

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTICANCERÍGENA DE NUEVAS SERIES DE 4-SUSTITUIDAS 6,11-
DIHIDRO-5*H*-BENZO[*b*]PIRIMIDO[5,4-*f*]AZEPINAS**

ISIDRO BURGOS ORTIZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTICANCERÍGENA DE NUEVAS SERIES DE 4-SUSTITUIDAS 6,11-
DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS**

ISIDRO BURGOS ORTIZ

**Trabajo de Grado para optar el título de
Químico**

Director

ALIRIO PALMA RODRÍGUEZ

Químico, *Ph.D.*

Co-Directora

LINA MARÍA ACOSTA QUINTERO,

Química, *M.Sc.*

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

BUCARAMANGA

2016

DEDICATORIA

A mi Dios y la Virgen, por ser esa fuente de inspiración espiritual con la que vive cada ser humano.

A mi padre Vicente Burgos Reyes (q.e.p.d.), por inculcarme el amor y el sacrificio por salir adelante, a mi madre Bernarda Ortiz Prieto, por enseñarme el valor del amor y la humildad, y a mis hermanos, por su amor y apoyo en cada una de las etapas de mi vida.

A mi Ahijada Azhley M. Mendoza R., por ser esa personita que me inspira el amor de un padre, a mis amigos Luis C. y Jhon A. Mendoza M. por la confianza y amistad impartida todo este tiempo y a mis queridas amigas Martha J. (q.e.p.d.) e Inés Martínez Barrera por todo el apoyo durante estos 15 años, los cuales me han demostrado el amor por una familia.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

El profesor Alirio Palma Rodríguez, por permitirme ser parte de su grupo de investigación y por confiarme la administración del mismo. Agradezco su guía, orientación y conocimientos brindados durante la investigación. Sus aportes en mi vida a nivel profesional y personal siempre estarán presentes.

A Lina María Acosta Quintero, codirectora y compañera, gracias por sus conocimientos y aportes brindados en el enriquecimiento de mi trabajo de investigación, agradezco su comprensión, y la forma de reconocer y valorar mi labor en el LSO.

Al Instituto Nacional de Cáncer (NCI–USA), por la colaboración en la toma de datos de actividad biológica.

A la profesora Elena Evguenievna Stashenko, Directora del Laboratorio de Cromatografía de la UIS, a los M.Sc. William Salgar Rangel y Deyanira Caballero Méndez, por la toma de los espectros de GC–MS.

Al profesor Daniel Ricardo Molina Velasco y a Mary Helena Torres del Laboratorio de RMN de la UIS, por la toma de los espectros de RMN.

Al profesor Enrique Mejía Ospino del Laboratorio de Espectrometría de Masas de la UIS, por la toma de los espectros de ESI-MS.

A Alejandro Torres N. y Lucia C. Novoa G. del Laboratorio Instrumental de Análisis Químico de la UIS, por la colaboración en la toma de los espectros de IR.

Al profesor Justo Cobo Domingo de la Universidad de Jaén, España, por la toma de los espectros de masas de alta resolución y por el análisis por difracción de rayos X de monocristal.

A mis compañeros de Laboratorio de Síntesis Orgánica, Sergio Andrés Guerrero Pardo por toda la colaboración y acompañamiento en la realización de mi trabajo de grado, Juan E. Ramirez Moreno, por ser mi compañero de trabajo, y a los exintegrantes Jorge Enrique Jurado Tasco, por su amistad y sus aportes, a Adriana Lisseth Luque Díaz, Carlos Mario Sanabria Sanchez, Manuel Fernando Roa Ardila, y Jeferson Bernardo Matius, por su confianza, amistad y sus consejos.

A “los vecinos de Inorgánica” José H. Quintana M., Andrea Aparicio S., Cristian C. Garnica R., Andrés D. Triana M., Laura A. Blanco G. y Cristhian C. Alvarez G., por su confianza, acompañamiento y amistad.

A la Escuela de Química, especialmente a su director, el profesor Herminul De Jesús Cano Calle, por la colaboración prestada.

Finalmente, a mis amigos: Elizabeth Alarcón H., Sergio A. Patiño T., Diana C. Montagut G., Edison Huertas M., Andrés F. León R., Jessica Triana P., José J. Villareal D., Ana M. Barrera D., Karol Carrillo J., Silvia Acosta R., Fabian L. Monares B., Sergio A. Gómez B., Leonardo Niño S., Rogerio A. S. Saavedra B., Samir Suarez T., Wendy L. Hernandez P., Silvia Vesga M., Angélica M. Suescum P., Nelson F. Sierra A., Felix O. Caballero S., Melissa Giorgi O., Jair A. Flórez P., por su compañía y amistad a lo largo de toda la carrera, y por hacer que ésta fuera una de las mejores épocas de mi vida; asimismo, a Gonzalo Garcia D. gracias por hacerme perder mucho tiempo en mi trabajo de grado.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	29
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
2 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GENERAL	34
4 MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES	36
4.1 ASPECTOS SINTÉTICOS Y BIOLÓGICOS DE LAS DIBENZO[<i>b,f</i>]AZEPINAS	36
4.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LAS PIRIMIDINAS	38
4.3 ASPECTOS SINTÉTICOS Y BIOLÓGICOS DE LOS BENZIMIDAZOLES	41
4.4 CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA FUSIONADO DE LA BENZO[<i>b</i>]PIRIMIDO[5,4- <i>f</i>]AZEPINA	44
4.5 EJEMPLOS DE SÍNTESIS DE HÍBRIDOS MOLECULARES DEL TIPO BENZIMIDAZOL-PIRIMIDINA	47

4.6	IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE COMPUESTOS QUE CONTIENEN EN SUS ESTRUCTURAS LOS NÚCLEOS DEL BENZIMIDAZOLY LA PIRIMIDINA EN DIFERENTES COMBINACIONES	49
5	HIPÓTESIS	52
6	PARTE EXPERIMENTAL	53
6.1	PREPARACIÓN DE LA 5-ALIL-4,6-DICLOROPIRIMIDINA <u>1</u>	55
6.2	PREPARACIÓN DE LA N ¹ -(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-4-METILBENCENO-1,2-DIAMINA <u>2</u>	57
6.3	PREPARACIÓN DE LOS 1-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-5-METIL-1H-BENZO[d]IMIDAZOLES <u>3a,b</u>	58
6.4	SÍNTESIS DE LAS 5-ALIL-4-(ARILMETILAMINO)-6-(1H-BENZO[d]IMIDAZOL-1-IL)PIRIMIDINAS <u>5a-h</u>	60
6.5	PREPARACIÓN DE LAS 6,11-DIMETIL-4-(1H-BENZO[d]IMIDAZOL-1-IL)-6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS <u>6a-f</u>	67
6.6	PREPARACIÓN DE LAS 4-(DIMETILAMINO)-6,11-DIMETIL-6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS <u>8a-c</u>	73
6.7	PREPARACIÓN DE LAS 4-BUTOXI-6,11-DIMETIL-6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS <u>9a-c</u>	76
7	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	80
7.1	PREPARACIÓN DE LA N ¹ -(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-4-METILBENCENO-1,2-DIAMINA <u>2</u>	81

7.2	PREPARACIÓN DE LOS 1-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-5-METIL-1 <i>H</i> -BENZO[<i>d</i>]IMIDAZOLES <u>3</u> a,b. ETAPA DE LA FUNCIONALIZACIÓN DEL NÚCLEO DE LA PIRIMIDINA CON UN ANILLO DE BENZIMIDAZOL	90
7.3	SÍNTESIS DE LAS 5-ALIL-4-(ARILMETILAMINO)-6-(1 <i>H</i> -BENZO[<i>d</i>]IMIDAZOL-1-IL)PIRIMIDINAS <u>5</u> a-h	97
7.4	PREPARACIÓN DE LOS NUEVOS HÍBRIDOS MOLECULARES DEL TIPO 6,11-DIMETIL-4-(1 <i>H</i> -BENZO[<i>d</i>]IMIDAZOL-1-IL)-6,11-DIHIDRO-5 <i>H</i> -BENZO[<i>b</i>]PIRIMIDO[5,4- <i>f</i>]AZEPINA <u>6</u> a-f	104
7.5	FUNCIONALIZACIÓN DE LAS 4-CLORO-6,11-DIMETIL-5,6-DIHIDRO-11 <i>H</i> -BENZO[<i>b</i>]PIRIMIDO[5,4- <i>f</i>]AZEPINAS <u>7</u> a-c	121
7.6	ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE LAS NUEVAS 6,11-DIHIDRO-5 <i>H</i> -BENZO[<i>b</i>]PIRIMIDO[5,4- <i>f</i>]AZEPINAS 4-SUSTITUIDAS SINTETIZADAS	127
8	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	150
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	152
	BIBLIOGRAFÍA	164
	ANEXOS	168

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fármacos derivados de la dibenzo[<i>b,f</i>]azepina usados en el tratamiento de diversas enfermedades del SNC	37
Figura 2. Estructuras de algunos derivados pirimidínicos naturales de gran interés biológico	38
Figura 3. Derivados de la pirimidina con propiedades antitumoral y bacteriostática	39
Figura 4. Ejemplos de algunos fármacos que contienen en sus estructuras el anillo de la pirimidina en diferentes combinaciones	39
Figura 5. Derivados fusionados de la pirimidina e híbridos moleculares con amplio rango de actividad biológica	41
Figura 6. Agentes terapéuticos derivados del benzimidazol	44
Figura 7. Estructura del neplanocin A (67)	49
Figura 8. Inhibidores de preteínas enzimáticas que contienen en sus estructuras los núcleos del benzimidazol y la pirimidina	50
Figura 9. Compuestos con potente actividad anticancerígena que contienen en sus estructuras los núcleos del benzimidazol y la pirimidina	51

Figura 10. Espectro de RMN ^1H de la <i>N'</i> -(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina 2	86
Figura 11. Espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H de la diamina 2	87
Figura 12. Expansión de la zona de las señales de los protones y carbonos aromáticos en el espectro de correlación heteronuclear HMBC de la diamina 2	89
Figura 13. Expansiones de las zonas de los espectros COSY ^1H - ^1H de los derivados 3a y 3b donde resuenan los protones del grupo alilo	96
Figura 14. Expansión del espectro NOESY del derivado 3a	96
Figura 15. Espectros de RMN ^1H de los compuestos 5d y 5h con las asignaciones de los protones	102
Figura 16. Espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H de la 5-alil-6-(5-metil-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)-4-((3,5-dimetilfenil)metilamino)pirimidina 5d	104
Figura 17. Espectro de RMN ^1H del híbrido molecular 6d con las asignaciones de los protones	111
Figura 18. Espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H del híbrido molecular 6d	112
Figura 19. Interacciones espaciales registradas en el espectro NOESY del derivado 6d	113
Figura 20. Rotámeros del ácido [1,1'-bifenil]-2,2'-dicarboxílico (78)	114
Figura 21. Tipos de sistemas bicíclicos que presentan atropoisomerismo	115

Figura 22. Espectro de RMN ^1H del híbrido molecular 6f con las asignaciones de los protones	117
Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C del híbrido molecular 6f con las asignaciones de los carbonos	118
Figura 24. Expansión del espectro NOESY del derivado 6f	119
Figura 25. Espectros de RMN ^1H de los derivados 8c y 9c con las asignaciones de todos los protones	127
Figura 26. Diagrama de flujo de los ensayos de actividad anticancerígena realizados por el NCI.	130

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Análisis retrosintético de los nuevos derivados e híbridos moleculares diseñados	32
Esquema 2. Rutas sintéticas de Hoebrecker y de Ladenburg para la preparación del 2,5(2,6)-dimetilbenzimidazol	42
Esquema 3. Síntesis de Wang de los benzimidazoles (38)	43
Esquema 4. Síntesis de Kobayashi de 5,6-dihidro-11 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]pirimido[5,4- <i>f</i>]azepinas	45
Esquema 5. Síntesis de Buchwald y Tselikhovsky de la 11 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]pirimido[5,4- <i>f</i>]azepina (50)	45
Esquema 6. Síntesis de Bouillon de la 11 <i>H</i> -benzo[<i>b</i>]pirimido[5,4- <i>f</i>]azepina (52)	46
Esquema 7. Síntesis de Palma de las dihidrobenzo[<i>b</i>]pirimido[5,4- <i>f</i>]azepinas (55)	47
Esquema 8. Síntesis de Zhang del 1-(pirimidin-5-il)-1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol (59)	47
Esquema 9. Síntesis de Kim de la serie de 4-(2- <i>aril</i> -1 <i>H</i> -benzimidazol-1-il)pirimidin-2-aminas (63)	48
Esquema 10. Síntesis de Crawford del derivado de la <i>N</i> ⁴ -(5-ciclopropil-1 <i>H</i> -pirazol-3-il)pirimidina-2,4-diamina (66)	49

- Esquema 11.** Desarrollo de los nuevos híbridos moleculares del tipo 6,11-dimetil-4-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **6a-f** 81
- Esquema 12.** Funcionalización de las 4-cloro-6,11-dimetil-5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **7a-c** a través de la sustitución nucleofílica aromática 81
- Esquema 13.** Preparación de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2** 82
- Esquema 14.** Efectos electrónicos de los átomos de cloro sobre los carbonos 4 y 6 de la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1** 83
- Esquema 15.** Patrón de fragmentación propuesto para el ión molecular de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2** 84
- Esquema 16.** Síntesis de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenzo[*d*]imidazoles **3a,b** 90
- Esquema 17.** Mecanismo de la reacción de ciclocondensación oxidativa de la diamina **2** y ortoésteres 91
- Esquema 18.** Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenzo[*d*]imidazoles **3a,b** 93
- Esquema 19.** Posible explicación gráfica del desdoblamiento equivalente y diferenciado que presentan los protones metilénicos en los espectros de **3a** y **3b** 95
- Esquema 20.** Síntesis de las 5-alil-4-(arilmetilamino)-6-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)pirimidinas **5a-h** 98

Esquema 21. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de las 5-alil-4-(arilmetilamino)-6-(1 <i>H</i> -benzo[<i>d</i>]imidazol-1-il)pirimidinas 5a-h	100
Esquema 22. Mecanismo simplificado de la formación de los híbridos moleculares 6a-f	106
Esquema 23. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los híbridos 6a-f	108
Esquema 24. Posible mecanismo de la reacción de aminólisis de las piridobenzazepinas 7a-c con el sistema DMF/KOH	122
Esquema 25. Posible mecanismo de la reacción de butanólisis de las piridobenzazepinas 7a-c con el sistema K ₂ CO ₃ / <i>n</i> -BuOH	123
Esquema 26. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los derivados 8a-c y 9a-c	125

LISTA DE ANEXOS

Página

Espectros de IR, MS, RMN ¹H y RMN ¹³C de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2**

Anexo 1 Espectro de IR de **2** 169

Anexo 2 Espectro de MS de **2** 169

Anexo 3 Espectro de RMN ¹H de **2** 170

Anexo 4 Espectro de RMN ¹³C de **2** 170

Anexo 5 Espectro de HRMS de **2** 171

Espectros de IR, MS, RMN ¹H y RMN ¹³C de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazoles **3a,b**.

Anexo 6 Espectro de IR de **3a** 172

Anexo 7 Espectro de MS de **3a** 172

Anexo 8 Espectro de RMN ¹H de **3a** 173

Anexo 9 Espectro de RMN ¹³C de **3a** 173

Anexo 10 Espectro de HRMS de **3a** 174

Anexo 11 Espectro de IR de **3b** 174

Anexo 12	Espectro de MS de 3b	175
Anexo 13	Espectro de RMN ¹ H de 3b	175
Anexo 14	Espectro de RMN ¹³ C de 3b	176
Anexo 15	Espectro de HRMS de 3b	176

Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de las 5-alil-*N*-metil-6-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-*N*-fenilpirimidin-4-aminas **5d** y **5h**

Anexo 16	Espectro de IR de 5d	177
Anexo 17	Espectro de MS de 5d	177
Anexo 18	Espectro de RMN ¹ H de 5d	178
Anexo 19	Espectro de RMN ¹³ C de 5d	178
Anexo 20	Espectro de HRMS de 5d	179
Anexo 21	Espectro de IR de 5h	179
Anexo 22	Espectro de MS de 5h	180
Anexo 23	Espectro de RMN ¹ H de 5h	180
Anexo 24	Espectro de RMN ¹³ C de 5h	181
Anexo 25	Espectro de HRMS de 5h	181

Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de las 6,11-dimetil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **6d** y **6h**

Anexo 26	Espectro de IR de 6d	182
Anexo 27	Espectro de MS de 6d	182
Anexo 28	Espectro de RMN ¹ H de 6d	183
Anexo 29	Espectro de RMN ¹³ C de 6d	183
Anexo 30	Espectro de HRMS de 6d	184
Anexo 31	Espectro de IR de 6h	184
Anexo 32	Espectro de MS de 6h	185
Anexo 33	Espectro de RMN ¹ H de 6h	185
Anexo 34	Espectro de RMN ¹³ C de 6h	186
Anexo 35	Espectro de HRMS de 6h	186

Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de las *N,N,6,11*-tetrametil-*6,11*-dihidro-*5H*-benzo[*b*]pirimido[*5,4-f*]azepin-4-aminas **8c**

Anexo36	Espectro de IR de 8c	187
Anexo 37	Espectro de MS de 8c	187
Anexo 38	Espectro de RMN ¹ H de 8c	188
Anexo 39	Espectro de RMN ¹³ C de 8c	188
Anexo 40	Espectro de HRMS de 8c	189

Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de la 4-butoxi-*6,7,9,11*-tetrametil-*6,11*-dihidro-*5H*-benzo[*b*]pirimido[*5,4-f*] azepina **9c**

Anexo 41	Espectro de IR de 9c	190
Anexo 42	Espectro de MS de 9c	190
Anexo 43	Espectro de RMN ¹ H de 9c	191
Anexo 44	Espectro de RMN ¹³ C de 9c	191
Anexo 45	Espectro de HRMS de 9c	192

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento (GI %) o letalidad (valores negativos, %) de los compuestos evaluados 6a-d , 6f , 8a-c y 9a-c a una concentración (10 μ M) sobre el panel de 60 líneas celulares tumorales	135
Tabla 2. Concentración de inhibición del crecimiento 50 (GI ₅₀ , μ M), concentración de inhibición total del crecimiento (TGI, μ M) y concentración letal 50 (LC ₅₀) para todas las líneas celulares tumorales	142
Tabla 3. Valores promedio de la concentración de inhibición de crecimiento (GI ₅₀ , μ M) y valores de selectividad de los compuestos 6a-d , 8b hacia los sub-paneles de líneas tumorales I-IX	146
Tabla 4. Valores promedio de la concentración de inhibición total del crecimiento (TGI, μ M) y valores de selectividad de los compuestos 6a-d , 8b hacia los sub-paneles de líneas tumorales I-IX	147
Tabla 5. Valores promedio de concentración letal (LC ₅₀ , μ M) de los compuestos 6a-d , 8b contra los sub-paneles de líneas tumorales I-IX	148

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

APTS.H₂O Ácido *para*-toluenosulfónico (hidratado)

ATR Reflectancia Total Atenuada

CCF Cromatografía en capa fina

C Control de crecimiento celular

°C Grados centígrados

cm Centímetros

conj. cíclica Conjugación cíclica

CICT Centro de Instrumentación Científico-Técnica de la Universidad de Jaén, España

COSY ¹H-¹H Correlation Spectroscopy

δ Desplazamiento químico

d Doblete en RMN

deform. asim. Deformación asimétrica

deform. sim. Deformación simétrica

DIPEA *N,N*-Diisopropiletilamina

DMF Dimetilformamida

$\bar{\nu}_{max}$	Número de onda (cm^{-1})
ESI-MS	Espectrometría de masas por ionización de electrospray
EI	Ionización por impacto de electrones
eV	Electronvoltios
g	Gramos
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
GI ₅₀	Concentración para la inhibición del 50% del crecimiento (growth inhibition 50)
g/mol	Gramos por mol
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
Hz	Hertzios
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
L	Litros
LC ₅₀	Concentración letal 50 (lethal concentration 50)
LSO	Laboratorio de Síntesis Orgánica

m	Intensidad media en IR (según el contexto)
m	Multiplete en RMN (según el contexto)
M ⁺	Ión molecular
mg	Miligramos
MHz	Megahertzios
min	Minutos
mL	Mililitro
mmoles	Milimoles
<i>m/z</i>	Relación masa carga
NCI	Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos de América
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ov	Banda solapada en IR
PC	Porcentaje de crecimiento celular
P.f.	Punto de fusión
ppm	partes por millón
q	Cuartete en RMN
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protones
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13

R_f	Factor de retención
s	Intensidad fuerte en IR (según el contexto)
s	Singulete en RMN (según el contexto)
sa	Singulete ancho en RMN
S_NAr	Sustitución nucleofílica aromática
t	Triplete en RMN
TCA	Ácido tricloroacético
TGI	Inhibición total del crecimiento (total growth inhibition)
Ti	Control de crecimiento en presencia de los nuevos compuestos evaluados
t_R	Tiempo de retención
Tz	Tiempo cero
UIS	Universidad Industrial de Santander
UJA	Universidad de Jaén, España
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
vs	Intensidad muy fuerte en IR
vw	Intensidad muy baja en IR
w	Intensidad baja en IR

RESUMEN

TÍTULO: SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE NUEVAS SERIES DE 4-SUSTITUIDAS 6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[*b*]PIRIMIDO[5,4-*f*]AZEPINAS*

AUTOR: BURGOS ORTIZ, Isidro.**

PALABRAS CLAVE: Dibenzo[*b,f*]azepinas, pirimidina, benzimidazol, sustitución nucleofílica aromática, ciclocondensación oxidativa, ciclación intramolecular de Friedel-Crafts.

DESCRIPCIÓN: Los sistemas heterocíclicos nitrogenados de la dibenzo[*b,f*]azepina, la pirimidina y del benzimidazol han demostrado tener un amplio espectro de actividad biológica, lo que los ha convertido en blanco de interés en la construcción de nuevos fármacos. Por esta razón, en el Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) se diseñó e implementó una ruta de síntesis, basada en tres reacciones clásicas: la reacción de sustitución nucleofílica aromática, la ciclocondensación oxidativa y la ciclación electrofílica intramolecular de Friedel-Crafts.

Adicional, mediante la funcionalización de las 5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas, previamente elaboradas en el LSO, por medio de las reacciones de aminólisis y butanólisis se logró la diversificación de los mismos.

Con el propósito de crear nuevas moléculas de estos sistemas heterocíclicos y enriquecer la químioteca ya reportada anteriormente, en el presente Trabajo de Grado se utilizó la 5-alil-4,6-dicloropirimidina, un precursor idóneo que permite la construcción de los sistemas análogos estructurales.

Finalmente, el potencial promisorio de actividad anticancerígena de las nuevas 4-sustituidas 6,11-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas, fue evaluado en ensayos preliminares sobre un panel completo de aproximadamente 60 líneas celulares tumorales humanas, elaborados en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos; demostraron una sobresaliente actividad anticancerígena en los ensayos *in vitro*, ya que esta clase de compuestos son híbridos estructurales que están construidos sobre la base de componentes farmacofóricos ampliamente estudiados

* Trabajo de Grado para optar al título de Químico

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Laboratorio de Síntesis Orgánica. Director: Alirio Palma Rodríguez, *Ph.D.* Co-directora: Lina Maria Acosta Quintero, *MSc.*

ABSTRACT

TITLE: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF THE ANTICANCER ACTIVITY FROM NEW SERIES OF 4-SUBSTITUTED 6,11-DIHYDRO-5*H*-BENZ[*b*]PYRIMIDO[5,4-*f*]AZEPINES*

AUTHOR: BURGOS ORTIZ, Isidro.**

KEY WORDS: Dibenz[*b,f*]azepines, pyrimidine, benzimidazole, nucleophilic aromatic substitution, oxidative cyclocondensation, intramolecular Friedel-Crafts cyclization

DESCRIPCIÓN: Nitrogen based heterocyclic systems from the dibenz[*b,f*]azepines, pyrimidine and the benzimidazole have proven to have a wide spectrum of biologic activity, which has placed them as an interesting target to develop new drugs. For this reason, in the "Laboratorio de Síntesis Orgánica" (LSO) a new synthesis route was designed based on three classic reactions: nucleophilic aromatic substitution, oxidative cyclocondensation and the intramolecular Friedel-Crafts cyclization.

Moreover, by the functionalization of the 5,6-dihydro-11*H*-benzo[*b*]pyrimido[5,4-*f*]azepines previously synthesized in the LSO and the aminolysis and butanolysis reactions, the diversification of these systems was accomplished.

In the present degree project the structural analogues were synthesized from the 5-allyl-4,6-dichloropyrimidine, which was the suitable precursor to build these systems, with the purpose of creating new molecules and to enrich the chemical library previously reported.

Finally, the anticancer activity potencial from the new 4-substituted 6,11-dihydro-11*H*-benz[*b*]pyrimido[5,4-*f*]azepines was tested on preliminary essays over a complete panel of approximately 60 human cancer cell lines, elaborated at the National Cancer Institute (NCI) in the United States; the results demonstrated an outstanding anticancer activity from the *in vitro* essays because this kind of compounds are structural hybrids that are constituted over the widely studied pharmacophoric components.

* Degree work to obtain the title of Chemist.

**Faculty of Science. Department of Chemistry. Laboratorio de Síntesis Orgánica. Director: Alirio Palma Rodríguez, *Ph.D.* Co-director: Lina Maria Acosta Quintero, *MSc.*

INTRODUCCIÓN

La pirimidina es un importante motivo estructural heterocíclico que está presente en un significativo número de moléculas, algunas de las cuales juegan un papel importante en procesos fundamentales; tal es el caso de las vitaminas tiamina, riboflavina y del ácido fólico, entre otras. Este heterociclo también está presente en estructuras de numerosos productos naturales y en moléculas sintéticas con destacada actividad biológica. Así por ejemplo, la barbitona, el primer barbiturato con propiedades hipnótica, sedativa y anticonvulsiva, es un derivado pirimidínico. La nimustina, un reconocido agente antineoplásico, así como la trimetropina, un medicamento antibacteriano, son derivados de la 4-amino- y la 2,4-diaminopirimidina, respectivamente. Algunos de los fármacos empleados como antivirales para combatir el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), como la zidovudina, el primer retroviral en salir al mercado, también pertenecen a la familia de las pirimidinas.¹ Asimismo, se conoce un gran número de derivados de la pirimidina y de pirimidinas fusionadas con otros heterociclos y/o carbociclos, que se destacan por sus importantes actividades fármaco-biológicas, por ejemplo, como diuréticos, antimaláricos, antiinflamatorios y antitumorales, entre otras actividades. Son de especial interés en este campo las 2-amino- y las 2,4-diaminopirimidinas, porque son farmacóforos reconocidos que se usan frecuentemente en el diseño de nuevos fármacos.^{2,3}

De otra parte, los benzimidazoles son otra familia de compuestos que han sido ampliamente estudiados y que son seleccionados permanentemente como subestructuras privilegiadas para el diseño de fármacos con variadas aplicaciones terapéuticas como antimicrobianos, antivirales, antiparasitarios, anticancerígenos, anti-inflamatorios, antioxidantes, antihipertensivos, anticoagulantes y

antidepresivos, entre muchas otras aplicaciones.^{4,5} Adicionalmente, se conocen ejemplos de pirimido–benzimidazoles fusionados, así como híbridos de estos dos sistemas heterocíclicos con interesantes propiedades biológicas.^{6,7}

Teniendo en consideración el potencial biológico inherente de pirimidinas fusionadas y del benzimidazol, se planteó, como un componente constitutivo adicional de una investigación que se está desarrollando en la actualidad en el Laboratorio de Síntesis Orgánica de la UIS, la posibilidad de crear nuevos derivados del sistema tricíclico de la 5,6–dihidro–11*H*–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina a través de funcionalización de la posición C–4 con grupos de carácter nucleofílico y con el anillo del benzimidazol; esta última combinación resultaría en la creación de híbridos moleculares no descritos del tipo dihidro–11*H*–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina–benzimidazol. La exitosa puesta en marcha de una metodología propia que facilitó la construcción del sistema dihidro–11*H*–benzo[*b*]–pirimido[5,4–*f*]azepina, así como la promisorio actividad anticancerígena que han demostrado algunos de sus derivados en ensayos preliminares realizados en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos, fueron las principales motivaciones para desarrollar esta investigación.

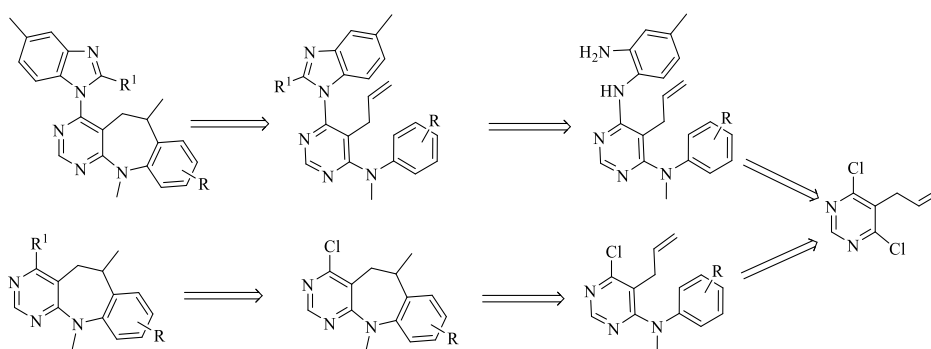
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se verá en la revisión bibliográfica se puede concluir que las dibenzo[*b,f*]azepinas son compuestos con una privilegiada actividad biológica, destacándose algunos de sus derivados por el marcado efecto que ejercen sobre el sistema nervioso central; también se puede concluir que la pirimidina es uno de los heterociclos más importantes desde el punto de vista biológico, así lo indican los ejemplos de sistemas fusionados de pirimidina presentados, y se concluye también que los benzimidazoles y otros sistemas que incorporan a dicho núcleo, son compuestos que se han estudiado intensamente por su amplio espectro de actividad biológica, destacándose su pronunciada actividad anticancerígena, entre otras. Pero, la conclusión más importante es que del sistema heterocíclico objeto de estudio en la presente investigación se sabe muy poco (o casi nada), desde los puntos de vista sintético y biológico.

Tomando como marco de referencia la información recién expuesta en el artículo de Palma y colaboradores y el potencial químico comprobado que ofrece la 5-alil-4,6-dicloropirimidina para realizar, a partir de ella, y de una manera efectiva, y con ayuda de reacciones clásicas, la construcción del nuevo sistema tricíclico de la 6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina, se plantea en esta investigación encontrar una respuesta positiva al siguiente interrogante: ¿Usando la metodología desarrollada en el LSO, será viable abordar la posterior funcionalización del sistema de la 6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina en la posición C-4 con diferentes nucleófilos, y desarrollar, entre otros posibles compuestos, nuevos híbridos moleculares de dicho sistema heterocíclico con el anillo de benzimidazol?

El análisis retrosintético (**Esquema 1**) refuerza la idea de que la 5–alil–4,6–dicloropirimidina contiene todos los elementos estructurales necesarios para ser considerada como el bloque primario de construcción de los nuevos derivados e híbridos moleculares diseñados.

Esquema 1. Análisis retrosintético de los nuevos derivados e híbridos moleculares diseñados.



2 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación está motivada y justificada, principalmente, por el hecho de que aún no hay trabajos reportados en la literatura especializada en los que se describa la síntesis y, mucho menos, el potencial biológico del tipo de compuestos que se han diseñado. En consecuencia, la información que se logre obtener en la presente investigación será de gran interés para la química heterocíclica, y muy seguramente, en un futuro próximo, para las químicas medicinal y farmacéutica, pues se trata de nuevos motivos estructurales que serán construidos sobre la base de componentes farmacofóricos ampliamente estudiados.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar nuevos híbridos moleculares del tipo 6,11-dimetil-4-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina, y realizar la funcionalización del núcleo de la 4-cloro-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina con grupos nucleofílicos.

➤ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar la 5-alil-4,6-dicloropirimidina 1.
- Preparar el producto de aminólisis 2.
- Realizar la reacción de ciclocondensación oxidativa de 2 con los correspondientes ortoésteres.
- Preparar los productos de aminólisis 5a-h.

- Realizar la ciclación intramolecular de Friedel–Crafts de los productos de aminólisis **5a–h**.
- Preparar los productos de sustitución nucleofílica aromática **8a–c** y **9a–c**.
- Realizar la caracterización estructural de todos los productos intermedios y finales sintetizados.
- Proponer al Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos los productos finales diseñados, para evaluar su potencial actividad anticancerígena.

4 MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

En esta sección se presentan de una forma bastante resumida, los aspectos sintéticos y biológicos más relevantes, a juicio nuestro, de los sistemas heterocíclicos que más analogía estructural tienen o que son parte constitutiva del sistema heterocíclico que es objeto de estudio en la presente investigación, a saber: los núcleos de la dibenzo[*b,f*]azepina, de la pirimidina y del benzimidazol.

4.1 ASPECTOS SINTÉTICOS Y BIOLÓGICOS DE LAS DIBENZO[*b,f*]AZEPINAS

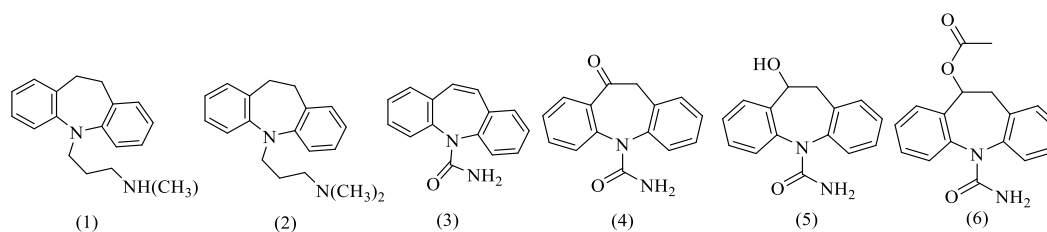
Desde el punto de vista farmacológico, el núcleo de la dibenzo[*b,f*]azepina ha encontrado un lugar muy importante en la química medicinal y en la industria farmacéutica, ya que constituye el armazón molecular central de las estructuras de un significativo número de fármacos que se prescriben actualmente para el tratamiento de la depresión aguda, conformando, junto con la amitriptilina, la familia de los denominados antidepresivos tricíclicos.⁸

Entre los derivados más conocidos de la dibenzo[*b,f*]azepina se encuentran la desimipramina **(1)** y la imipramina **(2)**, dos medicamentos antidepresivos de prescripción clínica. De la última, se sabe que actúa como inhibidor del receptor presináptico específico de aminas biogénicas como la serotonina y la noradrenalina, permitiendo el bloqueo de la recaptación de éstas a la neurona a nivel de la membrana celular.⁹ Igual o quizás mayor reconocimiento han alcanzado la

carbamazepina (TegretoTM) **(3)**, la oxcarbazepina (TrileptalTM) **(4)**, la eslicacarbazepina **(5)**, un metabolito activo de la oxcarbazepina, y el 10–acetato de la eslicacarbazepina (StedesaTM) **(6)**, **(Figura 1)**; todos estos fármacos son utilizados como anticonvulsivos y estabilizadores del humor durante los tratamientos de la epilepsia y los trastornos bipolares.⁶

En 2010, Vijay y Naik reportaron las promisorias propiedades antioxidantes que algunas 5*H*–dibenzo[*b,f*]azepinas *N*–sustituidas mostraron en diferentes sistemas modelo *in vitro*.¹⁰

Figura 1. Fármacos derivados de la dibenzo[*b,f*]azepina usados en el tratamiento de diversas enfermedades del SNC.

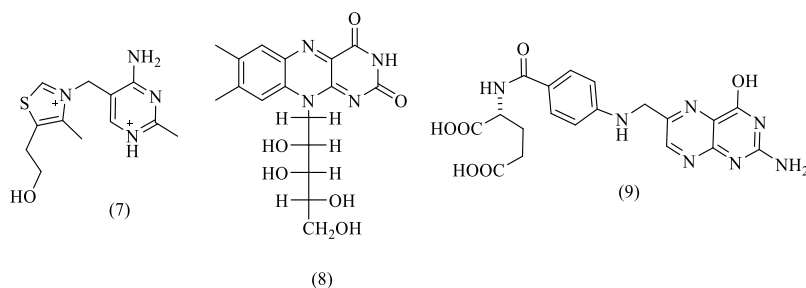


Aunque el sistema heterocíclico de la dibenzo[*b,f*]azepina se conoce desde 1899, cuando Thiele y Holzinger sintetizaron la 10,11–dihidro–5*H*–dibenzo[*b,f*]azepina, debieron pasar bastantes años antes de que se diseñaran metodologías apropiadas para acceder a derivados de este sistema. En general, este sistema heterocíclico es construido empleando reacciones de ciclación intermolecular de derivados apropiados que involucran en la etapa clave la formación de enlaces carbono–carbono y/o carbono–nitrógeno, pero también se construye por expansión del anillo central de ciertos derivados de la acridina.¹¹

4.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS DE LAS PIRIMIDINAS

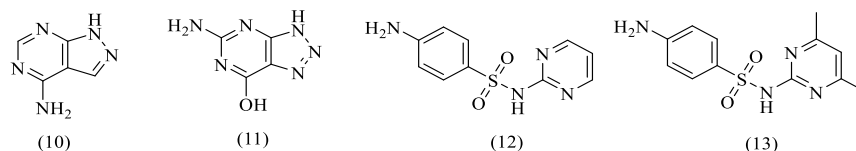
Se conoce un gran arsenal de derivados de la pirimidina y de la pirimidina fusionada con otros heterociclos y/o carbociclos, que se destacan por sus importantes actividades fármaco-biológicas. Son de especial interés en este campo las 2-amino- y las 2,4-diaminopirimidinas, porque son farmacóforos reconocidos que se usan frecuentemente en el diseño de nuevos fármacos. El núcleo pirimidínico está presente en moléculas de origen natural, que se caracterizan porque juegan un papel trascendental en procesos biológicos fundamentales; tal es el caso de las vitaminas tiamina **(7)**, riboflavina **(8)**, y del ácido fólico **(9)**, entre otras tantas,¹ **(Figura 2)**.

Figura 2. Estructuras de algunos derivados pirimidínicos naturales de gran interés biológico.



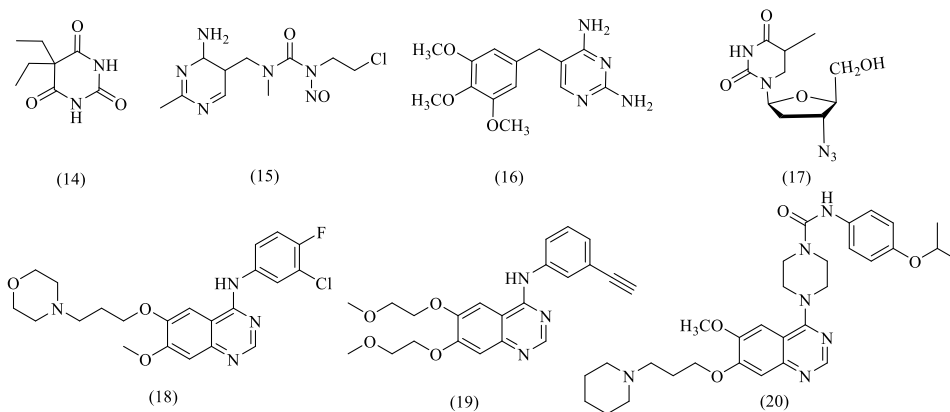
Las pirimidinas en diferentes combinaciones con otros heterociclos nitrogenados o sustituidas en C-2, además de participar en procesos biológicos vitales, también hacen parte constitutiva de las estructuras de algunos agentes antitumorales como la 4-aminopirazolo[3,4-*d*]pirimidina **(10)** y la 8-azaguanina **(11)**,^{12,13} y de algunos antibióticos bacteriostáticos para plantas como la sulfadiazina **(12)** y la sulfametazina **(13)**,¹⁴ **(Figura 3)**.

Figura 3. Derivados de la pirimidina con propiedades antitumoral y bacteriostática.



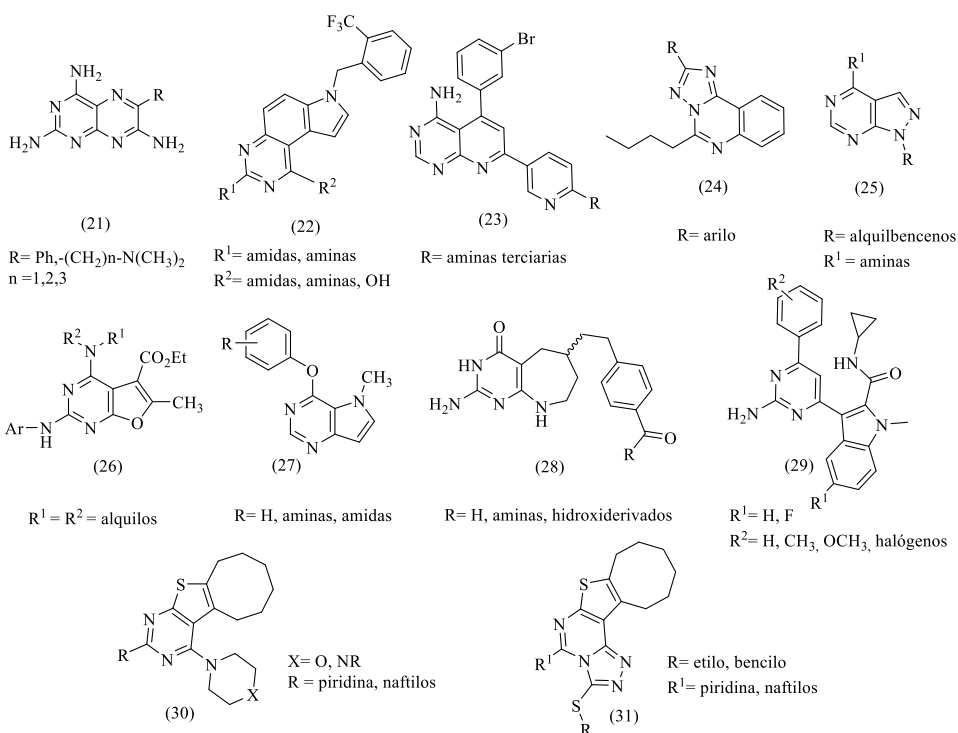
Este heterociclo también hace parte de otras moléculas de origen sintético con destacada actividad biológica, disponibles en el mercado, como la barbitona **(14)**, el primer barbiturato con propiedades hipnótica, sedativa y anticonvulsiva, la nimustina **(15)**, un reconocido agente antineoplásico, y la trimetropina **(16)**, una droga con acción antibacteriana. Algunos de los medicamentos empleados como antivirales contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), como la zidovudina **(17)**, el primer retroviral que se comercializó, también pertenecen a la familia de las pirimidinas.¹ El sistema de la benzopirimidina (quinazolina) también se ha utilizado como horma molecular central en el diseño de fármacos para combatir e inhibir la proliferación de células cancerígenas, destacándose entre éstos el gefitinib (Iressa™) **(18)**, el erlotinib (Tarceva™) **(19)** y el tandutinib (MLN518) **(20)**, **(Figura 4)**, que se encuentra en la segunda fase de estudios clínicos.¹⁵

Figura 4. Ejemplos de algunos fármacos que contienen en sus estructuras el anillo de la pirimidina en diferentes combinaciones.



En la figura 5 se muestran las estructuras de otros derivados fusionados de la pirimidina que han encontrado aplicaciones útiles, éstas son: las pteridinas **(21)**, utilizadas como diuréticos,¹⁶ las pirroloquinazolininas **(22)**, que resultaron activas contra *Plasmodium falciparum*,¹⁷ las piridopirimidinas **(23)**, una clase de inhibidores de la adenosina quinasa y, por lo tanto, potencialmente útiles en el tratamiento del dolor asociado a las inflamaciones,¹⁸ las triazolopirimidinas **(24)**, que actúan como antagonistas de los receptores de adenosina A₃,¹⁹ las pirazolopirimidinas **(25)**, las cuales poseen potente actividad antiproliferativa sobre células tumorales de carcinoma epidérmico humano,²⁰ las furopirimidinas **(26)**, que exhibieron citotoxicidad contra líneas celulares cancerígenas de pulmón,²¹ las pirrolopirimidinas **(27)**, que resultaron ser inhibidores de la angiogénesis tumoral y, por lo tanto, potencialmente útiles en el tratamiento del cáncer,²² y las tetrahidropirimidoazepinas **(28)**, que se caracterizan por su amplio espectro de actividad antitumoral.²³ En esta lista de compuestos destacados también se incluye la nueva quimioteca de híbridos moleculares del tipo indol–pirimidina **(29)**, desarrollada recientemente por Gokhale y colaboradores, cuya importancia biológica radica en la promisoría actividad anticancerígena y antimicrobiana que revelaron,²⁴ así como las hexahidrocicloocta[4,5]tieno[2,3–d]pirimidinas **(30)** y hexahidrocicloocta[4,5]tieno[3,2–e][1,2,4]triazolo[4,3–c]pirimidinas **(31)**, desarrolladas por Kandeel y colaboradores, las cuales también resultaron ser prometedores agentes anticancerígenos.¹⁵

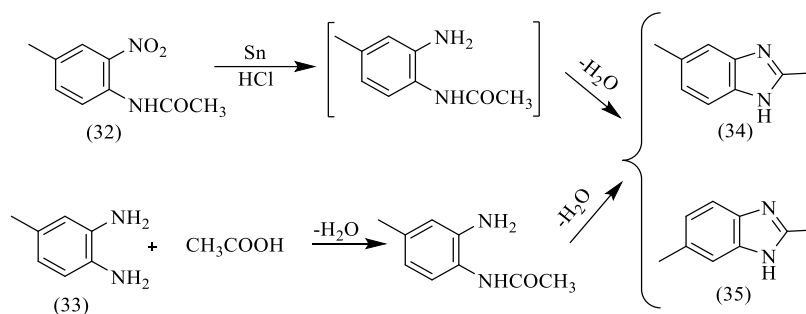
Figura 5. Derivados fusionados de la pirimidina e híbridos moleculares con amplio rango de actividad biológica.



4.3 ASPECTOS SINTÉTICOS Y BIOLÓGICOS DE LOS BENZIMIDAZOLES

La historia de la construcción del núcleo del benzimidazol se remonta a 1872, cuando los regioisómeros 2,5- y 2,6-dimetilbenzimidazol **(34)** y **(35)** fueron preparados, inicialmente, por Hoebrecker mediante la reducción de la 2-nitro-4-metilacetanilida **(32)**, y varios años más tarde por Ladenburg a través de la ciclocondensación del 3,4-diaminotolueno **(33)** con el ácido acético,²⁵ **(Esquema 2)**.

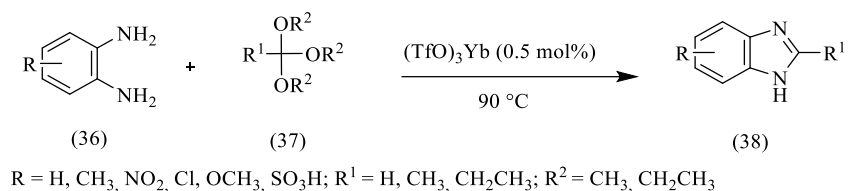
Esquema 2. Rutas sintéticas de Hoebrecker y de Ladenburg para la preparación del 2,5(2,6)-dimetilbenzimidazol.



Sobre la base de estos dos trabajos pioneros, Preston, en el año 1974, reportó algunas de las metodologías que hasta el día de hoy, con algunas modificaciones, se siguen empleando para sintetizar benzimidazoles. En general, estos compuestos se preparan a partir de *o*-arilendiaminas y aldehídos o ácidos carboxílicos o sus derivados (nitrilos, cloruros y *ortoésteres*).²⁶ La preparación de benzimidazoles mediante la ciclocondensación de *o*-arilendiaminas con aldehídos ocurre a través de la formación de las correspondientes bases de Schiff, y, generalmente, se realiza en un medio ácido bajo condiciones oxidativas.^{22,27,28} La otra aproximación sintética consiste en el calentamiento de *o*-fenilendiaminas con ácidos carboxílicos o sus derivados (nitrilos, cloruros y *ortoésteres*) en presencia de ácidos fuertes tales como el ácido polifosfórico y otros ácidos minerales.^{29,30}

A continuación, se presentan algunos ejemplos representativos de síntesis de benzimidazoles usando como sustratos de partida *o*-arilendiaminas y *ortoésteres*. Así, Wang y colaboradores,³¹ en el año 2004, reportaron la síntesis de los benzimidazoles (**38**) mediante la ciclocondensación de los *o*-diaminobencenos (**36**) y los *ortoésteres* (**37**) catalizada con triflato de iterbio [(TfO)₃Yb], (**Esquema 3**).

Esquema 3. Síntesis de Wang de los benzimidazoles (38).



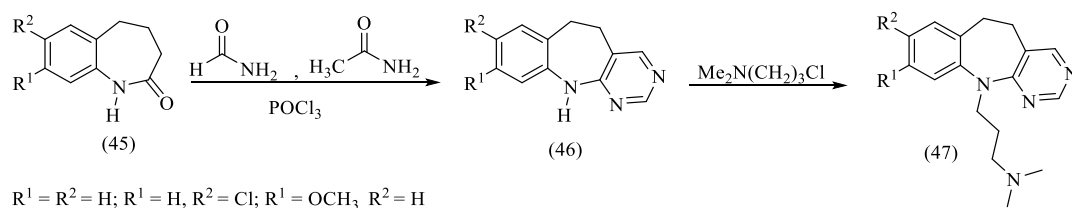
Los mismos benzimidazoles (**38**) fueron preparados por Zhan–Hui y colaboradores, en el 2006, pero empleando el ácido sulfámico como catalizador, y realizando la reacción a temperatura ambiente y en metanol.³²

Las sales de bismuto (III),³³ la 1,3–dibromo–5,5–dimetilhidantoina (DBMDMH),³⁴ y nanopartículas de ZnO³⁵ se cuentan entre los catalizadores que se han empleado para promover la reacción de ciclocondensación oxidativa de *o*–arilendiaminas y *orto*ésteres y/o ácido fórmico. Otras metodologías, pero con alcances más limitados, para preparar derivados del benzimidazol también se han desarrollado y se encuentran descritas en la literatura.^{36–38} Asimismo, vale la pena resaltar el impacto positivo que han tenido aquellas metodologías en las que el anillo de benzimidazol es construido a través de procesos de N–arilación intra– e intermolecular vía la generación de nuevos acoples C–N promovidos por sales cuprosas y/o óxido cuproso, y catalizadores de paladio; en estas síntesis, que generalmente son reacciones multicomponente, las 2–haloanilinas, así como las *o*–haloacetanilidas y las *o*–(haloaril)amidinas son los amino–componentes más usados.^{39–44}

La importancia del núcleo del benzimidazol radica en el hecho de que muchos de sus derivados son agentes terapéuticos, algunos de los cuales se muestran en la figura 6.⁴ De ellos, el carbendazim (**39**) y la bendamustina (**40**) son agentes anticancerígenos que inducen la apoptosis de las células afectadas,^{45,46} el

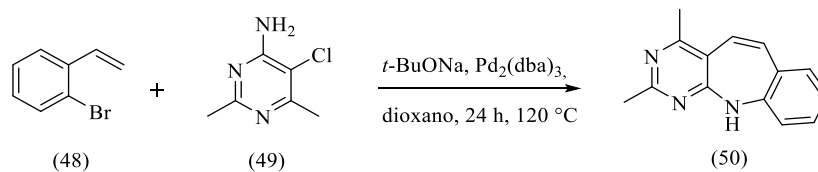
a) Mediante la ciclocondensación de las 1-benzoazepin-2-onas **(45)** con una mezcla de acetamida y formamida en la presencia de cloruro de fosforilo, Kobayashi obtuvo, en los años 70, las 5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **(46)**, las cuales, en un medio fuertemente básico, fueron posteriormente *N*-alquiladas con el cloruro de 3-dimetilaminopropilo para obtener los análogos estructurales de la imipramina **(47)**,^{50,51} (**Esquema 4**).

Esquema 4. Síntesis de Kobayashi de 5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas.



b) La metodología que utilizó Buchwald y Tselikhovsky⁵² para preparar la 2,4-dimetil-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **(50)** consistió en una sustitución nucleofílica aromática, seguido de un acople carbono-carbono de tipo Heck entre el 2-bromoestireno **(48)** y la 4-amino-5-cloro-2,6-dimetilpirimidina **(49)**, en la presencia de *tert*-butóxido de sodio y un complejo de paladio (**Esquema 5**).

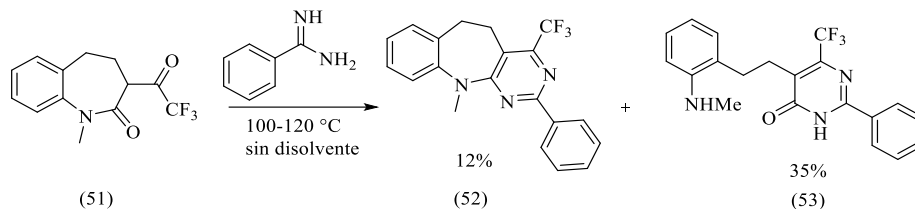
Esquema 5. Síntesis de Buchwald y Tselikhovsky de la 11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **(50)**.



c) En la síntesis desarrollada por Bouillon y colaboradores,⁵³ la 3-trifluoroacetyl-1-benzoazepinona **(51)** se sometió a una ciclocondensación con benzimidina, mezclando los dos productos en ausencia de disolvente y

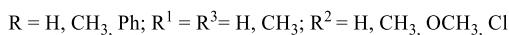
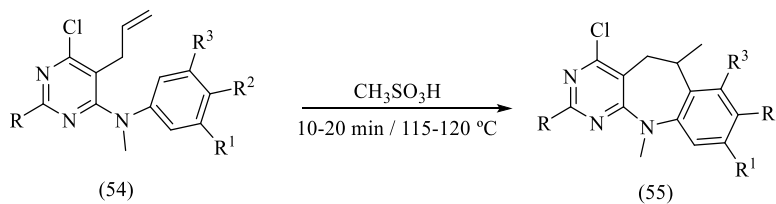
calentándolos entre 100–120 °C. Bajo estas condiciones de reacción, la 5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina esperada **(52)** se aisló como el producto minoritario con un rendimiento del 12%, mientras que el producto mayoritario resultó ser la pirimidin-4-ona **(53)** (**Esquema 6**).

Esquema 6. Síntesis de Bouillon de la 11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **(52)**.



d) La síntesis desarrollada por Palma y colaboradores⁵⁴ se basó en la reactividad de 4,6-dicloro-5-alilpirimidinas, compuestos que se preparan con facilidad y que fácilmente se pueden someter a reacciones de aminólisis con anilinas para obtener las 5-alil-6-cloro-4-(arilmetilamino)pirimidinas **(54)**, las cuales en las condiciones de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts promovida por ácidos de Brønsted (metanosulfónico, trifluorometanosulfónico, APTS, sulfúrico, etc.), producen las correspondientes dihidrobenzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **(55)** con excelentes rendimientos.

Esquema 7. Síntesis de Palma de las dihidrobenzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **(55)**.

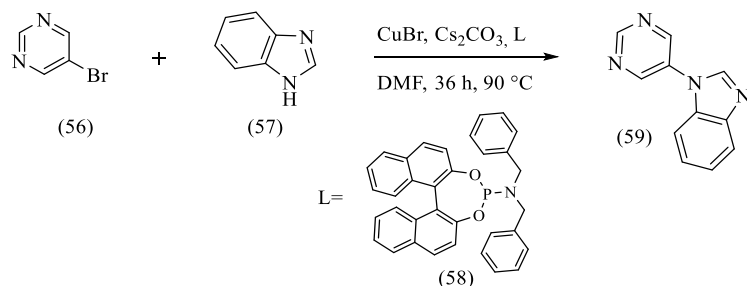


Comparada con las metodologías a–c, la d ofrece mayores ventajas en cuanto a su sencillez, grado de funcionalización de los anillos de pirimidina y de benceno, accesibilidad de los productos de partida, y, especialmente, rendimientos de los productos finales.

4.5 EJEMPLOS DE SÍNTESIS DE HÍBRIDOS MOLECULARES DEL TIPO BENZIMIDAZOL–PIRIMIDINA

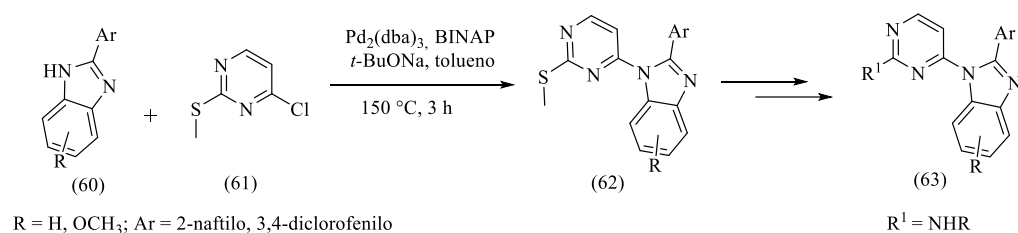
Durante mucho tiempo los químicos orgánicos han centrado sus esfuerzos en el desarrollo de nuevos sistemas heterocíclicos a partir de los ya existentes, con el propósito de descubrir nuevos compuestos biológicamente activos. Este arduo trabajo se puede ver reflejado, por ejemplo, en la creación de diferentes híbridos del tipo benzimidazol–pirimidina. Así, Zhang y colaboradores,⁵⁵ mediante la aminólisis de la 5–bromopirimidina (**56**) con el benzimidazol (**57**) en la presencia de Cs₂CO₃, CuBr y el ligando de fosforamido (**58**), prepararon el 1–(pirimidin–5–il)–1*H*–benzo[*d*]imidazol (**59**), (**Esquema 8**).

Esquema 8. Síntesis de Zhang del 1–(pirimidin–5–il)–1*H*–benzo[*d*]imidazol (**59**)



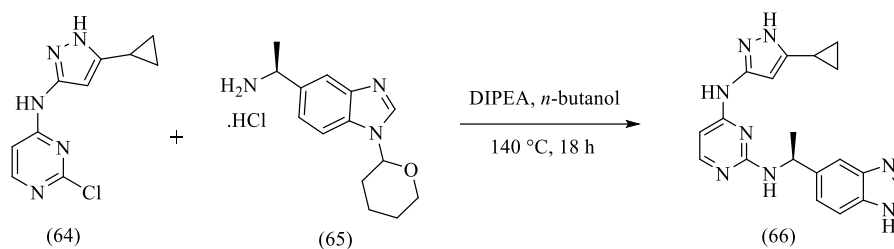
Compuestos del tipo **(59)** también fueron sintetizados por Siddle y colaboradores,⁵⁶ pero utilizando el ligando de Chxn-py-al y la 1,10-fenantrolina como catalizador de la reacción de aminólisis. En el esquema 9 se presenta la síntesis de Kim y colaboradores⁵⁷ de los 1-(2-(metiltio)pirimidin-4-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazoles **(62)**, de los cuales, por remoción del grupo metiltio con aminas primarias, los autores prepararon la nueva batería de 4-(2-aryl-1*H*-benzimidazol-1-il)pirimidin-2-aminas **(63)**; en este caso, la reacción de aminólisis de los benzimidazoles de partida **(60)** con la 4-cloro-2-(metiltio)pirimidina **(61)** fue promovida con *t*-BuONa en la presencia del sistema catalítico Pd₂(dba)₃/BINAP.

Esquema 9. Síntesis de Kim de la serie de 4-(2-aryl-1*H*-benzimidazol-1-il)pirimidin-2-aminas **(63)**



Usando la reacción de aminólisis como protocolo de síntesis, recientemente, Crawford y colaboradores,⁵⁸ a partir de la 2-cloro-*N*-(5-ciclopropil-1*H*-pirazol-3-il)pirimidin-4-amina **(64)** y el hidrocloreto de (1*S*)-1-(1-(tetrahydro-2*H*-piran-2-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-il)etanamina **(65)**, obtuvieron la *N*²-[(1*S*)-1-(1*H*-benzimidazol-5-il)etil]-*N*⁴-(5-ciclopropil-1*H*-pirazol-3-il)pirimidina-2,4-diamina **(66)**, **(Esquema 10)**.

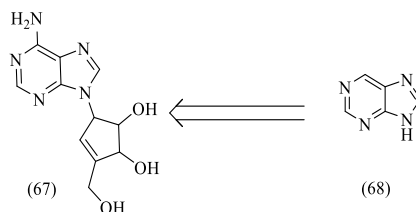
Esquema 10. Síntesis de Crawford del derivado de la *N*⁴-(5-ciclopropil-1*H*-pirazol-3-il)pirimidina-2,4-diamina (**66**).



4.6 IMPORTANCIA BIOLÓGICA DE COMPUESTOS QUE CONTIENEN EN SUS ESTRUCTURAS LOS NÚCLEOS DEL BENZIMIDAZOL Y LA PIRIMIDINA EN DIFERENTES COMBINACIONES

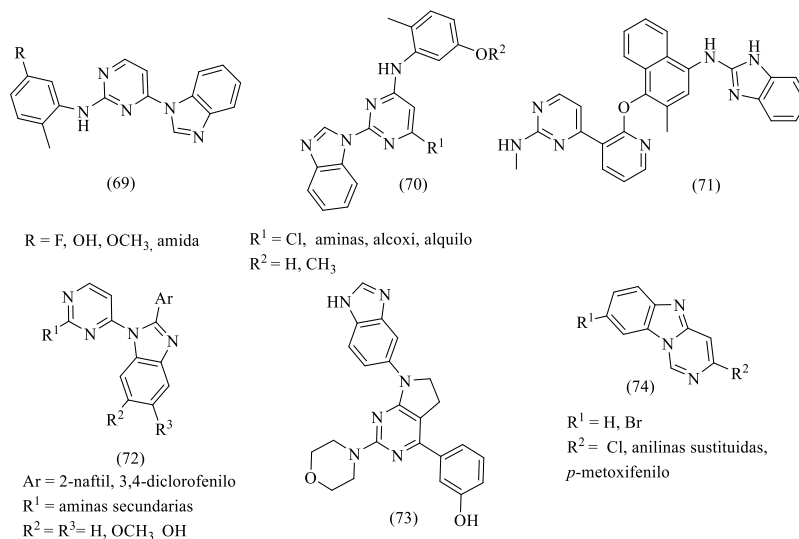
La búsqueda permanente y dirigida de tratamientos más efectivos para la mayor cantidad posible de las enfermedades existentes, mediante el descubrimiento de nuevas moléculas biológicamente activas de procedencia natural o diseñadas en laboratorios, ha sido la mayor fuente de inspiración de muchos científicos. Ejemplo de esa búsqueda sistemática es el caso del neplanocin A (**67**), un inhibidor del enzima hidrolasa S-adenosilhomocisteina, que es capaz de inducir efectos anti-cáncer potentes en células del cáncer de mama;⁵⁹ esta molécula pequeña fue diseñada y desarrollada a partir de la purina (**68**), (**Figura 7**).

Figura 7. Estructura del neplanocin A (**67**)



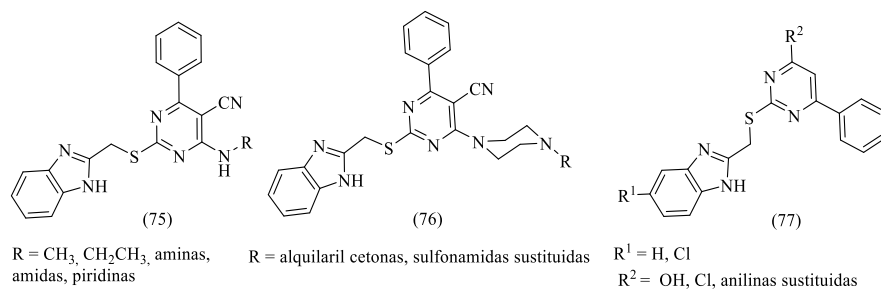
En la figura 8 se reproducen las estructuras de algunos compuestos que contienen los núcleos de la pirimidina y del benzimidazol en diferentes combinaciones y que fueron desarrollados como inhibidores de proteínas enzimáticas. Así, las 4-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-*N*-(2,5-disustituidofenil)pirimidin-2-aminas **(69)** y **(70)** actúan como inhibidores de la proliferación de los linfocitos T (células encargadas de la respuesta inmune en el organismo);⁶⁰ la *N*-(3-metil-4-((3-(2-(metilamino)pirimidin-4-il)piridin-2-il)oxi)naftalen-1-il)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-amina **(71)** inhibe proteínas de tipo quinasas,⁶¹ como las tirosina quinasas que ayudan a aumentar la cantidad de vasos sanguíneos en los tejidos afectados por tumores; las *N*-alquil-4-(2-aryl-1*H*-benzimidazol-1-il)pirimidin-2-aminas **(72)** actúan sobre proteínas que están relacionadas con desórdenes del sistema nervioso central,⁵⁷ mientras que los compuestos **(73)** y **(74)** interactúan con la fosfoinositol 3-quinasa y la quinasa de linfoma anaplásico, respectivamente, disminuyendo su actividad enzimática y provocando la muerte de células cancerígenas.^{62,63}

Figura 8. Inhibidores de proteínas enzimáticas que contienen en sus estructuras los núcleos del benzimidazol y la pirimidina.



Continuando con el tema del cáncer, no sobra recordar que esta enfermedad es una de las causas principales de muerte en todo el mundo. Esta afirmación está refrendada con los más de 8.7 millones de muertes registradas en el 2012, a pesar del progreso muy significativo que la lucha quimioterapéutica contra el cáncer ha tenido en los últimos veinte años.⁶⁴ Algunos híbridos de benzimidazol–pirimidina, como los que aparecen en la figura 9, resultaron ser promisorios agentes anticancerígenos: los 2-((1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)metiltio)-4-(sustituido)-6-fenilpirimidina-5-carbonitrilos (**75**) y (**76**) presentaron potente actividad contra 12 líneas celulares de diferentes tipos de cáncer, entre ellos, el cáncer de carcinoma cervical, carcinoma ovárico, sistema nervioso central, pulmón, colon adenocarcinoma, leucemia, melanoma y neuroblastoma;⁶⁵ los híbridos (**77**), por su parte, fueron muy activos frente a 3 tipos de cáncer del sistema digestivo y el de mama.⁷

Figura 9. Compuestos con potente actividad anticancerígena que contienen en sus estructuras los núcleos del benzimidazol y la pirimidina.



5 HIPÓTESIS

La hipótesis de trabajo consiste en demostrar que la 5-alil-4,6-dicloropirimidina es verdaderamente un precursor idóneo, que las rutas de síntesis son completamente viables y que su implementación conducirá a las dianas de interés de la presente investigación: los nuevos híbridos moleculares del tipo 6,11-dimetil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido-[5,4-*f*]azepina, las *N,N*,6,11-tetrametil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepin-4-aminas, y las 4-butoxi-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas.

6 PARTE EXPERIMENTAL

Los reactivos empleados en las diferentes reacciones que se realizaron fueron de grado para síntesis, de las marcas Merck, Aldrich y Alfa Aesar. Los disolventes utilizados en las reacciones y en las purificaciones por cromatografía en columna de los productos intermedios y finales fueron de las marcas Merck, Mallinckrodt y J. T. Baker.

El control del avance de las reacciones fue realizado mediante cromatografía de capa fina (CCF), empleando cromatofolios Merck AL TLC de gel de sílice 60 F₂₅₄, que se visualizaron en una cámara UV-VIS SPECTROLINE MODEL ENF-260C a las longitudes de onda de 366 y 254 nm y/o se revelaron en una cámara de vapores yodo, o en una solución etanólica de ácido fosfomolibdico. Todos los compuestos (intermedios y finales) fueron purificados mediante cromatografía en columna, empleando gel de sílice (70-230 y 230-400 Mesh) como fase estacionaria, y mezclas de heptano/acetato de etilo y/o heptano/acetato de etilo/etanol como eluente. Los extractos orgánicos fueron concentrados en un rotaevaporador BUCHI R-200 acoplado a un sistema de vacío BUCHI V-700.

Los puntos de fusión (no corregidos) de las sustancias sólidas se determinaron en un fusiómetro MEL TEMP 1201D; el valor reportado corresponde al promedio de tres determinaciones consecutivas.

Los espectros de infrarrojo se tomaron en un espectrofotómetro BRUKER TENSOR 27 sobre un módulo de diamante ATR. Las bandas de IR se reportan de la siguiente manera: vw, intensidad muy baja (0–20%); w, intensidad baja (21–40%); m, intensidad media (41–60%); s, intensidad fuerte (61–80%); vs, intensidad muy fuerte (81–100%).

Los espectros de masas se tomaron en cuatro equipos diferentes. Dos equipos de baja resolución: un detector selectivo de masas HP 5972 (70 eV) acoplado con un cromatógrafo de gases HP 5890 A Serie II, perteneciente al Laboratorio de Cromatografía de la UIS, un equipo Bruker AmazonX acoplado a un detector de trampa iónica de masas selectiva de baja resolución (ESI–MS), ubicado en el Laboratorio de Espectrometría de Masas de la UIS. Los espectros de masas de alta resolución se tomaron en un espectrómetro de masas QTOF Agilent modelo 6520B acoplado a un HPLC Agilent–1200, equipado con una columna Agilent Zorbax extend C18 (2.1 mm x 50 mm x 1,8 µm) PN 727700–902 , usando el siguiente método de HPLC: flujo 0.4 mL/min, elución en gradiente 0–5 min desde acetonitrilo/agua 10% (0.1% ácido fórmico) a acetonitrilo 100% (0.1% ácido fórmico), más 2 min adicionales a esta concentración; el método de ionización es ESI positivo, software de Adquisición: 6200 series TOF/6500 serie, Version: Q–TOF B.05.01 (B5125.3), y/o un equipo Water Micromass AutoSpec–Ultima, con ionización por impacto de electrones, inserción directa de la muestra en la cámara de ionización y sector magnético como analizador; estos dos últimos equipos pertenecen al Centro de Instrumentación Científico–Técnica (CICT) de la Universidad de Jaén (UJA), España.

Los espectros de resonancia magnética nuclear unidimensional ^1H y ^{13}C , y bidimensionales de correlación homonuclear (COSY ^1H – ^1H y NOESY) y

heteronuclear (HMBC, HSQC) fueron registrados en un espectrómetro BRUKER AVANCE III-400, empleando cloroformo deuterado (CDCl_3) o dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$) como disolventes, y utilizando las señales residuales de estos disolventes como patrones internos. Los desplazamientos químicos (δ) de los protones y carbonos se reportan en partes por millón (ppm), mientras que las constantes de acoplamiento (J) se reportan en hertzios. Las multiplicidades de los protones y carbonos (sólo en el caso de los fluoroderivados) se reportan de la siguiente manera: q = cuartete, t = triplete, d = doblete, s = singulete, a = ancho, y m = multiplete.

6.1 PREPARACIÓN DE LA 5-ALIL-4,6-DICLOROPIRIMIDINA 1

Metodología

6.1.1 Etapa 1: Preparación de la 5-alil-4,6-dihidroxipirimidina⁶⁶

En un balón de fondo redondo de 1.0 L enfriado sobre un baño de hielo y con flujo constante de argón, se adicionó metanol seco (600 mL). Seguidamente, en pequeñas porciones y lentamente, se agregó sodio (16.57 g, 0.72 moles). La suspensión se agitó a 0 °C hasta que todo el sodio se consumió y la solución se tornó homogénea; luego, se adicionó lentamente el acetato de formamidina (25 g, 0.24 moles), y la mezcla resultante se agitó por otros 15 minutos. A continuación, se agregó, gota a gota, el 2-alilmalonato de dietilo (42.78 g, 0.21 moles, 42.2 mL) disuelto en metanol (26 mL), tras lo cual la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente por 72 horas. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se concentró para eliminar una buena cantidad de metanol y, luego, se

acidificó con ácido clorhídrico concentrado (60 mL). El sólido blanco que precipitó fue filtrado, lavado con abundante agua y etanol y, posteriormente, secado en la estufa a 100 °C durante 8 días. Finalmente, el producto se suspendió en 150 mL de acetato de etilo, se filtró y nuevamente se secó en la estufa a 100 °C. Empleando estas condiciones de reacción, se obtuvieron 20.35 g (13.37 mmoles, 63%) del producto esperado, el cual se utilizó sin ninguna purificación adicional en la siguiente etapa de la síntesis programada; tampoco se caracterizó por ninguna técnica espectroscópica.

6.1.2 Etapa 2. Desoxiclорación de la 5–alil–4,6–dihidroxipirimidina⁶⁷

En un balón de fondo redondo de 250 mL de capacidad conectado a un refrigerante, se adicionaron 7.05 g (46.33 mmoles) de la 5–alil–4,6–dihidroxipirimidina y 75 mL (123.75 g, 0.81 moles) de cloruro de fosforilo. La mezcla de reacción se calentó a reflujo y con agitación constante durante 6 horas. Después de enfriar la masa de reacción hasta la temperatura del ambiente, ésta fue vertida, muy lentamente y en pequeñas porciones, sobre hielo finamente picado y con agitación, después de lo cual se extrajo con diclorometano (2 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de bicarbonato de sodio, y luego se secaron sobre sulfato de sodio anhidro en un erlenmeyer. El extracto orgánico se filtró a través de una columna con sílica gel, y después de que fue eliminado el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 7.31 g (38.66 mmoles, 84%) de **1**, C₇H₆Cl₂N₂ (189.04 g/mol), como un aceite amarillo de baja viscosidad. Las características físicas y espectroscópicas de **1** coinciden con las reportadas en la literatura,⁶⁷ razón por la cual se omiten en este manuscrito.

6.2 PREPARACIÓN DE LA N¹-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-4-METILBENCENO-1,2-DIAMINA **2**

Metodología

En un tubo de un sintetizador en paralelo se disolvió la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1** (1.0 g, 5.29 mmoles) en etanol (5 mL), y sobre esta solución se agregó la 4-metilbenceno-1,2-diamina (0.78 g, 6.35 mmol) y la DIPEA (1.11 mL, 0.82 g, 6.35 mmoles). La mezcla de reacción se purgó con nitrógeno, el tubo se selló a presión autógena y se calentó a 110 °C durante 40 horas (control por CCF), tras las cuales se enfrió hasta la temperatura del ambiente. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo orgánico que quedó se purificó por cromatografía en columna, usando como eluente una mezcla isocrática de heptano/acetato de etilo (57:43). Bajo estas condiciones de reacción, se obtuvieron 1.15 g (4.18 mmoles, 79%) de **2**, C₁₄H₁₅ClN₄ (274.75 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 162–163 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.43 (heptano/acetato de etilo 57:43). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 3374 [(N–H), w], 3279 [(N–H, NH₂), ov, w], 1633 [(C=C)_{alilo}, w], 1550 [(C=N)_{conj. cíclica}, vs], 1470 [(C–H)_{deform. asim.}, s], 1407 [(C–H)_{deform. sim.}, m], 1229 [(C–N), m], 1033 [(C–Cl), m], 923 [(C–H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.34 (s, 1 H, 2'–H), 7.05 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H, 6–H), 6.65 (s, 1 H, 3–H), 6.63 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1 H, 5–H), 6.36 (sa, 1 H, 1–NH–), 5.95 (ddt, *J* = 17.2, 10.2, 6.4 Hz, 1 H, –CH=), 5.29 (dq, *J* = 10.2, 1.4 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 5.24 (dq, *J* = 17.2, 1.4 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.64 (sa, 2 H, 2–NH₂), 3.58 (dt, *J* = 6.4, 1.4 Hz, 2 H, –CH₂–), 2.27 (s, 3 H, 4–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 161.0 (4'–C), 158.8 (6'–C), 156.6 (2'–C), 141.7 (2–C), 137.9 (4–C), 132.4 (–CH=), 126.6 (6–C), 121.8 (1–C), 120.3 (5–C), 118.0 (3–C), 117.9 (=CH₂), 112.5 (5'–C), 31.6 (–CH₂–), 21.2 (4–CH₃) ppm. **GC–MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 274 (M⁺, ³⁵Cl, 82), 259 (100), 210 (47), 107 (45), 77 (45). **HRMS (Q–TOF–ESI):** *m/z* calculado para C₁₄H₁₅ClN₄ [M + H]⁺: 275.1058, encontrado: 275.1059.

6.3 PREPARACIÓN DE LOS 1-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-5-METIL-1H-BENZO[d]IMIDAZOLES **3a,b**

Metodología general

En un balón de fondo redondo de 100 mL de capacidad conectado a un refrigerante provisto con trampa de humedad, se disolvió la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2** (1 g, 3.64 mmoles) en metanol (25 mL). A esta solución se adicionó el respectivo ortoéster en exceso (ortoformiato de trimetilo y/o ortoacetato de trimetilo) (36.40 mmoles) y cantidades catalíticas de APTS.H₂O (10% mol, 0.37 mmoles). La mezcla de reacción en agitación permanente, se calentó a reflujo durante 36–48 horas (control por CCF). Después de enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura del ambiente, ésta se vertió muy lentamente sobre una solución saturada de NaHCO₃ (aproximadamente 60 mL), y se extrajo con acetato de etilo (3 x 60 mL). A continuación, las fases orgánicas se recogieron sobre sulfato de sodio anhidro en un erlenmeyer. El disolvente se eliminó a presión reducida, y el crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, usando como eluente mezclas de heptano/acetato de etilo con aumento gradual del gradiente de la polaridad (75:25 hasta 50:50).

6.3.1 **1-(5-Alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazol **3a****. De 0.73 g (2.66 mmoles) de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2**, 2.9 mL (2.82 g, 26.57 mmoles) de ortoformiato de trimetilo, 51 mg (0.27 mmoles) de APTS.H₂O, y después de 36 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.66 g (2.33 mmoles, 88%) de **3a**, C₁₅H₁₃ClN₄ (284.75 g/mol) como un aceite amarillo de baja viscosidad. *R*_f = 0.30 (heptano/acetato de etilo 75:25). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1638 [(C=C)_{alilo}, vw], 1588 [(C=N)_{conj. cíclica}, vs], 1435 [(C-H)_{deform. asim.},

vs], 1384 [(C–H)_{deform. sim.}, m], 1035 [(C–Cl), m], 931 [(=C–H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ= 8.93 (s, 1 H, 2'–H), 8.25 (s, 1 H, 2–H), 7.64 (sa, 1 H, 4–H), 7.60 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 7–H), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 6–H), 6.02 (ddt, *J* = 17.2, 10.3, 5.2 Hz, 1 H, –CH=), 5.28 (da, *J* = 10.3 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.96 (da, *J* = 17.2 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.59 (da, *J* = 5.2 Hz, 2 H, –CH₂–), 2.50 (s, 3 H, 5–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 164.9 (6'–C), 156.7 (2'–C, 4'–C), 144.0 (3a–C), 141.6 (2–C), 134.0 (5–C), 132.5 (–CH=), 130.8 (7a–C), 126.2 (6–C), 124.2 (5–C), 120.5 (4–C), 118.5 (=CH₂), 112.2 (7–C), 32.7 (–CH₂–), 21.5 (5–CH₃) ppm. **GC–MS (EI, 70 eV): *m/z* (%)** = 284 (M⁺, ³⁵Cl, 100), 283 (71), 269 (85), 249 (18), 131 (18), 116 (9), 77 (18), 63 (18). **HRMS (Q–TOF–ESI): *m/z*** calculado para C₁₅H₁₃ClN₄ [M + H]⁺: 285.0902, encontrado: 285.0900.

6.3.2 1–(5–Alil–6–cloropirimidin–4–il)–2,5–dimetil–1*H*–benzo[*d*]imidazol **3b**.

De 0.42 g (1.53 mmoles) de la *N*¹–(5–alil–6–cloropirimidin–4–il)–4–metilbenceno–1,2–diamina **2**, 1.95 mL (1.84 g, 15.29 mmoles) de ortoacetato de trimetilo, 0.03 g (0.15 mmoles) de APTS.H₂O, y después de 48 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.36 g (1.21 mmoles, 79%) de **3b**, C₁₆H₁₅ClN₄ (298.77 g/mol), como un aceite amarillo viscoso. *R_f* = 0.20 (heptano/ acetato de etilo 75:25). **IR (ATR): $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹)** = 1639 [(C=C)_{alilo}, vw], 1525 [(C=N)_{conj. cíclica}, vs], 1435 [(C–H)_{deform. asim.}, vs], 1376 [(C–H)_{deform. sim.}, m], 1038 [(C–Cl), m], 930 [(=C–H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.96 (s, 1 H, 2'–H), 7.54 (s, 1 H, 4–H), 7.06 (dd, *J* = 8.2, 0.9 Hz, 1 H, 6–H), 6.81 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H, 7–H), 5.56 (dddd, *J* = 17.0, 10.1, 7.2, 5.6 Hz, 1 H, –CH=), 4.93 (dd, *J* = 10.1, 1.2 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.58 (dd, *J* = 17.0, 1.2 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.50 (ddt, *J* = 15.2, 5.6, 1.5 Hz, 1 H, –CH_AH_B–), 3.28 (dd, *J* = 15.2, 7.2 Hz, 1 H, –CH_AH_B–), 2.47 (s, 3 H, 5–CH₃), 2.44 (s, 3 H, 2–CH₃). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ= 164.1 (6'–C), 157.1 (2'–C), 156.9 (4'–C), 151.0 (2–C), 143.0 (3a–C), 133.0 (5–C), 132.5 (7a–C), 131.0 (–CH=), 130.0 (5'–C), 124.7 (6–C), 119.7 (4–C), 118.4 (=CH₂), 109.1 (7–C), 32.1 (–CH₂–), 21.5 (5–CH₃), 14.6 (2–CH₃). **GC–MS (EI,**

70 eV): m/z (%) = 298 (M^+ , ^{35}Cl , 100), 297 (88), 283 (82), 258 (32), 145 (14), 132 (5), 77 (18), 63 (14). HRMS (Q-TOF-ESI): m/z calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClN}_4$ [$M + \text{H}$] $^+$: 299.1058, encontrado: 299.1057

6.4 SÍNTESIS DE LAS 5-ALIL-4-(ARILMETILAMINO)-6-(1H-BENZO[d]IMIDAZOL-1-IL)PIRIMIDINAS 5a-h

Metodología general

En sendos tubos de un sintetizador en paralelo se disolvieron los benzimidazoles de partida 3a,b (1.0 mmol) en etanol (5 mL). Seguidamente, a cada una de las anteriores soluciones etanólicas se adicionó la DIPEA (1.0 mmol) y la respectiva *N*-metilanilina 4a-d (3-4 mmoles), preparadas previamente según la metodología descrita por Barluenga.⁶⁸ Cada una de las mezclas de reacción debidamente sellada y en agitación constante, se calentó a 100 °C durante 29-175 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura del ambiente, el disolvente se eliminó a presión reducida, y el residuo orgánico remanente se purificó por cromatografía en columna, usando como eluente mezclas de heptano/acetato de etilo con incremento gradual del gradiente de la polaridad (83:17, 50:50, 33:67).

6.4.1 5-Alil-4-(fenilmetilamino)-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)pirimidina 5a. De 0.36 g (1.25 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazol 3a, 0.21 mL (0.16 g, 1.25 mmoles) de DIPEA, 0.41 mL (0.40 g, 3.74 mmoles) de la *N*-metilanilina 4a, y después de 175 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.39 g (2.13 mmoles, 87%) de 5a, $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_5$ (355.44 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 189-190 °C (heptano/acetato de etilo). $R_f = 0.45$

(heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}) = 1639 [(C=C)_{alilo}, vw], 1561 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1476 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 1446 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 932 [(=C-H), m)]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.71 (s, 1 H, 2-H), 8.12 (s, 1 H, 2''-H), 7.60 (d, J = 0.6 Hz, 1 H, 4''-H), 7.41–7.45 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.29 (t, J = 7.4 Hz, 1 H, 4'-H), 7.19 (d, J = 7.5 Hz, 2 H, 2'-H, 6'-H), 7.12 (dd, J = 8.2, 0.6 Hz, 1 H, 6''-H), 7.03 (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 7''-H), 5.17–5.26 (m, 1 H, -CH=), 4.65 (dd, J = 10.1, 1.3 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.32 (dd, J = 17.1, 1.3 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.58 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.59 (dt, J = 6.0, 1.4 Hz, 2 H, -CH₂-), 2.47 (s, 3 H, 5''-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 165.3 (4-C), 156.2 (2-C), 154.8 (6-C), 147.0 (1'-C), 144.0 (3a''-C), 142.4 (2''-C), 133.4 (-CH=), 132.9 (5''-C), 131.0 (7a''-C), 129.9 (3'-C, 5'-C), 126.1 (4'-C), 125.4 (6''-C), 124.3 (2'-C, 6'-C), 120.5 (4''-C), 116.2 (=CH₂), 113.5 (5-C), 110.6 (7''-C), 41.8 (-N-CH₃), 31.7 (-CH₂-), 21.5 (5''-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 355 (M⁺, 77), 354 (100), 340 (64), 314 (9), 224 (18), 131 (5), 77 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para C₂₂H₂₁N₅ [M + H]⁺: 356.1870, encontrado: 356.1869.

6.4.2 5-Alil-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-((p-tolil)metilamino) pirimidina 5b. De 0.29 g (1.02 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazol 3a, 0.18 mL (0.13 g, 1.02 mmoles) de DIPEA, 0.52 mL (0.49 g, 4.07 mmoles) de la 4,N-dimetilanilina 4b, y después de 60 horas calentamiento, se obtuvieron 0.29 g (0.77 mmoles, 76%) de 5b, C₂₃H₂₃N₅ (369.47 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 229–230 °C (heptano/acetato de etilo). R_f = 0.46 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}) = 1640 [(C=C)_{alilo}, vw], 1587 [(C=N)_{conj. cíclica}, m], 1442 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 1395 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1363 [(N-CH₃), m], 933 [(=C-H), vw)]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.69 (s, 1 H, 2-H), 8.11 (s, 1 H, 2''-H), 7.60 (s, 1 H, 4''-H), 7.23 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.13 (dd, J = 8.3, 1.0 Hz, 1 H, 6''-H), 7.08 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, 2'-H, 6'-H), 7.04 (d, J = 8.3 Hz, 1 H, 7''-H), 5.23 (ddt, J = 17.1, 10.2, 6.0 Hz, 1 H, -CH=), 4.65 (dd, J = 10.2, 1.4 Hz, 1

H, =CH_{2(H-cis)}), 4.33 (dd, $J = 17.1, 1.5$ Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.55 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.59 (dt, $J = 6.0, 1.4$ Hz, 2 H, -CH₂₋), 2.47 (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.39 (s, 3 H, 4'-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** $\delta = 165.2$ (4-C), 156.1 (2-C), 154.7 (6-C), 144.4 (1'-C), 144.0 (3a''-C), 142.4 (2''-C), 136.1 (4'-C), 133.5 (-CH=), 132.8 (5''-C), 131.1 (7a''-C), 130.4 (3'-C, 5'-C), 125.3 (6''-C), 124.4 (2'-C, 6'-C), 120.5 (4''-C), 116.1 (=CH₂), 113.3 (5-C), 110.7 (7''-C), 41.9 (-N-CH₃), 31.6 (-CH₂₋), 21.5 (5''-CH₃), 21.1 (4'-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 369** (M⁺, 92), 368 (100), 354 (79), 328 (9), 238 (23), 91 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI): m/z calculado para C₂₃H₂₃N₅ [M + H]⁺: 370.2026, encontrado: 370.2025.**

6.4.3 5-Alil-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-((4-metoxifenil

metilamino)pirimidina **5c**. De 0.27 g (0.95 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazol **3a**, 0.16 mL (0.12 g, 0.95 mmoles) de DIPEA, 0.39 g (2.85 mmoles) de la N-metil-4-metoxianilina **4c**, y después de 29 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.30 g (0.78 mmoles, 82%) de **5c**, C₂₃H₂₃N₅O (385.47 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 188–189 °C (heptano/acetato de etilo). $R_f = 0.34$ (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR): $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹) = 1608** [(C=C)_{alilo}, vw], 1563 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1442 [(C-H)_{deform. asim.}, vs], 1402 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1358 [(N-CH₃) s] 1035 [(C-O), m], 931 [(=C-H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.67$** (s, 1 H, 2-H), 8.11 (s, 1 H, 2''-H), 7.60 (s, 1 H, 4''-H), 7.10–7.15 (m, 3 H, 2'-H, 6'-H, 6''-H), 7.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 7''-H), 6.92–6.96 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 5.24 (ddt, $J = 17.1, 10.2, 5.9$ Hz, 1 H, -CH=), 4.67 (dd, $J = 10.2, 1.3$ Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.34 (dd, $J = 17.2, 1.3$ Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.85 (s, 3 H, 4'-OCH₃), 3.52 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.57 (dt, $J = 5.9, 1.4$ Hz, 2 H, -CH₂₋), 2.46 (s, 3 H, 5''-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 165.2$** (4-C), 157.8 (4'-C), 156.1 (2-C), 154.6 (6-C), 144.0 (3a''-C), 142.4 (2''-C), 139.9 (1'-C), 133.5 (-CH=), 132.8 (5''-C), 131.1 (7a''-C), 126.2 (2'-C, 6'-C), 125.3 (6''-C), 120.5 (4''-C), 116.0 (=CH₂), 115.0 (3'-C, 5'-C), 112.7 (5-C), 110.7 (7''-C), 55.6 (4'-OCH₃), 42.3 (-N-CH₃), 31.5 (-CH₂₋), 21.5 (5''-CH₃) ppm.

GC-MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 385 (M^+ , 100), 384 (62), 370 (67), 254 (9), 77 (9).
HRMS (Q-TOF-ESI): m/z calculado para $C_{23}H_{23}N_5O$ [$M + H$] $^+$: 386.1975, encontrado: 386.1974.

6.4.4 5-Alil-6-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-((3,5-dimetilfenil)metilamino)pirimidina **5d.** De 0.44 g (1.54 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol **3a**, 0.26 mL (0.20 g, 1.54 mmoles) de DIPEA, 0.62 g (4.61 mmoles) de la *N*,3,5-trimetilanilina **4d**, y después de 70 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.44 g (1.14 mmoles, 74 %) de **5d**, $C_{24}H_{25}N_5$ (383.50 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 171–172 °C (heptano/acetato de etilo). R_f = 0.47 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 1638 [(C=C)_{alilo}, vw], 1560 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1479 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 955 [(=C-H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.68 (s, 1 H, 2-H), 8.17 (s, 1 H, 2''-H), 7.61 (s, 1 H, 4''-H), 7.09 (dd, J = 8.4, 1.0 Hz, 1 H, 6''-H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 7''-H), 6.90 (s, 1 H, 4'-H), 6.81 (s, 2 H, 2'-H, 6'-H), 5.21 (ddt, J = 17.1, 10.1, 6.1 Hz, 1 H, -CH=), 4.63 (dq, J = 10.1, 1.5 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.27 (dq, J = 17.1, 1.5 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.56 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.58 (dt, J = 6.1, 1.5 Hz, 2 H, -CH₂₋), 2.47 (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.36 (s, 6 H, 3'-CH₃, 5'-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 165.2 (4-C), 156.1 (2-C), 154.4 (6-C), 146.9 (1'-C), 144.1 (3a''-C), 142.3 (2''-C), 139.6 (3'-C, 5'-C), 133.6 (-CH=), 132.8 (5''-C), 131.0 (7a''-C), 127.8 (4'-C), 125.2 (6''-C), 121.9 (2'-C, 6'-C), 120.6 (4''-C), 116.0 (=CH₂), 113.4 (5-C), 110.4 (7''-C), 41.5 (-N-CH₃), 31.9 (-CH₂₋), 21.5 (5''-CH₃), 21.3 (3'-CH₃, 5'-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 383 (M^+ , 93), 382 (100), 368 (77), 354 (5), 252 (22), 131 (5), 77 (18). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para $C_{24}H_{25}N_5$ [$M + H$] $^+$: 384.2183, encontrado: 384.2181.

6.4.5 5-Alil-6-(2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-(fenilmetilamino)pirimidina **5e (como mezcla de atropoisómeros).** De 0.46 g (1.55 mmoles) del 1-

(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol **3b**, 0.27 mL (0.20 g, 1.55 mmoles) de DIPEA, 0.50 mL (0.50 g, 4.65 mmoles) de *N*-metilanilina **4a**, y después de 62 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.51 g (1.38 mmoles, 89%) de **5e**, C₂₃H₂₃N₅ (369.47 g/mol), como un líquido amarillo muy viscoso. *R_f* = 0.32 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1638 [(C=C)_{alilo}, vw], 1559 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1490 [(C-H)_{deform. asim.}, m], 1440 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1355 [(N-CH₃), s], 917 [(=C-H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.76 (s, 1 H, 2-H), 7.47 [6.65] (s, 1 H, 4'-H), 7.39–7.44 [7.39–7.44] (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.22–7.27 [7.22–7.27] (m, 1 H, 4''-H), 7.16–7.21 [7.16–7.21] (m, 2 H, 2'-H, 6'-H), 7.00 [7.04] (dd, *J* = 8.2, 1.0 Hz [dd, *J* = 8.2, 0.9 Hz], 1 H, 6''-H), 6.74 [7.55] (d, *J* = 8.2 Hz [d, *J* = 8.1 Hz], 1H, 7''-H), 5.12–5.22 [5.12–5.22] (m, 1 H, -CH=), 4.63 [4.63] (dd, *J* = 10.1, 1.4 Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.21 [4.21] (dd, *J* = 17.1, 1.4 Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.58 [3.59] (s, 3 H, -N-CH₃), 2.48 [2.49] (s, 3 H, 2''-CH₃), 2.44 [2.41] (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.37–2.39 [2.37–2.39] (m, 2 H, -CH₂-) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 165.2 [165.3] (4-C), 156.4 [156.4] (2-C), 155.4 [155.3] (6-C), 151.4 [150.9] (2''-C), 147.0 [147.1] (1'-C), 142.9 [142.9] (3a''-C), 133.1 [133.1] (-CH=), 132.8 [140.6] (7a''-C), 132.3 [132.7] (5''-C), 129.9 [129.9] (3'-C, 5'-C), 126.2 [126.2] (4'-C), 124.5 [124.5] (2'-C, 6'-C), 124.1 [124.1] (6''-C), 119.3 [118.9] (4''-C), 117.1 [117.1] (5-C), 116.1 [116.2] (=CH₂), 109.2 [109.8] (7''-C), 42.0 [41.9] (-N-CH₃), 31.2 [31.4] (-CH₂-), 21.5 [21.8] (5''-CH₃), 14.7 [14.7] (2''-CH₃) ppm. **t_R** = 39 min. **GC-MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 369 (M⁺, 100), 368 (95), 354 (88), 340 (33), 328 (19), 224 (23), 145 (3), 77 (29); **t_R** = 40 min. **GC-MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 369 (M⁺, 93), 368 (100), 354 (83), 340 (30), 328 (18), 224 (18), 145 (2), 77 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI):** *m/z* calculado para C₂₃H₂₃N₅ [M + H]⁺: 370.2026, encontrado: 370.2025.

6.4.6 5-Alil-6-(2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-((*p*-tolil)

metilamino)pirimidina **5f**. De 0.52 g (1.74 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol **3b**, 0.30 mL (0.23 g, 1.74 mmoles) de

DIPEA, 0.66 mL (0.63 g, 5.21 mmoles) de la 4,*N*-dimetilanilina **4b**, y después de 62 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.53 g (1.37 mmoles, 79%) de **5f**, C₂₄H₂₅N₅ (383.50 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 160–161 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.33 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1640 [(C=C)_{alilo}, vw], 1561 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1476 [(C-H)_{deform. asim.}, m], 1439 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1378 [(N-CH₃), m], 917 [(=C-H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.73 (s, 1 H, 2-H), 7.47 (d, *J* = 0.8 Hz, 1 H, 4''-H), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 2 H, 2'-H, 6'-H), 7.01 (dd, *J* = 8.2, 0.8 Hz, 1 H, 6''-H), 6.75 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H, 7''-H), 5.14–5.24 (m, 1 H, -CH=), 4.63 (dd, *J* = 10.1, 1.4 Hz, 1 H, =CH₂(H-*cis*)), 4.23 (dd, *J* = 17.1, 1.5 Hz, 1 H, =CH₂(H-*trans*)), 3.54 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.48 (s, 3 H, 2''-CH₃), 2.44 (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.37–2.39 (m, 2 H, -CH₂-), 2.36 (s, 3 H, 4'-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 165.1 (4-C), 156.3 (2-C), 155.2 (6-C), 151.4 (2''-C), 144.4 (1'-C), 142.9 (3a''-C), 136.3 (4'-C), 133.2 (-CH=), 132.8 (7a''-C), 132.2 (5''-C), 130.5 (3'-C, 5'-C), 124.5 (2'-C, 6'-C), 124.1 (6''-C), 119.3 (4''-C), 116.8 (5-C), 116.0 (=CH₂), 109.2 (7''-C), 42.1 (-N-CH₃), 31.2 (-CH₂-), 21.5 (5''-CH₃), 21.0 (4'-CH₃), 14.7 (2''-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 383 (M⁺, 100), 382 (90), 368 (91), 354 (27), 342 (18), 145 (5), 91 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI):** *m/z* calculado para C₂₄H₂₅N₅ [M + H]⁺: 384.2183, encontrado: 384.2184.

6.4.7 5-Alil-6-(2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-((4-metoxifenil)metilamino)pirimidina **5g (como mezcla de atropoisómeros).** De 0.48 g (1.60 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-2,5-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol **3b**, 0.28 mL (0.21 g, 1.60 mmoles) de DIPEA, 0.66 g (4.80 mmoles) de *N*-metil-4-metoxianilina **4c**, y después de 62 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.56 g (1.41 mmoles, 88%) de **5g**, C₂₄H₂₅N₅O (399.50 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 161–162 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.25 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1641 [(C=C)_{alilo}, vw], 1566 [(C=N)_{conj. cíclica}, m], 1442 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 1385 [(C-H)_{deform. sim.}, m], 1352 [(N-CH₃) m], 1025 [(C-O) m], 918 [(=C-H),

m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.71 [8.71] (s, 1 H, 2-H), 7.46 [6.64] (s, 1 H, 4''-H), 7.09–7.15 [7.09–7.15] (m, 2 H, 2'-H, 6'-H), 6.99 [7.03] (dd, J = 8.2, 0.7 Hz, 1 H, 6''-H), 6.90–6.95 [6.90–6.95] (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 6.73 [7.55] (d, J = 8.2 Hz, 1 H, 7''-H), 5.14–5.24 [5.14–5.24] (m, 1 H, -CH=), 4.65 [4.65] (dd, J = 10.2, 0.8 Hz, 1 H, =CH₂(H-*cis*)), 4.22–4.27 [4.22–4.27] (m, 1 H, =CH₂(H-*trans*)), 3.82 [3.82] (s, 3 H, 4'-OCH₃), 3.51 [3.52] (s, 3 H, -N-CH₃), 2.47 [2.48] (s, 3 H, 2''-CH₃), 2.43 [2.40] (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.30–2.36 [2.30–2.36] (m, 2 H, -CH₂-) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 165.2 [165.1] (4-C), 157.9 [157.9] (4'-C), 156.3 [156.2] (2-C), 155.1 [155.1] (6-C), 151.4 [150.9] (2''-C), 142.9 [134.9] (3a''-C), 139.9 [140.0] (1'-C), 133.3 [133.3] (-CH=), 132.8 [140.7] (7a''-C), 132.2 [132.6] (5''-C), 126.2 [126.3] (2'-C, 6'-C), 124.1 [124.0] (6''-C), 119.3 [109.8] (4''-C), 116.3 [116.2] (5-C), 115.9 [116.0] (=CH₂), 115.0 [115.0] (3'-C, 5'-C), 109.2 [118.9] (7''-C), 55.6 [55.5] (4'-OCH₃), 42.4 [42.3] (-N-CH₃), 31.0 [31.2] (-CH₂-), 21.5 [21.8] (5''-CH₃), 14.6 [14.6] (2''-CH₃) ppm. **t_R** = 49 min. **GC-MS (EI, 70 eV): m/z (%)** = 399 (M⁺, 100), 398 (51), 384 (75), 370 (14), 254 (14), 207 (48); **t_R** = 51 min. = **GC-MS (EI, 70 eV): m/z (%)** = 399 (M⁺, 100), 398 (55), 384 (76), 370 (13), 254 (19), 207 (88). **HRMS (Q-TOF-ESI): m/z** calculado para C₂₄H₂₅N₅O [M + H]⁺: 400.2132, encontrado: 400.2132.

6.4.8 5-Alil-6-(2,5-dimetil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-((3,5-dimetilfenil)metilamino)pirimidina 5h. De 0.33 g (1.10 mmoles) del 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-2,5-dimetil-1H-benzo[d]imidazol **3b**, 0.19 mL (0.14 g, 1.11 mmoles) de DIPEA, 0.45 g (3.31 mmoles) de la N,3,5-trimetilanilina **4d**, y después de 60 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.36 g (0.91 mmoles, 82%) de **5h**, C₂₅H₂₇N₅ (397.53 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 157–158 °C (heptano/acetato de etilo). R_f = 0.34 (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR): $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹)** = 1639 [(C=C)_{alilo}, vw], 1560 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1439 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1378 [(N-CH₃), m], 915 [(=C-H), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.73 (s, 1 H, 2-H), 7.47 (sa, 1 H, 4''-H), 6.98 (dd, J = 8.2, 1.0 Hz, 1 H, 6''-H), 6.87 (s, 1 H, 4'-H), 6.79 (s, 2 H, 2'-H, 6'-H), 6.72 (d, J =

8.2 Hz, 1 H, 7''-H), 5.16 (dddd, $J = 17.1, 10.1, 7.1, 5.6$ Hz, 1 H, -CH=), 4.60 (dq, $J = 10.1, 1.5$ Hz, 1 H, =CH_{2(H-cis)}), 4.19 (dq, $J = 17.1, 1.5$ Hz, 1 H, =CH_{2(H-trans)}), 3.56 (s, 3 H, -N-CH₃), 2.51 (s, 3 H, 2''-CH₃), 2.37-2.47 (m, 2 H, -CH₂₋), 2.44 (s, 3 H, 5''-CH₃), 2.34 (s, 6 H, 3'-CH₃, 5'-CH₃). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** $\delta = 165.2$ (4-C), 156.3 (2-C), 155.0 (6-C), 151.4 (2''-C), 147.0 (1'-C), 142.9 (3a''-C), 139.7 (3'-C, 5'-C), 133.3 (-CH=), 132.7 (7a''-C), 132.3 (5''-C), 127.8 (4'-C), 124.0 (6''-C), 121.9 (2'-C, 6'-C), 119.4 (4''-C), 117.0 (5-C), 116.0 (=CH₂), 109.2 (7''-C), 41.6 (-N-CH₃), 31.5 (-CH₂₋), 21.5 (5''-CH₃), 21.3 (3'-CH₃, 5'-CH₃), 14.7 (2''-CH₃). **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 397 (M⁺, 97), 396 (100), 382 (98), 368 (18), 252 (18), 145 (9), 77 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para C₂₅H₂₇N₅ [M + H]⁺: 398.2339, encontrado: 398.2336.

6.5 PREPARACIÓN DE LAS 6,11-DIMETIL-4-(1H-BENZO[d]IMIDAZOL-1-IL)-6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS 6a-f

Metodología general

A cada una de las correspondientes 5-alil-6-(1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-(arilmetil-amino)pirimidinas 5a-h (1.0 g), recluidas en matraces de 20 mL de capacidad, se adicionaron 7.0 mL de ácido metanosulfónico al 99.5%. Las mezclas de reacción, en agitación permanente, se calentaron a 140 °C durante 45-60 minutos (control por CCF). Cuando se comprobó que los productos de partida se habían consumido, cada una de las mezclas de reacción se vertió sobre hielo finamente picado, y luego se trataron con una solución saturada de carbonato de sodio hasta alcanzar un pH ≈ 8 . Se extrajo con acetato de etilo (4 X 50 mL); los extractos orgánicos se lavaron nuevamente con suficiente agua, y luego se secaron sobre sulfato de sodio anhidro en un erlenmeyer. El disolvente se eliminó a presión

reducida y, finalmente, los crudos de las reacciones se purificaron por cromatografía en columna, usando como eluente una mezcla isocrática de heptano/acetato de etilo/etanol (59:40:1).

6.5.1 6,11-Dimetil-4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5H-benzo-[b]pirimido[5,4-f]azepina 6a. De 0.14 g (0.40 mmoles) de la 5-alil-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-(fenilmetilamino)pirimidina **5a**, 0.99 mL de ácido metanosulfónico (1.47 g, 15.31 mmoles), y después de 60 minutos de calentamiento, se obtuvieron 0.10 g (0.27 mmoles, 68%) de **6a**, C₂₂H₂₁N₅ (355.45 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 182–183 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.38 (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1563 [(C=N)_{conj.} cíclica, s], 1476 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 1431 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1399 [(N-CH₃), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.64 (s, 1 H, 2-H), 8.04 (s, 1 H, 2'-H), 7.63 (s, 1 H, 4'-H), 7.31–7.35 (m, 1 H, 9-H), 7.26 (d, *J* = 8.3 Hz, 2 H, 10-H, 7'-H), 7.22–7.24 (m, 1 H, 8-H), 7.19 (dd, *J* = 7.8, 1.9 Hz, 1 H, 7-H), 7.12 (dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, 1 H, 6'-H), 3.67 (s, 3 H, 11-CH₃), 3.45–3.54 (m, 1 H, 6-H), 2.75 (dd, *J* = 16.4, 10.4 Hz, 1 H, 5-H_A), 2.63 (dd, *J* = 16.4, 2.0 Hz, 1 H, 5-H_B), 2.48 (s, 3 H, 5'-CH₃), 1.29 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 162.0 (11a-C), 155.2 (2-C), 154.6 (4-C), 144.5 (10a-C), 144.0 (3a'-C), 142.3 (2'-C), 140.7 (6a-C), 132.9 (5'-C), 130.9 (7a'-C), 127.2 (9-C), 125.8 (10-C), 125.5 (6'-C), 124.0 (7-C), 123.2 (8-C), 120.3 (4'-C), 111.6 (7'-C), 110.9 (4a-C), 41.3 (11-CH₃), 40.5 (5-C), 33.2 (6-C), 21.5 (5'-CH₃), 17.9 (6-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 355 (M⁺, 100), 354 (59), 340 (52), 326 (31), 299 (39), 224 (18), 77 (23). **HRMS (Q-TOF-ESI):** *m/z* calculado para C₂₂H₂₁N₅ [M + H]⁺: 356.1870, encontrado: 356.1871

6.5.2 6,8,11-Trimetil-4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina 6b. De 0.20 g (0.55 mmoles) de la 5-alil-6-

(5-metil-1*H*-benzo [*d*]imidazol -1-il)-4-((*p*-tolil)metilamino)-pirimidina **5b**, 1.43 mL (2.11 g, 22.00 mmoles) de ácido metanosulfónico, y después de 60 minutos de calentamiento, se obtuvieron 0.03 g (0.08 mmoles, 14%) de **6b**, C₂₃H₂₃N₅ (369.47 g/mol), como una pasta amarilla. *R_f* = 0.42 (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1562 [(C=N)_{conj.} cíclica, s], 1477 [(C-H)_{deform.} asim., s], 1430 [(C-H)_{deform.} sim., s], 1397 [(N-CH₃), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.62 (s, 1 H, 2-H), 8.03 (s, 1 H, 2'-H), 7.62 (s, 1 H, 4'-H), 7.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 1 H, 7'-H), 7.10–7.16 (m, 3 H, 9-H, 10-H, 6'-H), 6.98 (s, 1 H, 7-H), 3.64 (s, 3 H, 11-CH₃), 3.39–3.48 (m, 1 H, 6-H), 2.72 (dd, *J* = 16.4, 10.3 Hz, 1 H, 5-H_A), 2.61 (dd, *J* = 16.4, 2.0 Hz, 1 H, 5-H_B), 2.48 (s, 3 H, 5'-CH₃), 2.37 (s, 3 H, 8-CH₃), 1.27 (d, *J* = 7.1 Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 162.0 (11a-C), 155.2 (2-C), 154.5 (4-C), 143.9 (3a'-C), 142.3 (2'-C), 141.9 (10a-C), 140.4 (6a-C), 135.5 (8-C), 132.9 (5'-C), 130.9 (7a'-C), 127.7 (9-C), 125.5 (6'-C), 124.6 (7-C), 123.0 (10-C), 120.3 (4'-C), 111.7 (7'-C), 110.8 (4a-C), 41.3 (11-CH₃), 40.6 (5-C), 33.1 (6-C), 21.5 (5'-CH₃), 21.1 (8-CH₃), 17.8 (6-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 369 (M⁺, 100), 368 (52), 354 (48), 340 (23), 313 (25), 207 (28). **HRMS (Q-TOF-ESI):** *m/z* calculado para C₂₃H₂₃N₅ [M + H]⁺: 370.2026, encontrado: 370.2026.

6.5.3 **6,11-Dimetil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-8-metoxi-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina 6c.** De 0.22 g (0.58 mmoles) de la 5-alil-6-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-((4-metoxifenil)metilamino)pirimidina **5c**, 1.56 mL (2.31 g, 24.05 mmoles) de ácido metanosulfónico, y después de 45 minutos de calentamiento, se obtuvieron 0.07 g (0.16 mmoles, 29%) de **6c**, C₂₃H₂₃N₅O (385.47 g/mol), como una pasta amarilla. *R_f* = 0.36 (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1563 [(C=N)_{conj.} cíclica, s], 1479 [(C-H)_{deform.} asim., s], 1435 [(C-H)_{deform.} sim., s], 1399 [(N-CH₃), m], 1216 [(C-O) s]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.61 (s, 1 H, 2-H), 8.04 (s, 1 H, 2'-H), 7.63 (s, 1 H, 4'-H), 7.25 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 7'-H), 7.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H, 10-H), 7.12 (dd, *J* = 7.8, 1.1 Hz, 1 H, 6'-

H), 6.83 (dd, $J = 8.8, 3.1$ Hz, 1 H, 9-H), 6.72 (d, $J = 3.1$ Hz, 1 H, 7-H), 3.84 (s, 3 H, 8-OCH₃), 3.63 (s, 3 H, 11-CH₃), 3.39–3.48 (m, 1 H, 6-H), 2.72 (dd, $J = 16.6, 10.4$ Hz, 1 H, 5-H_A), 2.59 (dd, $J = 16.6, 1.7$ Hz, 1 H, 5-H_B), 2.49 (s, 3 H, 5'-CH₃), 1.26 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** $\delta = 162.1$ (11a-C), 157.4 (8-C), 155.2 (2-C), 154.4 (4-C), 143.9 (3a'-C), 142.3 (2'-C), 142.2 (6a-C), 137.4 (10a-C), 133.0 (5'-C), 130.8 (7a'-C), 125.5 (6'-C), 124.2 (10-C), 120.3 (4'-C), 111.6 (7'-C, 9-C), 110.6 (4a-C), 109.7 (7-C), 55.5 (8-OCH₃), 41.3 (11-CH₃), 40.5 (5-C), 33.1 (6-C), 21.5 (5'-CH₃), 17.8 (6-CH₃). **GC-MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 385** (M⁺, 100), 384 (37), 370 (33), 207 (38). **HRMS (Q-TOF-ESI): m/z calculado para C₂₃H₂₃N₅O [M + H]⁺: 386.1975, encontrado: 386.1975.**

6.5.4 6,11-Dimetil-4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepin-8-ol 6c'. En las anteriores condiciones de reacción también se obtuvieron 0.10 g (0.26 mmoles, 43%) de **6c'**, C₂₂H₂₁N₅O (371.44 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 116–117 °C (heptano/acetato de etilo). $R_f = 0.24$ (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR): $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹) = 2919** [(O-H), ov], 1565 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1478 [(C-H)_{deform. asim.}, s], 1437 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1399 [(N-CH₃), m], 1216 [(O-H)_{libre}, s]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 10.11$** (s, 1 H, 8-OH), 8.61 (s, 1 H, 2-H), 8.09 (s, 1 H, 2'-H), 7.64 (s, 1 H, 4'-H), 7.45 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, 7'-H), 7.19 (dd, $J = 8.3, 0.7$ Hz, 1 H, 6'-H), 7.10 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 10-H), 6.82 (dd, $J = 8.7, 2.7$ Hz, 1 H, 9-H), 6.72 (d, $J = 2.7$ Hz, 1 H, 7-H), 3.62 (s, 3 H, 11-CH₃), 3.32–3.40 (m, 1 H, 6-H), 2.75 (dd, $J = 16.2, 10.5$ Hz, 1 H, 5-H_A), 2.59 (dd, $J = 16.2, 1.2$ Hz, 1 H, 5-H_B), 2.47 (s, 3 H, 5'-CH₃), 1.11 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): $\delta = 162.2$** (11a-C), 155.6 (8-C), 155.2 (2-C), 154.2 (4-C), 142.5 (3a'-C), 142.0 (2'-C), 141.7 (6a-C), 136.0 (10a-C), 133.6 (5'-C), 130.7 (7a'-C), 126.2 (6'-C), 124.6 (10-C), 119.6 (4'-C), 114.3 (9-C), 112.1 (7'-C), 110.3 (4a-C, 7-C), 41.3 (11-CH₃), 40.7 (5-C), 32.9 (6-C), 21.5 (5'-CH₃), 18.0 (6-CH₃) ppm. **ESI-MS: m/z (%) = 370** [M-1]⁻ (7), 355 (40), 343 (45), 249 (100). **HRMS (Q-TOF-**

ESI): m/z calculado para $C_{22}H_{21}N_5O$ $[M + H]^+$: 372.1819, encontrado: 372.1826.

6.5.5 6,7,9,11-Tetrametil-4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina 6d. De 0.28 g (0.72 mmoles) de la 5-alil-4-((3,5-dimetilfenil)metilamino)-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)pirimidina **5d**, 1.95 mL (2.88 g, 29.99 mmoles) de ácido metanosulfónico, y después de 60 minutos de calentamiento, se obtuvieron 0.26 g (0.66 mmoles, 92%) de **6e**, $C_{24}H_{25}N_5$ (383.50 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 193–194 °C (heptano/acetato de etilo). $R_f = 0.49$ (heptano/acetato de etilo 50:50). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 1559 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1476 [(C-H)_{deform. asim}, s], 1442 [(C-H)_{deform. sim.}, s], 1399 [(N-CH₃), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.65 (s, 1 H, 2-H), 8.06 (s, 1 H, 2'-H), 7.63 (s, 1 H, 4'-H), 7.26 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 7'-H), 7.12 (dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1 H, 6'-H), 6.94 (s, 1 H, 10-H), 6.86 (s, 1 H, 8-H), 3.66 (s, 3 H, 11-CH₃), 3.44–3.51 (m, 1 H, 6-H), 3.04 (dd, $J = 16.7, 2.6$ Hz, 1 H, 5-H_A), 2.56 (dd, $J = 16.7, 4.9$ Hz, 1 H, 5-H_B), 2.49 (s, 3 H, 5'-CH₃), 2.32 (s, 3 H, 9-CH₃), 2.27 (s, 3 H, 7-CH₃), 1.23 (d, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 161.5 (11a-C), 155.5 (2-C), 155.5 (4-C), 144.7 (10a-C), 143.9 (3a'-C), 142.3 (2'-C), 136.5 (9-C), 135.9 (6a-C), 134.7 (7-C), 132.9 (5'-C), 131.1 (7a'-C), 128.3 (8-C), 125.4 (6'-C), 123.3 (10-C), 120.3 (4'-C), 111.5 (7'-C), 109.7 (4a-C), 42.2 (11-CH₃), 36.9 (5-C), 31.0 (6-C), 21.5 (5'-CH₃), 21.0 (9-CH₃), 20.2 (7-CH₃), 14.8 (6-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 383 (M^+ , 100), 382 (33), 368 (61), 354 (51), 207 (27). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para $C_{24}H_{25}N_5$ $[M + H]^+$: 384.2183, encontrado: 384.2181

6.5.6 4-(2,5-Dimetil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina 6e (mezcla de atropoisómeros o rotámeros). De 0.24 g (0.64 mmoles) de la 5-alil-6-(2,5-dimetil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-4-

(fenilmetilamino)pirimidina **5e**, 1.65 mL (2.43 g, 25.36 mmoles) de ácido metanosulfónico, y después de 60 minutos de calentamiento, se obtuvieron 0.20 g (0.53 mmoles, 83%) de **6e**, C₂₃H₂₃N₅ (369.47 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 231–232 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.29 (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1561 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1476 [(C–H)_{deform. asim.}, s], 1431 [(C–H)_{deform. sim.}, s], 1352 [(N–CH₃), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.66 [8.69] (s, 1 H, 2–H), 7.50 [7.50] (s, 1 H, 4'–H), 7.30–7.34 [7.30–7.34] (m, 1 H, 9–H), 7.25–7.29 [7.25–7.29] (m, 1 H, 10–H), 7.16–7.21 [7.16–7.21] (m, 1 H, 8–H), 7.10–7.14 [7.10–7.14] (m, 1 H, 7–H), 6.91 (dd, *J* = 8.0, 2.2 Hz, 1 H, 6'–H; [7.01 (dd, *J* = 8.2, 0.7 Hz)], 6.64 [6.91] (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 7'–H), 3.67 [3.68] (s, 3 H, 11–CH₃), 3.47–3.54 [3.33–3.41] (m, 1 H, 6–H), 2.30–2.59 (m, 2 H, 5–H_AH_B), 2.55 [2.37] (s, 1 H, 2'–CH₃), 2.43 [2.46] (s, 3 H, 5'–CH₃), 1.24 [1.24] (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, 6–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 162.1 [161.9] (11a–C), 155.5 [155.7] (2–C), 154.6 [155.2] (4–C), 151.0 [150.6] (2'–C), 144.6 [144.4] (10a–C), 143.1 [143.1] (3a'–C), 140.5 [140.2] (6a–C), 132.4 [132.7] (7a'–C), 132.2 [132.1] (5'–C), 127.1 [127.2] (9–C), 125.7 [125.6] (8–C), 124.2 [124.3] (6'–C), 124.0 [125.2] (7–C), 122.9 [123.3] (10–C), 119.3 [119.2] (4'–C), 114.4 [114.6] (4a–C), 109.5 [109.6] (7'–C), 41.1 [41.4] (11–CH₃), 39.2 [38.2] (5–C), 32.6 [34.1] (6–C), 21.5 [21.6] (5'–CH₃), 18.0 [17.5] (6–CH₃), 14.7 [14.3] (2'–CH₃) ppm. **t_R** = 47 min. **GC–MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 369 (M⁺, 45), 354 (100), 340 (37); **t_R** = 50 min. **GC–MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 369 (M⁺, 52), 354 (100), 340 (27). **HRMS (Q–TOF–ESI):** *m/z* calculado para C₂₃H₂₃N₅ [M + H]⁺: 370.2026, encontrado: 370.2025.

6.5.7 **4–(2,5–Dimetil–1H–benzo[d]imidazol–1–il)–6,7,9,11–tetrametil–6,11–dihidro–5H–benzo[b]pirimido[5,4–f]azepina 6f** (mezcla de atropoisómeros o rotámeros). De 0.31 g (0.77 mmoles) de la 5–alil–6–(2,5–dimetil–1H–benzo[d]imidazol–1–il)–4–(3,5–dimetilfenil)metilamino)pirimidina **5h**, 2.14 mL (3.17 g, 33.07 mmoles) de ácido metanosulfónico, y después de 60 minutos de

calentamiento, se obtuvieron 0.21 g (0.52 mmoles, 68%) de **6f**, C₂₅H₂₇N₅ (397.53 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 163–164 °C (heptano/acetato de etilo). $R_f = 0.46$ (heptano/acetato de etilo 40:60). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1559 [(C=N)_{conj.} cíclica, s], 1475 [(C–H)_{deform.} asim., s], 1436 [(C–H)_{deform.} sim., s], 1380 [(N–CH₃), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.69 [8.72] (s, 1 H, 2–H), 7.51 [7.51] (s, 1 H, 4'–H), 6.95 [6.95] (s, 1 H, 10–H), 6.92–6.94 (m, 1 H, 6'–H; [7.06] (dd, $J = 8.2, 0.7$ Hz)), 6.82 [6.82] (s, 1 H, 8–H), 6.72 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 7'–H; [6.92–6.94] (m)), 3.68 [3.68] (s, 3 H, 11–CH₃), 3.35–3.43 [3.35–3.43] (m, 1 H, 6–H), 2.72 [2.60] (dd, $J = 17.1, 2.3$ [dd, $J = 16.8, 2.4$] Hz, 1 H, 5–H_A), 2.27–2.30 [2.36–2.40] (m, 1 H, 5–H_B), 2.53 [2.33] (s, 1 H, 2'–CH₃), 2.43 [2.48] (s, 3 H, 5'–CH₃), 2.32 [2.30] (s, 3 H, 9–CH₃), 2.21 [2.22] (s, 3 H, 7–CH₃), 1.22 [1.23] (d, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 6–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 161.3 [161.5] (11a–C), 155.8 [156.1] (2–C), 155.5 [155.9] (4–C), 150.9 [150.8] (2'–C), 144.6 [144.5] (10a–C), 143.1 [142.9] (3a'–C), 136.4 [136.4] (9–C), 135.6 [135.6] (6a–C), 134.7 [134.7] (7–C), 132.6 [132.8] (7a'–C), 132.2 [132.4] (5'–C), 128.2 [128.2] (8–C), 124.2 [124.5] (6'–C), 123.3 [123.2] (10–C), 119.3 [119.0] (4'–C), 113.1 [114.4] (4a–C), 109.7 [109.2] (7'–C), 42.4 [42.3] (11–CH₃), 35.8 [34.9] (5–C), 30.8 [30.7] (6–C), 21.5 [21.6] (5'–CH₃), 21.0 [21.0] (9–CH₃), 20.3 [20.3] (7–CH₃), 15.0 [14.7] (6–CH₃), 14.5 [14.1] (2'–CH₃) ppm. **GC–MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 397 (M⁺, 100), 382 (71), 368 (83). **HRMS (Q–TOF–ESI):** m/z calculado para C₂₅H₂₇N₅ [M + H]⁺: 398.2339, encontrado: 398.2338.

6.6 PREPARACIÓN DE LAS 4–(DIMETILAMINO)–6,11–DIMETIL–6,11–DIHIDRO–5H–BENZO[*b*]PIRIMIDO[5,4–*f*]AZEPINAS **8a–c**

Metodología general

En balones de fondo redondo de 25 mL se disolvieron 0.15 g de cada una de las 4–

cloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **7a-c** (previamente preparadas según la metodología establecida en el LSO),⁵⁴ en 5 mL de dimetilformamida. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C, y seguidamente se le adicionaron 10 mL de una solución de hidróxido de potasio 2 M. A continuación, se calentó la masa de reacción a 100 °C por un período de 4 horas (hasta el consumo total del producto de partida, según el control por CCF). Finalizada la reacción, se trató con una solución diluida de HCl hasta llevarla a un pH ≈ 8, y luego se extrajo con acetato de etilo (3X30 mL). El extracto orgánico se lavó con agua (50 mL), y luego se secó sobre sulfato de sodio anhidro en un erlenmeyer. El disolvente se eliminó a presión reducida, y el residuo orgánico que quedó se purificó por cromatografía en columna, usando como eluente una mezcla isocrática de heptano/acetato de etilo (83:17).

6.6.1 **4-(Dimetilamino)-6,8,11-trimetil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido [5,4-*f*]azepina 8a.** De 0.15 g (0.55 mmoles) de la 4-cloro-6,8,11-trimetil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*] azepina **7a**, 5 mL de dimetilformamida (0.06 mmoles), 10 mL (1.12 g, 20 mmoles) de solución de hidróxido de potasio 2 M, y después de 4 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.14 g (0.48 mmoles, 87%) de **8a**, C₁₇H₂₂N₄ (282.39 g/mol), como un sólido amarillo. p.f. 88–89 °C (heptano/acetato de etilo). *R_f* = 0.28 (heptano/acetato de etilo 80:20). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1556 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1338 [(C–N), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.30 (s, 1 H, 2–H), 7.07 (d, *J* = 8.1 Hz, 1 H, 10–H), 7.03 (dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, 1 H, 9–H), 6.99 (sa, 1 H, 7–H), 3.52 (s, 3 H, 11–CH₃), 3.41–3.49 (m, 1 H, 6–H), 2.83 (s, 6 H, 4–N(CH₃)₂), 2.74 (dd, *J* = 15.9, 1.7 Hz, 1 H, 5–H_A), 2.60 (dd, *J* = 15.9, 10.4 Hz, 1 H, 5–H_B), 2.35 (s, 3 H, 8–CH₃), 1.41 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, 6–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 167.3 (4–C), 160.4 (11a–C), 153.3 (2–C), 143.2 (10a–C), 141.8 (6a–C), 134.3 (8–C), 127.1 (9–C), 123.9 (7–C), 122.7 (10–C), 102.4 (4a–C), 42.2 (5–C), 41.5 (4–N(CH₃)₂), 40.7 (11–CH₃), 33.4 (6–C), 21.1 (8–CH₃), 18.3 (6–CH₃)

ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 282 (M^+ , 44), 267 (100), 253 (52), 238 (14).
HRMS (Q-TOF-ESI): m/z calculado para $C_{17}H_{22}N_4$ [$M + H$] $^+$: 283.1917, encontrado: 283.1918.

6.6.2 8-Cloro-4-(dimetilamino)-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **8b.** De 0.15 g (0.51 mmoles) de la 4,8-dicloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **7b**, 5 mL de dimetilformamida (0.06 mmoles), 10 mL (1.12 g, 20 mmoles) de solución de hidróxido de potasio 2 M, y después de 4 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.15 g (0.49, mmoles, 96%) de **8b**, $C_{16}H_{19}ClN_4$ (302.81 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 108–109 °C (heptano/ acetato de etilo). R_f = 0.25 (heptano/acetato de etilo 80:20). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}) = 1554 [(C=N) conj. cíclica, s], 1347 [(C-N), m]. **RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$):** δ = 8.29 (s, 1 H, 2-H), 7.19 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1 H, 9-H), 7.15 (d, J = 2.4 Hz, 1 H, 7-H), 7.09 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 10-H), 3.50 (s, 3 H, 11- CH_3), 3.43–3.50 (m, 1 H, 6-H), 2.84 (s, 6 H, 4- $N(CH_3)_2$), 2.73 (dd, J = 16.0, 1.9 Hz, 1 H, 5- H_A), 2.60 (dd, J = 16.0, 10.6 Hz, 1 H, 5- H_B), 1.41 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, 6- CH_3) ppm. **RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$):** δ = 167.3 (4-C), 160.1 (11a-C), 153.3 (2-C), 144.4 (10a-C), 143.9 (6a-C), 130.0 (8-C), 126.5 (9-C), 124.2 (10-C), 123.5 (7-C), 102.3 (4a-C), 41.8 (5-C), 41.5 (4- $N(CH_3)_2$), 40.7 (11- CH_3), 33.3 (6-C), 18.3 (6- CH_3) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 302 (M^+ , ^{35}Cl , 43), 287 (100), 273 (49), 258 (14). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para $C_{16}H_{19}ClN_4$ [$M + H$] $^+$: 303.1371, encontrado: 303.1372.

6.6.3 4-(Dimetilamino)-6,7,9,11-tetrametil-6,11-dihidro-5H-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **8c.** De 0.15 g (0.52 mmoles) de la 4-cloro-6,7,9,11-tetrametil-6,11-dihidro-5H-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **7c**, 5 mL de dimetilformamida (0.06 mmoles), 10 mL (1.12 g, 20 mmoles) de solución de

hidróxido de potasio 2 M, y después de 4 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.15 g (0.51, mmoles, 97%) de **8c**, C₁₈H₂₄N₄ (296.42 g/mol), como una pasta transparente. $R_f = 0.29$ (heptano/acetato de etilo 80:20). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1553 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1348 [(C-N), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.33 (s, 1 H, 2-H), 6.86 (s, 1 H, 10-H), 6.79 (s, 1 H, 8-H), 3.56–3.60 (m, 1 H, 6-H), 3.53 (s, 3 H, 11-CH₃), 2.84 (s, 6 H, 4-N(CH₃)₂), 2.91 (dd, $J = 16.1, 3.3$ Hz, 1 H, 5-H_A), 2.81 (dd, $J = 16.1, 4.9$ Hz, 1 H, 5-H_B), 2.34 (s, 3 H, 7-CH₃), 2.28 (s, 3 H, 9-CH₃), 1.25 (d, $J = 7.2$ Hz, 3 H, 6-CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 168.2 (4-C), 159.9 (11a-C), 153.5 (2-C), 146.0 (10a-C), 137.1 (6a-C), 135.9 (9-CH₃), 134.2 (7-CH₃), 127.4 (8-C), 123.2 (10-C), 100.8 (4a-C), 41.6 (4-N(CH₃)₂), 41.6 (11-CH₃), 37.8 (5-C), 31.7 (6-C), 20.9 (9-CH₃), 20.2 (7-CH₃), 15.0 (6-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 296 (M⁺, 53), 281 (73), 267 (100), 252 (17). **HRMS (Q-TOF-ESI):** m/z calculado para C₁₈H₂₄N₄ [M + H]⁺: 297.2074, encontrado: 297.2074.

6.7 PREPARACIÓN DE LAS 4-BUTOXI-6,11-DIMETIL-6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS **9a-c**

Metodología general

En balones de 25 mL de capacidad se disolvió cada una de las 4-cloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **7a-c** (1.0 mmol) en *n*-butanol (10 mL). Sobre cada una de estas disoluciones se adicionó carbonato de cesio (2.0 mmoles), y, acto seguido, se calentaron a 130 °C hasta que los productos de partida se consumieron completamente (control por CCF). Las mezclas de reacción se filtraron para eliminar el carbonato de cesio, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Los crudos de la reacción de butanólisis se purificaron por

cromatografía en columna sobre sílica gel, usando como eluente una mezcla isocrática de heptano/acetato de etilo 91:9.

6.7.1 4-Butoxi-6,8,11-trimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina 9a. De 0.15 g (0.55 mmoles) de la 4-cloro-6,8,11-trimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina 7a, 5 mL de *n*-butanol (0.05 mmoles), 0.36 g (1.10 mmoles) de carbonato de cesio, y después de 46 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.11 g (0.34 mmoles, 95%) de 9a, C₁₉H₂₅N₃O (311.43 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 45–46 °C (hexano/acetato de etilo). *R_f* = 0.37 (hexano/acetato de etilo 80:20). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹) = 1571 [(C=N)_{conj. cíclica}, s], 1097 [(C–O), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.29 (s, 1 H, 2–H), 7.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H, 10–H), 7.01 (dd, *J* = 8.4, 1.6 Hz, 1 H, 9–H), 7.00 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H, 7–H), 4.27 (t, *J* = 6.6 Hz, 2 H, 1'–CH₂–), 3.51–3.59 (m, 1 H, 6–H), 3.48 (s, 3 H, 11–CH₃), 2.94 (dd, *J* = 17.2, 2.4 Hz, 1 H, 5–H_A), 2.53 (dd, *J* = 17.2, 10.8 Hz, 1 H, 5–H_B), 2.33 (s, 3 H, 8–CH₃), 1.67–1.74 (m, 2 H, 2'–CH₂–), 1.38–1.48 (m, 2 H, 3'–CH₂–), 1.43 (d, *J* = 7.2 Hz, 3 H, 6–CH₃), 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 3 H, 4'–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 167.6 (4–C), 160.6 (11a–C), 153.4 (2–C), 144.1 (10a–C), 140.5 (6a–C), 134.1 (8–C), 127.1 (9–C), 125.0 (7–C), 121.6 (10–C), 102.2 (4a–C), 66.3 (1'–CH₂–), 39.5 (11–CH₃), 36.4 (5–C), 32.6 (6–C), 31.1 (2'–CH₂–), 21.0 (8–CH₃), 19.3 (3'–CH₂–), 18.6 (6–CH₃), 13.9 (4'–CH₃) ppm. **GC–MS (EI, 70 eV):** *m/z* (%) = 311 (M⁺, 100), 296 (27), 282 (19), 254 (77), 240 (66), 226 (92). **HRMS (EI–MS):** *m/z* calculado para C₁₉H₂₅N₃O: 311.1998, encontrado: 311.1995.

6.7.2 4-Butoxi-8-cloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido [5,4-f]azepina 9b. De 0.15 g (0.51 mmoles) de la 4,8-dicloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f] azepina 7b, 5 mL de *n*-butanol, 0.33 g (1.02 mmoles) de carbonato de cesio, y después de 46 horas de calentamiento, se

obtuvieron 0.17 g (0.50 mmoles, 99%) de **9b**, C₁₈H₂₂ClN₃O (331.15 g/mol), como un sólido blanco. p.f. 69–71 °C (hexano/acetato de etilo). $R_f = 0.31$ (hexano/acetato de etilo 80:20). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1567 [(C=N) conj. cíclica, s], 1100 [(C–O), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.30 (s, 1 H, 2–H), 7.16 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1 H, 9–H), 7.16 (d, $J = 2.4$ Hz, 1 H, 7–H), 7.06 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, 10–H), 4.28 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, 1'–CH₂–), 3.52–3.61 (m, 1 H, 6–H), 3.45 (s, 3 H, 11–CH₃), 2.94 (dd, $J = 17.2, 2.6$ Hz, 1 H, 5–H_A), 2.53 (dd, $J = 17.2, 11.1$ Hz, 1 H, 5–H_B), 1.67–1.74 (m, 2 H, 2'–CH₂–), 1.38–1.47 (m, 2 H, 3'–CH₂–), 1.42 (d, $J = 7.2$ Hz, 3 H, 6–CH₃), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 4'–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 167.7 (4–C), 160.3 (11a–C), 153.5 (2–C), 145.2 (10a–C), 142.6 (6a–C), 129.8 (8–C), 126.5 (9–C), 124.5 (7–C), 123.1 (10–C), 102.3 (4a–C), 66.5 (1'–CH₂–), 39.6 (11–CH₃), 36.0 (5–C), 32.5 (6–C), 31.1 (2'–CH₂–), 19.3 (3'–CH₂–), 18.6 (6–CH₃), 13.9 (4'–CH₃) ppm. **GC–MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 331 (M⁺, ³⁵Cl, 67), 316 (16), 302 (13), 274 (70), 260 (52), 246 (100). **HRMS (EI–MS):** m/z calculado para C₁₈H₂₂ClN₃O: 331.1451, encontrado: 331.1440.

6.7.3 4–Butoxi–6,7,9,11–tetrametil–6,11–dihidro–5H–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina **9c.** De 0.15 g (0.52 mmoles) de la 4–cloro–6,7,9,11–tetrametil–6,11–dihidro–5H–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina **7c**, 5 mL de *n*–butanol, 0.34 g (1.04 mmoles) de carbonato de cesio, y después de 46 horas de calentamiento, se obtuvieron 0.17 g (0.51 mmoles, 98%) de **9c**, C₂₀H₂₇N₃O₂ (325.46 g/mol), como una pasta amarilla. $R_f = 0.16$ (heptano/acetato de etilo 91:9). **IR (ATR):** $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹) = 1564 [(C=N) conj. cíclica, s], [1072 (C–O), m]. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ = 8.32 (s, 1 H, 2–H), 6.85 (s, 1 H, 10–H), 6.77 (s, 1 H, 8–H), 4.29 (td, $J = 6.6, 1.0$ Hz, 2 H, 1'–CH₂–), 3.55–3.63 (m, 1 H, 6–H), 3.52 (s, 3 H, 11–CH₃), 3.02 (dd, $J = 17.2, 4.4$ Hz, 1 H, 5–H_A), 2.75 (dd, $J = 17.2, 3.6$ Hz, 1 H, 5–H_B), 2.33 (s, 3 H, 7–CH₃), 2.26 (s, 3 H, 9–CH₃), 1.68–1.73 (m, 2 H, 2'–CH₂–), 1.42–1.47 (m, 2 H, 3'–CH₂–), 1.37 (d, $J = 7.2$ Hz, 3 H, 6–CH₃), 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 4'–CH₃) ppm. **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ = 168.4 (4–C), 159.7 (11a–C), 153.5 (2–C), 146.4 (10a–C), 135.8 (6a–C, 9–C),

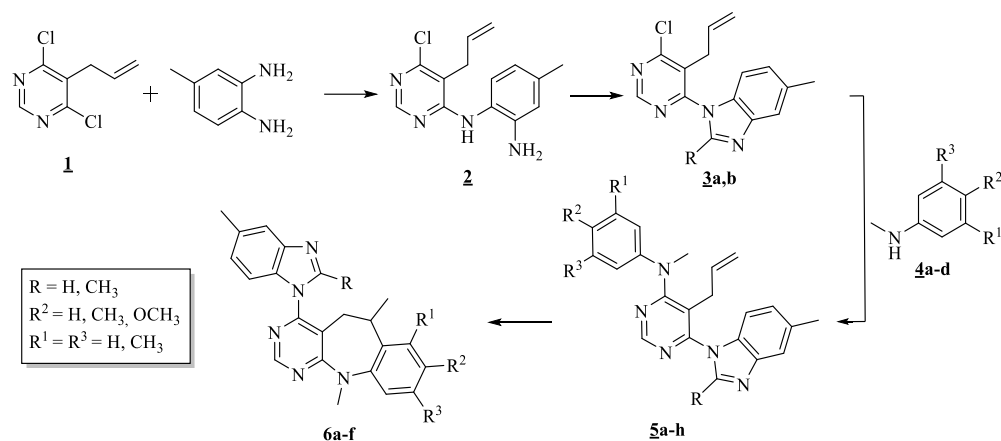
134.7 (7-C), 127.3 (8-C), 122.7 (10-C), 100.8 (4a-C), 66.3 (1'-CH₂-), 40.4 (11-CH₃), 32.9 (5-C), 31.2 (2'-CH₂-), 30.7 (6-C), 20.9 (9-CH₃), 20.4 (7-CH₃), 19.3 (3'-CH₂-), 16.1 (6-CH₃), 13.9 (4'-CH₃) ppm. **GC-MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 325 (M⁺, 100), 310 (39), 296 (26), 268 (67), 254 (52), 240 (64).** **HRMS (EI-MS): *m/z* calculado para C₂₀H₂₇N₃O: 325.2154, encontrado: 325.2155**

7 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

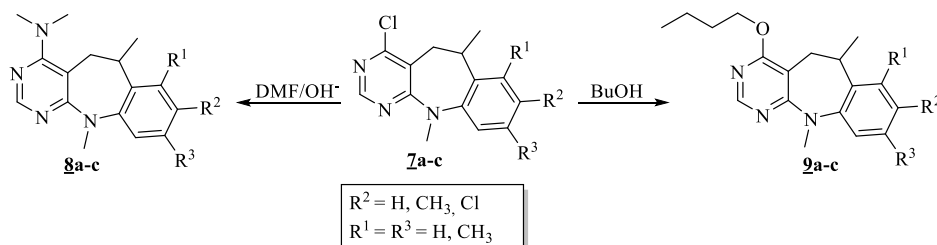
Motivados por el amplio espectro de propiedades farmacológicas que le atribuyen a los derivados de los sistemas heterocíclicos nitrogenados de la dibenzo[*b,f*]azepina, la pirimidina y el benzimidazol, pero, especialmente, a aquellos compuestos en cuyas estructuras estos sistemas heterocíclicos se encuentran fusionados y/o combinados de diferentes maneras, y también con el firme propósito de darle continuidad a la línea de investigación que se está desarrollando actualmente en el LSO, la cual está encaminada hacia el desarrollo de nuevos agentes anticancerígenos derivados de la 5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina,⁵⁴ en el presente Trabajo de Grado se definió como el objetivo principal de estudio la funcionalización de la posición C-4 de este sistema heterocíclico con diferentes grupos de carácter nucleofílico, funcionalización que condujo a la creación de una batería de nuevas moléculas de los tipos **6a-f**, **8a-c** y **9a-c**.

Para llevar a cabo esta tarea, se tomó como marco de referencia la recién descrita metodología desarrollada en el LSO⁵⁴ y otros protocolos reportados en la literatura, que dieron suficiente soporte experimental para el diseño y la posterior puesta en marcha de las secuencias de transformaciones químicas que se presentan en los esquemas 11 y 12, las cuales, en esencia, resumen todo el trabajo de síntesis que se realizó, y cuyos detalles son los que se discutirán en esta sección.

Esquema 11. Desarrollo de los nuevos híbridos moleculares del tipo 6,11-dimetil-4-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **6a-f**.



Esquema 12. Funcionalización de las 4-cloro-6,11-dimetil-5,6-dihidro-11*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **7a-c** a través de la sustitución nucleofílica aromática.

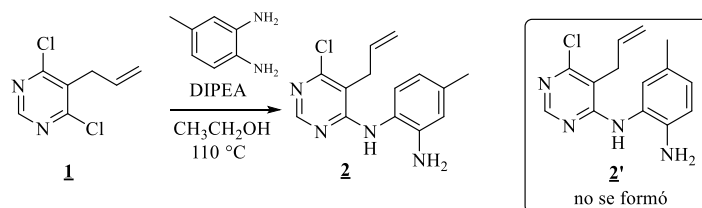


7.1 PREPARACIÓN DE LA *N*¹-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-4-METIL-BENCENO-1,2-DIAMINA **2**

Para realizar la síntesis de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2** fue necesario, primero, preparar, mediante protocolos reportados en la literatura,^{66,67} la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1**. A continuación, la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1** y la 4-metilbenceno-1,2-diamina se disolvieron en etanol, y, en la presencia de la *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA), se calentaron a 110 °C durante 114 horas en un tubo sellado a presión autógena (**Esquema 13**). Bajo estas

condiciones de reacción, el único producto de aminólisis que se obtuvo fue la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2**, compuesto que se aisló como un sólido blanco con un rendimiento del 79%. La formación del otro posible regioisómero, la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenceno-1,2-diamina **2'**, no se observó, ni durante los controles por CCF del avance de la reacción de aminólisis, ni durante el proceso de purificación por cromatografía en columna del crudo de la reacción.

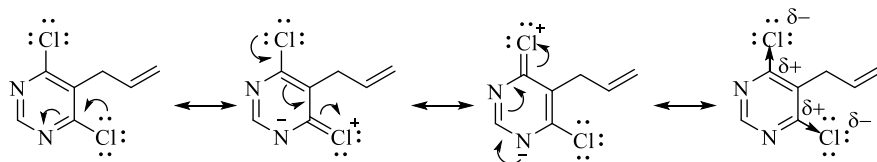
Esquema 13. Preparación de la *N*¹-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2**



Es un hecho bien conocido que las pirimidinas halógeno sustituidas, por el carácter anfótero del núcleo, se usan frecuentemente en las reacciones de sustitución nucleofílica aromática.⁶⁹ En el caso particular de la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1**, la presencia de los átomos de cloro, por medio del efecto inductivo, induce un incremento de la electrodeficiencia en los carbonos C₄ y C₆, pero, al mismo tiempo, por efecto mesomérico, eleva la densidad electrónica de los átomos de nitrógeno (**Esquema 14**). Sin embargo, este mismo efecto mesomérico por el cual el átomo de cloro cede densidad electrónica a los carbonos C₄ y C₆, hace que la electrofilia de éstos no sea tan marcada, como sí lo es en el caso de pirimidinas sustituidas por grupos fuertemente electroattractores, lo cual repercute en los tiempos de reacción de la sustitución de estos átomos. Además de la naturaleza de los sustituyentes sobre los carbonos C₄ y C₆ de la pirimidina, otros factores que influyen en los tiempos de las reacciones de sustitución nucleofílica aromática (S_NAr) son la fuerza

del nucleófilo y de la base que cataliza la reacción, así como la naturaleza del disolvente utilizado. En el caso particular que se está tratando, y en correspondencia con lo recién expuesto, el tiempo de reacción tan prolongado que se requirió para que ocurriera la reacción de aminólisis (40 horas), se explica por el hecho de que se usó un nucleófilo neutro (*orto*-fenilendiamina) y una base débil (DIPEA) para que catalizara dicho proceso.

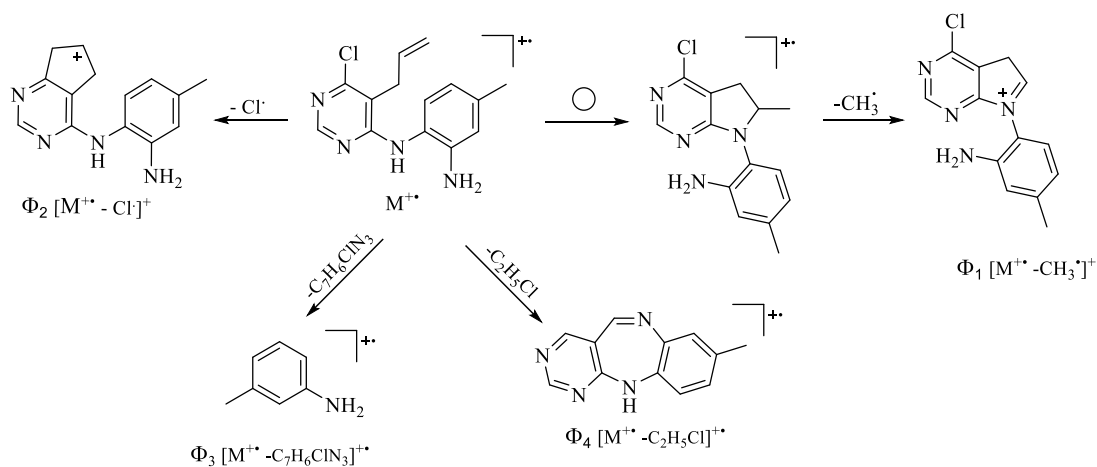
Esquema 14. Efectos electrónicos de los átomos de cloro sobre los carbonos C₄ y C₆ de la 5-alil-4,6-dicloropirimidina **1**



El primer indicio de la identidad del producto de aminólisis **2** se encuentra en su espectro de IR (anexo 1), en el que se registran, aunque solapadas, entre 3374–3279 cm^{-1} , las bandas de absorción anchas y de baja intensidad de la vibración de tensión del enlace N–H, tanto del grupo amino primario como del grupo amino secundario. En este espectro también se constata la presencia de las bandas de absorción características del fragmento alilo: la vibración de tensión del enlace C=C, en 1633 cm^{-1} , y la vibración de flexión fuera del plano del enlace =C–H, en 923 cm^{-1} . La banda de absorción intensa correspondiente a la vibración de tensión del enlace C=N de sistemas conjugados, propia de pirimidinas, se registra en 1550 cm^{-1} . Entre 1480–1400 cm^{-1} se presentan las bandas de deformación asimétrica y simétrica del enlace C–H de metilenos alifáticos, y, por último, en la región de la huella dactilar, en 1032 cm^{-1} , se observa la banda de absorción asociada, presumiblemente, a la vibración de tensión C–Cl.

El espectro de masas del compuesto **2** (anexo 2) corroboró su formación al registrar el pico del ión molecular, cuya relación masa–carga (m/z) coincidió con el peso molecular de su fórmula condensada. La principal fragmentación del ión molecular está definida por la pérdida de 15 unidades de masa, equivalentes a un grupo metilo, que da origen al catión de tipo 5*H*–pirrolo[2,3–*d*]pirimidin–7–io, Φ_1 , que, a su vez, es el ión pico de base. La pérdida de 35 unidades de masa (correspondiente a un átomo de cloro) desde el ion molecular, condiciona la formación del catión Φ_2 . A partir del ión molecular, y a través de una ruptura α al nitrógeno del fragmento 1,2–bencenodiamina que está directamente unido al núcleo de la pirimidina, que involucra la pérdida del fragmento $C_7H_6ClN_3$, se genera el catión radical Φ_3 , cuya estructura probable es la del *m*–toluidinio. Por otro canal de fragmentación diferente, el ión molecular también pierde una molécula de cloruro de etilo, y mediante sucesivos rearrreglos intramoleculares genera el catión radical tricíclico 8–metil–11*H*–benzo[*b*]pirimido[4,5–*e*] [1,4]diazepinilio. Las posibles rutas de fragmentación del ión molecular del compuesto **2** se muestran en el esquema 15.

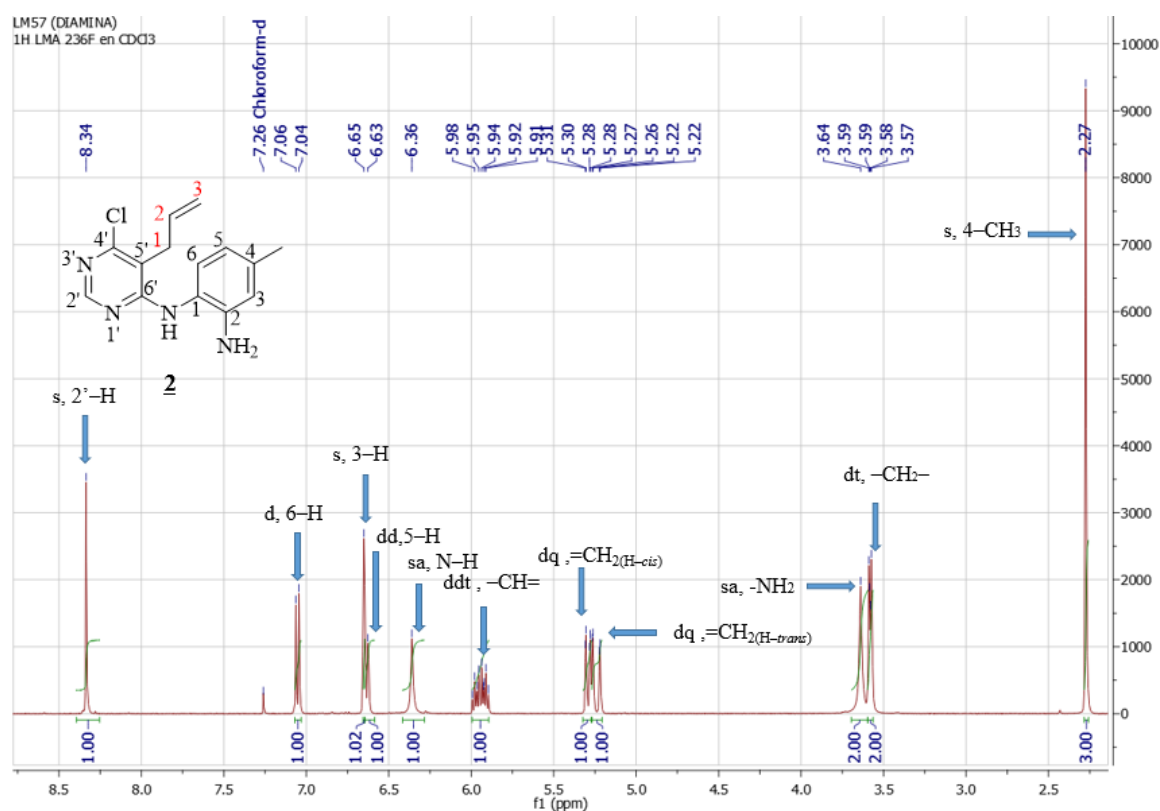
Esquema 15. Patrón de fragmentación propuesto para el ión molecular de la *N*¹–(5–alil–6–cloropirimidin–4–il)–4–metilbenceno–1,2–diamina **2**.



La estructura de **2** quedó plenamente confirmada con el análisis detallado del conjunto de espectros de RMN ^1H (anexo 3; **Figura 10**), RMN ^{13}C (anexo 4), y los espectros bidimensionales de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H (**Figura 11**) y de correlación heteronuclear HMBC (**Figura 12**) y HSQC. En la región de campo intermedio del espectro de RMN ^1H de **2** se observan las señales generadas por los protones del fragmento alilo: en 3.58 ppm, un doblete de triplete (dt), que fue asignado a los protones metilénicos ($-\text{CH}_2-$), en 5.29 y 5.24 ppm, dos dobletes de cuartete (dq), que fueron asignados a cada uno de los protones metilénicos terminales ($=\text{CH}_2$), y, por último, en 5.95 ppm, un doblete de doblete de triplete (ddt), que fue asignado al protón metínico ($=\text{CH}-$). En la región aromática del espectro, entre 7.05–6.63 ppm, se registran las señales con forma de singulete (para 3-H), doblete de dobletes (para 5-H) y doblete (para 6-H) de los tres protones del anillo de benceno, mientras que la señal que fue asignada al protón pirimidínico 2'-H se registra como un singulete en 8.34 ppm. Los protones de los grupos amino secundario y primario generan singuletes anchos, los cuales se registran en 6.36 y 3.64 ppm, respectivamente. Finalmente, el singulete que se observa en 2.27 ppm fue asignado a los protones del metilo enlazado al carbono C-4.

La anterior asignación de los protones se puede apreciar con más claridad en el espectro de RMN ^1H del derivado **2**, que se reproduce en la figura 10.

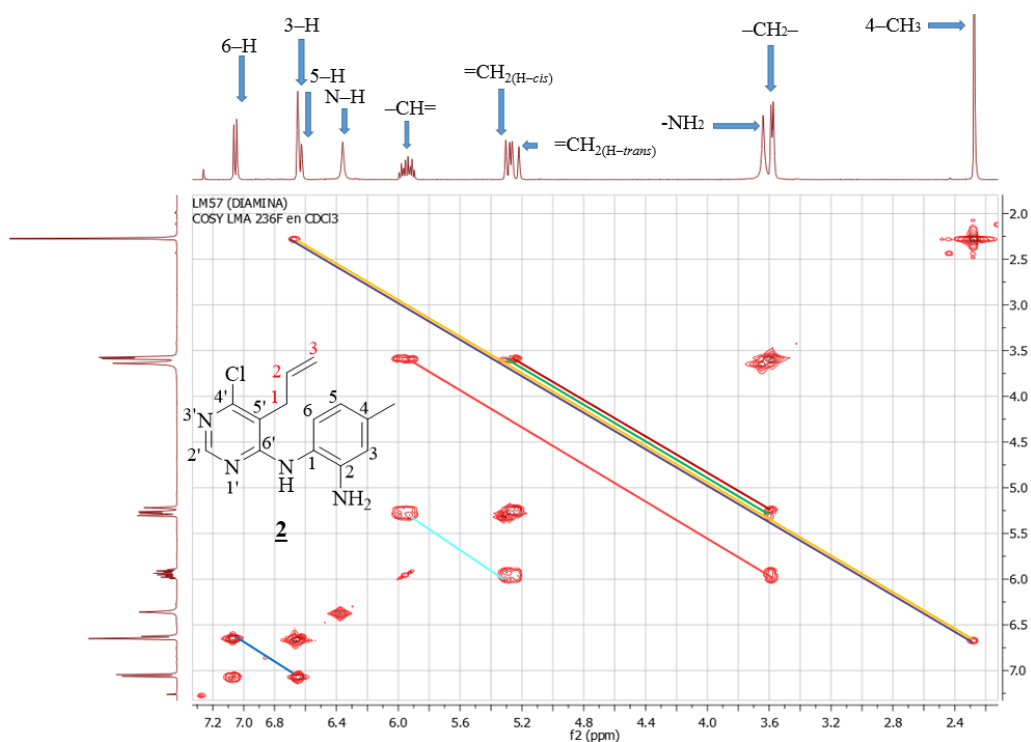
Figura 10. Espectro de RMN ^1H de la N^1 -(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-4-metilbenceno-1,2-diamina **2**



La asignación correcta de los protones alifáticos y aromáticos del compuesto **2** se verificó con la ayuda del espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H , el cual se reproduce en la figura 11. Como se puede apreciar, en dicho espectro se resaltan con líneas coloreadas las mutuas correlaciones vecinales y a más de tres enlaces de los diferentes protones de la molécula, así: la línea azul celeste representa los acoplamiento entre el protón metínico $-\text{CH}=\text{}$ y los protones metilénicos $=\text{CH}_2(\text{H-cis})$ y $=\text{CH}_2(\text{H-trans})$, la línea roja representa el acoplamiento del protón metínico $-\text{CH}=\text{}$ con los protones metilénicos $-\text{CH}_2$, en tanto que las líneas vinotinto y verde marino representan los mutuos acoplamiento a cuatro enlaces⁷⁰ que presentan cada uno de los protones $=\text{CH}_2(\text{H-cis})$, $=\text{CH}_2(\text{H-trans})$ con los protones metilénicos $-\text{CH}_2$; con las

líneas morada y amarillo pardo se representan los acoplamientos a cuatro enlaces que tienen lugar entre los protones aromáticos 3-H/5-H con los protones del grupo metilo en C-4, y, finalmente, el acoplamiento vecinal entre los protones aromáticos 6-H y 5-H se resaltó con la línea azul oscuro.

Figura 11. Espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H de la diamina **2**



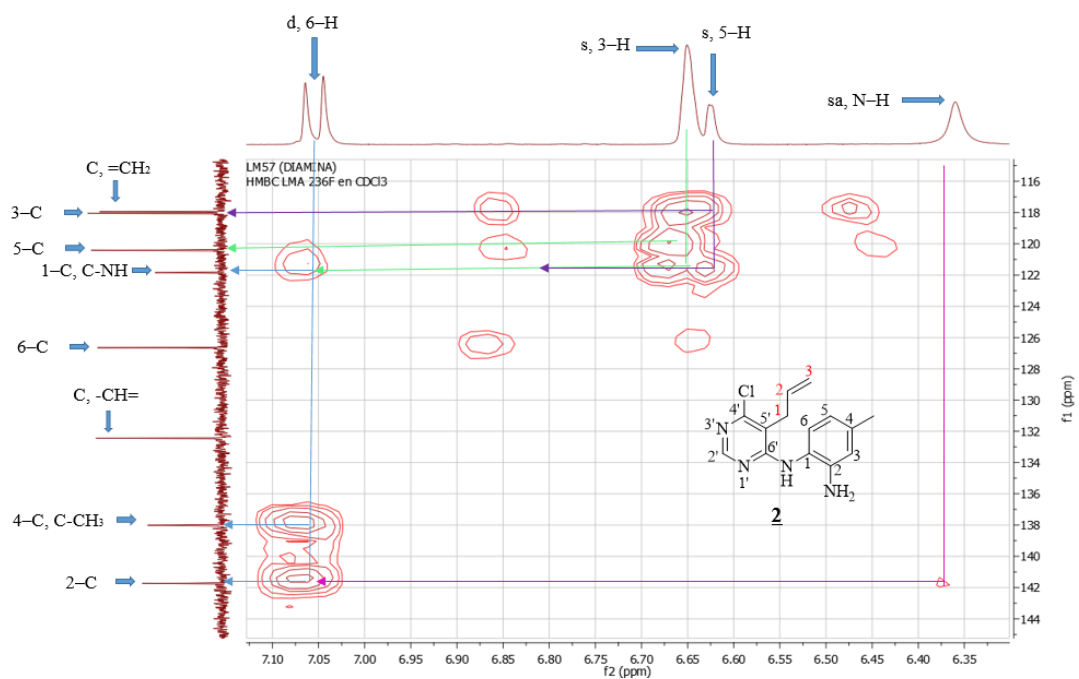
La asignación correcta de los desplazamientos químicos de todos los carbonos se realizó mediante la interpretación de los espectros de RMN ^{13}C , DEPT 135, HSQC y HMBC, reconfirmándose de esta manera la identidad del producto aislado.

Sin embargo, para comprobar de manera totalmente inequívoca que **2** representa en realidad un único compuesto con la estructura que se ha venido analizando y no una mezcla de los dos posibles regioisómeros que pudieron haberse formado durante el proceso de la aminólisis de **1**, a continuación se presentan las siguientes pruebas de índole espectroscópico que lo confirmaron. En primer lugar, en el cromatograma del compuesto analizado se registró un solo pico cromatográfico ($t_R = 27$ min), lo cual es un claro indicativo de su grado de pureza que excluye automáticamente la posibilidad de que se tratara de una mezcla de regioisómeros, porque de haber sido una mezcla, se hubiera registrado, con toda seguridad, dos picos cromatográficos. Sin embargo, con esta evidencia difícilmente se puede deducir la correcta estructura del producto analizado.

Que se trataba de un único producto y no de una mezcla de regioisómeros, también se comprobó, en segundo lugar, porque las señales registradas en el espectro de RMN ^1H integraban para 15 protones, pero especialmente porque en el espectro de RMN ^{13}C se registraron sólo 14 señales, sin que ninguna de ellas se duplicara. Aunque muy valiosas, estas evidencias tampoco fueron suficientes para definir correctamente la estructura del producto analizado, pues los protones aromáticos del regioisómero **2'**, en principio, deben presentar la misma multiplicidad de sus congéneres en **2**. Para resolver el carácter ambiguo de las anteriores evidencias, se recurrió, en tercer lugar, al análisis del espectro HMBC, enfocando la atención en las correlaciones que, eventualmente, podrían tener lugar entre los dos carbonos cuaternarios C-2 y C-4 con el protón aromático H-6, pues son justamente estas correlaciones las que en definitiva corroborarían la estructura que se le asignó al producto **2**. En la figura 12 se presenta una expansión de la zona del espectro HMBC, en la que se registraron las correspondientes señales de los carbonos y protones aromáticos, uniendo con líneas de colores diferentes las correlaciones registradas entre ellos. Como se puede apreciar, la línea azul que se trazó para unir

al doblete que fue asignado al protón H-6 (7.05 ppm) con los contornos generados por los carbonos cuaternarios C-2 (141.7 ppm) y C-4 (137.9 ppm), corresponde a la evidencia que se estaba buscando y la que corroboró de manera inequívoca la estructura que se le asignó al producto de aminólisis **2**, ya que en el supuesto espectro HMBC de su regioisómero **2'**, con seguridad, no se registrarían esas correlaciones. La estructura de **2** también quedó refrendada con las correlaciones que se observaron entre el carbono cuaternario C-1 (121.8 ppm) y las señales que fueron asignadas a los protones H-3 (6.65 ppm) y H-5 (6.63 ppm), líneas verde y morada, respectivamente.

Figura 12. Expansión de la zona de las señales de los protones y carbonos aromáticos en el espectro de correlación heteronuclear HMBC de la diamina **2**

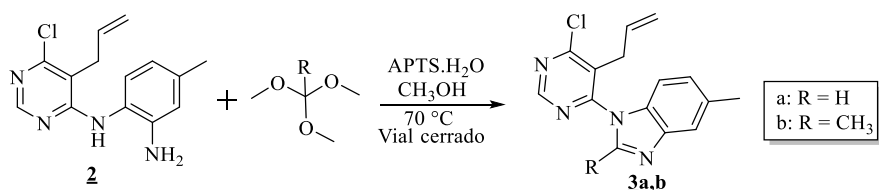


Las bandas más características en la región del infrarrojo, las intensidades del ión molecular y de los principales iones fragmento, así como los desplazamientos químicos de los protones y carbonos de **2** se reportan en la parte experimental.

7.2 PREPARACIÓN DE LOS 1-(5-ALIL-6-CLOROPIRIMIDIN-4-IL)-5-METIL-1H-BENZO[d]IMIDAZOLES **3a,b**. ETAPA DE LA FUNCIONALIZACIÓN DEL NÚCLEO DE LA PIRIMIDINA CON UN ANILLO DE BENZIMIDAZOL

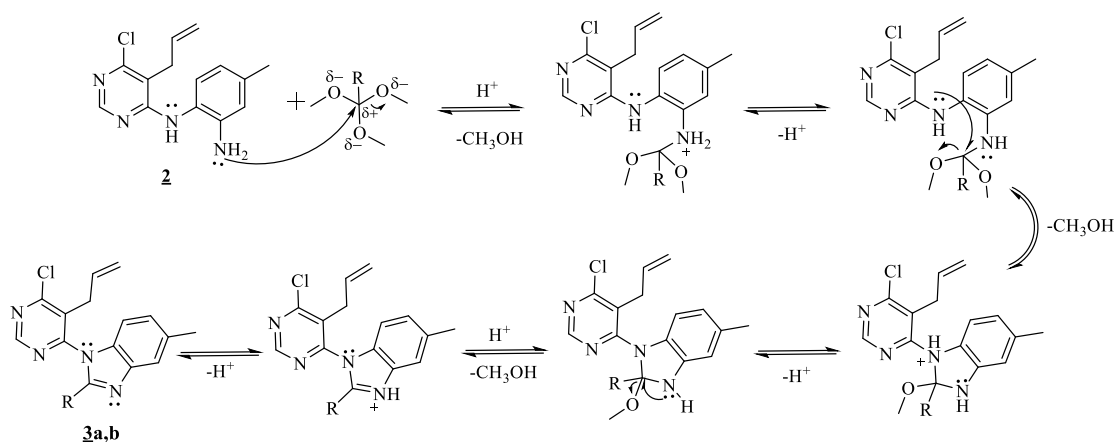
Con el fin de realizar la construcción del anillo de benzimidazol sobre la posición C-4 del preexistente núcleo de la pirimidina, la diamina **2**, después de haber sido completamente caracterizada, fue inmediatamente sometida a una reacción de ciclocondensación oxidativa con los dos ortoésteres seleccionados, proceso intramolecular que dio como resultado la formación de los compuestos conjugados **3a,b** (**Esquema 16**); la reacción transcurrió en metanol y se catalizó con APTS.H₂O, siguiendo protocolos reportados en la literatura.³²⁻³⁸

Esquema 16. Síntesis de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenzo[d]imidazoles **3a,b**.



El mecanismo generalmente aceptado para explicar la ocurrencia de la reacción de ciclocondensación oxidativa entre *orto*-fenilendiaminas y *orto*ésteres se detalla en el esquema 17.^{71,72}

Esquema 17. Mecanismo de la reacción de ciclocondensación oxidativa de la diamina **2** y ortoésteres.



Los productos esperados de la anterior reacción de ciclocondensación oxidativa, es decir, los 1-(5-*alil*-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenzo[d]imidazoles **3a,b**, y después de la debida purificación por cromatografía en columna de sus correspondientes crudos, fueron aislados como aceites viscosos de color amarillo con rendimientos del 88% y 79%, respectivamente.

En los espectros de IR de **3a,b** (anexos 6 y 11), aunque éstos pueden conducir a una asignación ambigua de las bandas de absorción, especialmente de las que se registran en la zona de la huella dactilar, se evidencia claramente la desaparición de las bandas de absorción asociadas a las vibraciones de tensión de los enlaces

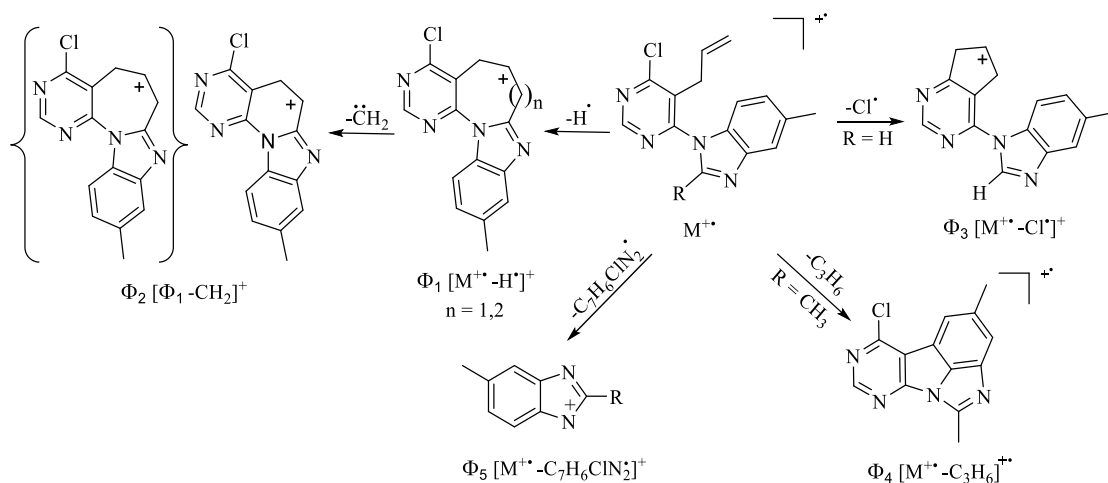
N–H y NH₂, que son características en el espectro de la diamina precursora **2**. Las bandas de absorción del fragmento alilo también son características en estos espectros, registrándose, de mayor a menor valor del número de onda, la banda de la vibración de tensión del enlace C=C, en 1638 (para **3a**) y 1639 (para **3b**) cm⁻¹, y en 931 (para **3a**) y 930 (para **3b**) cm⁻¹, la vibración de flexión fuera del plano del enlace =C–H. La banda de absorción intensa asociada a la vibración de tensión del enlace C=N de sistemas heterocíclicos *pi*-conjugados, como es el caso de la pirimidina y el benzimidazol, se registra, ahora, en 1588 (para **3a**) y 1525 (para **3b**) cm⁻¹.

En los espectros de masas de estos dos compuestos (anexos 7 y 12) se registran los picos de los iones moleculares, que corroboran las masas nominales de sus fórmulas condensadas; éstos, a su vez, representan también los iones picos de base. La principal fragmentación que presentan estos iones moleculares está definida por la pérdida de un átomo de hidrógeno, probablemente del sustituyente C–2', que da origen al catión Φ_1 de alta intensidad, el cual, después de transponerse y ciclarse, genera una estructura, presumiblemente, del tipo 6,7-dihidro-5*H*-benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirimido[5,4-*f*]azepin-6-ilio (para **3a**) y 5,6,7,8-tetrahidrobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirimido [5,4-*g*]azocin-6-ilio (para **3b**); este ión fragmento, por pérdida de un metileno, genera el ión fragmento Φ_2 con una probable estructura del tipo 5,6-dihidrobenzo[4',5']imidazo[1',2':1,6]-pirido [2,3-*d*]pirimidin-6-ilio (para **3a**) y 6,7-dihidro-5*H*-benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pirimido[5,4-*f*] azepin-6-ilio (para **3b**). El ión molecular de **3a**, pero no el de **3b**, se caracteriza también porque pierde un átomo de cloro y genera el catión Φ_3 , al que se le asignó una estructura probable del tipo 4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[*d*]pirimidin-6-ilio. Por otro canal de fragmentación, el ión molecular de **3b**, pero no el de **3a**, pierde un fragmento C₃H₆, presumiblemente una molécula de propeno, y genera el catión radical Φ_4 de intensidad media (32%), cuya

estructura más probable es la del 6-cloro-1,4-dimetilimidazo[4,5,1-*h*]pirimido[4,5-*b*] indolilio. La ruptura α al nitrógeno del benzimidazol que está conectado al anillo de pirimidina parece ser otra fragmentación característica de estos dos iones moleculares, pues ambos pierden el radical $C_7H_6ClN_2$ que condiciona la generación de los iones fragmento Φ_5 de medianas intensidades ($\approx 18\%$), cuyas estructuras más probables podrían corresponder a las del catión 1-*H*-benzo [*d*] imidazolio (m/z 131 y m/z 145, respectivamente).

En el esquema 18 se proponen las posibles rutas de fragmentación de los iones moleculares de **3a,b**, mientras que los principales iones y sus intensidades relativas se registran en la parte experimental, sección 6.3.

Esquema 18. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metilbenzo[*d*]imidazoles **3a,b**.

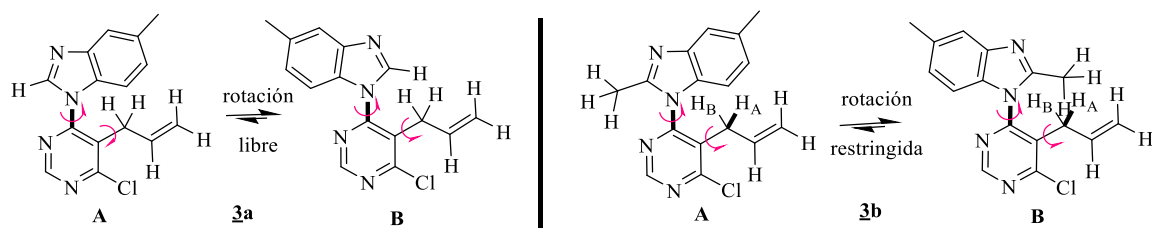


El análisis de los espectros de RMN 1H corroboró inequívocamente la estructura de los productos esperados. Así, en el espectro de RMN 1H del compuesto **3a** (anexo

8) se observan las señales características de los protones del fragmento alilo: la señal de los protones metilénicos ($-\text{CH}_2-$) se registra como un doblete ancho (da) centrado en 3.59 ppm, mientras que en 5.28 ppm y 4.96 ppm se registran las señales correspondientes a los protones metilénicos terminales ($=\text{CH}_{2(\text{H-cis})}$) y ($=\text{CH}_{2(\text{H-trans})}$), respectivamente, también como dobletes anchos. Por su parte, la señal del protón metínico aparece como un doblete de dobletes de tripletes (ddt), centrado en 6.02 ppm. Las señales de todos los protones aromáticos se asignaron de la siguiente manera: los singuletes que se observan en 8.93 y 8.25 ppm fueron asignados a los protones pirimidínico 2'-H y benzimidazólico 2-H, respectivamente; este último singulete es el más informativo, ya que su aparición es una evidencia irrefutable de la formación del anillo de imidazol; los protones 4-H, 6-H y 7-H resuenan en 7.64 ppm como un singulete ancho, y en 7.21 y 7.60 ppm como dobletes, respectivamente. Por último, en la región alifática del espectro, en 2.50 ppm, resuenan los protones del metilo unido al carbono C-5.

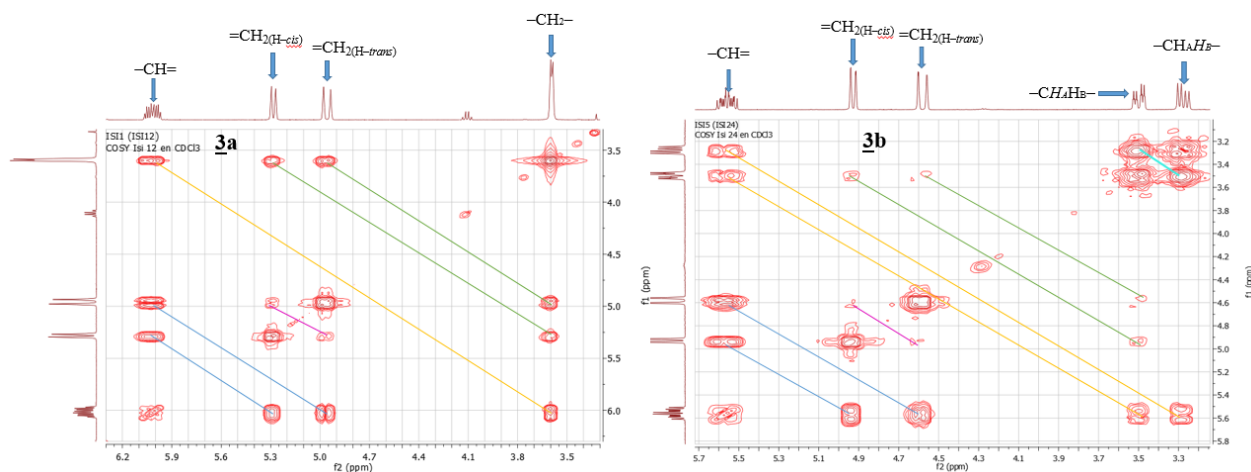
El espectro de RMN ^1H del producto **3b** (anexo 13) se diferencia del espectro de **3a** en que en la región alifática, en 2.44 ppm, resuenan los protones del grupo metilo en C-2 del anillo imidazol. La otra diferencia considerable es que los protones metilénicos $[-\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}-]$ del fragmento alilo que en **3a** eran magnéticamente equivalentes, ahora son magnéticamente diferentes debido, posiblemente, a las interacciones estéricas con los protones del grupo metilo en C-2, mucho más voluminoso que el hidrógeno (**Esquema 19**), ocasionando que cada uno de ellos genere su propia señal: el doblete de dobletes con constantes de acoplamiento de 15.2 y 7.2 Hz que se observa en 3.28 ppm fue asignado al protón H_B , mientras que al protón H_A se le asignó el doblete de dobletes de tripletes con constantes de acoplamiento de 15.2, 5.6 y 1.5 Hz que se encuentra centrado en 3.50 ppm.

Esquema 19. Posible explicación gráfica del desdoblamiento equivalente y diferenciado que presentan los protones metilénicos en los espectros de **3a** y **3b**.



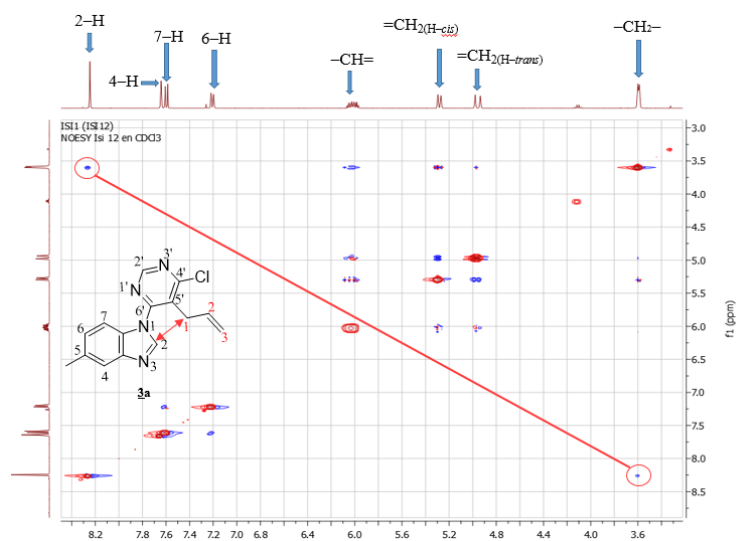
La completa y correcta asignación de los desplazamientos químicos de los protones se logró con la interpretación de los espectros bidimensionales de correlación homonuclear y heteronuclear. Con la información suministrada por los espectros ^1H - ^1H COSY fue posible establecer los acoplos geminales, vecinales y a más de tres enlaces de los protones alílicos, así como los que tienen lugar entre los protones aromáticos del fragmento de benzimidazol. A modo de comparación y por tratarse de las señales más informativas, en la figura 13 se reproducen las expansiones de las regiones de los espectros ^1H - ^1H COSY de los derivados **3a,b**, en las que se registran las señales de los protones alílicos. Así, mientras que en el espectro del compuesto **3b** se observa claramente el acoplamiento entre los protones diastereotópicos CH_AH_B (línea azul turquesa), este acoplamiento no se observa en el espectro de **3a**; en el espectro de **3b** también se observa el desdoblamiento de cada uno de los protones diastereotópicos CH_AH_B con el protón vecinal metínico $=\text{C}-\text{H}$ (líneas amarillas), así como los de este último protón con sus protones vecinales *cis* y *trans* (líneas azules), y, por último, también se evidencia que solamente el protón H_A está acoplado con los protones metilénicos terminales (líneas verdes), aunque lo hace en mayor grado con el protón designado como *cis*.

Figura 13. Expansiones de las zonas de los espectros ^1H - ^1H COSY de los derivados **3a** y **3b** donde resuenan los protones del grupo alilo.



Finalmente, en el espectro NOESY del derivado **3a** (Figura 14), se observa un “cross-peak” que indica la interacción espacial que tiene lugar entre el protón 2-H del benzimidazol y los protones metilénicos del alilo (1), con lo cual se puede inferir que, en solución de CDCl_3 , la conformación más estable para el compuesto **3a** es la que corresponde a la **B** del esquema 19.

Figura 14. Expansión del espectro NOESY del derivado **3a**.



La identidad inequívoca de los benzimidazoles **3a,b** quedó plenamente confirmada mediante la asignación de los desplazamientos químicos de los carbonos, asignación que se efectuó con ayuda de los espectros de correlación heteronuclear HSQC y HMBC. Los datos completos de RMN de estos dos compuestos están reportados en la parte experimental, sección 6.3.

7.3 SÍNTESIS DE LAS 5-ALIL-4-(ARILMETILAMINO)-6-(1H-BENZO[d]-IMIDAZOL-1-IL)PIRIMIDINAS **5a-h**

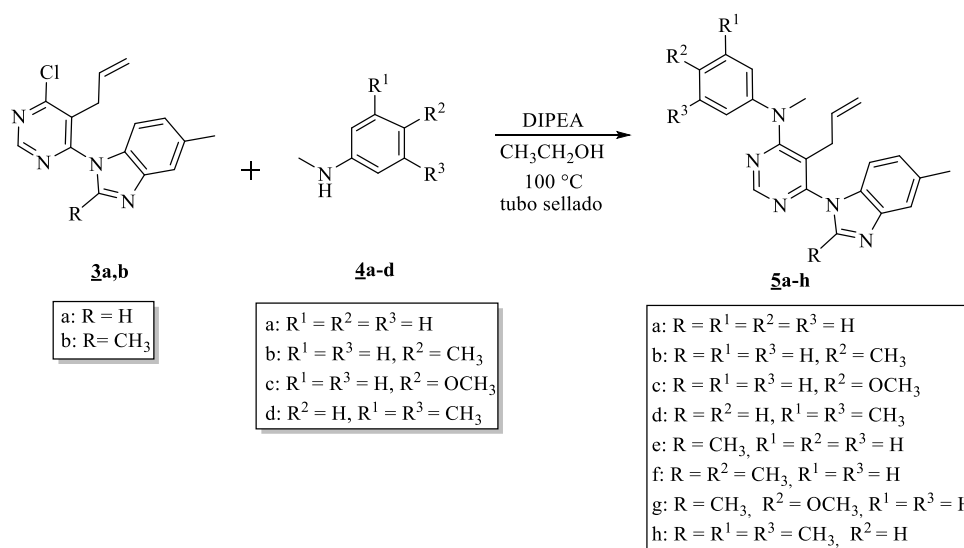
En este punto, es preciso anotar que cuando nos disponíamos a realizar la síntesis de los compuestos conjugados **5a-h**, suponíamos que los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazoles **3a,b**, en comparación con la dicloropirimidina precursora **1**, tendrían que ser más susceptibles a la acción de agentes nucleofílicos, pues la presencia en el anillo de la pirimidina de un grupo electroattractor, como lo es, en principio, el benzimidazol, acentuaría la electrofilia del carbono pirimidínico C₆, con lo cual se favorecería la sustitución nucleofílica aromática del átomo de cloro ubicado en dicha posición, y abriría, al mismo tiempo, el camino para acceder a los nuevos híbridos pirimidina-benzimidazol diseñados y sintetizados en este Trabajo de Grado.

Como agentes nucleofílicos se seleccionaron las *N*-metilanilinas sustituidas **4a-d**, las cuales se hicieron reaccionar con **3a,b** en etanol a reflujo y en la presencia de DIPEA, que se utilizó como catalizador básico de la reacción de aminólisis (**Esquema 20**). En estas condiciones de reacción, y después de la purificación por cromatografía en columna de los correspondientes productos crudos, se aislaron las 5-alil-4-(arilmetilamino)-6-(1H-benzo[d]imidazol-1-il)pirimidinas **5a-h**, en su

mayoría como sólidos blancos, a excepción del derivado **5e**, que se aisló como un aceite viscoso de color amarillo, y con rendimientos del 74–89%.

La elucidación estructural de los compuestos conjugados **5a–h** se realizó mediante el análisis de los espectros de IR, GC–MS y RMN monodimensional y bidimensional de cada uno de ellos.

Esquema 20. Síntesis de las 5-*alil*-4-(*arilmetilamino*)-6-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-*il*)pirimidinas **5a–h**



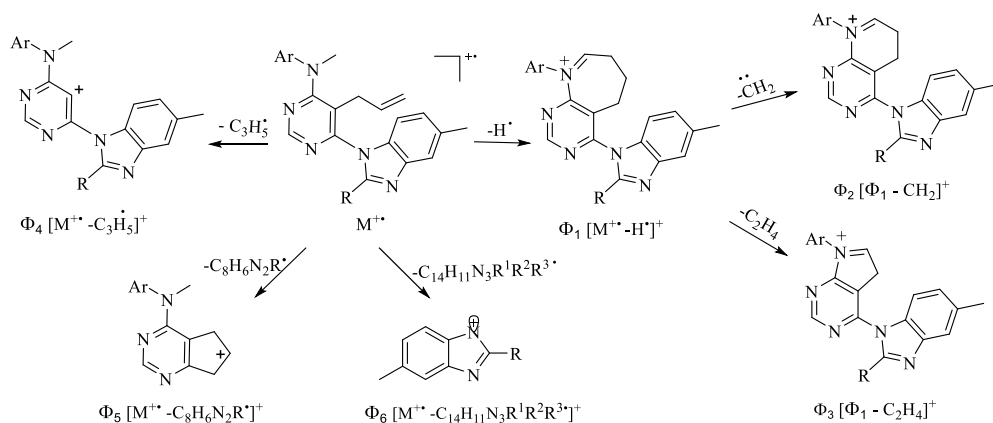
Los espectros de IR de estos compuestos (anexos 16 y 21), al igual que los de sus precursores, registran las bandas de absorción asociadas al fragmento alilo, la pirimidina y el benzimidazol, aunque con leves modificaciones en sus números de onda. Pero, las bandas de absorción que se registran en la zona de la huella dactilar son muy ambiguas, y no fue posible, por lo tanto, realizar la asignación exacta de las mismas.

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas proporcionó mejores evidencias de la identidad de **5a–h**. Llamó la atención, en especial, que en los cromatogramas de **5e** y **5g** se registraron dos picos con diferentes tiempos de retención (ver parte experimental, sección 6.4), aunque sus espectros de masas registraron el mismo ión molecular con exactamente el mismo patrón de fragmentación (para cada pareja), lo cual se tomó como un claro indicio de la formación de isómeros. Posteriormente, con el análisis exhaustivo de sus espectros de RMN, se pudo concluir que se trataba de rotámeros.

En los espectros de masas de **5a–h** se registran los picos de los iones moleculares, cuyas relaciones m/z coinciden con los pesos moleculares de sus fórmulas condensadas (ver parte experimental, sección 6.4). Para los compuestos **5c**, **5e** ($t_R = 39$ min), **5f**, y **5g**, sus iones moleculares representan, a su vez, los iones picos de base, mientras que para los compuestos **5a**, **5b**, **5d**, **5e'** ($t_R = 40$ min), y **5h** sus iones picos de base corresponden a los iones fragmento Φ_1 , generados por la pérdida de un átomo de hidrógeno desde sus respectivos iones moleculares, afectando, presumiblemente, al N–metilo de la anilina; de ser así, los iones Φ_1 podrían tener la estructura del tipo 1*H*–benzo[*d*]imidazol–1–il)–9–aril–6,7–dihidro–5*H*–pirimido[4,5–*b*]azepin–9–ilio. En posteriores fragmentaciones, estos iones decaen, primero por la pérdida de un metileno, que condiciona la formación de los iones fragmento Φ_2 de altas intensidades, cuyas estructuras podrían ser del tipo 1*H*–benzo[*d*]imidazol–1–il)–8–aril–5,6–dihidropirido[2,3–*d*]pirimidin–8–ilio, y segundo, por la pérdida de una molécula de eteno, que condiciona la generación de los iones fragmento Φ_3 de baja y mediana intensidades, cuyas estructuras más probables serían del tipo 1*H*–benzo[*d*]imidazol–1–il)–7–aril–5*H*–pirrolo[2,3–*d*]pirimidin–7–ilio; a diferencia de Φ_2 , los iones fragmento Φ_3 son característicos sólo para los compuestos **5d–h**. Por otro canal de fragmentación, los iones moleculares de **5a**, **5b**, **5e** y **5f** pierden un radical alilo y generan los iones fragmento de medianas intensidades Φ_4 . Las rupturas α al

nitrógeno del benzimidazol que está conectado al anillo de la pirimidina parecen ser otras fragmentaciones características de los iones moleculares de estos compuestos; mediante este tipo de rupturas es que se puede explicar la generación de los iones fragmento de medianas y bajas intensidades Φ_5 y Φ_6 , los que, eventualmente, se podrían representar con las estructuras de los tipos 4-(metil(aril)amino)-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[d]pirimidin-6-ilio, Φ_5 , y 1H-benzo[d]imidazolio (m/z 131 y m/z 145), Φ_6 , respectivamente. Las posibles rutas de fragmentación que experimentan los iones moleculares de **5a-h** se proponen en el esquema 21.

Esquema 21. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de las 5-alil-4-(arilmetilamino)-6-(1H-benzo[d]imidazol-1-il)pirimidinas **5a-h**.



Para simplificar la manera como se realizó la asignación de los desplazamientos químicos de los protones de los compuestos **5a-h** (ver parte experimental, sección 6.4), se escogieron como modelos los espectros de RMN 1H de los derivados **5d** (anexo 18) y **5h** (anexo 23), los cuales se reproducen en la figura 15.

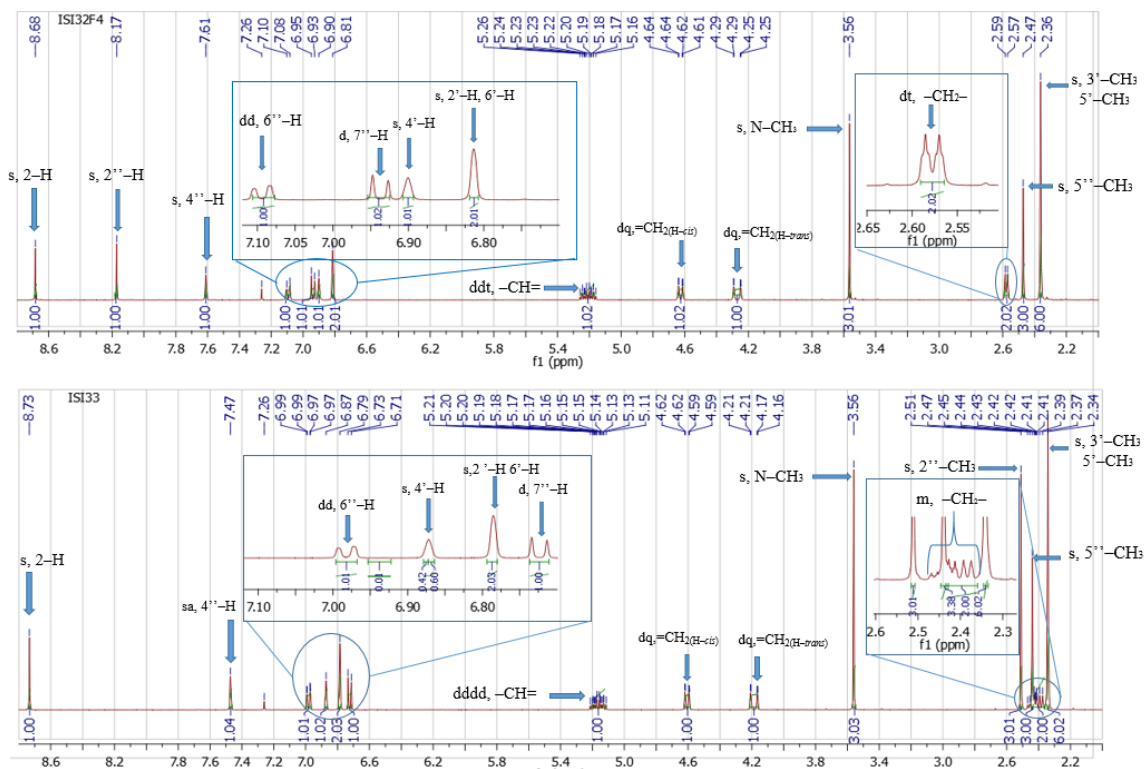
En la zona aromática del espectro de RMN ^1H de **5d**, de campo más bajo hacia campo más alto, se registran las siguientes señales: en 8.68 y 8.17 ppm se encuentran dos singuletes, que fueron asignados a los protones 2-H de la pirimidina y 2''-H del anillo de imidazol; las señales que se observan en 7.61 (singulete), 7.09 (doblete de dobletes) y 6.94 (doblete) ppm fueron asignadas a los protones del benzimidazol 4''-H, 6''-H y 7''-H, respectivamente; las señales que fueron asignadas a los protones aromáticos 4'-H, 2'-H y 6'-H del nuevo anillo de benceno, cuya presencia evidencia que la aminólisis de **3a** con la *N*,3,5-trimetilanilina **4d** ocurrió satisfactoriamente, se registran en 6.90 y 6.81 ppm como singuletes que integran para uno y dos protones, respectivamente. Las multiplicidades de las señales de los anteriores protones se pueden detallar mejor en la expansión del espectro que aparece en la parte superior de la figura 15.

A continuación, en la zona intermedia del espectro, se encuentran las señales pertenecientes a los protones del fragmento alilo y del grupo *N*-metilo: centrado en 5.21 ppm, se encuentra la señal con forma de doblete de dobletes de tripletes que fue asignada al protón metínico $-\text{C}=\text{H}$, éste presenta constantes de acoplamiento de 17.1 Hz (con el protón $=\text{CH}_2(\text{H}-\text{trans})$), 10.1 Hz (con el protón $=\text{CH}_2(\text{H}-\text{cis})$) y 6.1 Hz (con los protones metilénicos $-\text{CH}_2-$); cada uno de los protones metilénicos terminales $=\text{CH}_{\text{trans}}\text{H}_{\text{cis}}$ genera su propia señal en forma de doblete de cuartetos, siendo el protón H_{cis} el que resuena a campo más bajo, en 4.63 ppm ($J = 10.1, 1.5$ Hz), mientras que su homólogo H_{trans} lo hace en 4.27 ppm ($J = 17.1, 1.5$ Hz); los protones metilénicos $-\text{CH}_2-$ resuenan a 2.58 ppm como un doblete de triplete con constantes de acoplamiento de 6.1 Hz con el protón metínico, y 1.5 Hz que corresponde a un acoplamiento de tipo "W" con los protones metilénicos terminales $=\text{CH}_{\text{trans}}\text{H}_{\text{cis}}$; el singulete que se observa en 3.56 ppm fue asignado a los protones metílicos del grupo $\text{N}-\text{CH}_3$. Finalmente, en la zona alifática del espectro, en 2.47 y 2.36 ppm, se encuentran dos singuletes que integran para 3 y 6 protones,

respectivamente, los cuales fueron asignados a los grupos metilo 5''-CH₃ del benzimidazol y 3'-CH₃ / 5'-CH₃ del anillo de benceno.

El espectro de RMN ¹H de **5h** (espectro inferior en la figura 15), aunque es muy similar al del compuesto **5d**, presenta algunas diferencias. Tal como se observa en las expansiones de las zonas aromática y alifática del espectro, la principal diferencia radica en que el protón benzimidazólico 7''-H ahora resuena a campo más alto que los protones del benceno, y que la señal del grupo metileno terminal -CH₂- del fragmento alilo no logra resolverse bien, porque se solapa con el singulete generado por los protones metílicos 5''-CH₃ del benzimidazol.

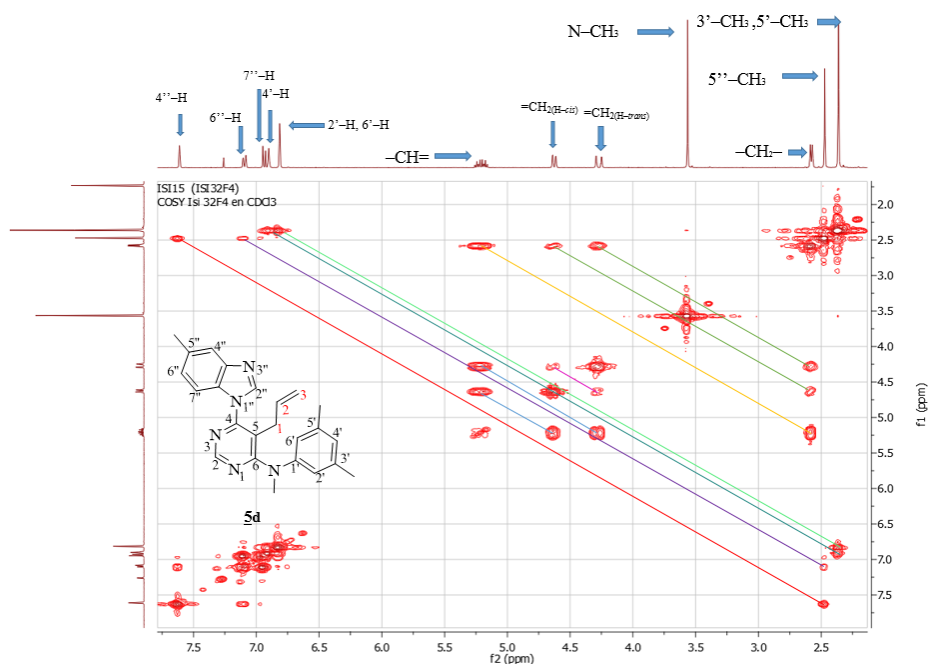
Figura 15. Espectros de RMN ¹H de los compuestos **5d** y **5h** con las asignaciones de los protones.



En el espectro de correlación homonuclear ^1H - ^1H COSY del compuesto **5d** (Figura 16), además de los acoplamientos ya discutidos para los protones aromáticos y alílicos de los precursores **3a,b**, se observan los nuevos acoplamientos a 4 enlaces entre los protones aromáticos equivalentes 2'-H, 6'-H y los protones metílicos 3'-CH₃, 5'-CH₃ (línea verde oliva), y el de estos últimos con el protón 4'-H (línea verde oscuro). También son evidentes las interacciones a 4 enlaces entre los protones benzimidazólicos 4''-H y 6''-H y los protones del grupo metilo 5''-CH₃ (líneas rojo y morado, respectivamente). Tal como se esperaba, el análisis de este espectro permitió concluir inequívocamente que la estructura que le fue asignada al compuesto **5d** era la correcta. De manera similar fueron corroboradas las estructuras del resto de sus homólogos.

Las asignaciones de los desplazamientos químicos de todos los carbonos de **5a-h** se realizaron mediante la interpretación de los espectros de RMN ^{13}C , DEPT 135, HMBC, y HSQC, reconfirmándose, de esta manera, la identidad de los productos aislados. Todos los datos espectroscópicos de RMN de estos compuestos están reportados en la parte experimental, sección 6.4.

Figura 16. Espectro de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H de la 5-*alil*-6-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-4-((3,5-dimetilfenil)metilamino)pirimidina **5d**.



7.4 PREPARACIÓN DE LOS NUEVOS HÍBRIDOS MOLECULARES DEL TIPO 6,11-DIMETIL-4-(1*H*-BENZO[*d*]IMIDAZOL-1-IL)-6,11-DIHIDRO-5*H*-BENZO[*b*]PIRIMIDO[5,4-*f*]AZEPINA **6a-f**

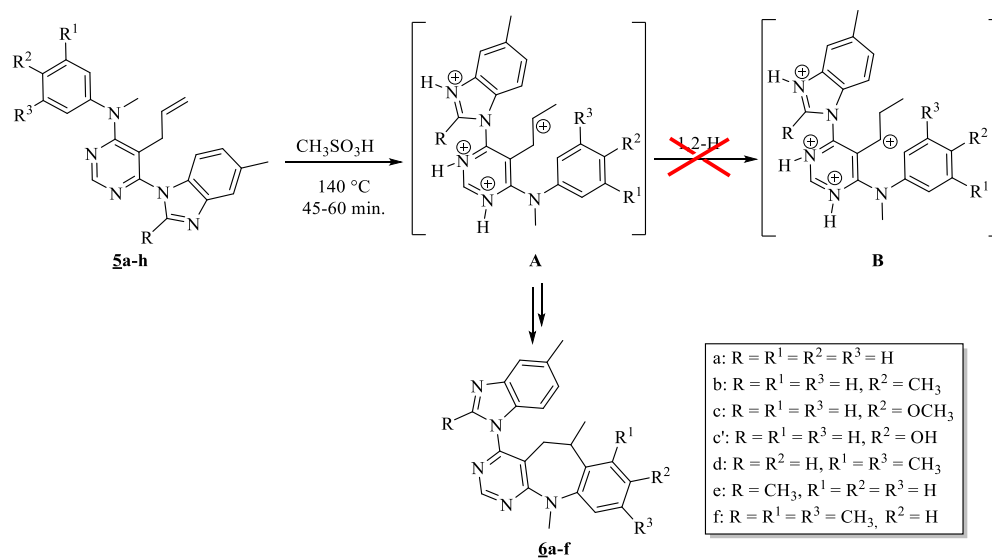
Después de que las estructuras de los precursores **5a-h** fueron establecidas plenamente, éstos se sometieron a un proceso de ciclación intramolecular de Friedel-Crafts, utilizando como guía las condiciones experimentales de reacción determinadas con anterioridad en otros trabajos relacionados y realizados en el en LSO;⁵⁴ en dichos trabajos, fehacientemente se determinó que de todos los ácidos de Brønsted evaluados, el que promovió mejor la ciclación intramolecular de sustratos análogos de **5a-h** fue el ácido metanosulfónico.

En este caso, después de haber probado varias relaciones entre el sustrato y el ácido metanosulfónico para promover la ciclación de los productos de aminólisis **5a–h**, la relación 1:7 p/v (por cada gramo de sustrato se usaron 7 mL de ácido) resultó ser la mejor. Asimismo, se encontró que los mejores rendimientos de los productos de interés se obtenían cuando las reacciones se realizaban a 140 °C con períodos de reacción de 45–60 minutos. Adicionalmente, los controles del avance de las reacciones por CCF evidenciaron que a temperaturas más bajas y con menores tiempos de reacción, los precursores no se consumían completamente. En estas drásticas condiciones de reacción se formaron los productos de ciclación 7-*exo-trig* **6a–f** con rendimientos que oscilaron entre el 14% y el 92%. En ningún caso se detectó la formación de los posibles productos de ciclación 6-*exo-trig*. También es importante dejar constancia que, en general, la purificación por cromatografía en columna de los productos esperados fue bastante dispendiosa, primero, porque se formaron otros subproductos que coelúan con los productos de interés, y segundo, porque algunos de ellos se retenían en las columnas, incluso cuando se utilizaron mezclas de eluentes muy polares; este fue el caso de los productos de la ciclación de los precursores **5f** y **5g**, que, aunque se intentó en reiteradas ocasiones, no fue posible aislarlos individualmente, y, por eso, sus propiedades físico-químicas y espectroscópicas no se incluyeron en este manuscrito.

La formación exclusiva de los productos de ciclación 7-*exo-trig* **6a–f** se puede explicar con ayuda del mecanismo simplificado de reacción que se presenta en el esquema 22. Se asume que la reacción comienza con la adición de un protón al doble enlace del fragmento alilo, según la orientación de Markovnikov,⁷³ adición que deriva en la generación del carbocatión A, el cual inmediatamente realiza el ataque electrofílico al anillo de benceno del fragmento *N*-fenilo (arilo) y lo sustituye. Teniendo en consideración las drásticas condiciones de reacción utilizadas, se puede inferir que los productos de ciclación 7-*exo-trig* se ven favorecidos

termodinámicamente, mientras que los productos de ciclación 6-*exo-trig*, por el contrario, no se forman porque la generación obligada del carbocatión B, como resultado de una eventual transposición 1,2-H de su progenitor A, es muy poco probable debido al efecto altamente desestabilizador que ejercería sobre él la acumulación de cargas en los dos anillos heterocíclicos por la protonación simultánea de los dos nitrógenos pirimidínicos y del nitrógeno piridínico del benzimidazol. Esta acumulación de cargas también podría explicar el por qué tampoco ocurrió la sustitución electrofílica aromática en la posición C-7 del anillo de benceno del benzimidazol.⁷⁴⁻⁷⁶

Esquema 22. Mecanismo simplificado de la formación de los híbridos moleculares **6a-f**.



Aunque lejos de ser confirmativo, el primer indicio de la formación de los nuevos híbridos moleculares **6a-f** se encontró en sus espectros de infrarrojo (anexos 26 y 31), en los cuales se evidenció la desaparición de la banda de vibración de tensión del enlace C=C, característica del grupo alilo en los espectros de los precursores

5a–h (en alrededor de los 1630 cm^{-1}). Algunas bandas de absorción características de esta clase de compuestos son las que se registran cerca a los 1560 cm^{-1} , las cuales se presume que son originadas por las vibraciones de tensión del enlace C=N de los núcleos de pirimidina e imidazol, y las dos que se registran en la región de $1480\text{--}1438\text{ cm}^{-1}$, que son originadas, también presumiblemente, por las deformaciones asimétrica y simétrica de los enlaces C–H. Adicionalmente, se observan las bandas de absorción correspondientes a la vibración de tensión del enlace N–CH₃, en $1395\text{--}1398\text{ cm}^{-1}$.

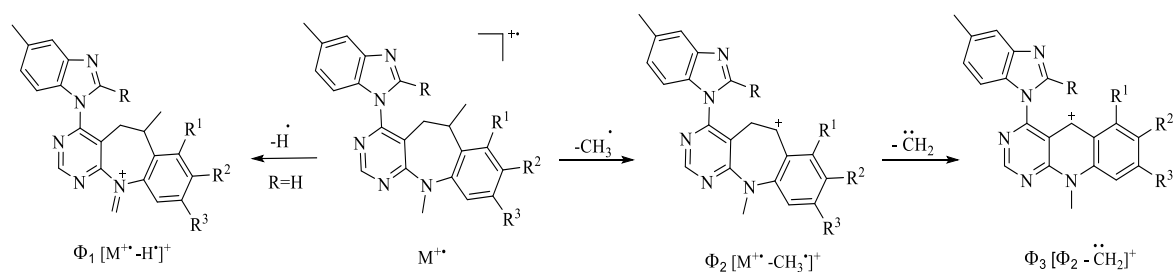
El análisis de **6a–f** por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC–MS), aportó mejores evidencias sobre sus identidades. Así, en los cromatogramas de **6a–d** y **6f** se registró un único pico cromatográfico, mientras que en el cromatograma de **6e**, al igual que en el de su precursor **5e**, se registraron dos picos con diferentes tiempos de retención y diferentes áreas cromatográficas (ver parte experimental, sección 6.5); sin embargo, sus espectros de masas registraron iones moleculares con la misma relación m/z que decaen con exactamente el mismo patrón de fragmentación, indicando con esto que la ciclación de **5e** (como mezcla de rotámeros inseparables) resultó en la formación de su correspondiente producto de ciclación *7-exo-trig* **6e**, el cual también representa una mezcla de atropoisómeros inseparables, tal como se pudo comprobar posteriormente con el análisis exhaustivo de sus espectros de RMN.

En los fragmentogramas de **6a–f** se registran los picos de los iones moleculares, cuyas relaciones m/z coinciden con los pesos moleculares de sus fórmulas condensadas (anexos 27 y 32). Los iones moleculares de **6a–d** y **6f** son, al mismo tiempo, los iones picos de base, mientras que para la pareja de rotámeros **6e** el ión pico de base corresponde al ión fragmento que resulta de la pérdida de 15 umas

desde el ión molecular. Las fragmentaciones más características de la mayoría de los iones moleculares de **6a-f** (**Esquema 23**) están asociadas a la pérdida de un átomo de hidrógeno (excepto para **6e** y **6f**), que condiciona la generación del ión fragmento Φ_1 , y a la pérdida de un radical metilo, que da origen al ión fragmento Φ_2 , cuya estructura probable sería del tipo 11-metil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepin-6-ilio. Con excepción del ión molecular del híbrido **6c**, Φ_2 , a su vez, decae por la pérdida de un metileno y se transforma en el ión fragmento Φ_3 , representado con una estructura probable del tipo 10-metil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-5,10-dihidropirimido[4,5-*b*]quinolin-5-ilio.⁷⁷

Debido a que el híbrido molecular **6c'** se retenía en la columna del cromatógrafo, siendo, por tal razón, imposible su análisis por CG-MS, fue necesario, entonces, acudir a la técnica de ionización por electrospray (ESI-MS) en el modo negativo, con la que sí se registró, con una intensidad del 7%, el esperado ión molecular en su forma desprotonada $[M-1]^-$. Al igual que los iones moleculares de **6a-f**, este ión también pierde 15 y 29 umas, pero es, quizás, la pérdida de 120 umas la fragmentación más significativa, ya que ésta es la que condiciona la generación del ión pico de base con una relación $m/z = 249$.

Esquema 23. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los híbridos **6a-f**.



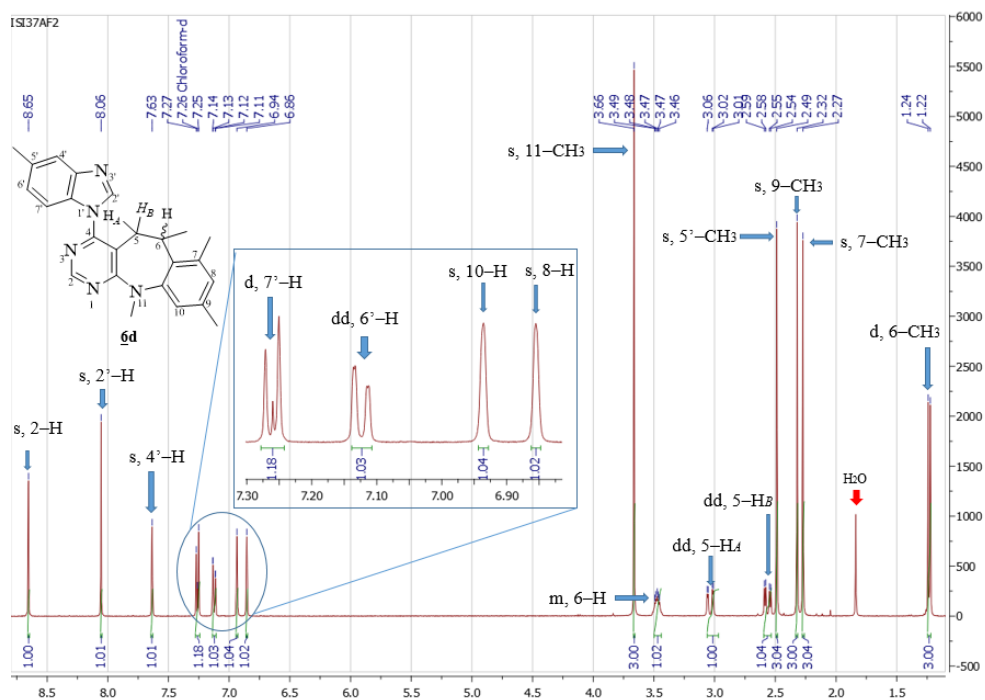
La interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de protones (anexos 28 y 33) y de carbono 13 (anexos 29 y 34), proporcionó todas las evidencias que se requerían para completar la identificación inequívoca de los nuevos híbridos moleculares sintetizados. Para exponer la manera como se determinó que la ciclación de Friedel–Crafts de todos los precursores **5** transcurrió por el modo 7-*exo-trig* y no por el modo 6-*exo-trig*, se seleccionaron los espectros de RMN ^1H de los productos de ciclación **6d** (Figura 17) y **6f** (Figura 22), cuyo análisis se presenta a continuación. En estos dos espectros se aprecia claramente que las señales de los protones del fragmento alílico han desaparecido, y que a campo alto, en aproximadamente 1.23 ppm, aparece un nuevo doblete que integra para tres protones (este doblete aparece duplicado en el caso de **6f**). Este doblete, que fue asignado a los protones del grupo metilo de la posición C-6, es la prueba más contundente de la ocurrencia de la ciclación de los precursores por el modo 7-*exo-trig*, y, por consiguiente, de la formación exclusiva del nuevo anillo azepínico, ya que de haber procedido la ciclación por el modo 6-*exo-trig*, entonces, con toda seguridad, se observaría un triplete. La formación exclusiva del anillo central azepínico se corroboró, adicionalmente, con la presencia de los dos singuletes que se registraron en ≈ 6.84 y 6.94 ppm, cada uno de los cuales, a diferencia de sus homólogos en los precursores, integra para un protón; estos singuletes fueron asignados a los protones 8-H y 10-H, respectivamente.

Otras señales que refuerzan la formación del anillo azepínico son las generadas por los nuevos protones diastereotópicos 5- $\text{H}_\text{A}\text{H}_\text{B}$, y la generada por el nuevo protón enantiotópico 6-H. En el caso del espectro de **6d**, las señales de los protones diastereotópicos se registran como dobletes de dobletes centrados en 3.04 (5- H_A) y 2.56 (5- H_B) ppm, y con constantes de acoplamiento de 16.7 y 2.6 Hz (5- H_A), y 16.7 y 4.9 Hz (5- H_B), mientras que la señal del protón 6-H se registra como un multiplete en 3.44–3.51 ppm. De los dos valores relativamente pequeños de las

constantes de acoplamiento vecinales entre los protones 5-H_AH_B y el protón 6-H, (2.6 y 4.9 Hz), se puede inferir que este último adopta una orientación pseudoecuatorial y, en consecuencia, el grupo metilo en C-6 se ve obligado a adoptar una disposición pseudoaxial; esta disposición pseudoaxial del grupo 6-CH₃ es contraria a la disposición pseudoecuatorial que adopta en los híbridos **6a**, **6b**, **6c** y **6c'**, en los cuales el valor de la constante de acoplamiento vecinal entre el protón 5-H_A y 6-H (≈ 10.4 Hz) es característico para acoples axial-axial, mientras que el valor de la constante de acoplamiento vecinal entre el protón 5-H_B y 6-H (≈ 1.7 Hz) se ajusta más a los valores para acoples ecuatorial-axial. Que el grupo 6-CH₃ en el híbrido **6d** esté obligado a adoptar una disposición pseudoaxial, se puede explicar también por la eventual desaparición o minimización substancial de las interacciones de repulsión entre estos protones y los protones del grupo metilo ubicado en la posición C-7, interacciones éstas que sí tendrían lugar si 6-CH₃ adoptara una disposición pseudoecuatorial.

Retomando el análisis del espectro, se observa que en la zona de campos intermedio y alto se registran cuatro singuletes, cada uno de los cuales integra para tres protones, que fueron asignados a los cuatro grupos metilo presentes en la molécula: el 11-CH₃ (3.66 ppm), el 5'-CH₃ (2.49 ppm), el 9-CH₃ (2.32 ppm), y el 7-CH₃ (2.27 ppm), respectivamente. Al igual que en el espectro de su precursor, pero con diferentes valores de δ , los tres protones del anillo de benceno del benzimidazol resuenan como doblete de dobletes (aparente) (7.12 ppm, para 6'-H), doblete (7.26 ppm, para 7'-H), y singulete (7.63 ppm, para 4'-H). Por último, a campo más bajo, en 8.06 y 8.65 ppm, se registran dos singuletes que fueron asignados a los protones 2'-H y 2-H de los anillos del benzimidazol y de la pirimidina, respectivamente.

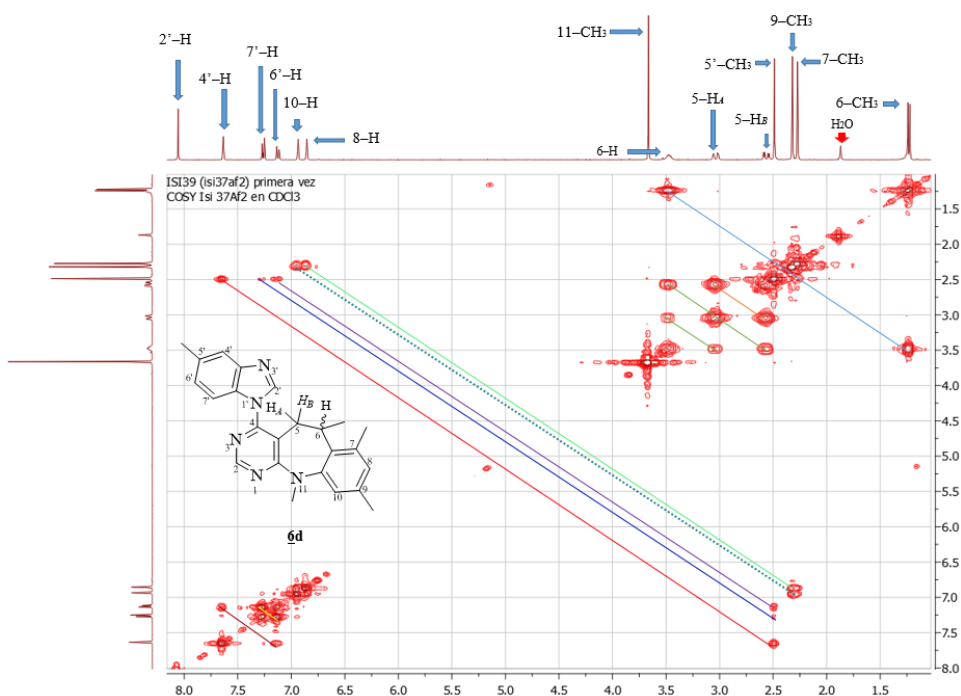
Figura 17. Espectro de ^1H RMN del híbrido molecular **6d** con las asignaciones de los protones



Las asignaciones inequívocas de todos los protones se efectuaron con base en la información suministrada por los espectros de correlación homonuclear COSY ^1H - ^1H . A modo de ejemplo, en la figura 18 se reproduce el espectro COSY de **6d**, en el que se resaltan con líneas coloreadas los acoplamientos geminales y vecinales que tienen lugar entre los protones alifáticos del anillo azepínico central. La línea azul representa el acoplamiento vecinal entre los protones 6-CH_3 y el protón metínico 6-H ; las líneas verdes claro representan los acoplamientos vecinales entre los protones diastereotópicos 5-H_A / 5-H_B y el protón enantiotópico 6-H ; y con la línea amarillo pardo, el acoplamiento geminal entre los protones 5-H_A y 5-H_B . Asimismo, los acoplamientos a cuatro enlaces que se observan con nitidez entre los protones aromáticos 8-H y 10-H y sus correspondientes grupos metilo vecinos se representan con las líneas verde oliva y verde punteada. Interacciones similares a

cuatro enlaces e incluso a cinco enlaces, se observan también entre los protones 4'-H, 6'-H y 7'-H y los protones del grupo metilo 5'-CH₃ (líneas roja, morada y azul oscuro, respectivamente). Finalmente, el acoplamiento *orto* entre los protones 6'-H y 7'-H, así como el acoplamiento *meta* entre 4'-H y 6'-H se resaltan con las líneas amarillo y vino tinto, respectivamente.

Figura 18. Espectro de correlación homonuclear COSY ¹H-¹H del híbrido molecular **6d**.

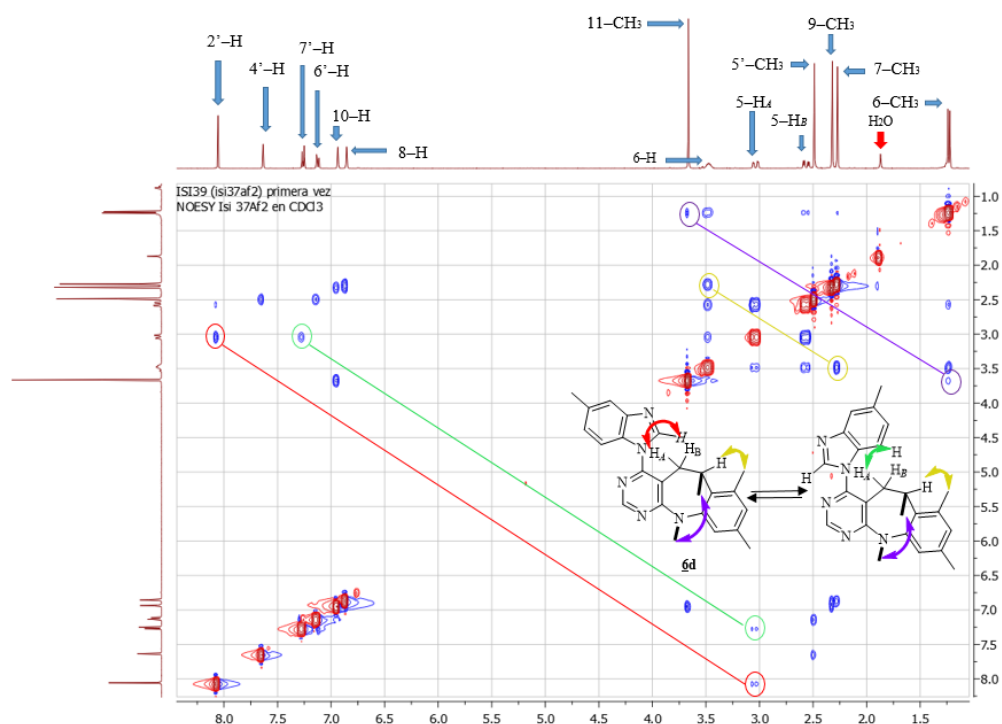


Al analizar el espectro NOESY de **6d** (Figura 19), se observa que tanto la señal del protón 2'-H como la del protón 7'-H del benzimidazol generan su correspondiente cross-peak con la señal del protón metilénico diastereotópico 5-H_A del anillo azepínico (interacciones espaciales resaltadas con las líneas roja y verde oliva, respectivamente). De la presencia de estas dos interacciones espaciales se puede inferir que la rotación en torno al enlace 4-C/1'-N, que es el que conecta al anillo

de la pirimidina con el anillo de benzimidazol, no está “restringida”, y, en consecuencia, en solución, **6d** existe como mezcla de rotámeros, que resultan ser indistinguibles por RMN. De manera similar, se comprobó que este comportamiento conformacional también es una propiedad inherente de los homólogos **6a-c** y **6'c**.

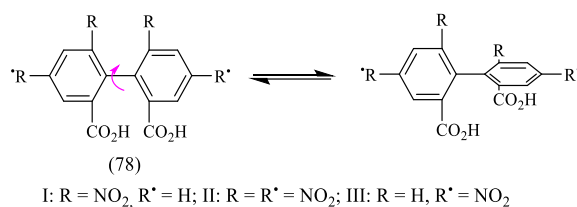
Otra interacción espacial interesante que se registra en el espectro NOESY de **6d**, es la que tiene lugar entre los protones de los grupos metilo 6-CH₃ y 11-CH₃ (línea morada), ya que ésta indica que dichos grupos tienen una disposición *cis* uno respecto del otro. Por último, con el cross-peak que se observa entre la señal del protón enantiotópico 6-H y la de los protones metílicos 7-CH₃ (línea amarilla) se reconfirma, una vez más, la asignación correcta que se hizo de la señal generada por estos últimos (singulete), y, al mismo tiempo, la disposición pseudoaxial del grupo 6-CH₃.

Figura 19. Interacciones espaciales registradas en el espectro NOESY del derivado **6d**.



Antes de presentar el análisis sobre las características rotacionales del híbrido molecular **6f**, que también son comunes para su homólogo **6e**, es pertinente hacer una breve descripción de lo que se entiende por quiralidad axial. Este término, acuñado por Richard Kuhn, en el año 1932, es utilizado para referirse al estereoisomerismo que resulta de la disposición no planar de cuatro grupos de dos en dos alrededor de un eje quiral, de modo que la disposición espacial resultante no se puede superponer sobre su imagen especular. Esta clase de estereoisomerismo está ejemplificada por alenos y por atropoisómeros, es decir, confómeros (rotámeros) que resultan de la rotación restringida alrededor de enlaces simples, donde la barrera energética de rotación es lo suficiente grande como para permitir el aislamiento de especies enantiopuras.⁷⁸ Kuhn estableció dos condiciones necesarias para la existencia de quiralidad axial en moléculas semejantes al biarilo: una rotación sobre un eje estable, y la presencia de sustituyentes diferentes en ambos lados del eje. A modo de ejemplo, en la figura 20 se presentan los rotámeros del ácido [1,1'-bifenil]-2,2'-dicarboxílico (**78**) estudiados por Christie y Kenner.⁷⁹

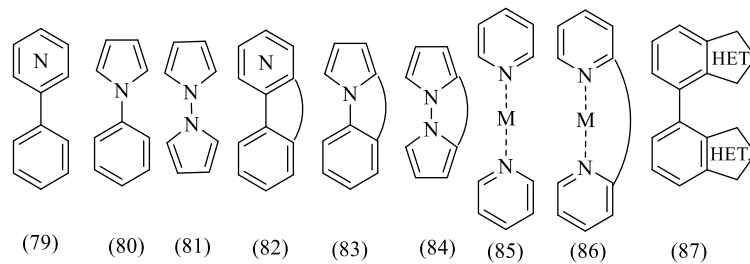
Figura 20. Rotámeros del ácido [1,1'-bifenil]-2,2'-dicarboxílico (**78**)



Los estudios por comprender mejor a esta clase de sistemas y sobre todo a la rotación de ese eje estable, han estado dirigidos a la determinación experimental y teórica de los ángulos interanulares en la conformación de equilibrio de los mismos. El fenómeno del atropoisomerismo se ha observado en diferentes sistemas, siendo los más estudiados las piridinas del tipo (**79**), por rotación alrededor de un enlace

C–C, los pirroles del tipo **(80)**, por rotación alrededor de un enlace C–N, los *N,N'*-bipirroles del tipo **(81)**, por rotación alrededor de un enlace N–N, las piridinas *orto*–*orto'*-ligando puente del tipo **(82)**, por rotación alrededor de un enlace C–C, los pirroles *orto*–*orto'*-ligando puente del tipo **(83)**, por rotación alrededor de un enlace C–N, los *N,N'*-bipirroles *orto*–*orto'*-ligando puente del tipo **(84)**, por rotación alrededor de un enlace N–N, los complejos de piridina del tipo **(85)**, por rotación alrededor de enlaces N–metal, y los complejos de piridina *orto*–*orto'*-ligando puente del tipo **(86)**, también por rotación alrededor de enlaces N–metal. También se observa atropoisomerismo en sistemas del tipo **(87)**, en los cuales dos benzoheterociclos (quinolinas, indoles, benzimidazoles, etc.) están conectados, generalmente, a través de sus anillos de benceno (enlace C–C), aunque se conocen casos en los que la conexión de los anillos es a través de un enlace N–C.⁸⁰

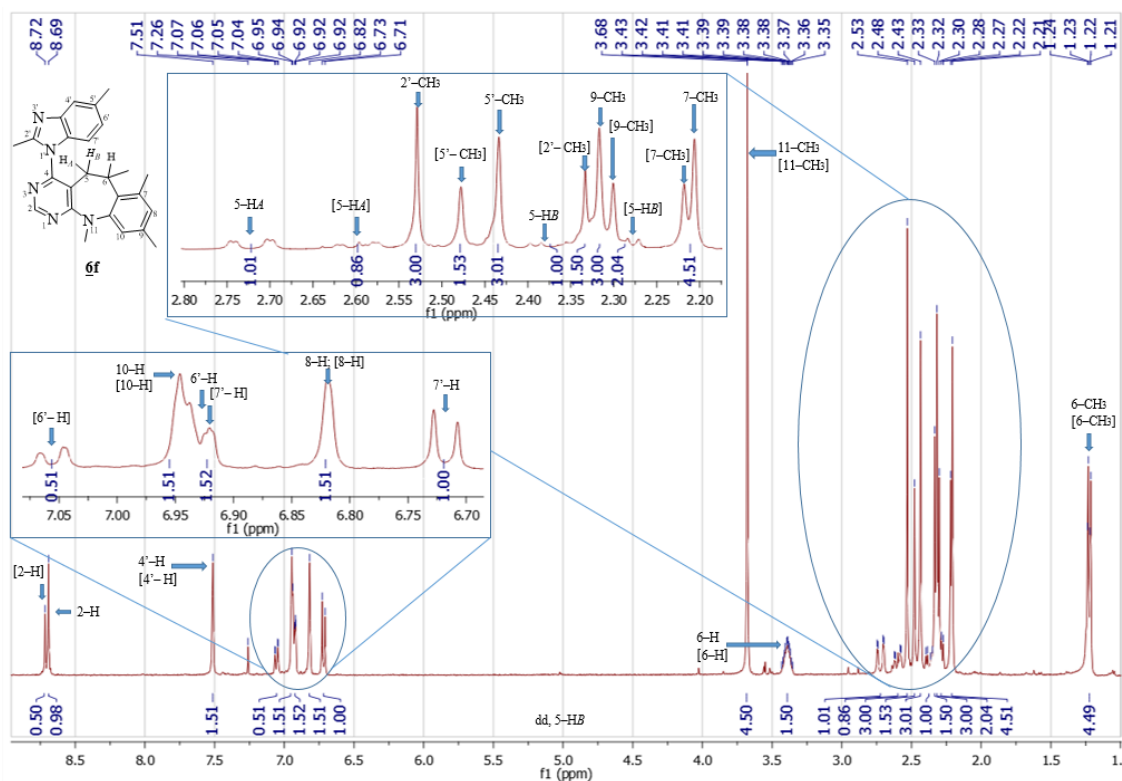
Figura 21. Tipos de sistemas bicíclicos que presentan atropoisomerismo



Con base en lo anterior, ahora sí se puede presentar el análisis detallado del espectro de RMN ¹H del híbrido molecular **6f**, con ayuda del cual se determinó que este compuesto, y, de igual manera, su homólogo **6e**, representa una mezcla de atropisómeros, que resultan de la rotación restringida en torno al enlace C₄–N₁ que conecta al núcleo de la pirimidina con el anillo de benzimidazol (por analogía al atropoisomerismo que se observa en el sistema **87**, pero por rotación en torno al enlace C–N).

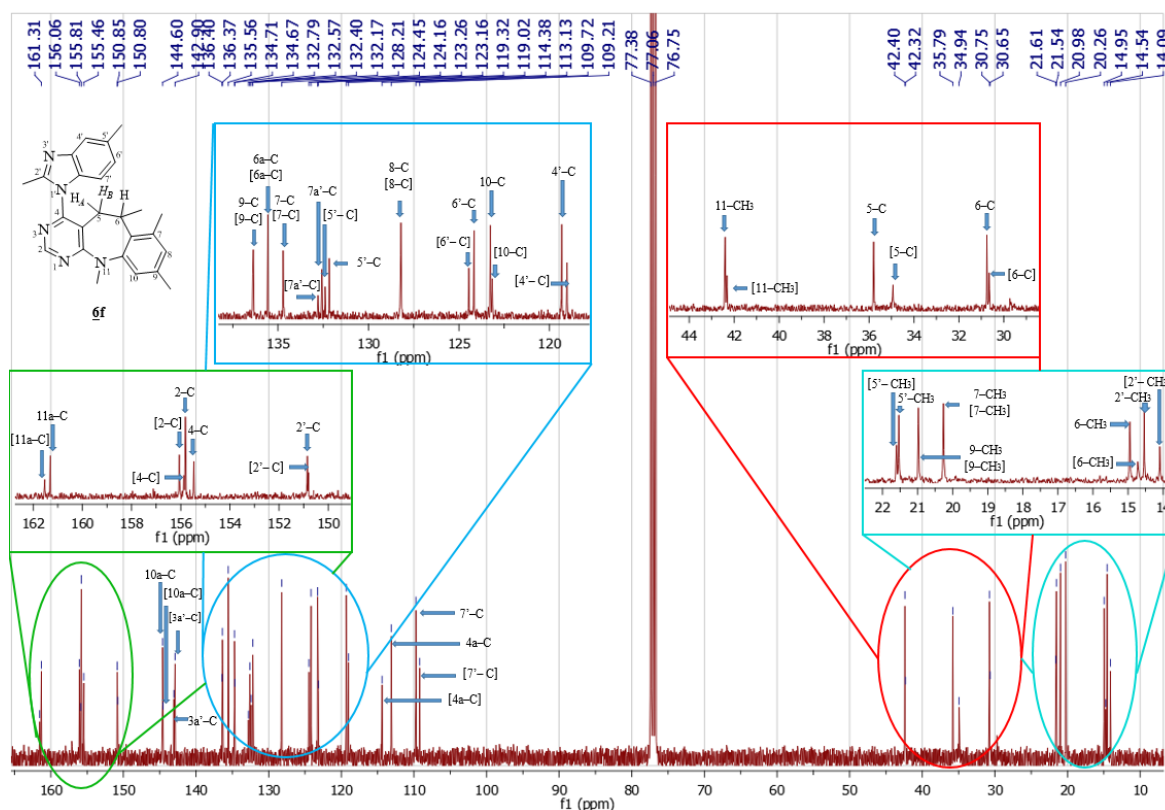
¿Cómo se llegó a esta conclusión? Lo primero que llama la atención al analizar el espectro de este compuesto es que muchas de las señales están duplicadas, y que lo hacen presentando la misma multiplicidad y con prácticamente las mismas constantes de acoplamiento (ver parte experimental, sección 6.5). Después, para cuantificar la relación de los dos rotámeros, se midieron las áreas de cada una de las señales registradas, determinándose que ellos se encuentran en una relación 1:0.5. A continuación, utilizando como referencia los desplazamientos químicos registrados para los protones de los homólogos **6a-d** y **6c'** (ver parte experimental, sección 6.5), se realizó la asignación de todas las señales (resueltas y solapadas), las cuales fueron corroboradas inequívocamente con ayuda de los acoplamientos geminales, vecinales y a más de tres enlaces que se registraron en el espectro COSY. El resultado de dicho análisis combinado y exhaustivo fueron las asignaciones que, para mayor claridad, se incluyeron directamente sobre cada una de las señales del espectro de RMN ^1H que se reproduce en la figura 22 (las asignaciones que aparecen en corchete pertenecen a los protones del atropoisómero minoritario).

Figura 22. Espectro de RMN ^1H del híbrido molecular **6f** con las asignaciones de los protones.



Que el híbrido molecular **6f** representa una mezcla de atropoisómeros, distinguibles por RMN ^1H , se puede apreciar mejor en su espectro de RMN ^{13}C , en el que prácticamente todas las señales de los carbonos se encuentran duplicadas. Para la asignación inequívoca de cada una de estas señales se tuvieron en cuenta las correlaciones C–H que se registraron en los espectros de correlación heteronuclear HMBC y HSQC. De este análisis combinado y exhaustivo resultaron las asignaciones definitivas de todos los carbonos, las cuales, para mayor claridad, se incluyeron directamente en el espectro de RMN ^{13}C que se reproduce en la figura 23 (las asignaciones que aparecen en corchete pertenecen a los carbonos del atropoisómero minoritario).

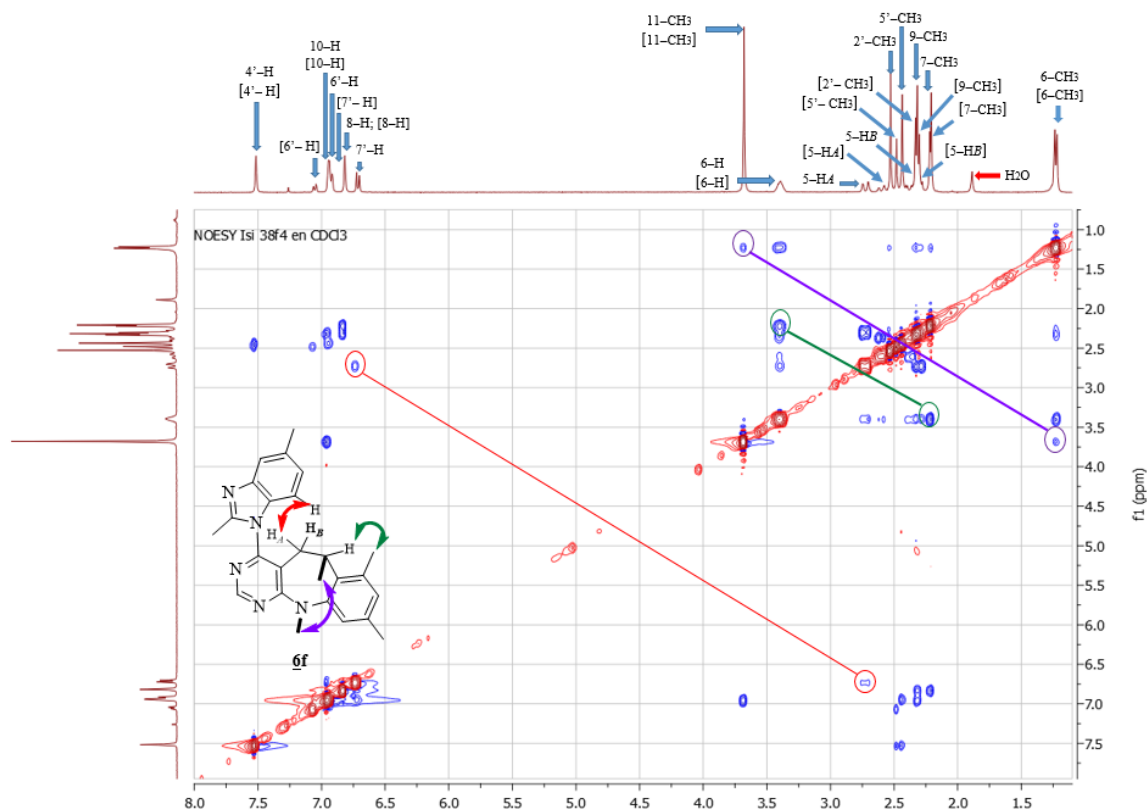
Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C del híbrido molecular **6f** con las asignaciones de los carbonos



Mediante un razonamiento similar al que se utilizó para dilucidar los aspectos estereoquímicos del híbrido **6d**, usando para ello nuevamente los valores de las constantes de acoplamiento que presenta el protón diastereotópico 5-H_A de los dos rotámeros (dd, $J = 17.1, 2.3$ y $[J = 16.8, 2.4]$ Hz), muy similares, por cierto, a las del mismo protón de su homólogo **6d**, se llega a la conclusión que en los rotámeros **6f** la disposición del grupo 6-CH₃ también debe ser pseudoaxial. La disposición pseudoaxial de este grupo fue corroborada en el espectro NOESY (Figura 24), al no registrarse ningún “cross-peak” entre las señales de estos protones y las señales generadas por los protones del grupo metilo en C-7; en su lugar, se registró un “cross-peak” entre las señales de estos últimos y la señal del protón enantiotópico

6-H (línea verde oscuro). La disposición pseudoaxial del grupo 6-CH₃ también podría ser la causa de la aparición del “cross-peak” entre la señal de éstos y la señal de los protones del grupo 11-CH₃ (línea morada), interacción espacial que, a su vez, indica que estos dos grupos tienen una orientación *cis* uno respecto del otro. Por último, la interacción espacial que se registró entre el doblete centrado en 6.72 ppm, que fue asignado al protón 7'-H, y el doblete de dobletes centrado en 2.72 ppm, que fue asignado al protón diastereotópico 5-H_A (línea roja), así como la aparente ausencia de interacciones espaciales entre la señal de los protones metílicos 2'-CH₃ y cualquiera de las señales de los protones 5-H_AH_B, 6-H y 6-CH₃, son una prueba fehaciente de que el rotámero mayoritario es el que se ha representado con la estructura que se muestra sobre el espectro.

Figura 24. Expansión del espectro NOESY del derivado **6f**



Aunque la estructura de **6f** quedó completamente confirmada por RMN, surge, sin embargo, la siguiente pregunta: ¿por qué cuando se analizó este compuesto por CG-MS sólo se registró un único pico cromatográfico ($t_R \approx 60$ min) y un único ión molecular?. La respuesta proviene de la misma técnica de análisis. En CG-MS, antes de ingresar a la cámara de ionización, el compuesto analizado debe previamente eluir de una columna cromatográfica que ha sido calentada hasta los 250 °C, y es a través de este drástico calentamiento que los rotámeros de **6f** adquieren la suficiente energía para superar la barra energética rotacional y puedan, entonces, a través del enlace C₄-N₁, interconvertirse “libremente”, y a una velocidad tan alta que el cromatógrafo no alcanza a registrarlos como entidades químicas individuales; siendo así, que sólo se haya registrado un único pico cromatográfico. En el caso particular del híbrido molecular **6f**, la mutua interconversión por rotación “no restringida” de sus dos rotámeros se ve favorecida por la disposición pseudoaxial del grupo 6-CH₃, pues ésta es la disposición que menos impedimento estérico crea para que se produzca la rotación. No ocurre así con el híbrido molecular **6e**, cuyo paso por la columna cromatográfica, calentada con la misma rampa de calentamiento que se utilizó para **6f**, no produjo la suficiente excitación de sus dos rotámeros para que se interconvirtieran “libremente”, lo que trajo consigo que cada uno eluyera de la columna cromatográfica como un ente individual, generando su correspondiente pico cromatográfico con su respectivo tiempo de retención (47 y 50 min), después de lo cual ingresaron a la cámara de ionización, donde cada uno generó su correspondiente ión molecular, aunque ambos con la misma relación $m/z = 369$; como ya se comentó, estos iones moleculares exhiben el mismo patrón de fragmentación.

Si durante el análisis de **6e** y **6f** se emplearon exactamente las mismas condiciones experimentales, entonces, ¿cómo explicar que los rotámeros de **6f** sí se interconvierten “libremente”, mientras que para los rotámeros de **6e** su

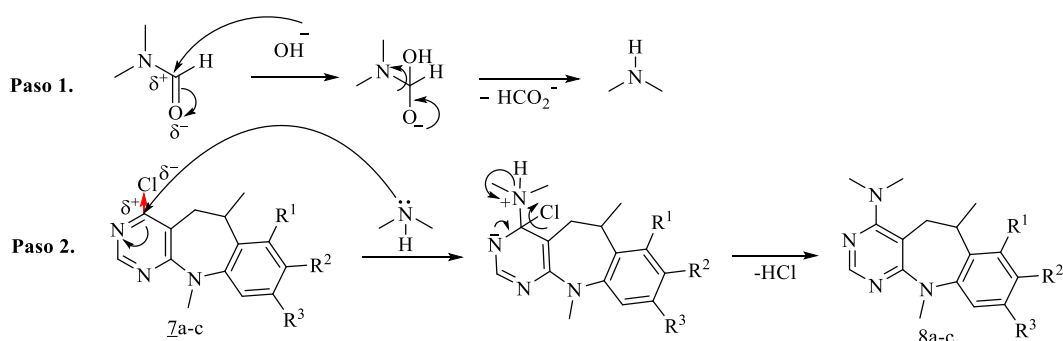
interconversión está restringida? Todo parece indicar que el factor estructural que favorece la rotación y/o la restringe, es la disposición opuesta que el grupo 6-CH₃ ocupa en cada uno de los híbridos. En consecuencia, es evidente que el grupo 6-CH₃ en el híbrido **6e**, al adoptar una disposición pseudoecuatorial, crea suficiente impedimento estérico que dificulta, en un alto grado, la mutua interconversión de los rotámeros.

7.5 FUNCIONALIZACIÓN DE LAS 4-CLORO-6,11-DIMETIL-5,6-DIHI-DRO-11H-BENZO[b]PIRIMIDO[5,4-f]AZEPINAS **7a-c**

Teniendo en consideración el carácter electrodeficiente del anillo de la pirimidina, no resulta difícil, entonces, inferir que la presencia de un átomo de cloro en dicho heterociclo, máxime estando ubicado en una posición que es *alfa*- y *gama*-respecto de los dos nitrógenos piridínicos del anillo, ofrece una magnífica oportunidad para realizar la funcionalización dirigida de esa posición con diferentes agentes nucleofílicos, a través de la reacción clásica de sustitución nucleofílica aromática. Este fue precisamente el enfoque sintético que se utilizó en la última parte de esta investigación (ya probado con éxito, por cierto, en la síntesis de los precursores **5a-f**), con ayuda del cual se logró el cumplimiento del segundo objetivo propuesto al inicio de la investigación, el cual consistía en desarrollar las dos pequeñas series de las 4-(dimetilamino)-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **8a-c** y 4-butoxi-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **9a-c**, compuestos nuevos que fueron sintetizados con el propósito de estudiar su potencial actividad anticancerígena.

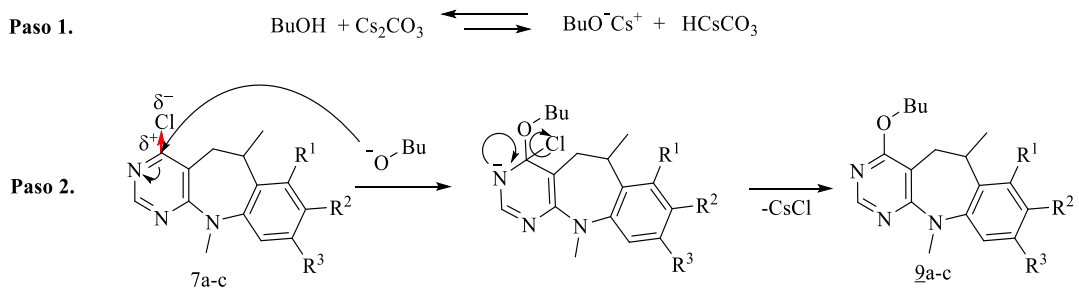
Para acceder a estos nuevos derivados, las 4-cloro-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **7a-c**, preparadas previamente en el LSO,⁵⁴ se calentaron por separado en una solución 2 M de KOH en DMF, y en *n*-butanol en la presencia de Cs₂CO₃. Se encontró que en las condiciones de calentamiento prolongado utilizadas, la DMF se hidroliza por acción de la solución de KOH, generando *in situ* dimetilamina, que, al parecer, es el agente nucleofílico encargado de realizar la sustitución nucleofílica del átomo cloro, promoviendo así la formación de los productos de aminólisis **8a-c** (**Esquema 24**).

Esquema 24. Posible mecanismo de la reacción de aminólisis de las piridobenzoazepinas **7a-c** con el sistema DMF/KOH.



De manera análoga, se presume que el butanol al reaccionar con el carbonato de cesio genera una concentración pequeña de butóxido de cesio, que actúa como un nucleófilo fuerte capaz de sustituir con gran eficacia al átomo de cloro, promoviendo así la formación de los productos de butanólisis **9a-c** (**Esquema 25**).

Esquema 25. Posible mecanismo de la reacción de butanólisis de las piridobenzazepinas **7a-c** con el sistema $K_2CO_3/n\text{-BuOH}$.



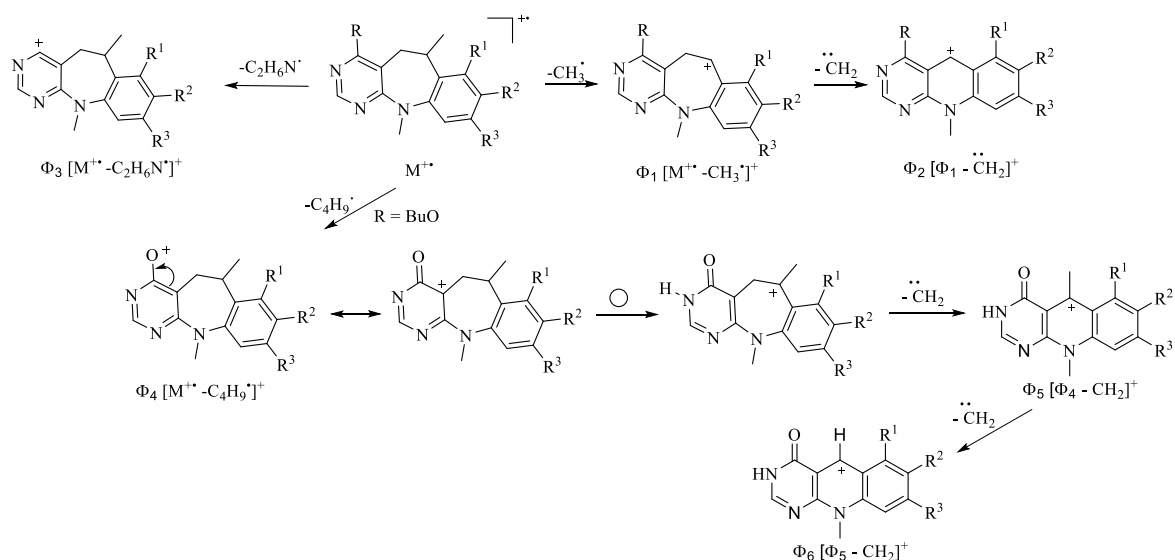
Después del correspondiente tratamiento de los crudos de reacción y de la purificación de los mismos por cromatografía en columna, los productos de aminólisis **8a-c** y de butanólisis **9a-c** fueron aislados con rendimientos del 87–97% y 95–99%, respectivamente.

Los nuevos productos **8a-c** y **9a-c** fueron caracterizados con ayuda de las mismas técnicas espectroscópicas que se utilizaron en la caracterización de los productos intermedios y finales ya descritos. Los espectros de infrarrojo de estos compuestos son bastante parecidos (anexos 36 y 41), ya que registran prácticamente las mismas bandas de absorción; la única diferencia notoria se observa para los derivados **9a-c**, en cuyos espectros, cerca de los 1118 cm^{-1} , se registra una banda de absorción característica que, presumiblemente, es debida a la tensión asimétrica del enlace C–O. Teniendo en consideración los datos de IR reportados previamente para los compuestos **7a,c**,⁵⁴ es fácil constatar que la banda de tensión del enlace C–Cl ya no se registra en los espectros de **8a,c** y **9a,c**, lo cual constituye una prueba directa de que la sustitución del átomo de cloro efectivamente ocurrió.

Los espectros de masas (anexos 37 y 42) también corroboraron la formación de los derivados **8a-c** y **9a-c**, al registrar los correspondientes iones moleculares, cuyas relaciones m/z coinciden con los pesos moleculares de sus fórmulas condensadas. Como se puede apreciar en el esquema 26, las fragmentaciones principales que se proponen para los iones moleculares de **8a-c** están definidas por la pérdida de un radical metilo, que condiciona la generación del ión fragmento Φ_1 , el cual resulta ser el ión pico de base para los derivados **8a** y **8b**; en una subsiguiente fragmentación, Φ_1 decae por la pérdida de un metileno y se transforma en el ión fragmento Φ_2 , que resulta ser el ión pico de base para el derivado **8c**. Por otro canal de fragmentación, los iones moleculares de **8a-c** pierden el grupo dimetilamino de la posición C-4 y generan el ión fragmento Φ_3 de intensidad intermedia ($\approx 15\%$).

De otro lado, al igual que los iones moleculares de **8a-c**, los iones moleculares de **9a-c**, de los cuales el de **9a** y el de **9c** resultaron ser los iones pico de base, también generan los iones fragmento Φ_1 y Φ_2 . Adicionalmente, estos tres iones moleculares sufren una escisión alfa al oxígeno y pierden el radical butilo C_4H_9 con la concomitante generación del ión fragmento Φ_4 de alta intensidad ($\approx 72\%$), el cual decae por sucesivas pérdidas de dos metilenos, generando los respectivos iones fragmento Φ_5 y Φ_6 , siendo este último el ión pico de base para el derivado **9b**.

Esquema 26. Patrón de fragmentación propuesto para los iones moleculares de los derivados **8a-c** y **9a-c**



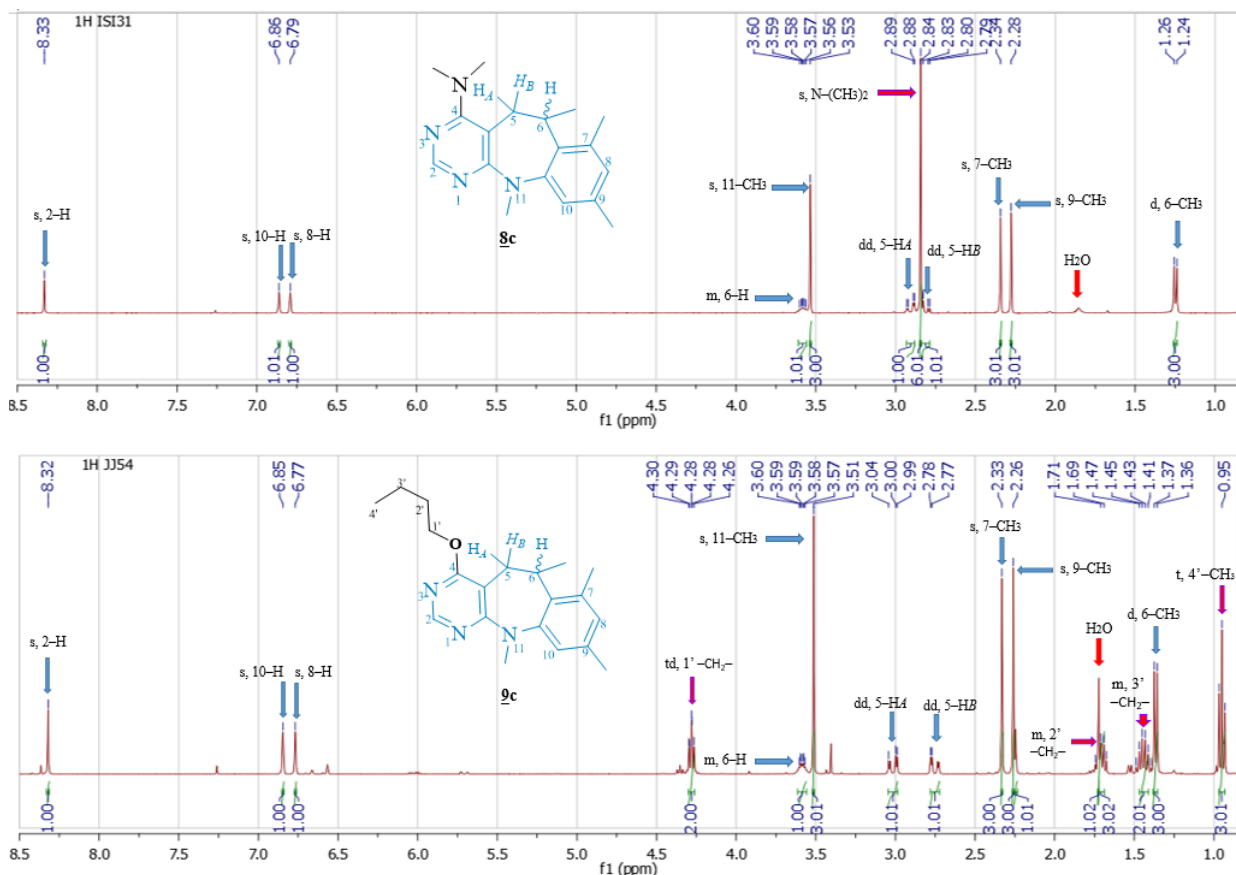
Finalmente, el análisis de **9a-c** por espectrometría de masas de alta resolución (anexo 6.5), proporcionó sus masas exactas y sus fórmulas condensadas (ver parte experimental, sección 6.7).

El análisis de los productos **8a-c** y **9a-c** por resonancia magnética nuclear monodimensional y bidimensional corroboró la identidad inequívoca de cada uno de los productos esperados (ver parte experimental, sección 6.7). Con el propósito de abreviar el análisis de la caracterización de estas dos clases de derivados, se seleccionaron los espectros de RMN 1H de **8c** y **9c**, (anexos 38 y 43), los cuales se reproducen en la figura 25. En estos dos espectros se observa perfectamente que las multiplicidades de las señales de los protones (aromáticos y alifáticos) del sistema tricíclico de la pirimidobenzoazepina son exactamente las mismas e incluso con prácticamente los mismos desplazamientos químicos y con leves diferencias en los valores de las constantes de acoplamiento, especialmente para los protones

diastereotópicos 5-H_A y 5-H_B; en el espectro de **8c**, los dobletes de dobletes de los protones 5-H_A y 5-H_B se encuentran centrados en 2.91 ($J = 16.1, 3.3$ Hz) y 2.81 ppm ($J = 16.1, 3.3$ Hz), mientras que en el de **9c** se registran en 3.02 ($J = 17.2, 4.4$ Hz) y 2.75 ppm ($J = 17.2, 3.6$ Hz), respectivamente. De los valores relativamente pequeños de las constantes de acoplamiento vecinales de estos dos protones con el protón enantiotópico 6-H, se puede inferir que en **8c** y **9c**, al igual que en **6d** y **6f**, la disposición del grupo 6-CH₃ también debe ser pseudoaxial.

Las diferencias entre los dos espectros las constituyen las señales de los nuevos grupos que se introdujeron en el sistema tricíclico como resultado de la aminólisis y butanólisis. Así, en el espectro de **8c**, en 2.84 ppm, se registra un singulete que integra para 6 protones, el cual, sin lugar a dudas, es generado por los protones del grupo dimetilamino ubicado en C-4. Por su parte, en el espectro de **9c** se registran cuatro nuevas señales que integran para nueve protones: centrado en 4.29 ppm aparece un triplete de dobletes ($J = 6.6, 1.0$ Hz), que fue asignado a los protones metilénicos adyacentes al átomo de oxígeno (1'-CH₂-), a campo más alto, en 1.68–1.73 ppm, se registra un multiplete que fue asignado a los protones metilénicos 2'-CH₂-, el multiplete que aparece en 1.42–1.47 ppm fue asignado a los protones 3'-CH₂-, y, finalmente, el triplete ($J = 7.4$ Hz) que se encuentra centrado en 0.94 ppm es generado por los protones del grupo metilo terminal 4'-CH₃ del fragmento butoxilo.

Figura 25. Espectros de RMN ^1H de los derivados **8c** y **9c** con las asignaciones de todos los protones



7.6 ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE LAS NUEVAS 6,11-DIHIDRO-5H-BENZO[*b*] PIRIMIDO[5,4-*f*]AZEPINAS 4-SUSTITUIDAS SINTETIZADAS

El término «cáncer» designa a un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier órgano del cuerpo, y que frecuentemente se asocia con «tumores malignos» o «neoplasias». Este grupo de enfermedades se caracteriza por el crecimiento descontrolado de células anormales, que de no controlarse se diseminan a otros órganos, lo que se conoce como metástasis,⁸¹ y cuyo desenlace

inevitable es la muerte. El cáncer es causado por factores externos como el tabaco, la polución, algunos virus, y dietas poco saludables, o por factores internos como mutaciones genéticas heredadas, entre muchos otros. Hasta la fecha, se han identificado más de 100 tipos de cáncer,⁸² los cuales se clasifican según el tipo de célula del que proceden. La mayoría de los cánceres conocidos se incluyen en uno de los siguientes tipos principales: carcinomas, sarcomas, leucemias, linfomas y mielomas. Los tumores, a su vez, se clasifican nuevamente de acuerdo al tejido u órgano de origen (por ejemplo, carcinoma de pulmón, o de mama).⁸³

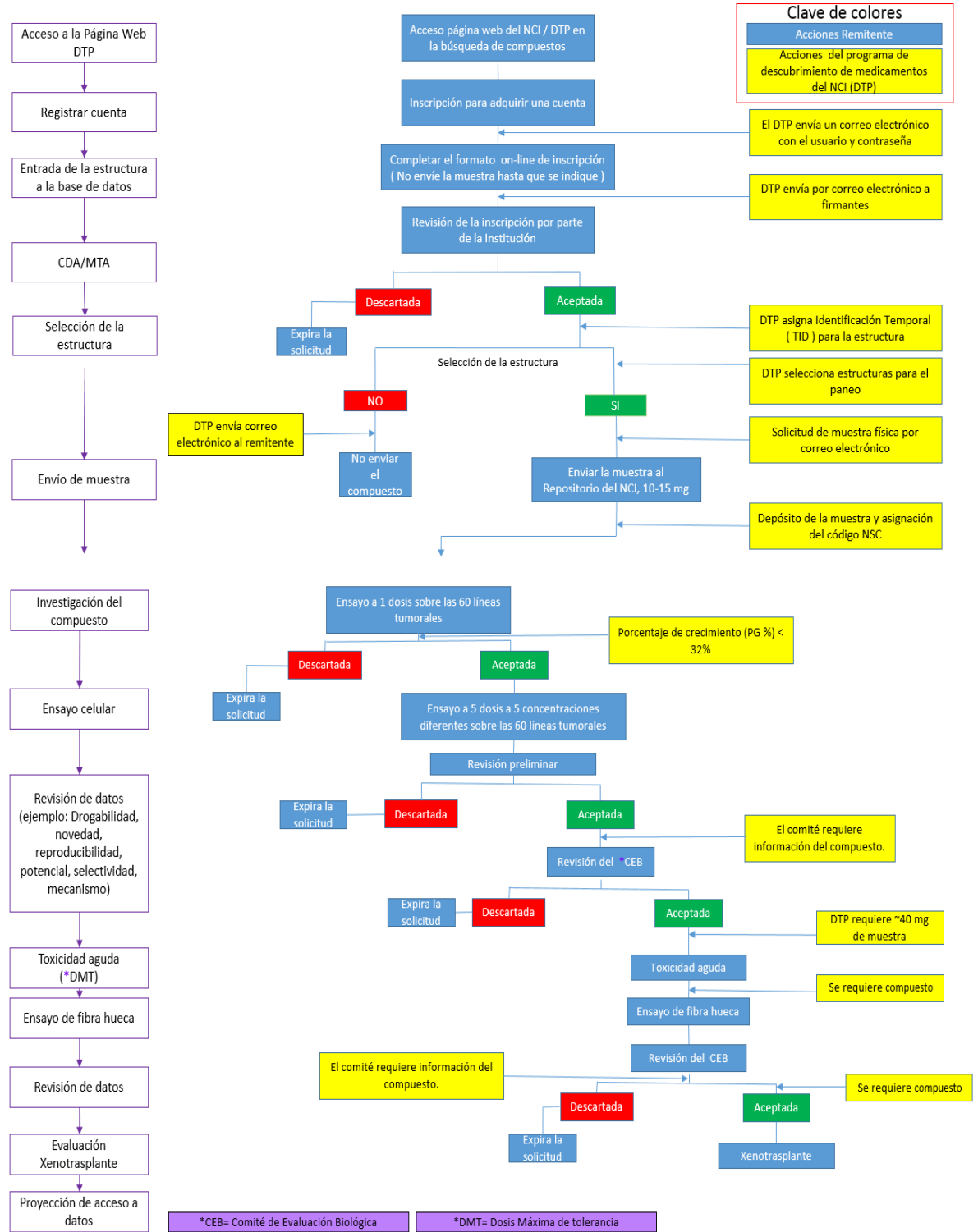
El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Según el último reporte publicado por la Organización mundial de la salud (OMS), en el año 2012 se registraron 14.1 millones de casos de pacientes diagnosticados con esta enfermedad, y alrededor de 8.2 millones de muertes a causa de ella.⁸⁴ Según el perfil de enfermedades no transmisibles de la OMS del año 2014, en Colombia, después de las enfermedades cardiovasculares, los distintos tipos de cáncer fueron la segunda causa de muerte, atribuyéndoseles el 17% de las defunciones documentadas en el país.⁸⁵ De otra parte, los datos estadísticos del Instituto Nacional de Cancerología (INC), indican que en en el país, durante los años 2007–2011, se registraron 29.734 casos nuevos de cáncer por año en hombres y 33.084 casos en mujeres. Durante ese mismo período, los diferentes tipos de cáncer causaron 16.081 muertes por año en la población masculina y 16.572 en la femenina. Entre los hombres, los tipos de cáncer más frecuentes fueron: próstata, estómago, pulmón, colon–recto y ano, y linfomas no Hodgkin, mientras que en las mujeres, el cáncer de mama, cuello del útero, colon–recto, ano, estómago y tiroides fueron los más prevalentes.⁸⁶

Debido a que el cáncer constituye un enorme problema de salud pública que no reconoce fronteras ni condición social, se han creado múltiples instituciones

gubernamentales y privadas que tienen como misión fundamental encontrar una solución radical a esta problemática. Una de esas instituciones es el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos de América (NCI), ente que desde su apertura, en el año 1955, y a través de diversos programas, ha facilitado el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes terapéuticos anticancerígenos.

Uno de los programas que ha creado el NCI, y al que se puede acceder de manera gratuita, es el de Cribado sobre 60 líneas celulares de tumores humanos (en inglés, NCI-60 Human Tumor Cell Lines Screen). Este programa, del cual el LSO es un beneficiario activo, brinda la oportunidad a investigadores de todo el mundo de proponer nuevas moléculas de origen sintético y natural para que sea estudiada su actividad anticancerígena sobre un panel constituido por nueve subpaneles que incluyen células de leucemia, melanoma, pulmón, colón, ovario, próstata, mama, sistema nervioso central y riñón, y que suman un total de 60 diferentes líneas celulares tumorales de origen humano.⁸⁷ En el diagrama de flujo que se presenta en la figura 26, y que fue extraído del original publicado en la página web del NCI, se resume cada una de las etapas de los estudios de actividad anticancerígena que se realizan en dicho instituto para el descubrimiento de nuevos medicamentos.⁸⁸

Figura 26. Diagrama de flujo de los ensayos de actividad anticancerígena realizados por el NCI



Como se deduce del diagrama de flujo, para que un compuesto sea estudiado por el NCI, inicialmente se propone su estructura, y de ser seleccionada, se envía al instituto. Siguiendo estos lineamientos, trece de las estructuras de las nuevas series de 6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]-pirimido[5,4-*f*]azepinas 4-sustituidas **6a-f**, **8a-c** y **9a-c** fueron sometidas al proceso de preselección, y de éstas, once fueron seleccionadas (**6a-d**, **6f**, **8a-c**, **9a-c**). La evaluación *in vitro* de la actividad antitumoral de los compuestos elegidos se realiza en dos fases; la primera consiste en su evaluación a una única dosis (10^{-5} M) sobre el panel completo de las 60 líneas celulares. A partir de los resultados obtenidos, aquellas moléculas que presenten una actividad que cumpla con los criterios del NCI pasarán a una segunda etapa en la que se probarán sobre el mismo panel de las 60 líneas celulares, pero a cinco diferentes concentraciones 0.01, 0.1, 1.0, 10 y 100 μ M.

7.6.1 Protocolo y parámetros empleados para la evaluación de la actividad anti-cancerígena⁸⁹

Los compuestos seleccionados son inicialmente solubilizados en una mezcla DMSO: glicerol 9:1 a una concentración de 4.0 mM, para el primer ensayo a una única dosis, y 40 mM, para el segundo ensayo a cinco dosis. En ambos casos, en el momento de realizar los ensayos, la solución madre es diluida 1:400 hasta las mayores concentraciones previstas para cada uno de los compuestos (10 o 100 μ M, respectivamente). A partir de estas soluciones se hacen rediluciones para obtener las demás concentraciones requeridas para el ensayo a cinco dosis (0.01, 0.1 y 1.0 μ M). Las 60 líneas celulares de tumores humanos del panel se cultivan en un medio RPMI 1640 que contiene 5% de suero fetal bovino y 2 mM de *L*-glutamina. Las células se inoculan en pozos durante 24 horas a 37 °C, 5% de CO₂, 95% de aire y el 100% de humedad relativa, antes de adicionar los nuevos compuestos. Después

de las 24 horas de incubación, dos pozos de cada línea celular son fijados con ácido tricloroacético (TCA), con el fin de medir la población celular antes de la adición del fármaco (tiempo cero, T_z). Posteriormente, alícuotas de 100 μL del doble de la concentración deseada de las soluciones de los nuevos compuestos se adicionan a cada uno de los pozos que ya contiene 100 μL del medio de cultivo. La solución del compuesto a evaluar contiene gentamicina (antibiótico) a una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Inmediatamente después de que se ha efectuado la adición del fármaco, las células se incuban durante 48 horas a 37 °C, 5% de CO_2 , 95% de aire y el 100% de humedad relativa. Pasado este tiempo, se fijan las células con TCA, y, a continuación, se adiciona una solución de sulforodamina B en 1% de ácido acético, y nuevamente se incuban durante 10 min a temperatura ambiente. Después de la tinción se lee la absorbancia en un lector de placas a 515 nm. Con estos valores de absorbancia se determina el porcentaje de crecimiento (PC), teniendo en cuenta el tiempo cero (T_z), el control de crecimiento (C), y el crecimiento en presencia de los nuevos compuestos evaluados (T_i), usando las siguientes expresiones matemáticas:

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

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

Adicionalmente, para los agentes experimentales que logran pasar a la segunda fase de los ensayos (5 dosis), se calculan tres parámetros a partir de las curvas de dosis–respuesta. El primero de estos parámetros es la concentración para la inhibición del 50% del crecimiento (growth inhibition 50, GI_{50}), que es la

concentración del fármaco que resulta en una reducción del 50% del crecimiento celular de una línea celular dada, con respecto al control. El GI₅₀ corresponde a la concentración del fármaco que cumple con la ecuación 3.

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

El segundo parámetro es la concentración que se requiere para la inhibición total del crecimiento (total growth inhibition, TGI), que corresponde a la concentración del agente experimental que inhibe por completo el crecimiento de una línea celular dada. A esta concentración se cumple que $T_i = T_z$.

Finalmente, el tercer parámetro experimental es la concentración letal 50 (lethal concentration 50, LC₅₀), que es la concentración del fármaco que resulta en una disminución de la población celular del 50%, con respecto a la que había en el tiempo cero T_z. Esta concentración corresponde a aquella para la que se cumple la igualdad 4.

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

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 μM o <0.01 μM).

7.6.2 Resultados del ensayo a una dosis (10 μ M) de los compuestos seleccionados

Los datos obtenidos para el ensayo a una dosis (one-dose data) se reportan en un gráfico de la media (mean-graph), el cual indica el porcentaje de crecimiento de las células cancerígenas tratadas. El número que se reporta en este ensayo es relativo al control sin fármaco y al tiempo cero del cultivo celular. Esto permite determinar el porcentaje de crecimiento (PC) (valores entre 0 y 100), o la letalidad (valores menores que 0). El porcentaje de inhibición del crecimiento se calcula restando el porcentaje de crecimiento de 100. Por ejemplo, un valor de PC de 100 significa que no hay inhibición del crecimiento, un valor de 60 significa un porcentaje de inhibición del crecimiento del 40%, un valor de 0 significa que no hay un crecimiento neto en el curso del experimento, y un valor de -100 significa que todas las células están muertas.

En la tabla 1 se reportan los datos de porcentaje de inhibición del crecimiento o de letalidad sobre las 60 líneas celulares tumorales, calculados a partir de los datos de porcentaje de crecimiento proporcionados por el NCI para los once compuestos seleccionados **6a-d**, **6f**, **8a-c**, **9a-c**. De esos datos se deduce que los compuestos 4-butoxisustituidos **9a-c** son totalmente inactivos, ya que su porcentaje de inhibición del crecimiento es prácticamente nulo. Por su parte, de los derivados 4-*N,N*-dimetilamino sustituidos **8a-c**, el **8c** no presentó ningún efecto sobre el porcentaje de crecimiento de las células tumorales, mientras que **8a,b** sí exhibieron una moderada actividad (porcentaje de inhibición del 66.50% y 68.80%, respectivamente). Sin embargo, de estos dos, únicamente **8b** fue elegido para el ensayo a cinco dosis debido a que cumplió con el criterio de selección establecido por el NCI (porcentaje de inhibición del crecimiento ≥ 68). De otra parte, de los cinco

híbridos benzimidazol-benzo[*b*]pirimido [5,4-*f*]azepina evaluados, **6a-d** mostraron una destacada actividad inhibitoria (75.63–81.55%), por lo que fueron seleccionados para la siguiente fase de los ensayos; por el contrario, el híbrido sustituido en la posición 2'-C por un grupo metilo **6f** fue el que mostró los valores más pequeños de inhibición del crecimiento, sin llegar a superar el umbral establecido para continuar a la segunda fase.

De los valores de la tabla 1 es posible inferir, además, que los cinco compuestos seleccionados para la segunda fase **6a-d** y **8b**, ejercieron un efecto citotóxico (valores negativos) a la concentración evaluada (10 µM) sobre algunas de las líneas celulares de los nueve subpaneles. Esto significa que en el tiempo de incubación (48 horas), ellos indujeron la muerte de un porcentaje de la población celular con respecto a la inicial, es decir, la que había en el tiempo cero. Son de destacar los valores de letalidad que mostraron los compuestos **6b,c** sobre la línea celular de cáncer de colón COLO 205 (-51.24 y -46.88 %, respectivamente), y el valor de letalidad que presentó el compuesto **6a** sobre la línea celular de melanoma SK-MEL-5 (-49.20%), lo que significa que, a la concentración evaluada, estos compuestos mataron prácticamente el 50%, e incluso un poco más, de la población celular que había en el tiempo cero Tz.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de crecimiento (GI %) o letalidad (valores negativos, %) de los compuestos evaluados **6a-d**, **6f**, **8a-c** y **9a-c** a una concentración 10 µM sobre el panel de 60 líneas celulares tumorales

Sub-panel de las líneas celulares tumorales	% porcentaje de inhibición de crecimiento (GI %) de los compuestos evaluados ^b										
	6a	6b	6c	6d	6f	8a	8b	8c	9a	9b	9c
<i>Leucemia</i>											

CCRF-CEM	86.67	88.64	92.04	99.35	78.38	78.58	81.88	-	9.83	2.94	-
HL-60(TB)	36.23	-21.99	-25.84	88.94	98.36	-5.91	-7.29	-	-	0.26	-
K-562	92.83	93.46	92.32	92.43	87.59	87.18	85.69	4.98	8.27	3.87	-
MOLT-4	87.97	87.99	89.02	87.27	72.23	69.41	71.83	-	6.57	3.85	2.23
RPMI-8226	-9.63	-0.69	88.12	90.13	64.96	67.59	68.68	10.75	ND	ND	2.53
SR	ND	98.57	-0.88	95.49	88.65	ND	ND	ND	16.45	18.23	ND
<i>Cáncer de pulmón de células no pequeñas</i>											
A549/ATCC	76.47	91.61	86.39	73.81	73.65	50.68	44.20	3.25	6.76	3.80	0.77
EKVX	59.25	52.80	59.69	61.03	54.84	72.82	70.75	7.59	13.98	8.52	10.46
HOP-62	66.11	72.39	71.64	68.20	56.32	63.61	58.11	-	8.17	22.83	3.65
HOP-92	76.00	89.59	-2.48	61.65	88.76	47.56	41.99	12.16	-	-	5.69
NCI-H226	45.80	52.63	40.02	50.08	38.42	18.20	14.44	-	6.36	8.49	-
NCI-H23	76.04	65.99	69.59	62.12	38.30	49.53	49.90	-	8.31	8.08	5.42
NCI-H322M	38.67	36.54	51.42	51.51	26.65	18.83	26.78	-	-	-	-
NCI-H460	96.74	96.49	96.02	92.74	77.36	84.53	85.48	-	-	-	-
NCI-H522	-22.81	-29.98	88.29	-0.32	80.55	95.24	86.64	10.43	17.34	14.29	3.85
<i>Cáncer de Colon</i>											
COLO 205	-33.40	-51.24	-46.88	99.71	45.94	67.61	63.96	-	-	1.27	-
HCC-2998	73.22	78.28	89.30	47.94	23.89	41.76	49.89	5.00	-	-	-
HCT-116	89.94	88.83	93.16	88.94	82.62	80.97	83.08	7.48	-	1.77	1.06
HCT-15	91.57	87.75	86.82	76.62	67.39	79.43	81.25	14.45	14.83	0.69	1.54
HT29	99.16	-10.26	94.18	99.07	65.74	95.30	89.21	-	23.08	9.57	2.09
KM12	89.52	83.50	87.78	77.30	61.27	73.80	76.37	11.37	0.83	1.77	-
SW-620	77.09	77.25	75.01	78.63	80.37	79.44	82.12	-	-	-	-
<i>Cáncer del SNC</i>											
SF-268	80.09	74.38	74.05	59.59	54.10	52.71	55.49	-	1.85	2.29	-
SF-295	86.67	97.80	93.03	98.09	90.86	93.48	96.55	4.75	-	3.35	-
SF-539	95.21	83.19	89.27	93.75	74.77	71.67	95.19	-	3.26	3.99	-
SNB-19	62.35	62.19	66.50	64.25	49.58	56.20	60.94	-	-	-	-

SNB-75	56.13	39.74	36.75	70.95	70.64	86.00	-	5.25	18.12	16.97	-
							12.40				
U251	87.85	93.18	81.49	85.37	65.46	78.75	72.69	0.35	-	2.74	1.76
<i>Melanoma</i>											
LOX IMVI	79.19	74.29	78.09	53.46	56.95	62.29	64.20	1.96	-	-	-
MALME-3M	50.71	23.10	21.32	54.78	54.56	46.77	48.60	-	0.02	3.17	-
M14	80.33	82.28	91.13	94.80	74.73	75.32	77.79	4.66	-	2.72	-
MDA-MB-435	88.16	95.79	-17.55	91.61	97.49	-6.18	-	34.23	-	3.27	-
							32.20				
SK-MEL-2	67.31	-1.91	52.63	83.26	53.31	69.99	72.66	-	4.48	7.11	-
SK-MEL-28	55.64	46.86	35.67	37.13	40.96	43.39	47.63	-	-	-	-
SK-MEL-5	-49.20	-24.23	-14.08	91.51	86.42	85.00	88.94	5.36	-	-	2.75
UACC-257	ND	74.37	52.68	54.65	74.22	ND	ND	ND	-	-	ND
UACC-62	78.51	69.42	63.86	69.35	68.40	66.96	66.83	14.12	1.82	2.21	5.74
<i>Cáncer de Ovario</i>											
IGROV1	83.73	78.13	72.47	55.25	52.49	40.52	42.54	2.50	ND	ND	-
OVCAR-3	90.68	79.76	93.91	91.81	78.55	86.04	94.87	-	-	-	-
OVCAR-4	53.48	38.35	41.83	38.53	41.92	38.87	50.31	13.55	0.48	4.04	0.61
OVCAR-5	45.22	20.95	21.88	23.42	8.78	16.10	26.18	-	3.21	9.55	-
OVCAR-8	91.36	99.91	90.99	82.90	28.39	48.98	54.10	-	-	-	-
NCI/ADR-RES	82.87	94.88	93.31	85.37	92.85	71.47	74.06	-	1.32	4.15	-
SK-OV-3	70.39	94.14	80.18	96.80	68.47	64.87	53.69	-	2.49	15.20	-
<i>Cáncer Renal</i>											
786-0	75.09	89.33	87.71	77.22	69.93	65.15	68.94	10.34	-	7.35	5.50
A498	-11.71	87.75	93.58	93.39	99.01	-9.12	-	-	-	-	-
							12.51				
ACHN	79.79	73.37	71.03	50.42	60.63	46.71	52.91	-	-	10.88	-
CAKI-1	80.45	75.43	76.85	67.24	62.71	64.84	74.87	12.76	6.27	13.00	9.50
RXF 393	27.97	78.74	64.34	-24.83	-10.38	59.91	57.36	-	-	-	-
SN12C	78.80	68.37	69.89	56.90	37.69	55.13	52.14	-	-	0.13	2.97
TK-10	91.79	51.32	46.42	60.04	46.71	85.94	68.21	-	-	-	-

UO-31	73.14	68.99	56.55	66.93	61.00	40.86	40.56	8.05	9.52	16.96	6.03
<i>Cáncer de Próstata</i>											
PC-3	79.13	75.50	75.29	79.12	75.33	67.16	67.06	18.09	5.99	12.52	0.16
DU-145	88.16	89.15	89.82	85.77	44.73	31.26	47.63	-	-	-	-
<i>Cáncer de mama</i>											
MCF7	87.11	87.42	83.92	82.92	81.30	83.11	84.80	-	9.90	12.27	5.58
MDA-MB-231/ATCC	73.08	61.48	71.14	63.23	38.83	43.71	45.01	-	ND	ND	-
HS 578T	79.78	68.45	63.83	74.93	59.14	93.12	-1.26	-	-	3.00	-
BT-549	-6.44	-0.75	-3.64	70.16	40.79	69.41	75.35	-	-	-	-
T-47D	75.57	44.07	55.40	71.15	51.14	65.22	62.87	2.05	15.96	28.17	6.13
MDA-MB-468	61.97	90.24	92.77	93.84	96.08	87.00	71.33	2.81	-	-	-
Media	81,55	80,26	78,20	75,63	64,53	66,50	68,80	0,92	0,02	2,74	-

Los valores en negrita indican los agentes experimentales que superaron el umbral de GI % establecido por el NCI; los valores negativos en negrita y color rojo indican efecto letal; ND, significa no determinado; -, indica un porcentaje de crecimiento > 100; *b* códigos NSC: **6a** (D-786144/1); **6b** (D-788710/1); **6c** (D-788712/1); **6d** (D-788711/1); **6f** (D-788717/1); **8a** (D-786137/1); **8b** (D-786138/1); **8c** (D-786139/1); **9a** (D-783663/1); **9b** (D-783662/1); **9c** (D-786121/1)

7.6.3 Resultados del ensayo a cinco dosis (100, 10, 1, 0.1 y 0.01 µM) de los compuestos seleccionados

Como se mencionó en la sección anterior, los compuestos **6a-d** y **8b** fueron seleccionados para la segunda fase de estudios multidosis, en la cual se determinó su efecto sobre la inhibición del crecimiento de cada una de las líneas celulares tumorales del panel completo a cinco dosis diferentes (100, 10, 1, 0.1 y 0.01 µM).

Con los valores de porcentaje de crecimiento obtenidos y empleando el software COMPARE, se construyeron las curvas de dosis–respuesta (log de la concentración–GI%), y a partir de éstas por interpolación se obtuvieron los valores de los tres parámetros GI_{50} , TGI (parámetros de citostaticidad) y LC_{50} (parámetro de citotoxicidad) para cada una de las líneas celulares. Adicionalmente, para cada uno de los tres parámetros se calcularon los valores promedio (MG–MID) para todas las líneas celulares del panel y para los sub–paneles. En el cálculo de los valores promedio, para las líneas insensibles se tomó la mayor concentración evaluada (100 μ M).⁹⁰ En la tabla 2 se reportan los valores de GI_{50} , TGI y LC_{50} para cada una de las líneas celulares evaluadas, y en las tablas 3–5 se reportan los valores promedio calculados de GI_{50} , TGI y LC_{50} para los nueve subpaneles y los valores de MG–MID para el panel completo.

Los resultados obtenidos en este ensayo multidosis indicaron que los cinco agentes experimentales evaluados exhibieron una considerable actividad antitumoral contra la mayoría de las líneas celulares de los nueve subpaneles (ver Tabla 2), y que de esos cinco, el derivado **8b**, sustituido en la posición C–4 por el fragmento *N,N*–dimetilo y en la posición C–8 por un átomo de cloro, resultó ser el menos activo de los cinco evaluados, al presentar valores de GI_{50} en el rango de 0.40–14.80 μ M y un valor promedio de 3.98 μ M. Se destaca, no obstante, la actividad inhibitoria de **8b** contra las líneas de leucemia SR y K–562 y contra la línea celular de melanoma MDA–MB–435, todas con valores de $GI_{50} < 1$ μ M. Para el criterio de actividad citostática TGI, se encontraron valores muy pequeños (muy buenos) como 6.55 μ M, y otros que superaron la máxima concentración evaluada, es decir, mayores a 100 μ M (malos). El MG–MID para este parámetro (TGI MG–MID) fue 46.77 μ M, un valor de la actividad citostática que puede considerarse como moderada (ver tabla 4). Por el contrario, la actividad citotóxica de este compuesto, determinada por el parámetro

LC₅₀, fue casi nula, ya que la mayoría de los valores para este parámetro fueron superiores a 100 μM, con un valor promedio de 97.72 μM (ver Tabla 5).

Entre los híbridos de tipo benzimidazol–benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepina **6a–d**, el que exhibe menor actividad (aún siendo activo) es el derivado 7,9–dimetil sustituido **6d**. Para este compuesto, los valores del parámetro GI₅₀ se encuentran en el rango de 0.79 (para la línea celular de leucemia SR) a 11.05 μM, y el MG–MID es de 3.47 μM, un valor promedio muy bueno (ver Tabla 3). Los valores para el parámetro TGI se encuentran en el rango de 5.34 (para la línea de melanoma SK–MEL–5) a >100 μM, con un valor de MG–MID de 23.99 μM, que indica que este compuesto posee mejor actividad citostática que el compuesto **8b**, aunque también moderada. Al igual que este último, **6d** tampoco es citotóxico, ya que el valor MG–MID para el parámetro LC₅₀ es de 89.13 μM (ver Tabla 5).

Los compuestos **6a–c** resultaron ser los más activos, pues sus valores de GI₅₀ y TGI realmente fueron muy bajos contra la mayoría de las líneas celulares tumorales (< 1 μM para el primer parámetro, y alrededor de 10 μM para el segundo parámetro). La concentración GI₅₀ se encuentra en el rango de 0.02–11.60 μM, con excelentes valores de MG–MID de 0.16, 0.05 y 0.10 μM, para **6a**, **6b** y **6c**, respectivamente (ver Tabla 3). Particularizando, estos tres compuestos presentaron valores de GI₅₀ < 1 μM sobre 51 de las 56 líneas celulares evaluadas (**6a**), sobre 49 de 52 (**6b**), y sobre el total de las 56 líneas celulares (**6c**). Son de destacar los valores de GI₅₀ de los tres compuestos sobre el sub–panel de leucemia, los cuales son del orden nanomolar, más exactamente, entre 30 y 250 nM (0.03–0.25 μM). Los valores de la concentración TGI de **6a–c** está en el rango de 0.08–33.70 μM, con valores excelentes de MG–MID de 10.23, 7.59 y 10.47 μM, respectivamente (ver Tabla 4). De los valores de estos dos parámetros (GI₅₀ y TGI) se infiere que los tres híbridos **6a–c** poseen una potente actividad citostática sobre todo el panel celular, es decir,

que los tres presentan un amplio espectro de actividad antitumoral, y que ninguna de las líneas celulares evaluadas presenta una sensibilidad notablemente diferenciada hacia estos compuestos. Estos tres compuestos también ejercen un moderado efecto citotóxico, que se deduce de los valores medios de LC₅₀ (MG–MID): 58.88, 51.29 y 58.88 μM , para **6a**, **6b** y **6c**, respectivamente (ver Tabla 5).

Al comparar la actividad antitumoral de estos tres compuestos, el derivado 8–metilo sustituido resulta ser el más activo. Con relación al parámetro GI₅₀, este compuesto es el que presenta el menor valor medio (MG–MID) (50 nM (0.05 μM)), y valores comprendidos entre 20 y 50 nM (0.02–0.05 μM) sobre 42 de las 52 líneas celulares evaluadas, y de 60 a 90 nM (0.06–0.09 μM) sobre 7 de las líneas celulares; sólo para tres líneas celulares el valor de GI₅₀ es mayor a 1 μM , siendo 11 μM el valor máximo que se determinó para la línea celular de melanoma MALME–3M. En cuanto al parámetro TGI, para este compuesto se encontraron valores que van desde sobresalientes (0.06 μM) a moderados (67.6 μM), siendo 0.06 μM o 60 nM el valor que se determinó para las líneas celulares de cáncer de colón COLO 205, la línea de cáncer de sistema nervioso central SF–539 y la línea celular de melanoma HL–60(TB). También fueron notables los valores de TGI (menores a 1 μM), determinados para las líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas NCI–H522, de cáncer de colón HT–29, de melanoma SK–MEL–5 y de mama BT–549. Todo lo anterior indica que el compuesto **6b** reveló una excelente actividad citostática sobre el panel celular completo. Asimismo, este compuesto presentó una sobresaliente actividad citotóxica contra las líneas de cáncer de colón COLO 205, con un valor de 0.39 μM , y de melanoma SK–MEL–5, con un valor de 8.05 μM . Estas dos líneas celulares demostraron ser ligeramente más sensibles al compuesto **6b**, que el resto de líneas de todo el panel.

Tabla 2. Concentración de inhibición del crecimiento 50 (GI₅₀, μM), concentración de inhibición total del crecimiento (TGI, μM) y concentración letal 50 (LC₅₀) para todas las líneas celulares tumorales.^a

Sub-panel de las líneas celulares de cáncer	Compuestos evaluados														
	^b 6a			^c 6b			^d 6c			^e 6d			^f 8b		
	GI ₅₀ (μM)	TGI (μM)	LC ₅₀ (μM)	GI ₅₀ (μM)	TGI (μM)	LC ₅₀ (μM)	GI ₅₀ (μM)	TGI (μM)	LC ₅₀ (μM)	GI ₅₀ (μM)	TGI (μM)	LC ₅₀ (μM)	GI ₅₀ (μM)	TGI (μM)	LC ₅₀ (μM)
<i>Leucemia</i>															
CCRF-CEM	0.05	10.50	91.3	0.04	19.30	>100	0.03	14.50	>100	2.78	11.40	>100	2.92	18.00	>100
HL-60(TB)	0.03	0.08	>100	0.03	0.06	>100	0.10	0.43	>100	2.46	9.36	>100	2.81	15.80	>100
K-562	0.04	11.20	>100	0.03	17.70	>100	0.04	15.20	>100	1.50	>100	>100	0.78	>100	>100
MOLT-4	0.06	4.36	>100	0.04	14.80	92.30	0.25	12.90	86.00	2.46	9.57	89.80	3.52	27.30	>100
RPMI-8226	0.15	1.82	>100	0.04	5.12	>100	0.04	3.88	>100	2.59	9.08	>100	3.53	17.30	>100
SR	0.04	1.98	>100	0.04	13.20	>100	0.04	11.10	>100	0.79	8.62	>100	0.46	20.30	>100
<i>Cáncer de pulmón de células no pequeñas</i>															
A549/ATCC	0.25	17.50	53.8	0.04	13.40	48.50	0.25	12.60	48.20	4.03	56.90	>100	10.70	>100	>100
EKVX	0.15	18.00	49.10	0.06	23.80	74.00	0.25	23.20	80.40	4.76	>100	>100	2.77	>100	>100
HOP-62	0.17	13.60	>100	0.04	18.90	75.40	0.07	18.20	61.60	4.71	30.00	>100	4.81	73.40	>100
HOP-92	3.77	18.70	>100	1.92	22.90	67.00	0.33	15.90	80.80	4.10	32.90	>100	11.00	69.60	>100
NCI-H226	1.21	18.70	82.90	0.05	22.30	92.70	0.16	16.30	72.90	3.10	17.90	>100	11.00	57.80	>100
NCI-H23	0.43	19.40	>100	0.07	22.90	77.40	0.40	23.40	>100	4.87	>100	>100	5.74	>100	>100
NCI-H322M	0.45	17.10	41.3	^g ND	23.00	52.00	ND	22.60	50.40	6.35	34.90	>100	5.13	>100	>100
NCI-H460	0.23	11.30	51.80	0.03	1.70	34.80	0.13	10.30	41.60	3.40	11.40	87.40	3.86	46.60	>100

NCI-H522	0.12	5.68	44.90	0.02	0.07	42.70	0.05	0.33	24.50	2.07	6.53	>100	2.79	35.30	>100
<i>Cáncer de Colon</i>															
COLO 205	0.20	0.67	28.20	0.02	0.06	0.39	0.18	0.39	0.85	3.32	10.50	57.10	2.44	6.55	69.6
HCC-2998	0.30	14.50	40.80	0.04	14.20	48.90	0.33	13.30	45.60	4.05	61.80	>100	6.90	37.30	>100
HCT-116	0.07	13.00	43.50	0.03	11.80	41.60	0.07	14.90	56.60	3.08	14.60	>100	3.48	23.50	>100
HCT-15	0.10	12.50	40.40	0.04	12.20	42.70	0.21	12.90	48.40	3.58	36.30	>100	2.83	85.90	>100
HT29	0.09	14.50	95.50	0.03	0.46	33.50	0.17	0.61	29.40	3.13	10.50	81.70	3.22	37.00	>100
KM12	0.11	14.60	71.70	0.04	12.40	43.30	0.13	11.70	40.40	3.67	26.00	>100	3.15	>100	>100
SW-620	0.04	15.90	60.00	0.04	14.40	44.70	0.09	16.10	52.00	4.10	64.10	>100	3.35	>100	>100
<i>Cáncer del SNC</i>															
SF-268	0.21	15.60	64.40	0.05	12.50	60.70	0.22	15.00	72.80	6.04	>100	>100	8.09	>100	>100
SF-295	0.05	12.20	35.50	0.03	ND	52.90	0.03	11.00	54.70	2.89	12.00	>100	1.98	9.85	76.6
SF-539	0.09	11.60	35.90	0.02	0.06	27.80	0.03	ND	34.40	2.74	9.16	>100	2.93	12.20	>100
SNB-19	0.17	20.70	98.90	ND	ND	ND	0.22	20.40	83.50	4.22	>100	>100	5.81	>100	>100
SNB-75	0.09	18.10	47.60	0.03	14.90	50.60	0.05	19.90	62.70	2.80	13.20	>100	2.02	8.52	>100
U251	0.09	13.90	48.70	0.04	11.80	38.40	0.15	11.60	37.00	3.55	19.40	>100	4.99	29.10	>100
<i>Melanoma</i>															
LOX IMVI	0.12	13.00	45.00	0.04	12.50	45.00	0.06	14.50	67.70	4.82	33.40	>100	6.00	27.20	95.8
MALME-3M	0.05	4.60	25.60	11.00	23.70	51.30	ND	20.10	48.50	3.61	17.30	47.00	3.73	60.00	>100
M14	0.06	14.10	50.00	0.02	ND	42.00	0.07	13.60	48.90	2.60	11.20	52.50	2.39	>100	>100
MDA-MB-435	0.03	ND	37.90	0.02	ND	ND	0.02	ND	ND	2.44	10.60	91.80	0.40	>100	>100
SK-MEL-2	1.13	18.30	58.60	0.04	15.30	45.30	0.19	13.40	42.80	4.21	26.60	>100	5.88	57.30	>100

SK-MEL-28	1.84	15.60	42.40	0.07	17.70	42.50	0.58	19.80	46.50	5.61	20.70	51.50	10.80	>100	>100
SK-MEL-5	0.14	1.32	53.80	0.03	0.20	8.05	0.08	0.59	12.50	2.24	5.34	19.80	3.65	13.80	44.5
UACC-257	ND	ND	ND	2.71	20.40	45.60	0.16	20.80	47.50	11.50	38.50	>100	ND	ND	ND
UACC-62	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.04	18.00	65.70	3.13	18.40	85.60	ND	ND	ND
Cáncer de Ovario															
IGROV1	0.26	7.68	51.90	0.06	15.50	90.60	0.25	14.50	86.00	5.46	>100	>100	8.48	>100	>100
OVCAR-3	0.04	0.41	40.50	0.02	ND	35.30	0.15	14.10	58.10	3.32	14.70	>100	2.51	8.87	>100
OVCAR-4	0.62	24.70	>100	0.08	18.90	74.90	0.35	33.70	>100	4.18	47.40	>100	9.76	>100	>100
OVCAR-5	ND	ND	ND	0.05	22.10	56.00	0.29	26.80	87.80	5.52	24.40	90.90	ND	ND	ND
OVCAR-8	0.38	22.90	>100	0.03	10.10	>100	0.24	0.94	>100	3.79	20.00	>100	9.17	>100	>100
NCI/ADR-RES	0.06	30.40	>100	0.04	67.60	>100	0.06	59.50	>100	3.05	19.50	>100	2.40	23.90	>100
SK-OV-3	0.14	17.70	67.90	0.03	13.50	44.40	0.06	11.70	49.40	4.41	>100	>100	4.93	72.10	>100
Cáncer Renal															
786-0	0.49	14.70	71.80	0.04	12.50	47.30	0.06	15.00	76.30	3.53	15.40	92.90	8.26	29.30	94.5
A498	0.06	17.00	53.10	ND	ND	ND	0.03	0.09	53.80	1.41	6.21	>100	3.53	19.20	>100
ACHN	0.38	12.10	41.00	0.05	12.90	40.50	0.07	15.30	88.90	4.07	18.30	72.10	7.59	>100	>100
CAKI-1	0.13	13.70	37.60	0.03	11.30	36.40	0.06	12.60	43.90	3.37	70.20	>100	3.12	>100	>100
RXF 393	0.06	16.40	53.60	ND	24.00	72.30	0.03	25.30	88.40	2.66	9.06	>100	2.03	6.98	>100
SN12C	0.44	15.60	>100	ND	ND	ND	0.38	20.50	>100	4.37	19.70	69.50	10.20	37.10	>100
TK-10	11.60	24.30	50.60	0.09	21.10	48.90	ND	24.80	61.00	7.37	>100	>100	14.80	>100	>100
UO-31	0.32	7.11	32.50	0.08	12.70	44.20	0.11	13.10	42.20	2.50	16.20	>100	4.40	72.40	>100
Cáncer de Próstata															

PC-3	0.06	17.70	>100	0.04	20.40	>100	0.04	21.00	>100	2.25	14.80	>100	3.41	81.60	>100
DU-145	0.24	15.60	40.90	0.04	11.70	36.50	0.33	12.10	43.50	4.44	63.70	>100	5.49	>100	>100
<i>Cáncer de mama</i>															
MCF7	0.04	12.50	53.00	0.03	12.90	>100	0.04	12.70	71.00	3.42	>100	>100	1.51	>100	>100
MDA-MB-231/ATCC	0.19	16.60	88.80	ND	ND	ND	0.23	18.60	>100	3.03	14.60	>100	5.84	55.40	>100
HS 578T	0.10	51.00	>100	0.03	15.30	>100	0.07	31.70	>100	3.00	31.00	>100	3.08	>100	>100
BT-549	0.31	8.25	>100	0.03	0.10	37.00	0.18	7.12	63.90	2.93	12.00	61.50	6.63	32.10	>100
T-47D	2.17	8.53	78.30	ND	30.20	>100	ND	22.80	>100	4.17	24.90	>100	6.56	>100	>100
MDA-MB-468	0.05	19.20	92.70	0.03	ND	86.40	0.03	19.00	>100	3.24	27.00	>100	2.66	67.70	>100

Los valores en negrita corresponden a las concentraciones inhibitorias de GI₅₀ y TGI < 1 µM. ^a Datos obtenidos del ensayo *in vitro* a cinco dosis del programa de cribado sobre 60 líneas tumorales humanas del NCI . Códigos NSC: ^b**6a** (D-786144/1); ^c**6b** (D-788710/1); ^d**6c** (D-788712/1); ^e**6d** (D-788711/1); ^f**8b** (D-786138/1).^g**ND**, No detectado

Según el protocolo del NCI, la relación que se obtiene al dividir el valor promedio (MG–MID) de los parámetros GI₅₀ y TGI del panel completo entre los valores medios de cada uno de los sub–paneles (ver Tablas 3 y 4) se considera como una medida de la selectividad del compuesto. Valores de esta relación que resulten menores a 3, se pueden traducir como que el compuesto no es selectivo hacia ese sub–panel celular; relaciones entre 3 y 6 indican una moderada selectividad, y valores superiores a 6 indican una alta selectividad hacia el sub–panel específico.⁹⁰ Los valores obtenidos de esas relaciones y que están resumidos en las tablas 3 y 4, revelan que ninguno de los cinco compuestos estudiados es selectivo hacia cualquiera de los nueve sub–paneles celulares, pues los valores de las selectividades calculados se encuentran en el rango de 0.03 y 2.7, para el parámetro de GI₅₀, y entre 0.31 y 2.05, para el parámetro de TGI.

Tabla 3. Valores promedio de la concentración de inhibición de crecimiento (GI₅₀, µM) y valores de selectividad de los compuestos **6a–d**, **8b** hacia los sub–paneles de líneas tumorales I–IX.

Comp./ Selectividad	Sub–paneles de líneas celulares ^a									MG–MID ^b
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
6a	0.06/ 2.67	0.75/ 0.21	0.13/ 1.23	0.12/ 1.33	0.48/ 0.33	0.25/ 0.64	1.68/ 0.10	0.15/ 1.07	0.48/ 0.33	0.16
6b	0.04/ 1.25	0.28/ 0.18	0.03/ 1.67	0.03/ 1.67	1.74/ 0.03	0.05/ 1.00	0.06/ 0.83	0.04/ 1.25	0.03/ 1.67	0.05
6c	0.08/ 1.25	0.21/ 0.48	0.17/ 0.59	0.12/ 0.83	0.15/ 0.67	0.20/ 0.50	0.11/ 0.91	0.18/ 0.56	0.11/ 0.91	0.10
6d	2.10/ 1.65	4.15/ 0.84	3.56/ 0.97	3.71/ 0.94	4.46/ 0.78	4.25/ 0.82	3.66/ 0.95	3.35/ 1.04	3.30/ 1.05	3.47
8b	2.34/ 1.70	6.42/ 0.62	3.62/ 1.10	4.30/ 0.93	4.69/ 0.85	6.21/ 0.64	6.74/ 0.59	4.45/ 0.89	4.38/ 0.91	3.98

^a I, Leucemia; II, Cáncer de pulmón de células no pequeñas; III, Cáncer de colon; IV, Cáncer SNC; V, Melanoma; VI, Cáncer de ovario; VII, Cáncer renal; VIII, Cáncer de próstata; IX, Cáncer de mama.

^b El MG–MID de GI₅₀ (µM) para el panel completo significa el punto medio de la gráfica de la media (mean–graph) = la sensibilidad media de todas las líneas celulares hacia el compuesto evaluado.

Análogamente, la selectividad de los compuestos evaluados hacia una determinada línea celular se calcula dividiendo el valor de (MG–MID) del GI₅₀ del panel completo entre el valor de GI₅₀ obtenido para dicha línea celular. Con respecto a este parámetro, el compuesto **6a** exhibió una selectividad moderada hacia once líneas celulares con relaciones entre 3.2–5.3; de estas once líneas celulares, cuatro pertenecen al sub–panel de leucemia (líneas CCRF–CEM, HL–60(TB), K–562 y SR), una al subpanel de cáncer de colón (línea SW–620), una al sub–panel de cáncer del SNC (línea SF–295), dos al sub–panel de melanoma (líneas MALME–3M y MDA–MB–435), una al sub–panel de cáncer de ovario (OVCAR–3), y dos al sub–panel de cáncer de mama (MCF7 y MDA–MB–468). El compuesto **6b** no fue selectivo hacia ninguna de las líneas celulares sobre las que se evaluó. El compuesto **6c** exhibió una selectividad moderada (3.33–5.00) sobre 7 líneas celulares: CCRF–CEM de leucemia, SF–295 y SF–539 de cáncer de SNC, MDA–MB–435 de melanoma, A498 y RXF 393 de cáncer renal, y MDA–MB–468 de cáncer de mama. El compuesto **6d** también presentó una selectividad moderada (4.41) hacia la línea celular de leucemia SR. Finalmente, el compuesto **8b** mostró una selectividad moderada (5.10) hacia la línea celular de leucemia K–562, pero una alta selectividad hacia las líneas celulares SR de leucemia (8.65), y MDA–MB–435 de melanoma (9.95).

Tabla 4. Valores promedio de la concentración de inhibición total del crecimiento (TGI, μ M) y valores de selectividad de los compuestos **6a–d**, **8b** hacia los sub–paneles de líneas tumorales I–IX.

Comp./ Selectividad	Sub–paneles de líneas celulares ^a									MG– MID ^b
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
6a	4.99/ 2.05	15.55/ 0.66	12.24/ 0.84	15.35/ 0.67	11.15/ 0.92	17.30/ 0.59	15.11/ 0.68	16.65/ 0.61	19.35/ 0.53	10.23
6b	11.70/ 0.65	16.55/ 0.46	9.36/ 0.81	9.81/ 0.77	14.97/ 0.51	24.62/ 0.31	15.75/ 0.48	16.05/ 0.47	14.62/ 0.52	7.59
6c	9.67/ 1.08	15.87/ 0.66	9.99/ 1.05	15.58/ 0.67	15.10/ 0.69	23.03/ 0.45	15.84/ 0.66	16.55/ 0.63	18.65/ 0.56	10.47

6d	24.67/ 0.97	43.39/ /0.55	31.97/ 0.75	42.29/ 0.57	20.23/ 1.19	46.57/ 0.52	31.88/ 0.75	39.25/ 0.61	34.92/ 0.69	23.99
8b	33.11/ 1.41	75.86/ 0.62	55.75/ 0.84	43.28/ 1.08	65.47/ 0.71	67.48/ 0.69	58.12/ 0.80	90.80/ 0.52	75.87/ 0.62	46.77

^a I, Leucemia; II, Cáncer de pulmón de células no pequeñas; III, Cáncer de colon; IV, Cáncer SNC; V, Melanoma; VI, Cáncer de ovario; VII, Cáncer renal; VIII, Cáncer de próstata; IX, Cáncer de mama.

^b El MG–MID de TGI (μM) para el panel completo significa el punto medio de la gráfica de la media (mean–graph) = la sensibilidad media de todas las líneas celulares hacia el compuesto evaluado.

Finalmente, al analizar detalladamente los datos reportados en la tabla 5, se constata que los derivados **6a–c** presentaron baja y moderada actividad citotóxica sobre la mayoría de subpaneles celulares. Definitivamente, los tres compuestos no fueron citotóxicos contra el sub–panel de leucemia, pero fueron moderadamente citotóxicos, especialmente, contra los subpaneles de cáncer de colón, con valores medios de LC_{50} de 54.30, 36.44 y 39.04 μM , para **6a**, **6b** y **6c**, respectivamente, y de melanoma, con valores medios de LC_{50} de 37.84 μM , para **6a**, 39.96 μM , para **6b** y 47.51 μM , para **6c**.

Tabla 5. Valores promedio de concentración letal (LC_{50} , μM) de los compuestos **6a–d**, **8b** contra los sub–paneles de líneas tumorales I–IX.

Comp.	Sub–panel de líneas celulares ^a									MG–MID ^b
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
6a	98.55	69.31	54.30	55.17	37.84	76.72	55.03	70.45	85.47	58.88
6b	98.72	62.72	36.44	46.08	39.96	71.60	48.27	68.25	84.68	51.29
6c	97.20	62.27	39.04	57.52	47.51	83.04	69.31	71.75	89.15	58.88
6d	98.30	98.60	91.26	>100	72.02	98.70	91.81	>100	93.58	89.13
8b	>100	>100	95.66	96.10	91.47	>100	99.31	>100	>100	97.72

^a I, Leucemia; II, Cáncer de pulmón de células no pequeñas; III, Cáncer de colon; IV, Cáncer SNC; V, Melanoma; VI, Cáncer de ovario; VII, Cáncer renal; VIII, Cáncer de próstata; IX, Cáncer mama.

^b El MG–MID de LC_{50} (μM) para el panel completo significa el punto medio de la gráfica de la media (mean–graph) = la sensibilidad media de todas las líneas celulares hacia el compuesto evaluado.

En general, se concluye que los nuevos híbridos del tipo 4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina **6a-c** presentan una sobresaliente actividad anticancerígena, que se evidencia a través de los valores determinados para sus parámetros de citostaticidad (GI₅₀ y TGI), y entre baja y moderada citotoxicidad (LC₅₀). Estos compuestos presentan una baja selectividad hacia la mayoría de líneas celulares y sub-paneles, es decir, son compuestos con un amplio espectro de actividad anticancerígena.

De los cinco compuestos que fueron evaluados a cinco dosis, cuatro fueron excluidos para posteriores estudios, pero el destino del derivado **6b** dependerá de la decisión que tome el comité de evaluación biológica del NCI, y de ser positiva la decisión, entonces, pasará a la etapa de ensayos *in vivo*, los cuales comprenderían inicialmente el de toxicidad aguda y el ensayo de fibra hueca.

8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Empleando una ruta de síntesis sencilla, basada en reacciones clásicas como la sustitución nucleofílica aromática (S_NAr), la ciclocondensación oxidativa y la alquilación intramolecular de Friedel–Crafts, se realizó con éxito la preparación de las nuevas series de 6,11–dihidro–5*H*–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepinas 4–sustituidas **6a–f**, **8a–c** y **9a–c**, para las cuales se reportan por primera vez sus características físicas y espectroscópicas; cumpliéndose así con el principal objetivo del presente Trabajo de Grado.

Se ratificó, una vez más, que la 5–alil–4,6–dicloropirimidina **1** es un precursor idóneo para realizar la construcción de sistemas del tipo dihidrobenzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina polisustituida.

Se estableció que la reacción de aminólisis de la 5–alil–4,6–dicloropirimidina **1** con la 4–metilbenceno–1,2–diamina ocurrió con formación de un único regioisómero y con un excelente rendimiento.

Se demostró que la ciclación electrofílica intramolecular de Friedel–Crafts es una metodología apropiada para promover la construcción de nuevos sistemas heterocíclicos nitrogenados, que en este caso permitió el acceso exitoso a los nuevos híbridos moleculares del tipo benzimidazol–benzo[*b*]pirimido[5,4–*f*]azepina **6a–f** con buenos rendimientos, a partir de las 5–alil–6–(5–metil–1*H*–benzo[*d*]imidazol–1–il)–4–(metilarilamino)pirimidinas **5a–h**.

La síntesis efectiva y dirigida de las nuevas 4-(dimetilamino)-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **8a-c** y 4-butoxi-6,11-dimetil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **9a-c** se logró mediante la funcionalización de la posición C-4 de las 4-cloro-6,11-dimetil-5,6-dihidro-11H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepinas **7a-c**, previamente preparadas en el LSO, empleando las reacciones de aminólisis y butanólisis.

Los compuestos **6a-c** demostraron una sobresaliente actividad anticancerígena en los ensayos *in vitro* realizados en el NCI, sobre el panel completo de aproximadamente 60 líneas celulares tumorales humanas.

Se recomienda analizar experimentalmente por RMN, mediante una secuencia de pulsos a diferentes temperaturas, la interconversión de los atropoisómeros **6e** y **6f**.

Finalmente, se recomienda realizar estudios de relación estructura-actividad cualitativo y cuantitativo (SAR y QSAR) de los nuevos productos finales sintetizados **6a-f**, **8a-c** y **9a-c**, así como estudios adicionales de actividad anti-cancerígena de los derivados **6a-c** para establecer el mecanismo de acción de esta nueva familia de compuestos y su potencial actividad *in vivo*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Jain, K. S.; Chitre, T. S.; Miniyar, P. B.; Kathiravan, M. K.; Bendre, V. S.; Veer, V. S.; Shahane, S. R.; Shishoo, C. J. Biological and Medicinal Significance of Pyrimidines. : *Curr. Sci.* **2006**, *90*, 793–803.
- (2) Quiroga, J.; Trilleras, J.; Insuasty, B.; Abonía, R.; Noguerras, M.; Marchal, A.; Cobo, J. Microwave-Assisted Synthesis of Pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidines from 2-Amino-4,6-Dichloropyrimidine-5-Carbaldehyde under Solvent-Free Conditions. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3257–3259.
- (3) Lee, J.; Kim, K.-H.; Jeong, S. Discovery of a Novel Class of 2-Aminopyrimidines as CDK₁ and CDK₂ Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4203–4205.
- (4) Bansal, Y.; Silakari, O. The Therapeutic Journey of Benzimidazoles: *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6208–6236.
- (5) Veerananarayana, M.; Oh, J.; Tae, Y. *p*-Toluenesulfonic Acid-Catalyzed One-Pot Synthesis of 2-Amino-4-Substituted-1,4-dihydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyrimidine-3-Carbonitriles under Neat Conditions. *Comptes Rendus – Chim.* **2014**, *17*, 484–489.
- (6) Wu, Y. Heterocycles and Medicine: A Survey of the Heterocyclic Drugs Approved by the U.S. FDA from 2000 to Present. *Prog. Heterocycl. Chem.* **2012**, *24*, 1–53.
- (7) Shao, K.-P.; Zhang, X.-Y.; Chen, P.-J.; Xue, D.-Q.; He, P.; Ma, L.-Y.; Zheng, J.-X.; Zhang, Q.-R.; Liu, H.-M. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrimidine-Benzimidazol Hybrids as Potential Anticancer Agents. *Bioorg.*

Med. Chem. Lett. **2014**, *24*, 3877–3881.

- (8) Vardanya, R.; Hruby, V. *Synthesis of Essential Drugs*. Elsevier. Amsterdam, the Netherlands **2006**, pp 103–116.
- (9) Quiñones–Torrelo, C.; Sagrado, S.; Villanueva–Camañas, R. M.; Medina–Hernández, M. J. Development of Predictive Retention–Activity Relationship Models of Tricyclic Antidepressants by Micellar Liquid Chromatography. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3154–3162.
- (10) Vijay Kumar, H.; Naik, N. Synthesis and Antioxidant Properties of Some Novel 5*H*–Dibenz[*b,f*]azepine Derivatives in Different in vitro Model Systems. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2–10.
- (11) Jorgensen, T. K.; Andersen, K. E.; Lau, J.; Madsen, P.; Huusfeldt, P. O. Synthesis of Substituted 10,11–Dihydro–5*H*–Dibenz[*b,f*]azepines; Key Synthons in Syntheses of Pharmaceutically Active Compounds. *Heterocycl. Chem.* **1999**, *36*, 57–64.
- (12) Bulawa, C. E.; Fleming, J.; Gupta, S.; Labaudiniere, R.; Liang, F.; Lindquist, S. L.; Outeiro, T.; Ripka, A.; Weigel, C. Inhibition of Alpha–Synuclein Toxicity. WO 2007126841 A2.
- (13) Kaplan, D.; Smith, K.; Datti, A. Novel Chemical Entities Affecting Neuroblastoma Tumor–Initiating Cells. US 2007123448 (A1).
- (14) Neafsey, K.; Zeng, X.; Lemley, A. T. Degradation of Sulfonamides in Aqueous Solution by Membrane Anodic Fenton Treatment. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 1068–1076.
- (15) Kandeel, M. M.; Refaat, H. M.; Kassab, A. E.; Shahin, I. G.; Abdelghany, T. M. Synthesis, Anticancer Activity and Effects on Cell Cycle Profile and Apoptosis

of Novel Thieno[2,3-*d*]pyrimidine and Thieno[3,2-*e*]triazolo[4,3-*c*]pyrimidine Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *90*, 620–632.

- (16) Netzer, T.; Ullrich, F.; Priewer, H.; Majewski, M.; Mutschler, E. Effects of a New Pteridine Derivative on Urinary Sodium, Potassium and Magnesium Excretion in Conscious Saline-Loaded Rats. *Br. J. Pharmacol.* **1992**, *106*, 222–226.
- (17) Guan, J.; Quan, Z.; O’Neil, M.; Obaldia, N.; Ager, A.; Gerena, L.; Lin, A. J. Antimalarial Activities of New Pyrrolo[3,2-*f*]Quinazoline-1,3-Diamine Derivatives as Human Adenosine A₃ Receptor Ligands. *Am. Soc. Microbiol.* **2004**, *14*, 2443–2446.
- (18) Zheng, G. Z.; Lee, C.; Pratt, J. K.; Perner, R. J.; Jiang, M. Q.; Gomtsyan, A.; Matulenko, M. A.; Mao, Y.; Koenig, J. R.; Kim, K. H.; Muchmore, S.; Yu, H.; Kohlhaas, K.; Alexander, K. M.; McGaraughty, S.; Chu, K. L.; Wismer, C. T.; Mikusa, J.; Jarvis, M. F.; Marsh, K.; Kowaluk, E. A.; Bhagwat, S. S.; Stewart, A. O. Pyridopyrimidine Analogues as Novel Adenosine Kinase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2071–2074.
- (19) Okamura, T.; Kurogi, Y.; Hashimoto, K.; Nishikawa, H.; Nagao, Y. Facile Synthesis of Fused 1,2,4-triazolo[1,5-*c*]pyrimidine Derivatives as Human Adenosine A₃ Receptor Ligands. *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2443–2446.
- (20) Schenone, S.; Bruno, O.; Bondavalli, F.; Ranise, A.; Mosti, L.; Menozzi, G.; Fossa, P.; Donnini, S.; Santoro, A.; Ziche, M.; Manetti, F.; Botta, M. Antiproliferative Activity of New 1-Aryl-4-Amino-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidine Derivatives Toward the Human Epidermoid Carcinoma A431 Cell Line. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 939–946.
- (21) Hu, Y.-G.; Wang, Y.; Du, S.-M.; Chen, X.-B.; Ding, M.-W. Efficient Synthesis and Biological Evaluation of Some 2,4-Diaminofuro[2,3-*d*]pyrimidine

Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6188–6190.

- (22) Khan, K. M.; Shah, Z.; Ahmad, V. U.; Ambreen, N.; Khan, M.; Taha, M.; Rahim, F.; Noreen, S.; Perveen, S.; Choudhary, M. I.; Voelter, W. 6-Nitrobenzimidazole Derivatives: Potential Phosphodiesterase Inhibitors: Synthesis and Structure–Activity Relationship. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *20*, 1521–1526.
- (23) Taylor, E. C.; Dowling, J. E. Synthesis of a Pyrimido[4,5-*b*]azepine Analog of 5,10-Dideaza-5,6,7,8-Tetrahydrofolic Acid (DDATHF). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *2*, 453–456.
- (24) Gokhale, N.; Dalimba, U.; Kumsi, M. Facile Synthesis of Indole–Pyrimidine Hybrids and Evaluation of Their Anticancer and Antimicrobial Activity. *J. Saudi Chem. Soc.* **2015**, 1–15.
- (25) Wright, J. B. The Chemistry of the Benzimidazoles. *Chem. Rev.* **1951**, *48*, 397–541.
- (26) Preston, P. Synthesis, Reactions and Spectroscopic Properties of Benzimidazoles. *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 279–314.
- (27) Mackman, R. L.; Katz, B. A.; Breitenbucher, J. G.; Hui, H. C.; Verner, E.; Luong, C.; Liu, L.; Sprengeler, P. A. Exploiting Subsite S1 of Trypsin-like Serine Proteases for Selectivity: Potent and Selective Inhibitors of Urokinase-Type Plasminogen Activator. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3856–3871.
- (28) Alapati, M. L. P. R.; Abburi, S. R.; Mukkamala, S. B.; Krishnaji, M. Simple and Efficient One-Pot Synthesis of 2-Substituted Benzimidazoles from *o*-Diaminoarene and Aryl Aldehydes. *Synth. Commun.* **2015**, *45*, 2436–2443.
- (29) Calvo, R. R.; Meegalla, S. K.; Parks, D. J.; Parsons, W. H.; Ballentine, S. K.;

- Lubin, M. L.; Schneider, C.; Colburn, R. W.; Flores, C. M.; Player, M. R. Discovery of Vinylcycloalkyl-Substituted Benzimidazole TRPM8 Antagonists Effective in the Treatment of Cold Allodynia. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1903–1907.
- (30) Fairley, T.; Tidwell, R.; Donkor, I.; Naiman, N.; Ohemeng, K.; Lombardy, R.; Bentley, J.; Cory, M. Structure, DNA Minor Groove Binding, and Base Pair Specificity of Alkyl- and Aryl-Linked Bis(amidinobenzimidazoles) and Bis(amidinoindoles). *Med. Chem.* **1993**, *36*, 1746–1753.
- (31) Wang, L.; Sheng, J.; Tian, H.; Qian, C. An Efficient Procedure for the Synthesis of Benzimidazole Derivatives Using Yb(OTf)₃ as Catalyst Under Solvent Free Conditions. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 4265–4272.
- (32) Zhang, Z.-H.; Li, T.-S.; Li, J.-J. A Highly Effective Sulfamic Acid/Methanol Catalytic System for the Synthesis of Benzimidazole Derivatives at Room Temperature. *Monatsh. Chem.* **2007**, *138*, 89–94.
- (33) Mohammadpoor-Baltork, I.; Khosropour, A. R.; Hojati, S. F. Mild and Efficient Synthesis of Benzoxazoles, Benzothiazoles, Benzimidazoles, and Oxazolo[4,5-*b*]pyridines Catalyzed by Bi(III) Salts Under Solvent-Free Conditions. *Monatsh. Chem.* **2007**, *138*, 663–667.
- (34) Hojati, S. F.; Maleki, B.; Beykzadeh, Z. 1,3-Dibromo-5,5-Dimethylhydantoin as an Efficient Homogeneous Catalyst for Synthesis of Benzoxazoles, Benzimidazoles, and oxazolo[4,5-*b*]pyridines. *Monatsh. Chem.* **2011**, *142*, 87–91.
- (35) Alinezhad, H.; Salehian, F.; Biparva, P. Synthesis of Benzimidazole Derivatives Using Heterogeneous ZnO Nanoparticles. *Synth. Commun.* **2012**, *42*, 102–108.

- (36) Karami, B.; Khodabakhshi, S.; Haghighijou, Z. Tungstate Sulfuric Acid: Preparation, Characterization, and Application in Catalytic Synthesis of Novel Benzimidazoles. *Chem. Pap.* **2012**, *66*, 684–690.
- (37) Yu, B.; Zhang, H.; Zhao, Y.; Chen, S.; Xu, J.; Huang, C.; Liu, Z. Cyclization of *o*-Phenylenediamines by CO₂ in the Presence of H₂ for the Synthesis of Benzimidazoles. *Green Chem.* **2013**, *15*, 95–99.
- (38) Kaboudin, B.; Khodamorady, M.; Abedi, Y. A Practical and Convenient Method for the Synthesis of Some Benzimidazoles. *Org. Prep. Proced. Int.* **2013**, *45*, 162–167.
- (39) Brain, C. T.; Steer, J. T. An Improved Procedure for the Synthesis of Benzimidazoles, Using Palladium–Catalyzed Aryl–Amination Chemistry. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6814–6816.
- (40) Evindar, G.; Batey, R. A. Copper– and Palladium–Catalyzed Intramolecular Aryl Guanidinylation: An Efficient Method for the Synthesis of 2–Aminobenzimidazoles. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 133–136.
- (41) Yang, D.; Fu, H.; Hu, L.; Jiang, Y.; Zhao, Y. Copper–Catalyzed Synthesis of Benzimidazoles via Cascade Reactions of *o*-Haloacetanilide Derivatives with Amidine Hydrochlorides. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7841–7844.
- (42) Saha, P.; Ramana, T.; Purkait, N.; Ali, M. A.; Paul, R.; Punniyamurthy, T. Ligand–Free Copper–Catalyzed Synthesis of Substituted Benzimidazoles, 2–Aminobenzimidazoles, 2–Aminobenzothiazoles, and Benzoxazoles. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8719–8725.
- (43) Kim, Y.; Kumar, M.; Park, N.; Heo, Y.; Lee, S. Copper–Catalyzed, One–Pot, Three–Component Synthesis of Benzimidazoles by Condensation and C–N Bond Formation. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9577–9583.

- (44) Peng, J.; Ye, M.; Zong, C.; Hu, F.; Feng, L.; Wang, X.; Wang, Y.; Chen, C. Copper-Catalyzed Intramolecular C–N Bond Formation: A Straightforward Synthesis of Benzimidazole Derivatives in Water. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 716–719.
- (45) Yenjerla, M.; Cox, C.; Wilson, L.; Jordan, M. A. Carbendazim Inhibits Cancer Cell Proliferation by Suppressing Microtubule Dynamics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *328*, 390–398.
- (46) Lammers, P. E.; Shyr, Y.; Li, C.–I.; Hutchison, A. S.; Sandler, A.; Carbone, D. P.; Johnson, D. H.; Keedy, V. L.; Horn, L. Phase II Study of Bendamustine in Relapsed Chemotherapy Sensitive or Resistant Small–Cell Lung Cancer. *J. Thorac. Oncol.* **2014**, *9*, 559–562.
- (47) Lin, J.–W.; Chang, C.–H.; Caffrey, J. L.; Wu, L.–C.; Lai, M.–S. Examining the Association of Olmesartan and Other Angiotensin Receptor Blockers with Overall and Cause–Specific Mortality. *Hypertension* **2014**, *63*, 968–976.
- (48) Meinertz, T. Mibefradil– A Drug Which May Enhance the Propensity for the Development of Abnormal QT Prolongation. *Eur. Hear. J. Suppl.* **2001**, *3*, 89–92.
- (49) Breckenridge, A. M. Meyler’s Side Effects of Drugs. *Br. Med. J.* **1976**, *2*, 307–320.
- (50) Morita, K.; Kobayashi, S.; Shimadzu, H.; Ochiai, M. A Novel One–Step Synthesis of Pyrimidines and Condensed Pyrimidines. *Tetrahedron Lett.* **1970**, *3*, 861–864.
- (51) Kobayashi, S. Synthesis of Pyrimidines and Condensed Pyrimidines. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, *46*, 2835–2839.

- (52) Tselikhovsky, D.; Buchwald, S. L. Synthesis of Heterocycles via Pd–Ligand Controlled Cyclization of 2–Chloro–*N*–(2–Vinyl)aniline: Preparation of Carbazoles, Indoles, Dibenzazepines and Acridines. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *132*, 14048–14051.
- (53) Bouillon, J.–P.; Buillon, V.; Wynants, C.; Janousek, Z.; Viehe, H. G. Trifluoromethylated Pyrimidines Starting from Trifluoroacetyl–Lactams, –Lactone and –Cyclanone. *Heterocycles* **1994**, *37*, 915–932.
- (54) Acosta–Quintero, L. M.; Jurado, J.; Noguerras, M.; Palma, A.; Cobo, J. Synthesis of Pyrimidine–Fused Benzazepines from 5–Allyl–4,6–Dichloropyrimidines. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *24*, 5360–5369.
- (55) Zhang, Z.; Mao, J.; Zhu, D.; Wu, F.; Chen, H.; Wan, B. Highly Efficient and Practical Phosphoramidite–Copper Catalysts for Amination of Aryl Iodides and Heteroaryl Bromides with Alkylamines and *N*(H)–Heterocycles. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 4435–4443.
- (56) Siddle, J. S.; Batsanov, A. S.; Bryce, M. R. Sequential Metal–Catalyzed *N*–Heteroarylation and C–C Cross–Coupling Reactions: An Expedient Route to Tris(hetero)aryl Systems. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2746–2750.
- (57) Kim, M. H.; Lee, J.; Jung, K.; Kim, M.; Park, Y. J.; Ahn, H.; Kwon, Y. H.; Hah, J. M. Syntheses and Biological Evaluation of 1–Heteroaryl–2–Aryl–1*H*–Benzimidazole Derivatives as C–Jun *N*–Terminal Kinase Inhibitors with Neuroprotective Effects. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 2271–2285.
- (58) Crawford, J. J.; Lee, W.; Aliagas, I.; Mathieu, S.; Hoeflich, K. P.; Zhou, W.; Wang, W.; Rouge, L.; Murray, L.; La, H.; Liu, N.; Fan, P.; Cheong, J.; Heise, C.; Ramaswamy, S.; Mintzer, R.; Liu, Y.; Chao, Q.; Rudolph, J. Structure–Guided Design of Group I Selective p21–Activated Kinase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 5121–5136.

- (59) Dymińska, L. Imidazopyridines as a Source of Biological Activity and Their Pharmacological Potentials—Infrared and Raman Spectroscopic Evidence of Their Content in Pharmaceuticals and Plant Materials. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 6087–6099.
- (60) Sabat, M.; VanRens, J. C.; Laufersweiler, M. J.; Brugel, T. A.; Maier, J.; Golebiowski, A.; De, B.; Easwaran, V.; Hsieh, L. C.; Walter, R. L.; Mekel, M.; Evdokimov, A.; Janusz, M. The Development of 2-Benzimidazole Substituted Pyrimidine Based Inhibitors of Lymphocyte Specific Kinase (Lck). *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *16*, 5973–5977.
- (61) Cee, V. J.; Cheng, A. C.; Romero, K.; Bellon, S.; Mohr, C.; Whittington, D. A.; Bak, A.; Bready, J.; Caenepeel, S.; Coxon, A.; Deak, H. L.; Fretland, J.; Gu, Y.; Hodous, B. L.; Huang, X.; Kim, J. L.; Lin, J.; Long, A. M.; Nguyen, H.; Olivieri, P. R.; Patel, V. F.; Wang, L.; Zhou, Y.; Hughes, P.; Geuns–Meyer, S. Pyridyl–Pyrimidine Benzimidazole Derivatives as Potent, Selective, and Orally Bioavailable Inhibitors of Tie–2 Kinase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 424–427.
- (62) Kawada, H.; Ebiike, H.; Tsukazaki, M.; Nakamura, M.; Morikami, K.; Yoshinari, K.; Yoshida, M.; Ogawa, K.; Shimma, N.; Tsukuda, T.; Ohwada, J. Lead Optimization of a Dihydropyrrolopyrimidine Inhibitor against Phosphoinositide 3–Kinase (PI3K) to Improve the Phenol Glucuronic Acid Conjugation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 673–678.
- (63) Tardy, S.; Orsato, A.; Mologni, L.; Bisson, W. H.; Donadoni, C.; Gambacorti–Passerini, C.; Scapozza, L.; Gueyrard, D.; Goekjian, P. G. Synthesis and Biological Evaluation of Benzo[4,5]imidazo[1,2–c]pyrimidine and Benzo[4,5]imidazo[1,2–a]pyrazine Derivatives as Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 1303–1312.

- (64) Shao, K.-P.; Zhang, X.-Y.; Chen, P.-J.; Xue, D.-Q.; He, P.; Ma, L.-Y.; Zheng, J.-X.; Zhang, Q.-R.; Liu, H.-M. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrimidine–Benzimidazol Hybrids as Potential Anticancer Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 3877–3881.
- (65) Abdel–Mohsen, H. T.; Ragab, F.; Ramla, M. M.; El Diwani, H. I. Novel Benzimidazole–Pyrimidine Conjugates as Potent Antitumor Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2336–2344.
- (66) Dillon, M.; Bois, D.; Lai, Y.; Hawley, R. C.; Wang, B.; Azaindole P₂X₃ and P₂X_{2/3} Modulators. US 2010/0144758 A1.
- (67) Montgomery, J.; Hewson, K. Analogs of Tubercidin. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 665–667.
- (68) Barluenga, J.; Bayón, A.; Asensio, G. A New and Specific Method for the Monomethylation of Primary Amines. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1334–1335.
- (69) Burnett, J. F.; Zahler, R. E. Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions. *Chem. Rev.* **1951**, *49*, 273–412.
- (70) Crews, P.; Rodríguez, J.; Jaspars, M. Organic Structure Analysis. *Oxford Univ. Press.* **1998**, Oxford, USA. pp. 23–221.
- (71) Ryabukhin, S. V.; Plaskon, A. S.; Volochnyuk, D. M.; Tolmachev, A. A. Synthesis of Fused Imidazoles and Benzothiazoles from (Hetero)Aromatic *ortho*–Diamines or *ortho*–Aminothiophenol and Aldehydes Promoted by Chlorotrimethylsilane. *Synthesis* **2006**, 3715–3726.
- (72) Bastug, G.; Eviolitte, C.; Markó, I. E. Functionalized Orthoesters as Powerful Building Blocks for the Efficient Preparation of Heteroaromatic Bicycles. *Org.*

- Lett.* **2012**, *14*, 3502–3505.
- (73) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry. Oxford Univ. Press.* **2001**, Oxford, USA. pp. 589–615.
- (74) Baldwin, J. E. Rules for Ring Closure. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 734–736.
- (75) Carey, A. F. *Química Orgánica. Mc Graw Hill* **1999**, 3rd ed, México, pp. 411–446.
- (76) Grimmett, M. Imidazole and Benzimidazole Synthesis. *Acad. Press* **1997**, 193–222.
- (77) Kricka, L. J.; Ledwith, A. Dibenz[*b,f*]azepines and Related Ring Systems. *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 101–123.
- (78) Clayden, J. Atropisomerism. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4335.
- (79) Eliel, E. L. Stereochemistry of Carbon Compounds. *McGraw–Hill.* **1962**, New York, USA. pp. 156–179.
- (80) Balaban, A. T.; Boulton, A. J.; Comins, D. L.; Joule, J. A.; Minkin, V. I.; Padwa, A.; Ramsden, C. A.; Scriven, E. F. V.; Snieckus, V.; Stanovnik, B.; Stevens, C. V.; Taylor, R. J.; Zoltewicz, J. A. *Adv.Heterocycl. Chem.* **2012**, *105*, 1–82.
- (81) Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [en línea]: <<http://www.who.int/cancer/es/>>, [citado el 24 de febrero 2016].
- (82) National Cancer Institute. Tipos de cáncer [en línea]: <<http://www.cancer.gov/espanol/tipos>>, [citado el 24 de febrero 2016].
- (83) National Cancer Institute. ¿Qué es cáncer? [en línea]: <<http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>>, [citado el 24 de febrero 2016].

- (84) Cancer Research UK. Estadística mundial en cáncer [en línea]: <<http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/worldwide-cancer-statistics#heading-Four>>, [citado el 24 de febrero 2016].
- (85) Organización Mundial de la Salud. 10 datos sobre el cáncer [en línea]: <<http://www.who.int/cancer/about/facts/es/>>, [citado el 24 de febrero 2016].
- (86) Pardo, C.; Cendales, R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007–2011. Primera edición. Bogotá. D.C. Instituto Nacional de Cancerología, prim. edi. **2015**, pp. 148.
- (87) Rudek, M. A.; Chau, C. H.; Figg, W.; McLeod, H. L. Handbook of Anticancer Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Humana Press, 2nd. ed. New York, USA. **2014**. pp. 23–39.
- (88) National Cancer Institute. Criterios de selección [en línea]: <https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/docs/ScreeningSubFlowChart.pdf>, [citado el 25 de febrero 2016].
- (89) National Cancer Institute. Protocolo y parámetros empleados para la evaluación de la actividad anti-cancerígena [en línea]: <https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm>, [citado el 25 de febrero 2016].
- (90) Boyd, M. R.; Paull, K. D. Some practical considerations of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen. *Drug Dev. Res.*, **1995**, *34*, 91–109.

BIBLIOGRAFÍA

ABDEL–MOHSEN, H. T., et al. Novel Benzimidazole–Pyrimidine Conjugates as Potent Antitumor Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online], 2010, Vol 45, [cited 3 March 2015], pp 2336–2344. Available from: Science Direct

ACOSTA–QUINTERO, L. M., et al. Synthesis of Pyrimidine–Fused Benzazepines from 5–Allyl–4,6–Dichloropyrimidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [online], 2015, vol 24, [cited 5 March 2015], pp 5360–5369. Available from: Science Direct

BALDWIN, J. E. Rules for Ring Closure. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. [online], 1976, [cited 23 September 2015], pp 734–736. Available from: ACS Publications.

BANSAL, Y., Silakari, O. The Therapeutic Journey of Benzimidazoles: Bioorganic & medicinal chemistry. [online], 2012, vol 20, [cited 3 May 2016], pp 6208–6236. Available from: ACS Publications.

BARLUENGA, J., Bayón, A.; Asensio, G. A New and Specific Method for the Monomethylation of Primary Amines. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. [online], 1984, [cited 15 May 2015], pp 1334–1335. Available from: ACS Publications

BOUILLON, J.–P., et al. Trifluoromethylated Pyrimidines Starting from Trifluoroacetyl–Lactams, –Lactone and –Cyclanone. *Heterocycles*, [online], 1994, vol 37, [cited 8 September 2014], pp 915–932. Available from: Science Direct

Cancer Research UK. Estadística mundial en cáncer [en línea]: <<http://www.cancerresearchuk.org/health-professional/worldwide-cancer->

statistics#heading–Four>, [citado el 24 de febrero 2016].

CAREY, A. F. Química Orgánica. Mc Graw Hill 1999, 3rd ed, México, pp. 411–446.

CEE, V. J.; *et al.* Pyridyl–Pyrimidine Benzimidazole Derivatives as Potent, Selective, and Orally Bioavailable Inhibitors of Tie–2 Kinase. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. [online], 2009, vol 19, [cited 7 October 2015], pp 424–427. Available from: ACS Publications

CLAYDEN, J.; Greeves, N.; Warren, S. *Organic Chemistry*. Oxford Univ. Press. 2001, Oxford, USA. pp. 589–615.

CREWS, P.; Rodríguez, J.; Jaspars, M. *Organic Structure Analysis*. Oxford Univ. Press. 1998, Oxford, USA. pp. 23–221.

DILLON, M.; Bois, D.; Lai, Y.; Hawley, R. C.; Wang, B.; Azaindole P2X3 and P2X2/3 Modulators. US 2010/0144758 A1.

ELIEL, E. L. *Stereochemistry of Carbon Compounds*. McGraw-Hill. 1962, New York, USA. pp. 156–179.

KOBAYASHI, S. Synthesis of Pyrimidines and Condensed Pyrimidines. *Bulletin of the Chemical Society, Japan*. [online], 1973, vol 46, [cited 10 January 2016], pp 2835–2839. Available from: ACS Publications

KRICKA, L. J.; Ledwith, A. Dibenz[*b,f*]azepines and Related Ring Systems. *Chemical Reviews*. [online], 1974, vol 74, [cited 22 January 2016], pp 101–123. Available from: ACS Publications.

MONTGOMERY, J.; Hewson, K. Analogs of Tubercidin. *Journal of Medicinal Chemistry*. [online], 1967, vol 10, [cited 3 January 2016], pp 665–667. Available from: ACS Publications

MORITA, K., *et al.* A Novel One-Step Synthesis of Pyrimidines and Condensed Pyrimidines. *Tetrahedron Letter*. [online], 1970, vol 3, [cited 19 April 2015], pp 861–864. Available from: ACS Publications.

National Cancer Institute. ¿Qué es cáncer? [en línea]: <<http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>>, [citado el 24 de febrero 2016].

National Cancer Institute. Criterios de selección [en línea]: <https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/docs/ScreeningSubFlowChart.pdf>, [citado el 25 de febrero 2016].

National Cancer Institute. Protocolo y parámetros empleados para la evaluación de la actividad anti-cancerígena [en línea]: <,https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm>, [citado el 25 de febrero 2016].

National Cancer Institute. Tipos de cáncer [en línea]: <<http://www.cancer.gov/espanol/tipos>>, [citado el 24 de febrero 2016].

Organización Mundial de la Salud. 10 datos sobre el cáncer [en línea]: <<http://www.who.int/cancer/about/facts/es/>>, [citado el 24 de febrero 2016].

Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [en línea]: <<http://www.who.int/cancer/es/>>, [citado el 24 de febrero 2016].

PARDO, C.; Cendales, R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007–2011. Primera edición. Bogotá. D.C. Instituto Nacional de Cancerología, prim. edi. 2015, pp. 148.

PRESTON, P. Synthesis, Reactions and Spectroscopic Properties of Benzimidazoles. *Chemical Reviews*. [online], 1974, vol 74, [cited 15 April 2016], pp 279–314. Available from: ACS Publications.

SHAO, K.-P., *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Novel Pyrimidine–Benzimidazol Hybrids as Potential Anticancer Agents. *Bioorganic & medicinal chemistry Letter*. [online],2014, vol 24, [cited 30 September 2014], pp 3877–3881. Available from: ACS Publications.

WRIGHT, J. B. The Chemistry of the Benzimidazoles. *Chemical Reviews*. [online],1951, vol 48, [cited 25 November 2015], pp 397–541. Available from: Science Direct

WU, Y. Heterocycles and Medicine: A Survey of the Heterocyclic Drugs Approved by the U.S. FDA from 2000 to Present. *Progress in Heterocyclic Chemistry*. [online],2012, vol 24, [cited 20 September 2015], pp 1–53. Available from: Science Direct

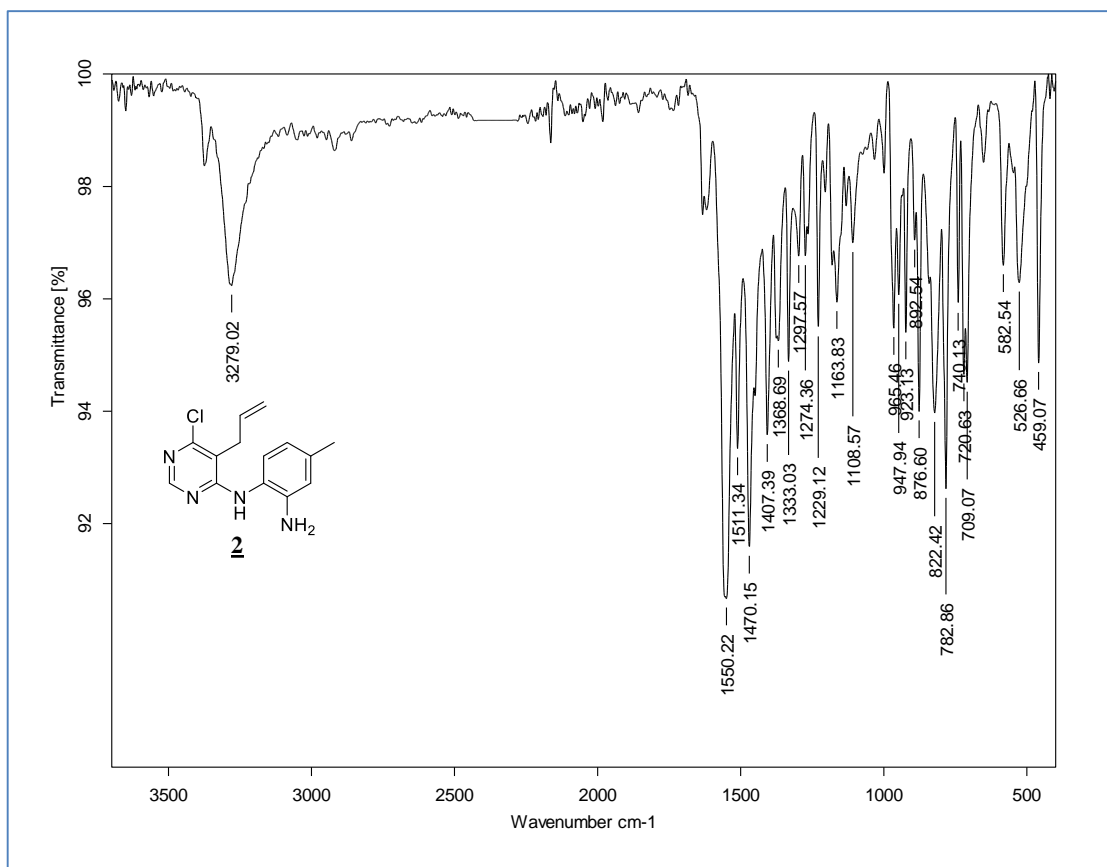
ZHENG, G. Z., *et al.* Pyridopyrimidine Analogues as Novel Adenosine Kinase Inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry Letter*. [online], 2001, vol 11, [cited 22 September 2015], pp 2071–2074. Available from: Science Direct

ANEXOS

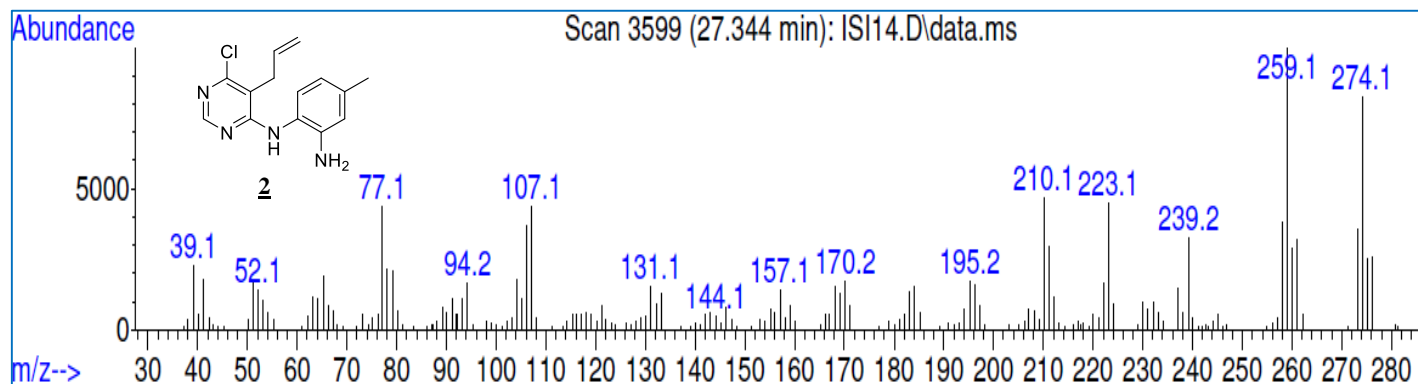
ESPECTROS DE IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C, HRMS SELECCIONADOS

Espectros de IR, MS, RMN ^1H RMN ^{13}C y HRMS de la N' -(5-*alil*-6-cloropirimidin-4-il) -4-metilbenceno-1,2-diamina **2**

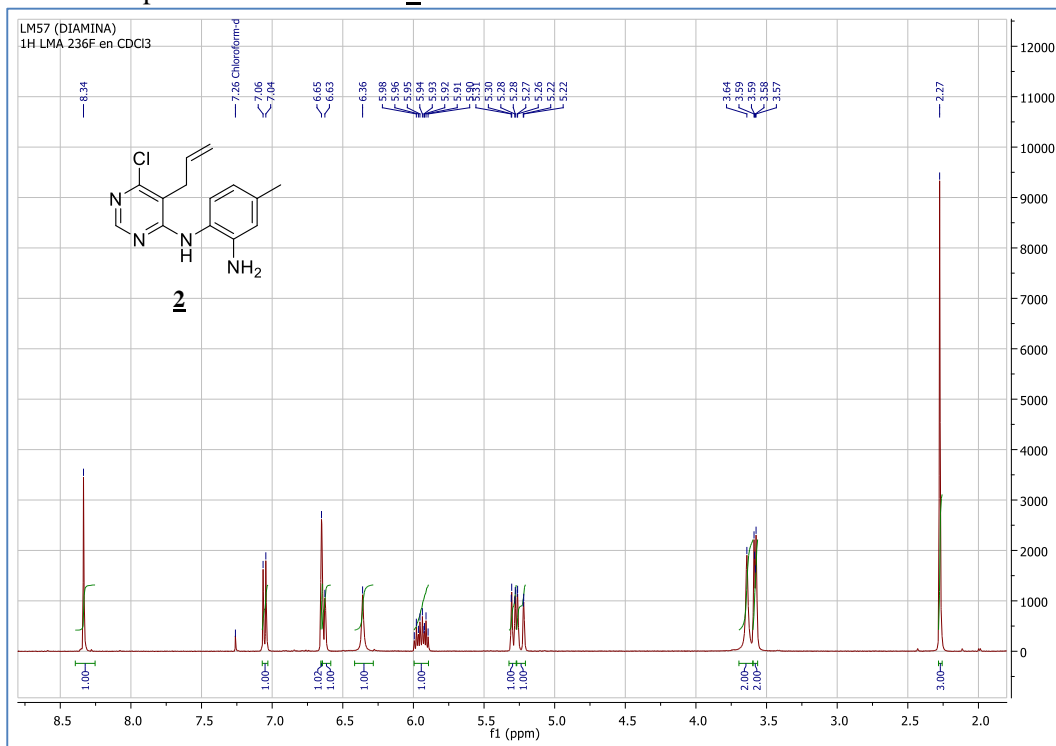
Anexo 1 Espectro de IR de **2**



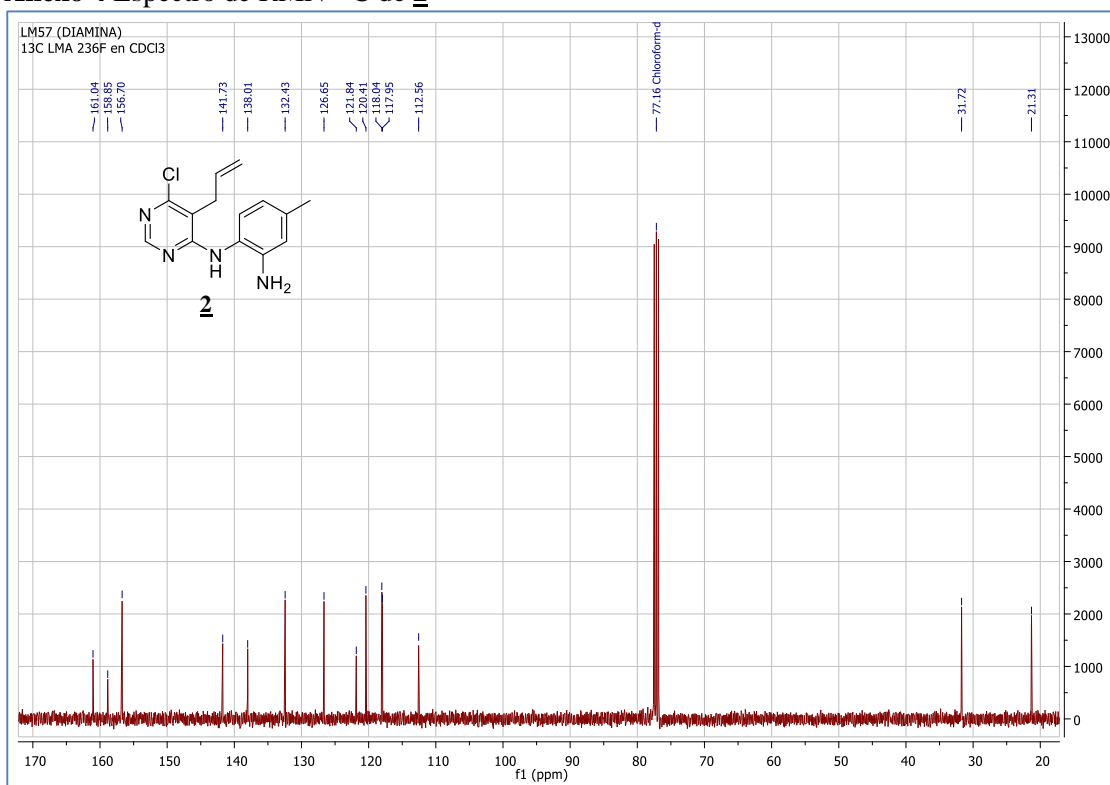
Anexo 2 Espectro de MS de **2**



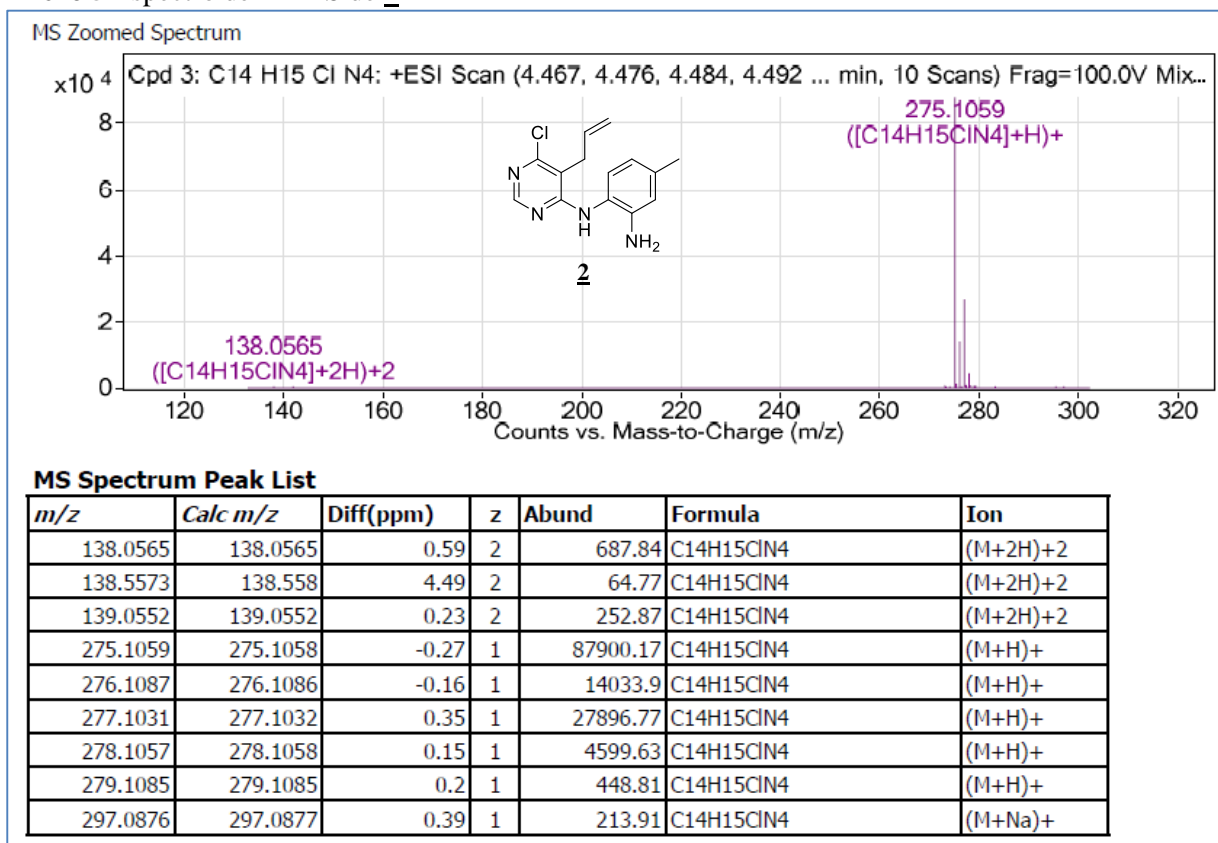
Anexo 3 Espectro de RMN ¹H de 2



Anexo 4 Espectro de RMN ¹³C de 2

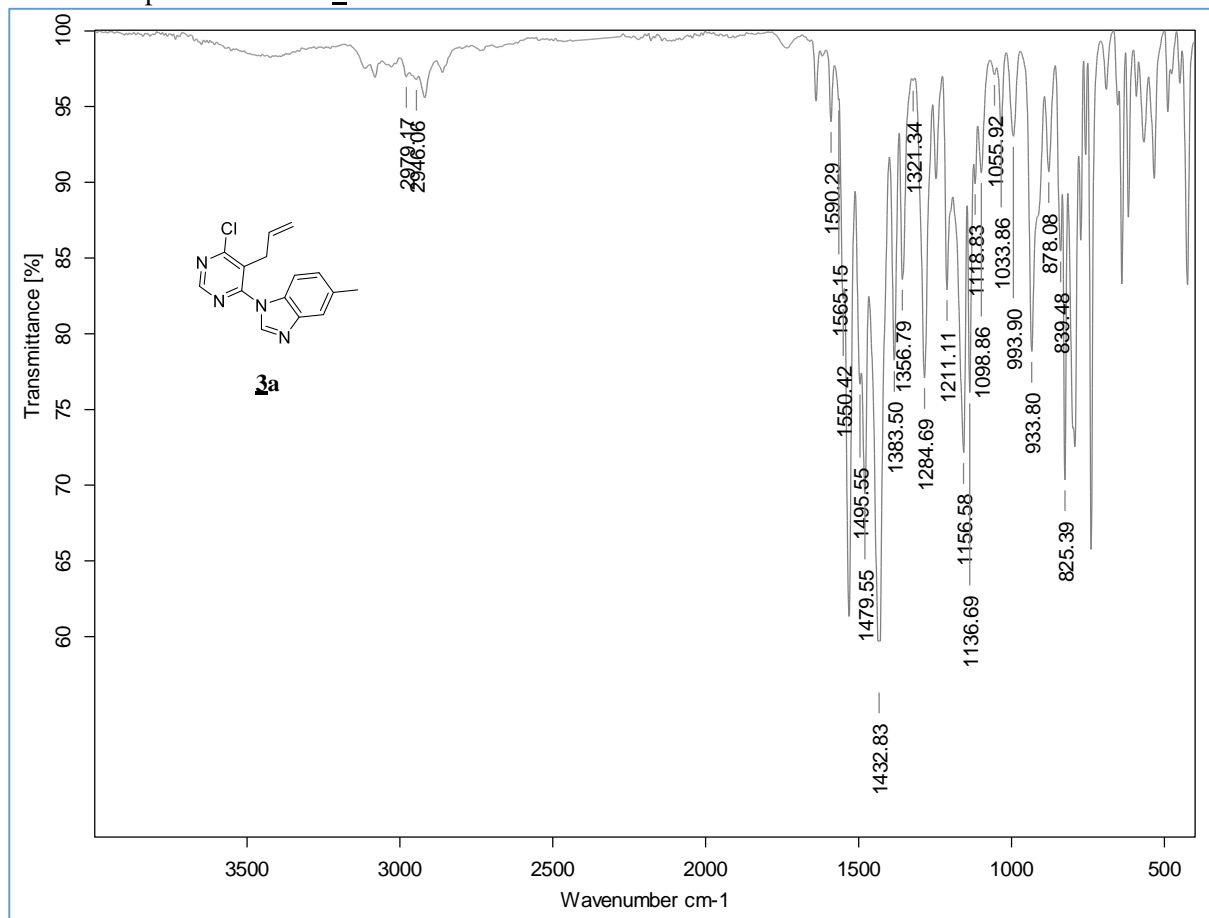


Anexo 5 Espectro de HRMS de 2

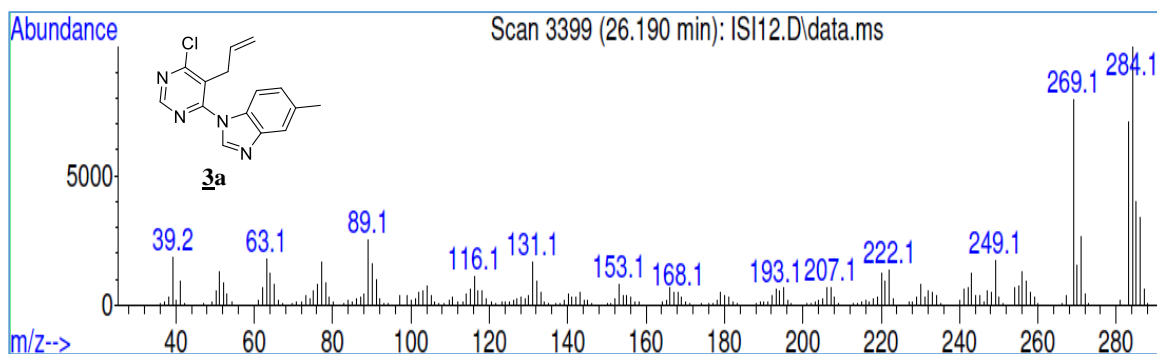


Espectros de IR, MS, RMN ¹H RMN ¹³C y HRMS de los 1-(5-alil-6-cloropirimidin-4-il)-5-metil-1H-benzo[d]imidazoles **3a,b**.

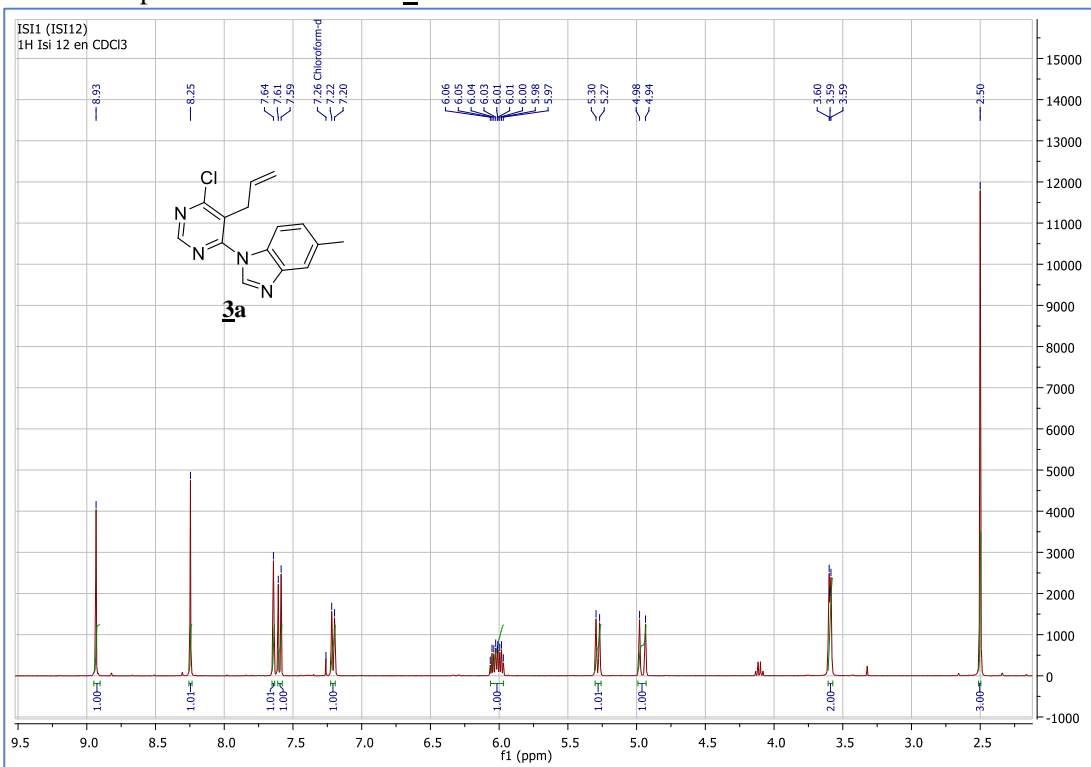
Anexo 6 Espectro de IR de **3a**



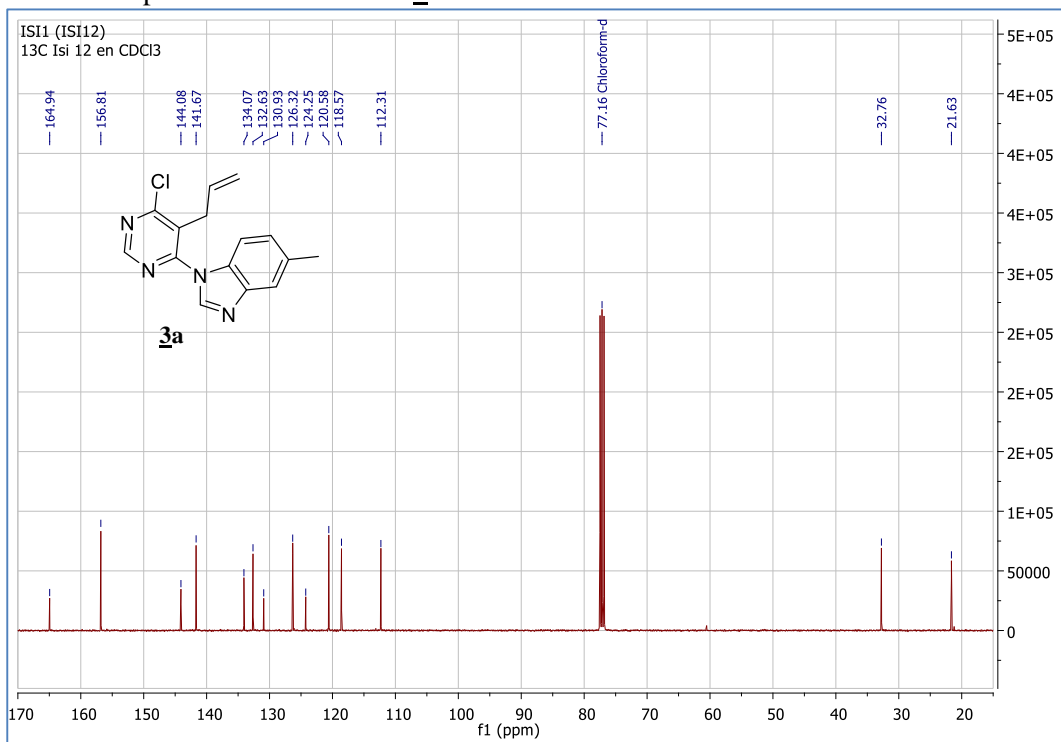
Anexo 7 Espectro de MS de **3a**



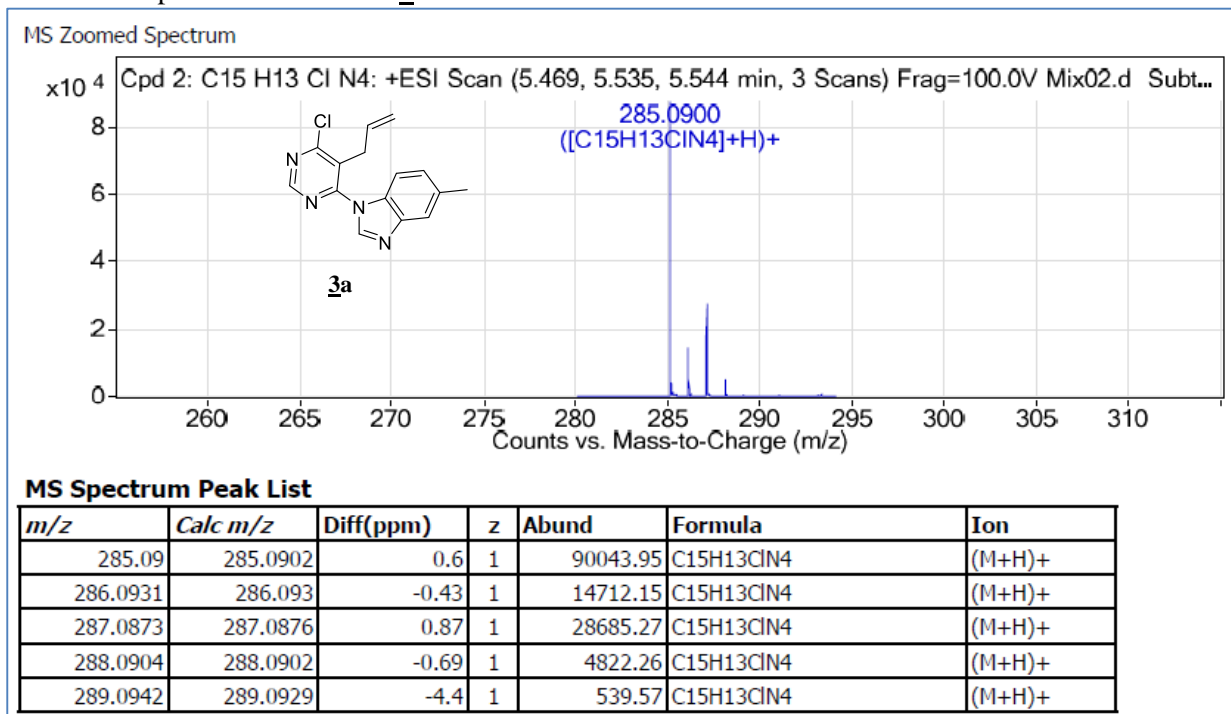
Anexo 8 Espectro de RMN ¹H de **3a**



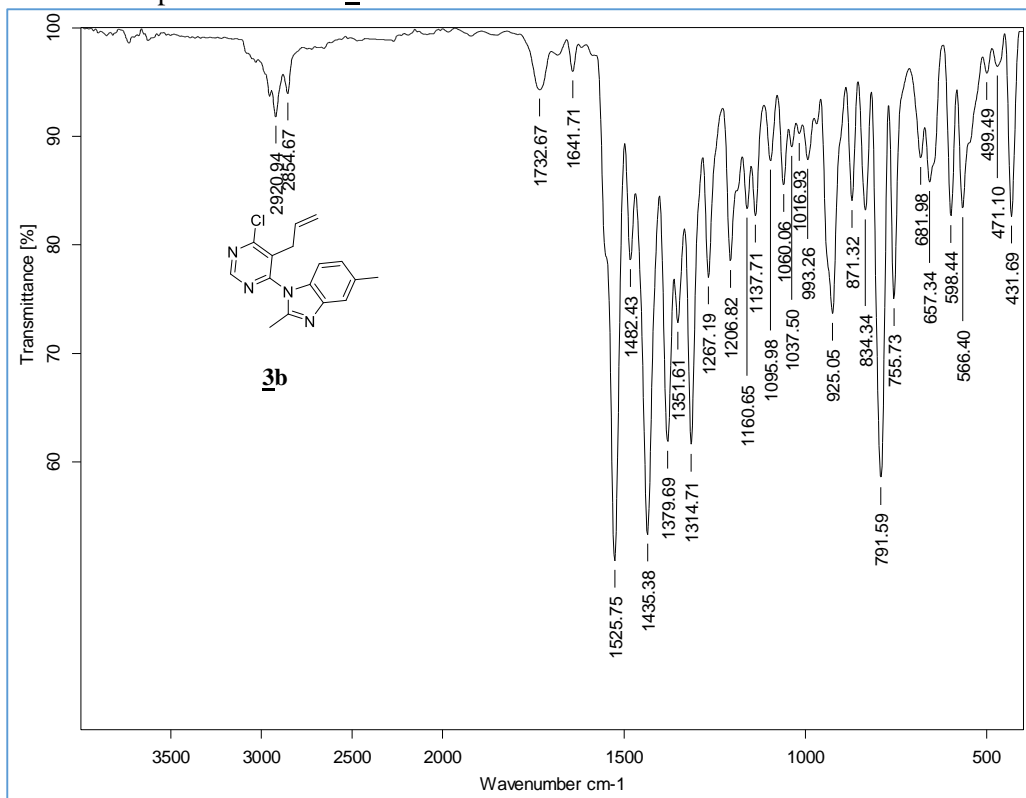
Anexo 9 Espectro de RMN ¹³C de **3a**



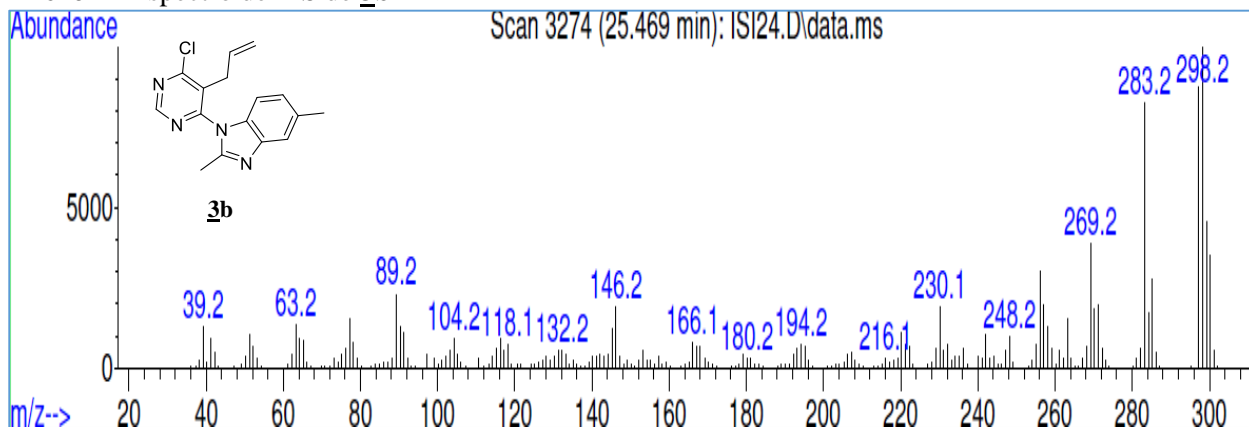
Anexo 10 Espectro de HRMS de **3a**



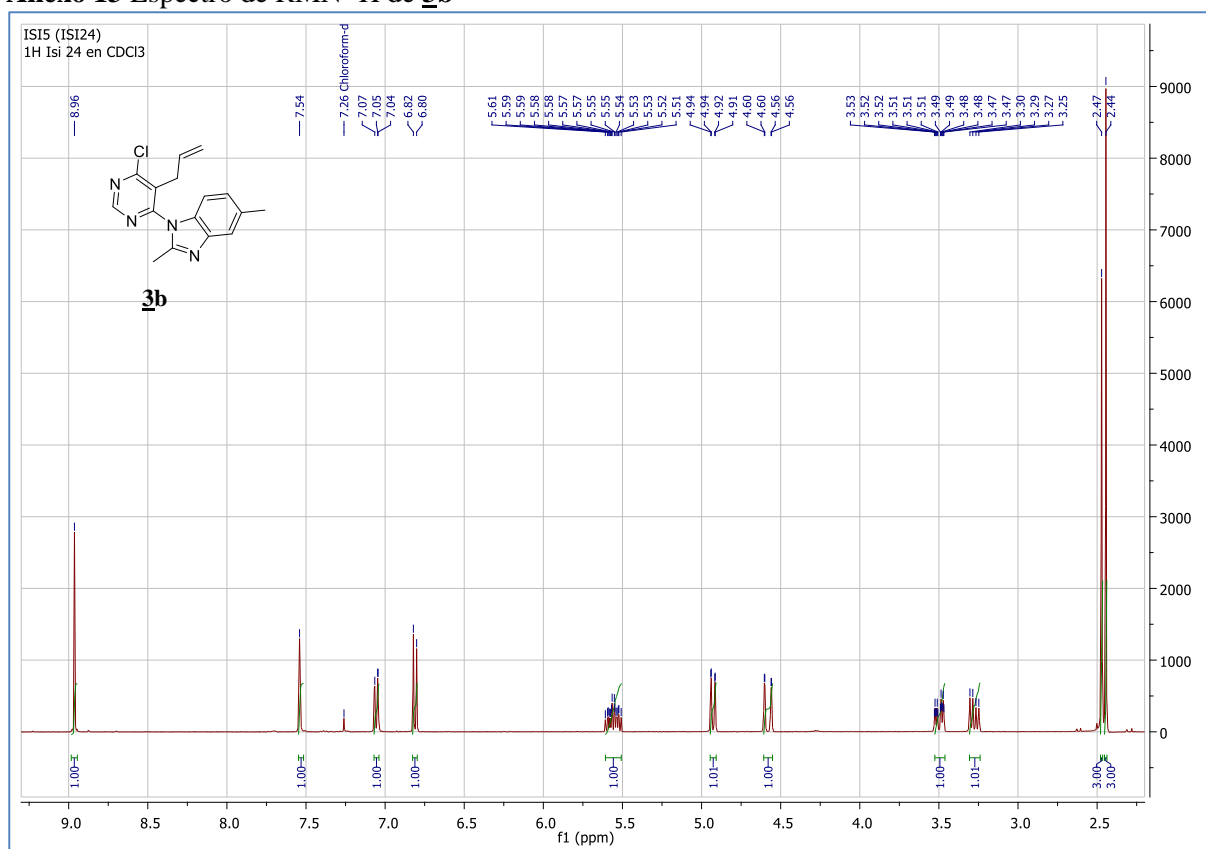
Anexo 11 Espectro de IR de **3b**



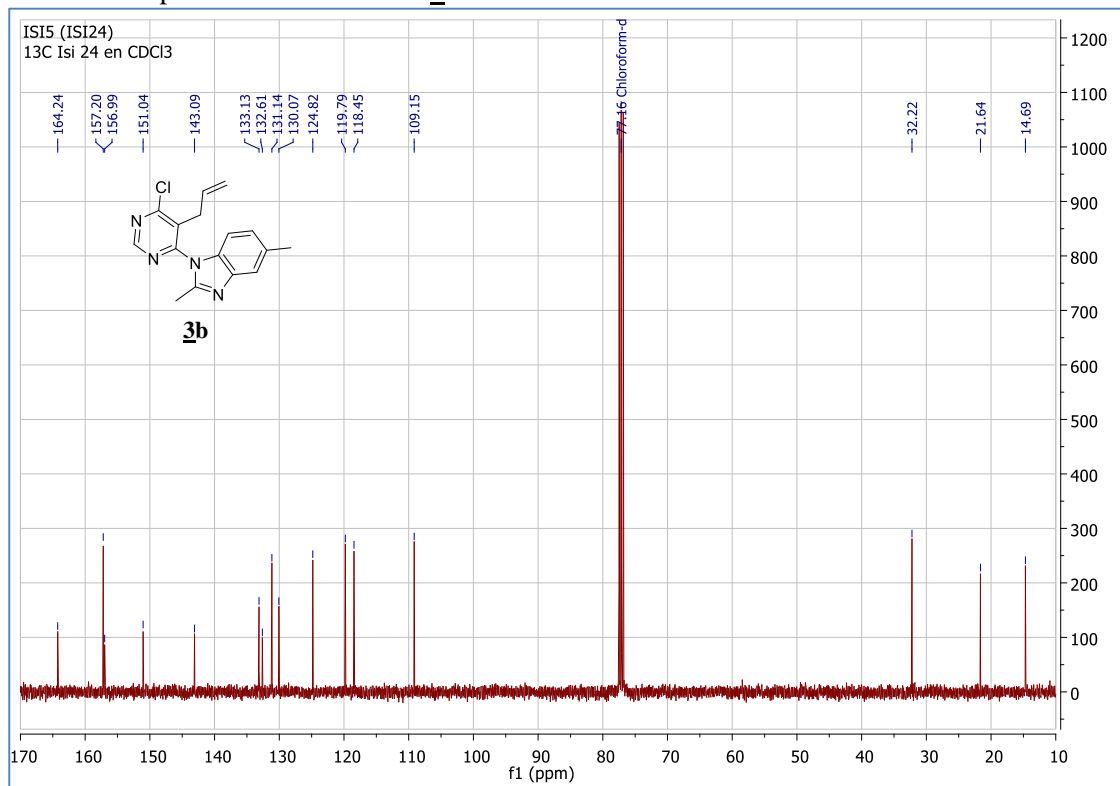
Anexo 12 Espectro de MS de **3b**



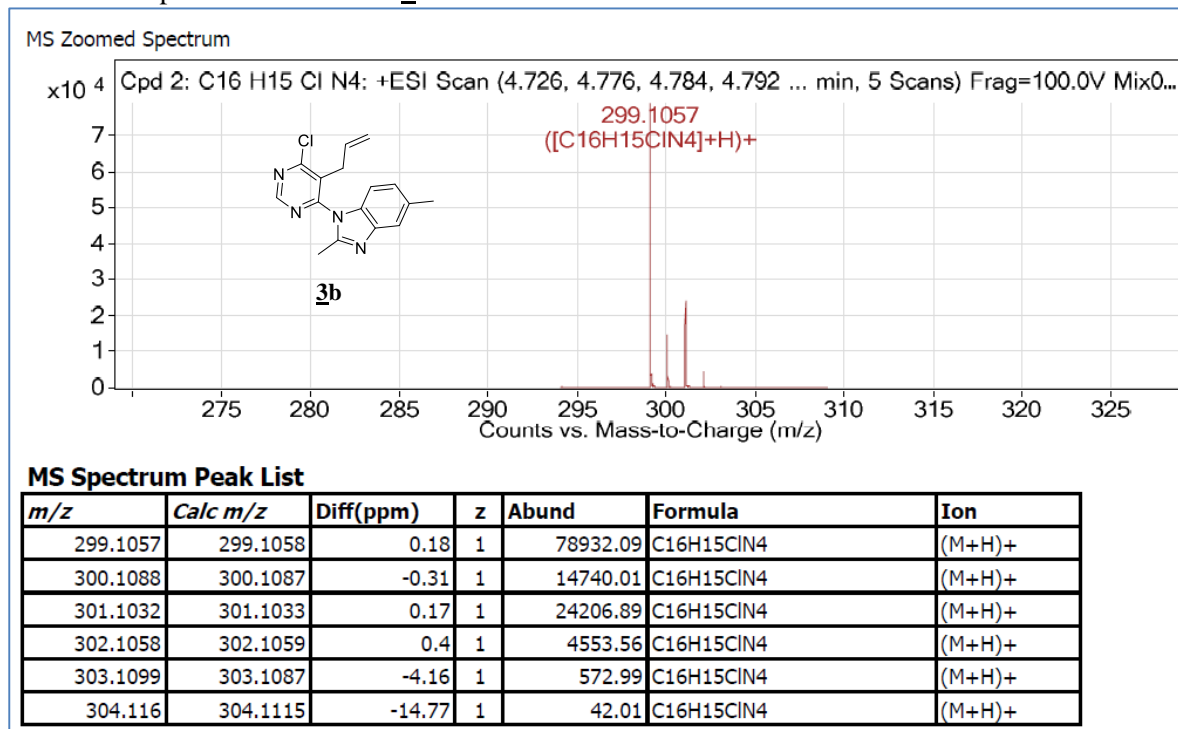
Anexo 13 Espectro de RMN ¹H de **3b**



Anexo 14 Espectro de RMN ¹³C de **3b**

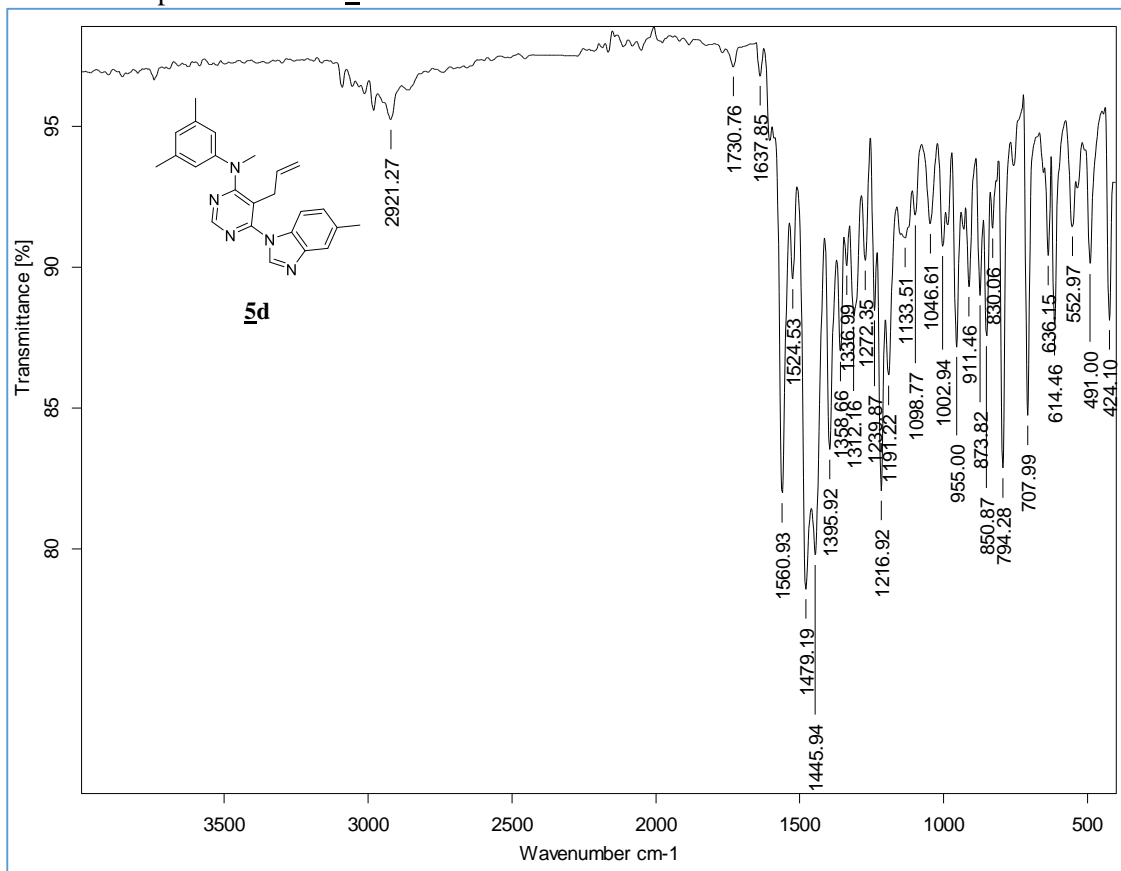


Anexo 15 Espectro de HRMS de **3b**

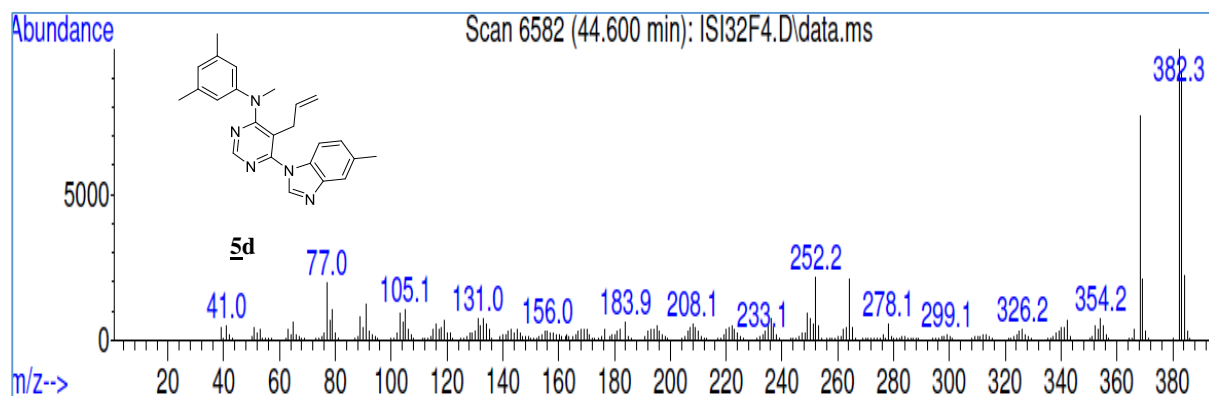


Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de las 5-alil-N-metil-6-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-1-il)-N-fenilpirimidin-4-aminas **5d** y **5h**

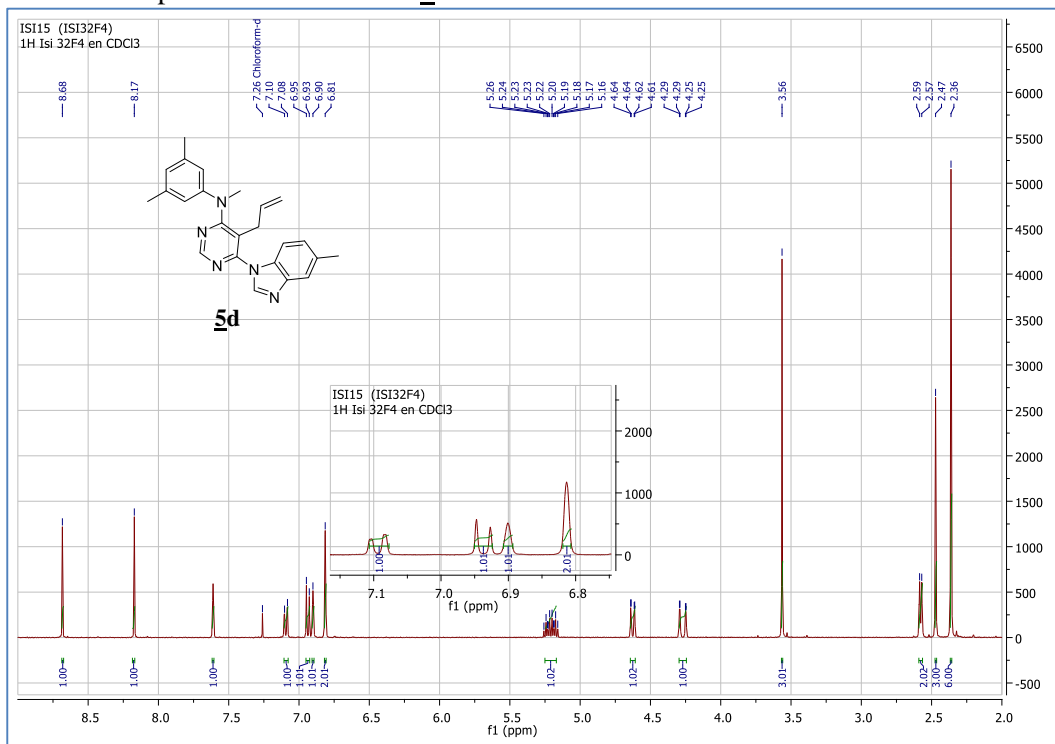
Anexo 16 Espectro de IR de **5d**



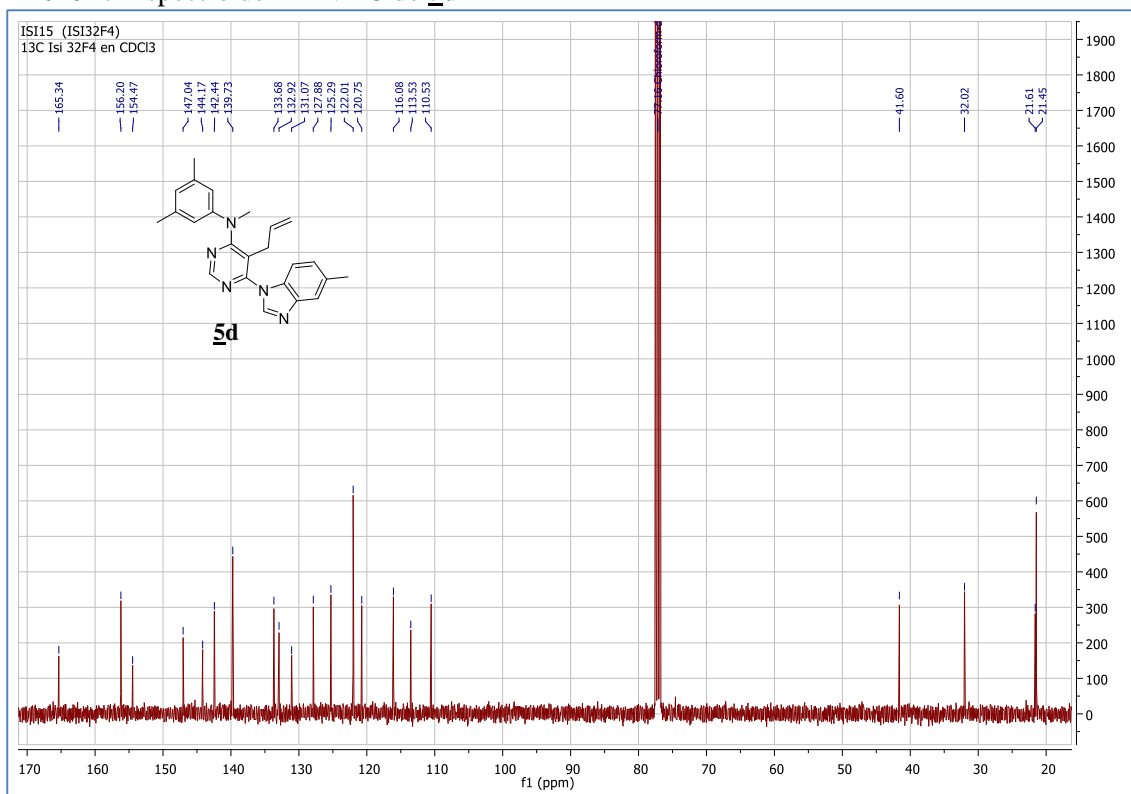
Anexo 17 Espectro de MS de **5d**



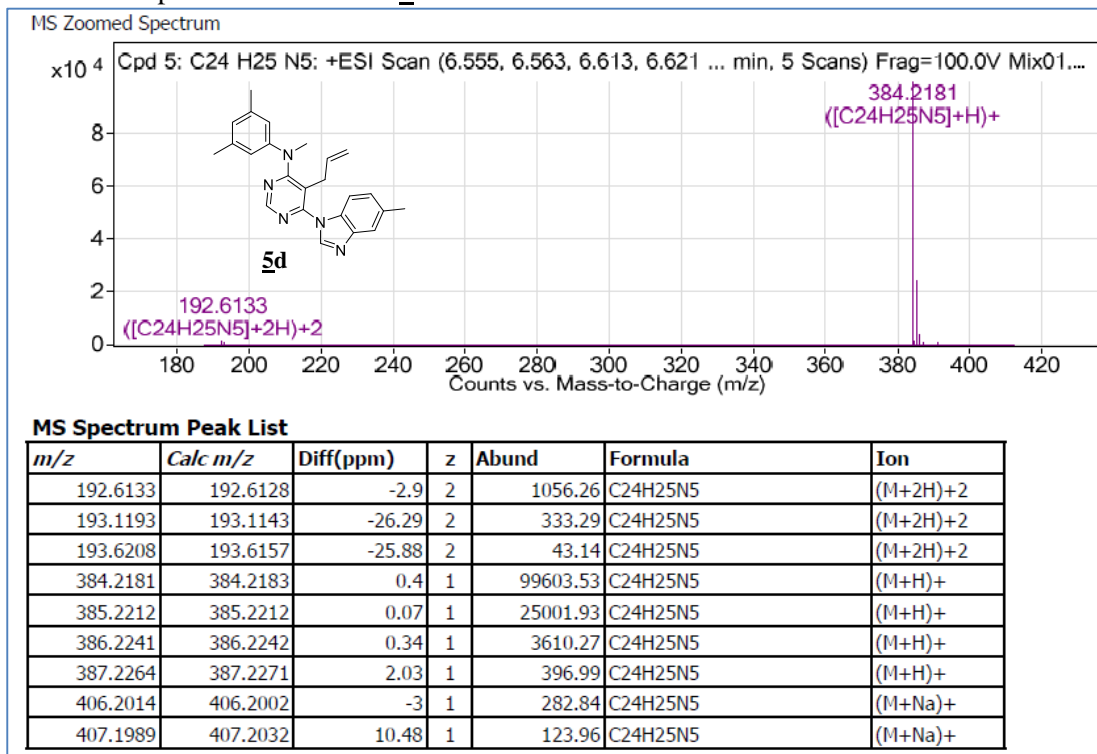
Anexo 18 Espectro de RMN ^1H de **5d**



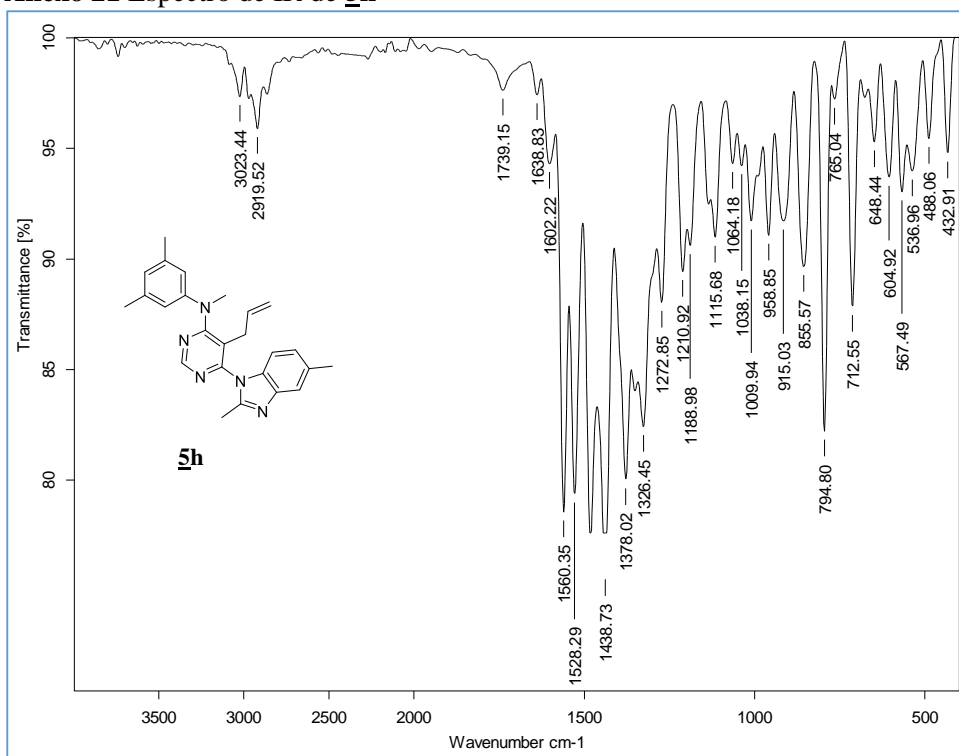
Anexo 19 Espectro de RMN ^{13}C de **5d**



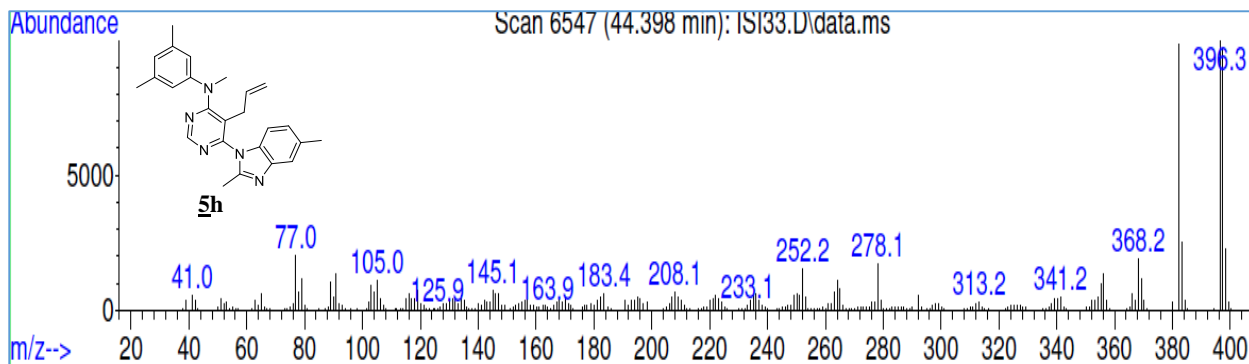
Anexo 20 Espectro de HRMS de **5d**



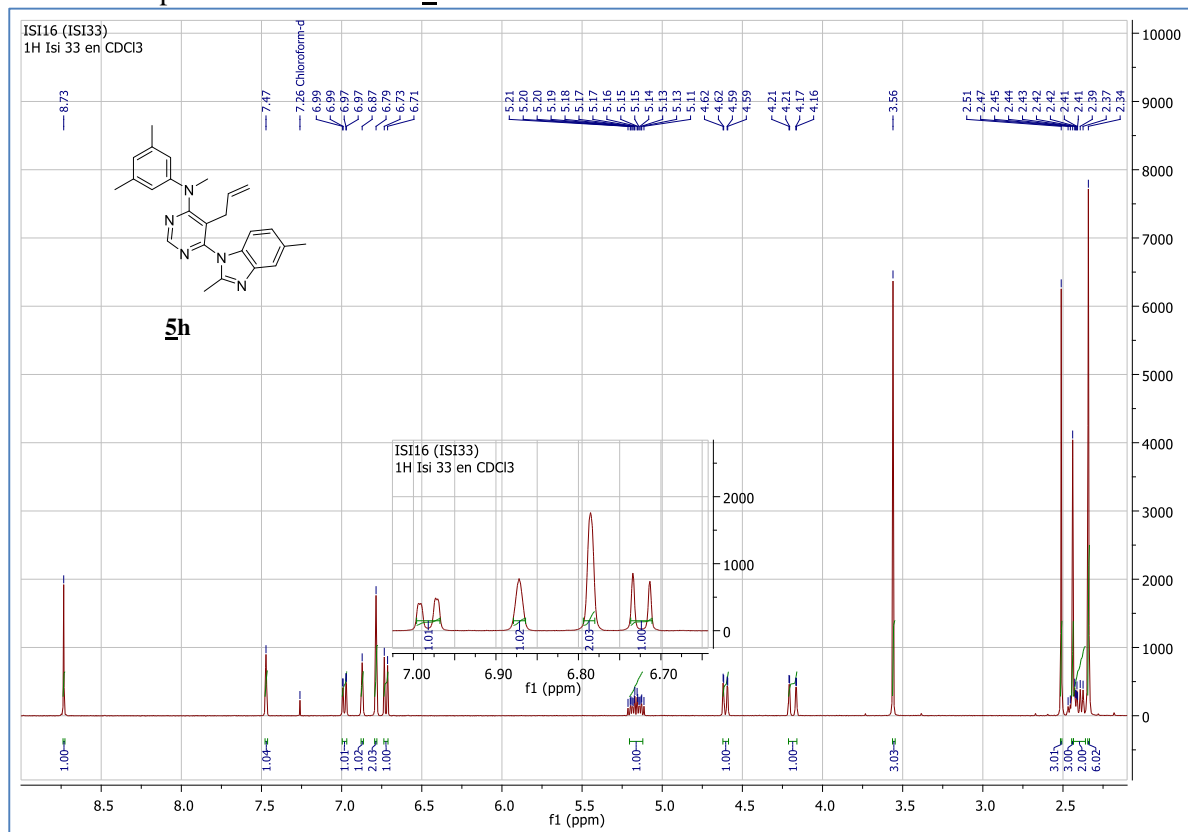
Anexo 21 Espectro de IR de **5h**



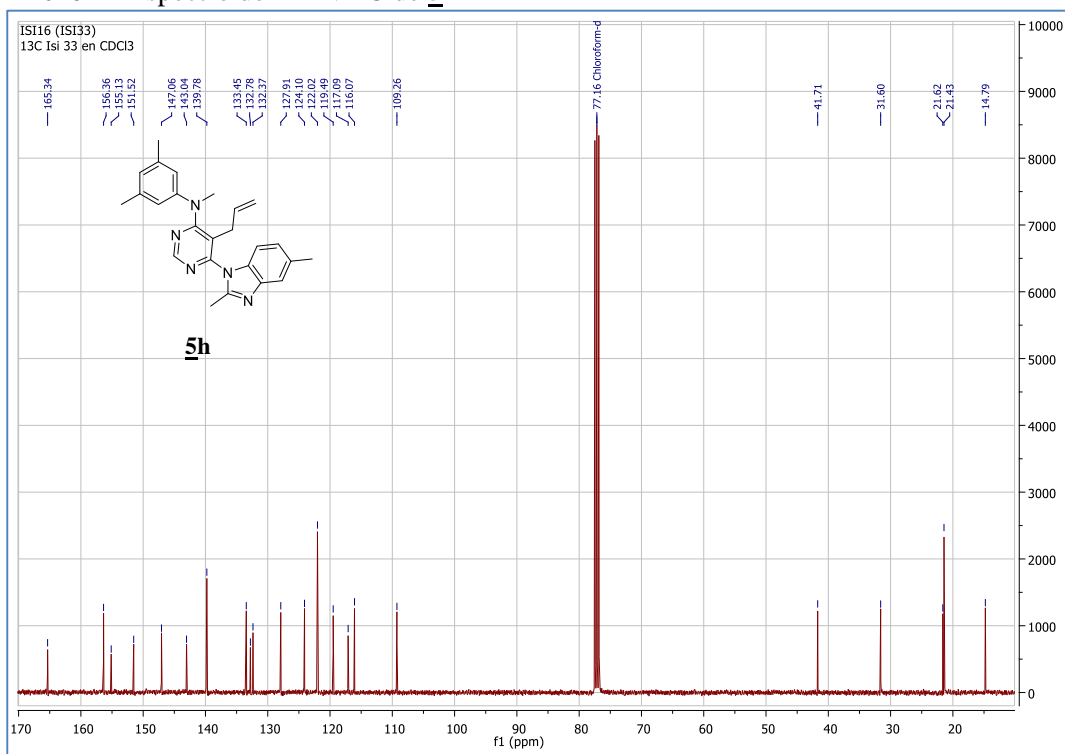
Anexo 22 Espectro de MS de **5h**



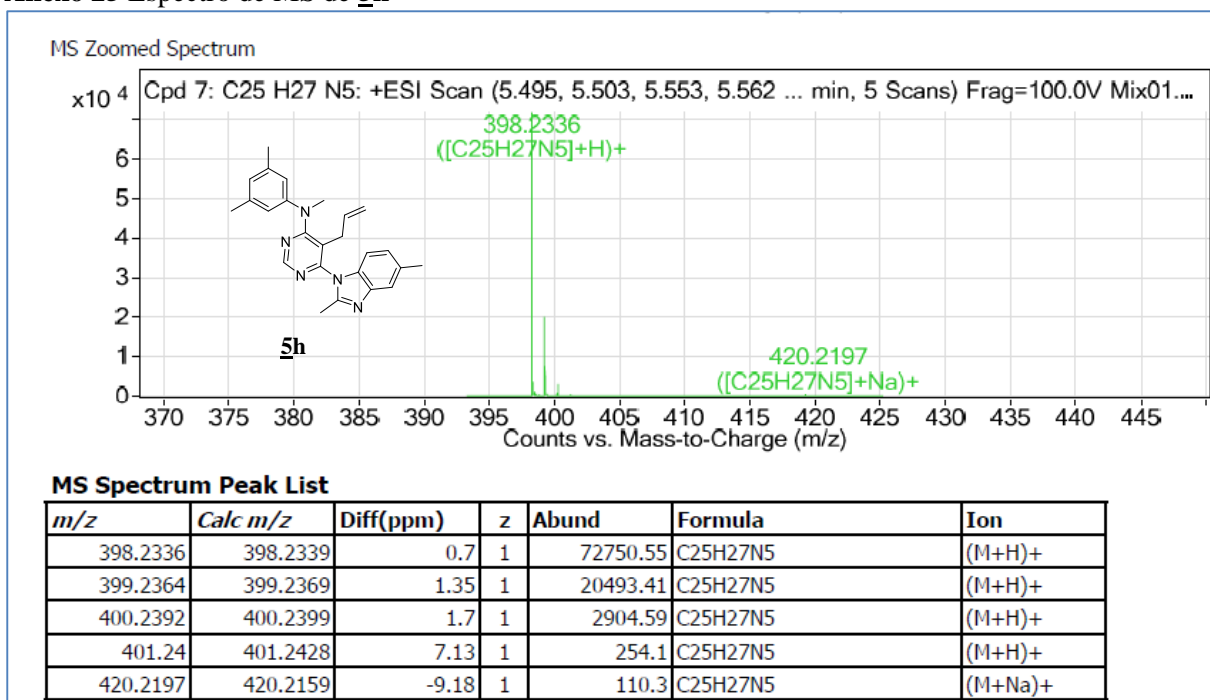
Anexo 23 Espectro de RMN ¹H de **5h**



Anexo 24 Espectro de RMN ¹³C de 5h

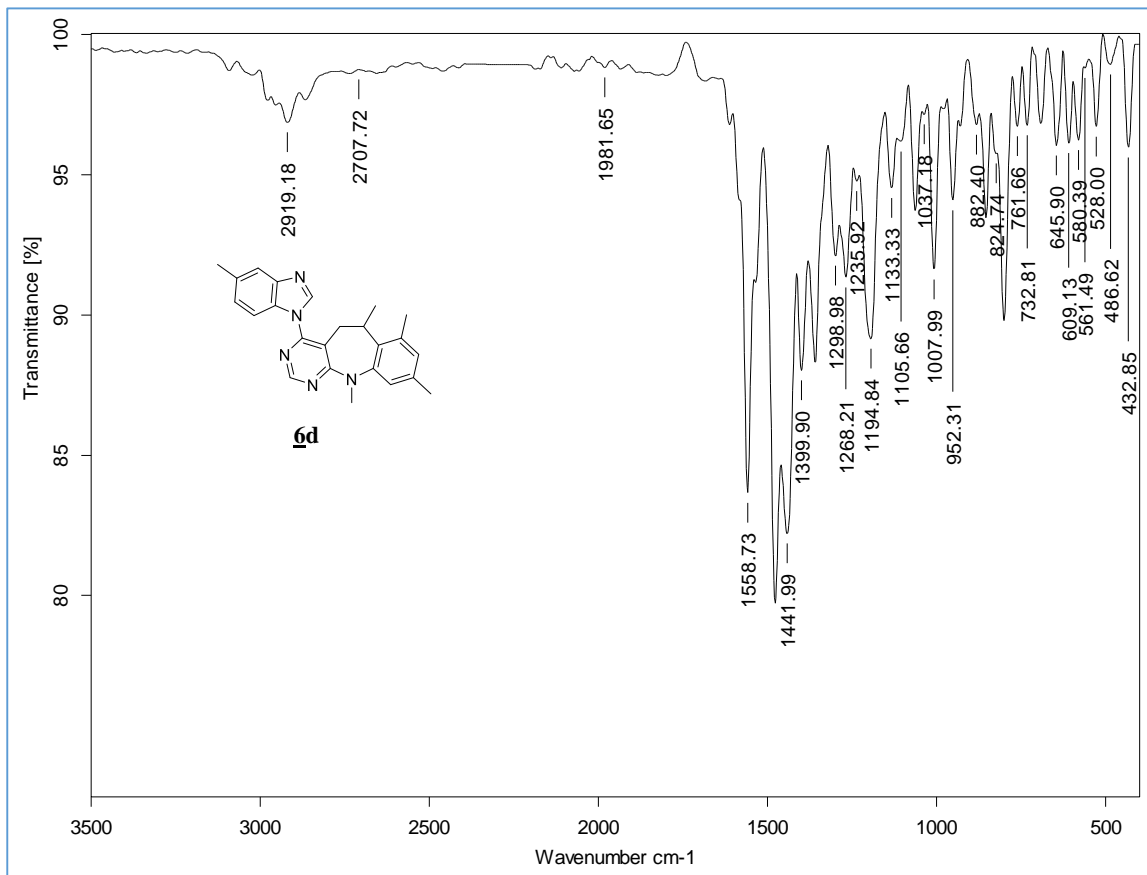


Anexo 25 Espectro de MS de 5h

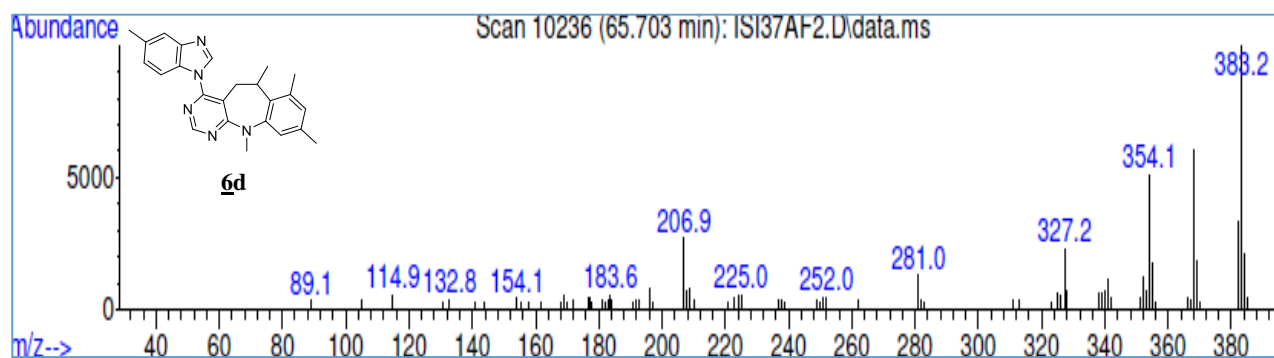


Espectros de IR, MS, RMN ^1H , RMN ^{13}C y HRMS de las 6,11-dimetil-4-(5-metil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-il)-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepinas **6d** y **6h**

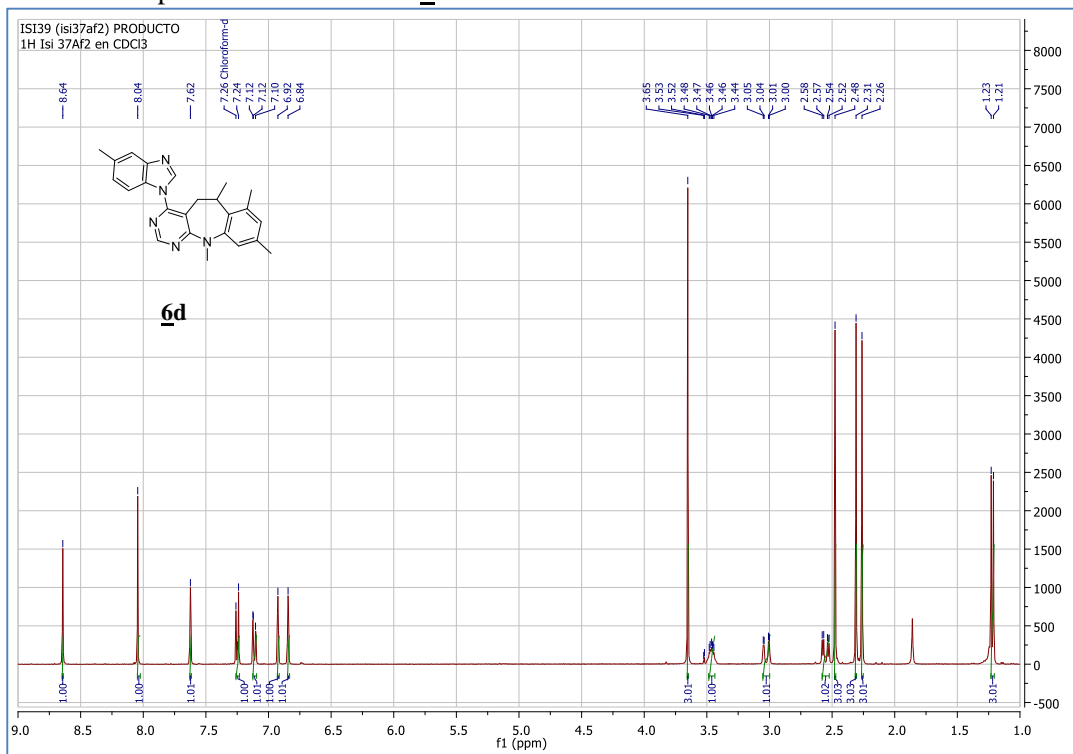
Anexo 26 Espectro de IR de **6d**



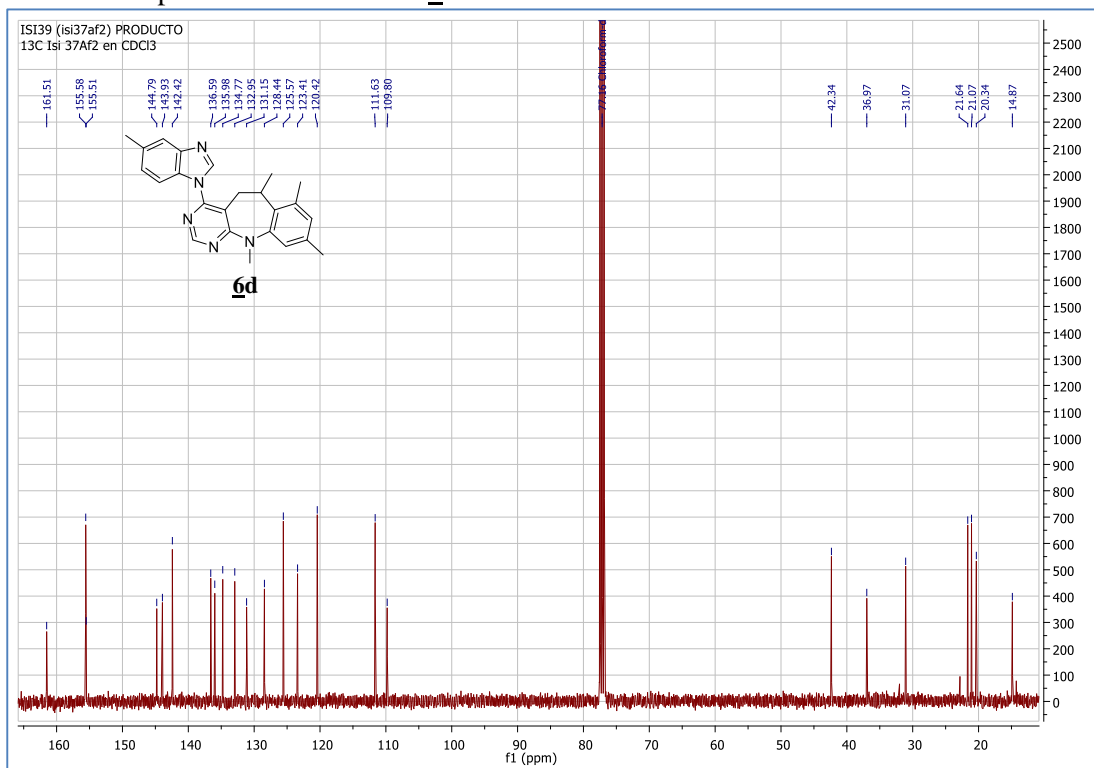
Anexo 27 Espectro de MS de **6d**



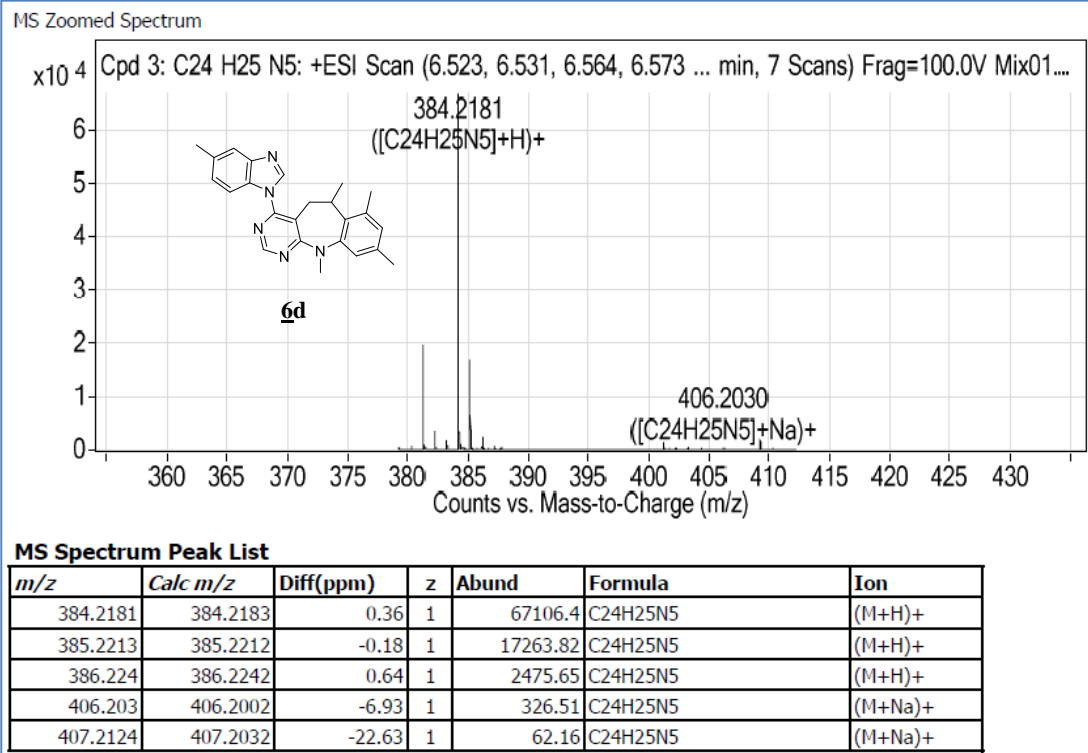
Anexo 28 Espectro de RMN ¹H de **6d**



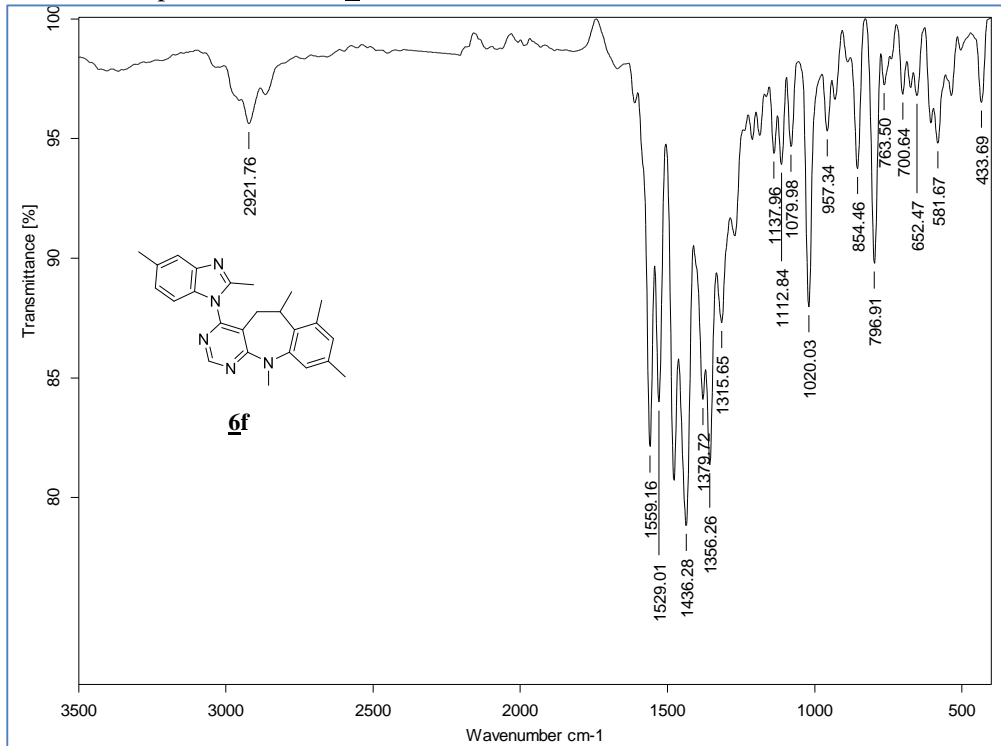
Anexo 29 Espectro de RMN ¹³C de **6d**



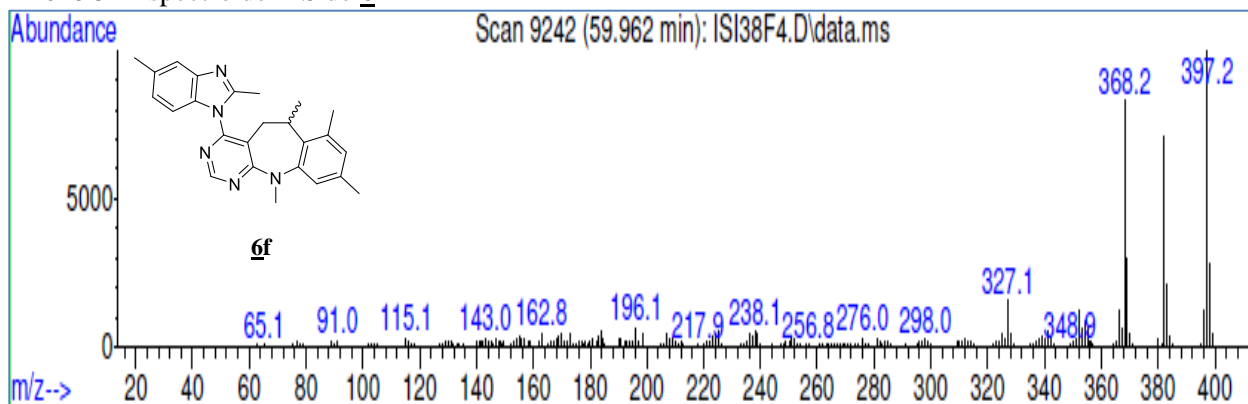
Anexo 30 Espectro de HRMS de **6d**



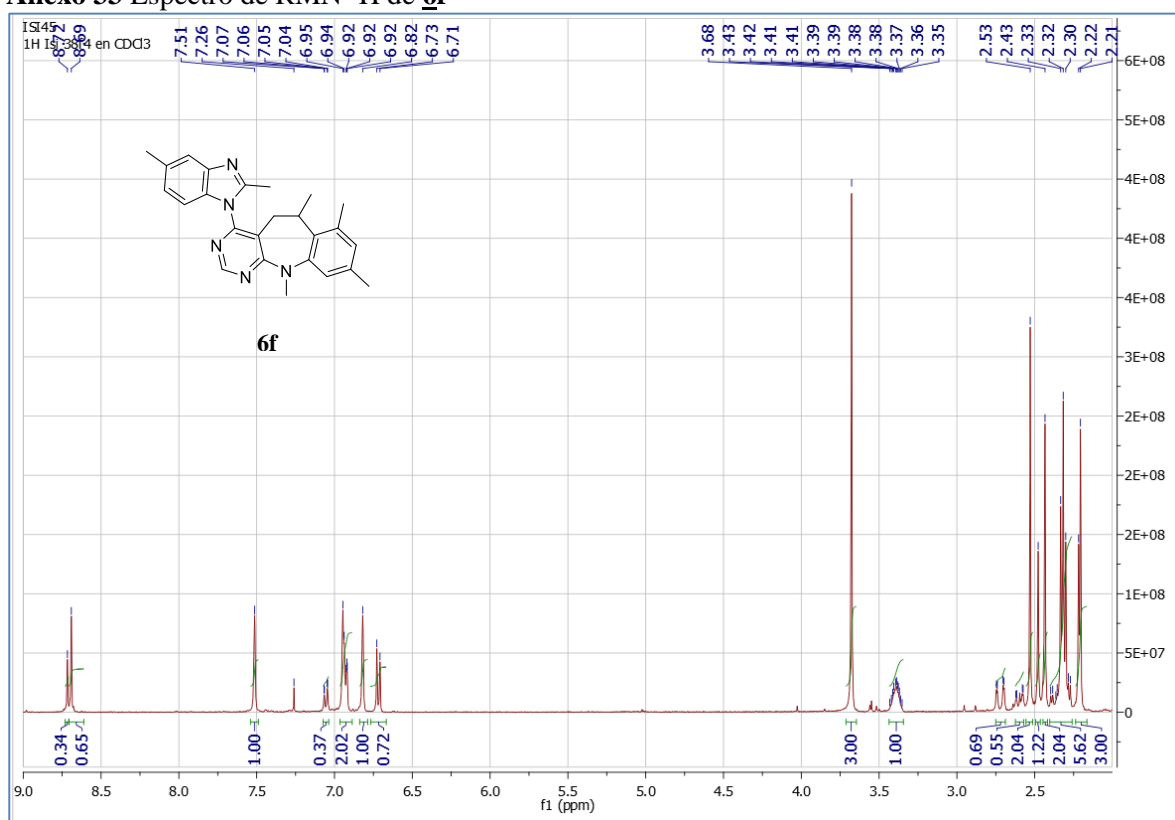
Anexo 31 Espectro de IR de **6f**



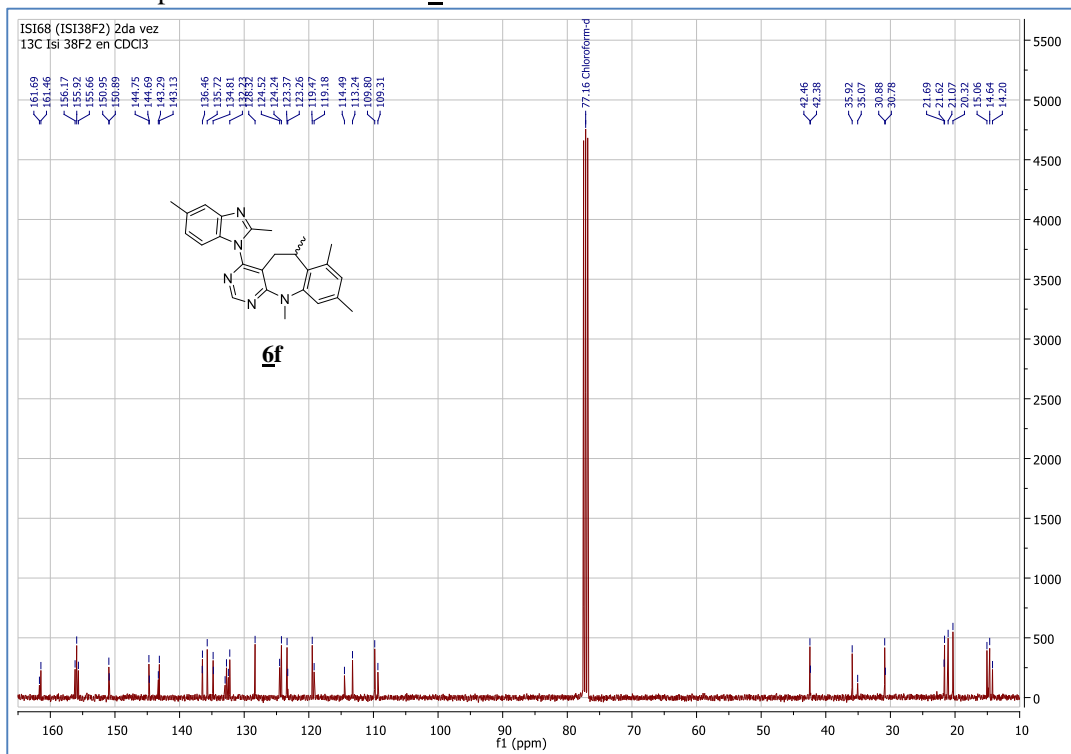
Anexo 32 Espectro de MS de **6f**



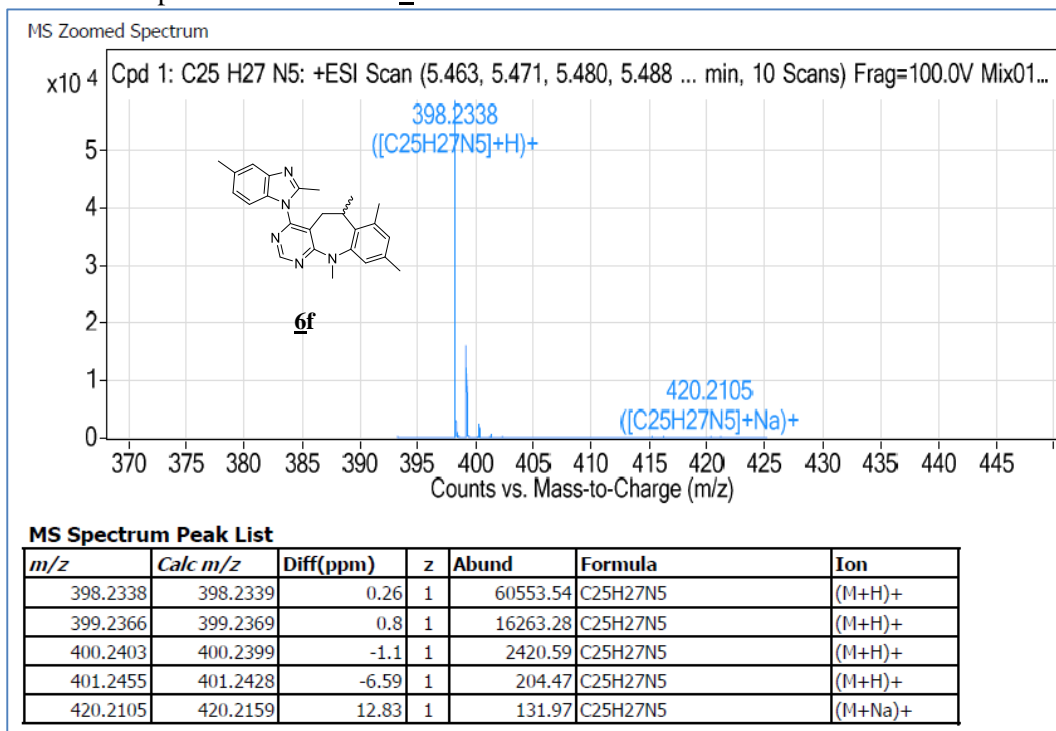
Anexo 33 Espectro de RMN ¹H de **6f**



Anexo 34 Espectro de RMN ¹³C de **6f**

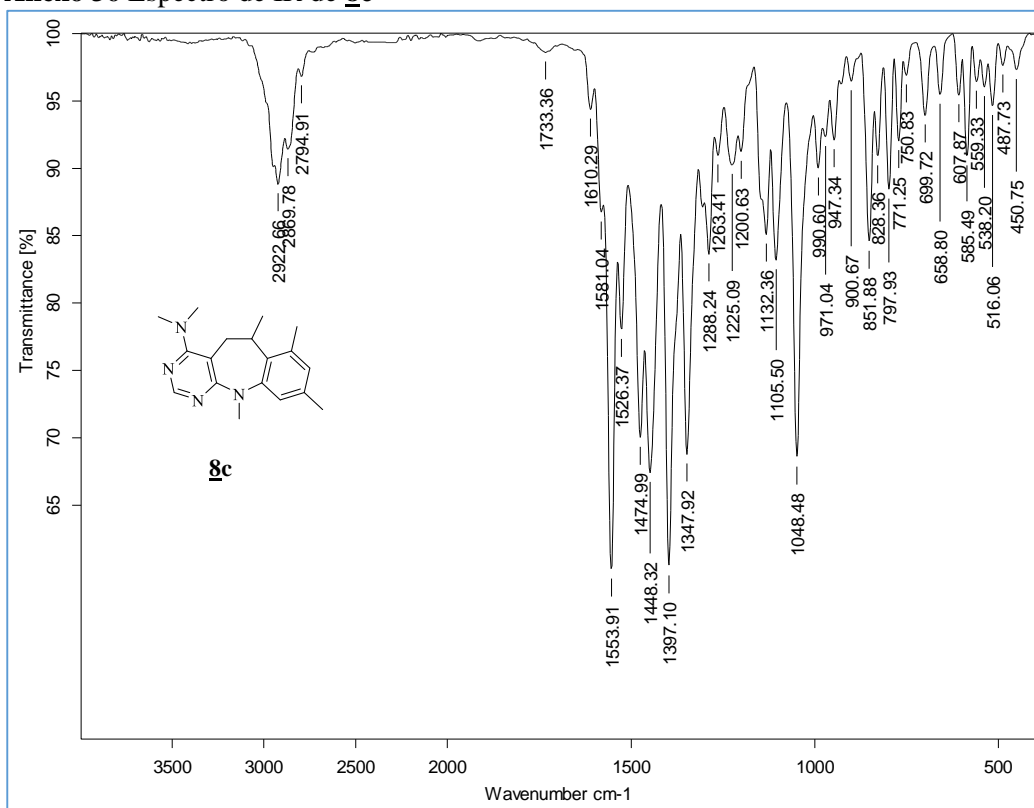


Anexo 35 Espectro de HRMS de **6f**

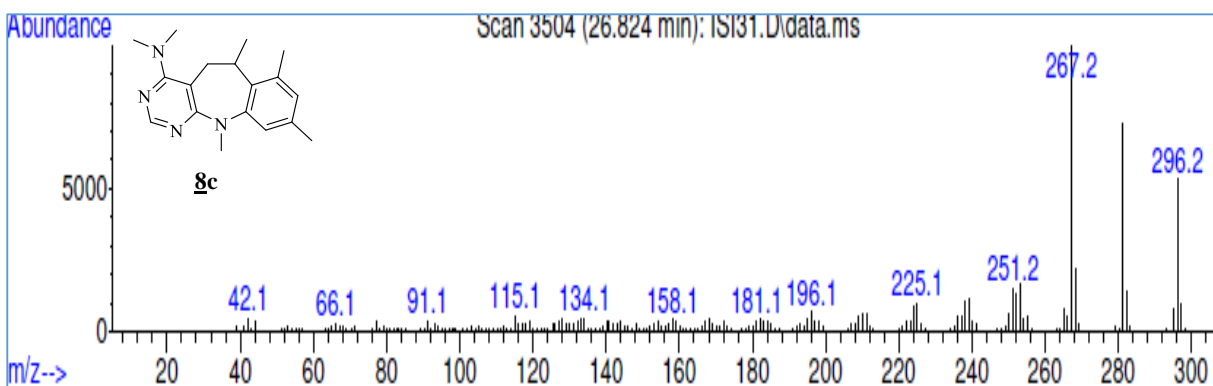


Espectros de IR, MS, RMN ¹H, RMN ¹³C y HRMS de las *N,N,6,11*-tetrametil-6,11-dihidro-5*H*-benzo[*b*]pirimido[5,4-*f*]azepin-4-aminas **8c**

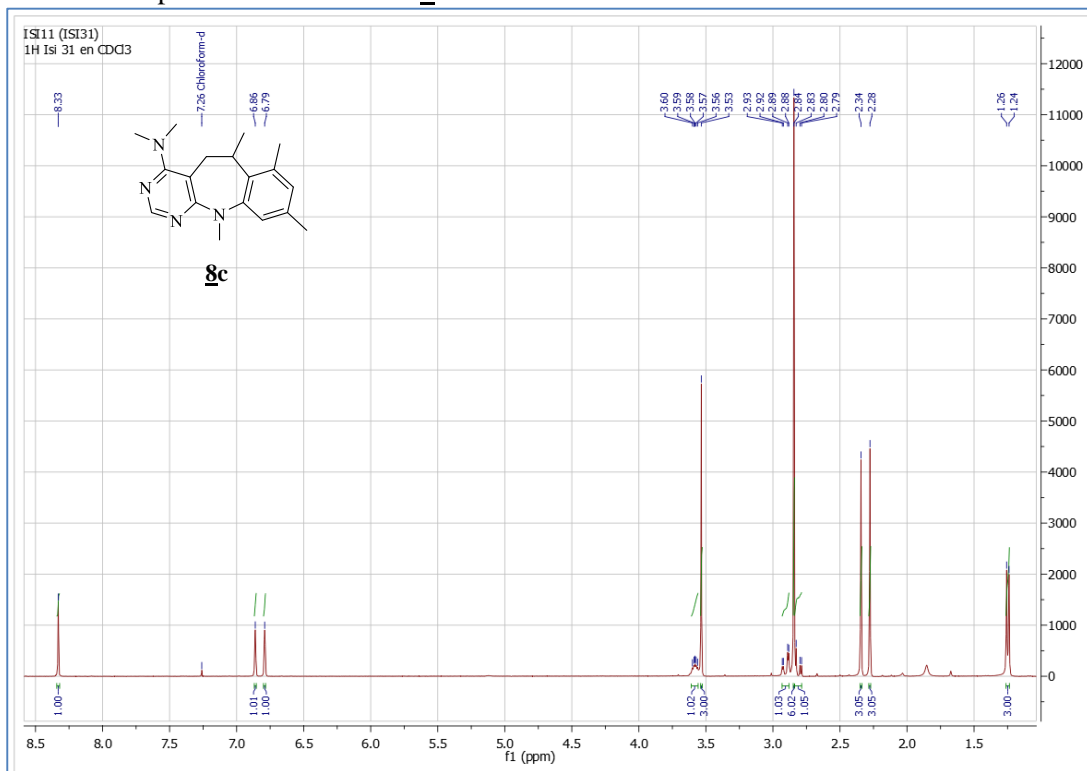
Anexo 36 Espectro de IR de **8c**



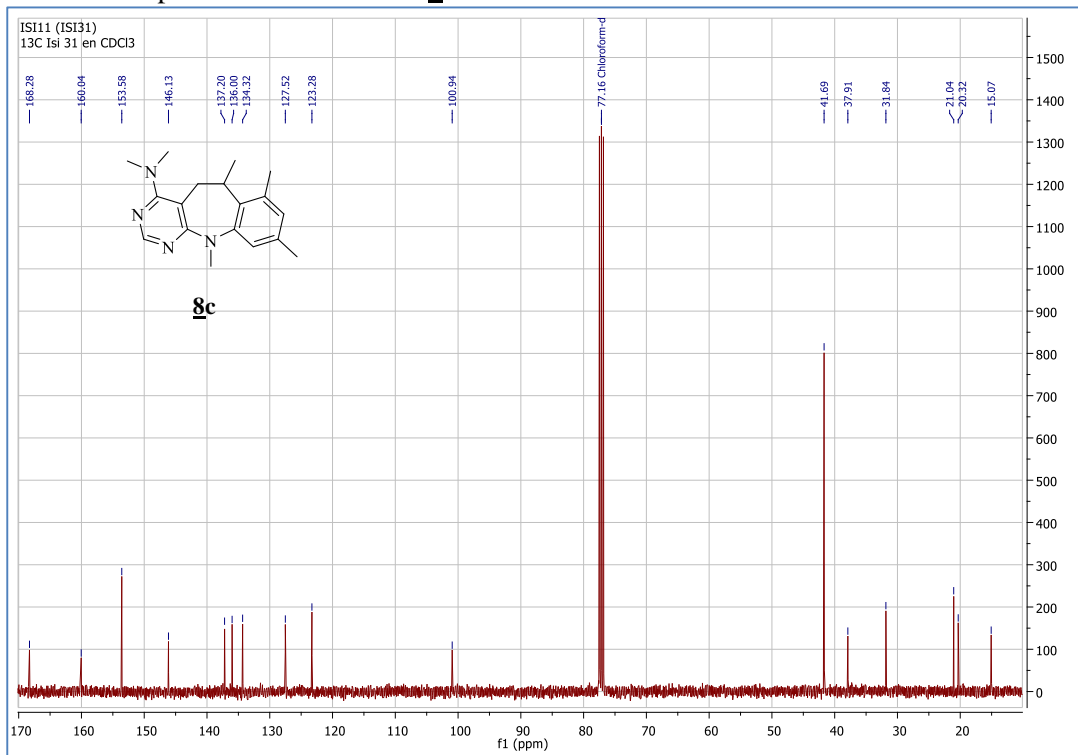
Anexo 37 Espectro de MS de **8c**



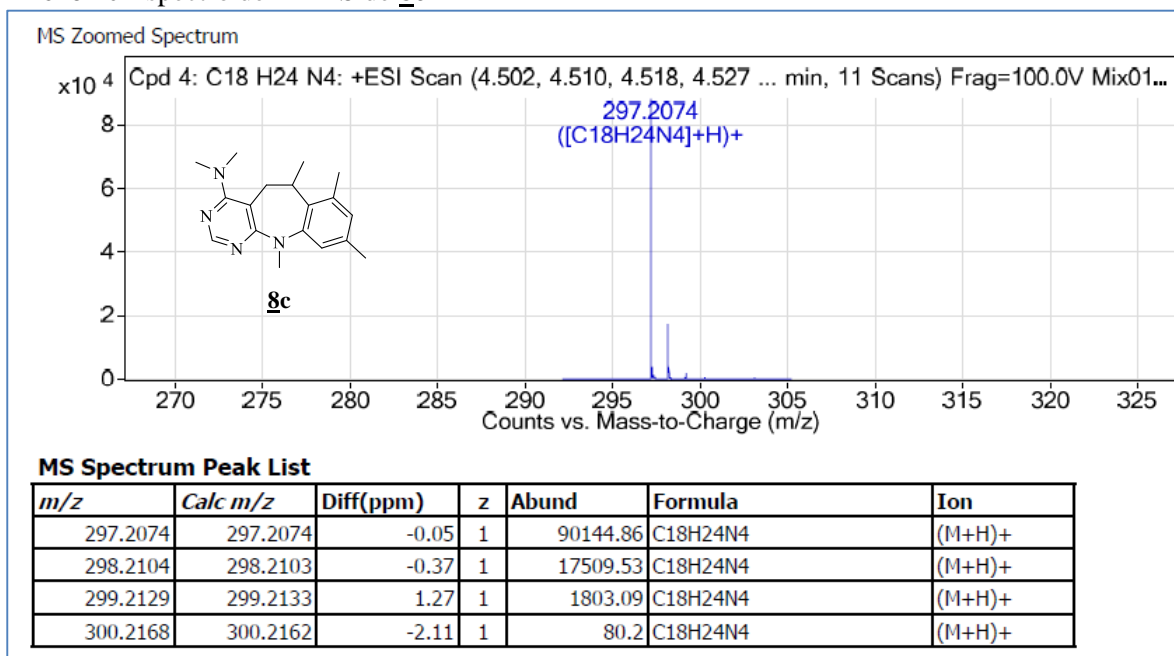
Anexo 38 Espectro de RMN ^1H de **8c**



Anexo 39 Espectro de RMN ^{13}C de **8c**

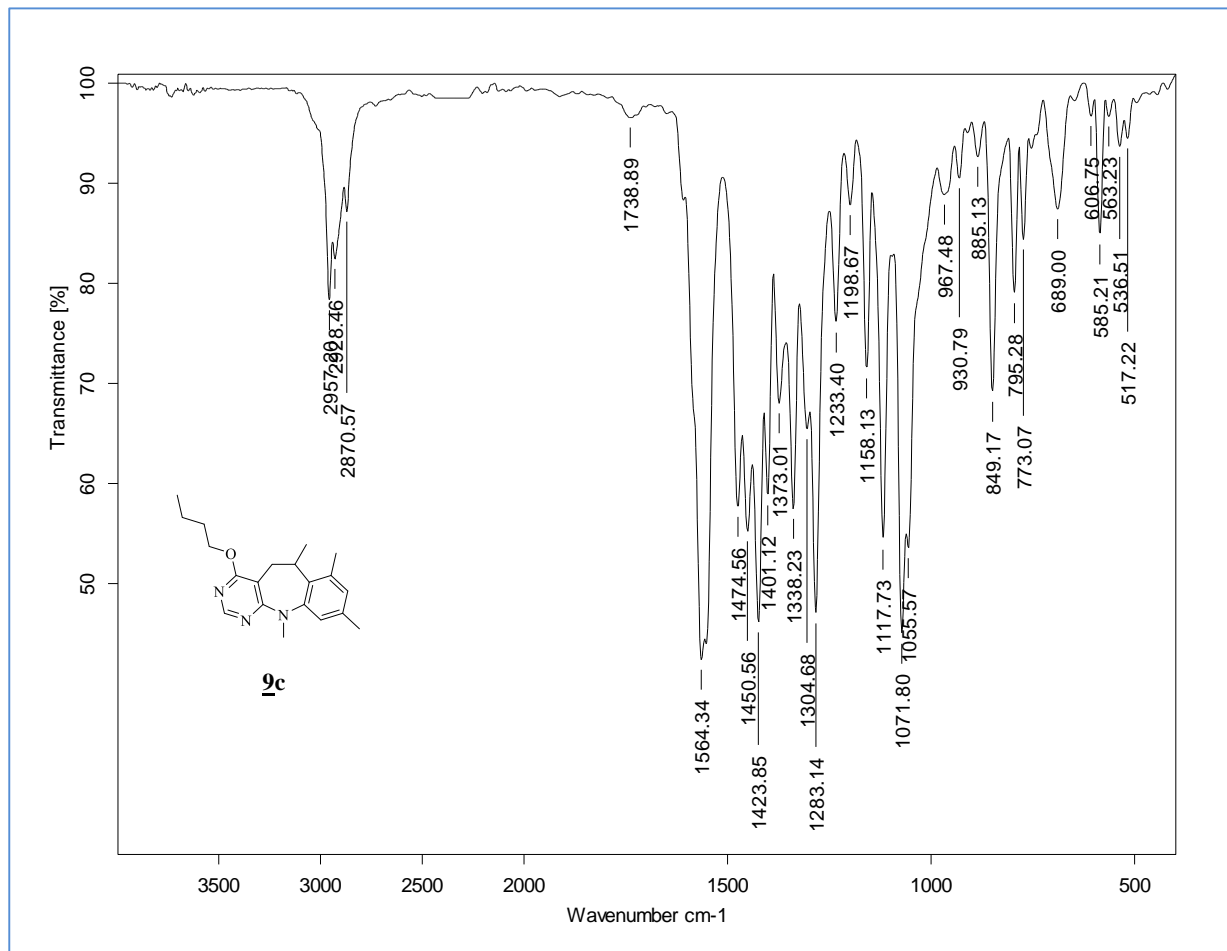


Anexo 40 Espectro de HRMS de **8c**

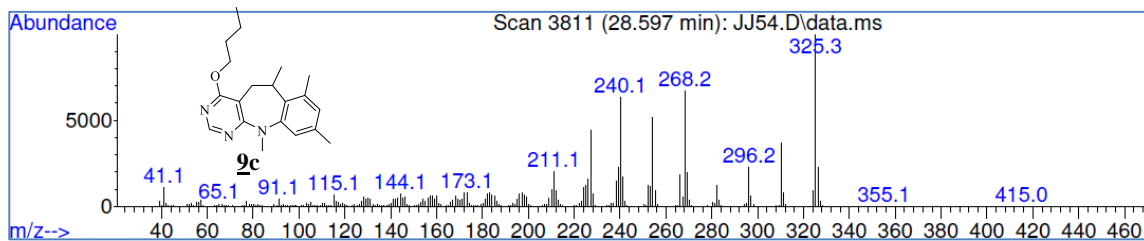


Espectros de IR, MS, RMN ^1H , RMN ^{13}C y HRMS de la 4-Butoxi-6,7,9,11-tetrametil-6,11-dihidro-5H-benzo[b]pirimido[5,4-f]azepina **9c**

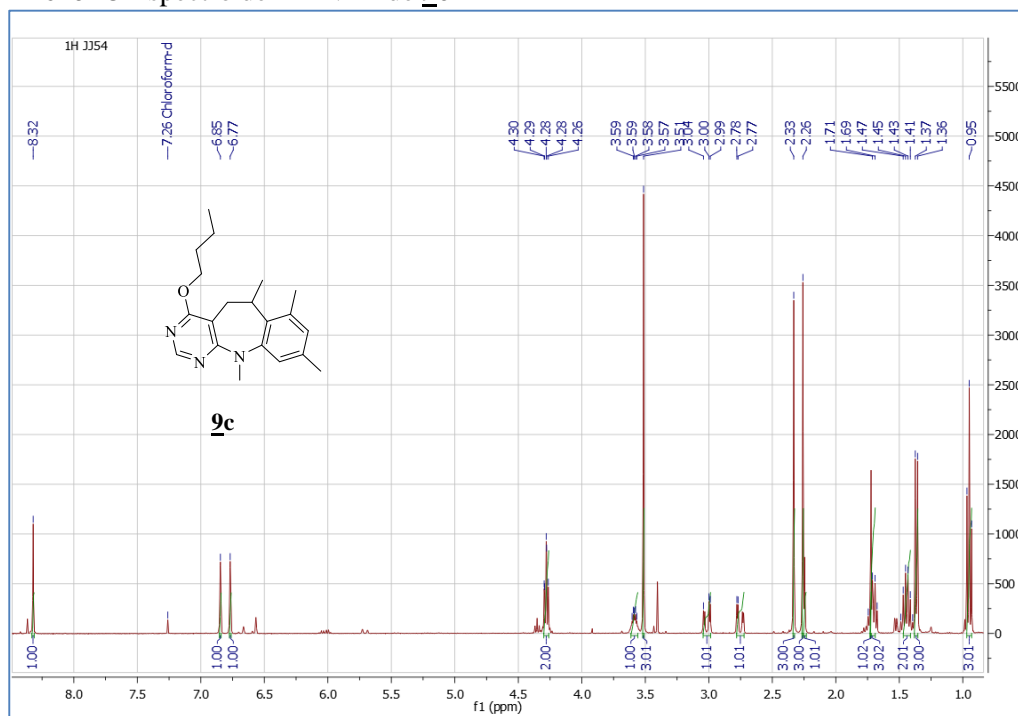
Anexo 41 Espectro de IR de **9c**



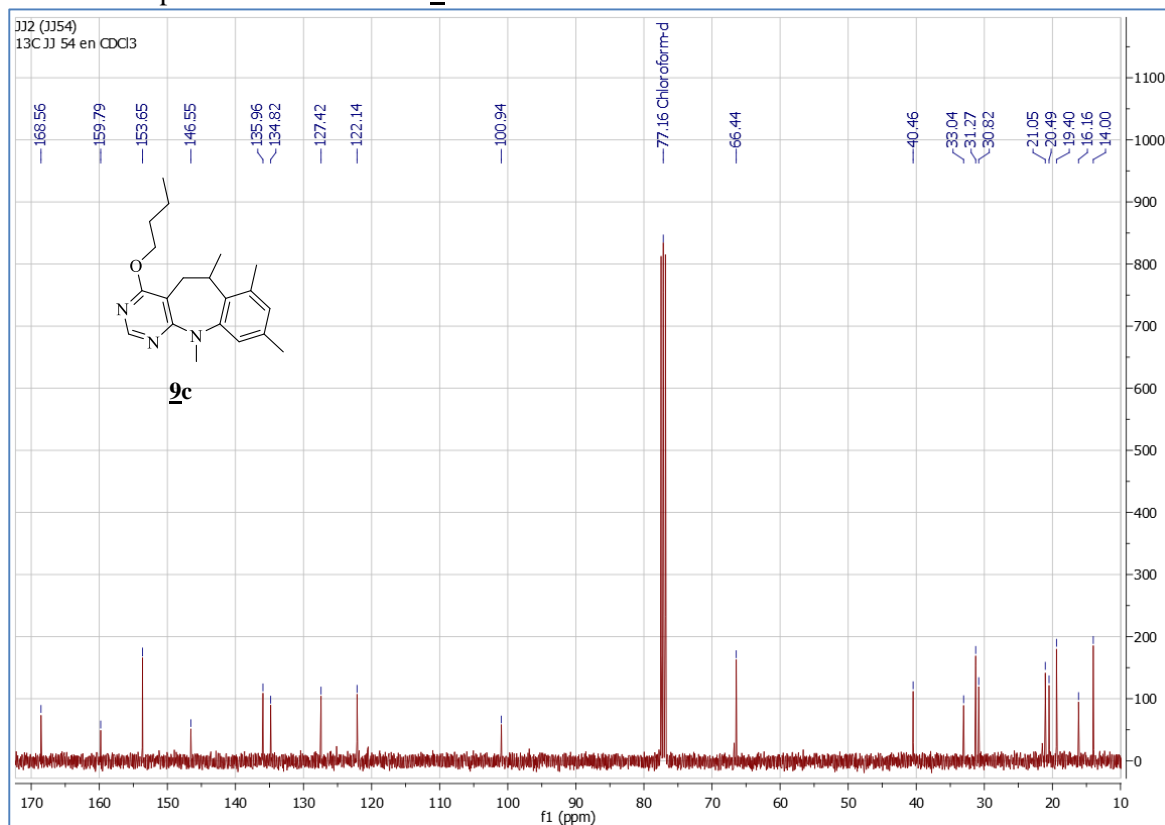
Anexo 42 Espectro de MS de **9c**



Anexo 43 Espectro de RMN ^1H de **9c**



Anexo 44 Espectro de RMN ^{13}C de **9c**



Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Selected filters: None

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions

529 formula(e) evaluated with 3 results within limits (up to 20 closest results for each mass)

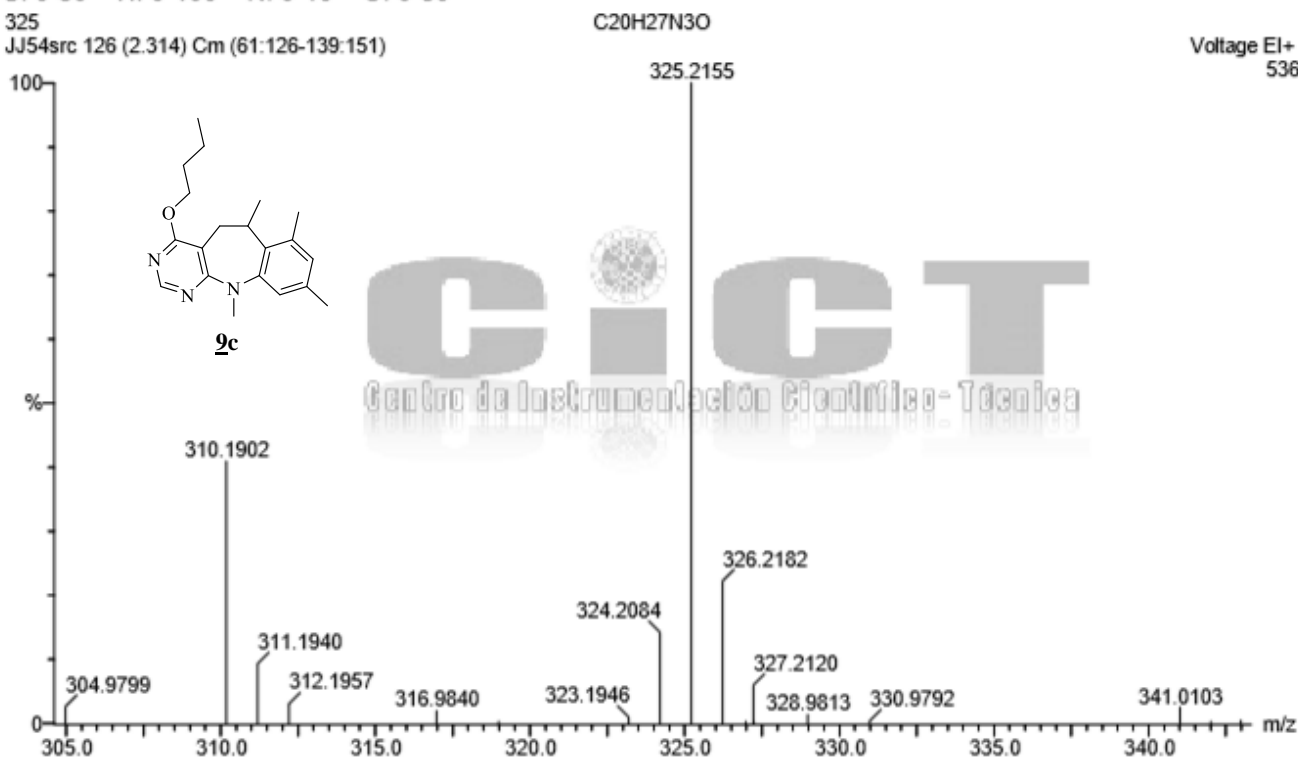
Elements Used:

C: 0-50 H: 0-100 N: 0-10 O: 0-50

325

JJ54src 126 (2.314) Cm (61:126-139:151)

Voltage EI+
536



Minimum: -1.5
Maximum: 20.0 5.0 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Formula
325.2155	325.2154	0.1	0.3	9.0	4.3	C20 H27 N3 O
	325.2168	-1.3	-4.0	8.5	3.8	C22 H29 O2
	325.2141	1.4	4.3	9.5	5.3	C18 H25 N6