111
Tabla 7. Parámetros de la Regla de los 5 de Lipinski y ADMET calculados para los derivados <b>4a-j</b> . ....	113

## Lista de Figuras

Figura 1. Fármacos que presentan en sus estructuras el anillo de la quinolina. ....	17
Figura 2. Ejemplos de 4-estirilquinolinas biológicamente activas. ....	21
Figura 3. Fármacos que contienen el anillo de la quinazolin-4-ona en su estructura molecular. .	25
Figura 4. Híbridos quinolina-quinazolin-4-ona con actividad biológica. ....	29
Figura 5. Estructuras generales y numeración de las 4-estiril-2-metilquinolinas <b>2a-j</b> . ....	36
Figura 6. Estructuras generales y numeración de los formil derivados <b>3a-j</b> . ....	38
Figura 7. Estructuras generales y numeración asignada de los híbridos moleculares ( <i>E</i> )-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3 <i>H</i> )-onas <b>4a-j</b> . ....	40
Figura 8. Estructuras generales de los compuestos involucrados en este Trabajo de Grado. ....	49
Figura 9. Espectro de <sup>1</sup> H-RMN y expansión de la zona aromática de la ( <i>E</i> )-4-(2-metilestiril)-2-metilquinolina <b>2b</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). ....	56
Figura 10. Espectro de <sup>13</sup> C-RMN y expansión de la zona aromática de la ( <i>E</i> )-4-(2-metilestiril)-2-metilquinolina <b>2b</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz). ....	58
Figura 11. Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HMBC del derivado <b>2b</b> . ....	59
Figura 12. Espectro de <sup>1</sup> H-RMN y expansión de la zona aromática del ( <i>E</i> )-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehído <b>3b</b> y de su precursor <b>2b</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). ....	67
Figura 13. Espectro de <sup>13</sup> C-RMN y expansión de la zona aromática del ( <i>E</i> )-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehído <b>3b</b> y de su precursor <b>2b</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz). ....	69
Figura 14. Mecanismo de reacción propuesto de la condensación-cicloadición oxidativa para la formación de los híbridos moleculares <b>4a-j</b> . ....	75

Figura 15. Espectro de masas en modo full-scan para <b>4i</b> .....	79
Figura 16. Expansión del espectro de masas en modo <i>full-scan</i> para <b>4i</b> donde se observan las relaciones isotópicas. ....	80
Figura 17. Expansión de la región aromática del espectro de RMN <sup>1</sup> H del híbrido molecular quinolina-quinazolinona <b>4i</b> . ....	86
Figura 18 Ampliación de la zona aromática del espectro de correlación homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H COSY del derivado <b>4i</b> .....	87
Figura 19. Espectro de <sup>13</sup> C-RMN del derivado <b>4j</b> . ....	89
Figura 20. Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HMBC del híbrido <b>4i</b> .....	91
Figura 21. Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HSQC del híbrido <b>4i</b> .....	92
Figura 22. Diagrama de flujo del programa de los ensayos de actividad anticancerígena realizados por el NCI. ....	95
Figura 23. Rangos de la región “ <i>Drug-like</i> ”. ....	114
Figura 24. Radares de biodisponibilidad calculados en <i>SwissADME</i> para el derivado <b>4a-j</b> . ....	115

**Lista de Apéndices**

Apendice A. Espectro IR de 2b.....	133
Apendice B. Espectro UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS de 2b. ....	133
Apendice C. Espectro IR de 3b.....	134
Apendice D. Espectro UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS de 3b. ....	134
Apendice E. Espectro IR de 4i.....	135

**Abreviaturas y acrónimos**

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ATR	Reflectancia Total Atenuada
C	Control de crecimiento
°C	Grados Celsius
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CG-EM	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas
CROM-MASS	Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masas
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESI-IT-MS	Electrospray Ionization-Ion Trap-Mass Spectrometry
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry
eV	Electronvoltio
g	Gramos
GI <sub>50</sub>	Growth Inhibition 50
g/mol	Gramos por mol
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
Hz	Hertzios
IE	Ionización electrónica
IR	Espectroscopía del Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento
LC <sub>50</sub>	Lethal Concentration 50

LSO	Laboratorio de Síntesis Orgánica UIS
M <sup>+</sup>	Ion molecular
MHz	Megahertzios
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
mL	Mililitro
mmol	Milimol
MW	Radiación microondas
m/z	Relación masa sobre carga
NCI	National Cancer Institute
np	Nanopartícula
PC	Porcentaje de Crecimiento
p.f.	Punto de fusión
R <sub>f</sub>	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN- <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
RMN- <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de protones
SNC	Sistema Nervioso Central
TB	Tuberculosis
TGI	Total Growth Inhibition
T <sub>i</sub>	Crecimiento celular en presencia del compuesto en evaluación
TLC	Thin Layer Chromatography
UV-Vis	Espectroscopía del Ultravioleta Visible

## Resumen

**Título:** Síntesis y caracterización de nuevos híbridos moleculares estirilquinolina-quinazolin-4-ona a partir de (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas\*

**Autor:** Juan Guillermo Bernal Yepes\*\*

**Palabras Clave:** quinazolin-4-ona, quinolina, condensación-cicloadición oxidativa.

**Descripción:** El núcleo de quinolina se encuentra en las estructuras químicas de gran variedad de compuestos de origen natural y sintético, que se han caracterizado por exhibir un amplio espectro de actividades biológicas siendo la antifúngica, la antimalárica, la antiasmática, la anticancerígena y la antiinflamatoria las más estudiadas; el anillo de la quinolina se constituye como uno de los andamios privilegiados para el desarrollo de moléculas biológicamente activas. Las quinazolin-4-onas, también, son ampliamente estudiadas por sus propiedades farmacobiológicas relevantes como la anticancerígena, la antimicrobiana, la antidiabética, la anti-VIH, la antihipertensiva y la antituberculosa. Adicionalmente, muchos derivados de la quinolina y de la quinazolin-4-ona frecuentemente se utilizan como bloques de construcción en la síntesis de nuevos candidatos a fármacos. Las aplicaciones terapéuticas que han encontrado los derivados de la quinolina y de la quinazolinona han motivado la síntesis de nuevas moléculas híbridas conformadas por estos dos sistemas heterocíclicos nitrogenados, cuyo estudio de la actividad biológica ha arrojado resultados prometedores. En este contexto, con el objetivo de ampliar los horizontes sintéticos de la metodología de síntesis de 4-estirilquinolinas desarrollada en el LSO de la UIS, en este trabajo se describe una ruta de síntesis de dos etapas para la obtención de nuevos compuestos híbridos con potencial biológico, en cuyas estructuras se conjugan el núcleo de la quinazolin-4-ona con el núcleo de quinolina con un apéndice estirilo en C4. La ruta de síntesis está basada en procesos de oxidación de 2-metilazaarenos y condensación-cicloadición oxidativa de formilquinolinas con la antranilamida.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Química. Director: Alirio Palma Rodríguez. Químico, *Ph.D.* . Codirector: Diana Marcela Ardila Rodríguez. Química, *M.Sc.* en Química

### Abstract

**Title:** Synthesis and characterization of new styrylquinoline-quinazolin-4-one molecular hybrids from (E)-4-styryl-2-methylquinolines\*

**Author(s):** Juan Guillermo Bernal Yepes\*\*

**Key Words:** quinazolin-4-one, quinoline, oxidative condensation-cycloaddition

**Description:** The quinoline nucleus is found in the chemical structures of a wide variety of compounds of natural and synthetic origin, which have been characterized by exhibiting a wide spectrum of biological activities, with antifungal, antimalarial, antiasthmatic, anticancer and anti-inflammatory being the most studied; The quinoline ring constitutes one of the privileged scaffolds for the development of biologically active molecules. Quinazolin-4-ones, also, are widely studied for their relevant pharmacobiological properties such as anticancer, antimicrobial, antidiabetic, anti-HIV, antihypertensive and antituberculosis. Additionally, many quinoline and quinazolin-4-one derivatives are frequently used as building blocks in the synthesis of new drug candidates. The therapeutic applications that quinoline and quinazolinone derivatives have found have motivated the synthesis of new hybrid molecules made up of these two nitrogenous heterocyclic systems, the study of biological activity of which has yielded promising results. In this context, with the aim of expanding the synthetic horizons of the 4-styrylquinolines synthesis methodology developed at the LSO of the UIS, this work describes a two-stage synthesis route to obtain new hybrid compounds with potential biological, in whose structures the quinazolin-4-one nucleus is conjugated with the quinoline nucleus with a styryl appendage at C4. The synthesis route is based on oxidation processes of 2-methylazaarenes and oxidative condensation-cycloaddition of formylquinolines with anthranilamide.

---

\* Degree Work

\*\* Sciences Faculty. Chemistry School. Chemistry. Director: Alirio Palma Rodríguez. Chemist, *Ph.D.* Codirector: Diana Marcela Ardila Rodríguez. Chemist, *M.Sc.* in chemistry.

## Introducción

La síntesis de nuevos compuestos heterocíclicos continúa siendo una de las áreas de investigación de mayor interés para los químicos orgánicos y farmacéuticos, ya que éstos presentan diversas aplicaciones en industrias como la farmacéutica, la alimentaria, la agroquímica, de nuevos materiales y la electrónica, entre otras.(1) En particular, los compuestos heterocíclicos nitrogenados son extensamente estudiados debido a que han exhibido una amplia gama de propiedades biológicas, expresadas en un considerable número de fármacos y, además, por sus utilidades sintéticas, especialmente por su uso como hormas moleculares para el desarrollo de nuevas entidades químicas de interés biológico.(2)

Entre los compuestos heterocíclicos nitrogenados se destacan las quinolinas, pues muchos de sus derivados poseen una amplia variedad de actividades biológicas, siendo la antifúngica, la antimalárica, la antiasmática, la anticancerígena y la antiinflamatoria las más estudiadas.(3–6) Lo mismo se puede decir de las quinazolin-4-onas, que se han estudiado intensamente por sus propiedades relevantes como anticancerígenos, antimicrobianos, antidiabéticos, antipalúdicos, anti-VIH, antihipertensivos y la antituberculosos.(7,8) Esta es la razón por la cual muchos derivados de estos dos sistemas heterocíclicos nitrogenados (quinazolin-4-ona) frecuentemente se utilizan como precursores idóneos en el desarrollo de nuevos candidatos a fármacos,(9–12) dentro de los cuales se pueden encontrar moléculas híbridas conformadas por estos dos sistemas heterocíclicos nitrogenados.(13–15)

Como estrategia de síntesis de esta clase de compuestos híbridos se emplea con frecuencia la hibridación molecular, la cual se basa en la combinación de dos o más fragmentos farmacofóricos de moléculas bioactivas en una sola entidad molecular con propiedades biológicas

específicas y/o potencialmente mejoradas en comparación con las de sus compuestos progenitores.(16)

En este contexto de la hibridación molecular, en el presente Trabajo de Grado se definió como objeto central de estudio expandir los alcances sintéticos de la metodología desarrollada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS para crear series de 4-estirilquinolinas 2,3-disustituidas, mediante la transformación racional y efectiva de (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas(17–19) en los nuevos híbridos moleculares (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas. Debido a que en la literatura especializada no existen reportes sobre esta clase de híbridos moleculares, en este trabajo se están reportando por primera vez, su síntesis y caracterización estructural. Adicionalmente, con el fin de recabar información sobre su potencial biológico, se propició el estudio de su actividad antiproliferativa en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos (NCI).

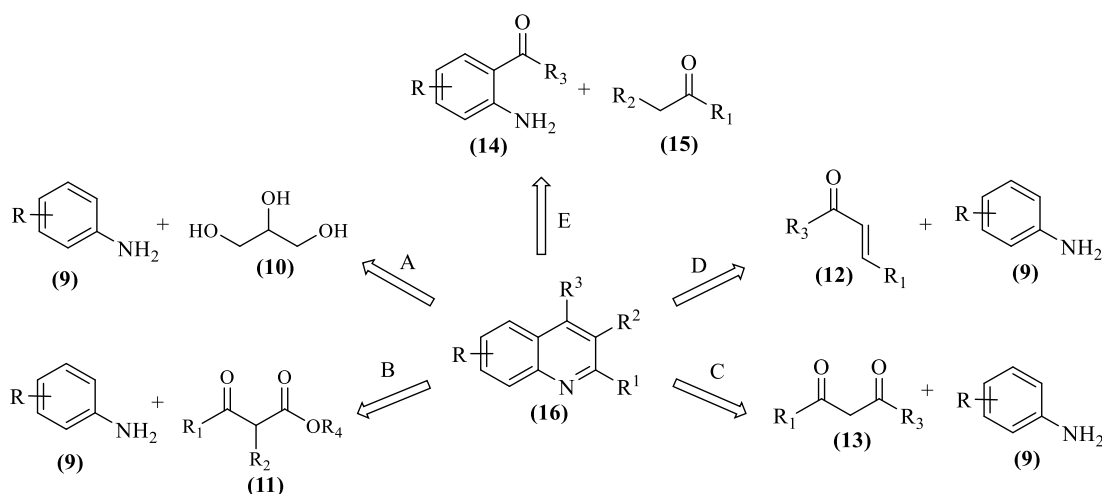
## 1. Estado del arte

### 1.1 Aspectos biológicos y sintéticos de las quinolinas

La quinolina es un compuesto aromático heterocíclico, cuya estructura resulta de la fusión de un anillo de benceno a la cara *b* del núcleo de la piridina. Este sistema heterocíclico nitrogenado siempre ha llamado la atención de los químicos debido, principalmente, a su omnipresencia en la naturaleza (como parte constitutiva de la estructura de múltiples productos naturales de relevancia biológica). Los compuestos quinolínicos, en general, se caracterizan por sus manifestaciones biológicas notables y de amplio espectro,(4) lo que, a su vez, ha estimulado la creatividad de los químicos orgánicos para proponer modificaciones o funcionalizaciones racionales a las estructuras originales, con el objetivo de crear nuevas librerías químicas de compuestos para investigaciones biológicas y medicinales adicionales.(20) En la práctica clínica se emplean diferentes fármacos desarrollados sobre la base del núcleo de la quinolina como, por ejemplo, el antifúngico clioquinol (**1**), los antimaláricos cloroquina (**2**) y quinina (**3**), el antiasmático montelukast (**4**), y los anticancerígenos topotecán (**5**), irinotecán (**6**), camptotecina (**7**) y el bosutinib (**8**), (Figura 1). (3,5,6,21)



La reacción de *Friedländer*, que es de interés directo para la presente investigación, puede ser catalizada por ácidos o bases, aunque en la mayoría de los casos se prefieren los catalizadores ácidos,(31,32) los cuales pueden ser ácidos de *Brønsted*, como los ácidos acético, clorhídrico, sulfúrico y el ácido *p*-toluenosulfónico, y ácidos de *Lewis* como el cloruro de hierro (III), el perclorato de magnesio y el cloruro de aluminio, entre otros.(31,33) Además de los catalizadores recién mencionados, también se ha reportado el uso de líquidos iónicos y de la irradiación de microondas como promotores de la reacción de *Friedländer*, que han demostrado ser muy útiles en la optimización de los procesos de síntesis, ya que aceleran la reacción y mejoran el rendimiento y la selectividad de la misma.(34,35)

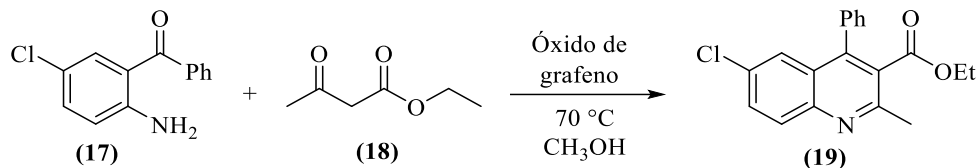


**Esquema 1.** Principales rutas sintéticas clásicas para la síntesis de quinolinas.

Teniendo en cuenta que, para la síntesis de los precursores primarios del presente Trabajo de Grado, es decir, las 4-estirilquinolinas, se empleará como enfoque de síntesis la reacción de *Friedländer*, a continuación, en esta sección, se describirán sólo metodologías de síntesis basadas en dicha reacción.

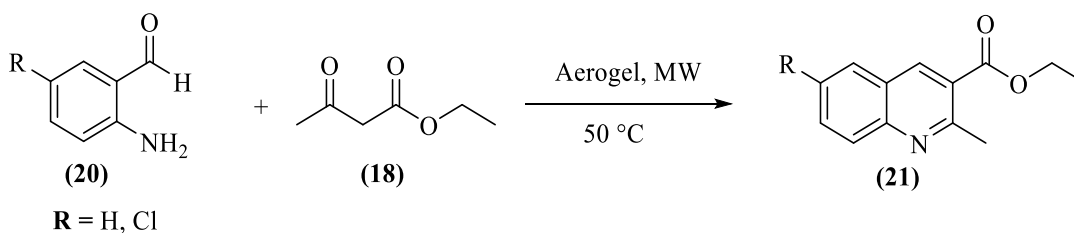
Así, el trabajo reportado por *Singhal* y *colaboradores*(36) describe la preparación efectiva (98%) de la 6-cloro-4-fenil-2-metilquinolina-3-carboxilato de etilo (19) por ciclo-condensación de

la (2-amino-5-clorofenil)(fenil)metanona (**17**) con el acetoacetato de etilo (**18**) en la presencia de óxido de grafeno como catalizador de la reacción de *Friedländer*(Esquema 2).



**Esquema 2.** Síntesis de la quinolina (**19**) reportada por Singhal y colaboradores.

Otro ejemplo que demuestra la versatilidad de la reacción de *Friedländer* es el trabajo reportado por Godino y colaboradores,(37) en el que reportaron la síntesis de las quinolinas (**21**) a partir de los 2-aminobenzaldehídos (**20**) y el acetoacetato de etilo (**18**), promoviendo la reacción con irradiación de microondas en la presencia de nano aerogeles; en estas condiciones de reacción, los productos de *Friedländer* (**21**) fueron aislados con rendimientos del 60-65% (Esquema 3).



**Esquema 3.** Síntesis de las quinolinas (**21**) descrita por Ojer y colaboradores.

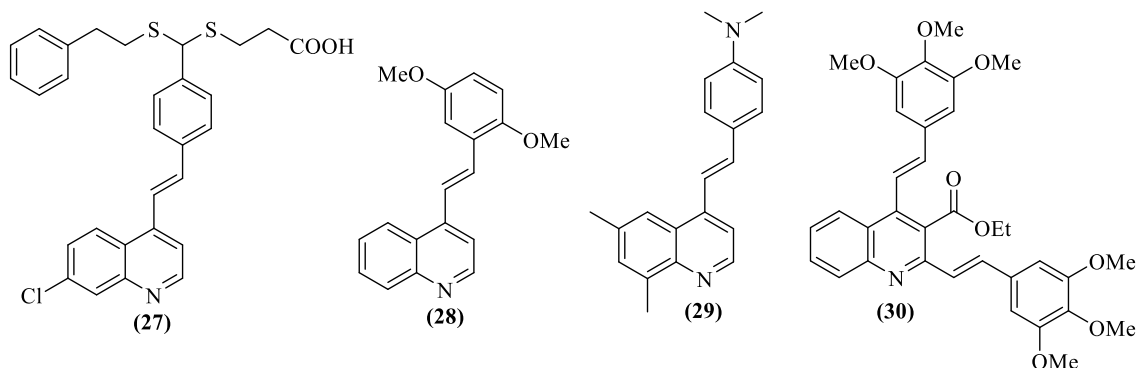
Gopi y Sarveswari(38) realizaron la reacción de *Friedländer* con la 2-aminobenzofenona (**17**) y los compuestos 1,3-dicarbonílicos (**22**), usando ácido clorhídrico como catalizador de la reacción; los productos de *Friedländer* (**23**) se obtuvieron con rendimientos del 60 al 66% (Esquema 4).

## 1.2 Aspectos biológicos y sintéticos de las 4-estirilquinolinas

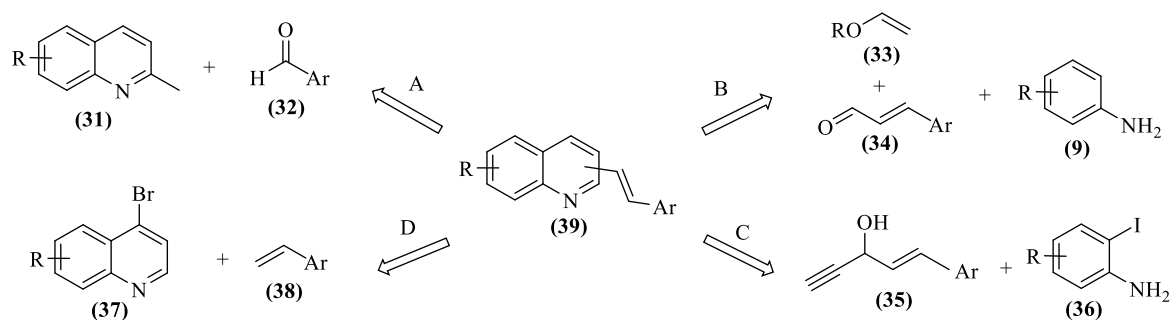
Dentro del variado arsenal de derivados quinolínicos que se han sintetizado y que han sido estudiados por sus promisorias actividades biológicas, se encuentran las estirilquinolinas. Esta clase de compuestos se caracteriza por presentar un fragmento estirilo ubicado, generalmente, en las posiciones C2, C3 o C4 del anillo de la quinolina. Las estirilquinolinas se han asociado con una amplia gama de bioactividades, entre las que se destacan la anticancerígena, la antifúngica, la antibacteriana, la anti-SIDA y la anti-Alzheimer.(39–43) Para el presente Trabajo de Grado, las 4-estirilquinolinas son de especial relevancia debido a que son parte constitutiva de la estructura química de los compuestos finales objeto de estudio. En la Figura 2 se muestran las estructuras de algunas 4-estirilquinolinas que han revelado actividad biológica significativa, éstas son: el compuesto denominado LV-320 (**27**), un inhibidor de la cisteína proteasa ATG4B, la cual es un enzima involucrada en la autofagia que se vincula con trastornos cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer;(44) la (*E*)-4-(2,5-dimetoxiestiril)quinolina (**28**) posee actividad pro-apoptótica sobre la línea celular del cáncer de mama MCF-7;(45) el derivado (**29**),(46) un agente anticancerígeno contra el cáncer de cuello uterino y, finalmente, la 2,4-bis((*E*)-3,4,5-trimetoxiestiril)quinolina-3-carboxilato de etilo (**30**),(47) que presentó actividad antitumoral frente a las líneas celulares de cáncer A549, HT29 y T24.

**Figura 2**

*Ejemplos de 4-estirilquinolinas biológicamente activas.*



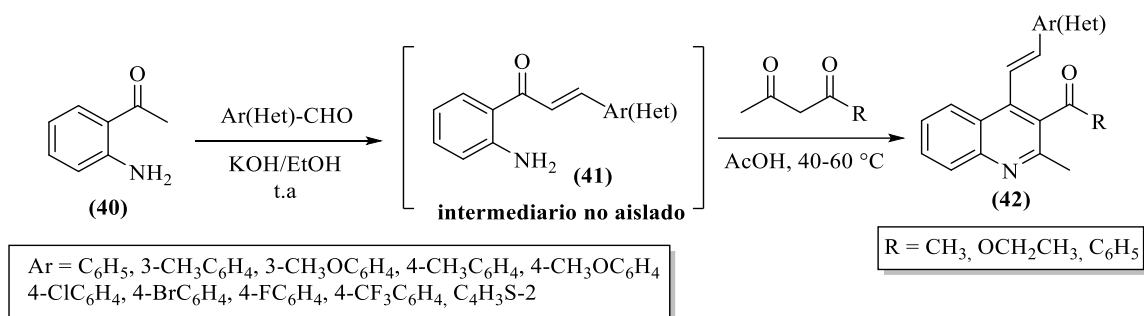
En el Esquema 6 se resumen las cuatro metodologías sintéticas comúnmente empleadas en la preparación de estirilquinolinas. La primera de ellas se fundamenta en la reacción de condensación de tipo *Knoevenagel* entre las 2-metilquinolinas (**31**) y diferentes aldehídos aromáticos (**32**) (Esquema 6, ruta A)(48); la segunda consiste en la reacción de tres componentes de tipo *Povarov* con participación de las anilinas (**9**), los cinamaldehídos (**34**) y los éteres vinílicos (**33**), y la subsecuente aromatización (Esquema 6, ruta B)(49); la tercera es una reacción de acoplamiento-isomerización entre las 2-bromo/iodo anilinas (**36**) y los alcoholes propargílicos sustituidos (**35**) catalizada por metales de transición (Esquema 6, ruta C)(50); y la cuarta consiste en el acoplamiento  $C_{sp^2}$ - $C_{sp^2}$  tipo *Heck* de las haloquinolinas (**37**) con los estirenos (**38**), usando diferentes sistemas catalíticos de paladio (Esquema 6, ruta D).(51–53)



**Esquema 6.** Principales rutas sintéticas para la síntesis de estililquinolinas.

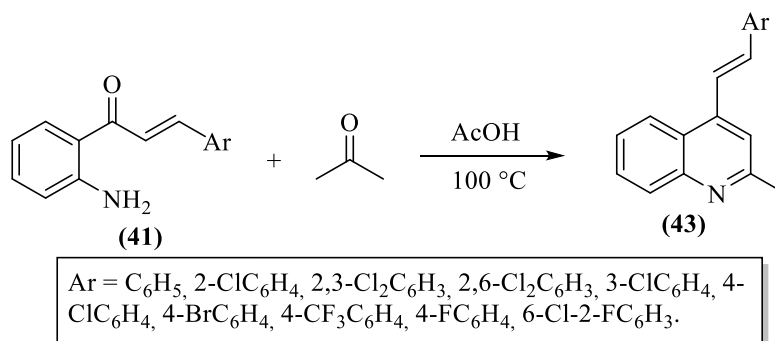
A continuación, se citan trabajos que describen otras metodologías alternas para acceder a 4-estirilquinolinas.

Por ejemplo, recientemente, en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS se desarrolló e implementó con éxito una metodología de síntesis “one-pot” de dos pasos secuenciales para la preparación de las 4-estirilquinolinas 2,3,4-trisustituidas (**42**) partiendo de la 2'-aminoacetofenona (**40**) como precursor clave (Esquema 7).(55-56) Para lograr este cometido, en el primer paso, se llevó a cabo la reacción de condensación de *Claisen-Schmidt* entre la 2'-aminoacetofenona y diferentes aldehídos aromáticos para obtener las 2'-aminochalconas (**41**). Después de confirmar la formación de los intermediarios (**41**), sin aislarlos, se ajustó el pH de la reacción con ácido acético glacial hasta pH ligeramente ácido y se adicionaron los compuestos 1,3-dicarbonílicos seleccionados (2,4-pentanodiona, acetoacetato de etilo y benzoilacetona), para producir, en el segundo paso, las 4-estirilquinolinas deseadas (**42**) vía la reacción de *Friedländer* catalizada por el ácido acético. La metodología recién descrita se constituyó en una alternativa más eficiente y económica que la descrita originalmente por *Palma y colaboradores*,(32) en la que se partía de las chalconas (**41**), previamente preparadas y caracterizadas.



**Esquema 7.** Síntesis “one-pot” de las 4-estirilquinolinas (**42**) desarrollada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO).

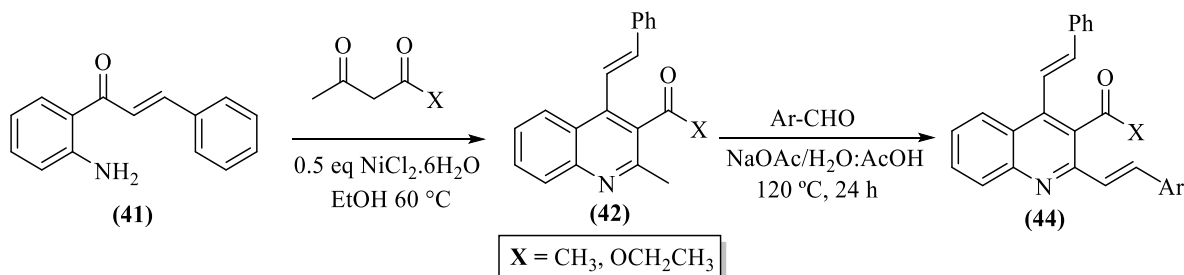
Este mismo enfoque se adaptó con éxito en la preparación efectiva (77-94%) de las 4-estiril-2-metilquinolinas (**43**) por reacción de las chalconas (**41**) con un exceso de acetona en ácido acético glacial a 100 °C (Esquema 8).(17,19) Las 4-estirilquinolinas (**43**) se relacionan directamente con los objetivos del presente Trabajo de Grado debido a que serán los precursores estratégicos de los híbridos moleculares objeto de estudio.



**Esquema 8.** Síntesis de las 2-metil-4-estirilquinolinas (**43**).

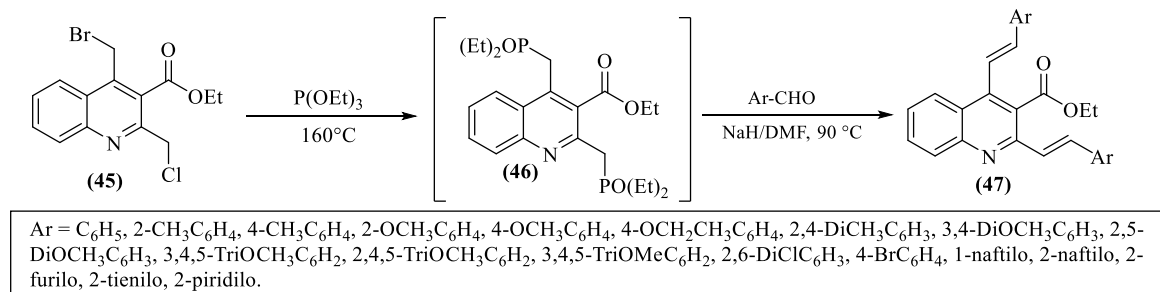
Similarmente, en el año 2019, *Ilangovan y su equipo*(56) también reportaron el uso de las 2'-aminochalcona (**41**) como andamio estructural adecuado para la síntesis de 4-estiril-quinolinas del tipo (**42**), pero catalizando la reacción de *Friedländer* con cloruro de níquel hexahidratado. Además, prepararon las 2,4-bis-estirilquinolinas (**44**) por reacción de condensación tipo

*Knoevenagel* de algunas de las estirilquinolinas (**42**) con diferentes aldehídos aromáticos en presencia de acetato de sodio, usando una mezcla de ácido acético y agua (Esquema 9).



**Esquema 9.** Síntesis de las 2,4-bis-estirilquinolinas (**44**) reportada por Ilangovan y colaboradores.

Con un enfoque de síntesis alterno, Gao y colaboradores(47) accedieron a las 2,4-bis((*E*)-estiril)quinolina-3-carboxilatos (**47**) con rendimientos del 71-85%, a través de una metodología “one-pot” basada en la reacción de *Arbuzov* en combinación con la olefinación de tipo *Horner-Wadsworth-Emmons* (*HWE*). Los autores, inicialmente, prepararon la quinolina intermediaria (**46**) vía la reacción de *Arbuzov*, calentando a 160 °C el 4-(bromometil)-2-(clorometil)quinolina-3-carboxilato de etilo (**45**) y el trietilfosfito, y luego, *in situ*, promovieron la olefinación de tipo *Horner-Wadsworth-Emmons* (*HWE*) de (**46**) adicionando al medio de reacción diferentes aldehídos aromáticos en la presencia de hidruro de sodio en DMF a 90 °C (Esquema 10).



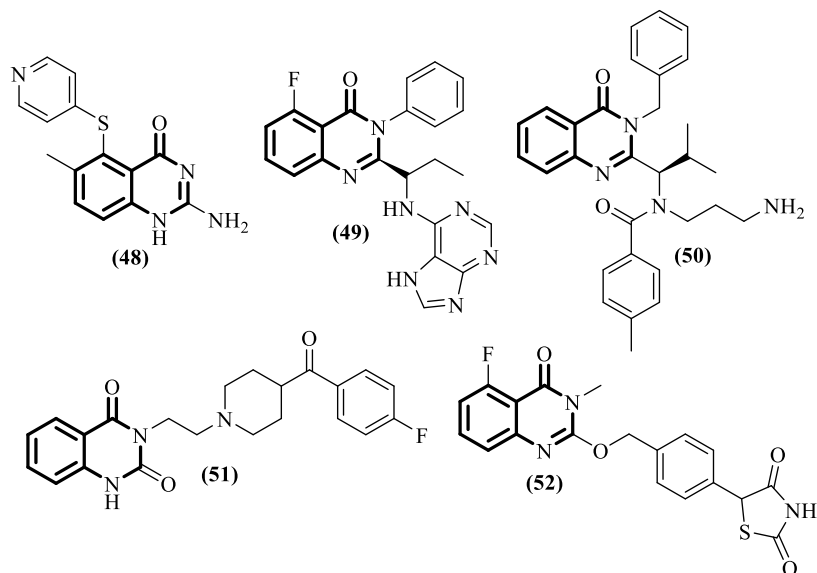
**Esquema 10.** Síntesis de las 2,4-bis((*E*)-estiril)quinolina-3-carboxilatos de etilo (**47**) reportada por Gao y colaboradores.

### 1.3 Aspectos biológicos y sintéticos de las quinazolin-4-onas

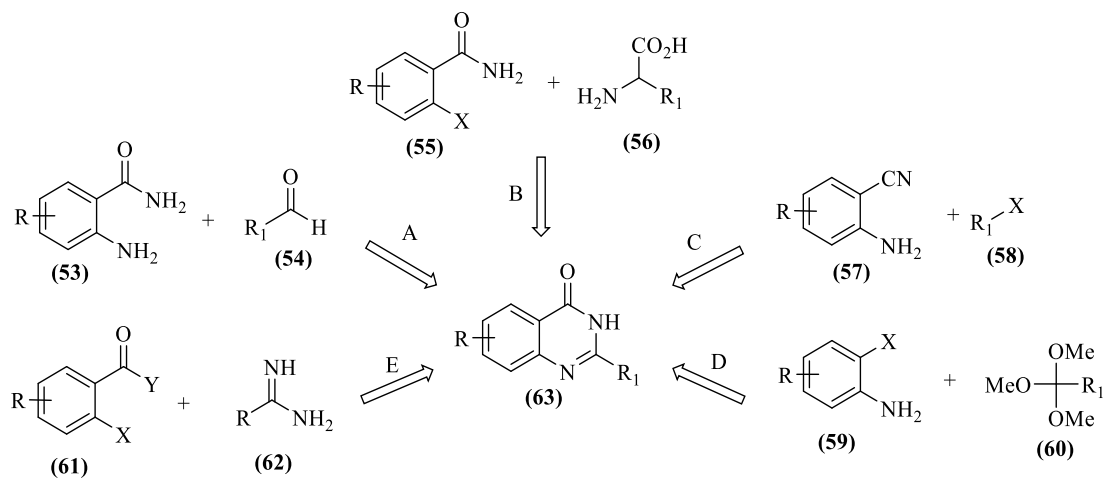
Las quinazolin-4-onas son compuestos orgánicos heterocíclicos nitrogenados, cuya estructura química consiste en un sistema bicíclico compuesto de un anillo de benceno fusionado por la cara *e* del anillo de la pirimidin-4(3*H*)-ona. El sistema de la pirimidin-4(3*H*)-ona también es considerado como una estructura privilegiada, y muchos de sus derivados han suscitado gran interés por el enorme potencial terapéutico que han exhibido, especialmente como agentes anticancerígenos, antimicrobianos, antidiabéticos, antipalúdicos, anti-VIH, antihipertensivos, y antituberculosos, entre otros.(7,8) Sobre la base de este sistema heterocíclico se han desarrollado fármacos que actualmente se prescriben en la práctica clínica, como los anticancerígenos nolatrexed (**48**), idelalisib (**49**) y el ispinesib (**50**);(7,8) como el antihipertensivo ketanserina (**51**);(8) y como el antidiabético balaglitazona (**52**), (Figura 3).(7,8,57)

#### Figura 3

*Fármacos que contienen el anillo de la quinazolin-4-ona en su estructura molecular.*



La síntesis de las quinazolin-4-onas ha sido objeto de intensa investigación.(7) En el Esquema 11 se resumen las rutas sintéticas empleadas frecuentemente para la construcción de este núcleo, las cuales, en esencia, representan procesos de condensación-ciclación intramolecular oxidativa o de sustitución nucleofílica aromática-ciclocondensación. Una de las metodologías más utilizada implica la reacción entre diferentes aldehídos y derivados de la 2-aminobenzamida bajo condiciones oxidativas (Esquema 11, ruta A).(58) Otras se basan en la reacción de *o*-halobenzamidas con alfa-aminoácidos o sus derivados (Esquema 11, ruta B), de *o*-aminobenzonitrilos con haluros de alquilo (Esquema 11, ruta C), de *o*-haloanilinas con ortoésteres (Esquema 11, ruta D), y de ácidos *o*-halobenzoicos o *o*-halobenzoatos con amidinas (Esquema 11, ruta E). (9–12)

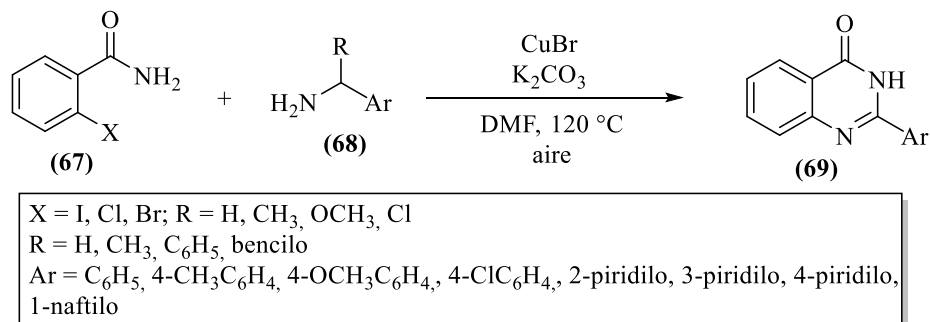


**Esquema 11.** Principales rutas sintéticas para acceder a derivados de la quinazolin-4-ona.

Por guardar estrecha relación con algunos de los objetivos de esta investigación, en este apartado se presentan ejemplos representativos de metodologías de síntesis de quinazolin-4-onas basadas en enfoques similares al de la Ruta A del Esquema 11. Así, el trabajo reportado por López y colaboradores(59) describe una ruta sintética redox “one-pot”, mediante la cual accedieron a las

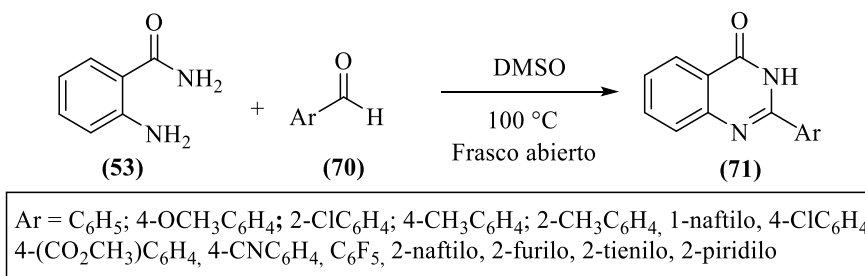


productos de interés (**69**) ocurre, dependiendo del sustituyente R, por la pérdida de una molécula de hidrógeno, de metano, de benceno o de tolueno.



**Esquema 13.** Síntesis de las 2-arylquinazolin-4-onas (**69**) reportada por Tang y colaboradores.

Una metodología alterna, que se tomará como punto de referencia para cumplir con los objetivos del presente Trabajo de Grado, es la descrita por Cheon y colaboradores,<sup>(61)</sup> quienes describen cómo a través de la reacción de condensación-cicloaddición oxidativa de la 2-aminobenzamida (**53**) y los correspondientes aldehídos aromáticos (**70**), en DMSO y en contacto con el aire, se puede acceder a las quinazolin-4-onas (**71**) con rendimientos del 42-98% (Esquema 14).



**Esquema 14.** Síntesis de quinazolin-4-onas 2-sustituidas (**71**) reportadas por Cheon y colaboradores.

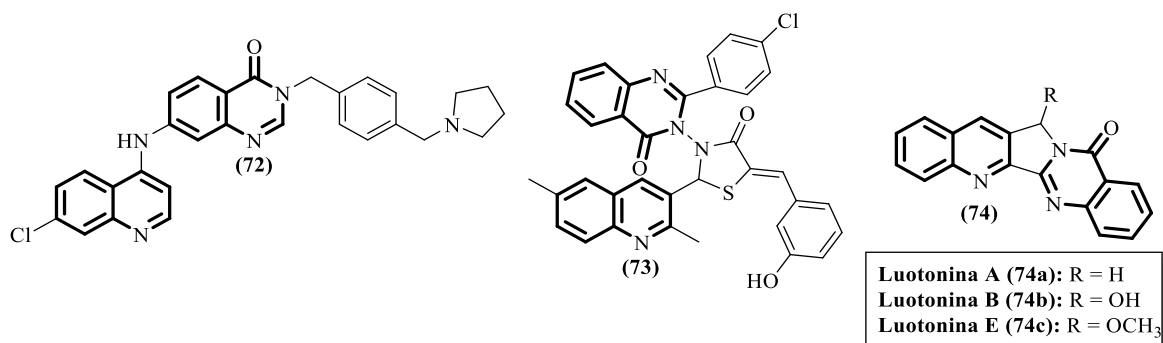
*Mohammed y colaboradores*(62) también prepararon quinazolin-4(3*H*)-onas del tipo (71), pero utilizando yodo como catalizador en DMSO y oxígeno como agente oxidante.

#### 1.4 Aspectos biológicos y sintéticos de los híbridos moleculares quinolina-quinazolin-4-ona

Como ya se comentó, la literatura especializada destaca la amplia gama de aplicaciones farmacológicas de los derivados de la quinolina y de la quinazolin-4-ona, por lo que se podría esperar que la conjugación de estas dos estructuras farmacofóricas en una única entidad molecular podría resultar en compuestos híbridos con un potencial biológico mejorado. Curiosamente, existen muy pocos reportes sobre la síntesis y el estudio de la actividad biológica de esta clase de híbridos moleculares. No obstante, en los pocos estudios realizados, se han identificado compuestos (Figura 4) con propiedades biológicas interesantes, como el antimalárico (72), el agente antifúngico y antibacteriano (73), (13,14) y los alcaloides luotonina A, B y E (74), aislados de la planta medicinal china *Peganum nigellastrum*; la luotonina A (74a), por ejemplo, reveló actividad citotóxica destacada.(15,63,64)

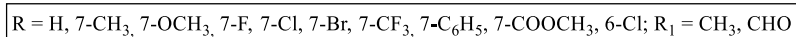
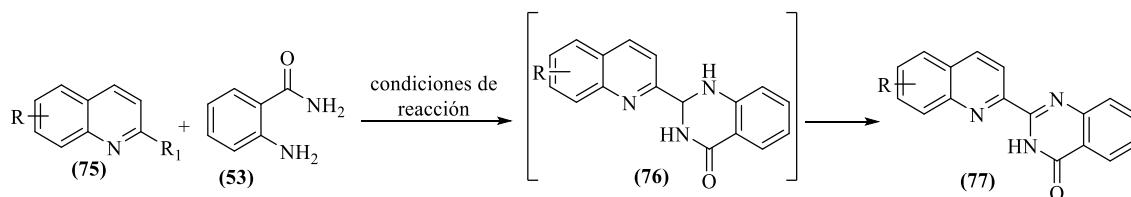
#### Figura 4

*Híbridos quinolina-quinazolin-4-ona con actividad biológica.*



Las rutas sintéticas descritas para la preparación de híbridos del tipo 2-(quinolin-2-il)-quinazolin-4(3*H*)-ona (77), (Esquema 15), estructuralmente similares a los compuestos objeto de estudio de este trabajo, están centradas en la reacción de condensación-cicloadición oxidativa de

derivados de la 2-aminobenzamida con 2-metilquinolinas, usando como catalizador iodo molecular en DMSO y en atmósfera de oxígeno molecular como agente oxidante,(62,65–67) o con 2-formilquinolinas en etanol y DDQ como agente oxidante;(68) este último proceso de ciclocondensación también se suele catalizar con el ácido de *Brønsted* [Ps<sub>2</sub>TMEDA][HSO<sub>4</sub>]<sub>2</sub> N,N,N',N'-tetrametil-N,N'-dipropanosulfónico etilendiamonio hidrogenosulfato en etanol y aire como fuente de oxígeno molecular, (65) o sin disolvente en atmósfera de aire. La presencia del agente oxidante es necesaria para promover la aromatización de la dihidroquinazolin-4-ona intermediaria (**76**) que se forma en todos los casos.



Condiciones de reacción: 1. 10 mol % I<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, DMSO, 110 °C; 2. DDQ/EtOH. 3. [Ps<sub>2</sub>TMEDA][HSO<sub>4</sub>]<sub>2</sub>, EtOH, 80 °C, aire; 4. aire, 120 °C

**Esquema 15.** Síntesis de las 2-(quinolin-2-il)-quinazolin-4-onas (**77**) reportada por

Wang y colaboradores.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo General

Desarrollar nuevos híbridos moleculares centrados en los núcleos farmacofóricos de la quinolina y la quinazolin-4-ona con un apéndice estirilo en C4 de la quinolina, utilizando como enfoque de síntesis las reacciones de oxidación y ciclocondensación oxidativa de 2-metil-4-estirilquinolinas **2**.

### 2.2 Objetivos Específicos

Preparar los precursores estratégicos, las (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas **2**.

Transformar las 4-estiril-2-metilquinolinas **2** en los correspondientes (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos **3**.

Encontrar las mejores condiciones de reacción para convertir los (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos **3** en los híbridos moleculares (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4**.

Realizar la caracterización estructural de los compuestos de interés **4**.

### 3. Planteamiento del problema e hipótesis

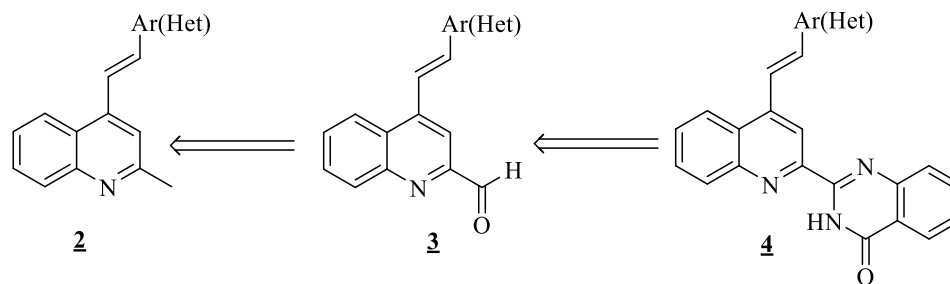
De la información recopilada en la sección del estado del arte se constata el interés permanente de los químicos orgánicos y medicinales en los compuestos heterocíclicos nitrogenados, concretamente en aquellos en cuyas estructuras se encuentran conjugados el fragmento estirilo con los núcleos de la quinolina y la quinazolin-4-ona. Igual constatación es válida para los híbridos moleculares quinolina-quinazolin-4-ona, aunque, como quedó consignado, para esta clase de compuestos es muy poca la información de carácter sintético y biológico disponible en la literatura especializada.

Teniendo en consideración lo recién expuesto, en el presente Trabajo de Grado se definió como objeto central de estudio la ampliación del alcance sintético de la metodología de síntesis de 4-estirilquinolinas polifuncionalizadas desarrollada en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS,(32,54,55) mediante la construcción eficiente de nuevos híbridos moleculares del tipo (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-ona a partir de las ya descritas (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas. Siguiendo esta directriz, se planteó la siguiente pregunta de investigación: ¿será viable y racional abordar la creación de una serie nueva de híbridos moleculares 4-estirilquinolina-quinazolin-4-ona a través de procesos sucesivos de oxidación y ciclocondensación oxidativa de (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas?

Adicionalmente, teniendo en cuenta que no existen reportes en la literatura especializada sobre la síntesis de los compuestos objeto de estudio, su preparación y caracterización estructural serán, sin duda alguna, aspectos de interés para la química orgánica sintética y medicinal, quedando así justificada plenamente la realización de esta investigación. Asimismo, con el ánimo

de recabar información sobre el potencial biológico de los compuestos finales objeto de estudio, éstos serán propuestos y posteriormente enviados al Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos (NCI-USA), en donde evaluarán su actividad antiproliferativa frente a un panel de 60 líneas celulares de nueve tipos de cáncer humano.

La hipótesis del presente Trabajo de Grado se explica mejor a través del esquema retro sintético simplificado 16, la cual consistía en demostrar que las (*E*)-2-metil-4-estirilquinolinas **2** sí son precursores estratégicos adecuados para realizar en dos etapas (oxidación y ciclocondensación oxidativa) la síntesis de los híbridos moleculares de interés (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4**.



**Esquema 16.** Esquema retro sintético simplificado para los nuevos híbridos (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4**.

En este punto, es preciso mencionar que este Trabajo de Grado está enmarcado dentro de los objetivos globales de la Tesis Doctoral de la estudiante de Doctorado en Química Diana Marcela Ardila Rodríguez.

#### 4. Parte experimental

Los reactivos y disolventes utilizados en la síntesis de los compuestos intermedios y finales fueron de grado de pureza para síntesis de las marcas Merck, Sigma-Aldrich, J. T. Baker y Alfa Aesar.

El avance de las reacciones fue monitoreado por cromatografía de capa fina (CCF), empleando cromatofolios Merck AL TLC de sílica gel 60 F<sub>254</sub>, los cuales fueron revelados en una cámara UV-VIS SPECTROLINE Model CM-10 ( $\lambda = 366$  y  $254$  nm), o en una solución etanólica de los ácidos fosfomolibdico-sulfúrico. Los compuestos intermedios se purificaron por cromatografía en columna, empleando gel de sílice (70-230 y 230-400 Mesh) como fase estacionaria, y mezclas de hexano-acetato de etilo como fase móvil. Las fracciones de los productos obtenidos se concentraron en un roto evaporador Büchi R-200 acoplado a un sistema de vacío Büchi V-700. Los productos finales fueron aislados por filtración empleando un embudo con capa filtrante de grado de porosidad 4 (15  $\mu\text{m}$ ).

Los compuestos aislados como productos sólidos fueron recristalizados de cloroformo-acetato de etilo y sus puntos de fusión (no corregidos) determinados en un fusiómetro Mel-Temp 1201D; el valor reportado corresponde al promedio de tres determinaciones consecutivas.

Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrómetro Jasco modelo 4X con módulo de platino ATR, perteneciente al Laboratorio Instrumental de Análisis Químico de la UIS, con un rango de medición entre los 400 a los 3500  $\text{cm}^{-1}$ .

El análisis de todos los compuestos también se realizó en un cromatógrafo líquido UHPLC Dionex UltiMAte 3000 (Thermo Scientific, Germering, Alemania) acoplado a un espectrómetro

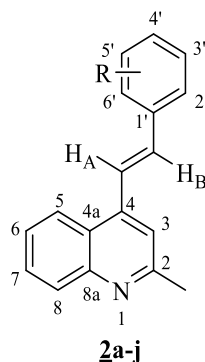
de masas, con una interfaz de ionización por electro nebulización (ESI), operado en modo positivo, con un detector de masas Orbitrap (Thermo Scientific, Germering, Alemania). La separación cromatográfica se realizó en una columna Hypersil GOLD aQ (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE. UU., 100 mm x 2.1 mm de d.i., 1.9  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula). El caudal de la fase móvil fue de 300  $\mu\text{L}/\text{min}$ , conformada por (A) agua (0.2% ácido fórmico) y (B) acetonitrilo (0,2% ácido fórmico). La condición de gradiente inicial fue 30% B, que cambió a 100% B en 6 min, se mantuvo durante 9 min, cambio a 30% en 15 min y se mantuvo durante 5 min. El volumen de inyección fue de 2  $\mu\text{L}$ . El voltaje del capilar fue 3.5 kV. La temperatura del nebulizador se fijó en 350  $^{\circ}\text{C}$  y la temperatura del capilar en 320  $^{\circ}\text{C}$ . El gas de secado y gas auxiliar ( $\text{N}_2$ ) se ajustaron a 40 y 10 unidades arbitrarias, respectivamente. Los iones inyectados se fragmentaron con energías de colisión normalizadas por pasos de 10 eV a 40 eV. El rango de masas escaneado en el espectrómetro de masas fue de  $m/z$  80-1000. Los datos se analizaron con el software Thermo Xcalibur 3.1 (Thermo Scientific, San José, CA, USA). El análisis de los compuestos se llevó a cabo con el espectro de masas, las relaciones isotópicas y las fórmulas moleculares exactas.

Los espectros de resonancia magnética nuclear unidimensionales RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , así como los bidimensionales de correlación homonuclear COSY y heteronuclear HMBC y HSQC fueron registrados en un espectrómetro BRUKER AVANCE III-400, empleando cloroformo ( $\text{CDCl}_3$ ) como disolvente y estándar interno. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) de los hidrógenos y carbonos se reportan en partes por millón (ppm), y en hertzios (Hz), las constantes de acoplamiento ( $J$ ). Las multiplicidades de los hidrógenos y carbonos se reportan de la siguiente manera: q = cuartete, t = triplete, d = doblete, s = singulete y m = multiplete. El equipo de resonancia magnética nuclear es de propiedad del Laboratorio de RMN de la UIS.

#### 4.1 Preparación de las (E)-2-metil-4-estirilquinolinas **2a-j**

##### Figura 5

Estructuras generales y numeración de las 4-estiril-2-metilquinolinas **2a-j**.



##### Metodología general.

La síntesis de las 4-estirilquinolinas **2a-j** se abordó adaptando la metodología de dos pasos independientes desarrollada en el LSO(17,54,55). Para ello, en sendos balones de fondo redondo de 25 mL de volumen se disolvieron 3.0 mmol de hidróxido de potasio en 2.5 mL de etanol, posteriormente, se adicionó la 2'-aminoacetofenona (1.0 mmol) y, después de cinco minutos de agitación a la temperatura del ambiente, los aldehídos aromáticos seleccionados (1.2 mmol). Las mezclas de reacción se dejaron en agitación constante a la temperatura del ambiente durante 2-3 horas. Una vez se verificó el consumo total 2'-aminoacetofenona (por control por CCF) y la formación de un nuevo producto correspondiente a la correspondiente 2'-aminochalcona **1**, las reacciones se detuvieron y los sólidos formados se filtraron en un embudo con capa filtrante, se lavaron con una mezcla de etanol-agua fría 20:80 (2 x 20 mL) y, finalmente, se secaron al vacío en un horno Büchi a 60 °C. Las 2'-aminochalconas **1**, a continuación, en el segundo paso, fueron transformadas en las correspondientes 4-estiril-2-metilquinolinas **2**. Para tal efecto, en sendos balones de fondo redondo de 25 mL de capacidad, las 2'-aminochalconas **1** (1.0 mmol) se

disolvieron en ácido acético glacial (3.0 mL/mmol), y seguidamente se adicionó la acetona (12.0 mmol). Las mezclas de reacción resultantes, en agitación constante, fueron calentadas a 80 °C durante 13-17 horas. Una vez completada la reacción (verificada por CCF), los crudos de reacción se transfirieron sobre agua destilada (50 mL) y se neutralizaron con bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>). Posteriormente, se extrajeron utilizando acetato de etilo (3 x 50 mL), los extractos orgánicos se lavaron con agua destilada y se recolectaron en un Erlenmeyer sobre sulfato de sodio anhidro. Finalmente, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y los residuos orgánicos resultantes se purificaron por cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria y mezclas de hexano-acetato de etilo con gradiente de polaridad creciente (7:1 a 3:1) como eluyente. Los productos esperados fueron aislados como sustancias sólidas.

La síntesis y caracterización de las 4-estiril-2-metilquinolinas **2a,c-j** fue descrita en trabajos realizados previamente en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS,(17–19) por esta razón, la información de sus propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas no se reportan en el presente manuscrito. Sólo se reporta la información correspondiente a la (*E*)-4-(2-metilestiril)-2-metilquinolina **2b**.

#### 4.1.1 (*E*)-4-(2-metilestiril)-2-metilquinolina **2b**

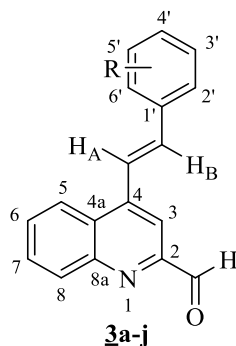
De 0.205 g (0.864 mmol) de la 2'-aminochalcona **1b**, 2.6 mL (0.864 mmol) de ácido acético glacial y 0.77 mL (10.0 mmol) de acetona, y tras 20 horas de reacción, se obtuvieron 0.166 g (0.640 mmol, 85%) de **2b**, C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N (259.35 g/mol), como un sólido amarillo, p.f. 118-119 °C; R<sub>f</sub> = 0.4 (10% acetato de etilo-hexano). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3105 (N-H), 1626 (C=N), 1587 (C=C<sub>vinflico</sub>), 1406 (C=C<sub>arom</sub>), 1373 (C=C<sub>arom</sub>), 959 (CHR=CHR' *trans*-alqueno). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  8.15 (dd, *J* = 8.5, 1.4 Hz, 1H, H5), 8.06 (dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 1H, H8), 7.72-7.68 (m, 1H, H6'), 7.70 (ddd, *J* = 8.4, 7.0, 1.6 Hz, 1H, H7), 7.67 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.54 (d, *J* =

15.9 Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.52 (ddd,  $J = 8.3, 6.9, 1.3$  Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 7.49 (s, 1H, H<sub>3</sub>), 7.31-7.27 (m, 2H, H<sub>4'</sub>, H<sub>5'</sub>), 7.25-7.23 (m, 1H, H<sub>3'</sub>), 2.79 (s, 3H, 2-CH<sub>3</sub>), 2.49 (s, 3H, 2'-CH<sub>3</sub>). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  158.8 (C<sub>2</sub>), 148.4 (C<sub>8a</sub>), 143.4 (C<sub>4</sub>), 136.4 (C<sub>2'</sub>), 135.9 (C<sub>1'</sub>), 132.8 (=CH<sub>B</sub>), 130.7 (C<sub>3'</sub>), 129.3 (C<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>), 128.6 (C<sub>4'</sub>), 126.4 (C<sub>5'</sub>), 126.0 (C<sub>6'</sub>), 125.7 (C<sub>6</sub>), 124.9 (C<sub>4a</sub>), 124.7 (H<sub>A</sub>C=), 123.7 (C<sub>5</sub>), 118.1 (C<sub>3</sub>), 25.5 (2-CH<sub>3</sub>), 20.0 (2'-CH<sub>3</sub>). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS:**  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup> calculada: 260.14352; experimental: 260.14343.

#### 4.2 Preparación de los (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos **3a-j**

##### Figura 6

*Estructuras generales y numeración de los formil derivados **3a-j**.*



##### Metodología general.

La preparación de los (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos **3** se llevó a cabo a través de la reacción de oxidación del grupo metilo en la posición C-2 de las (*E*)-2-metil-4-estirilquinolinas **2**. Este procedimiento se realizó en balones de fondo redondo de 25 mL de capacidad, a los cuales, en 1,4-dioxano (2.00 mL), se adicionaron cada una de las 2-metil-4-estirilquinolinas **2a-j** (1.00 mmol) y el dióxido de selenio (SeO<sub>2</sub>) (2.00 mmol). Las suspensiones resultantes, en agitación constante, fueron calentadas a 100 °C durante 1-2 horas. Una vez que fue verificado el consumo total de las 2-metil-4-estirilquinolinas **2a-j**, por control por CCF, los crudos de reacción se enfriaron a la temperatura del ambiente, se filtraron a través de papel filtro franja negra (para

retener el exceso de  $\text{SeO}_2$ ), y se lavaron con diclorometano. El disolvente fue eliminado mediante destilación a presión atmosférica y reducida. Los residuos orgánicos sólidos fueron purificados por cromatografía en columna utilizando sílica gel como fase estacionaria, y mezclas de hexano-acetato de etilo con aumento gradual de polaridad (en proporciones de 6:1 a 1:1) como eluyentes, obteniéndose los productos de interés **3a-j** como sustancias sólidas.

Como en el caso de los precursores **2**, la síntesis y caracterización de los formil derivados **3a,c-j** fue descrita en trabajos realizados previamente en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS,(17–19) por lo cual, los datos de sus propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas no se reportan en el presente manuscrito. Sólo se reporta la información concerniente al *orto*-metilestiril derivado **3b**.

#### 4.2.1 (E)-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehído **3b**

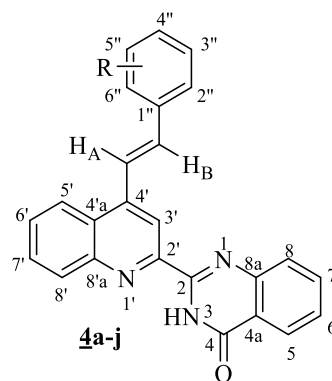
De 0.300 g (1.22 mmol) de la 4-(2-metilestiril)quinolina **2b** y 0.271 g (2.44 mmol) de dióxido de selenio en 2 mL de 1,4-dioxano, y después de 2 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.277 g (1.01 mmol, 83%) de **3b**,  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}$  (273.33 g/mol), como un sólido amarillo pálido, p.f. 189-190 °C;  $R_f = 0.54$  (12% acetato de etilo-hexano). **IR (ATR):**  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3062 ( $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ ), 1694 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{formilo}}$ ), 1581 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1508 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{vinílico}}$ ), 1455 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ), 1418 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ), 961 ( $\text{CHR}=\text{CHR}'_{\text{trans-alkeno}}$ ). **RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  10.26 (s, 1H, 2-CHO), 8.29-8.27 (m, 2H, H5, H8), 8.23 (s, 1H, H3), 7.84 (ddd,  $J = 8.3, 6.8, 1.4$  Hz, 1H, H7), 7.75-7.70 (m, 4H, H6,  $\text{H}_{\text{AC}=\text{CH}_\text{B}}$ , H6'), 7.31-7.24 (m, 3H, H3', H4', H5'), 2.50 (s, 3H, 2'- $\text{CH}_3$ ). **RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  194.3 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 152.3 (C2), 148.5 (C8a), 144.7 (C4), 136.8 (C2'), 135.5 (C1'), 134.3 ( $=\text{CH}_\text{B}$ ), 131.1 (C8), 130.8 (C3'), 130.3 (C7), 129.1 (C6), 129.0 (C4'), 128.2 (C4a), 126.4 (C5'), 126.0 (C6'), 123.8 (C5), 123.6 ( $\text{H}_{\text{AC}=\text{CH}_\text{B}}$ ), 113.3 (C3), 20.0 (2'- $\text{CH}_3$ ). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS:**  $m/z$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  calculada: 274.12271; experimental: 274.12268.

### 4.3 Síntesis de los híbridos moleculares (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas

#### 4a-j

#### Figura 7

Estructuras generales y numeración asignada de los híbridos moleculares (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4a-j**.



#### Metodología general

La síntesis de los nuevos híbridos moleculares estirilquinolina-quinazolinona **4** se abordó adaptando condiciones de reacción reportadas en la literatura para hacerlas extensivas a la reacción de condensación-cicloadición oxidativa entre los (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehidos **3** y la antranilamida.<sup>(62)</sup> Para tal fin, en sendos balones de fondo redondo de 10 mL de capacidad se mezclaron cantidades equimolares de los formil derivados **3** (1.0 mmol) y de la antranilamida (1.0 mmol) en 2 mL de dimetilsulfóxido; las mezclas de reacción resultantes, en agitación constante, se calentaron a 120 °C en el modo “open-air” durante 10 min. Transcurrido este tiempo, se adicionó yodo molecular (10 % mmol), y se continuó el calentamiento de las mezclas de reacción durante 2 horas adicionales. Después de verificarse el consumo total de los productos de partida **3** y la antranilamida (control por CCF), las reacciones se detuvieron y dejaron enfriar hasta la temperatura del ambiente; los precipitados formados se lavaron con solución concentrada de

Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10 mL), y luego se filtraron a través de un embudo capa filtrante, y secados al vacío en un horno Büchi a 60 °C. Los nuevos productos **4a-j** fueron recristalizados de cloroformo-acetato de etilo.

#### 4.3.1 (E)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4a**.

De 0.100 g (0.266 mmol) del formil derivado **3a**, 0.036 g (0.266 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.092 g (0.245 mmol, 92%) de **4a**, C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O (375,43 g/mol), como un sólido blanco, p.f. 291-292 °C; R<sub>f</sub> = 0.70 (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):** ν<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>) 3180 (N-H<sub>lactama</sub>), 1685 (C=O<sub>lactama</sub>), 1596 (C=N), 1579 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1552 (C=C<sub>arom</sub>), 1467 (C=C<sub>arom</sub>), 962 (CHR=CHR'<sub>trans</sub>-alqueno). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 11.26 (s, 1H, 3-N-H), 8.85 (s, 1H, H3'), 8.40 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H5), 8.27 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H5'), 8.18 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H8'), 7.94 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H8), 7.86-7.79 (m, 2H, H7, H7'), 7.85 (d, J = 16.2 Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.71-7.69 (m, 2H, H2''/H6''), 7.70-7.66 (m, 1H, H6'), 7.60 (d, J = 16.2 Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.58-7.54 (m, 1H, H6), 7.48-7.45 (m, 2H, H3''/H5''), 7.41-7.37 (m, 1H, H4''). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 161.5 (C4), 149.3 (C2'), 149.2 (C8a), 147.7 (C2), 147.4 (C8'a), 144.8 (C4'), 136.4 (C1'', =CH<sub>B</sub>), 134.6 (C7), 130.4 (C7'), 130.3 (C8'), 129.1 (C4''), 129.0 (C3''/C5''), 128.2 (C8), 128.1 (C6'), 127.5 (C6), 127.4 (C4'a), 127.3 (C2''/C6''), 126.9 (C5), 123.6 (C5'), 122.7 (C4a), 122.3 (H<sub>A</sub>C=), 114.2 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.86; m/z [C<sub>25</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 376.14444, experimental: 376.14392; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 377.14779, experimental = 377.14703.

#### 4.3.2 (E)-2-(4-(2-metilestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4b**.

De 0.100 g (0.366 mmol) del formil derivado **4b**, 0.049 g (0.366 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.120 g (0.308 mmol, 84%) de **4b**, C<sub>26</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O (389,46 g/mol), como un sólido amarillo, p.f. 263-264 °C; R<sub>f</sub> = 0.73 (1:1

hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3334 (N-H<sub>lactama</sub>), 1679 (C=O<sub>lactama</sub>), 1601 (C=N), 1581 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1484 (C=C<sub>arom</sub>), 1467 (C=C<sub>arom</sub>), 964 (CHR=CHR' *trans*-alqueno). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.27 (s, 1H, 3-N-H), 8.82 (s, 1H, H3'), 8.40 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H, H5), 8.26 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H5'), 8.18 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H8'), 7.93 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, H8), 7.85-7.80 (m, 2H, H7, H7'), 7.79 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.75-7.72 (m, 1H, H6''), 7.71 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.67 (ddd,  $J = 8.3, 6.9, 1.4$  Hz, 1H, H6'), 7.55 (ddd,  $J = 8.1, 7.1, 1.3$  Hz, 1H, H6), 7.33-7.27 (m, 3H, H3'', H4'', H5''), 2.54 (s, 3H, 2''-CH<sub>3</sub>). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  161.5 (C4), 149.3 (C2'), 149.2 (C8a), 147.8 (C2), 147.3 (C8'a), 145.1(C4'), 136.7 (C2''), 135.7 (C1''), 134.6 (=CH<sub>B</sub>), 134.4 (C7), 130.7 (C3''), 130.4 (C7'), 130.3 (C8'), 128.9 (C4''), 128.2 (C8, C6'), 127.5 (C6, C4'a), 126.8 (C5), 126.4 (C5''), 126.2 (C6''), 124.1 (H<sub>A</sub>C=), 123.6 (C5'), 122.7 (C4a), 114.5 (C3'), 20.1 (2''-CH<sub>3</sub>). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR = 7.52;  $m/z$  [C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 390.16009, experimental: 390.15961; [C<sub>25</sub><sup>13</sup>CH<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O] calculada = 391.16344, experimental = 391.16263.**

#### 4.3.3 (E)-2-(4-(4-metilestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4c**.

De 0.100 g (0.367 mmol) del formil derivado **3c**, 0.049 g (0.367 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.127 g (0.326 mmol, 89%) de **4c**, C<sub>26</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O (389,46 g/mol), como un sólido beige, p.f. 256-257 °C;  $R_f = 0.73$  (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3135 (N-H<sub>lactama</sub>), 1678 (C=O<sub>lactama</sub>), 1597 (C=N), 1580 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1556 (C=C<sub>arom</sub>), 1464 (C=C<sub>arom</sub>), 964 (CHR=CHR' *trans*-alqueno). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.27 (s, 1H, 3-N-H), 8.84 (s, 1H, H3'), 8.39 (dd,  $J = 8.1, 1.5$  Hz, 1H, H5), 8.27 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H5'), 8.17 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H8'), 7.94 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H8), 7.85-7.78 (m, 2H, H7, H7'), 7.80 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.69-7.65 (m, 1H, H6'), 7.60-7.58 (m, 2H, H2''/H6''), 7.58-7.53 (m, 1H, H6), 7.55 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.27 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H, H3''/H5''), 2.42 (s, 3H, 4''-CH<sub>3</sub>).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  161.5 (C4), 149.3 (C8a), 149.2 (C2'), 147.7 (C2), 147.4 (C8'a), 144.9 (C4'), 139.3 (C4''), 136.3 (=CH<sub>B</sub>), 134.6 (C7), 133.7 (C1''), 130.4 (C7'), 130.2 (C8'), 129.7 (C2''/C6''), 128.2 (C8), 128.0 (C6'), 127.5 (C6), 127.4 (C4'a), 127.3 (C3''/C5''), 126.8 (C5), 123.6 (C5'), 122.7 (C4a), 121.2 (H<sub>A</sub>C=), 114.0 (C3'), 21.4 (4''-CH<sub>3</sub>). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.92;  $m/z$  [ $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}$ ] calculada = 390.16009, experimental: 390.15997, [ $\text{C}_{25}^{13}\text{CH}_{20}\text{N}_3\text{O}$ ] calculada: 391.16344, experimental: 391.16321.

#### 4.3.4 (E)-2-(4-(2-cloroestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4d**.

De 0.100 g (0.340 mmol) del formil derivado **3d**, 0.046 g (0.340 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.125 g (0.305 mmol, 90%) de **4d**,  $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}$  (409.87 g/mol), como un sólido beige, p.f. 273-274 °C;  $R_f$  = 0.68 (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3333 (N-H<sub>lactama</sub>), 1681 (C=O<sub>lactama</sub>), 1602 (C=N), 1583 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1552 (C=C<sub>arom</sub>), 1467 (C=C<sub>arom</sub>), 953 (CHR=CHR' *trans*-alqueno), 740 (C<sub>sp2</sub>-Cl). **RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  11.25 (s, 1H, 3-N-H), 8.87 (s, 1H, H3'), 8.40 (dd,  $J$  = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H5), 8.26 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, H5'), 8.19 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H, H8'), 7.95 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, H8), 7.93 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.85-7.80 (m, 3H, H7, H7', H6''), 7.81 (d,  $J$  = 16.0 Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.69 (ddd,  $J$  = 8.2, 6.9, 1.3 Hz, 1H, H6'), 7.56 (ddd,  $J$  = 8.2, 7.1, 1.2 Hz, 1H, H6), 7.48 (dd,  $J$  = 7.7, 1.6 Hz, 1H, H3''), 7.38 (td,  $J$  = 7.6, 1.6 Hz, 1H, H5''), 7.33 (td,  $J$  = 7.5, 1.9 Hz, 1H, H4''). **RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  161.5 (C4), 149.2 (C8a), 149.1 (C2'), 147.9 (C2), 147.4 (C8'a), 144.5 (C4'), 134.8 (C1''), 134.6 (C7), 134.2 (C2''), 132.6 (=CH<sub>B</sub>), 130.4 (C7', C8'), 130.2 (C3''), 129.9 (C4''), 128.3 (C8, C6'), 127.6 (C6), 127.4 (C4'a, C5''), 127.2 (C6''), 126.8 (C5), 125.4 (H<sub>A</sub>C=), 123.6 (C5'), 122.7 (C4a), 114.4 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.99;  $m/z$  [ $\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{ClN}_3\text{O}$ ] calculada: 410.10547, experimental: 410.10593; [ $\text{C}_{24}^{13}\text{CH}_{17}\text{ClN}_3\text{O}$ ] calculada:

411.10882, experimental: 411.10910, [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub><sup>37</sup>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 412.10252, experimental: 412.10252; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub><sup>37</sup>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 413.10587, experimental: 413.10587.

#### 4.3.5 (E)-2-(4-(4-cloroestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4e**.

De 0.100 g (0.340 mmol) del formil derivado **3e**, 0.046 g (0.340 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.129 g (0.315 mmol, 93%) de **4e**, C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>CIN<sub>3</sub>O (409.87 g/mol), como un sólido gris, p.f. 275-276 °C; R<sub>f</sub> = 0.63 (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):** ν<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>) 3316 (N-H<sub>lactama</sub>), 1687 (C=O<sub>lactama</sub>), 1602 (C=N), 1579 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1485 (C=C<sub>arom</sub>), 1465 (C=C<sub>arom</sub>), 982 (CHR=CHR' *trans*-alqueno), 754 (C<sub>sp2</sub>-Cl). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 11.24 (s, 1H, 3-N-H), 8.82 (s, 1H, H3'), 8.39 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H5), 8.24 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H5'), 8.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H8'), 7.92 (d, J = 8.0 Hz, 1H, H8), 7.85-7.80 (m, 2H, H7, H7'), 7.81 (d, J = 16.4 Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.70-7.66 (m, 1H, H6'), 7.62 (da, J = 8.3 Hz, 2H, H2''/H6''), 7.57-7.54 (m, 1H, H6), 7.53 (d, J = 16.4 Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.43 (da, J = 8.3 Hz, 2H, H3''/H5''). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 161.4 (C4), 149.2 (C8a, C2'), 147.8 (C2), 147.4 (C8'a), 144.4 (C4'), 135.0 (=CH<sub>B</sub>), 134.9 (C1''), 134.8 (C4''), 134.6 (C7), 130.4 (C7', C8'), 129.2 (C3''/C5''), 128.5 (C2''/C6''), 128.3 (C8), 128.2 (C6'), 127.6 (C6), 127.3 (C4'a), 126.9 (C5), 123.5 (C5'), 122.9 (H<sub>A</sub>C=), 122.7 (C4a), 114.3 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 6.86; m/z [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 410.10547, experimental: 410.10559; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 411.10882, experimental: 411.10876; [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub><sup>37</sup>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 412.10252, experimental: 412.10251; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub><sup>37</sup>CIN<sub>3</sub>O] calculada: 413.10587, experimental: 413.10593.

#### 4.3.6 (E)-2-(4-(4-bromoestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4f**.

De 0.100 g (0.295 mmol) del formil derivado **3f**, 0.040 g (0.295 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.131 g (0.289 mmol, 98%) de **4f**, C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>3</sub>O (454.33 g/mol), como un sólido blanco, p.f. 284-285 °C; R<sub>f</sub> = 0.63 (1:1

hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3154 (N-H<sub>lactama</sub>), 1689 (C=O<sub>lactama</sub>), 1599 (C=N, C=C<sub>vinílico</sub>), 1486 (C=C<sub>arom</sub>), 1413 (C=C<sub>arom</sub>), 960 (CHR=CHR' *trans*-alqueno), 755 (C<sub>sp2</sub>-Br). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.26 (s, 1H, 3-N-H), 8.85 (s, 1H, H3'), 8.40 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, H5), 8.26 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H5'), 8.19 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H8'), 7.93 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H8), 7.87-7.81 (m, 2H, H7, H7'), 7.85 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.69 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H, H6'), 7.60-7.52 (m, 5H, H6, H3''/H5'', H2''/H6''), 7.53 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  161.4 (C4), 149.2 (C8a, C2'), 147.8 (C2), 147.4 (C8'a), 144.4 (C4'), 135.4 (C1''), 135.1 (=CH<sub>B</sub>), 134.7 (C7), 132.2 (C3''/C5''), 130.4 (C7', C8'), 128.7 (C2''/C6''), 128.3 (C8), 128.2 (C6'), 127.6 (C6), 127.3 (C4'a), 126.9 (C5), 123.5 (C5'), 123.1 (C4''), 123.0 (H<sub>A</sub>C=), 122.7 (C4a), 114.3 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.97;  $m/z$  [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>3</sub>O] calculada: 454.05495, experimental: 454.05524; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub>BrN<sub>3</sub>O] calculada: 455.05831, experimental: 455.05835; [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub><sup>81</sup>BrN<sub>3</sub>O] calculada: 456.05290, experimental: 456.05325; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub><sup>81</sup>BrN<sub>3</sub>O] calculada: 457.05626, experimental: 457.05627.

#### 4.3.7 (E)-2-(4-(4-fluorestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4g**.

De 0.100 g (0.360 mmol) del formil derivado **3g**, 0.049 g (0.360 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.128 g (0.325 mmol, 90%) de **4g**, C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>FN<sub>3</sub>O (393.42 g/mol), como un sólido beige, p.f. 264-265 °C;  $R_f = 0.70$  (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3251 (N-H<sub>lactama</sub>), 1669 (C=O<sub>lactama</sub>), 1601 (C=N), 1580 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1510 (C=C<sub>arom</sub>), 1420 (C=C<sub>arom</sub>), 912 (CHR=CHR' *trans*-alqueno), 756 (C<sub>sp2</sub>-F). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.25 (s, 1H, 3-N-H), 8.81 (s, 1H, H3'), 8.39 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H, H5), 8.25 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H5'), 8.17 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H8'), 7.92 (dd,  $J = 8.3, 1.5$  Hz, 1H, H8), 7.85-7.79 (m, 2H, H7, H7'), 7.75 (d,  $J = 16.1$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.70-7.64 (m, 3H, H6', H2''/H6''), 7.57-7.53 (m, 1H, H6), 7.55 (d,  $J = 16.1$  Hz, =CH<sub>B</sub>), 7.18-7.13 (m, 2H, H3''/H5''). **RMN <sup>13</sup>C (100**

**MHz, CDCl<sub>3</sub>**):  $\delta$  161.4 (C4), 149.2 (C8a, C2'), 147.7 (C2), 147.4 (C8'a), 144.5 (C4'), 135.1 (=CH<sub>B</sub>), 134.6 (C7), 132.6 (d,  $J = 3.6$  Hz, C1''/C4''), 130.4 (C7', C8'), 129.0 (d,  $J = 8.1$  Hz, C2''/C6''), 128.2 (C8, C6'), 127.6 (C6), 127.3 (C4'a), 126.9 (C5), 123.5 (C5'), 122.7 (C4a), 122.1 (H<sub>A</sub>C=), 116.0 (d,  $J = 22.0$  Hz, C3''/C5''), 114.0 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.13;  $m/z$  [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>3</sub>O] calculada: 394.13502, experimental: 394.13525; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub>FN<sub>3</sub>O] calculada: 395.13837, experimental: 395.13837.

#### 4.3.8 (E)-2-(4-(4-(trifluorometil)estiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona **4h**.

De 0.100 g (0.305 mmol) del formil derivado **3h**, 0.042 g (0.305 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.124 g (0.279 mmol, 91%) de **4h**, C<sub>26</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O (443.43 g/mol), como un sólido beige, p.f. 272-273 °C;  $R_f = 0.68$  (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3224 (N-H<sub>lactama</sub>), 1672 (C=O<sub>lactama</sub>), 1597 (C=N), 1582 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1551 (C=C<sub>arom</sub>), 1467 (C=C<sub>arom</sub>), 950 (CHR=CHR'<sub>trans</sub>-alqueno). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.24 (s, 1H, 3-N-H), 8.82 (s, 1H, H3'), 8.38 (dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, 1H, H5), 8.23 (da,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H5'), 8.17 (da,  $J = 8.4$  Hz, 1H, H8'), 7.91 (dd,  $J = 8.1, 1.3$  Hz, 1H, H8), 7.90 (d,  $J = 16.4$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.84-7.80 (m, 2H, H7, H7'), 7.78 (da,  $J = 8.1$  Hz, 2H, H2''/H6''), 7.71 (da,  $J = 8.1$  Hz, 2H, H3''/H5''), 7.69 (ddd,  $J = 8.3, 6.9, 1.3$  Hz, 1H, H6'), 7.58 (d,  $J = 16.4$  Hz, =CH<sub>B</sub>), 7.55 (ddd,  $J = 8.1, 7.1, 1.3$  Hz, 1H, H6). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  161.4 (C4), 149.1 (C8a, C2'), 147.7 (C2), 147.3 (C8'a), 143.9 (C4'), 139.8 (C1''), 134.7 (=CH<sub>B</sub>), 134.6 (C7), 130.7 (d,  $J = 32.6$  Hz, C4''), 130.5 (C7', C8'), 128.4 (C6'), 128.1 (C8), 127.6 (C6), 127.4 (C2''/C6''), 127.2 (C4'a), 126.9 (C5), 125.9 (q,  $J = 3.6$  Hz, C3''/C5''), 125.9 (q,  $J = 3.6$  Hz, 4''-CF<sub>3</sub>), 124.9 (H<sub>A</sub>C=), 123.4 (C5'), 122.7 (C4a), 114.5 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 7.48;  $m/z$  [C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 444.13182, experimental: 444.13245; [C<sub>25</sub><sup>13</sup>CH<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 445.13518, experimental: 445.13565.

**4.3.9 (E)-2-(4-(2,6-dicloroestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona 4i.**

De 0.100 g (0.225 mmol) del formil derivado **3i**, 0.0306 g (0.225 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.095 g (0.214 mmol, 95%) de **4i**, C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O (444.32 g/mol), como un sólido blanco, p.f. 257-258 °C; R<sub>f</sub> = 0.67 (1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3317 (N-H<sub>lactama</sub>), 1696 (C=O<sub>lactama</sub>), 1604 (C=N), 1583 (C=C<sub>vinflico</sub>), 1565 (C=C<sub>arom</sub>), 1426 (C=C<sub>arom</sub>), 967 (CHR=CHR'<sub>trans-alqueno</sub>), 748 (C<sub>sp2</sub>-Cl). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.25 (s, 1H, 3-N-H), 8.87 (s, 1H, H3'), 8.40 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, H5), 8.23-8.18 (m, 2H, H5', H8'), 7.96-7.93 (m, 1H, H8), 7.92 (dd, *J* = 16.8, 0.7 Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.85-7.80 (m, 2H, H7, H7'), 7.68 (ddd, *J* = 8.4, 6.9, 1.3 Hz, 1H, H6'), 7.55 (ddd, *J* = 8.1, 7.0, 1.1 Hz, 1H, H6), 7.51 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.44 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3''/H5''), 7.22 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, H4''). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  161.5 (C4), 149.2 (C2'), 149.1 (C8a), 147.9 (C2), 147.3 (C8'a), 144.5 (C4'), 134.8 (C2''/C6''), 134.6 (C7), 133.8 (C1''), 131.8 (H<sub>A</sub>C=), 130.4 (C7'), 130.3 (C8'), 130.0 (=CH<sub>B</sub>), 129.1 (C4''), 128.8 (C3''/C5''), 128.4 (C6'), 128.3 (C8), 127.6 (C6), 127.4 (C4'a), 126.8 (C5), 123.9 (C5'), 122.7 (C4a), 115.0 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR** = 8.62; *m/z* [C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 444.06649, experimental: 444.06598; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 445.06985, experimental: 445.06915; [C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>Cl<sup>37</sup>ClN<sub>3</sub>O] calculada: 446.06354, experimental: 446.06311; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>16</sub>Cl<sup>37</sup>ClN<sub>3</sub>O] calculada: 447.06690, experimental: 447.06604; [C<sub>25</sub>H<sub>16</sub><sup>37</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 448.06059, experimental: 448.06000; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>16</sub><sup>37</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O] calculada: 449.06395, experimental: 449.06299.

**4.3.10 (E)-2-(4-(2-cloro-6-fluorestiril)quinolin-2-il)quinazolin-4(3H)-ona 4j.**

De 0.100 g (0.321 mmol) del formil derivado **3j**, 0.0437 g (0.321 mmol) de la antranilamida, y 0.007 g (0.027 mmol) de yodo molecular se obtuvieron 0.125 g (0.292 mmol, 91%) de **4j**, C<sub>25</sub>H<sub>15</sub>ClFN<sub>3</sub>O (427.86 g/mol), como un sólido blanco, p.f. 239-240 °C; R<sub>f</sub> = 0.70

(1:1 hexano/acetato). **IR (ATR):**  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3317 (N-H<sub>lactama</sub>), 1677 (C=O<sub>lactama</sub>), 1601 (C=N), 1582 (C=C<sub>vinílico</sub>), 1550 (C=C<sub>arom</sub>), 1443 (C=C<sub>arom</sub>), 1204 (C<sub>sp2</sub>-F), 892 (CHR=CHR' *trans*-alqueno), 755 (C<sub>sp2</sub>-Cl). **RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  11.23 (s, 1H, 3-N-H), 8.85 (s, 1H, H3'), 8.39 (dd,  $J = 7.9, 1.5$  Hz, 1H, H5), 8.21-8.17 (m, 2H, H5', H8'), 8.10 (d,  $J = 16.4$  Hz, 1H, H<sub>A</sub>C=), 7.94 (dd,  $J = 8.2, 1.3$  Hz, 1H, H8), 7.82 (ddd,  $J = 8.2, 7.1, 1.6$  Hz, 1H, H7), 7.81 (ddd,  $J = 8.4, 6.8, 1.3$  Hz, 1H, H7'), 7.67 (ddd,  $J = 8.3, 6.8, 1.3$  Hz, 1H, H6'), 7.62 (d,  $J = 16.4$  Hz, 1H, =CH<sub>B</sub>), 7.55 (ddd,  $J = 8.1, 7.1, 1.3$  Hz, 1H, H6), 7.31 (dt,  $J = 8.2, 1.0$  Hz, 1H, H3''), 7.26 (td,  $J = 8.1, 5.6$  Hz, 1H, H4''), 7.13 (ddd,  $J = 9.8, 8.1, 1.4$  Hz, 1H, H5''). **RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  161.5 (d,  $J = 253.9$  Hz, C6''), 161.4 (C4), 149.2 (C2'), 149.1 (C8a), 147.9 (C2), 147.3 (C8'a), 145.0 (C4'), 135.2 (d,  $J = 5.2$  Hz, C2''), 134.6 (C7), 130.4 (C7'), 130.4 (d,  $J = 12.5$  Hz, H<sub>A</sub>C=), 130.3 (C8'), 129.5 (d,  $J = 10.2$  Hz, C4''), 128.4 (C6'), 128.3 (C8), 127.6 (C6), 127.3 (C4'a), 126.8 (C5), 126.7 (d,  $J = 2.2$  Hz, =CH<sub>B</sub>), 126.0 (d,  $J = 3.6$  Hz, C3''), 123.8 (C5'), 123.4 (d,  $J = 14.2$  Hz, C1''), 122.7 (C4a), 114.9 (d,  $J = 23.5$  Hz, C5''), 114.7 (C3'). **UHPLC-ESI-Orbitrap-MS: TR = 8.44;  $m/z$**  [C<sub>25</sub>H<sub>16</sub>ClFN<sub>3</sub>O] calculada: 428.09604, experimental: 428.09631; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>16</sub>ClFN<sub>3</sub>O] calculada: 429.09940, experimental: 429.09940; [C<sub>25</sub>H<sub>16</sub><sup>37</sup>ClFN<sub>3</sub>O] calculada: 430.09309, experimental: 430.09332; [C<sub>24</sub><sup>13</sup>CH<sub>16</sub><sup>37</sup>ClFN<sub>3</sub>O] calculada: 431.09645, experimental: 431.09625.

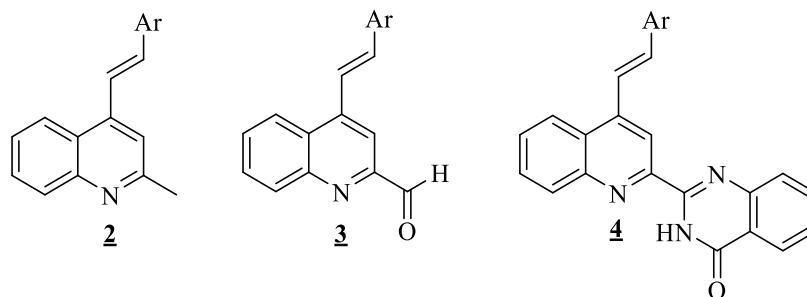
## 5. Resultados y análisis

En este apartado se presentan y se analizan de una forma lacónica los resultados obtenidos en el marco del presente Trabajo de Grado, los cuales, como se mencionó con anterioridad, representan una continuidad lógica de trabajos previos realizados en el LSO,(17–19) particularmente, el trabajo relacionado con la síntesis y caracterización estructural de las (*E*)-2-

metil-4-estirilquinolinas **2**. Sobre esta base, el objetivo principal de estudio de este Trabajo de Grado se centró en la funcionalización dirigida de **2** para crear, a través de los (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos intermediarios **3**, y en una ruta de síntesis de dos pasos, una quimioteca representativa de nuevos híbridos moleculares del tipo 4-estirilquinolina-quinazolin-4-ona **4**; las estructuras químicas de los compuestos iniciales, intermedios y finales de esta secuencia de transformaciones químicas se ilustran en la Figura 8.

### Figura 8

*Estructuras generales de los compuestos involucrados en este Trabajo de Grado.*

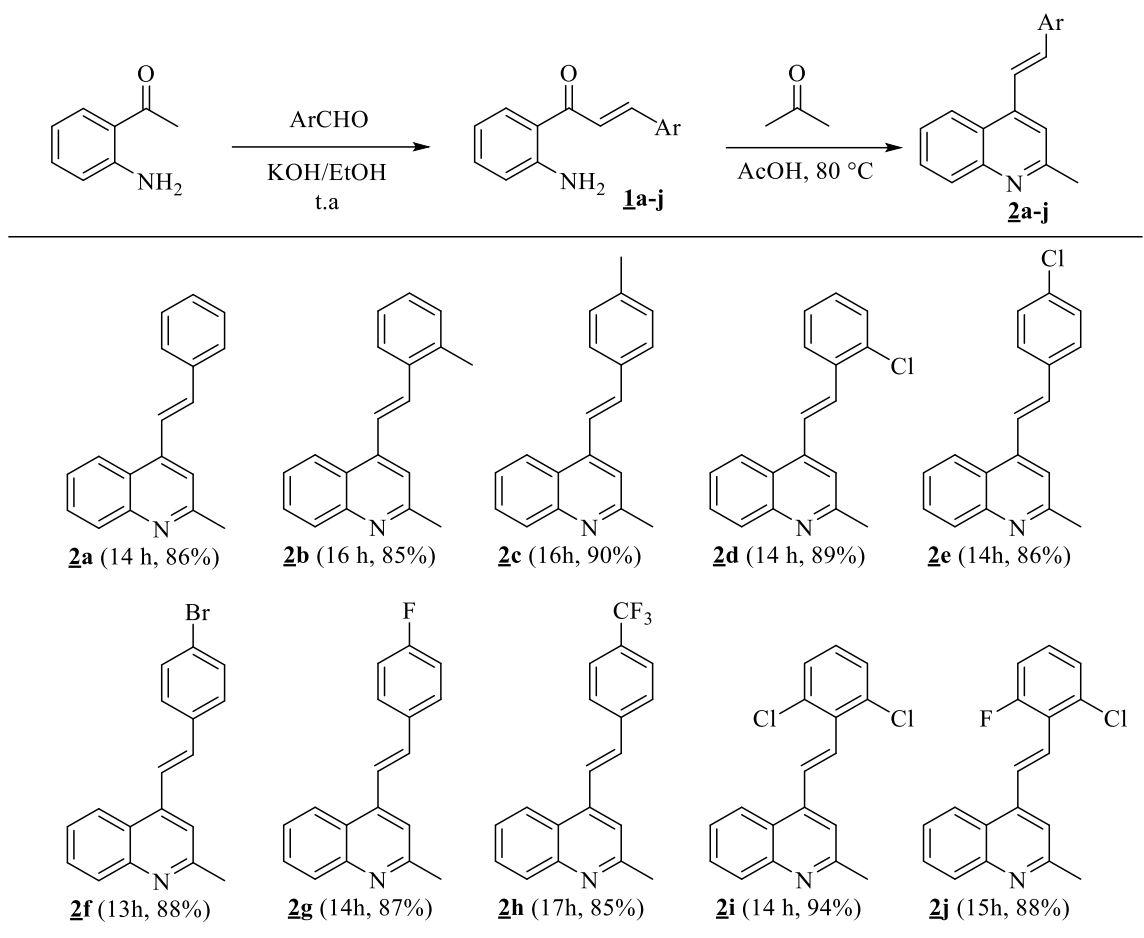


Como se puede apreciar, la funcionalización planeada afectó exclusivamente al grupo metilo del C2 de la quinolina, dejando intacto el resto del armazón molecular de **2**. En otras palabras, la funcionalización consistía en usar el grupo metilo como bloque primario de construcción del anillo de la quinazolin-4-ona, funcionalización que redundó en la creación de los nuevos híbridos moleculares **4**. La creación de esta clase de compuestos es la piedra angular de la discusión que se abordará a continuación, pero antes es necesario hacer un pequeño comentario sobre sus progenitores inmediatos **3** y sus precursores iniciales **2**.

#### 5.1 Síntesis de las (*E*)-2-metil-4-estirilquinolinas **2**

Tal como se estableció en Trabajos previos del LSO,(17,54,55) la síntesis de las 4-estirilquinolinas **2a-j** se llevó a cabo adaptando una metodología de dos pasos independientes, que

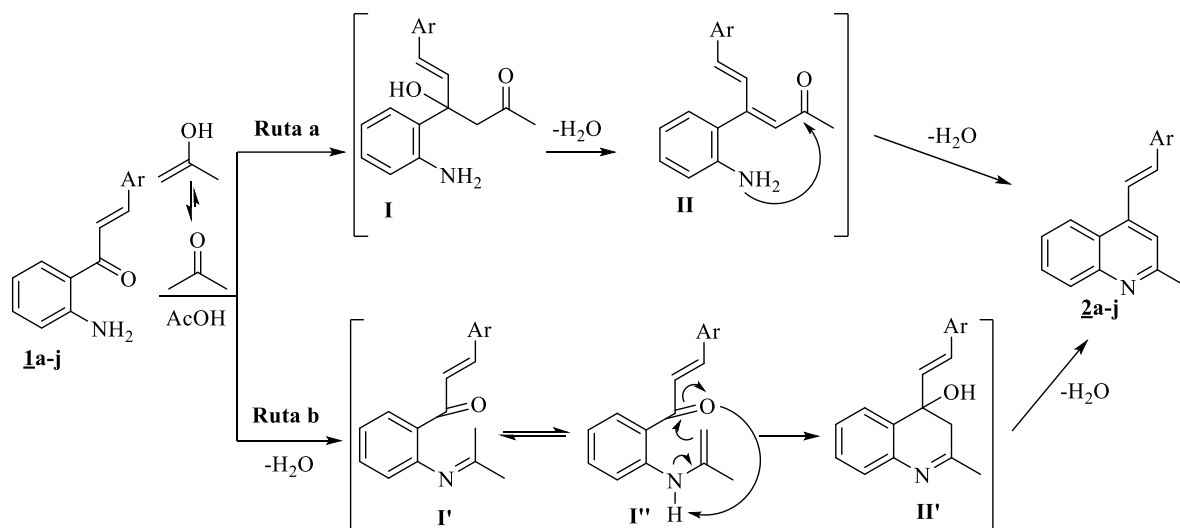
involucra la reacción de condensación de *Claisen-Schmidt*, en el primer paso, y la anulación de *Friedländer*, en el segundo (Esquema 17). Según este enfoque de síntesis, el primer paso consistió en la síntesis de las 2'-aminochalconas **1a-j** por condensación de *Claisen-Schmidt* de la 2'-aminoacetofenona y los aldehídos aromáticos seleccionados en una solución etanólica de hidróxido de potasio y a la temperatura del ambiente. En estas condiciones de reacción, al cabo de 2-3 horas, las 2'-aminochalconas esperadas **1a-j** fueron obtenidas con excelentes rendimientos de reacción del 92-98%. En el segundo paso, las 2'-aminochalconas **1a-j** se hicieron reaccionar con acetona en ácido acético glacial a 80 °C, y transformadas con éxito, vía la reacción de *Friedländer*, en las 4-estirilquinolinas **2a-j** como únicos productos de reacción, también con excelentes rendimientos (85-94%).



**Esquema 17.** Síntesis de las (E)-4-estiril-2-metilquinolinas **2a-j**.

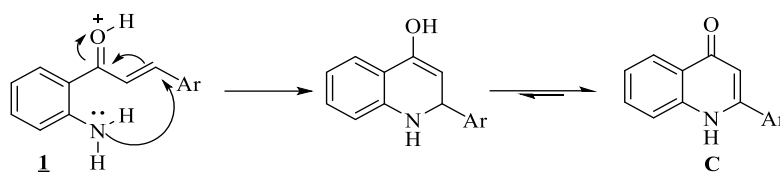
Basados en reportes de la literatura,(69,70) y a falta de evidencias experimentales (e.g. aislamiento de intermediarios), la formación de los productos de la anulación de *Friedländer* **2** pudo haber ocurrido por uno cualquiera de los dos mecanismos postulados (Esquema 18). El primero (**Ruta a**), postula la condensación aldólica entre carbonilo eletrofílico de la 2'-aminochalcona **1** y la acetona enolizable, que deriva en la formación del aldol intermediario **I**, el cual se deshidrata y se transforma en la acetona  $\alpha,\beta$ -insaturada más estable **II**. Es este intermediario el que sufre, finalmente, el proceso de anulación (ciclocondensación) intramolecular que conduce al producto aromatzado de *Friedländer* **2**. El segundo (**Ruta b**), postula como paso

inicial la formación de la base de *Schiff* **I'**, producto de la condensación intermolecular entre los grupos amino de la 2'-aminochalcona **1** y carbonilo de la acetona; esta imina en su forma tautomérica **I''** se cicloadiciona formando el correspondiente cicloaducto g-iminol **II'**, el cual, en las condiciones de reacción se deshidrata y se transforma en el producto de *Friedländer* **2**.



**Esquema 18.** Mecanismos postulados de la reacción de *Friedländer* para explicar la formación de los derivados **2a-j**.

En este punto, es importante resaltar que las 2'-aminochalconas **1** pueden actuar como aceptores de *Michael*, y como tales sufrir la adición nucleofílica conjugada de *Michael* por ataque intramolecular del grupo amino al carbono  $\beta$  del fragmento enónico, proceso que podría propiciar la formación paralela de la correspondiente 4-quinolona **C** (Esquema 19). No obstante, y sin tratar de desconocer esta anotación importante, se puede concluir que la metodología implementada es altamente selectiva (casi que específica) hacia la formación del anillo quinolínico, siendo **2** los únicos productos que fueron aislados de los crudos de reacción. También se debe señalar que el fragmento estirilo y su estereoquímica no sufrieron ninguna modificación durante la anulación de *Friedländer*.



**Esquema 19.** Producto potencial de aza-Michael que se puede formar a partir de la 2'-aminochalcona **1**.

La caracterización estructural de las (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas **2** se llevó a cabo empleando las técnicas analíticas de espectroscopia infrarroja (IR), de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y de resonancia magnética nuclear unidimensional ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN) y bidimensional (HMBC, DEPT Y HSQC). Como quedó consignado en la Parte Experimental (sección 5.1), la discusión sobre la caracterización estructural de las (*E*)-2-metil-4-estirilquinolinas **2a,c-j** no se presenta en este manuscrito debido a que ya se realizó en trabajos previos.(17–19) Sólo se pormenoriza la caracterización estructural del nuevo derivado **2b**.

La identidad estructural de **2b** se confirmó inicialmente con ayuda de su espectro de IR, siendo la ausencia de las bandas de absorción asociadas a las vibraciones de tensión simétrica y asimétrica del enlace N-H del grupo amino primario y del grupo carbonilo C=O del fragmento enona, presentes las tres en el espectro de su precursor **1b**, las pruebas directas y más relevantes de su formación. Adicionalmente, la aparición de una nueva banda de absorción en  $1626\text{ cm}^{-1}$ , relacionada con las vibraciones de tensión del enlace C=N endocíclico, refuerza la formación del anillo de piridina de la quinolina. En la región entre  $1587$  y  $1556\text{ cm}^{-1}$ , se identificaron bandas de absorción correspondientes a las vibraciones de tensión y flexión de los enlaces C=C aromáticos. Por último, la configuración *E* del fragmento estirilo se corroboró con la presencia de la banda de absorción asociada a la vibración de flexión fuera del plano registrada en  $959\text{ cm}^{-1}$ , característica

de un alqueno disustituido en configuración *trans*. Las bandas de absorción principales registradas en el espectro IR de **2b** se encuentran recopiladas en la sección experimental.

La masa exacta de **2b**, expresada como la relación masa/carga ( $m/z$ ), fue determinada con el espectro de masas de alta resolución, usando la técnica HPLC-ESI-QTOF (ver Parte Experimental).

El análisis combinado y minucioso de los espectros de resonancia magnética nuclear unidimensionales ( $^1\text{H-RMN}$  y  $^{13}\text{C-RMN}$ ) y bidimensionales (HMBC), aseguró las asignaciones inequívocas de todos los hidrógenos y carbonos que constituyen el armazón estructural de **2b**. Las evidencias más significativas de la formación de **2b** son: la desaparición de la señal (singlete ancho) de los hidrógenos del grupo amino primario ( $-\text{NH}_2$ ), la cual es muy notoria en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  de su precursor **1b**, y la aparición de dos nuevas señales en forma de singlete, la primera se registra a campo alto en 2.79 ppm, y la segunda en la zona aromática en 7.49 ppm; estas dos señales son los vestigios estructurales de la otrora molécula de acetona que quedó incorporada en el nuevo anillo de piridina recién construido. El singlete (s) registrado en 2.79 ppm que integra para 3 hidrógenos, fue asignado al grupo metilo de la posición C2 del anillo de la quinolina, mientras que el otro singlete que integra para un solo hidrógeno, pertenece al protón H3. Los cuatro hidrógenos restantes del anillo de la quinolina se asignaron fácilmente, correlacionando las multiplicidades y los valores de las constantes de acoplamiento entre las señales que cada uno de ellos origina. Así, el hidrógeno H5 resuena como un doblete de dobletes (dd) en 8.15 ppm, con constantes de acoplamiento de 8.5 y 1.4 Hz asociadas a los acoplamientos a tres ( $^3J$ ) y cuatro ( $^4J$ ) enlaces con los hidrógenos H6 y H7, respectivamente. La señal del hidrógeno H6 se registra en 7.52 ppm como un doblete de doblete de dobletes (ddd), con constantes de acoplamiento de 8.3, 6.9 y 1.3 Hz correspondientes a los acoplamientos con sus hidrógenos vecinos H5 y H7, y al

acoplamiento con el hidrógeno H8. La señal del hidrógeno H7 también se registra como un doblete de doblete de dobletes (ddd), pero a campo más bajo, en 7.70 ppm, con constantes de acoplamiento de 8.4, 7.0 y 1.6 Hz debidas a los desdoblamientos con los hidrógenos vecinos H6 y H8, y al desdoblamiento con su congénere *meta* H5. La señal asociada al hidrógeno H8, al igual que se congénere H5, se registra como un doblete de dobletes (dd) ligeramente desplazado a campo más alto, en 8.06 ppm, con una constante de acoplamiento de 8.5 Hz con el protón vecino y otra de 1.6 Hz con el hidrógeno H6.

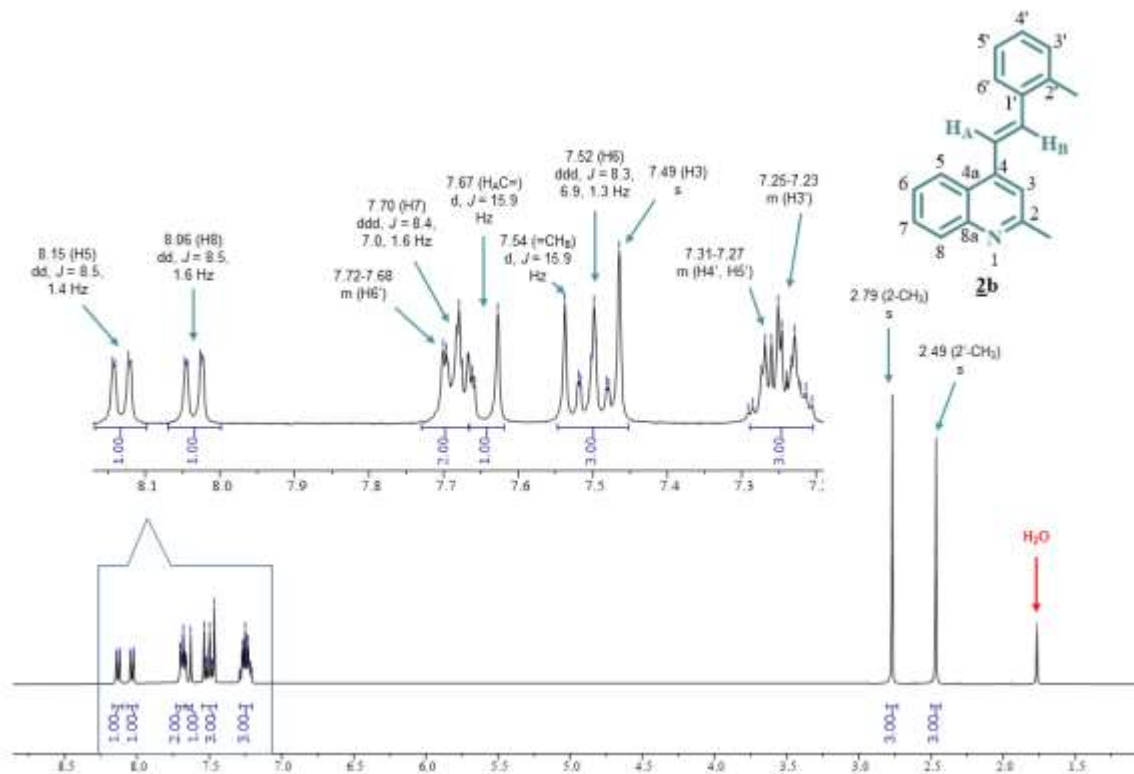
Las señales de los dos hidrógenos vinílicos H<sub>A</sub> y H<sub>B</sub> del fragmento estirilo también fueron muy fáciles de asignar debido que, al igual que en los espectros del precursor **1b**, éstos se desdoblan generando cada uno un doblete, los cuales se registran dentro de la zona aromática del espectro en 7.67 ppm y 7.54 ppm, respectivamente. Los valores de sus mutuas constantes de acoplamiento (15.9 Hz) indican claramente que su disposición espacial es *trans*. De esta observación se infiere que durante la reacción de *Friedländer*, el fragmento estirilo presente en las 2'-aminochalconas **1** precursoras no experimentó ningún cambio en su estereoquímica.

Las señales de los hidrógenos aromáticos del sustituyente *orto*-tolilo que completa el fragmento estirilo de **2b** se solapan entre sí generando un único múltiplete, tal es el caso de los hidrógenos H3', H4' y H5' (7.25–7.23 ppm), o se solapan con la señal del protón vinílico H<sub>B</sub> y la señal del protón quinolínico H7, ese es el caso del hidrógeno H6' (7.72–7.68 ppm). Finalmente, en la zona alifática del espectro, en 2.49 ppm, se registra un singulete (s) que integra para 3 hidrógenos, el cual fue asignado al grupo *orto*-metilo.

Como constatación del anterior análisis, en la Figura 9 se reproduce el espectro de <sup>1</sup>H-RMN de la (*E*)-2-metil-4-(2-metilestiril)quinolona **2b**, y una expansión de la zona aromática con todas las señales de los hidrógenos debidamente asignadas.

**Figura 9**

Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN y expansión de la zona aromática de la (*E*)-4-(2-metilestil)-2-metilquinolina **2b** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN del compuesto **2b** (Figura 10), se registraron las señales de todos los 19 carbonos que conforman su estructura química. De esas 19 señales, 2 se registraron en la zona alifática del espectro y corresponden a los carbonos metílicos 2'-CH<sub>3</sub> (20.0 ppm) y 2-CH<sub>3</sub> (25.5 ppm). Nueve señales fueron identificadas como pertenecientes a los carbonos del nuevo anillo de quinolina, de las cuales cinco son debidas a los carbonos metínicos C3 (118.1 ppm), C5 (123.7 ppm), C6 (125.7 ppm), C7 (129.3 ppm), y C8 (129.3 ppm), respectivamente, y cuatro a los carbonos cuaternarios C2 (158.8 ppm), C4 (143.4 ppm), C4a (124.9 ppm), y C8a (148.4 ppm), respectivamente. Teniendo en cuenta que el anillo de la quinolina, por efecto del nitrógeno de tipo piridínico, es considerado como un heterociclo aromático p-electrodeficiente, y que los

desplazamientos químicos de los carbonos están influenciados por sus entornos electrónicos (distribución de la densidad electrónica), no resulta difícil deducir que los carbonos cuaternarios C2, C8a y C4 son los más electrodeficientes y, en consecuencia, los que se registran a campo más bajo del espectro.

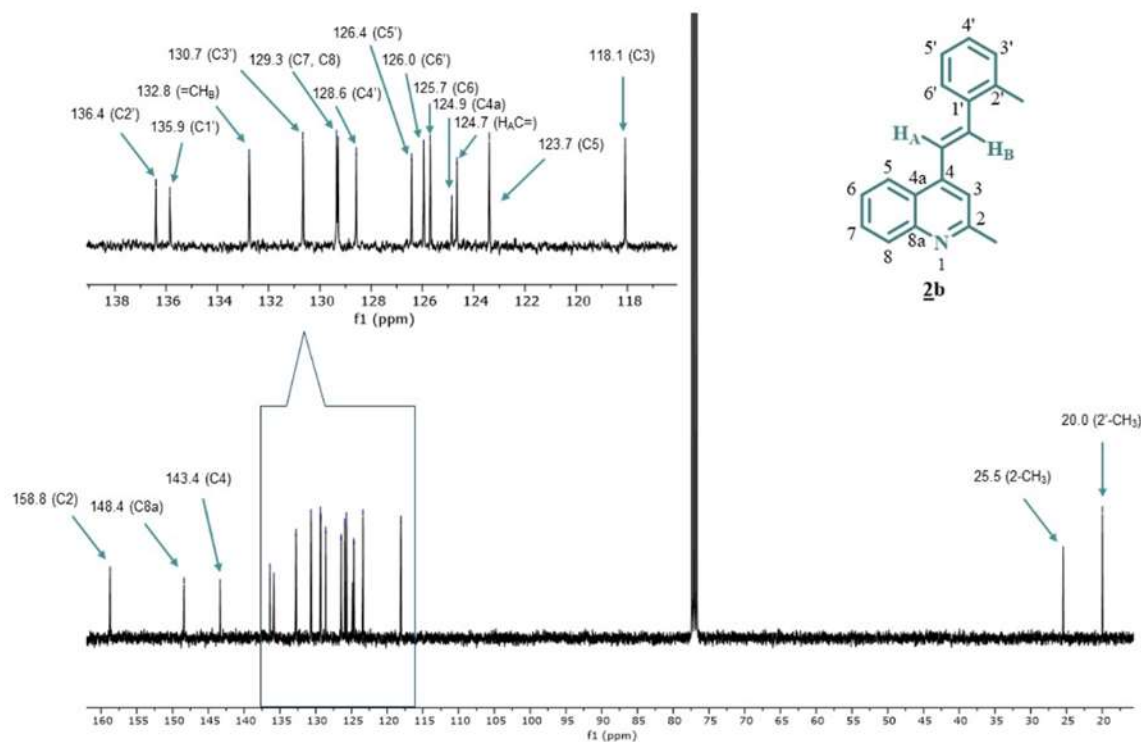
Después de la presentación de las anteriores señales, se puede inferir que la señal del carbono metílico 2-CH<sub>3</sub> en conjunto con la señal del carbono C3, y esto sumado al hecho de que no se registra ninguna señal para un carbono carbonílico, es una evidencia directa e incuestionable de la participación de la otrora molécula de acetona en la construcción del anillo de quinolina durante la anulación de *Friedländer*.

En cuanto a los dos carbonos vinílicos, sus señales se sitúan en 124.7 y 132.8 ppm, respectivamente, siendo la señal del carbono vinílico =CH<sub>B</sub> la que aparece desplazada hacia campo más bajo con respecto a la de su contraparte H<sub>A</sub>C=, comportamiento que se puede explicar en términos de la donación de densidad electrónica al núcleo de la quinolina a través del efecto mesomérico (resonancia) que lo convierte en un carbono pobre en densidad electrónica (electrodeficiente).

Las restantes 6 señales pertenecen a los carbonos del sustituyente *orto*-tolilo del fragmento estirilo (se excluye al 2'-CH<sub>3</sub>, que ya se mencionó), de las cuales 2 son debidas a los carbonos cuaternarios C1' (135.9 ppm) y C2' (136.4 ppm), y las otras cuatro a los carbonos metínicos C3' (130.7 ppm), C4' (128.6 ppm), C5' (126.4 ppm), y C6' (126.0 ppm), respectivamente.

**Figura 10**

Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN y expansión de la zona aromática de la (*E*)-4-(2-metilestilil)-2-metilquinolina **2b** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

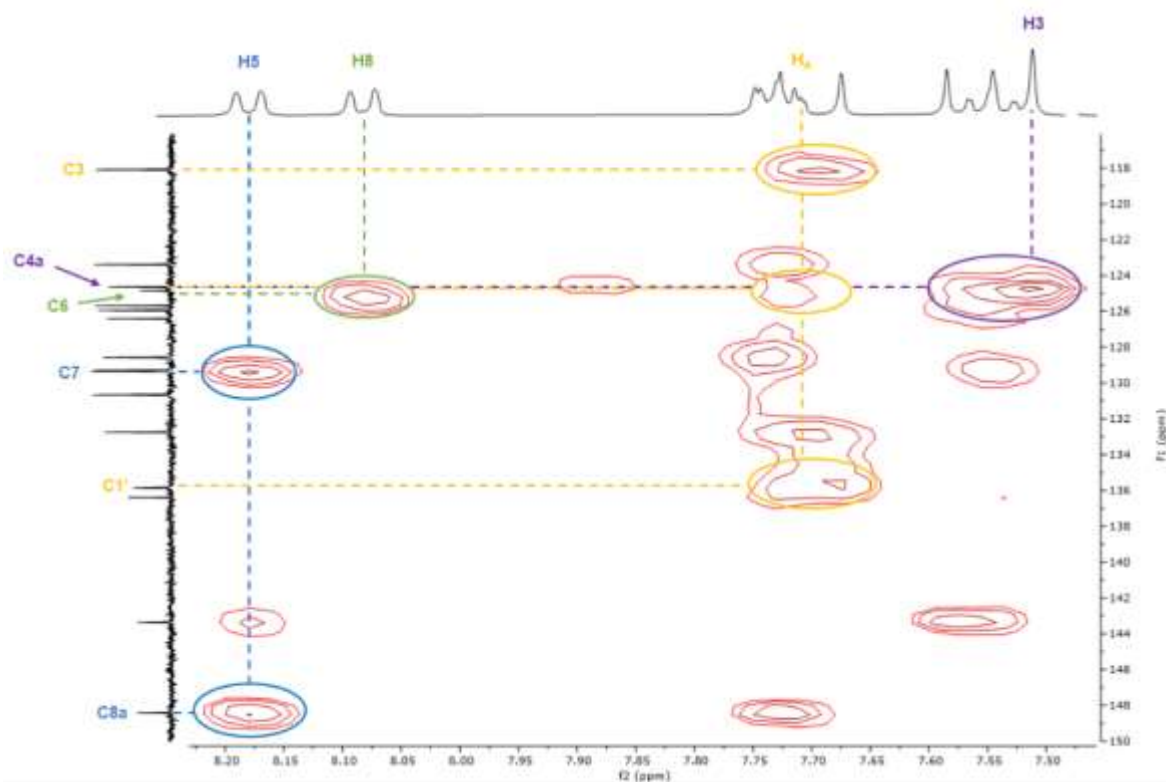


Las asignaciones inequívocas de todos los átomos de hidrógeno y de carbono que conforman la molécula **2b** fueron realizadas con ayuda del análisis minucioso de su espectro bidimensional de correlación heteronuclear HMBC. En la Figura 11 se presenta una expansión de la región aromática de dicho espectro, en el que se resaltan con líneas punteadas de diferentes colores aquellas correlaciones (picos cruzados) que corroboran la formación del núcleo heterocíclico central (piridina) de la quinolina y su conectividad con el fragmento estirilil. De esta manera, la línea azul representa las correlaciones a tres y cinco enlaces entre la señal del hidrógeno H5 y las señales de los carbonos C7 (129.3 ppm) y C8a (148.4 ppm). La línea verde indica la correlación a tres enlaces entre la señal del hidrógeno H8 y la señal del carbono C6 (125.7 ppm),

mientras que la línea morada resalta la correlación a tres enlaces entre la señal del hidrógeno H3 y la señal del carbono C4a (124.9 ppm). Estas correlaciones en conjunto confirman la formación del nuevo núcleo de la quinolina en la molécula final. Asimismo, se observan las correlaciones que confirman la conexión del núcleo quinolínico con el fragmento estirilo, siendo las correlaciones a tres enlaces entre el doblete del hidrógeno vinílico H<sub>A</sub> y las señales de los carbonos quinolínicos C3 (118.1 ppm) y C4a (124.9 ppm) las más significativas, mientras que la correlación entre dicho doblete y la señal del carbono *ipso* C1' (135.9 ppm) complementa la conexión total del fragmento estirilo al anillo de la quinolina; las anteriores correlaciones están señaladas con la línea de color amarillo.

### Figura 11

*Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HMBC del derivado 2b.*

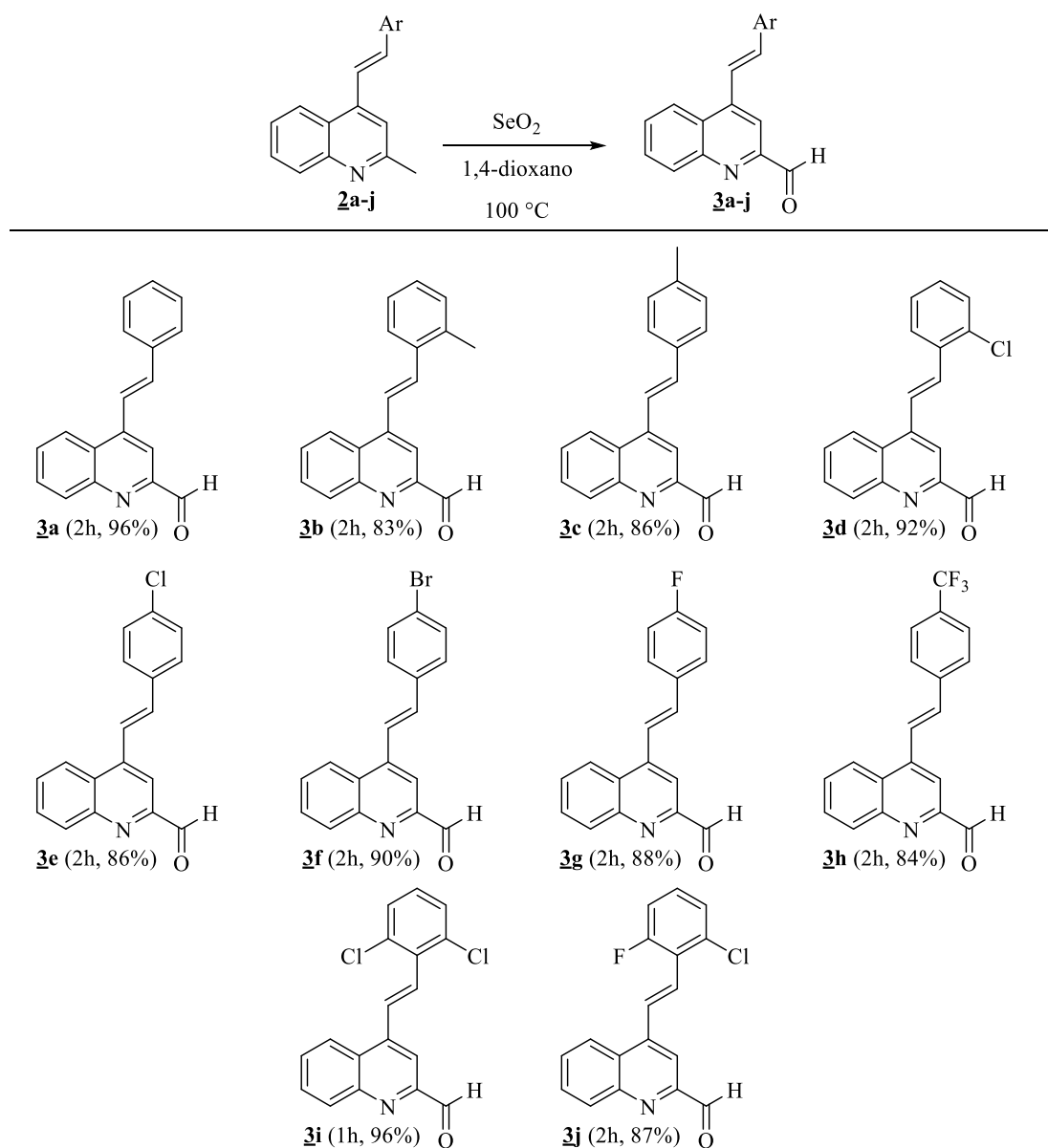


## 5.2 Síntesis de las (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehído **3a-j**

Una vez completada la síntesis y confirmada inequívocamente la identidad de las (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas **2a-j**, el siguiente paso del enfoque de síntesis propuesto consistió en transformarlos eficientemente en los correspondientes productos de oxidación del grupo 2-CH<sub>3</sub>, esto es, en los (*E*)-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehídos **3**. Para lograr este cometido, todos los precursores **2a-j** se hicieron reaccionar con exceso de dióxido de selenio como agente oxidante, en 1,4-dioxano a reflujo (Esquema 20). Estas condiciones de reacción fueron adaptadas de la metodología descrita por *Wang y colaboradores*,<sup>(71)</sup> la cual ha demostrado ser exitosa en investigaciones anteriores realizadas en el LSO(17–19). En estas condiciones de reacción, la oxidación del grupo metilo transcurre de manera eficiente y total, y al cabo 1-2 horas es posible aislar de los crudos de reacción, por cromatografía en columna, los correspondientes (*E*)-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehídos **3a-j** con rendimientos del 83-96%, todos ellos como sustancias sólidas con puntos de fusión bien definidos.

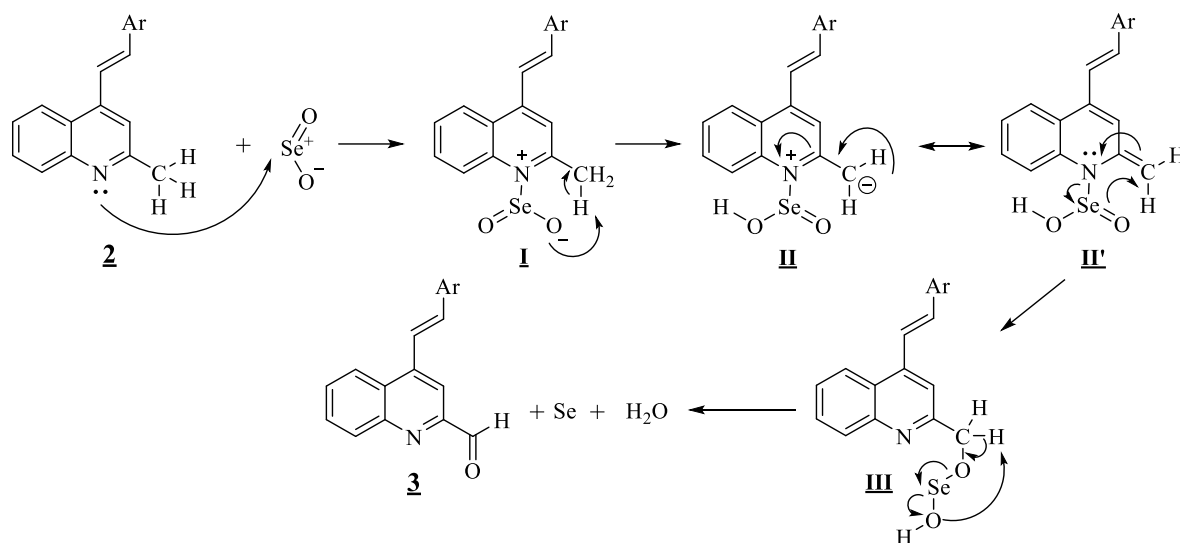
Infortunadamente, al comparar los rendimientos de reacción obtenidos para cada producto de oxidación, no se vislumbra una tendencia lógica que permita correlacionarlos con el grado de sustitución y la naturaleza de los sustituyentes en el fragmento estirilo. Se podría conjeturar que la presencia en el fenilo del fragmento estirilo de átomos de halógeno y máxime cuando son dos átomos de halógeno, ocasionaría una mayor electrodeficiencia en el anillo de la quinolina que se hace extensiva a los hidrógenos del metilo en C2 (se hacen más ácidos), y, por ende, no sólo facilitaría el proceso mismo de oxidación del metilo, sino que, además, redundaría en un mayor rendimiento del producto. Sin embargo, esa conjetura encontró su validez sólo para el derivado 2,6-dicloro-sustituido **3i**, que fue el compuesto que se aisló con el mayor rendimiento (96%), pero al mismo tiempo es descalificada por su homólogo 2-cloro-6-fluor-disustituido **3j** (87%) y, aún

más importante, por el derivado **3a**, que no contiene ningún sustituyente en el estirilo, el cual se aisló también con el mismo rendimiento de **3i**. En términos generales, se puede inferir que la presencia de halógenos (átomos electronegativos) en las estructuras de **2** (exceptuando al grupo  $\text{CF}_3$ , **2h**) favorece ligeramente el rendimiento del producto de oxidación **3** en comparación con la presencia del grupo metilo (electrodonador débil).



*Esquema 20. Síntesis de los 4-estirilquinolina-2-carbaldehidos **3a-j**.*

Con base en la información recabada de la literatura sobre oxidación de 2(4)-metilazarenos,(71) en el Esquema 21 se muestra el mecanismo de reacción de la oxidación con dióxido de selenio de las (*E*)-4-estiril-2-metilquinolinas **2**, para la formación de los (*E*)-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehídos **3**. La reacción se inicia con el ataque nucleofílico por parte del nitrógeno quinolínico básico de **2** al selenio electrofílico del SeO<sub>2</sub> que da origen al complejo **I**; este complejo incrementa la acidez de los hidrógenos metílicos y facilita su desprotonación intramolecular por parte del oxígeno cargado del complejo **I**, evento que deriva en la formación del anión **II** que se encuentra estabilizado por resonancia con su forma canónica o híbrido de resonancia **II'**. Posteriormente, mediante un proceso concertado donde probablemente ocurre la rearomatización del anillo de quinolina con la concomitante ruptura del enlace N-Se y el subsecuente ataque nucleofílico del segundo oxígeno enlazado al selenio, tiene lugar la transposición de **II'** al monoéster intermediario del ácido hiposelenioso **III**, en el que el selenio ya es divalente. Este intermediario reactivo actúa como una fuente de selenio y, finalmente, se descompone produciendo el correspondiente aldehído, en este caso el formil derivado **3**, selenio y una molécula de agua.



*Esquema 21. Mecanismo de reacción que explica la formación de los formil derivados*

***3a-j** por oxidación de las 2-metilquinolinas **2a-j** con SeO<sub>2</sub>.*

Como se mencionó en la parte experimental, la caracterización estructural de los formil derivados **3a,c-j** fue descrita en trabajos realizados previamente en el LSO de la UIS, (17–19) por lo tanto no se reportaron sus datos espectroscópicos. Siguiendo el formato que se utilizó para la descripción del derivado **2b**, a continuación sólo se analizará la dilucidación estructural del (*E*)-4-(2-metilestiril)quinolin-2-carbaldehído **3b**, usando la información sustraída de sus espectros de IR, de masas de alta resolución (HRMS) y los de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C-RMN)

La transformación de **2b** en su respectivo formil derivado **3b** se evidenció por la aparición, en 2915 cm<sup>-1</sup>, de una nueva banda de absorción de baja intensidad correspondiente a la vibración de tensión de estiramiento del enlace C<sub>sp<sup>2</sup></sub>-H presente en el grupo formilo recién formado, y principalmente por la aparición, en 1694 cm<sup>-1</sup>, de otra banda de absorción asociada a la vibración de tensión del C=O del grupo formilo. El resto de las bandas de absorción que se observan en su espectro de IR, asociadas a enlaces o sustituyentes concretos en el anillo de quinolina o en el fragmento estirilo, son muy similares a las que se registraron en el espectro del precursor **2b** (los

mismos números de onda y las mismas intensidades, ver Parte Experimental), que ya fueron analizadas en el apartado anterior.

La masa exacta de **3b**, expresada como la relación masa/carga ( $m/z$ ), fue determinada por espectrometría de masas de alta resolución, usando la técnica HPLC-ESI-QTOF (ver Parte experimental), con la cual se obtuvo, además, información sobre el grado de pureza del analito analizado.

Mediante el análisis combinado y detallado de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) unidimensionales ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) y bidimensional (HMBC) y su comparación con los correspondientes espectros del precursor **2b**, se llevó a cabo la asignación inequívoca del conjunto de átomos de hidrógeno y carbono que permitieron confirmar la identidad estructural de **3b**. Al cotejar cuidadosamente los espectros de protones (Figura 12) y carbonos (Figura 13) del formil derivado **3b** con los correspondientes de su precursor **2b**, se advierten, al mismo tiempo, similitudes y diferencias considerables tanto en los desplazamientos químicos como en las multiplicidades de los hidrógenos y carbonos que conforman el anillo de la quinolina y el fragmento estirilo; las similitudes se encuentran casi que exclusivamente en los desplazamientos químicos y multiplicidades de los hidrógenos y carbonos del sustituyente *o*-tolilo del fragmento estirilo, mientras que las diferencias se hallan en los hidrógenos y carbonos del anillo de la quinolina y de la porción vinílica de **3b**. Sin embargo, lo más notable y definitivo que se advierte en el espectro de **3b** es la ausencia, en la zona de campo alto del espectro, de la señal del otrora grupo metilo en C2, observándose únicamente el singulete asociado al *orto*-metilo ( $2'$ -CH<sub>3</sub>, 2.50 ppm), señal que fue reemplazada por el singulete que se registra en el extremo opuesto del espectro, a 10.26 ppm, el cual, sin lugar a duda, fue originado por el hidrógeno del nuevo grupo formilo,

cuya naturaleza carbonílica, a su vez, quedó identificada por el valor del desplazamiento químico (194.3 ppm) registrado en el espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN.

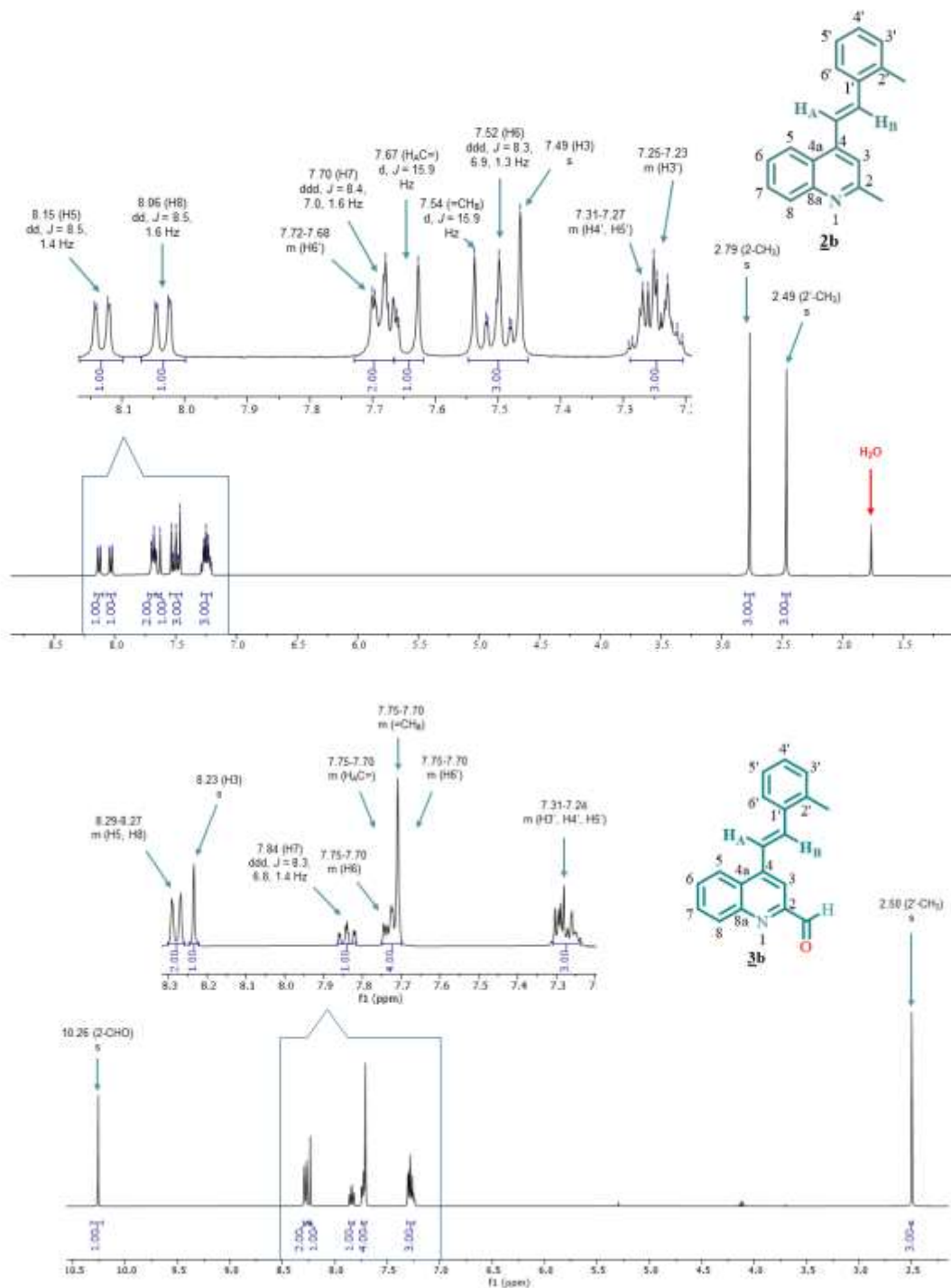
Retomando nuevamente las diferencias que se observan en los desplazamientos químicos y multiplicidades de los hidrógenos y carbonos quinolínicos y vinílicos, al ser comparados con los de sus congéneres en **2b**, se infiere que dichas diferencias fueron producidas por la naturaleza electroattractora del grupo formilo que afectó el entorno electrónico de los hidrógenos y carbonos de los fragmentos mencionados arriba, provocando que éstos, en general, resonaran a campo más bajo. La influencia del formilo fue más fuerte sobre el hidrógeno adyacente H3 (8.23 ppm), el cual, probablemente, al caer en el cono de desprotección (desapantallamiento) anisotrópica del carbonilo, sufrió un desplazamiento hacia campo más bajo de 0.74 ppm, comparado con el desplazamiento químico de su homólogo en **2b** (7.49 ppm). El efecto contrario operó sobre el carbono C3, que se desplazó en 5.0 ppm hacia campo más alto, resonando ahora a 113.3 ppm.

Como ya se consignó, la presencia del grupo formilo no sólo influyó sobre los desplazamientos químicos de los hidrógenos quinolínicos y vinílicos, obligándolos a resonar a campo ligeramente más bajo, sino que también influyó sobre la forma de las multiplicidades de éstos. Así, mientras que en el espectro de **2b**, los hidrógenos H5, H6, H7 y H8, al igual que los vinílicos  $\text{H}_\text{A}\text{C}=\text{}$  y  $\text{CH}_\text{B}=\text{}$  resuenan generando las multiplicidades esperadas [dobletes (para H5, H8, y  $\text{H}_\text{A}\text{C}=\text{}$  y  $\text{CH}_\text{B}=\text{}$ ) o doblete de doblete de dobletes (para H6 y H7)], en el espectro de **3b** sus señales se solapan formando un único multiplete (*e.g.* H5 y H8, 8.29-827 ppm) o haciendo parte de un gran multiplete por solapamiento con las dos señales de los dos hidrógenos vinílicos (*e.g.* H6,  $\text{H}_\text{A}\text{C}=\text{}$  y  $\text{CH}_\text{B}=\text{}$ , 7.75-7.70 ppm); la excepción fue para el hidrógeno H7, cuya multiplicidad, al igual que la de su homólogo en **2b**, es la de un doblete de doblete de dobletes pero localizado 0.14 ppm hacia campo más bajo, a 7.84 ppm. Como era de esperar, de los dos hidrógenos vinílicos  $\text{H}_\text{A}$  y  $\text{H}_\text{B}$ ,

el último fue el que sufrió en mayor grado el rigor electroatractor del grupo formilo, pues su señal se desplazó en aproximadamente 0.18 ppm hacía campo más bajo, resonando en el intervalo de 7.75-7.70 ppm y coincidiendo con las señales del otro hidrógeno vinílico HA, del hidrógeno H6 (ambas señales también desplazadas hacia campo más bajo en aproximadamente 0.06 y 0.21 ppm, respectivamente), y, adicionalmente, con la señal del hidrógeno aromático H6'; el resultado, un multiplete común formado por el solapamiento de cuatro señales indistinguibles una de la otra.

Figura 12

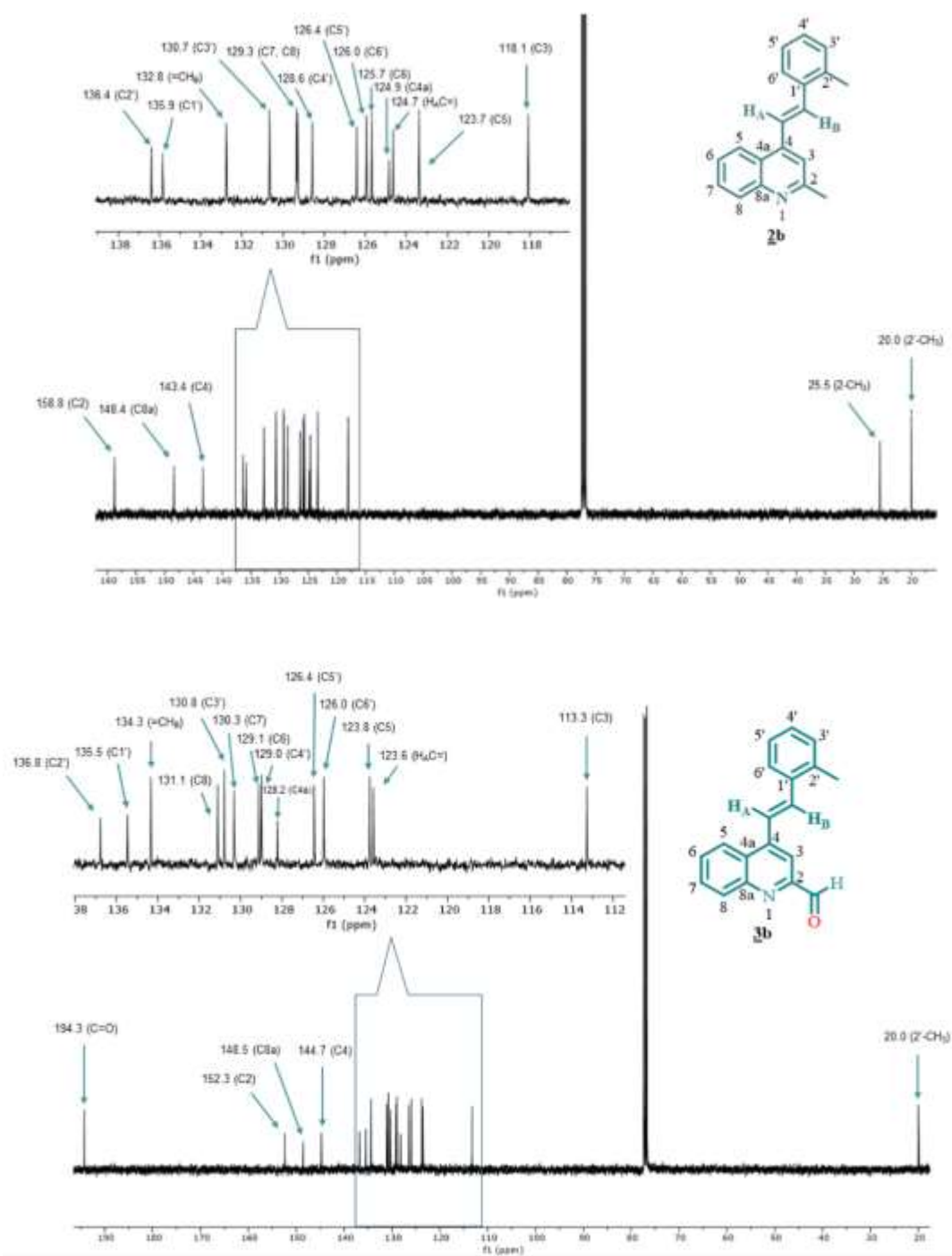
Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN y expansión de la zona aromática del (*E*)-4-(2-metilestiril)quinolina-2-carbaldehído **3b** y de su precursor **2b** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



La comparación de los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  de **3b** y de **2b** (Figura 13), revela que, exceptuando la ya consignada desaparición de la señal del grupo 2- $\text{CH}_3$  y el registro de la nueva señal del formilo, los desplazamientos químicos de todos los demás carbonos que conforman el esqueleto carbonado de las dos moléculas son bastante parecidos, especialmente los carbonos del sustituyente *o*-tolilo, que prácticamente son idénticos. La influencia del grupo formilo, no obstante, fue levemente notoria sobre los desplazamientos químicos del carbono cuaternario C2 (152.3 ppm) y del carbono C3 (113.3 ppm), cuyas señales se desplazaron 6.5 y 5.0 ppm, respectivamente, hacia campo más alto; el efecto contrario se observó para los desplazamientos químicos de los carbonos quinolínicos C4, C4a, C5, C6, C7, C8 y C8a, cuyas señales se desplazaron entre 0.1 y 3.4 ppm hacia campo más bajo, siendo la menor influencia (0.1 ppm) sobre los carbonos C5 (123.8) y C8a (148.5). Un comportamiento idéntico se observó para el carbono vinílico  $\text{CH}_\text{B}=\text{}$  (134.3 ppm), cuya señal se desplazó 1.5 ppm hacia campo más bajo, en tanto que la señal de su contraparte  $=\text{CH}_\text{A}$  (123.6 ppm), por el contrario, se desplazó 1.1 ppm hacia campo más alto.

**Figura 13**

Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN y expansión de la zona aromática del (*E*)-4-(2-metilestil)quinolina-2-carbaldehido **3b** y de su precursor **2b** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



Como ya se mencionó, la asignación de todos los hidrógenos y carbonos se corroboró con el espectro de correlación heteronuclear HMBC, quedando resuelta la identidad estructural de **2b**, en particular, y de todos los miembros de la serie **2**, en general.

### 5.3 Síntesis de los nuevos híbridos moleculares las (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4a-j**.

Con los intermediarios clave (*E*)-4-estirilquinolin-2-carbaldehídos **3a-j** en la mano, el siguiente reto y objetivo principal del presente Trabajo de Grado consistió en realizar su transformación química en los nuevos híbridos moleculares estirilquinolina-quinazolinona **4**, usando como enfoque de síntesis la ya conocida y ampliamente usada reacción de condensación-cicloaddición oxidativa entre aldehídos y antranilamidas.(62,67,72)

Con el propósito de encontrar las condiciones de reacción óptimas para la construcción del anillo de quinazolin-4-ona en la estructura global de los híbridos de interés **4**, se seleccionó como sustrato modelo el (*E*)-4-estirilquinolina-2-carbaldehído **3a**, el cual, inicialmente, se hizo reaccionar en etanol a reflujo con cantidades equimolares de la antranilamida, usando el ácido *p*-toluenosulfónico (5 % mmol) como catalizador. El monitoreo del avance de la reacción por cromatografía de capa fina (CCF) indicó que, transcurridas 8 horas, los reactantes no se habían consumido. Lo mismo se observó cuando la reacción se realizó usando 10 % mol del catalizador, y cuando se intentó promover la ciclocondensación oxidativa con radiación de microondas durante 10 minutos, usando 5-10 % mol del mismo catalizador. En todos los ensayos anteriores se recuperaron los reactantes intactos. En la Tabla 1 se resume las diferentes pruebas que se realizaron para la optimización de las condiciones de reacción.

**Tabla 1**

*Diferentes condiciones de reacción empleadas para la síntesis de los nuevos híbridos moleculares*

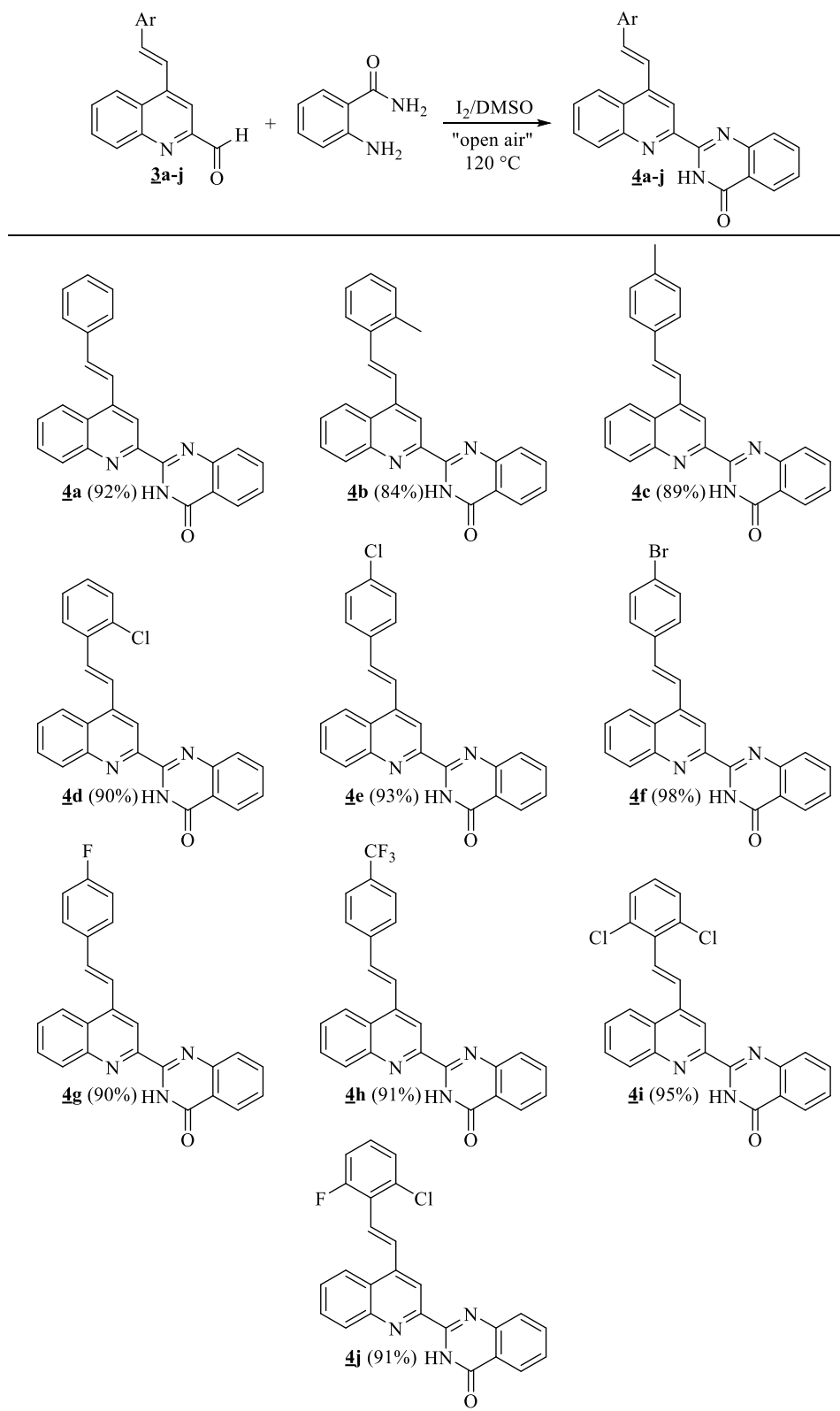
**4.**

No.	<u>3a</u> (mmol)	Antranilamida (mmol)	Temp (°C)	Tiempo (h)	Solvente	Catalizador	Observaciones
1	0.266	0.266	100	8	EtOH	PTSA (5 % mmol)	No hubo reacción*
2	0.266	0.266	100	8	EtOH	PTSA (10 % mmol)	No hubo reacción*
3	0.266	0.266	MW, 80	0.17	EtOH	PTSA (5 % mmol)	No hubo reacción*
4	0.266	0.266	MW, 80	0.17	EtOH	PTSA (10 % mmol)	No hubo reacción*
5	0.266	0.266	110	2-5	DMSO	I <sub>2</sub> (10 % mmol)	No hubo reacción*
6	0.266	0.266	120	2	DMSO	I <sub>2</sub> (10 % mmol)	<b>4a</b> 92%**

\*Frasco sellado, \*\*Frasco expuesto al aire del ambiente.

En el siguiente ensayo se adaptaron las condiciones de reacción reportadas por *Liu*,<sup>(66)</sup> esto es, promoviendo la reacción en DMSO a 110 °C en la presencia de yodo molecular (10 % mmol); sin embargo, bajo estas condiciones de reacción tampoco se observó el consumo de los precursores, después de 2 horas de calentamiento. A la luz de estos resultados, como última opción, se decidió emplear las condiciones de reacción descritas por *Mohammed*,<sup>(62)</sup> las cuales, en esencia, son las mismas del protocolo de *Liu* con la diferencia de que la reacción no se realiza en

un tubo sellado, sino en un tubo abierto expuesto al aire del ambiente (“open air/open flask”) y a 120 °C, y con la misma carga del catalizador (I<sub>2</sub>, 10 % mol). En estas condiciones de reacción, al cabo de 2 horas (control por CCF) se constató que los precursores se habían consumido en su totalidad y que se había formado un nuevo y único producto, el cual se aisló del crudo de la reacción con un rendimiento del 92% (Esquema 22). El análisis por RMN indicó que se trataba de la (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-ona **4a** esperada. Estas mismas condiciones de reacción se hicieron extensivas a la ciclocondensación-oxidativa del resto de formil derivados **3b-j** y la antranilamida, obteniéndose, en el mismo tiempo de reacción (2 horas), las correspondientes (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4a-j**; estos compuestos fueron aislados como sustancias sólidas de color amarillo claro con rendimientos del 84-98% .



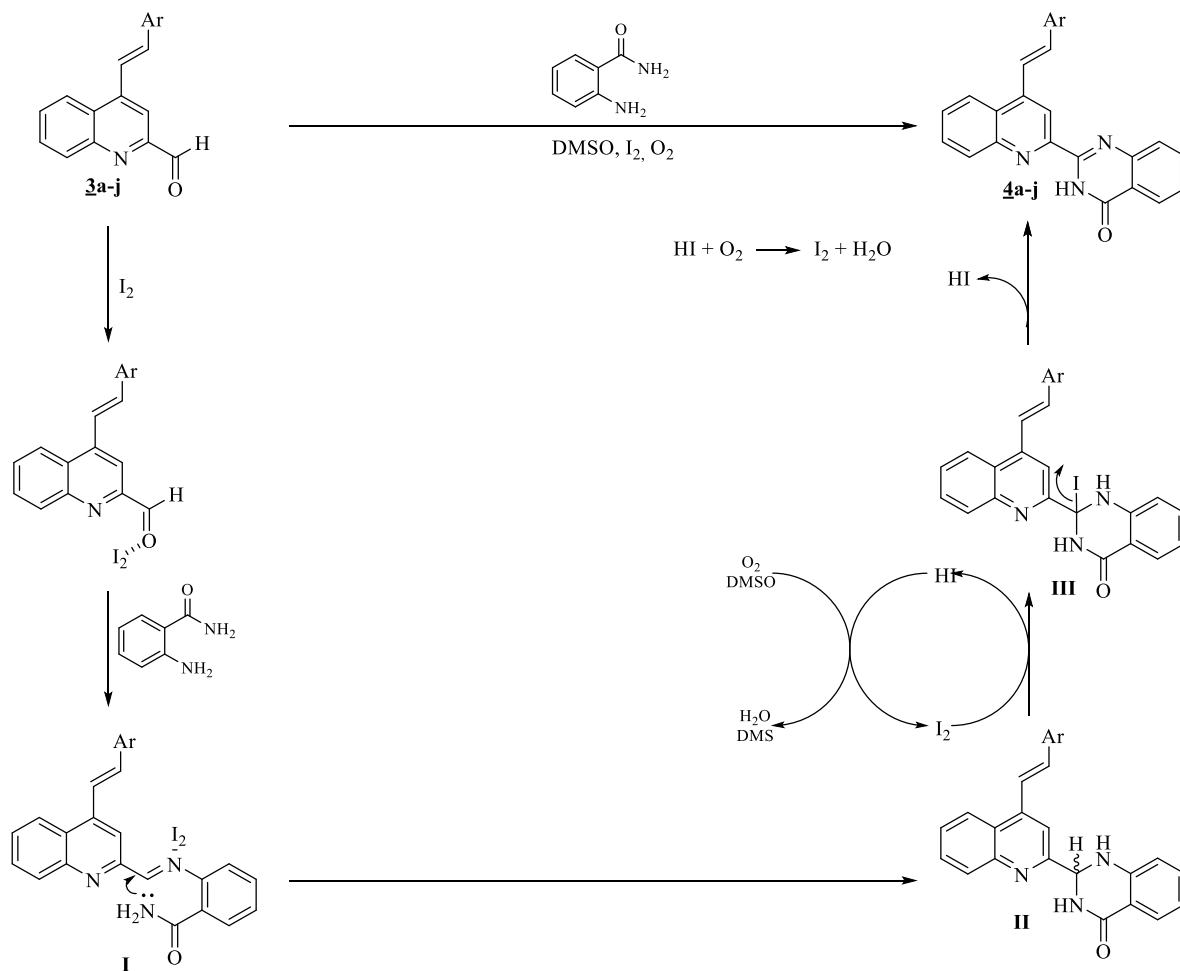
*Esquema 22. Síntesis de los nuevos híbridos estirilquinolina-quinazolin-4-ona **4a-j**.*

Los rendimientos de los productos obtenidos indica que las condiciones de reacción implementadas para la promover la ciclocondensación-oxidativa de los formil derivados **3** funcionan muy bien independientemente del grado de sustitución y de la naturaleza de los sustituyentes presentes en el fenilo del fragmento estirilo, aunque la presencia de halógenos favorece levemente más el rendimiento de los productos en comparación con los sustituyentes metilo.

Por considerarlo de interés, aunque no hace parte de los objetivos de esta investigación, en la Figura 14 se presenta el mecanismo de reacción simplificado propuesto para la formación de los nuevos híbridos quinolina-quinazolinona **4**, el cual fue adaptado del trabajo descrito por *Mohammed y colaboradores*.(62) Según estos autores, inicialmente se da la activación del grupo carbonilo en el formil derivado **3** por coordinación con el yodo molecular, coordinación que incrementa la electrofilicidad del carbono carbonílico haciéndolo más susceptible a la reacción de adición nucleofílica del grupo amino de la antranilamida que resulta (tras la deshidratación del aminol primario) en la formación de la base de *Schiff* **I**. En esta base de *Schiff*, el yodo ahora está coordinando con el nitrógeno imínico, lo que se traduce en un mayor carácter electrofílico de este carbono y, por ende, una mayor disposición para el subsiguiente ataque intramolecular del grupo amino lactámico poco básico que deriva en la generación del cicloaducto **II**, que, finalmente, se transforma en el producto de interés **4**, mediante el proceso de oxidación mediado por el I<sub>2</sub> en DMSO en la presencia del oxígeno del aire en que tiene lugar la eliminación de una molécula de HI. El uso del I<sub>2</sub> molecular en combinación con el DMSO asegura el éxito de la reacción.

**Figura 14**

*Mecanismo de reacción propuesto de la condensación-cicloadición oxidativa para la formación de los híbridos moleculares **4a-j**.*



La caracterización estructural de los nuevos híbridos moleculares **4a-j** se realizó, como en los casos anteriores, empleando las técnicas analíticas convencionales de elucidación estructural, espectroscopia infrarroja (IR), espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) y resonancia magnética nuclear unidimensional ( $^1H$ -RMN y  $^{13}C$ -RMN) y bidimensional (COSY, HMBC y HSQC).

En los espectros de infrarrojo de **4a-j** se identificaron las bandas de absorción que corresponden a las vibraciones características de los diferentes componentes estructurales presentes. En primer lugar, se observan las bandas asociadas al núcleo de la quinolina, éstas son: una banda de baja intensidad situada entre 1596-1604  $\text{cm}^{-1}$  generada por la vibración de flexión del enlace C=N endocíclico, dos bandas de intensidad media localizadas entre 1413-1565  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas con las vibraciones de tensión y flexión del enlace C=C del anillo aromático. Por otro lado, el fragmento estirilo y su estereoquímica se caracteriza por dos bandas de absorción distintas en sus espectros de IR, que son: una banda de intensidad media en el rango de 1556-1583  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a la tensión del enlace C=C vinílico, y otra banda intensa localizada entre 892-982  $\text{cm}^{-1}$  asociada a la vibración de flexión fuera del plano, típica de alquenos disustituidos con estereoquímica *E*. Adicionalmente, se distinguen bandas específicas asociadas a los sustituyentes halógeno presentes en el fenilo del fragmento estirilo, que aparecen así; entre 740-755  $\text{cm}^{-1}$  para los enlaces  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-Cl}$ , en 755  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-Br}$ , en 756  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace  $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-F}$  y en 788  $\text{cm}^{-1}$  para los enlaces  $\text{CF}_3$ . Para el núcleo de la quinolinona se observaron las siguientes bandas características: una banda de baja intensidad entre 3135-3334  $\text{cm}^{-1}$  y otra de intensidad alta en el rango de 1669-1687  $\text{cm}^{-1}$  asociadas a la tensión del enlace N-H y C=O lactámicos.

Para el análisis de estos compuestos por espectrometría de masas, se utilizó la espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI-MS). La toma de los espectros se realizó en el modo positivo, detectándose en el modo *full-scan* las formas protonadas de **4a-j**, es decir, los iones quasimoleculares  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . En la Tabla 2, se relacionan las masas exactas, las correspondientes fórmulas moleculares y las relaciones isotópicas de los iones quasimoleculares de esta serie de compuestos **4a-j**. Adicionalmente, los tiempos de retención, es decir, el tiempo que tardó cada analito en atravesar la columna cromatográfica e ingresar a la cámara de ionización,

que son característicos de cada uno de los compuestos **4a-j**, se pueden observar en la parte superior izquierda de los espectros de masas, y también fueron consignados en la Parte Experimental.

**Tabla 2**

*Masas exactas y observadas para cada una de las combinaciones isotópicas.*

Compuesto	Fórmula [M+H] <sup>+</sup>	Calculada	Experimental	ppm
<b>4a</b>	C <sub>25</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O	376.14444	376.14392	-1.37671
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O	377.14779	377.14703	-2.01473
<b>4b</b>	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O	390.16009	390.15961	-1.23505
	C <sub>25</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O	391.16344	391.16263	-2.08462
<b>4c</b>	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O	390.16009	390.15997	-0.29643
	C <sub>25</sub> <sup>13</sup> CH <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O	391.16344	391.16321	-0.60229
<b>4d</b>	C <sub>25</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>3</sub> O	410.10547	410.10593	1.12191
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>17</sub> ClN <sub>3</sub> O	411.10882	411.10910	0.67897
	C <sub>25</sub> H <sub>17</sub> <sup>37</sup> ClN <sub>3</sub> O	412.10252	412.10252	0.57358
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>17</sub> <sup>37</sup> ClN <sub>3</sub> O	413.10587	413.10587	-0.01363
<b>4e</b>	C <sub>25</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>3</sub> O	410.10547	410.10559	0.30336
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>17</sub> ClN <sub>3</sub> O	411.10882	411.10876	-0.13758
	C <sub>25</sub> H <sub>17</sub> <sup>37</sup> ClN <sub>3</sub> O	412.10252	412.10251	-0.01884
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>17</sub> <sup>37</sup> ClN <sub>3</sub> O	413.10587	413.10593	0.13411
<b>4f</b>	C <sub>25</sub> H <sub>17</sub> BrN <sub>3</sub> O	454.05495	454.05524	0.62879
	C <sub>24</sub> <sup>13</sup> CH <sub>17</sub> BrN <sub>3</sub> O	455.05831	455.05835	0.09559

	$C_{25}H_{17}^{81}BrN_3O$	456.05290	456.05325	0.76409
	$C_{24}^{13}CH_{17}^{81}BrN_3O$	457.05626	457.05627	0.03262
<b>4g</b>	$C_{25}H_{17}FN_3O$	394.13502	394.13525	0.60131
	$C_{24}^{13}CH_{17}FN_3O$	395.13837	395.13837	-0.01268
<b>4h</b>	$C_{26}H_{17}F_3N_3O$	444.13182	444.13245	1.40269
	$C_{25}^{13}CH_{17}F_3N_3O$	445.13518	445.13565	1.06153
<b>4i</b>	$C_{25}H_{16}Cl_2N_3O$	444.06649	444.06598	-1.15991
	$C_{24}^{13}CH_{16}Cl_2N_3O$	445.06985	445.06915	-1.56391
	$C_{25}H_{16}Cl^{37}ClN_3O$	446.06354	446.06311	-0.97212
	$C_{24}^{13}CH_{16}Cl^{37}ClN_3O$	447.06690	447.06604	-1.92084
	$C_{25}H_{16}^{37}Cl_2N_3O$	448.06059	448.06000	-1.33090
	$C_{24}^{13}CH_{16}^{37}Cl_2N_3O$	449.06395	449.06299	-2.13867
<b>4j</b>	$C_{25}H_{16}ClFN_3O$	428.09604	428.09631	0.62812
	$C_{24}^{13}CH_{16}ClFN_3O$	429.09940	429.09940	-0.00846
	$C_{25}H_{16}^{37}ClFN_3O$	430.09309	430.09332	0.53075
	$C_{24}^{13}CH_{16}^{37}ClFN_3O$	431.09645	431.09625	-0.45660

A modo de ejemplo, en las Figuras 15 y 16 se muestran los espectros de masas en modo *full-scan* del compuesto **4i**, en los que se registra su masa exacta y sus correspondientes relaciones isotópicas.

Figura 15

Espectro de masas en modo full-scan para **4i**.

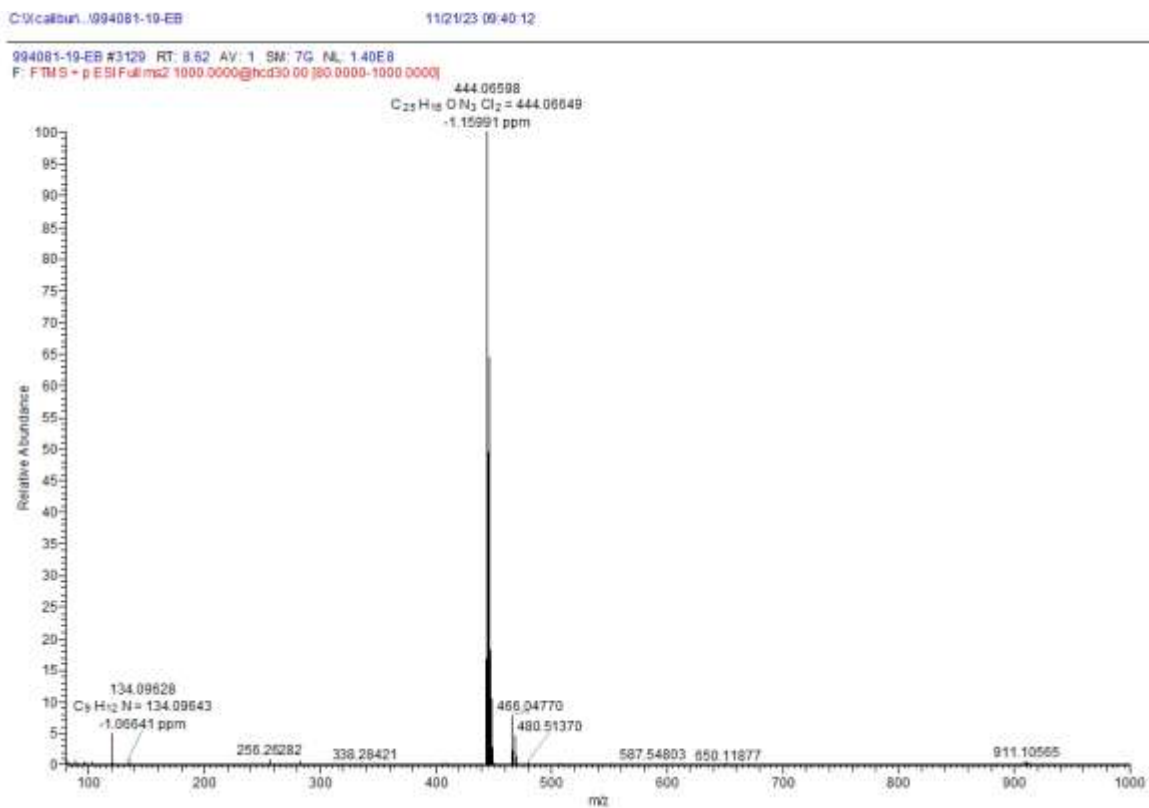
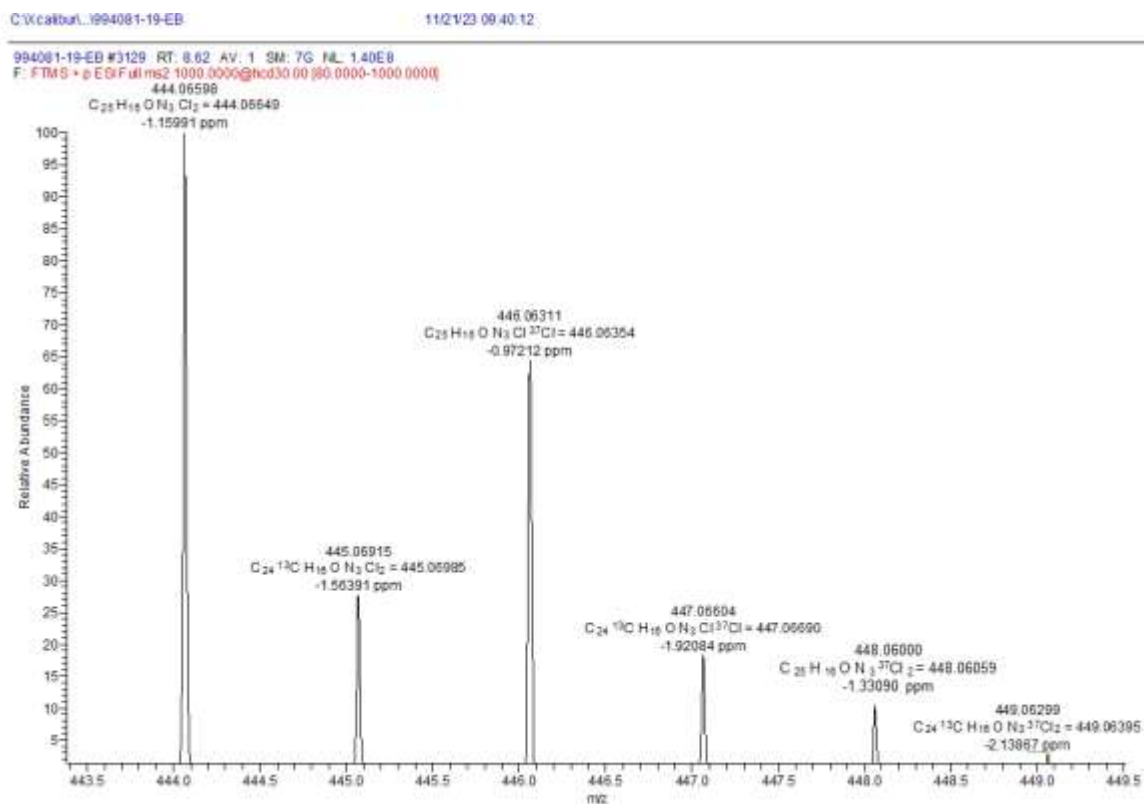


Figura 16

Expansión del espectro de masas en modo full-scan para **4i** donde se observan las relaciones isotópicas.



Fue, sin embargo, el análisis combinado y riguroso de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) unidimensionales (RMN  $^1H$  y  $^{13}C$ ) y bidimensionales (COSY, HMBC y HSQC), los que permitieron llevar a cabo las asignaciones inequívocas de todos los átomos de hidrógeno y carbono, y, finalmente, dar por concluido el proceso de identidad estructural de todos los miembros de la serie de híbridos moleculares **4**. En primera instancia, es importante subrayar que en todos los espectros de  $^1H/^{13}C$ -RMN de los híbridos **4** se registraron todas las señales de los hidrógenos y carbonos esperadas para cada compuesto, siendo la desaparición de la señal asociada al hidrógeno del grupo formilo en C2 (señal que se observaba en la región de campo bajo, a  $\delta$

10.24-10.18, en los espectros de los precursores **3**), así como la aparición de 5 nuevas señales asociadas a los hidrógenos presentes en el núcleo de la quinazolin-4(3*H*)-ona, la primera evidencia que confirma la materialización exitosa de la reacción de condensación-ciclación oxidativa de **3** y la concomitante formación de los híbridos esperados **4**. Como en la estructura de **4** el anillo de la quinolina y su apéndice estirilo provienen del ensamblaje molecular de **3** (que fue previamente discutido sobre la base del derivado **3b**) y permanecen intactos, la discusión sobre la definición de la identidad estructural completa de **4** se centrará principalmente sobre estas cinco nuevas señales. El fragmento lactámico en **4** quedó definido por el singlete característico que origina su hidrógeno 3-N-H, el cual se registra en aproximadamente 11.2 ppm; este valor que evidencia el alto grado de polaridad de la función lactama. De los cuatro hidrógenos aromáticos del anillo de la quinazolin-4-ona, la del hidrógeno H-5 es la que aparece a campo más bajo, en aproximadamente 8.4 ppm, registrándose como un doblete de dobletes (para la mayoría de los compuestos) o como un doblete (en los espectros de **4e** y **4f**); este desplazamiento hacia campo más bajo puede estar asociado al efecto de desapantallamiento que ejerce el carbonilo adyacente, por encontrarse dentro del cono de desprotección anisotrópica de este grupo. En el intervalo de 7.96-7.91 ppm se registra el hidrógeno 8-H, cuya señal presenta diferentes multiplicidades, siendo un doblete (d) en los espectros de **4a-f**, un doblete de dobletes (dd) en los espectros de **4g,h,j**, y un multiplete en el espectro de **4i**. Desplazada en aproximadamente 0.8 ppm hacia campo más alto, en el intervalo de 7.87-7.88 ppm, se registra la señal del hidrógeno H7, cuya multiplicidad en la gran mayoría de los casos es la de un multiplete, siendo la excepción el doblete de doblete de dobletes esperado que se registró en el espectro del híbrido **4j**. Que la señal de este hidrógeno se registre como un multiplete y no como el esperado doblete de doblete de dobletes encuentra su explicación en el hecho de que resuena exactamente en la misma región en la que resuena el hidrógeno quinolínico H7', lo que

ocasiona que sus señales se solapen y generen un único multiplete en el que dichas señales se hacen indistinguibles, excepto para los hidrógenos homólogos del híbrido **4j**; en ese espectro, la señal del hidrógeno quinolínico H7' se registra en 7.81 ppm como un doblete de doblete de dobletes. El hidrógeno H6 es, de los cuatro hidrógenos aromáticos de la quinazolinona, el que resuena a campo más alto, en el intervalo de 7.60-7.52 ppm, registrándose su señal como un multiplete (en los espectros de **4a,c,e-g**) o como era de esperar, un doblete de doblete de dobletes (en los espectros de **4b,d,h-j**).

La atención se centrará ahora en las señales de los hidrógenos del anillo de la quinolina y los hidrógenos vinílicos del fragmento estirilo. La inspección cuidadosa de los espectros de protones revela que los hidrógenos H5', H6' y H7' resuenan, en general, en los mismos intervalos de campo que sus congéneres en los espectros de **3**, lo cual indica que el cambio del grupo formilo por el anillo de la quinazolin-4-ona no tuvo ninguna influencia sobre ellos, pero sí la tuvo, aunque muy leve, sobre el desplazamiento químico del hidrógeno H8', cuya señal ahora aparece desplazada hacia campo más alto, en aproximadamente 0.08 ppm, en comparación con la de su congénere en **3**. De los anteriores cuatro hidrógenos, el hidrógeno H5' es el que resuena a campo más bajo, en 8.27-8.21 ppm, siendo un doblete su señal más característica; la excepción se observa en los espectros de los híbridos **4i** y **4j** en los que resuena como un multiplete localizado en 8.23-8.18 y 8.21-8.17 ppm, respectivamente, y en el espectro del híbrido **4b** en el que se registra como un doblete de dobletes centrado en 8.26 ppm. El hidrógeno 8H' resuena en el intervalo de 8.23-8.17 ppm, registrándose como un doblete o como un multiplete que comparte con el hidrógeno H5' (en los espectros de **4i** y **4j**). La identificación del hidrógeno H7' se hizo en conjunto con la asignación del hidrógeno de la quinazolin-4-ona H7, pues ambos comparten la misma región de campo generando un multiplete o un doblete de doblete de dobletes localizados en 7.87-7.78 ppm.

De todos los hidrógenos del anillo de la quinolina, el hidrógeno H6' es el que resuena a campo más alto, registrándose en el intervalo de 7.70-7.64 ppm como un multiplete (en los espectros de **4a,c,e,g**), como un aparente triplete (en el espectro de **4f**) o con el esperado patrón de desdoblamiento, esto es, como un doblete de doblete de dobletes (en los espectros de **4b,d,h-j**).

La influencia que ejerce el nuevo anillo de la quinazolinona, concretamente la función lactama, sobre el entorno electrónico y magnético del hidrógeno quinolínico H3' es, quizás, lo más sobresaliente en los espectros de los híbridos **4**. Su corrimiento químico registrado a campo mucho más bajo, en aproximadamente 0.6 ppm, comparado con el de su similar en los espectros de **3**, sugiere que entre dicho hidrógeno y el oxígeno de la función lactama, por sus disposiciones espaciales cercanas, existe una fuerte interacción electrostática de tipo puente de hidrógeno que provoca su polarización y la disminución de su densidad electrónica, lo cual, a su vez, se ve reflejado en el valor alto de su desplazamiento químico, siendo el segundo, después del hidrógeno láctamico, el que resuena (como singulete) a campo más bajo, en 8.87-8.81 ppm.

Los hidrógenos vinílicos del fragmento estirilo, designados como H<sub>A</sub> y H<sub>B</sub>, resuenan en los intervalos de 8.10–7.71 y 7.93–7.51 ppm, respectivamente, generando señales nuevamente con forma de doblete [la excepción es el doblete de doblete ( $^4J_{H_A,H_3'} = 0.7$  Hz) que se registró para el hidrógeno H<sub>A</sub> en el espectro de **4i**], cuyas constantes de acoplamiento de 16.8-16.0 Hz indican inequívocamente que se trata de hidrógenos vinílicos *trans*, valores que, a su vez, reafirman la invariabilidad de la estereoquímica *E* del fragmento estirilo desde las estructuras de sus progenitores **2** hasta los productos de su segunda funcionalización, esto es, los híbridos moleculares **4**. Para la mayoría de los híbridos **4**, el hidrógeno H<sub>A</sub> es el que resuena a campo más bajo, observándose lo contrario solamente en los espectros de los híbridos *orto*-metilfenilvinil y *orto*-clorofenilvinil sustituidos **4b** y **4d**, cuya causa se debe buscar en el efecto estérico o las

interacciones de *Van-der-Walls* que estos dos grupos, por separado, ejercen sobre el hidrógeno H<sub>B</sub>. Finalmente, la electronegatividad del átomo de flúor en la posición C6 del fenilo del fragmento estirilo en el híbrido **4j**, así como las interacciones de *Van-der-Walls* con el hidrógeno vinílico H<sub>A</sub> son la causa del drástico desplazamiento de su señal hacia campo más bajo ( $\delta$  8.10) en comparación con los desplazamientos químicos del resto de sus similares.

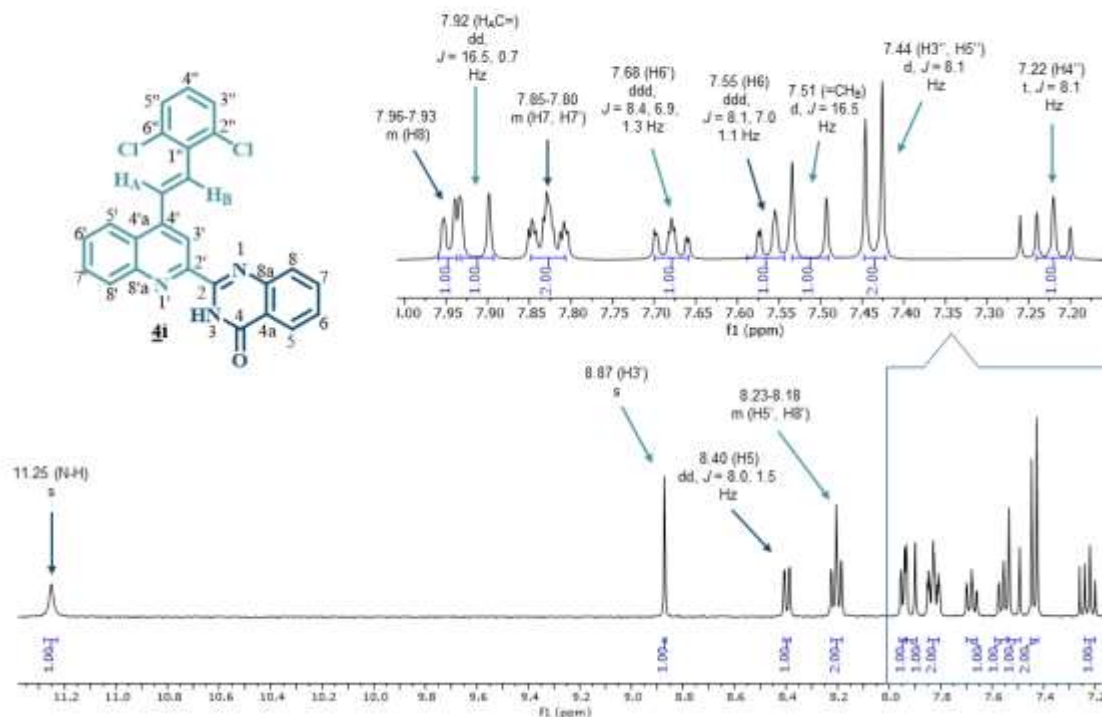
En relación con la asignación de los hidrógenos aromáticos del fragmento estirilo, se encontró que los hidrógenos magnéticamente equivalentes H2''/H6'' en los espectros de **4a,c,f-g**, resuenan en el rango de 7.71-7.52 ppm generando multipletes, mientras que en los espectros de **4e** y **4h** se registran como dobletes anchos (da) centrados en 7.78 ppm ( $^3J_{H2''/H6'',H3''/H5''} = 8.1$ ) y 7.62 ppm ( $^3J_{H2''/H6'',H3''/H5''} = 8.3$  Hz), respectivamente. Además, la señal del hidrógeno H6'', en los espectros de **4b,d**, se registra como un multiplete (m) ubicado en 7.85-7.72 ppm. Por otro lado, los hidrógenos equivalentes H3''/H5'', en los espectros de **4c,i**, se registran como dobletes (d) centrados en 7.27 ppm ( $^3J_{H3''/H5'',H2''/H6''} = 7.7$ ) y 7.44 ppm ( $^3J_{H3''/H5'',H4''} = 8.1$  Hz), respectivamente; las señales de estos mismos hidrógenos, en los espectros de **4e,h**, se registran como dobletes anchos (da) ubicados en 7.43 ppm y 7.71 ppm, con constantes de acoplamiento de ( $^3J_{H3''/H5'',H2''/H6''} = 8.1$  Hz) y ( $^3J_{H3''/H5'',H4''} = 8.3$  Hz), y como multipletes (7.60-7.13 ppm) en los espectros de **4a,b,f,g**. La señal del hidrógeno H3'', en el espectro de **4d**, se registra a 7.48 ppm como un doblete de dobletes (dd), con constantes de acoplamiento de  $^3J_{H3'',H4''} = 7.7$  Hz y  $^4J_{H3'',H5''} = 1.6$  Hz; mientras que su señal en el espectro de **4j** se registra a 7.31 ppm como un doblete de tripletes (dt), con constantes de acoplamiento de  $^3J_{H3'',H4''} = 7.7$  Hz y  $^4J_{H3'',H5''} = 1.6$  Hz. La señal del hidrógeno H5'', en el espectro de **4d**, se registra a 7.38 ppm como un triplete de dobletes (td), con constantes de acoplamiento de  $^3J_{H5'',H4''} = ^3J_{H5'',H6''} = 7.6$  Hz y  $^4J_{H5'',H3''} = 1.6$  Hz, mientras que en el espectro de **4j** se desdobra con sus hidrógenos vecinos y con el átomo de flúor generando

un doblete de doblete de dobletes (ddd) centrado en 7.13 ppm, con constantes de acoplamiento de  ${}^3J_{H5'',F} = 9.8$  Hz,  ${}^3J_{H5'',H4''} = 8.1$  Hz y  ${}^4J_{H5'',H3''} = 1.4$  Hz. Finalmente, la señal del hidrógeno H4'', en los espectros de **4d,j**, se visualiza como tripletes de dobletes (td) centrados en 7.33 ppm ( ${}^3J_{H4'',H5''} = {}^3J_{H4'',H3''} = 7.5$  Hz y  ${}^4J_{H4'',H6''} = 1.9$  Hz) y 7.26 ppm ( ${}^3J_{H4'',H5''} = {}^3J_{H4'',H3''} = 8.1$  Hz y  ${}^4J_{H4'',F} = 5.6$  Hz), respectivamente, como un triplete (t) centrado en 7.22 ppm ( ${}^3J_{H4'',H5''} = {}^3J_{H4'',H3''} = 8.1$  Hz), en el espectro de **4i**, y como un multiplete (m) ubicado en 7.41-7.27 ppm, en los espectros de **4a,b**.

Como constatación específica de la asignación de las señales arriba mencionadas, en la Figura 17 se reproduce una expansión de la región aromática del espectro de resonancia magnética nuclear de protones (RMN  ${}^1H$ ) del híbrido **4i**, el cual se seleccionó como molécula modelo para el análisis. Nótese que todas las señales (individuales o solapadas) y sus respectivas constantes de acoplamiento (si hay lugar a ello), sin excepción alguna, fueron asignadas a sus hidrógenos pertenecientes.

**Figura 17**

Expansión de la región aromática del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del híbrido molecular quinolina-quinazolinona **4i**.

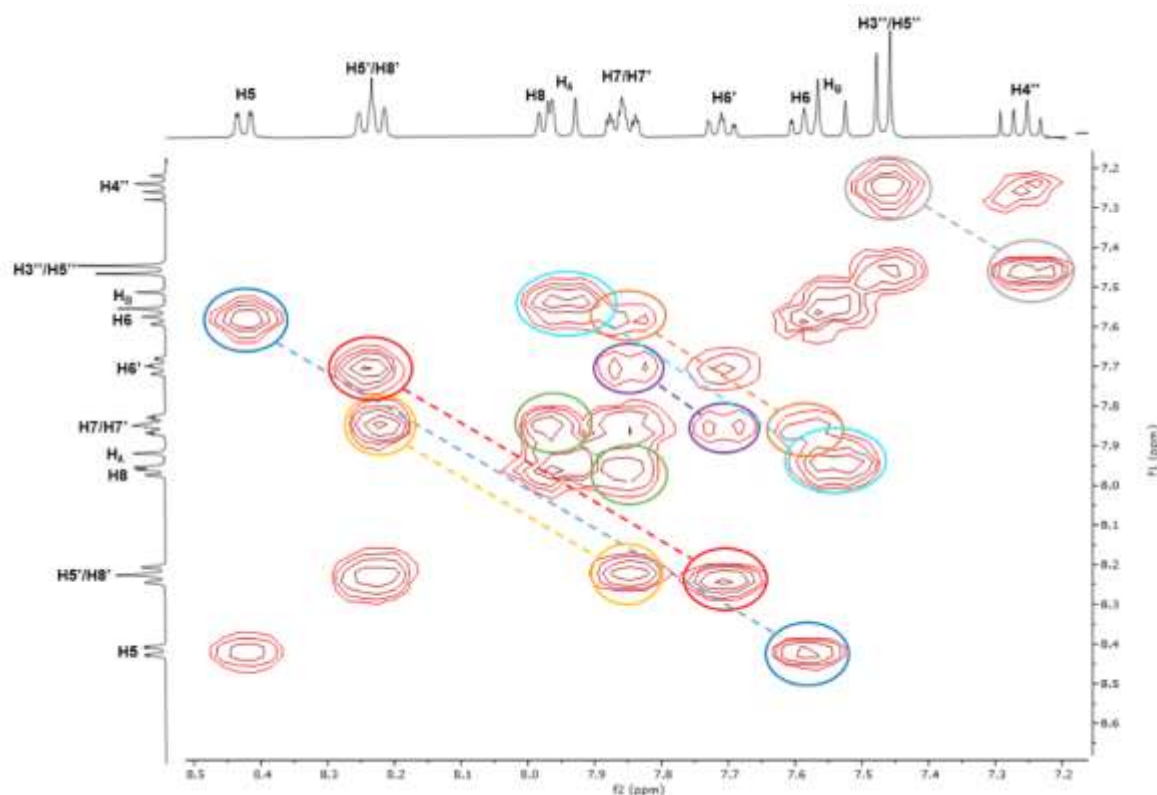


Las asignaciones de las señales a hidrógenos específicos se confirmaron con el análisis de los espectros bidimensionales  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, tal como se puede apreciar en la expansión de la zona aromática del espectro del compuesto híbrido **4i** que se reproduce en la Figura 18, y utilizado como ejemplo representativo para ilustrar los acoplamientos a tres y más enlaces que tienen lugar entre los diferentes hidrógenos de los nuevos híbridos moleculares **4a-j**. En esta expansión concreta, se distinguen claramente las correlaciones a tres enlaces entre los hidrógenos vecinos del núcleo de la quinazolin-4(3H)-ona H<sub>5</sub> y H<sub>6</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>7</sub>, y H<sub>7</sub> y H<sub>8</sub>, diferenciadas entre sí con las líneas de colores azul, naranja y verde, respectivamente; las correlaciones mutuas entre los hidrógenos quinolínicos H<sub>7'</sub> y H<sub>8'</sub> (línea amarilla), H<sub>7'</sub> y H<sub>6'</sub> (línea morada), y H<sub>6'</sub> y H<sub>5'</sub> (línea roja); la

correlación entre los hidrógenos vinílicos H<sub>A</sub> y H<sub>B</sub> (línea aguamarina); y la correlación entre los hidrógenos aromáticos H4'' y H3''/ H5'' (línea gris).

### Figura 18

Ampliación de la zona aromática del espectro de correlación homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY del derivado **4i**.



Lo más significativo que se registra en los espectros de carbono-13 de los híbridos **4a-j** es: (a) la ausencia de la señal asociada al carbono carbonílico del grupo formilo presente en los precursores **3** ( $\delta$  192.4-192.6), la cual fue sustituida por la del carbono imínico cuaternario C2 que resuena, como era de esperar, a campo mucho más alto, a 147.9-149.7 ppm, y, (b) la aparición de 6 señales adicionales, de las cuales una está asociada al carbonilo de la función lactama (C4,  $\delta$  161.5-161.4), dos a carbonos cuaternarios cabeza de puente [C4a ( $\delta$  122.7) y C8a ( $\delta$  149.3-149.1)

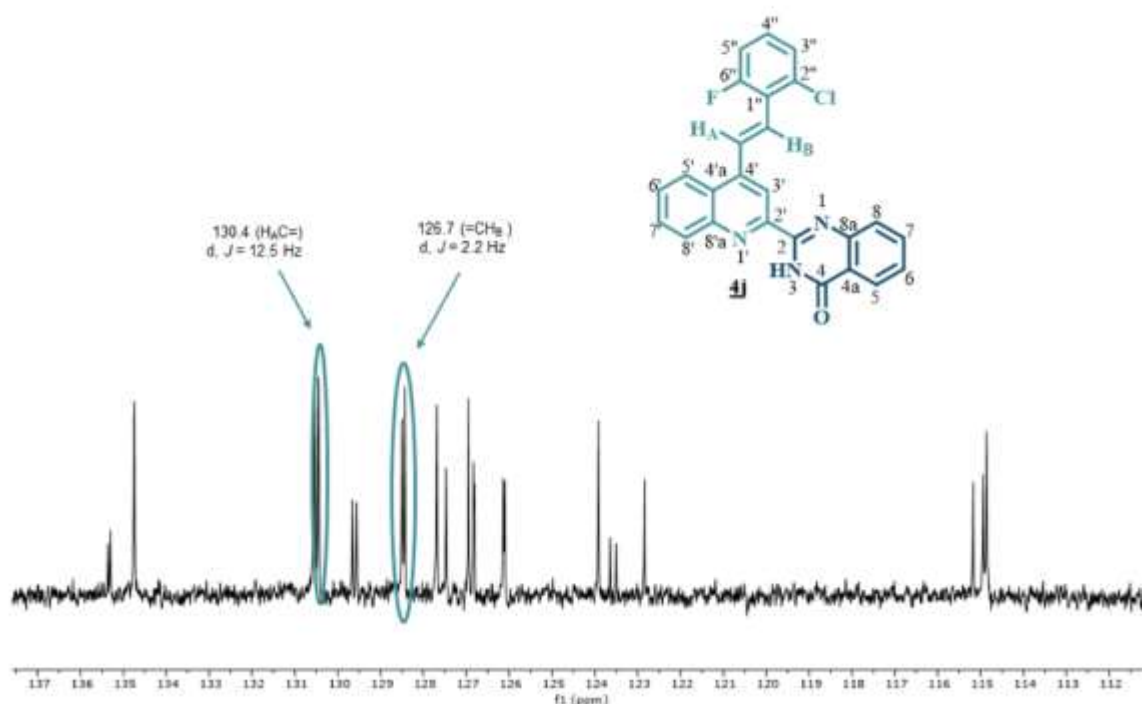
y cuatro a carbonos metínicos aromáticos [5C ( $\delta$  126.9-126.8), 6C ( $\delta$  127.6-127.5), 7C ( $\delta$  134.7-134.6) y C8 ( $\delta$  128.3-128.1). Las anteriores siete señales en conjunto confirman la existencia del núcleo de la quinazolin-4(3*H*)-ona como elemento estructural nuevo en el andamiaje global de los híbridos moleculares **4**.

El resto de las señales que se registran en los espectros y que están asociadas a los corrimientos químicos de los carbonos del fragmento 4-estirilquinolina, en general, son bastante similares a las que generan sus átomos homólogos de sus precursores **3**, y, por lo tanto, no son de mucho interés para la presente discusión; sus asignaciones están registradas en la Parte Experimental. Sólo se hará una breve anotación relacionada con los carbonos vinílicos =H<sub>A</sub>C y CH<sub>B</sub>=, de los cuales, el primero, en la mayoría de los casos, resuena a campo más alto ( $\delta$  131.8-121.2) que su contraparte ( $\delta$  136.4-130.0); sin embargo, en los espectros de los híbridos 2,6-diclorofenil (**4i**) y 2-cloro-6-flúorofenil (**4j**) disustituidos, este orden de aparición se altera: 131.8 y 130.4 ppm (para =H<sub>A</sub>C) versus 130.0 y 126.7 ppm (para CH<sub>B</sub>=), respectivamente. Llama la atención el hecho de que en el espectro del híbrido **4j** (Figura 20) estos dos carbonos, por el acoplamiento con el núcleo activo de flúor (posee un número impar de spin) ubicado en la posición C6'' del benceno, se desdoblan, registrándose ambos como dobletes con constantes de acoplamiento de  $^5J_{=H_A C, F} = 12.5$  Hz y  $^4J_{CH_B =, F} = 2.2$  Hz), respectivamente; pero lo más interesante es que la constante de acoplamiento del carbono H<sub>A</sub>C= con el flúor resulta ser mucho más grande, en 10.3 Hz, que la de su contraparte CH<sub>B</sub>= con el flúor (acoplamiento escalar a cuatro enlaces), aun tratándose de un acoplamiento escalar a cinco enlaces. Al parecer, la disposición espacial diferente de estos dos carbonos con respecto al núcleo de flúor podría ser la causa de que el carbono H<sub>A</sub>C=, al estar espacialmente más cerca del flúor, se polarice más y, por ende, su interacción con el flúor sea más intensa, dando como resultado una mayor constante de acoplamiento. En este

punto es importante subrayar que este comportamiento se ha observado en la gran mayoría de 4-(2-cloro-6-flúoroestiril)quinolinas sintetizadas en el LSO, independientemente del sustituyente que esté presente en C2 y C6 del anillo de la quinolina.(17–19)

### Figura 19

Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN del derivado **4j**.



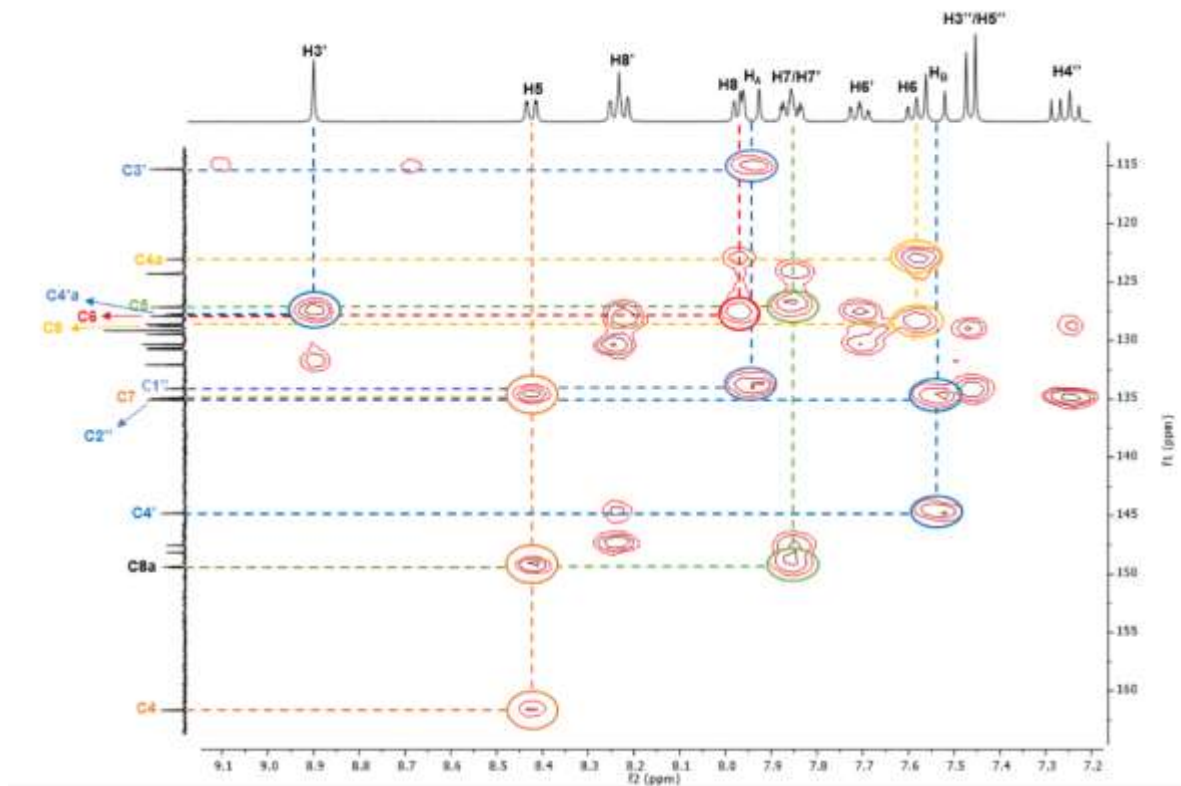
Finalmente, la causa del por qué el carbono  $\text{CH}_\text{B}=\text{C}$ , en la mayoría de los espectros, resuena a campo más bajo que su contraparte  $=\text{H}_\text{A}\text{C}$  podría ser la misma que se expuso cuando se analizó el espectro del precursor **3b**.

La confirmación incontrovertible de las asignaciones de los hidrógenos y carbonos de los híbridos **4a-j** se realizó con los espectros de correlación heteronuclear HMBC y HSQC. Como constatación, en la Figura 20 se reproduce la expansión de la zona aromática del espectro HMBC del híbrido **4i**, en el que se resaltan con líneas de color azul los picos cruzados que resultan de las

correlaciones a tres enlaces más significativas entre las señales de los carbonos e hidrógenos que definen la conectividad del anillo de la quinolina con el fragmento estirilo: (C4'a/H3'), (C3'/H<sub>A</sub> y C1''/H<sub>A</sub>), y (C2''/H<sub>B</sub> y C4'/H<sub>B</sub>). Infortunadamente, en todos los espectros de **4**, y como se puede constatar en el espectro de **4i**, no se registra ningún pico cruzado que defina la conectividad del anillo de la quinolina al anillo de la quinazolin-4-ona, es decir, la interacción a tres enlaces entre el carbono quinazolinónico C2 y el singulete del hidrógeno quinolínico H3' sobresale por su ausencia en el espectro. No obstante lo anterior, las demás correlaciones esperadas entre los carbonos e hidrógenos del nuevo anillo de la quinazolin-4-ona sí son evidentes: las líneas de color amarillo resaltan las correlaciones entre el hidrógeno H6 y los carbonos C8 (128.3 ppm) y C4a (122.7 ppm); con líneas de color verde se resaltan las correlaciones entre el hidrógeno H7 y los carbonos C8a (149.1 ppm) y C5 (126.6 ppm); con líneas de color naranja se distinguen las correlaciones entre el hidrógeno H5 con los carbonos C4 (161.5 ppm), C7 (134.6 ppm) y C8a (149.1 ppm); y, finalmente, con la línea de color rojo se resalta la correlación entre el hidrógeno H8 y el carbono C6 (127.6 ppm).

**Figura 20**

*Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HMBC del híbrido **4i**.*

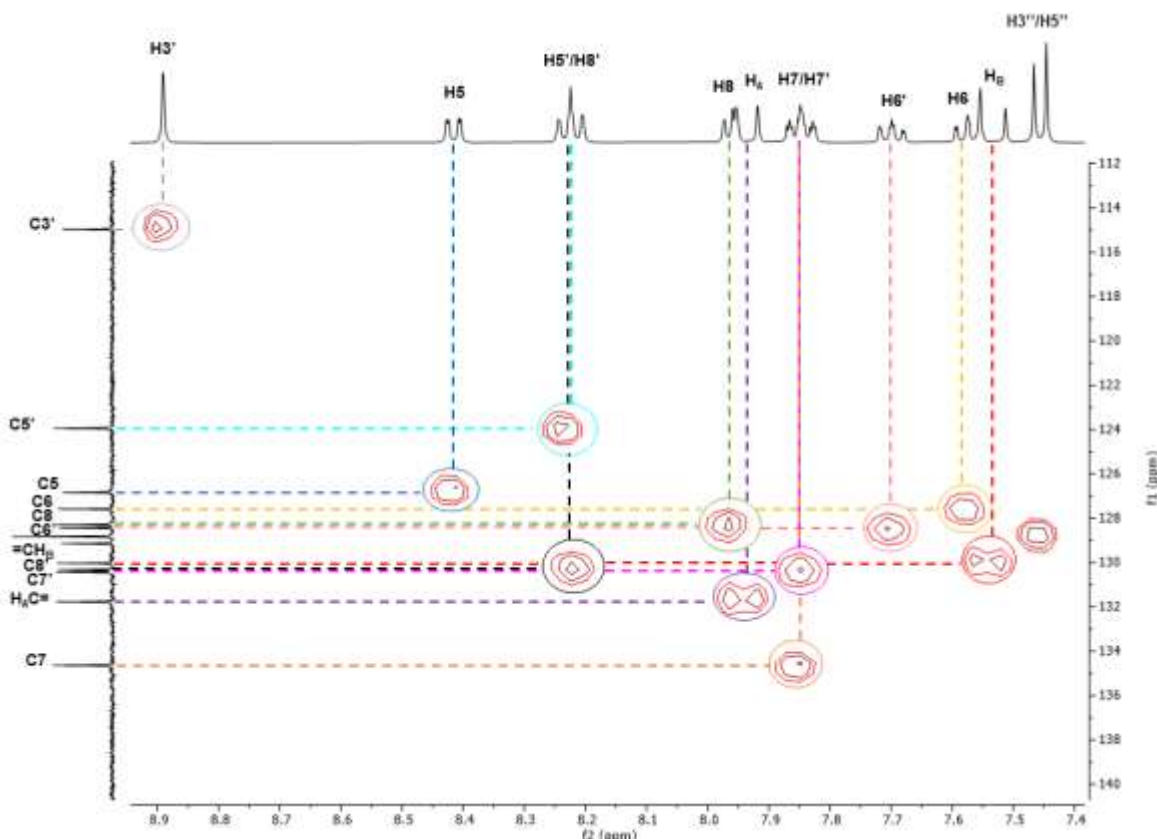


La dilucidación estructural de los híbridos **4** concluyó con la definición de la posesión irrestricta de cada uno de los átomos de hidrógeno a su respectivo carbono, mediante el análisis riguroso de sus espectros de correlación heteronuclear HSQC. Nuevamente, a manera de ejemplo representativo, en la Figura 21 se reproduce la expansión de la región aromática del espectro del híbrido **4i**, en el que se aprecian claramente los picos cruzados que revelan las conexiones directas entre las señales de los carbonos y las señales de sus propios hidrógenos. Así, con líneas de color morado y rojo se distinguen las correlaciones entre los dobletes de los hidrógenos olefínicos  $H_A$  y  $H_B$  y sus correspondientes carbonos  $H_A C=$  y  $=C H_B$ ; los picos cruzados entre las señales de los hidrógenos quinazolinónicos  $H_5$ ,  $H_6$ ,  $H_7$  y  $H_8$  y sus propios carbonos se resaltan con las líneas de color azul, amarillo, naranja y verde, respectivamente; y para concluir, las correlaciones directas

entre los hidrógenos y carbonos quinolínicos H3'-C3', H5'-C5', H6'-C6', H7'-C7' y H8'-C8' se destacan con las líneas de color gris, aguamarina, rosado, fucsia y negro, respectivamente.

**Figura 21**

*Expansión de la zona aromática del espectro de correlación heteronuclear HSQC del híbrido **4i**.*



## 6. Evaluación de la actividad anticancerígena de los nuevos híbridos moleculares estirilquinolina– quinazolinona **4**.

### 6.1 Generalidades

El término "cáncer" se define según la Sociedad Americana Contra el Cáncer, como un conjunto de patologías interrelacionadas, que se caracterizan por la presencia de células anómalas

que experimentan una proliferación descontrolada, superando en número a las células normales. Este proceso autónomo de multiplicación resulta en la invasión local y a distancia de tejidos, obstaculizando el funcionamiento normal del organismo. Desde una perspectiva genética, el cáncer se considera como una enfermedad derivada de cambios o mutaciones en los genes encargados de regular las funciones celulares, especialmente las del crecimiento y de la división celular. Como consecuencia de estas alteraciones genéticas, las células pueden experimentar divisiones incesantes, dando lugar a la formación de masas celulares conocidas como tumores. Estos afectan negativamente la función de las células normales y los órganos, pudiendo, en situaciones más críticas, diseminarse a otras regiones del cuerpo mediante el proceso de la metástasis.(73,74)

Se identifican aproximadamente 100 variedades de cáncer, mayormente designadas por el nombre del órgano, tejido o células de origen. Estos tipos cáncer se clasifican en categorías específicas, que incluyen: carcinomas, melanomas, sarcomas, leucemias, linfomas y mielomas, así como cánceres del sistema nervioso central. Los carcinomas surgen en células epiteliales que recubren diversos tejidos, encontrándose en la piel o revistiendo glándulas (adenocarcinomas), como en el colon, la próstata y el estómago. El melanoma, considerado como el cáncer cutáneo más severo, se origina en los melanocitos, que son los responsables de la producción de melanina. Por otro lado, los sarcomas tienen su origen en los tejidos óseo y blandos, que abarcan desde el tejido adiposo hasta los vasos sanguíneos, linfáticos y fibrosos. La leucemia es clasificada como una enfermedad oncohematológica que afecta las células sanguíneas, incluida la médula ósea. Los linfomas y mielomas involucran la proliferación anormal de células del sistema inmunológico, ya sea linfocitos B o T en el caso de los linfomas, y plasmocitos en el caso de los mielomas. Por último, el cáncer asociado al sistema nervioso central se origina en los tejidos del cerebro y de la médula espinal.(75–77)

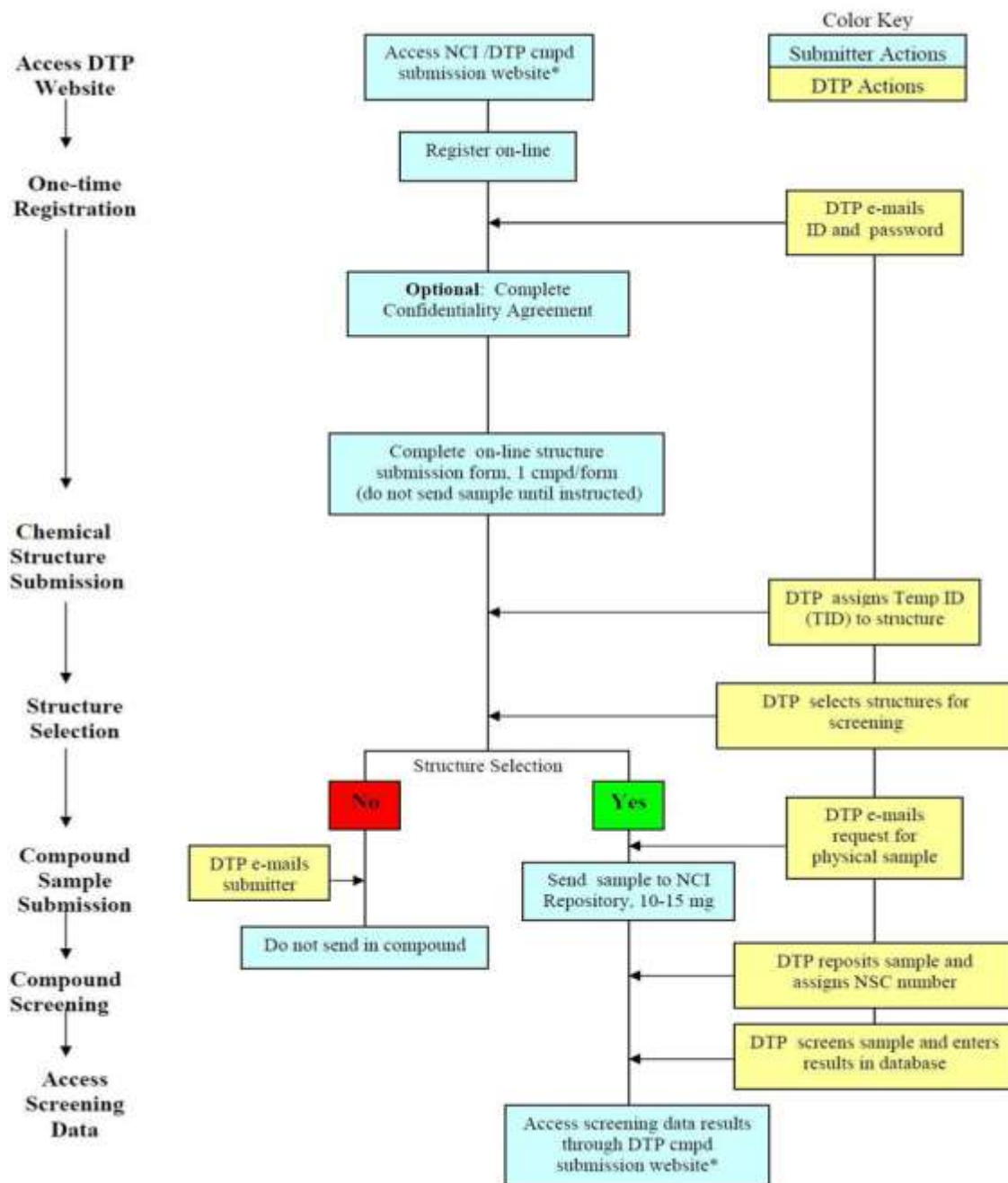
En el año 2023, el cáncer se posicionó como la segunda causa principal de mortalidad a nivel mundial, con 609.820 defunciones y 1.9 millones de diagnósticos nuevos solo en los Estados Unidos.(78) En Colombia, según datos del Instituto Nacional de Cancerología, durante el año 2022 se registraron 6.387 casos nuevos, de los cuales 2.731 eran hombres y 3.656 mujeres. Entre los cánceres más prevalentes en el país se encuentran el de mama y el de la piel, siendo el primero el de mayor incidencia en las mujeres, seguido por los de la piel y de la tiroides. Por otro lado, en los hombres, los cánceres de la piel, de la próstata y del estómago destacan como los más frecuentes.(79)

Con la finalidad de abordar la compleja problemática de salud pública que representa el cáncer a escala global, diversas entidades gubernamentales y privadas han sido creadas. Entre estas instituciones destaca el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos, que, desde su creación en 1955, ha fungido como la principal agencia del gobierno federal dedicada a atender las demandas de investigación y formación en relación con la etiología, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer. A través de una variedad de programas, el NCI ha impulsado la investigación y desarrollo de novedosos agentes terapéuticos anticancerígenos. Uno de los programas emblemáticos concebidos e implementados por el NCI es el tamizaje de 60 líneas celulares de tumores humanos. Este programa ha posibilitado la identificación de compuestos innovadores con actividad anticancerígena mediante su evaluación frente a un panel compuesto por nueve subpaneles de cáncer. Estos subpaneles abarcan células de leucemia, melanoma, pulmón, colon, ovario, próstata, mama, sistema nervioso central y riñón, sumando un total de 60 líneas celulares tumorales de origen humano.

Las etapas de los estudios de actividad anticancerígena que se realizan en dicho programa se resumen en el diagrama de flujo que se ilustra en la Figura 22.

Figura 22

Diagrama de flujo del programa de los ensayos de actividad anticancerígena realizados por el NCI.



Nota. Tomado de: ScreeningSubFlowChart.pdf (cancer.gov)).

Según este diagrama de flujo, se establece que para analizar un compuesto en el NCI se requiere, como paso preliminar, proponer su estructura química a través del portal web de la institución. En caso de ser seleccionado, el compuesto es enviado físicamente a las instalaciones del instituto en los Estados Unidos para su correspondiente evaluación biológica.

Siguiendo estos procedimientos, en nuestro caso, fueron preseleccionadas las estructuras de 9 de los 10 híbridos moleculares sintetizados, específicamente las (*E*)-2-(4-estirilquinolin-2-il)quinazolin-4(3*H*)-onas **4a-c**, **4e-j**, las cuales posteriormente, en cantidades de 10-15 mg, fueron remitidas al NCI para su correspondiente evaluación. Con los compuestos disponibles, el instituto procede a realizar la evaluación de la actividad anticancerígena *in vitro* en dos fases distintas. En la primera fase se realiza un ensayo a una única dosis (10  $\mu$ M) sobre el panel completo de las 60 líneas celulares. Aquellas moléculas que exhiban un porcentaje de inhibición promedio del crecimiento de todos los subpaneles superior al 68%, según los criterios establecidos por el NCI, avanzarán a la segunda fase. En esta etapa, se lleva a cabo la evaluación sobre el mismo panel de 60 líneas celulares, pero a cinco concentraciones diferentes: 0.01, 0.1, 1.0, 10.0, y 100.0  $\mu$ M.

## **6.2 Protocolo y parámetros empleados para la evaluación de la actividad anticancerígena.**

Los compuestos destinados a la evaluación son disueltos en una mezcla de DMSO:glicerol (9:1) a concentraciones de 4.0 mM para el primer ensayo monodosis y 40 mM para el segundo ensayo con cinco dosis. En ambas instancias, al momento de realizar los ensayos, la solución madre se diluye 1:400 hasta alcanzar las concentraciones más elevadas planificadas para cada compuesto (10 o 100  $\mu$ M, respectivamente). A partir de estas soluciones, se realizan diluciones adicionales para obtener las demás concentraciones requeridas en el ensayo con cinco dosis (0.01, 0.1, 1.0  $\mu$ M). Las 60 líneas celulares tumorales humanas del panel son cultivadas en medio RPMI 1640 que contiene un 5% de suero fetal bovino y 2 mM de *L*-glutamina. Las células se incuban en pozos

durante 24 horas a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire y 100% de humedad relativa antes de la adición de los compuestos a evaluar. Después de la incubación reglamentaria de 24 horas, se fijan dos pozos de cada línea celular con ácido tricloroacético (TCA) para medir la población celular previa a la adición del fármaco (tiempo cero, T<sub>z</sub>). Luego, se añaden alícuotas de 100 µL, duplicando la concentración deseada de las soluciones de los nuevos compuestos, a cada pozo que ya contiene 100 µL de medio de cultivo. La solución del compuesto a evaluar incorpora gentamicina (un antibiótico) a una concentración de 50 µg/mL. Inmediatamente después de la adición del fármaco, las células se incuban durante 48 horas a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de aire y 100% de humedad relativa. Tras este periodo, las células se fijan nuevamente con TCA y se añade una solución de sulforodamina B en 1% de ácido acético, incubando nuevamente durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posterior al proceso de tinción, se mide la absorbancia en un lector de placas a una longitud de onda de 515 nm. A partir de estos valores de absorbancia, se calcula el porcentaje de crecimiento celular (PC) considerando el tiempo cero (T<sub>z</sub>), el control de crecimiento (C) y el crecimiento en presencia de los nuevos compuestos evaluados (T<sub>i</sub>), mediante las siguientes expresiones matemáticas:

$$PC = \frac{T_i - T_z}{C - T_z} * 100 \quad (si T_i \geq T_z) \quad Ecuación 1$$

$$PC = \frac{T_i - T_z}{T_z} * 100 \quad (si T_i < T_z) \quad Ecuación 2$$

Adicionalmente, para los compuestos que avanzan a la segunda fase de los ensayos (con cinco dosis), se lleva a cabo el cálculo de tres parámetros utilizando las curvas de dosis-respuesta. El primero de estos parámetros es la concentración que produce la inhibición del 50% del crecimiento, conocida como Growth Inhibition 50 (GI<sub>50</sub>). Esta concentración corresponde al punto

en el cual se observa una reducción del 50% en el crecimiento de una línea celular específica en comparación con el control. El valor del  $GI_{50}$  se determina mediante la aplicación de la Ecuación

3.

$$GI_{50} = \frac{T_i - T_z}{C - T_z} * 100 = 50 \quad \text{Ecuación 3}$$

El segundo parámetro a evaluar es la concentración necesaria para la inhibición total del crecimiento, conocida como Total Growth Inhibition (TGI). Esta concentración representa el punto en el cual el compuesto logra inhibir completamente el crecimiento de una línea celular específica, cumpliéndose la condición  $T_i = T_z$ .

Finalmente, el tercer parámetro experimental es la Concentración Letal 50 (Lethal Concentration 50,  $LC_{50}$ ). Este valor corresponde a la concentración del fármaco que resulta en una disminución del 50% en la población celular en comparación con el tiempo cero ( $T_z$ ), siguiendo la formulación de la Ecuación 4.

$$LC_{50} = \frac{T_i - T_z}{T_z} * 100 = -50 \quad \text{Ecuación 4}$$

Estos tres parámetros (concentraciones) se determinan siempre que sus valores se encuentren dentro del rango de las concentraciones evaluadas. De lo contrario, el parámetro es expresado como mayor o menor que el máximo o mínimo de las concentraciones evaluadas ( $>100 \mu\text{M}$  o  $<0.01 \mu\text{M}$ ).

### 6.3 Resultados del ensayo a una dosis (10 $\mu\text{M}$ ) de los compuestos seleccionados.

Los resultados del ensayo a una única dosis, denominados datos de una sola dosis (one-dose data), se presentan en un gráfico de la media (mean-graph). Este gráfico refleja el porcentaje de crecimiento de las líneas celulares cancerígenas tratadas con una concentración de 10  $\mu\text{M}$  del

compuesto en evaluación, en relación con el control sin fármaco y el tiempo cero del cultivo celular. Los valores reportados en este ensayo son relativos y permiten determinar el porcentaje de crecimiento (PC), que varía entre 0 y 100, así como la letalidad, representada por valores inferiores a cero. El porcentaje de inhibición del crecimiento (GI) se calcula restando de cien el porcentaje de crecimiento encontrado. Por ejemplo, un valor de PC igual a 100 indica ausencia de inhibición en el crecimiento celular; un valor de 50 representa un 50% de inhibición, un valor de 0 señala la ausencia de crecimiento neto durante el experimento, y un valor de -100 indica la muerte de todas las células.

En la Tabla 3 se detallan los datos de porcentaje de inhibición de crecimiento o letalidad observados en las 60 líneas celulares tumorales. Estos valores se calculan a partir de los datos proporcionados por el NCI para los compuestos **4a-c**, **4e-j**, tomando como base el porcentaje de crecimiento suministrado por la entidad.

De los datos registrados en la Tabla 3 se infiere que de los 9 compuestos que fueron evaluados, únicamente el derivado **4e** exhibió un valor de porcentaje de inhibición superior al umbral establecido por el NCI, considerado como criterio de actividad promisorio; por tanto, este compuesto avanzó a la segunda fase de ensayos *in vitro*. De los restantes 8 compuestos, 6 fueron clasificados como inactivos, ya que sus porcentajes de inhibición promedio fueron inferiores al umbral del 68%, y dos (**4a** y **4i**) como tóxicos.

**Tabla 3**

Porcentaje de inhibición del crecimiento (GI %) de los compuestos **4a-c**, **4e-j** evaluados *in vitro* a 10  $\mu$ M sobre un panel de 60 líneas celulares de cáncer humano.

Panel de líneas celulares cancerígenas	% de inhibición del crecimiento (GI%) de los compuestos evaluados								
	<b>4a</b>	<b>4b</b>	<b>4c</b>	<b>4e</b>	<b>4f</b>	<b>4g</b>	<b>4h</b>	<b>4i</b>	<b>4j</b>
<i>Leucemia</i>	<b>-0.35</b>	<b>-3.53</b>	26.49	43.54	4.32	24.73	31.54	<b>-5.06</b>	8.69
CCRF-CEM	<b>-0.35</b>	<b>-3.53</b>	26.49	43.54	4.32	24.73	31.54	<b>-5.06</b>	8.69
HL-60(TB)	<b>-24.75</b>	<b>-8.34</b>	12.05	56.75	<b>-1.26</b>	9.49	<b>-8.66</b>	<b>-15.52</b>	33.58
K-562	<b>-9.93</b>	<b>-2.35</b>	20.31	65.70	4.45	27.62	30.56	<b>-12.75</b>	20.58
MOLT-4	<b>-11.14</b>	18.19	15.9	71.18	1.38	<b>-4.22</b>	53.56	<b>-10.68</b>	7.79
RPMI-8226	<b>-1.33</b>	<b>-1.65</b>	30.29	32.18	2.41	27.02	12.67	<b>-0.53</b>	10.38
SR	<b>-8.50</b>	5.77	76.42	90.07	49.60	28.51	31.15	<b>-6.37</b>	22.80
<i>Cáncer de pulmón células no pequeñas</i>									
A549/ATCC	3.75	<b>-7.50</b>	29.04	81.39	3.57	8.01	65.68	<b>-5.73</b>	6.01
EKVX	0.77	24.48	2.85	77.22	15.67	17.37	32.36	<b>-2.37</b>	22.99
HOP-62	<b>-7.78</b>	16.34	11.76	94.33	24.32	27.28	41.32	10.73	12.85
HOP-92	<b>-18.44</b>	<b>-4.07</b>	c-	c-	5.31	10.06	<b>-0.68</b>	<b>-0.21</b>	c-
NCI-H226	<b>-13.61</b>	12.96	7.23	68.31	7.12	14.58	26.35	<b>-19.97</b>	14.61
NCI-H23	10.11	13.04	19.77	74.25	9.20	20.81	32.38	4.63	26.62
NCI-H322M	<b>-19.96</b>	<b>-22.77</b>	13.37	43.08	<b>-3.92</b>	<b>-2.87</b>	<b>-18.40</b>	<b>-17.66</b>	1.86
NCI-H460	<b>-0.41</b>	16.44	53.91	b+	23.84	41.44	86.65	<b>-1.34</b>	7.74
NCI-H522	17.53	6.43	<b>-0.77</b>	60.49	2.32	9.56	11.37	9.16	1.91

<i>Cáncer de</i>									
<i>colon</i>									
COLO 205	<b>-8.09</b>	7.58	20.40	70.55	5.76	10.39	51.47	<b>-12.05</b>	<b>-2.61</b>
HCC-2998	<b>-10.05</b>	<b>-9.56</b>	<b>-4.44</b>	57.22	5.40	2.98	9.63	<b>-13.82</b>	<b>-0.11</b>
HCT-116	<b>-7.32</b>	18.74	2.81	3.00	1.09	1.22	56.80	<b>-8.23</b>	1.33
HCT-15	0.12	24.60	29.24	80.92	15.89	28.56	60.43	<b>-0.36</b>	4.18
HT29	<b>-3.84</b>	<b>-6.03</b>	7.43	78.97	0.31	5.88	93.90	<b>-2.25</b>	<b>-7.05</b>
KM12	<b>-0.22</b>	0.14	35.32	58.63	11.05	0.68	36.53	<b>-1.29</b>	<b>-0.14</b>
SW-620	<b>-1.51</b>	10.77	36.02	<sup>b+</sup>	61.05	8.96	61.48	<b>-8.89</b>	2.52
<i>Cáncer SNC</i>									
SF-268	<b>-0.98</b>	5.26	40.48	61.58	20.12	28.69	33.58	<b>-10.32</b>	21.06
SF-295	<b>-3.70</b>	26.77	0.84	67.39	9.88	40.22	51.91	0.01	10.94
SF-539	9.55	14.92	39.91	57.91	11.55	38.35	35.74	2.71	31.37
SNB-19	<b>-1.02</b>	4.26	1.19	39.33	11.36	19.31	6.19	8.53	4.60
SNB-75	1.98	<b>-1.8</b>	55.84	77.25	1.25	33.53	67.08	<b>-8.25</b>	42.38
U251	<b>-1.64</b>	2.21	53.93	88.27	2.75	22.99	81.96	1.01	18.90
<i>Melanoma</i>									
LOX IMV	0.71	17.25	51.06	61.64	2.30	20.35	50.60	2.77	12.43
MALME-3M	<b>-13.48</b>	<b>-6.69</b>	13.03	60.14	4.42	13.71	23.96	<b>-14.87</b>	21.46
M14	<b>-4.24</b>	5.96	8.43	86.15	26.83	24.40	34.08	<b>-0.86</b>	5.71
MDA-MB-435	0.45	1.18	17.80	91.85	25.67	22.24	68.56	<b>-0.62</b>	5.31
SK-MEL-2	<b>-5.55</b>	<b>-10.44</b>	<b>-13.14</b>	22.52	<b>-12.82</b>	<b>-9.24</b>	<b>-5.07</b>	<b>-15.50</b>	<b>-6.98</b>
SK-MEL-28	<b>-33.44</b>	<b>-7.93</b>	<b>-17.07</b>	63.84	8.59	17.56	37.78	<b>-33.59</b>	<b>-13.57</b>
SK-MEL-5	2.47	<b>-7.58</b>	20.22	98.98	19.18	18.60	3.36	1.59	11.80
UACC-257	<b>-8.48</b>	2.93	<b>-8.2</b>	49.63	<b>-1.84</b>	<b>-8.40</b>	12.64	<b>-3.49</b>	<b>-2.49</b>
UACC-62	<b>-6.63</b>	8.48	2.49	<sup>b+</sup>	14.09	12.68	<b>21.62</b>	0.42	8.65

<i>Cáncer de</i>									
<i>ovario</i>									
IGROV1	<b>-13.97</b>	<b>-15.02</b>	24.67	b <sub>+</sub>	19.94	2.59	14.46	<b>-16.88</b>	<b>-14.70</b>
OVCAR-3	<b>-13.22</b>	<b>-20.78</b>	<b>-0.6</b>	b <sub>+</sub>	<b>-19.54</b>	<b>-2.89</b>	<b>-10.25</b>	<b>-20.81</b>	<b>-7.17</b>
OVCAR-4	<b>-1.51</b>	47.33	91.29	b <sub>+</sub>	46.84	36.80	72.76	<b>-0.25</b>	20.89
OVCAR-5	<b>-27.71</b>	<b>-7.58</b>	<b>-19.27</b>	45.22	5.30	6.06	11.13	<b>-24.03</b>	<b>-10.07</b>
OVCAR-8	<b>-6.74</b>	<b>-5.45</b>	7.79	52.46	4.37	16.15	90.87	<b>-101.68</b>	3.36
NCI/ADR-RES	1.53	5.39	25.78	92.29	32.24	25.81	70.39	<b>-6.68</b>	13.87
SK-OV-3	6.16	8.25	<b>-6.59</b>	44.46	11.86	18.05	23.01	0.66	10.02
<i>Cáncer renal</i>									
786-0	1.21	3.23	25.86	88.03	13.49	42.54	37.84	7.43	14.26
A498	<b>-30.58</b>	<b>-3.78</b>	<b>-36.49</b>	<b>-7.51</b>	<b>-23.19</b>	<b>-42.70</b>	2.62	<b>-40.00</b>	<b>-29.79</b>
ACHN	6.76	25.24	27.11	70.26	6.28	29.76	33.73	4.20	12.02
CAKI-1	10.59	8.50	19.87	85.60	5.74	28.87	0.03	10.59	16.59
RXF 393	<b>-4.08</b>	<b>-25.4</b>	8.81	56.54	0.23	21.39	<b>-5.21</b>	<b>-3.71</b>	15.28
SN12C	<b>-7.37</b>	<b>-7.54</b>	47.51	55.96	5.15	27.64	33.47	<b>-3.30</b>	9.61
TK-10	<b>-62.48</b>	<b>-18.75</b>	<b>-30.59</b>	b <sub>+</sub>	<b>-23.73</b>	<b>-35.42</b>	<b>-4.57</b>	<b>-64.77</b>	<b>-31.08</b>
UO-31	14.34	15.50	7.48	59.02	7.49	14.93	18.47	<b>-5.99</b>	25.73
<i>Cáncer de</i>									
<i>próstata</i>									
PC-3	1.02	5.61	6.16	72.32	<b>-1.47</b>	<b>-0.81</b>	22.73	<b>-1.73</b>	8.17
DU-145	<b>-5.40</b>	<b>-10.21</b>	41.87	91.45	24.60	36.81	55.86	<b>-9.93</b>	28.16
<i>Cáncer de</i>									
<i>mama</i>									
MCF7	10.33	23.00	38.00	71.48	16.95	25.53	58.88	8.50	21.04
MDA-MB-									
231/ATCC	9.94	5.47	57.15	76.60	13.49	34.58	43.67	12.73	22.89

HS 578T	0.78	9.13	23.56	31.63	8.65	<b>-3.01</b>	33.06	<b>-0.05</b>	27.61
BT-549	<b>-7.95</b>	<b>-26.69</b>	35.95	48.46	16.22	11.10	3.10	<b>-16.60</b>	8.13
T-47D	10.39	39.16	23.71	72.08	17.24	28.37	87.28	12.57	20.02
MDA-MB-468	0.32	<b>-2.61</b>	15.82	<sup>b+</sup>	10.88	16.97	12.70	<b>-11.96</b>	6.03
<b>GIm (%)</b>	<b>-4.78</b>	3.61	19.27	<b>71.12</b>	9.85	15.87	33.80	<b>-6.06</b>	9.47

NSC códigos: **4a** (847839); **4b** (849471); **4c** (848712); **4e** (848710); **4f** (848703); **4g** (848704); **4h** (849470); **4i** (847838); **4j**. <sup>b+</sup>: porcentaje de crecimiento > 100. <sup>c-</sup>: indica que el compuesto no fue evaluado sobre esa línea celular. Los valores negativos (en color rojo) indican efecto letal.

#### 6.4 Resultados del ensayo a cinco dosis (100, 10, 1, 0.1, 0.01 $\mu$ M) para el derivado **4e**.

En la segunda fase del estudio de la actividad antiproliferativa, que corresponde al ensayo multidosis, se determinó el efecto que ejerce el híbrido molecular **4e** sobre la inhibición del crecimiento de cada una de las líneas celulares del panel completo a cinco dosis diferentes (100, 10, 1, 0.1 y 0.01  $\mu$ M). Con los valores de porcentaje de crecimiento obtenidos y empleando el software COMPARE, se construyeron las curvas de dosis–respuesta (log de la concentración vs. GI%), y a partir de éstas, por interpolación, se obtuvieron los valores de los tres parámetros GI<sub>50</sub>, TGI (parámetros de citostaticidad) y LC<sub>50</sub> (parámetro de citotoxicidad) para cada una de las 60 líneas celulares. Adicionalmente, para cada uno de los tres parámetros se calcularon los valores promedio (MG–MID) para todas las líneas celulares y para los sub–paneles. En el cálculo de los valores promedio, para las líneas insensibles se tomó la mayor concentración evaluada (100  $\mu$ M). En la Tabla 4 se reportan los valores encontrados de GI<sub>50</sub>, TGI y LC<sub>50</sub> para cada una de las líneas celulares evaluadas, mientras que en las Tabla 5 se reportan los valores promedio determinados de GI<sub>50</sub>, TGI y LC<sub>50</sub> para los nueve sub–paneles, así como los valores de MG–MID para el panel completo.

Según los estándares de evaluación del Instituto Nacional del Cáncer (NCI), el compuesto no demostró suficiente actividad para avanzar a una tercera fase de análisis. Este resultado se atribuye posiblemente a sus valores promedio de  $GI_{50}$  y TGI, los cuales, según los criterios establecidos, deberían situarse en el rango de nanomolares (nM, para  $GI_{50}$ ) e inferiores a  $10 \mu\text{M}$  (para TGI), respectivamente. A pesar de que su perfil de toxicidad se encuentra por encima de  $90 \mu\text{M}$  (poco citotóxico), este valor no fue crucial para que el compuesto pasara a la siguiente etapa del proceso de evaluación.

En aras de discernir la posible selectividad de **4e** en relación con los sub-paneles evaluados, se llevó a cabo el cálculo del índice de selectividad. Este índice, conforme a los lineamientos del Instituto Nacional del Cáncer (NCI), se obtiene al dividir el valor medio (MG-MID) del parámetro  $GI_{50}$  del panel completo entre los valores medios de cada uno de los nueve sub-paneles. Los resultados de esta división, al situarse por debajo de tres unidades, indican una selectividad baja hacia un sub-panel específico; valores entre tres y seis unidades señalan una selectividad moderada, mientras que aquellos que superan las seis unidades evidencian una alta selectividad. De acuerdo con la información registrada en la Tabla 5, el híbrido molecular **4e** careció de selectividad frente a alguno de los 9 sub-paneles. Esto se atribuye a que los valores de este parámetro se ubicaron en el rango de 0.67-1.11.

**Tabla 4**

Concentración de la inhibición del crecimiento ( $GI_{50}$ ,  $\mu M$ ), concentración de la inhibición total del crecimiento ( $TGI$ ,  $\mu M$ ) y la concentración letal ( $LC_{50}$ ,  $\mu M$ ) del compuesto **4e** evaluado a cinco concentraciones diferentes sobre todas las líneas celulares de cáncer.

Panel de líneas celulares cancerígenas	Compuesto		
	<b>4e</b>		
	$GI_{50}$ ( $\mu M$ ) <sup>a</sup>	$TGI$ ( $\mu M$ ) <sup>a</sup>	$LC_{50}$ ( $\mu M$ ) <sup>a</sup>
<i>Leucemia</i>			
CCRF-CEM	6.92	c <sub>-</sub>	c <sub>-</sub>
HL-60(TB)	c <sub>-</sub>	>100	>100
K-562	3.80	>100	>100
MOLT-4	3.47	>100	>100
RPMI-8226	5.13	>100	>100
<i>Cáncer de pulmón</i>			
<i>células no pequeñas</i>			
A549/ATCC	2.51	c <sub>-</sub>	>100
EKVX	3.31	>100	>100
HOP-62	2.57	6.76	36.31
HOP-92	2.34	9.55	>100

NCI-H226	3.16	11.48	>100
NCI-H23	2.75	7.59	>100
NCI-H322M	4.47	>100	>100
NCI-H460	2.57	c-	>100
NCI-H522	2.40	8.13	>100
<i>Cáncer de colon</i>			
COLO 205	2.24	c-	>100
HCC-2998	3.80	>100	>100
HCT-116	3.63	>100	>100
HCT-15	2.95	>100	>100
HT29	3.39	>100	>100
KM12	c-	>100	>100
SW-620	2.10	>100	>100
<i>Cáncer SNC</i>			
SF-268	7.41	>100	>100
SF-295	2.19	5.25	22.91
SNB-19	4.79	29.51	>100
SNB-75	1.55	6.31	41.69
U251	2.04	5.75	40.74
<i>Melanoma</i>			
LOX IMV	3.39	>100	>100
MALME-3M	3.09	c-	>100

M14	3.55	>100	>100
MDA-MB-435	3.09	>100	>100
SK-MEL-2	3.23	30.90	>100
SK-MEL-28	2.82	>100	>100
SK-MEL-5	2.88	c-	>100
UACC-257	4.26	>100	>100
UACC-62	2.82	>100	>100
<i>Cáncer de ovario</i>			
IGROV1	5.01	>100	>100
OVCAR-3	2.45	c-	>100
OVCAR-4	2.24	5.62	>100
OVCAR-5	2.75	>100	>100
OVCAR-8	3.71	>100	>100
NCI/ADR-RES	2.75	7.59	>100
SK-OV-3	4.47	47.86	>100
<i>Cáncer renal</i>			
786-0	2.57	7.76	93.32
A498	9.77	87.10	>100
ACHN	3.02	9.55	>100
CAKI-1	2.75	9.55	>100
RXF 393	2.69	7.59	>100
SN12C	5.49	>100	>100

TK-10	2.57	6.61	>100
UO-31	3.98	>100	>100
<i>Cáncer de próstata</i>			
PC-3	3.47	>100	>100
DU-145	3.71	>100	>100
<i>Cáncer de mama</i>			
MCF7	2.63	<sup>c-</sup>	>100
MDA-MB-231/ATCC	2.51	7.41	>100
HS 578T	4.26	57.54	>100
BT-549	8.13	>100	>100
T-47D	3.23	>100	>100
MDA-MB-468	1.99	4.79	>100
<b>MG-MID<sup>b</sup></b>	3.23	38.02	93.32

<sup>a</sup> Datos obtenidos del ensayo in vitro a cinco dosis del programa de cribado sobre 60 líneas celulares de cáncer humano del NCI. <sup>c-</sup>, no determinado. <sup>b</sup> Valor promedio sobre los 9 sub-paneles.

**Tabla 5**

Valores promedio (MG-MID) de las concentraciones de inhibición del crecimiento  $GI_{50}$  ( $\mu M$ )/selectividad para los sub-paneles I-IX, TGI ( $\mu M$ ) y  $LC_{50}$  ( $\mu M$ ) sobre los 9 sub-paneles ejercidas por el compuesto **4e**.

Comp.	Sub-paneles de líneas celulares de cáncer humano <sup>a</sup>									MG- MID <sup>b</sup>	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX		
<b>4e</b>	<b><math>GI_{50}</math></b>										
	(MG-									3.79	3.23
	MID)/sel	4.83/	2.90/	3.02/	3.59/	3.24/	3.34/	4.11/	3.59/	/0.8	
	ectividad	0.67	1.11	1.07	0.90	0.99	0.97	0.78	0.90	5	
	<sup>c</sup>										
	<b>TGI</b>									53.9	38.02
(MG-	>100	37.79	>100	29.36	90.13	60.18	41.02	>100	5		
<b>MID)<sup>c</sup></b>											
<b><math>LC_{50}</math></b>									>10	93.21	
(MG-	>100	92.92	>100	61.07	>100	>100	99.16	>100	0		
<b>MID)<sup>c</sup></b>											

<sup>a</sup> **I**, Leucemia; **II**, Cáncer de pulmón de células no pequeñas; **III**, Cáncer de colon, **IV**, Cáncer del SNC; **V**, Melanoma; **VI**, Cáncer de ovario; **VII**, Cáncer de riñón; **VIII**, Cáncer de próstata, **IX**, Cáncer de mama. <sup>b</sup> El MG-MID del GI<sub>50</sub> (μM) para el panel completo significa el punto medio de la gráfica de la media (mean-graph) <sup>c</sup> sensibilidad media de todas las líneas celulares hacia el compuesto evaluado.

### **6.5 Predicción de propiedades fisicoquímicas *in silico*.**

La normativa conocida como la "Regla de 5", introducida por *Christopher Lipinski* en 1997,(80) ha adquirido una amplia aplicación en los campos de la química medicinal debido a su uso como una herramienta para evaluar de forma cualitativa la "idoneidad" de los compuestos en estudio desde el punto de vista biológico. Esta evaluación se centra específicamente en propiedades claves para seleccionar candidatos con buenas propiedades de biodisponibilidad oral, como son la solubilidad y la permeabilidad, con el objetivo de determinar si un compuesto tiene el perfil adecuado para ser considerado con un perfil "drug-like". Es crucial señalar que esta regla sirve como una guía útil exclusivamente para prever el comportamiento de absorción de un compuesto cuando se administra por vía oral, excluyendo otras vías de administración, como la intravenosa.(81) Los cinco criterios propuestos por *Lipinski* abarcan diversos rangos de propiedades fisicoquímicas, tales como la masa molecular, la lipofilia, expresada como la relación de concentración del compuesto en octanol frente a la concentración en agua, y la solubilidad en agua. Estos valores se basan en datos experimentales de fármacos que han demostrado una buena biodisponibilidad. Adicionalmente, se consideran el número de donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno, el número de enlaces rotables y el área superficial polar total, como factores determinantes en la evaluación.(82) En la Tabla 6 se presentan los valores ideales de estos cinco criterios para que un compuesto sea considerado con un perfil "drug-like". Este enfoque integral

brinda una visión detallada de las propiedades que contribuyen a la idoneidad de un compuesto como candidato para administración oral, proporcionando así una valiosa guía en el diseño de nuevos fármacos.

### Tabla 6

*Valores de los parámetros de Lipinski óptimos para que un compuesto sea acreedor de un perfil "drug-like".*

Parámetro	
Masa molecular	$\leq 500$ Da
Lipofilia (MlogP)	$\leq 4.15$
Solubilidad en H <sub>2</sub> O (LogS)	$< -6$
Donadores de enlaces de hidrógeno (HBD)	$\leq 5$
Aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA)	$\leq 10$
Enlaces rotables	$< 9$
Área polar total superficial (TPSA)	20 – 130 Å <sup>2</sup>

Con el objetivo de evaluar si los compuestos sintetizados **4a-j** exhiben características promisorias o aceptables para su consideración como fármacos con cualidades "drug-like", se llevaron a cabo cálculos utilizando el programa de libre acceso SwissADME, disponible en línea. Para obtener una perspectiva más amplia del potencial biológico de estos compuestos, se empleó el algoritmo ADMET (Administración, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) mediante el programa en línea PreADMET, como se detalla en la Tabla 7. Los parámetros evaluados incluyen el porcentaje de enlace a proteínas plasmáticas transportadoras (PPB), la afinidad a glicoproteínas transmembrana (Pg-p), responsables del eflujo de compuestos al espacio

extracelular, el cociente de distribución de concentraciones [cerebro]/[sangre] para la barrera hematoencefálica (BBB), la permeabilidad en células Caco-2 (células de adenocarcinoma de intestino humano), la absorción intestinal humana (HIA), definida como el cociente de la concentración de un fármaco en la sangre y la concentración total suministrada del mismo. Además, se realizaron pruebas de mutagenicidad mediante el Test de AMES y se evaluó la carcinogenicidad utilizando el modelo de rata. Estas evaluaciones exhaustivas proporcionan un diagnóstico completo del perfil biológico de los compuestos sintetizados, permitiendo así una toma de decisiones fundamentada sobre sus idoneidades como candidatos a fármacos.

**Tabla 7**

*Parámetros de la Regla de los 5 de Lipinski y ADMET calculados para los derivados **4a-j**.*

Comp.	MW	MLogP	LogS	HBA	HBD	nRB	TPSA	Violaciones Lipinski	Logk <sub>p</sub>	P-gp sustrato	PPB (%)	BBB	P <sub>Caco-2</sub>	HIA	AMES	Carc.
<b>4a</b>	375.42	4.38	-6.20	3	1	3	58.64	2	-4.88	-	96.86	0.27	37.54	96.94	muta	-
<b>4b</b>	389.45	4.58	-6.58	3	1	3	58.64	2	-4.71	-	96.61	0.59	39.13	97.00	muta	-
<b>4c</b>	389.45	4.58	-6.58	3	1	3	58.64	2	-4.71	-	96.51	0.60	39.17	97.00	muta	-
<b>4d</b>	409.87	4.58	-6.85	3	1	3	58.64	2	-4.65	-	93.97	0.81	35.67	97.16	muta	-
<b>4e</b>	409.87	4.58	-6.85	3	1	3	58.64	2	-4.65	-	94.09	0.84	35.69	97.16	muta	-
<b>4f</b>	454.32	4.68	-6.92	3	1	3	58.64	2	-4.88	-	100	0.96	35.78	97.25	muta	+
<b>4g</b>	393.41	4.48	-6.30	4	1	3	58.64	2	-4.92	-	93.01	0.40	37.95	96.95	muta	-
<b>4h</b>	443.42	4.88	-7.12	6	1	4	58.64	2	-4.67	-	94.49	1.47	25.23	97.02	muta	-
<b>4i</b>	444.31	5.05	-7.51	3	1	3	58.64	2	-4.41	-	99.24	2.19	39.08	97.28	muta	-
<b>4j</b>	427.86	4.95	-6.96	4	1	3	58.64	2	-4.69	-	96.17	1.18	37.03	97.17	muta	+

Considerando los datos proporcionados en la Tabla 7, se puede deducir que todos los compuestos **4a-j** exhiben una violación a la regla de *Lipinski*, concretamente el valor de la lipofilia que supera el umbral permitido de 4.15. El radar de biodisponibilidad ilustra la relación y semejanza de los compuestos en estudio con las propiedades promedio de fármacos previamente analizados. Este gráfico, que en esencia es un hexágono, asigna sus seis vértices a las propiedades fisicoquímicas de la regla de los cinco de *Lipinski*, cada uno con sus respectivos valores recomendados: tamaño molecular, lipofilicidad y solubilidad, polaridad (TPSA), flexibilidad e insaturación, y la saturación o fracción de *C<sub>sp3</sub>*, que debe ser superior a 0.25 (Figura 23).

### Figura 23

*Rangos de la región "Drug-like".*

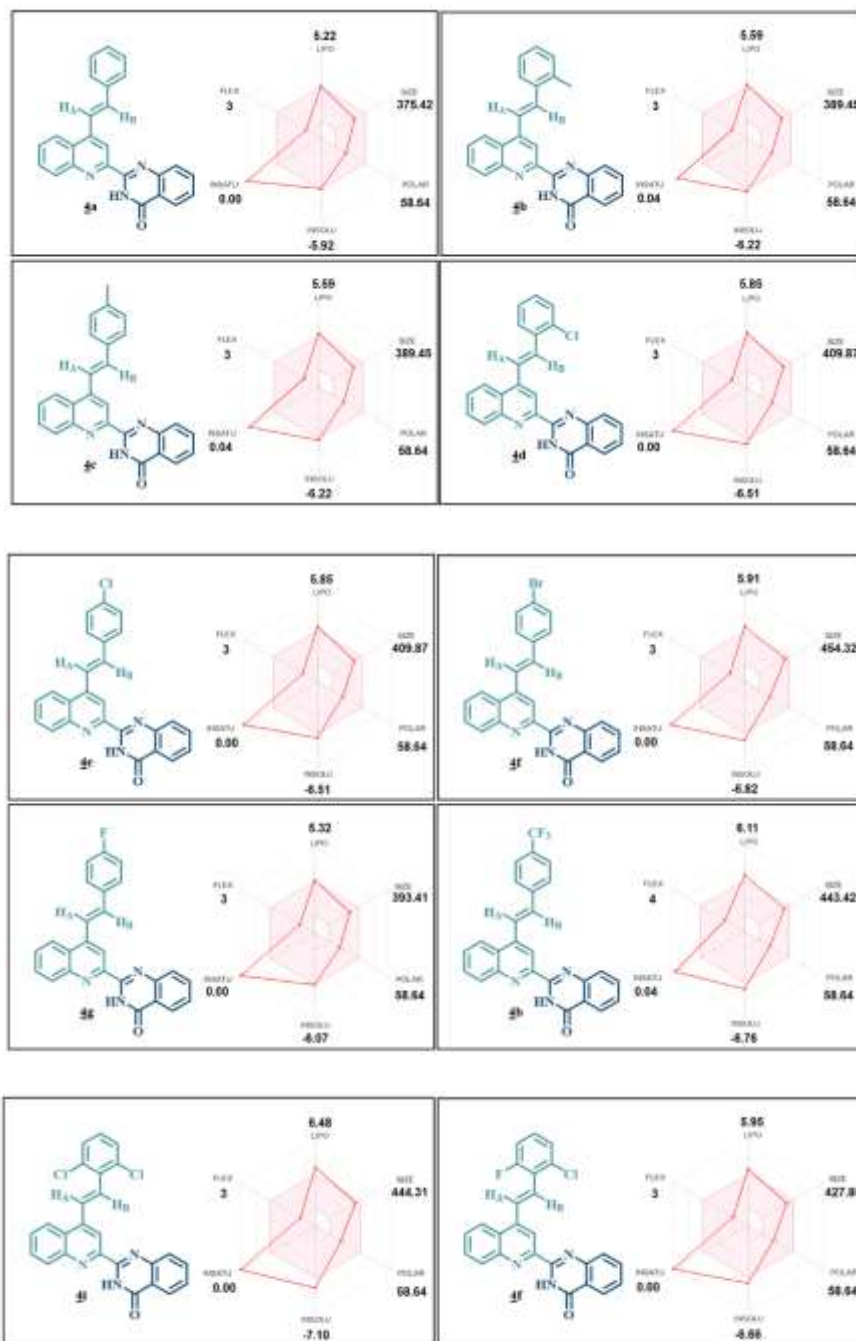


A modo de ejemplo, se construyó el radar de biodisponibilidad para los compuestos **4a-j**, que se presenta visualmente en la Figura 24. La región coloreada en rosa delimitada en cada gráfico representa la región óptima e ideal dentro de la cual se espera que un compuesto con propiedades "drug-like" se encuentre (ver Figura 24). Los radares de biodisponibilidad para los compuestos **4a-j** señalan que estos presentan propiedades adecuadas en términos de tamaño molecular, polaridad, solubilidad y flexibilidad. Sin embargo, es importante destacar que la lipofilicidad es mayor a 4.15

para todos los compuestos que el factor de saturación para todos ellos es inferior a 0.25, indicando una desviación de este parámetro crucial en las reglas de *Lipinski*.

**Figura 24**

*Radars de biodisponibilidad calculados en SwissADME para el derivado 4a-j.*



Otros parámetros comúnmente utilizados en el desarrollo de candidatos a fármacos se centran en el análisis de los perfiles farmacocinéticos ADMET, los cuales proporcionan información sobre la posible respuesta de los compuestos al ingresar al organismo.(83) El modelo de monocapa de células Caco-2 se ha adoptado para evaluar la permeabilidad intestinal humana *in vitro* de un fármaco, ya que estas células comparten similitud morfológica y funcional con los enterocitos humanos, además de expresar una porción de las enzimas metabólicas presentes en el epitelio intestinal humano. Este ensayo se utiliza para predecir la absorción oral de un compuesto y aprovecha la presencia de transportadores transmembrana, enzimas y receptores nucleares en estas células.(84) A pesar de la eficacia del ensayo de células Caco-2, su principal limitación radica en su duración prolongada, requerida durante 21 días. No obstante, gracias al avance de algoritmos computacionales, este proceso se ha simplificado significativamente, reduciendo el tiempo necesario de días a tan solo unos segundos. Actualmente, es posible prever si un compuesto exhibe un perfil de absorción intestinal adecuado sin la necesidad de esperar un periodo extenso. Con la ayuda del algoritmo ADMET, la evaluación de la permeabilidad de las células Caco-2 se lleva a cabo considerando condiciones de pH similares a las empleadas en los ensayos *in vitro* (pH 7.4). En este modelo, el coeficiente de permeabilidad oral (P) se expresa en nm/s, y los compuestos se clasifican según su permeabilidad en baja ( $P < 4$ ), media ( $P = 4-70$ ) o alta ( $P > 70$ ).(85)

Teniendo en consideración la anterior clasificación y los valores del coeficiente de permeabilidad oral (P) registrados en la Tabla 7, se concluye que todos los compuestos **4a-j** quedan clasificados dentro de la categoría de compuestos de permeabilidad media, con valores en los rangos de 39.17-25.23.

Un parámetro adicional que contribuye a la predicción mencionada es la variable asociada al porcentaje de absorción intestinal humano (%HIA). Este parámetro se define como la

proporción entre la concentración del compuesto en estudio en la sangre, específicamente en la vena porta hepática, y la cantidad total de compuesto administrada, asumiendo que no hay cambios en su estructura molecular debido a procesos metabólicos. En términos simples, el %HIA refleja la capacidad de los compuestos para ser absorbidos por el intestino delgado y alcanzar la vena porta del hígado humano.(86) Se establece que los compuestos con valores de %HIA comprendidos entre el 0 y el 20% se consideran de absorción baja, aquellos con valores entre el 20% y el 70% se clasifican como de absorción moderada, y aquellos con valores entre el 70% y el 100% se consideran de absorción alta. Este parámetro proporciona una evaluación cuantitativa adicional sobre la capacidad de absorción intestinal de los compuestos, complementando así la información obtenida a través de otros análisis farmacocinéticos y perfiles ADMET.

Para cada uno de los compuestos **4a-j** se calcularon los valores del %HIA y se consignaron en la Tabla 7. Según estos valores y teniendo en consideración los rangos, todos los compuestos exhibieron porcentajes de absorción superiores al 90%, clasificándose, por lo tanto, como agentes de absorción alta.

Para que una molécula bioactiva de origen sintético logre alcanzar su objetivo biológico, actuando en un sitio específico y posteriormente siendo metabolizada, es esencial que transite desde la corriente sanguínea hacia los tejidos sin formar enlaces con las proteínas plasmáticas. La unión de un fármaco a las proteínas plasmáticas (PPB) está influenciada por factores como la concentración de proteínas de unión disponibles, la constante de afinidad del fármaco por las proteínas, el número de sitios de unión disponibles y la presencia de condiciones fisiopatológicas o compuestos endógenos que puedan afectar al complejo fármaco–proteína.(87) La afinidad hacia las PPB es un parámetro que se calcula para estimar el grado de difusión y transporte de los compuestos una vez que son absorbidos en el intestino delgado y transferidos al flujo sanguíneo.

El valor calculado indica la propensión de los compuestos a unirse a estas proteínas, afectando su concentración en los sitios activos de interés y, por ende, su capacidad de interactuar con las dianas biológicas.(88) En el caso de los compuestos **4a-j**, se observó que los valores de unión a proteínas plasmáticas fueron superiores al 90%, indicando fuertes interacciones de unión con ellas. Este resultado sugiere que estos compuestos muestran una alta tendencia a formar complejos con las proteínas plasmáticas, lo que puede tener implicaciones significativas en su distribución y actividad biológica.

El parámetro siguiente evaluado fue la permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica (BBB) manifestada por los compuestos en investigación. La barrera hematoencefálica es una estructura vascular multicelular compuesta por células endoteliales rodeadas de pericitos, astrocitos, neuronas y células microgliales, que constituyen una barrera física y metabólica para separar el sistema nervioso central (SNC) de los tejidos periféricos. Las células endoteliales, como elementos anatómicos clave, limitan la permeabilidad de la hendidura paracelular mediante vesículas que facilitan el transporte exclusivo de moléculas con una masa molecular (MM) inferior a 500 Da a través de la BBB en condiciones biológicas.(89) La evaluación de esta propiedad resulta de suma importancia en el desarrollo de fármacos destinados a actuar en el SNC, especialmente en la quimioterapia de tumores cerebrales.(90) Los valores calculados proporcionan una indicación de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica por parte del compuesto. Se considera que si el valor de BBB es superior a 2.0 unidades, la permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica es alta; si el valor está en el rango de  $2.0 < \text{BBB} < 0.1$ , se clasifica como permeabilidad media, y si los valores calculados son inferiores a 0.1 unidades, se considera permeabilidad baja. En concordancia con esta clasificación, los compuestos **4a-h,j** se categorizan como aquellos con propiedades de permeabilidad de la barrera hematoencefálica

media (0.27-1.47), mientras que el compuesto **4i** se encuentra dentro de la categoría de compuestos con permeabilidad alta (2.19).

La evaluación de la propensión de los compuestos a inducir mutagenicidad en los genes celulares es un componente crítico en el proceso de desarrollo de candidatos a fármacos. Este aspecto se aborda mediante el ensayo de AMES, el cual se fundamenta en la capacidad de restablecimiento del crecimiento celular de una cepa genéticamente modificada de la bacteria *Salmonella typhimurium*, que ha sido diseñada para no sintetizar histidina y que, por lo tanto, no puede formar colonias en un medio de cultivo que carezca de esta sustancia. Durante el ensayo, la inducción del crecimiento celular bacteriano por parte de un compuesto se interpreta como un signo de su potencial mutagénico, ya que implica la recuperación de la biosíntesis de histidina.(91) De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 5, se considera que todos los compuestos **4a-j** manifestaron actividad mutagénica en este ensayo.

El ensayo para diagnosticar la carcinogenicidad de los compuestos en estudio, calculada con el mismo algoritmo PreADMET usando el modelo de los ensayos sobre ratas, reveló que solo los compuestos **4f** y **4j** presentaron carcinogenicidad.

## 7. Conclusiones

A partir de las 2'-aminochalconas **1a-j**, se llevó a cabo la síntesis de las (*E*)-2-metil-4-estirilquinolinas **2a-j** mediante la ciclocondensación de *Friedländer*. Se destaca que, para el compuesto **2b**, se reportan por primera vez tanto sus propiedades físicas como espectroscópicas.

La conversión de las 2-metil-4-estirilquinolinas **2a-j** a sus respectivas (*E*)-2-formil-4-estirilquinolinas **3a-j** se llevó a cabo de manera exitosa mediante la utilización de dióxido de selenio como agente oxidante. Cabe destacar que, en el caso del compuesto **3b**, también, se describen por primera vez sus propiedades físicas y espectroscópicas.

La síntesis de nuevos híbridos moleculares fusionados del tipo quinolina-quinazolin-4-ona **4a-j**, se logró con éxito mediante la reacción de condensación-cicloadición oxidativa, empleando para ello como intermediarios clave los formil derivados **3a-j** que reaccionaron con la antranilamida en la presencia de yodo molecular, como catalizador y agente oxidante, en DMSO. Bajo las condiciones de reacción especificadas, se obtuvieron los nuevos híbridos quinolina-quinazolin-4-ona **4a-j** con excelentes rendimientos de reacción (84-98 %). Se presenta, por primera vez, un análisis detallado de las propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas de estos compuestos.

Con el propósito de investigar la posible actividad anticancerígena de los nuevos compuestos conjugados **4a-j**, se sometieron a evaluación en el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos. De esta serie de híbridos moleculares, el compuesto **4e** fue identificado por el NCI para avanzar a la segunda etapa de análisis, evaluándolo a cinco concentraciones distintas.

## 8. Recomendaciones

Con el objetivo de extender los alcances sintéticos de la metodología descrita en el presente Trabajo de Grado, se sugiere explorar el potencial sintético de los compuestos **4a–j** mediante su transformación en nuevos híbridos moleculares del tipo quinolina-quinazolina.

Se recomienda estudiar el potencial biológico de los híbridos sintetizados **4a–j**, evaluando, por ejemplo, su actividad antimicrobiana o antifúngica.

### Referencias Bibliográficas

1. Kabir E, Uzzaman M. A review on biological and medicinal impact of heterocyclic compounds. *Results Chem.* 2022 Jan;4:100606.
2. Dua R, Shrivastava S, Sonwane SK, Srivastava SK. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: A Review. *Adv Biol Res (Rennes).* 2011;5(3):120–44.
3. Kumar S, Bawa S, Gupta H. Biological Activities of Quinoline Derivatives. *Mini-Rev Med Chem.* 2009 Dec 1;9(14):1648–54.
4. Ahadi H, Emami S. Modification of 7-piperazinylquinolone antibacterials to promising anticancer lead compounds: Synthesis and in vitro studies. *Eur J Med Chem.* 2020 Feb;187:111970.
5. Afzal O, Kumar S, Haider MR, Ali MR, Kumar R, Jaggi M, et al. A review on anticancer potential of bioactive heterocycle quinoline. *Eur J Med Chem.* 2015 Jun;97:871–910.
6. Venditto VJ, Simanek EE. Cancer therapies utilizing the camptothecins: A review of the in vivo literature. *Mol Pharm.* 2010 Apr 5;7(2):307–49.
7. Xing Z, Wu W, Miao Y, Tang Y, Zhou Y, Zheng L, et al. Recent advances in quinazolinones as an emerging molecular platform for luminescent materials and bioimaging. *Org Chem Front.* 2021;8(8):1867–89.
8. Asif M. Chemical Characteristics, Synthetic Methods, and Biological Potential of Quinazoline and Quinazolinone Derivatives. *Int J Med Chem.* 2014 Nov 13;2014:1–27.

9. Khan I, Ibrar A, Ahmed W, Saeed A. Synthetic approaches, functionalization and therapeutic potential of quinazoline and quinazolinone skeletons: The advances continue. *Eur J Med Chem.* 2015 Jan;90:124–69.
10. Reddy MM, Sivaramakrishna A. Remarkably flexible quinazolinones—synthesis and biological applications. *J Heterocycl Chem.* 2020 Mar 25;57(3):942–54.
11. Kshirsagar UA. Recent developments in the chemistry of quinazolinone alkaloids. *Org Biomol Chem.* 2015;13(36):9336–52.
12. He L, Li H, Chen J, Wu XF. Recent advances in 4(3H)-quinazolinone syntheses. *RSC Adv.* 2014;4(24):12065–77.
13. Gemma S, Camodeca C, Brindisi M, Brogi S, Kukreja G, Kunjir S, et al. Mimicking the Intramolecular Hydrogen Bond: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Modeling of Benzoxazines and Quinazolines as Potential Antimalarial Agents. *J Med Chem.* 2012 Dec 13;55(23):10387–404.
14. Desai NC, Dodiya AM. Synthesis, characterization and antimicrobial screening of quinoline based quinazolinone-4-thiazolidinone heterocycles. *Arab J Chem.* 2014 Dec;7(6):906–13.
15. Cagir A, Jones SH, Gao R, Eisenhauer BM, Hecht SM. Luotonin A. A Naturally Occurring Human DNA Topoisomerase I Poison. *J Am Chem Soc.* 2003 Nov 1;125(45):13628–9.
16. Claudio Viegas-Junior, Eliezer J. Barreiro, Carlos Alberto Manssour Fraga. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Curr Med Chem.* 2007 Jul 1;14(17):1829–52.
17. Vera D. Síntesis de 4-estiril-2-metilquinolinas y exploración de sus transformaciones estructurales probables en reacciones de condensación tipo Knoevenagel y oxidación-

- condensación-cicloadición tipo *Michael*. Universidad Industrial de Santander, Trabajo de Investigación de Maestría en Química; 2020.
18. Álvarez González G. La reacción de Friedländer en conjugación con la condensación de Claisen-Schmidt en la construcción de los nuevos híbridos quinolina-chalcona (E)-1-aryl-3-(4-((E)-estiril)quinolin-2-yl)prop-2-en-1-ones. Universidad Industrial de Santander. Trabajo de Grado en Química; 2022.
  19. Mantilla Sánchez J. Desarrollo de nuevos híbridos moleculares quinolina-chalcona usando como aproximación sintética la reacción de Friedländer en combinación con la condensación de Claisen-Schmidt. Síntesis y caracterización estructural. Universidad Industrial de Santander. Trabajo de Grado en Química; 2023.
  20. Jain S, Chandra V, Kumar Jain P, Pathak K, Pathak D, Vaidya A. Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents. *Arab J Chem*. 2019 Dec;12(8):4920–46.
  21. Weyesa A, Mulugeta E. Recent advances in the synthesis of biologically and pharmaceutically active quinoline and its analogues: a review. *RSC Adv*. 2020;10(35):20784–93.
  22. Ramann GA, Cowen BJ. Recent Advances in Metal-Free Quinoline Synthesis. *Molecules* . 2016 Jul 29;21(8):986.
  23. Denmark SE, Venkatraman S. On the mechanism of the Skraup-Doebner-Von Miller quinoline synthesis. *J Org Chem*. 2006 Feb 17;71(4):1668–76.
  24. Brouet JC, Gu S, Peet NP, Williams JD. Survey of Solvents for the Conrad-Limpach Synthesis of 4-Hydroxyquinolones. *Synth Commun*. 2009 Apr 7;39(9):1563–9.

25. Bergstrom FW. Heterocyclic Nitrogen Compounds. Part IIA. Hexacyclic Compounds: Pyridine, Quinoline, and Isoquinoline. *Chem Rev.* 1944 Oct 1;35(2):77–277.
26. Orozco D, Kouznetsov V V., Bermúdez A, Vargas Méndez LY, Mendoza Salgado AR, Meléndez Gómez CM. Recent synthetic efforts in the preparation of 2-(3,4)-alkenyl (aryl) quinoline molecules towards anti-kinetoplastid agents. *RSC Adv.* 2020 Jan 29 ;10(9):4876–98.
27. Friedlaender P. Ueber o-Amidobenzaldehyd. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* 1882 Jul 28;15(2):2572–5.
28. Madapa S, Tusi Z, Batra S. Advances in the Syntheses of Quinoline and Quinoline-Annulated Ring Systems. *Curr Org Chem.* 2008 Sep 1;12(13):1116–83.
29. Marco-Contelles J, Pérez-Mayoral E, Samadi A, Carreiras M do C, Soriano E. Recent Advances in the Friedländer Reaction. *Chem Rev.* 2009 Jun 10;109(6):2652–71.
30. McNaughton BR, Miller BL. A Mild and Efficient One-Step Synthesis of Quinolines. *Org Lett.* 2003 Nov 1;5(23):4257–9.
31. Streckowski L, Czarny A, Lee H. The Friedländer synthesis of 4-perfluoroalkylquinolines. *J Fluor Chem.* 2000 Jul;104(2):281–4.
32. Meléndez A, Plata E, Rodríguez D, Ardila D, Guerrero SA, Acosta LM, et al. Straightforward Synthesis of Novel 4-Styrylquinolines/4-Styrylquinolin-2-ones and 9-Styryldihydroacridin-1(2H)-ones from Substituted 2'-Aminochalcones. *Synthesis (Stuttg).* 2020 Jun 17;52(12):1804–22.
33. Zhang XL, Wang QY, Sheng SR, Wang Q, Liu XL. Efficient Friedländer Synthesis of Quinoline Derivatives from 2-Aminoarylketones and Carbonyl Compounds Mediated by

- Recyclable PEG-Supported Sulfonic Acid. *Synth Commun.* 2009 Aug 20;39(18):3293–304.
34. Wang J, Fan X, Zhang X, Han L. Green preparation of quinoline derivatives through  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  catalyzed Friedlander reaction in ionic liquids. *Can J Chem.* 2004 Jul 1;82(7):1192–6.
35. Song SJ, Cho SJ, Park DK, Kwon TW, Jenekhe SA. Microwave enhanced solvent-free synthesis of a library of quinoline derivatives. *Tetrahedron Lett.* 2003 Jan;44(2):255–7.
36. Singhal A, Kumari P, Nisa K. Facile One-Pot Friedlander Synthesis of Functionalized Quinolines using Graphene Oxide Carbocatalyst. *Curr Org Synth.* 2019 Feb 4;16(1):154–9.
37. Godino-Ojer M, Soriano E, Calvino-Casilda V, Maldonado-Hódar FJ, Pérez-Mayoral E. Metal-free synthesis of quinolines catalyzed by carbon aerogels: Influence of the porous texture and surface chemistry. *J Chem Eng.* 2017 Apr;314:488–97.
38. Gopi P, Sarveswari S. Effective water mediated green synthesis of polysubstituted quinolines without energy expenditure. *Monatsh Chem.* 2017 Jun 14;148(6):1043–9.
39. Zouhiri F, Danet M, Bénard C, Normand-Bayle M, Mouscadet JF, Leh H, et al. HIV-1 replication inhibitors of the styrylquinoline class: introduction of an additional carboxyl group at the C-5 position of the quinoline. *Tetrahedron Lett.* 2005 Mar;46(13):2201–5.
40. Staderini M, Aulić S, Bartolini M, Tran HNA, González-Ruiz V, Pérez DI, et al. A fluorescent styrylquinoline with combined therapeutic and diagnostic activities against Alzheimer's and prion diseases. *ACS Med Chem Lett.* 2013 Feb 14;4(2):225–9.
41. Cieslik W, Szczepaniak J, Krasowska A, Musiol R. Antifungal styryloquinolines as *Candida albicans* efflux pump inhibitors: Styryloquinolines are ABC transporter inhibitors. *Molecules.* 2020 Jan 15;25(2).

42. Mrozek-Wilczkiewicz A, Kuczak M, Malarz K, Cieřlik W, Spaczyńska E, Musiol R. The synthesis and anticancer activity of 2-styrylquinoline derivatives. A p53 independent mechanism of action. *Eur J Med Chem.* 2019 Sep;177:338–49.
43. Yadav P, Shah K. Quinolines, a perpetual, multipurpose scaffold in medicinal chemistry. *Bioorg Chem.* 2021 Apr;109:104639.
44. Bosc D, Vezenkov L, Bortnik S, An J, Xu J, Choutka C, et al. A new quinoline-based chemical probe inhibits the autophagy-related cysteine protease ATG4B. *Sci Rep.* 2018 Aug 3;8(1):11653.
45. Martirosyan AR, Rahim-Bata R, Freeman AB, Clarke CD, Howard RL, Strobl JS. Differentiation-inducing quinolines as experimental breast cancer agents in the MCF-7 human breast cancer cell model. *Biochem Pharmacol.* 2004 Nov 1;68(9):1729–38.
46. Musiol R. Styrylquinoline – A Versatile Scaffold in Medicinal Chemistry. *Med Chem (Los Angeles).* 2020 Feb 20;16(2):141–54.
47. Gao W, Li Z, Xu Q, Li Y. First synthesis of novel 2,4-bis(( *E* )-styryl)quinoline-3-carboxylate derivatives and their antitumor activity. *RSC Adv.* 2018;8(68):38844–9.
48. Li Y, Wang Y, Zou H. A general three-step one-pot synthesis of novel (*E*)-6-chloro-2-(aryl/hetarylvinyl)quinoline-3-carboxylic acids. *Mol Divers.* 2017 May 23;21(2):463–73.
49. Bianchini G, Ribelles P, Becerra D, Ramos MT, Menendez JC. ChemInform Abstract: Efficient Synthesis of 2-Acylquinolines Based on an Aza-Vinylogous Povarov Reaction. *ChemInform.* 2016 Jul;47(32).
50. Cinar R, Nordmann J, Dirksen E, Müller TJJ. Domino synthesis of protochromic “ON–OFF–ON” luminescent 2-styryl quinolines. *Org Biomol Chem.* 2013;11(16):2597.

51. Mane PA, Dey S, Vivekananda KV. Macrocyclic Pd(II) dithiolate complexes as catalysts in Heck reactions. *Tetrahedron Lett.* 2017 Jan;58(1):25–9.
52. Sun N, Chen M, Jin L, Zhao W, Hu B, Shen Z, et al. An efficient Pd–NHC catalyst system in situ generated from Na<sub>2</sub> PdCl<sub>4</sub> and PEG-functionalized imidazolium salts for Mizoroki–Heck reactions in water. *Beilstein J Org Chem.* 2017 Aug 21;13:1735–44.
53. Jamal Z, Teo YC. ChemInform Abstract: Cobalt-Catalyzed Direct Alkenylation of 2-Methylquinolines with Aldehydes via C(sp<sup>3</sup>)-H Functionalization in Water. *ChemInform.* 2015 Mar;46(10).
54. Lipez K. Síntesis y caracterización de una nueva serie de quinolinas híbridas fusionadas del tipo (E)-3-(piperidin-1-il)-9-estirilfuro[3,4-b]quinolin-1(3H)-ona. Universidad Industrial de Santander. Trabajo de Grado en Química; 2020.
55. Ardila D. Diseño, síntesis y evaluación de la actividad anticancerígena de nuevos híbridos moleculares conjugados y fusionados de la quinolina y las unidades farmacofóricas estirilochalcona y piran-2-ona. Universidad Industrial de Santander. Trabajo de Investigación de Maestría en Química; 2020.
56. Satish G, Ashok P, Kota L, Ilangovan A. Nickel-Catalyzed Annulation of 2'-Amino-chalcones: A Simplistic Access to 4-Styryl and 2,4-Distyrylquinolines. *ChemistrySelect.* 2019 Jan 31;4(4):1346–9.
57. Jafari E, Khajouei MR, Hassanzadeh F, Hakimelahi GH, Khodarahmi GA. Quinazolinone and quinazoline derivatives: recent structures with potent antimicrobial and cytotoxic activities. *Res Pharm Sci.* 2016;11(1):1–14.
58. Rohokale R, Kshirsagar U. Advanced Synthetic Strategies for Constructing Quinazolinone Scaffolds. *Synthesis (Stuttg).* 2016 Mar 9;48(09):1253–68.

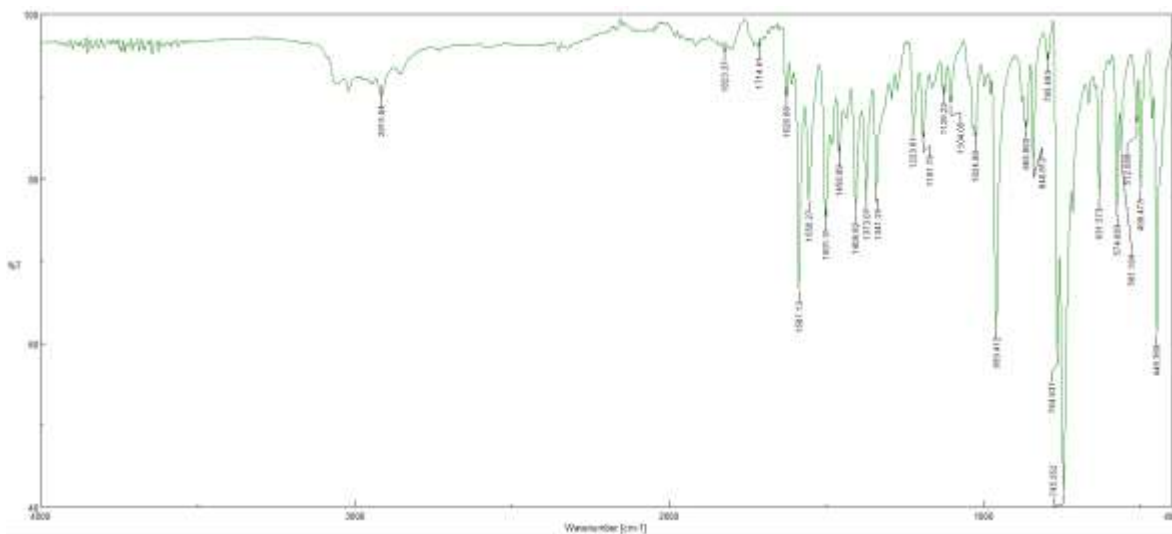
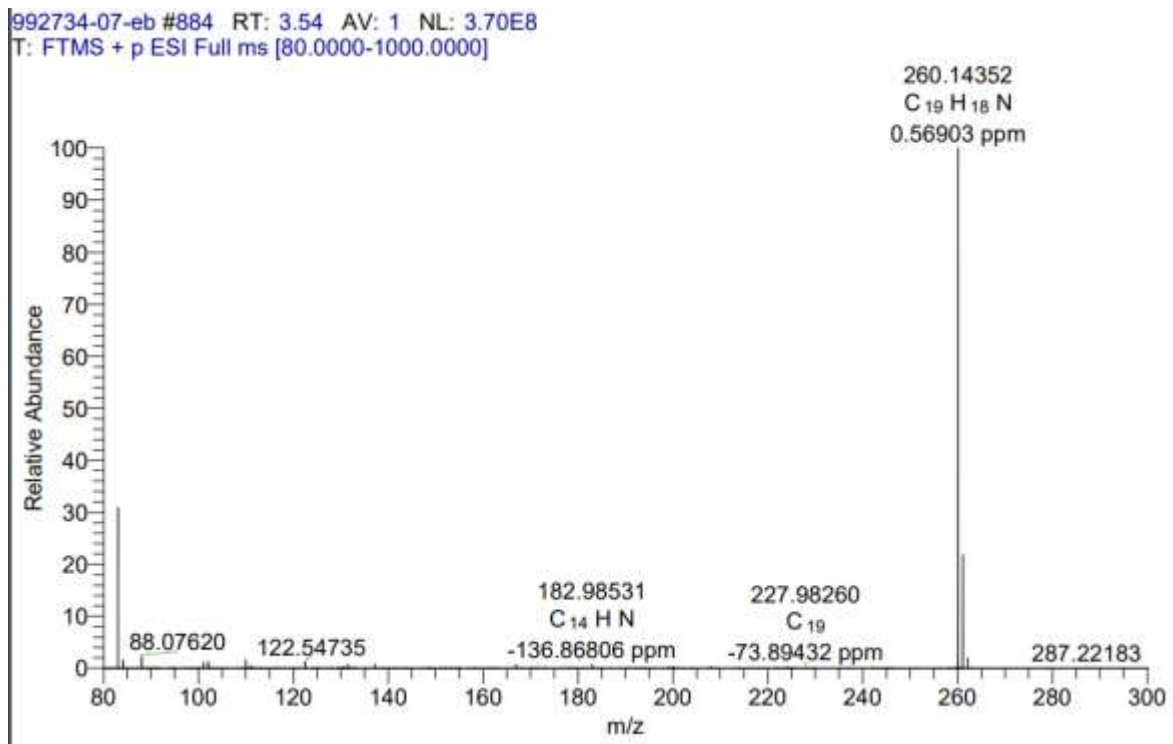
59. Romero A, Salazar J, López S. A Simple One-Pot Synthesis of 2-Substituted Quinazolin-4(3H)-ones from 2-Nitrobenzamides by Using Sodium Dithionite. *Synthesis (Stuttg)*. 2013 Jun 14;45(14):2043–50.
60. Hu BQ, Wang LX, Xiang JF, Yang L, Tang YL. Cu(II)-catalyzed domino reaction of 2-halobenzamide and arylmethanamine to construct 2-aryl quinazolinone. *Chin Chem Lett*. 2015 Mar;26(3):369–72.
61. Kim NY, Cheon CH. Synthesis of quinazolinones from anthranilamides and aldehydes via metal-free aerobic oxidation in DMSO. *Tetrahedron Lett*. 2014 Apr 9;55(15):2340–4.
62. Mohammed S, Vishwakarma RA, Bharate SB. Iodine Catalyzed Oxidative Synthesis of Quinazolin-4(3H)-ones and Pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7(6H)-ones via Amination of sp<sup>3</sup> C-H Bond. *J Org Chem*. 2015 Jul 2;80(13):6915–21.
63. Mhaske SB, Argade NP. Regioselective Quinazolinone-Directed Ortho Lithiation of Quinazolinoylquinoline: Practical Synthesis of Naturally Occurring Human DNA Topoisomerase I Poison Luotonin A and Luotonins B and E. *J Org Chem*. 2004 Jun 1;69(13):4563–6.
64. Ma Z, Hano Y, Nomura T, Chen Y. Novel quinazoline–quinoline alkaloids with cytotoxic and DNA topoisomerase II inhibitory activities. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004 Mar;14(5):1193–6.
65. Bai XJ, Ren J, Zhou J, Song Z Bin. A “turn-on” fluorescent chemosensor for the detection of Zn<sup>2+</sup> ion based on 2-(quinolin-2-yl)quinazolin-4(3H)-one. *Heterocycl Comm*. 2018 Jun 27;24(3):135–9.

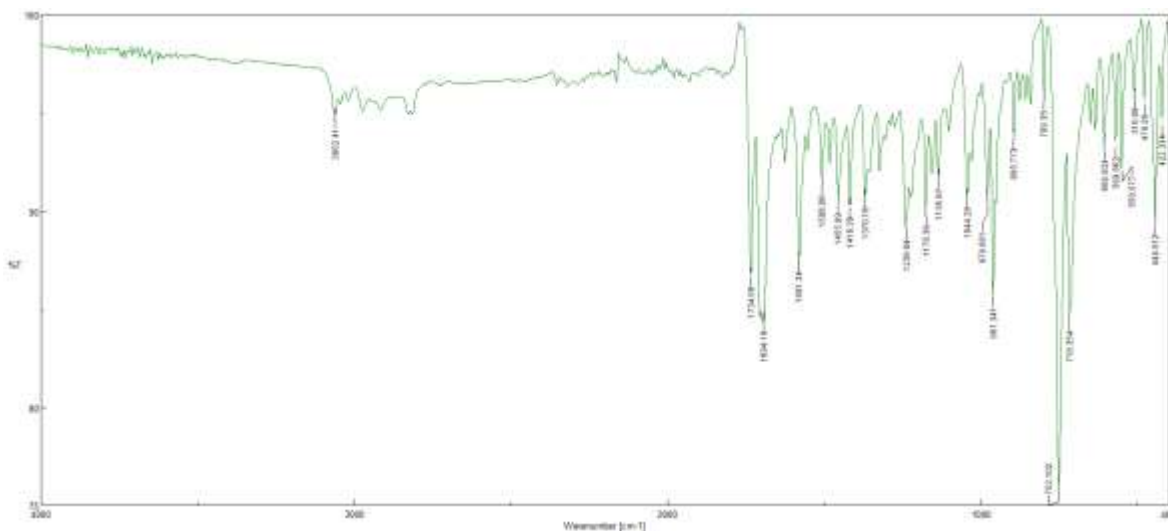
66. Liu H, Zhai T, Ding S, Hou Y, Zhang X, Feng L, et al. Direct and metal-free oxidative amination of  $sp^3$  C–H bonds for the construction of 2-hetarylquinazolin-4(3H)-ones. *Organic Chemistry Frontiers*. 2016;3(9):1096–9.
67. Zhang Y, Zhou Z, Li Z, Hu K, Zha Z, Wang Z. Iodine-mediated electrochemical C( $sp^3$ )–H cyclization: the synthesis of quinazolinone-fused N-heterocycles. *Chemical Communications*. 2022;58(3):411–4.
68. Moshkina TN, Nosova E V., Kopotilova AE, Savchuk MI, Nikonov IL, Kopchuk DS, et al. Synthesis and photophysical properties of pyridyl- and quinoliny-substituted 4-(4-aminophenyl)quinazolines. *J Photochem Photobiol A Chem*. 2022 Aug 1;429.
69. Marco-Contelles J, Pérez-Mayoral E, Samadi A, Carreiras M do C, Soriano E. Recent Advances in the Friedländer Reaction. *Chem Rev*. 2009 Jun 10;109(6):2652–71.
70. Muchowski JM, Maddox ML. Concerning the mechanism of the Friedländer quinoline synthesis. *Can J Chem*. 2004 Mar 1;82(3):461–78.
71. Wang L, Hou X, Fu H, Pan X, Xu W, Tang W, et al. Design, synthesis and preliminary bioactivity evaluations of substituted quinoline hydroxamic acid derivatives as novel histone deacetylase (HDAC) inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2015 Aug;23(15):4364–74.
72. Yang L, Shi X, Hu BQ, Wang LX. Iodine-Catalyzed Oxidative Benzylic C-H Bond Amination of Azaarenes: Practical Synthesis of Quinazolin-4(3H)-ones. *Asian J Org Chem*. 2016 Apr 1;5(4):494–8.
73. Hassanpour SH, Dehghani M. Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*. 2017 Dec;4(4):127–9.
74. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022 Jan 1;12(1):31–46.

75. National Cancer Institute. What is cancer? [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
76. Hugo H, Ackland ML, Blick T, Lawrence MG, Clements JA, Williams ED, et al. Epithelial—mesenchymal and mesenchymal—epithelial transitions in carcinoma progression. *J Cell Physiol.* 2007 Nov 6;213(2):374–83.
77. Bispo JAB, Pinheiro PS, Kobetz EK. Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020 Jun;10(6):a034819.
78. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023 Jan 12;73(1):17–48.
79. Instituto Nacional de Cancerología. Cáncer en cifras INC-2022 [Internet]. [cited 2023 Nov 20]. Available from: [https://www.cancer.gov.co/recursos\\_user/imagenes/Infografias/CANCER\\_EN\\_CIFRAS\\_2022\\_APROBADA.pdf](https://www.cancer.gov.co/recursos_user/imagenes/Infografias/CANCER_EN_CIFRAS_2022_APROBADA.pdf)
80. Walters WP. Going further than Lipinski’s rule in drug design. *Expert Opin Drug Discov.* 2012 Feb 13;7(2):99–107.
81. Chagas CM, Moss S, Alisaraie L. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski’s Rule of Five. *Int J Pharm.* 2018 Oct;549(1–2):133–49.
82. Doak BC, Over B, Giordanetto F, Kihlberg J. Oral Druggable Space beyond the Rule of 5: Insights from Drugs and Clinical Candidates. *Chem Biol.* 2014 Sep;21(9):1115–42.
83. Kimura H, Ikeda T, Nakayama H, Sakai Y, Fujii T. An On-Chip Small Intestine–Liver Model for Pharmacokinetic Studies. *SLAS Technol.* 2015 Jun;20(3):265–73.

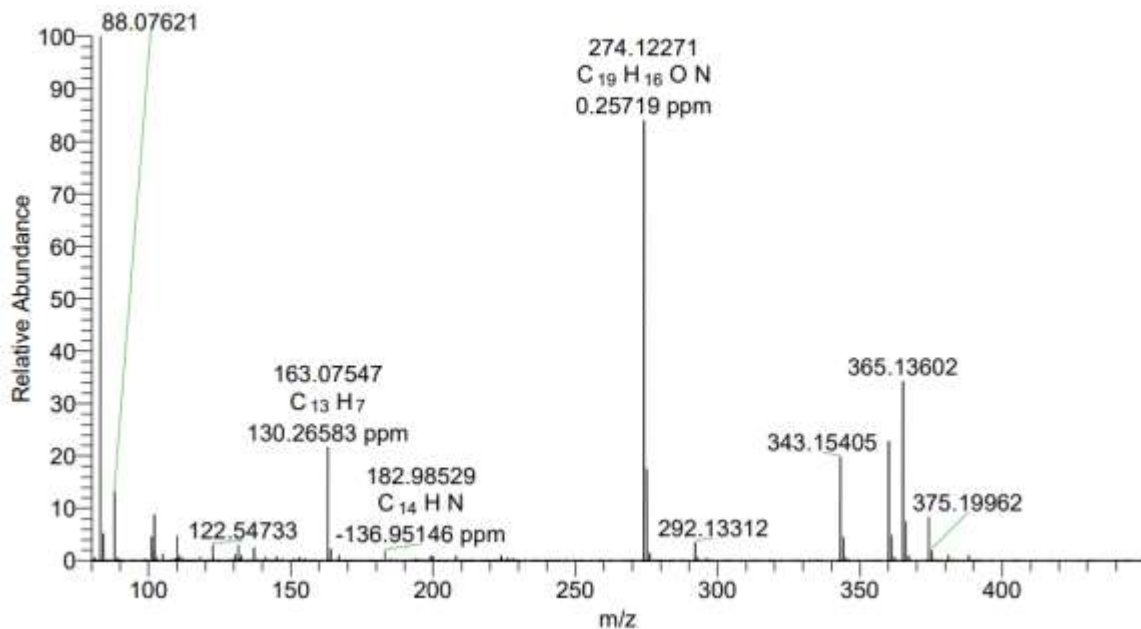
84. Sun H, Chow EC, Liu S, Du Y, Pang KS. The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008 Apr 23;4(4):395–411.
85. Fredlund L, Winiwarter S, Hilgendorf C. In Vitro Intrinsic Permeability: A Transporter-Independent Measure of Caco-2 Cell Permeability in Drug Design and Development. *Mol Pharm.* 2017 May 1;14(5):1601–9.
86. Wessel MD, Jurs PC, Tolan JW, Muskal SM. Prediction of Human Intestinal Absorption of Drug Compounds from Molecular Structure. *J Chem Inf Comput Sci.* 1998 Jul 1;38(4):726–35.
87. Lambrinidis G, Vallianatou T, Tsantili-Kakoulidou A. In vitro, in silico and integrated strategies for the estimation of plasma protein binding. A review. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 Jun;86:27–45.
88. Bohnert T, Gan LS. Plasma protein binding: From discovery to development. *J Pharm Sci.* 2013 Sep;102(9):2953–94.
89. Zhao Y, Gan L, Ren L, Lin Y, Ma C, Lin X. Factors influencing the blood-brain barrier permeability. *Brain Res.* 2022 Aug;1788:147937.
90. Pardridge WM. BLOOD-BRAIN BARRIER DRUG TARGETING: THE FUTURE OF BRAIN DRUG DEVELOPMENT. *Mol Interv.* 2003 Mar 1;3(2):90–105.
91. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 2000 Nov;455(1–2):29–60.

## Apéndices

Apendice A. Espectro IR de **2b**.Apendice B. Espectro UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS de **2b**.

Apendice C. Espectro IR de **3b**.Apendice D. Espectro UHPLC-ESI+-Orbitrap-HRMS de **3b**.

992734-06-eb #1524 RT: 6.01 AV: 1 NL: 1.47E8  
T: FTMS + p ESI Full lock ms [80.0000-1000.0000]



Apendice E. Espectro IR de **4i**.