

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y EVALUACIÓN
BIOLÓGICA *IN VITRO* DE DERIVADOS DE TRIFENIL IMIDAZOL”**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.FB. LAURA JANETH DÍAZ RUBIO

TIJUANA B.C.

JULIO DEL 2015

Tijuana, B. C., a 23 de julio de 2015

C. Laura Janeth Díaz Rubio
Pasante de: Maestro en Ciencias
Presente

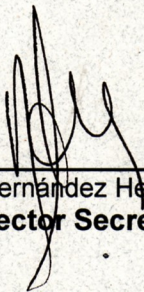
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por el C. Dr. Iván Córdova Guerrero

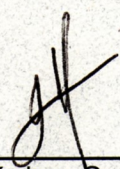
quien será el responsable de la calidad del trabajo que usted presente, referido al
tema: "SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y EVALUACIÓN
BIOLÓGICA IN VITRO DE DERIVADOS DE TRIFENIL IMIDAZOL"

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

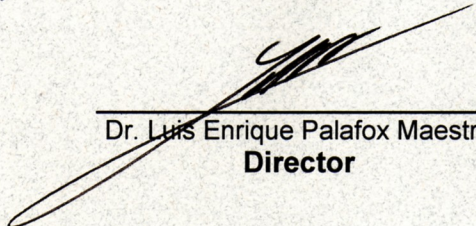
- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- HIPOTESIS
- III.- OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICOS
- IV.- ANTECEDENTES
- V.- METODOLOGIA Y RESULTADOS SINTETICOS
- VI.- METODOLOGIA Y RESULTADOS ACTIVIDAD CITOTOXICA
- VII.- METODOLOGIA Y RESULTADOS BIOENSAYOS COMPLEMENTARIOS
- VIII.- CONCLUSIONES



Q. Noemí Hernández Hernández
Sub-Director Secretario



Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis



Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director



**Trabaja duro en silencio,
deja que tu éxito haga el ruido.**



Agradecimientos

A Dios, por la vida, salud, carácter y voluntad de querer salir adelante. Por abrirme tantas puertas maravillosas y permitirme conocer a gente maravillosa que me ha ayudado a llegar a donde me encuentro. Por la mejor familia del mundo.

Mi familia, no hay palabras para agradecer todo lo que he recibido de ustedes, su tiempo, su paciencia, su amor, y miles de cosas mas, hoy por hoy me considero una persona de bien (con errores como todo el mundo) y si de algo estoy segura, es de que todo lo que soy se los debo a ustedes y que solo soy un reflejo de lo que ustedes me han enseñado siempre. Los amo. A mis hermanas también aunque me hagan enojar.

Dr. Iván Córdova y al Laboratorio de Química Medicinal y Productos Naturales, sabe que en ocasiones las palabras no son las adecuadas para expresar lo que se piensa, probablemente este sea el caso, gracias por su confianza para permitirme ser parte de su casa, de su laboratorio desde hace ya varios años, puede confiar en que no lo defraudare ya que su laboratorio lo quiero como si fuera mío. Gracias por todos los conocimientos transmitidos a lo largo de estos años y por la gran lección de vida que me ha inculcado, bandera con la cual usted camina: nunca darse por vencido, siempre hay que lograr lo que uno se propone, tomando el camino correcto, que aunque en ocasiones puede ser mas tardado, cansado e incluso doloroso, pero se disfruta mas el éxito al saber que logro con esfuerzo y la conciencia tranquila.

Compañeros de laboratorio, por su paciencia, apoyo, su compañía, y todos los momentos compartidos, buenos y malos, son experiencias que solo se viven una vez y quedan guardadas en la memoria por siempre. Gracias por formar parte de mi formación.

Rubén Rodríguez, por tu paciencia y apoyo incondicional en cada momento, sabes que cada logro mío es también tuyo. Te amo.

Universidad Autónoma de Baja California y a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, por abrirme las puertas y permitir que continúe con mi desarrollo profesional dentro de sus aulas.

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado durante este proceso de aprendizaje.

Instituto Universitario de Bio-orgánica “Antonio González” y al laboratorio BIOLAB, por abrirme sus puertas para la realización de los estudios biológicos de citotoxicidad.

Instituto Tecnológico de Tijuana, por su valioso apoyo en la realización de los estudios de espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Departamento de Química Analítica, Facultad de medicina, por su apoyo en el préstamo de sus instalaciones para la realización de los ensayos biológicos complementarios y por su ayuda en la caracterización estructuras por resonancia magnética nuclear.



Resumen

En esta tesis se presenta el trabajo de síntesis química y evaluación biológica de derivados de trifenil imidazol. A pesar de que los estudios sintéticos y actividades biológicas de esta plantilla molecular son extensos, hay poca información reportada sobre derivados con sustituciones en el anillo A. Se propone la síntesis de derivados cuyas diferencias radican en la posición y naturaleza química de distintos sustituyentes en el anillo A y su posterior ensayo biológico citotóxico para de esta forma establecer una relación estructura-actividad.

En la **introducción** se recopila información sobre el uso de medicamentos a través de la historia y cómo estos evolucionaron con el paso del tiempo ya la experiencia empírica, el impacto que tuvo la síntesis orgánica en el desarrollo de medicamentos y la importancia que ha cobrado la química medicinal en situación actual de la industria farmacéutica.

En los **antecedentes** presentados encontraremos información importante y de manera resumida con respecto al uso de los imidazoles, analizaremos sus propiedades químicas, físicas y biológicas, describiendo las principales bioactividades que presenta, mostrando ejemplos claros de trabajos sintéticos realizados por grupos de investigadores alrededor del mundo.

El área de **metodologías** presenta el desarrollo sintético y biológico llevado a cabo para la síntesis y evaluación biológica de tipo citotóxica de los derivados; la ruta sintética que se utilizó para obtenerlos, así como los resultados de las diferentes técnicas espectrométricas y espectroscópicas de caracterización estructural que fueron utilizadas.

En la discusión de resultados se encontrará la descripción espectroscópica y espectrométrica de cada uno de los compuestos realizados, esto en el área sintética, mientras que concerniente a la actividad citotóxica, se muestran y analizarán los valores obtenidos y la posible relación estructura-actividad.

Como estudios preliminares, se anexan en el area de evaluacion biologica preliminar, los resultados obtenidos de la evaluacion enzimatica y antituberculoa realizadas a algunos de los compuestos sintetizados, encontrando una introduccion, metodologias, y analisis de resultados.

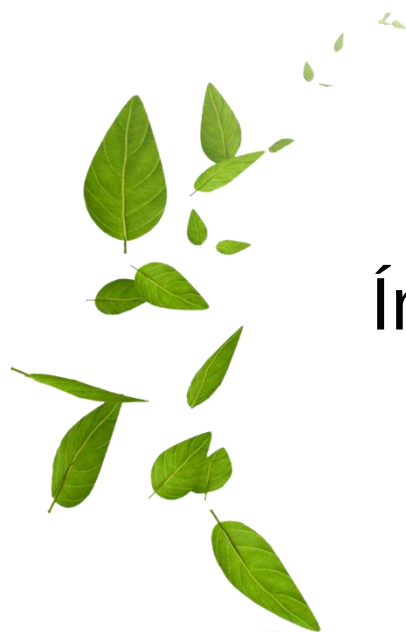
Finalmente, en la **conclusión** se hace una recapitulación de los datos obtenidos en la parte sintética y en la evaluación de actividades biológicas, y se explica cómo éstos confirman la hipótesis planteada. Así mismo se hace una valoración de los alcances del proyecto respecto a los objetivos planteados y el posible trabajo a futuro.



Índice general

INDICE GENERAL

Índice de figuras.....	i
Índice de tablas.....	v
Índice de gráficas.....	vi
Índice de esquemas.....	vii
Índice de anexos.....	viii
Abreviaturas y acronimos.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1-6
HIPÓTESIS.....	7
OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICOS.....	8
ANTECEDENTES.....	9-32
METODOLOGÍA SINTÉTICA.....	33-70
RESULTADOS SÍNTESIS.....	71-86
METODOLOGIA ACTIVIDAD CITOTÓXICA.....	87-90
RESULTADOS ACTIVIDAD CITOTÓXICA.....	91-98
METODOLOGÍA BIOENSAYOS COMPLEMENTARIOS.....	99-110
RESULTADOS BIOENSAYOS COMPLEMENTARIOS.....	111-119
CONCLUSIONES.....	120-121
BIBLIOGRAFÍA.....	122-124
ANEXOS.....	125-181
TÉCNICAS EXPERIMENTALES.....	182-183



Índice de figuras

Fig. 1	Fármaco Salvarsán.....	2
Fig. 2	(1) Tranquilizante benzodiacepínico Librium, (2) benheptoxdiazinas, (3) quinazolina-3- oxido.....	3
Fig. 3	Estructuras químicas de: (1) imidazol, (2) histidina e (3) histamina.....	9
Fig. 4	Estructuras químicas de: (1) imidazol, (2) glioxal y (3) formaldehído. Síntesis de Debus para la formación de imidazol.....	10
Fig. 5	Síntesis de Radiszewski. (1) benzilo, (2) benzaldehído y (3) 2,4,5-trifenilimidazol.....	11
Fig. 6	Síntesis de Wallach. (1) Compuesto N,N-dimetiloxamida, (2) intermediario clorado y (3) N-dimetilimidazol.....	11
Fig. 7	Síntesis de imidazoles por alfa-haloacetonas. (1) alfa-halocetona, (2) imina y (3) 2,4- o 2,5-bifenilimidazol.....	12
Fig. 8	Puratchikody A. y col. 2-(benciloxi)-4,5-difenil-imidazol.....	13
Fig. 9	Kavitha y col. (1) N-((6-bromo-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-4-clorobencenamida y (2) N-((1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)bencenamida.....	14
Fig. 10	Fármacos actuales para el tratamiento de infecciones causas por hongos. (1) clotrimazol, (2) econazol, (3) miconazol y (4) ketoconazol.....	15
Fig. 11	Mebendazol, fármaco antiparasitario comercializado en la actualidad.....	16
Fig. 12	Moléculas sintetizadas por Ramya y col.....	16
Fig. 13	Moléculas sintetizadas por Preeti y col.....	17
Fig. 14	Hadizadeh, 2008. (1) Estructura del fármaco comercial moclobemida y (2) moléculas sintetizadas por el autor con potencial antidepresivo.....	17
Fig. 15	(1) Tiazofurin, fármaco en fase de estudio para el tratamiento de cáncer y (2) análogo imidazofurin.....	19
Fig. 16	(1) Distamicina A, fármaco para el tratamiento de cáncer y (2) análogo sintetizado por Baraldi.....	19
Fig. 17	(1) y (2) moléculas sintetizadas por Li y col.....	20
Fig. 18	(1) y (2) algunas de las moléculas sintetizadas por Refaat y col.....	21
Fig. 19	Estructura química de: (1) Azomicina, (2) Cotrinazol y (3) miconazol.....	23
Fig. 20	Estructura química de: (1) ácido fólico y su derivado el fármaco (2) metotrexato.	24
Fig. 21	Estructura química de: (1) Uracilo y su derivado el fármaco (2) 5-fluorouracilo; (3) base pirimidínica citocina y su análogo (4) arabinósido de citosina.....	25
Fig. 22	(1) 6-mercaptopurina y su análogo sintético (2) la azatioprina.....	26
Fig. 23	(1) Urea y su análogo sintético (2) la hidroxurea o comercialmente el fármaco (Hydrea).....	26

Fig. 24	Derivados sintetizados por Özkay.....	29
Fig. 25	Estructura química del colorante sulforodamina B.....	30
Fig.25.1	Distribución de muestras para el bioensayo en placa de 96 pocillos.....	89
Fig. 26	Espectrofotómetro lector de microplacas.....	90
Fig. 27	Estructura química derivado (3).....	76
Fig. 28	Estructura química derivado (4).....	77
Fig. 29	Estructura química derivado (5).....	77
Fig. 30	Estructura química derivado (6).....	78
Fig. 31	Estructura química derivado (9).....	79
Fig. 32	Estructura química derivado (11).....	80
Fig. 33	Estructura química derivado (12).....	81
Fig. 34	Estructura química derivado (13).....	82
Fig. 35	Estructura química derivado (14) <i>p</i> -NO ₂ y el derivado (15) <i>O</i> -NO ₂	82
Fig. 36	Estructura química derivado (17).....	84
Fig. 37	Estructura química derivado (18).....	85
Fig. 38	Estructura química derivado (20) con cadena alifática de 16 carbonos, derivado (22) con 18 carbonos y la molécula detectada como pico base (23).....	86
Fig. 39	Derivados (5), (6) y (8) respectivamente.....	94
Fig. 40	Formación de anión radical nitro en el derivado (14) y posible interacción nitro-H en el derivado (15).....	97
Fig. 41	Hidrólisis de acetilcolina.....	104
Fig. 42	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	109
Fig. 43	Resazurina-N-oxido y resazurina respectivamente.....	109
Fig. 44	Compuesto (9) con mayor actividad en esta prueba y el control positivo alopurinol, respectivamente.....	113
Fig. 45	Espectro de infrarrojo del compuesto (2).....	125
Fig. 46	Espectro de masas del compuesto (2).....	126
Fig. 47	Espectro de RMN ¹ H del compuesto (2).....	127
Fig. 48	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto (2).....	128
Fig. 49	Espectro de infrarrojo del compuesto (3).....	129
Fig. 50	Espectro de masas del compuesto (3).....	130
Fig. 51	Espectro de RMN ¹ H del compuesto (3).....	131
Fig. 52	Espectro de RMN ¹ H del compuesto (3) a desplazamiento químico de 6.6-7.9 δ.....	132
Fig. 53	Espectro de RMN ¹³ C del compuesto (3).....	133
Fig. 54	Espectro de infrarrojo del compuesto (4).....	134
Fig. 55	Espectro de masas del compuesto (4).....	135

Fig. 56	Espectro de RMN ^1H del compuesto (4).....	136
Fig. 57	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (4).....	137
Fig. 58	Espectro de infrarrojo del compuesto (5).....	138
Fig. 59	Espectro de masas del compuesto (5).....	139
Fig. 60	Espectro de RMN ^1H del compuesto (5).....	140
Fig. 61	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (5).....	141
Fig. 62	Espectro de infrarrojo del compuesto (6).....	142
Fig. 63	Espectro de masas del compuesto (6).....	143
Fig. 64	Espectro de RMN ^1H del compuesto (6).....	144
Fig. 65	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (6).....	145
Fig. 66	Espectro de masas del compuesto (7).....	146
Fig. 67	Espectro de infrarrojo del compuesto (8).....	147
Fig. 68	Espectro de masas del compuesto (8).....	148
Fig. 69	Espectro de RMN ^1H del compuesto (8).....	149
Fig. 70	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (8).....	150
Fig. 71	Espectro de infrarrojo del compuesto (9).....	151
Fig. 72	Espectro de masas del compuesto (9).....	152
Fig. 73	Espectro de RMN ^1H del compuesto (9).....	153
Fig. 74	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (9).....	154
Fig. 75	Espectro de masas del compuesto (10).....	155
Fig. 76	Espectro de infrarrojo del compuesto (11).....	156
Fig. 77	Espectro de masas del compuesto (11).....	157
Fig. 78	Espectro de RMN ^1H del compuesto (11).....	158
Fig. 79	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (11).....	159
Fig. 80	Espectro de infrarrojo del compuesto (12).....	160
Fig. 81	Espectro de masas del compuesto (12).....	161
Fig. 82	Espectro de RMN ^1H del compuesto (12).....	162
Fig. 83	Espectro de infrarrojo del compuesto (13).....	163
Fig. 84	Espectro de masas del compuesto (13).....	164
Fig. 85	Espectro de RMN ^1H del compuesto (13).....	165
Fig. 86	Espectro de infrarrojo del compuesto (14).....	166
Fig. 87	Espectro de masas del compuesto (14).....	167
Fig. 88	Espectro de RMN ^1H del compuesto (14).....	168
Fig. 89	Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (14).....	169
Fig. 90	Espectro de infrarrojo del compuesto (15).....	170
Fig. 91	Espectro de masas del compuesto (15).....	171
Fig. 92	Espectro de infrarrojo del compuesto (17).....	172

Fig. 93	Espectro de masas del compuesto (17).....	173
Fig. 94	Espectro de infrarrojo del compuesto (18).....	174
Fig. 95	Espectro de masas del compuesto (18).....	175
Fig. 96	Espectro de infrarrojo del compuesto (19).....	176
Fig. 97	Espectro de infrarrojo del compuesto (20).....	177
Fig. 98	Espectro de masas del compuesto (20).....	178
Fig. 99	Espectro de infrarrojo del compuesto (21).....	179
Fig. 100	Espectro de infrarrojo del compuesto (22).....	180
Fig. 101	Espectro de masas del compuesto (22).....	181



Índice de tablas

Tabla 1	Líneas celulares empleadas para el desarrollo del bioensayo.....	87
Tabla 2	Rendimientos de reacción.....	72
Tabla 3	Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (8).....	75
Tabla 4	Resultados de actividad citotóxica frente a 3 líneas celulares de cáncer humano.....	92
Tabla 5	Resultados de actividad citotóxica frente a 3 líneas celulares de cáncer humano.....	93
Tabla 6	Preparación de diluciones a evaluar en inhibición de acetilcolinesterasa.....	106
Tabla 7	Resultados de inhibición de la Xantina Oxidasa.....	111
Tabla 8	Resultados de inhibición de la acetilcolinesterasa.....	114
Tabla 9	Resultados actividad antituberculosa.....	116



Índice de gráficas

Gráfica 1	Resultados de inhibición de la Xantina Oxidasa.....	112
Gráfica 2	Resultados de inhibición de la acetilcolinesterasa.....	115
Gráfica 3	Comparativa de resultados de actividad antituberculosa.....	171



Índice de esquemas

Esq. 1	Mecanismo propuesto para la formación accidental del tranquilizante Librium.	5
Esq. 2	Ruta sintética propuesta por Özkay 2010 para la síntesis de derivados de imidazol.....	28
Esq. 3	Formación de amoniaco a partir de acetato de amonio.....	31
Esq. 4	Síntesis del intermediario de tipo imida.....	31
Esq. 5	Formación de derivado 2,4,5-trifenilimidazol.....	32
Esq. 6	Ruta sintética general para la generación de los derivados.....	33
Esq. 7	Síntesis de derivado IMI.....	34
Esq. 8	Síntesis de derivado IMI-SAL.....	36
Esq. 9	Síntesis de derivado IMI-PAL.....	38
Esq. 10	Síntesis de derivado IMI-PAN.....	40
Esq. 11	Síntesis de derivado IMI-MAN.....	42
Esq. 12	Generación del 2-metoxibenzaldehído (OAN).....	44
Esq. 13	Síntesis de derivado IMI-OAN.....	45
Esq. 14	Síntesis de derivado IMI-VAL.....	47
Esq. 15	Generación del 3,4-dimetoxibenzaldehído (DMB).....	49
Esq. 16	Síntesis de derivado IMI-DMB.....	50
Esq. 17	Síntesis de derivado IMI-OCB.....	52
Esq. 18	Síntesis de derivado IMI-PAB.....	54
Esq. 19	Síntesis de derivado IMI-PNB.....	56
Esq. 20	Síntesis de derivado IMI-ONB.....	58
Esq. 21	Síntesis de aldehído 3-metoxi-4-fenoxibenzaldehído.....	60
Esq. 22	Síntesis de derivado IMI-B.....	61
Esq. 23	Síntesis de derivado IMI-ANT.....	63
Esq. 24	Oxidación de 1-hexadecanol al correspondiente aldehído.....	65
Esq. 25	Síntesis de derivado IMI-HEX.....	66
Esq. 26	Oxidación de 1-octadecanol al correspondiente.....	68
Esq. 27	Síntesis de derivado IMI-OCT.....	69
Esq. 28	Ruta sintética general.....	71
Esq. 29	Ejemplo de formación del anión radical nitro en una célula.....	96
Esq. 30	Acción metabólica de la enzima xantina oxidasa.....	100



Índice de anexos

Espectro de infrarrojo del compuesto (2).....	125
Espectro de masas del compuesto (2).....	126
Espectro de RMN ^1H del compuesto (2).....	127
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (2).....	128
Espectro de infrarrojo del compuesto (3).....	129
Espectro de masas del compuesto (3).....	130
Espectro de RMN ^1H del compuesto (3).....	131
Espectro de RMN ^1H del compuesto (3) a desplazamiento químico de 6.6-7.9 δ .	132
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (3).....	133
Espectro de infrarrojo del compuesto (4).....	134
Espectro de masas del compuesto (4).....	135
Espectro de RMN ^1H del compuesto (4).....	136
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (4).....	137
Espectro de infrarrojo del compuesto (5).....	138
Espectro de masas del compuesto (5).....	139
Espectro de RMN ^1H del compuesto (5).....	140
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (5).....	141
Espectro de infrarrojo del compuesto (6).....	142
Espectro de masas del compuesto (6).....	143
Espectro de RMN ^1H del compuesto (6).....	144
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (6).....	145
Espectro de masas del compuesto (7).....	146
Espectro de infrarrojo del compuesto (8).....	147
Espectro de masas del compuesto (8).....	148
Espectro de RMN ^1H del compuesto (8).....	149
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (8).....	150
Espectro de infrarrojo del compuesto (9).....	151
Espectro de masas del compuesto (9).....	152
Espectro de RMN ^1H del compuesto (9).....	153
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (9).....	154
Espectro de masas del compuesto (10).....	155
Espectro de infrarrojo del compuesto (11).....	156
Espectro de masas del compuesto (11).....	157
Espectro de RMN ^1H del compuesto (11).....	158
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (11).....	159
Espectro de infrarrojo del compuesto (12).....	160

Espectro de masas del compuesto (12).....	161
Espectro de RMN ^1H del compuesto (12).....	162
Espectro de infrarrojo del compuesto (13).....	163
Espectro de masas del compuesto (13).....	164
Espectro de RMN ^1H del compuesto (13).....	165
Espectro de infrarrojo del compuesto (14).....	166
Espectro de masas del compuesto (14).....	167
Espectro de RMN ^1H del compuesto (14).....	168
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (14).....	169
Espectro de infrarrojo del compuesto (15).....	170
Espectro de masas del compuesto (15).....	171
Espectro de infrarrojo del compuesto (17).....	172



Abreviaturas y acrónimos

°C	Grados centígrados
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
AcONa	Acetato de sodio
AcONH ₄	Acetato de amonio
Anh.	Anhídrido
B.C.	Baja California
CCF	Cromatografía de capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CHCl ₃	Cloroformo
cm	Centímetros
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
DCM	Diclorometano
dd	Doble doblete
DNTB	Ácido 2,2-dinitro(5,5'-ditio)benzoico
EM	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
g	Gramos
Hz	Hertz
IR	Espectroscopía de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento

<i>m</i>	Meta
m	Multiplete
m/z	Relación masa carga
M+	Ión molecular
MeO	Metoxilo
mL	Mililitro
mm	Milímetros
mmol	Milimol
NaCl	Cloruro de sodio
nm	Nanómetros
<i>o</i>	Orto
<i>p</i>	Para
Pág.	Página
PCC	Clorocromato de piridinio
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de retención
RMN	Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
s	Singulete
t	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta



Introducción

INTRODUCCION

El empleo de sustancias por el hombre es tan antiguo como el mismo hombre, ya que la necesidad de hallar solución a sus males ha sido siempre tan o más importante que su necesidad de buscar alimentos o cobijo. El hombre primitivo buscaba en su ambiente objetos animados o inanimados que lo ayudaran a expulsar los males que le aquejaban, lo que lo llevo a caer en las supersticiones; pero no debemos despreciarlo por ello, pues algunos de los fármacos actuales hunden sus raíces en esos absurdos de magia y de experimentación.

La farmacología es una ciencia joven y sus bases históricas las encontramos en la llamada materia médica, conocimiento empírico de la farmacognosia y semilla de la actual ciencia farmacológica.

El uso de plantas o sustancias de origen animal con fines curativos data de la edad de piedra, durante la cual se utilizaban conjuros y ritos mágicos, aliados a un fuerte estado psicológico del paciente, lo que daba lugar a la medicina primitiva, sin embargo, los tiempos van cambiando y el hombre debía adaptarse a ello, la sociedad evoluciona y el conocimiento adquirido también, llevando a la mejora de todos los elementos que involucra la salud, como las medicinas que utilizaban; se dio un gran salto al comenzar con la utilización de formas farmacéuticas más elaboradas de las medicinas vegetales que se consumían. Al llegar al siglo XIX, no solamente se consumía el extracto de una planta, sino que, la curiosidad llevo al hombre a realizar las primeras extracciones de sustancias puras provenientes de plantas. Por mencionar un ejemplo importante, el aislamiento de la morfina por el Alemán Freidrich Wilhelm Adam Sertürner a partir de la resina secretada por *Papaver Somniferum*, la amapola del opio. Este descubrimiento marcaría al mundo ya que por primera vez se logro aislar una sustancia pura de su fuente natural, lo que supuso el nacimiento de la química de los alcaloides (poco después se descubrieron la quinina, la cafeína, la nicotina, y así hasta llegar a los miles de alcaloides conocidos en la actualidad) y, dadas sus propiedades analgésicas, supuso un gran estímulo para el nacimiento de la industria farmacéutica moderna.

Así, el conocimiento científico y químico permitió el diseño a conciencia y el uso particular de moléculas para tratar algún padecimiento.

El siglo xx trae consigo la búsqueda sistematizada de compuestos menos tóxicos y la introducción de sustancias sintéticas como fármacos.

El primer desarrollo racional de una droga sintética fue realizado por Paul Ehrlich y Sacachiro Hata, quienes produjeron la Arsfenamina en 1910 combinando síntesis con ensayos biológicos confiables, Ehrlich buscaba un agente antimicrobiano seguro para tratar la sífilis, después de probar más de 600 productos arsenicales estructuralmente relacionados descubrieron la Arsfenamina (Salvarsan), efectiva en humanos para tratar la enfermedad pero muy tóxica, sin embargo utilizada hasta mediados de los años 40 hasta el advenimiento de la penicilina.

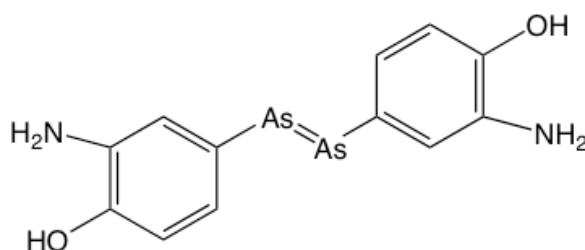


Fig. 1. Fármaco Salvarsán

La aproximación de Erhlich es aún hoy una de las técnicas que se usan como base para el descubrimiento de nuevas drogas.

Otro ejemplo digno de mencionar por su importancia, es el descubrimiento de LIBRIUM, El primer tranquilizante benzodiacepínico: LIBRIUM [7-cloro-2- (metilamino)-5-fenil-3H-1,4-benzodeiacepina 4-oxido] (1), el cual fue descubierto completamente al azar. Leo Sternbach en Roche debía sintetizar una serie de drogas tranquilizantes de tipo benheptoxdiazinas (2), pero observó que cuando R^1 era CH_2NR_2 y R^2 era C_6H_5 la estructura obtenida era una quinazolina-3- oxido (3).

Ninguno de estos los compuestos que se probaron de esta serie tenían actividad biológica interesante, por lo que Leo abandonó el programa en 1955 y en 1957 durante la limpieza de algunos productos del laboratorio correspondientes a ese proyecto y en un último intento,

se evaluó el compuesto que se creyó tenía estructura X:7-Cl, R¹: CH₂NCH₃, R²: C₆H₅ (3) lo que dio un muy buen resultado de actividad en el screening de tranquilizantes. Investigaciones posteriores revelaron que el compuesto no era la quinazolina 3-oxido, sino la benzodiazepina-3-oxido o más tarde conocido como Librium, presumiblemente producida en una reacción inesperada del correspondiente clorometilquinazoline 3-oxido (4) con metilamina de acuerdo a lo que se observa en el esquema 1.

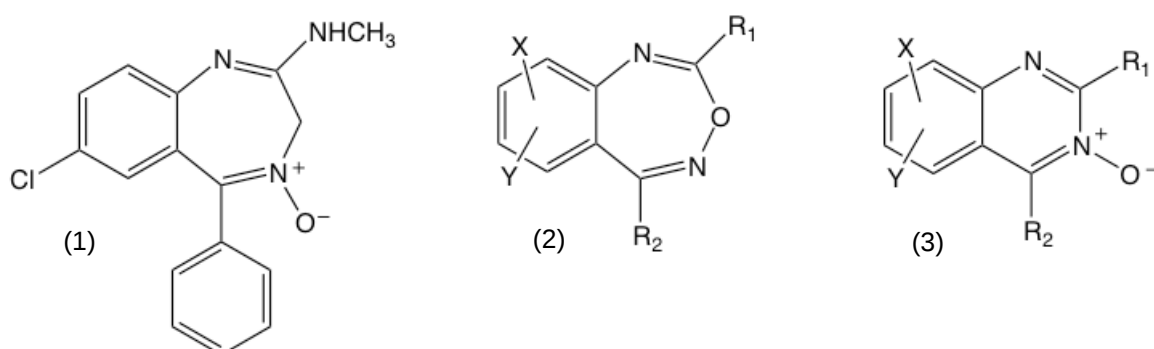


Fig. 2. (1) Tranquilizante benzodiazepínico Librium, (2) benheptoxdiazinas, (3) quinazolina-3- oxido.

Los primeros productos químicos sintéticos eran análogos de otros aislados de la naturaleza, se les denominaron “Compuestos Líder”, esto dio paso a creación de una nueva ciencia para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos, la química medicinal, química médica o también conocida como química farmacéutica.

Química medicinal (QM) es la disciplina que indaga y nos ayuda a determinar la influencia que tiene la estructura química de una molécula en la actividad biológica de está presenta. La QM está estrechamente relacionada con ciencias como la biología, medicina y por supuesto, la farmacología.

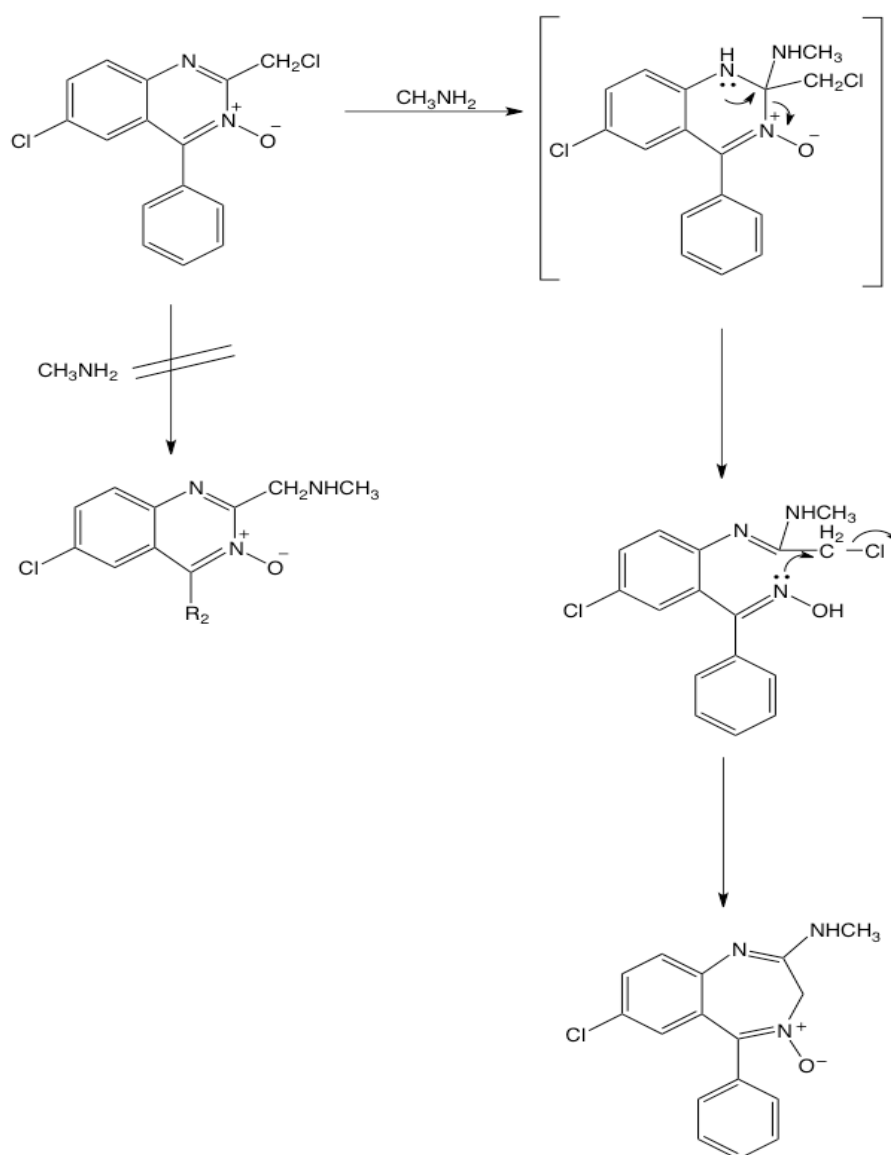
La QM es muy amplia, ya que involucra diversos aspectos como la invención, descubrimiento, diseño, desarrollo, identificación y preparación de compuestos con actividad biológica, el estudio de su mecanismo de acción, y la interpretación de este mecanismo a nivel molecular, para poder determinar una relación estructura-actividad (SAR) de la molécula

Uno de los principales objetivos de la QM es el diseño racional o búsqueda de nuevos "compuestos líderes" y sus modificaciones estructurales que pueden proporcionar compuestos más eficaces y con pocos efectos secundarios.

En la actualidad, el desarrollo de nuevos métodos sintéticos, técnicas instrumentales, la bioinformática, biología molecular, entre otros, permiten la búsqueda de nuevas molecular bioactivas basadas en el conocimiento de su diana biológica, esto se le conoce como "Descubrimiento racional de fármacos" (Drug Discovery racional). Existen además otras importantes técnicas empleadas en la QM para el descubrimiento de fármacos, como la analogía, en donde se realiza la modificación estructural de un fármaco ya existente para su optimizaron biológica, de manera que surja un nuevo fármaco con propiedades químico-biológicas mejoradas, existe la técnica de "screening" en donde se realiza una evaluación rápida de la actividad biológica de muchas moléculas procedentes de familias o colecciones de compuestos y la última técnica íntimamente relacionada con la QM es la evaluación de los compuestos utilizando métodos computacionales.

De acuerdo con un análisis bibliométrico realizado en 2009, países como Brasil, México y Argentina son los países con un mayor desarrollo científico relacionado con la química medicinal en América Latina.

En México son varias instituciones y grupos de investigación consolidados que están llevando a cabo estudios sobre aspectos de la QM, como el modelado molecular, síntesis química, evaluación biológica in vitro e in vivo y productos naturales.



Esq. 1. Mecanismo propuesto para la formación accidental del tranquilizante Librium.

Desarrollo de agentes anti cancerígenos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define al cáncer como la proliferación y crecimiento descontrolado de células que pueden afectar cualquier parte del cuerpo ya que esto puede causar la invasión de células a tejidos circundantes y extenderse a mas tejidos

a través de la metástasis. Varios tipos de cáncer pueden ser curados hoy en día por medio de cirugía, radioterapia o quimioterapia, claro, si el padecimiento es detectado a tiempo.

Varios compuestos sintéticos, biológicamente activos contienen en su estructura anillos heterocíclicos con un átomo de nitrógeno, este tipo de compuestos se han descrito como privilegiados y, en particular, la presencia de nitrógeno se ha asociado con una amplia gama de actividades biológicas.

El heterociclo imidazol y compuestos relacionados han demostrado tener diversas propiedades farmacológicas, lo cual ha animado a los investigadores a realizar la síntesis de un gran número de nuevos agentes quimioterapéuticos con estructura base de imidazol.

Entre muchas de las propiedades farmacológicas que presenta el anillo de imidazol se encuentra la de agente citotóxico, la cual es de suma relevancia para este estudio, pero no se pueden dejar de lado otras importantes bioactividades como: inhibidor de enzimas, antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes, anticoagulantes, anti-inflamatorios, antivirales, antidiabético, entre otras.

De manera general y por la amplia bibliografía al respecto, podemos pensar que el anillo de imidazol y sus derivados son fisiológicamente y farmacológicamente activos y en ellos se pueden encontrar aplicaciones para el tratamiento de varias enfermedades, entre ellas el cáncer.

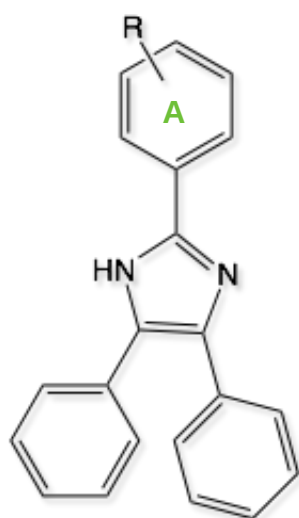
Apoyándonos de los conocimientos y herramientas que nos brinda la química medicinal, el trabajo realizado en este proyecto está dirigido a la búsqueda de la relación existente entre una serie de moléculas que tiene en común la presencia de un heterociclo de tipo imidazol en su estructura, además de ciertas funcionalizaciones capaces de aumentar o disminuir la reactividad de este anillo, para correlacionarlo con su efecto ante diversas líneas tumorales.



Hipótesis

HIPÓTESIS

La posición y la naturaleza de sustituyentes de tipo electrodonadores y electrotractores sobre el anillo A, son variables estructurales de relevancia en la reactividad del núcleo heterocíclico de imidazol.

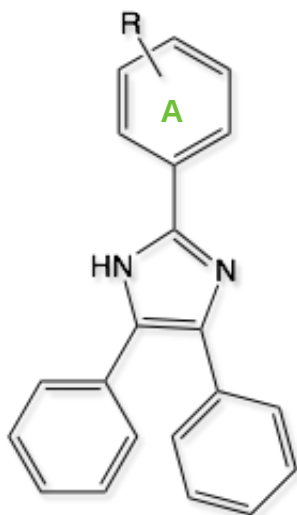




Objetivos

OBJETIVO GENERAL

Establecer una posible relación estructura-actividad citotóxica de compuestos derivados de trifenil imidazol con sustituyentes de distinta naturaleza química y posición en el anillo A, mediante síntesis química y experimentos de tipo bioensayo.



OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la ruta sintética óptima para la síntesis de derivados de trifenil imidazol.
- Sintetizar y caracterizar los productos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas, espectrométricas y resonancia magnética nuclear.
- Evaluar la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados frente a líneas celulares humanas, mediante experimentos de tipo bioensayo.
- Analizar y proponer una posible relación estructura- actividad de los compuestos y su actividad biológica, concentrándonos en la influencia de las distintas sustituciones sobre el anillo A.
- Realizar pruebas biológicas complementarias a los compuestos de tipo: enzimática (inhibición de la enzima acetilcolinesterasa y xantina oxidasa), antimicrobiana (frente a bacteria y levaduras) y anti-tuberculosa.



Antecedentes

ANTECEDENTES.

El núcleo de imidazol es un farmacóforo biológicamente aceptado en compuestos medicinales, y ha hecho que sea un heterocíclico sumamente versátil con un amplio espectro de actividades biológicas. Aunado a esto, existen moléculas sintetizadas naturalmente que contiene en su estructura al imidazol, de tal forma que los derivados de sintéticos de imidazol son isómeros estructurales de nucleótidos naturales (Starcevic et al., 2007), lo que les permite interactuar fácilmente con los biopolímeros endógenos, siendo esto un factor determinante en la bioactividad que se presenta.

Propiedades químicas del imidazol

Imidazol (1,3-diaza-2,4-ciclopentadieno) es un compuesto orgánico con formula molecular $C_3H_4N_2$. Este heterociclo aromático es un 1,3-diazol y es clasificado como un alcaloide. Imidazol (1) es el término que se utiliza para describir a esta molécula específicamente, sin embargo, existe una amplia gama moléculas que se agrupan bajo el término de “imidazoles”, en estas el anillo presenta diversas sustituciones. El anillo de imidazol esta presente en moléculas biológicas muy importantes para el organismo, como la histidina (2) y la hormona histamina (3), además, actualmente existen muchos fármacos importantes que contienen en su estructura el anillo de imidazol.

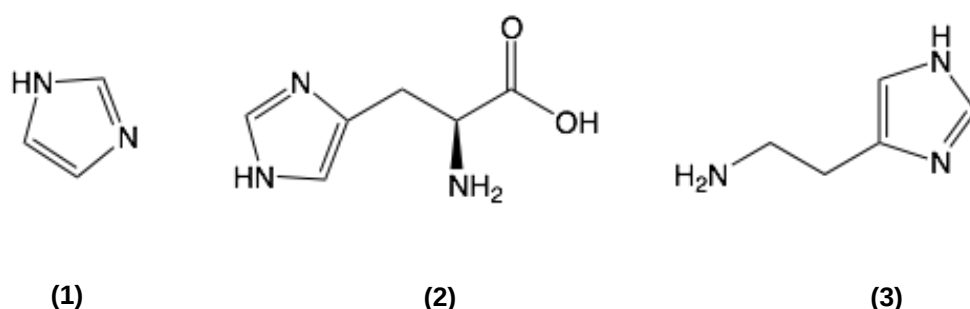


Fig. 3. Estructuras químicas de: (1) imidazol, (2) histidina e (3) histamina.

Estructura y propiedades del imidazol

Imidazol es un anillo planar de 5 miembros soluble en agua y otros solventes polares, existe en 2 formas tautoméricas equivalentes, 1H-imidazol y 3H-imidazol, esto debido a que el átomo de hidrogeno puede localizarse en cualquiera de los dos nitrógenos de la molécula. Se clasifica a este compuesto como aromático debido a la presencia de un sexteto de electrones pi, el par de electrones del átomo de nitrógeno protonado y otro par cada uno de los cuatro átomos restantes.

Imidazol es anfotérico, esto significa que puede actuar como un ácido y como una base. Cuando se comporta como acido tiene un pKa de 14.5 y como base, el pKa del ácido conjugado es de aproximadamente 7, esto hace al imidazol mucho más básico que la piridina. Es un compuesto orgánico incoloro que tiene un punto de fusión 89-91 °C y punto de ebullición es 256 °C, el cual es alto en comparación con otros heterociclos de cinco miembros, lo que nos demuestra la existencia de enlace de hidrogeno entre los anillos de imidazol.

Mientras que el anillo de imidazol es bastante susceptible a ataque electrófilico en un carbono anular, es poco probable que participe en reacciones de sustitución nucleofílica, a menos que se introduzca en el anillo uno o mas sustituyentes electroattractores. En ausencia de tal activación la posición más propensa al ataque nuclefilico es C-2.

Síntesis de imidazol

El anillo de imidazol (1) fue sintetizado por primera vez en 1858 por Heinrich Debus, para ellos utilizo glioxal (2), formaldehído (3) y amoníaco y lo nombro glioxalina. Esta síntesis produce relativamente bajos rendimientos y actualmente sigue siendo utilizada. Más tarde el nombre imidazol fue acuñado por Hantzsch en 1888.

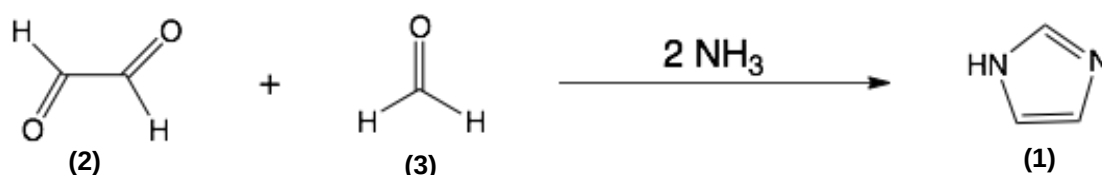


Fig.4. Estructuras químicas de: (1) imidazol, (2) glioxal y (3) formaldehído. Síntesis de Debus para la formación de imidazol.

Un anillo de imidazol puede ser sintetizado por varios métodos, muchas de estas síntesis están enfocadas a la generación de imidazoles sustituidos en diferentes posiciones, algunas de los métodos sintéticos más conocidos, solo por mencionar algunos, son: síntesis de Debus, Radiszewski, síntesis de Wallach, alfa-halocetonas.

1) Síntesis de Radiszewski.

Radiszewski reporto la condensación de un compuesto dicarbonílico, el benzilo (1) y un alfa-cetoaldehido, el benzaldehido (2) o alfa-dicetonas en presencia de amoníaco, el resultado de esta síntesis es una molécula de 2, 4, 5-trifenilimidazol (3), con los cuales trabajaremos en este proyecto.

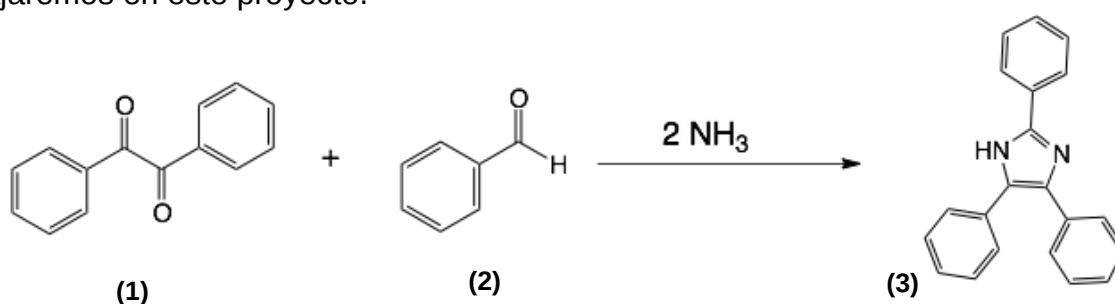


Fig.5. Síntesis de Radiszewski. (1) benzilo, (2) benzaldehido y (3) 2,4,5-trifenilimidazol.

2) Síntesis de wallach

Wallach reporto que cuando N,N-dimetiloxamida (1) es tratada con pentacloruro de fósforo, se obtiene un compuesto clorado (2) que es reducido con ácido yodhídrico para obtener N-dimetilimidazol (3).

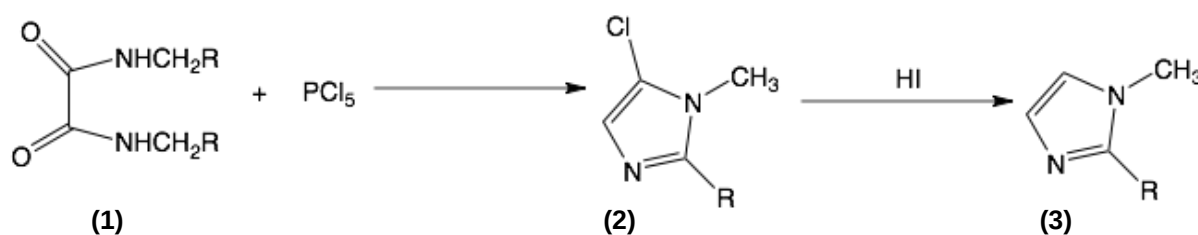


Fig.6. Síntesis de Wallach. (1) compuesto N,N-dimetiloxamida, (2) intermediario clorado y (3) N-dimetilimidazol.

3) alfa-halocetonas

Esta reacción involucra la interacción entre una imina con una alfa-halocetona. Este método es exitoso para la síntesis de 2,4- o 2,5-bifenilimidazol.

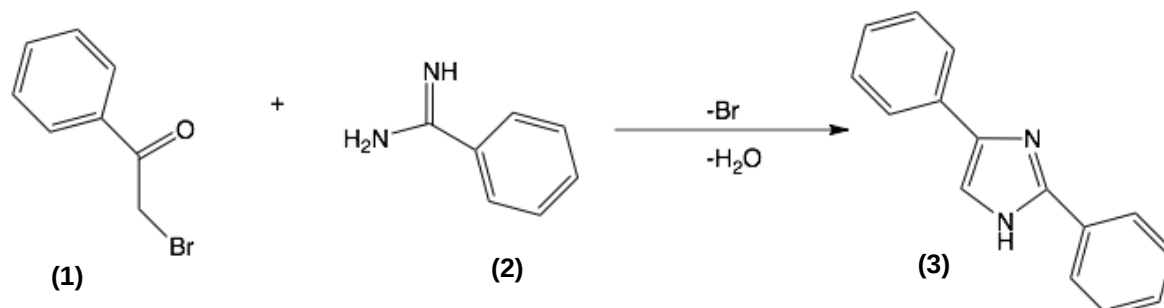


Fig.7. Síntesis de imidazoles por alfa-haloacetona. (1) alfa-halocetona, (2) imina y (3) 2,4- o 2,5-bifenilimidazol.

Actividad biológica de los imidazoles

Los imidazoles comúnmente están presentes en biomoléculas muy importantes, como en la biotina, en el aminoácido esencial histidina, en la histamina, en los alcaloides pilocarpinas y otros alcaloides. Los derivados de imidazol también han mostrado poseer muchas propiedades farmacológicas y están ampliamente implicados en los procesos bioquímicos, como en la inhibición del óxido nítrico sintasa, inhibidores de la agregación plaquetaria y otras actividades citotóxicas.

Entre las muchas bioactividades citadas en la literatura científica podemos encontrar la actividad analgésica y antiinflamatoria, antifúngica, siendo esta la mas reportada, inhibidos enzimáticos, antihelmíntico, antiviral, antiulcerosa y citotóxica, en la cual enfocaremos este trabajo.

La química medicinal moderna aplicada a los imidazoles, tiene como objetivo la búsqueda de derivados más eficaces y con mejores propiedades fisicoquímicas que permitan la reducción de efectos secundarios en los pacientes.

Antiinflamatorios

La búsqueda de nuevos y mejores fármacos anti-inflamatorios nunca termina, cada vez son más comunes síntomas relacionados a reumatismo, la hinchazón, enrojecimiento, dolor y fiebre. Estudios sintéticos actuales incluyen la búsqueda de estos nuevos agentes en una variedad de sistemas heterocíclicos, como los imidazoles.

Algunos ejemplos destacados de trabajos sintéticos con imidazoles enfocados a la búsqueda de nuevas moléculas con potencial antiinflamatorio se muestran a continuación:

Puratchikody A. y *col.* en el año 2007 realizaron pruebas con imidazoles 4,5-difenil-2-substituidos para conocer su actividad antiinflamatoria. Estos investigadores utilizaron indometacina como fármaco de referencia, encontrando un compuesto con actividad antiinflamatoria considerable.

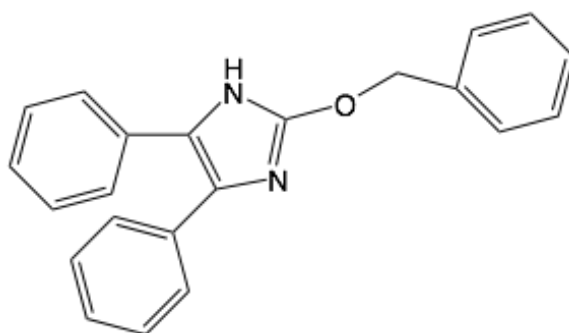


Fig.8. Puratchikody A. y *col.* 2-(benciloxi)-4,5-difenil-imidazol

Kavitha C.S. y *col.* sintetizaron una serie de nuevos derivados de 2-metilaminibenzimidazol, analizaron su actividad analgésica y antiinflamatoria, encontrando que estos compuestos mostraron buena actividad contra ambos padecimientos en comparación a su estándar de nimesulida

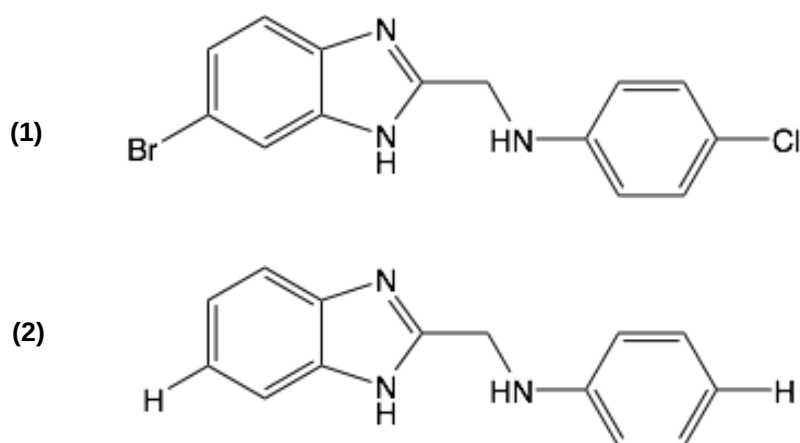


Fig.9. Kavitha y col. (1) N-((6-bromo-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)-4-clorobencenamida y (2) N-((1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)bencenamida

Antifúngica

En los últimos años, la búsqueda de nuevos antifungicos se ha concentrado principalmente en el área de los imidazoles y triazoles. El grupo de fármaco conocido colectivamente como los azoles, comprende moléculas de tipo imidazol 1-sustituido y compuestos de triazol. Sin duda, este tipo de fármacos representan el actual objetivo en la búsqueda de tratamiento para infecciones fúngicas, tanto tratamiento tópico como sistémico.

Actualmente, los imidazoles lipofílicos tales como clotrimazol (1), econazol (2) y miconazol (3), a pesar de su amplio uso en la terapéutica actual, han exhibido una biodisponibilidad sistema muy pobre tras administración oral, esto como consecuencia de una mala absorción al no ser moléculas hidrosolubles y un extenso metabolismo de primer paso, por lo que su uso se ha limitado al tratamiento tópico de infecciones. El ketoconazol (4), otro fármaco muy utilizado como antifungico, a diferencia de los antes mencionados, presenta la característica de poseer una estructura química más polar, debido a esto, su uso se ha extendido a presentaciones farmacéuticas intravenosas; fue introducido en la terapia a finales de 1970, representando una nueva visión para la búsqueda y generación de nuevos fármacos.

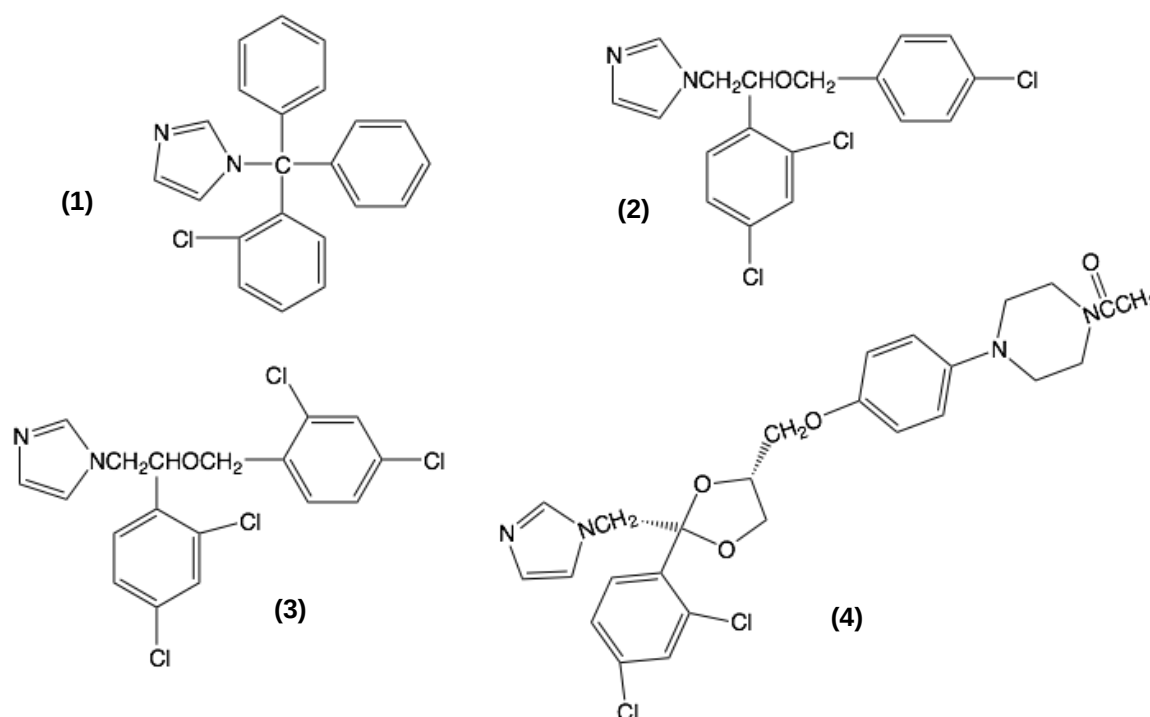


Fig.10. Fármacos actuales para el tratamiento de infecciones causadas por hongos. (1) clotrimazol, (2) econazol, (3) miconazol y (4) ketoconazol.

Antihelmítico.

Se entró que imidazol es menos sensible en parásitos extra intestinales, especialmente intravasculares y parásitos que viven en el intestino que contra parásitos gastrointestinales.

La actividad contra el parásito en sus etapas de desarrollo es superior a la actividad que presentan los imidazol contra el parásito adulto. La eclosión y desarrollo larvario se inhiben con dosis que son sub eficaces contra adultos in vivo.

Se ha encontrado que imidazoles de la clase 2-alkylbenzimidazol eliminan varias especies de nematodos y trematodos de diferentes hospederos. 4,5,6,7-tetracloro-2-trifluorometilbenzimidazol han mostrado buena actividad contra *Ancylostoma caninum*, *Haemonchus contortus*, *Ascaris suum* y trematodos como *Fasciola hepatica*. Benzimidazoles 2, 5-disustituídos también han demostrado buen potencial contra

cestodiasis en hombre y animales. Mebendazol es efectivo para el tratamiento de pacientes con *T. Solium* and *T. Saginata* a dosis de 100 mg/Kg.

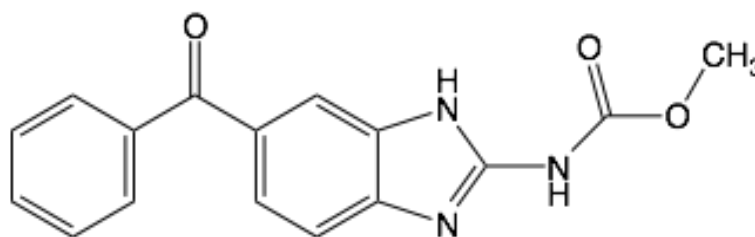


Fig.11. Mebendazol, fármaco antiparasitario comercializado en la actualidad.

Antituberculosa

La tuberculosis continúa siendo un problema significativo de salud en el mundo, con una alta tasa de nuevos casos y más de 2 millones de muertes al año. La incidencia de casos de organismos multi-resistentes (MRMT) y extremadamente resistentes (XRMT) se reporta en aumento a nivel mundial según el CDC y la OMS. Estudios recientes han demostrado que al menos in-vitro, algunos fármacos en estudio, principalmente derivados tipo imidazol son capaces de inhibir enzimas clave en el metabolismo de *M. tuberculosis*.

Ramya V. y col. sintetizaron una serie de nuevos derivados de tipo 5-(nitro/bromo)-estiril-2-benzimidazoles y evaluaron su actividad in vitro contra *Mycobacterium tuberculosis* mostrando muy buena actividad. Se utilizó como referencia estreptomycin.

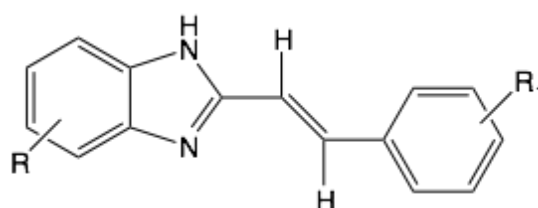


Fig.12. Moléculas sintetizadas por Ramya y col.

Preeti Gupta y col. Reportaron la actividad antituberculosa de derivados de tipo 1H-imidazol-4-ácido carboxílico y derivados de 3-(2-alkil-1H-imidaazol-4-il)- ácido propionico, fueron probados contra cepas sensibles y cepas resistentes de *M. tuberculosis*.

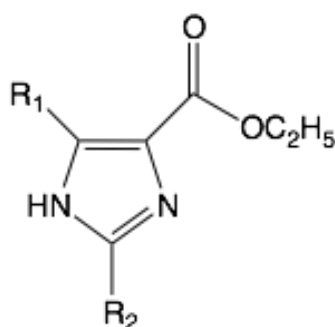


Fig.13. Moléculas sintetizadas por Preeti y col.

Antidepresivo

Una actividad biológica vagamente estudiada en los imidazoles es el potencial como agentes antidepresivos, son pocos los estudios científicos que nos permiten hacer esta correlación, uno de estos estudios es el realizado por F. Hadizadeh y col. en el 2008, donde sintetizaron análogos de moclobemida; la moclobemida es el primer antidepresivo derivado de la benzamida. Por lo tanto, no está relacionada por su estructura química con ningún otro antidepresivo existente. En los análogos que se presentan en este artículo, se realizó una sustitución de un fenilo por un anillo de imidazol, llegando a encontrar 3 derivados más potentes a su control, la moclobemida.

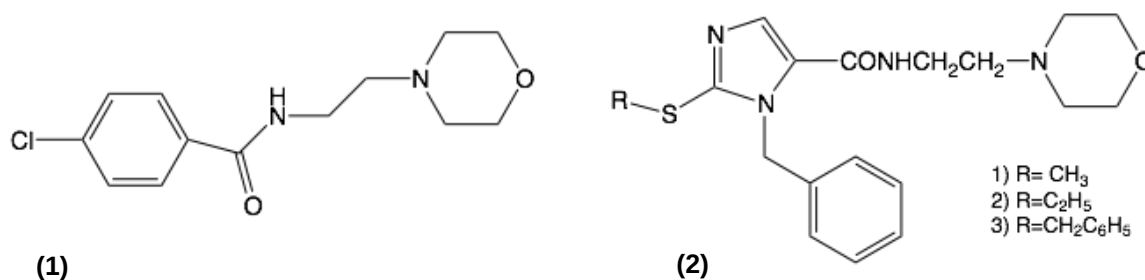


Fig.14. F. Hadizadeh, 2008. (1) Estructura del fármaco comercial moclobemida y (2) moléculas sintetizadas por el autor con potencial antidepresivo.

Citotóxico

El cáncer es una enfermedad maligna caracterizada por la proliferación incontrolada de células. Existen también los tumores benignos en donde el cumulo de células o tumor, puede aumentar su tamaño pero sin representar un peligro para la vida; por otro lado, se encuentran los tumores malignos, los cuales tienen la capacidad de invadir tejidos circundantes, propagándose. Este tipo de cáncer, si es detectado en tiempo, puede ser tratado de dos formas, removiendo el tumor quirúrgicamente o con radioterapia.

Existe un tercer tipo de cáncer, considerado de mayor mortalidad, se le conoce como la metástasis. La metástasis es un proceso donde un tumor primario o inicial genera nuevos tumores en sitios alejados al punto de origen o donde estaba el tumor primario.

Cuando un cáncer es tratado a base de múltiples fármacos, es muy posible que se de una resistencia cruzada, lo que ocasiona que las células tumorales sean resistentes a fármacos citotóxicos a los que nunca han sido expuestas, esta resistencia de células tumorales a la quimioterapia es un grave problema en el tratamiento actual del cáncer.

En la actualidad un gran número de investigadores se ha enfocado a la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes citotóxicos, siendo las moléculas con un núcleo de imidazol un objetivo claro para esta búsqueda.

Tiazofurin (2-b-D-ribofuranosiltiazol-4-carboxamida) es un fármaco oncológico en fase de investigación de tipo C-nucleosido que presenta una inhibición de la enzima inosina 5'-monofosfato dehidrogenasa (IMPDH). IMPDH es la enzima que cataliza la conversión de inosulan monofosfato (IMP) a xantina monofosfato (XMP), la cual es una enzima limitante para la biosíntesis de guanilato; todo este proceso de inhibición enzimática por tiazofurin, lleva a la célula cancerígena o no reproducirse de manera correcta.

En el 2001, Franchetti y *col.* sintetizaron un nuevo compuesto análogo a tiazofurin (1), al cual llamaron imidazofurin (2) (2-b-D-ribo- furanosilimidazol-4-carboxamida), fue evaluado ante células cancerosas obteniendo como resultado que el nuevo compuesto con imidazol en su estructura presentó muy buena actividad.

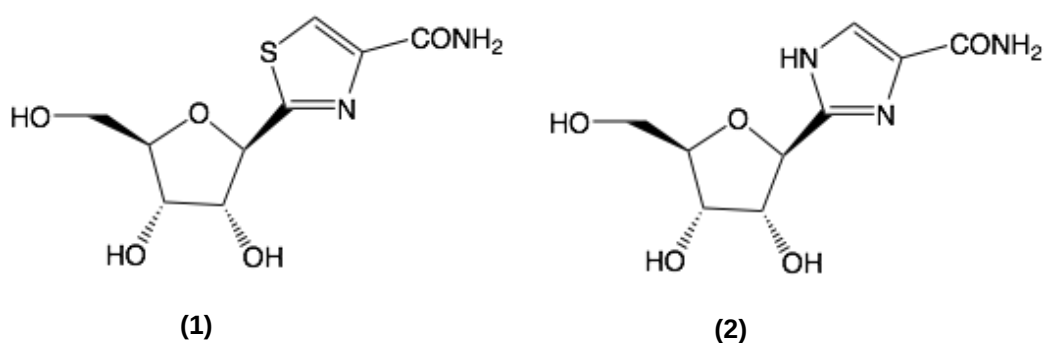


Fig.15. (1) Tiazofurin, fármaco en fase de estudio para el tratamiento de cáncer y (2) análogo imidazofurin.

En el año 2003, Baraldi y *col.* sintetizaron nuevos análogos de distamicina A, un fármaco perteneciente a la clase de fármacos de union a la hendidura menor del ADN.

Los nuevos análogos de tipo afa-bromoacrilol pirazol e imidazol fueron evaluados *in vitro* en células de leucemia de ratón L1210. De los compuestos sintetizados, encontraron que que compuesto número (2) presento una alta actividad contra estas células, con una IC_{50} de 1.53 ± 0.23 μ M.

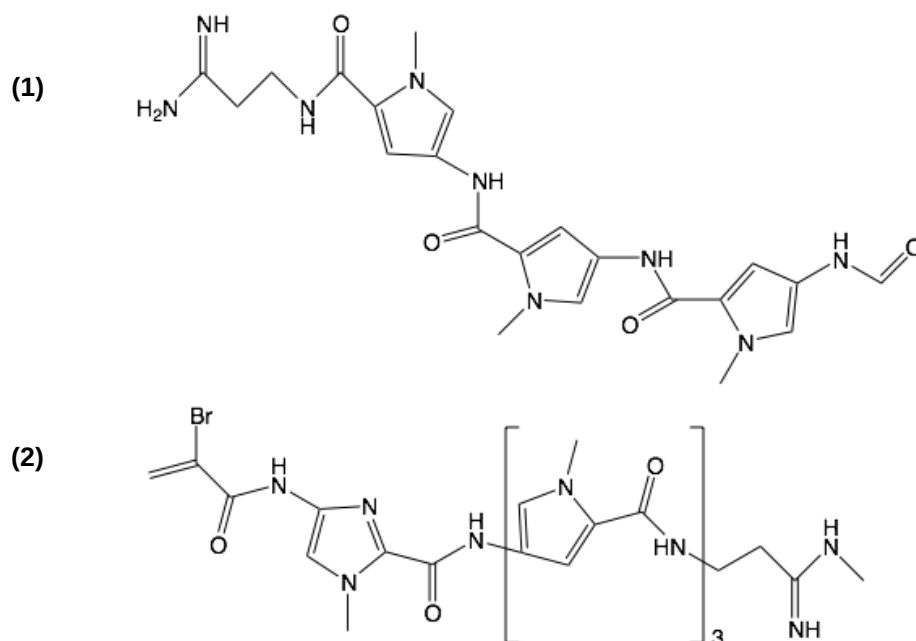


Fig.16. (1) Distamicina A, fármaco para el tratamiento de cáncer y (2) análogo sintetizado por Baraldi.

Moléculas intercaladoras de ADN contienen en su estructura, un cromóforo plano con dos a cuatro anillos aromáticos fusionados, estas moléculas representan una gran familia de agentes anti-tumorales. Li y col. (2007) sintetizaron una serie de nuevas naftalamidas pentacíclicas fusionadas con un anillo de imidazol que contiene un grupo aril o un anillo heteroaril. Estas moléculas fueron evaluadas para determinar su potencial citotóxico contra diversas líneas cancerosas, arrojando como resultado que el compuesto (1) y (2) presentaron excelentes resultados contra las líneas celulares HeLa (cáncer cervicouterino humano) y SMMC-7721 (hepatoma humano) con una IC_{50} de 0.21 y 0.22 μ M respectivamente.

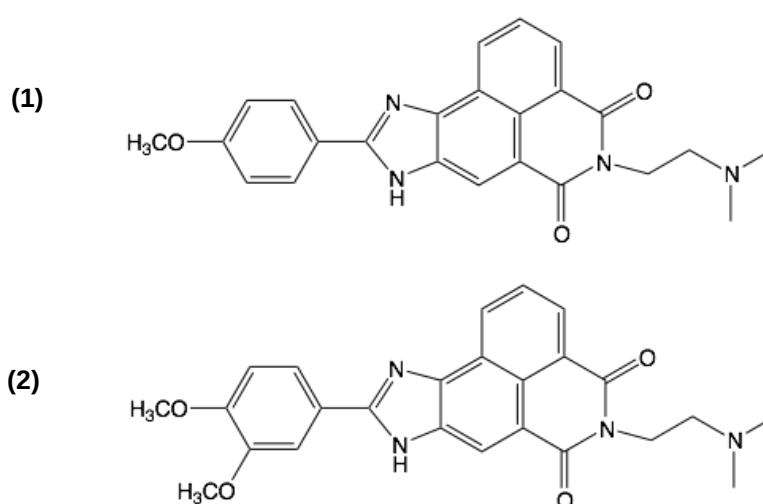


Fig.17. (1) y (2) moléculas sintetizadas por Li y col.

Hanan M. Refaat y col. en 2010 sintetizaron unas series de benzoimidazoles 2-sustituidos, varios compuestos de estas series se sometieron a un screening preliminar, encontrando que todos estos compuestos presentaron actividad citotóxica contra células humanas de carcinoma hepatocelular, seno, adenocarcinoma y carcinoma de colon. Todos los compuestos contienen una estructura base de tipo 1H-benzo[d]imidazol a partir del cual se sintetizaron el resto de las series, es importante esto ya que la mayoría de los compuestos presentaron cierta selectividad contra una línea celular específica a pesar de contener estructuras químicas semejantes.

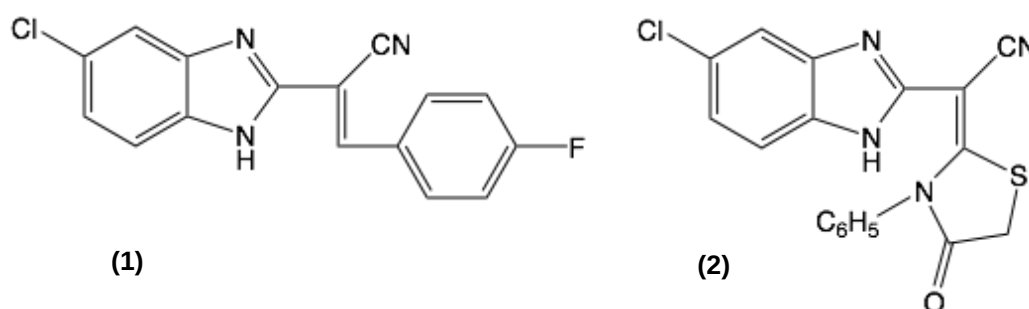


Fig.18. (1) y (2) algunas de las moléculas sintetizadas por Refaat y col.

Solo por mencionar algunos ejemplos importantes que nos demuestran la gran relevancia que están cobrando los imidazoles en la investigación para la búsqueda de nuevos agentes citotóxicos.

Imidazoles y sus derivados como agentes anti cancerígenos.

Como ya se mencionó anteriormente, el cáncer es una enfermedad en la cual una o un grupo de células se desarrollan incontroladamente, llegando a invadir otros tejidos contiguos o causando metástasis.

La rama de la medicina encargada del estudio, diagnóstico, tratamiento y presencio del cáncer es la oncología. La Organización Mundial de la Salud (OMS) informo que el cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; en 2012 hubo unos 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con esta enfermedad y se prevé que el número de nuevos casos aumente en aproximadamente un 70% en los próximos 20 años. En este mismo año, los cánceres diagnosticados con mayor frecuencia en el hombre fueron los de pulmón, próstata, colon y recto, estómago e hígado; en la mujer fueron los de mama, colon y recto, pulmón, cuello uterino y estómago.

Aproximadamente un 30% de las muertes por cáncer son debidas a cinco factores de riesgo conductuales y dietéticos: índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de tabaco y consumo de alcohol,

encontrando que el mas del 60% de los nuevos casos y el 70% de las muertes por cáncer en el mundo se producen en África, Asia, América Central y Sudamérica. (Informe mundial sobre el cáncer 2014, IARC).

Aproximadamente el 90-95% de los cánceres son causados por el estilo de vida de la persona y/o factores ambientales, únicamente un 5-10% debido a factores genéticos.

Los fármacos anticancerígenos tradicionales son la base en la actualidad para el desarrollo de nuevos fármacos donde los imidazoles juegan un papel importante y han sido una fuente interesante de estudio para investigadores por mas de siglo. La sustitución en diferentes posiciones del anillo heterociclico brinda un amplia gama de posibilidades para la generación de compuestos de interés.

Estudios de relación estructura- actividad han conducido a la obtención de resultados biológicos que pueden ser una base importante para el diseño de nuevos compuestos activos.

Actualmente existe una amplia variedad de fármacos para este padecimiento, los cuales fueron diseñados para afectar el desarrollo de la célula cancerosa, con estos fármacos es posible controlar los efectos de la enfermedad, sin embargo no son específicos, ya que células normales se ven afectadas por estos efectos del fármaco.

Los imidazoles y sus derivados han sido reportados como activos a nivel fisiológico y farmacológico, dándoles aplicaciones en el tratamiento de muchas enfermedades. En el descubrimiento de fármacos, el imidazol es la estrategia sintética mas importante. Muchos imidazoles han sido reportados como agentes farmacológicos, algunos ejemplos como Azomicina (1), Clotrimazol (2), Miconazol (3), Ergotionina, Clonidina y Moxonidina. Una de las aplicaciones más importantes de de los derivados de imidazol es en el tratamiento de la estomatitis protésica que es una inflamación crónica de la mucosa oral debida al contacto con una prótesis extraible cuya patología involucra diferentes factores predisponentes, y el más importante de ellos es la presencia de *Candida*; y otra aplicación importante en el cancer. La mayoría de los compuestos biológicamente activos presenta un anillo de cinco miembros y contenido de nitrógeno.

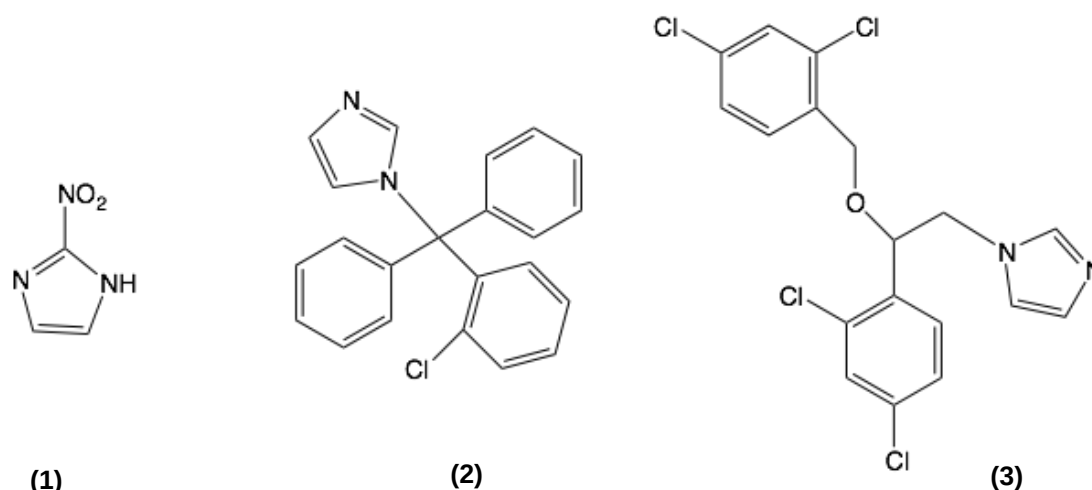


Fig.19. Estructura química de: (1) Azomicina, (2) Cotrinazol y (3) miconazol.

Mecanismo de acción general de los imidazoles

Generalmente, los imidazoles se clasifican dentro de la categoría de fármacos anti cancerígenos de tipo antimetabolitos. Un fármaco análogo a un metabolito fisiológico, puede seguir sus mismos pasos metabólicos, hasta un punto en que altera una función; a estas sustancias se las denomina falso metabolito. Otras veces, el análogo no se metaboliza, pero se une al sitio activo de la enzima compitiendo con la molécula fisiológica; a estas sustancias se las denomina antimetabolitos, esto conlleva a efectos tóxicos sobre las células como interrupción del crecimiento e interrupción de la división celular. Estos fármacos se usan en el tratamiento del cáncer ya que interfieren en la producción de ADN, lo que conlleva a la afectación de la división celular y el crecimiento de tumores.

Estos fármacos interfieren con el crecimiento del ADN y del ARN al sustituir los elementos fundamentales de estas moléculas. Se cree que estas sustancias se incorporan al ADN durante la fase S del ciclo celular, deteniendo el desarrollo normal y por consiguiente la división.

A este grupo de fármacos podemos clasificarlos de 4 formas: análogos del ácido fólico, análogos de las bases pirimidínicas, de las bases purínicas y análogos a otros.

1) Análogos de ácido fólico

El más utilizado es el metotrexato o ametopterina (MTX) que se comporta como un inhibidor de la dihidrofolato-reductasa, enzima limitante de la vía que transforma el ácido fólico en ácido folínico, metabolito activo que actúa como cofactor en reacciones de transferencia de grupos monocarbonados.

El MTX, como casi todos los antimetabolitos, muestra selectividad parcial por células tumorales y toxicidad contra las células normales en división rápida, como la médula ósea y el epitelio gastrointestinal.

Un análogo es el raltitrexed (Tomudex), derivado del ácido glutámico que inhibe la timidilato-sintetasa, enzima necesaria para la síntesis de ADN.

Los antagonistas del ácido fólico destruyen células durante la fase S del ciclo celular y tienen su mayor eficacia cuando inician la fase logarítmica de su proliferación.

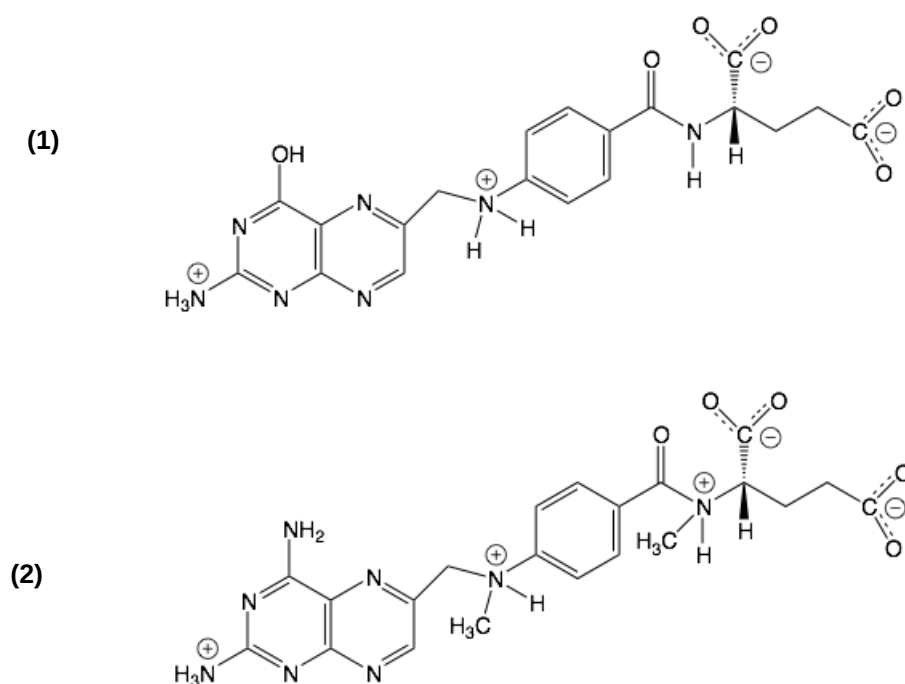


Fig.20. Estructura química de: (1) ácido fólico y su derivado el fármaco (2) metotrexato.

2) Análogos de las bases pirimidínicas

Como análogo del uracilo destaca el 5-fluorouracilo (5-FU) que incorpora un átomo de flúor en posición 5 en lugar de hidrógeno. Lesiona las células por dos mecanismos: inhibe la timidilato-sintetasa y se incorpora al ARN.

Como análogo de la citosina destaca el arabinósido de citosina, citarabina o ara-C. Inhibe competitivamente la ADN-polimerasa; puede inhibir débilmente la actividad de la ADN-polimerasa, responsable de los procesos de reparación.

Otros análogo de la citosina de más reciente utilización es la gemcitabina (Gemzar), que inhibe la síntesis de ADN.

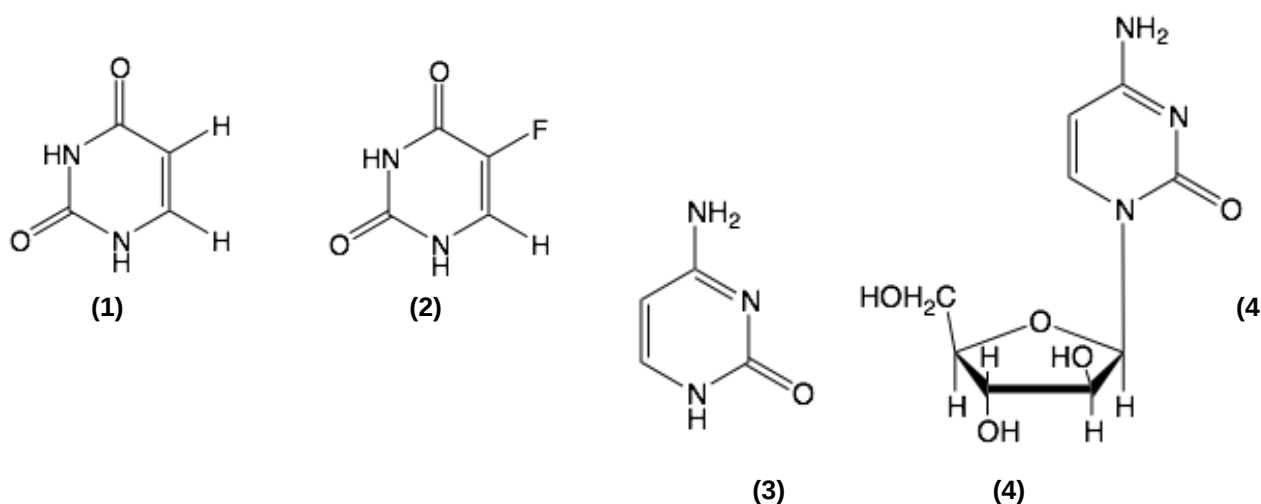


Fig.21. Estructura química de: (1) Uracilo y su derivado el fármaco (2) 5-fluorouracilo; (3) base pirimidínica citosina y su análogo (4) arabinósido de citosina.

3) Análogos de las bases púricas

La 6-mercaptopurina y la 6-tioguanina son los análogos azufrados de la hipoxantina y la guanina respectivamente, que se emplean en ciertas formas de leucemia por vía oral.

Ocasionan una gran inhibición de la inducción coordinada de las diversas enzimas necesarias para la síntesis del DNA.

La azatioprina (Imurel) es un derivado de la 6-mercaptopurina que se utiliza como inmunodepresor.

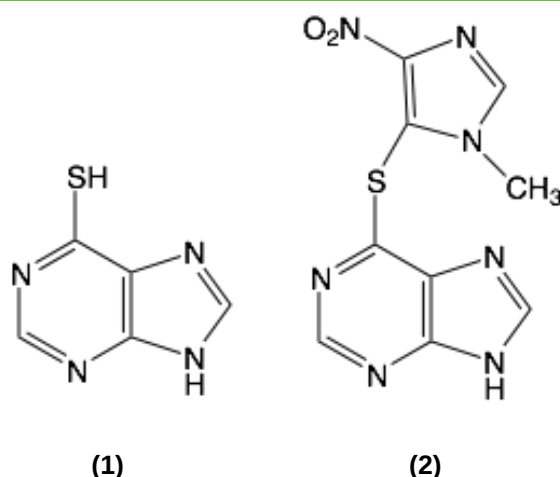


Fig.22. (1) 6-mercaptopurina y su análogo sintético (2) la azatioprina.

Otros productos están en forma de nucleósidos, como la fludarabina (Beneflur), arabinósido de adenina, que interrumpe la elongación de ADN y ARN e inhibe la actividad de varias enzimas: ADN y ARN-polimerasas, ADN-primasa, ADN-ligasa y ribonucleótido-reductasa. Actúa de manera particular sobre tejido maligno linfoproliferativo. Ciertos análogos de la adenina son capaces de inhibir la adenosín-desaminasa, incrementando la concentración intra y extracelular de la adenosina, lo que tiene consecuencias linfotóxicas e inmunodepresoras. Inhibidores de la desaminasa son la pentostatina (Nipent) y la cladribina (Leustatin). Se aplican por vía IV en la leucemia de células tricocíticas.

4) Otros análogos

La hidroxiiurea (Hydrea) es un análogo de la urea que inhibe la ribonucleótido-reductasa, enzima que transforma los ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos. Su acción es máxima en la fase S del ciclo celular, consiguiendo la sincronización celular en la interfase G1-S. Se emplea por vía oral y su toxicidad limitante es la leucopenia.



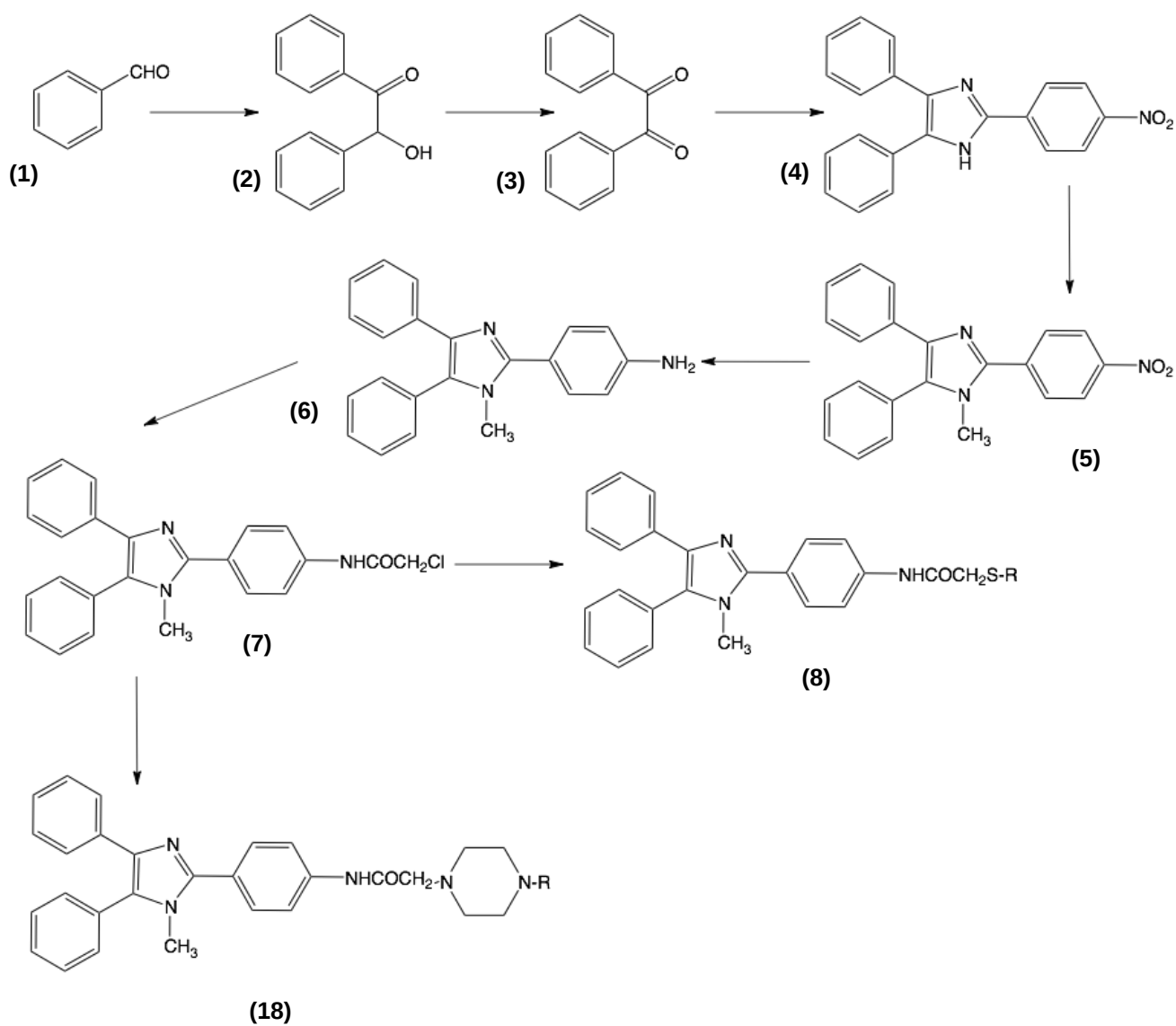
Fig.23. (1) urea y su análogo sintético (2) la hidroxiiurea o comercialmente el fármaco (Hydrea).

En el año 2010 Özkay y *col.* reportaron la síntesis y actividad citotóxica de una familia de nuevos derivados de tipo 2-N-sustituido-[4-(1-metil-4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)fenil]acetamida.

Para esta síntesis comenzaron con la dimerización de benzaldehído(1) en presencia de NaCN para la obtención de benzoina (2), seguida de la correspondiente oxidación de esta con $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$ y NH_4NO_3 , obteniendo bencilo (3), a partir de la síntesis de Radiszewski, el bencilo se condensa con el 4-nitrobenzaldehído en presencia de acetato de amonio para formar el imidazol tri sustituido 2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (4). Una vez formado este intermediario realizaron un N-metilación con NaH y MeI para obtener la molécula 1-metil-2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (5). El intermediario (5) fue reducido al compuesto 1-metil-2-(4-aminofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (6) con la ayuda de Zn/HCl. A partir de esta molécula se generó, via acetilación con cloruro de cloroacetilo el siguiente intermediario, el 2-cloro-N-[4-(1-metil-4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)fenil]acetamida (7). Finalmente, la última etapa de la ruta sintética, se generaron 16 derivados a partir del intermediario (8) y los correspondientes tiolbenzoazoles o piperazinas (Esquema 2).

Se evaluó la actividad citotóxica de estos derivados, contra dos líneas celulares, carcinoma de colon y carcinoma de mama, utilizando cisplatino como control positivo. Los compuestos 9, 13, 14 y 15 presentaron los mejores resultados de toda la serie, especialmente el compuesto 13, 14 y 15 mostraron un buen perfil citotóxico contra una línea celular de carcinoma de colon, mostrando mayor especificidad por estas células que las de mama.

Es importante destacar de igual manera el hecho de que los tres compuestos con mejor perfil citotóxico tuvieran en común la presencia de un anillo heterocíclico de 5 miembros en la sustitución R.



Esq.2. Ruta sintética propuesta por Özkay 2010 para la síntesis de derivados de imidazol.

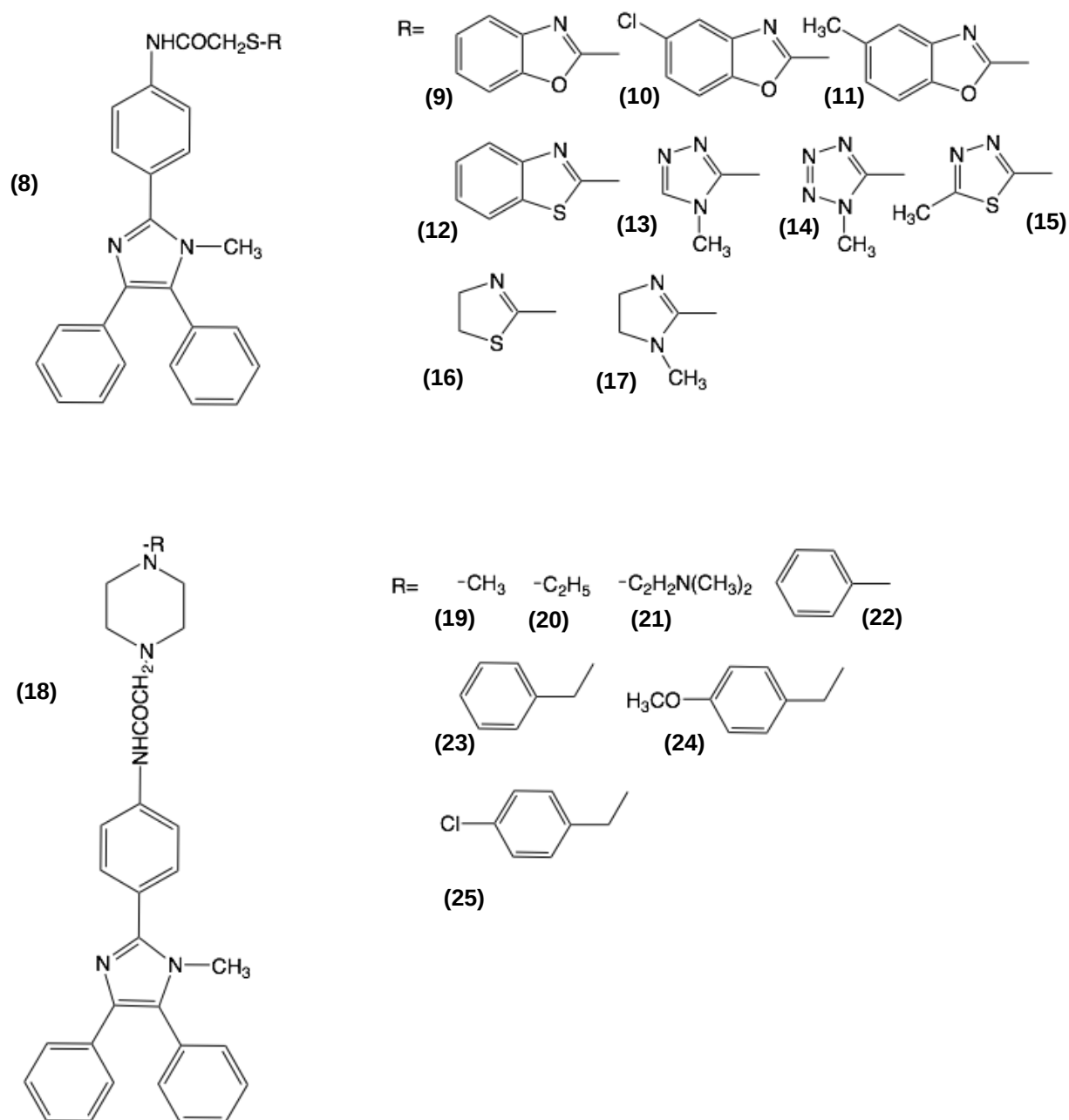


Fig.24. Derivados sintetizados por Özkay.

Ensayos citotóxicos.

El método de tinción con sulforodamina B (SRB) fue desarrollado en el Instituto Nacional de Cáncer de los Estados Unidos, como una alternativa al empleo del método de reducción de MTT en el programa de tamizaje *in vitro* para el descubrimiento de nuevos agentes antineoplásicos (Skehan *et al.*, 1990).

La sulforodamina B (SRB) es un colorante de aminoxantano, rosado brillante, posee dos grupos sulfónicos -SO₃⁻ cargados negativamente, capaces de unirse electrostáticamente a cationes. En condiciones ácidas (disuelta en ácido acético 1%), la SRB aumenta su afinidad por los aminoácidos básicos de las proteínas, y se fija selectivamente a éstos, proporcionando un índice del contenido de proteína celular si las células son previamente fijadas con ácido tricloroacético (TCA), y después de eliminar el colorante no fijado, el colorante unido a las células viables se extrae con medio alcalino (Solución de Tris pH 10,5) y se lee la absorbancia a 564 nm (Skehan *et al.*, 1990; Monks *et al.*, 1991).

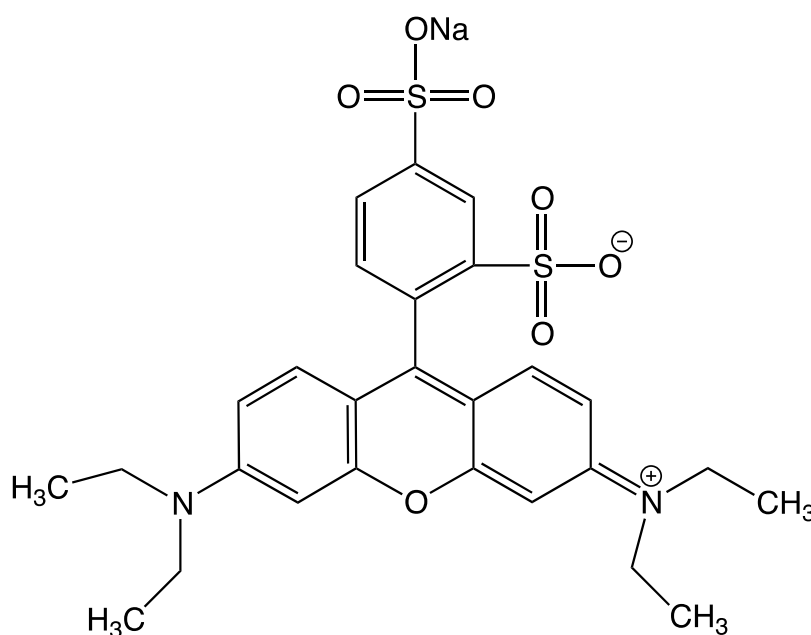


Fig. 25. Estructura química del colorante sulforodamina B.

Síntesis de derivados de imidazol: trifenilimidazol

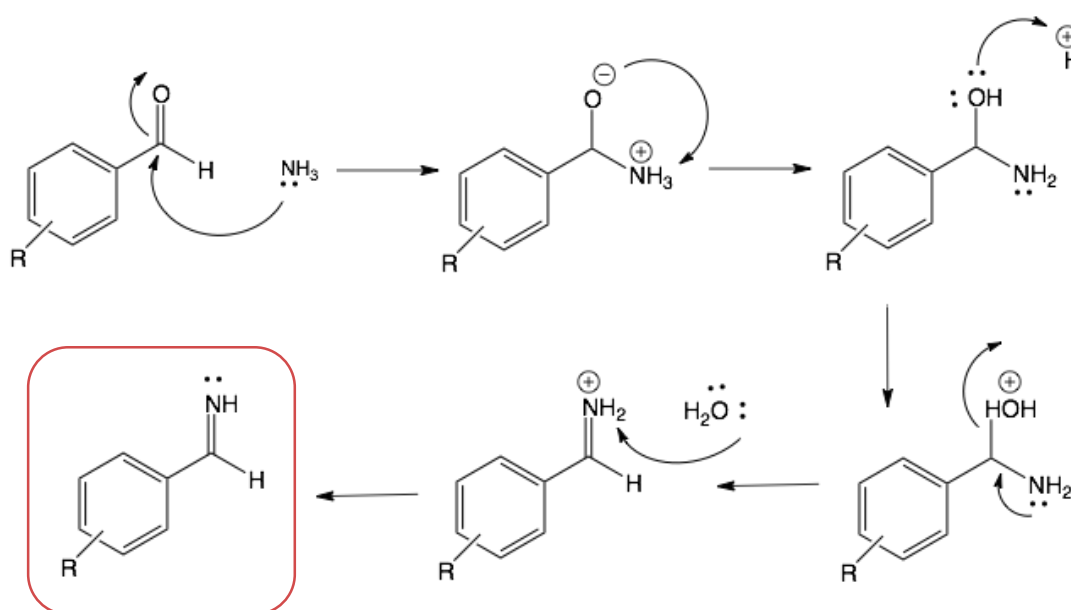
La síntesis de Debus mencionada anteriormente, es una reacción versátil, ya que permite ser utilizada como base para generar distintos derivados de imidazol, los reactivos involucrados pueden ser fácilmente sustituidos por otros de la misma naturaleza. En la síntesis original, se requiere de un compuesto dicarbonílico (glioxal), un aldehído (formaldehído) y una fuente de nitrógeno, el amoníaco, compuestos dicarbonilos existe una gran variedad, así como aldehídos, esto fue aprovechado por Radiszewski para el desarrollo de la síntesis que lleva su nombre.

Los derivados de imidazol conocidos como trifenilimidazol son fácilmente sintetizados utilizando la metodología propuesta por Radiszewski, partiendo de bencilo, benzaldehído y amoníaco.

En el mecanismo de reacción propuesto para la formación de este tipo de derivados, se requiere de la formación de un intermediario de tipo imida, esta imida es generada por la incorporación de nitrógeno en forma de amoníaco mediante un ataque nucleófilico al carbonilo del aldehído.



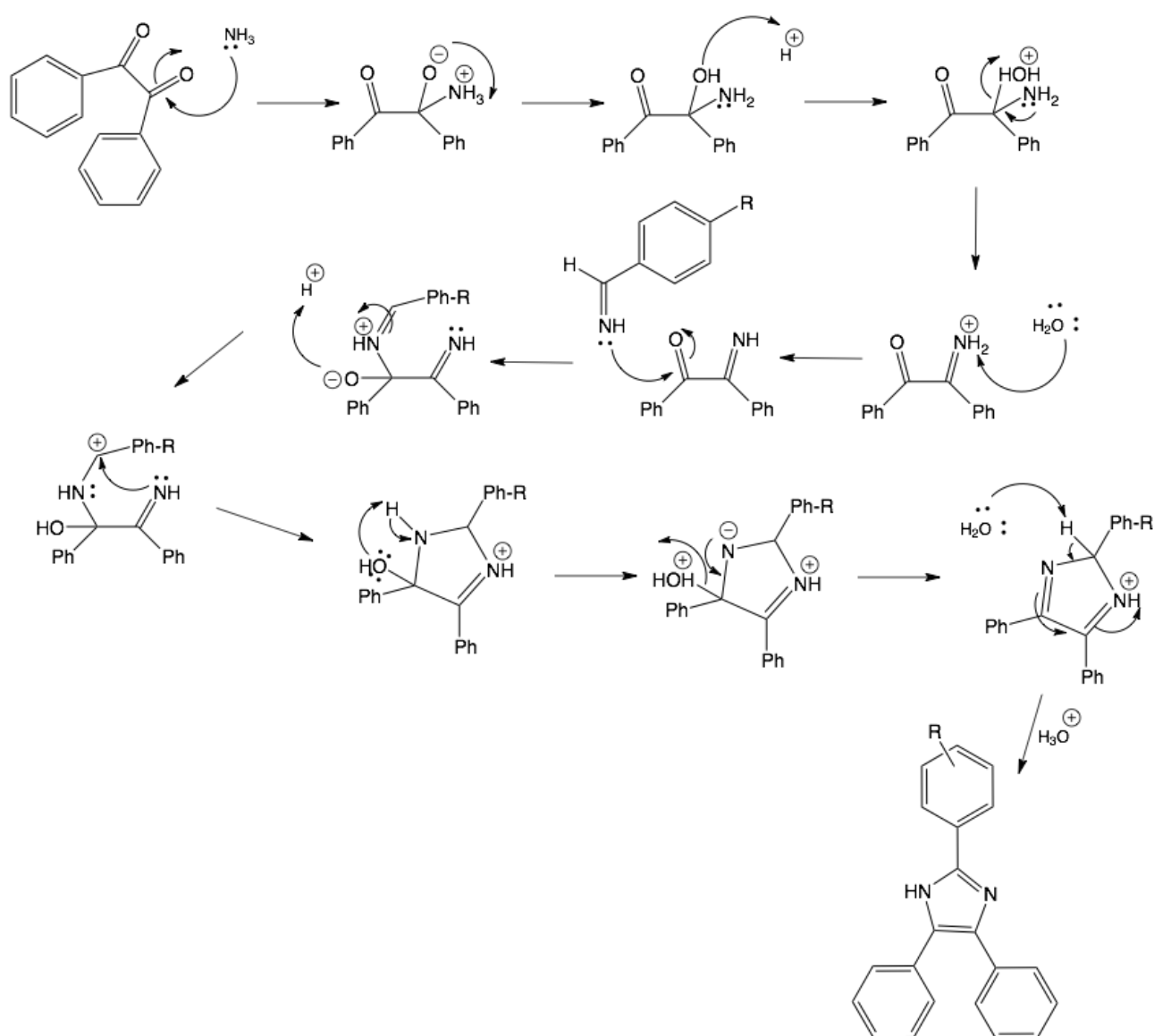
Esq.3. Formación de amoníaco a partir de acetato de amonio.



Esq.4. Síntesis del intermediario de tipo imida.

Una vez formado el intermediario, se lleva a cabo, en presencia de sencillo una ciclocondensación, dando lugar al anillo de imidazol tri sustituido.

Esta reacción nos permite introducir cualquier tipo de aldehído lineal o aromático en lugar del original benzaldehído, de manera que la sustitución presente en la posición 2 del imidazol sea variante.



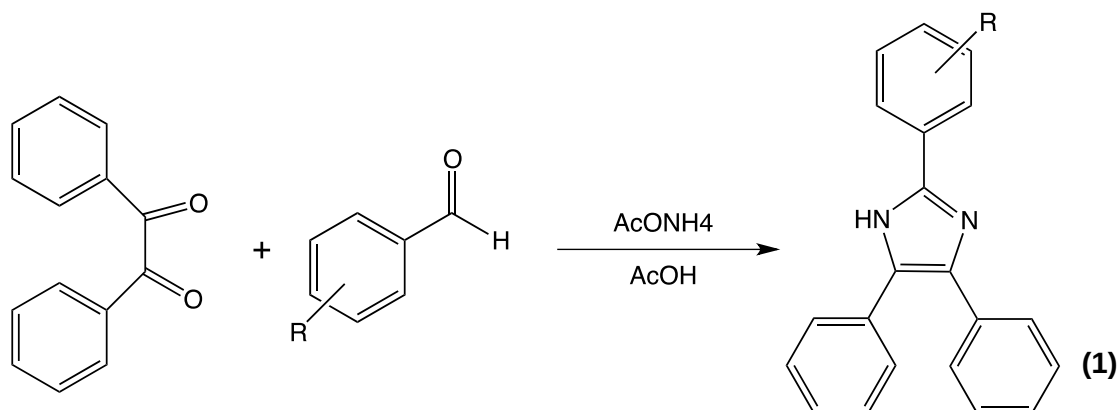
Esq.5. Formación de derivado 2,4,5-trifenilimidazol



Metodología sintética

Ruta sintética general.

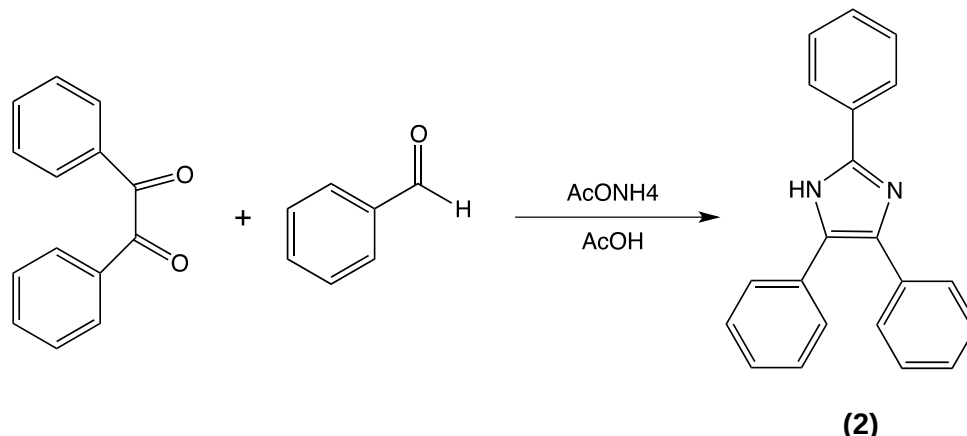
Para la síntesis de los derivados de trifenil imidazol se utilizó bencilo (1) como material de partida, acetato de amonio en ácido acético como fuente de nitrógeno y el aldehído aromático correspondiente. En el siguiente esquema se muestra la reaccion general:



Esq.6. Ruta sintética general para la generacion de los derivados.

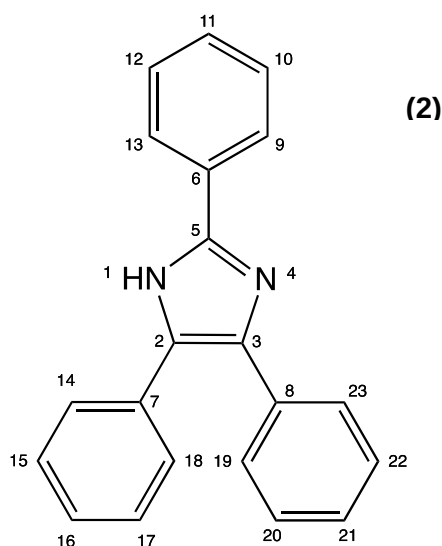
Síntesis de derivados

2,4,5-trifenil-1H-imidazol (IMI)

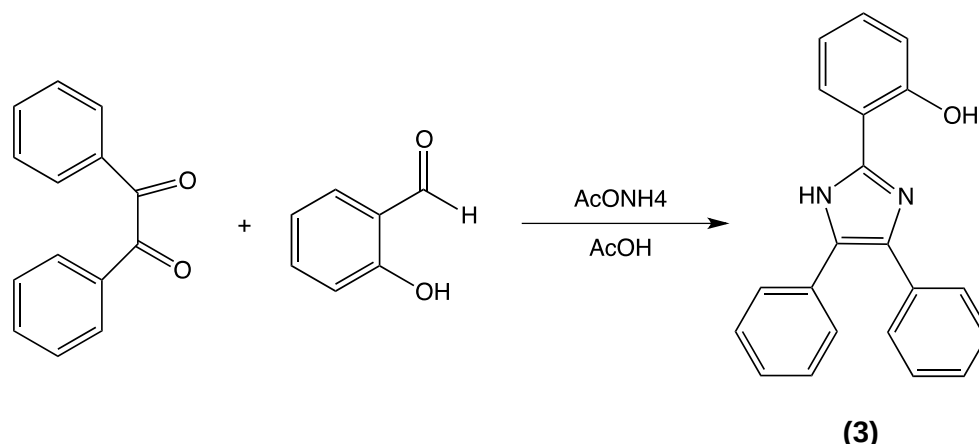


Esq.7. Síntesis de derivado IMI

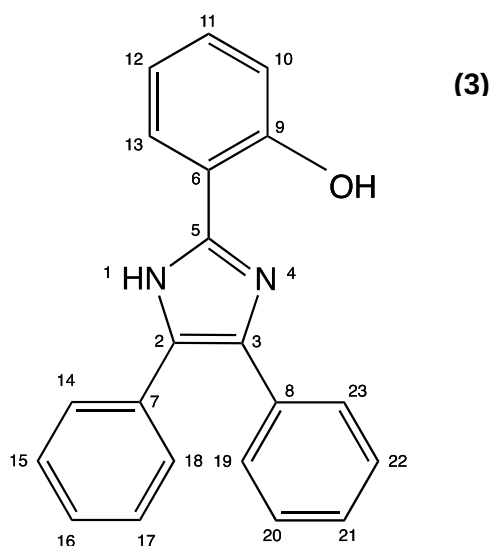
Una mezcla de 0.52g (5.95 mmol) de acetato de amonio en 10mL de ácido acético se colocan en reflujo y agitación, pasados 5 minutos de goteo constante se adicionan 0.126g (1.19 mmol) de benzaldehído. Después de 5 minutos se agregan .25g (1.19 mmol) de bencilo. Se procede con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. El precipitado formado se filtra y se lava repetidas veces con agua destilada. Se purifica con recristalizaciones de etanol.



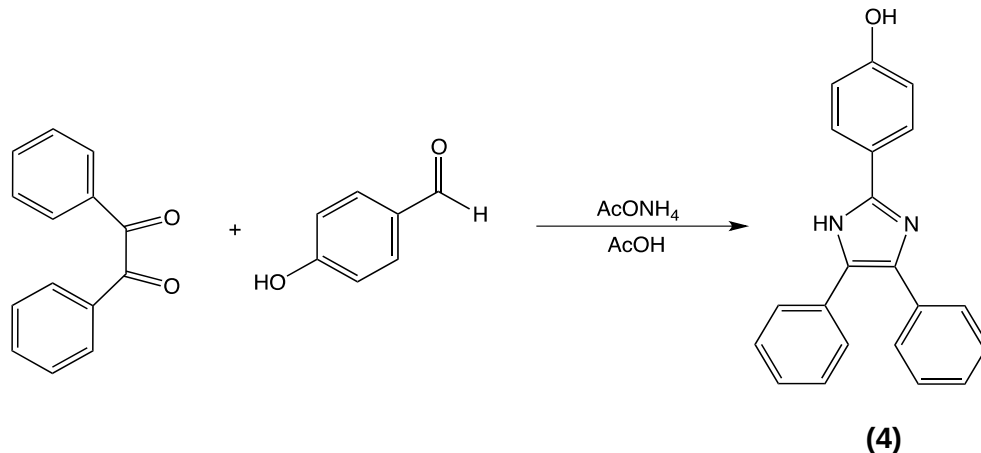
Nombre	2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ , 296 g/mol
IR (cm⁻¹)	3037, 1599, 1503, 1488, 1460, 1409, 1323, 1127, 1070, 965, 915, 838, 765, 734, 712, 697, 605
EM m/z (%)	296 (M ⁺), 281, 207, 193, 165, 147, 133, 104, 89, 73, 63, 44
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	12.6 (s, 1H, NH), 8.0 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 2H), 7.2-7.9 (m, 13H, Ar-H).
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	146.0 (C-5), 136.0 (C-18), 130.0 (C-2, C-3), 129.0 (C-7, C-6), 128.9 (C-23, C-19), 128.4 (C-12, C-13), 128.2 (C-22, C-20), 127.6 (C-14, C-11), 126.7 (C-21, C-10, C-15), 125.6 (C-8, C-17)

2-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)fenol (IMI-SAL)**Esq.8.** Síntesis de derivado IMI-SAL

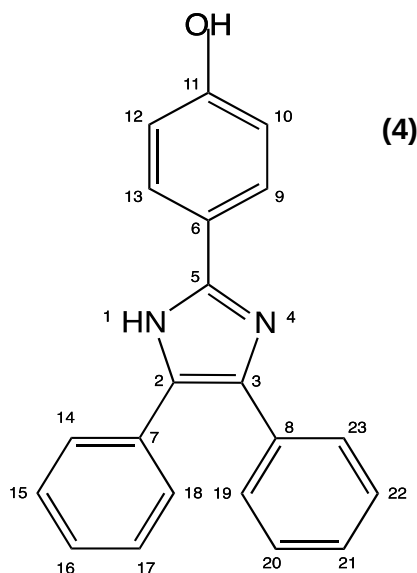
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.145g (1.19 mmol) de salicilaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando como mezcla eluyente Hexano/AcOEt 10%.



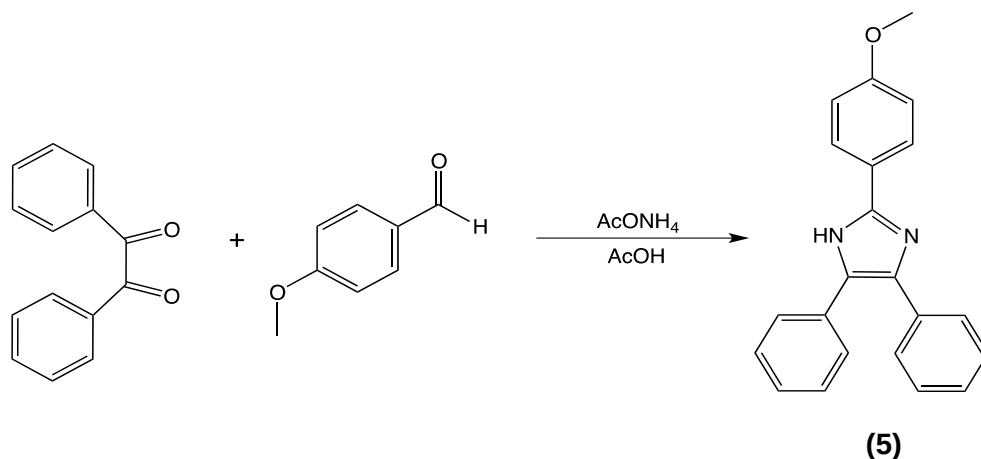
Nombre	2-(4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)fenol
Formula y peso molecular	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O, 312 g/mol
IR (cm⁻¹)	3205, 1601, 1539, 1501, 1444, 1382, 1326, 1294, 1261, 1205, 1137, 1071, 1037, 976, 911, 828, 762, 745, 691, 606
EM m/z (%)	312 (M ⁺), 297, 283, 269, 256, 243, 229, 209, 193, 180, 165, 141, 128, 104, 91, 77, 64, 51, 38
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	12.0 (s, 1H, NH), 7.69 (dd, <i>J</i> ₁ = 7.2 Hz, <i>J</i> ₂ = 0.8 Hz, 1H), 7.53 (m, 4H), 7.35 (m, 6H), 7.19 (m, 1H), 7.10 (d, <i>J</i> ₁ = 8 Hz, 1H), 6.84 (m, 1H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	157.0 (C-19), 145.1 (C-5), 130.9 (C-2, C-3), 128.1 (C-6, C-7), 128.3 (C-23), 127.8 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 124.3 (C-18), 119.1 (C-21), 117.8 (C-22), 111.8 (C-20)

4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenol (IMI-PAL)**Esq.9.** Síntesis de derivado IMI-PAL

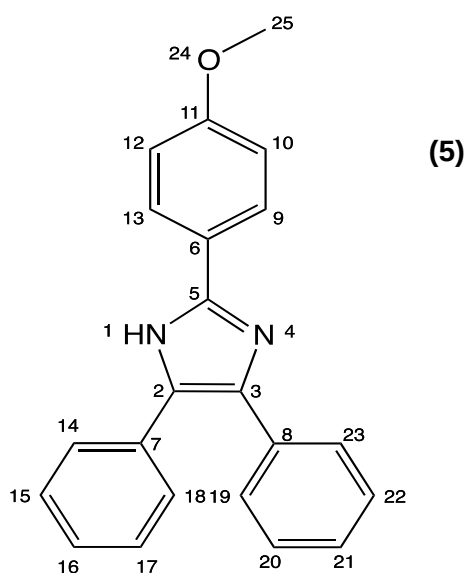
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.386g (5 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.184g (1.5 mmol) de 4-hidroxibenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.316g (1.5 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 5 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando como mezcla eluyente Hexano/AcOEt 10%.



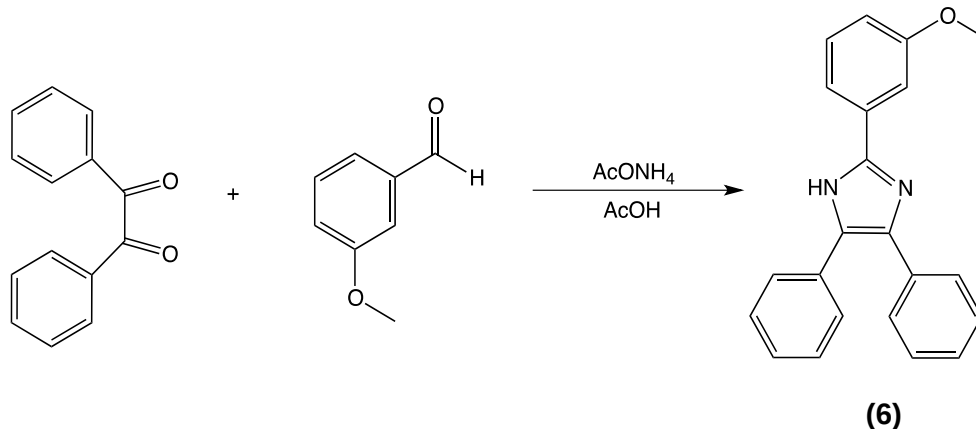
Nombre	4-(4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)fenol
Formula y peso molecular	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O, 312 g/mol
IR (cm⁻¹)	3205, 1601, 1539, 1501, 1444, 1382, 1326, 1294, 1261, 1205, 1137, 1071, 1037, 976, 911, 828, 762, 745, 691, 606
EM m/z (%)	312 (M ⁺), 165, 156, 140, 105, 89, 51
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	12.0 (s, 1H, NH), 7.69 (dd, <i>J</i> ₁ = 7.2 Hz, <i>J</i> ₂ = 0.8 Hz, 1H), 7.53 (m, 4H), 7.35 (m, 6H), 7.19 (m, 1H), 7.10 (d, <i>J</i> ₁ = 8 Hz, 1H), 6.84 (m, 1H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	157.0 (C-19), 145.1 (C-5), 130.9 (C-2, C-3), 128.1 (C-6, C-7), 128.3 (C-23), 127.8 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 124.3 (C-18), 119.1 (C-21), 117.8 (C-22), 111.8 (C-20)

2-(4-metoxifenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-PAN)**Esq.10.** Síntesis de derivado IMI-PAN

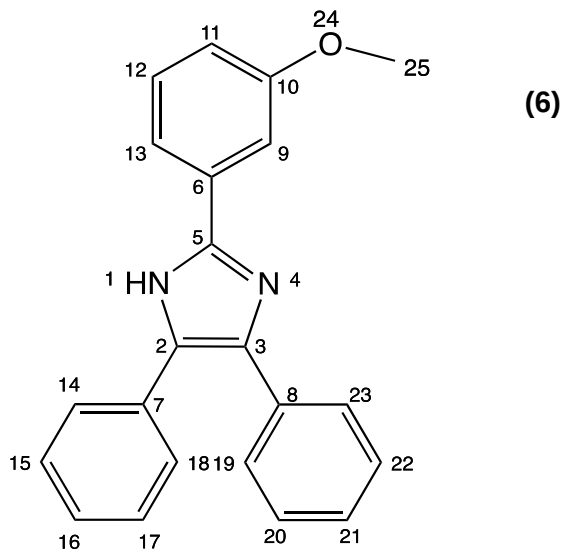
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.162 g (1.19 mmol) de anisaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por medio de recristalización con etanol.



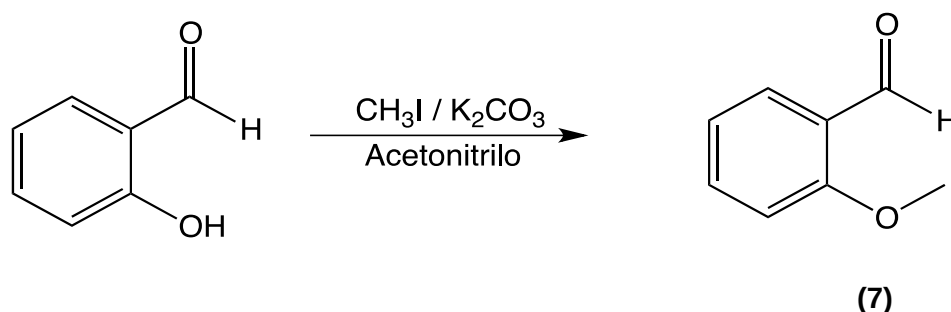
Nombre	2-(4-metoxifenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O, 326 g/mol
IR (cm⁻¹)	2958, 1611, 1543, 1492, 1451, 1442, 1408, 1386, 1322, 1291, 1251, 1203, 1173, 1156, 1131, 1071, 1027, 968, 914, 833, 796, 765, 739, 696, 671, 614
EM m/z (%)	326 (M ⁺), 311, 296, 283, 267, 254, 241, 222, 208, 193, 180, 165, 141, 119, 119, 104, 90, 77, 63, 50, 37
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	12.0 (s, 1H, NH), 7.85 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.49 (d, J = 7.2 Hz, 4H), 7.28 (m, 6H), 6.92 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	159.8 (C-21), 146.56 (C-5), 128.2 (C2, C-3), 127.8 (C6, C7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 127.0 (C-19, C-23), 122.7 (C-18), 113.9 (C-20, C-22), 55.1 (C-24)

2-(3-metoxifenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-MAN)**Esq.11.** Síntesis de derivado IMI-MAN

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.162 g (1.19 mmol) de 3-metoxibenzaldehido. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por medio de recristalización con etanol.



Nombre	2-(3-metoxifenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O, 326 g/mol
IR (cm⁻¹)	2998, 2961, 1589, 1502, 1485, 1439, 1412, 1290, 1243, 1201, 1184, 1116, 1071, 1051, 987, 966, 916, 889, 837, 777, 765, 731, 697
EM m/z (%)	326 (M ⁺), 282, 207, 193, 176, 165, 152, 141, 128, 119, 104, 69, 77, 63, 44
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	12.69 (s, 1H, NH), 7.68 (m, 2H), 7.52 (m, 4H), 7.44 (m, 2H), 7.38 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 7.22 (m, 1H), 6.94 (da, J = 6 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	160.0 (C-20), 145.8 (C-5), 130.2 (C-2, C-3), 129.1 (C-6, C-7), 128.9 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 128.2 (C-22), 126.9 (C-23), 118.0 (C-18), 114.6 (C-19), 110.6 (C-21), 55.6 (C-24)

2-metoxibenzaldehído (OAN)**Esq.12.** Generación del 2-metoxibenzaldehído (OAN)

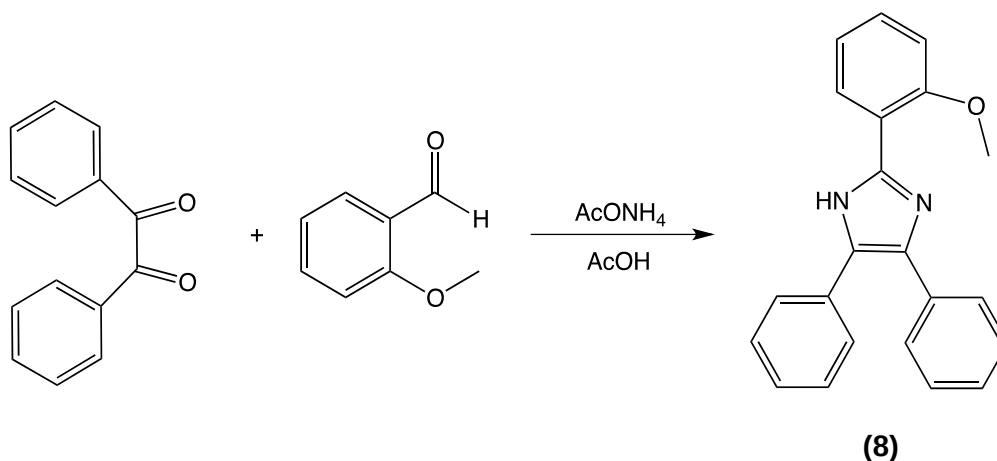
A una solución heterogénea de 1g (8.19mmol) de salicilaldehído y 4g (40.94 mmol) de carbonato de potasio en 30mL de acetonitrilo, se le adicionan lentamente 2.32g (16.38mmol) de ioduro de metilo. Esta mezcla se coloca a reflujo por 30 minutos, se enfría y se filtra para remover los sólidos precipitados. Al filtrado o sobrenadante obtenido se le realizan lavados con una solución saturada de cloruro de sodio. Se seca con sulfato de sodio anhidro y se elimina el disolvente a presión reducida en un rotaevaporador. La conversión del material de partida es total.

Nombre: 2-metoxibenzaldehído

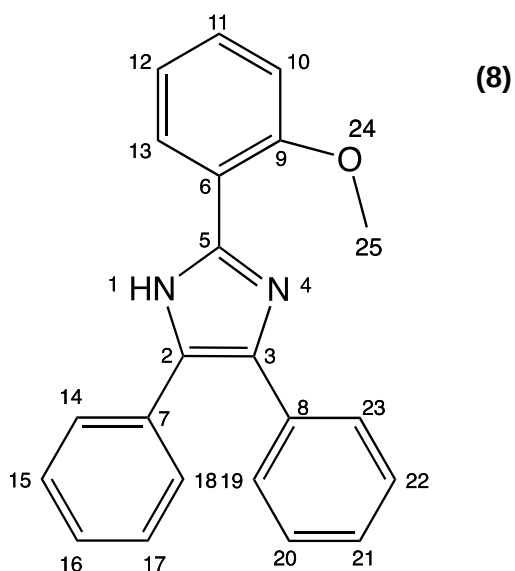
Formula y peso molecular: C₈H₈O₂, 136 g/mol

IR (cm⁻¹): 3081, 3011, 2965, 2946, 2863, 2844, 2759, 1760, 1694, 1667, 1602, 1586, 1566, 1561, 1546, 1541, 1486, 1460, 1440, 1395, 1304, 1287, 1246, 1187, 1181, 1162, 1104, 1046, 1029, 835, 646

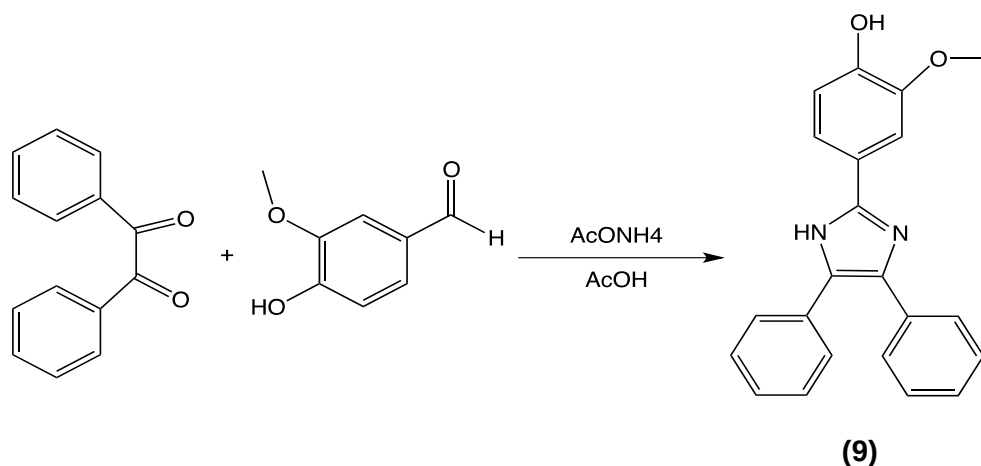
EM m/z (%):136 (M⁺), 118, 105, 94, 90, 77, 63, 51, 44

2-(2-metoxifenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-OAN)**Esq.13.** Síntesis de derivado IMI-OAN

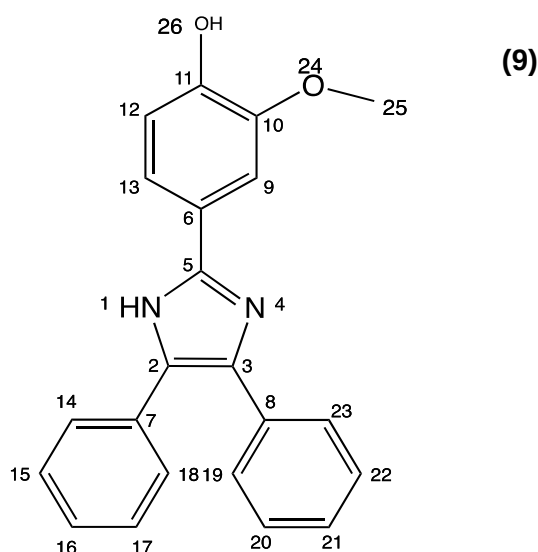
Se coloca a refluxo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.162 g (1.19 mmol) de 2-metoxibenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el refluxo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por medio de recristalización con etanol.



Nombre	2-(2-metoxifenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O, 326 g/mol
IR (cm⁻¹)	3427, 1601, 1585, 1530, 1480, 1470, 1446, 1240, 1182, 1160, 1099, 1071, 1019, 974, 766, 747, 694, 612
EM m/z (%)	326 (M ⁺), 308, 295, 281, 268, 255, 241, 221, 208, 194, 178, 165, 141, 127, 104, 91, 77, 64, 51, 37
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	10.48 (s, 1H, NH), 8.47 (dd, <i>J</i> ₁ = 8 Hz, <i>J</i> ₂ = 1.2 Hz, 1H), 7.65 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H), 7.50 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 7.30 (m, 7H, Ar-H), 7.10 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H, -O-CH ₃)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	155.6 (C-19), 143.9 (C-5), 129.4 (C-2, C-3), 128.5 (C-6, C-7), 127.7 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-21), 121.5 (C-22), 118.0 (C-18), 111.1 (C-20), 55.8 (C-24)

4-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-2-metoxifenol (IMI-VAI)**Esq.14.** Síntesis de derivado IMI-VAI

Se coloca a refluxo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.181 g (1.19 mmol) de vainillina. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el refluxo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por medio de recristalización con una mezcla de *n*-hexano y acetato de etilo a una proporción 1:1.



Nombre 4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)-2-metoxifenol

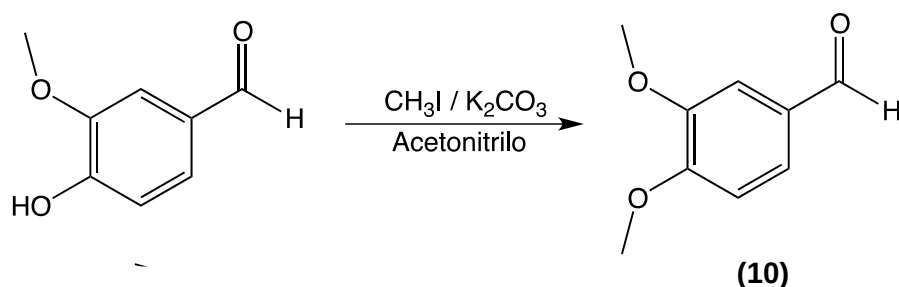
Formula y peso molecular C₂₂H₁₈N₂O, 342 g/mol

IR (cm⁻¹) 3510, 2996, 1601, 1543, 1496, 1449, 1464, 1409, 1247, 1229, 1195, 1173, 1155, 1131, 1071, 1031, 991, 967, 911, 887, 870, 810, 789, 774, 733, 695, 672

EM m/z (%) 341, 31, 295, 207, 190, 180, 165, 155, 118, 105, 89, 77, 63, 44

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ: 11.9 (s, 1H, NH), 7.57 (d, 1H), 7.48 (d, *J* = 7 Hz, 4H), 7.32 (m, 7H), 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H)

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ: 147.2 (C-5), 146.7 (C-20), 132.4 (C-21), 128.2 (C-2, C-3), 127.9 (C-6, C-7), 127.1 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 121.7 (C-18), 118.6 (C-23), 114.7 (C-19), 109.0 (C-22)

Metilación de vainillina. 3,4-dimetoxibenzaldehído (DMB)**Esq.15.** Generación del 3,4-dimetoxibenzaldehído (DMB)

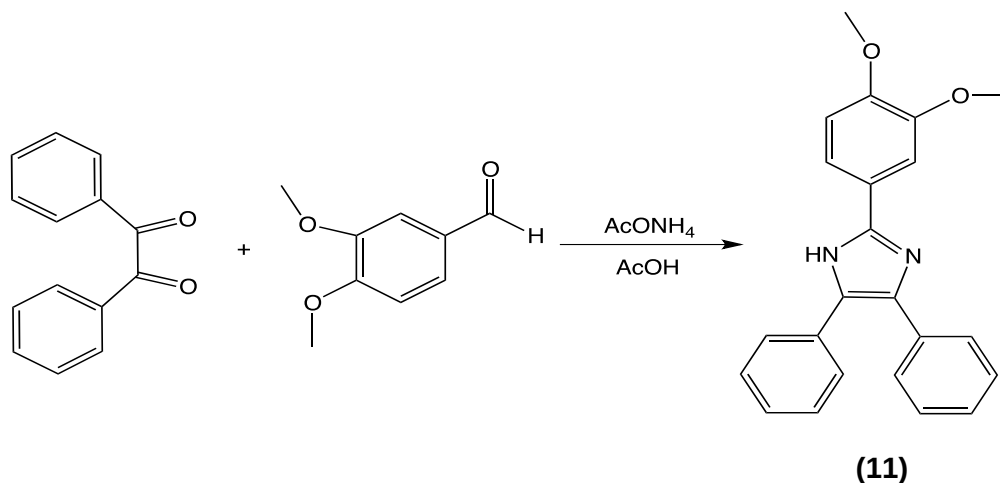
A una solución heterogénea de 4 g (26.31 mmol) de vainillina y 13 g (131.57 mmol) de carbonato de potasio en 48mL de acetonitrilo, se le adicionan lentamente 7.46g (52.62 mmol) de ioduro de metilo. Esta mezcla se coloca a reflujo por 30 minutos, se enfría y se filtra para remover los sólidos precipitados. Al filtrado o sobrenadante obtenido se le realizan lavados con una solución saturada de cloruro de sodio. Se seca con sulfato de sodio anhidro y se elimina el disolvente a presión reducida en un rotaevaporador. La conversión del material de partida es total.

Nombre: 3,4-dimetoxibenzaldehído

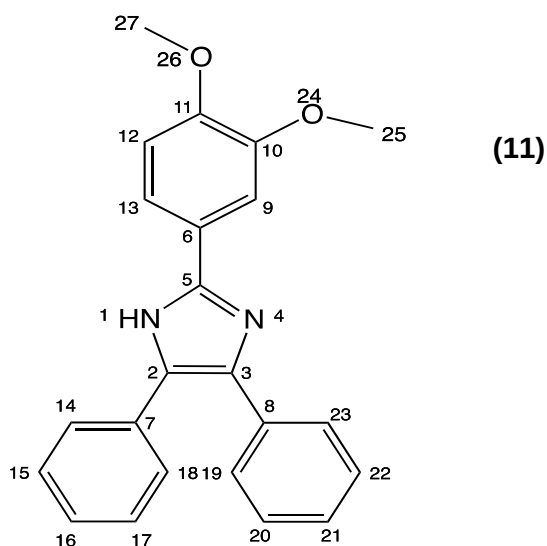
Formula y peso molecular: C₉H₁₀O₃, 166 g/mol

IR (cm⁻¹): 3426, 1678, 1586, 1512, 1464, 1423, 1397, 1341, 1267, 1240, 1154, 1135, 1020, 808, 782, 731, 641

EM m/z (%): 166 (M⁺), 151, 137, 119, 105, 95, 77, 65, 51, 41

2-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-DMB)**Esq.16.** Síntesis de derivado IMI-DMB

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.198 g (1.19 mmol) de 3,4-dimetoxibenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica de gel de sílice con una fase móvil de *n*-hexano/AcOEt 15%.



Nombre 2-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-difenil-1H-imidazol

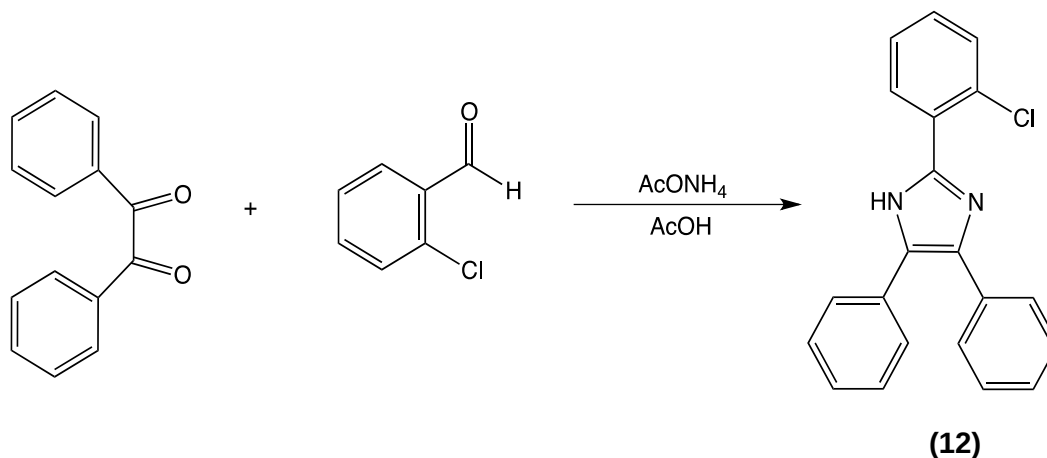
Formula y peso molecular $C_{23}H_{21}N_2O_2$, 356 g/mol

IR (cm⁻¹) 2959, 1591, 1541, 1495, 1462, 1431, 1325, 1276, 1253, 1235, 1200, 1176, 1155, 1071, 1023, 970, 915, 858, 762, 726, 696, 634

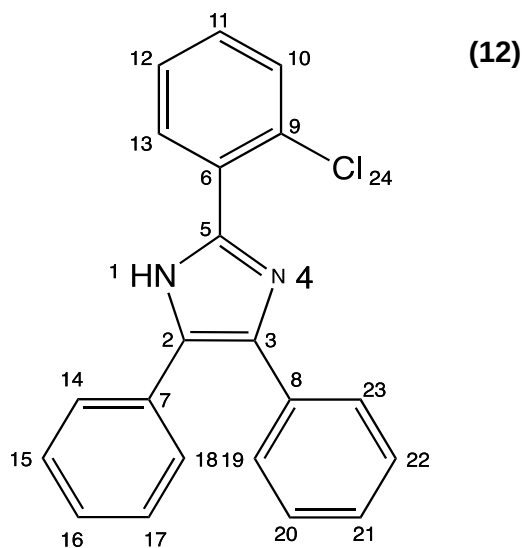
EM m/z (%) 356 (M⁺), 342, 330, 281, 237, 220, 207, 193, 176, 165, 150, 132, 119, 103, 89, 73, 59, 45

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ: 12.0 (s, 1H, NH), 7.60 (d, 1H), 7.49 (m, 5H), 7.28 (m, 6H), 6.87 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H)

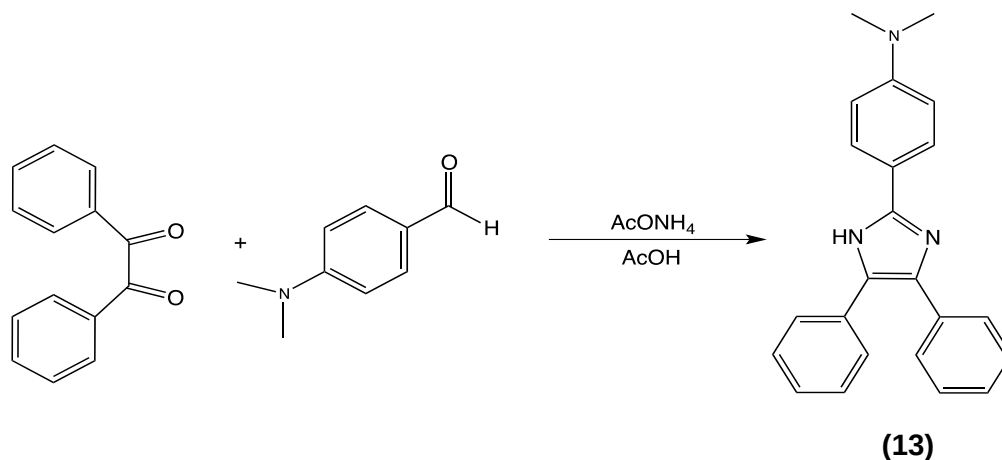
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ: 149.2 (C-20), 148.9 (C-21), 146.5 (C-5), 132.6 (C-2, C-3), 128.2 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 127.0 (C-6, C-7), 122.9 (C-18), 118.1 (C-23), 111.0 (C-22), 109.0 (C-19)

2-(2-clorofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-OCB)**Esq.17.** Síntesis de derivado IMI-OCB

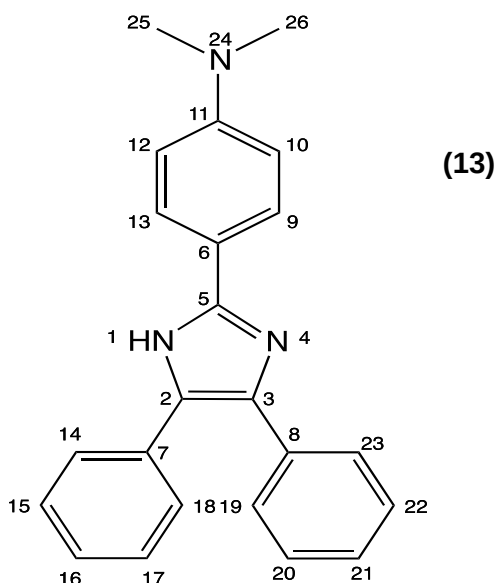
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.167 g (1.19 mmol) de 2-clorobenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica realizando recristalización con etanol.



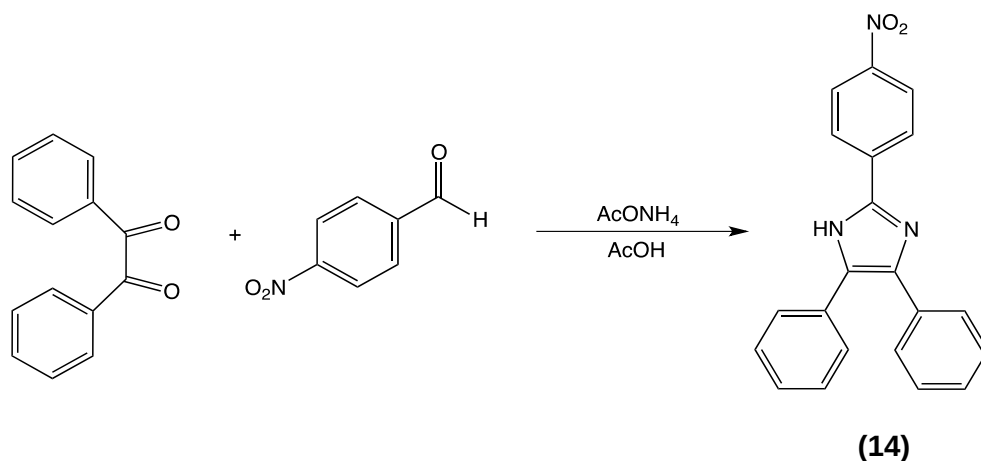
Nombre	2-(2-clorofenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	$C_{22}H_{15}N_2Cl$, 330.5 g/mol
IR (cm⁻¹)	2924, 1602, 1502, 1479, 1446, 1321, 1124, 1071, 1054, 1036, 973, 915, 763, 734, 696, 605
EM m/z (%)	330 (M ⁺), 281, 220, 207, 193, 176, 165, 147, 132, 120, 103, 89, 73, 59, 44
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	10.4 (s, 1H, NH), 8.43 (dd, $J_1 = 7.6$ Hz, $J_2 = 1.2$ Hz, 1H), 7.66 (m, 2H), 7.37 (m, 11H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	

4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)-*N,N*-dimetilanilina (IMI-PAB)**Esq.18.** Síntesis de derivado IMI-PAB

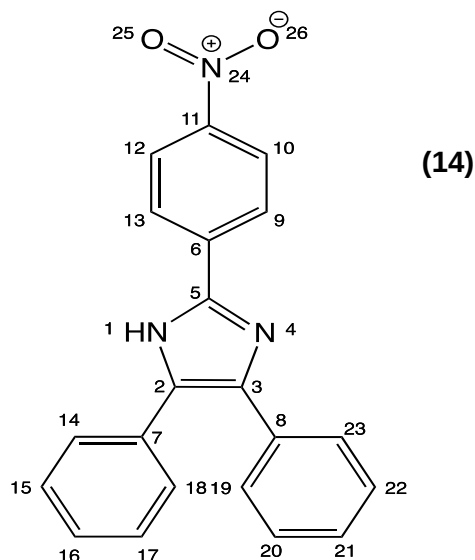
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.177 g (1.19 mmol) de 3-dimetilaminobenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica con gel de sílice, realizando un percolado con cloruro de metileno.



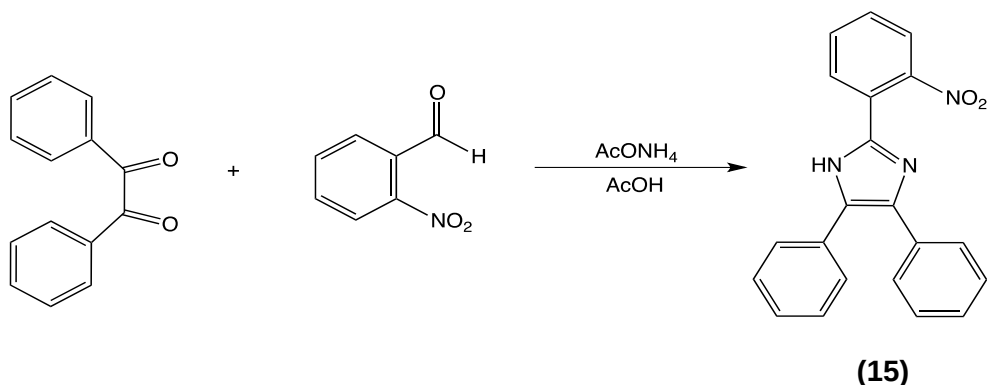
Nombre	4-(4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)- <i>N,N</i> -dimetilanilina
Formula y peso molecular	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ , 339 g/mol
IR (cm⁻¹)	3000, 1618, 1552, 1508, 1497, 1445, 1407, 1388, 1359, 1217, 1200, 1173, 1128, 1069, 1029, 967, 954, 913, 817, 765, 752, 739, 697, 672, 605
EM m/z (%)	339 [M ⁺], 322, 165, 132, 119, 104, 89, 63, 39
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	11.9 (s, 1H, NH), 7.76 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.50 (m, 4H), 7.26 (m, 6H), 6.69 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 2.96 (s, 6H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	150.7 (C-5), 147.0 (C-21), 132.9 (C-2, C-3), 128.5 (C-6, C-7), 128.0 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 125.7 (C-20, C-22), 124.1 (C-19, C-23), 112.1 (C-4, C-24), 40.3 (C-25, C-26)

2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-PNB)**Esq.19.** Síntesis de derivado IMI-PNB

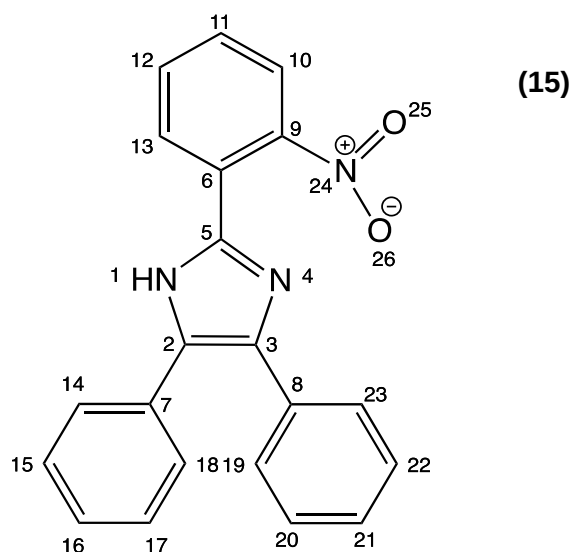
Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.52 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.18 g (1.19 mmol) de 4-nitrobenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica con gel de sílice, con una fase eluyente de *n*-hexano/ acetato de etilo al 50%.



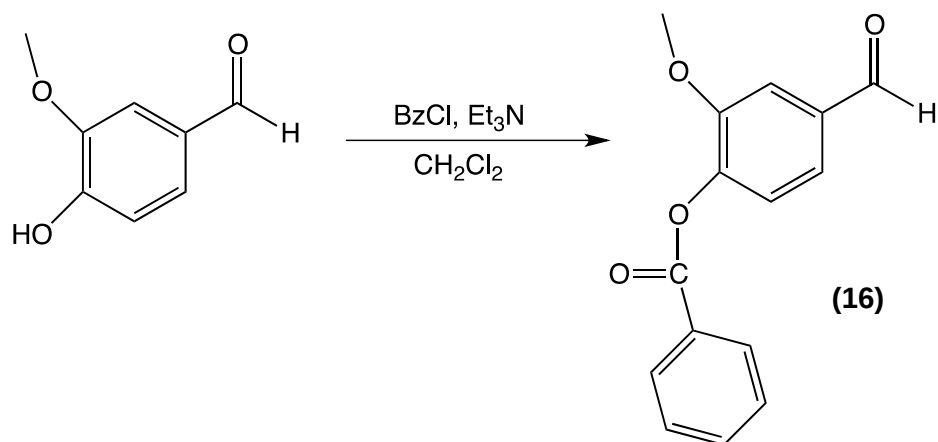
Nombre	2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O ₂ , 341 g/mol
IR (cm⁻¹)	2923, 1600, 1519, 1486, 1450, 1339, 1258, 1129, 1108, 1072, 968, 916, 864, 852, 776, 765, 722, 711, 697
EM m/z (%)	341 (M ⁺), 311, 295, 190, 165, 140, 104, 89, 77
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	11.90 (s, 1H, NH), 8.18 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 8.05 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 7.50 (m, 4H), 7.31 (m, 6H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	147.0 (C-21), 143.8 (C-5), 135.8 (C-2, C-3), 128.5 (C-6, C-7), 128.0 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 125.7 (C-20, C-22), 124.1 (C-19, C-23)

2-(2-nitrofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-ONB)**Esq.20.** Síntesis de derivado IMI-ONB

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.4 g (1.5 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.227 g (1.5 mmol) de 2-nitrobenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.316 g (1.5 mmol) de bencilo. Se continúa con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica con gel de sílice, con una fase eluyente de *n*-hexano/ acetato de etilo al 50%.



Nombre	2-(2-nitrofenil)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₁ H ₁₅ N ₃ O ₂ , 341 g/mol
IR (cm⁻¹)	2923, 1600, 1519, 1486, 1450, 1339, 1258, 1129, 1108, 1072, 968, 916, 864, 852, 776, 765, 722, 711, 697
EM m/z (%)	341 (M ⁺), 311, 264, 237, 190, 165, 147, 135, 104, 89, 79
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	11.90 (s, 1H, NH), 8.18 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 8.05 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 7.50 (m, 4H), 7.31 (m, 6H)
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	147.0 (C-21), 143.8 (C-5), 135.8 (C-2, C-3), 128.5 (C-6, C-7), 128.0 (C-8, C-9, C-10, C-11, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17), 125.7 (C-20, C-22), 124.1 (C-19, C-23)

Acilación de vainillina (ALD-B)**Esq.21.** Síntesis de aldehído 3-metoxi-4-fenoxibenzaldehído

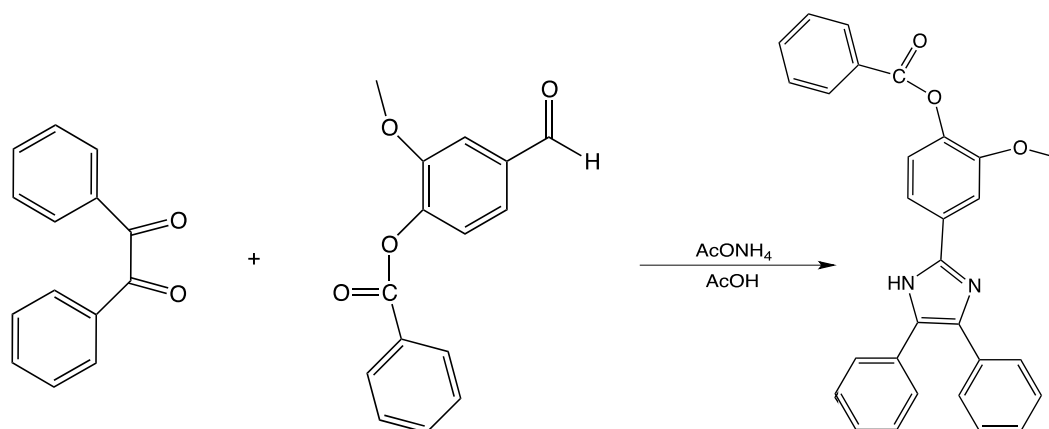
A una disolución de 10 g (65.7 mmol) de vainillina en 300 mL de CH₂Cl₂ se le adiciona 16.64 g (164.4 mmol) de trietilamina a 0 °C y, enseguida, muy lentamente se adicionaron 18.49 g (131.5 mmol) de cloruro de benzoilo. La reacción permaneció en agitación por 2 horas y pasado este tiempo se paró adicionando una solución saturada de sulfato de cobre, se realizaron extracciones con éter etílico y esta fase orgánica fue lavada con disolución acuosa de NaHCO₃ al 10% y secada con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando como fase eluyente n-hexano/acetato de etilo al 10%.

Nombre: 3-metoxi-4-fenoxibenzaldehído

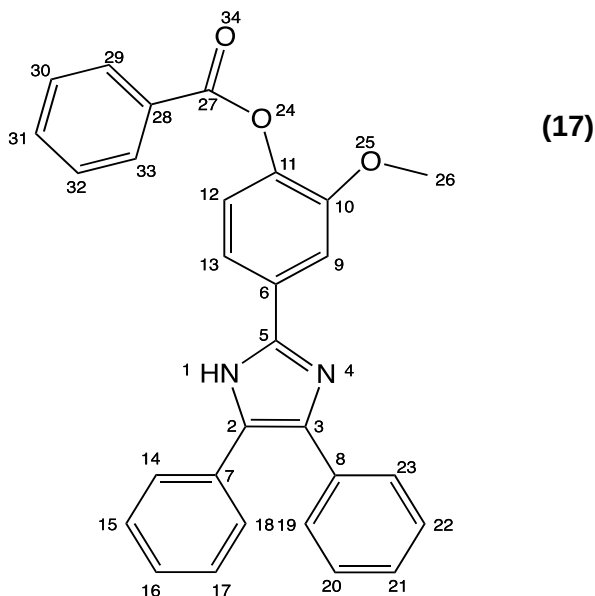
Formula y peso molecular: C₁₅H₁₂O₄, 256 g/mol

IR (cm⁻¹): 3071, 2839, 1744, 1700, 1391, 1257, 1202, 1078

EM m/z (%): 256 (M⁺), 151, 105, 77, 51

4-(4,5-difenil-1H-imidazol-2-il)-2-metoxifenil benzoato (IMI-B)**Esq.22.** Síntesis de derivado IMI-B**(17)**

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 1.04 g (6.75 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.82 g (1.79 mmol) de 3-metoxi-4-fenoxibenzaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.5 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 4 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Se purifica por columna cromatográfica con gel de sílice, con una fase eluyente de cloruro de metileno / acetato de etilo al 6%.

**(17)**

Nombre 4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)-2-metoxifenil benzoato

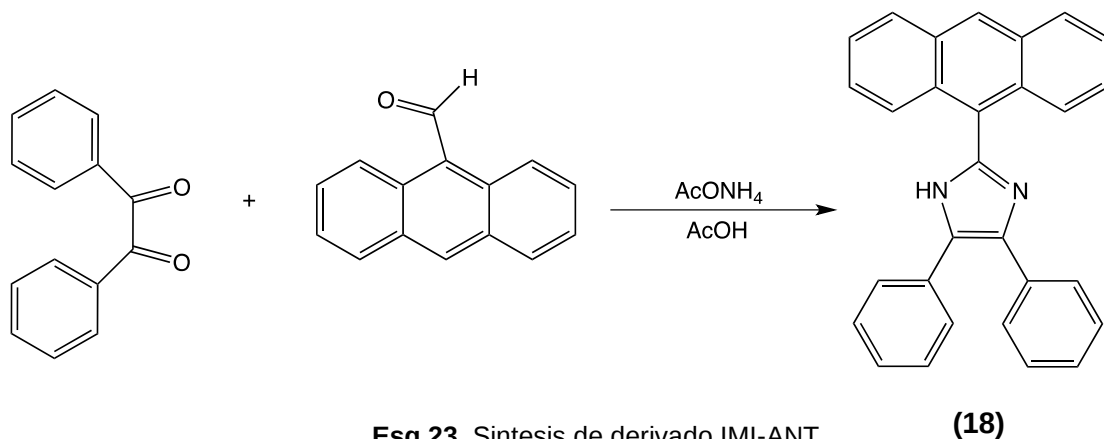
Formula y peso molecular C₂₉H₂₂N₂O₃, 446 g/mol

IR (cm⁻¹) 3517, 2260, 2200, 2126, 1012, 1941, 1602, 1490, 1268, 1029, 972, 778, 695

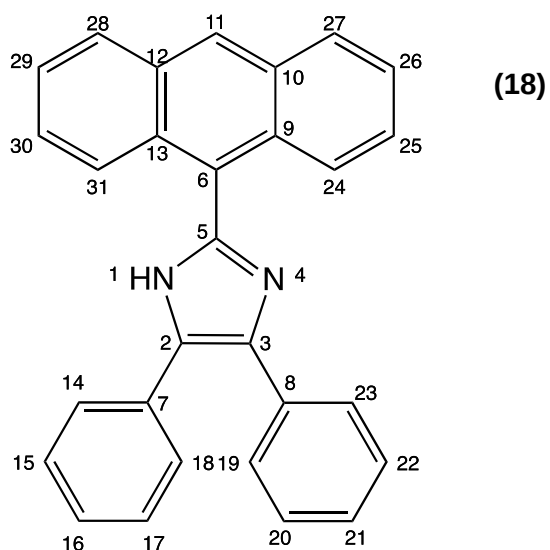
EM m/z (%) 386 (M⁺), 342, 327, 299, 269, 165, 135, 104, 89, 77, 63, 51, 39

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:

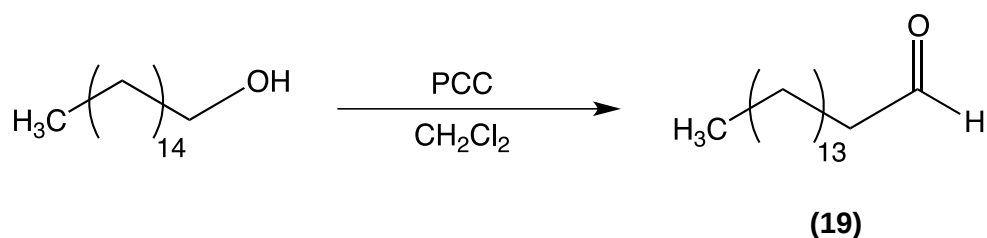
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:

2-(antracen-9-il)-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-ANT)

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.4 g (1.5 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.412 g (2 mmol) de antraldehido. Pasados 5 minutos se agregan 0.316 g (1.5 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 7 horas más y se deja en reposo a temperatura ambiente durante la noche. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9. Se filtra el sólido precipitado y se lava con agua destilada. Para su purificación se realizó un percolado en una columna cromatográfica con gel de sílice y utilizando cloruro de metileno como solvente eluyente.



Nombre	2-(antracen-9-il)-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₂₉ H ₂₀ N ₂ , 396.16.g/mol
IR (cm⁻¹)	3810, 3694, 3608, 3533, 3322, 3137, 3054, 2919, 2577, 2490, 2362, 2060, 1388, 1026, 884, 693, 600, 546
EM m/z (%)	396 (M ⁺), 367, 291, 203, 165, 105, 77, 43
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	

Oxidación de 1-hexadecanol (ALD-HEX)

Esq.24. Oxidación de 1-hexadecanol al correspondiente aldehído.

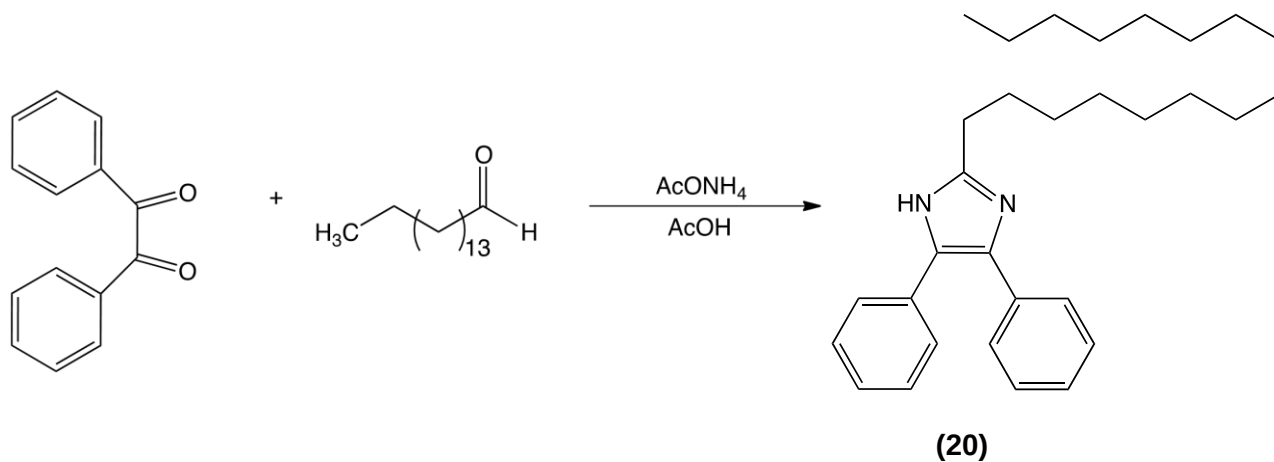
A una solución de 4 g (16.5 mmol) de 1-hexadecanol en 50 mL de dicloroetano se le adiciona 5.34 g (24.7 mmol) de PCC. Esta reacción se dejó por un periodo de 2 horas en agitación constante a temperatura y atmósfera ambiente. Para la purificación del producto, el gel de sílice es impregnado con el crudo de reacción y se realizan lavados a la sílice con dicloroetano. La solución obtenida es concentrada a presión reducida y el producto obtenido es purificado con una columna cromatográfica de gel de sílice, utilizando como fase eluyente n-hexano/ cloruro de metileno 50%.

Nombre: 1-hexadecanal

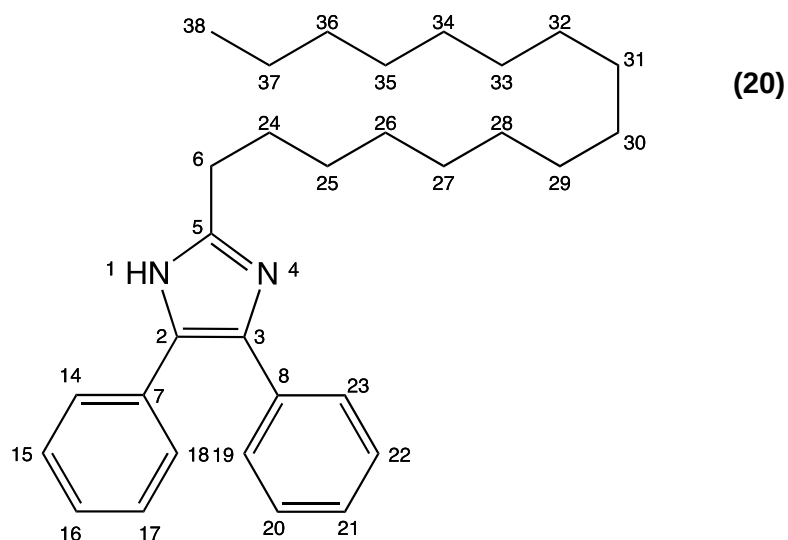
Fórmula y peso molecular: C₁₆H₃₂O, 240.25 g/mol

IR (cm⁻¹): 2913, 2848, 1710, 715

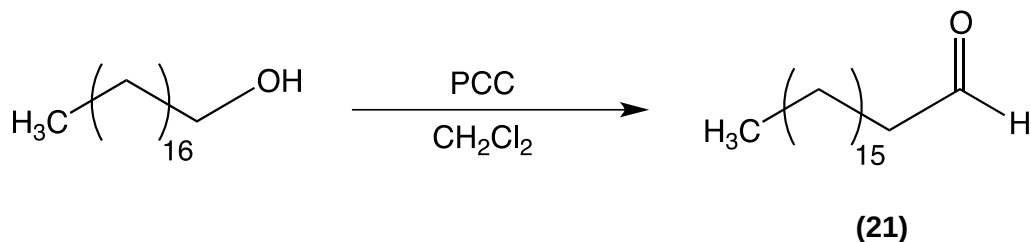
EM m/z (%): 240 (M⁺)

2-hexadecil-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-HEX)**Esq.25.** Síntesis de derivado IMI-HEX

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 1.07 g (13.9 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 1 g (4.16 mmol) de hexaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.58 g (2.77 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 24 horas más. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9 y el precipitado obtenido se filtra y lava con agua destilada. Para su purificación se realizó una columna cromatográfica con gel de sílice y utilizando *n*-hexano / acetato de etilo 7% como fase eluyente.



Nombre	2-hexadecil-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol
Formula y peso molecular	C ₃₁ H ₄₄ N ₂ , 444.35.g/mol
IR (cm⁻¹)	3811, 3752, 3600, 3536, 3135, 2916, 2850, 1949, 2706, 2491, 760, 693, 649, 597, 544
EM m/z (%)	430, 387, 345, 289, 234, 194, 165, 135, 103, 73, 43
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:	
RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:	

Oxidación de 1-octadecanol (ALD-OCT)**Esq.26.** Oxidación de 1-octadecanol al correspondiente aldehído.

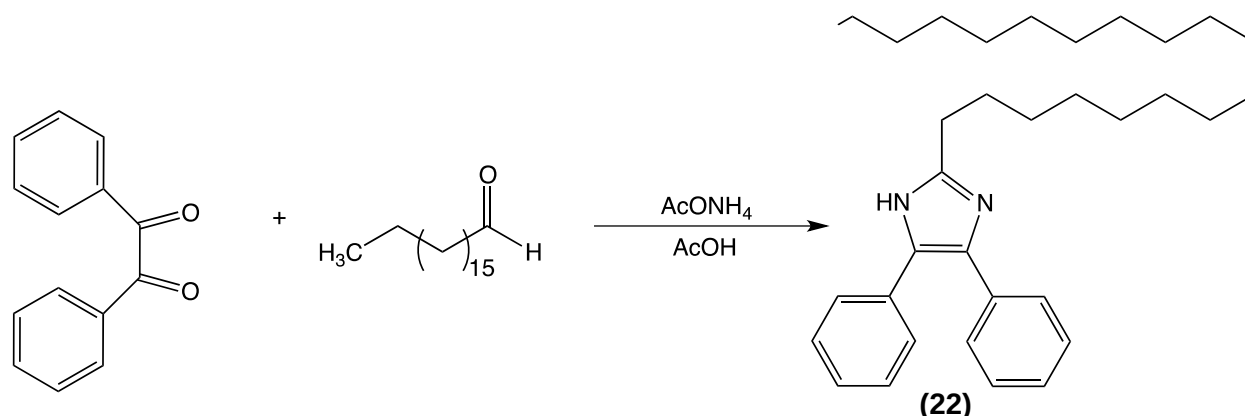
A una solución de 4 g (14.8 mmol) de 1-octadecanol en 50 mL de dicloroetano se le adiciona 4.78 g (22.2 mmol) de PCC. Esta reacción se dejó por un periodo de 2 horas en agitación constante a temperatura y atmósfera ambiente. Para la purificación del producto, el gel de sílice es impregnado con el crudo de reacción y se realizan lavados a la sílice con dicloroetano. La solución obtenida es concentrada a presión reducida y el producto obtenido es purificado con una columna cromatográfica de gel de sílice, utilizando como fase eluyente trimetilpentano.

Nombre: 1-octadecanal

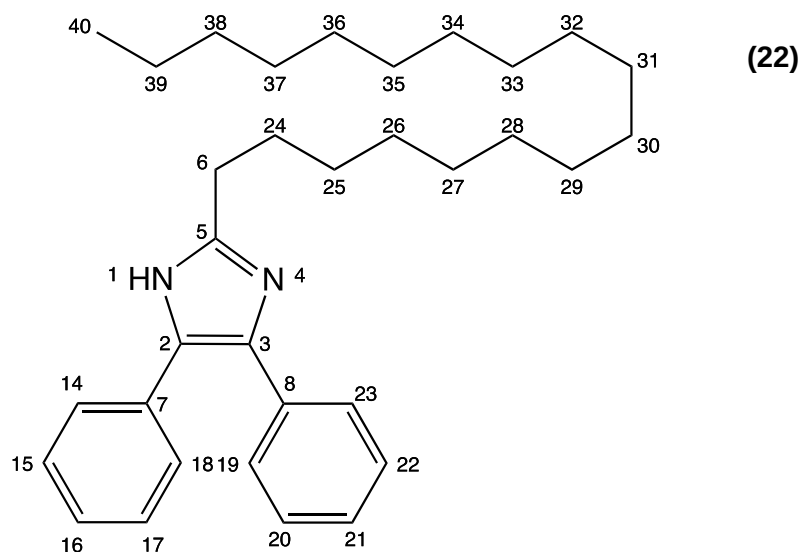
Fórmula y peso molecular: C₁₈H₃₆O, 268 g/mol

IR (cm⁻¹): 2915, 2848, 1700, 1433, 783, 752, 721

EM m/z (%): 268 (M⁺)

2-octadecil-4,5-difenil-1H-imidazol (IMI-OCT)**Esq.27.** Síntesis de derivado IMI-OCT

Se coloca a reflujo y agitación una mezcla de 0.46 g (5.95 mmol) de acetato de amonio disuelto en 10ml de ácido acético. Después de 5 minutos a goteo constante se adicionan 0.48 g (1.79 mmol) de octaldehído. Pasados 5 minutos se agregan 0.25 g (1.19 mmol) de bencilo. Se continua con el reflujo por 24 horas más. Se agrega hidróxido de amonio hasta llevar a pH 9 y el precipitado obtenido se filtra y lava con agua destilada. Para su purificación se realizó una columna cromatográfica con gel de sílice y utilizando cloruro de metileno / acetato de etilo 3% como fase eluyente.



Nombre2-octadecil-4,5-difenil-1*H*-imidazol**Formula y peso molecular** $C_{33}H_{48}N_2$, 472.38.g/mol**IR (cm⁻¹)**3699, 3578, 3455, 3184, 2915, 2849, 2192,
762, 795, 716, 697**EM m/z (%)**458, 386, 345, 289, 234, 195, 165, 135,
103, 43**RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)δ:****RMN ¹³C (50 MHz, DMSO-d₆)δ:**

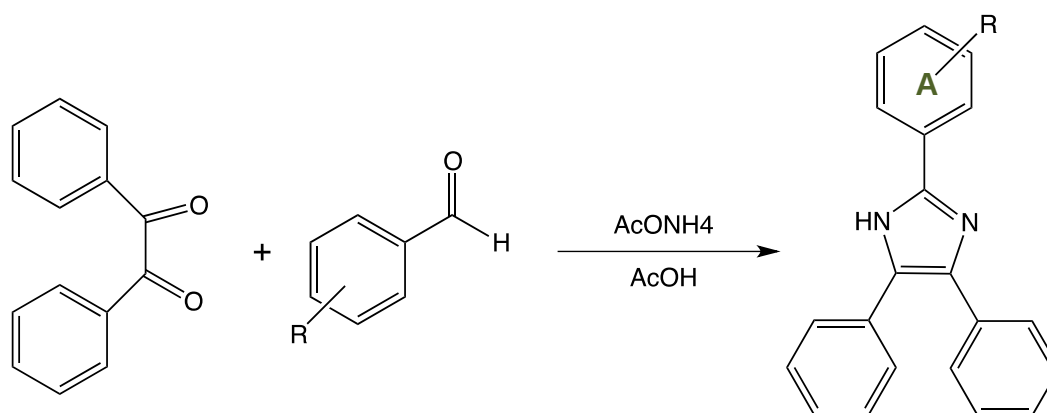


Resultados síntesis

Discusión de resultados

Ruta sintética general.

Para la generación de los diferentes derivados del esqueleto de trifenilimidazol, se siguió la metodología planteada por Radziszewski, en la cual se utiliza bencilo como material de partida y el correspondiente aldehído en presencia de acetato de amonio como fuente de nitrógeno (Esq. X). Los aldehídos utilizados para la generación de estas moléculas fueron seleccionados debido a la naturaleza química del sustituyente presente en el anillo aromático, encontrando funcionalizaciones con carácter electrodonador y electroatractor.



Esq.28. Ruta sintética general

Debido a que esta ruta sintética es ampliamente conocida y empleada, todos los compuestos generados se lograron obtener con buenos rendimientos de reacción que van desde 99% a otros mas modestos de 10% (ver tabla 2).

Compuesto	Sustituyente	% Rendimiento
(2)	-H	95
(3)	<i>o</i> -OH	99
(4)	<i>p</i> -OH	94
(5)	<i>p</i> -OMe	91
(6)	<i>m</i> -OMe	90
(8)	<i>o</i> -OMe	93
(9)	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OH	92
(11)	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OMe	84
(12)	<i>o</i> -Cl	93
(13)	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	83
(14)	<i>p</i> -NO ₂	90
(15)	<i>o</i> -NO ₂	77
(17)	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -COOBz	47
(18)	Antraldehído	64
(20)	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ -	10
(22)	CH ₃ (CH ₂) ₁₇ -	10

Tabla 2. Rendimientos de reacción

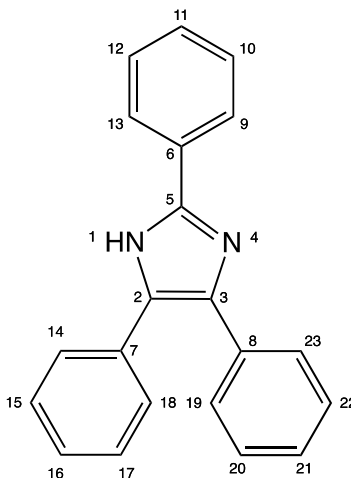
Como se observa en la tabla anterior, se sintetizaron un total de 16 compuestos, todos bajo las mismas condiciones de reacción. Primeramente se inicio con la molécula mas sencilla en cuanto a la funcionalización de anillo aromático A (ver esquema X), el esqueleto de 2,4,5-trifenil-1H-imidazol o compuesto, benzaldehído fue el material de partida para la síntesis del compuesto (2).

El análisis espectroscópico por infrarrojo del compuesto (2) mostró bandas correspondientes a tensión de enlaces C=C a 1599 y 1488 cm⁻¹, señales típicas de flexión C-H aromático a 734 y 712 cm⁻¹, tensión de enlaces C=H a 3037 cm⁻¹, estas señales nos confirman la presencia de los 3 anillos aromáticos de la moléculas, la

presencia de bandas a 1127 y 1323 cm^{-1} nos confirman la presencia de enlaces C-N, se observa la presencia de pequeñas bandas en un rango de 3400 a 3500 cm^{-1} , típicas de estiramientos N-H, estas señales confirman la formación del anillo heterocíclico del imidazol.

En la espectrometría de masas del producto (2) se observa en ion molecular de m/z de 296, correspondiente al peso molecular del derivado con formula $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2$.

En la resonancia magnética nuclear de este derivado, debido a la simetría que presenta la molécula, en el espectro de ^1H encontramos a un desplazamiento químico de 12.6 δ un singulete con integración para un protón, correspondiente al hidrogeno unido a nitrógeno del anillo de imidazol, a un desplazamiento de 8.0 δ encontramos un doblete que integra para 2 protones que presentan una constante de acoplamiento característica de protones vecinales a 7.7 Hz, el resto de los hidrógenos, al encontrarme en un ambiente químico y magnético similar, los encontramos en forma de multiplete con integración para 13 protones aromáticos a un desplazamiento de 7.2-7.9 δ .



En el espectro de RMN de ^{13}C logramos observar los 19 carbonos presentes en la molécula, encontrando a un mayor campo de desprotección con un desplazamiento de 146.0 δ al carbono 5, directamente unido a ambos nitrógenos

del anillo imidazólico, seguido de los carbonos 2 y 3 a un desplazamiento de 130.0 δ . Con estos datos confirmamos la formación del heterociclo.

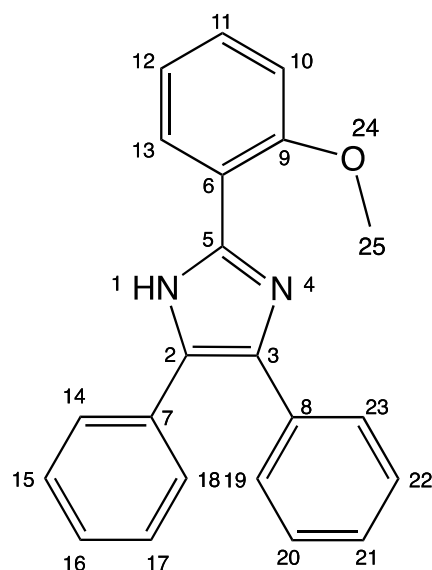
El resto de los compuestos sintetizados fueron de igual forma caracterizados por infrarrojo, masas y RMN ^1H y ^{13}C para comprobar la existencia, tanto de la formación del anillo de imidazol como la presencia de los diferentes sustituyentes en el anillo A del esqueleto de 2,4,5-trifenilimidazol que fueron adicionados.

El compuesto 2-(2-metoxifenil)-4,5-difenil-1*H*-imidazol (8), con sustitución de tipo *o*-metoxi, presento en el espectro de infrarrojo las bandas de estiramiento N-H correspondiente al imidazol en 3427 cm^{-1} , confirmándonos la formación de este; encontramos bandas correspondientes a vibración por tensión de C=C a 1585 y 1480 cm^{-1} , señales débiles en la región aromática a 2800 a 3000 cm^{-1} , confirmamos la presencia de una orto sustitución sobre el anillo A por la presencia de banda característica a este tipo de sustitución a 766 cm^{-1} y la presencial éster aromático con una banda en 1240 cm^{-1} .

El análisis de espectrometría de masas de este compuesto (8) $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$, mostró el ion molecular esperado m/z 326, seguido de un patrón de fragmentación característico observado en el resto de las moléculas, m/z 295 que representa a la molécula 2,4,5-trifenilimidazol, m/z 221 4,5-difenilimidazol, correspondiente a la pérdida del anillo bencénico A del compuesto (8) y m/z 77 congruente con el ion molecular de benceno.

La resonancia magnética nuclear confirmo la formación de este compuesto, el espectro de ^1H mostro a mayor desplazamiento químico al igual que en el compuesto (2) al protón del imidazol por su unión directa al heteroátomo de nitrógeno a 10.48 δ y se observa como un singulete que integra para un protón, le sigue en le campo de desprotección al protón 13 con un desplazamiento de 8.47 δ , se observa como un doble de dobles que integra para un protón con una 1J de 8 Hz correspondiente a acoplamiento *con un* protón *orto* como el 12 y una 2J de 1.2 Hz congruente con un acoplamiento meta al hidrogeno 11. La confirmación de la

presencia del sustituyente metoxilo la obtuvimos por la señal en campo bajo de 3.99 δ , un singulete que integra para tres protones, correspondientes al metilo.



Posición	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$
1	10.48 (s, 1H)	-
2	-	129.4
3	-	129.4
5	-	143.9
6	-	118.0
7	-	128.5
8	-	128.5
9	-	155.6
10	7.10 (d, 1H) $J = 7.6$ Hz	111.1
11	7.30 (m, 7H)	127.7
12	6.99 (d, 1H), $J = 8.4$ Hz	121.5
13	8.47 (dd, 1H) $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 1.2$ Hz	-
14	-	127.7
15	7.30 (m, 7H)	127.7
16	7.30 (m, 7H)	127.7
17	7.30 (m, 7H)	127.7
18	-	127.7
19	-	127.7
20	7.30 (m, 7H)	127.7
21	7.30 (m, 7H)	127.7
22	7.30 (m, 7H)	127.7
23	-	127.7
25	3.99 (s, 3H)	55.8

Tabla 3. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (8).

Los datos obtenidos de ^{13}C nos confirman la formación del derivado de imidazol, a diferencia del compuesto número (2), en donde encontrábamos que el átomo de carbono mas desprotegido e la molécula era el que se encontraba directamente unido a los 2 heteroátomos (carbono cinco) de nitrógeno, en el compuesto (8), el carbono 5 es el segundo en desprotección a un desplazamiento químico de 143.9 δ , en este derivado, con un sustituyente metoxilo encontramos a mayor campo de desprotección al carbono 9, en 155.6 δ , esto debido a su conexión directa al átomo de oxígeno, el cual al ser un elemento de mayor electronegatividad que el carbono, sustrae densidad electrónica, provocando la desprotección. Seguido a esto, están los carbonos 2 y 3 con un desplazamiento de 129.4 δ , ambos forman parte del anillo de imidazol, en cuanto al mas protegido, el carbono 25, se encuentra a un desplazamiento de 55.8, es gracias al efecto sombrilla que ejercen sobre el los protones del metilo.

El derivado (3) con sustitución *O*-hidroxi, presenta la banda característica a la presencia de un hidroxilo en la región de 3615 cm^{-1} , además de la presencia de las bandas 1137 y 1326, indicativas de estiramientos $\text{C}=\text{N}$, que nos confirman la formación del anillo de imidazol. Para una formula de $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$ y un ion molecular de m/z 312, además del típico patrón de fragmentación, la espectrometría de masas nos confirma la formación del derivado. En RMN ^1H se puede observar a un desplazamiento de 12.0 δ el protón del imidazol, mientras que en el espectro de ^{13}C a un campo alto de desprotección 159.0 δ se observa al carbono 9, siendo este el carbono con la orto sustitución del hidroxilo, seguido por el carbono 5 (145.1 δ) unido a ambos nitrógenos.

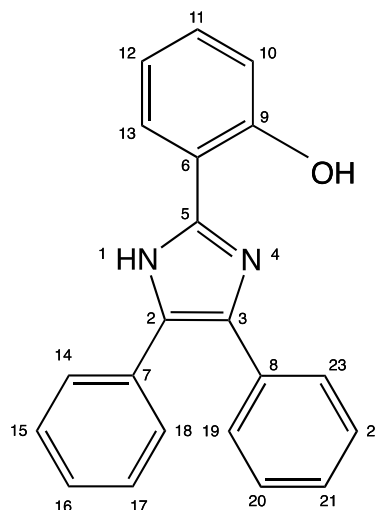


Fig. 27. Estructura química derivado (3).

De forma muy similar al anterior, el derivado (4) con un hidroxilo como sustituyente, ahora en posición *para*, presenta banda característica de alcohol en infrarrojo en la región de 3617 cm^{-1} e indicios de estiramientos C=N en la región de 1280 y 1000 cm^{-1} . El espectro de masas nos arroja un ion molecular de m/z 312 correspondiente al peso molecular del derivado. En cuanto a la resonancia magnética nuclear de ^1H , a un desplazamiento de $12.0\text{ }\delta$ encontramos al protón -NH del heterociclo, seguido de un doblete con una $J= 8\text{ Hz}$ correspondiente a un acoplamiento típico vecinal a $7.83\text{ }\delta$ de los protones 10 y 12. En cuanto al ^{13}C , el átomo mas desprotegido es el carbono 11, unido al oxígeno, con un desplazamiento de $157.2\text{ }\delta$, seguido del carbono 5 a $146.2\text{ }\delta$.

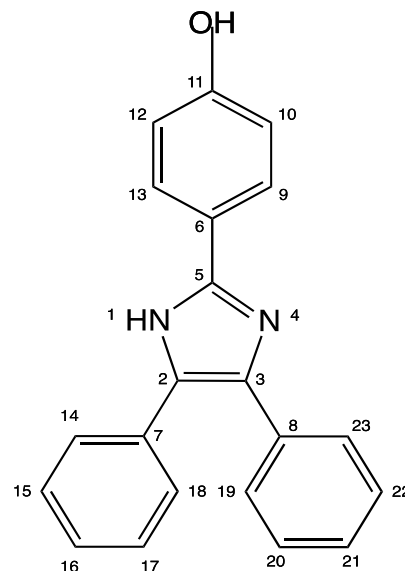


Fig. 28. Estructura química derivado (4).

El derivado (5), *p*-metoxi, al igual que su análogo compuesto (8), presenta banda característica a un éter en la región 1251 cm^{-1} , el espectro de masas mostro el esperado ion molecular de m/z 326 correspondiente a la formula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$. En cuanto a RMN, confirmamos la formación del anillo de imidazol gracias a la presencia de ^1H a $12.0\text{ }\delta$ que corresponde al protón del heterociclo. En el ^{13}C , el carbono 11 se encuentra a mayor campo de desprotección $159.8\text{ }\delta$ por su unión directa al oxígeno que presenta mayor electronegatividad, seguido del carbono 5 enlazado a los nitrógenos con un desplazamiento de $146.56\text{ }\delta$.

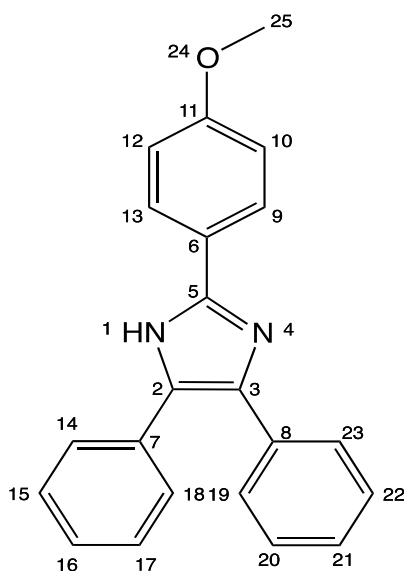


Fig. 29. Estructura química derivado (5).

Al igual que el compuesto anterior, el derivado (6) con un metoxilo, ahora en posición meta, su espectro de infrarrojo muestra la banda típica de un éster aromático a 1243 cm^{-1} . El espectro de masas confirmó la masa molecular del compuesto, m/z 326, mientras que en RMN de ^1H encontramos las señales mas importantes correspondientes a un singlete con integración para un protón a $12.69\text{ }\delta$ que corresponde H unido al nitrógeno de imidazol y el singlete que integra para 3 protones a un desplazamiento de $55.6\text{ }\delta$, correspondiente al metilo del sustituyente.

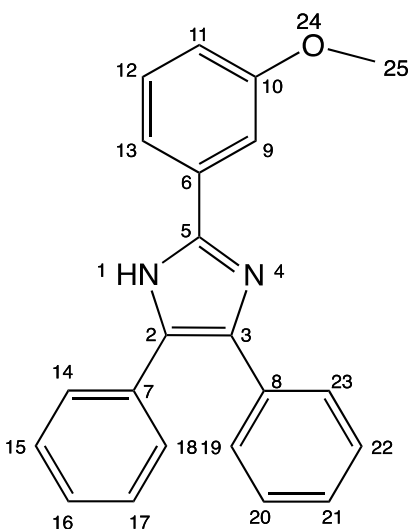


Fig. 30. Estructura química derivado (6).

Hasta ahora, todos los productos descritos presentan únicamente una sustitución sobre el anillo bencénico A, a diferencia de estos, el compuesto (9), sintetizado a partir de la vainillina, presenta dos sustituciones, un *m*-metoxi y un *p*-hidroxi.

En la caracterización estructural de este compuesto, presento bandas esperadas en su espectro de infrarrojo, a 3510 cm^{-1} banda ancha representativa a hidroxilos, banda típica a éster a 1247 cm^{-1} y a 1131 cm^{-1} estiramientos típico a $\text{C}=\text{N}$, lo que nos indica la formación del anillo de imidazol. En la espectrometría de masas observamos la presencia del ion moléculas esperado para la fórmula $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$, m/z 341, m/z 295 correspondiente al esqueleto base de trifenilimidazol.

En cuanto a la RMN ^1H , a un desplazamiento de 11.9 se observa como un singlete con integración para un protón el hidrogeno del imidazol y campo mas bajo, con un desplazamiento de 3.88 un singlete que integra para los tres hidrógenos del metileno.

La RMN ^{13}C con mayor desprotección observamos al carbono 5 unido a ambos nitrógenos, con un desplazamiento de 147.2 δ , seguido del carbono 10 unido al metoxilo a 146.7 y confirmamos la presencia de otro sustituyente en el anillo aromático al presentar un tercer carbono en mayor campo de desprotección, con un desplazamiento de 132.4 y corresponde al carbono del *p*-hidroxi.

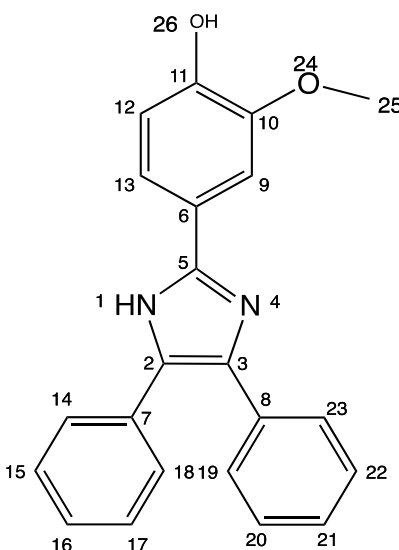


Fig. 31. Estructura química derivado (9).

De manera muy similar al derivado anterior, en el compuesto (11), resultado de la metilación de vainillina, presentamos una disustitución de metoxilos en las posiciones *m*- y *p*-. En su espectro de infrarrojo se aprecian bandas características a esteres en 1253 cm^{-1} . Se logro detectar en el análisis de masas la presencia del ion molecular esperado, m/z 356 y otros picos característicos al patrón de fragmentación de estas moléculas, como el m/z 220 correspondiente al difenilimidazol.

En el espectro de ^1H de RMN mostro la señal esperada del protón imidazólico a un desplazamiento químico de 12.0 δ y a mayor protección, dos señales, a 3.89 δ y 3.86 δ , ambas como singuletes con integración para 3 protones, correspondientes a los metilenos de ambos metoxilos.

En cuanto a ^{13}C , a mayor desprotección encontramos ambos carbonos que soportan a los metoxilos, el 10 y 11 con desplazamientos químicos de 149.2 δ y 148.9 δ respectivamente.

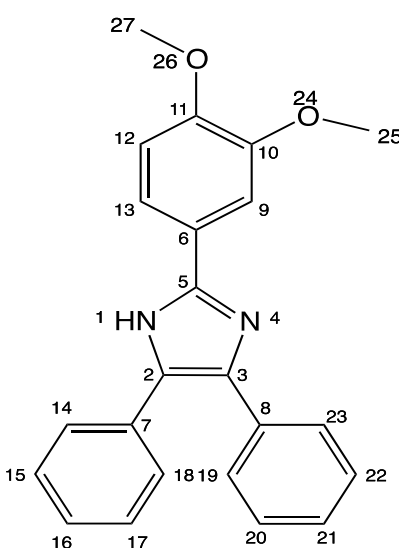


Fig. 32. Estructura química derivado (11).

El derivado número (12), el 2-(2-clorofenil)-4,5-difenil-1*H*-imidazol, presenta la característica que poseer una sustitución *O*-cloro. Podemos observar la señal mas característica de este compuesto, la banda vibracional correspondiente al enlace C-Cl a 734 cm^{-1} . En el espectro de masas, se puso observar el ion molecular correspondiente de m/z 330 y el bifenilimidazol a m/z 220.

Analizando el espectro de RMN ^1H , a mayor desprotección magnética podemos encontrar al protón del anillo de imidazol como un singulete con integración para un hidrogeno, con un desplazamiento de 10.4 δ , a un desplazamiento de 8.43 δ , encontramos al protón mas desprotegido de todos los aromáticos, debido a la

naturaleza electroattractora del sustituyente halogenado (cloro), la posición mas desprotegida del anillo A es la meta (hidrogeno 13), este hidrogeno se observa como un doble de dobles por su acoplamiento vecinal a 3 enlaces con el protón 12 $^3J_1 = 7.6$ Hz y una $^4J_2 = 1.2$ Hz a cuatro enlaces con el protón aromático 11, al ser un acoplamiento a mayor distancia, es de esperar que la constante de acoplamiento sea pequeña.

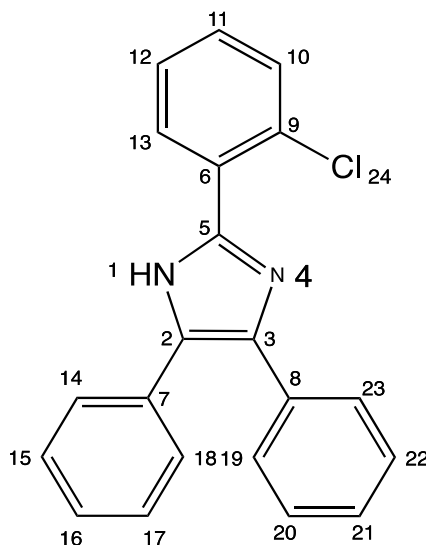


Fig. 33. Estructura química derivado (12).

En el derivado número (13) sintetizado a partir del 3-dimetilaminobenzaldehído, al presentar una amina terciaria como sustituyente en posición para del anillo A, se observa banda a 1359 cm^{-1} que representa un estiramiento $\phi\text{-N}$ y en 1217 cm^{-1} observamos la banda correspondiente a estiramiento de enlace $\text{C}_{\text{alifático}}\text{-N}$.

Confirmamos la formación de dicho derivado con espectrometría de masas, al obtener el ion molecular esperado de m/z 339. En cuanto a la caracterización por RMN, el espectro de ^1H mostro, aparte de la señal esperada del protón del imidazol a $11.9\text{ }\delta$ (s, 1H), en el campo de mayor protección se aprecio un singulete con integración para seis protones a un desplazamiento de $2.96\text{ }\delta$, correspondientes a los 2 metilos de la amina.

El ^{13}C mostro a mayor desprotección magnética al carbono 5, a un desplazamiento de 150.7 δ seguido del carbono 11 a 147.0 δ en donde se localiza el sustituyente.

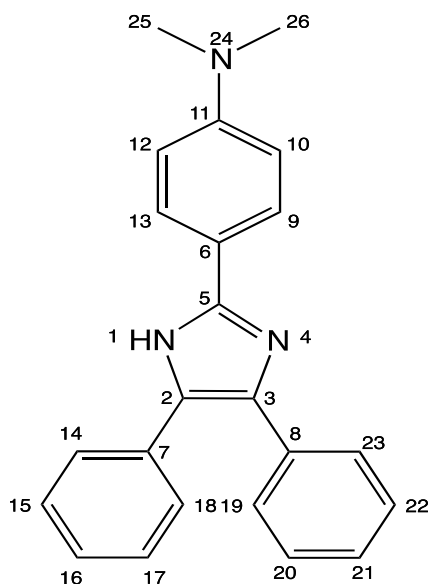


Fig. 34. Estructura química derivado (13).

En cuanto a los derivados (14) y (15), ambos poseen un grupo nitro en el anillo A, la molécula (14) en posición para y el (15) en orto.

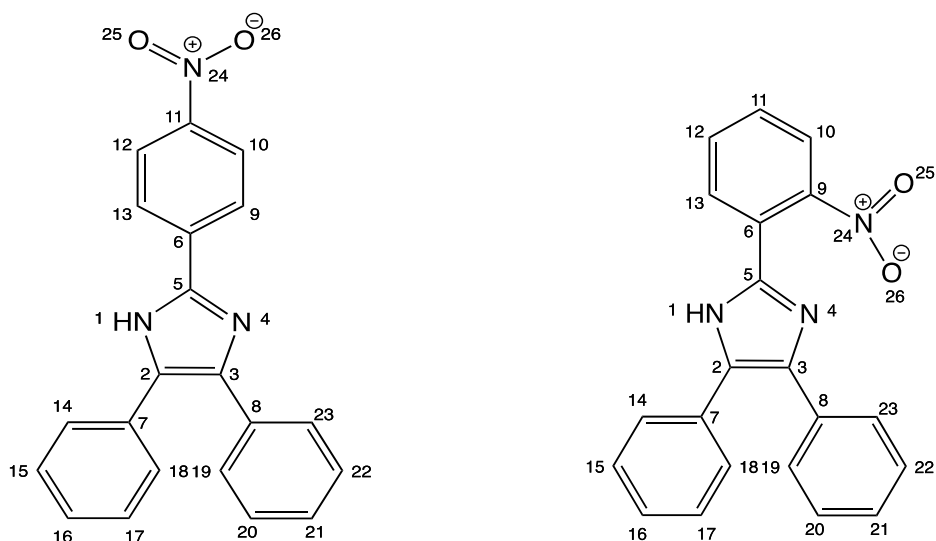
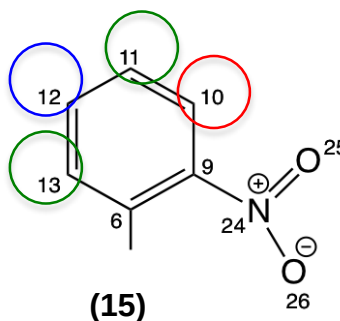
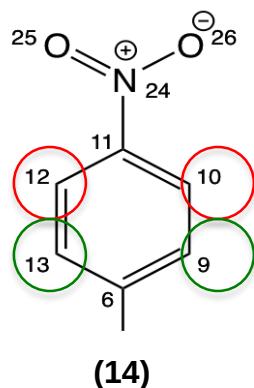


Fig. 35. Estructura química derivado (14) $p\text{-NO}_2$ y el derivado (15) $o\text{-NO}_2$

El espectro de infrarrojo para ambos derivados mostro la presencia de banda característica de grupo nitro aromático a 1519 cm^{-1} . En la espectrometría de masas se identifico el ion molecular de m/z 341 para ambos derivados, además de algunos fragmentos característico de la fragmentación de estos derivados.

En el espectro de ^1H RMN observamos patrones muy similares para ambas moléculas, la región aromática con señales abundantes, para el derivado (15), al ser el grupo nitro un sustituyente electroatractor, causa desprotección de las posiciones meta del anillo aromático A, específicamente del protón 13 a un desplazamiento de $8.18\text{ }\delta$, debido a la cercanía al sustituyente, el protón 10 le sigue al 13 en cuanto a desprotección magnética a un desplazamiento de $8.05\text{ }\delta$, ambas señales dan integración únicamente para un protón.

En el derivado (14), observamos el mismo desplazamiento de las señales, a $8.18\text{ }\delta$ un doblete con una contante de acoplamiento $^3J = 8.8$, típica a un acoplamiento a tres enlaces de tipo *cis* vecinal, es importante destacar que esta señal integra para 2 protones, 12 y 10 y a un desplazamiento de $8.05\text{ }\delta$ se observa otro doblete que integra para dos protones con una constante de acoplamiento igual a la anterior. Como podemos observar en estos dos derivados, el (14) debido a la posición para del sustituyente, presenta 2 pares de protones con un ambiente químico similar, de manera que observamos 2 paquetes de señales que integran para 2 protones, contrario al derivado (15) en donde se observan 3 protones distintos, cada señal con integración para un hidrogeno.



En cuanto a las señales observadas en ^{13}C , ambos presentan a un desplazamiento de 143.8 δ el carbono numero 5 unido a los 2 átomos de nitrógeno, el derivado (14) presenta a un desplazamiento de 147.0 δ el carbono 11 como el mas desprotegido por su unión directa al sustituyente, mientras que en el derivado (15) el carbono mas desprotegido es el de la posición 9 por su unión al grupo nitro.

A partir de una acilación al aldehído conocido como vainillina se obtuvo el compuesto 3-metoxi-4-fenoxibenzaldehído, el cual se utilizo como material de partida para la síntesis del derivado (17).

Analizando el espectro de masas del compuesto, no fue posible detectar el ion molecular, sin embargo, se identificaron patrones de fragmentación esperados para esta molécula: m/z 342 correspondiente al desprendimiento del éster de la molécula, m/z 135 el metil benzoato, m/z 327 *m*-metoxi.

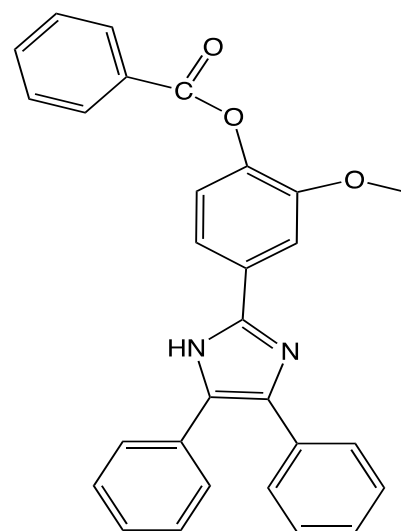
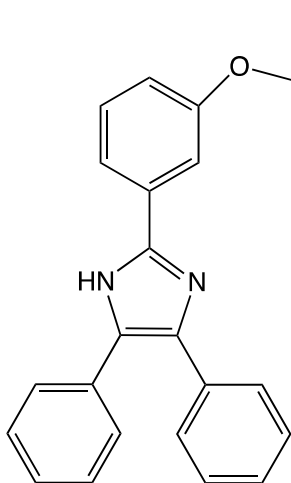
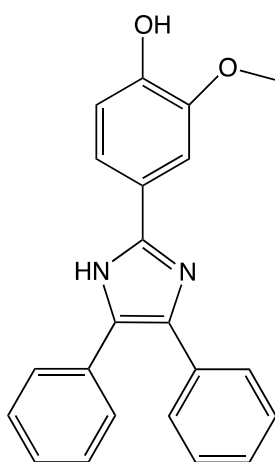


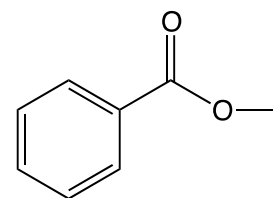
Fig. 36. Estructura química derivado (17)



m/z 327



m/z 342



m/z 135

En cuanto al derivado (18) sintetizado a partir del antraldehído, gracias a la espectrometría de masas, logramos confirmar la formación de la molécula, ya que fue posible identificar el ion molecular esperado de m/z 396

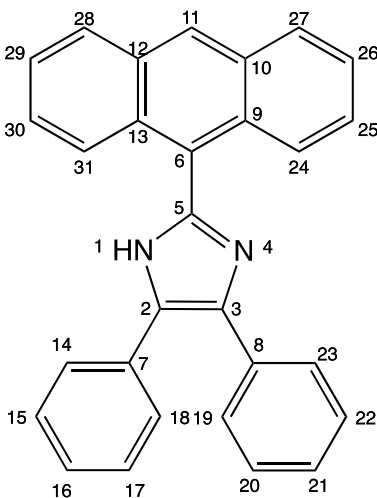


Fig. 37. Estructura química derivado (18)

Los derivados (20) y (22) ambos con cadena alifática de 16 y 18 carbonos respectivamente, fueron analizados por las mismas técnicas para su caracterización estructural.

Debido a la naturaleza de estas cadenas, no fue posible la detección del ion molecular por espectrometría de masas, sin embargo, realizando un análisis detallado del espectro podemos concluir la formación del compuesto: el derivado (20) con cadena alifática de 16 carbonos y un peso molecular de 444 presento un ion molecular de m/z 430, correspondiente a la pérdida de un metilo al momento de la inserción, de igual modo, en el derivado (22) con peso molecular de 472, en el espectro se detecto un ion molecular de m/z 458 debido a la pérdida del metilo 40. El espectro de ambos compuestos presento un patrón de fragmentación similar, detectando en ambos un pico base de m/z 234, correspondiente al 2-metil-4,5-difenil-1*H*-imidazol (23) generado por el desprendimiento de la cadena alifática. La incorporación de las cadenas alifáticas a los derivados fueron

confirmadas al comparar el espectro con la base de datos NIST MS SEARCH 2.0 2008.

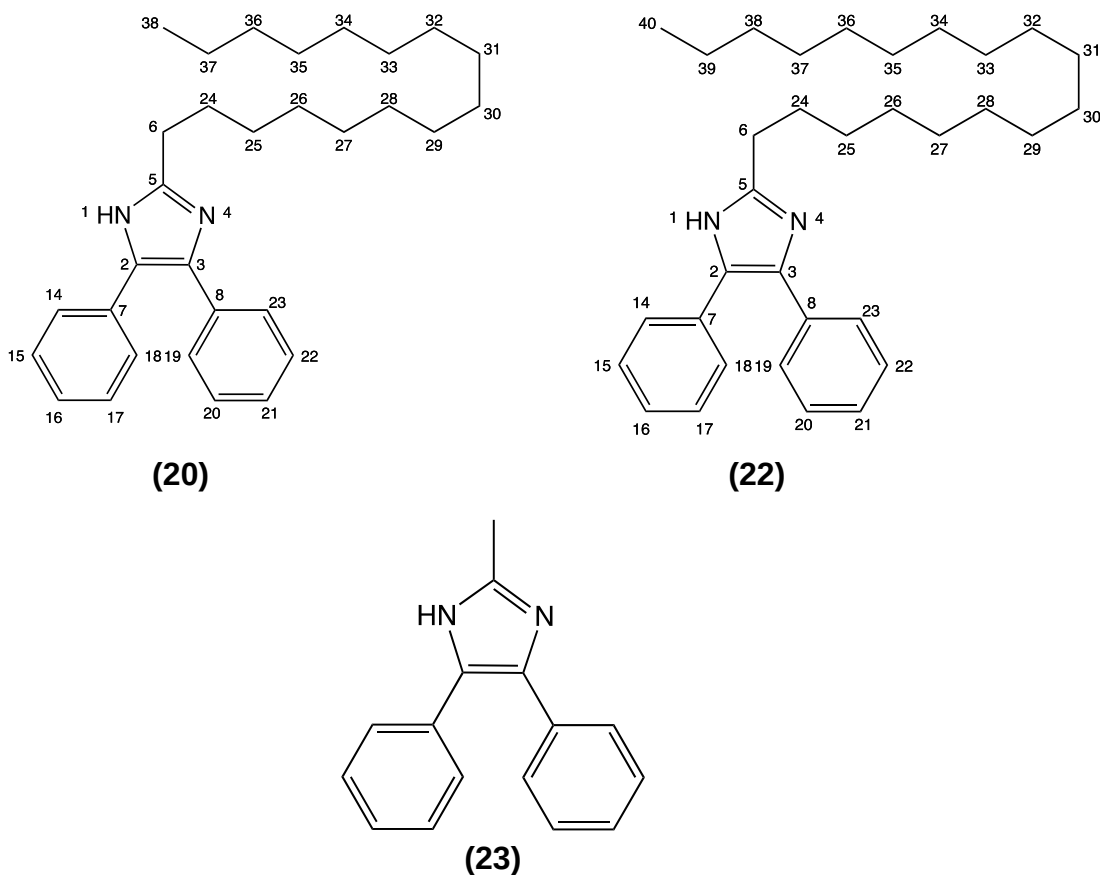


Fig. 38. Estructura química derivado (20) con cadena alifática de 16 carbonos, derivado (22) con 18 carbonos y la molécula detectada como pico base (23).



Metodología ensayo citotóxico

Las pruebas de quimiosensibilidad fueron realizadas mediante el ensayo de tinción con sulforodamina B (SRB) desarrollado por el Instituto Nacional del Cáncer (NCI, USA) con algunas modificaciones (Padrón y col. 2005).

Se utilizaron un total de seis líneas celulares humanas, las cuales se describen en la siguiente tabla:

Línea celular	Descripción
A549	Carcinoma ovárico
HBL-100	Adenocarcinoma de mama
HeLa	Adenocarcinoma de cérvix
SW1573	Carcinoma alveolar
T-47D	Carcinoma ductal de mama
WiDr	Adenocarcinoma colorrectal

Tabla 1. Líneas celulares empleadas para el desarrollo del bioensayo.

El ensayo de citotoxicidad fue realizado en las instalaciones de BIOLAB, laboratorio de investigación en el Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio González”, en la Universidad de la Laguna, Tenerife, España, bajo la supervisión del doctor José Manuel Padrón.

Reactivos empleados.

- Medio de cultivo RPMI 1640
- PBS (phosphate buffered saline)
- FCS (suero fetal bovino)
- TCA (ácido tricloroacetico)
- Glutamina
- Penicilina/ estreptomicina
- DMSO (dimetilsulfóxido)
- SRB (sulforodamina b)
- Tripsina-EDTA

Mantenimiento celular.

Todas las líneas celulares son mantenidas en medio RPMI 1640 suplementado con 5% de suero fetal bovino inactivado por calor , 2 μ M de L-glutamina, 100 U/mL de penicilina y 0.1 mg/mL de estreptomicina en cámaras de 25 cm² a una temperatura de 25 °C, 5% de CO₂ y una humedad de 95%.

Desprendimiento celular (tripsinización).

Para la realización del ensayo, la monocapa celular adherida a la pared de la cámara de 25 cm² fue retirada de la siguiente manera: se absorbe el medio de cultivo y se lavan las células con solución salina PBS, una vez seguros de no tener restos de medio de cultivo, se adiciona tripsina-EDTA para despegar la monocapa y con ayuda de medio de cultivo fresco se retiran de la cámara.

Conteo celular.

Se realiza un conteo celular de la suspensión que acabamos de obtener, esto con la ayuda de un citómetro, en el cual se introducen 75 μ L de suspensión, proporcionándonos el número de células presentes ($N \times 10^x$ células/ mL).

Adición de muestras.

Las células ya contadas son sembradas en placas de 96 pocillos a una densidad entre 10,000 y 20,000 células por pocillo, esto dependiendo de la línea celular. Se incuban por un periodo de 24 horas para tener un primer control celular.

Después de 48 horas, de sembradas las placas de 96 pocillos, los compuestos a evaluar se adicionan. Cada producto fue previamente disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración 400 veces mayor a la máxima concentración a evaluar en el ensayo (100 μ M). Las células control fueron expuestas a una concentración equivalente de DMSO (0.25% v/v, control negativo). Los ensayos se realizaron por triplicado a diferentes diluciones en un rango de 0.001-100 μ M.

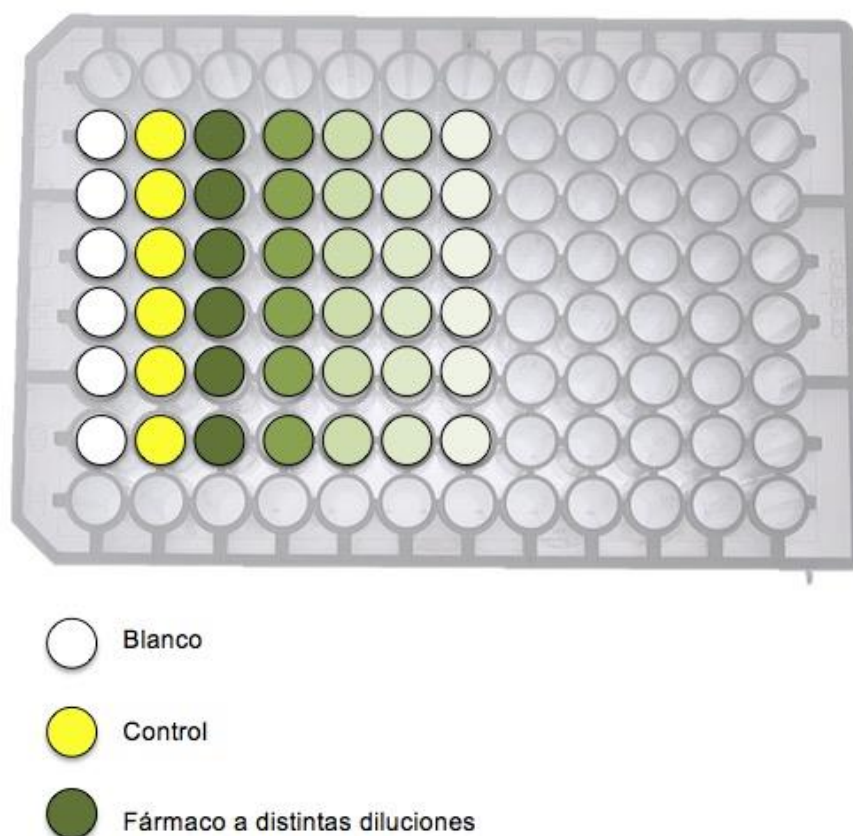


Fig.25.1. Distribución de muestras para el bioensayo en placa de 96 pocillos.

El tiempo de incubación de los compuestos fue de 48 horas, después de este tiempo, las células fueron precipitadas con 25 μ L de ácido tricloroacético al 50% en agua fría y fijadas por 60 minutos a 4 °C. Pasado este lapso de una hora, fueron adicionados 25 μ L de solución de SRB (0.4% v/v en ácido acético al 1%) y se dejó en reposo durante 15 minutos en oscuridad. Después de este proceso de tinción, el exceso de SRB fue eliminado y las placas fueron lavadas tres veces con ácido acético al 1% para remover el colorante no fijado. Una vez enjuagadas las placas, se eliminó el exceso de la solución de ácido acético y se dejaron secando a temperatura ambiente hasta no observar humedad. Secas las placas, el contenido de cada pocillo fue solubilizado con 10 μ L de buffer Tris base (pH 10.5) durante 5 minutos.

La densidad óptica (OD) de cada pocillo fue medida a una longitud de onda de 492 nm, usando un espectrofotómetro para microplacas BioTek's PowerWade XS. Los resultados son expresados como GI₅₀ o la concentración necesaria para reducir en un 50% el crecimiento de las células tratadas con el compuesto comparadas con las células sin tratamiento.



Fig.26. Espectrofotómetro lector de microplacas.



Resultados ensayo citotóxico

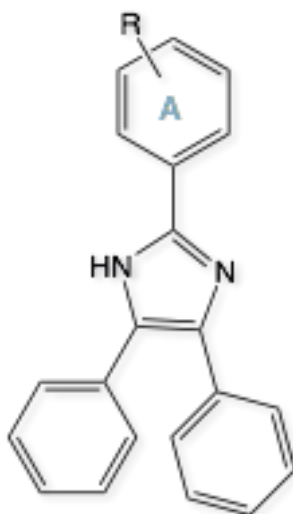
Los resultados obtenidos de la actividad citotóxica contra seis líneas celulares de carcinomas humanos se presentan en la tabla X. Estos resultados fueron la base para establecer una correlación estructura- actividad de los derivados sintetizados.

Los 16 compuestos sintetizados fueron evaluados por el método de SRB (ver en metodología) frente a seis líneas tumorales humanas:

- **A549:** Carcinoma ovárico
- **HBL-100:** Adenocarcinoma de mama
- **HeLa:** Adenocarcinoma de cérvix
- **SW1573:** Carcinoma alveolar
- **T-47D:** Carcinoma ductal de mama
- **WiDr:** Adenocarcinoma colorrectal

Todos los resultados son expresados como GI_{50} por sus siglas en inglés (growth inhibition), este valor expresa la concentración requerida por una molécula para inhibir el crecimiento (en este caso celular) a un 50%.

Las GI_{50} de los derivados evaluados, así como los controles, se encuentran expresadas en $\mu M \pm$ la desviación estándar.



		Líneas celulares		
		GI ₅₀ (μM)		
Compuesto	Sustitución	A549	HBL-100	HeLa
2	-H	100	100	100
3	<i>o</i> -OH	11.0 ± 5.5	7.0 ± 2.0	4.3 ± 0.62
4	<i>p</i> -OH	19 ± 4	16 ± 0.43	13 ± 2.5
5	<i>p</i> -OMe	100	100	100
6	<i>m</i> -OMe	100	100	100
8	<i>o</i> -OMe	100	100	100
9	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OH	17 ± 1.3	17 ± 0.7	15 ± 1.7
11	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OMe	26 ± 0.95	15 ± 2.0	1 ± 0.43
12	<i>o</i> -Cl	100	100	7.7
13	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	19 ± 22	5.9 ± 3.1	4.5 ± 1.2
14	<i>p</i> -NO ₂	3.4 ± 3.4	3.3 ± 1.6	3.0 ± 0.97
15	<i>o</i> -NO ₂	100	100	6.1
17	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -COOBz	17 ± 3.0	14 ± 1.0	13 ± 1.1
18	Antraldehído	45 ± 14	23 ± 10	12 ± 1.5
20	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ -	-	-	-
22	CH ₃ (CH ₂) ₁₇ -	-	-	-
Imidazol	-	100	100	100
Cisplatino	-	-	1.9 ± 0.2	2.0 ± 0.3
Etoposido	-	-	2.3 ± 0.9	3.0 ± 0.9
Camptotecina	-	-	-	0.6 ± 0.4

Tabla 4. Resultados de actividad citotóxica frente a 3 líneas celulares de cáncer humano.

		Líneas celulares		
		GI ₅₀ (μM)		
Compuesto	Sustitución	SW1573	T-47D	WiDr
2	-H	89	100	100
3	<i>o</i> -OH	3.6 ± 0.19	18 ± 0.28	19 ± 0,48
4	<i>p</i> -OH	15 ± 2.3	20 ± 1.5	22 ± 0.68
5	<i>p</i> -OMe	100	100	100
6	<i>m</i> -OMe	76	100	100
8	<i>o</i> -OMe	100	100	100
9	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OH	15 ± 0.54	20 ± 2.0	17 ± 1.2
11	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -OMe	15 ± 3.1	16 ± 1.2	13 ± 6.8
12	<i>o</i> -Cl	17	100	100
13	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	4.4 ± 2.5	5.3 ± 1.9	4.5 ± 0.77
14	<i>p</i> -NO ₂	2.9 ± 0.42	5.5 ± 0.23	4.6 ± 0.24
15	<i>o</i> -NO ₂	66	100	100
17	<i>m</i> -OMe, <i>p</i> -COOBz	11 ± 7.9	21 ± 0.57	15 ± 6.1
18	Antraldehído	4.2 ± 1.4	100	100
20	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ -	-	-	-
22	CH ₃ (CH ₂) ₁₇ -	-	-	-
Imidazol	-	100	100	100
Cisplatino	-	3.0 ± 0.4	15 ± 2.3	26 ± 5.3
Etoposido	-	15 ± 1.5	22 ± 5.5	23 ± 3.1
Camptotecina	-	0.25 ± 0.12	2.0 ± 0.5	1.8 ± 0.7

Tabla 5. Resultados de actividad citotóxica frente a 3 líneas celulares de cáncer humano.

Como puede observarse en los resultados de las tablas 4 y 5, no podemos citar alguna línea celular como la más sensible frente a los compuestos, ya que cada una de ellas mostro cierto grado de sensibilidad con alguno de estas moléculas, incluyendo cepas más resistentes a fármacos como las T-47D y WiDr.

De acuerdo con los valores observados de GI_{50} , y de manera general, el compuesto mas activo fue el derivado (14) el cual presenta la característica de poseer una sustitución *p*-nitro, contrario a su análogo, el derivado (15) *O*-nitro, que fue inactivo.

El compuesto (2) mostro una actividad muy pobre contra todas las líneas celulares, lo que nos brinda la certeza de que es necesaria la presencia de un sustituyente sobre alguno de los anillos del 2,4,5-trifenilimidazol para inducir una actividad biológica, a manera de control, fue evaluado el heterociclo de imidazol, el cual no presentó actividad importante al igual que el derivado antes mencionado.

La actividad biológica de los derivados (5), (6) y (8) fue muy pobre con respecto al resto de la serie de compuestos, con valores de GI_{50} para las 6 líneas entre 79-100 μ M, comparados con los estándares, no se consideran buenos candidatos biológicos contra estas líneas. Es importante destacar el hecho de que los tres compuestos son isómeros estructurales, la única diferencia que presentan es la posición del grupo metoxilo en el anillo aromático A.

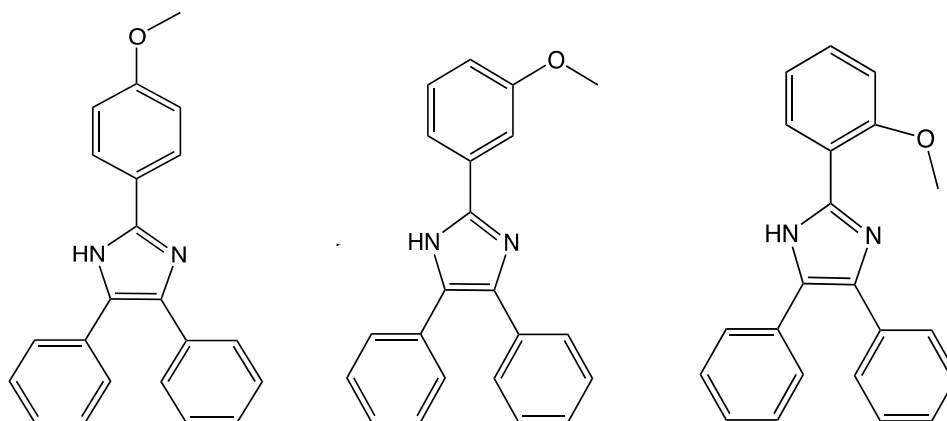


Fig 39. Derivados (5), (6) y (8) respectivamente.

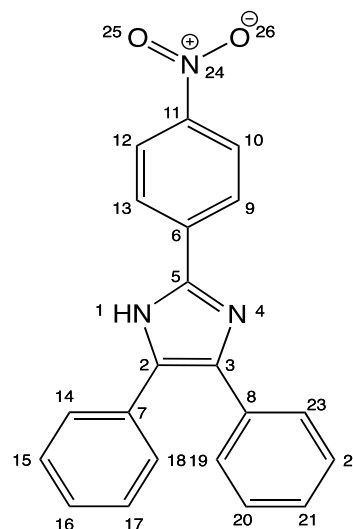
El derivado (12) con un cloro en la posición orto, resulta interesante al mostrar selectividad con la línea de pulmón (SW1573) con una GI_{50} de 17 μM , comparable con el control positivo etoposido, que presenta un valor de 15 contra esta línea celular. La GI_{50} de este derivado con las celulares restantes fueron de 100 μM .

Fueron 3 derivados con presencia de grupo hidroxilo (3), (4) y (9), *O*-hidroxi, *p*-hidroxi y *m*-OMe, *p*-hidroxi respectivamente. Los 3 compuestos presentaron actividad moderada, muy buena con respecto a otros derivados, pero no comparable con los estándares, los valores de contra las 6 líneas celulares oscilaron entre 22 μM y una destacable del compuesto (3) de 3.6 μM contra la línea de pulmón, superando por mucho al estándar etoposido (15 μM) y comparable con cisplatino (3.0 μM).

Un derivado que arrojó buenos resultados fue el (13), *p*-dimetilamino, mostrando cierta selectividad hacia 3 de las líneas celulares trabajadas, 4.4 μM pulmón, 5.3 μM mama y 4.5 μM colón, superando a cisplatino con 3.0, 15 y 26 μM para pulmón, mama y colon respectivamente, así como a etoposido con 15, 22 y 23 μM para las mismas líneas respectivamente.

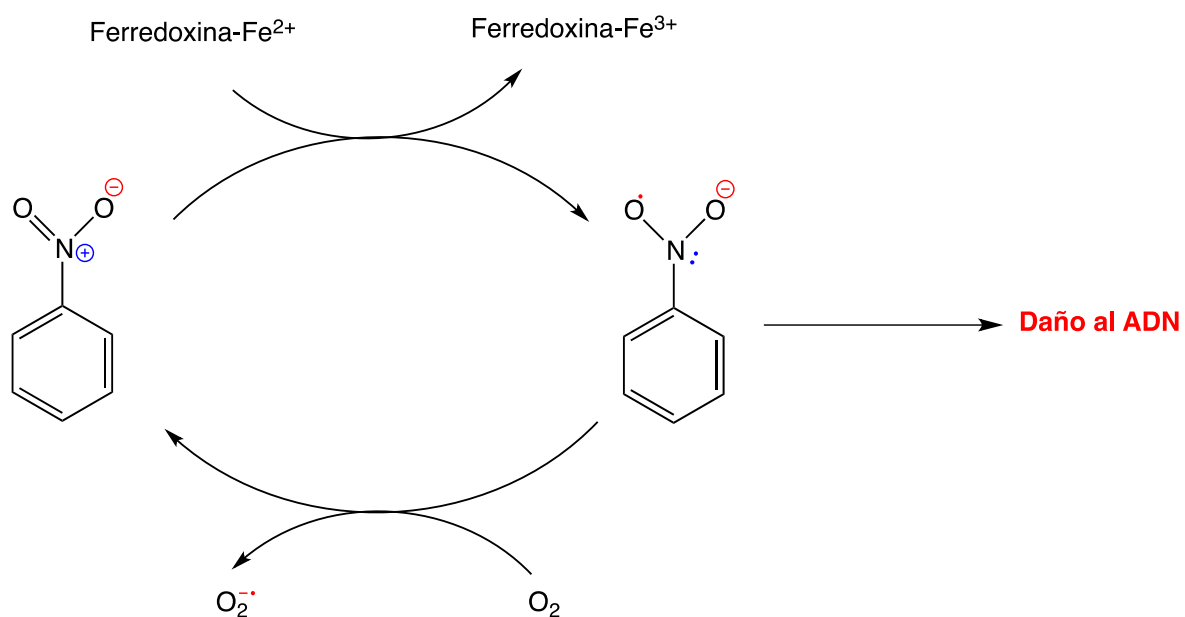
Como se mencionó al inicio de este apartado, el derivado más bioactivo frente a las 6 líneas celulares evaluadas fue el (14) o 2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1*H*-imidazol, presentó valores menores en entre 2.9 y 5.5 μM .

Fue el único compuesto que presento una $GI_{50} < 3.5 \mu M$ contra la línea de carcinoma ovárico, 3.3 μM contra células de adenocarcinoma de mama (cisplatino 1.9 μM y etoposido 2.3 μM), 3.0 μM contra HeLa. La GI_{50} obtenida contra células cancerígenas de pulmón fue de 2.9 μM , superando al fármaco quimioterapéutico cisplatino con una 3.0 μM y por mucho a etoposido (15 μM). Es muy importante resaltar la GI_{50} obtenida contra la



línea WiDr (colón), 4.6 μM , superando en gran medida a cisplatino (26 μM) y etoposido (23 μM).

Como ya es sabido, los compuestos nitroaromáticos son conocidos como potenciales agentes en la medicina y en la terapia para el cáncer, esto, debido a la existencia de ciertos factores en la célula capaces de transferir electrones al grupo nitro, formando un anión radical de este grupo, estas reacciones de radicales libres podrían ser las responsables del daño celular a nivel de ADN.



Esq. 29. Ejemplo de formación del anión radical nitro en una célula.

El derivado (15) a pesar de poseer también un grupo nitro como sustitución, no presenta la misma actividad que su isómero estructural el derivado (14), su posible inactividad puede ser atribuida a la formación de alguna interacción entre el oxígeno con carga del grupo nitro y el hidrógeno del anillo de imidazol, lo que

impediría la formación del anión activo, ya que este derivado (15) posee al grupo nitro en la posición orto del anillo aromático A.

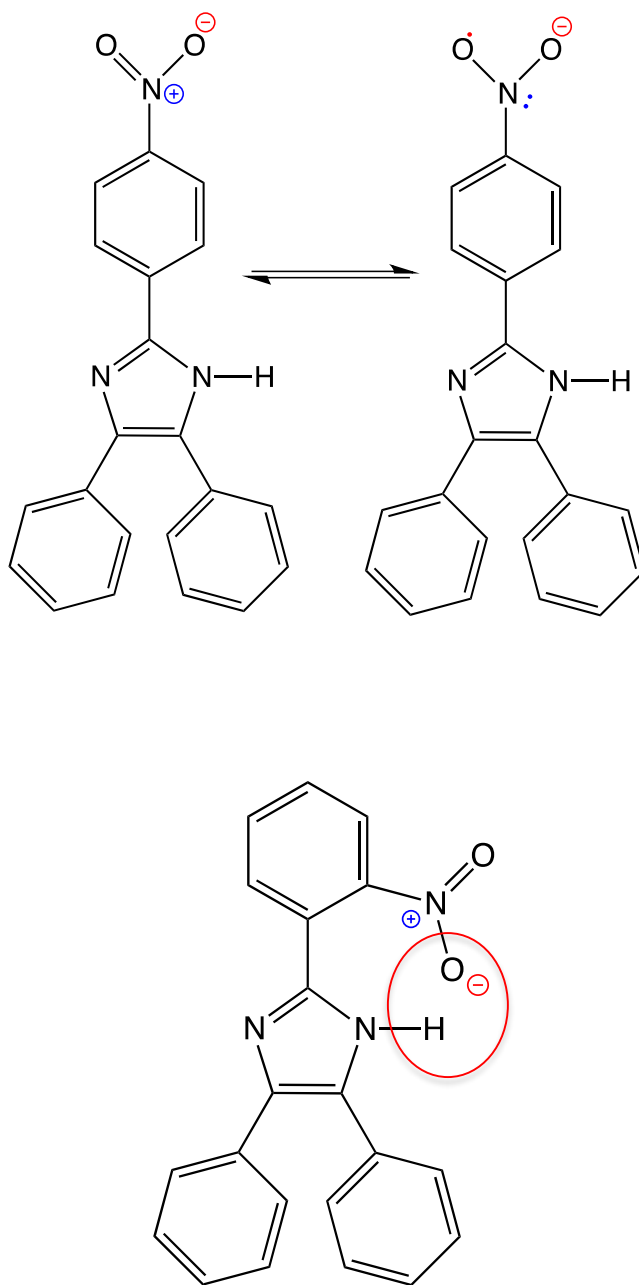
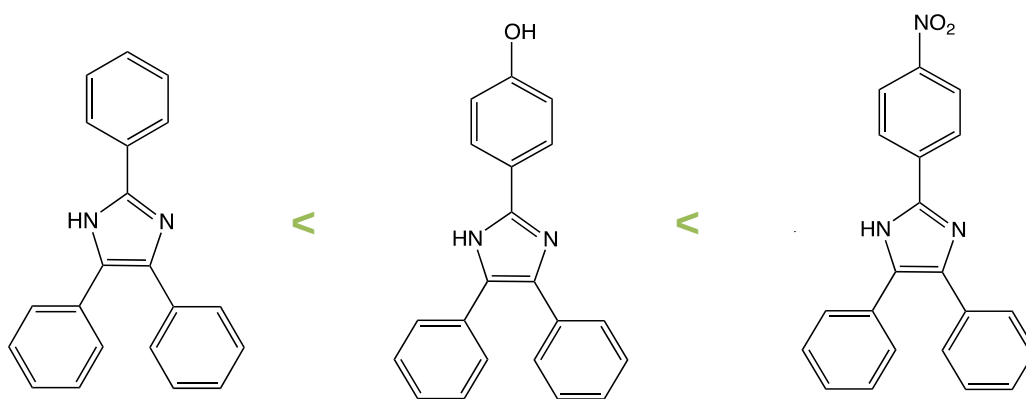


Fig. 40. Formación de anión radical nitro en el derivado (14) y posible interacción nitro-H en el derivado (15).

En base a estos resultados nos es posible establecer una serie de parámetros estructurales requeridos por este tipo de derivados para mantener o mejorar la actividad citotóxica frente a estas líneas celulares.

1. Debe existir al menos una sustitución en el esqueleto del 2,4,5-trifenilimidazol para presentar actividad citotóxica.
2. Poseer más de un átomo de nitrógeno en la estructura química de la molécula.



3. Los mejores resultados en cuanto a selectividad hacia una línea celular específica se obtiene con la presencia de grupos electroattractores.



Metodología bioensayos complementarios

Como estudio complementario a lo planteado para este proyecto, se realizó un screening o rastreo preliminar de otras posibles actividades biológicas presentes en algunas de las moléculas sintetizadas, se realizaron 3 diferentes bioensayos:

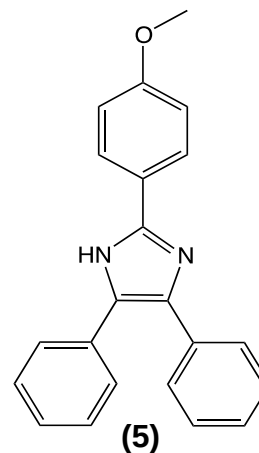
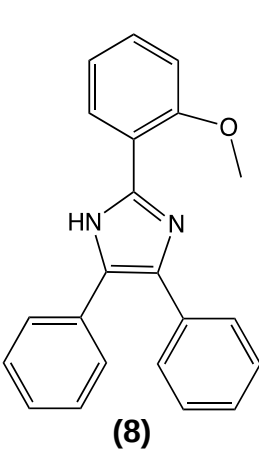
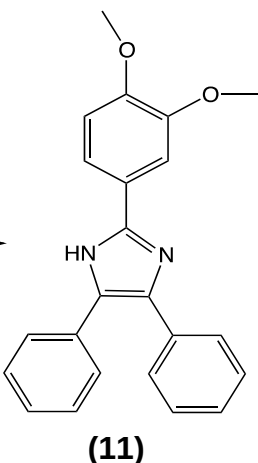
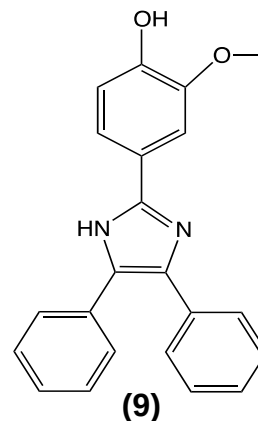
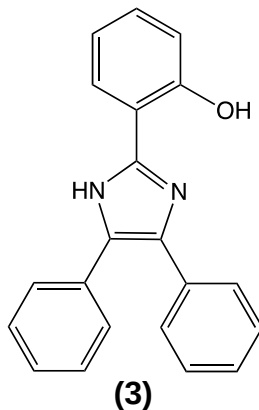
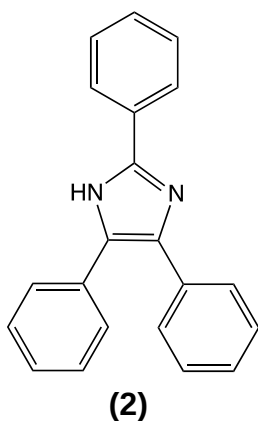
Enzimática

- Inhibición de la enzima xantina oxidasa
- Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa

Antimicrobiana (antituberculosa)

- *Mycobacterium tuberculosis*

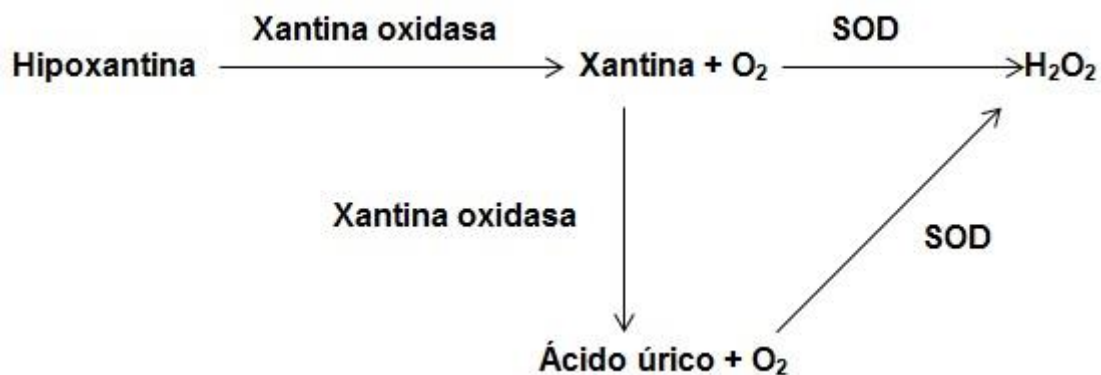
De los 16 compuestos sintetizados, fueron 6 los ensayos por medio de estas técnicas.



Ensayos enzimáticos

Inhibición de la enzima xantina oxidasa

La xantina oxidasa (XO), es una enzima clave que cataliza la oxidación de hipoxantina o xantina hasta ácido úrico. Durante la reoxidación de la XO, el oxígeno molecular actúa como un aceptor de electrones produciendo radical superóxido y peróxido de hidrógeno. La XO es de alta importancia biológica como generador de radicales peróxidos; la inhibición de XO es un medio terapéutico para prevenir la artritis y la enfermedad de la gota.



Esq. 30. Acción metabólica de la enzima xantina oxidasa

La gota es una enfermedad ocasionada por la acumulación de ácido úrico en las articulaciones, si bien la principal causa es el depósito de cristales de ácido úrico, también debe tenerse presente la posibilidad de la presencia de otro tipo de cristales que provoquen problemas articulares.

Esta enfermedad es resultado de la ausencia de uricasa para degradar ácido úrico hasta alantoina. El ácido úrico es el metabolito terminal de las purinas en el

hombre, por catabolismo de ácidos nucleicos (hipoxantina, guanina, adenina y xantina), convertidas en ácido úrico mediante xantino-oxidasa.

El alopurinol inhibe la xantina-oxidasa mediante su metabolito activo el oxipurinol y disminuye la síntesis de ácido úrico; aunque la experiencia de su uso durante 25 años ofrece una seguridad satisfactoria, se debe ponderar su uso, ya que se administrará por largos periodos, incluso de por vida, y puede presentar hipersensibilidad, con lesiones cutáneas y hepatotoxicidad.

Procedimiento experimental.

Primeramente, es necesario la preparación de un amortiguador de fosfatos concentrado, para lo cual se pesan 3.402 g de fosfato monobásico de potasio y se disuelve en agua destilada a una concentración de 0.5 M, de la misma forma, se pesan 4.35 g de fosfato dibásico de potasio y se prepara la disolución bajo las mismas condiciones. Estas 2 soluciones son mezcladas hasta llegar a un pH de 7.8, ajustando con NaOH 1M.

Como sustrato para la enzima, se requiere de una disolución de xantina (1.9 mg) en el amortiguador previamente preparado (1:10), se utiliza una disolución enzimática de xantina oxidasa 19 μ U/mL y como control positivo 1 mg/mL de alopurinol.

Se trabaja con 2 mg/mL de las moléculas a evaluar, disolviéndolos en agua o ayudando con el disolvente orgánico (40 μ L por cada mL de agua). El ensayo se realiza por cuadruplicado.

En tubos de ensayo son preparadas las siguientes soluciones:

1. Control enzimático: 250 μ L amortiguador, 200 μ L xantina y 50 μ L xantina oxidasa.

2. Control disolvente: 150 μ L amortiguador, 200 μ L xantina, 100 μ L disolvente y 50 μ L xantina oxidasa.
3. Control positivo: -- μ L Amortiguador, 200 μ L xantina, 25-2 μ L alopurinol y 50 μ L xantina oxidasa. La cantidad de amortiguador se ajusta dependiendo de los μ L de alopurinol empleados, hasta llegar a un total de 500 μ L en la celda.
4. Muestra: -- μ L amortiguador, 200 μ L xantina, 100-2 μ L muestra y 50 μ L xantina oxidasa. La cantidad de amortiguador se ajusta dependiendo de los μ L de extracto empleados, hasta llegar a un total de 500 μ L en la celda.

Una vez realizadas, se toman lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro UV a 219 nm y 24 °C de temperatura.

Se calcula el % de inhibición enzimático con la siguiente formula:

$$\% \text{ de Inhibición de Xantina Oxidasa} = [100 - (\text{ABS promedio de la muestra}) / (\text{Control} +) / (\text{Control enzimático})]$$

Se Los resultados se reportan como IC₅₀ en μ g / mL.

Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa

La acetilcolinesterasa es una esterasa que hidroliza a la acetilcolina, neurotransmisor en muchas sinapsis, especialmente en las placas neuromotoras.

La acetilcolinesterasa es una enzima situada en las hendiduras sinápticas y allí va a hidrolizar a la acetilcolina, después de que ésta haya realizado su función mediante la unión a sus receptores, permitiendo así que las sinapsis colinérgicas transmitan los impulsos nerviosos. La reacción catalizada es la hidrólisis de la acetilcolina hasta colina y acetato.

La acetilcolinesterasa produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente disminución de la transmisión del impulso nervioso. La acción de la acetilcolinesterasa es muy rápida (ver esquema X).

Los Inhibidores de la acetilcolinesterasa son fármacos que aumentan la disponibilidad de acetilcolina en las sinapsis, a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa.

El Alzheimer es una enfermedad cerebral causante de problemas con la memoria, la forma de pensar y el carácter.

Las personas que sufren de esta enfermedad tienen niveles bajos de acetilcolina, involucrada en la comunicación entre las células nerviosas. Los inhibidores de la colinesterasa retardan la degradación metabólica de la acetilcolina y proporciona una fuente adicional de este componente químico para la comunicación entre las células. Esto ayuda a retrasar la progresión del deterioro cognitivo y pueden ser efectivos para algunos pacientes entre la primera fase e intermedia.

En la actualidad, no existe una cura para la enfermedad de Alzheimer. No obstante, hay medicamentos que pueden ayudar a controlar sus síntomas y

manejar la agitación, la depresión o los síntomas psicóticos (alucinaciones o delirios) que pueden ocurrir cuando la enfermedad progresa. Existen cuatro fármacos que se han utilizado rutinariamente en la enfermedad de Alzheimer: Tacrina, Donepezilo, Rivastigmina y Galantamina.

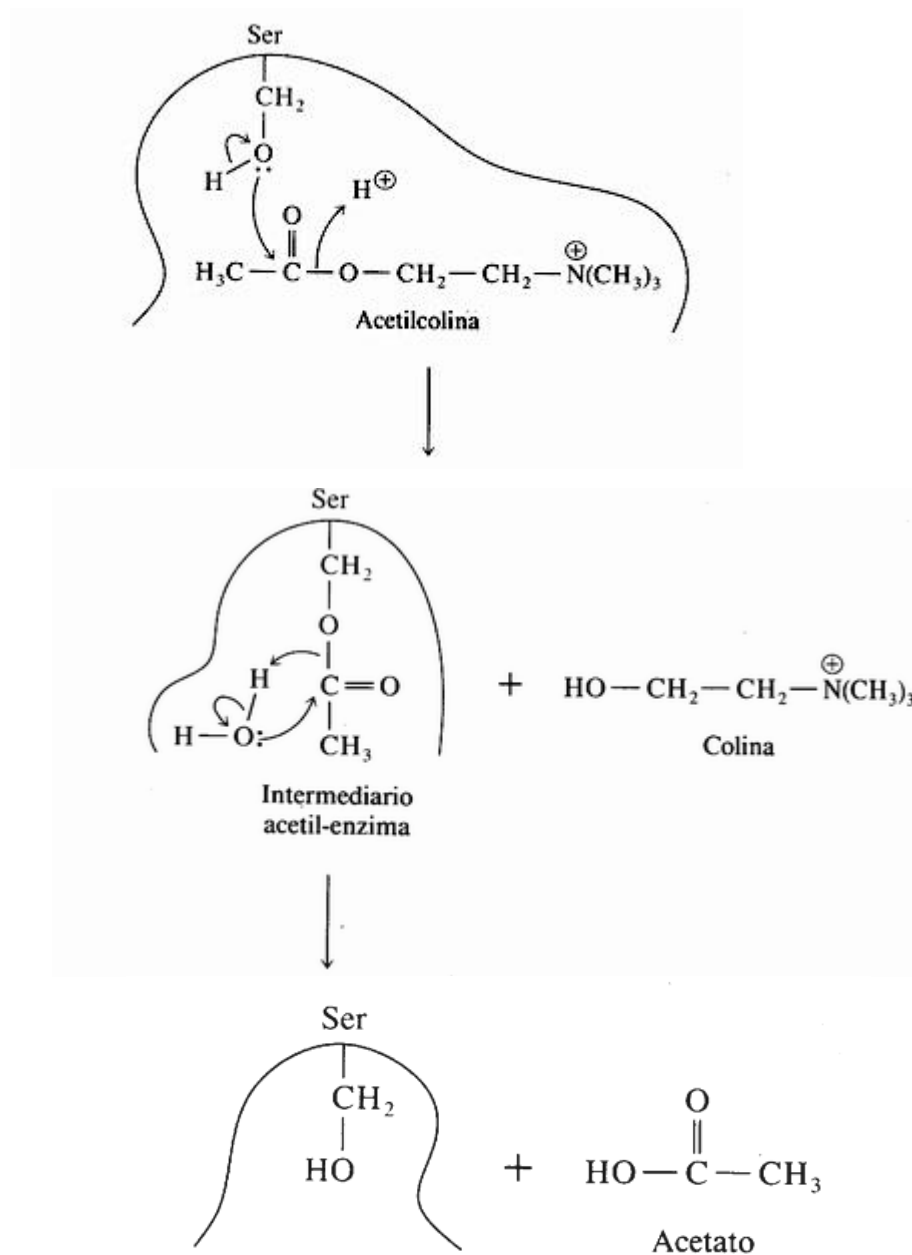


Fig. 41. Hidrólisis de acetilcolina

Procedimiento experimental.

Para la realización de este bioensayo, primeramente se realiza la preparación de reactivos de la siguiente manera:

Amortiguador Trizma-HCl: Se pesan 788mg de Trizma-HCl y se llevan a 90ml con agua destilada. Esta solución se lleva a pH 8 con NaOH y se lleva a 100mL con agua destilada.

Ácido 5,5-ditio-2-nitrobenzoico: Se pesan 3.2mg de DNTB y se disuelven con 5mL de amortiguador.

Yoduro de acetiltiocolina: Se pesan 2.2mg de ATCl y se disuelven con 5mL de amortiguador.

Albúmina bovina sérica: Se pesa 1mg de BSA, se disuelven y se llevan a 10mL con amortiguador.

Acetilcolinesterasa: Se toma una alícuota de 100 μ L de una solución 3u, se agregan 900 μ L. Se toman 500 μ L y se aforan a 10mL con BSA.

Productos a evaluar: Se pesan en un tubo 3mg y se disuelven en 1.5mL de DMSO al 7% en agua destilada.

Una vez listas todas las disoluciones anteriores, se procede a desarrollar el ensayo:

1. Se realiza un blanco mezclando 920 μ L de amortiguador y 30 μ L de acetilcolinesterasa, al que posteriormente en la técnica se agregaran 50 μ L de DTNB. Se agita e incuba a temperatura ambiente por 15 minutos.
2. Se realiza el control negativo de actividad enzimática por triplicado mezclando 870 μ L de amortiguador y 30 μ L de acetilcolinesterasa, al que posteriormente en la técnica se agregaran 50 μ L de DTNB y 50 μ L de ATCl.

3. Se realizan diluciones de los productos a evaluar de acuerdo a la siguiente tabla:

Concentración	400µg/mL	300µg/mL	200µg/mL	100µg/mL	50µg/mL
Amortiguador	670µL	720µL	770µL	820µL	845µL
Producto a evaluar	200µL	150µL	100µL	50µL	25µL
Acetilcolinesterasa	30µL	30µL	30µL	30µL	30µL
Volumen total	900µL	900µL	900µL	900µL	900µL

Tabla 6. Preparación de diluciones a evaluar en inhibición de acetilcolinesterasa

4. Los tubos se agitan e incuban a temperatura ambiente. Después se agregan 50µL de DTNB y 50µL de ATCl. Colocar el reactivo indicado al blanco y a los controles.
5. Inmediatamente después de colocar en el último tubo el ACTI se lee la absorbancia de los tubos ordenadamente a una longitud de onda de 412nm en un espectrofotómetro. Estas lecturas corresponden al tiempo 0 (T_0).
6. Se toman de nuevo las absorbancias al transcurrir 15 minutos. Estas lecturas corresponden al tiempo 15 (T_{15}).
7. Se obtiene la diferencia entre estos datos para cada uno de los tubos. Esta diferencia en el control negativo corresponde al 100% de actividad enzimática.
8. Para los productos a evaluar se compara la diferencia en tiempo con el control negativo mediante una regla de 3. El resultado es el porcentaje de actividad enzimática que se resta a 100 para obtener el porcentaje de inhibición de la acetilcolinesterasa que posee el producto.

9. Se realiza una curva relacionando las concentraciones contra el porcentaje de inhibición. Se obtiene la ecuación de la recta para obtener la Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}).

Ensayo antituberculoso

Inhibición de *Mycobacterium tuberculosis*

Actualmente la tuberculosis continúa siendo un problema significativo de salud en el mundo, con una alta tasa de nuevos casos y más de 2 mil millones de muertes al año. La Organización Mundial de la Salud estima que un tercio de la población global está infectada y que de estos, una de cada diez personas desarrollara la forma activa, contagiando a un estimado de 10 a 15 personas más cada año.

Si comparamos la incidencia nacional de tuberculosis en México de 14.1, con la incidencia de Estados Unidos que se encuentra en 4.2, México casi cuadruplica a la del país vecino, pero si nos enfocamos en una de las zonas con mayor incidencia dentro de nuestro país, la franja fronteriza sin duda se encuentra a la delantera, específicamente Tijuana, B.C. con una incidencia de 46.1 es de los mayores contribuyentes a la alta incidencia nacional.

Según la Norma Oficial Mexicana 006, se sugieren 4 medicamentos de primera línea para tratar la tuberculosis: Etambutol, Isoniazida, Rifampicina y Pirazinamida, sin embargo, la incidencia de casos de organismos multi-resistentes (MRMT) y extremadamente resistentes (XRMT) se reporta en aumento a nivel mundial según el CDC y la OMS, aquí es donde radica la urgencia en la búsqueda de nuevos fármacos antituberculosos con estructuras químicas diferentes a las ya existentes o con un mecanismo de acción distinto.

Los fármacos derivados de imidazol han demostrado ser una interesante familia de compuestos en investigación, puesto que: tienen margen terapéutico amplio y tienen un amplio espectro de acción.



Fig. 42. *Mycobacterium tuberculosis*

Procedimiento experimental.

La actividad antimicobacteriana se evaluó frente a *M. tuberculosis* H37Rv ATTC 27294 susceptible a los cinco fármacos antituberculosos de primera línea (estreptomina, isoniácida, rifampicina, etambutol y pirazinamida), el ensayo fue realizado por el método de azul de alamar con algunas modificaciones.

En esta técnica se utiliza el colorante alamar azul que tiene como principal componente a la resazurina, la cual es un reactivo indicador oxido-reducción que cambia de color una vez que es sometido a un ambiente reductor como el generado durante el metabolismo celular.

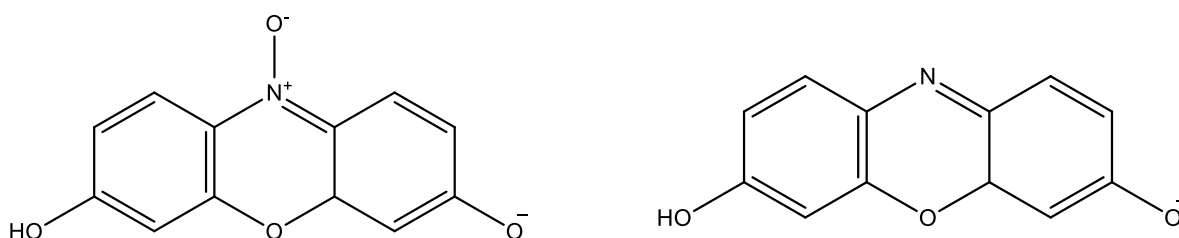


Fig. 43. Resazurina-N-oxido y resazurina respectivamente

1. Se incuba la cepa H₃₇Rv por un periodo de tres semanas en medio Lowenstein-Jensen.
2. Pasado este tiempo, se realiza una suspensión bacteriana con las colonias obtenidas en medio Middlebrook 7H9 enriquecido, ajustado al estándar 1 de McFarland.
3. Con esta suspensión se continua realizando una dilución 1:20 en medio Middlebrook, obteniendo así la solución con la que se va a trabajar.
4. En la placa de 96 pocillos se colocan 0.2 mL de agua estéril en toda la periferia, así mismo se colocan 0.1 mL de medio Middlebrook en los pocillos donde se hará el ensayo.
5. Se prepara la solución patrón de los compuesto a evaluar, para esto, se pesa 1mg y se disuelve en 1 ml de DMSO al 2.5% en caldo Middlebrook 7H9.
6. Se trabaja con concentraciones seriadas del producto a evaluar en un rango de 0.98 a 500 mcg/mL, que se realizan con 0.1 mL de extracto o compuesto, diluidos en los 0.1 mL de medio en cada pocillo.
7. Se incuba a 37° por cinco días, al quinto se adicionan 0.12 mL de Tween 80 al 20% y 0.20 mL de Alamar azul y se incuba 48 horas más.
8. Un viraje a color rosa indica actividad metabólica, es decir que hay crecimiento y por tanto no hay inhibición.

Los resultados se expresan en µg/mL como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). El etambutol (EMB) se utilizó como control positivo. Todos los ensayos biológicos se desarrollaron al menos por triplicado.



Resultados bioensayos complementarios

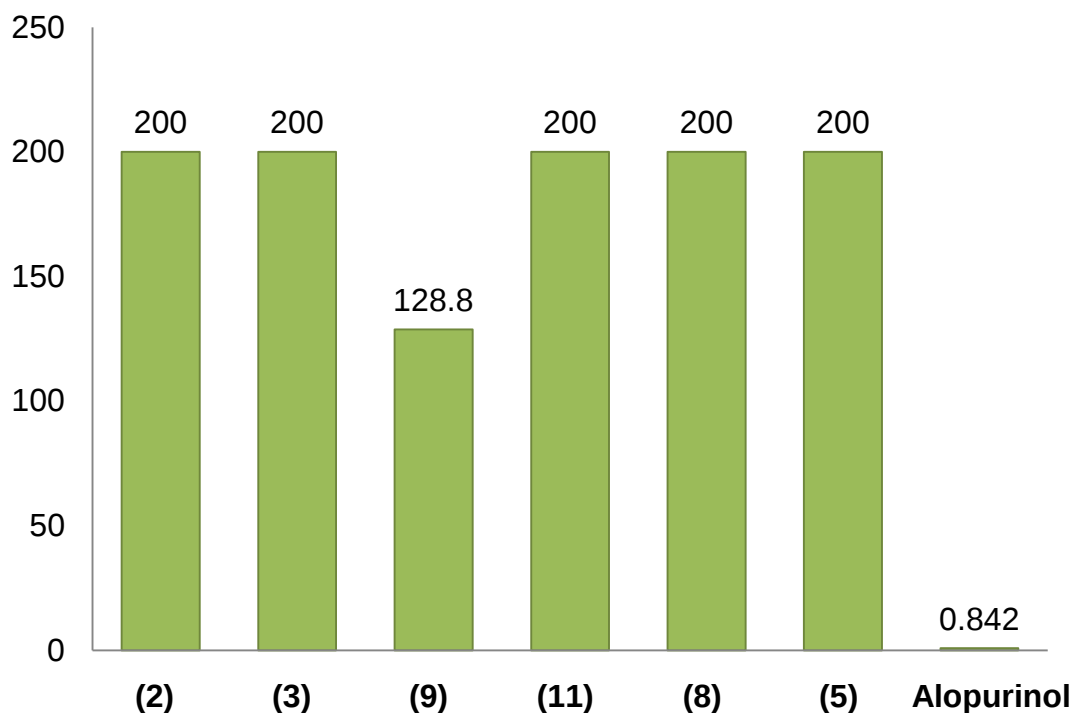
Los resultados obtenidos de las técnicas enzimáticas complementarias y antimicrobiana (antituberculosa) se describen a continuación.

Inhibición de la enzima xantina oxidasa

Los resultados se presentan como Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}) expresado en $\mu\text{g/mL}$.

Compuesto	Sustituyente	IC_{50}
(2)	-H	>200
(3)	<i>o</i> -OH	>200
(9)	<i>p</i> -OH, <i>m</i> -MeO	128.8 ± 2.9
(11)	<i>p</i> -MeO, <i>m</i> -MeO	>200
(8)	<i>o</i> -MeO	>200
(5)	<i>p</i> -MeO	>200
Alopurinol		0.842 ± 0.078

Tabla 7. Resultados de inhibición de la Xantina Oxidasa



Gráfica 1. Resultados de inhibición de la Xantina Oxidasa

Como podemos observar en la tabla y grafica anterior, de los seis compuestos evaluados, solo uno mostro actividad de inhibición enzimática, el compuesto (9) con una IC_{50} de $128.8 \pm 2.9 \mu\text{g/mL}$, si bien, es muy elevado con respecto al control positivo alopurinol ($0.842 \mu\text{g/mL}$), no puede pasar desapercibido la estructura química de estas moléculas y su influencia sobre la bioactividad.

Cuatro de los compuestos presentan como sustituyente del anillo A un grupo metoxilo, (9), (11), (8) y (5), de estos, el único que presento actividad, como ya se mencionó, es el (9) que presenta la característica estructural de no solo poseer metoxilo, también presenta un grupo hidroxilo en la posición para, lo que nos sirve de indicativo para considerar el hecho de que los grupos metoxilos son desfavorables, pero si es necesaria más de una sustitución sobre el anillo, ya que el compuesto (3), con un grupo hidroxilo en orto tampoco presento actividad.

De manera general, se puede afirmar que este tipo de compuestos no son buenos candidatos como inhibidores de la Xantina Oxidasa, probablemente es necesaria la presencia de más heteroátomos de nitrógeno para generar un mejor análogo a alopurinol (ver figura X).

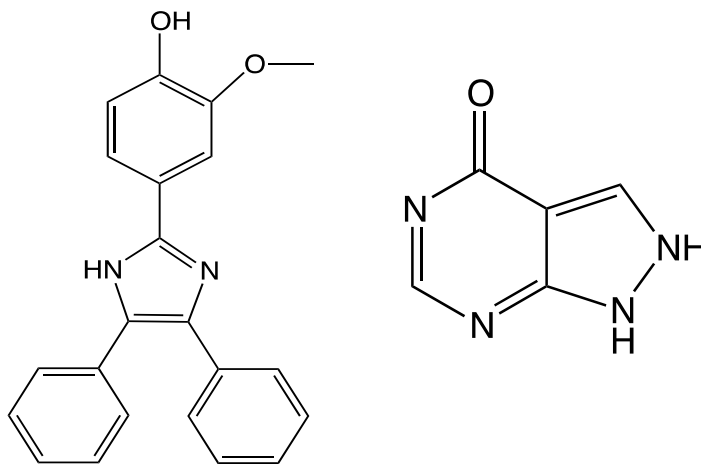


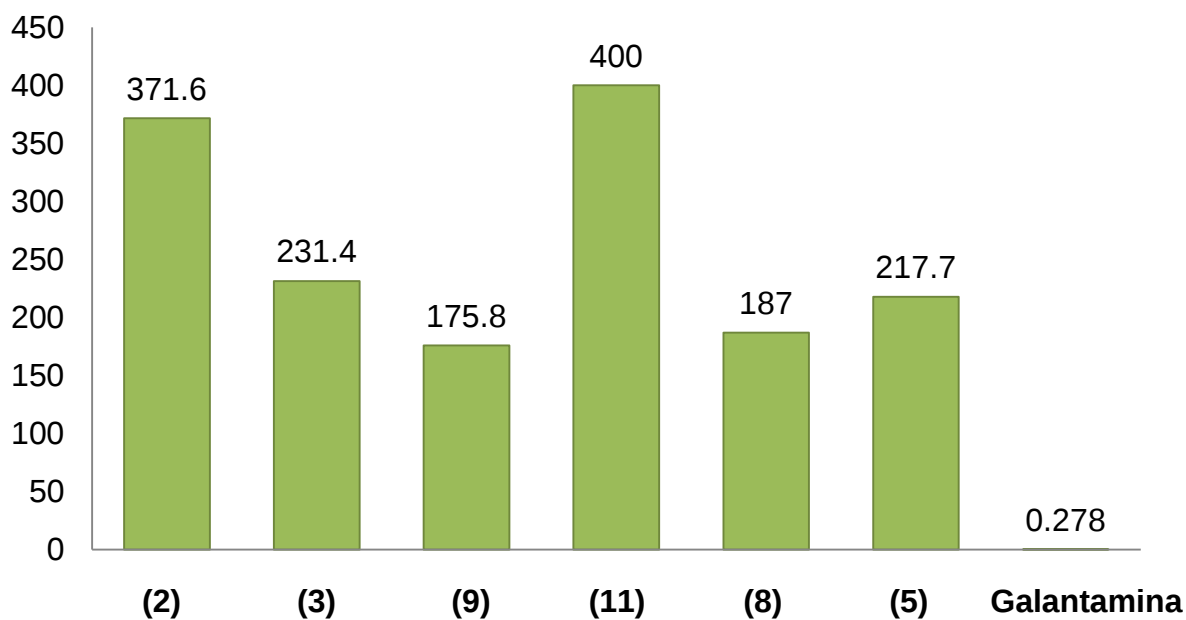
Fig. 44. Compuesto (9) con mayor actividad en esta prueba y el control positivo alopurinol, respectivamente.

Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa

Los resultados se presentan como Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}) expresado en $\mu\text{g/mL}$.

Compuesto	Sustituyente	IC_{50}
(2)	-H	371.6 ± 54.4
(3)	<i>o</i> -OH	231.5 ± 15.5
(9)	<i>p</i> -OH, <i>m</i> -MeO	175.8 ± 29.1
(11)	<i>p</i> -MeO, <i>m</i> -MeO	> 400
(8)	<i>o</i> -MeO	187 ± 9.3
(5)	<i>p</i> -MeO	217.7 ± 45.7
Galantamina		0.278 ± 0.01

Tabla 8. Resultados de inhibición de la acetilcolinesterasa



Gráfica 2. Resultados de inhibición de la acetilcolinesterasa

Los resultados preliminares de inhibición enzimática de acetilcolinesterasa muestran que el derivado que presentó mejor actividad de los seis fue el (9), con una concentración de 175.8 $\mu\text{g/mL}$, no comparable con el estándar de galantamina (0.278 $\mu\text{g/mL}$), seguido del (8) con 187 $\mu\text{g/mL}$.

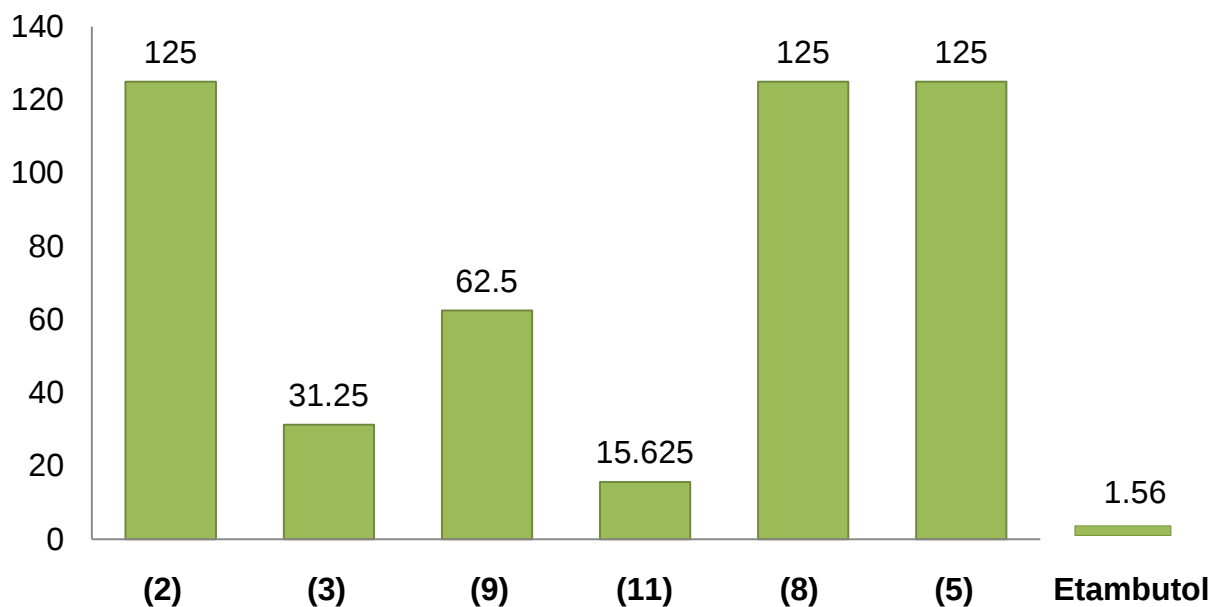
Con estos resultados, específicamente para esta técnica, no se puede obtener mucha información, ya que los seis compuestos presentaron baja actividad y similar entre ellos, como ya se mencionó, los 2 compuestos con mejor perfil no presentan similitud estructural

Antimicrobiana (antituberculosa)

Los resultados se expresan en µg/mL como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Compuesto	Sustituyente	CMI
(2)	-H	>125
(3)	<i>o</i> -OH	31.25
(9)	<i>p</i> -OH, <i>m</i> -MeO	62.5
(11)	<i>p</i> -MeO, <i>m</i> -MeO	15.625
(8)	<i>o</i> -MeO	>125
(5)	<i>p</i> -MeO	125
Etambutol		1.56

Tabla 9. Resultados actividad antituberculosa

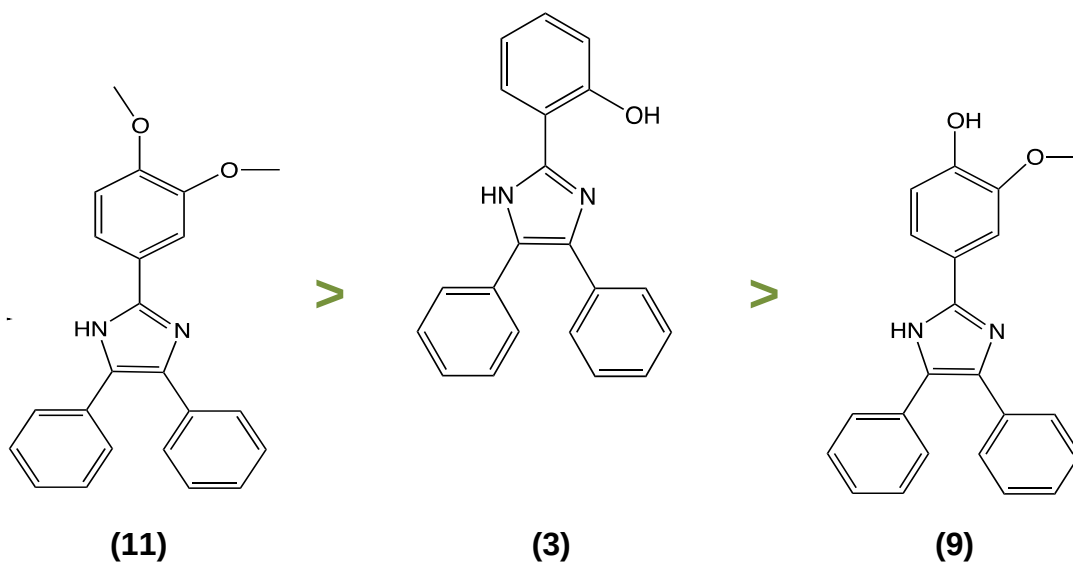


Gráfica 3. Comparativa de resultados de actividad antituberculosa

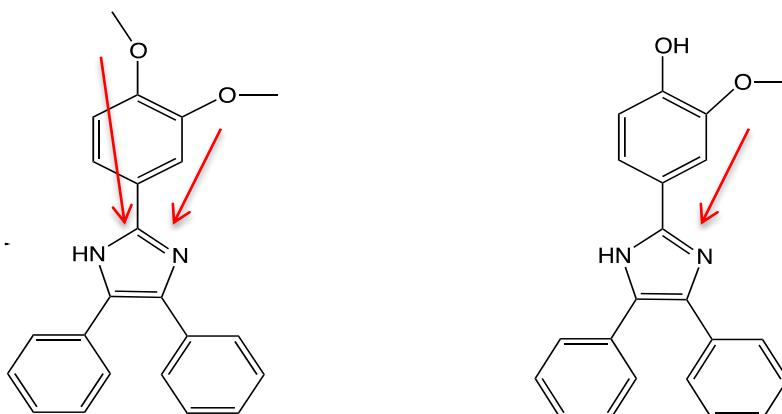
Contrario a los resultados observados en las pruebas enzimáticas, este bioensayo arrojo muy buenos resultados preliminares.

Dos compuestos mostraron una buena actividad antituberculosa, (3) y (9), con una concentración mínima inhibitoria de 31.25 y 62.5 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, sin embargo, fue el compuesto (11) con sustituyente de tipo metoxilo en posiciones meta y para, quien presento una excelente actividad contra esta bacteria, con una CMI de 15.63 $\mu\text{g/mL}$, no muy lejano del control positivo etambutol (1.56 $\mu\text{g/mL}$), sobre todo considerando el hecho de que la cepa con la que se trabajó presenta resistencia a los fármacos de primera línea.

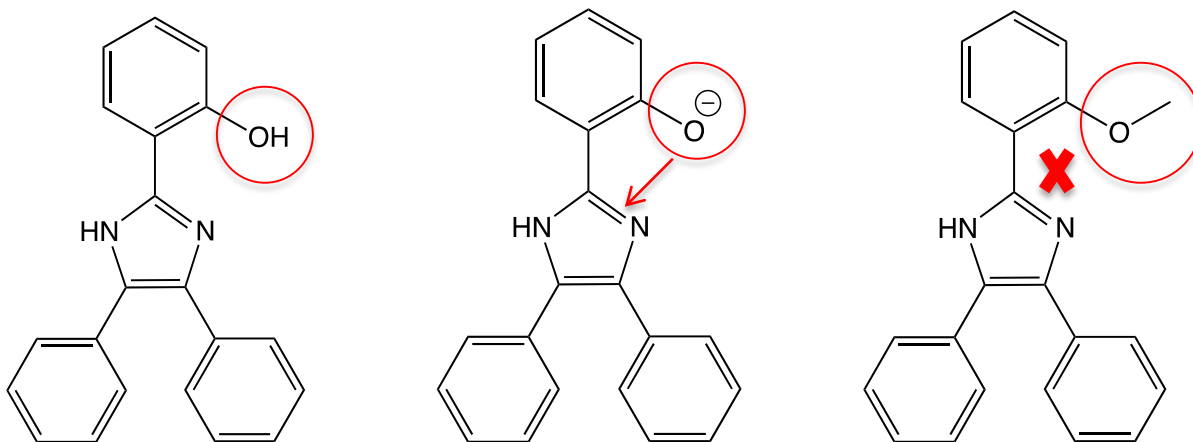
El resto de los productos analizados no mostro actividad relevante al compararse con el control, pero eso no significa que sea mala, porque como ya se mencionó, son moléculas que en la actualidad no se utilizan para el tratamiento.



Si realizamos un análisis estructural de estos tres compuestos, podemos apreciar que en todos contamos con al menos una sustitución sobre el anillo, como es bien sabido, los grupos metoxilo son grupos electrodonadores, de manera que el compuesto (11) al presentar dos grupos, podría estar incrementando al reactividad del anillo de imidazol, lo cual podría explicar sus buenos resultados. El compuesto número (9) presenta buena actividad, menor al (11), se puede atribuir a la presencia de un solo grupo metoxilo, por lo que el anillo imidazolico seria menos reactivo.



Con respecto al compuesto (3), la considerable actividad que presenta pese a no poseer un grupo metoxilo en su estructura se cree es debida a la formación de puentes de hidrogeno y la acidez que presenta el grupo hidroxilo fenólico, esto aumenta la reactividad del sistema heterocíclico mediante reacciones intramoleculares de tipo ácido- base.





Conclusiones

1. A partir de bencilo y distintos aldehídos de diferente naturaleza química como materiales de partida, se realizó la síntesis química de 16 derivados del esqueleto base 2,4,5-trifenilimidazol, la metodología sintética utilizada en este trabajo, favoreció exitosamente en la pureza y los altos rendimientos de reacción de los productos obtenidos.
2. Todas las estructuras moleculares de los derivados sintetizados, fueron caracterizadas por espectroscopía Infrarroja, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C .
3. El compuesto con mejor perfil citotóxico fue el derivado nombrado como: 2-(4-nitrofenil)-4,5-difenil-1*H*-imidazol, con una GI₅₀ de 3.4 μM para línea celular de ovario, 3.3 μM mama, 3.0 μM cérvix, 2.9 μM pulmón, 5.5 μM mama y 4.6 μM colon, en algunas de ellas superando a 2 de los controles positivos empleados.
4. Debe existir al menos una sustitución en el esqueleto del 2,4,5-trifenilimidazol para presentar actividad citotóxica.
5. Poseer más de un átomo de nitrógeno en la estructura química de la molécula aumenta considerablemente el potencial citotóxico.
6. La presencia de grupos electroattractores como sustituyentes en el anillo A mejora la selectividad del compuesto hacia alguna línea celular.
7. La presencia de un grupo nitro en la posición para del anillo aromático A favoreció la actividad citotóxica, mientras que en la posición orto no se presentó actividad, se concluye esto podría deberse a las interacciones formadas por el grupo *O*-nitro y el protón del imidazol, lo que impide la

formación de un anión radical del grupo nitro que actúa como agente tóxico para el ADN.

8. El producto con mejor perfil antituberculoso fue el derivado nombrado como: 2-(3,4-dimetoxifenil)-4,5-difenil-imidazol con una CMI DE 15.6 µg/mL.
9. Los resultados biológicos obtenidos de los compuestos evaluados, indican que el incremento de la polaridad molecular y la electrodonación de grupos funcionales, favorecen la actividad anti-Tb de estos compuestos.
10. La disustitución del anillo aromático por grupos metoxilo, favorece la electrodonación, se sugiere que esta variable fisicoquímica incrementa la reactividad del núcleo imidazol, aumentando la actividad anti-TB
11. La interacción puente de hidrógeno y la acidez del protón del grupo hidroxilo fenolico del compuesto: 2-(2-hidroxifenil)-4,5-difenil-imidazol (IMI-SAL), aumenta la reactividad del sistema heterocíclico mediante reacciones intramoleculares de tipo ácido- base.
12. La estructura química de estos derivados no favoreció la actividad como agentes anticolinérgicos ni como inhibidores de la enzima xantina oxidasa.
13. Los resultados de citotoxicidad y los experimentos de anti-TB, sugieren el estudio de un mayor número de compuestos derivados de imidazol, para tener más elementos que nos permitan establecer cuales son los requerimientos estructurales de estos compuestos.



Bibliografía

- **Aislamiento de la morfina.** 200 años de un descubrimiento fundamental para la química moderna. Departamento de Química Orgánica Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid. An. Quím. 2006, 102(2), 45-53.
- **AnshulChawla y col.** Review: A convenient approach for the synthesis of imidazole derivatives using microwaves. Scholars Research Library. Der Pharma Chemica, 2012, 4 (1):116-140.
- **Ayuso-Montero, Raúl.** Estomatitis protésica: puesta al día. RCOE, 2004, Vol 9, No.6, 657-662.
- **Balasubramanian Narasimhan y col.** Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. Med Chem Res DOI 10.1007/s00044-010-9472-5.
- **Bhatnagar A y col.** A Review on “Imidazoles”: Their Chemistry and Pharmacological Potentials. International Journal of PharmTech Research CODEN (USA): IJPRIF ISSN : 0974-4304 Vol. 3, No.1, pp 268-282, Jan-Mar 2011.
- **Boletín Oncológico del área sanitaria de Teruel.** Mecanismos de acción antitumoral. Escrito por Francisco Rodilla Calvelo.
- **Debus, H.** “Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Glyoxal” Justus Liebigs Annalen der Chemie. 1858 (107):199-208.
- **Dra. Levy Rodríguez Mayra.** Farmacología. Su historia y desarrollo.
- **E. Abele y col.** Oximes of five-membered heterocyclic compounds with two heteroatoms 2.* reactions and biological activity (review). Chemistry of Heterocyclic Compounds, 2007, Vol. 43, No. 8.

- **Habib Firouzabadi y col.** Preparation of α -ketophosphonates by oxidation of α -hydroxyphosphonates with pyridinium chlorochromate (PCC). Phosphorus, Sulfur, and Silicon, 2004, 179:1483–1491.
- **Hernández R. Delia y col.** Synthesis of Imidazole Derivatives and Their Biological Activities. Journal of Chemistry and Biochemistry. December 2014, Vol. 2, No. 2, pp. 45-83.
- **Hernández Salomón.** Tesis “Síntesis de imidazoles polisustituidos con posible actividad analgésica” Universidad Autónoma del Estado de México.
- **José M. Padrón.** Cytotoxicity of sphingoid marine compound analogs in mono- and multilayered solid tumor cell cultures. Investigational New Drugs 24: 195–202, 2006.
- **Kumari Shalini y col.** Imidazole and its biological activities: A review . Pelagia Research Library Der Chemica Sinica, 2010, 1 (3): 36-47.
- **Linamaría Escobar M. y col.** Valoración de dos métodos de tinción en ensayos de citotoxicidad sobre líneas celulares tumorales. Revista colombiana de biotecnología.
- **N.Umarani y col.** Exploring the effects of newer three component aminobenzylated reactions of triphenyl imidazole motif as potent antimicrobial and anti-inflammatory agents. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 3, Issue 2, 2011.
- **Moura, K. C. G. Y col.** “1,3-Azoles from ortho-naphtoquinones: Synthesis of aryl substituted imidazoles and oxazoles and their potent activity against Mycobacterium tuberculosis” Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2012, (20):6482-6488.
- **Rasmussen, E. S.** 1999. Use of fluorescent redox indicators to evaluate cell proliferation and viability. *in vitro* and Molecular Toxicology 12: 47-58.

- **Rivera, Gildardo.** La química medicinal (química-farmacéutica) en la salud pública: nuestra experiencia en el diseño de moléculas con potencial terapéutico . Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 45, núm. 1, enero-marzo, 2014, pp. 15-25.
- **Sanchita Baroniya y col.** Recent advancement in imidazole as anti cancer agents: A review. Pelagia Research Library. Der Pharmacia Sinica, 2010, 1 (3): 172-182.
- **Seung Hwan Lee y col.** Synthesis of 5-ortho-Carboranylsalicylaldehyde and an Indolinospirobenzopyran. Synthetic Communications, 39: 4069-4078, 2009.
- **Shinae Kizaka-Kondoh.** Significance of nitroimidazole compounds and hypoxia-inducible factor-1 for imaging tumor hipoxia. Cancer Sci. August 2009. Vol. 100. no. 8, 1366–1373.
- **Silveira D. Gastón y col.** Synthesis and antiproliferative activity of glutamic acid- based dipeptides. Amino Acids DOI 10.1007/s00726-015-1987-0.
- **Sivakumar, K. Y col.** “Simple and efficient method for the synthesis of highly substituted imidazoles using zeolite-supported reagents” Tetrahedron Letters (2010) (51):3018-3021.
- **Skehan, P. Y col.** 1990. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. Journal of the National Cancer Institute 82: 1107-1112.
- **Tushar R. Sutariya y col.** Efficient synthesis of some new antiproliferative N-fused indoles and isoquinolines via 1,3-dipolar cycloaddition reaction in an ionic liquid. New J. Chem., 2015, 39, 2657-2668.
- **Zhan, P.y col.** “Synthesis and biological evaluation of imidazole thioacetanilides as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors” Bioorganic & Medicinal Chemistry (2010) (17):5575-5781.



Anexos

Fig. 45. Espectro de infrarrojo del compuesto (2).

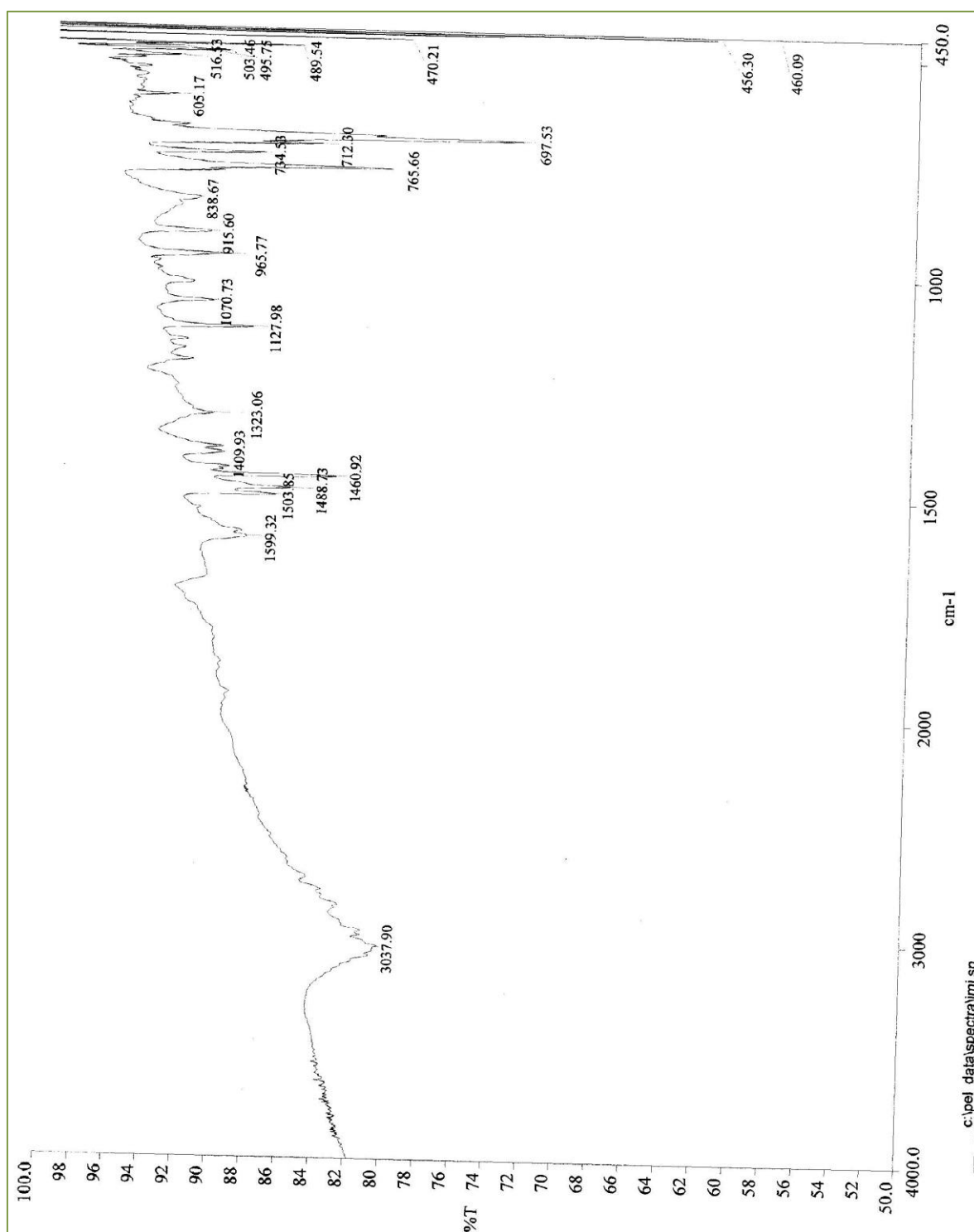


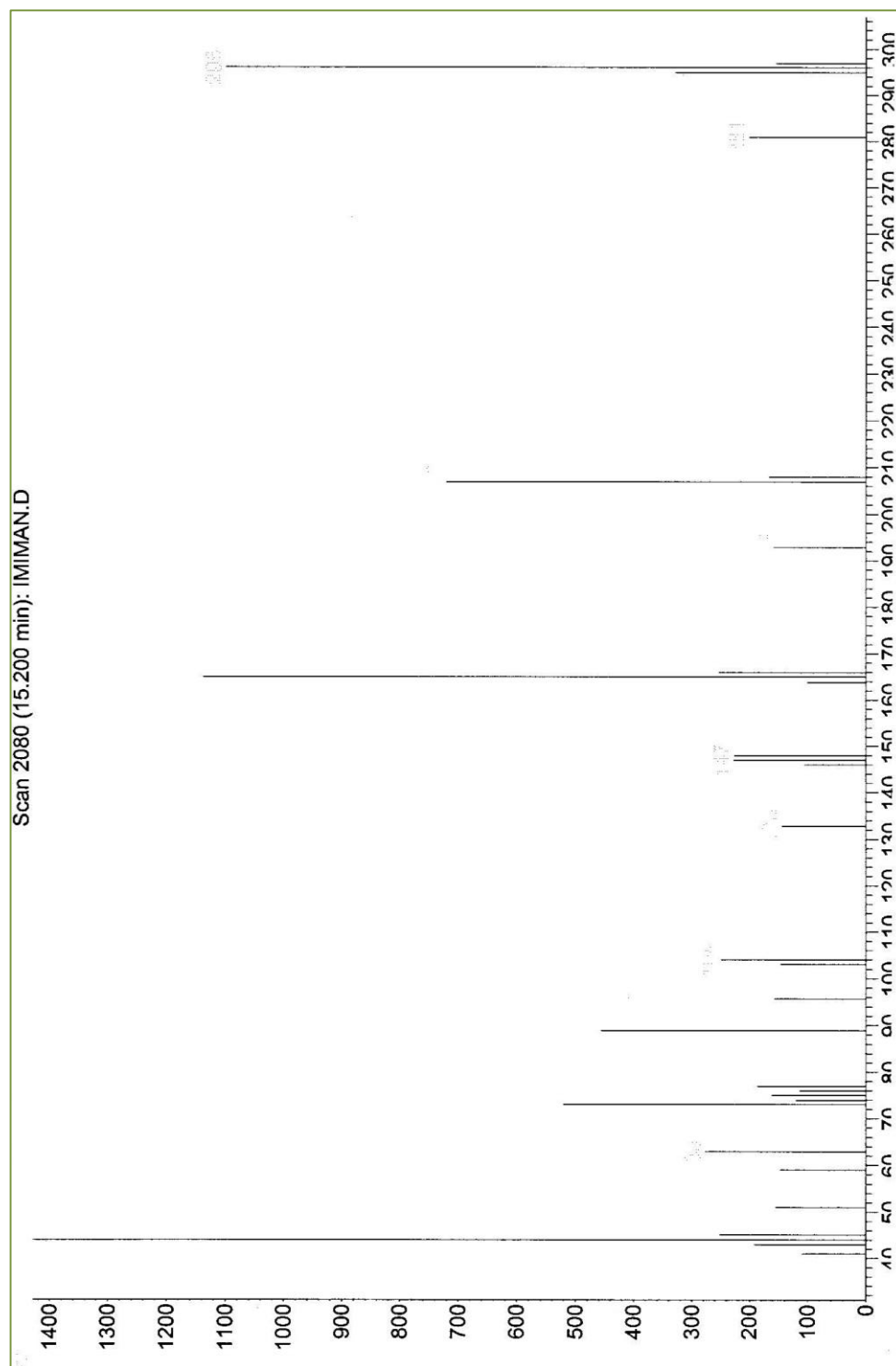
Fig. 46. Espectro de masas del compuesto (2)

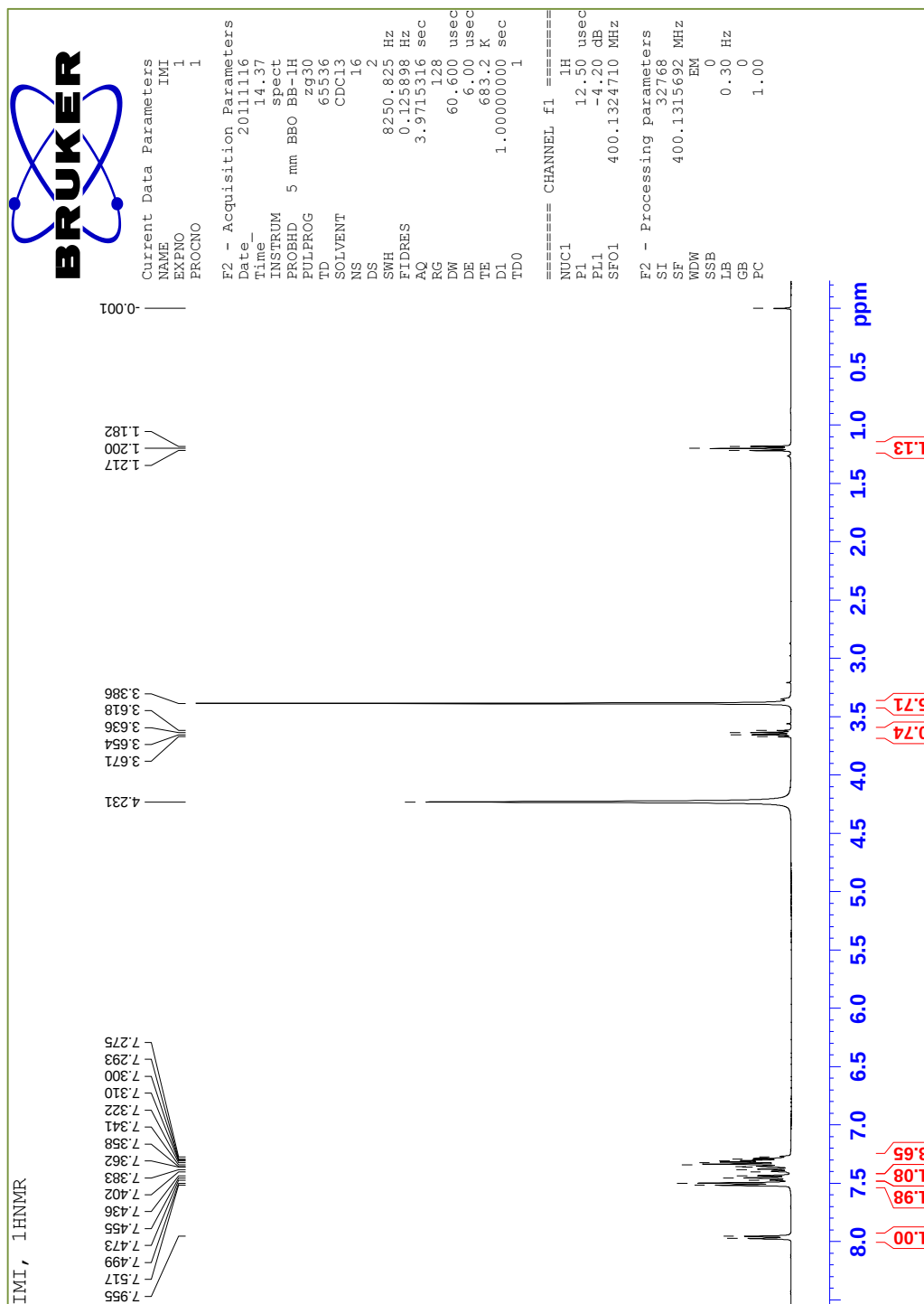
Fig. 47. Espectro de RMN ^1H del compuesto (2)

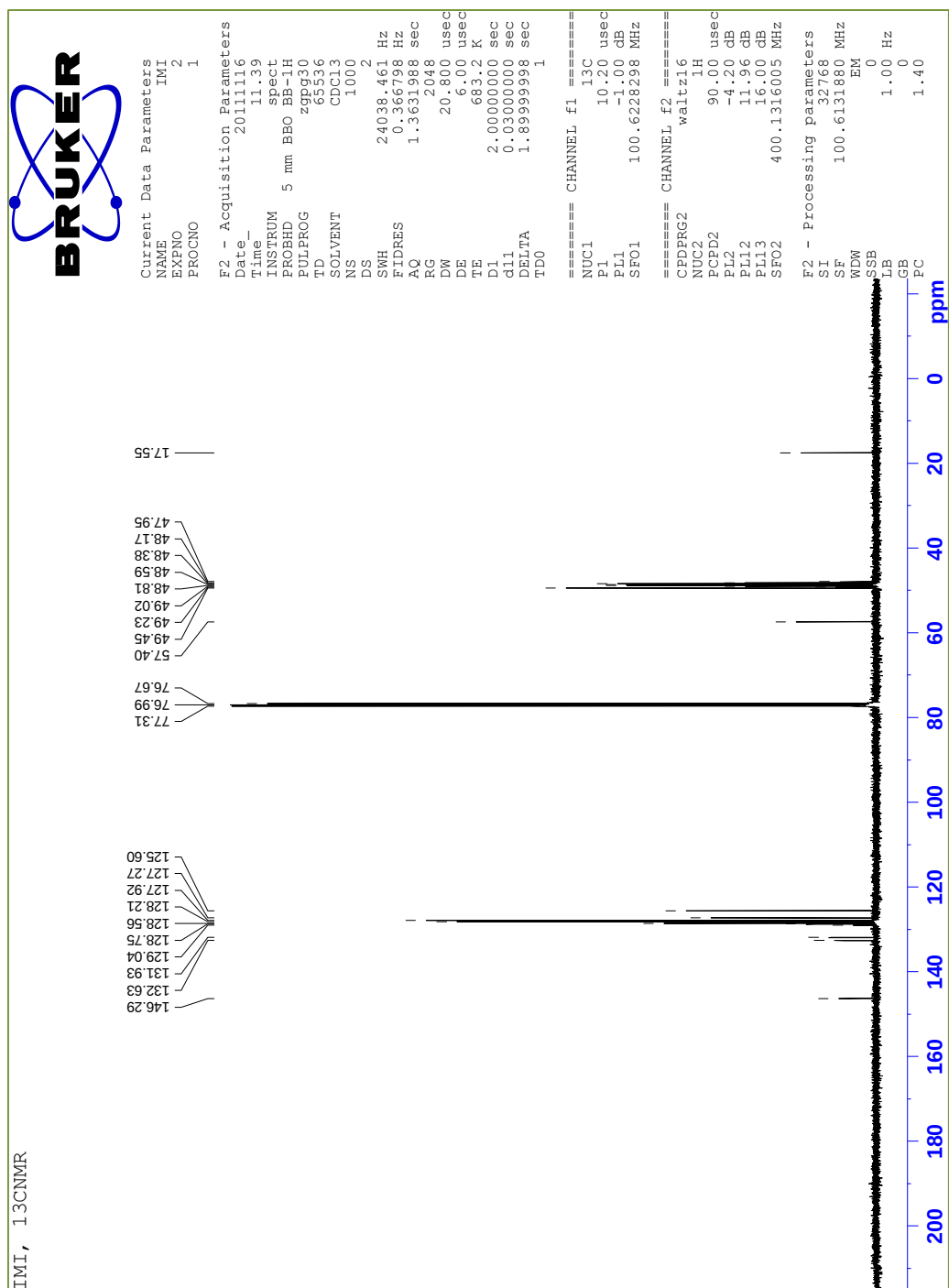
Fig. 48. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (2)

Fig. 49. Espectro de infrarrojo del compuesto (3)

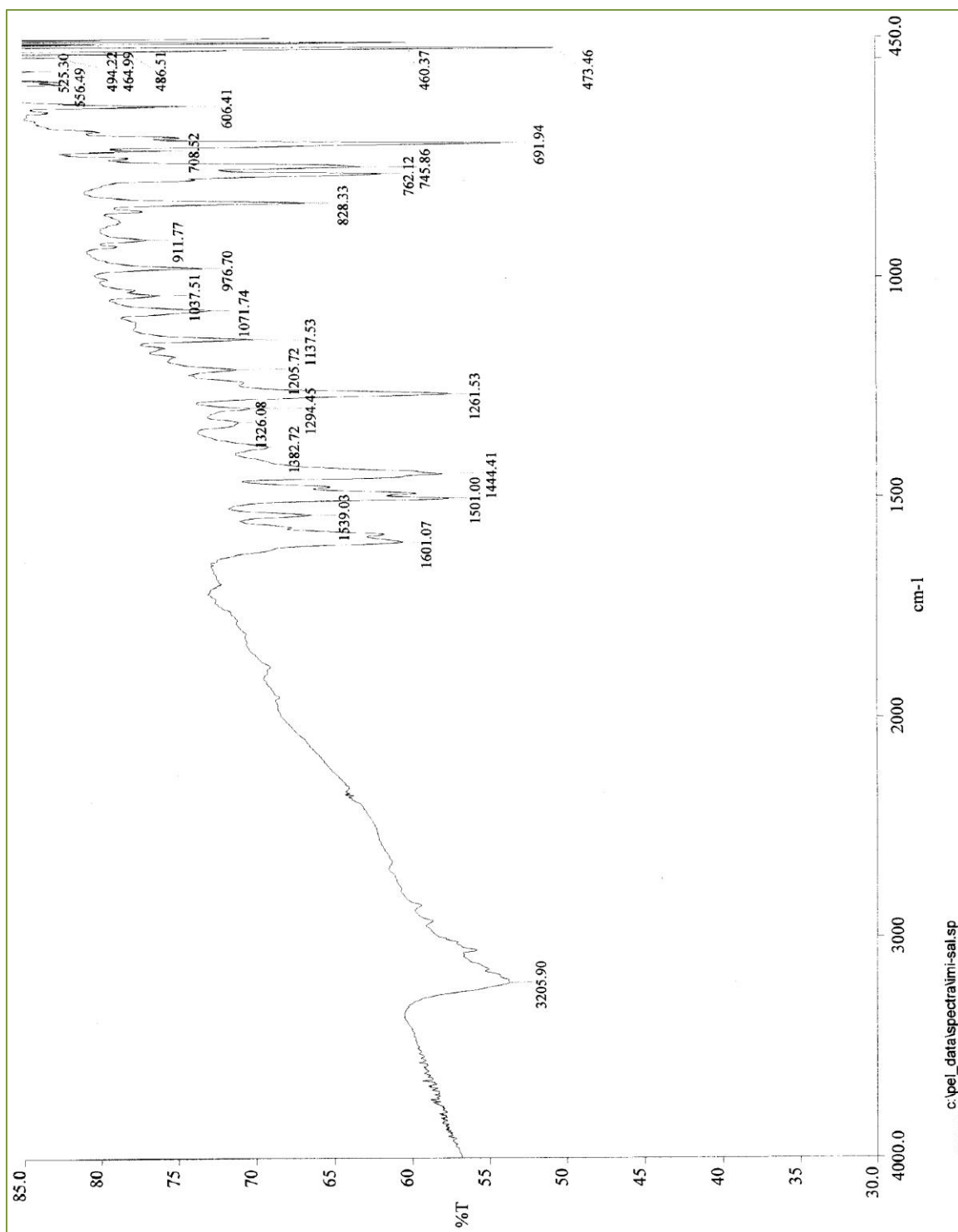


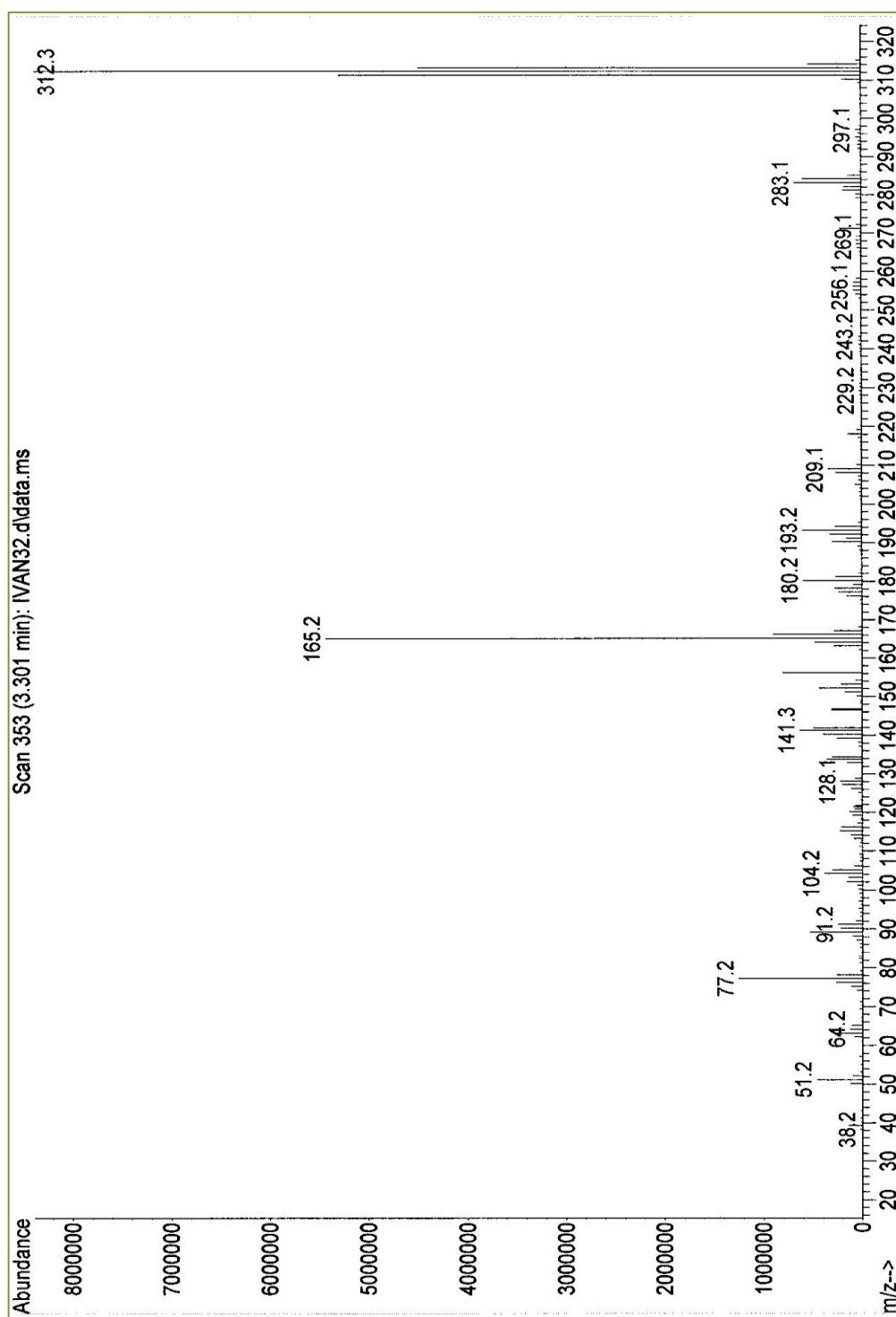
Fig. 50. Espectro de masas del compuesto (3)

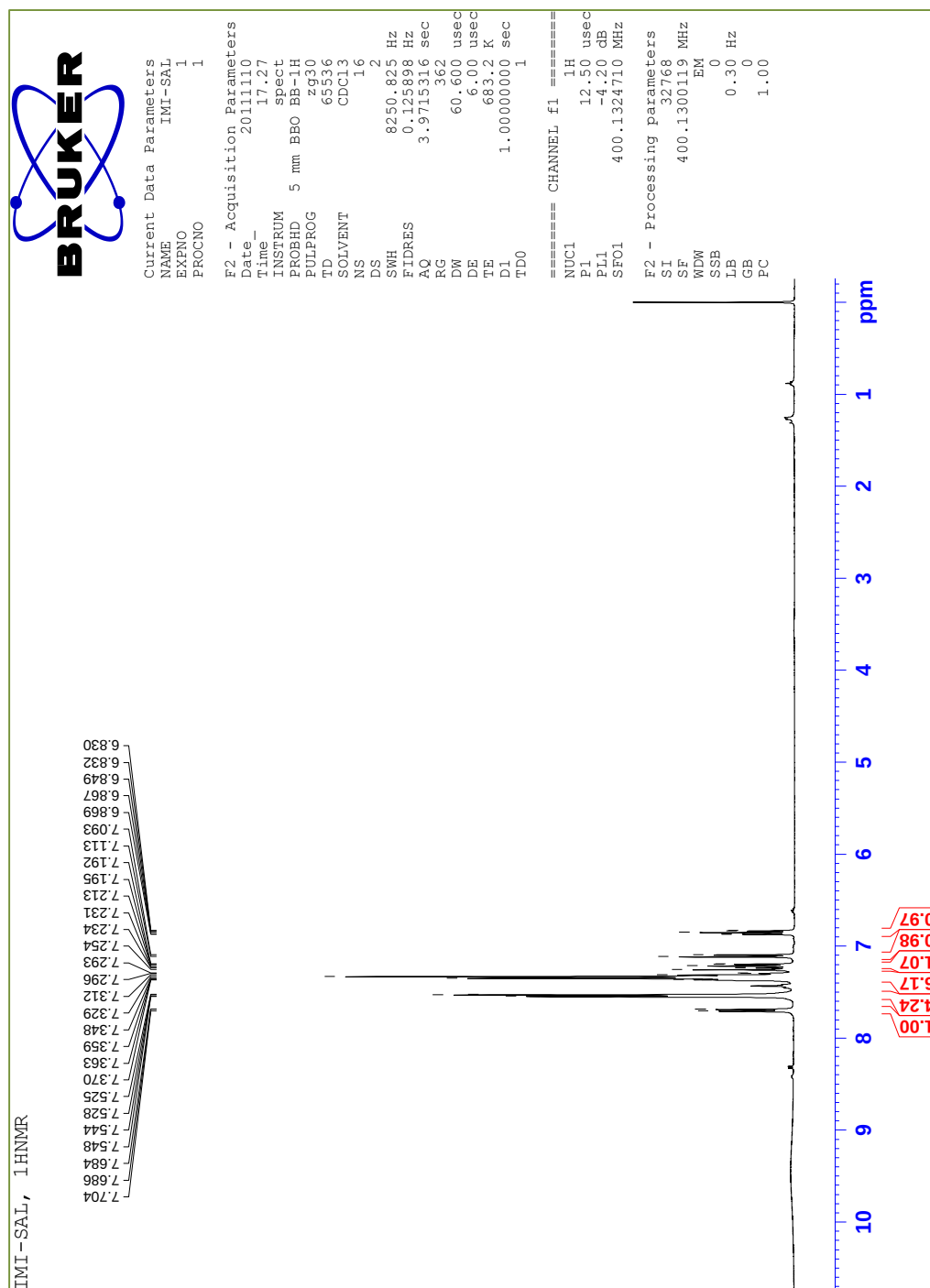
Fig. 51. Espectro de RMN ^1H del compuesto (3)

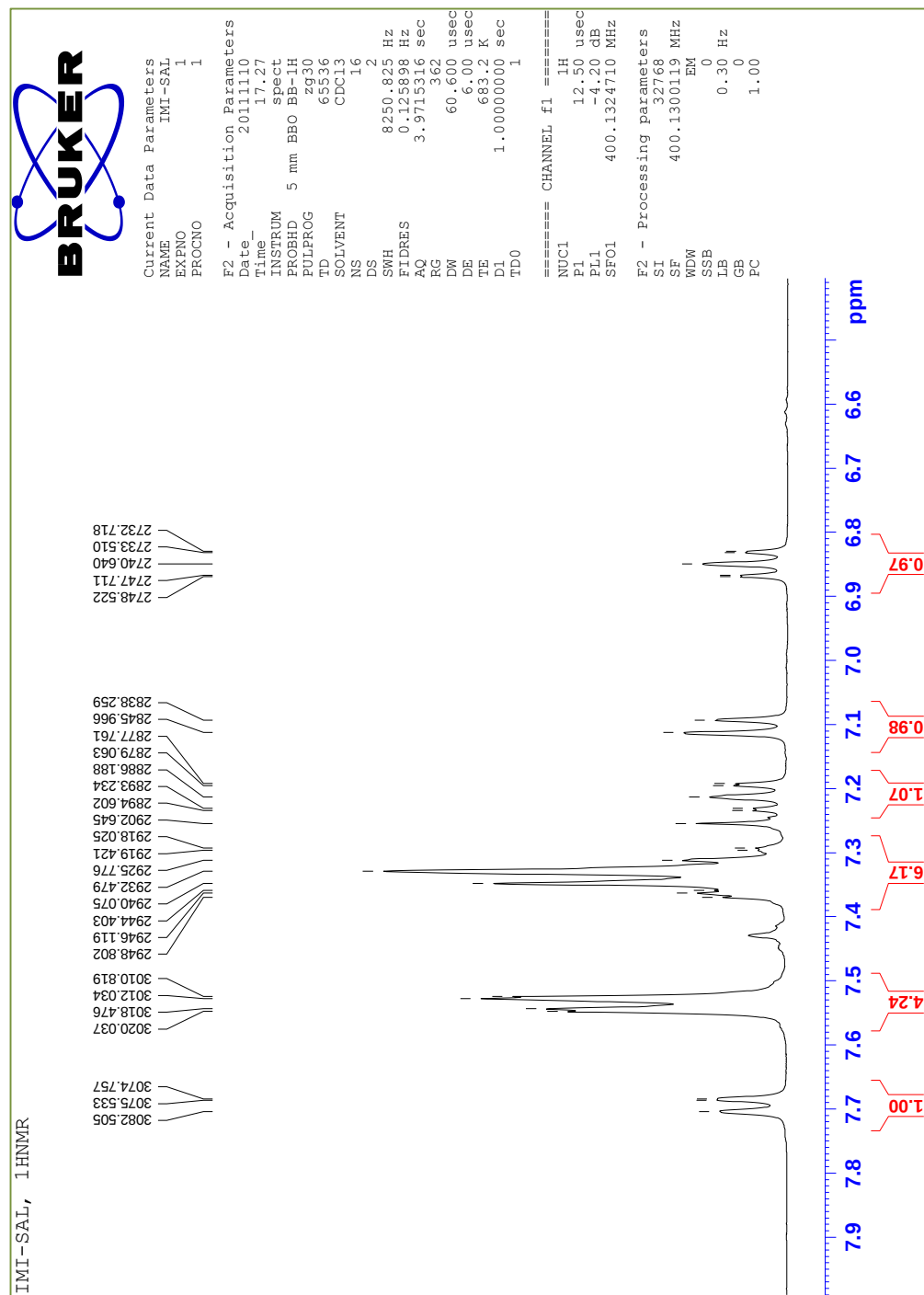
Fig. 52. Espectro de RMN ^1H del compuesto (3) a desplazamiento químico de 6.6-7.9 δ .

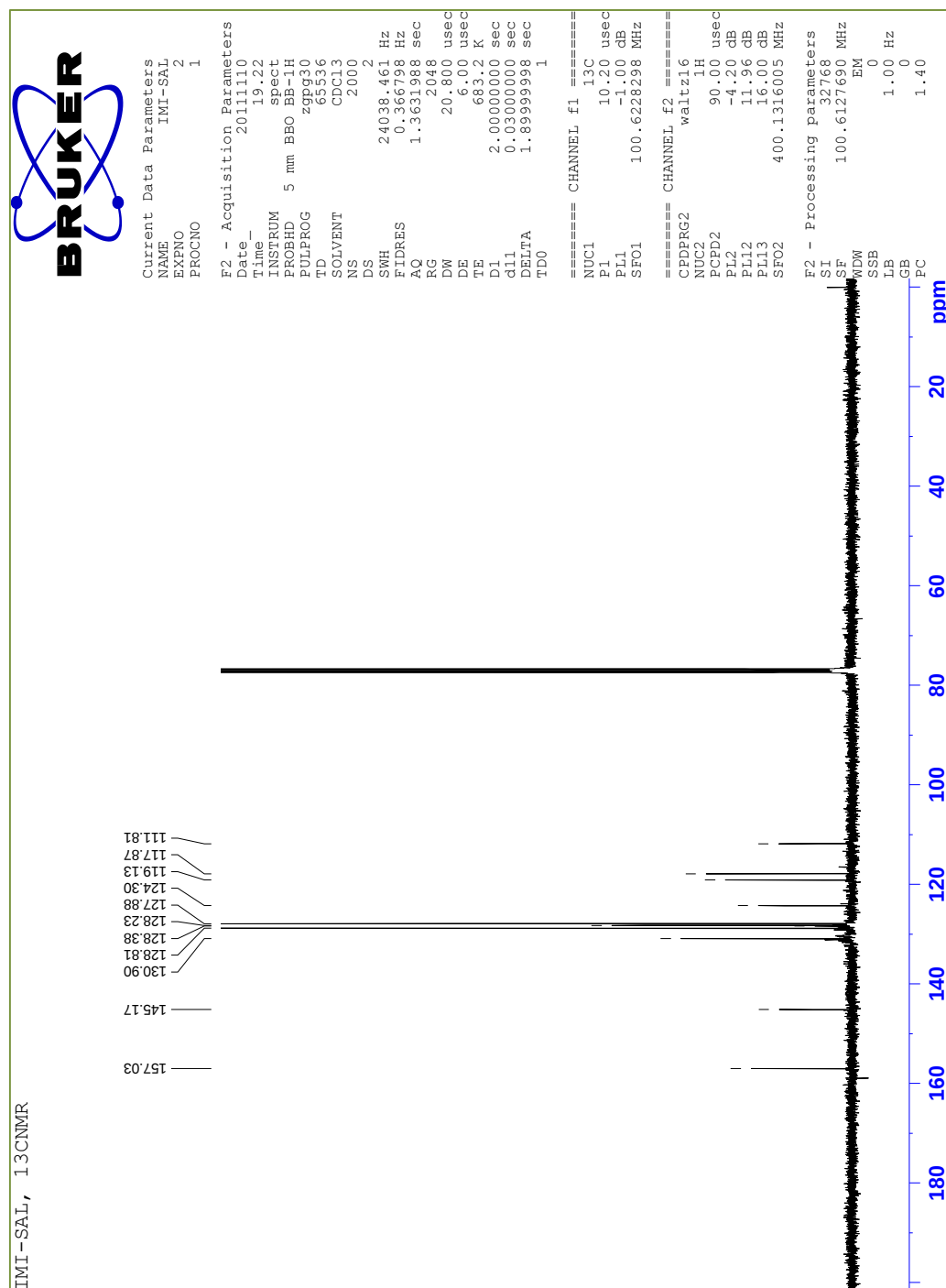
Fig. 53. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (3)

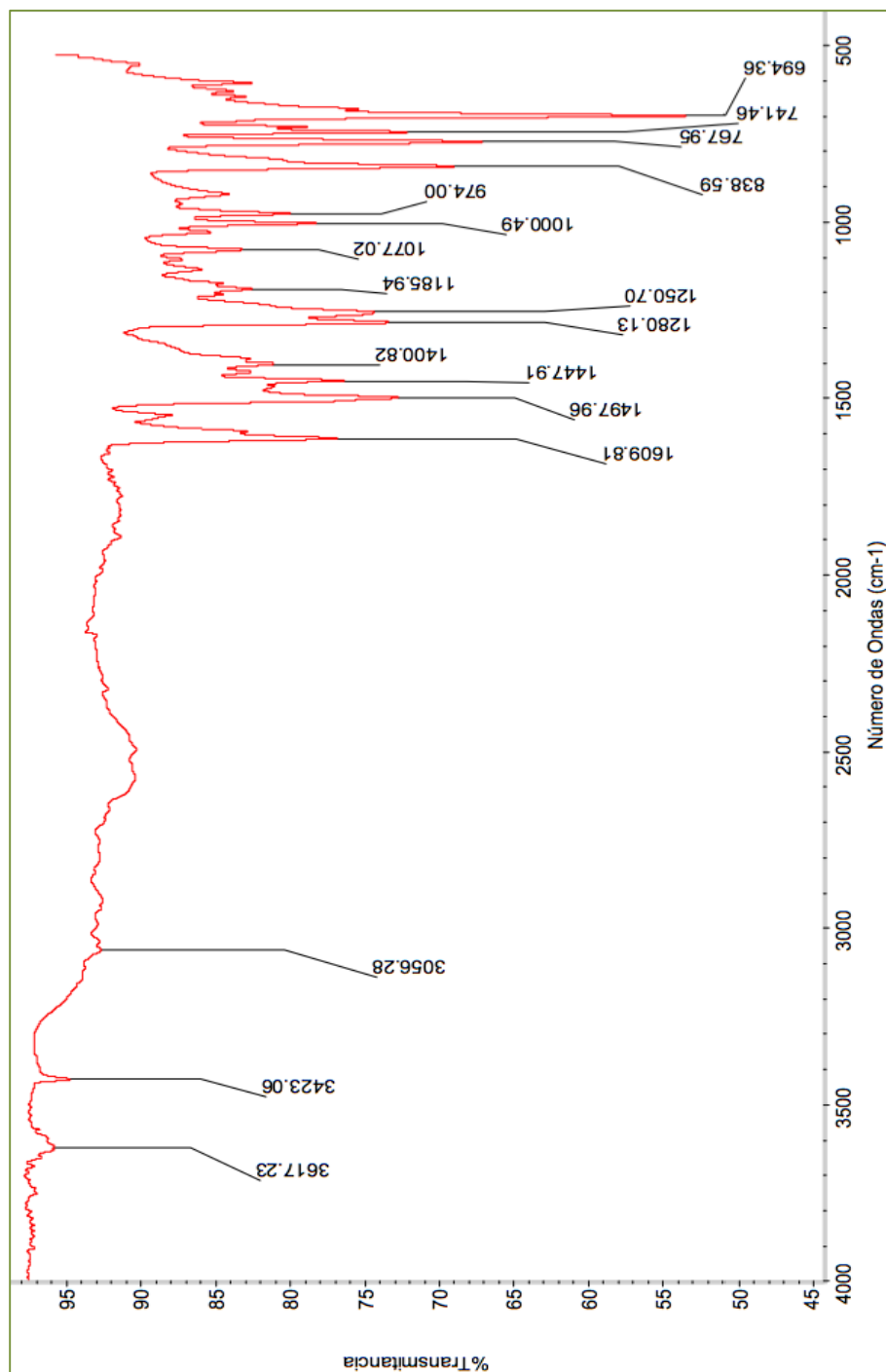
Fig. 54. Espectro de infrarrojo del compuesto (4)

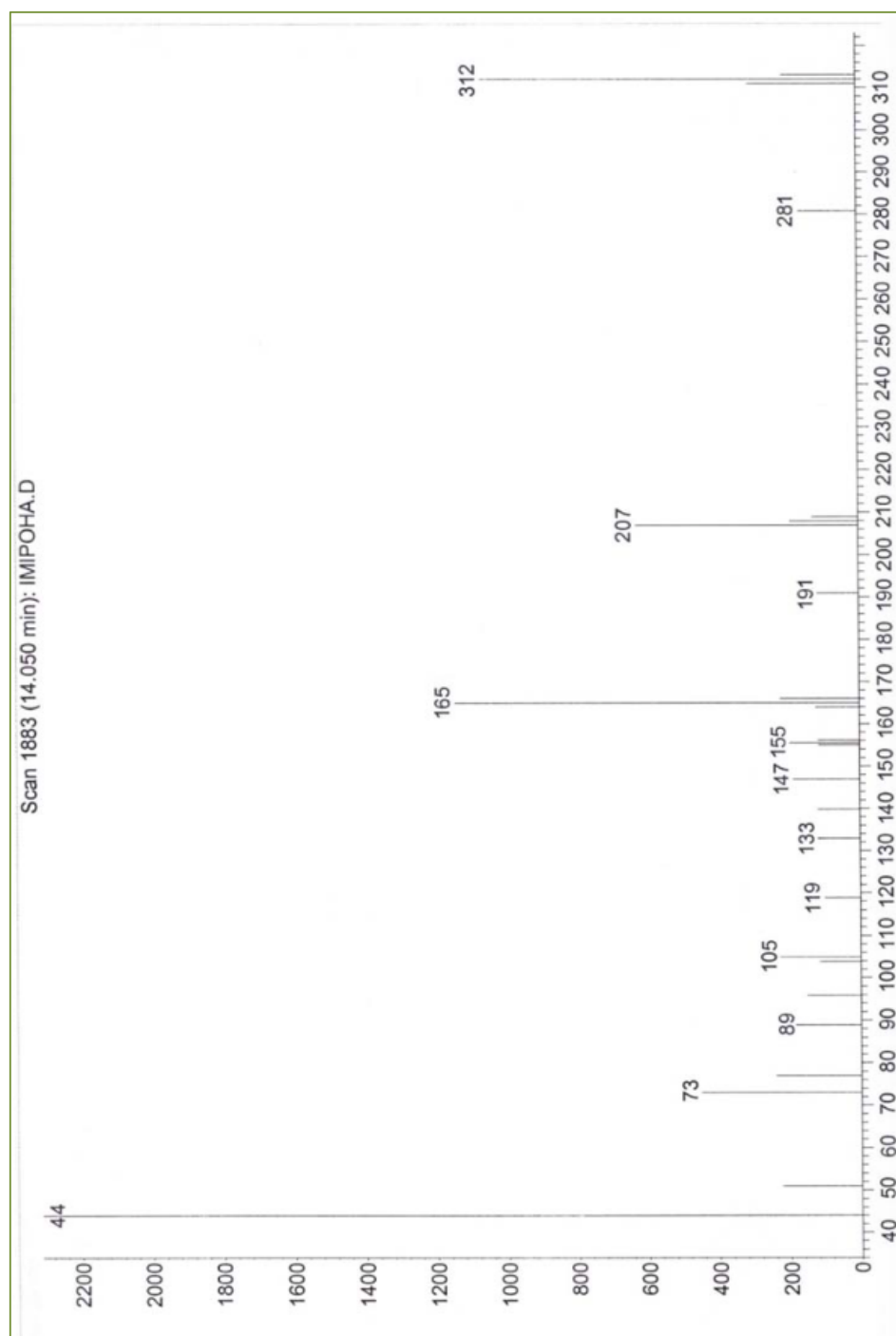
Fig. 55. Espectro de masas del compuesto (4)

Fig. 56. Espectro de RMN ^1H del compuesto (4)



Fig. 57. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (4)

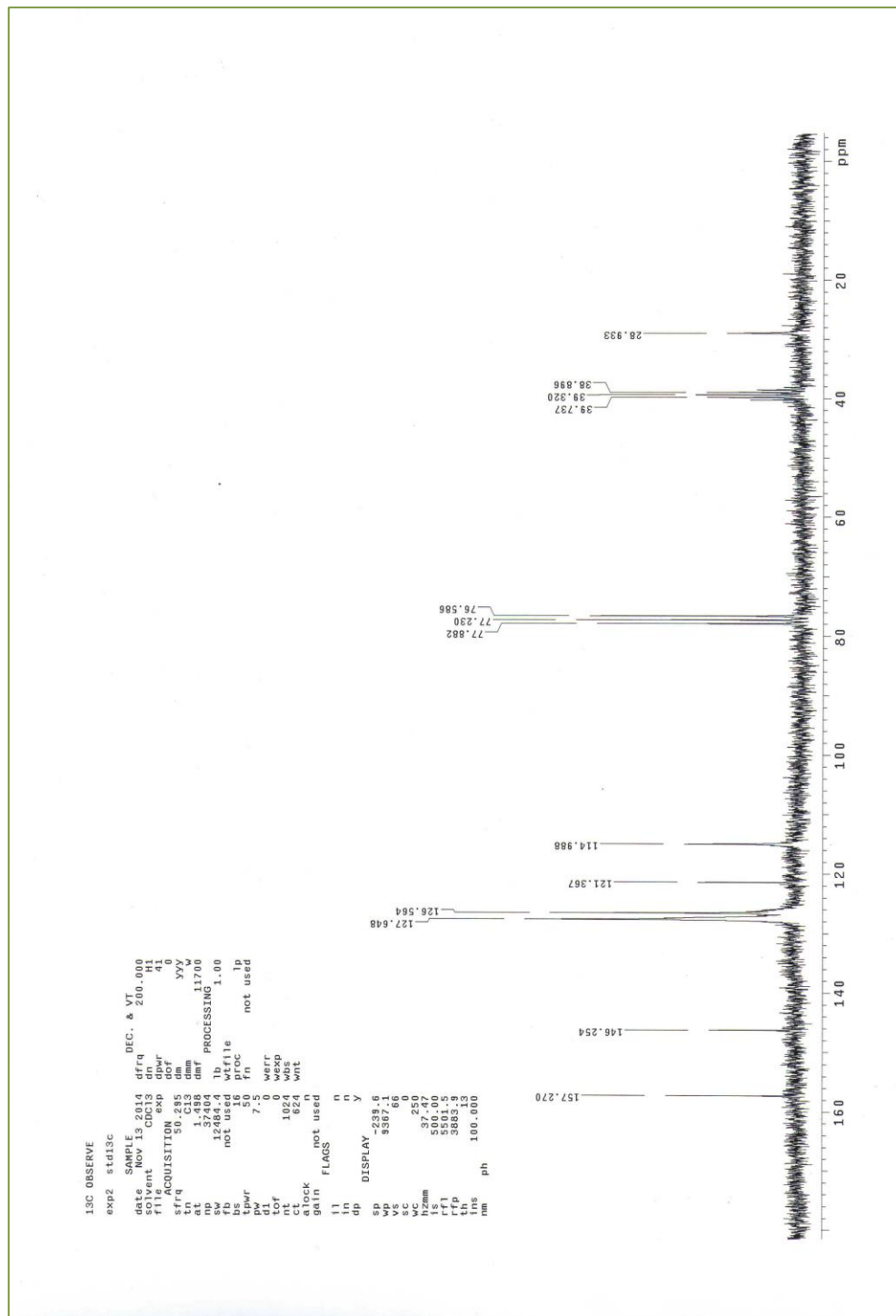


Fig. 58. Espectro de infrarrojo del compuesto (5)

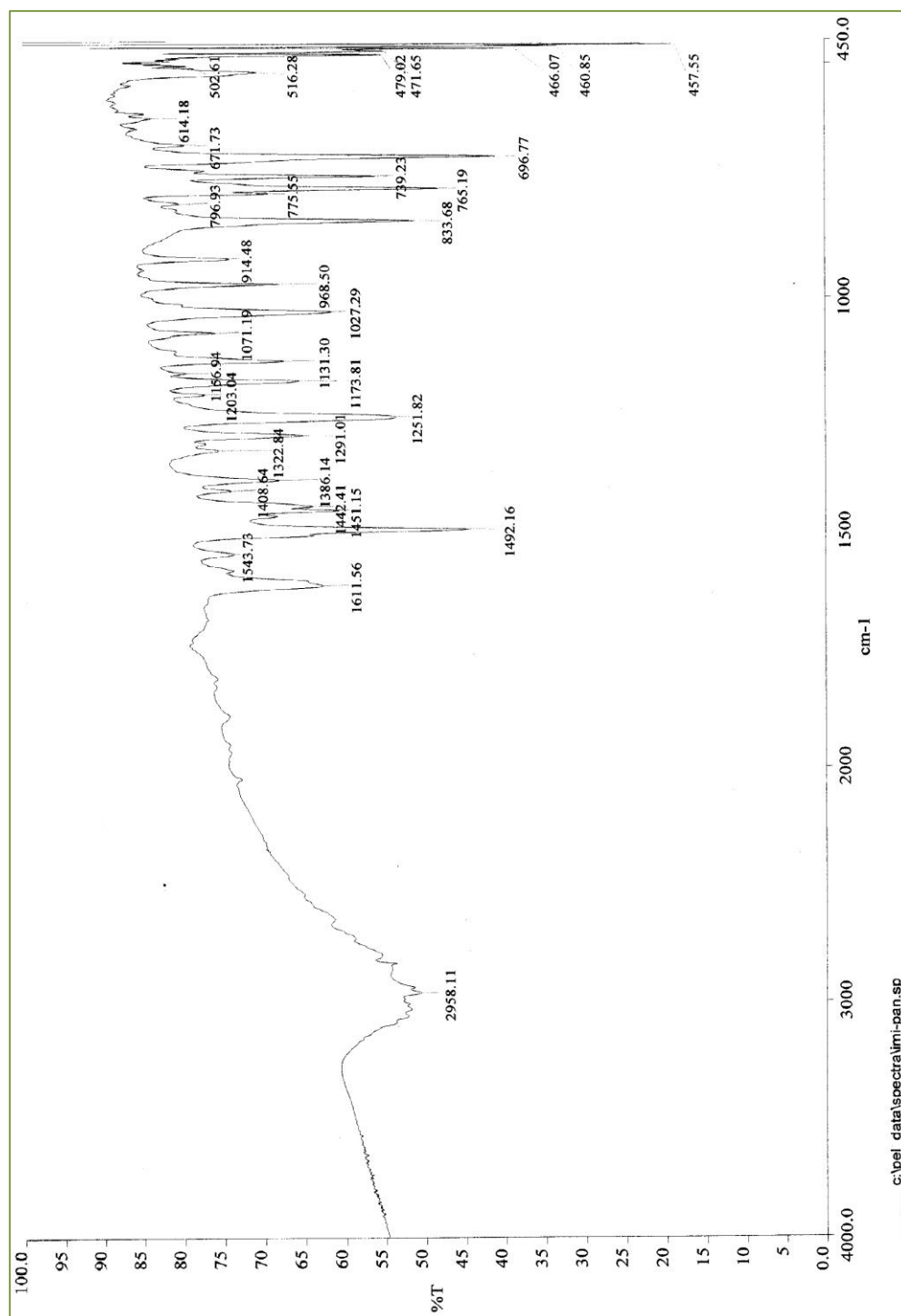


Fig. 59. Espectro de masas del compuesto (5)

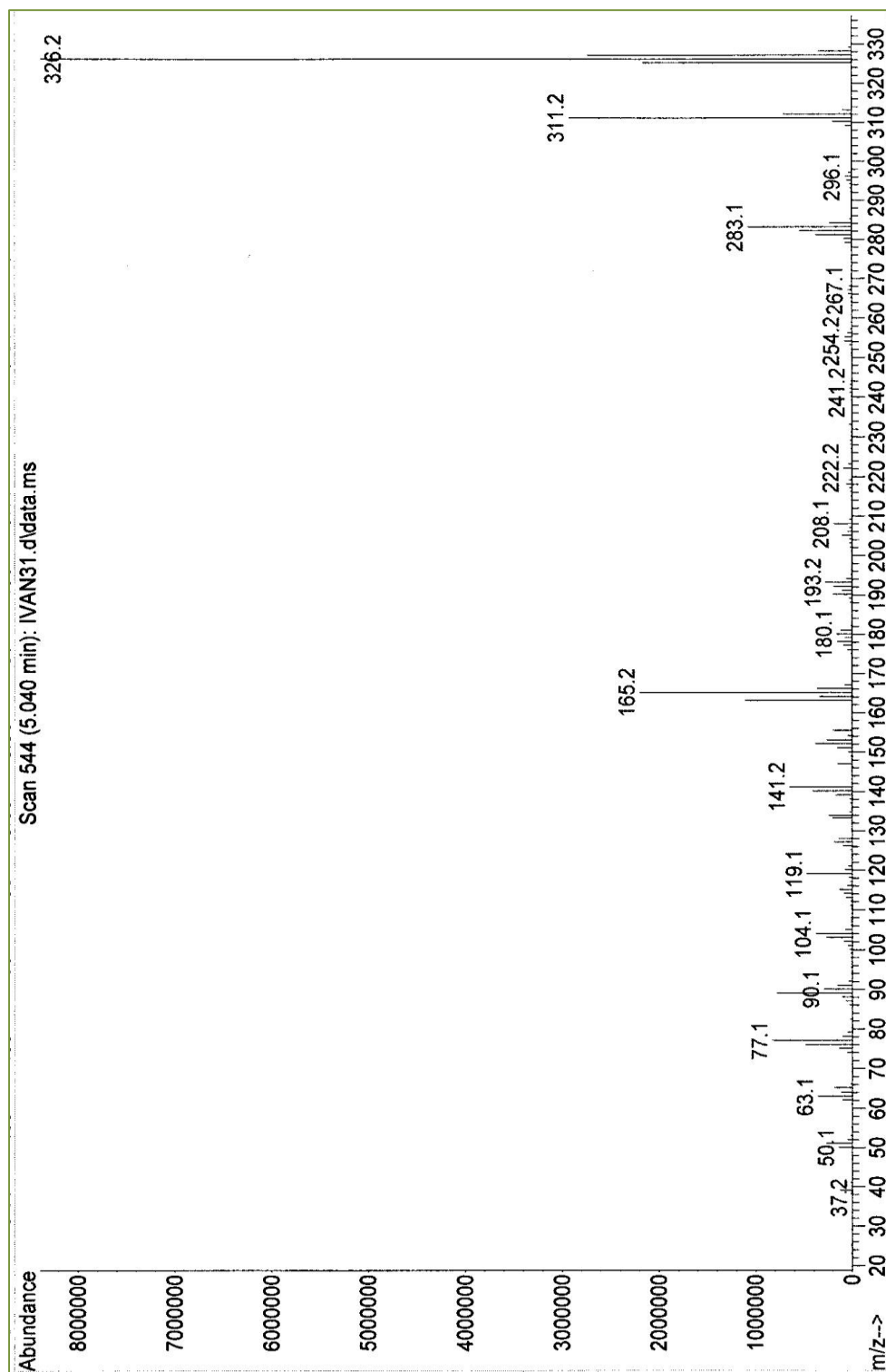


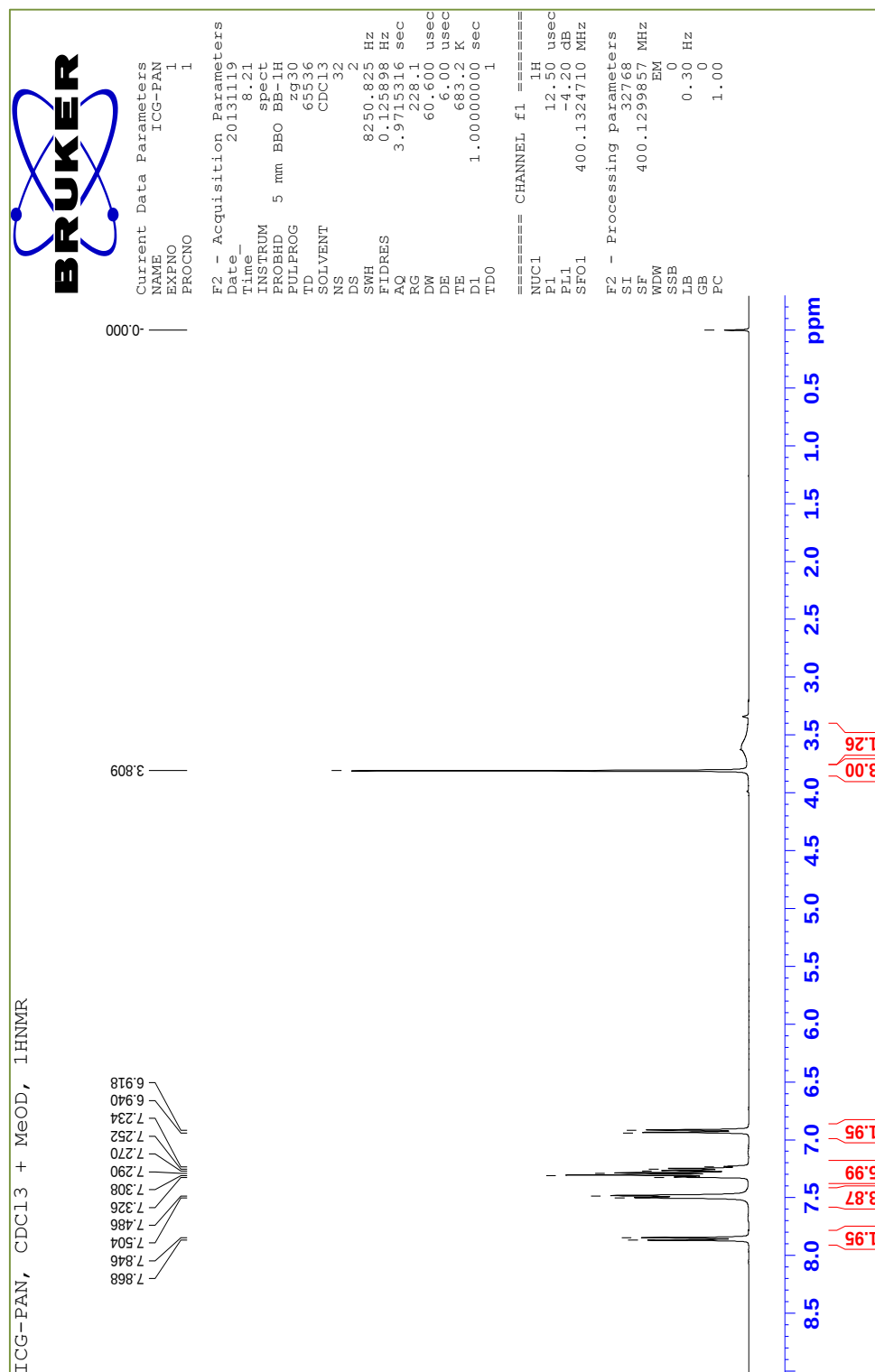
Fig. 60. Espectro de RMN ^1H del compuesto (5)

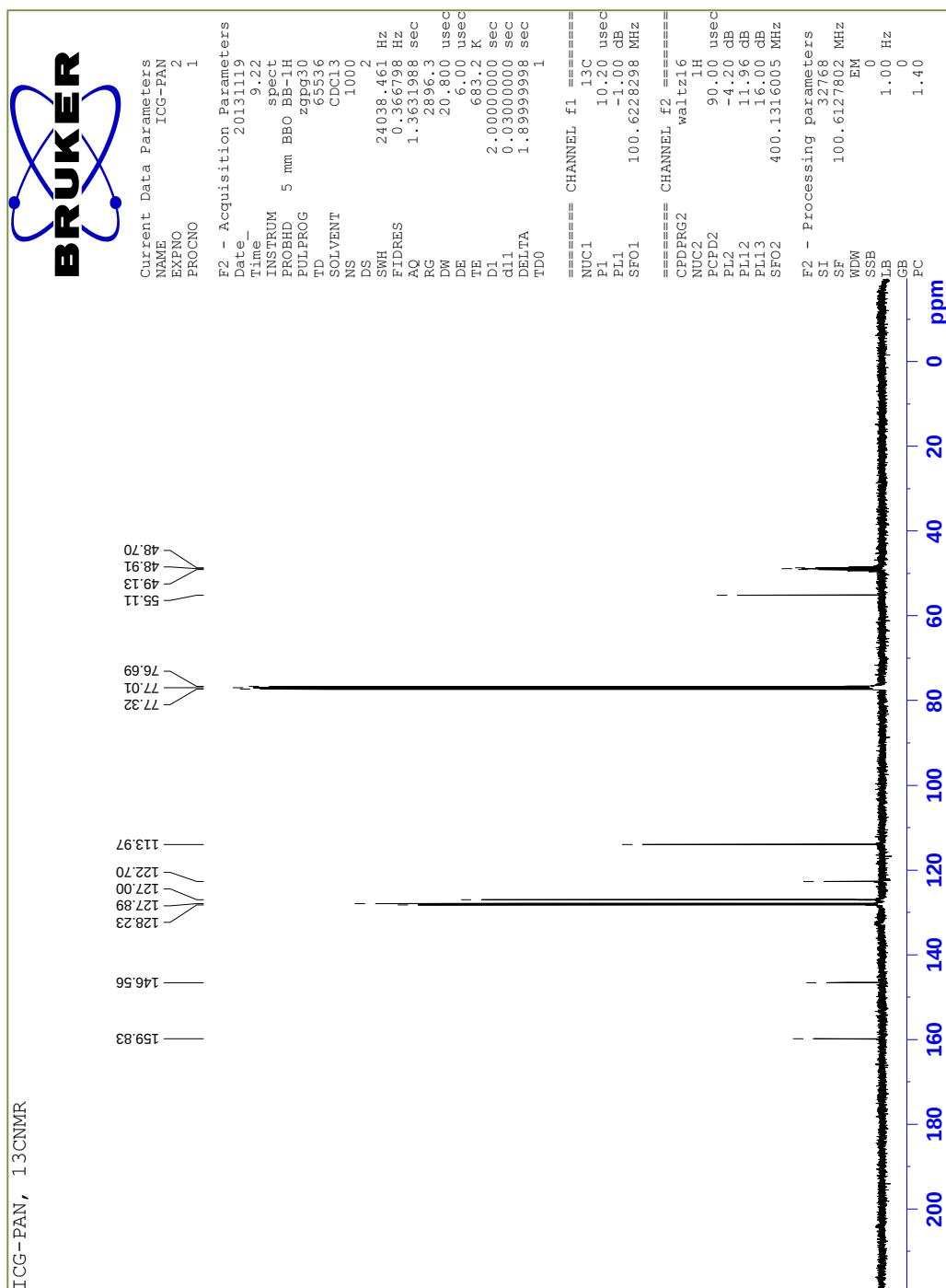
Fig. 61. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (5)

Fig. 62. Espectro de infrarrojo del compuesto (6)

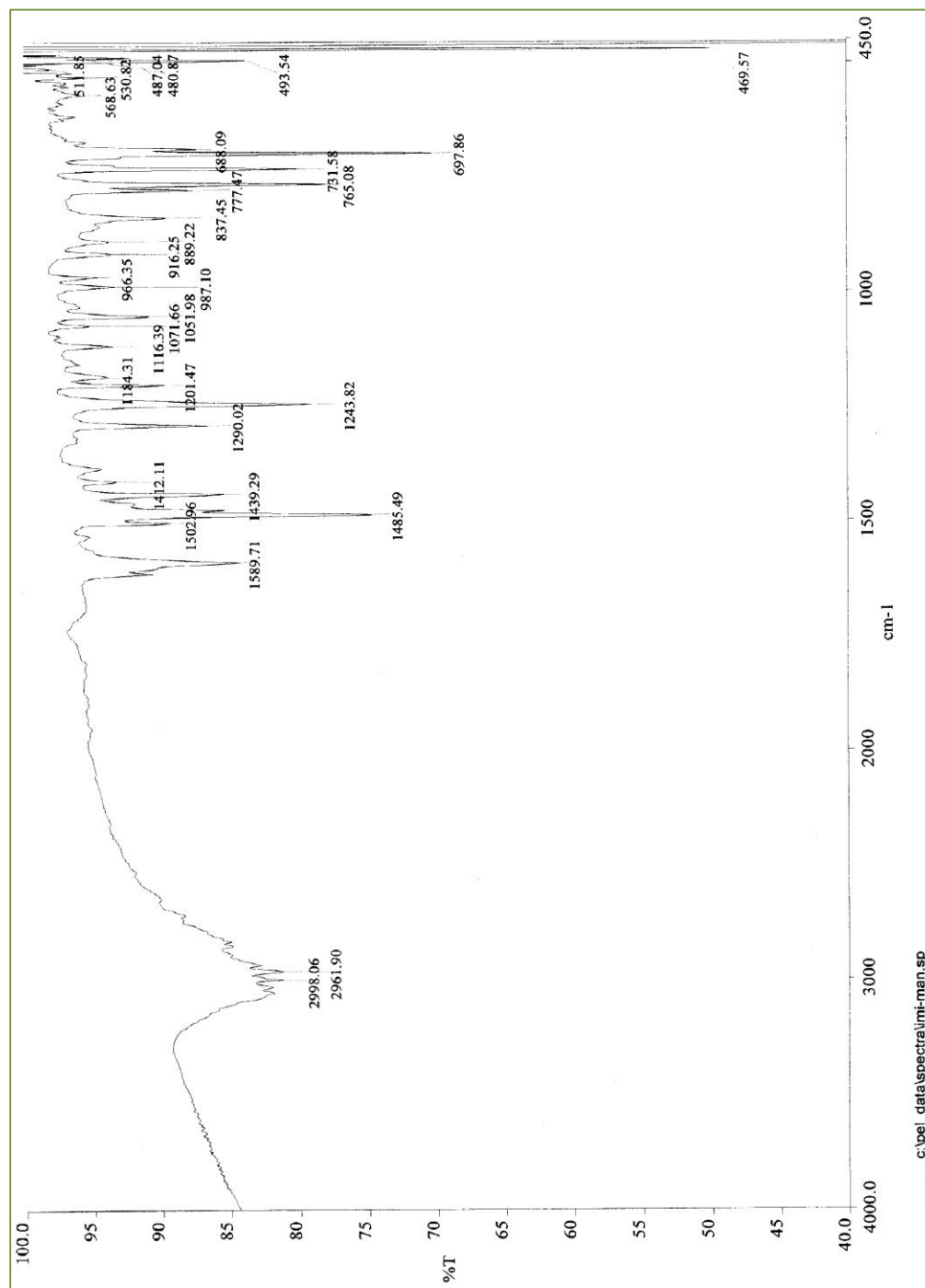


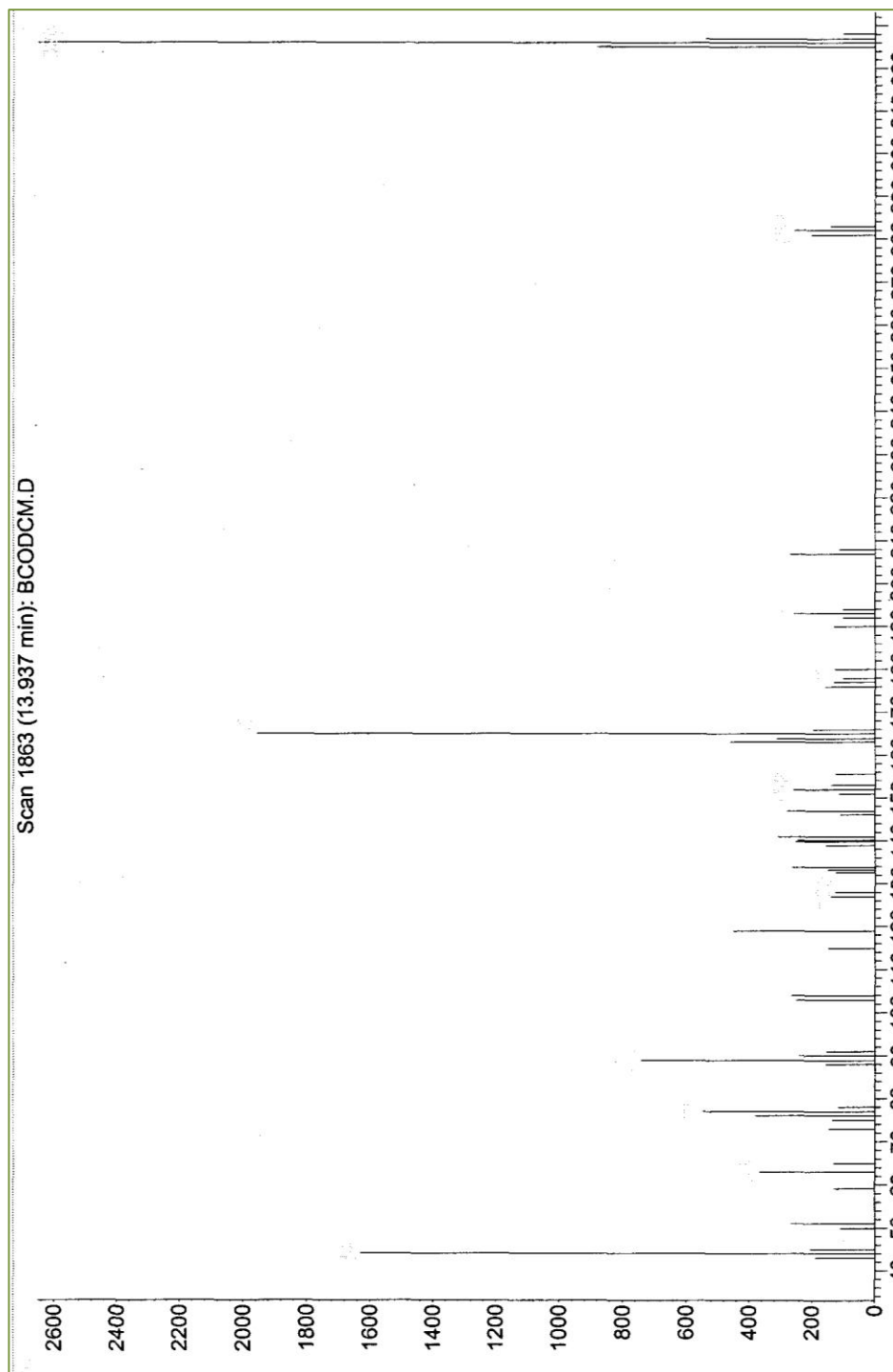
Fig. 63. Espectro de masas del compuesto (6)

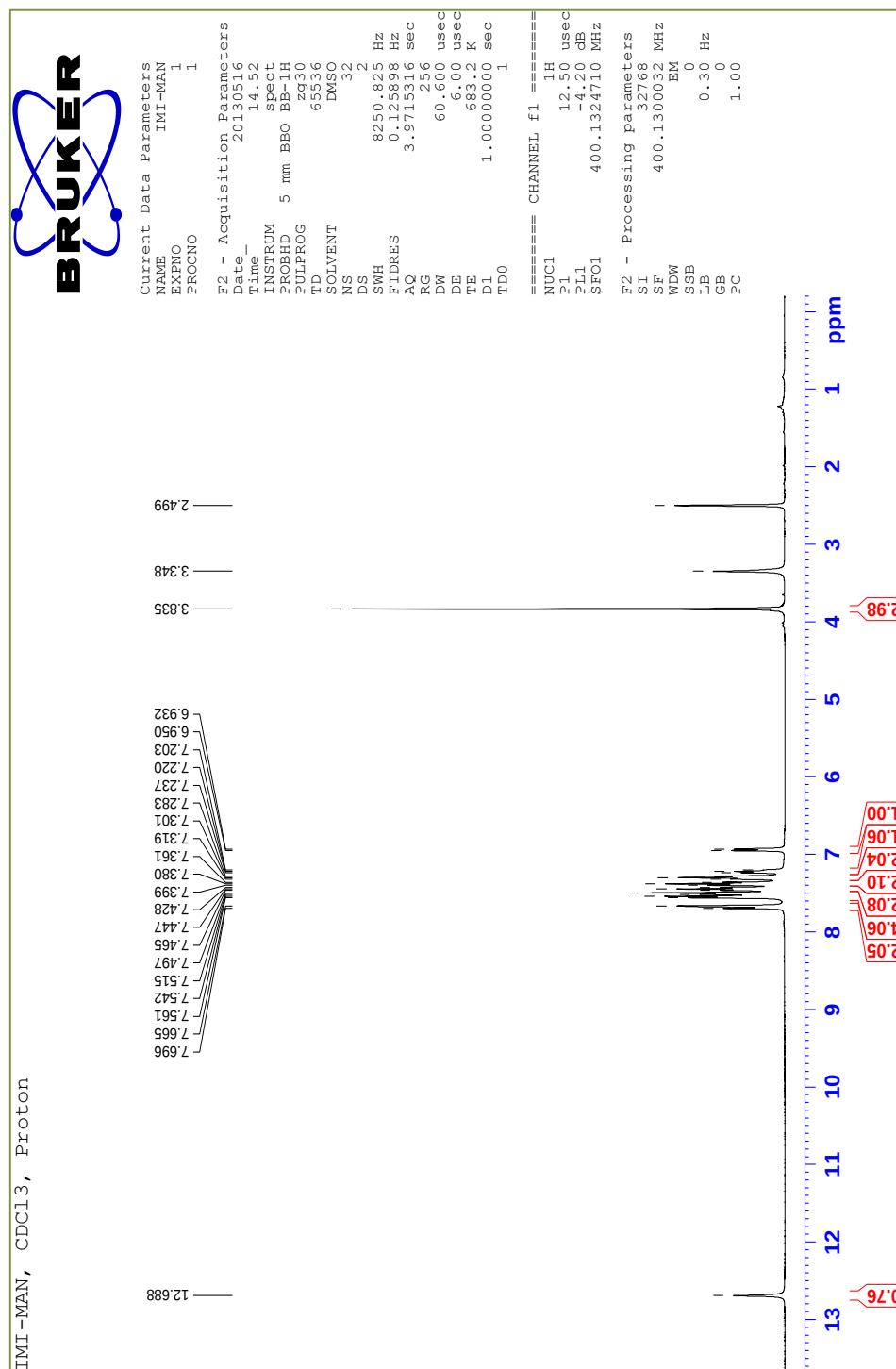
Fig. 64. Espectro de RMN ^1H del compuesto (6)

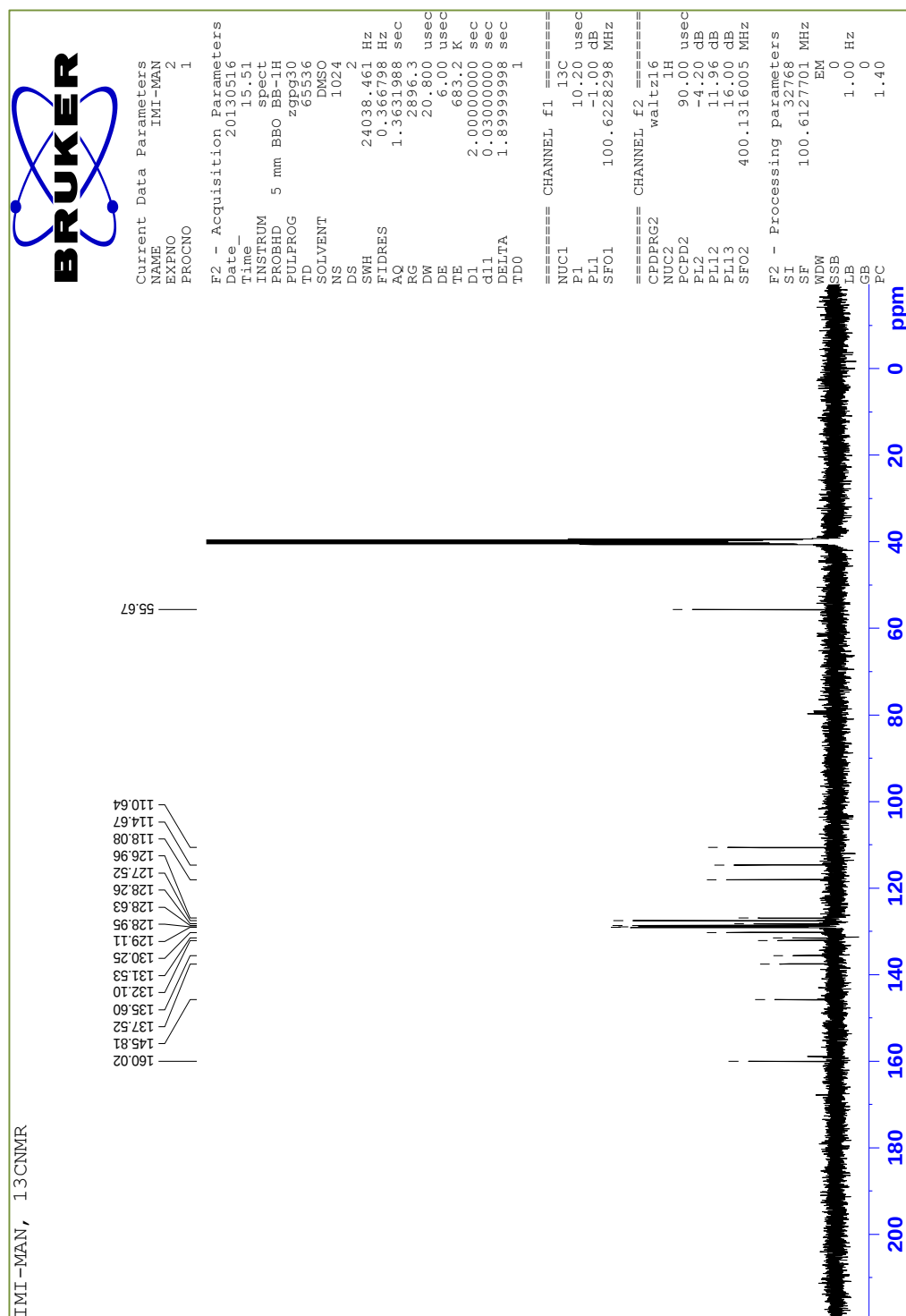
Fig. 65. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (6)

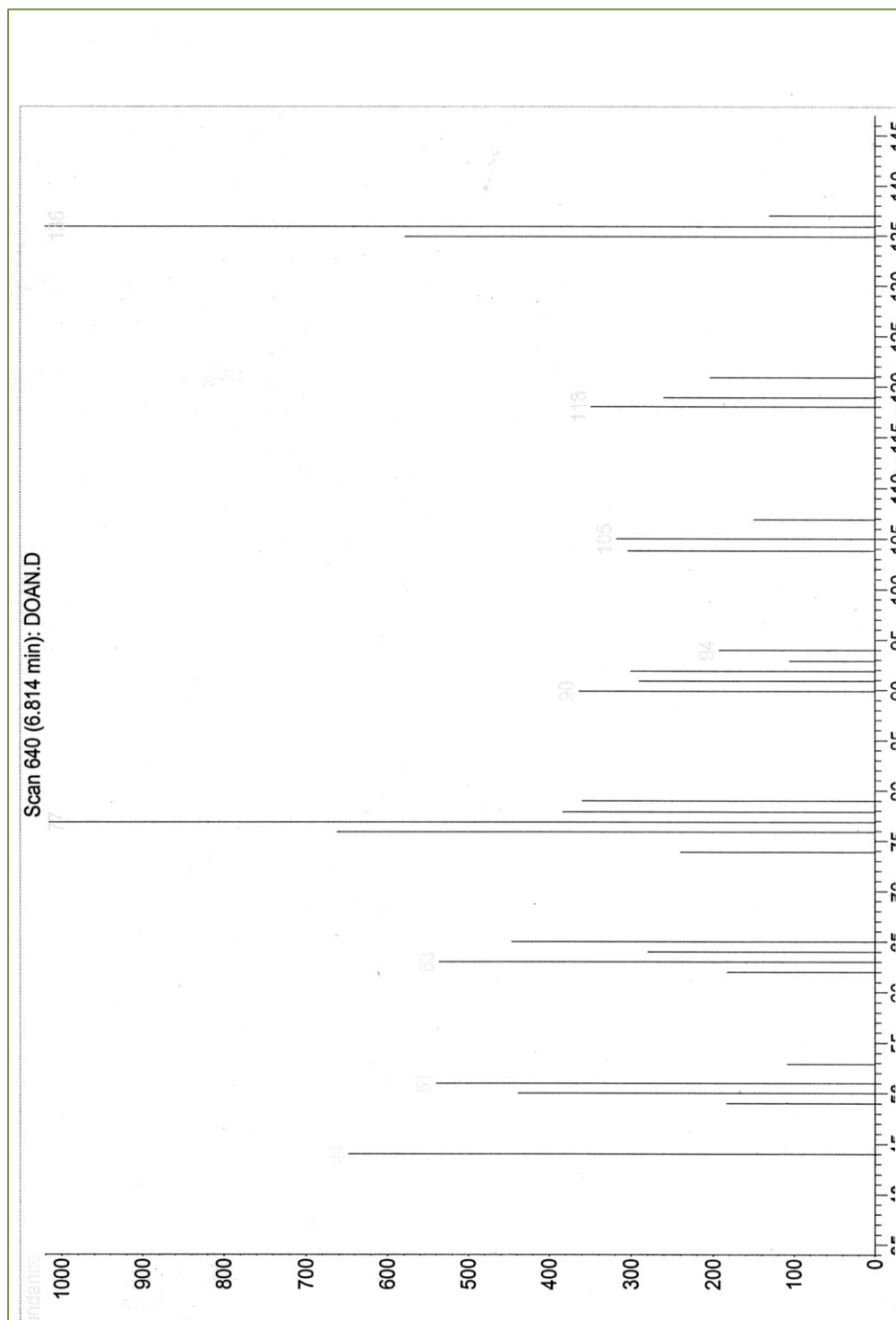
Fig. 66. Espectro de masas del compuesto (7)

Fig. 67. Espectro de infrarrojo del compuesto (8)

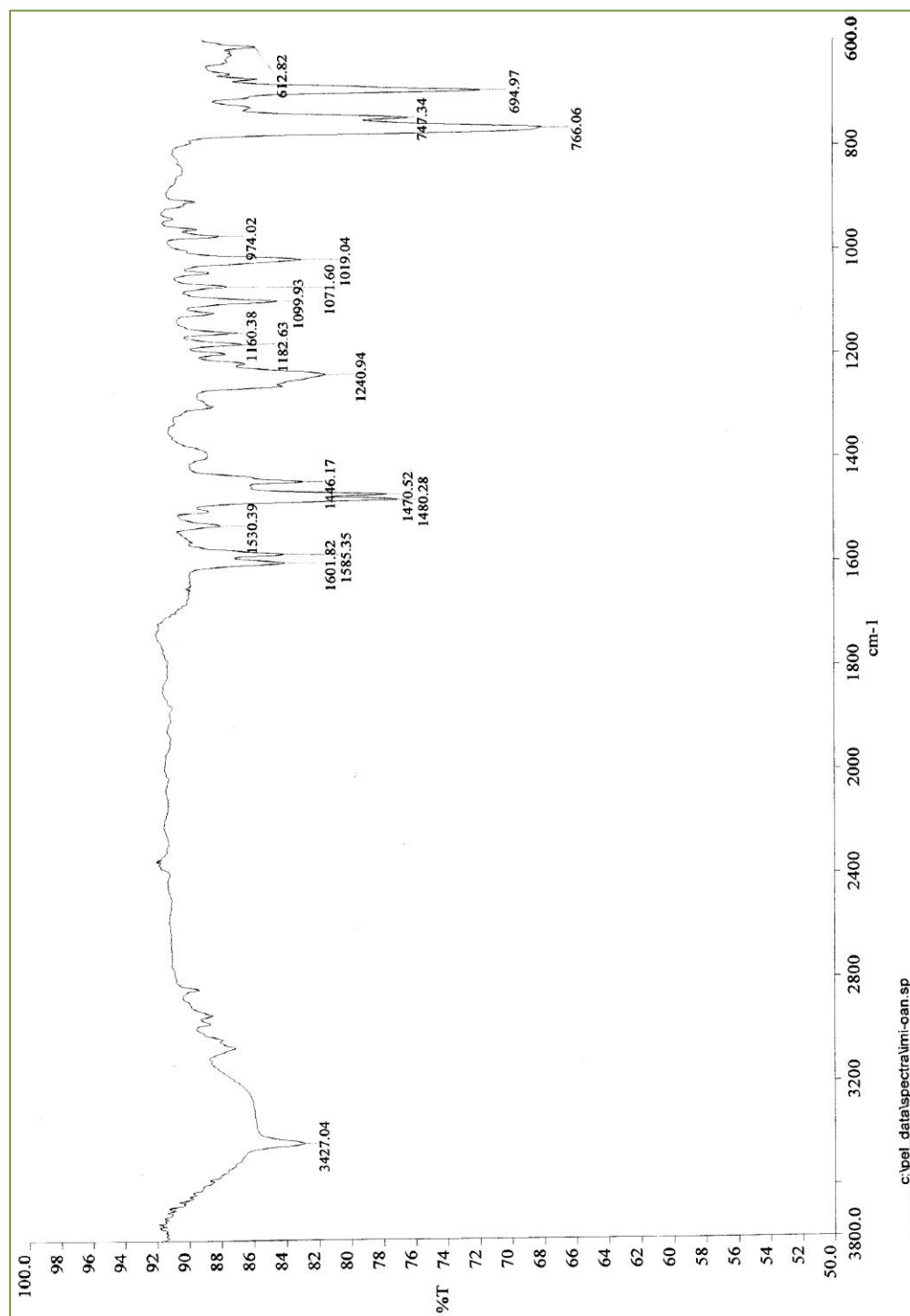


Fig. 68. Espectro de masas del compuesto (8)

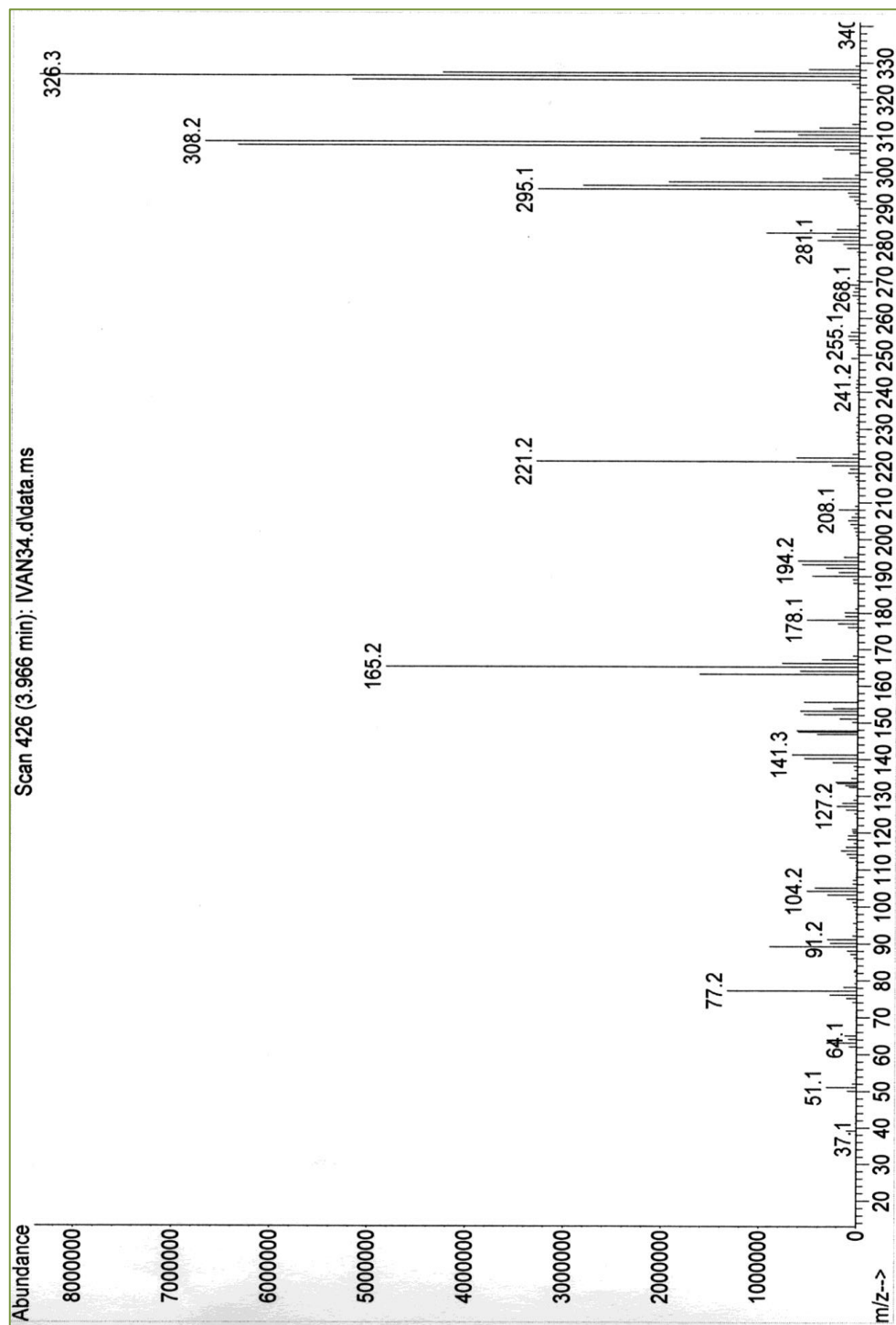


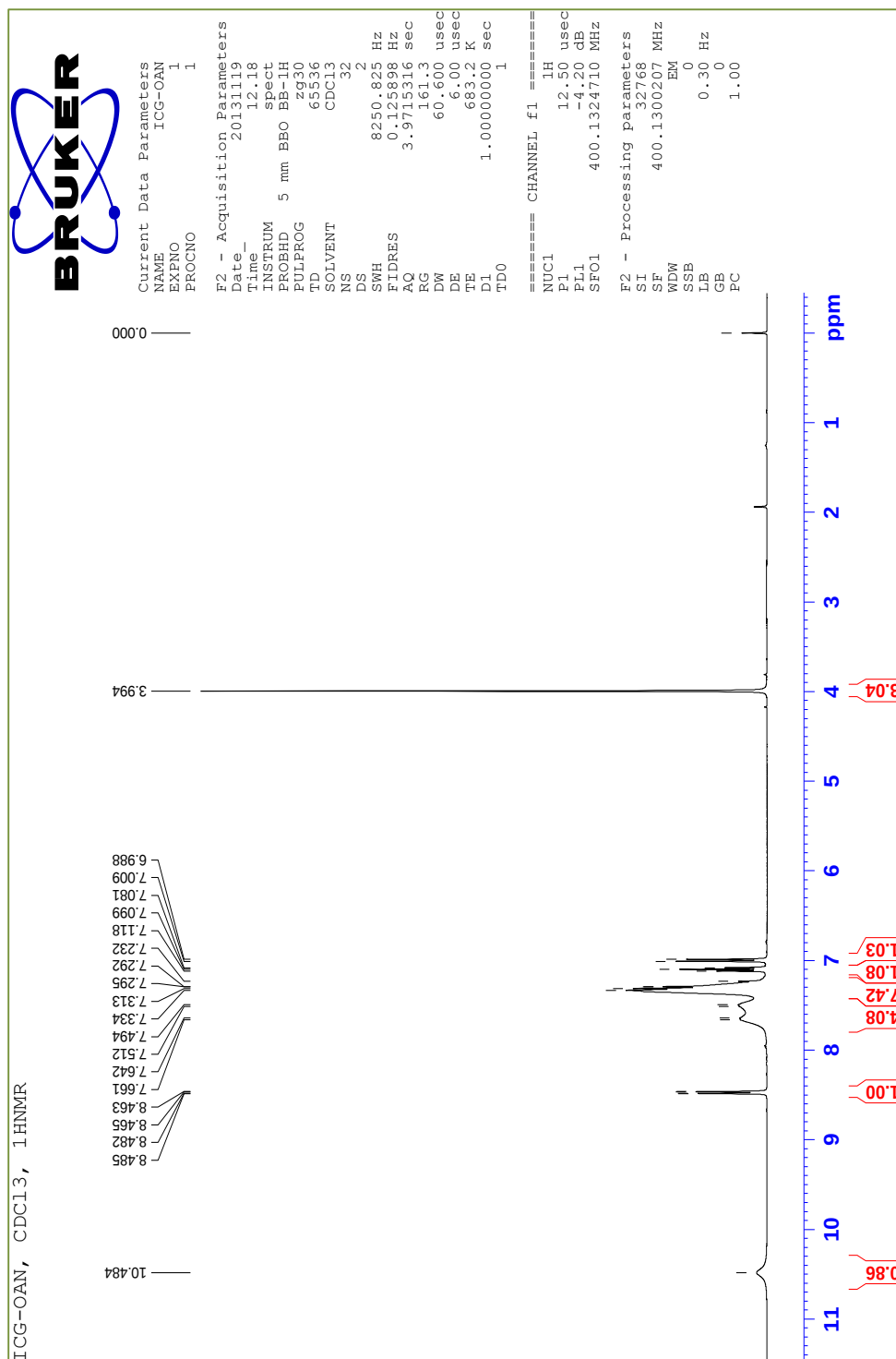
Fig. 69. Espectro de RMN ^1H del compuesto (8)

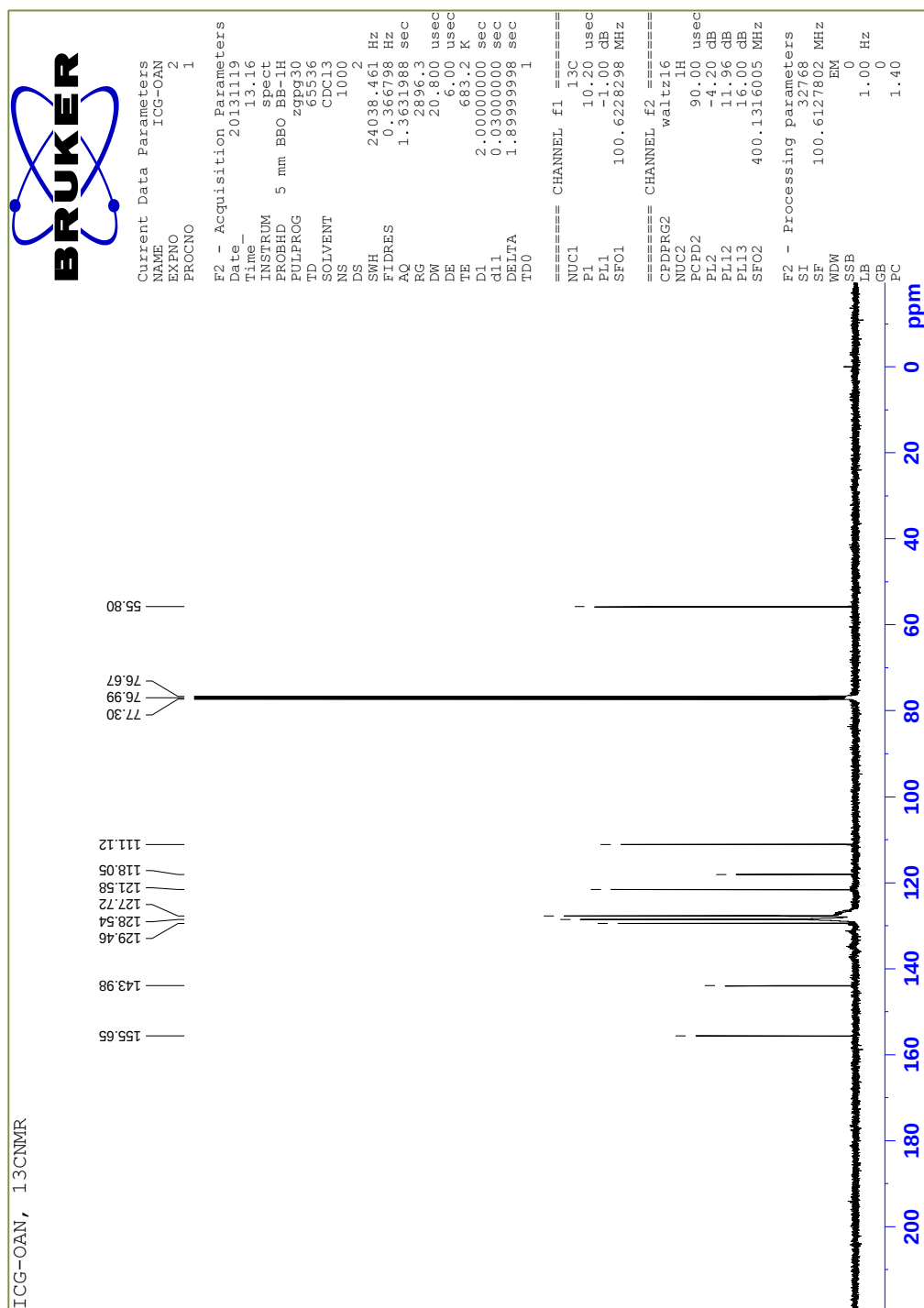
Fig. 70. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (8)

Fig. 71. Espectro de infrarrojo del compuesto (9)

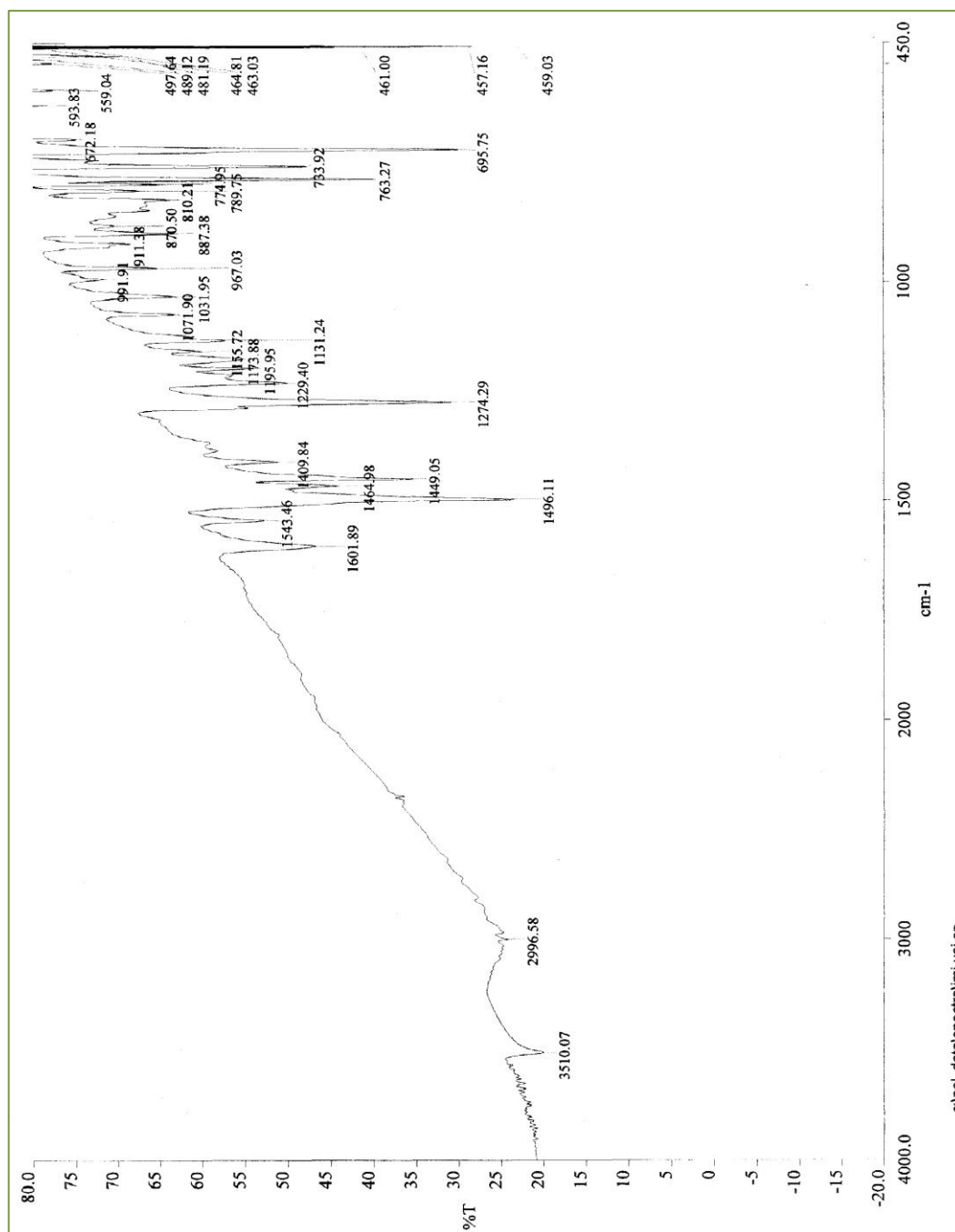


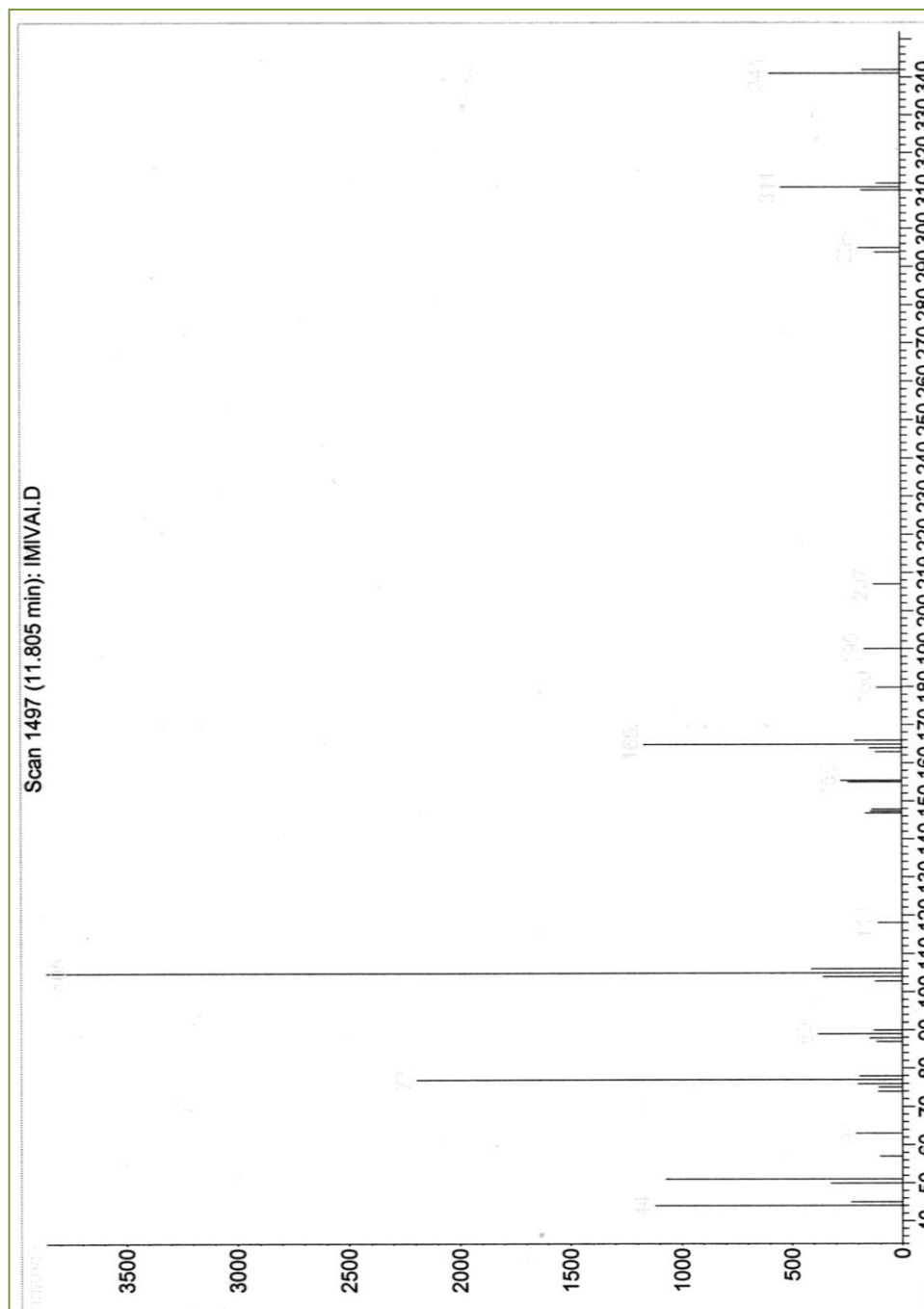
Fig. 72. Espectro de masas del compuesto (9)

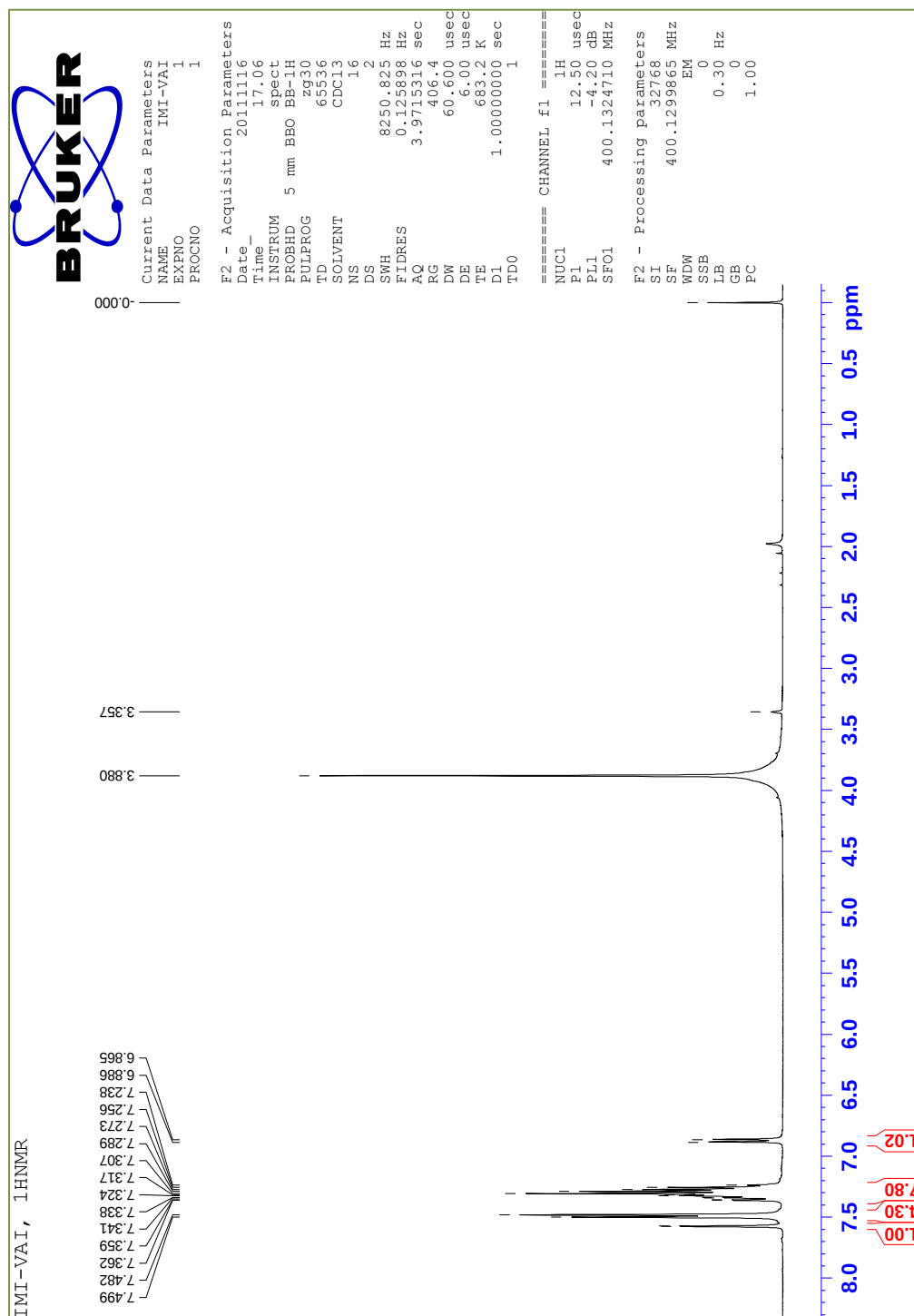
Fig. 73. Espectro de RMN ^1H del compuesto (9)

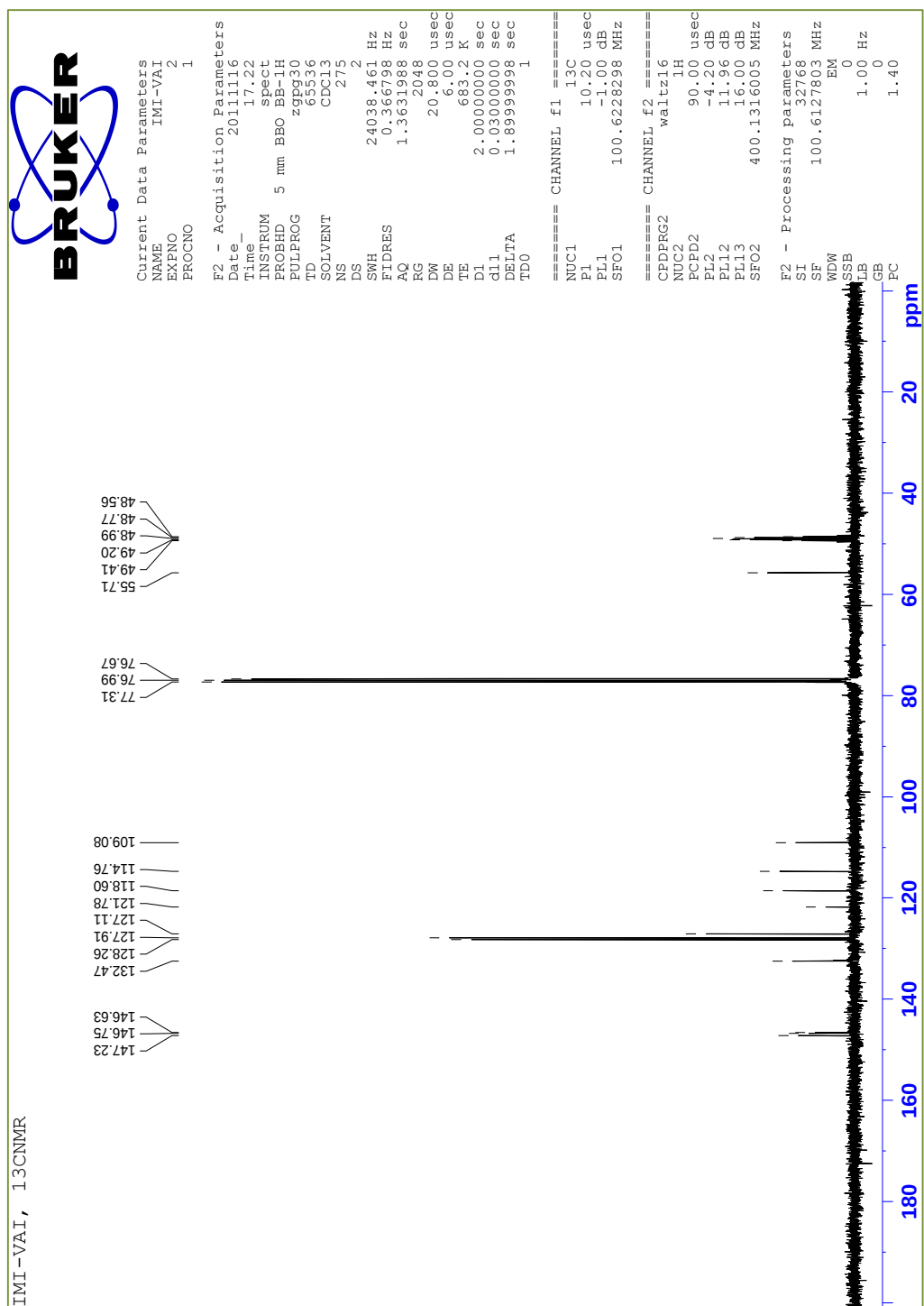
Fig. 74. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (9)

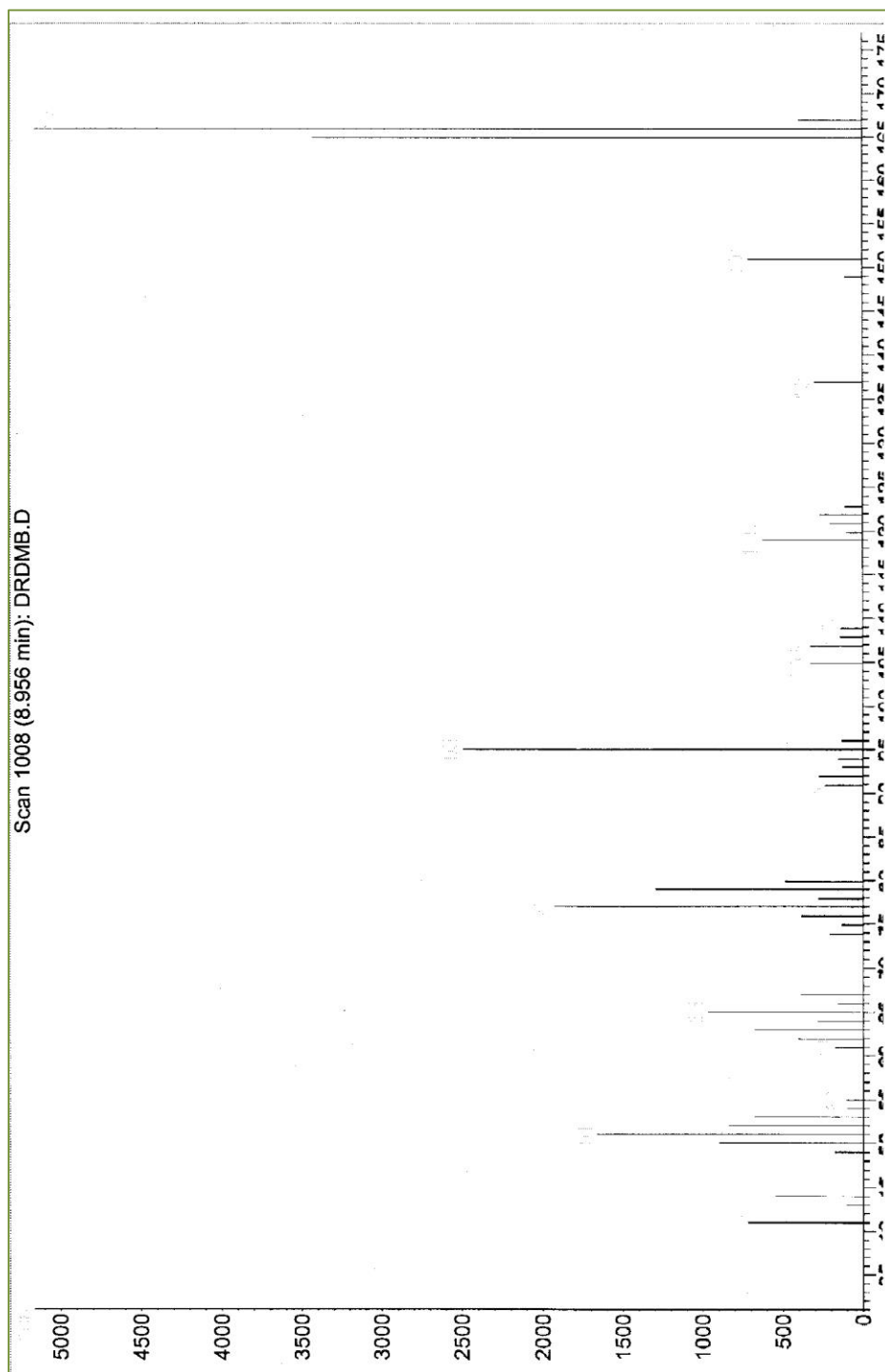
Fig. 75. Espectro de masas del compuesto (10)

Fig. 76. Espectro de infrarrojo del compuesto (11)

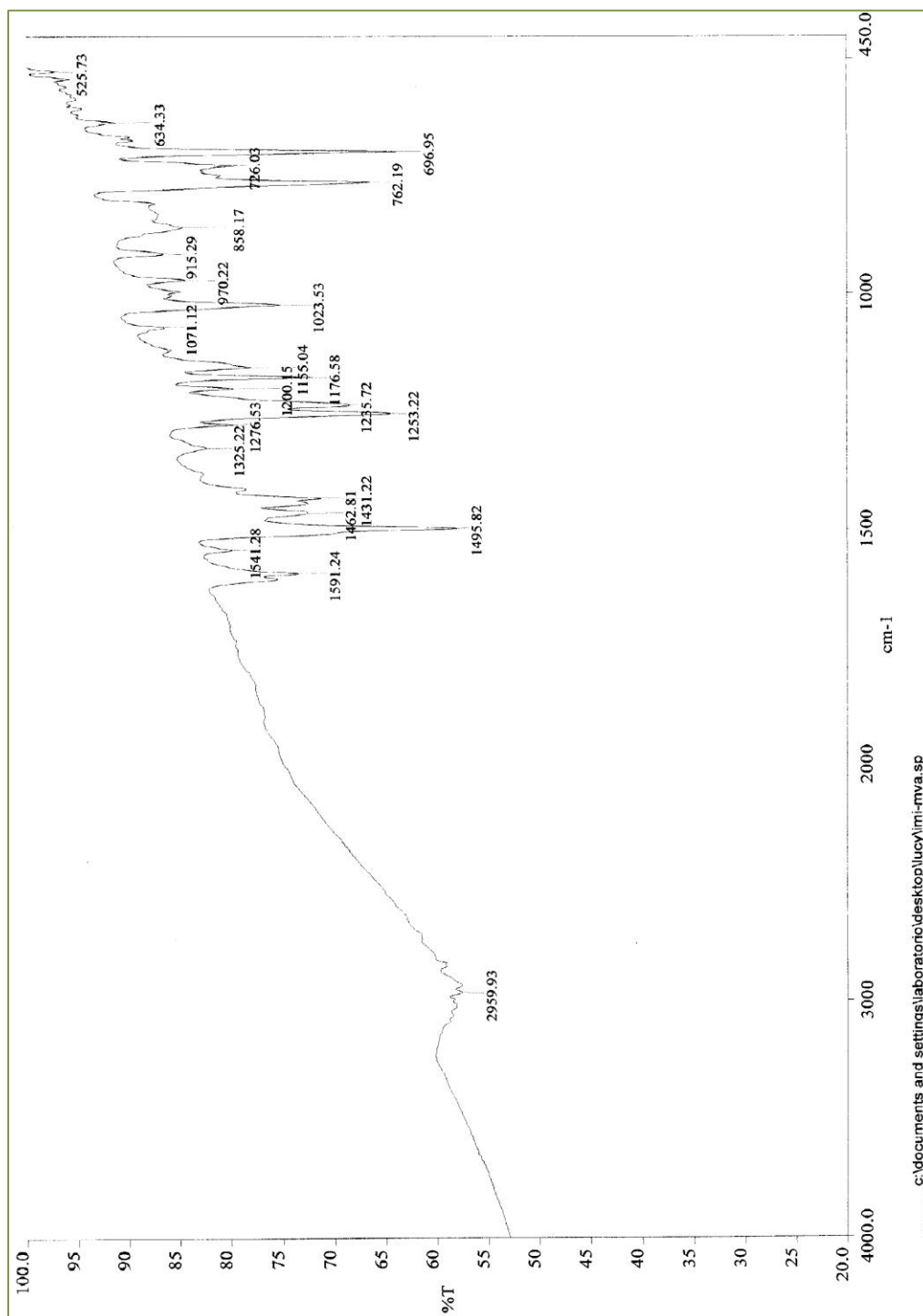


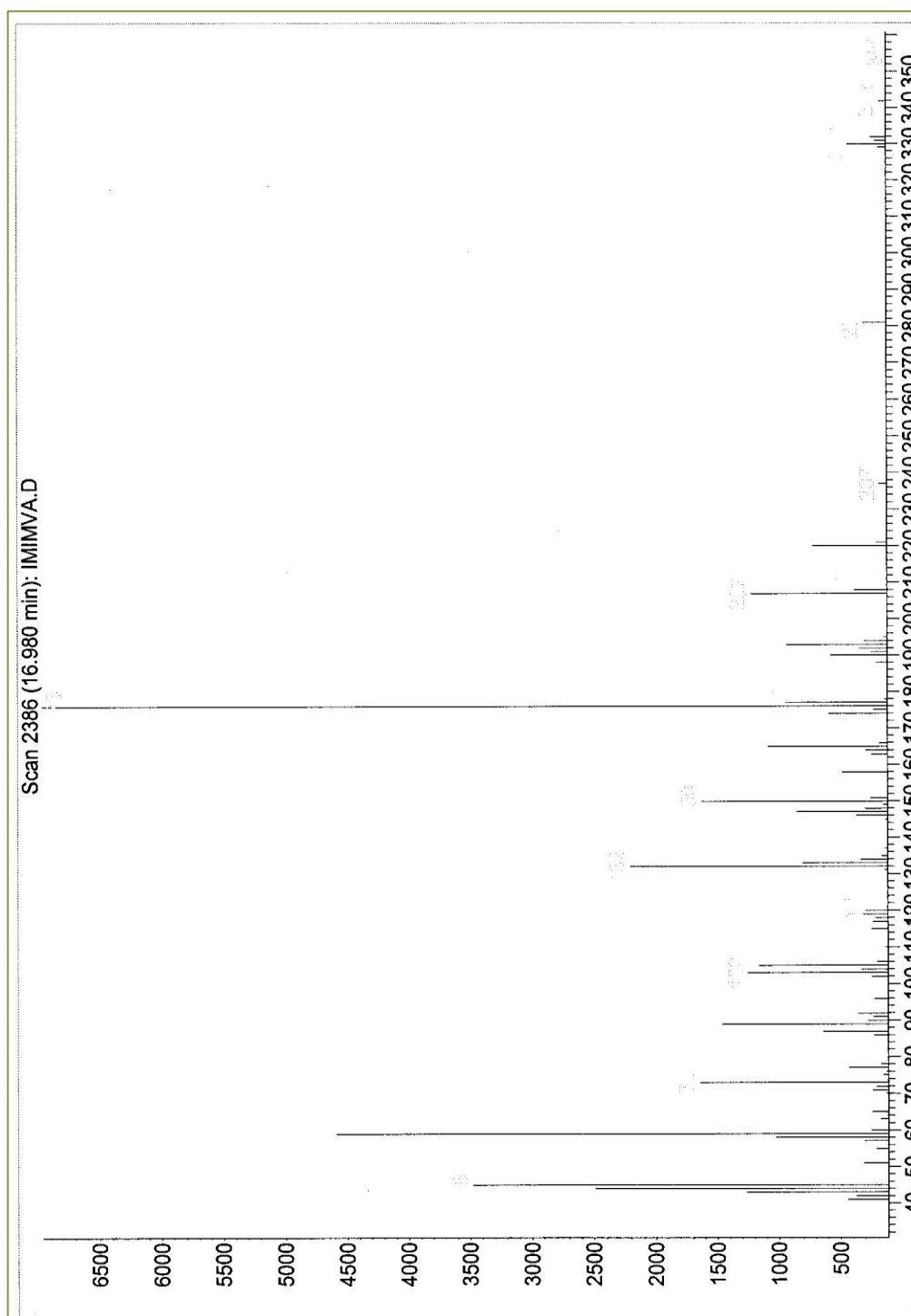
Fig. 77. Espectro de masas del compuesto (11)

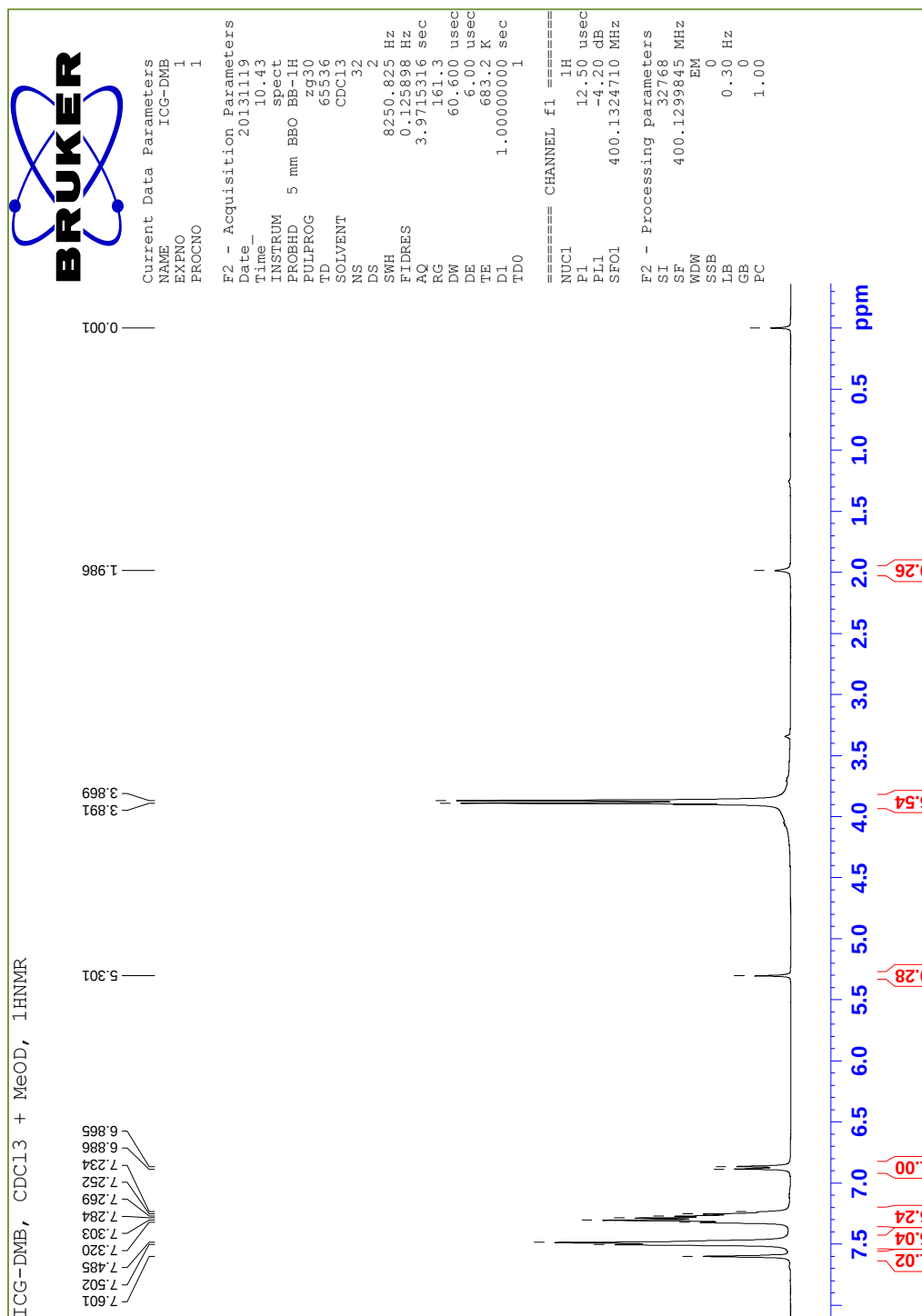
Fig. 78. Espectro de RMN ^1H del compuesto (11)

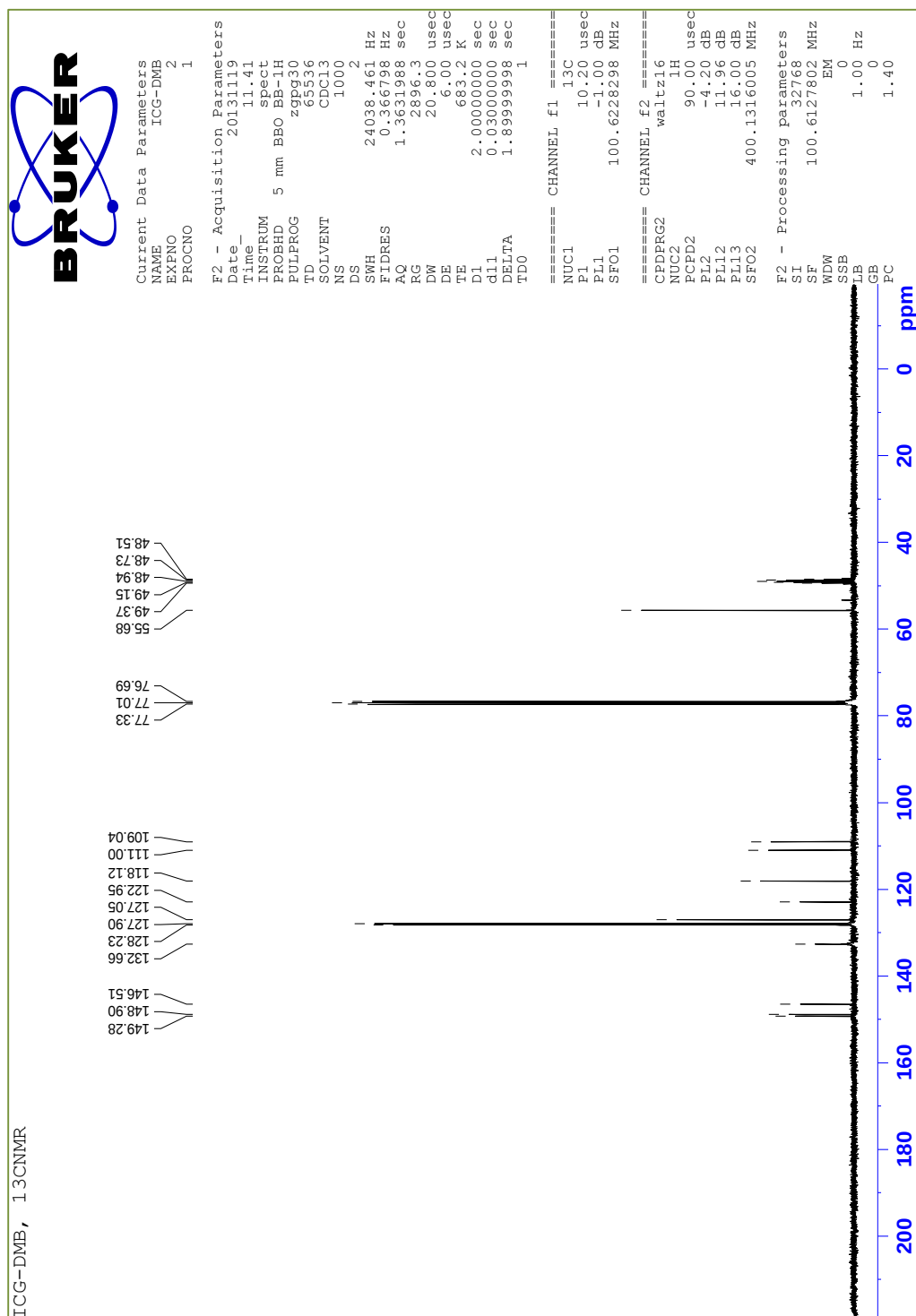
Fig. 79. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (11)

Fig. 80. Espectro de infrarrojo del compuesto (12)

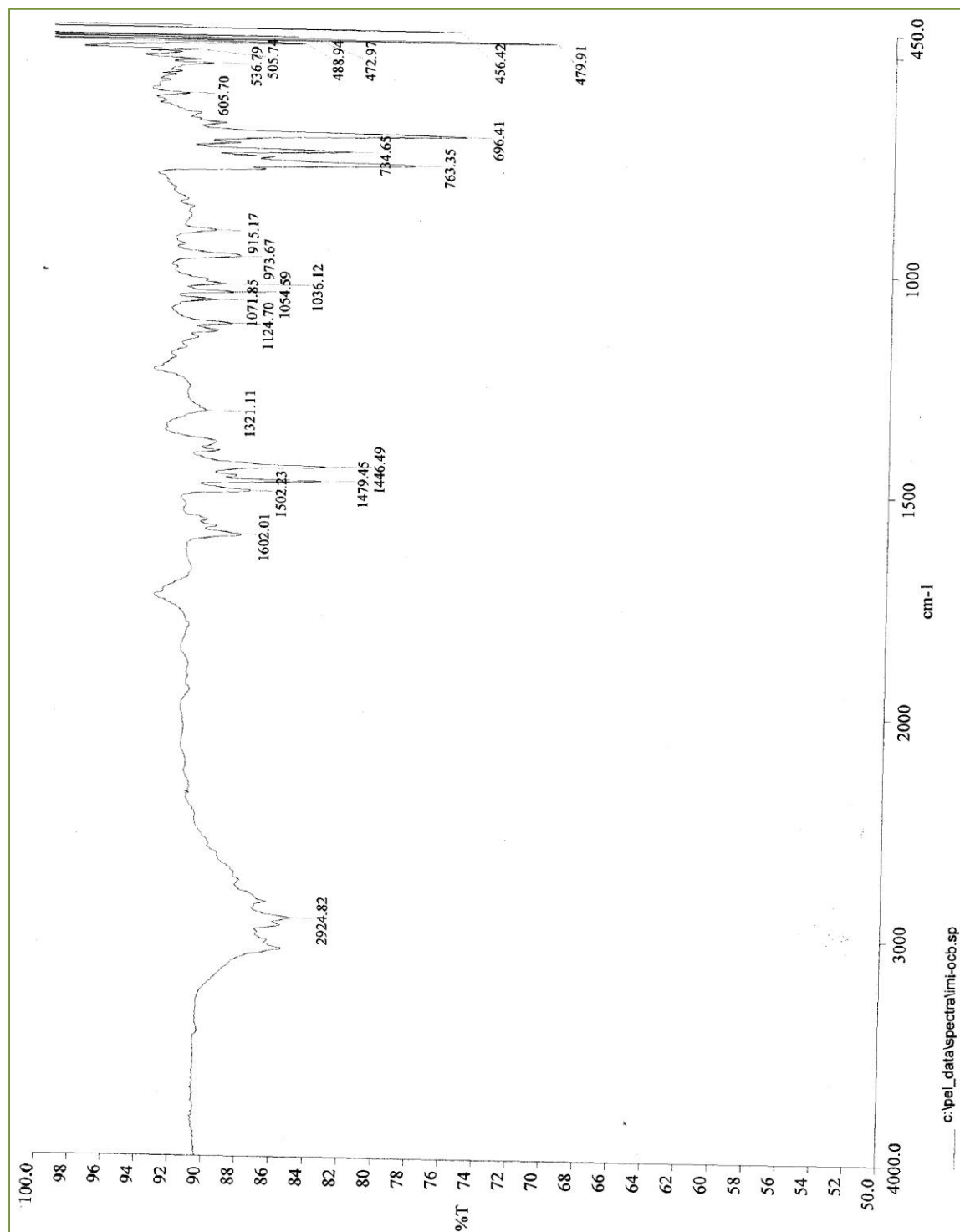


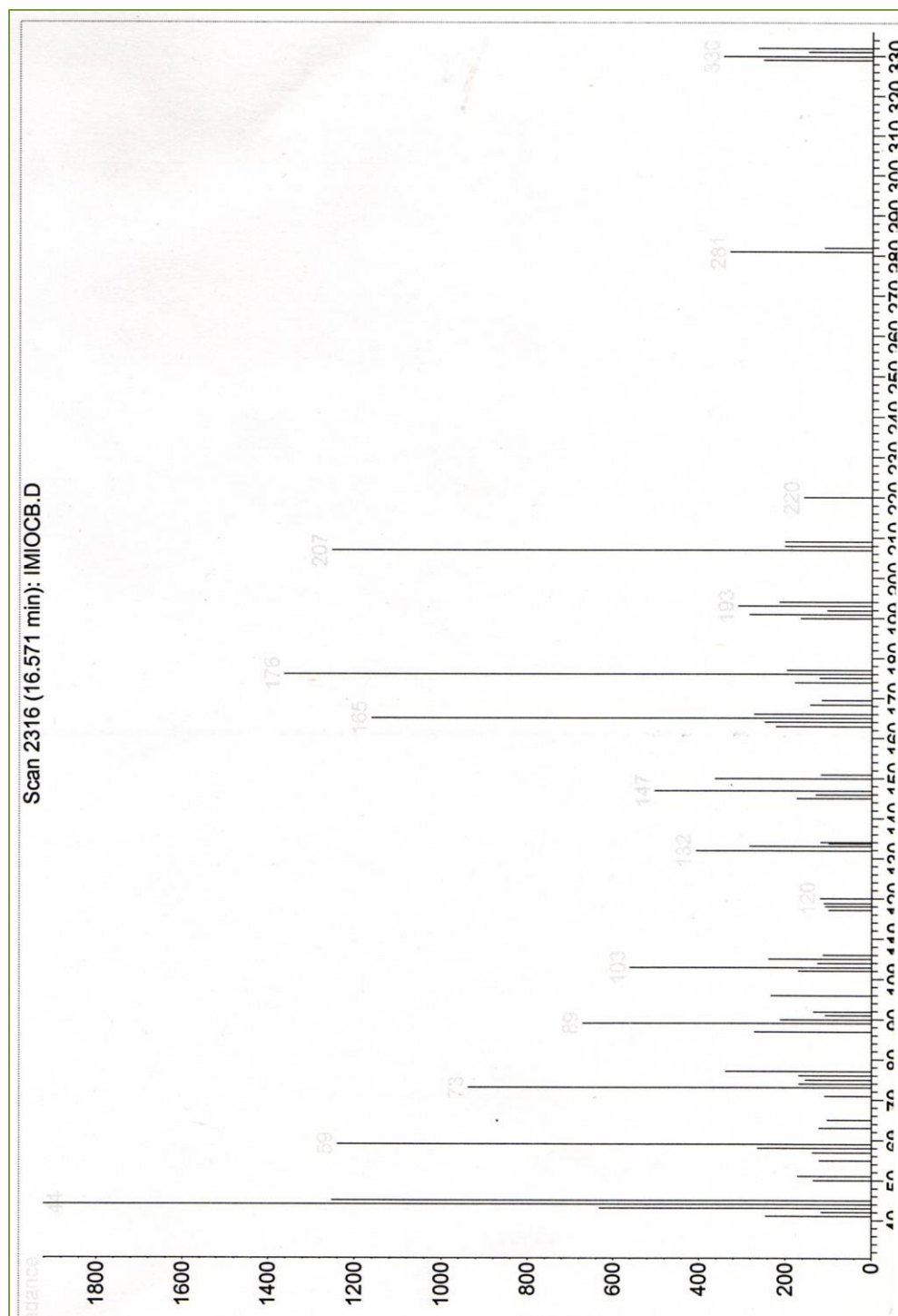
Fig. 81. Espectro de masas del compuesto (12)

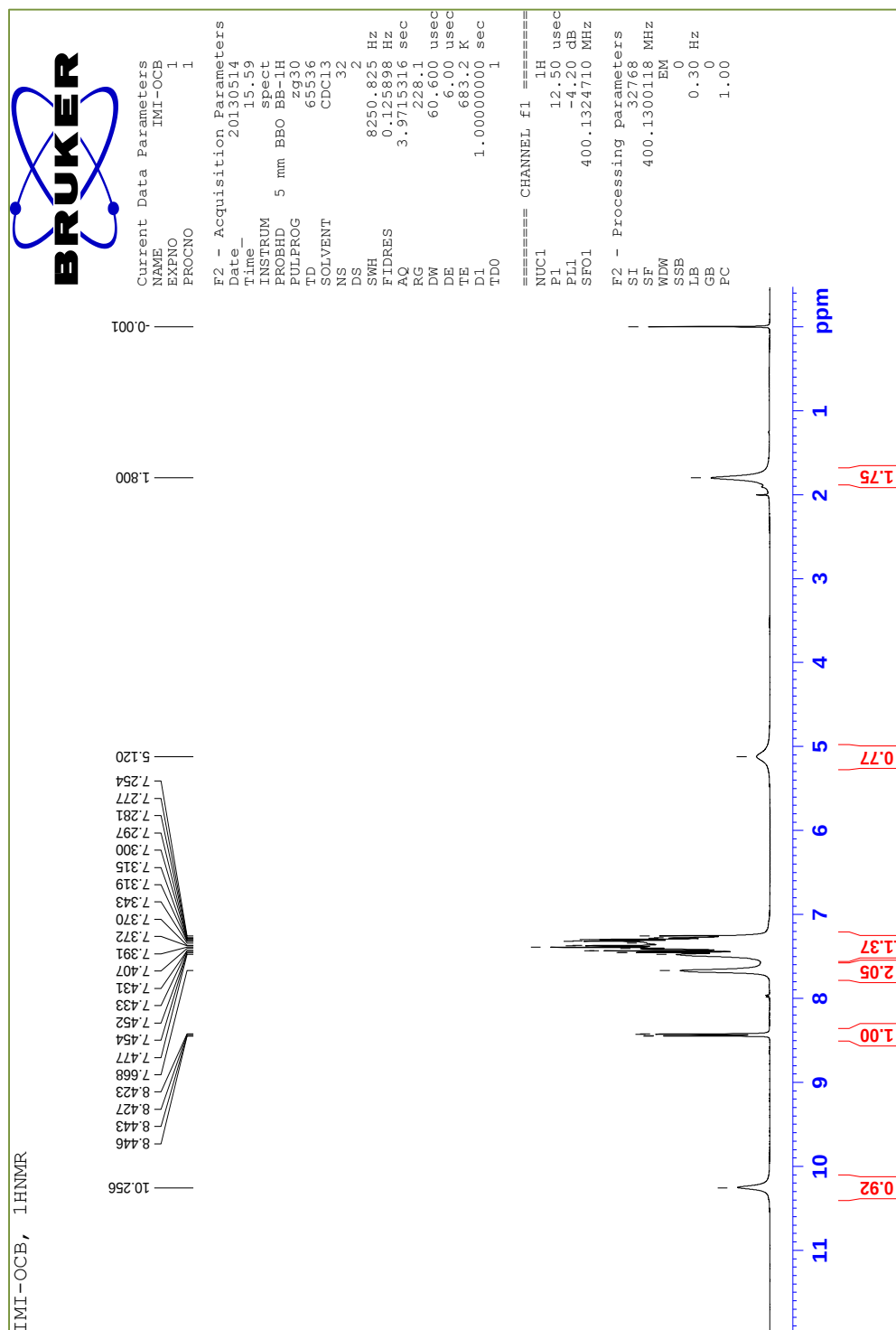
Fig. 82. Espectro de RMN ^1H del compuesto (12)

Fig. 83. Espectro de infrarrojo del compuesto (13)

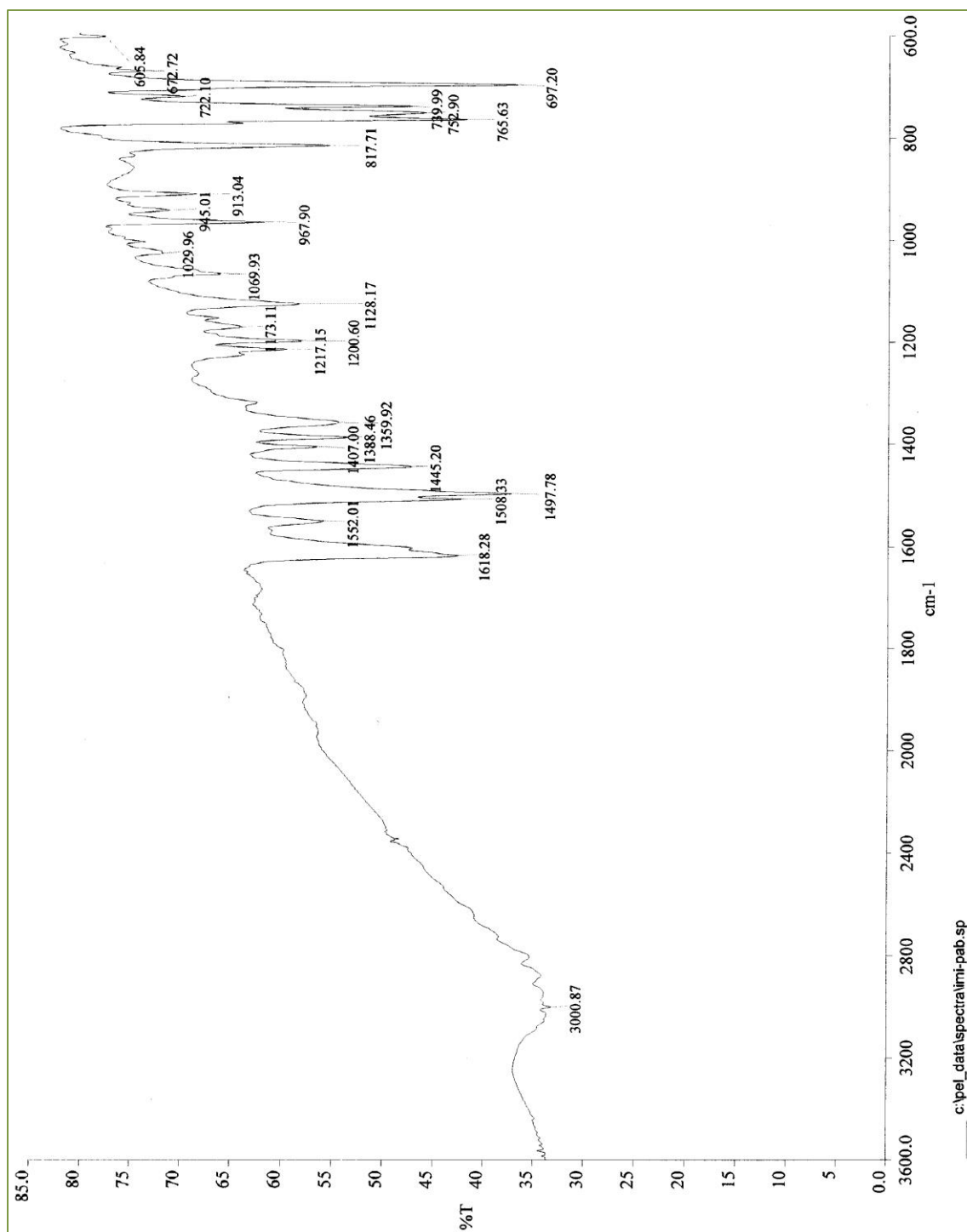


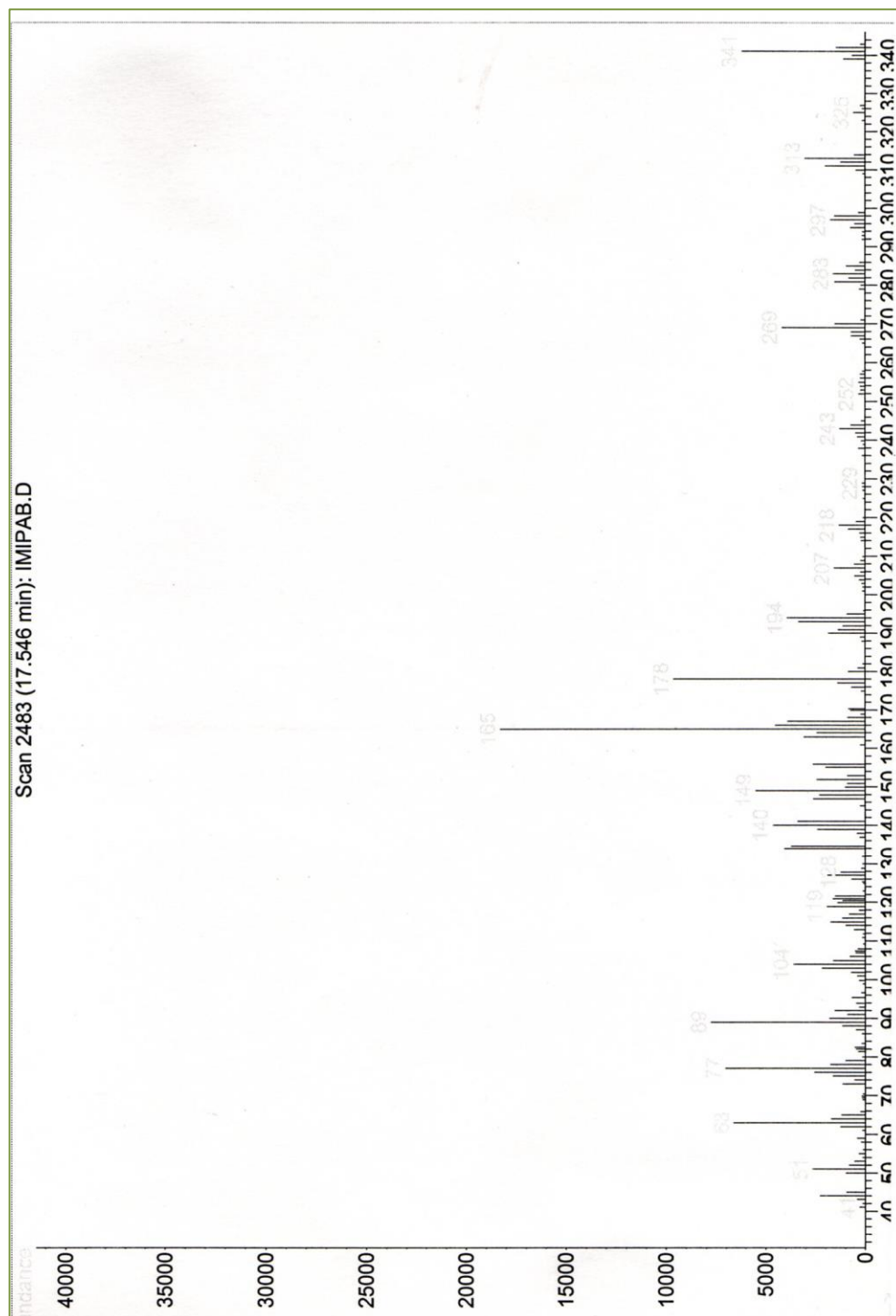
Fig. 84. Espectro de masas del compuesto (13)

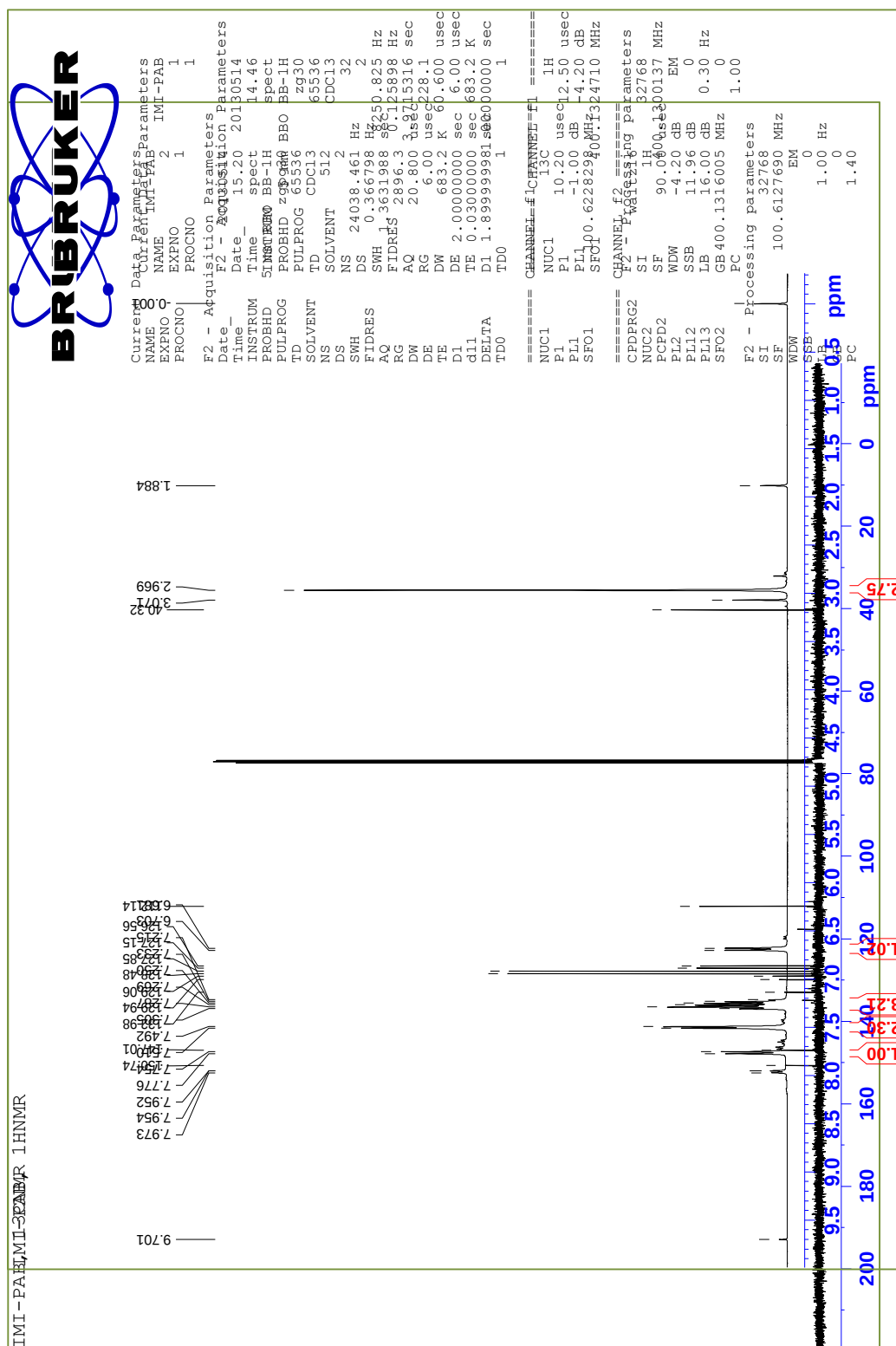
Fig. X.
Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (13)

Fig. 86. Espectro de infrarrojo del compuesto (14)

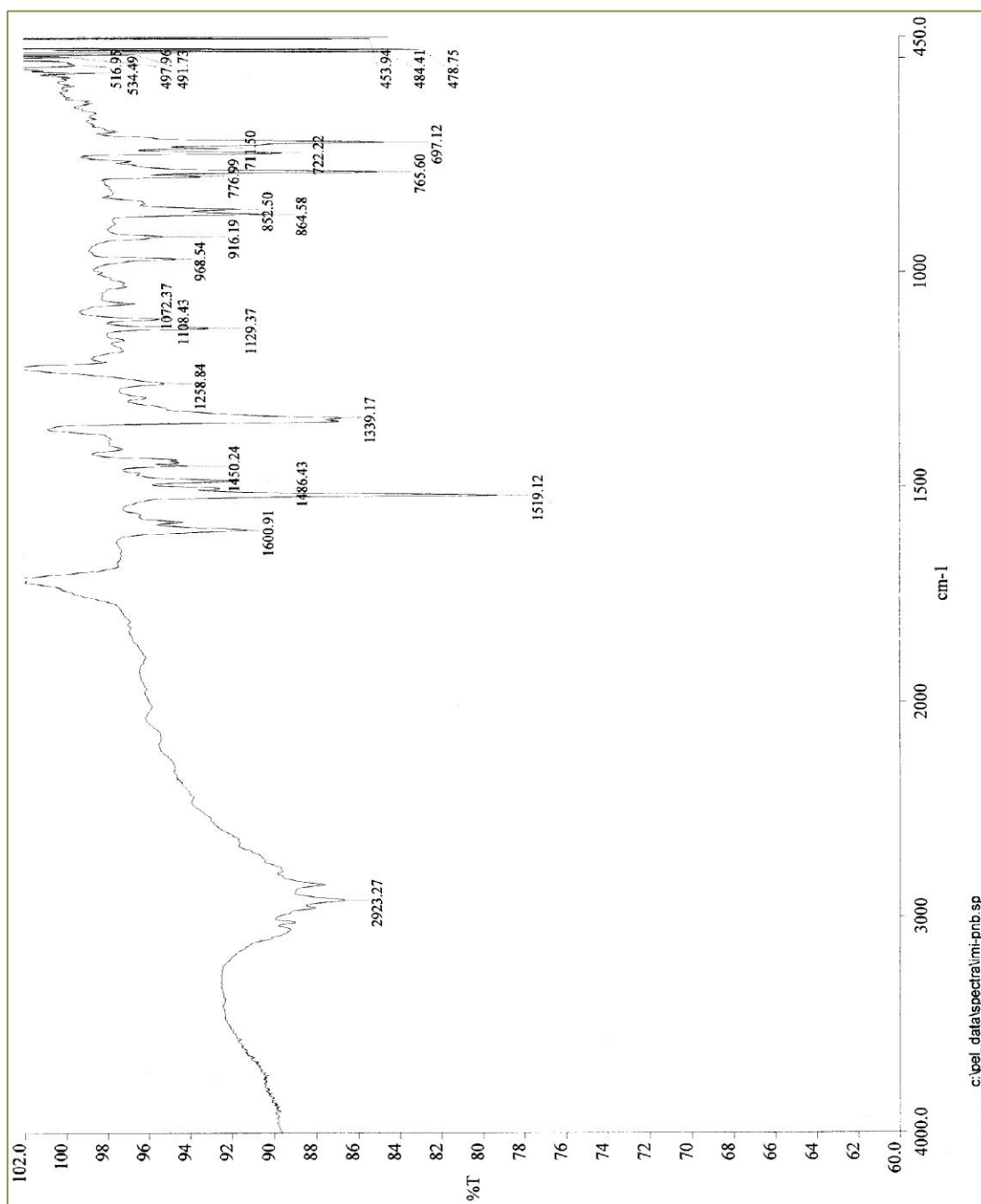


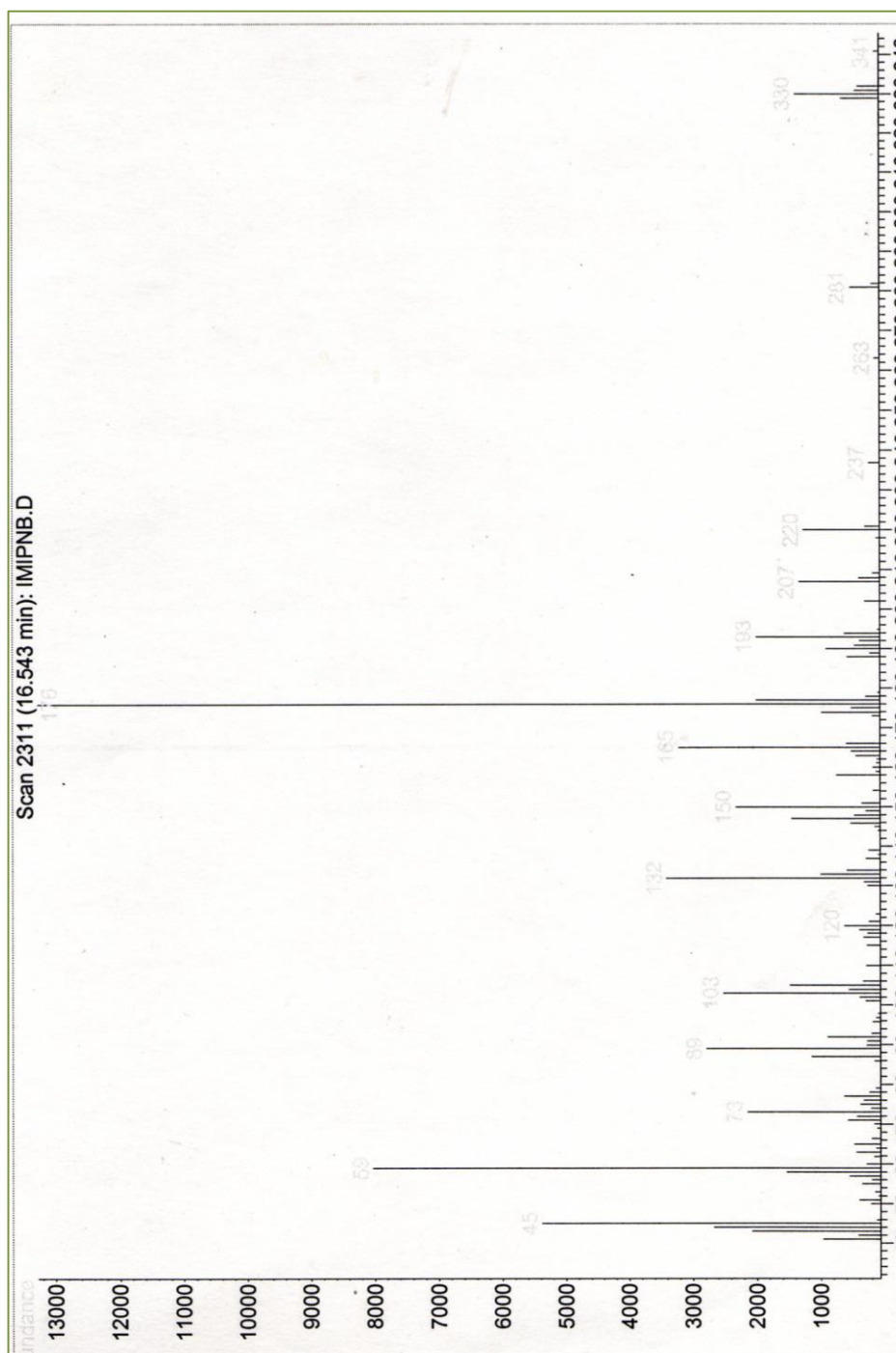
Fig. 87. Espectro de masas del compuesto (14)

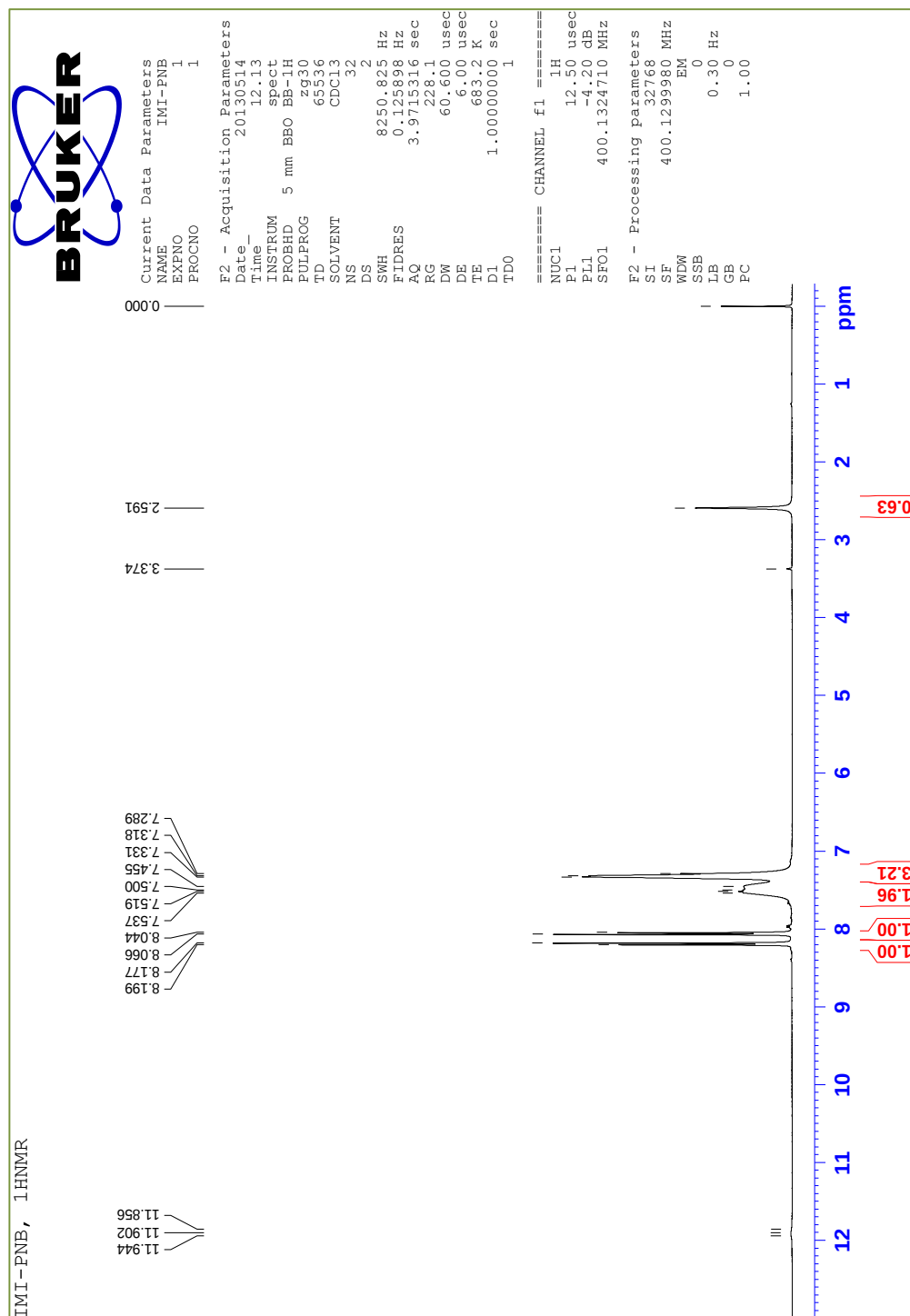
Fig. 88. Espectro de RMN ^1H del compuesto (14)

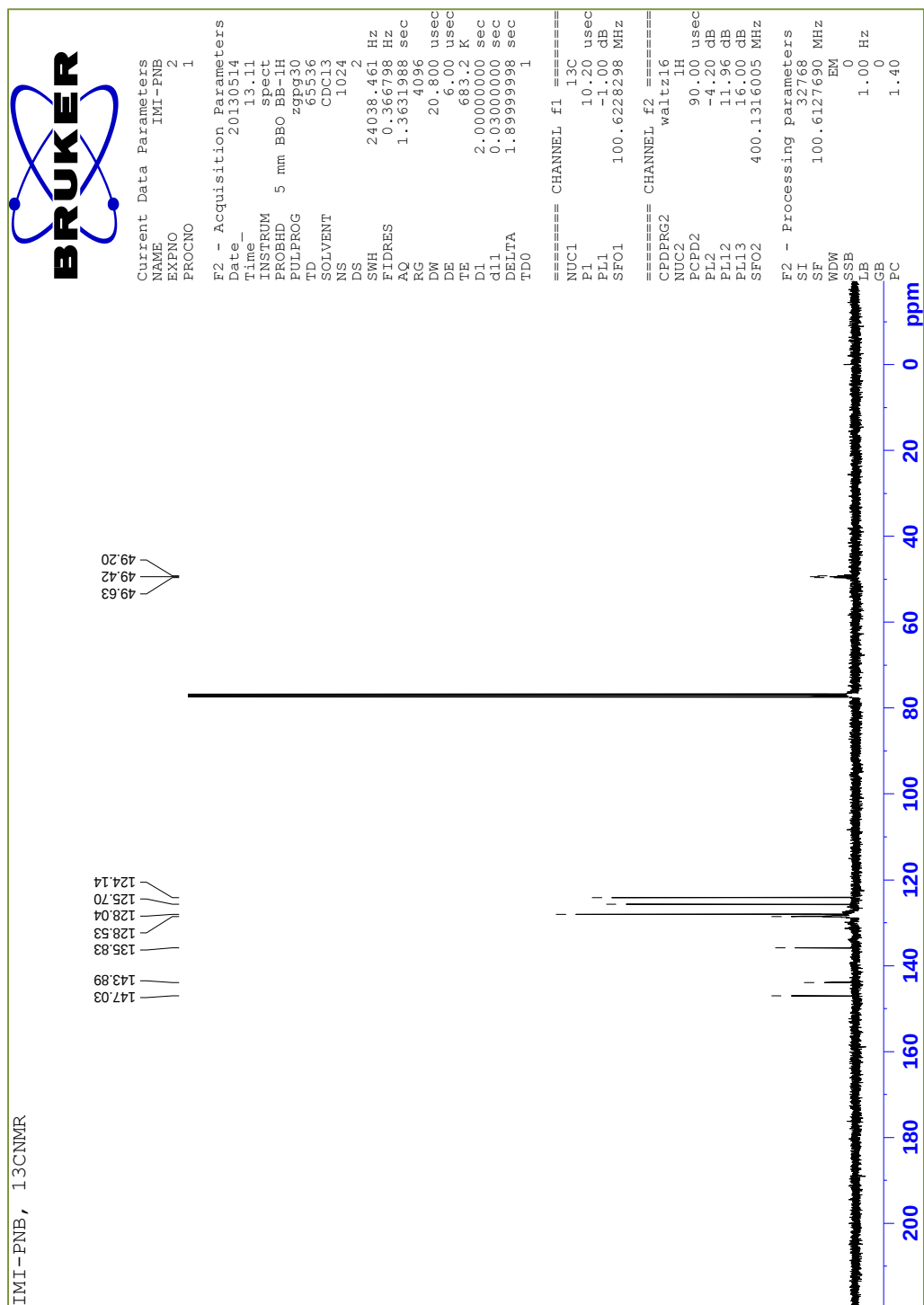
Fig. 89. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto (14)

Fig. 90. Espectro de infrarrojo del compuesto (15)

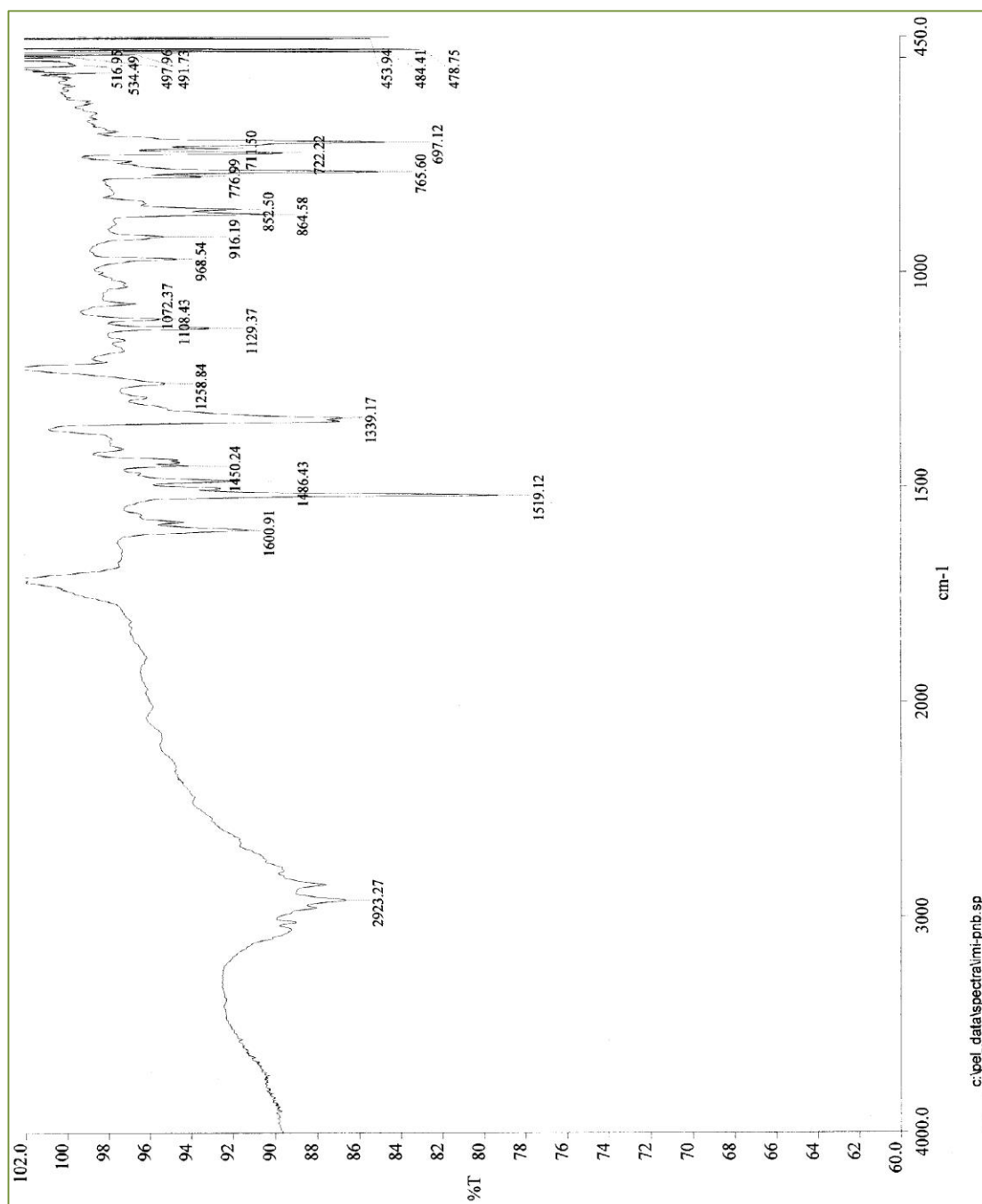


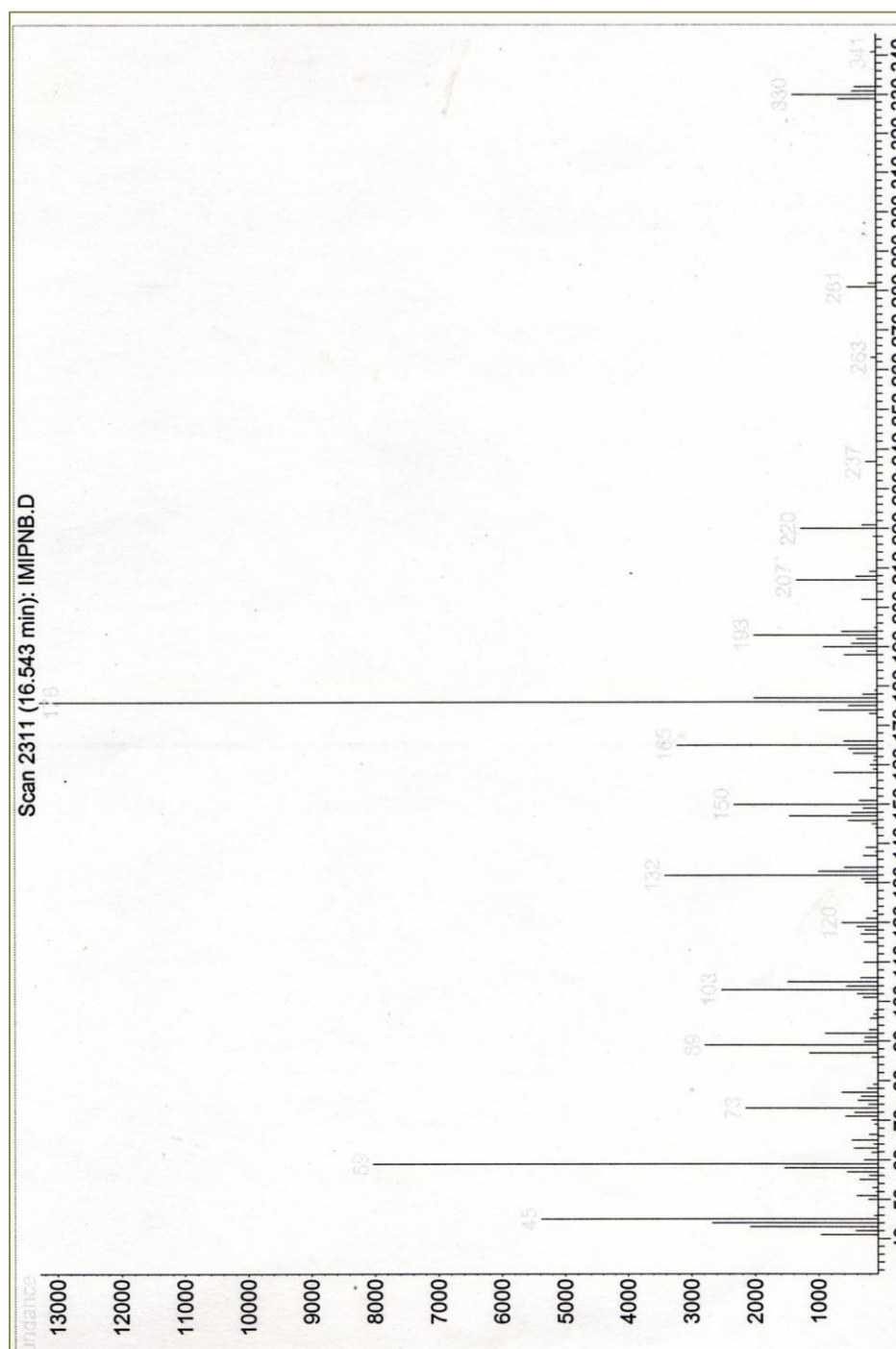
Fig. 91. Espectro de masas del compuesto (15)

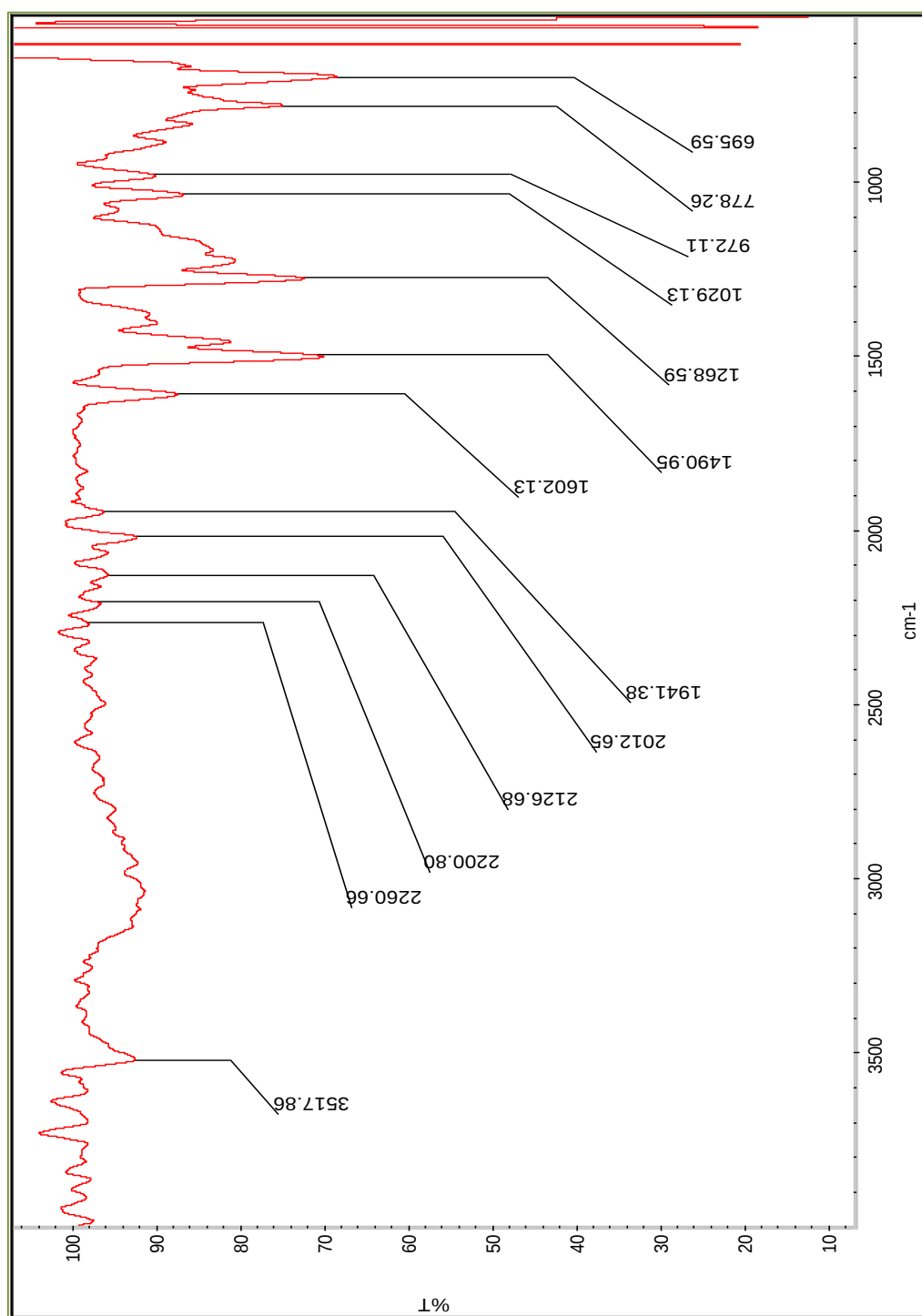
Fig. 92. Espectro de infrarrojo del compuesto (17)

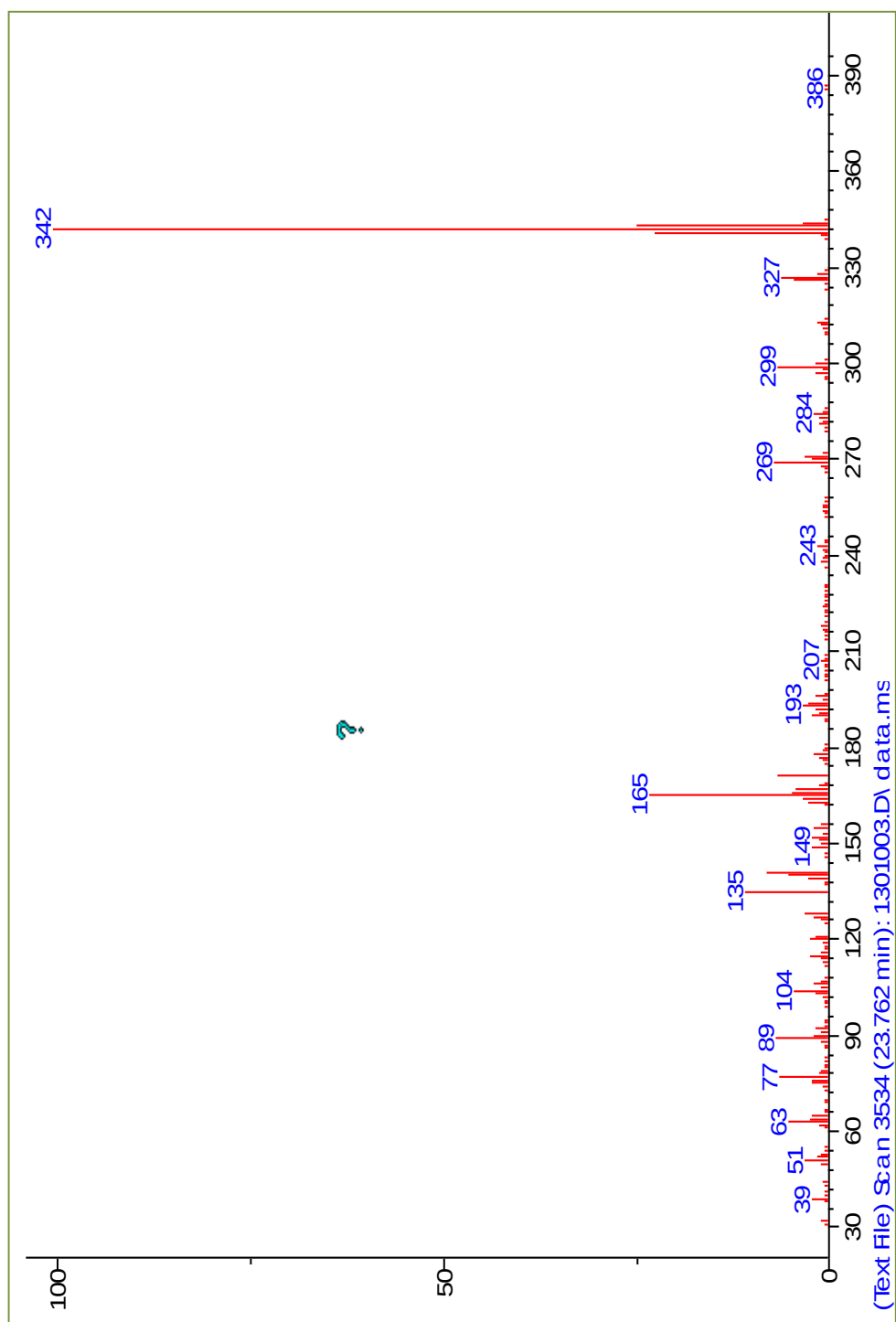
Fig. 93. Espectro de masas del compuesto (17)

Fig. 94. Espectro de infrarrojo del compuesto (18)

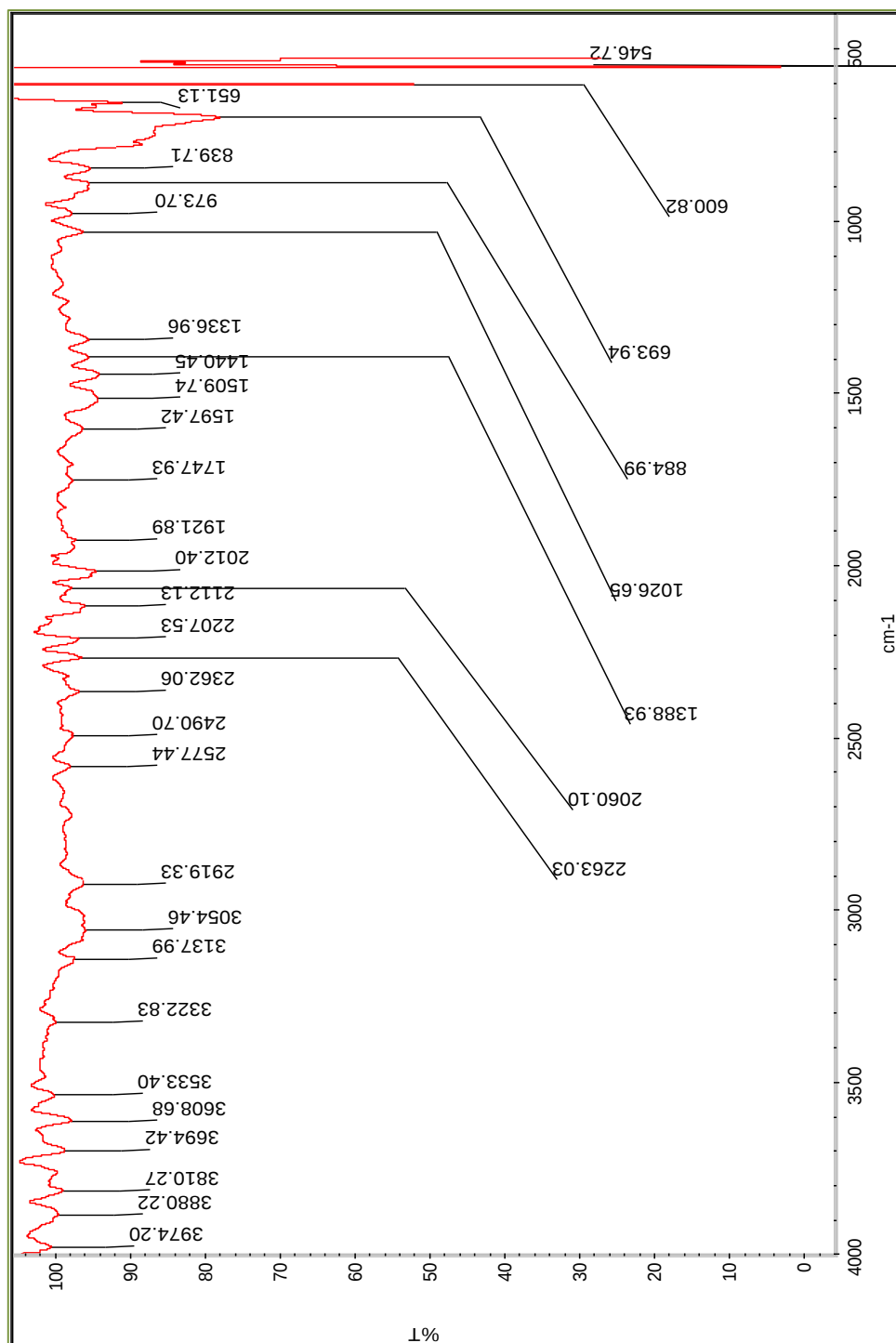


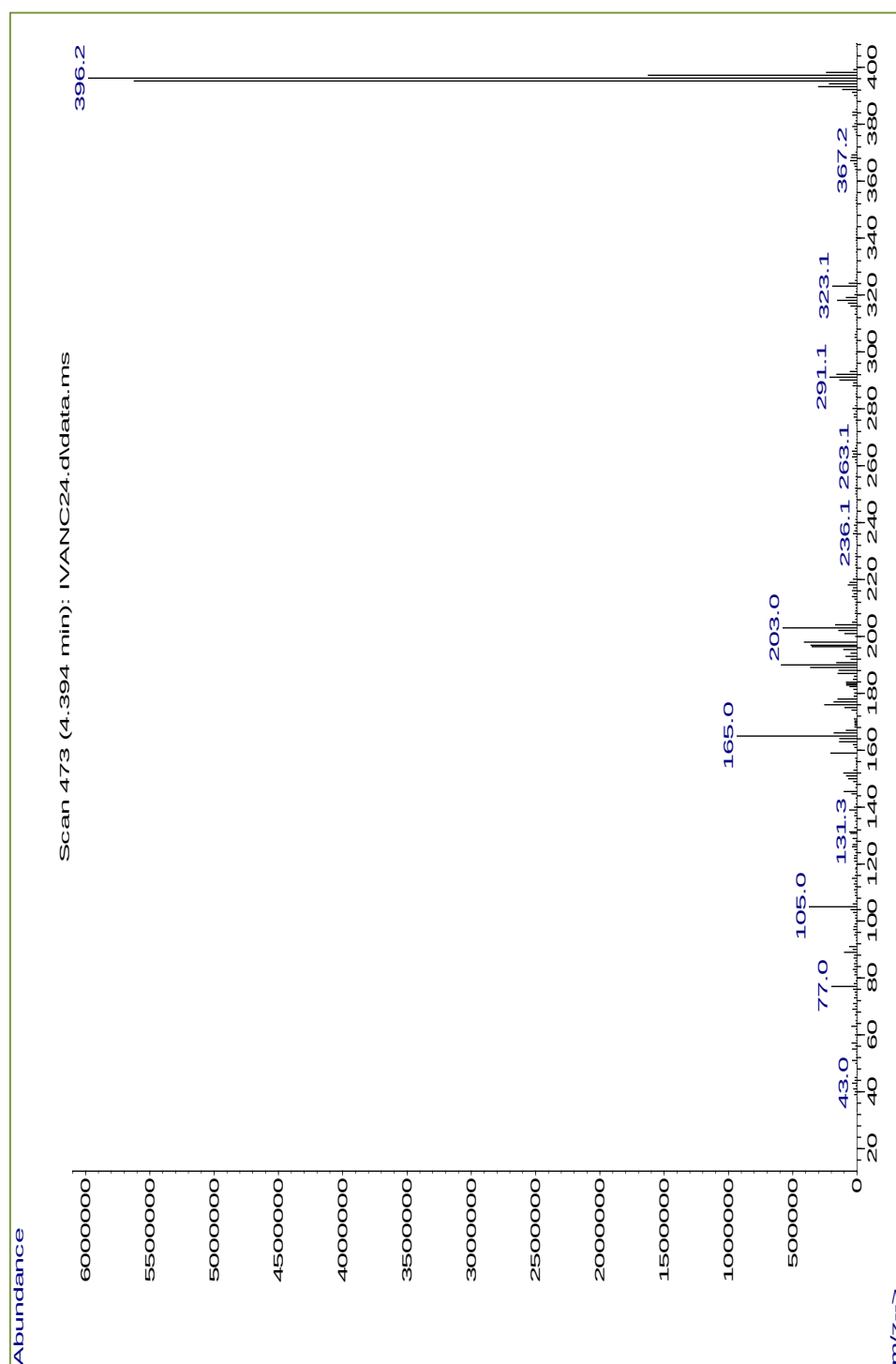
Fig. 95. Espectro de masas del compuesto (18)

Fig. 96. Espectro de infrarrojo del compuesto (19)

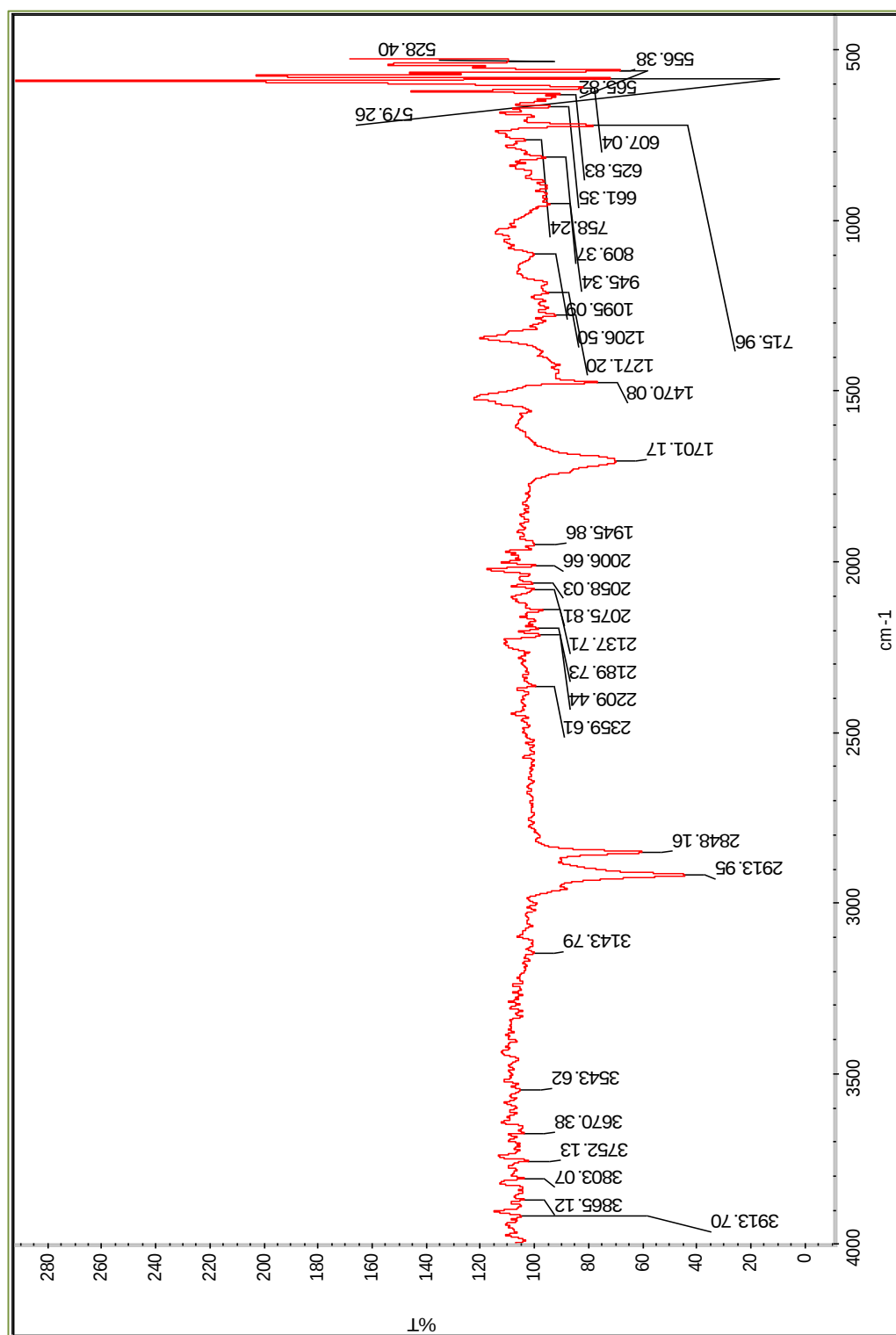


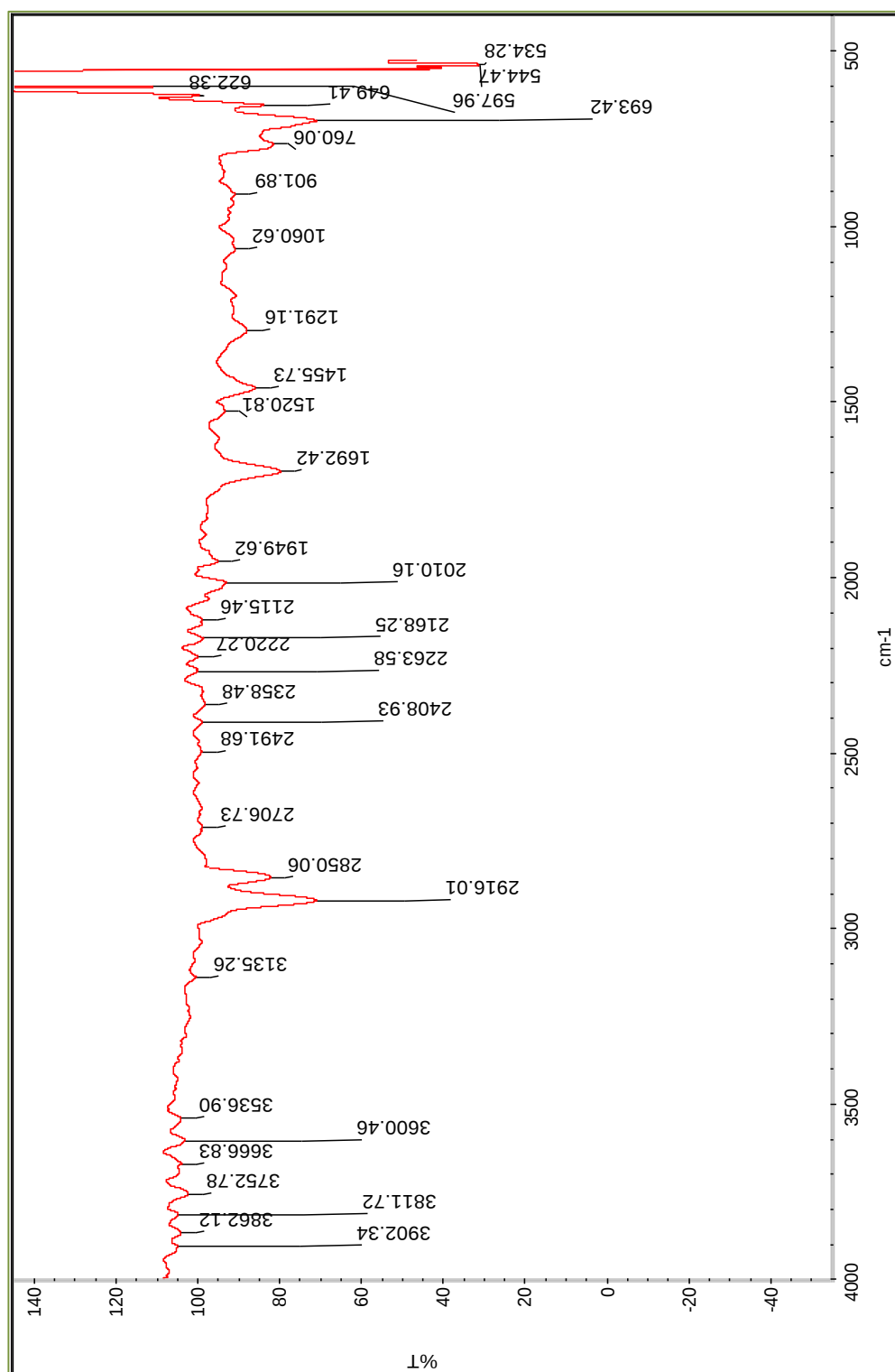
Fig. 97. Espectro de infrarrojo del compuesto (20)

Fig. 98. Espectro de masas del compuesto (20)

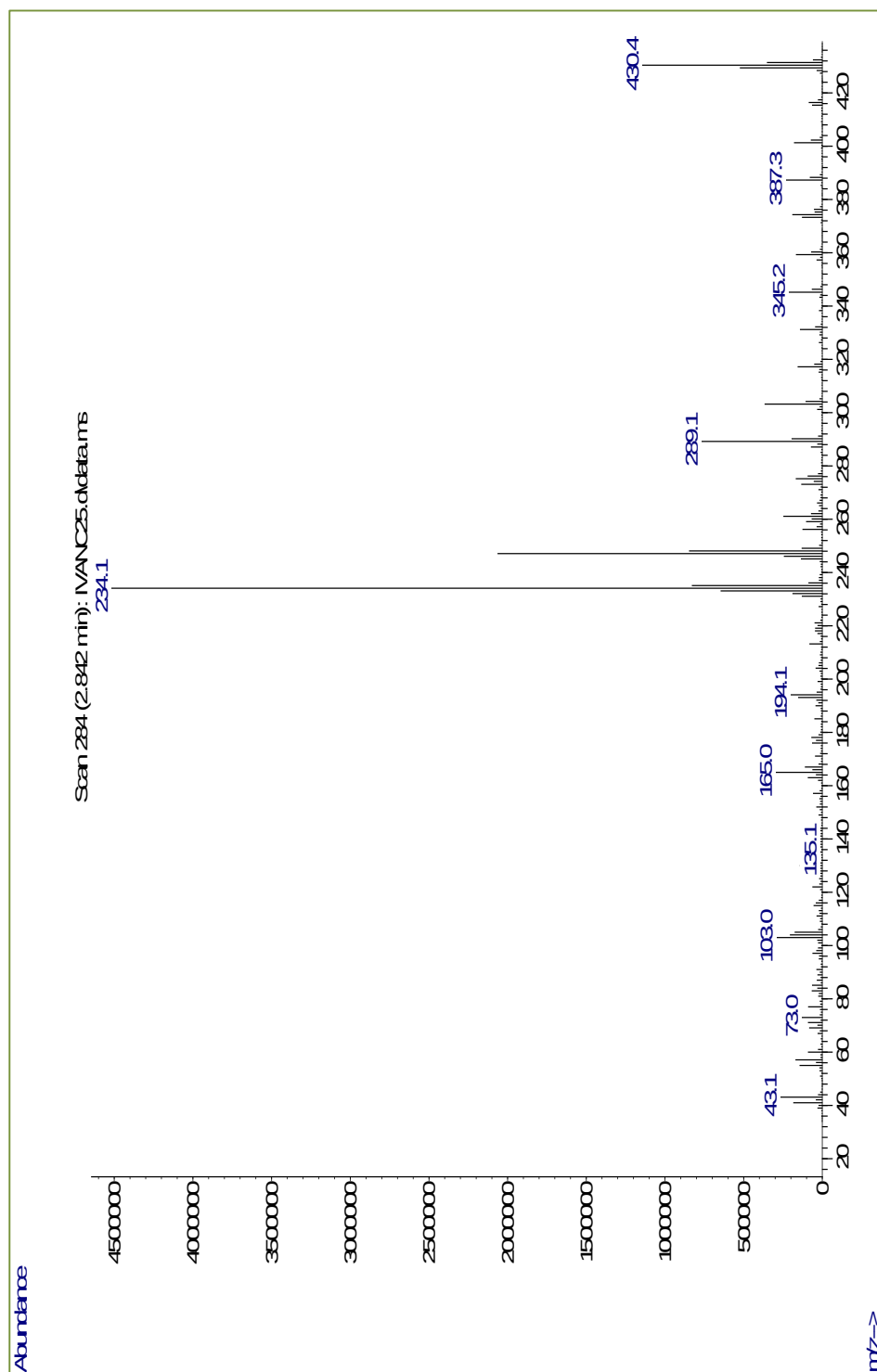


Fig. 99. Espectro de infrarrojo del compuesto (21)

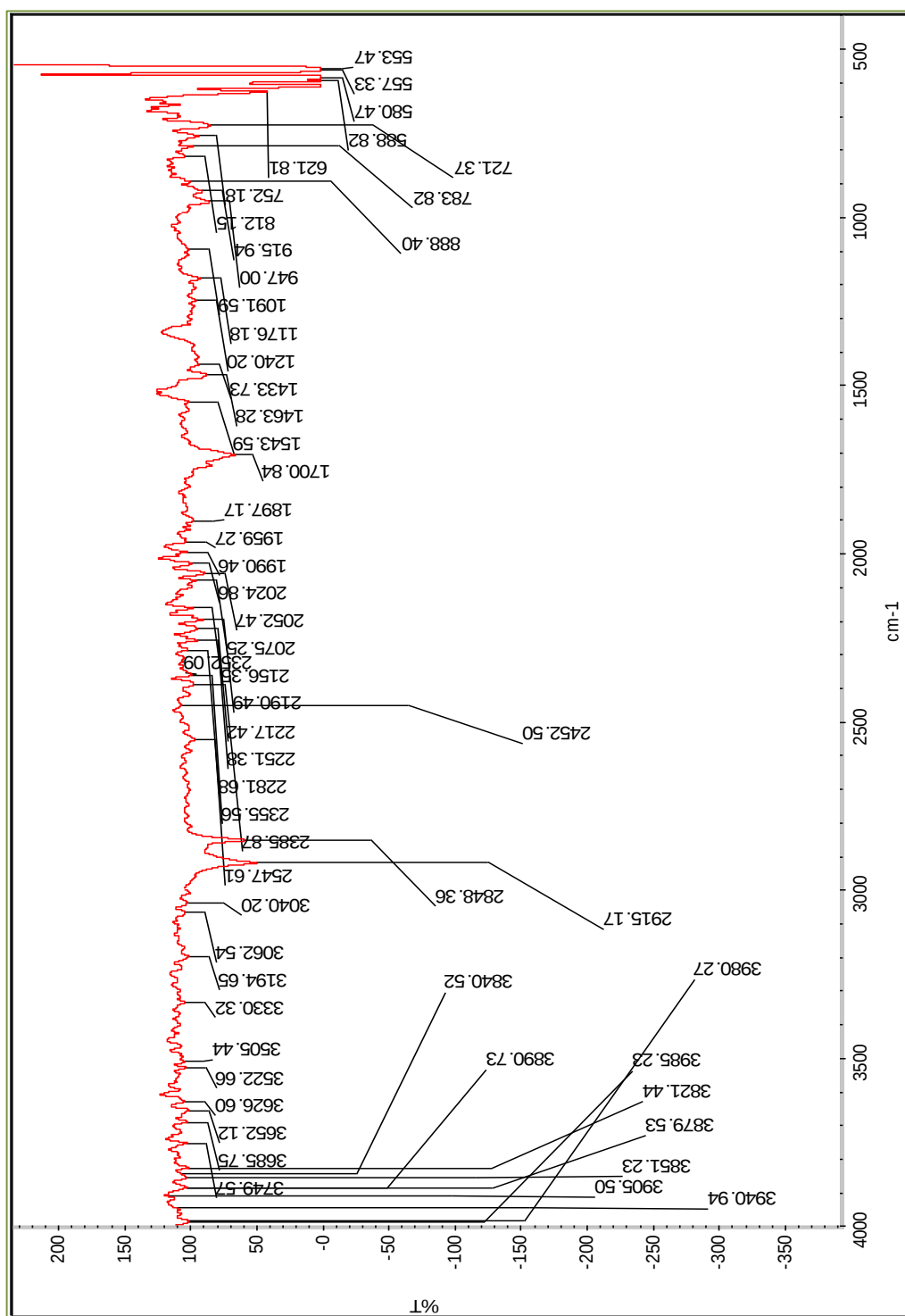


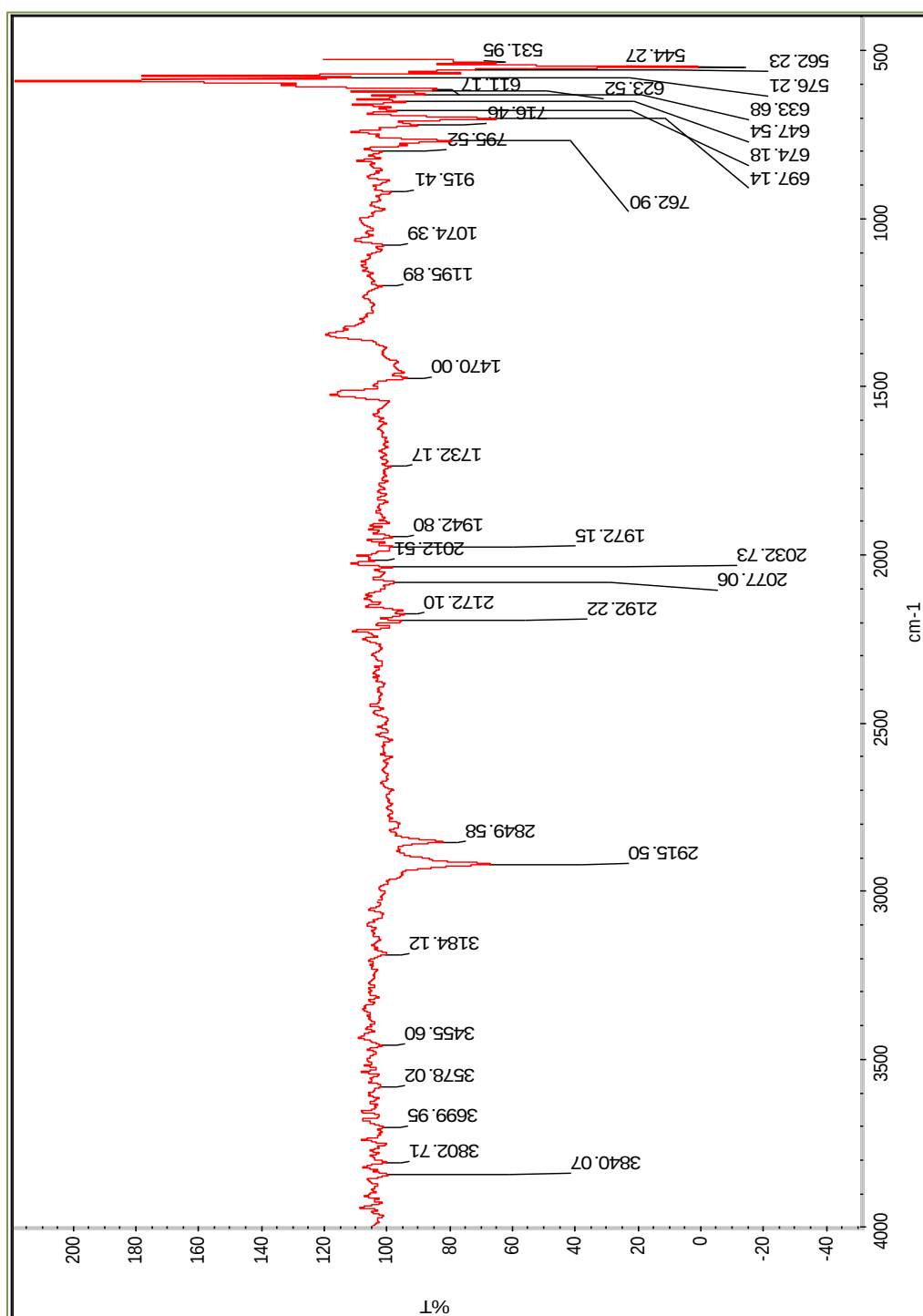
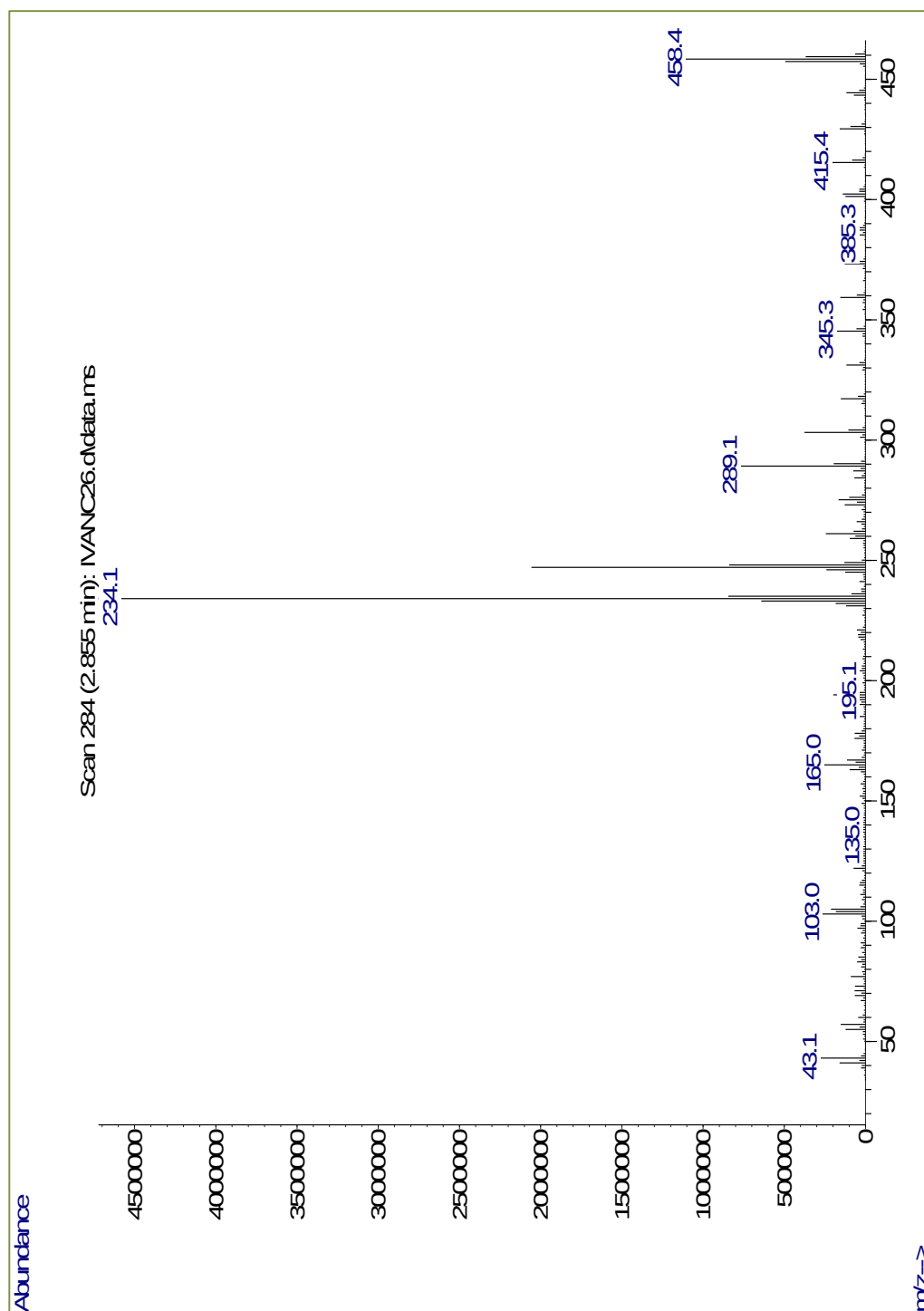
Fig. 100. Espectro de infrarrojo del compuesto (22)

Fig. 101. Espectro de masas del compuesto (22)



Técnicas experimentales

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN se realizaron en un equipo VARIAN de 200 MHz, utilizando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia.

También fue utilizado un equipo BRUKER de 400 MHz utilizando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia.

El desplazamiento químico (δ) se expresa en ppm, mientras que las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. Las multiplicidades de las señales obtenidas en RMN ^1H se expresan con las abreviaturas: s para singulete, d para doblete; t para triplete, c para cuarteto, dd para doble doblete y m para multiplete. En RMN ^{13}C las abreviaturas son: q para carbono primario, t para carbono secundario, d para carbono terciario y s para carbono cuaternario.

Espectroscopía de Infrarrojo

Los espectros de IR se realizaron en equipo PERKIN-ELMER Modelo SPECTRUM y en un Thermo Scientific modelo Nicolet is5 en pastillas de NaCl utilizando CHCl_3 como disolvente. Los valores de transmitancia están expresadas en cm^{-1} .

Espectroscopía de UV-Visible

Las lecturas para los experimentos citotóxicos fueron realizadas en un equipo para microplacas BioTek's PowerWade XS.

Espectrometría de masas

El análisis de las muestras se realizó en un sistema de espectrometría de masas marca Agilent Technologies con detector selectivo de masa modelo 5975C y el pico obtenido en el cromatograma de iones, se comparó para su identificación con la biblioteca NIST 2008.

La temperatura de columna fue de 70°C , la temperatura del inyector de 250°C y la rampa de calentamiento de columna fue desde 70°C hasta 100°C a $2^\circ\text{C}/\text{min}$, siendo posteriormente de 100°C hasta 250°C a $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Condiciones de reacción

Los reactivos utilizados fueron comprados de distintos proveedores como Sigma-Aldrich, J.T. Baker y Fermont. Los rendimientos de los productos generados se calcularon una vez purificados. Las reacciones fueron monitoreadas por Cromatografía de Capa Fina (CCF).

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS**Cromatografía de capa fina (CCF)**

El monitoreo de reacciones fue realizado con placas FLUKA Analytical de .2mm eluídas con mezclas a diferente concentración de hexano/acetato de etilo. Fueron visualizadas con lámpara de luz UV a 254nm de longitud de onda y después reveladas con *p*-anisaldehído y posterior calentamiento.

Cromatografía en columna

Las columnas utilizadas para la purificación de algunos productos fueron realizadas con gel de sílice 70-230 mesh, 60 Å, éstas fueron empacadas por el método húmedo y eluídas con distintas mezclas eluyentes.

SOFTWARE

Se utilizó el Software ChemDraw Ultra versión 2001 para dibujar las estructuras moleculares.