



**FACULTAD DE QUÍMICA
Y DE FARMACIA**
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

Departamento de Química Orgánica

**Bioisosteros de indolquinona: diseño, síntesis,
citotoxicidad, propiedades redox y estudios de DFT**

PATRICIO JOSÉ SÁNCHEZ REYES

Tesis para optar al grado
de Doctor en Química

Director de tesis: Dr. Ricardo Tapia Apati

Santiago, Agosto 2022

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
FACULTAD DE QUÍMICA Y DE FARMACIA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

**“BIOISOSTEROS DE INDOLQUINONA: DISEÑO, SÍNTESIS,
CITOTOXICIDAD, PROPIEDADES REDOX Y ESTUDIO DE DFT”**

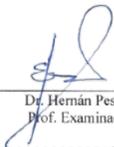
Tesis presentada por:

PATRICIO JOSÉ SÁNCHEZ REYES

Para optar al Grado Académico de
Doctor en Química.

APROBADA POR:

Dr. Hernán Pessoa
Prof. Examinador



Dr. Hernán Pessoa
Prof. Examinador

Dr. Patricio Iturriaga
Prof. Examinador



Dr. René Rojas
Prof. Examinador



Dr. Ricardo Tapia
Prof. Director de Tesis



AGOSTO - 2022

*"La colaboración es clave para el desarrollo de la humanidad
y de la sociedad, dando paso a mejorar la vida sobre
la tierra, evolucionando como especie y adaptándonos a ella"*

Congreso futuro

Agradecimientos

La vida es un desplazamiento transversal del punto X al punto Y, a veces te encuentras en el valle y en otras disfrutando del monte, contemplando logros y éxitos, visualizando el camino a seguir. Todo ascenso se debe a la ayuda y motivación de mis maestros, que estuvieron presentes en cada uno de mis pasos, guiándome en cada uno de mis desplazamientos, estas palabras de agradecimientos son para ustedes, por aportar con su conocimiento y enseñanzas. Muchas gracias por cada una de sus palabras que me cambiaron la forma de ver y pensar, me acercaron a este micro mundo que está a nuestro alrededor, que nos acompaña cada día y hace que existamos, pero que a la vez es muy difícil de ver. Estaré eternamente agradecido de mi maestra María Cecilia Rojas y mi maestro Fernando Castañeda, sus enseñanzas me dieron las habilidades y sabiduría que hoy día me permiten atravesar cualquier barrera en este camino. También quisiera agradecer a mi comisión de tesis por abrirme los ojos y motivarme a darle un sentido diferente a este trabajo. De igual forma quisiera agradecer a la Universidad Católica por permitirme desarrollar el posgrado y en especial al laboratorio de instrumentación por darme un trato especial en la manipulación de los equipos. Muchas gracias a mi familia, sin su apoyo incondicional es muy probable que otro hubiese sido el camino, también quería dejar unas palabras a todos mis amigos que siempre estuvieron motivándome durante este proceso, gracias a todos ustedes. Cada logro que alcance en este largo camino tiene de las semillas de cada uno de ustedes.

Lista de abreviaciones

ADN	Acido desoxirribonucleico
ATP	Adenosín trifosfato
CAN	Nitrato de cerio y amonio
Cis	Cisteína
DME	1,2-Dimetoxietano
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
GAPDH	Glicosomal gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa
His	Histidina
HPLC	Cromatografía de alta resolución
HTS	High-throughput screening (siglas en inglés)
IR	Resonancia infrarroja
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimida
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protones
Reactivo de Lawesson	2,4-Bis(4-metoxifenil)-1,2,3,4-ditiadifosfatano-2,4-disulfuro
SBDD	Structure-based drug discovery
THF	Tetrahidrofurano

Índice general

INDICE DE FIGURAS	VIII
INDICE DE ESQUEMAS	X
INDICE DE TABLAS	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XV
Capítulo I: Introducción	1
1.1 Enfermedades	2
1.2 Estudios de estructura actividad	5
1.3 Fragmentos base	8
1.4 Reconocimiento molecular	11
1.5 Desarrollo de un nuevo farmacóforo	14
1.6 Síntesis orgánica de heterociclos	16
1.7 Hipótesis	20
1.8 Objetivos	21
Capítulo II: Parte experimental	22
2.1 Planificación de síntesis	23
2.2 Síntesis de productos	24
2.3 Cálculos computacionales	26
2.4 Voltametría	27
2.5 Estudios in-vitro	28
2.6 Procedimientos de laboratorio	30
2.7 Caracterización molecular de los productos	43

Capítulo III: Resultados y discusión	52
3.1 Síntesis orgánica	53
3.2 Cálculos computacionales	78
3.3 Voltametría	84
3.4 Estudios <i>in-vitro</i>	87
Capítulo IV: Conclusión	92
Bibliografía	96

Índice de figuras

Figura 1	Benzoquinona heterocíclicas de interés en química medicinal.	7
Figura 2	Estudio de docking de un compuesto químico en el sitio activo de la enzima <i>Tb</i> GAPDH (parte superior) por formación de puentes de hidrogeno con los aminoácidos de cisteína, histidina y asparagina. Propuesta de la inhibición enzimática es a través de la formación de enlace entre residuo de cisteína y el compuesto químico (parte inferior).	10
Figura 3	Interacción π -stacking entre la enzima factor X y 2 inhibidores con similitud estructural, pero con diferente orientación del anillo de heterociclo (oxazol), se comparan 2 co-cristales (1,29 Å resolución, PDB ID: 2Y5G y 1,33 Å resolución, PDB ID: 2Y5H). Molécula con una interacción antiparalela muestra ser más potente (K_i : 146 nM), con respecto a la molécula con una interacción paralelo (K_i : 1620 nM).	12
Figura 4	Diseño molecular propuesto para nuevos 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, oxazol y furano, usando como estrategia química combinatoria.	15
Figura 5	Desplazamiento químico para los compuestos 3 , 4 , 5 y 7 en el espectro de ^{13}C -RMN.	58
Figura 6	Intercambio H-D en el espectro ^1H -RMN para el derivado de benzamida 37 .	75
Figura 7	Difracción de rayos X de monocristales de los compuestos 20 y 31 .	76

Figura 8	M06-2X/6-31+G(d,p) Estados de transición optimizados para un ataque nucleofílico competitivo del compuesto de anilina hacia el derivado 18 . Distancias están dadas en Å.	80
Figura 9	Perfil de coordenadas de reacción intrínseca calculado (M06-2X/6-31+G(d,p)/SMD=etanol) para las reacciones entre anilina y el compuesto 18 .	83
Figura 10	Mecanismo y voltagrama cíclico para el compuesto 6 .	86
Figura 11	Gráficos de viabilidad celular a concentración constante (50 µM), de los derivados 6-10 , 18 , 19 , 20 , 29-31 , 34 y 39 frente a las líneas celulares cancerígenas y sanas (BxPC-3, AsPC-1, MIA-PaCa-2 y Hek-293, respectivamente).	88

Índice de esquemas

- Esquema 1** Heterociclo de tiazol, 1) síntesis reporta para formación de 2-fenilbenzotiazol, condición de reacción a) $K_3[Fe(CN)_6]$, 1.5 M NaOH, 25 °C, 12h, 80%. 2) mecanismo de reacción para la formación del derivado benzotiazol. 18
- Esquema 2** Heterociclo de furano y oxazol, 1) síntesis reporta para el derivado 2-(4metoxifenil)benzotiazol, a) I_2 , K_2CO_3 , THF, 25 °C, 12h, 91 %. 2) Síntesis reporta para 2-bromobenzofurano, b) CuI, K_3PO_4 , THF, reflujo, 6h, 93 %. 3) Síntesis reportada para 2-fenilbenzoxazol, c) CuI, 1,10-fenantrolina, K_3PO_4 , DME, reflujo, 6h, 99 %. 19
- Esquema 3** Análisis retrosintético para la obtención de 2-fenil-6-fenoxibenzo[d]tiazol-4,7-diona. 23
- Esquema 4** Esquemas de síntesis de compuestos de tiazol, reactivos y condiciones: (a) C_6H_5COCl , $N(CH_2CH_3)_3$, THF, 25 °C, 24h, 98%; (b) NBS, CH_3CN/H_2O , 50 °C, 4h, 90%; (c) reactivo de Lawesson, $C_6H_5CH_3$, 80 °C, 5h, 74%; (d) $K_3[Fe(CN)_6]$, 1.5 M NaOH, 25 °C, 12h, 56%; (e) CAN, CH_3CN/H_2O , 25 °C, 2h, 79%. 55
- Esquema 5** Reacciones finales y condiciones: (a) C_6H_5OH , DMF, K_2CO_3 , T.A., 4h, 50%, 66%, 99% para **7**, **8**, **9**, respectivamente; (b) $C_6H_5NH_2$, $CeCl_3 \cdot 7H_2O$, CH_3CH_2OH , T.A., 24h, 89%. 56
- Esquema 6** Mecanismo para la formación del compuesto **4** mediante una reacción de Wittig modificado. 60
- Esquema 7** Optimización del esquema de síntesis del compuesto de furano, reactivos y condiciones de reacciones: a) $P(C_6H_5)_3$,

- CBr₄, NEt₃, CH₂Cl₂, 5-10 °C, 30 min, 25 °C, 12h, 82%; (b) CuI, K₃PO₄, THF, reflujo, 6h, 89%; (c) Pd(OAc)₂, C₆H₅B(OH)₂, K₂CO₃, dioxano, 80 °C, 6h, 99%; (d) Py•HCl, 160 °C, 5h, 81%; (e) C₆H₅I(OAc)₂, CH₃CN/H₂O (4:1, v/v), T.A., 1h, 62%; (f) NBS, CH₃CN:H₂O, 50 °C, 4h, 78%; (g) CrO₃, CH₃COOH/CH₃CN/H₂O (3:3:1, v/v/v), 60 °C, 2h, 68%; (h) C₆H₅OH, K₂CO₃, DMF, 25 °C, 4h, 48%; (i) C₆H₅NH₂, CeCl₃•7H₂O, CH₃CH₂OH, 25 °C, 24h, 85%. 64
- Esquema 8** Ciclo catalítico para el acoplamiento cruzado de 2-bromo-7-metoxibenzofurano y ácido fenilborónico, utilizando Pd(OAc)₂ como catalizador. 66
- Esquema 9** (a) C₆H₅CH₂P(PPh₃)⁺Cl⁻, K₂CO₃, THF, 25 °C, 12h, 90 %; (b) I₂, K₂CO₃, CH₂Cl₂, 25 °C, 12h, 21 %. 67
- Esquema 10** Esquemas de síntesis de compuestos de oxazol, reactivos y condiciones: a) HNO₃, H₂O, 0 °C, 1h, 25 °C, 12h, recristalización en CH₃COOH, 83%; (b) HCOONH₄, Pd/C, CH₃OH, 25 °C, 4h; 59%; (c) NBS, CH₃CN:H₂O, 50 °C, 4h, 54%; (d) NaNO₂, HCl, 0 °C, 30 min, KI, 25 °C, 12h, 47%; (e) Fe, FeCl₃•6H₂O, CH₃CH₂OH/ CH₃COOH, reflujo, 25 °C, 4h, 65%; (f) C₆H₅COCl, NEt₃, THF, 25 °C, 24h, 54%; (g) CuI, 1,10-fenantrolina, K₃PO₄, DME, reflujo, 6h, 80%; (h) CAN, CH₃CN/H₂O (4:1, v/v), 25 °C, 2h, 69%; (i) C₆H₅OH, K₂CO₃, DMF, 25 °C, 4h, 70%; (j) C₆H₅NH₂, CeCl₃•7H₂O, CH₃CH₂OH, 25 °C, 24h, 87%. 72
- Esquema 11** Proceso de reducción del compuesto **22** dando como productos los derivados (I), (II) y **23**. 73
- Esquema 12** Mecanismo de reacción para las 2 vías propuestas, adición nucleofílica (azul) y sustitución nucleofílica (roja), entre el compuesto **18** y la molécula de anilina (C₆H₅-NH₂). 79

Índice de tablas

Tabla 1	Propiedades electroquímicas de benzoquinonas en CH ₃ CN (velocidad de barrido 0,1 [V/s]).	85
Tabla 2	Valores de citotoxicidad de algunos compuestos heterociclos (IC ₅₀), frente a células tumorales pancreáticas (BxPC-3, AsPC-1 y MIA-PaCa-2) y células parasitarias (<i>Trypanosoma cruzi</i>). Además, se indican los potenciales de reducción catódico 1 (Epc1).	91

Resumen

Un profundo estudio sintético de benzoquinonas heterocíclicas se llevó a cabo con el propósito de conocer la viabilidad de obtención de estos compuestos y sus posibles aplicaciones. Se estudiaron los heterociclos de tiazol, furano y oxazol. Se prepararon mediante un protocolo de ocho pasos para cada serie y las primeras síntesis tuvieron como objetivo la formación de un intermediario clave, que posteriormente fue sometido a un acoplamiento intramolecular para formar el anillo heterocíclico respectivo. Seguido de un proceso de oxidación y adición/sustitución nucleofílica permitió obtener los compuestos finales. Luego, debido a la regioselectividad de las reacciones finales se calcularon estructuras electrónicas basados en la teoría de los funcionales de la densidad y se exploró la superficie de energía potencial para la reacción de adición y sustitución nucleofílica. El estudio reveló que la adición nucleofílica es el camino de más baja energía y que durante la reacción se genera un proceso de transferencia protónica que actúa de etapa limitante, lo que permitió explicar el origen de la regioselectividad. Posteriormente, se evaluó los mecanismos de reducción de los derivados de benzoquinona por Voltametría, los resultados evidenciaron que las benzoquinonas estudiadas ocurren en 2 ondas voltamétricas, la primera onda corresponde a la dupla redox quinona/semiquinona y representa un proceso reversible, mientras que la segunda onda representa a la dupla semiquinona/hidroquinona y es en un proceso cuasi-reversible. A continuación, se inició la evaluación biológica de los derivados como drogas contra células parasitarias y tumorales pancreáticas. Los resultados preliminares evidenciaron que los compuestos heterocíclicos de tiazol fueron los más activos contra las células cancerígenas (BxPC-3 y AsPC-1), en donde los compuestos **7** y **8** dieron valores de IC₅₀ de 1,73 y 5,28 μM, respectivamente. Mientras que el derivado de oxazol resultó ser el más activo contra las células MIA-PaCa-2 (compuesto **31**, IC₅₀: 4,39

μM). Como control se usó gemcitabina dando valores de IC_{50} entre 1,31 y 8,02 μM . Asimismo, el heterociclo de furano fue el más citotóxico frente al parásito *Trypanosoma cruzi*, el compuesto **19** dio un valor de IC_{50} de 0,70 μM , siendo 10 veces más potente que la droga nifurtimox. Las propiedades redox mostraron que se genera una correlación entre los potenciales de reducción y la citotoxicidad, indicando que los compuestos afectan a las células por la producción de radicales libres. Finalmente, la obtención de benzoquinonas heterocíclicas requiere una secuencia lineal de reacciones caracterizadas por una ciclación intramolecular, oxidación y sustitución. Los compuestos estudiados presentaron una citotoxicidad contra células parasitarias y tumorales comparable y mejor que las drogas de referencia, mostrando ser una guía precisa para posteriores modificaciones químicas en pro de un incremento de las propiedades anticancerígenas y antiparasitarias.

Abstract

Benzoquinone heterocycles, both naturally occurring and synthetic, exhibit wide-ranging biological activity and this leading molecule inspires the synthesis of the next generation of drugs. This important ring system continues to attract attention from the academic community for studying new methodologies for the synthesis and the biological activities. Unfortunately, these derivatives show toxic effect. Therefore, we need to focus on designing a new benzoquinone heterocycle that has no toxicity to normal cells and good selectivity in cancer-cells. By molecular modification of structures, using combinatorial chemistry and fragment-based strategy, we might be able to design new compounds. In this work, the synthesis and biological activity of benzofuran-, benzoxazole- and benzothiazole-quinone are described. These compounds were prepared by linear-multistep sequences with more than 6 reactions and it was focus to obtain functionalized-derivative, followed by intramolecular cyclization, oxidation and substitution. Interestingly, in the final step of the synthesis of the target compounds, unusual results were observed on the regiochemistry of the reaction of bromoquinone with phenol and aniline. A theoretical study was carried out for better understanding the factors that control the regiochemistry of these reactions. The compounds were screened against BxPC-3, AsPC-1 and MIA-PaCa-2 pancreatic cancer cell lines using MTT assays and the antiparasitic activity was studied against "*Trypanosoma cruzi*" species. This results showed that these compounds exhibited moderate to significant cytotoxicity and the most active against cancer cells were ligands of benzothiazole **7** and **8**, with IC₅₀ values of 1.73 and 5.28 μM, respectively. While, benzoxazole derivative was active against MIA-PaCa-2 cells (ligand **31**, IC₅₀: 4.39 μM). Gemcitabine was used as a control and it showed IC₅₀ values between 1.31 and 8.02 μM. While, the compounds of benzofuran showed a good antiparasitic activity and the most active was ligand **19** (IC₅₀: 0.70 μM), it

was 10-times more powerful than nifurtimox (IC_{50} : 7.00 μ M). The phenoxy-fragment structure showed to improve the cytotoxicity for all benzoquinones, the molecular recognition of this compound was efficient. Oxidative stress as one action mechanism was identified by a correlation between IC_{50} and reduction potential (E_{pc1}) for benzoxazole compounds and AsPC-1 cells. Overall, 2-phenylbenzothiazole-, benzoxazole- and benzofuran-quinone with phenoxy and phenilamino as fragment, are a promising scaffold in medicinal chemistry and the development of these molecules might lead to more effective and selective biological activity against different cancer cells and other diseases.

Capítulo I: Introducción

Enfermedades

La sociedad del siglo XXI es la más avanzada de la historia y se pueden observar avances en distintas áreas del conocimiento, desde sociales y políticas, hasta tecnológicas y medio ambientales. Todos estos avances han permitido generar las condiciones más favorables para el desarrollo de la población y de igual forma, mejores condiciones de vida para las personas. Pero también se han generado ciertas condiciones desfavorables, clasificando a esta sociedad como una de las más enfermas de la historia, el padecimiento de problemas a la salud va en aumento y está afectando a una parte importante de la población, volviéndose en muchos casos problemas crónicos. El cáncer es un ejemplo claro de ello y es considerado una de las afecciones más preocupantes por ser la principal causa de muerte en el mundo y ser tan variado, presentando más de 200 tipos diferentes.[1] El cáncer tiene su origen en el ADN, ya que se producen cambios en los genes que desencadenan un descontrol en la división celular, generando una masa sólida que va creciendo con el tiempo, dando forma al tumor. El ADN es un polímero natural que almacena la información de quienes somos, rasgos y características físicas que nos diferencian del resto y nos hacen únicos, de igual forma contiene la información para construir, guiar y regular todos los procesos celulares por medio de la síntesis de proteínas. El ADN contiene todas las instrucciones para el desarrollo y funcionamientos del cuerpo, cualquier alteración a su estructura puede desencadenar complicaciones celulares y por consiguiente problemas a la salud. Se ha evidenciado que todas las actividades rutinarias repercuten en nuestro ADN, desde la alimentación y actividades físicas, hasta rutinas laborales y recreacionales, encontrándose una relación directa entre estilos de vida y cambios en el material genético. Además, el cuerpo humano tiene una forma natural de activar o desactivar nuestros genes en respuesta al medio ambiente y al estilo de vida que llevamos.[2] Sumado a eso, existen ciertos

agentes externos que pueden interferir y cambiar el ADN, estos agentes pueden ser de naturaleza física, química o biológica. Todos estos cambios genéticos pueden desencadenar complicaciones celulares que posteriormente se traducen en mutaciones y futuras enfermedades (cáncer). Todas nuestras actividades rutinarias repercuten en nuestro ADN, es por esto que nuestra salud corporal y mental es clave para una buena conservación del material genético. El cáncer es una de las enfermedades más preocupantes de la población, por presentar una alta tasa de mortalidad y una proyección exponencial en el tiempo. Se dice que una célula origina cáncer cuando se producen alteraciones genéticas en los procesos de duplicación y replicación celular, ya que existe un descontrol en la lectura de estos genes (sobreexpresión), desencadenando un desorden en la célula, por consiguiente, una división celular más rápida de lo común (mitosis descontrolada), produciendo una masa sólida que crece con el tiempo, comenzando a ejercer presión sobre los tejidos vecinos y produciendo alteraciones al normal funcionamiento del cuerpo. Cuando se produce una sobreexpresión de los genes de replicación y duplicación celular, las células normales se transforman en cancerígenas. La industria farmacéutica y las universidades están en constante desarrollo, para la obtención de nuevos compuestos para tratamientos contra el cáncer, ya que una de las principales complicaciones de los tratamientos quimioterapéuticos son los efectos secundarios que estos arrastran debido a que las drogas no son selectivas y actúan tanto en células tumorales como sanas, observándose efectos negativos como pérdida de cabello, debilidad muscular y sistema inmune deficiente. Lo anterior se suma a la resistencia que van desarrollando las células tumorales al tratamiento, lo que motiva a la investigación de proyectos enfocados en descubrir y desarrollar nuevas drogas más eficientes, selectivas y menos tóxicas. El trabajo colaborativo entre la industria farmacéutica y la academia ha sido beneficio para lograr este objetivo, las universidades han sido fundamentales para la producción de conocimiento, que posteriormente

ha sido aplicado por la industria. Debido a la necesidad de descubrir y desarrollar nuevas drogas más efectivas y menos nocivas, el presente trabajo de tesis se inserta en el ámbito de la química medicinal, abarcando estudios teóricos de diseño molecular, síntesis orgánica y ensayos biológicos.

Estudios de estructura-actividad

Una herramienta muy utilizada en química medicinal en la búsqueda de nuevos farmacóforos son las relaciones cuantitativas estructura-actividad y el punto de partida de esta investigación serán los compuestos de benzoquinonas, que están ampliamente distribuidos en la naturaleza y su función se asocia a importantes procesos redox.[3] Pero, ¿se justifican los esfuerzos intelectuales y materiales que requiere la síntesis de benzoquinonas heterocíclicas?. Un compuesto líder y ampliamente estudiado es el derivado de indolquinona, este compuesto heterocíclico nitrogenado formado por un sistema planar, en el cual coexisten fusionados un sistema quinónico y un heterociclo de indol (benzoquinona), es un candidato ideal para el diseño de nuevos derivados, a través de la modificación de la estructura. Los derivados de indol- y benzimidazol-quinona han mostrado ser excelentes sustratos de la enzima NAD(P)H: quinona oxidoreductasa 1 (NQO1), esta enzima desempeña un papel esencial en el control del crecimiento celular ya que regula los niveles fisiológicos de especies reactivas de oxígeno, debido a que cataliza la reducción de diversas quinonas hasta sus correspondientes hidroquinonas usando donadores tanto NADH como NADPH. El compuesto (I) mostro ser un excelente inhibidor de esta enzima mostrando un valor de IC_{50} de $1,25 \pm 0,03 \mu\text{M}$, además la medición del potencial de reducción arrojó un valor de $-1,28 \text{ [V]}$, pero no se encontró correlación entre ambos resultados. Ampliando el espectro de benzoquinonas heterocíclicas y analizando los isosteros de esta estructura, se pueden encontrar anillos de tiazol, furano y oxazol. Crawford *et al.* estudiaron las propiedades electroquímicas de derivados antineoplásicos de furanoquinonas y compararon los potenciales de reducción ($E_{1/2}$) con la citotoxicidad de los compuestos en células cancerígenas HL-60 (leucemia). Se observó una excelente correlación entre ambos valores y el compuesto (II) fue el más activo biológicamente con un IC_{50} de 46 nM y un $E_{1/2}$: $-0,85 \text{ V}$. Los

autores asocian un estrés oxidativo como posible mecanismo de acción de los compuestos.[4] Lavergne *et al.* en el año 2009 patentaron los derivados de benzoxazolquinona **III** para su uso como inhibidores de CDC25 fosfatasa (A, B y C), complejo enzimático que participa en la regulación y coordinación de la división celular.[5] Además, los autores estudiaron los derivados de benzotiazolquinona, en donde el compuesto **IV** mostro un valor de IC₅₀ de 201±58 µM para la enzima CDC25C.[6]

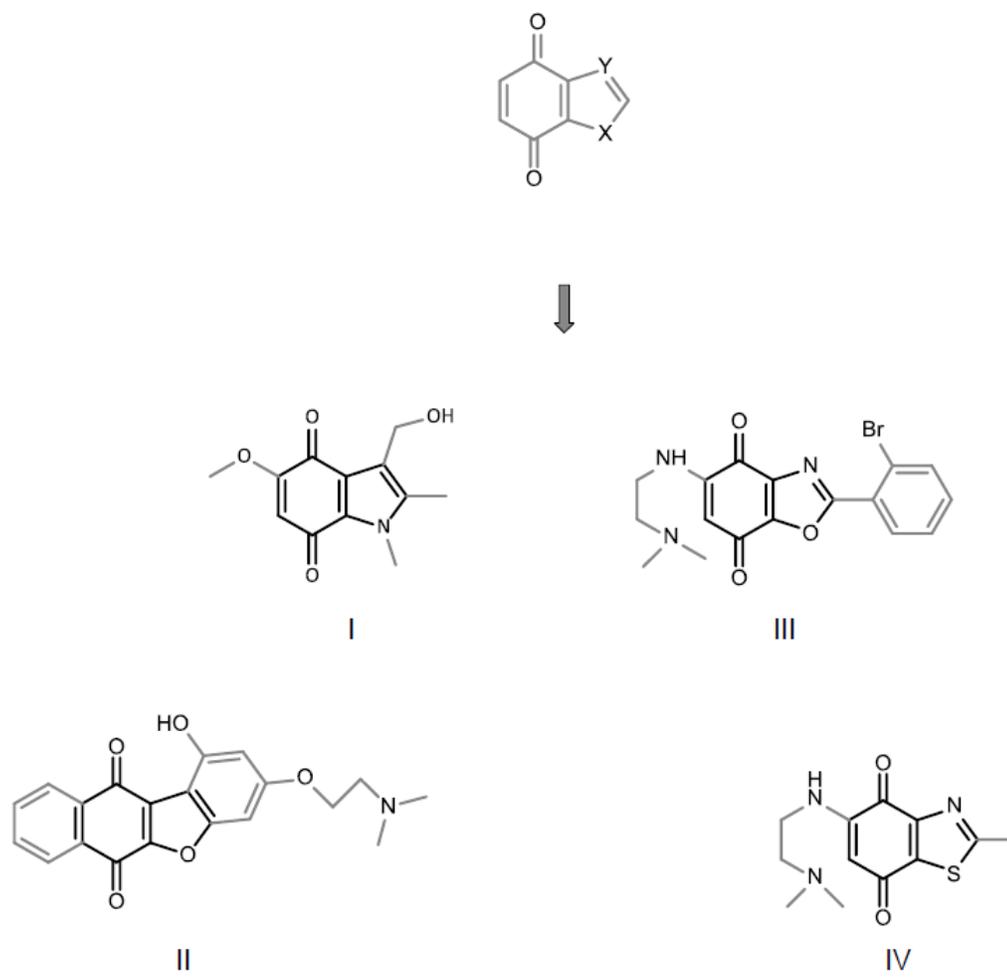


Figura 1. Benzoquinona heterocíclicas de interés en química medicinal.

Fragmentos base

Las estrategias en el diseño molecular de nuevas drogas han variado durante las últimas décadas, partiendo en los años 60' con la obtención de compuestos derivados de productos naturales, seguido por métodos computacionales (QSAR), estructuras base (SBDD), química combinatoria y high-throughput screening (HTS, procedimiento robotizado controlado por software logrando realizar miles de ensayos químicos, genéticos y farmacológicos). Posteriormente a comienzos de siglo la estrategia de diseño evoluciono a Fragmentos base, convirtiéndose en un método eficaz para obtener compuestos con una alta afinidad biológica, permitiendo acelerar la identificación de nuevos candidatos a drogas.[7] Asimismo, la primera droga comercial obtenida por esta metodología fue vemurafenib, tan solo 6 años de investigación tomo el descubrimiento y desarrollo de esta droga para alcanzar la aprobación por la FDA, este fármaco actúa como inhibidor de la enzima quinasa BRAF y es usado para el tratamiento del melanoma.[8] Posteriormente, existen más de 30 compuestos en fase avanzada de estudios clínicos que han sido elaborados utilizando la metodología de fragmentos base.[9] Esta estrategia está focalizada en la inhibición enzimática por lo cual el diseño del compuesto dependerá de las características del sitio activo, como tamaño, forma, volumen y reactividad. De esta manera la inhibición enzimática generaría los cambios necesarios en el metabolismo celular que ayudarían a contrarrestar el desarrollo de la enfermedad. El diseño de los compuestos es guiado por estudios computacionales de estructuras cristalinas (cristales y co-cristales) con el objetivo de aumentar las interacciones intramoleculares y formar un complejo enzima-sustrato (E-S) estable y duradero en el tiempo.[10] Asimismo, para obtener compuestos con una alta citotoxicidad sobre células tumorales, se deben atacar importantes procesos enzimáticos para producir un desequilibrio y alcanzar la muerte celular. El metabolismo de células

tumorales requiere una alta producción de ATP (adenosín trifosfato) para permitir una división celular descontrolada, es por esto que afectar el sistema energético mediante el bloqueo del proceso de glucólisis se convierte en una estrategia destacable para el diseño molecular de compuestos y punto de partida para el presente trabajo de tesis. La enzima glicosomal gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) es un target validado para bloquear la glucólisis, ya que esta enzima participa en la fosforilación oxidativa de gliceraldehido-3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato.[11] El estudio de esta enzima se ha ampliado desde células tumorales hasta células parasitas y su origen deriva de investigaciones sobre la malaria.[12] Los aminoácidos del sitio activo responsable de formar interacciones por puentes de hidrogeno seria los residuos His-193 y Asn-334, de igual forma el residuo Cis-165 actuaría como un centro nucleofílico de reconocimiento molecular para inhibidores. Estudios teóricos llevados a cabo entre la enzima y el derivado quinónico 2-(4-fluorfenoxi)-8-metoxinaftalen-1,4-diona demostraron que se presentaban interacciones claves tipo puentes de hidrogeno, además de generarse un ataque nucleofílico por parte del residuo de Cis-165, en donde el grupo fenoxi actuaría como buen grupo saliente y favorecería la termodinámica del proceso (Figura 2).[13] Asimismo, una amplia variedad de compuestos quinónicos sustituidos con fragmentos fenoxi han sido estudiados sobre células parasitarias mostrando un alto grado de citotoxicidad, la actividad tripanocida de estos compuestos se asocia principalmente a la inhibición enzimática de la tripanotion reductasa (TR), esta flavoenzima cumple un rol esencial en el metabolismo redox del parasito, por lo cual la inhibición generaría una alta cantidad de radicales libre en el interior celular afectando el normal funcionamiento del metabolismo. El sitio activo de la TR presenta grandes concavidades permitiendo multiples interacciones y orientaciones de los ligandos, observándose muchas veces complejos E-S en una relación estequiometrica 1:2.[14]

Por lo tanto, derivados quinónicos sustituidos con fragmentos fenoxi representan un potencial en el diseño molecular permitiendo moldear la actividad de estos derivados, siendo una estrategia a considerar en el desarrollo de esta investigación.

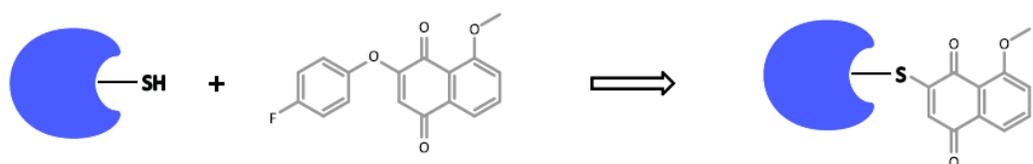
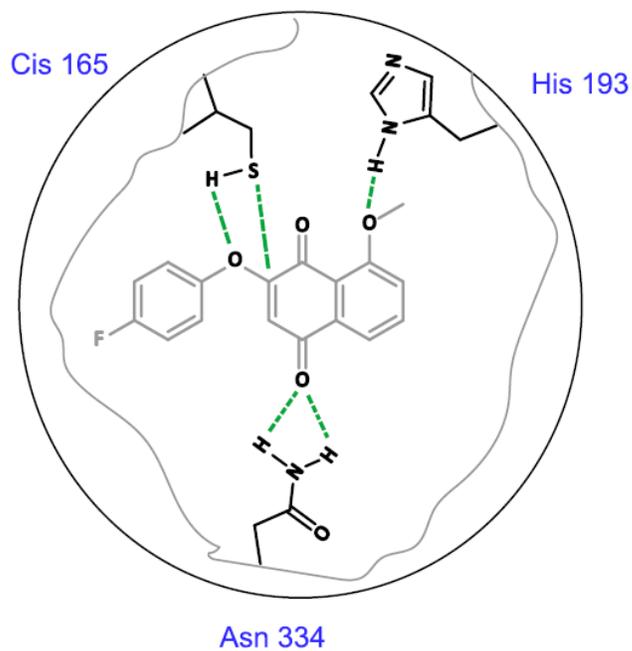


Figura 2. Estudio de docking de un compuesto químico en el sitio activo de la enzima *TbGAPDH* (parte superior) por formación de puentes de hidrogeno con los aminoácidos de cisteína, histidina y asparagina. Propuesta de la inhibición enzimática es a través de la formación de enlace entre residuo de cisteína y el compuesto químico (parte inferior).

Reconocimiento molecular de heterociclos

Las estrategias de diseño molecular tienen como finalidad generar compuestos con un alto potencial citotóxico contra células tumorales, mediante un estudio del espacio químico se definen las características estructurales, el tamaño, la forma, volumen y reactividad de los nuevos derivados. Las estrategias están focalizadas en la construcción de compuestos con un espacio químico óptimo que favorezca el reconocimiento molecular en el interior celular. El espacio químico que presenten los compuestos estaría diseñado con la finalidad de aumentar las interacciones con los diversos sitios activos de las enzimas, formando complejos E-S estables. Estas interacciones son principalmente por puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. Es por esto la importancia de usar diversas estrategias en la construcción de los compuestos, para ampliar las consideraciones en el diseño del espacio químico. Asimismo, incorporar heterociclos en la estructura molecular, como estrategia en el desarrollo del diseño, ha mostrado ser ventajoso y conveniente, ya que se asegura la obtención de compuestos con un potencial citotóxico considerable. Heterociclos con un carácter aromático y heteroátomos de nitrógeno, oxígeno y azufre generarían estructuras altamente polares y con la capacidad de actuar como dadores de puentes de hidrógeno, ya que se generarían estructuras con pares electrónicos disponibles para interactuar con el medio.[15] Los compuestos heterocíclicos son variados y diversos, entre los anillos de 5 átomos se encuentran los heterociclos de indol y sus isómeros de tiazol, furano, oxazol y tiofeno, estos compuestos muestran una buena citotoxicidad en una amplia variedad de células tumorales.[16-18] Un tipo de reconocimiento molecular identificado para el heterociclo de oxazol es por la formación de interacciones electrostáticas de tipo π -stacking. Mediante un estudio de inhibidores de la enzima Factor Xa se logró determinar las interacciones

responsables de formación del complejo E-S. Esta enzima corresponde a una serin proteasa (hidrolasa) y participa en la cascada de la coagulación sanguínea, es un excelente modelo para el estudio del reconocimiento molecular por presentar un sitio activo estable y divergente, formado por una concavidad superficial de carácter aromático conocido como pocket S4 y una concavidad de mayor profundidad (pocket S1). Compuestos con un centro tricíclicos y con dos extremidades, dando la forma de L a la estructura molecular han mostrado ser excelentes inhibidores de esta enzima (Figura 3), en donde la parte catiónica en una de las extremidades se ubica en el pocket S4, mientras que la otra parte formada por los heterociclos de oxazol y tiofeno se localizan en el pocket S1. La comparación de 2 co-cristales evidencio la influencia de la orientación del anillo de oxazol en la formación del complejo E-S, ya que la orientación antiparalela fue la más favorable y mostro una afinidad 11 veces más potente (K_i : 146 nM) con respecto a una interacción paralela (K_i : 1620 nM). La interacción realizada entre el anillo de oxazol y la cadena aminoacídica Ala190-Cys191-Gln192 es conocida como π -stacking y el complejo es más estable con una orientación antiparalela.[19] Los compuestos heterocíclicos de tiazol, furano, oxazol y tiofeno han mostrado ser clave en química medicinal por tener buen reconocimiento molecular en el interior celular y por su amplio rango de aplicación farmacéuticas, convirtiéndose en una estrategia importante en el descubrimiento y desarrollo de drogas.

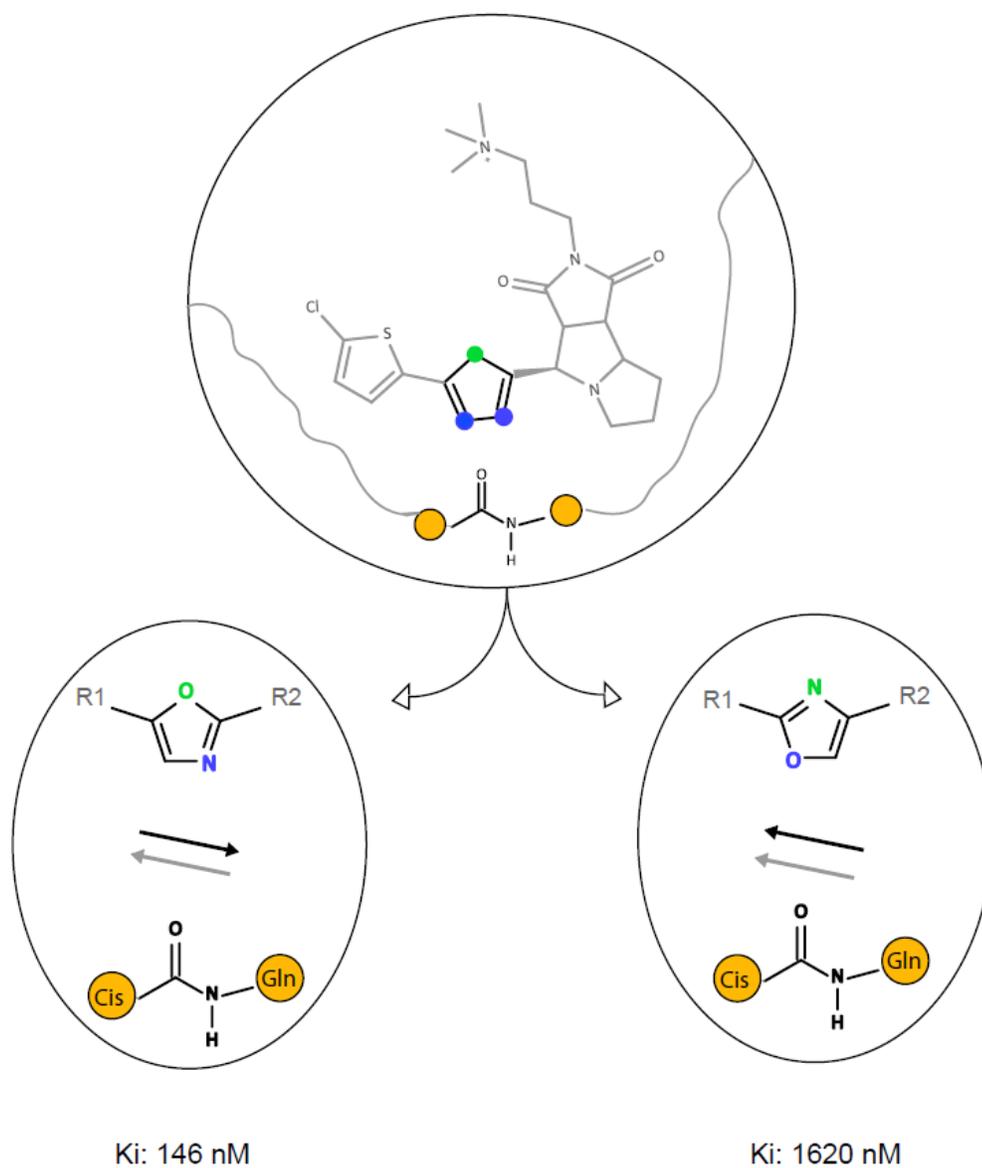


Figura 3. Interacción π -stacking entre la enzima factor X y 2 inhibidores con similitud estructural, pero con diferente orientación del anillo de heterociclo (oxazol), se comparan 2 co-cristales (1,29 Å resolución, PDB ID: 2Y5G y 1,33 Å resolución, PDB ID: 2Y5H). Molécula con una interacción antiparalela muestra ser más potente (K_i : 146 nM), con respecto a la molécula con una interacción paralelo (K_i : 1620 nM).

En esta investigación se estudiarán los heterociclos de tiazol, furano y oxazol para la obtención de compuestos con un alto potencial citotóxico. La polaridad de estas estructuras moleculares es una de las propiedades químicas más relevante, su cuantificación es conocida como momento dipolar (μ) y puede ser expresado como un vector con dirección hacia los átomos más electronegativos, este vector puede acoplarse con otros vectores, como fue el caso de la interacción stacking del heterociclo de oxazol con la cadena aminoacídica de la enzima Factor X (Figura 3). Estudios computacionales han mostrado que heterociclos con mayor momento dipolar presentan una mejor interacción con la cadena aminoacídica, como lo mostraron los anillos de oxazol y tiazol con valores de 1,7 y 1,8 [D], respectivamente. Mientras que para el heterociclo de furano se observa una menor energía de interacción y un menor momento dipolar (0,6 [D]).[20]

Desarrollo de un nuevo farmacóforo

La construcción de los derivados de benzoquinona comienza del prototipo estructural de fenoxi-quinona (I), por ser un fragmento base ampliamente estudiado sobre la enzima glucolítica GAPDH y tener su origen en el compuesto 2-fenoxinaftalen-1,4-diona (III). La estrategia de diseño para esta investigación contempla utilizar un diseño racional que implica la modificación de este fragmento base, mediante la fusión de las estructuras de fenoxi-quinona (I) con un anillo heterocíclico dando forma a una estructura planar aromática de benzoquinona (Figura 4). Además, se propone diversificar el heterociclo trabajando con estructuras de tiazol, furano y oxazol. Asimismo, se ha reportado que derivados naftalen-1,4-diona sustituidos con fragmentos arilamino (IV), potencian la citotoxicidad de los compuestos quinónicos frente a células tumorales y parasitarias, demostrando el potencial de los sustituyentes fenoxi y arilamino para moldear la actividad y ser considerados para diseñar esta nueva familia de derivados.[21] El espacio químico de los compuestos contempla una estructura planar de benzoquinona funcionalizada con un grupo fenilo en la posición-2 y un fragmento en la posición-6, la rotación de estos enlaces permite que la molécula presente una forma 3D. Los derivados tendrían un pequeño tamaño y volumen lo que facilitaría acomodarse a diversas cavidades de un sitio activo, además los heteroátomos actuarían como dadores de puentes de hidrogeno lo que facilitaría la formación del complejo E-S. La siguiente investigación contempla la síntesis de 2-fenil-6-fenoxibenzoquinonas y 2-fenil-6-fenilaminobenzoquinonas de tiazol, furano y oxazol, además de realizar estudios *in-vitro* para conocer la capacidad de producir muerte celular de los derivados. El presente trabajo, pretende ser una contribución al estudio de benzoquinonas heterocíclicas, en su acción antitumoral vía inhibición enzimática.

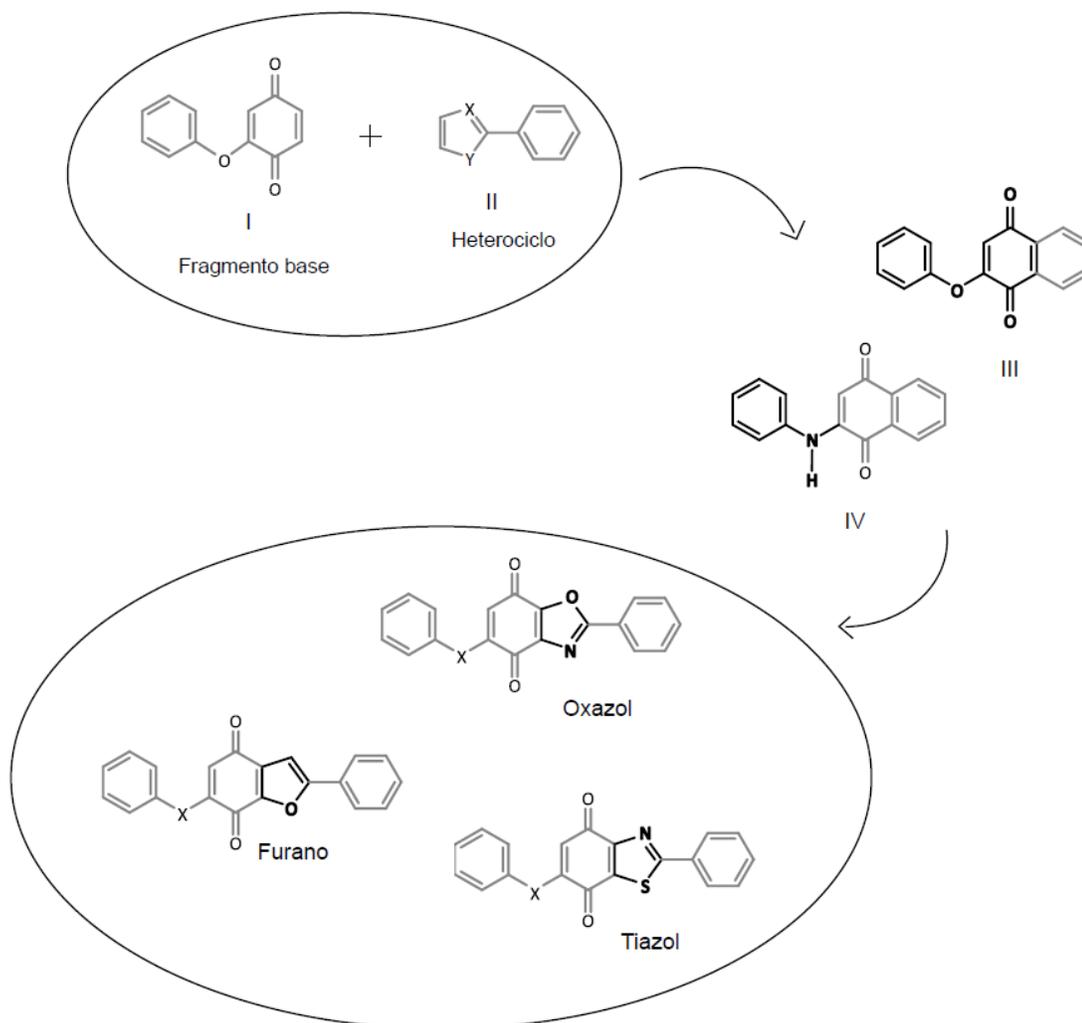
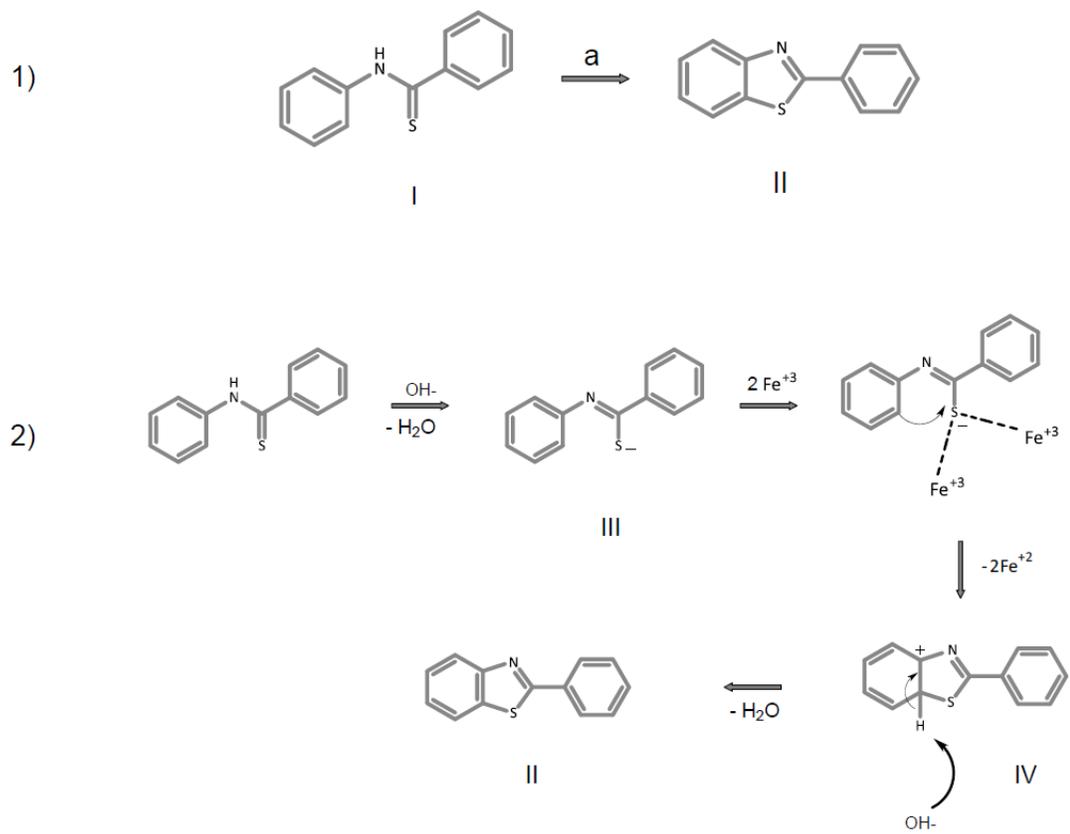


Figura 4. Diseño molecular propuesto para derivados 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, oxazol y furano, usando como estrategia química combinatoria.

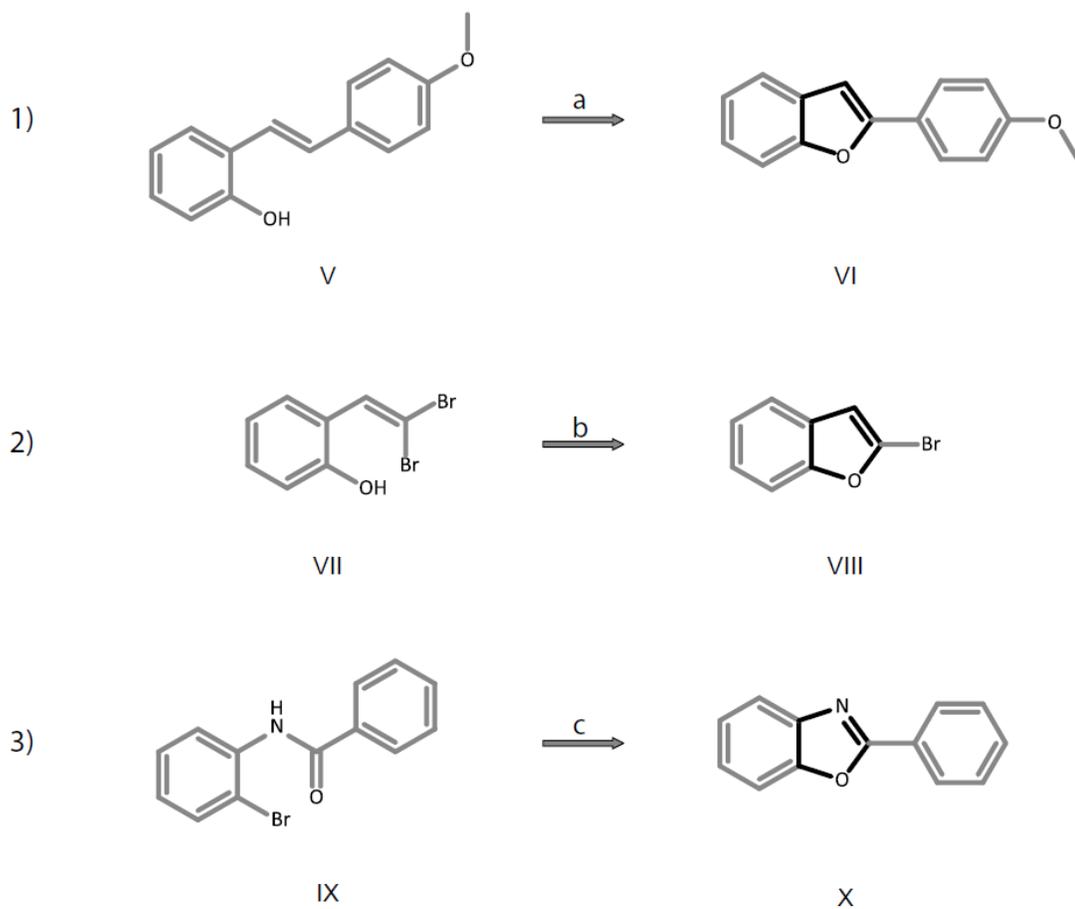
Síntesis de heterociclos

Numerosas metodologías se han publicado para la construcción del esqueleto heterocíclico, las cuales tiene como característica principal una reacción de acoplamiento intramolecular de un precursor convenientemente funcionalizado, permitiendo la formación de un enlace carbono-heteroátomo. Debido a la alta barrera energética de estos procesos se vuelve necesario el uso de catalizadores, principalmente metales de transición. Los compuestos heterociclos de 5-miembros de interés en esta investigación son los anillos de tiazol, furano y oxazol. A continuación, los derivados de benzotiazol están formados por un sistema planar entre un anillo aromático fusionado a un heterociclo que contiene átomos de azufre y nitrógeno. Se ha reportado la síntesis de estos compuestos a través de un acoplamiento intramolecular de derivados de tiobenzamida (Esquema 1). Esta reacción también conocida como ciclación de Jacobson, transcurre a través del compuesto *N*-fenilbenzotiamida (**I**), el cual es disuelto en un medio básico y mezclado con $K_3[Fe(CN)_6]$, después de 12 horas de reacción a temperatura ambiente se obtiene el derivado 2-fenilbenzo[d]tiazol (**II**) con un 80 % de rendimiento.[22] El mecanismo de esta reacción (Esquema 1), comienza con la disolución del compuesto (**I**) en el medio de reacción, formando el derivado benzimidotionato (**III**), depositándose la carga negativa sobre el átomo de azufre. Posteriormente, este anión interacciona electrostáticamente con 2 cationes de Fe^{+3} , los cuales le hacen perder densidad electrónica al átomo de azufre y le confieren una leve densidad electropositiva (δ^+), esta naturaleza electrónica lo vuelve susceptible a sufrir un ataque nucleofílico del carbono aromático adyacente, generando el acoplamiento y la formación del enlace C-S, dando origen al compuesto cíclico catiónico (**IV**), a su vez se genera la reducción de los dos átomos de hierro ($2 Fe^{+2}$). Luego, el intermediario cíclico catiónico recupera la aromaticidad debido a que el protón del anillo bencénico es

fácilmente removible, siendo un proceso favorecido termodinámicamente. Continuando con los demás heterociclos, para la síntesis de benzofurano se pueden encontrar varios procedimientos en literatura, entre las que destaca un proceso de ciclación oxidativa de un derivado de 2-(4-metoxiestiril)fenol (**V**) utilizando I₂ y K₂CO₃ en THF, después de 12 horas de reacción a temperatura ambiente se produciría el compuesto 2-(4-metoxifenil)benzofurano (**VI**) en buenos rendimientos (Esquema 2).[23] Otro método destacable para la síntesis de benzofurano, es aquel que utiliza como precursor 2-(2,2-dibromovinil)fenol (**VII**) y es sometido a una ciclación intramolecular de tipo Ullmann catalizada por el sistema catalítico CuI/ K₃PO₄/ THF, en donde se generaría el compuesto 2-bromobenzofurano (**VIII**) en buenos rendimientos.[24] Asimismo, para la síntesis de benzoxazol se destaca un acoplamiento molecular a partir de un derivado de benzamida (**IX**), funcionalizado con un enlace C-Br en posición “*orto*” de la estructura, el cual es sometido a una ciclación catalizada con CuI, usando 1,10-fenantrolina como ligando y K₃PO₄ en DME, dando lugar a la formación del compuesto heterocíclico 2-fenilbenzoxazol (**X**) en rendimientos cuantitativos.[25]



Esquema 1. Heterociclo de tiazol, 1) síntesis reportada para la formación de 2-fenilbenzotiazol, condición de reacción a) $K_3[Fe(CN)_6]$, 1.5 M NaOH, 25 °C, 12h, 80%. 2) mecanismo de reacción para la formación del derivado de benzotiazol.



Esquema 2. Heterociclo de furano y oxazol, 1) síntesis reportada para el derivado 2-(4metoxifenil)benzotiazol, a) I_2 , K_2CO_3 , THF, 25 °C, 12h, 91 %. 2) Síntesis reportada para 2-bromobenzofurano, b) CuI , K_3PO_4 , THF, reflujo, 6h, 93 %. 3) Síntesis reportada para 2-fenilbenzoxazol, c) CuI , 1,10-fenantrolina, K_3PO_4 , DME, reflujo, 6h, 99 %.

HIPOTESIS

Los compuestos 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, furano y oxazol convenientemente funcionalizados tendrán un buen reconocimiento molecular en el interior celular, reflejando un alto potencial citotóxico frente a células tumorales eucariontes y parasitarias.

OBJETIVOS

Desarrollar metodologías eficaces, flexibles y orientadas hacia la diversidad estructural de benzoquinonas heterocíclicas, con la finalidad de ajustar la actividad de estos compuestos. Posteriormente, realizar los ensayos biológicos para estudiar la capacidad de producir muerte celular en líneas tumorales eucariontes y parasitarias.

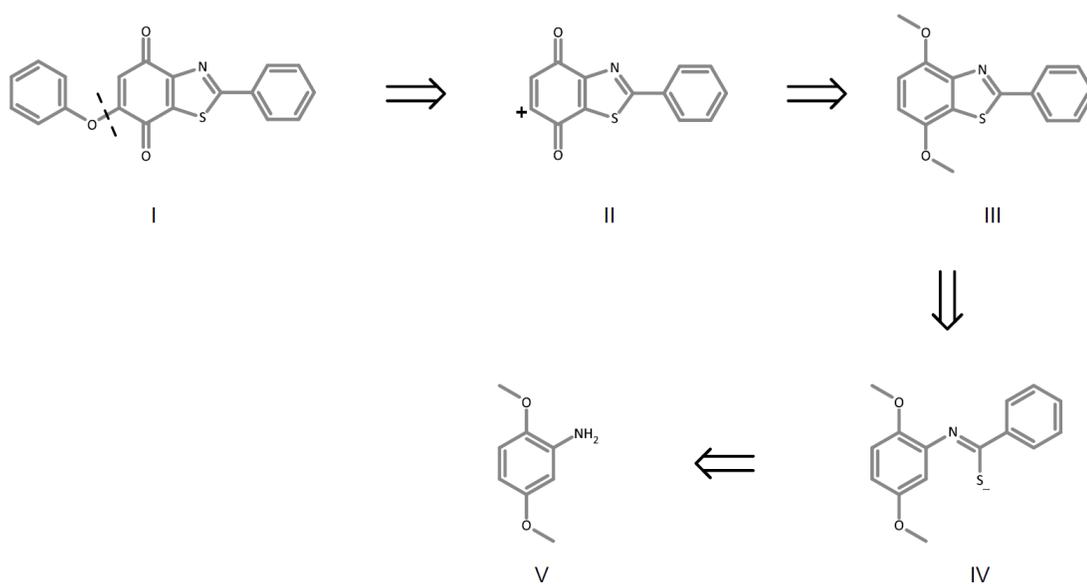
Los objetivos específicos de esta tesis serán:

- Diseñar y desarrollar una ruta sintética novedosa, eficiente y flexible para los compuestos 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, furano y oxazol convenientemente funcionalizados.
- Evaluar la viabilidad celular en líneas tumorales de cáncer de páncreas (AsPC-1, BxPC-3, MIA PaCa-2) por la medición de los valores de IC₅₀.
- Evaluar la viabilidad celular en células parasitarias (*Trypanosoma cruzi*) por la medición de los valores de IC₅₀.
- Estudiar la relación estructura-actividad e identificar los compuestos más potentes.
- Realizar la medición de los potenciales de reducción de los compuestos de benzoquinonas usando Voltametría cíclica y buscar posibles correlaciones con la citotoxicidad celular (valores de IC₅₀).

Capítulo II: Parte experimental

Planificación de síntesis

Para la obtención del núcleo de benzotiazolquinona se plantea el análisis retrosintético que se muestra en el Esquema 3. El compuesto (I) procede de una sustitución nucleofílica realizada por un grupo fenoxi sobre el sintón (II). Posteriormente, el núcleo quinónico puede provenir de una oxidación de un derivado funcionalizado con dimetileteres de hidroquinona (III), luego el núcleo de tiazol podría sintetizarse por un acomplamiento C-S a partir del sintón (IV). Finalmente, este sintón se podría sintetizar a partir de un derivado de anilina convenientemente funcionalizado (V).



Esquema 3. Análisis retrosintético para la obtención de 2-fenil-6-fenoxibenzo[d]tiazol-4,7-diona.

Síntesis de productos

Los reactivos y disolventes fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. El calentamiento de las reacciones se llevó a cabo por vía térmica (calentamiento clásico) en baño de silicona utilizando calefactores con agitación magnética Heidolph MR Hei-Standard. El seguimiento de las reacciones fue realizado por medio de cromatografía en capa fina con placas de aluminio con gel de sílice Merck 60 F₂₅₄. Los eluyentes usados fueron principalmente mezclas de acetato de etilo (AE) y éter de petróleo (EP) con una polaridad creciente (0 %, 3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %). Las placas fueron examinadas bajo lámpara de ultravioleta (UV) a 254 y 365 nm, respectivamente. Luego fueron reveladas con los indicadores disponibles: 1) Revelador de vainillina (6.00 g de vainillina, 100 mL de etanol y 1 mL de ácido sulfúrico). La purificación de los compuestos por cromatografía en columna fue realizada usando como relleno gel de sílice 60 (0,040 – 0,063; 230 – 400 Mesh). Se utilizó Na⁰ metálico para secar tolueno y THF, y para el resto de los solventes solo se presecaron con MgSO₄. Todos los compuestos, precursores, intermediarios o productos finales fueron sometidos a análisis de sus espectros de RMN de ¹H y ¹³C. Para los compuestos nuevos se realizaron estudios bidimensionales (DEPT, HMQC y HMBC). Los espectros fueron registrados en un equipo Bruker AM-400 (Universidad Católica) y Bruker Avance III-400 (The University of Nottingham) para estudios más finos y de correlación homo y heteronuclear, para los espectros de rutina fueron registrados en un equipo Bruker ACP 200. Los espectros se registraron en solución de cloroformo (CDCl₃) o dimetilsulfoxido deuterado (DMSO-*d*₆), dependiendo de la solubilidad del compuesto, y se usó tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los análisis de masa de alta resolución fueron obtenidos usando un espectrómetro Thermo Finnigan mass spectrometer Model MAT 95XP (Universidad Católica) y un Bruker MicroTOF (The University of Nottingham). Los experimentos de HLPC_ESI_MS fueron realizados en un espectrómetro *Exactive Plus Orbitrap MS Thermo Scientific*

(The University of Nottingham). Las mediciones precisas de masa se realizaron a una resolución de 140000 en modo positivo mediante inserción directa de la muestra. Los puntos de fusión fueron medidos en un equipo *Stuart Scientific* SMP3 y no están corregidos.

Cálculos computacionales

El estudio fue llevado a cabo por nuestros colaboradores, los profesores Dr. Sebastián Gallardo y Dr. Renato Contreras, se realizaron cálculos de estructuras electrónicas basados en la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) y exploró la superficie de energía potencial (SEP) para la reacción de adición nucleofílica (C-H). Para este propósito, se localizaron las respectivas estructuras de estados de transición (ET) para el proceso de adición de Michael (adición al enlace C-H) y para el mecanismo de sustitución nucleofílica (ataque al enlace C-Br). La optimización de todas las estructuras se realizó con un funcional híbrido meta-GGA M06-2X en conjunto con el set de bases 6-31+G(d,p).[26] Este nivel de teoría ha demostrado ser adecuado para describir barreras de activación y capturar interacciones no covalentes en distintas reacciones orgánicas,[27] y ha permitido obtener resultados precisos para reacciones orgánicas.[28] Todas las estructuras de estados de transición fueron optimizadas con SMD,[29] para corregir el efecto del solvente (etanol y N,N-dimetilformamida). El análisis armónico y los cálculos de las coordenadas de reacción intrínsecas fue realizadas para confirmar la naturaleza de las geometrías de estados de transición propuestos. [30]c[30] Todos los cálculos fueron llevados a cabo con el programa Gaussian 09, las estructuras de 3D fueron generadas con el programa CYL View.[31]

Voltametría

Para profundizar en las propiedades de los compuestos heterocíclicos se estudió sus propiedades redox a través de voltametría cíclica, dándonos un indicio de la tendencia que tienen las moléculas a absorber electrones del medio. Este estudio fue llevado a cabo por el grupo del profesor Dr. Mauricio Isaacs. La reducción electroquímica permitió obtener los voltagramas que representan la relación entre el potencial (volts) y la intensidad de corriente (micro Amperes, μA) durante un proceso electroquímico. Se empleó un equipo CH Instruments 760 Electrochemical Analyzer, el cual consta de una celda de vidrio de fondo cónico de 5 a 20 mL de capacidad provisto de una tapa hermética de 5 cavidades, una de las cuales resulta ocupada por un capilar de burbujeo de gas de nitrógeno y otras tres ocupadas por los electrodos de referencia, trabajo y auxiliar. El electrodo de referencia corresponde a un electrodo de AgNO_3 , el cual es utilizado para mantener el potencial de referencia constante durante la electrolisis. El electrodo de trabajo sobre el cual se desarrolla la electrolisis de interés es un electrodo de carbón vítreo. Finalmente, el electrodo auxiliar es un cable de platino. Los barridos se efectuaron a velocidades de 0.1 V/s y en un rango entre 50 a 51000 mV en todo el rango de potencial permitido por el electrodo de trabajo. Como electrolito soporte se utilizó $\text{N}(\text{Bu})_4\text{ClO}_4$ a una concentración 0,1 M. La concentración de los compuestos estudiados fue de 0,1 mM para una solución de 2 mL. Como medio se utilizó CH_3CN y todas las soluciones fueron desoxigenadas con nitrógeno atmosférico. Se utilizó ferroceno/ferrocenio como estándar interno, en una concentración 0,5 mM para cada uno.

Estudios *in-vitro*

Con la finalidad de conocer el potencial biológico se estudió cómo reaccionan las células al ser expuestas a los heterociclos (viabilidad celular), se trabajó con células parasitarias y tumorales. Se hicieron 2 colaboraciones, las células tumorales pancreáticas fueron estudiadas por el grupo del profesor Dr. Cristian Salas y las células parasitarias por el grupo del profesor Dr. Hugo Cerecetto. El estudio para ambos sistemas biológicos fue similar, se usó el procedimiento del MTT, ensayo colorimétrico que mide el metabolismo mitocondrial, a través de la medición de la absorbancia de cada cultivo celular. Para la línea tumoral se usaron 3 tipos de células de cáncer pancreático (BxPC-3, AsPC-1, MIA-PaCa-2). Mientras que para las células parasitarias se trabajó con "*Trypanosoma cruzi*". En primera instancia se estudió la viabilidad celular a concentración constante (50 uM), para cada línea se repitió el ensayo 3 veces con la finalidad de obtener resultados exactos. Los heterociclos que producían una muerte celular sobre el 50% fueron seleccionados para un segundo estudio, viabilidad celular a concentración variada (IC₅₀). Cada célula fue expuesta a 6 concentraciones distintas del heterociclo seleccionado (0,50; 5,00; 10,0; 20,0; 40,0 y 50,0 µM). Para el mantenimiento de los cultivos celulares, viabilidad a concentración constante y variable se siguió las siguientes metodologías:

- Las líneas celulares cancerígenas AsPC-1, BxPC-3 son mantenidas en medio de cultivo RPMI 1640 (Sigma), las células MIA-PaCa-2 y células sanas VERO son mantenidas en DMEM/F12 (Biological Industries), todos los medios de cultivo están a pH 7.4, suplementado con 10 % de suero bovino fetal inactivado (Biological Industries), 100 U/m de penicilina, 100 µg/mL de estreptomina, 10 µg/mL aminoácidos no esenciales y bicarbonato de sodio (2 g/L RPMI 1640 y 1.2 g/L DMEM/F12). Las células se mantienen en una incubadora humidificada

a 37 °C en presencia de 5 % de CO₂. Los ensayos biológicos se llevan a cabo en cultivos celulares con un 80 % de confluencia.

- Se siembran 5.000 células por pocillo en 100 µL de medio (en placas de 96 pocillos), se dejan en incubadora a 37 °C con 5 % de CO₂ durante toda la noche o hasta que estén adheridas en la placa de cultivo, luego se agrega 1 µL de cada ligando (disueltos en DMSO) y el control (gemcitabina), además del control con vehículo (DMSO), cada uno por triplicado y a una concentración de 50 µM en pocillo. Los diferentes tratamientos permanecen durante 72 h. Transcurrido ese tiempo, a cada pocillo se agrega 10 µL de MTT (5 µm/µL) y son incubadas por 4 h a 37 °C con 5 % de CO₂, luego de lo cual se agrega 100 µL de SDS 10 % con HCl 0,1 mM. Las placas son nuevamente incubadas por 12 h adicionales a 37 °C con 5 % de CO₂. La absorbancia se cuantifica en un multilector Cytation 5 (Biotek) a una longitud de onda de 570 y 630 nm. Este procedimiento se repite tres veces para cada línea celular. Los datos son tratados con el programa GraphPad Prism versión 6,01 (GraphPad Software Inc.).
- Para llevar a cabo el estudio a concentración variable se aumenta el volumen del medio, en este caso en 200 µL de medio de cultivo, para disminuir el porcentaje de DMSO en el pocillo, de 1 a 0,5 %. A continuación, se estimula con 1 µL de cada compuesto, pero esta vez a seis concentraciones distintas (0,50; 5,00; 10,0; 20,0; 40,0 y 50,0 µM en pocillo).

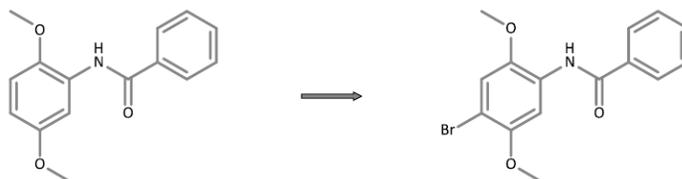
Procedimientos de laboratorio

N-(2,5-dimetoxifenil)benzamida (2)



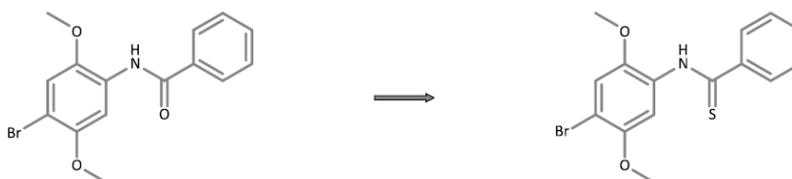
A una solución de 2,5-dimetoxianilina **1** (4.00 g, 26.1 mmol) y NEt₃ (26.1 mmol) en THF anhidro (150 mL), se adicionó gota a gota una solución de cloruro de benzoílo (31.3 mmol). La mezcla se dejó reaccionando por 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, el crudo fue filtrado y concentrado a presión reducida, luego el residuo fue disuelto en CHCl₃ (70 mL). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 25 mL) y luego se secó con MgSO₄. El disolvente se removió a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino (6.58 g, 25.6 mmol, 98%).

***N*-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)benzamida (3)**



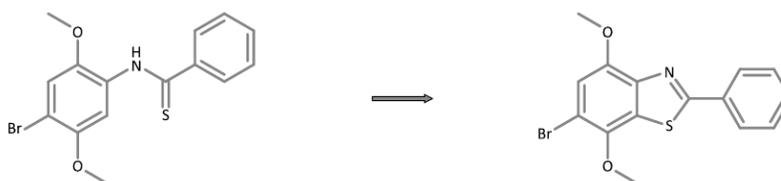
A una solución de *N*-(2,5-dimetoxifenil)benzamida **2** (4.00 g, 15.5 mmol) en CH₃CN (200 mL) se adicionó gota a gota una solución de NBS (15.5 mmol) en CH₃CN (50 mL) y se dejó reaccionando por 30 minutos a temperatura ambiente y luego la mezcla de reacción se calentó a 50 °C por 4 horas. Luego, terminada la reacción el disolvente se removió a presión reducida y el residuo se disolvió en CHCl₃ (70 mL). La fase orgánica se lavó con una solución saturada Na₂SO₃ (30 mL) y luego con agua (2 x 30 mL). Después de secar con MgSO₄ y concentrar a presión reducida, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino café (4.70 g, 14.0 mmol, 90 %).

***N*-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)tiobenzamida (4)**



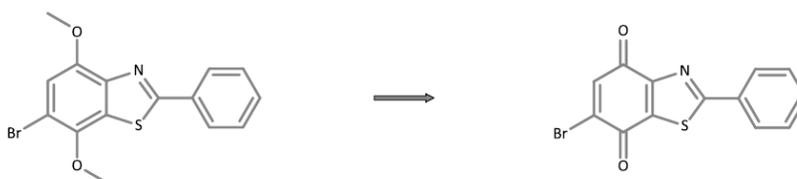
En una atmosfera de nitrógeno se disuelve *N*-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)benzamida **3** (7.77 mmol) en tolueno anhidro (200 mL) y se adiciona gota a gota una solución del reactivo de Lawesson (11.7 mmol) en tolueno anhidro (70 mL), luego la mezcla se dejó reaccionando a 80 °C por 5 horas. Finalizada la reacción, el crudo se filtró y concentro a presión reducida, para luego purificar mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino amarillo (3.26 g, 9.24 mmol, 74 %).

6-Bromo-2-fenil-4,7-dimetoxibenzo[*d*]tiazol (5)



A una solución de *N*-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)tiobenzamida **4** (4.02 mmol) en 1.5 M de NaOH (150 mL) a 0 °C, se le adicióno una solución de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0.61 M (40 mL). Luego, la mezcla se dejó reaccionando 12 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, el crudo se filtró y el sólido obtenido se lavó con agua y seco en una estufa de vacío a 50 °C, para finalmente cristalizar en $CHCl_3$ -MeOH, obteniendo un sólido cristalino amarillo (1.67 g, 4.77 mmol, 56 %).

6-Bromo-2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona (6)



A una solución de 6-Bromo-2-fenil-4,7-dimetoxibenzo[d]tiazol **5** (0,78 mmol) en CH₃CN (40 mL) se adiciono gota a gota una solución de Ce(NO₃)₆(NH₄)₂ (1,96 mmol) en agua (10 mL) y se dejó reaccionado por 2 horas a temperatura ambiente. Finalizada la reacción, el crudo se diluyo con agua (50 mL) y lavo con CHCl₃ (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄ y concentro a presión reducida, el residuo se purifico mediante cromatografía en columna (2 %, 4 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 % CH₃Cl-EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino rojo (0.87 g, 2.71 mmol, 79 %).

2-Fenil-6-fenoxibenzo[d]tiazol-4,7-diona (7)



Una solución de fenol (0,40 mmol) y K_2CO_3 (0,40 mmol) en DMF (40 mL) se dejó reaccionando una 1 hora a temperatura ambiente, para luego adicionar gota a gota una solución de 6-Bromo-2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona **6** (0,1 g; 0,33 mmol) en DMF (10 mL). La mezcla se dejó reaccionando 4 horas a temperatura ambiente. Finalizada la reacción se disminuyó el volumen del crudo, se diluyó con agua (20 mL) y se lavó con CH_3Cl (2 x 15 mL). La fase orgánica se secó ($MgSO_4$) y concentró a presión reducida, luego el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (2 %, 4 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 % CH_3Cl -EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino anaranjado (78.0 mg, 0.23 mmol, 50 %).

6-Bromo-2-fenil-5-fenilamino-benzo[d]tiazol-4,7-diona (10)



Una solución de 6-Bromo-2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona **6** (0.10 g, 0.33 mmol) y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.02 mmol) en etanol (20 mL) se dejó reaccionado a temperatura ambiente por 30 minutos, para luego adicionarle gota a gota una solución de anilina (0.66 mmol) en etanol (10 mL). La mezcla se dejó reaccionado por 24 horas a temperatura ambiente. Finalizada la reacción, el crudo se concentró a presión reducida y luego se redisolvió en CHCl_3 (30 mL), la fase orgánica se lavó con agua (2 x 15 mL), posteriormente se secó con MgSO_4 y se concentró a presión reducida, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (2 %, 4 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 % CH_3Cl -EP, como eluyentes) y se obtuvo un sólido cristalino morado (0.17 g, 0.42 mmol, 89 %).

2-(2,2-Dibromovinil)-6-metoxifenol (12)



Una solución de PPh₃ (92,1 mmol) en DCM (100 mL) a 0 °C, se le adiciono gota a gota una solución de CBr₄ (46,1 mmol) en DCM (30 mL). La mezcla se dejó reaccionando por 10 minutos y luego se agregó gota a gota una solución de NEt₃ (92,1 mmol) en DCM (30 mL), después de 10 minutos de reacción se agregó gota a gota una solución de *o*-Vainillina **11** (3,50 g; 32,0 mmol) en DCM (30 mL), evitando que la temperatura supere los 10 °C. Después de dejar reaccionado toda la noche a temperatura ambiente, se agregó una solución saturada de NH₄Cl (50 mL), luego la fase acuosa se lavó con DCM (2x30 mL) y la fase orgánica resultante fue secada con MgSO₄ y concentrado a presión reducida a un 10 % del volumen original, para luego ser redisuelta con éter etílico (60 mL) y filtrada en Celita. La solución resultante fue concentrada y el residuo fue purificado mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un líquido oscuro (5,74 g; 18,7 mmol; 82 %).

2-Bromo-7-metoxibenzofurano (13)



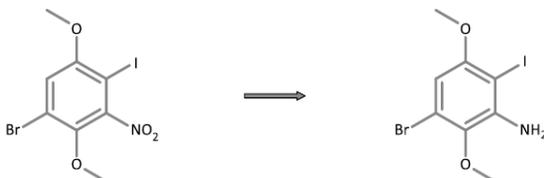
A una solución de 2-(2,2-dibromovinil)-6-metoxifenol (5,00 g; 16,2 mmol), CuI (5 mol %) y K₃PO₄ (32,5 mmol) en THF (200 mL), se dejó reaccionado a 80 °C por 6 horas. Finalizada la reacción, el crudo fue filtrado en celita y concentrado a presión reducida, para luego ser disuelto en CHCl₃ (100 mL). La fase orgánica fue lavada con agua, secado con MgSO₄ y concentrado a presión reducida. El residuo fue purificado mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un líquido transparente (3,28 g; 14,4 mmol; 89 %).

2-Fenil-7-metoxibenzofurano (14)



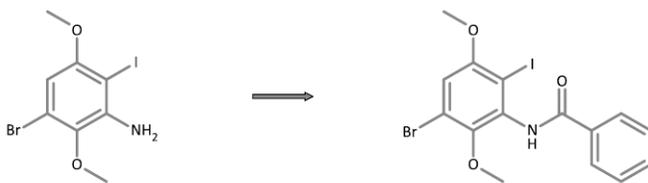
A una solución de 2-Bromo-7-metoxibenzofurano **13** (3,00 g; 13,2 mmol), Pd(OAc)₂ (5 mol %) y PhB(OH)₂ (19,8 mmol) en dioxano (120 mL) se le agregó gota a gota una solución de K₂CO₃ (19,8 mmol) en H₂O (20 mL) y se dejó reaccionado por 6 horas a 80 °C. Terminada la reacción el crudo se filtró en Celita y concentro a presión reducida hasta la mitad del volumen original y se adicióno CHCl₃ (50 mL), la solución resultante se lavó con H₂O (2 x 20 mL) y se secó con MgSO₄ anhidro. Luego se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo fue purificado mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), dando un sólido cristalino blanco (2,93 g; 13,1 mmol; 99 %).

4-Bromo-2-iodo-3,6-dimetoxianilina (26)



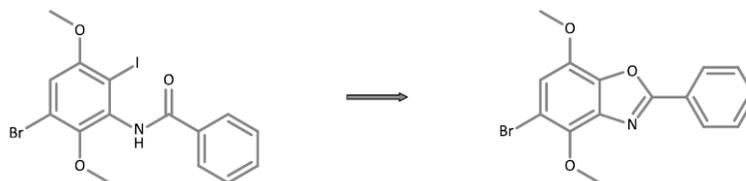
Una solución de 1-Bromo-4-iodo-2,5-dimetoxi-3-nitrobenzeno **25** (9,71 mmol), Fe (68,0 mmol) y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,26 mmol) en EtOH:AcOH (6:1, 150 mL), se calentó a reflujo por 4 horas. Finalizada la reacción, el crudo se filtró y lavo con CHCl_3 (3 x 30 mL). Luego, la fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (2 x 30 mL), agua (2 x 20 mL) y después se secó con MgSO_4 , posteriormente se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), formando un sólido cristalino negro (2,40 g; 6,70 mmol; 65 %).

***N*-(5-bromo-2-iodo-3,6-dimetoxifenil)benzamida (27)**



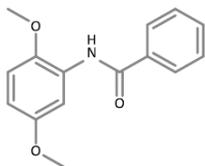
A una solución de 4-Bromo-2-iodo-3,6-dimetoxianilina **26** (8,62 mmol) y NEt_3 (8,62 mmol) en THF anhidro (100 mL) se adiciono gota a gota una solución de cloruro de benzoílo (10.3 mmol) en THF anhidro (20 mL). La mezcla se dejó reaccionando por 24 horas a temperatura ambiente. Una vez finalizada la reacción, el crudo se filtró y concentro a presión reducida, luego fue redissuelto en acetato de etilo (60 mL). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 20 mL), seco con MgSO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), se obtuvo un sólido cristalino blanco (1,39 g; 3,02 mmol; 54 %).

2-Fenil-6-bromo-4,7-dimetoxibenzoxazol (28)

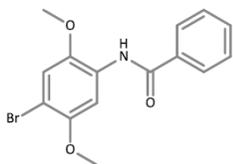


A una solución de *N*-(5-bromo-2-iodo-3,6-dimetoxifenil)benzamida **27** (4,76 mmol), CuI (0,24 mmol), 1,10-fenantrolina (0,48 mmol) y K₃PO₄ (9,52 mmol) en DME (100 mL) se calienta a reflujo por 6 horas. Luego, el crudo de reacción se filtró en celita, se concentró a presión reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (3 %, 6 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % AE-EP, como eluyentes), obteniendo un sólido cristalino blanco (0,69 g; 2,08 mmol; 80 %).

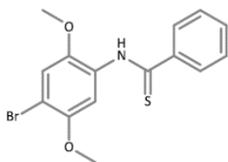
Caracterización molecular de los productos



N-(2,5-Dimetoxifenil)benzamida (2). Sólido cristalino blanco (98 %). p.f.: 78-79 °C. HRMS (EI) m/z calcd. Para $C_{15}H_{16}NO_3$ (M+H)⁺ 258,1046; encontrado 258,1121. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,82 (s, 3H); 3,88 (s, 3H); 6,62 (dd, J = 2,7 Hz, J = 8,9 Hz, 1H); 6,83 (d, J = 8,9 Hz, 1H); 7,48-7,57 (m, 3H); 7,90 (d, J = 7,6 Hz, 2H); 8,29 (d, J = 2,7 Hz, 1H); 8,59 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl₃): 55,8; 56,3; 105,9; 108,9; 110,7; 127,0; 128,4; 128,7; 131,7; 135,2; 142,3; 153,9; 165,2.

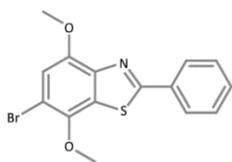


N-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)benzamida (3). Sólido cristalino café (90 %). p.f.: 137-138 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{15}H_{15}BrNO_3$ (M+H)⁺ 336,0230; encontrado 336,0230. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,89 (s, 3H); 3,93 (s, 3H); 7,09 (s, 1H); 7,49-7,59 (m, 3H); 7,88 (dd, J = 1,6, 7,8 Hz, 2H); 8,42 (s, 1H); 8,55 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl₃): 56,5; 56,8; 104,2; 104,6; 115,0; 127,0; 127,8; 128,9; 132,0; 134,8; 142,4; 150,2; 165,2.



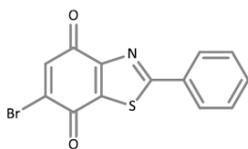
N-(4-Bromo-2,5-dimetoxifenil)tiobenzamida (4). Sólido cristalino amarillo (74 %). p.f.: 138-141 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{15}H_{14}BrNO_2S$ (M+H)⁺ 352,0001; encontrado 352,0006. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,90 (s, 6H); 7,14 (s, 1H); 7,40-7,55 (m, 3H); 7,83 (d, J = 6,7 Hz, 2H); 9,34 (s, 1H); 9,70 (s, 1H). **¹³C RMN** (101

MHz, CDCl₃): 56,6; 56,9; 105,4; 106,6; 115,1; 126,6; 128,6; 128,7; 131,1; 143,7; 144,1; 149,5; 195,8.



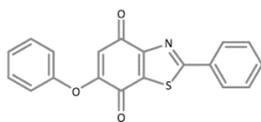
6-Bromo-2-fenil-4,7-dimetoxibenzo[d]tiazol (5).

Sólido cristalino amarillo (56 %). p.f.: 123-125 °C. HRMS (EI) *m/z* calcd. para C₁₅H₁₃BrNO₂S (M+H)⁺ 349,9845; encontrado 349,9846. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,98 (s, 3H); 4,04 (s, 3H); 7,06 (s, 1H); 7,48 (s, 3H); 8,10 (d, *J* = 4,2 Hz, 2H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): 56,6; 60,2; 111,9; 112,0; 127,6; 128,9; 130,5; 131,1; 133,0; 144,5; 144,7; 150,0; 167,5.



6-Bromo-2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona (6).

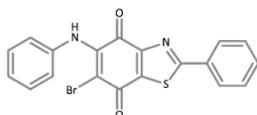
Sólido cristalino rojo (79 %). p.f.: 238-240 °C. HRMS (EI) *m/z* calcd. para C₁₃H₆BrNO₂S (M+Na)⁺ 341,9195; encontrado 341,9194. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,41 (s, 1H); 7,46-7,58 (m, 3H); 8,10 (dd, *J* = 1,6; 7,9 Hz, 2H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): 127,7; 129,4; 131,7; 132,7; 138,1; 138,4; 153,6; 172,5; 175,8; 177,2.



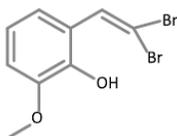
2-Fenil-6-fenoxibenzo[d]tiazol-4,7-diona (7).

Sólido cristalino anaranjado (50 %). p.f.: 229-231 °C; HRMS (EI) *m/z* calcd. para C₁₉H₁₁NO₃S (M+H)⁺ 334,0532; encontrado 334,0534. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,84 (s, 1H); 7,14 (d, *J* = 10,5 Hz, 2H); 7,32 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H); 7,45-7,56 (m, 5H); 8,10 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H). ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃): 110,9; 120,9; 126,8; 127,7; 129,3; 130,5; 131,9; 132,5; 136,4; 152,7; 154,3; 160,6;

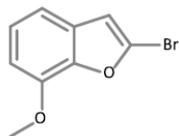
174,3; 175,8; 179,9; **IR** (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1432, 1457, 1492, 1584, 1607, 1662, 3051, 3430.



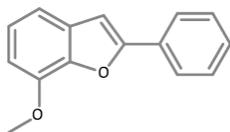
6-Bromo-2-phenil-5-(fenilamino)benzo[d]tiazol-4,7-diona (10). Sólido cristalino morado (89 %). p.f.: 222-223 °C; HRMS (EI) m/z calcd. para $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$ (M+H)⁺ 410,9797; encontrado 410,9782. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO): δ = 7,15-7,18 (m, 3H); 7,33 (t, J = 7,7 Hz, 2H); 7,58-7,65 (m, 3H); 8,10 (d, J = 7,1 Hz, 2H); 9,45 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, DMSO): 103,5; 124,3; 124,7; 127,1; 128,1; 129,6; 131,6; 132,2; 138,8; 140,8; 145,2; 150,7; 171,3; 172,2; 173,6. **IR** (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 1434, 1450, 1511, 1638, 3057, 3321.



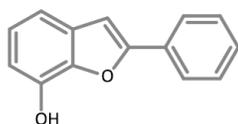
2-(2,2-Dibromovinil)-6-metoxifenol (12). Líquido oscuro (81 %). HRMS (EI) m/z calcd. para $\text{C}_9\text{H}_7\text{Br}_2\text{O}_2$ (M+H)⁺ 308,9700; encontrado 308,8416. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl_3): δ = 3,90 (s, 3H); 5,85 (s, 1H); 6,85 (d, J = 4,6 Hz, 2H); 7,34 (t, J = 4,6 Hz, 1H); 7,65 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl_3): 56,1; 90,0; 110,6; 119,2; 120,6; 121,8; 131,9; 143,2; 146,3.



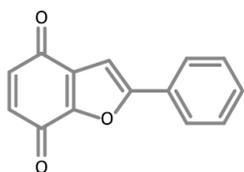
2-Bromo-7-metoxibenzofurano (13). Líquido transparente (89 %). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl_3): δ = 3,99 (s, 3H); 6,70 (s, 1H); 6,77 (d, J = 7,8 Hz, 1H); 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 1H); 7,15 (t, J = 7,8 Hz, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl_3): 56,0; 106,5; 108,6; 112,3; 124,0; 128,0; 130,2; 144,7; 145,1.



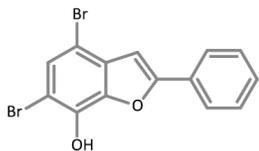
2-Fenil-7-metoxibenzofurano (14). Sólido cristalino blanco (99 %). p.f.: 72-73 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{15}H_{13}O_2$ (MH^+) 225,0910; encontrado 225,0903. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,06 (s, 3H); 6,81 (d, J = 7,5 Hz, 1H); 7,02 (s, 1H); 7,14 – 7,20 (m, 2H); 7,35 (t, J = 7,6 Hz, 1H); 7,44 (t, J = 7,6 Hz, 2H); 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): 56,1; 101,6; 106,7; 113,3; 123,6; 125,0; 128,5; 128,7; 130,3; 130,9; 144,1; 145,3; 156,1.



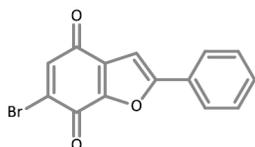
2-Fenilbenzofuran-7-ol (15). Sólido cristalino blanco (81 %). p.f.: 128-130 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{14}H_{11}O_2$ ($M+H$) $^+$ 211,0754; encontrado 211,0748. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 5,23 (s, 1H); 6,84 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H); 7,03 (s, 1H); 7,11 (t, J = 7,8 Hz, 1H); 7,16 (dd, J = 7,8; 1,4 Hz, 1H); 7,34 – 7,44 (m, 1H); 7,46 – 7,48 (m, 2H); 7,85-7,88 (m, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): 102,1; 110,7; 113,2; 123,9; 124,9; 128,7; 128,8; 130,2; 130,8; 140,7; 143,1; 156,1.



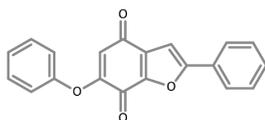
2-Fenilbenzofuran-4,7-diona (16). Sólido cristalino rojo (62 %). p.f.: 167-168 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{14}H_8NaO_3$ ($M+Na$) $^+$ 247,0366; encontrado 247,0362. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6,71 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,43 – 7,51 (m, 3H), 7,82 – 7,85 (m, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): 102,3; 125,4; 128,2; 129,1; 130,3; 130,3; 136,3; 136,4; 149,6; 159,7; 174,4; 183,0. IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1620, 2854, 2921, 3112, 3441.



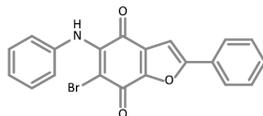
4,6-Dibromo-2-fenilbenzofuran-7-ol (17). Líquido rojo oscuro (78 %). HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{14}H_7Br_2O_2$ (M-H)⁻ 364,8818; encontrado 364,8817. **¹H RMN** (400 MHz, DMSO): δ = 7,38 (s, 1H); 7,44 (t, J = 7,2 Hz, 1H); 7,51 – 7,56 (m, 3H); 8,02 (d, J = 7,5 Hz, 2H); 11,0 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, DMSO): 101,9; 102,0; 105,5; 125,0; 128,9; 128,9; 129,0; 129,4; 130,8; 139,5; 143,1; 156,2.



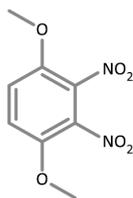
6-Bromo-2-fenilbenzofuran-4,7-diona (18). Sólido cristalino rojo (68 %). p.f.: 210-211 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{14}H_7BrNaO_3$ (M+Na)⁺ 324,9471; encontrado 324,9485. **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,08 (s, 1H); 7,29 (s, 1H); 7,50 – 7,52 (m, 3H); 7,87 (d, J = 6,6 Hz, 2H). **¹³C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 102,6; 125,6; 127,9; 129,2; 130,6; 131,1; 137,5; 138,2; 148,2; 160,9; 166,9; 180,1. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1559, 1588, 1620, 3044, 3116, 3445.



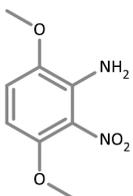
2-Fenil-6-fenoxibenzofuran-4,7-diona (19). Sólido cristalino amarillo (48 %). p.f.: 217-218 °C; HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{20}H_{13}O_4$ (MH)⁺ 317,0700; encontrado 317,0814. **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 6,08 (s, 1H); 7,04 (s, 1H); 7,21-7,28 (m, 2H); 7,41-7,48 (m, 6H); 7,83 (d, J = 7,4 Hz, 2H). **¹³C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 101,9; 124,6; 125,2; 125,8; 128,5; 128,9; 129,1; 130,0; 137,3; 142,8; 151,1; 159,2; 163,8; 169,1; 177,0. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1569, 1606, 1620, 1686, 3052, 3108, 3444.



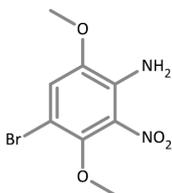
6-Bromo-2-phenil-5-(fenilamino)benzofuran-4,7-diona (20). Sólido cristalino morado (85 %). p.f.: 220-221 °C; HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{20}H_{12}BrNO_3$ (M)⁺ 394,0275; encontrado 394,0096. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,03 (s, 1H); 7,10 (d, J = 8,07 Hz, 2H); 7,23 (t, J = 7,33 Hz, 1H); 7,36 (t, J = 7,82 Hz, 2H); 7,43-7,49 (m, 3H); 7,60 (s, 1H); 7,83 (d, J = 6,85 Hz, 2H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl₃): 101,9; 102,9; 124,6; 125,2; 125,8; 126,3; 128,2; 128,5; 129,1; 130,0; 137,3; 142,8; 151,1; 159,2; 169,1; 177,0. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1449, 1483, 1506, 1565, 1594, 1650, 1680, 3055, 3109, 3446.



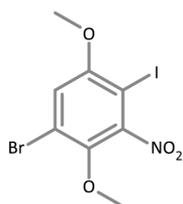
1,4-Dimetoxi-2,3-dinitrobenzeno (22). Sólido cristalino amarillo (83 %). p.f.: 185-187 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_8H_8N_2O_6Na$ (M+Na)⁺ 251,0275; encontrado 251,0272. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,93 (s, 6H); 7,20 (s, 2H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl₃): 57,5; 111,2; 116,8; 145,3.



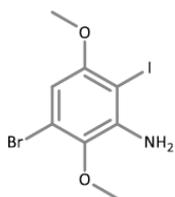
3,6-Dimetoxi-2-nitroanilina (23). Sólido cristalino rojo (59 %). p.f.: 68-70 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_8H_{11}N_2O_4$ (M+H)⁺ 199,0713; encontrado 199,0707. **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃): δ = 3,83 (s, 3H); 3,84 (s, 3H); 5,36 (s, 2H); 6,18 (d, J = 8,8 Hz, 1H); 6,75 (d, J = 8,8 Hz, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, CDCl₃): 56,3; 56,6; 98,1; 112,6; 135,1; 141,5; 148,5.



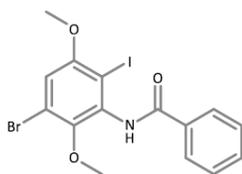
4-Bromo-3,6-dimetoxi-2-nitroanilina (24). Sólido cristalino rojo (54 %). p.f.: 89-91 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_8H_9BrN_2NaO_4$ ($M+Na$)⁺ 298,9638; encontrado 298,9634. **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,86 (s, 3H); 3,92 (s, 3H); 5,37 (s, 2H); 6,93 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 56,4; 62,4; 102,3; 116,1; 131,2; 134,3; 144,0; 145,1. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1435, 1453, 1510, 1569, 1613, 1722, 2945, 3382, 3505.



1-Bromo-4-iodo-2,5-dimetoxi-3-nitrobenzeno (25). Sólido cristalino blanco (47 %). p.f.: 115-116 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_8H_7BrINNaO_4$ (MNa)⁺ 409,8495; encontrado 409,8499. **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,88 (s, 3H); 3,90 (s, 3H); 7,08 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 57,5; 63,1; 77,3; 115,9; 118,3; 143,1; 152,1; 155,7. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1427, 1476, 1510, 1582, 2843, 2943, 3088, 3422.

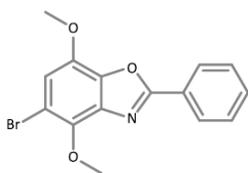


3-Bromo-6-iodo-2,5-dimetoxianilina (26). Sólido cristalino negro (65 %). HRMS (EI) m/z calcd. para $C_8H_{10}BrINO_2$ (MH)⁺ 357,8934; encontrado 357,8925. p.f.: 128-130 °C. **¹H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,77 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 4,50 (s, 2H); 6,39 (s, 1H). **¹³C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 56,5; 59,7; 73,8; 103,2; 116,1; 137,6; 142,9; 155,0. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1489, 1539, 1520, 1565, 1684, 2558, 2932, 3354.



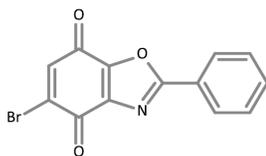
N-(3-bromo-6-iodo-2,5-dimetoxifenil)benzamida

(27). Sólido cristalino blanco (54 %). p.f.: 173-174°C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{15}H_{14}BrINO_3$ $(M+H)^+$ 461,9196; encontrado 461,9192. **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,76 (s, 3H); 3,88 (s, 3H); 7,00 (s, 1H); 7,49-7,63 (m, 4H); 7,97 (d, J = 7,5 Hz, 2H). **^{13}C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 57,1; 61,3; 91,0; 113,9; 117,5; 127,5; 128,8; 132,2; 133,9; 135,2; 147,8; 155,7; 166,1. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1401, 1416, 1462, 1484, 1509, 1579, 1602, 1647, 3275.



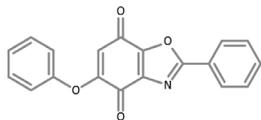
5-Bromo-2-fenil-4,7-dimetoxibenzo[d]oxazol (28).

Sólido cristalino blanco (80 %). p.f.: 136-137°C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{15}H_{13}BrNO_3$ $(M+H)^+$ 334,0073; encontrado 334,0071. **1H RMN** (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,01 (s, 3H); 4,33 (s, 3H); 7,02 (s, 1H); 7,49-7,55 (m, 3H); 8,27 (dd, J = 1,7; 8,8 Hz, 2H). **^{13}C RMN** (101 MHz, $CDCl_3$): 56,8; 61,4; 107,9; 112,1; 126,6; 127,8; 128,9; 131,7; 135,2; 140,1; 140,6; 142,5; 162,2. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1416, 1435, 1460, 1487, 1579, 1553, 1579, 1605, 1646, 2837, 2933, 3269.

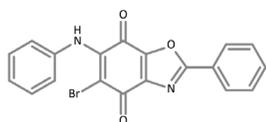


5-Bromo-2-fenilbenzo[d]oxazol-4,7-diona (29).

Sólido cristalino anaranjado (69 %). p.f.: 218-219 °C. HRMS: HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{13}H_6BrNNaO_3$ $(M+Na)^+$ 325,9410; encontrado 325,9423. **1H RMN** (400 MHz, DMSO): δ = 7,64-7,74 (m, 4H); 8,17 (d, J = 7,0 Hz, 2H). **^{13}C RMN** (101 MHz, DMSO): 124,7; 127,5; 129,6; 133,0; 136,3; 136,8; 140,5; 148,8; 164,0; 172,6; 172,9. **IR** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1450, 1478, 1605, 1696, 3043, 3445.



2-Fenil-5-fenoxibenzo[d]oxazol-4,7-diona (30). sólido cristalino amarillo (70 %). p.f.: 243-244 °C. HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{19}H_{12}NO_4$ (MH^+) 318,0761; encontrado 318,0754. 1H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 5,59 (s, 1H); 7,28 (d, J = 7,9 Hz, 2H); 7,38 (t, J = 7,4 Hz, 1H); 7,56 (t, J = 7,9 Hz, 2H); 7,64-7,71 (m, 3H); 8,17 (d, J = 7,0 Hz, 2H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO): 110,0; 121,0; 125,4; 127,0; 127,9; 130,1; 131,1; 133,4; 140,4; 149,5; 153,5; 160,0; 164,6; 174,5; 175,0. IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1403, 1451, 1487, 1547, 1581, 1608, 1664, 1709, 3055, 3446.



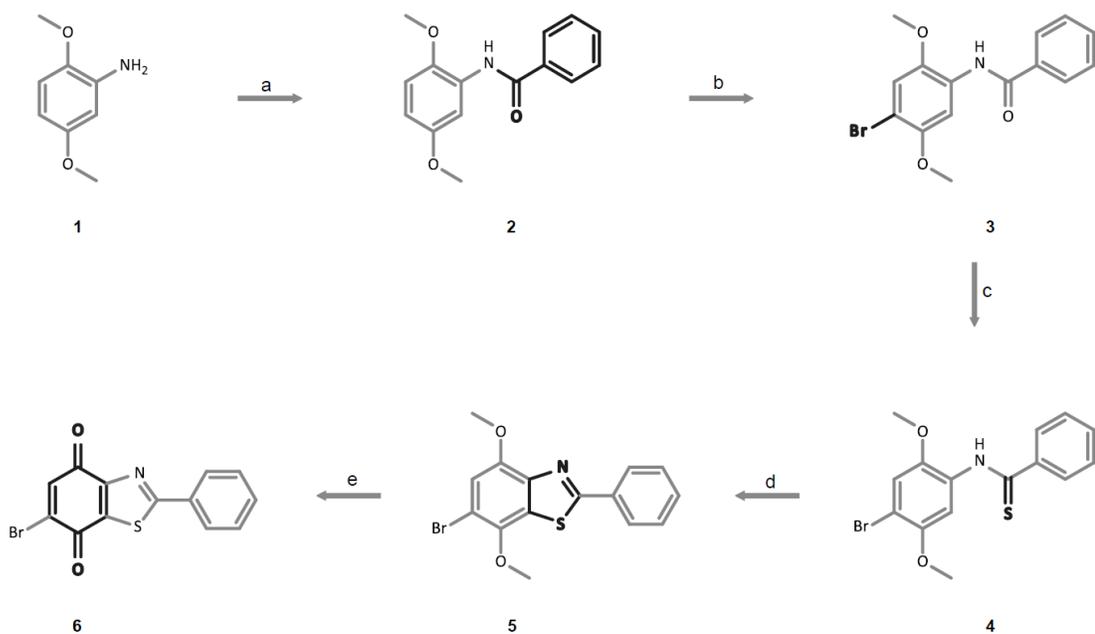
5-Bromo-2-fenil-6-(fenilamino)benzo[d]oxazol-4,7-diona (31). Sólido cristalino morado (87 %). p.f.: 228-229 °C; HRMS (EI) m/z calcd. para $C_{19}H_{12}BrN_2O_3$ ($M+H^+$) 395,0026; encontrado 395,0015. 1H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 7,12 (t, J = 9,1 Hz, 3H); 7,33 (t, J = 7,9 Hz, 2H); 7,63-7,73 (m, 3H); 8,18 (dd, J = 1,4; 8,3 Hz, 2H); 9,37 (s, 1H). ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO): 104,2; 124,4; 124,9; 125,4; 128,0; 128,6; 130,1; 133,5; 139,4; 142,8; 144,3; 147,5; 165,2; 169,5; 173,3. IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 1406, 1449, 1480, 1518, 1602, 1657, 1693, 3285, 3326.

Capítulo III: Resultados y discusión

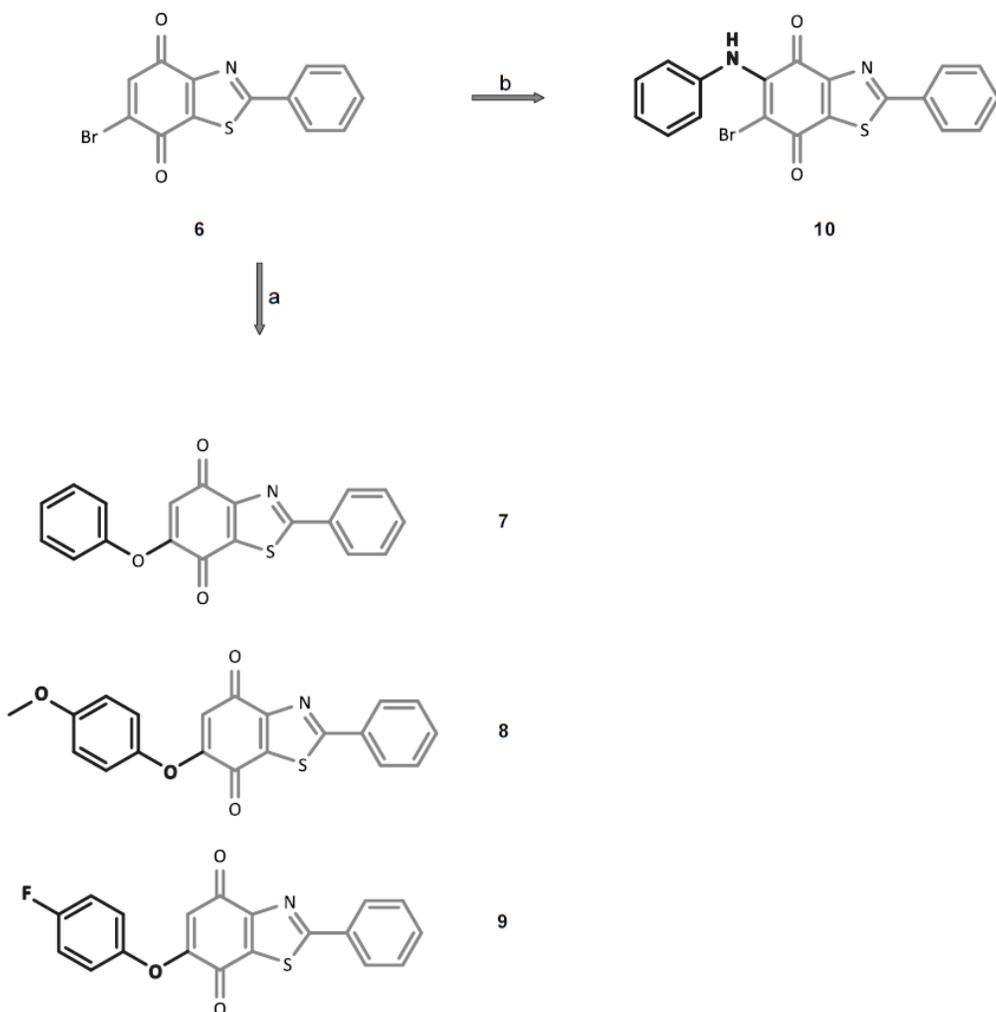
Síntesis orgánica

En los próximos apartados se mostrará la síntesis de benzotiazolquinonas y se discutirá la utilidad de derivados de tiobenzamida como una plataforma sintética clave para obtener heterociclos de tiazol de manera eficaz. En esta secuencia, se utilizaron como reacciones clave: una bencilación, una tionación y un acoplamiento C-S catalizada por Fe (III) para obtener el núcleo de tiazol. Posteriormente, se realizó una reacción de oxidación y finalmente una adición/sustitución nucleofílica con el fin de acceder a los productos deseados. Como reactivo de partida se utilizó un derivado de anilina **1** funcionalizado con dimetileteres de hidroquinona en posición 2 y 4 de la estructura, aprovechando la reactividad nucleofílica de este compuesto a través del grupo amino, se mezcló con cloruro de benzoilo como electrófilo para formar el derivado *N*-(2,5-dimetoxifenil)benzamida **2** en buenos rendimientos (Esquema 4). Luego, el compuesto sintetizado se funcionalizó con un enlace C-Br en la posición 4 de la estructura, la reacción se realizó mezclando el derivado **2** con NBS (*N*-bromosuccinimida) en una mezcla de CH₃CN:H₂O, después de 4 horas de reacción se obtuvo el compuesto *N*-(4-bromo-2,5-dimetoxifenil)benzamida **3** de manera exitosa con un rendimiento de 90 %. La funcionalización anterior, se realizó con la finalidad de activar esa posición en la estructura y sustituir a futuro el átomo de bromo. Continuando con la construcción del intermediario sintético de tiobenzamida como plataforma para alcanzar el heterociclo de tiazol, la transformación funcional de un grupo amida a uno tioamida se obtiene eficientemente usando como reactivo 2,4-Bis(4-metoxifenol)-1,3,2,4-ditiodifosfetano-2,4-disulfuro o también conocido como reactivo de Lawesson. Con estos antecedentes en consideración, se procedió a la síntesis del compuesto **4** a partir de una mezcla equimolar del derivado de benzamida **3** y el reactivo de lawesson, la reacción se realizó en tolueno y a 80 °C durante 5 horas, permitiendo obtener el derivado *N*-(4-bromo-2,5-

dimetoxifenil)benzotioamida **4**, con un 74 % de rendimiento. El mecanismo de reacción para la tiónación de benzamida está indicado en el Esquema 6 y será descrito más adelante. Asimismo, se ha descrito en literatura que el uso de complejos catiónicos de Fe (III) se coordinan eficientemente con átomos de azufre de derivados de tiobenzamida, estimulando el ataque nucleofílica por parte del anillo bencénico favoreciendo la formación del compuesto heterociclo fusionado. Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados, se procedió a realizar un acoplamiento C-S catalizado por $K_3[Fe(CN)_6]$, en un medio básico, permitiendo sintetizar el derivado 6-bromo-4,7-dimetoxi-2-fenilbenzo[d]tiazol **5**. Luego, la siguiente transformación permitió obtener la estructura de benzoquinona mediante una oxidación de los grupos dimetileter de hidroquinona del compuesto **5**, esta reacción ocurrió eficientemente usando como sistema oxidante nitrato de cerio y amonio (CAN) en CH_3CN , generando el derivado 6-bromo-2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona **6** en un 79 % de rendimiento. Por otro lado, las propiedades químicas de los compuestos quinónicos se asocia principalmente a su capacidad redox y electrofílica, la conjugación del anillo puede experimentar procesos oxido-reducción pudiendo aceptar 1 o 2 electrones y, además ser susceptible a ataques nucleofílicos. Esta última propiedad, puede ser una herramienta útil para la funcionalización de nuevos derivados, pudiendo sintetizar estructuras más complejas. Dependiendo del tipo de nucleófilo la funcionalización puede seguir dos tipos de reacciones, una adición o sustitución nucleofílica. Como se observa en el Esquema 5, se procedió a la síntesis de benzoquinona funcionalizada con el grupo fenoxi, la reacción se realizó en DMF y a temperatura ambiente, por medio de una sustitución nucleofílica la formación de enlace se produce en la posición 6 de la estructura sustituyendo al átomo de bromo que se elimina como ion, de esta manera se generan los productos finales 2-fenil-6-fenoxi benzo[d]tiazol-4,7-diona **7** y sus respectivos análogos **8** y **9** en buenos rendimientos.



Esquema 4. Esquemas de síntesis de compuestos de tiazol, reactivos y condiciones: (a) C_6H_5COCl , $N(CH_2CH_3)_3$, THF, 25 °C, 24h, 98%; (b) NBS, CH_3CN/H_2O , 50 °C, 4h, 90%; (c) reactivo de Lawesson, $C_6H_5CH_3$, 80 °C, 5h, 74%; (d) $K_3[Fe(CN)_6]$, 1.5 M NaOH, 25 °C, 12h, 56%; (e) CAN, CH_3CN/H_2O , 25 °C, 2h, 79%.



Esquema 5. Reacciones finales y condiciones: (a) C_6H_5OH , DMF, K_2CO_3 , T.A., 4h, 50%, 66%, 99% para **7**, **8**, **9**, respectivamente; (b) $C_6H_5NH_2$, $CeCl_3 \cdot 7H_2O$, CH_3CH_2OH , T.A., 24h, 89%.

Un espectro de masa de alta resolución del compuesto **7** indica un ion molecular de 334.0534 uma, siendo el valor teórico para la fórmula $C_{19}H_{12}NO_3S$ (M+H)⁺ de 334.0532 uma, confirmado que la estructura no presenta un átomo de bromo y que se llevó a cabo una sustitución nucleofílica. Por otro lado, la estructura de benzoquinona también fue funcionalizada con un grupo fenilamino, mediante una reacción de adición nucleofílica o también conocida como adición-1,4 de Michael a partir del derivado **6** y anilina utilizando cloruro de cerio (III) como ácido de Lewis en etanol, se obtiene el derivado 6-bromo-2-fenil-5-(fenilamino)benzo[d]tiazol-4,7-diona **10** en un 89 % de rendimiento (Esquema 5).

La caracterización molecular de los derivados incluyó mediciones en ¹H-RMN, ¹³C-RMN, HR-MS, IR y rayos X. Los datos obtenidos permitieron realizar un estudio en profundo sobre la estructura molecular de los compuestos y en este caso en particular nos centramos en la variación de la densidad electrónica de los átomos de carbono durante los cambios de funcionalidad en la síntesis de los derivados de benzotiazolquinonas (Figura 5). Las mediciones de ¹³C-RMN indican el apantallamiento electrónico de los carbonos y como este se ve afectada por la vecindad molecular. Al comparar los compuestos **3** y **4**, se observa que el carbono carbonílico C-5 tiene un desplazamiento de 165 ppm en el derivado de benzamida y al cambiar de funcionalidad se desplaza a campo más bajo, ya que en el derivado de tiobenzamida muestra un valor de 196 ppm, evidenciando una disminución de la densidad electrónica del carbono debido al poder electroceptor del átomo de azufre. Por otro lado, el carbono C-2 sufre un efecto contrario, se desplaza a mayor campo y sufre un apantallamiento por el átomo de azufre, desplazándose a 105 ppm (compuesto **4**). Posteriormente, al formar el compuesto **5** mediante un acoplamiento C-S, el carbono C-5 aumenta su apantallamiento y se desplaza a campo más alto dando un valor de 168 ppm, mientras que el carbono C-2 pierde densidad electrónica y se desplaza a 133 ppm. Finalmente, en el compuesto **7** se observa que al formar el sistema de benzoquinona en la estructura ocurre una

pérdida de densidad electrónica, ya que los carbonos carbonílicos C-1 y C-3 se desplazan a bajo campo, dando mediciones de 180 y 174 ppm, respectivamente. Además, el carbono C-4 también sufre un desapantallamiento desplazándose a 160 ppm, demostrando un fuerte efecto electroceptor por parte del grupo fenoxi.

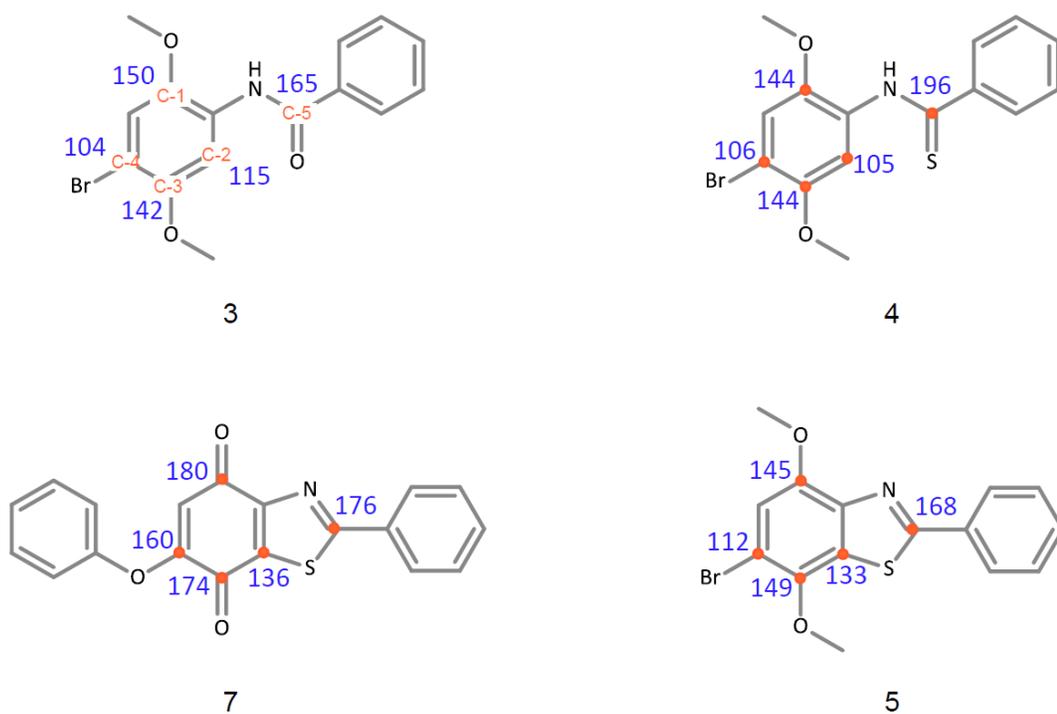
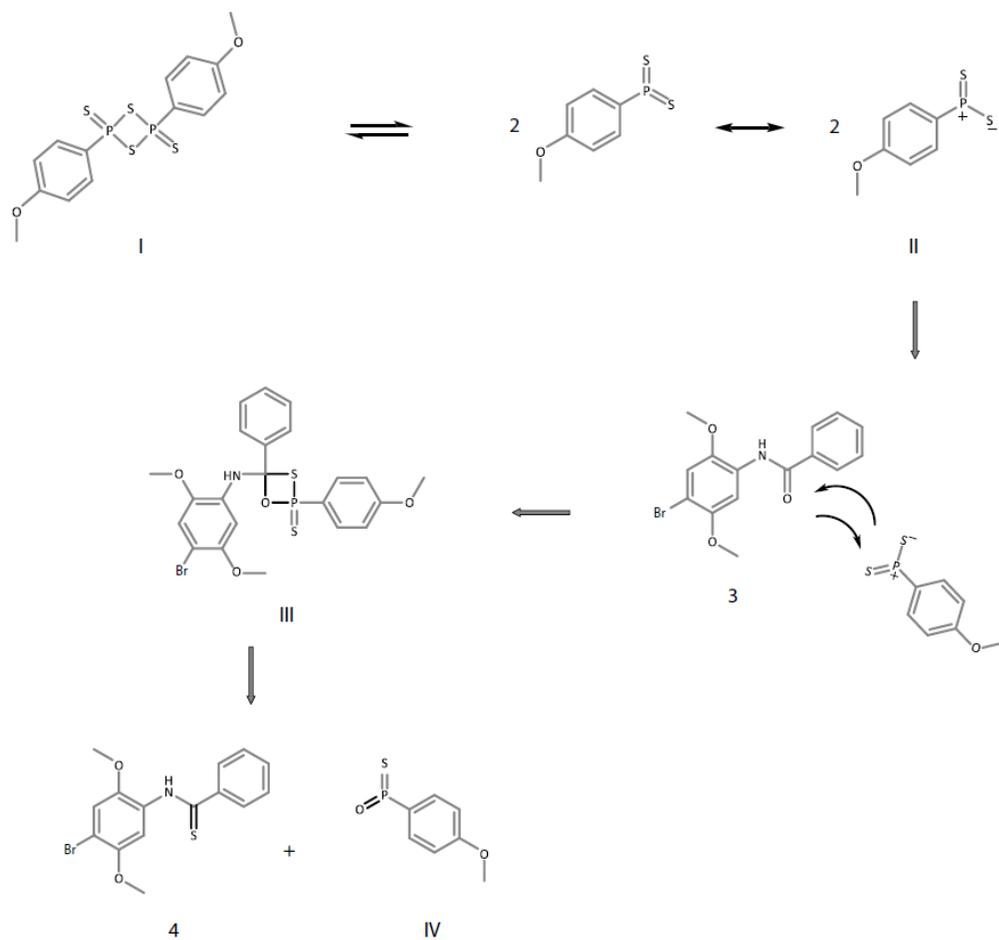


Figura 5. Desplazamiento químico para los átomos de carbono de los compuestos **3**, **4**, **5** y **7** en el espectro de ^{13}C -RMN.

Un mecanismo de reacción importante de destacar fue la formación del compuesto de tiobenzamida **4**, a través de una reacción de tiónación del compuesto **3** se pudo formar el derivado **4**, cabe señalar que el mecanismo de este proceso es similar a una reacción de Wittig. La transformación funcional se logró eficientemente usando el reactivo 2,4-Bis(4-metoxifenol)-1,3,2,4-ditiodifosfetano-2,4-disulfuro (I), este compuesto presenta una estructura simétrica con un centro molecular de alta densidad electrónica, es por este motivo que ocurre una transferencia electrónica y se encuentra en equilibrio generando 2 equivalentes de iluro de fosfonio (II), la carga positiva de la molécula es soportada en el átomo de fósforo, mientras que la carga negativa sobre el átomo de azufre dándole el poder nucleofílico necesario para atacar al carbono carbonílico del compuesto de benzamida **3**, el desplazamiento electrónico termina formando un intermediario cíclico de 4-miembros conocido como oxafosfetano (III), después este derivado experimenta una transferencia electrónica favorecida termodinámicamente para formar los enlaces estables P=O del derivado (IV) y a su vez los enlaces C=S del compuesto de tiobenzamida **4** (Esquema 6).

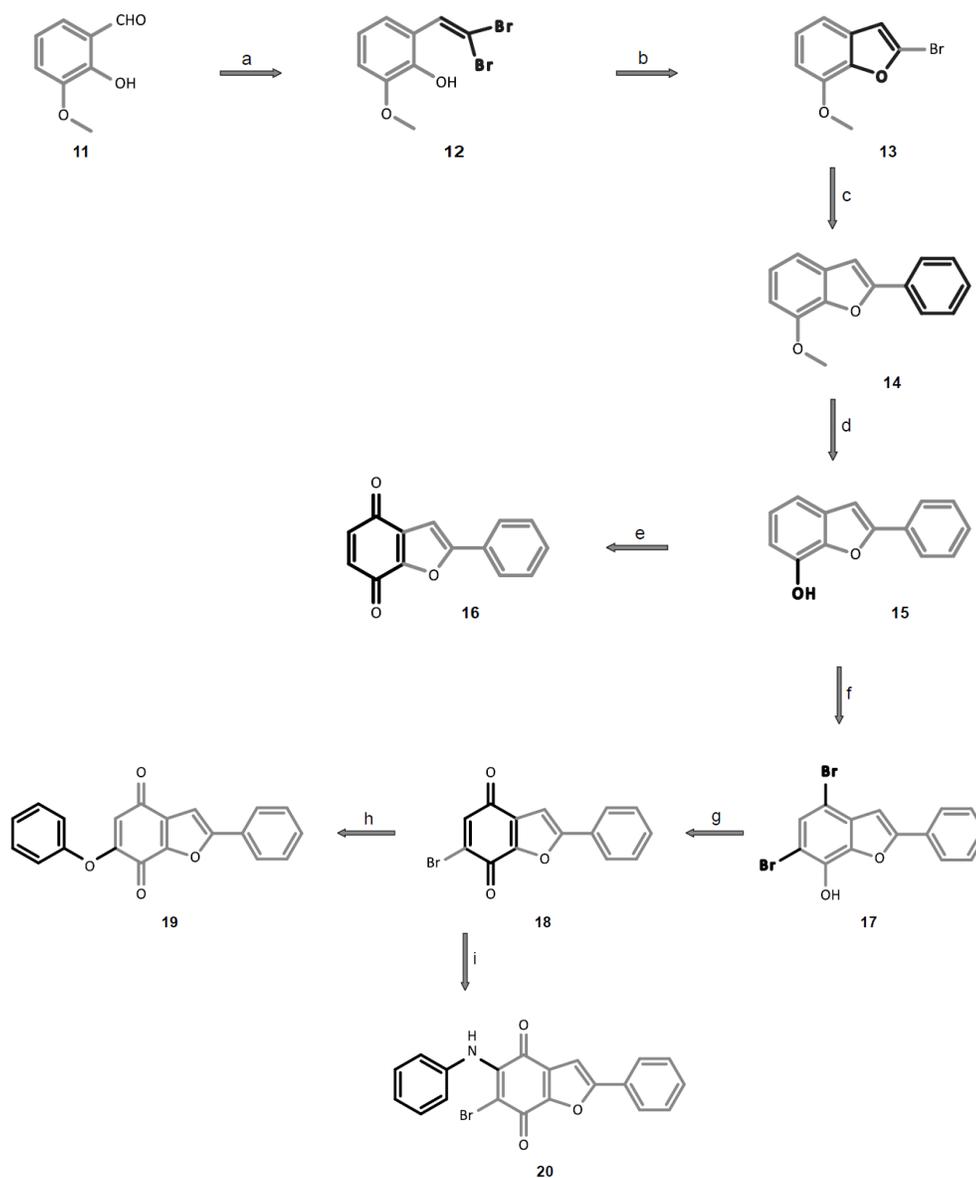


Esquema 6. Mecanismo para la formación del compuesto **4** mediante una reacción de Wittig modificado.

En las próximas reacciones se describe la síntesis de benzofuranquinonas y se discutirá la utilidad de derivados de 2-(2,2-dibromovinil)-6-metoxifenol **12** como una plataforma sintética clave para obtener heterociclos de furano de manera eficaz. En esta secuencia, se realizaron como reacciones clave: una olefinación, un acoplamiento C-O catalizado por Cu (I) para obtener el núcleo de furano, un acoplamiento de Suzuki catalizado por Paladio, una desmetilación, una bromación, una oxidación y finalmente una adición/sustitución nucleofílica con el fin de acceder a los productos finales. Como reactivo de partida para la síntesis de benzofuranquinonas se utilizó el derivado de benzaldehído **11**, este compuesto funcionalizado con un grupo fenol y metileter en las posiciones 2 y 3 de la estructura, permitió la construcción de los productos deseados. Este reactivo comercial también conocido como *orto*-vainillina **11** se comenzó transformando mediante una reacción de Wittig, este procedimiento es un método clásico para la síntesis de un derivado de alqueno a partir del grupo benzaldehído. La reacción comenzó con la formación de un iluro de fósforo entre PPh₃ y CBr₄ en DCM, para luego mezclar con NEt₃ y el derivado **11**, después de 12 horas de reacción a 25 °C se formó el compuesto 2-(2,2-dibromovinil)-6-metoxifenol **12** con un 82 % de rendimiento (Esquema 7). Asimismo, se ha descrito en literatura el uso del sistema catalítico CuI/K₃PO₄/THF como una excelente alternativa para realizar acoplamientos C-O en derivados de fenol convenientemente funcionalizados, bajo condiciones básicas de reacción la formación del derivado de fenoxi permite una eficiente coordinación al metal de Cu (I), pudiendo realizar la catálisis y formación del heterociclo. Con estos antecedentes en consideración, se procedió a realizar un acoplamiento C-O del derivado **12** usando el sistema catalítico CuI/K₃PO₄/THF, permitiendo obtener el derivado de benzofurano **13** en buenos rendimientos (89 %), cabe destacar que para este procedimiento no fue necesario el uso de ligandos, ya que el poder quelante del fenoxi logra estabilizar eficientemente al catalizador de Cu (I), pudiendo superar la barrera energética para la formación del enlace.

Asimismo, las reacciones de acoplamiento cruzado catalizados por complejos de paladio, desarrolladas en las últimas décadas, han revolucionado la síntesis orgánica permitiendo la elaboración de compuestos altamente funcionalizados a partir de reactivos sencillos, constituyendo una herramienta sintética eficiente para la formación de enlaces C-C con una alta barrera energética como lo es la formación de enlace entre carbonos con una hibridación sp^2-sp^2 . Debido a estas razones, se realizó una reacción de acoplamiento C-C tipo Suzuki-Miyaura entre el compuesto **13** con ácido fenilborónico, usando K_2CO_3 como base activante en dioxano, permitiendo la síntesis del compuesto 2-fenil-7-metoxibenzofurano **14** en excelentes rendimientos (99 %). El mecanismo de reacción para este acoplamiento está indicado en el Esquema 8 y será descrito más adelante. A continuación, como estrategia sintética se cambió la funcionalidad del derivado **14** con la finalidad de aumentar su reactividad y de esta manera, poder continuar con la ruta sintética, mediante una reacción de hidrolisis del grupo metileter es posible formar el derivado de benzofurano funcionalizado con un grupo fenol en la posición 7, de esta manera se aumenta el poder nucleofílico del anillo aromático en las posiciones 4 y 6 de la estructura. Este tipo de procedimientos es comúnmente realizado con BBR_3 , pero lamentablemente no muestra buenos resultados con compuestos altamente funcionalizados, por este motivo, se buscaron nuevas alternativas más efectivas, versátiles y simples. Se encontró la utilización de cloruro de piridinio como una opción altamente atractiva, este compuesto actúa como reactivo, catalizador y solvente a la vez. Por este motivo, se procedió al hidrolisis del derivado **14** mezclando con un exceso de Py^*HCl y llevando la reacción a $160\text{ }^\circ\text{C}$ por 5 horas, generando el compuesto 2-fenilbenzofuran-7-ol **15** en un 81 % de rendimiento. Siguiendo con las transformaciones químicas para obtener los derivados de benzofuranquinona, el compuesto **15** es un sustrato adecuado para sintetizar la primera quinona de la serie, mediante una reacción de oxidación es posible llevar a cabo tal transformación, para ello los compuestos de yodo hipervalente como (diacetoxi)yodobenceno (PIDA) han

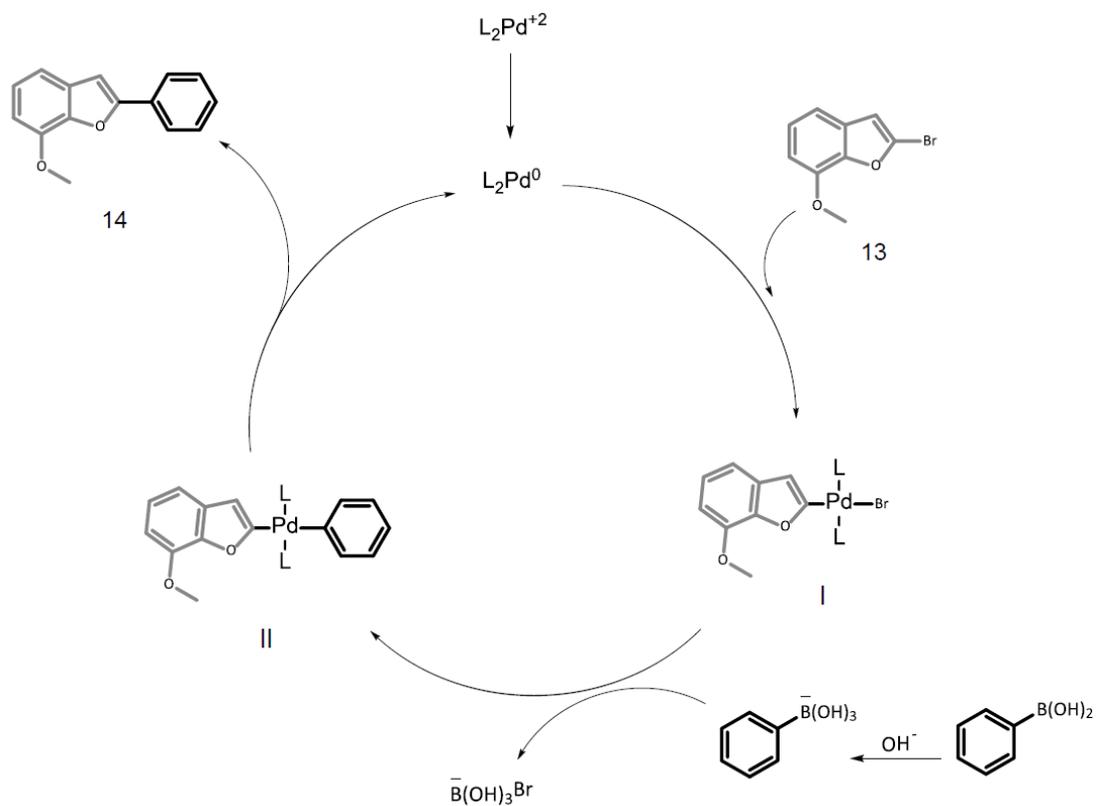
emergido como agentes oxidantes de gran utilidad debido a su versatilidad y alta selectividad hacia compuestos fenólicos, el mecanismo redox observado para esta reacción sería una excelente alternativa para la obtención del sistema quinónico. Por esta razón, el compuesto **15** se sometió a una oxidación con PIDA en CH₃CN a 25 °C por una hora para generar el derivado 2-fenilbenzofuran-4,7-diona **16** en un 62 % de rendimiento. Asimismo, el compuesto **14** se funcionalizo con enlaces C-Br en las posiciones 4 y 6 de la estructura molecular, la reacción se realizó con NBS (*N*-bromosuccinimida) en CH₃CN permitiendo obtener el compuesto **17** de manera exitosa con un 78 % de rendimiento. De esta manera, el derivado **17**, convenientemente funcionalizado, se vuelve en un sustrato adecuado para generar el sistema quinónico en la estructura, mediante un método clásico de oxidación usando como agente H₂CrO₄ fue posible obtener el derivado quinónico **18** con un 68 % de rendimiento. Posteriormente, como se observa en el Esquema 7, se procedió a la síntesis del derivado de benzoquinona funcionalizado con el grupo fenoxi, la reacción se realizó entre el compuesto **18**, fenol y K₂CO₃ en DMF generando el producto final 2-fenil-6-fenoxibenzofuran-4,7-diona **19** con un 48 % rendimiento. Asimismo, el compuesto de benzoquinona fue funcionalizado con el grupo fenilamino, mediante una reacción de adición-1,4 de Michael a partir del derivado **18** y anilina utilizando cloruro de cerio (III) en etanol, se obtuvo el derivado 6-bromo-2-fenil-5-(fenilamino)benzofuran-4,7-diona **20** en un 85 % de rendimiento. Luego, la estructura fue corroborada por mediciones de rayos X, en donde se observa una longitud y distancia normal de enlaces (Figura 7). El grupo fenilo unido al átomo de nitrógeno presenta un ángulo diedro de 60,5(4)° con respecto al fragmento planar de 6-bromo-2-fenilbenzofurano-4,7-diona.



Esquema 7. Optimización del esquema de síntesis del compuesto de furano, reactivos y condiciones de reacciones: a) $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, CBr_4 , NEt_3 , CH_2Cl_2 , 5-10 °C, 30 min, 25 °C, 12h, 82%; (b) CuI , K_3PO_4 , THF, reflujo, 6h, 89%; (c) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{B}(\text{OH})_2$, K_2CO_3 , dioxano, 80 °C, 6h, 99%; (d) $\text{Py}\cdot\text{HCl}$, 160 °C, 5h, 81%; (e) $\text{C}_6\text{H}_5\text{I}(\text{OAc})_2$, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v), 25 °C, 1h, 62%; (f) NBS, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$, 50 °C, 4h, 78%; (g) CrO_3 , $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (3:3:1, v/v/v), 60 °C, 2h, 68%; (h) $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, K_2CO_3 , DMF, 25 °C, 4h, 48%; (i) $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, $\text{CeCl}_3\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, 25°C, 24h, 85%.

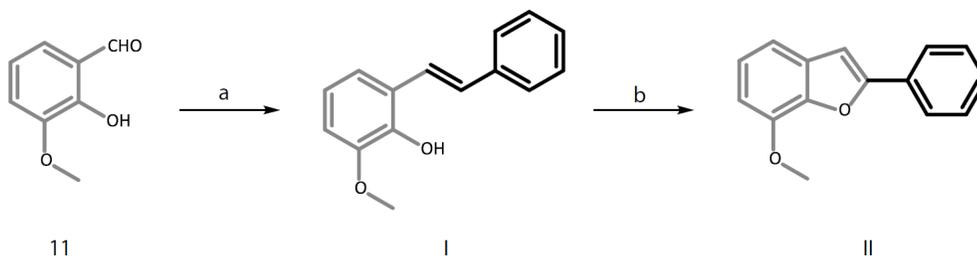
En la estructura se observan dos puentes de hidrogeno intramolecular [N1-H1: 0,91(2) Å; H1...O3: 2,21(8) Å; N1...O3: 2,629(8) Å; N1-H1...O3: 107(6) Å; C19-H19: 0,93 Å; H19...O1: 2,47 Å; C19...O1: 2,769(9) Å; C19-H19...O1: 101°], respectivamente. No se observan interacciones π - π stacking.

Las reacciones de acoplamiento cruzado catalizados por complejos de paladio, constituyen una herramienta sintética eficiente para la formación de enlaces C-C con una alta barrera energética. Es por este motivo, que se realizó una reacción de acoplamiento tipo Suzuki-Miyaura entre el compuesto **13** con ácido fenilborónico, usando K_2CO_3 como base activante en dioxano, permitiendo la síntesis del compuesto 2-fenil-7-metoxibenzofurano **14**. El mecanismo de acoplamiento catalizado por paladio se compone de tres etapas: una adición oxidativa, una transmetalación y finalmente una eliminación reductiva (Esquema 8). El ciclo catalítico comienza con la formación de paladio con estado de oxidación cero (0), esta reducción es asistida por el ion acetato (CH_3COO^-).[32] Luego, formada la especie catalíticamente activa L_2Pd^0 se produce la interacción electrostáticas con el compuesto **13**, a través del enlace C-Br de la estructura, esta interacción comienza a aumentar hasta romper el enlace respectivo y formar el complejo intermediario (I), durante este proceso el paladio cambia su estado de oxidación de Pd^0 a Pd^{II} (adición oxidativa). Esta etapa es considerada como la etapa limitante del ciclo debido a que presenta la barrera energética más alta. Posteriormente, el complejo (I) interacciona con el anión hidroxiborato por su alta densidad electrónica, durante esa interacción el complejo (I) intercambia el ion bromuro por el grupo fenilo, formando la especie catalítica (II) y dando lugar a la etapa de transmetalación. Finalmente, el complejo (II) sufre un reordenamiento interno para favorecer el acoplamiento C-C entre el grupo fenilo y el derivado de benzofurano, durante este proceso se genera el compuesto 2-fenil-7-metoxibenzofurano **14** y se regenerando el catalizador de Pd (0), este último proceso correspondiente a la eliminación reductiva ocurre de forma concertada y es fuertemente exotérmico, ya que se favorece la entropía.[33]



Esquema 8. Ciclo catalítico para el acoplamiento cruzado de 2-bromo-7-metoxibenzofurano y ácido fenilborónico, utilizando $Pd(OAc)_2$ como catalizador.

Durante el transcurso del trabajo experimental siempre hubo una búsqueda constante de nuevas reacciones que optimizaran la ruta sintética y maximizaran los rendimientos globales, fue así como se encontró en literatura la síntesis de 2-fenil-7-metoxibenzofurano **14** de manera simple y corta a partir de 2-metoxi-6-estirilfenol (**I**), a su vez este derivado podía ser sintetizado fácilmente a partir del compuesto **11** (Esquema 9). Se procedió a realizar las reacciones, se partió con la síntesis del derivado (**I**) por medio de una reacción de Wittig a partir del compuesto **11**, cloruro de benciltrifenilfosfonio y K_2CO_3 en THF, durante 12 horas de reacción se formó el compuesto 2-metoxi-6-estirilfenol (**I**) en buenos rendimientos (90 %). Luego, el compuesto sintetizado (**I**) se sometió a una ciclación oxidativa en una mezcla de reacción con I_2 y K_2CO_3 en CH_2Cl_2 , generando el compuesto 2-fenil-7-metoxibenzofurano **14** en tan solo un 21 % de rendimiento, resultado totalmente diferente a lo reportado.[34] Posteriormente, se generó una amplia discusión de lo sucedido, llegando a la conclusión que la ciclación de 2-metoxi-6-estirilfenol (**I**) no es favorable, ya que para las reacciones de ciclación existen las reglas de Baldwin, que es un conjunto de principios sobre los favoritismos para las reacciones de cierre de anillo y se clasifican por el número de átomos, el cierre del anillo (exo o endo) y tipo de carbono electrofílico (tetraédrico-tet, trigonal-trig o diagonal-dig).[35]



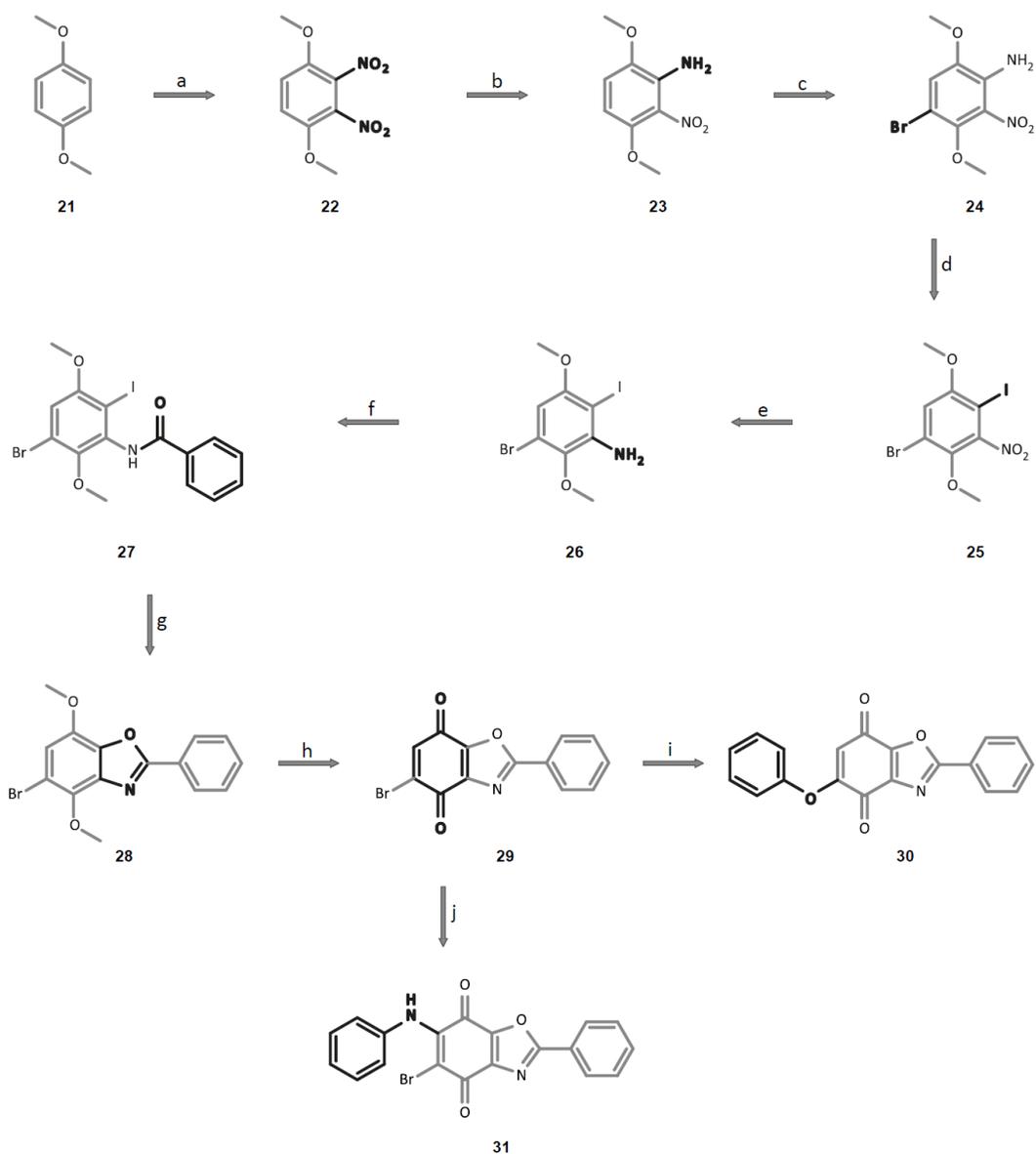
Esquema 9. (a) $C_6H_5CH_2P(PPh_3)^+Cl^-$, K_2CO_3 , THF, 25 °C, 12h, 90 %; (b) I_2 , K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , 25 °C, 12h, 21 %.

La reacción del compuesto (I) sería una ciclación 5-endo-trig y esta es desfavorable, ya que la geometría de la molécula genera una distorsión angular que dificultaría el ataque nucleofílico para realizar la ciclación. Por lo tanto, es importante tener en consideración que dentro de la literatura científica puede haber estudios con una interpretación sesgada de la realidad, en donde la supuesta objetividad de esas mediciones descansa en consideraciones implícitas que no son necesariamente ciertas en todos los casos.

En los próximos apartados se mostrará la síntesis de benzoxazolquinonas y se discutirá la utilidad del derivado de benzamida funcionalizado con un enlace C-I en posición “*orto*” de la estructura como una plataforma sintética clave para obtener heterociclos de oxazol de manera eficaz. En esta secuencia, se utilizaron como reacciones clave: una nitración, una reducción, una bromación, una yodación mediante la formación de una sal de diazonio, una bencilación y un acoplamiento C-O catalizado por un sistema CuI/1,10-fenantrolina para obtener el núcleo de oxazol. Posteriormente, se realizó una reacción de oxidación y finalmente una adición/sustitución nucleofílica con el fin de acceder a los productos deseados. La nitración de anillos aromáticos es una excelente herramienta para la funcionalización de la estructura, ya que a partir de este grupo funcional se abre un abanico de opciones para alcanzar otros derivados. Es por esto que se procedió a la síntesis del compuesto **22** a partir de 1,4-dimetoxibenceno y HNO₃ concentrado, la mezcla de reacción de agito en un baño de hielo por una hora y luego por 12 horas a temperatura ambiente, posteriormente el precipitado formado fue lavado y cristalizado en CH₃COOH para obtener el derivado **22** es buenos rendimientos (Esquema 10), la regioselectividad de la dinitración se logró en las posiciones 2 y 3 de la estructura, esto se debe a que la primera nitración sigue un mecanismo iónico, mientras que la segunda reacción sigue un mecanismo radicalario, esta diferencia de reactividad se debe al cambio electrónico que sufre el anillo aromático producto de la primera funcionalización del grupo nitro. Luego, para romper la simetría del derivado **22** y variar la funcionalidad se procedió a realizar una reducción selectiva de un grupo nitro, para esto se probaron varios sistemas catalíticos y los primeros ensayos fueron realizados mediante una hidrogenación catalítica, pero no se dieron buenos resultados, ya que se obtuvo una mezcla de productos (Esquema 11). Por este motivo, se decidió explorar una metodología que utilizaba HCOO⁻ como fuente de hidruros y Pd/C como superficie catalítica. Así, se hizo reaccionar el compuesto **22** con HCOONH₄ y Pd/C en CH₃OH, después de 4 horas de reacción a 25 °C se

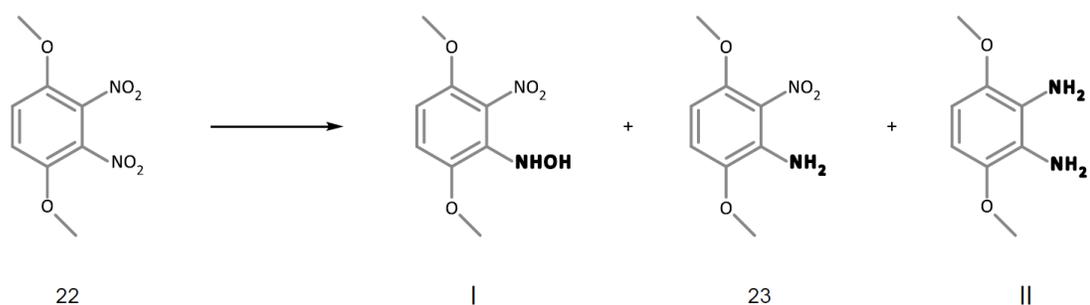
generó el derivado 3,6-dimetoxi-2-nitroanilina **23** con un 59 % de rendimientos. La formación de este derivado aumento el poder nucleofílico del anillo aromático en la posición 4 de la estructura, debido a que el grupo amino es un dador en posiciones “*orto*” y “*para*”, con estos antecedentes en consideración se procedió a la funcionalización de la estructura con un enlace C-Br, la reacción se realizó mezclando el derivado **23** con NBS en una mezcla de CH₃CN:H₂O, después de 4 horas a 50 °C de reacción se obtuvo el compuesto **24** con un 54 % rendimiento. Continuando con la síntesis del derivado de benzamida como estructura clave para obtener el heterociclo de oxazol, la química orgánica de aminas aromáticas es una excelente alternativa para alcanzar otras funcionalizaciones como la formación de enlace C-I en la estructura, mediante la formación de una sal de diazonio como intermediario a partir de un derivado de anilina es posible alcanzar ese objetivo, las aminas aromáticas en presencia de HNO₂ forman la sal de diazonio (R-N₂⁺), actuando como buen grupo saliente y dándole el carácter electrofílico al compuesto, siendo susceptible a ataques nucleofílicos. Con esta propiedad en consideración es posible la transformación de una amina aromática a un compuesto funcionalizado con un enlace C-I, por este motivo, se realizó la transformación del compuesto **24** mezclando con NaNO₂ en un medio ácido, después de 30 minutos de reacción se le adiciono KI para dejar reaccionando por 12 horas, permitiendo generar el compuesto 1-bromo-4-yodo-2,5-dimetoxi-3-nitrobenzoceno **25** con un 47 % de rendimiento. Posteriormente, se procedió a la reducción del grupo nitro del compuesto **25** mediante un sistema catalítico Fe/FeCl₃/CH₃COOH o también conocido como método de Bechamp, después de 4 horas de reacción en un sistema a reflujo fue posible obtener el derivado 3-bromo-6-yodo-2,5-dimetoxianilina **26** (65 %). Luego, la síntesis del intermediario clave para sintetizar el heterociclo se obtuvo a partir del compuesto **26**, cloruro de benzoilo y NEt₃ en THF, después de 24 horas de reacción se generó el compuesto N-(3-bromo-6-yodo-2,5-dimetoxifenil)benzamida **27** con un 54 % de rendimiento. Asimismo, se ha

descrito en literatura el uso del sistema catalítico CuI/1,10-fenantrolina/K₃PO₄/DME como una excelente alternativa para realizar acoplamientos C-O en derivados de benzamida funcionalizados con enlaces C-I, la utilización de ligandos de 1,10-fenantrolina permite una excelente coordinación al metal de Cu (I) alcanzando la barrera energética necesarias para llevar a cabo la catálisis. Con estos antecedentes en consideración, se realizó la síntesis del compuesto **28** mediante un acoplamiento C-O del derivado **27** usando el sistema catalítico CuI/1,10-fenantrolina/K₃PO₄/DME, después de 6 horas de reacción se generó el compuesto 5-bromo-4,7-dimetoxi-2-fenilbenzo[*d*]oxazol **28** con un 80 % de rendimiento. Posteriormente, la siguiente transformación permitió obtener la estructura de benzoquinona mediante una oxidación de los grupos dimetileter de hidroquinona del compuesto **28**, esta reacción ocurrió eficientemente usando como sistema oxidante nitrato de cerio y amonio (CAN) en CH₃CN, permitiendo generar el derivado 5-bromo-2-fenilbenzo[*d*]oxazol-4,7-diona **29** en un 69 % de rendimiento. Finalmente, como se observa en el Esquema 10, se procedió a la síntesis del derivado de benzoquinona funcionalizado con el grupo fenoxi, la reacción se realizó entre el compuesto **29**, fenol y K₂CO₃ en DMF generando el producto final 2-fenil-5-fenoxibenzo[*d*]oxazol-4,7-diona **30** con un 70 % rendimiento. Asimismo, el compuesto de benzoquinona fue funcionalizado con el grupo fenilamino, mediante una reacción de adición-1,4 de Michael a partir del derivado **29**, anilina y cloruro de cerio (III) en etanol, se obtuvo el derivado 5-bromo-2-fenil-6-(fenilamino)benzo[*d*]oxazol-4,7-diona **31** en un 87 % de rendimiento. Posteriormente, la estructura fue corroborada por mediciones de rayos X, en donde se observa una longitud y distancia normal de ángulos de 2 moléculas en una unidad asimétrica, ambas moléculas están esencialmente sobrepuestas con RMSD: 0,0852, max D: 0,2057 Å considerando una flexibilidad sin inversión.



Esquema 10. Esquemas de síntesis de compuestos de oxazol, reactivos y condiciones: a) HNO_3 , H_2O , $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1h, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 12h, recristalización en CH_3COOH , 83%; (b) HCOONH_4 , Pd/C, CH_3OH , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 4h; 59%; (c) NBS, $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$, $50\text{ }^\circ\text{C}$, 4h, 54%; (d) NaNO_2 , HCl, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min, KI, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 12h, 47%; (e) Fe, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{CH}_3\text{COOH}$, reflujo, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 4h, 65%; (f) $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$, NEt_3 , THF, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 24h, 54%; (g) CuI, 1,10-fenantrolina, K_3PO_4 , DME, reflujo, 6h, 80%; (h) CAN, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (4:1, v/v), $25\text{ }^\circ\text{C}$, 2h, 69%; (i) $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, K_2CO_3 , DMF, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 4h, 70%; (j) $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$, $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, 24h, 87%.

El grupo fenilo unido al átomo de nitrógeno presenta un ángulo diedro de 63,5(6)° con respecto al fragmento planar de 6-bromo-2-fenil-benzo[*d*]oxazol-4,7-diona. No se observan interacciones π - π stacking (Figura 7). Una de las dificultades sintéticas más comunes durante el trabajo experimental es la generación de productos secundarios indeseados, como fue el caso de la síntesis del compuesto **23** que a través de un proceso de reducción del derivado **22** se generó una mezcla de productos entre los cuales se encuentran el derivado de hidroxilamina (**I**), el compuesto **23** y el derivado de diamina (**II**), como se observa en el Esquema 11. Los primeros ensayos fueron realizados mediante una hidrogenación catalítica, en donde el compuesto **22** se mezcló con Pd/C como superficie catalítica en acetato de etilo, se estudió el procedimiento a diversas presiones de H₂ y tiempos de reacción, pero en la mayoría de los casos se favorecía la formación del derivado de diamina (**II**), indicando una baja selectividad y alto poder de reducción del proceso. Posteriormente, se estudió un procedimiento más selectivo y con un menor poder de reducción, encontrando el sistema catalítico HCOONH₄/Pd/C/CH₃OH, que utilizaba HCOO⁻ como fuente de hidruros y Pd/C como superficie catalítica. Así, se hizo reaccionar el compuesto **22** con HCOONH₄ y Pd/C en CH₃OH, permitiendo formar el compuesto **23** en rendimientos más razonables (59 %).



Esquema 11. Proceso de reducción del compuesto **22** dando como productos los derivados (**I**), (**II**) y **23**.

Con la finalidad de realizar una caracterización molecular en profundidad, se estudió el intercambio hidrogeno-deuterio (H-D) de un derivado de benzamida en el espectro ^1H -RMN (Figura 6). El intercambio H-D es un método muy utilizado para estudiar estructuras moleculares, aplicable a protones fácilmente removibles como es el protón del grupo amida. Los núcleos de hidrógeno y deuterio son muy diferentes en sus propiedades magnéticas, siendo fácilmente distinguible debido a que los deuterones no se observan en un espectro de ^1H -RMN. En la figura 6 se comparan ambos espectros y fue posible idénticar la señal del protón de la amida, el cual se encuentra dentro del multiplete con desplazamiento entre 7,45-7,56 ppm, que es integrable para 4 protones. Al realizar el intercambio con deuterio, se desintegra el multiplete y la señal comienza a tomar la forma de 2 tripletes integrables para 1 y 2, correspondiente a los protones del anillo aromático de la benzamida. Por otro lado, se observa la señal del agua semipesada (HDO) con un desplazamiento en 4,74 ppm.

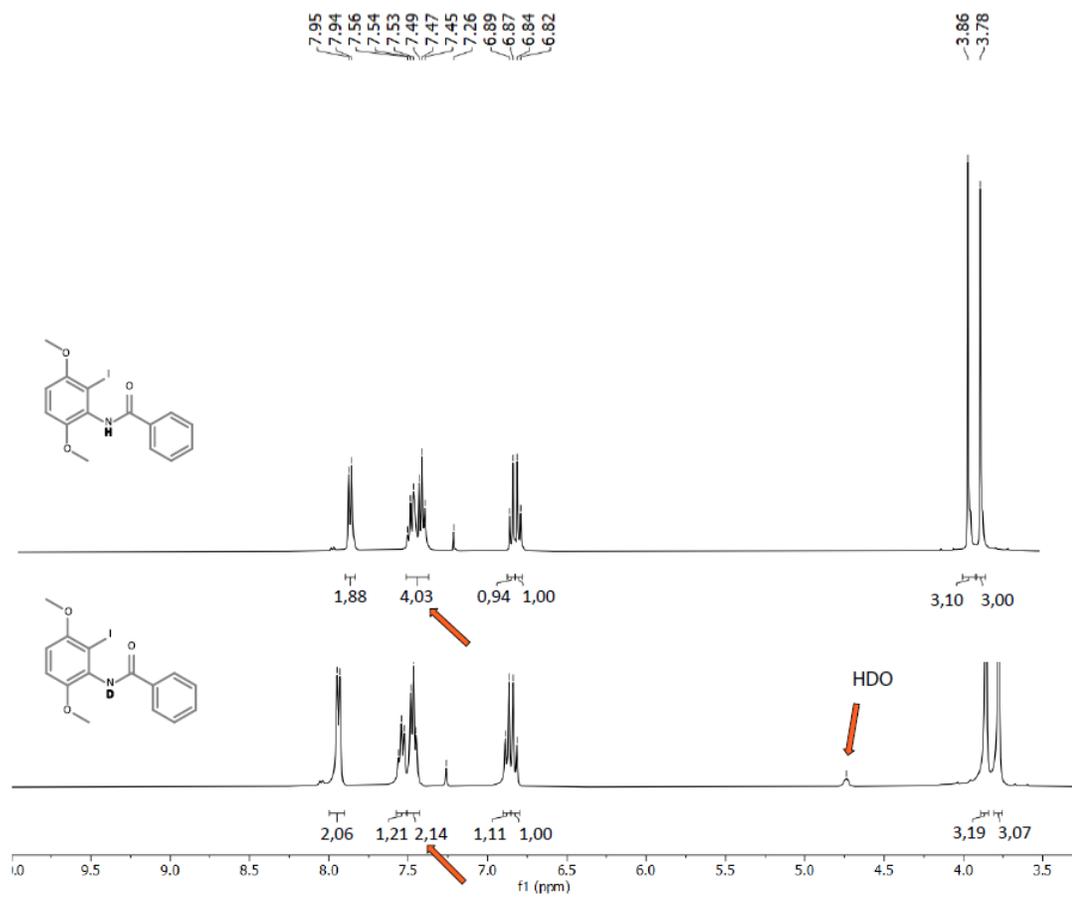
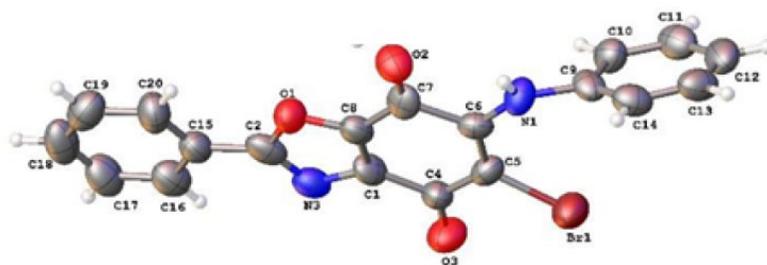
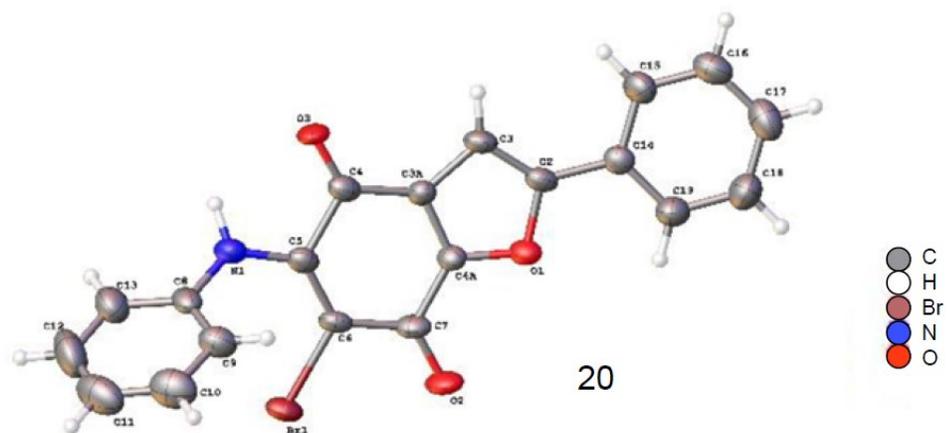


Figura 6. Intercambio H-D en el espectro ^1H -RMN para el derivado de benzamida **37**.



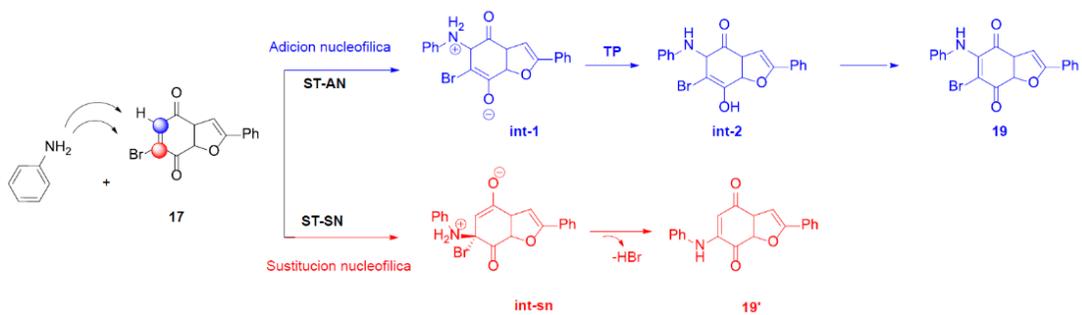
31

Figura 7. Difracción de rayos X de monocristales de los compuestos **20** y **31**.

Finalmente, se prepararon 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, furano y oxazol usando rutas sintéticas eficientes y flexibles mediante una secuencia ordenada de transformaciones químicas, logrando que la funcionalización de la estructura fuese compatible con cada una de las reacciones. Las primeras síntesis de la ruta tuvieron como objetivo generar un intermediario sintético clave para formar el heterociclo, para luego ser sometido a un acoplamiento intramolecular catalizado por un metal de transición. Para el compuesto de tiazol, se generó un derivado de tiobenzamida (**4**) y su síntesis no tuvo gran dificultad, ya que no fue necesario una funcionalización extra de la estructura. De igual forma, para el compuesto de furano, la obtención de intermediario clave fue aún más fácil, ya que solo necesito una reacción previa. Luego, para la obtención de oxazol se trabajó con un intermediario de benzamida funcionalizado con un enlace C-I en posición “*orto*” de la estructura, lo que significó una mayor dificultad sintética debido a la complejidad que implicó generar la yodación en esa posición. Luego la obtención de los derivados de benzoquinonas se obtuvieron a partir un proceso clásico de oxidación a partir de estructuras funcionalizadas con dimetil éteres de hidroquinonas. Finalmente, por medio de reacciones de adición y sustitución nucleofílica fue posible funcionalizar la estructura con grupos arilamino y fenoxi, respectivamente. Para una mayor profundización del trabajo de tesis se invita a revisar la publicación del estudio.[36]

Cálculos computacionales

Se observó una reactividad inusual en las reacciones de adición y sustitución nucleofílica, AN y SN, respectivamente. Los derivados **6**, **18** y **29** siguieron el mismo comportamiento, cuando la reacción se realizó con fenol y K_2CO_3 en DMF, ocurrió el ataque sobre la posición C-Br de la estructura dando lugar a la SN. Mientras que cuando la reacción ocurrió con anilina y $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ en etanol, se produjo el ataque sobre la posición C-H de la estructura generando la AN. Esta regioselectividad despertó el interés por conocer más e investigar lo sucedido. El estudio realizado por nuestro colaborador implicó el cálculo de estructuras electrónicas basados en la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) y la exploración de la superficie de energía potencial (SEP) para estas reacciones. Se comenzó analizando la reacción entre los compuestos **18** y anilina, como se muestra en el Esquema 12. El electrófilo de benzoquinona presenta 2 sitios de ataque, uno correspondiente a la posición C-H de la estructura, indicado en azul, junto con la posición C-Br (rojo). Cuando ocurre la adición nucleofílica, se produce el ataque de la anilina sobre la posición C-H, pasando por un estado de transición ET-SN, dando lugar al intermediario zwitteriónico **int-1**. Asimismo, cuando el ataque de la anilina se produce sobre el enlace C-Br se genera el estado de transición ET-AN y formando el intermediario **int-sn** (Esquema 12). El cálculo de las estructuras electrónicas para los estados ET-SN y ET-AN reveló una diferencia energética de 5,6 kcal/mol más favorable para la adición nucleofílica, además se observó una mayor longitud de enlace de 1,86 Å (Figura 8).



Esquema 12: Mecanismo de reacción para las 2 vías propuestas, adición nucleofílica (azul) y sustitución nucleofílica (roja), entre el compuesto **18** y la molécula de anilina (C₆H₅-NH₂).

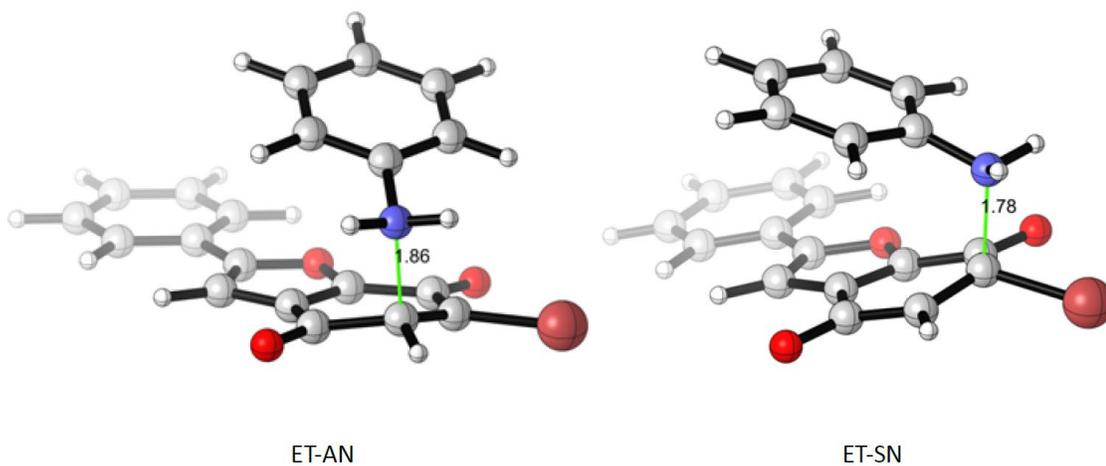


Figura 8. M06-2X/6-31+G(d,p) Estados de transición optimizados para un ataque nucleofílico competitivo del compuesto de anilina hacia el derivado **18**. Distancias están dadas en Å.

Al analizar las coordenadas de reacción intrínseca (Figura 9, parte superior) revela que el camino de adición nucleofílica forma un intermediario iónico **int-1** (zwitterionico) con una energía de 8,4 kcal/mol mayor que reactantes. Posteriormente, la reoptimización del estado de transición ET-AN en presencia de una segunda molécula de anilina muestra que este camino de reacción sigue un mecanismo de catálisis básica general. Asimismo, al realizar la optimización con una alta concentración de moléculas de anilina se observa que el intermediario **int-1** se conecta con un proceso de transferencia protónica con una energía libre de activación de 3,4 kcal/mol para formar el intermediario **int-2** (Esquema 12). Los resultados confirman que para que ocurra el camino de adición nucleofílica debe formarse el intermediario estable **int-2** (aducto de Michael) para que continúe por esa vía. Los resultados obtenidos concuerdan con estudios cinéticos ya reportados sobre esta diferencia de reactividad, que muestran que el ataque sobre la posición C-H es más rápido y tiene una mayor electrofilia que con respecto a la posición C-Br.[37] También se investigó los estados de transición cuando la reacción ocurre entre el derivado de benzoquinona y fenol, demostrando que el sitio de ataque C-Br es menos favorecido energéticamente en 4,4 kcal/mol con respecto a la posición C-H, además se observa que ocurre un proceso concertado asimétrico, ósea que a medida que se rompe el enlace C-Br, se está formando el enlace C-O, sin formación del intermediario respectivo.

Los resultados concluyeron que el camino de reacción de adición nucleofílica (adición de Michael) que es cuando se produce el ataque a la posición C-H de la estructura, requiere de la formación de varios intermediarios antes de llegar al producto final, para que el intermedio **int-1** se conecte con el intermediario **int-2** (Esquema 12), debe ocurrir un proceso de transferencia protónica (TP) y este sería el factor limitante para el camino de adición de Michael. Cuando no se generan las condiciones para favorecer este proceso, la adición de Michael no ocurre y comienza a ser competitiva la sustitución nucleofílica, produciendo el ataque sobre la posición C-Br de la estructura. Los estudios teóricos

permitieron entender el camino de reacción que pueden tener los compuestos de benzoquinonas con fenol y anilina, en donde la formación de enlace puede ser en la posición C-H y C-Br, respectivamente. Siendo la naturaleza del nucleófilo y las condiciones del medio las determinantes en el camino a seguir.

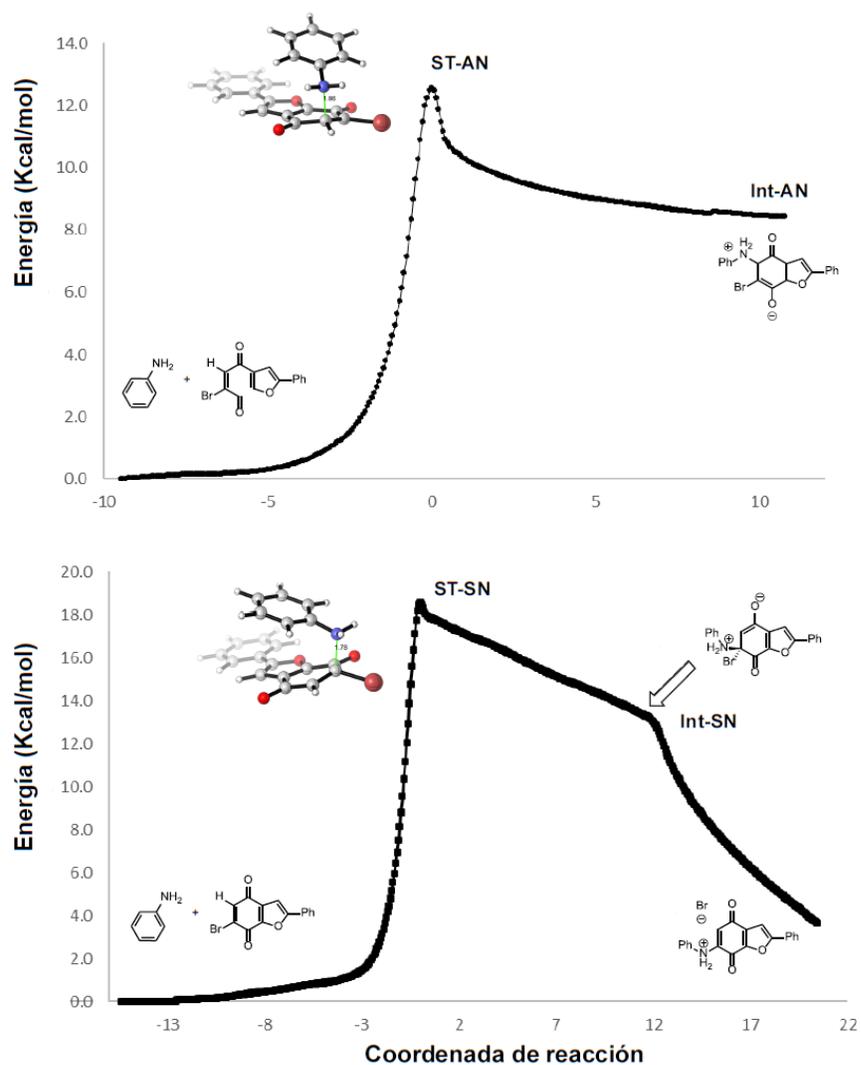
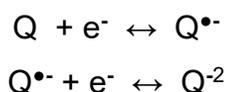


Figura 9. Perfil de coordenadas de reacción intrínseca calculado (M06-2X/6-31+G(d,p)/SMD=etanol) para las reacciones entre anilina y el compuesto **18**.

Voltametría

Los compuestos de benzoquinona se han estudiado en una amplia variedad de células tumorales y la capacidad de producir muerte celular se debe a que estos compuestos en su forma reducida interaccionan con oxígeno molecular del interior celular produciendo especies reactivas que desencadena la producción de radicales libres en el medio, produciendo daños en lípidos, proteínas y ADN, hasta generar muerte celular.[38] La reducción de quinonas (Q) en un medio aprótico tendría la siguiente transferencia electrónica:



La primera etapa corresponde a la reducción mono-electrónica del derivado de quinona para dar la semiquinona ($Q^{\bullet-}$) y esta puede seguir reduciéndose hasta producir el dianion de quinona (Q^{-2}). De este modo, el mecanismo de reducción juega un rol crucial en la citotoxicidad de los compuestos de benzoquinonas y consecuentemente el conocimiento de su comportamiento redox es de trascendental importancia debido a que su química radicalaria es determinante para su uso en medicina. En consecuencia, usando apropiadamente la versatilidad de la técnica de Voltametría cíclica fue posible estudiar la factibilidad de la formación de los pares redox quinona/semiquinona y semiquinona/dianion de quinona, utilizando como electrodo de referencia $AgNO_3$, electrodo de trabajo carbón vítreo y de electrodo auxiliar un cable de platino. Los resultados son resumidos en la Tabla 1 y el Voltagrama del compuesto **6** se muestran en la Figura 10, donde es posible observar las ondas de oxidación y reducción de los compuestos. Todos los derivados presentaron 2 ondas voltamétricas para el proceso de reducción, la primera onda corresponde a la dupla redox quinona/semiquinona y representa un proceso reversible, mientras que la segunda onda representa a la dupla semiquinona/

dianion de quinona y es en un proceso cuasi-reversible. Al analizar los resultados y comparar de los potenciales de reducción Epc1 se observa que el proceso de reducción a 1 electrón se favorece cuando los compuestos de benzoquinona están funcionalizados con enlaces C-Br (derivados **6** y **29**), dando potenciales cercanos a los -0,11 [V]. En cambio, cuando la estructura esta funcionalizada con grupos fenoxi muestra un desplazamiento hacia potenciales más negativos, dando valores de -0,30 [V], demostrando que para estos derivados no hay correlación con el efecto citotóxico.

	6	7	8	9	29	30	31	34	39
Epc₁	-0,11	-0,34	-0,32	-0,30	-0,12	-0,30	-0,33	-0,29	-0,29
Epc₂	-0,91	-1,1	-1,3	-1,2	-0,90	-1,1	-1,1	-1,2	-1,1

Tabla 1. Propiedades electroquímicas de benzoquinonas en CH₃CN (velocidad de barrido 0,1 [V/s]).

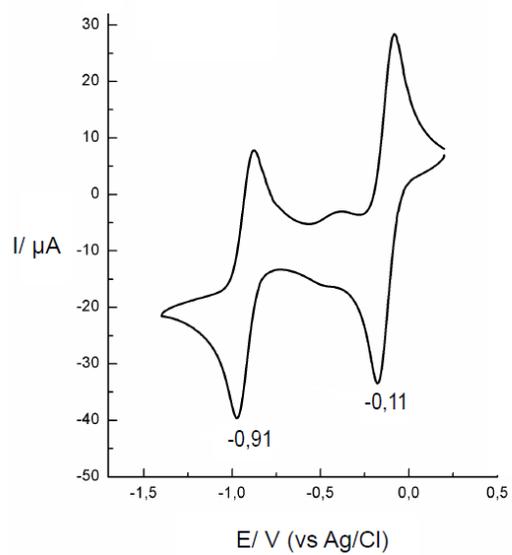
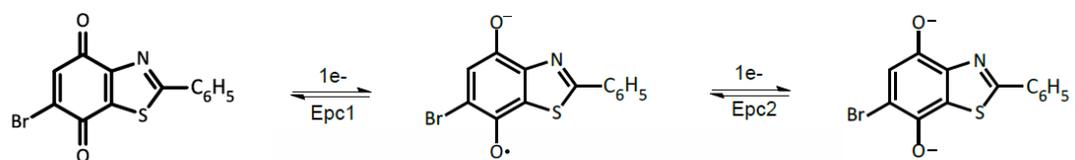


Figura 10. Mecanismo y voltagrama cíclico para el compuesto **6**.

Estudios *in-vitro*

Los estudios de citotoxicidad se realizaron sobre líneas celulares cancerígenas de páncreas (BxPC-3, AsPC-1, MIA-PaCa-2), la primera parte del estudio consistió en seleccionar aquellos compuestos que exhibiesen una citotoxicidad significativa (bajo el 50 %) y se evaluó la viabilidad celular mediante la técnica colorimétrica de reducción del MTT. Los cromatogramas UV de los compuestos evidencian una pureza razonable para realizar los estudios *in-vitro* (indicados en anexo), luego el *screening* para los derivados **6-10, 18, 19, 20, 29-31, 34 y 39** se realizó a una concentración fija de 50 μM , en tres experimentos independientes por triplicado para cada uno de ellos y se utilizó como células control la línea HEK293. El estudio de las benzoquinonas heterocíclicas evidencian una buena actividad citotóxica contra las células tumorales (Figura 11), mostrando una viabilidad celular bajo el 50 % y en algunos casos mejores resultados que la droga control (gemcitabina). Se puede concluir preliminarmente que para la línea BxPC-3 los compuestos **7, 8, 9, 19, 30 y 31** presentaron un efecto citotóxico estadísticamente significativo y los derivados **10 y 20** precipitaron en las condiciones de cultivo. Para el caso de la línea AsPC-1 se observó un mayor efecto citotóxico de derivados de benzoquinonas, siendo los compuestos **6, 7, 8, 9, 18, 19, 29, 30, y 31** los que mostraron una viabilidad bajo el 50 %. Mientras que los mejores resultados citotóxicos se observaron para la línea MIA-PaCa-2, en donde todos los derivados afectaron la viabilidad celular de forma significativa y de igual potencia que la droga control gemcitabina. El estudio comparativo con las células Hek293 mostro que los compuestos de benzoquinona tienen una baja selectividad, ya que se evidencia un potencial citotóxico alto contra células sanas.

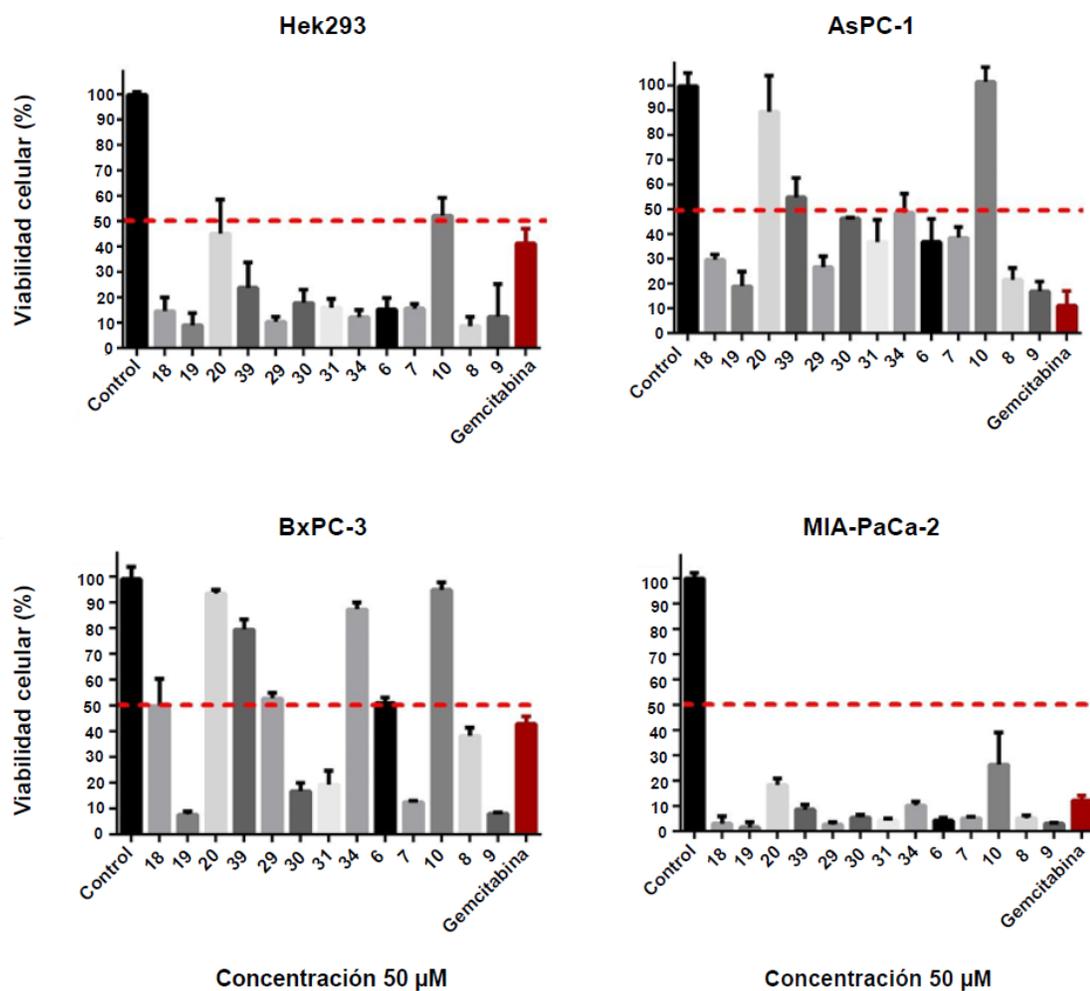


Figura 11. Gráficos de viabilidad celular a concentración constante (50 μ M), de los derivados **6-10**, **18**, **19**, **20**, **29-31**, **34** y **39** frente a las líneas celulares cancerígenas y sanas (BxPC-3, AsPC-1, MIA-PaCa-2 y Hek-293, respectivamente).

A continuación, se procedió a realizar un nuevo estudio de citotoxicidad por el mismo método colorimétrico de MTT, pero ampliando el rango de concentraciones en escalas de 0,5, 5, 10, 20, 40 y 50 μM , para obtener los valores de IC_{50} de los derivados de benzoquinona (Tabla 2). Es fundamental conocer el valor de IC_{50} , ya que define la concentración necesaria del compuesto para reducir la viabilidad celular en un 50 % en ensayos *in vitro*. Como se observa en la Tabla 2, la citotoxicidad de los compuestos es heterogénea y depende de la línea celular y del derivado heterocíclico. Algunas observaciones importantes de destacar es que existen varios derivados benzoquinónicos que son más activos que gemcitabina, además que la línea BxPC-3 fue la más resistente a la acción de los derivados en comparación a AsPC-1 y MIA-PaCa-2. Asimismo, desde un punto de vista químico, al comparar las benzoquinonas resulta interesante evidenciar el efecto del heterociclo en la estructura, en donde los derivados de tiazol resultaron ser los más activos contra las células cancerígenas, de igual forma la sustitución de la estructura con fragmentos fenoxi y fenilamino mostraron ser un punto clave para moldear la actividad citotóxica. A partir de los valores de IC_{50} es posible relacionar la estructura química de los derivados con la citotoxicidad para cada línea, en donde se puede observar que:

- Para las células BxPC-3, el compuesto más activo fue el derivado **7** con un valor de IC_{50} de 1,73 μM , siendo 3 veces más citotóxico que gemcitabina. Los derivados que presentaban el heterociclo de tiazol fueron más selectivos para estas células, de igual forma, aquellas benzoquinonas con fragmentos fenoxi en la estructura mostraron mejor la actividad citotóxica, como se observa al comparar los análogos de tiazol, en donde el compuesto **7** fue 29-veces más potente que el derivado **6**, mientras que para los derivados de furano, el compuesto **19** fue 9-veces más activo que el derivado **18**.

- Para las células AsPC-1, el compuesto más activo fue el derivado **8** con un valor de IC₅₀ de 5,28 µM, mientras que gemcitabina mostro un valor de 8,02 µM. Desde un punto de vista químico, se observó el mismo comportamiento que la línea celular anterior, los derivados de tiazol y la presencia de fragmentos fenoxi potencian la citotoxicidad de los derivados de benzoquinona.
- Las células MIA-PaCa-2 mostraron ser sensible a todos los compuestos de benzoquinona, dando valores de IC₅₀ entre 4,39 y 16,0 µM, siendo el derivado **31** el más citotóxico. Para esta línea celular se observó una mayor sensibilidad para compuestos que presenten el heterociclo de oxazol y que poseen el fragmento arilamino en la estructura.

Con la finalidad de profundizar en la actividad biológica de los derivados de benzoquinonas se estudió la capacidad tripanocida contra *Trypanosoma cruzi*, este parasito es causante de la enfermedad de Chagas y su contagio se produce por la picadura de un insecto conocido como Vinchuca. Esta enfermedad no tiene cura y los tratamientos existentes solo actúan paliativamente. En consecuencia, es evidente la necesidad de drogas más efectivas y menos nocivas. Por este motivo, se realizó un estudio preliminar para conocer el potencial biológico de los derivados de benzoquinona contra *T. cruzi*. Los derivados ensayados se estudiaron sobre la forma replicativa del parasito (epimastigote). De esta evaluación se observó que los compuestos mostraron un alto grado de actividad contra *T. cruzi*, en ordenes comparables y mejores de la droga de referencia (nifurtimox). El derivado **19** fue el más citotóxico mostrando un valor de IC₅₀ de 0,70 µM, siendo 10 veces más potente que nifurtimox. Desde un punto de vista estructural, compuestos con el heterociclo de furano fueron más activos para estas células, de igual forma, aquellas benzoquinonas con fragmentos fenoxi mostraron mejor actividad citotóxica.

LIGANDOS	BxPC-3 (μM)	AsPC-1 (μM)	MIA- PaCa-2 (μM)	<i>Trypanosoma cruzi</i> (μM)	Potencial de reducción Epc1 [V]
6	~50,0	12,9 \pm 2,61	10,2 \pm 0,71	>25,0	-0,11
7	1,73\pm0,19	17,4 \pm 1,10	6,96 \pm 0,22	9,50	-0,34
8	34,0 \pm 1,4	5,28\pm0,19	-----	18,3	----
9	6,24 \pm 1,2	21,7 \pm 0,90	11,7 \pm 0,22	5,30	----
18	~50,0	23,9 \pm 3,55	16,0 \pm 1,6	10,5	----
19	5,55 \pm 0,41	17,6 \pm 0,56	7,48 \pm 0,01	0,70	----
29	>50,0	19,8 \pm 4,9	9,52 \pm 0,40	>25,0	-0,12
30	8,02 \pm 1,7	~50,0	11,5 \pm 1,4	6,50	-0,30
31	9,12 \pm 1,3	41,7 \pm 1,43	4,39\pm0,27	6,25	-0,33
34	>50,0	~50,0	8,17 \pm 0,29	4,00	-0,29
39	>50,0	>50,0	11,0 \pm 0,25	>25,0	-0,29
Gemcitabina	5,50 \pm 0,20	8,02 \pm 0,82	1,31 \pm 0,30	----	----
Nifurtimox	----	----	----	7,00	----

Tabla 2. Valores de citotoxicidad de algunos compuestos heterociclos (IC_{50}), frente a células tumorales pancreáticas (BxPC-3, AsPC-1 y MIA-PaCa-2) y células parasitarias (*Trypanosoma cruzi*). Además, se indican los potenciales de reducción catódico 1 (Epc1).

Finalmente, podemos concluir que las benzoquinonas de tiazol, furano y oxazol presentan un alto potencial citotóxico contra células tumorales pancreáticas y parasitarias. Además, se observa una preferencia celular con respecto a las propiedades químicas de los heterociclos, compuestos con mayor momento dipolar, como lo son los derivados de tiazol y oxazol fueron más activos contra células tumorales. Mientras, que compuestos con menor momento dipolar tienen una mayor actividad contra células parasitarias, como lo mostro el heterociclo de furano. Asimismo, se propone que el mecanismo de acción de los compuestos para las líneas tumorales es por el bloqueo de la producción de ATP mediante la inhibición de la enzima glicosomal glicelraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, de esta manera se afecta el proceso de glucólisis y se deja a la célula sin energía para realizar el metabolismo. Mientras, que el mecanismo de acción propuesto para la actividad parasitaria es por la inhibición de la enzima *Trypanosoma cruzi* tripanotion reductasa, generando un desequilibrio redox que desencadena complicaciones en el metabolismo hasta producir muerte celular. Además, no se descarta la inhibición de más complejos enzimáticos responsables de producir muerte celular. Finalmente, los derivados de benzoquinona presentaron una alta citotoxicidad y mostrando ser una guía precisa para posteriores modificaciones químicas en pro de un incremento de las propiedades anticancerígenas y antiparasitarias, dándole continuidad al trabajo de tesis.

Capítulo IV: Conclusión

Con respecto al trabajo sintético, teórico, redox y biológico de los derivados sintetizados podemos concluir que:

1- Se prepararon 2-fenilbenzoquinonas de tiazol, furano y oxazol usando rutas sintéticas eficientes y flexibles mediante una secuencia ordenada de transformaciones químicas, logrando que la funcionalización de la estructura fuese compatible con cada una de las reacciones. Se prepararon mediante un protocolo de 8 pasos para cada serie de heterociclo, en donde las primeras reacciones tuvieron como objetivo la formación de un intermediario clave que fuese sometido a un acoplamiento intramolecular, seguido de un proceso de oxidación y finalmente una adición/sustitución nucleofílica. El esqueleto de 2-fenilbenzoquinonas resulto ser conveniente y útil, por presentar un bajo peso molecular y poder realizar sustituciones finales para ajustada su actividad.

2- Se construyeron y optimizaron los modelos estructurales y electrónicos de los derivados de benzoquinonas, donde se evidencio el motivo de la regioselectividad. Cuando la estructura se encuentra funcionalizada con un enlace C-Br los derivados presentan una diferencia de reactividad, la cual depende de la naturaleza del nucleófilo y condiciones del medio. Las estructuras optimizadas revelaron que la adición nucleofílica sigue un mecanismo de catálisis básica general y que el intermediario formado se conecta con un proceso de transferencia protónica (TP), que actuaría como etapa limitante para esa reacción. Asimismo, cuando no se generan las condiciones para la TP, la sustitución nucleofílica comienza a verse favorecida, dándose por medio de un proceso concertado asimétrico.

3- Del estudio electroquímico se puede concluir que, en el rango de potencial de barrido, los mecanismos de reducción para todos los compuestos de benzoquinonas mostraron similitud y la funcionalización de la estructura es la determinante en favorecer el proceso de reducción. Los compuestos 6-bromo-

2-fenilbenzo[d]tiazol-4,7-diona, 6-bromo-2-fenilbenzofuran-4,7-diona y 6-bromo-2-fenilbenzo[d]oxazol-4,7-diona mostraron los valores de potenciales más favorables, mientras que las benzoquinonas funcionalizadas con grupos fenoxi y fenilamino no favorecen el proceso de reducción.

4-La evaluación *in vitro* de las benzoquinonas heterocíclicas como agentes contra BxPC-3, AcPC-1 y MIA-PaCa-2 mostraron un alto grado de actividad contra las células tumorales, observándose en algunos casos mejores resultados que la droga de referencia, gemcitabina. Identificándose algunos parámetros estructurales con potencial incidencia en la actividad citotóxica tales como el anillo de tiazol y presentar un fragmento fenoxi en la estructura de benzoquinona. La evaluación *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* de los derivados heterocíclicos evidenciaron excelentes propiedades tripanocidas y en algunos casos mejores que la droga de referencia, nifurtimox. Siendo el derivado de furano el más activo contra el parasito, de igual forma, se potencia la citotoxicidad de benzoquinonas cuando la estructura presenta un fragmento fenoxi.

5-Finalmente, los derivados de benzoquinona presentaron una citotoxicidad contra células parasitarias y tumorales comparable y mejor que las drogas de referencia, justificando los esfuerzos que requiere su síntesis y mostrando ser una guía precisa para posteriores modificaciones químicas en pro de un incremento de las propiedades anticancerígenas y antiparasitarias.

Bibliografía

[1]

1. UK, C.r. *Types of cancer 2020* April, 29, 2022]; Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer>.
2. Kolonel, L.N., D. Altshuler, and B.E. Henderson, *The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(7): p. 519-27.
3. Newsome, J.J., et al., *Benzimidazole- and benzothiazole-quinones: excellent substrates for NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1*. Org Biomol Chem, 2007. **5**(22): p. 3665-73.
4. Crawford, P.W., et al., *The electrochemistry of antineoplastic furanquinones: Electrochemical properties of benzo[b]naphtho[2,3-d]furan-6,11-dione derivatives*. Electrochimica Acta, 1996. **41**(15): p. 2399-2403.
5. Marie-Odile Galcera, O.L., Marie-Christine Brezak, Gregoire Prevost, *BENZOTHIAZOLE- AND BENZOOXZOLE-4,7-DIONE, DERIVATIVES AND THEIR USE AS CDC25 PHOSPHATE INHIBITORS*. 2009: United States.
6. Brezak, M.C., et al., *IRC-083864, a novel bis quinone inhibitor of CDC25 phosphatases active against human cancer cells*. Int J Cancer, 2009. **124**(6): p. 1449-56.
7. Murray, C.W. and D.C. Rees, *The rise of fragment-based drug discovery*. Nat Chem, 2009. **1**(3): p. 187-92.
8. Bollag, G., et al., *Vemurafenib: the first drug approved for BRAF-mutant cancer*. Nat Rev Drug Discov, 2012. **11**(11): p. 873-86.
9. Erlanson, D.A., et al., *Twenty years on: the impact of fragments on drug discovery*. Nat Rev Drug Discov, 2016. **15**(9): p. 605-619.

10. Murray, C.W. and D.C. Rees, *Opportunity Knocks: Organic Chemistry for Fragment-Based Drug Discovery (FBDD)*. Angew Chem Int Ed Engl, 2016. **55**(2): p. 488-92.
11. Prati, F., et al., *2-Phenoxy-1,4-naphthoquinones: From a Multitarget Antitrypanosomal to a Potential Antitumor Profile*. J Med Chem, 2015. **58**(16): p. 6422-34.
12. Bruno, S., et al., *Discovery of covalent inhibitors of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, a target for the treatment of malaria*. J Med Chem, 2014. **57**(17): p. 7465-71.
13. Pieretti, S., et al., *Naphthoquinone derivatives exert their antitrypanosomal activity via a multi-target mechanism*. PLoS Negl Trop Dis, 2013. **7**(1): p. e2012.
14. Salmon-Chemin, L., et al., *2- and 3-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothione reductase and lipoamide dehydrogenase from Trypanosoma cruzi: synthesis and correlation between redox cycling activities and in vitro cytotoxicity*. J Med Chem, 2001. **44**(4): p. 548-65.
15. Persch, E., O. Dumele, and F. Diederich, *Molecular recognition in chemical and biological systems*. Angew Chem Int Ed Engl, 2015. **54**(11): p. 3290-327.
16. Mortimer, C.G., et al., *Antitumor benzothiazoles. 26.(1) 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW 610, NSC 721648), a simple fluorinated 2-arylbenzothiazole, shows potent and selective inhibitory activity against lung, colon, and breast cancer cell lines*. J Med Chem, 2006. **49**(1): p. 179-85.
17. Aiello, S., et al., *Synthesis and biological properties of benzothiazole, benzoxazole, and chromen-4-one analogues of the potent antitumor agent 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (PMX 610, NSC 721648)*. J Med Chem, 2008. **51**(16): p. 5135-9.

18. Bakunov, S.A., et al., *Synthesis and antiprotozoal activity of cationic 2-phenylbenzofurans*. J Med Chem, 2008. **51**(21): p. 6927-44.
19. Salonen, L.M., et al., *Molecular recognition at the active site of factor Xa: cation- π interactions, stacking on planar peptide surfaces, and replacement of structural water*. Chemistry, 2012. **18**(1): p. 213-22.
20. Harder, M., B. Kuhn, and F. Diederich, *Efficient stacking on protein amide fragments*. ChemMedChem, 2013. **8**(3): p. 397-404.
21. Benites, J., et al., *Biological evaluation of donor-acceptor aminonaphthoquinones as antitumor agents*. Eur J Med Chem, 2010. **45**(12): p. 6052-7.
22. Lyon, M., et al., *ChemInform Abstract: Synthesis and Structure Verification of an Analogue of Kuanoniamine A*. ChemInform, 2010. **30**.
23. Duan, X.F., et al., *A facile two-step synthesis of 2-arylbenzofurans based on the selective cross McMurry couplings*. J Org Chem, 2007. **72**(26): p. 10283-6.
24. Newman, S.G., et al., *Intramolecular cross-coupling of gem-dibromoolefins: a mild approach to 2-bromo benzofused heterocycles*. Chem Commun (Camb), 2009(35): p. 5236-8.
25. Evindar, G. and R.A. Batey, *Parallel synthesis of a library of benzoxazoles and benzothiazoles using ligand-accelerated copper-catalyzed cyclizations of ortho-halobenzanilides*. J Org Chem, 2006. **71**(5): p. 1802-8.
26. Zhao, Y. and D. Truhlar, *The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06 functionals and 12 other functionals*. Theoretical Chemistry Accounts, 2008. **120**: p. 215-241.
27. Hohenstein, E., S. Chill, and D. Sherrill, *Assessment of the Performance of the M05- 2X and M06- 2X Exchange-Correlation Functionals for*

- Noncovalent Interactions in Biomolecules*. Journal of Chemical Theory and Computation - J CHEM THEORY COMPUT, 2008. **4**.
28. Zhao, Y. and D.G. Truhlar, *Density Functionals with Broad Applicability in Chemistry*. Accounts of Chemical Research, 2008. **41**(2): p. 157-167.
 29. Marenich, A.V., C.J. Cramer, and D.G. Truhlar, *Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions*. J Phys Chem B, 2009. **113**(18): p. 6378-96.
 30. Fukui, K., *The path of chemical reactions - the IRC approach*. Accounts of Chemical Research, 1981. **14**(12): p. 363-368.
 31. Legault, C., *CYLview User Manual*. 2012.
 32. Dupont, J. and J.D. Scholten, *On the structural and surface properties of transition-metal nanoparticles in ionic liquids*. Chemical Society Reviews, 2010. **39**(5): p. 1780-1804.
 33. Xue, L. and Z. Lin, *Theoretical aspects of palladium-catalysed carbon-carbon cross-coupling reactions*. Chemical Society Reviews, 2010. **39**(5): p. 1692-1705.
 34. Liao, L.-Y., et al., *ChemInform Abstract: A Practicable Environmentally Benign One-Pot Synthesis of 2-Arylbenzofurans at Room Temperature*. Green Chem., 2012. **14**: p. 695-701.
 35. Alabugin, I.V. and K. Gilmore, *Finding the right path: Baldwin "Rules for Ring Closure" and stereoelectronic control of cyclizations*. Chemical Communications, 2013. **49**(96): p. 11246-11250.
 36. Sánchez, P., et al., *Phenoxy- and Phenylamino-Heterocyclic Quinones: Synthesis and Preliminary Anti-Pancreatic Cancer Activity*. Chemistry & Biodiversity, 2022. **19**(6): p. e202101036.
 37. Guo, X. and H. Mayr, *Quantification of the Ambident Electrophilicities of Halogen-Substituted Quinones*. Journal of the American Chemical Society, 2014. **136**.

38. Wellington, K.W., *Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones – a review*. RSC Advances, 2015. **5**(26): p. 20309-20338.