



REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE FARMACIA
POSTGRADO DE QUIMICA DE MEDICAMENTOS

“Síntesis de derivados de 5*H*-indeno[1,2-*b*]piridina y 4,5-dihidroindeno[1,2-*b*]pirano polihidroxilados con posible actividad citotóxica-antitumoral y antichagásica”

Autor: Fctico. Katuska Charris Salas

Trabajo presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela para optar al título de Doctor en Química de Medicamentos opción Síntesis

Tutores:

Dr. Jorge E. Angel G.

Dra. Miriam Regnault

Este trabajo fue realizado en las Unidades de Investigación:

Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Laboratorio de Modelado Molecular José Luis Andrade. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Indice General

	Página
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	vi
LISTA DE ESPECTROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE GRÁFICOS	xii
LISTA DE TABLAS	xiii
LISTA DE ESQUEMAS DE SINTESIS	xiv
RESUMEN	xv
1. Introducción	
1.1 Cáncer y Parasitosis. Problema mundial	1
1.2 Aspectos comunes entre Cáncer y Parasitosis	3
1.3 El Cáncer	8
1.3.1 Importancia del problema del Cáncer	9
1.3.2 Aspectos generales del cáncer	14
1.3.2.1 ¿Qué es el cáncer?	14
1.3.2.2 Causas del Cáncer	17
1.3.2.3 Ciclo celular	19
1.3.3 Tratamiento	34
1.3.3.1 Nuevas estrategias terapéuticas	38
1.4 Enfermedad de Chagas	41
1.4.1 Importancia de la Enfermedad de Chagas a nivel mundial y en Venezuela.	42
1.4.2 Aspectos generales de la Enfermedad de Chagas	46

1.4.3 Tratamiento	51
1.4.3.1 Desarrollo de nuevos fármacos contra la enfermedad de Chagas	54
1.5 Estudio del Farmacóforo	61
1.6 Relación estructura-actividad biológica de nuevas moléculas	62
2. Objetivos	
2.1. Objetivo general	67
2.2. Objetivos específicos	67
3. Resultados y Discusión	
3.1. Sección Química	76
3.2. Sección Biológica	93
3.2.1. Actividad citotóxica-antitumoral	93
3.2.2. Actividad antichagásica	105
3.3. Sección Modelado Molecular	110
4. Parte Experimental	
4.1. Consideraciones generales	119
4.2. Sección Química	121
Procedimiento general para la síntesis de derivados de bencilidenemalononitrilo	121
Procedimiento general para la síntesis de 2-amino-4-aril-5,6-dihidrobenzo[h]quinolina-3-carbonitrilo y 2-amino-4-aril-5H-indeno[1,2-b]piridina-3-carbonitrilo.	124

4.3. Sección Biológica	156
4.3.1. Actividad citotóxica-antitumoral	156
4.3.1.1. Efecto de los compuestos KC sobre la viabilidad y el crecimiento celular.	156
4.3.1.2. Ensayo de adhesión celular.	157
4.3.1.3. Evaluación de la migración e invasión celular.	158
4.3.1.4. Efecto de los compuestos KC sobre la actividad de las MMP.	159
4.3.1.5. Efecto de los compuestos KC sobre la angiogénesis en membrana corioalantoica de pollo (CAM).	160
4.3.1.6. Medición del potencial clonogénico.	161
4.3.1.7. Efecto toxicológico de los compuestos KC en <i>Artemia salina</i> .	162
4.3.1.8. Análisis estadístico	163
4.3.2. Actividad Tripanocida	163
4.3.2.1. Parásitos	163
4.3.2.2. Ensayo biológico	163
4.4. Sección Modelado Molecular	165
5. Conclusiones	167
6. Recomendaciones y Sugerencias	169
7. Bibliografía	170
8. Apéndice	180

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

AcONH ₄	Acetato de Amonio
ACOOH	Ácido Acético
KBr	Bromuro de Potasio
CHCl ₃	Cloroformo
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
°C	Grado centígrado
Cl ₅₀	Concentración inhibitoria 50
δ	Desplazamiento químico
d	doblete
dd	Doblete de doblete
DMSO	Dimetil sulfóxido
DMSO-d	Dimetil sulfóxido deuterado
g	Gramos
Hz	Hertz
h	Hora
IR	Espectroscopia infrarroja
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento
M	Concentración mol/L
m	Multiplete
MHz	Megahertz
μM	Micromolar
mg	Miligramo
mL	Mililitro

mmol	Milimol
μL	Microlitros
PM	Peso Molecular
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millon
s	Singlete
SDM	Desviación estándar media
t	triplete
t.a.	Temperatura ambiente
TLC	Cromatografía de capa fina

LISTA DE ESPECTROS

		Página
Espectro 1	Espectro de IR de KC1c	181
Espectro 2	Espectro de RMN ¹ H de KC1c	182
Espectro 3	Espectro de IR de KC2-23 .	183
Espectro 4	Espectro de RMN ¹ H de KC2-23	184
Espectro 5	Espectro de RMN ¹³ C de KC2-23	185
Espectro 5a	Espectro DEPT 135 de KC2-23	186
Espectro 5b	Espectro Flock de KC2-23	187
Espectro 6	Espectro de IR de KC3-58	188
Espectro 7	Espectro de RMN ¹ H de KC3-58	189
Espectro 8	Espectro de RMN ¹³ C de KC3-58	190
Espectro 8a	Espectro DEPT 135 de KC3-58	191
Espectro 8b	Espectro Flock de KC3-58	192
Espectro 9	Espectro de IR de KC6 abierto	193
Espectro 10	Espectro de RMN ¹ H de KC6 abierto	194
Espectro 11	Espectro de IR de KC6 abierto y cerrado	195
Espectro 12	Espectro de RMN ¹ H de KC6 abierto y cerrado	196
Espectro 13	Espectro de RMN ¹³ C de KC6 abierto y cerrado	197
Espectro 13a	Espectro DEPT 135 de KC6 abierto y cerrado	198

LISTA DE FIGURAS

	Página	
Figura 1	Tendencias de mortalidad por cáncer en Venezuela. 1960-2005	12
Figura 2	Ciclo celular	23
Figura 3	Síntesis de las bases moleculares del cáncer.	26
Figura 4	La angiogénesis del tumor	27
Figura 5	Vascularización tumoral	28
Figura 6	Cascada señalizadora de la angiogénesis	29
Figura 7	Activación endotelial celular	30
Figura 8	Estructura básica de las MMP	31
Figura 9	Mapa de incidencia de la Enfermedad de Chagas	43
Figura 10	Rutas de migración desde América Latina y el número de infectados en países no endémicos.	44
Figura 11	<i>Triatoma infestans</i>	47
Figura 12	Ciclo de vida del <i>Tripanosoma cruzi</i>	50
Figura 13	Vía de síntesis de esteroides de acetato a ergosterol y colesterol. Los sitios de acción de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides están marcados en azul.	56
Figura 14	Relación estructural de las 4-aril-benzo[h]cromeno y su aza análogo fusionado 4-aril-benzo[h]quinolina. La esfera azul representa el puente hidrocarbonado de longitud variable, que enlaza el sistema biaril.	64
Figura 15	Estructuras Bidimensionales. La esfera roja, rosada, amarilla, morado y azul representan los puntos	

	farmacofóricos A1, A2, A3, D1 y H1, respectivamente. Las líneas azul claro y verde corresponden a los puntos H2 y R1, respectivamente.	65
Figura 16	Relación estructural del 4,5-dihidroindeno[1,2-b]pirano y su aza análogo fusionado 5H-indeno[1,2-b]piridina con respecto a la colchicina y la combretastatina. La esfera azul representa el puente hidrocarbonado de longitud variable, que enlaza el sistema biaril.	66
Figura 17	Mecanismo propuesto para la formación de los derivados del tipo 5H-indeno[1,2-b]piridina.	78
Figura 18	Estructura cristalina de los derivados polihidroxiados del núcleo 5,6-dihidrobenzo[h]quinolina KC3-58 .	83
Figura 19	Posible mecanismo del SIBX mediando la <i>orto</i> -demetilación oxidativa selectiva de arenoles sustituidos.	85
Figura 20	Síntesis de derivados Benzocromenos	87
Figura 21	Mecanismo propuesto para la formación de los derivados 4,5-dihidroindeno[1,2-b]pirano.	88
Figura 22	Mecanismo propuesto para la formación de una cetona α , β -insaturada.	90
Figura 23	Efecto de KC3-15 en el cierre de la herida de PC-3 en un modelo de una sola herida.	97
Figura 24	La actividad de las metaloproteinasas MMP-9 por zymography de gelatina en células PC-3 y LNCaP cuando se exponen a KC3-15 durante 24 horas.	99
Figura 25	Degeneración de los vasos sanguíneos de CAM por	

	tratamiento con KC3-15 .	100
Figura 26	Efecto de KC3-15 en la formación de colonias en agar blando.	104
Figura 27	Mecanismo de la orto-quinona en el etopósido a través de una oxigenación enzimática.	109
Figura 28	a), b) Modelo farmacofórico, c) Alineación con los derivados KC	114
Figura 29	Validación del farmacóforo.	116
Figura 30	a) Modelo farmacofórico para Chagas, b) Alineación del tipifarnib con el modelo.	117

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1 Las cinco primeras causas de mortalidad en Venezuela.	11
Gráfico 2 Causas del Cáncer	19
Gráfico 3 Curvas dosis-respuesta de PC-3, LNCaP, MatLyLu and BHP-1 tratadas con KC3-15 .	95
Gráfico 4 Efecto tiempo-respuesta de KC3-15 a su concentración citotóxica IC_{50} sobre el crecimiento de celular de PC-3, LNCaP y MatLyLu.	95
Gráfico 5 Efecto de KC3-15 sobre la adhesión y difusión celular	96
Gráfico 6 Efecto de KC3-15 en la invasión de las células LNCaP.	98

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I Estructura de los derivados KC sintetizados.	73
Tabla II Datos cristalográficos del compuesto KC2-58 .	83
Tabla III Condiciones de reacción empleadas para la obtención de los indenopiranos polihidroxiados.	86
Tabla IV Efecto citotóxico de los derivados KC sobre células de tumor de próstata y células no tumorales.	94
Tabla V Efecto toxicológico de KC3-15 .	105
Tabla VI Actividad tripanocida in vitro de compuestos experimentales sobre tripomastigotes sanguíneos de <i>Trypanosoma cruzi</i> cepa NINOA	107
Tabla VII Actividad tripanocida in vitro de los derivados KC sobre tripomastigotes sanguíneos de <i>Trypanosoma cruzi</i> cepa INC-5	108

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema de Síntesis 1	69
Esquema de Síntesis 2	70
Esquema de Síntesis 3	70
Esquema de Síntesis 4	71
Esquema de Síntesis 5	71
Esquema de Síntesis 6	72

“Síntesis de derivados de 5*H*-indeno[1,2-*b*]piridina y 4,5-dihidroindeno[1,2-*b*]pirano polihidroxilados con posible actividad citotóxica-antitumoral y antichagásica”

Resumen

El presente trabajo se enfoca hacia la búsqueda de nuevos fármacos que puedan ser ensayados en varios blancos de acción con el objetivo de contribuir en el descubrimiento de una serie de compuestos que puedan ser en el futuro una opción de tratamiento para enfermedades que ocupan los primeros lugares de mortalidad a nivel mundial como es el Cáncer, y aquellas enfermedades conocidas como olvidadas o desatendidas, las cuales comprenden las enfermedades parasitarias, siendo las más graves la malaria y la tripanosomiasis, que afectan mayormente a los países en vías de desarrollo y no disponen de una amplia variedad de quimioterápicos para su tratamiento, además, de ser poco eficaces y muy tóxicos, como sucede con la enfermedad de Chagas; esto se debe a la baja inversión de la industria farmacéutica por ser un blanco poco atractivo para recuperar sus ganancias. Por ello, esta investigación está enmarcada hacia la síntesis de derivados de 5*H*-indeno[1,2-*b*]piridina y 4,5-dihidroindeno[1,2-*b*]pirano polihidroxilados con posible actividad citotóxica-antitumoral y antichagásica. La estrategia utilizada para la obtención tanto de los derivados de núcleo indenopiridina, como indenopirano, se fundamentó en un procedimiento de síntesis lineal dos pasos; en donde el paso clave implicó la síntesis previa de los derivados bencilidenemalononitrilo. Esta estrategia sintética permitió la

obtención de 51 nuevas moléculas orgánicas, caracterizadas a través de técnicas espectroscópicas. Una parte de los derivados fueron evaluados como citotóxicos-antitumorales y anti *T. cruzi*, encontrando resultados muy prometedores en ambos ensayos. A los fines de establecer un posible patrón entre las actividades biológicas observadas y las estructuras de los compuestos, se realizó un estudio de modelado molecular basado en el farmacóforo, de algunas de las estructuras obtenidas. Se discuten las relaciones estructura-actividad biológica citotóxica-antitumoral y antichagásica de los compuestos sintetizados.

Descriptores: Chagas, Cáncer, indenopiridinas, indenopiranos, benzoquinolinas, bencilidenemalononitrilos, angiogénesis, MMP-9, *T. cruzi*.