Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en salud

Informe final

Síntesis de nuevos fragmentos de piridinas trisustituidas y su evaluación en actividad antitumoral

Equipo de investigación

Coordinador del proyecto: Dr. Byron José López Mayorga

Investigador: Dr. Abraham Alejandro Vásquez Mencos

Auxiliar de investigación I: Br. Fabiola Elizabeth Arévalo Herrera

Guatemala, 25 febrero de 2020

Unidad avaladora:

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas – IIQB

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinador del Programa de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Dr. Byron José López Mayorga
Coordinador del proyecto

Dr. Abraham Alejandro Vásquez Mencos
Investigador

Br. Fabiola Elizabeth Arévalo Herrera
Auxiliar de investigación I

Br. Francisco Letona Overdick
Colaborador

Lic. Carlos Torres Méndez
Colaborador

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2020. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Partida Presupuestaria 4.8.63.4.41. durante el año 2020 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

ÍNDICE GENERAL

1. Resumen 6
2. Palabras clave 6
3. Abstract 6
4. Introducción 7
5. Planteamiento del problema 8
6. Preguntas de investigación 8
7. Delimitación en tiempo y espacio 9
8. Marco teórico 9
8.1 Dibenzalacetonas 9
8.2 Piridina 10
8.3 Síntesis de piridinas 10
9. Estado del arte 11
10. Objetivo general. 12
11. Objetivos específicos 12
12. Materiales y métodos 13
12.1 Enfoque y tipo de investigación: 13
12.2 Recolección de información: 13
12.3 Para investigación cuantitativa: 13
12.4 Técnicas e instrumentos: 13
12.5 Operacionalización de las variables o unidades de análisis: 13
12.6 Procesamiento y análisis de la información: 14

13. Vinculación, difusión y divulgación 14

14. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:..... 15

15. Análisis y discusión de resultados:..... 23

16. Conclusiones 25

17. Impacto esperado 26

18. Referencias 26

19. Apéndice..... 32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1..... 15

Tabla 2..... 15

Tabla 3..... 17

Tabla 4..... 17

Tabla 5..... 18

Tabla 6..... 18

Tabla 7..... 20

Tabla 8..... 21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 15

Figura 2 16

Figura 3 ..... **16**

Figura 4 ..... **20**

Figura 5 ..... **22**

APÉNDICE ***32***

Síntesis de nuevos fragmentos de piridinas trisustituidas y su evaluación en actividad antitumoral

1. Resumen

Se desarrolló un método para la síntesis de diferentes estirilpiridinas utilizando un horno microondas convencional como fuente de energía alternativa y se realizó un análisis de los compuestos por medio de un análisis de *docking* computacional molecular sobre topoisomerasa I y IIα humanas, para generar nueva información sobre la afinidad que puedan presentar, obteniendo como resultado en general una menor afinidad en comparación con los fármacos comerciales, pero mejor que el control negativo, ya que presentan ciertas interacciones específicas, los compuestos sintetizados se obtienen con rendimientos moderados a bajos y concluyendo que pueden ser utilizados como compuestos base para posteriores nuevos fármacos inhibidores antitumorales actuando como inhibidores de topoisomerasas.

2. Palabras clave: topoisomerasa, síntesis de Kröhnke, dibenzalacetonas, antitumoral.

3. Abstract

A method was developed for synthesis of different styrylpyridines using a conventional microwave oven, besides as an alternative energy source and an analysis of the compounds was performed through a molecular computational docking analysis on human topoisomerase I and IIα to generate new information about its affinity with compounds, generally obtaining a lower affinity compared to commercial drugs, but better than the negative control, since they present some specific interactions, the synthesized compounds are obtained with moderate to low yields and concluding that they can be used as base compounds for subsequent new antitumor inhibitor drugs acting as topoisomerase inhibitors.

Key Word: topoisomerase, Krohnke synthesis, dibenzalacetones, antitumoral.

4. Introducción

Las piridinas suelen ser fragmentos moleculares para la síntesis de compuestos más complejos que pueden tener diferentes aplicaciones, como bloques constructores en química supramolecular (Miller y Brooker 2015), como ligantes en química de coordinación (Wu et al. 2013), quimiosensores (Moura et al. 2018), catálisis (Soro et al. 2006), quimioterapéuticos antitumorales (Basnet et al. 2007:6), así como en otros tipos de fármacos.

En el caso de la actividad antitumoral se ha observado que pueden jugar un papel muy importante en la inhibición de las topoisomerasas, deteniendo la replicación del ácido desoxirribonucleico, la transcripción, la recombinación, la reparación y el ensamblaje de la cromatina y segregación del cromosoma, lo cual ha hecho que este tipo de compuestos resulten atractivos para detener la replicación anómala de células cancerosas (Basnet et al. 2007; Behalo, Amine, y Fouda 2017; Zhao et al. 2004).

Otros fragmentos orgánicos que suelen ser importantes en bioactividad son los compuestos que poseen carbonilos α,β-insaturados, que pueden reaccionar de manera particular con la sal de Kröhnke para formar piridinas trisustituidas con buena conjugación electrónica, hasta el punto que algunas suelen tener propiedades fluorescentes y se les ha evaluado en aplicaciones sobre catálisis, materiales, pigmentos sensibilizadores para celdas solares, diodos emisores de luz orgánicos, anticancerígenos, etc. (Sasaki 2016).

La obtención de piridinas trisustituidas, suele ser complicada y puede conllevar varios pasos de reacción, obteniendo menores porcentajes de rendimiento global, mayor gasto de reactivos y disolventes, por tal razón, una menor eficiencia en el uso de los recursos.

En las últimas décadas, se ha empezado a dar importancia al uso de técnicas amigables con el ambiente para la síntesis de compuestos orgánicos, como por ejemplo el uso de lámparas de infrarrojo, microondas, ultrasonido, mecanoquímica, para no solo hacer más eficientes las síntesis, sino para minimizar la utilización de disolventes y otros reactivos.

La síntesis de piridinas de Kröhnke, es una reacción muy versátil para utilizar en química combinatoria y lograr diferentes tipos de piridinas trisustituidas, además, otro fragmento de interés son las dibenzalacetonas, de las cuales se han reportado que poseen actividades

biológicas, contra leshmania (Chauhan et al. 2018). En base a lo anterior se desarrolla una metodología para la síntesis de piridinas trisustituidas, utilizando la síntesis de piridinas de Kröhnke con distintas dibenzalacetonas por medio de microondas (Tu et al. 2005) y calentamiento convencional, así como la evaluación *in silico* de cada piridina trisustituida con topoisomerasa I (Zhao et al. 2004) y topoisomerasa II (Bailly 2012; Basnet et al. 2007).

5. Planteamiento del problema

Con la necesidad de disponer con certeros tratamientos para los distintos tipos de cáncer, en las últimas décadas se han estudiado un número enorme de sustancias, buscando una alta actividad y selectividad en cada línea (Bailly 2012), principalmente para que los tratamientos sean menos agresivos.

Una alta cantidad de compuestos heterociclos han sido aprobados generando resultados moderados a buenos en cuanto a actividad antitumoral, donde generalmente los objetivos de los fármacos suelen ser las topoisomerasas y la tubulina (Cragg y Newman 2004), sin embargo, todavía existe un largo camino de exploración buscando mejores resultados, y en la actualidad utilizando herramientas de modelaje molecular para obtener potenciales actividades anticancerígenas. Aunado a esto se pretende sintetizar una nueva familia de piridinas trisustituidas, de las cuales por estudios previos se conoce que poseen alta actividad en inhibición sobre las topoisomerasas (Bailly 2012; Basnet et al. 2007; Cragg y Newman 2004), evitando la replicación de las células, por eso se tiene la idea que, al realizar variaciones sobre este núcleo estructural de piridinas, se pueden obtener respuestas favorables en la actividad antitumoral y evaluar su utilización como marcadores celulares en el caso de los que presentan fluorescencia.

6. Preguntas de investigación

¿Es posible sintetizar piridinas trisustituidas a partir de dibenzalacetonas?

¿Las piridinas trisustuidas a partir de dibenzalacetonas tienen potencialmente actividad de inhibición de la topoisomerasa I?

¿Las piridinas trisustuidas a partir de dibenzalacetonas tienen potencialmente actividad de inhibición de la topoisomerasa II?

7. Delimitación en tiempo y espacio

El trabajo se plantea de la siguiente manera:

La síntesis química se realizó en el laboratorio 110 del departamento de Química Orgánica de la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

La caracterización de los productos se llevó a cabo en el laboratorio nacional de la SAT, facilitado por la Licda. Barbara Cano y por el laboratorio CIAT de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, facilitado por la Licda. Carol Guzmán.

Duración de proyecto para 11 meses, febrero de 2020 a diciembre de 2020.

8. Marco teórico

8.1 Dibenzalacetonas

Las dibenzalacetonas son compuestos que provienen de la condensación aldólica de acetona con aldehídos aromáticos, teniendo la formación de enlaces carbono-carbono α,β-insaturados a un carbonilo, este tipo de reacción es una de las más versátiles y utilizadas en la química orgánica, de esta reacción existe muchas variantes, incluso son reacciones que se dan dentro de los metabolismos, con enzimas como las aldolasas (Sagi et al. 2012), la citrato sintasa por ejemplo (Butch et al. 2013), toman un rol importante en la química de la vida.

A pesar de ser una reacción muy común, derivados de estos compuestos como las chalconas, suelen ser un atractivo para ser bioactivas y encontrar un potencial uso en el área de salud, como los que poseen propiedades farmacológicas (Singh, Anand, y Kumar 2014) o el otro extremo en

el que se investigan para la ciencia de los materiales o nanoquímica (Faghihi, Hajibeygi, y Shabanian 2010).

8.2 Piridina

La piridina es un heterociclo de seis miembros que posee un nitrógeno en el ciclo y tiene carácter aromático, destaca por funcionar como una base por los electrones libres disponibles del heteroátomo, es un compuesto que a pesar de poseer aromaticidad no reacciona fácilmente por sustitución electrofílica aromática. Históricamente en 1846 luego de una pirolisis de huesos el primer compuesto derivado de piridina que posteriormente se supo que era metil piridina o picolina (Dobbin 1934), como bien se ha mencionado anteriormente, se han encontrado una gran gama de aplicaciones de estructuras complejas que poseen anillos de piridina, como ligantes en catalizadores, en materiales con relación a superficies, estructuras supramoleculares, polímeros, fármacos(Allais et al. 2014).

Este motivo estructural empezó a cobrar importancia en la actividad biológica desde que se conoció la estructura de la vitamina B6, que posee como base un anillo de piridina, y el importante rol que juega en el metabolismo, y también su importancia en productos naturales de los cuales existe una gran variedad de aplicaciones en bioactividad, como antiinflamatorios (Duffy Colm D. et al. 2010), antidepresivos (Vacher et al. 1999), inhibidores de la acetilcolinesterasa (O'Hagan 2000), en inducción de apoptosis (Lu et al., 2010), en retro virales , etc.

8.3 Síntesis de piridinas

Una de las mejores ventajas en las síntesis clásicas de piridinas, es que no se suelen utilizar metales que pueden ser contaminantes en el área de salud, y a pesar de que varias de estas técnicas fueron desarrolladas a inicios del siglo XX, aún siguen vigentes y solo se les suele modificar a metodologías más amigables con el ambiente y con mayor eficiencia.

Una de las reacciones más conocidas es la de Hantzsch, la cual es una reacción multicomponente en la que se suele utilizar acetoacetato de etilo, un aldehído y amoníaco, obteniendo piridinas

sustituidas, pero la limitación de la variedad de sustituyentes en el compuesto dicarbonilo deja menos posibilidades en la combinación de sustituyentes, aun así, es una de las reacciones más populares para la síntesis de piridinas (Cotterill et al. 1998).

Se encuentra también la síntesis de Chichibabin para piridinas, que también es una reacción multicomponente, en la que se pueden obtener piridinas trisustituidas, una de las desventajas de este método son las altas temperaturas, presiones, catalizadores poco accesibles y los rendimientos suelen ser de moderados buenos (Li, He, y Yu 2012).

Existe otro método para la obtención de piridinas trisustituidas, con la síntesis de Kröhnke que fue desarrollada en 1969, en la que previamente se genera una sal de piridonio llamada sal de Kröhnke que posteriormente se hace reaccionar con derivados de chalconas para la obtención de la piridina, la cual se desarrolla utilizando acetato de amonio y ácido acético a reflujo, obteniendo generalmente buenos rendimientos. Es uno de los métodos más utilizados para la síntesis de terpiridinas que se utilizan como ligantes de metales para catálisis o sensores (Constable et al. 2003), este método como otros, aún tiene potencial para su exploración en la búsqueda de nuevos compuestos con potencial bioactividad.

Existen otros métodos para la síntesis de piridinas, pero se suele requerir reactivos menos accesibles y de mayor cuidado, pero siempre pueden ser una opción como lo son las síntesis de Bohlman-Ratz, Mannich, y otras reacciones multicomponente.

9. Estado del arte

- Los compuestos carbonilos α,β-insaturados, siguen siendo una estructura privilegiada en la química medicinal, ya sea como las simples chalconas o motivos estructurales que sirven para moléculas más complejas, de las cuales sus mecanismos o modos de acción aún son objeto de estudio (Zhuang et al. 2017).

- En el caso particular de las piridinas trisustituidas, uno de los estudios más recientes es el de inhibidores duales de topoisomerasas tipo I y II, utilizando sustituyentes con motivos

heterocíclicos como anillos furano, sustituyentes hidroxilo, cloro y anillos alifáticos fusionados con la piridina, induciendo apoptosis en células de tejido de colon HCT15 (Park et al. 2017). También se estudian este tipo de estructuras en la inhibición de enzimas AKT1 quinasas que regulan el factor de crecimiento de células (Trejo-Soto et al. 2018).

- Se siguen obteniendo piridinas trisustituidas de estructura novedosa y con métodos de síntesis más modernas como los acoplamientos carbono-carbono, por medio de reacciones quimioselectivas de Suzuki-Miyaura, Sonogashira con muy buenos rendimientos (Park Cho□Hee et al. 2017).

- Para el caso de las piridinas trisustituidas utilizadas en ligantes de metales, siguen teniendo un papel importante para reacciones de distintos tipos e incluso con enantio y diastereo selectividad (Kuang Jinqiang, Parveen Shaista, y Breit Bernhard 2017).

- Se reporta la síntesis de piridinas trisustituidas utilizando un polímero mesoporoso, hecho a base de un calixareno que funciona como catalizador reutilizable (Mouradzadegun, Mostafavi, y Ganjali 2019).

10. Objetivo general.

Desarrollar una estrategia sintética que permita novedosas piridinas trisustituidas y evaluar su actividad antitumoral.

11. Objetivos específicos

- Desarrollar una metodología utilizando reflujo convencional y/o microondas para sintetizar derivados de 4-fenilpiridina sustituyendo en posiciones 2 y 6 con R, donde R puede ser fenilo, 4-*N,N*-dimetilaminofenilo, 4-alcoxifenilo y 4-nitrofenilo.

- Evaluar la actividad exploratoria antitumoral de los novedosos derivados de piridinas trisustituidas por acoplamiento molecular *in silico*.

12. Materiales y métodos

12.1 Enfoque y tipo de investigación:

Se realizó una investigación cualitativa, así mismo el tipo de investigación fue exploratoria.

12.2 Recolección de información:

12.2.1 Universo: compuestos de piridina trisustituidas.

12.2.2 Criterios de inclusión/exclusión: a conveniencia

12.3 Para investigación cuantitativa:

Muestra definida a conveniencia, debido a antecedentes y reactivos disponibles en el mercado.

12.4 Técnicas e instrumentos:

Síntesis, purificación y determinación de piridinas sustituidas por reacción de Kröhnke, utilizando calentamiento en plancha convencional y por horno de microondas, se realizan la mayoría de purificaciones por recristalización o en su defecto columna cromatográfica, caracterización por punto de fusión, espectrofotometría de infrarrojo y en algunos casos por espectrometría de masas.

Se realizaron una serie de reacciones en las que se varían distintos parámetros y sustratos hasta llegar a los resultados.

12.5 Operacionalización de las variables o unidades de análisis:

Objetivos específicos	Variables de análisis	Forma en que se midieron
1. Desarrollar una metodología utilizando reflujo convencional y/o microondas para sintetizar derivados de 4-	Variable dependiente: concentración, fuente de energía, disolvente/catalizador.	La caracterización de los productos se llevó a cabo por espectrometría de infrarrojo, en algunos casos

fenilpiridina sustituyendo en posiciones 2 y 6 con R, donde R puede ser fenilo, 4-*N,N*-dimetilaminofenilo, 4-alcoxifenilo y 4-nitrofenilo.	Variable independiente: Obtención y rendimiento de cada compuesto.	espectrometría de masas. El rendimiento se evaluó a partir de la cantidad de masa de producto puro experimental entre cantidad de masa de producto teórico.
2. Evaluar y explorar la actividad antitumoral de los derivados de piridinas trisustituidas por acoplamiento molecular *in silico*.	Variable dependiente: Los compuestos sintetizados. Variable independiente: energía de interacción de los compuestos con topoisomerasa relacionada con actividad tumoral	La energía de interacción de los compuestos con las enzimas se evaluó por medio de Molegro Virtual Docker utilizando MolDock SE.

12.6 Procesamiento y análisis de la información:

Cada reacción se realizó al menos 3 veces para determinar el % de cada producto. A los compuestos se les tomó punto de fusión, se sacaron espectros de infrarrojo donde se interpreta la presencia y/o ausencia de grupos funcionales y en el caso de los espectros de masas obtenidos, se evalúan los picos de relación masa/carga para determinar la presencia del compuesto y posibles fragmentaciones.

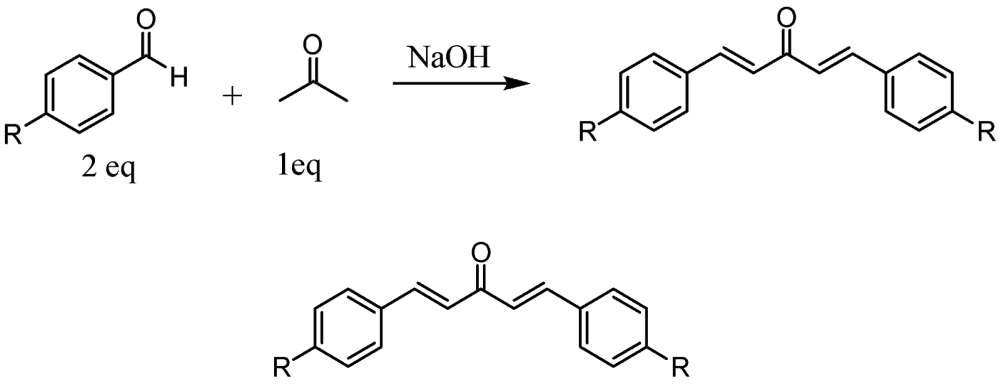
13. Vinculación, difusión y divulgación

El presente proyecto se llevó a cabo en colaboración al Laboratorio químico fiscal de la Superintendencia de Administración Tributaria (SAT); proporcionó ayuda en las mediciones de los compuestos por espectrofotometría de infrarrojo.

14. Productos, hallazgos, conocimientos o resultados:

Figura 1

Reacción general para la síntesis de dibenzalacetonas (cetonas α,β-insaturadas)



R= (**1a** H), (**1b** Cl), (**1c** Br), (**1d** $N(CH_3)_2$), (**1e** NO_2), (**1f** $-OCH_2O-$)

Tabla 1

Síntesis de dibenzalacetonas (cetonas α,β-insaturadas)

Compuesto	Condiciones de reacción	% rendimiento
1a	NaOH (20%)/ etanol	85
1b	NaOH (10%) EtOH:H_2O	51
1c	NaOH (10%) EtOH:H_2O	20
1d	NaOH (10%) EtOH:H_2O	35
1e	NaOH (10%) EtOH:H_2O	23
1f	NaOH (10%)	80

Tabla 2

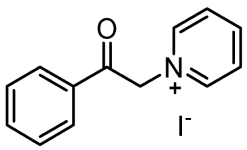
Optimización de reacción de dibenzalacetona y análogos con sal de Kröhnke en presencia de disolvente y/o catalizador

Equivalentes de reactivos		Fuente de energía	Tiempo	Disolvente y/o catalizador	Rendimiento
Dibenzalacetona	Sal de	Plancha (P)/	Minutos		%

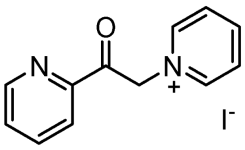
	Kröhnke (fenilo)	Microondas (MW)			
1	1.2	MW (intensidad alta)	1	Ninguno	0
1	1.2	MW (intensidad alta)	2	Ninguno	Trazas
1	1.2	MW (intensidad baja)	20	10 gotas ácido acético/ etanol (disolvente)	10
1	1	MW (intensidad alta)	10	10 gotas ácido acético/ etanol (disolvente)	10
1	1	MW (intensidad alta)	10	Ácido acético (disolvente)	14
1	1	P	480	Ácido acético (disolvente)	15
1	1	MW (intensidad alta)	10	10 gotas ácido acético / DMF (disolvente)	18

Figura 2

Sales de Kröhnke sintetizadas



2a



2b

Figura 3

Reacción general para la síntesis de piridinas trisustituidas

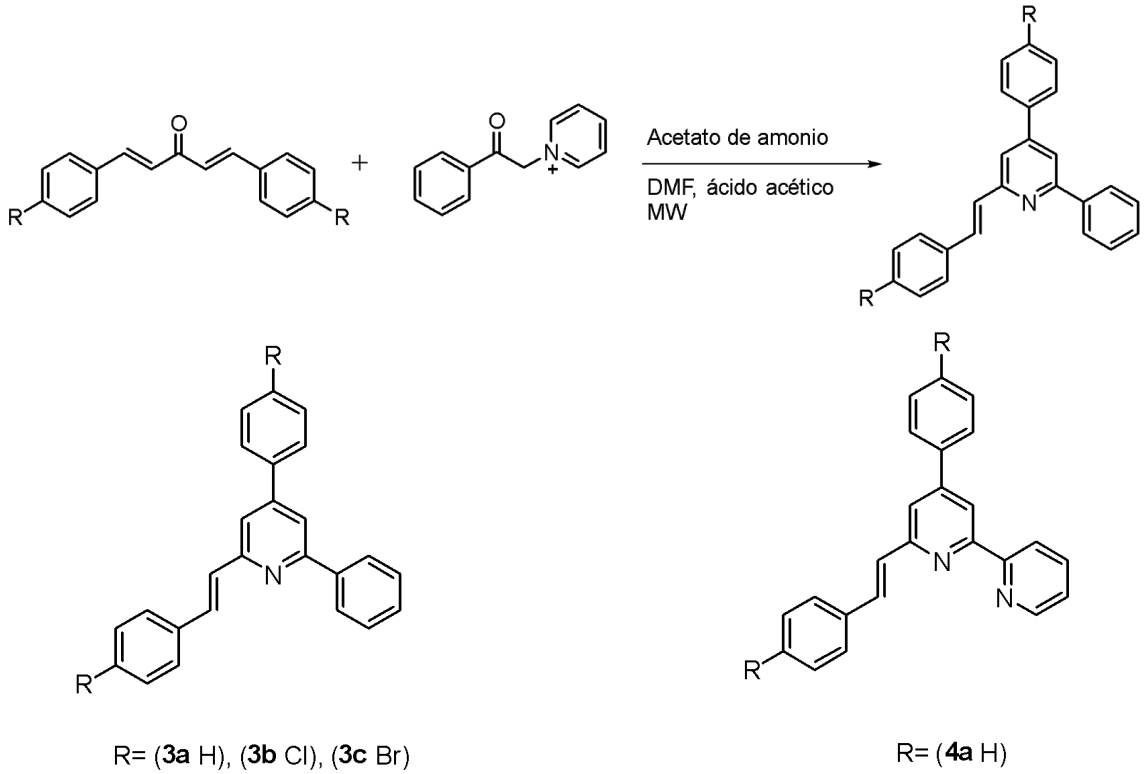


Tabla 3

Síntesis de piridinas trisustituidas

Piridina trisustituida	Sal de Kronhke	Rendimiento %
3a	fenilo	18
4a	piridina	15
3b	fenilo	15
3c	fenilo	10

Tabla 4

Bandas de espectroscopia en Infrarrojo (FTIR) de dibenzalaceontas (cetonas α,β-insaturadas)

Compuesto	C-H (sp^2) cm^{-1}	C=O cm^{-1}	C=C cm^{-1}	Vibraciones características de cada compuesto cm^{-1}
1a	3054	1649	1589; 1495	-

1b	3052	1646	1587; 1488	1084 (C-Cl aromático en *para*)
1c	-	1647	1595; 1484	1070 (C-Br aromático en *para*)
1d	2910	1660	1590; 1548	1231 (C-N)
1e	2916	1660	1588	1514 (C-NO_2 asimétrico); 1342 (C-NO_2 simétrico); 851 (N-O)
1f	2908	1639	1599; 1490	927 (C-O-C)

Tabla 5

Bandas de espectroscopia en Infrarrojo (FTIR) de piridinas trisustituidas

Compuesto	C-H cm^{-1}	C=C cm^{-1}	Vibraciones características de cada compuesto cm^{-1}
Trifenilpiridina	3059	1605 (C=N); 1593	-
3a	3026	1600 (C=N); 1493; 1451	967 (alqueno *trans*); 753, 695 (flexiones C-H)
4a	3055	1731, 1627 (C=N); 1582; 1494; 1477	995 (alqueno *trans*); 765, 696 (flexiones C-H)
3b	-	1737 (C=N); 1597; 1489	1090 (C-Cl aromático *para*); 967 (alqueno *trans*); 774, 694 (flexiones C-H)
3c	-	1652 (C=N); 1596; 1486	1071 (C-Br aromático *para*); 981 (alqueno *trans*); 773; 693 (flexiones C-H)

Tabla 6

Señales de compuestos por espectrometría de masas (IE^+)

Compuesto	(m/z)	(m/z)	(m/z)

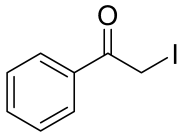
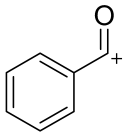
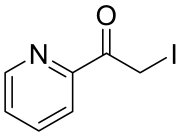
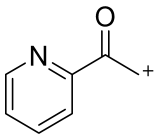
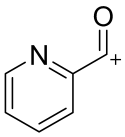
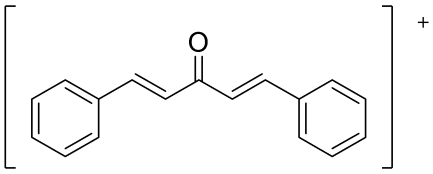
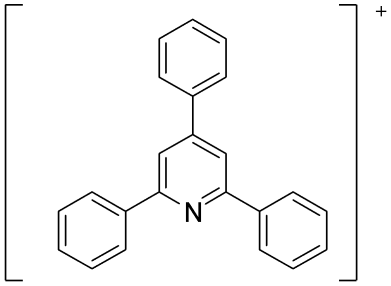
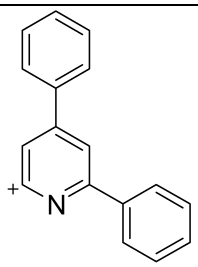
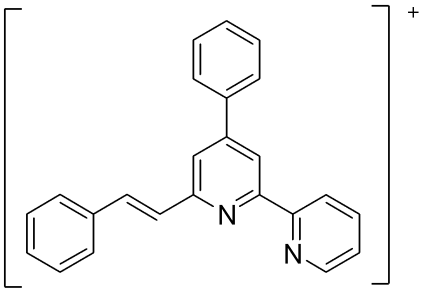
2a	[M]+ 	[M-141]+ 	-
2b	[M]+ 	[M-126]+ 	[M-141]+ 
1a	[M]+ 	-	-
Trifenil piridina	[M+1]+ 	-	-
3a	[M-103]+ 	-	-
4a	[M+2]+ 	-	-

Tabla 7.

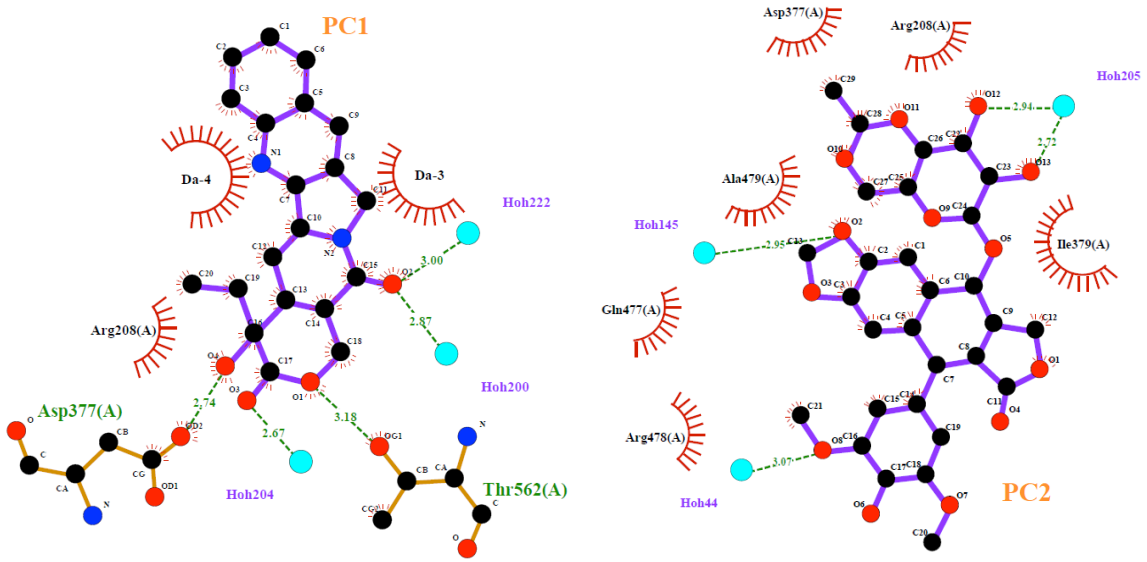
Puntuación de acoplamiento en el sitio activo de la Topoisomerasa I de ADN humano.

Compuesto	Puntuación MolDock[a]	Agua	Enlace H
PC1	-208.842	-19.0887	-2.4999
PC2	-112.228	-16.3806	0
3A	-167.44	-4.11087	-0.434671
3C	-167.182	-0.854636	0
NC	-130.766	-6.30556	0

Nota. [a]MolDock algoritmo de acoplamiento molecular; PC1, control positivo 1: Camptotecina; PC2 = control positivo 2: Etopósido; NC = control negativo: Coridina

Figura 4

Imágenes 2D para las interacciones de PC1, PC2, NC, A, C, en el sitio activo de Topoisomerasa I de ADN humano



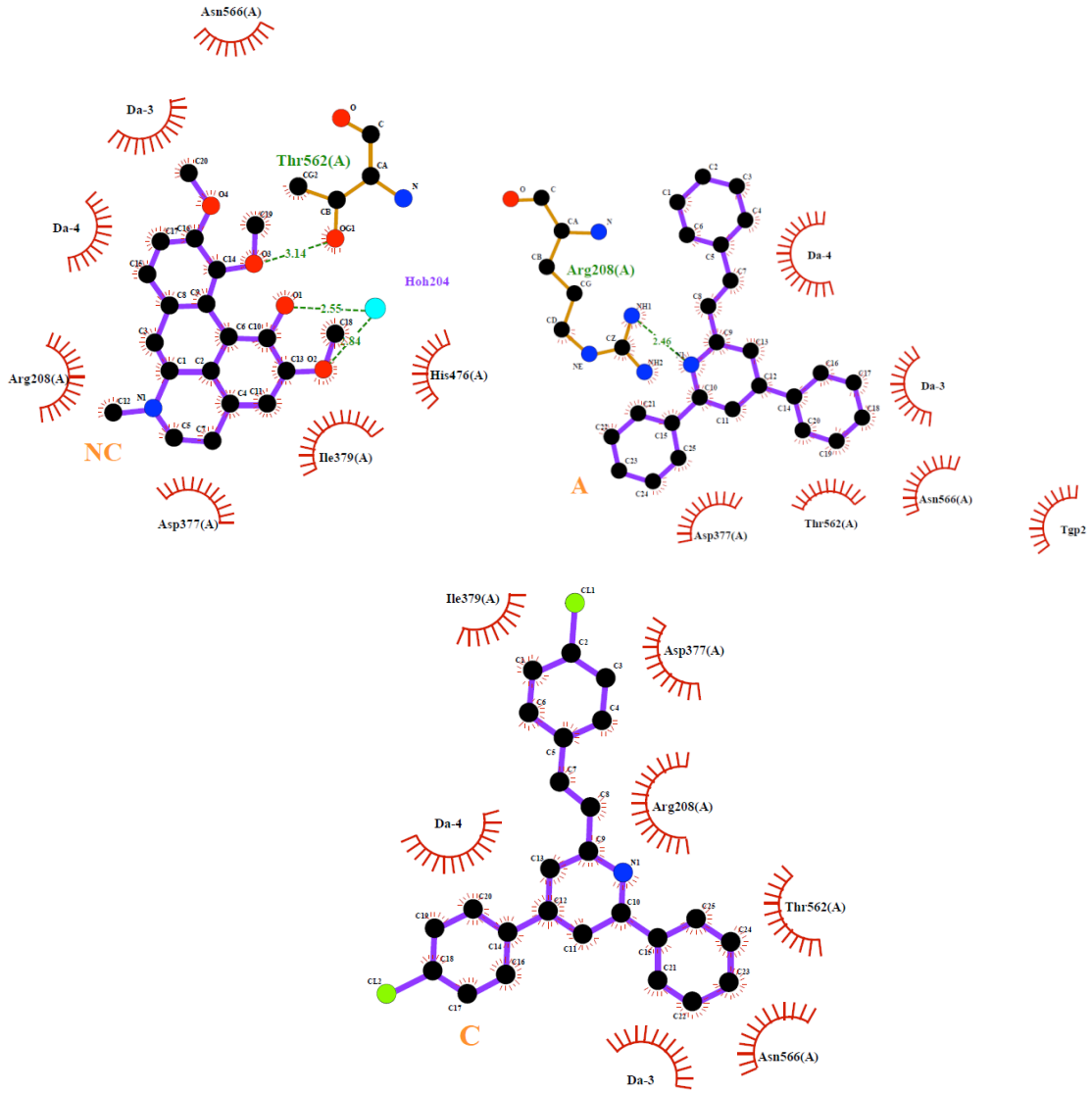


Tabla 8.

Puntuación de acoplamiento en el sitio activo de la Topoisomerasa IIα de ADN humano.

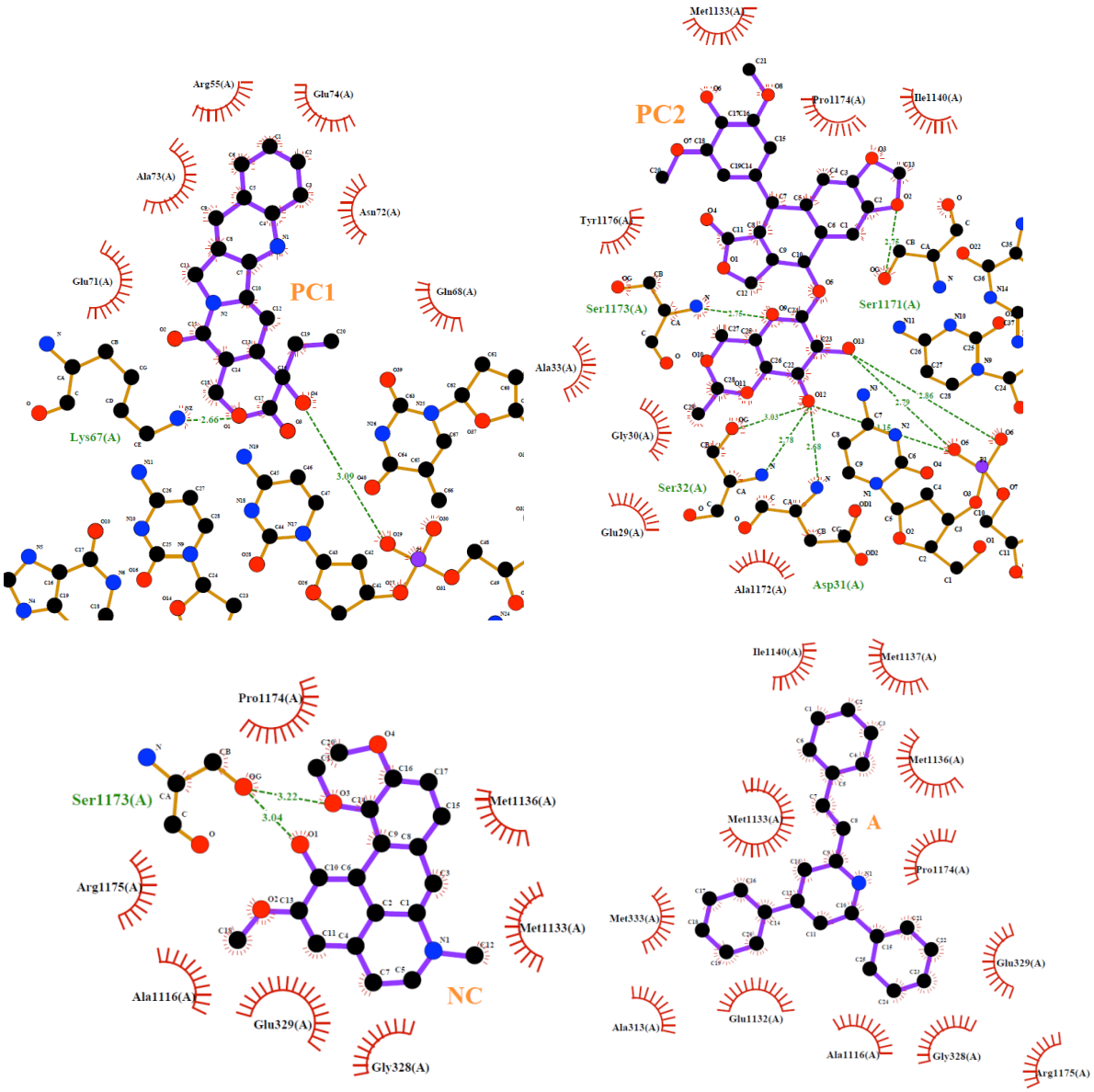
Compuesto	Puntuación MolDock[a]	Agua	Enlace H
PC1	-114.425	0	-0.419826
PC2	-135.104	-0.422514	-7.0048
3A	-111.223	-0.2612	0
3C	-107.193	-0.294674	0
NC	-65.9852	-0.0961082	-1.41167

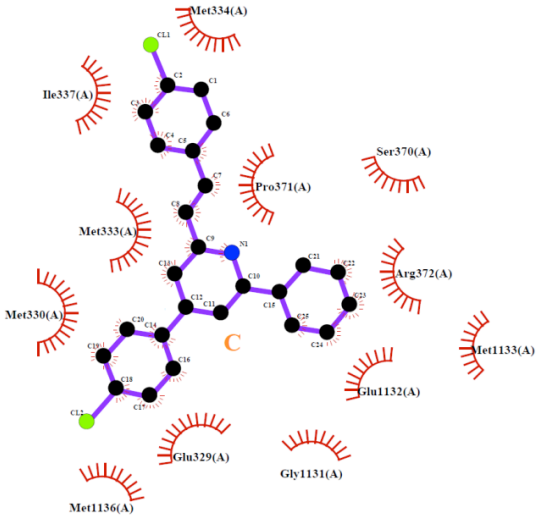
Nota. [a]MolDock algoritmo de acoplamiento molecular; PC1, control positivo 1: Camptotecina; PC2 = control positivo 2: Etopósido; NC = control negativo: Coridina

En el acoplamiento a la topoisomerasa II, los compuestos A y C mostraron mayor afinidad que el control NC pero menor afinidad que los controles PC1 y PC2.

Figura 5

Imágenes 2D para las interacciones de PC1, PC2, NC, A, C, en el sitio activo de Topoisomerasa IIα de ADN humano





15. Análisis y discusión de resultados:

Las estirilpiridinas trisustituidas fueron sintetizadas mediante una reacción de Kröhnke, por medio de dibenzalacetonas y sales de piridionio de acetofenonas. La síntesis de los compuestos carbonilo α,β-insaturados (dibenzalacetona) se llevó a cabo mediante una reacción de condensación de Claisen-Schmidt, en medio básico.

La serie de análogos de dibenzalacetona sintetizados se obtuvieron con un rendimiento del 80-20 % después de la purificación, pudiendo variar dicho porcentaje debido a las relaciones molares utilizadas o en los procesos de recuperación y purificación, según Mohamed y colaboradores (2019) para obtener compuestos con alto rendimiento utilizando la condensación de Claisen-Schmidt es necesario utilizar relaciones molares de 1:1.5 cetona:aldehído, sin embargo por la distinta naturaleza de los aldehídos que se utilizaron, fue necesario optimizar para cada uno las condiciones.

En el espectro infrarrojo (IR) de los compuestos **1b** y **1c** se observan bandas en 1,646 y 1,647 cm^{-1} como consecuencia de las vibraciones del grupo carbonilo, Hosoya y colaboradores (2011) han reportado las vibraciones para C=O en 1651 cm^{-1} para el compuesto **1b**, si bien existe un margen de diferencia se debe tomar en cuenta el equipo que se utilizó en ambas investigaciones, no obstante se siguen observando las mismas bandas en 1587 y la banca característica para el

estiramiento del enlace C-Cl en 1084. Para el compuesto **1c** se observan las bandas características para el estiramiento del enlace C-Br en 1070, siendo consistente con los datos reportados por Hosoya y colaboradores.

El espectro infrarrojo (IR) de los compuestos **1d** y **1e** exhiben bandas de frecuencia ambos en 1600 cm^{-1}, debido al estiramiento del grupo carbonilo presente en su estructura, así mismo se observa una banda en 1590 y 1588 respectivamente, debido al estiramiento C=C del núcleo bencénico.

Es importante mencionar que en el espectro de **1d** se observa una banda en 1231 cm^{-1} lo cual ha sido reportado anteriormente en estudios síntesis del mismo compuesto como el estiramiento de C-N presente en la estructura, esto según los resultados de Chantrapromma y colaboradores (2016). Así mismo en el espectro de **1e** se logró observar una banda característica a las vibraciones de estiramiento del grupo $-NO_2$ en 1514 cm^{-1}, también una banda en 851 cm^{-1} debido al estiramiento N-O. Estos datos han sido comparados con estudios realizados previamente por Kondhare, Deshmukh y Lade.

Una vez identificados las cetonas α,β-insaturadas (dibenzalacetonas), estas fueron utilizadas para la reacción de Kröhnke utilizando las respectiva sales, se probó la reacción en calentamiento convencional por medio de una plancha de calentamiento, lámpara infrarroja y en horno de microondas, optando finalmente por el horno de microondas (MW) observando que disminuyen los tiempos de reacción comparado con las otras fuentes de energía, un factor importante fue que para que la reacción se llevara a cabo, se necesitó utilizar el horno MW en su opción de energía más intensa. La síntesis de 2,4-diaril-6-(β-fenilvinil)piridinas solamente ha sido reportado por Gupta y colaboradores (1988) utilizando calentamiento durante aproximadamente 11 horas de reacción sin enfocar la posibilidad de uso que podrían tener estos compuestos.

Los espectros (IR-ATR) de los compuestos **3a - 3c** muestran una banda en un rango de 1,493; 1,494; 1,489; 1,486 cm^{-1} si bien dichos compuestos no han sido reportados, es posible observar una banda en 1,487 cm^{-1} en un compuesto análogo 2,4,6-trifenil piridina, esto ha sido reportado por Yan y colaboradores (2013) como una banda de frecuencia debido al enlace C=N presente en la piridina trisustituida.

Es importante mencionar como principal hallazgo la síntesis e identificación de las piridinas trisustituidas puesto que estas no han sido reportadas con un alto grado de caracterización y potencial uso en el diseño de fármacos activos sobre la inhibición de topoisomerasas como objetivo de medicamentos antitumorales.

En el caso del acoplamiento a la topoisomerasa IIα, los resultados sugieren que la actividad biológica de **3a** y **3b** sobre la topoisomerasa IIα podría ser menor que la de los controles positivos pero mayor que la del control negativo. Así mismo, las interacciones con moléculas de agua representaron un componente menor al 1% de la puntuación en los acoplamientos ligante-enzima de todos los compuestos evaluados, esto sugiere que son de baja importancia para el acoplamiento molecular con esta enzima. Finalmente, las interacciones por puentes de hidrógeno representaron un componente pequeño en el caso de los compuestos PC1, PC2 y NC y un componente nulo en el caso de los compuestos sintetizados A y C.

A partir de los resultados del acoplamiento molecular se puede inferir que la actividad biológica de los compuestos sintetizados **3a** y **3b** podría ser menor que la de los compuestos **PC1**, **PC2**, que en la actualidad se utilizan como inhibidores de las enzimas topoisomerasa I y topoisomerasa IIα de ADN humano. Sin embargo, **3a** y **3b** mostraron mayor afinidad por las enzimas que el control negativo coridina, con interacciones específicas interesantes, por lo que, **3a** y **3b** pueden ser utilizados como moléculas base para diseñar y sintetizar compuestos derivados con diferentes sustituyentes polares que incrementen las interacciones con el sitio activo de la enzima para así, favorecer el acoplamiento molecular.

16. Conclusiones

Se desarrolló una metodología para la síntesis de estirilpiridinas trisustituidas utilizando un horno de microondas convencional, con tiempos de reacción relativamente bajos y con rendimientos comparables a los que se obtienen por calentamiento convencional (plancha de calentamiento).

Se obtuvieron los compuestos 3a-3c y 2a en rendimientos de 10-18 % utilizando microondas en un promedio de 10 minutos de reacción, siendo comparable con rendimientos similares en calentamiento convencional por más de 8 horas.

Se observó que los compuestos 3a y 3b muestran cierta afinidad de interacciones de Van der Waals sobre las topoisomerasas I y IIa humanas, pero no superan los controles positivos por medio de anclaje (docking) molecular computacional.

17. Impacto esperado

Se contribuye generando nuevo conocimiento con respecto a la síntesis de estos heterociclos, y la posibilidad de usar herramientas computacionales para proponer nuevos fármacos, así como desarrollar e implementar técnicas de síntesis de heterociclos con potencial bioactividad en el laboratorio de Química Orgánica, lograr vínculo con el laboratorio gubernamental de la SAT.

18. Referencias

Allais, C., Grassot, J. M., Rodriguez, J., y Constantieux, T. (2014). Metal-free multicomponent syntheses of pyridines. *Chemical Reviews* 114(21):10829-10868. doi: 10.1021/cr500099b.

Bailly, C. (2012). Contemporary Challenges in the Design of Topoisomerase II Inhibitors for Cancer Chemotherapy. *Chemical Reviews* 112(7):3611-3640. doi: 10.1021/cr200325f.

Basnet, A.,Thapa, P., Karki, R., Na, Y., Jahng, Y., Jeong, B. S., Jeong, T. C., Lee, T. S. y Lee, E. S. (2007). 2,4,6-Trisubstituted Pyridines: Synthesis, Topoisomerase I and II Inhibitory Activity, Cytotoxicity, and Structure–Activity Relationship. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15(13):4351-4359. doi: 10.1016/j.bmc.2007.04.047.

Behalo, M. S., Amine, M. S., & Fouda, I. M. (2017). Regioselective synthesis, antitumor and antioxidant activities of some 1, 2, 4-triazole derivatives based on 4-phenyl-5-(quinolin-8-yloxy) methyl-4 H-1, 2, 4-triazole-3-thiol. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* 192(4):410-417. doi: 10.1080/10426507.2016.1247087.

Butch, C., Cope, E. D., Pollet, P., Gelbaum, L., Krishnamurthy, R., & Liotta, C. L. (2013). Production of tartrates by cyanide-mediated dimerization of glyoxylate: a potential abiotic pathway to the citric acid cycle. *Journal of the American Chemical Society* 135(36):13440-45. doi: 10.1021/ja405103r.

Chantrapromma, S., Ruanwas, P., Boonnak, N., Chantrapromma, K., & Fun, H. K. (2016). Synthesis, antityrosinase activity of curcumin analogues, and crystal structure of (1E, 4E)-1, 5-bis (4-ethoxyphenyl) penta-1, 4-dien-3-one. *Crystallography Reports*, 61(7), 1081-1085. doi: 10.1134/S1063774516070051

Chauhan, I. S., Rao, G. S., Shankar, J., Chauhan, L. K. S., Kapadia, G. J., & Singh, N. (2018). Chemoprevention of Leishmaniasis: In-vitro antiparasitic activity of dibenzalacetone, a synthetic curcumin analog leads to apoptotic cell death in Leishmania donovani.. *Parasitology International* 67(5):627-636. doi: 10.1016/j.parint.2018.06.004.

Constable, E. C., Housecroft, C. E., Neuburger, M., Poleschak, I., & Zehnder, M. (2003). Functionalised 2, 2′-bipyridine ligands for the preparation of metallostars; X-ray structures of free ligands and preparation of copper (I) and silver (I) complexes. *1982-2002. 21 Years of Polyhedron: a Celebration* 22(1):93-108. doi: 10.1016/S0277-5387(02)01310-4.

Cotterill, I. C., Usyatinsky, A. Y., Arnold, J. M., Clark, D. S., Dordick, J. S., Michels, P. C., & Khmelnitsky, Y. L. (1998). Microwave assisted combinatorial chemistry synthesis of substituted pyridines. *Tetrahedron Letters* 39(10):1117-20. doi: 10.1016/S0040-4039(97)10796-1.

Cragg, G. M., y Newman, D. J. (2004). A Tale of Two Tumor Targets: Topoisomerase I and Tubulin. The Wall and Wani Contribution to Cancer Chemotherapy. *Journal of Natural Products* 67(2):232-44. doi: 10.1021/np030420c.

Dobbin, L. (1934). The story of the formula for pyridine. *Journal of Chemical Education* 11(11):596. doi: 10.1021/ed011p596.

Duffy, C. D., Maderna, P., McCarthy, C., Loscher, C. E., Godson, C., y Guiry, P. J. (2010). Synthesis and Biological Evaluation of Pyridine-Containing Lipoxin A_4 Analogues. *ChemMedChem*, 5(4), 517–522. doi:10.1002/cmdc.200900533

Faghihi, K., Hajibeygi, M., & Shabanian, M. (2010). Novel thermally stable poly (amide-imide)s containing dibenzalacetone moiety in the main chain: Synthesis and characterization. *Macromolecular Research* 18(5):421-28. doi: 10.1007/s13233-010-0511-3.

Gupta, K. C., Manglum, P. y Saxena, B. K. (1988) Synthesis of Some New 2,4-Diaryl-6-(□-phenylvinyl)pyridine via Phenacylpyridinium Bromides. *Journal of Chemistry and Engineering Data. 33*(3), 390-391

Hosoya, T., Nakata, A., Yamasaki, F., Abas, F., Shaari, K., Lajis, N. H., & Morita, H. (2011). Curcumin-like diarylpentanoid analogues as melanogenesis inhibitors. *Journal of Natural Medicines*, 66(1), 166-176. doi:10.1007/s11418-011-0568-0

Kondhare, D., Deshmukh, S., y Lade, H. (2019). Curcumin Analogues with Aldose Reductase Inhibitory Activity: Synthesis, Biological Evaluation, and Molecular Docking. *Processes,* 7(7):417. doi:10.3390/pr7070417

Kuang, J., Parveen, S., & Breit, B. (2017). Rhodium□Catalyzed Regioselective Domino Azlactone–Alkyne Coupling/Aza□Cope Rearrangement: Facile Access to 2□Allyl□3□oxazolin□5□ones and Trisubstituted Pyridines. *Angewandte Chemie* 129(29):8542-45. doi: 10.1002/ange.201704022.

Li, J., He, P., & Yu, C. (2012). DPTA-catalyzed one-pot regioselective synthesis of polysubstituted pyridines and 1, 4-dihydropyridines. *Tetrahedron* 68(22):4138-44. doi: 10.1016/j.tet.2012.03.104.

Miller, R. G., y Brooker, S. (2015). Spin crossover, reversible redox, and supramolecular interactions in 3d complexes of 4-(4-pyridyl)-2, 5-dipyrazyl-pyridine. *Inorganic Chemistry*, 54(11), 5398-5409. doi: 10.1021/acs.inorgchem.5b00428.

Mohamed, S. M., Mohamed, A. S., Galal, M., Z. (2019) Synthesis and Study on Biological Effect of The (1E,4E)-1,5- bis (4-nitrophenyl) penta-1,4-dien-3-one. *Journal of Humanitarian and Applied Sciences.*

Moura, N. M., Mariz, I. F., Cavaleiro, J. A., Silva, A. M., Lodeiro, C., Martinho, J. M., Maçôas, E. M. y Neves, M. G. (2018). Porphyrin-Oligopyridine Triads: Synthesis and Optical Properties. *The Journal of organic chemistry*, 83(9), 5282-5287. doi: 10.1021/acs.joc.8b00208.

Mouradzadegun, A., Mostafavi, M. A., y Ganjali, M. R. (2019). A Facile and Green Synthesis of 2, 4, 6-Triarylpyridine Derivatives Using the Modified Mesoporous Organic Polymer Based on Calix [4] Resorcinarene: As an Efficient and Reusable Heterogeneous Acidic Catalyst. *Kinetics and Catalysis*, 60(2), 187-195. doi: 10.1134/S0023158419020071.

O'Hagan, D. (2000). Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids. *Natural product reports*, 17(5), 435-446. doi: 10.1039/A707613D.

Park, C. H., Kwon, Y. J., Oh, I. Y., y Kim, W. S. (2017). Synthesis of Trisubstituted Pyridines via Chemoselective Suzuki–Miyaura Coupling of 3, 5□and 4, 6□Dibromo□2□tosyloxypyridines. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 359(1), 107-119. doi: 10.1002/adsc.201600950.

Park, S,Magar, T. B.T., Kadayat, T. M., Lee, H. J., Bist, G., Shrestha, A., Lee, E. S. y Kwon, Y. (2017). Rational design, synthesis, and evaluation of novel 2,4-Chloro- and Hydroxy-Substituted diphenyl Benzofuro[3,2-b]Pyridines: Non-intercalative catalytic

topoisomerase I and II dual inhibitor. *European Journal of Medicinal Chemistry* 127:318-33. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.01.003.

Sagi, V. N., Punna, V., Hu, F., Meher, G., y Krishnamurthy, R. (2012). Exploratory experiments on the chemistry of the "glyoxylate scenario": formation of ketosugars from dihydroxyfumarate. *Journal of the American Chemical Society*, 134(7), 3577-3589. doi: 10.1021/ja211383c.

Sasaki, C. (2016). Recent uses of kröhnke methodology: a short survey. *Synthesis*, 48(13), 1974-1992. doi: 10.1055/s-0035-1561974.

Singh, P., Anand, A., y Kumar, V. (2014). Recent developments in biological activities of chalcones: a mini review. *European journal of medicinal chemistry*, 85, 758-777. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.08.033.

Soro, B., Stoccoro, S., Minghetti, G., Zucca, A., Cinellu, M. A., Manassero, M., y Gladiali, S. (2006). The first pincer-aryl [M–(NCN)] complexes {M= Pd (II); Pt (II)} with chiral pyridine donors: Synthesis and catalytic activity in C–C bond formation. *Inorganica chimica acta*, 359(6), 1879-1888. doi: 10.1016/j.ica.2005.07.045.

Trejo-Soto, P. J., Hernández-Campos A., Romo-Mancillas A., Medina-Franco J. L., y Castillo R. (2018). In search of AKT kinase inhibitors as anticancer agents: structure-based design, docking, and molecular dynamics studies of 2,4,6-trisubstituted pyridines. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 36(2):423-42. doi: 10.1080/07391102.2017.1285724.

Thomsen, R., & Christensen, M. H. (2006). MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, *49*(11), 3315-3321. doi:10.1021/jm051197e

Tu, S., Li, T., Shi, F., Fang, F., Zhu, S., Wei, X., y Zong, Z. (2005). An efficient improve for the kröhnke reaction: one-pot synthesis of 2, 4, 6-triarylpyridines using raw materials under microwave irradiation. *Chemistry letters*, 34(5), 732-733. doi: 10.1246/cl.2005.732

Vacher, B., Bonnaud, B., Funes, P., Jubault, N., Koek, W., Assié, M.B., y Kleven, M. (1999). Novel Derivatives of 2-Pyridinemethylamine as Selective, Potent, and Orally Active Agonists at 5-HT1AReceptors. *Journal of Medicinal Chemistry,* 42(9), 1648-1660. doi:10.1021/jm9806906

Wu, D., Shao, T., Men, J., Chen, X., & Gao, G. (2014). Superaromatic terpyridines based on corannulene responsive to metal ions. *Dalton Transactions*, 43(4), 1753-1761. doi: 10.1039/C3DT52013G.

Yang, C.-M., Lee, I.-W., Chen, T.-L., Chien, W.-L., y Hong, J.-L. (2013). Enhanced emission of organic and polymeric luminogens containing 2,4,6-triphenylpyridine moieties: crystallization- and aggregation-enhanced emission. *Journal of Materials Chemistry C*, 1(16), 2842. doi:10.1039/C3TC00851G

Zhao, L. X., Moon Y. S., Basnet, A., Kim, E. K., Jahng, Y., Park, J. G., Jeong, T. C., Cho, W. J., Choi, S. U., Lee, C. O., Lee, S. Y., Lee, C. S., y Lee, E. S. (2004). Synthesis, Topoisomerase I Inhibition and Structure-Activity Relationship Study of 2,4,6-Trisubstituted Pyridine Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14(5):1333-37. doi: 10.1016/j.bmcl.2003.11.084.

Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., y Miao, Z. (2017). Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. Chemical reviews, 117(12), 7762-7810. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00020.

.

19. Apéndice

Listado de los integrantes del equipo de investigación

Contratados por contraparte y colaboradores

Nombre	Firma
Dr. Byron José López Mayorga	
Dr. Abraham Vásquez Mencos	
Lic. Carlos Enrique Torres Méndez	
Br. Francisco Letona Overdick	

Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago		Firma
			SI	NO	
Br. Fabiola Elizabeth Arévalo Herrera	Auxiliar de Investigación I	20300607	X		

Guatemala 25 de febrero de 2021

Dr. Byron José López Mayorga
Proyecto de Investigación

Dra. Hilda Valencia de Abril
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

REF.IIQB.63.02.2021
Guatemala, 25 de febrero del 2021

Señor Director
Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

Señor Director:

Con un cordial saludo me dirijo a usted para adjuntar el informe final del proyecto: **"Síntesis de nuevos fragmentos de piridinas trisustituidas y su evaluación en actividad antitumoral"** con código B26-2020, **coordinado por el Dr. Byron José López Mayorga** y avalado por el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado con base en la guía de presentación de la Dirección General de Investigación, el cual fue revisado su contenido en función del protocolo aprobado, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente.

Asimismo, el coordinador del proyecto, se compromete a dar seguimiento y cumplir con el proceso de revisión y edición establecido por DIGI del **informe final y del manuscrito científico.** El manuscrito científico debe enviarse, por el coordinador del proyecto, para publicación, al menos, en una revista de acceso abierto (*Open Access*) indexada y arbitrada por expertos en el tema investigado.

Sin otro particular, suscribo atentamente.

"Id y enseñad a todos"

Dr. Byron José López Mayorga
Coordinador del Proyecto

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA
DIRECCION
USAC

Dra. María Eunice Enríquez Cottón
Directora
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

c.c. archivo
MEEC/tvch.