



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

“Síntesis y evaluación citotóxica de nuevos selenoimidatos”

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

QFB. Octavio Martínez Pérez

Tutor: Dr. José Guadalupe López Cortés
Instituto de Química, UNAM

H. Jurado

Dra. Verónica García Montalvo, Instituto de Química. UNAM
Dr. José Alfredo Vázquez Martínez, Facultad de Química. UNAM
Dr. Francisco Hernández Luis, Facultad de Química. UNAM
Dr. Erick Cuevas Yáñez, Universidad Aut. del Edo. De México
Dra. Elizabeth Gómez Pérez, Instituto de Química. UNAM

México, D. F. Septiembre 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS QUÍMICAS**

“Síntesis y evaluación citotóxica de nuevos selenoimidatos”

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

QFB. Octavio Martínez Pérez



TUTOR: Dr. José G. López Cortés

AÑO: 2015

H. Jurado

Presidente	Dra. Verónica García Moltalvo
Vocal	Dr. José Alfredo Vázquez Martínez
Vocal	Dr. Francisco Hernández Luis
Vocal	Dr. Erick Cuevas Yáñez
Secretario	Dra. Elizabeth Gómez Pérez

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Inorgánica 4 del Instituto de Química de la UNAM, bajo la asesoría del Dr. José Guadalupe López Cortés.

Parte de los resultados reportados en este trabajo fueron presentados en los siguientes eventos científicos:

- 5º Congreso de Alumnos de posgrado, realizado en la Unidad de Posgrado de la UNAM, Ciudad Universitaria, del 23 al 25 de marzo del 2015.
- XI reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, realizado en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, del 25 al 27 de marzo del 2015.
- Actividad Académica “QuimiUNAM”, realizada en el auditorio “Alfonso Caso” de la UNAM, Ciudad Universitaria, del 22 al 24 de abril de 2015
- Simposio interno del Instituto de Química, realizado en el Instituto de Química de la UNAM, Ciudad Universitaria, del 8 al 10 de Junio el 2015.

A mi amada familia

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría

(No. de Becario: 295832)

A la DGAPA-PAPIIT IN205014 y al proyecto de CONACYT (153310)

Por el apoyo otorgado al proyecto de investigación

A los miembros del H. Jurado

Por sus valiosas aportaciones para la mejora de este trabajo

A los técnicos de IR, EM, RMN y pruebas biológicas

Luis velasco, Javier Pérez, Rocío Patiño, María Teresa Ramírez Apan y Antonio Nieto Camacho

Al Dr. José Guadalupe López Cortés

Por la formidable tutoría para la realización de este proyecto, por sus constantes enseñanzas y oportunos consejos. Gracias por la confianza que ha tenido en mi.

A la Dra. María del Carmen Ortega Alfaro

Por todo el apoyo y las valiosas contribuciones para la mejora de este trabajo

Al M. en C. Alejandro I. Gutiérrez Hernández

Por su apoyo y dedicación a lo largo de este proyecto de investigación, por todos los buenos momentos dentro y fuera del laboratorio

A todos mis amigos y compañeros de Maestría

Por su apoyo y por los buenos momentos que pasamos en el laboratorio. Por haber compartido tantas experiencias.

A mis padres y hermanas

Porque en cada paso siempre está su apoyo incondicional y la motivación para seguir creciendo juntos

Índice

I. Introducción	6
II. Antecedentes	7
III. Objetivos	20
IV. Resultados y Discusión	21
V. Conclusiones	58
VI. Parte Experimental.....	60

I. Introducción

La investigación de nuevas moléculas con probable utilidad terapéutica se enriquece por la inclusión de elementos que confieren propiedades únicas. Las moléculas que contienen selenio en su estructura han mostrado interesantes aplicaciones como agentes antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, anticonvulsivantes y anticancerígenos.

Estas propiedades se observan en los compuestos organoselenados, que han confirmado una notable habilidad para regular múltiples funciones fisiológicas involucradas en el desarrollo y procesos de señalización relacionados al estrés oxidante y ciclo celular, de tal forma que se consideran como excelentes candidatos para evaluación como agentes antiproliferativos y proapoptóticos.

Recientemente, nuestro grupo de investigación ha impulsado la investigación en el desarrollo de selenoamidas con actividad citotóxica. Como resultado se han consolidado a las selenoamidas como nuevas moléculas prototipos para la inhibición del crecimiento de diversas líneas celulares cancerosas humanas.

Teniendo en consideración las aplicaciones y hallazgos alrededor del selenio y en particular de las selenoamidas, nos hemos ocupado en el diseño estructural, síntesis y evaluación biológica de una nueva clase de compuestos organoselenados, los selenoimidatos. Se pretende que una modificación del grupo funcional selenoamida a selenoimidato confiera un incremento en la actividad citotóxica.

Es importante resaltar que los Selenoimidatos no han sido sometidos previamente a evaluación de su potencial actividad biológica, por lo tanto en este estudio se evalúa su efectividad como agentes potencialmente citotóxicos frente a un grupo de líneas celulares cancerosas como glía de sistema nervioso central, cáncer de próstata, pulmón, colon, mama y leucemia.

II. Antecedentes

2.1 Carbenos Metálicos

La combinación formal de un carbeno y un fragmento organometálico produce complejos carbénicos. Comúnmente son clasificados como complejos tipo Fischer o tipo Schrock. Los complejos tipo Schrock tienen un lugar importante en la metatesis de olefinas,¹ mientras que los complejos carbénicos de tipo Fischer se han desarrollado como sustratos de una amplia gama de reacciones enfocadas a la síntesis orgánica.²

Los carbenos han sido interesantes en la química orgánica desde la primera evidencia firme de su existencia. Estos intermediarios estables fueron introducidos en la química orgánica por Doering y Hoffmann en 1950³ y en la química organometálica por Fischer y Maasböl en 1960.⁴

2.1.1 Carbenos de Fischer

Los Carbenos de Fischer sobre los que existe un conocimiento sustancial son aquellos cuyo metal forma parte del del grupo VI en la tabla periódica. Poseen especial atención los complejos de cromo, la cual esta en función del balance entre reactividad, estabilidad y su fácil accesibilidad, por lo que son los miembros más prominentes de esta familia (**Figura 1**) y se afirman con el más extenso número de aplicaciones.⁵

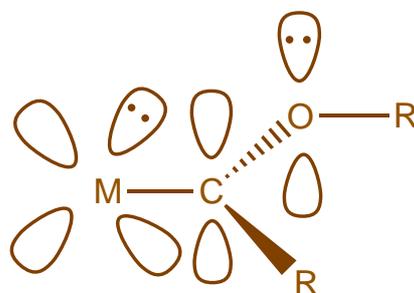


Figura 1. Carbeno Tipo Fischer

2.1.2 Preparación de los Carbenos de Fischer

La ruta original, y más general, para la obtención de los carbenos metálicos de Fischer involucra la adición en secuencia de un carbono nucleófilo y un carbono electrófilo presente en forma de ligante carbonilo coordinado al metal (**Esquema 1**). La adición de un reactivo organolitado al Hexacarbonilo de

¹ Schrock, R. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3760.

² Dötz, K. H.; Stendel, J. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 3227.

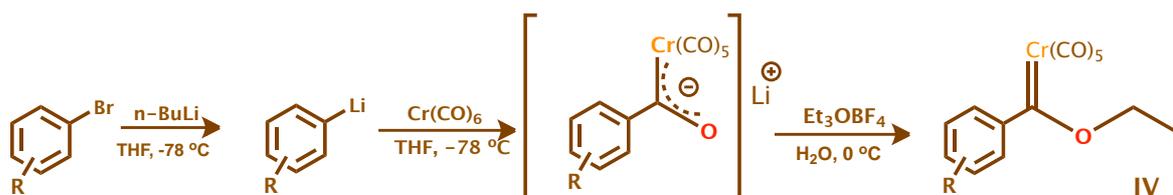
³ Doering, W.; Hoffmann, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 6162.

⁴ Fischer, E. O.; Maasböl, A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1964**, 3, 580.

⁵ Herndon, J. W. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 86.

Cromo produce acilmetalatos que experimentan una *o*-alquilación *in situ* por agentes alquilantes duros como tetrafluoroboratos de trialquiloxonio para formar los complejos alcoxycarbenos.

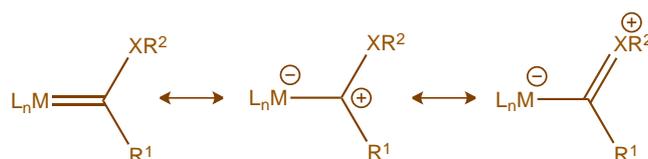
Actualmente, en nuestro grupo de investigación se han implementado algunas modificaciones al método clásico de Fischer para la obtención de carbenos, que entre otras características, ha llevado al incremento en el rendimiento de reacción, disminución en el tiempo de reacción y principalmente a la diversificación estructural para este tipo de complejos.⁶



Esquema 1 Síntesis de etoxicarbenos de Fischer

2.1.3 Reactividad de los Carbenos de Fischer

Los Carbenos metálicos tipo Fischer usualmente contienen un metal de transición en bajo estado de oxidación, en un fragmento organometálico cuya esfera de coordinación contiene ligantes con buenas propiedades π aceptoras (comunmente, $C \equiv O$). El átomo de carbono carbénico representa un centro fuertemente electrofílico, el cual es estabilizado por donación π de los heteroátomos (O ó N), este comportamiento conduce a la predicción de estructuras mesoméricas de los complejos carbénicos de Fischer (**Esquema 2**).



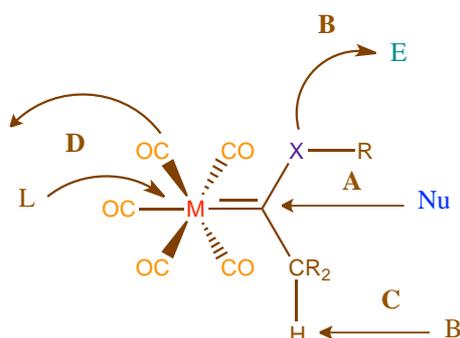
M: Cr, Mo, W; X: O, NR'

Esquema 2. Formas resonantes para un Carbeno tipo Fischer

Los sitios reactivos de complejos alquilcarbénicos se ilustran en la **Figura 2**. La electrofilicidad del átomo de carbono carbénico favorece el ataque de nucleófilos de carbono y heteroátomos (**A**). Los electrófilos se pueden adicionar al heteroátomo sustituyente del carbeno (**B**). La desprotonación en carbono alfa empleando bases fuertes genera carbenos metálicos aniónicos, que pueden ser utilizados como nucleófilos (**C**); por último, los ligantes carbonilo

⁶ López-Cortés, J. G.; Contreras-de la Cruz, L. F.; Ortega-Alfaro, M. C.; Toscano, R. A.; Alvarez-Toledano, C.; Rudler, H. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 2229.

experimentan sustitución, por otro tipo de ligantes, de forma térmica o fotoquímica (D).



M = Cr, Mo, W

Figura 2. Reactividad típica de los complejos Alquilarbenos del Grupo 6

2.1.4 Desmetalación de carbenos de Fischer

El potencial sintético del complejo carbénico se ve incrementado por la escisión del fragmento organometálico. Entre las reacciones que permiten llevar a cabo este desprendimiento del metal y su esfera de coordinación, son mediante reacciones de desmetalación oxidativa,⁷ reductiva,⁸ o basada en el intercambio de ligante.⁹ Los métodos más comunes para remover al metal se basan en la ruptura oxidativa del enlace metal-carbeno, reemplazando el fragmento metal-pentacarbonilo por un átomo de oxígeno.

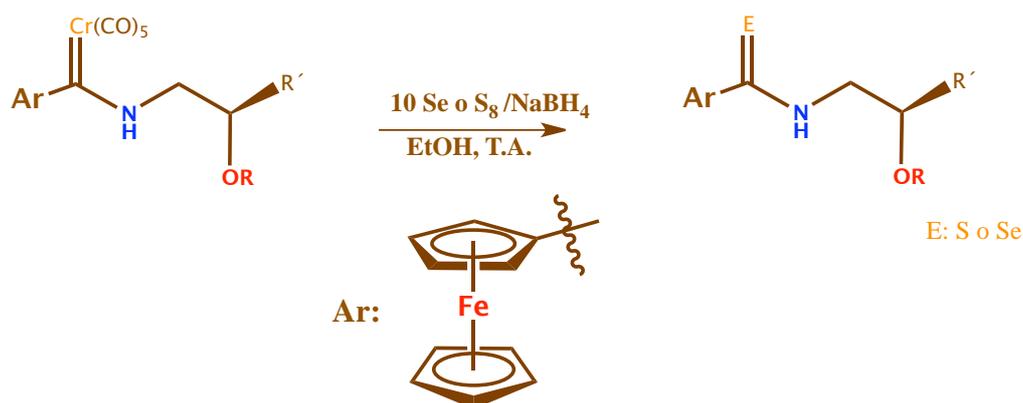
Con fundamento en las metodologías para la demetalación, en nuestro equipo de trabajo, se implementó un método para la desmetalación de los carbenos de Fischer con la obtención de tionoésteres, tioamidas,¹⁰ y recientemente se extendió el método para sintetizar selenoamidas.⁵⁷ Este método consiste en la desmetalación sulfurativa o seleniurativa de diferentes ferrocenilcarbenos empleando una mezcla de S₈ ó Se y NaBH₄ como agente calcogenante (**Esquema 3**).

⁷ Wulff, W. D.; Yang, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 6726

⁸ a) Casey, C. P.; Newmann, S. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*,1651. b) Baldoli, C.; del Buttero, P.; Licandro, E.; Maiorana, S.; Papagni, A.; Zanotti-Gerosa, A.; *Synlett*, **1994**, 677. c) Barluenga, J.; Granados, A.; Rodríguez, F.; Vadecar, J.; Fañanás, F. J. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *38*, 6465.

⁹ a) Casey, C. P.; Boggs, R. A.; Anderson, R. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *94*, 8947. b) Casey, C. P.; Burkhardt, T. J.; Bunnell, C. A.; Calabrese, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2127.

¹⁰ Sandoval-Chávez, C; López-Cortés, J.G.; Gutiérrez-Hernández, A. I.; Ortega-Alfaro, M. C.; Toscano, R. C.; Álvarez-Toledano, C. *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*, 3692.



Esquema 3. Desmetalación calcogenante

2.2 Selenio

El Selenio es un elemento del grupo principal que fue reconocido por primera vez en 1817 por Berzelius. Inicialmente se consideró como un sinónimo de veneno, pero esto cambió cuando se identificó su presencia en el sitio activo de proteínas en bacterias, mamíferos y aves. Los compuestos con selenio han resultado útiles en la industria, cerámicas, celdas fotoeléctricas, incluso en xerografía y también en agricultura.

Durante las últimas décadas los compuestos organoselenados son vistos como reactivos importantes en la síntesis orgánica ya que el selenio puede ser introducido en entidades orgánicas como un electrófilo, un nucleófilo. Una vez incorporado, puede ser directamente convertido en una gran variedad de grupos funcionales.

2.2.1 Compuestos organoselenados

A pesar de que el primer compuesto organoselenado fue preparado por Wohler en 1847,¹¹ no suscitó gran interés en la comunidad científica por mucho tiempo, sin embargo, tan sólo en las últimas 2 décadas, la química orgánica de selenio ha experimentado una expansión hacia nuevos campos en la química.

Esta expansión se observa como un incremento impresionante en el número de publicaciones dedicadas a la preparación de compuestos organoselenados, en el estudio de sus propiedades químicas y biológicas y en el desarrollo de las aplicaciones de estos compuestos en diversas áreas de la química.

Los compuestos organoselenados abarcan un campo de investigación amplio y diverso en los que se incorporan un gran número de áreas en la química que van desde polímeros,¹² síntesis asimétrica con ligantes quirales,¹³ síntesis

¹¹ Wöhler, F.; Siemens, C.; *Ann. Chem.* **1847**, 6, 360

¹² a) Nicolaou, K. C.; Pastor, J.; Barluenga, S.; Winssinger, N. *Chem. Comm.* **1998**, 63, 9204. b) Uehlin, L.; Wirth, T. *J. Org. Chem.* **2001**, 3, 2931.

orgánica,¹⁴ materiales conductores¹⁵ y semiconductores,¹⁶ química de coordinación,¹⁷ catálisis,¹⁸ en la química biológica¹⁹ y en farmacia.²⁰

Para los propósitos de este trabajo y para reforzar la importancia de los compuestos organoselenados, se dió a la tarea de investigar las aplicaciones de estos compuestos en el marco de la química farmacéutica.

El selenio es un micronutriente esencial para los sistemas biológicos en humanos y mamíferos. Se encuentra incorporado en forma del aminoácido 21, selenocisteína, en enzimas que participan en el sistema de regulación antioxidante, crecimiento celular, apoptosis y mecanismos inmunológicos como la enzima glutatión peroxidasa (GPx), tioredoxina reductasa (TrxR), Iodotironin 5'-desiodinasas, selenoproteína P plasmática y la selenoproteína W muscular.²¹ (**Figura 3**)

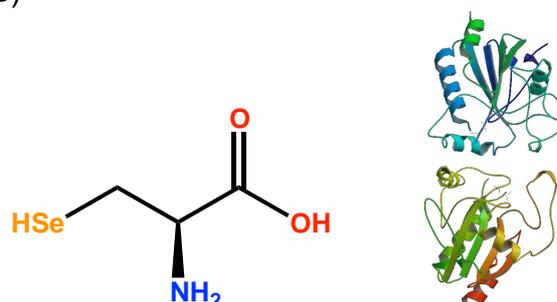


Figura 3. Selenocisteína y representación de la Enzima GPx

Se ha confirmado que la presencia de selenio en este gran número de biomoléculas es clave para el desarrollo de sus funciones, gracias a sus propiedades redox y se han dedicado innumerables estudios a la evaluación biológica de moléculas que contienen selenio que puedan ejercer alguna actividad interesante en sistemas biológicos.

¹³ a) Godoy, M.; Paixao M. W.; Braga, A. L. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 11347. b) Marini, F.; Sternativo, S. *Synlett*, **2013**, 24

¹⁴ a) Freudendahl, D. M.; Santoro, S.; Shahzad, S. A.; Santi, C.; Wirth, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 8409. b) Wirth, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3741. c) Beletskaya, L. P.; Ananikov, V. P. *Chem Rev.* **2011**, 111, 1596.

¹⁵ Bryce, M. R. *Chem. Soc. Rev.* **1991**, 20, 355

¹⁶ Kanatzidis, M. G.; Huang, S. *Coord. Chem. Rev.* **1994**, 130, 509.

¹⁷ a) Panda, A. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 1056. b) Ghavales, N.; Dey, S.; Wadawale, A.; Jain, V. K. *Organometallics*. **2008**, 27, 3297.

¹⁸ Kumar, A.; Rao, G. K.; Saleem, F.; Singh, A. K. *Dalton Trans.* **2012**, 41, 11949

¹⁹ Yoshida, S.; Kumakura, F.; Komatsu, I.; Arai, K.; Onuma, Y.; Hojo, H.; Singh, B. G.; Priyadarsini, K. I.; Iwaoka, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 2125.

²⁰ Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 6255

²¹ a) Arthur, J. R.; Nicol, F.; Beckett, G. J. *J. Biochem.* **1990**, 272, 537. b) Davey, J. C.; Becker, K.B.; Schenider, M. J.; St.Germain, D. L.; Gaton, V. A. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 26786. c) Tamura, T.; Stadtman, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93 (1996) 1006. d) Åkesson, B.; Bellow, T.; Burk, R. *Biochim. Biophys. Acta.* **1994**, 1204, 243. e) Vendeland, S.; Beilstein, M.; Yeh, J.; Ream, W.; Whanger, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92 (1995) 8749.

Dentro de las actividades biológicas más importantes que se han publicado para compuestos organoselenados se encuentran, la antibacteriana,²² antiparasitaria,²³ anticonvulsivante,²⁴ e incluso como ligante para liberación de complejos de zinc que ejercen actividad hipoglucemiante de forma sinérgica.²⁵ (Figura 4)

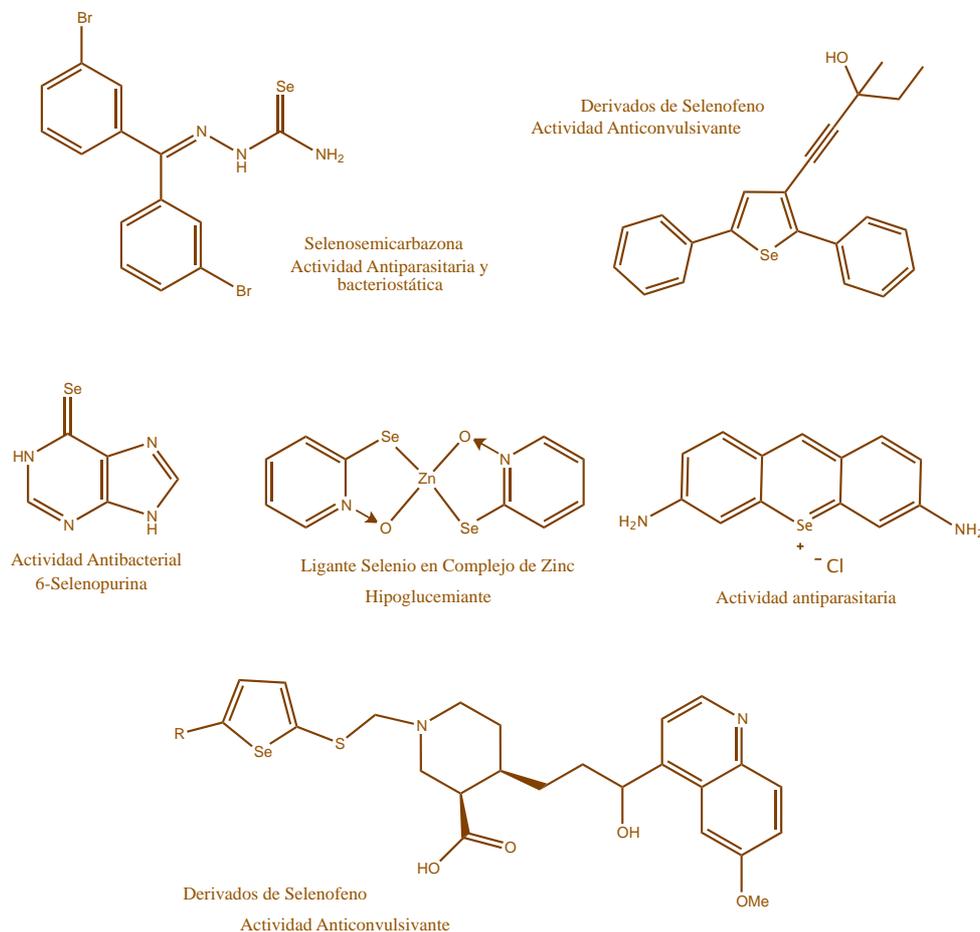


Figura 4. Compuestos organoselenados con distintas actividades biológicas

Es notable el interés en los compuestos de selenio, en particular para evaluar sus propiedades como agentes antioxidantes. De forma natural, el átomo de selenio se encuentra involucrado en las rutas bioquímicas cuya función es mantener el balance entre las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS respectivamente) y las defensas antioxidantes naturales. La disrupción

²² a) Radhakrishna, P. M.; Sharadamma, K. C.; Vagdevi, H. M.; Abhilekha, P. M.; Mubeen, S.; Nischal, K. *Int. J. Chem.* **2010**, 2, 149. b) Wiles, J. A.; Phadke, A. S.; Bradbury, B. J.; Pucci, M. J.; Thanassi, J. A.; Deshpande, M. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 3418.

²³ Pizzo, C.; Faral-Tello, P.; Salinas, G.; Fló, M.; Robello, C.; Wipf, P.; Mahler, S. G. *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 362

²⁴ Wilhelm, E. A.; Jesse, C. R.; Bortolatto, C. F.; Nogueira, C. W.; Savegnago, L. *Brain Res. Bull.* **2009**, 79, 281.

²⁵ Fujimoto, S.; Yasui, H.; Yoshikawa, Y. *J. Inorg. Biochem.* **2013**, 121, 10.

de este balance y la acumulación de las ROS/RNS conduce a un estado conocido como estrés oxidativo.²⁶

El estrés oxidativo en las células está asociado con el desarrollo de inflamación crónica y como resultado también produce enfermedades cardiovasculares, desórdenes neurodegenerativos como Alzheimer²⁷ y también Cáncer.²⁸

Esta característica ha marcado la pauta para su aplicación en el diseño, síntesis y desarrollo de moléculas antioxidantes. Se han sintetizado pseudopéptidos de selenio para su evaluación peptidomimética,²⁹ derivados organoselenados con un fragmento nicotinoilo y su actividad mimética de la GPx y como secuestradores de radicales libres,³⁰ también se ha intercambiado un fragmento pirimidilo,³¹ se ha evaluado la actividad antioxidante de grupos de selenocarbamatos, selenoureas y selenohidantoínas,³² derivados de Selenacephem como antioxidantes,³³ selenoaminas y su capacidad para mimetizar enzimas antioxidantes,³⁴ selenoesteres de azúcares³⁵ y un número increíblemente alto de nuevos derivados de selenio que están en búsqueda de una actividad antioxidante única, la cual es en su mayoría, mimetizar a la enzima GPx. (Figura 5)

²⁶ Kohen, R.; Nyska, A. *Toxicol. Pathol.* **2002**, *30*, 620.

²⁷ Butterfield, D. A.; Perluigi, M.; Sultana, R. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *545*, 39.

²⁸ Grek, C. L.; Tew, K. D. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2010**, *10*, 362.

²⁹ Shaaban, S.; Sasse, F.; Burkholz, T.; Jacob, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 3610.

³⁰ Parashiva, P.; Phadnis, P.; Wadawale, A.; Priyadarsini, K.; Jain, V. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *713*, 42.

³¹ Hodage, A.; Parashiva, C.; Phadnis, P.; Wadawale, A.; Priyadarsini, K.; Jain, V. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *720*, 19.

³² Merino-Montiel, P.; Maza, S.; Martos, S.; López, O.; Maya, I.; Fernández-Bolaños, J. *Eur. J. Pharma. Sci.* **2013**, *48*, 582.

³³ Terazawa, R.; Garud, D.; Hamada, N.; Fujita, Y.; Itoh, T.; Nozawa, Y.; Nakane, K.; Deguchi, T.; Koketsu, M.; Ito, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7001.

³⁴ De Sousa, A.; Terra, S.; Salman, S.; Martini, A.; Schwab, R.; Braga, A.; de Vargas, N.; Rocha, J. *Mol. Cell. Biochem.* **2012**, *365*, 85.

³⁵ Guo, P.; Zhao, P.; Liu, J.; Ma, H.; Bai, J.; Cao, Y.; Liu, Y.; He, H.; Qi, C. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *151*, 301.

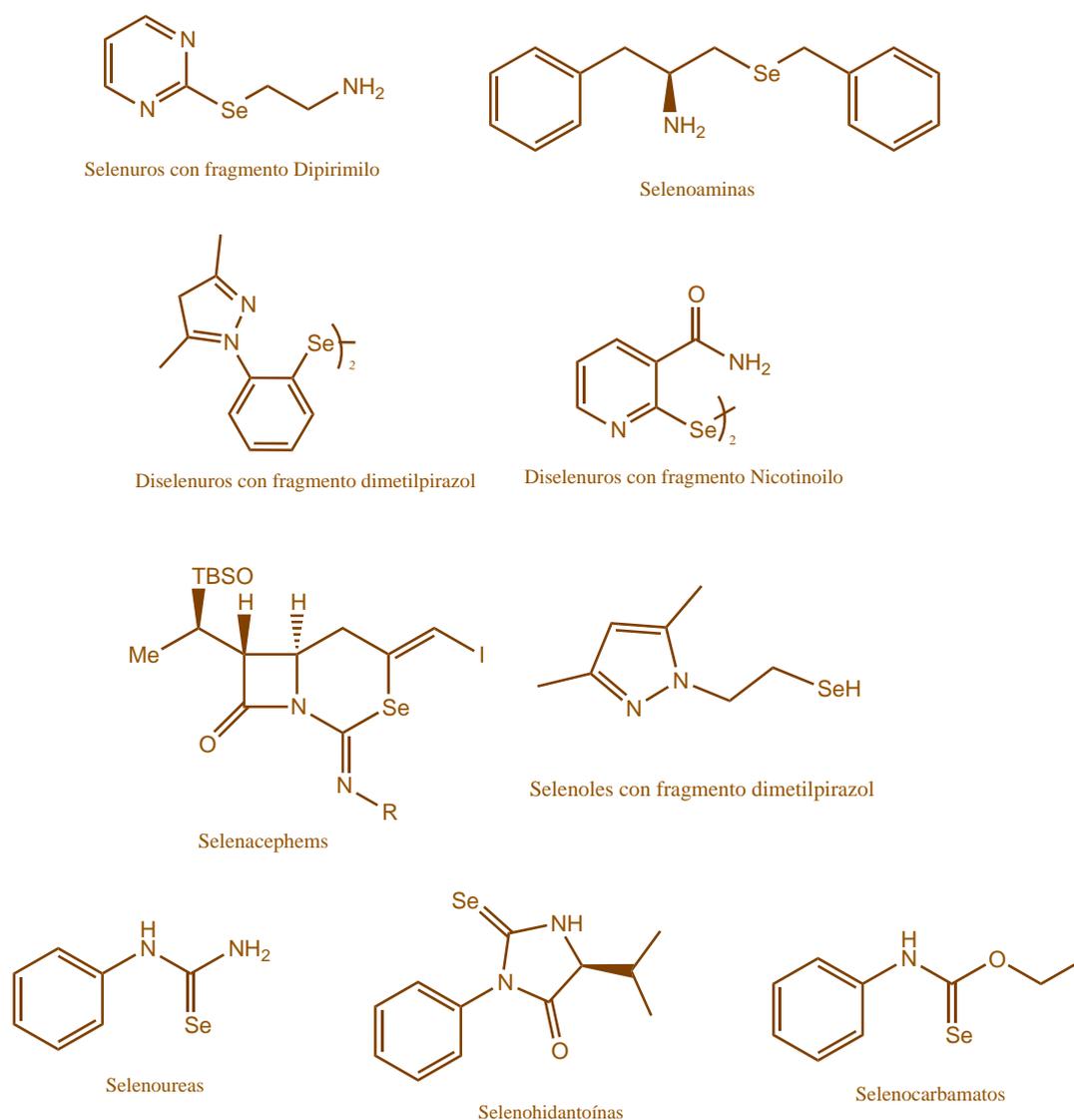


Figura 5. Compuestos organoselenados con actividad antioxidante

La búsqueda de moléculas antioxidantes, también ha dirigido la evaluación biológica de los compuestos organoselenados como entidades anticancerígenas.

El Ebselen (2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3-(2H)-ona) **Figura 6**, el primer compuesto con actividad mimética de la GPx,³⁶ también demostró inhibir la acción de diversas enzimas involucradas en ciertos procesos de señalización para el desarrollo del cáncer, como lo son las ciclooxigenasas, lipooxigenasas e indoleamina-2,3-deoxigenasas.³⁷ En consecuencia, se introdujo a los compuestos de Selenio en la categoría de potenciales agentes anticancerígenos y ahora son motivo de investigación en esta área.

³⁶ Müller, A.; Cadenas, E.; Graf, P.; Sies, H. *Biochem. Pharmacol.* **1984**, *33*, 3235.

³⁷ a) Maiorino, M.; Roveri, A.; Coassin, M.; Ursini, F. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 2267. b) Miorelli, S.; Rosa, R.; Moura, D.; Rocha, J.; Lobo, L.; Henriques, J.; Saffi, J. *Mutagenesis*. **2008**, *23*, 93. c) Terentis, A.; Freewan, M.; Sempertegui, T.; Rafery, M.; Stocker, R.; Thomas, S. *Biochemistry*. **2010**, *49*, 591.

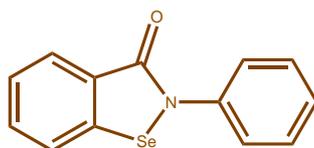


Figura 6. Ebselen

A partir del éxito de Ebselen, se incursionó en la diversificación de moléculas buscando incrementar la potencia, selectividad o descubrir su vía de acción. Se sintetizó un análogo llamado Ethaselen (un dimero de benzoisosenazol),³⁸ otro grupo de compuestos fueron los azúcares de benzoisosenazoles, de los que se descubrió su propiedad como antiproliferativos y antimetastásicos por inhibición de factores angiogénicos.³⁹ También se han sintetizado selenoésteres de sucrosa como agentes anticancerígenos,³⁵ compuestos peptidomiméticos,²⁹ e incluso se ha evaluado la actividad de un bioisostero de la cafeína, la 6-Selenocafeína (**Figura 7**).³⁹

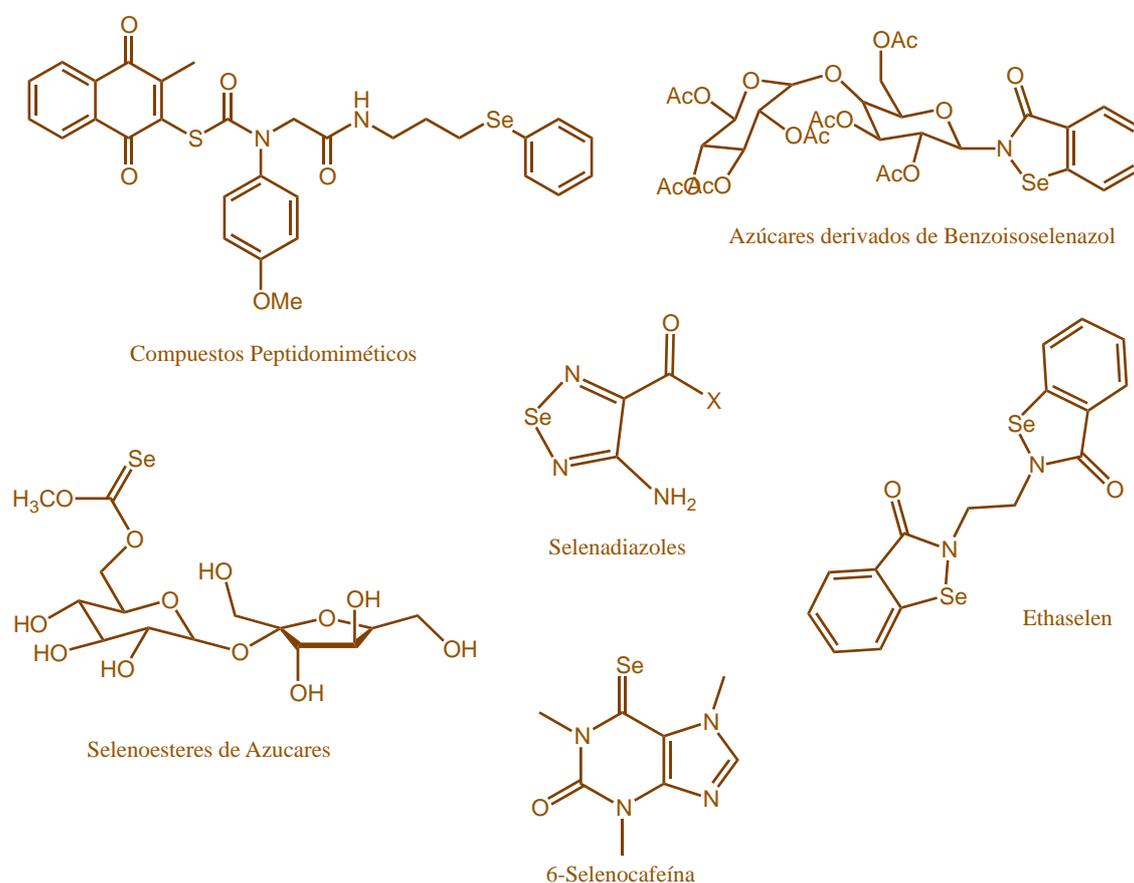


Figura 7. Compuestos organoselenados con actividad Anticancerígena

La habilidad de los compuestos organoselenados para inhibir la progresión del cáncer, se debe a la actividad antiproliferativa o efectos proapoptóticos sobre un amplio intervalo de líneas celulares cancerosas y son cruciales para inhibir

³⁸ Wang, L.; Yang, Z.; Fu, J.; *et al.* *Free Rad. Biol. Med.* **2012**, *52*, 898.

³⁹ Martins, I.; Miranda, J.; Oliveira, N.; Fernandes, A.; Goncalves, S.; Antunes, A. *Molecules*, **2013**, *18*, 5251.

los mecanismos de resistencia a los fármacos, potenciar la eficacia de la radio y quimioterapia.⁴⁰

Con la información expuesta en estos antecedentes, las moléculas que contienen selenio emergen como excelentes candidatos terapéuticos debido a su habilidad para modular múltiples funciones fisiológicas implicadas en el desarrollo del cáncer.

Particularmente, en nuestro grupo de trabajo se han realizado contribuciones en esta área de la química farmacéutica, con la síntesis y evaluación de ferrocenilselenoamidas (**Figura 8**) así como la función que tiene la presencia de 1 o más puentes de hidrógeno.⁵⁷

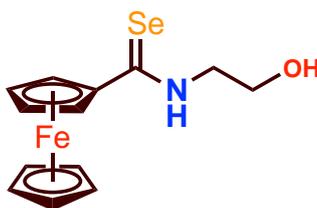


Figura 8. Ferrocenilselenoamida

2.2.2 Selenoimidatos

El progreso sobre los métodos de formación y conversión de diversos grupos funcionales que contienen selenio y en conjunto con la búsqueda de bioisómeros de los compuestos carbonilos biológicamente activos, han traído como resultado la aparición de grupos funcionales como selenoaldehídos, selenocetonas, grupos que poseen uno o dos heteroátomos unidos al carbono del selenocarbonilo como selenoamidas, ácidos selenoicos y selenoésteres;⁴¹ sin embargo, poco se ha explorado sobre los derivados de estos selenocarbonilos. Un grupo funcional que se ha investigado escasamente es el selenoimidato.

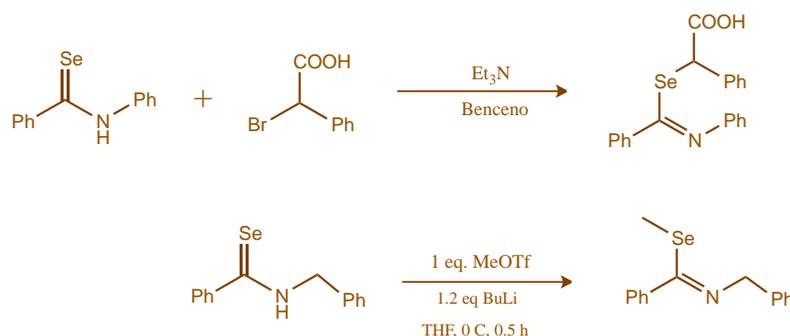
Hasta ahora, son pocos los métodos conocidos para la síntesis de selenoimidatos. Por ejemplo, una forma sencilla es a partir de la alquilación de selenoamidas con halogenuros o triflatos de alquilo como se observa en la **Esquema 4**.⁴²

La principal ventaja de este método es que el selenio ya se encuentra presente en la molécula y no se emplean agentes selenantes tóxicos.

⁴⁰ Bijian, K.; Zhang, Z.; Xu, B.; Jie, S.; Chen, B. Wan, S.; Wu, J.; Jiang, T.; Alaoui-Jamali, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *48*, 143.

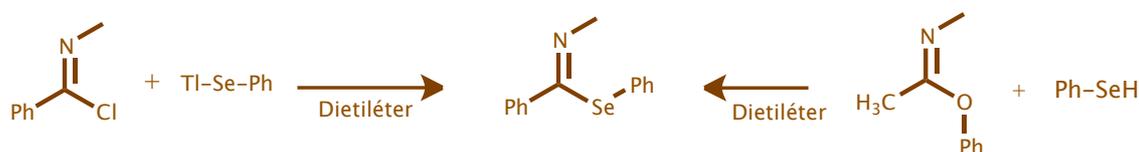
⁴¹ Murai, T. Selenoarbonyls. In *Organoselenium Chemistry Synthesis and reactions*. Wirth, T. Ed.; VCH: United Kingdom, 2012; pp 257-285.

⁴² a) Cava, M. P.; Saris, L. E. *J. Chem. Soc. Commun.* **1975**, 617. b) Mutoh, Y.; Murai, T. *Organometallics*. **2004**, *23*, 3907. c) Mutoh, Y.; Murai, T. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1361.



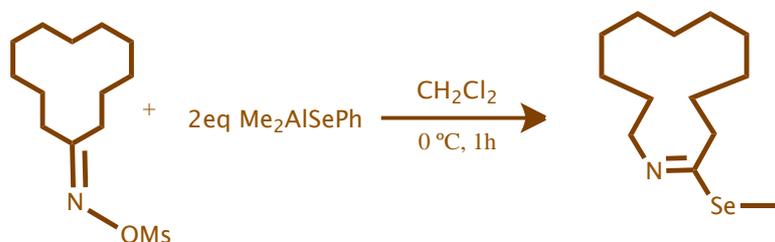
Esquema 4

Otro método disponible es mediante la reacción de cloruros de imidoilo con aniones selenato,⁴³ o por la reacción de imidatos con selenoles (**Esquema 5**).⁴⁴ En este método se parte del grupo imidoilo y se introduce al selenio en forma de selenoles.



Esquema 5

La reacción de sulfonatos de oxima con selenatos organoaluminados es otro método para la obtención de estos compuestos organoselenados.⁴⁵ En esta reacción se forman selenoimidatos cíclicos a partir de un transposición de Beckmann con una captura nucleofílica simultanea de un intermediario iminocarbocatión por un organoalano de selenio (**Esquema 6**).



Esquema 6

Por la reacción de isoselenocianatos con organolitiados,⁴⁶ los selenoimidatos se forman por ataque nucleofílico de los organolitiados hacia el carbono del isoselenocianato seguido de un ataque de selenio a BuI; y también mediante

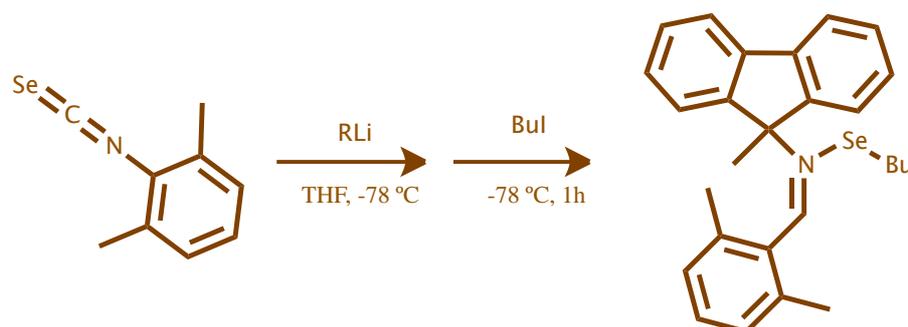
⁴³ Detty, M. R.; Wood, G. P. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 80.

⁴⁴ Meese, C. O.; Walter, W.; Mrotzek, H.; Mirzai, H. *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 956.

⁴⁵ Maruoka, K.; Miyazaki, T.; Ando, M.; Matsumura, Y.; Sakane, S.; Hattori, K.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2831.

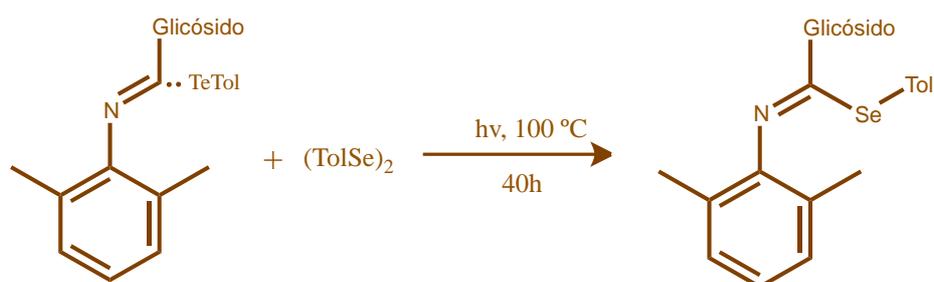
⁴⁶ a) Maeda, H.; Kambe, N.; Sonoda, N.; Fujiwara, S.; Shin-ike, T. *Tetrahedron.* **1996**, *52*, 12165. b)

esta vía, la Imidoilación de hidrocarburos ácidos empleando selenio e isocianatos en presencia de organolitados.⁴⁷ (**Esquema 7**)



Esquema 7

Y por último, a partir de la reacción de radicales imidoilo de telurio con diarildiselenuros, por irradiación ultravioleta y a alta temperatura. En estas condiciones se descubrió que el enlace C-Te es inestable y se da una ruptura homolítica para generar la especie radical imidoilo correspondiente.⁴⁸ (**Esquema 8**)



Esquema 8

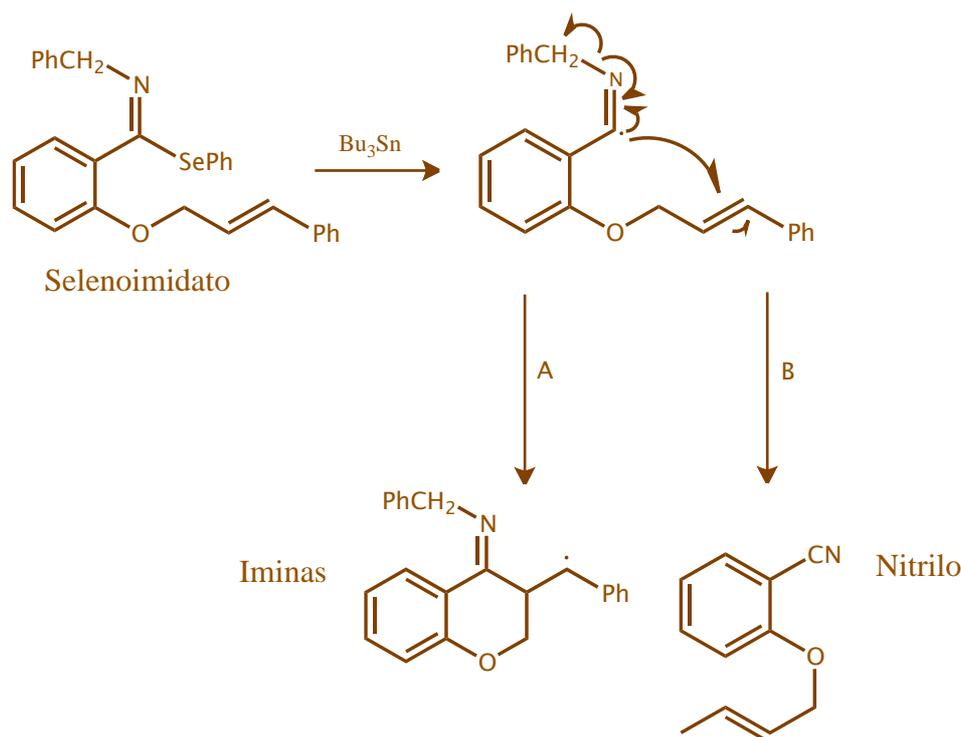
Como se describió antes, son realmente escasos los estudios sobre las reacciones que experimentan estas especies organoselenadas, sin embargo, las reacciones que se han efectuado a partir de éstas provocan la pérdida del fragmento de selenio. Por ejemplo, cuando reacciona el grupo selenoimidato con tributilestaño se observa la conversión de este grupo funcional a un grupo nitrilo o imina.⁴⁹ Una reactividad similar se ha observado cuando se utilizan como precursores de iminoéteres (**Esquema 9**).⁵⁰

⁴⁷ a) Fujiwara, S.; Maeda, H.; Matsuya, T.; Shin-Ike, T.; Kambe, N.; Sonoda, N. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5022. b) Asanuma, Y.; Fujiwara, S.; Shin-Ike, T.; Kambe, N. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4845.

⁴⁸ Yamago, S.; Miyazoe, H.; Goto, R.; Yoshida, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2347.

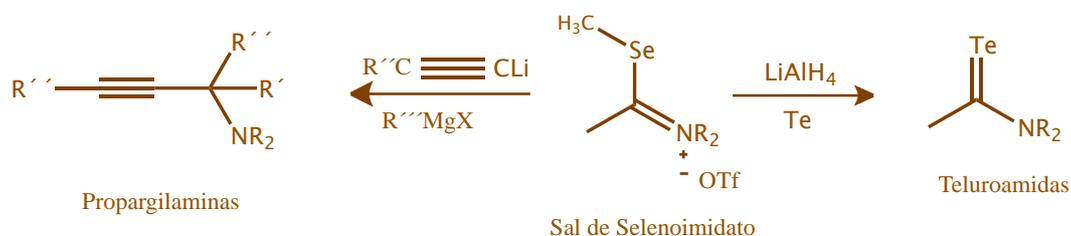
⁴⁹ Bachi, M.; Denenmark, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1886

⁵⁰ Maruoka, K.; Miyazaki, T.; Ando, M.; Matsumura, Y.; Sakane, S.; Hattori, K.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 956.



Esquema 9

Aunado a lo anterior, las sales de estos selenoimidatos experimentan una reacción de intercambio de calcógeno, las sales de selenoimidato son interconvertidas en teluroamidas.^{42c} Por otra parte, estas sales de selenoimidato reaccionan con alquínil litiados y reactivos de Grignard para la formación de propargilaminas.^{42b} (Esquema 10)



Esquema 10

Finalmente, hasta donde tenemos conocimiento, no hay informes en la literatura sobre la evaluación de la potencial actividad biológica este grupo de compuestos organoselenados. Es por esto, que el propósito que se persigue es realizar la síntesis de selenoimidatos a través de una metodología sencilla, partiendo de selenoamidas secundarias y agentes alquilantes, además de confirmar la actividad biológica de este grupo selenoimidoilo y observar la influencia que tienen los diferentes sustituyentes en el anillo aromático.

III. Objetivos

3.1 Objetivo General

Diseñar y desarrollar una ruta sintética para la formación de una serie de nuevos selenoimidatos empleando diferentes Carbenos de Fischer, con el propósito de evaluar la posible actividad citotóxica frente a diferentes líneas celulares cancerosas humanas.

3.2 Objetivos Particulares

- Llevar a cabo la síntesis de diferentes etoxicarbenos de Fischer a partir de los bromuros de fenilo empleando los métodos informados actualmente.
- Realizar la síntesis de los aminocarbenos de Fischer mediante la aminólisis de los diferentes [(etoxi)(bencil)metiliden]pentacarbonilo de Cromo (0), utilizando metoxietilamina como nucleófilo.
- Efectuar la reacción de desmetalación seleniurativa de los diferentes aminocarbenos de Fischer, utilizando como agente selenante una mezcla de [Se/NaBH₄].
- Efectuar la reacción de metilación sobre el átomo de selenio en las selenoamidas para la obtención de los distintos selenoimidatos
- Evaluar la actividad citotóxica de los compuestos selenoimidatos sobre distintas líneas celulares cancerosas (Glía de sistema nervioso central, Próstata, Leucemia, Colon, Mama y Pulmón) y observar el efecto que tiene un grupo electrodonador o electroatractor en la posición 4 del anillo aromático sobre la actividad biológica.

IV. Resultados y Discusión

El cáncer es el término asociado al conjunto de enfermedades que son el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales (físicos y químicos), que producen la degeneración de células, lesiones precancerosas y finalmente tumores malignos. Inicialmente, se localizan en un órgano o tejido (in situ) y al no ser tratados oportunamente pueden diseminarse a otros órganos (metástasis). En México, según la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), el cáncer ocupa el tercer lugar en causa de muertes.⁵¹

Las células cancerosas se caracterizan por una alta producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y presentan una defensa antioxidante inducida para contrarrestar el incremento basal de la producción de ROS. Con fundamento en este hecho, el estrés oxidativo presente en tumores, ha sido reconocido como un blanco específico para el desarrollo racional de nuevos agentes anticancerígenos.⁵²

Nuestro grupo de investigación se ha dado a la tarea de sintetizar nuevas moléculas que contengan selenio como elemento clave para presentar actividad citotóxica.

Como se describió en los objetivos, en este trabajo de tesis se propuso evaluar la conversión del grupo selenoamida a selenoimidato y estudiar la naturaleza del anillo aromático en su estructura, así como su influencia sobre la actividad citotóxica, aunado a estos objetivos, observar el efecto de un grupo sustituyente en la posición *para* del anillo aromático.

Para la estrategia sintética se empleó parte de la metodología que se ha desarrollado previamente en nuestro grupo de investigación para la síntesis de selenoamidas. Es por lo anterior, que teniendo como molécula blanco el selenoimidato, la primera desconexión lógica es la alquilación del átomo de selenio presente en las selenoamidas, las selenoamidas se obtienen mediante un reacción en tandem de aminólisis-desmetalación selenante de los etoxicarbenos de Fischer y en primera instancia la síntesis de los etoxicarbenos de Cr (0) se puede llevar a cabo a partir de los diferentes bromuros de fenilo (**Figura 9**).

⁵¹ INEGI. *Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos Nacionales. Enero 2014*

⁵² Fernandes, A.; Gandin, V.; *Biochim. Biophys. Acta.* **2015**, *1850*, 1642

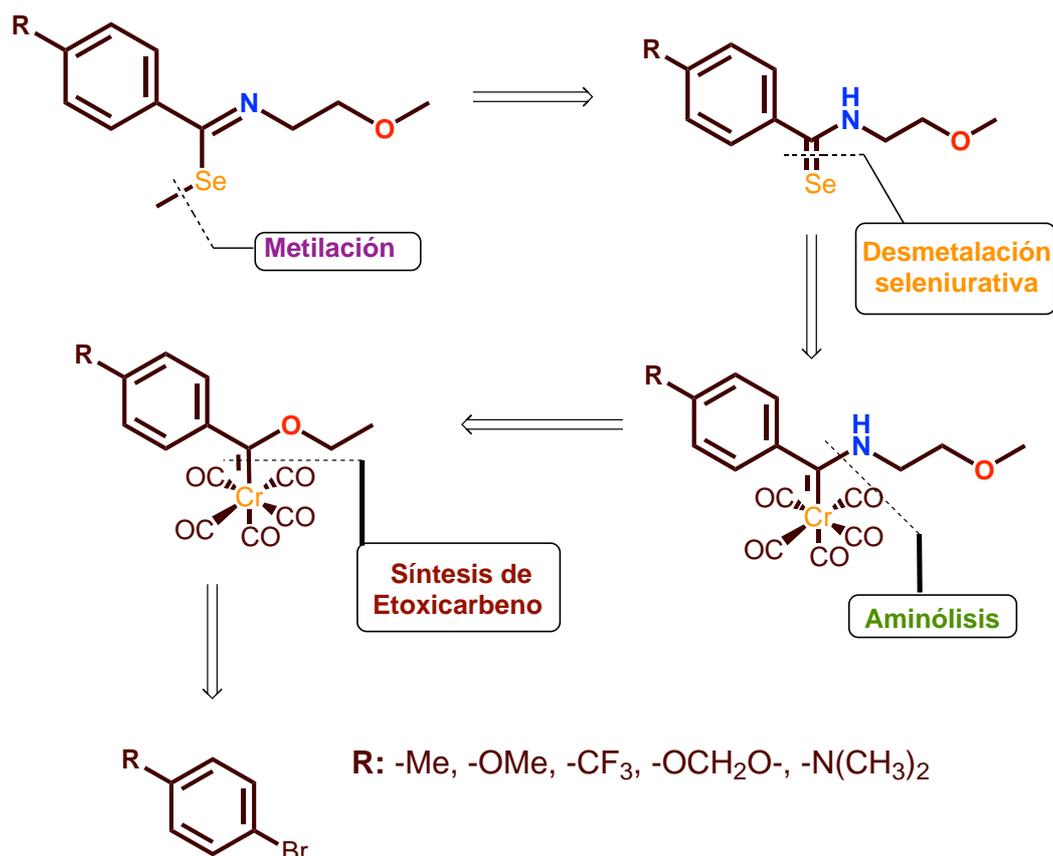


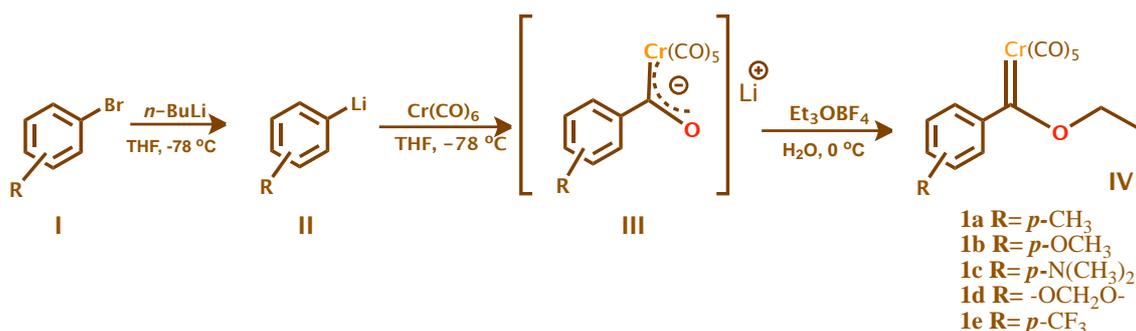
Figura 9 Análisis retrosintético para la obtención de Selenoimidatos

4.1 Síntesis de Etoxicarbenos de Cromo (0) (1a-e)

Para llevar a cabo la síntesis de etoxicarbenos de Fischer **1a-e** como material de partida, empleamos la metodología descrita por el Dr. José López Cortés,^{6 10} que es una modificación a la metodología clásica descrita por Fischer y Connor.⁵³

En la reacción que se llevo a cabo, partimos de los bromuros de arilo (**I**). Al adicionar *n*-BuLi se forman los diferentes aril litiados (**II**). La adición de los aril litiados a una suspensión de hexacarbonilo de cromo (0) da lugar a la formación del intermediario acilmetalato (**III**) y finalmente la *O*-alquilación con tetrafluoroborato de trietiloxonio, nos lleva al etoxicarbeno de Fischer (**IV**) (**Esquema 11**).

⁵³ Klabunde, U.; Fischer, E. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7141. (b) Connor, J. A.; Fischer, E. O. *J. Chem. Soc. A* **1969**, 578. (c) Fischer, E. O.; Kollmeier, H-J. *Chem. Ber.* **1971**, *104*, 1339. (d) Fischer, E. O.; Leupold, M. *Chem. Ber.* **1972**, *102*, 599. (e) Fischer, E. O.; Heckl, B.; Werner, H. *J. Organomet. Chem.* **1971**, *28*, 359. (f) Werner, H.; Fischer, E.O.; Heckl, B.; Kreiter, C. G. *J. Organomet. Chem.* **1971**, *28*, 367.



Esquema 11. Síntesis de etoxicarbenos de Fischer

Los etoxifenilcarbenos de Cromo (0) se obtuvieron en rendimientos que van desde moderados hasta buenos, son sólidos de color rojo y son inestables en solución, así como en medio ácido (**Tabla 1**). Es importante mencionar que la síntesis para los compuestos **1a**⁴, **1b**⁴, **1d**,⁶⁵ **1e**⁵⁴ ya se encuentra reportada en la literatura. La estructura de los etoxifenilcarbenos fue determinada por experimentos de RMN y por comparación con los datos espectroscópicos actualmente disponibles.

Tabla 1. Características de los etoxifenilcarbenos de Cromo (0)

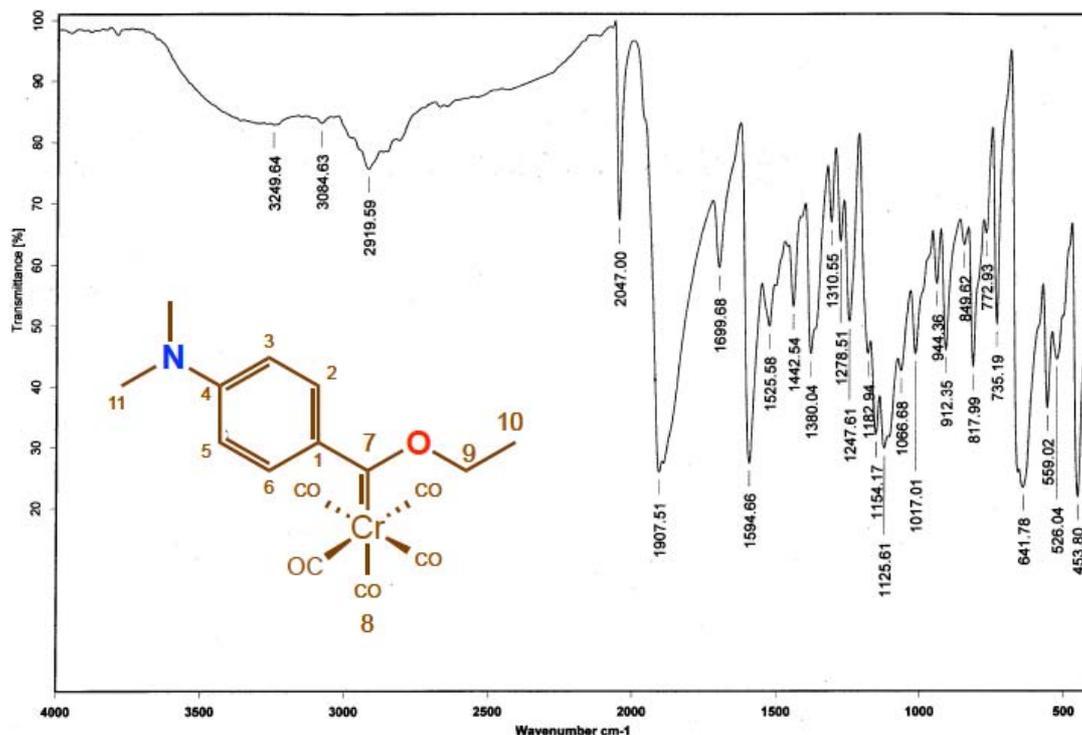
Compuesto	R	Rendimiento (%)	Apariencia	Pf (°C)
1a	<i>p</i> -CH ₃	82	Sólido rojo	87-88
1b	<i>p</i> -OCH ₃	95	Sólido rojo	103-104
1c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	55	Sólido rojo	88
1d	-OCH ₂ O-	60	Sólido naranja	66-70
1e	<i>p</i> -CF ₃	59	Sólido rojo oscuro	46-48

Los resultados de la síntesis de etoxifenilcarbenos parecen indicar que un grupo sustituyente, en la posición 4 del anillo aromático, con carácter electrodonador de densidad electrónica, favorece el rendimiento de la reacción. En el caso contrario, el grupo con carácter electroatractor de densidad electrónica arroja rendimiento de reacción más bajo. Esta característica se debe a la estabilidad del carbono carbénico que se forma: un grupo que dona densidad electrónica, por efecto inductivo, estabiliza al carbono carbénico y disminuye su carácter electrofílico, haciéndolo menos reactivo. No obstante, también se observa un rendimiento bajo para el compuesto **1c**. Este resultado puede ser debido a que en lugar de la O-alkilación del acilmetalato se encuentra en competencia con la alquilación del grupo -N(CH₃)₂, lo que tiene como resultado una disminución del rendimiento. También es necesario mencionar que este compuesto en particular experimentó oxidación rápidamente, por lo que se observa una disminución drástica en el rendimiento de la reacción.

⁵⁴ Chu, G. M.; Fernández, I.; Sierra, M. A. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 865

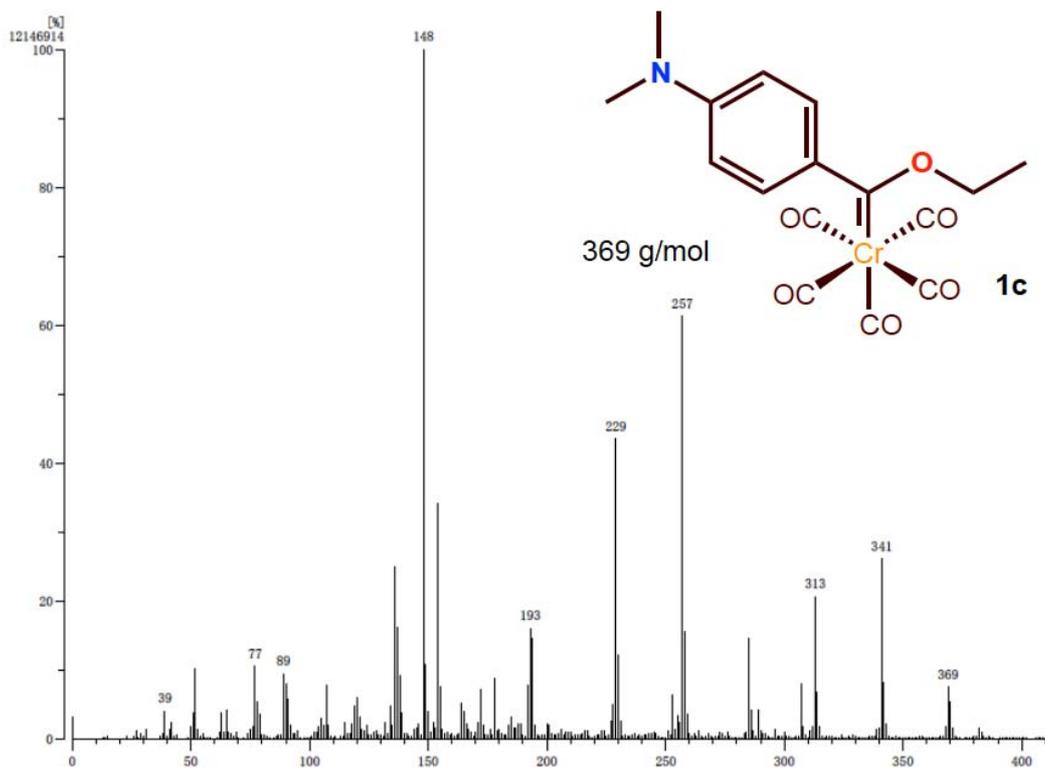
El compuesto **1c** se caracterizó plenamente por las técnicas espectroscópicas convencionales IR, EM y RMN. A continuación se incluyen los datos espectroscópicos.

En el espectro de Infrarrojo del compuesto **1c** (**Espectro 1**) se pueden observar 3 bandas intensas que corresponden a la vibración de los carbonilos metálicos en 2047, 1907 y 1595 cm^{-1} .



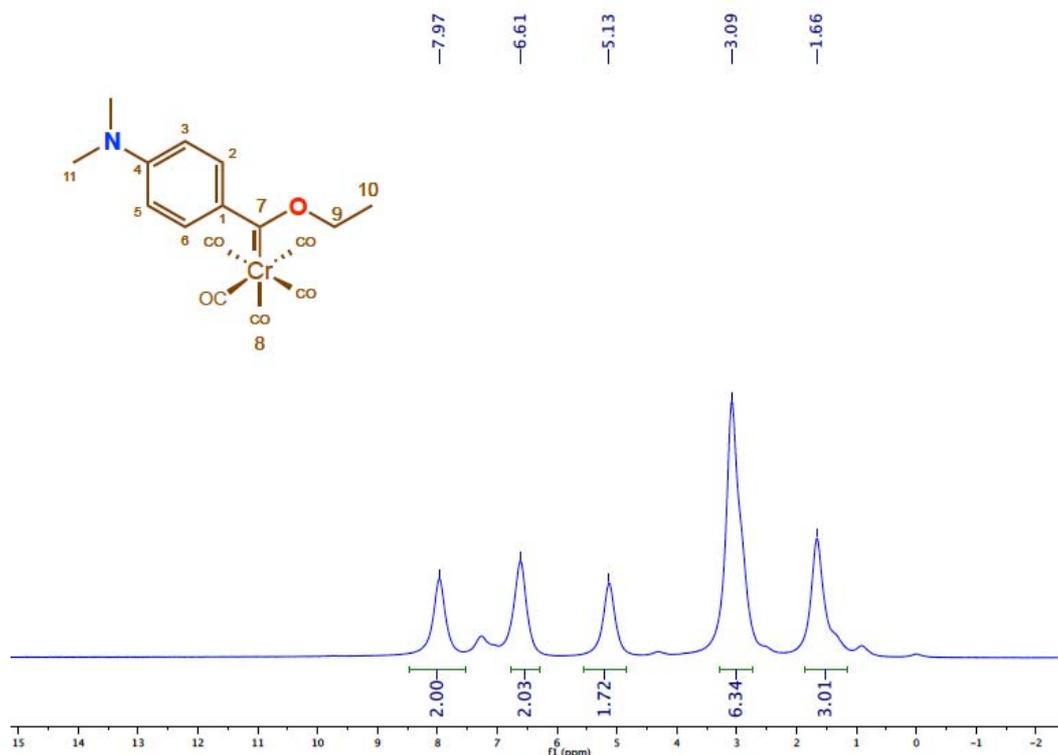
Espectro 1. Espectro de Infrarrojo (KBr) para el compuesto **1c**

La espectroscopía de masas de este complejo (**1c**) es típica de los etoxicarbenos de Fischer. Mediante la técnica FAB+ (Fast atom bombardment) se observa el patrón de fragmentación de este compuesto. Observamos una señal en 369 m/z correspondiente al ión molecular esperado, y la pérdida sucesiva de 28 unidades m/z que se asignan a la pérdida de los carbonilos metálicos coordinados al metal (**Espectro 2**).



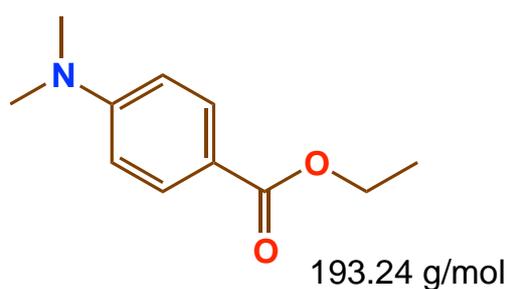
Espectro 2. Espectro de Masas (FAB+) para el compuesto **1c**

El espectro de RMN ^1H para el compuesto **1c** se ilustra en el **Espectro 3**. Las señales que aparecen en este espectro fueron asignadas de la siguiente forma: en la zona de aromáticos observamos una señal simple ancha que aparece en 7.97 ppm que integra para 2 protones se asignó a grupo C-H del anillo aromático en las posiciones 2 y 6. En 6.61 ppm, la señal simple ancha que integra para 2 protones correspondiente al grupo C-H del anillo aromático en las posiciones 3 y 5. En 5.13 ppm se observa una señal que integra para los 2 protones del grupo metileno base de oxígeno (H-9). En 3.10 ppm la señal simple que integra para 6 protones corresponde a los grupos CH_3 del grupo amino en posición *para* del anillo aromático (H-11) y finalmente, en 1.66 ppm observamos una señal para el grupo CH_3 del grupo etoxi (H-10).



Espectro 3. Espectro de RMN ^1H para el compuesto **1c**

Los etoxicarbenos de Fischer suelen ser especies muy reactivas y en disolución o incluso en contacto con el aire tienden a oxidarse.⁵⁵ El producto de oxidación (**Figura 10**), incluso se llega a observar en el espectro de masas (FAB+), pues en 193 m/z aparece un pico de baja abundancia que corresponde con la masa molecular calculada para el ester. La formación del producto de oxidación contribuye a la disminución del rendimiento de reacción en comparación con los compuestos **1a** y **1b**.



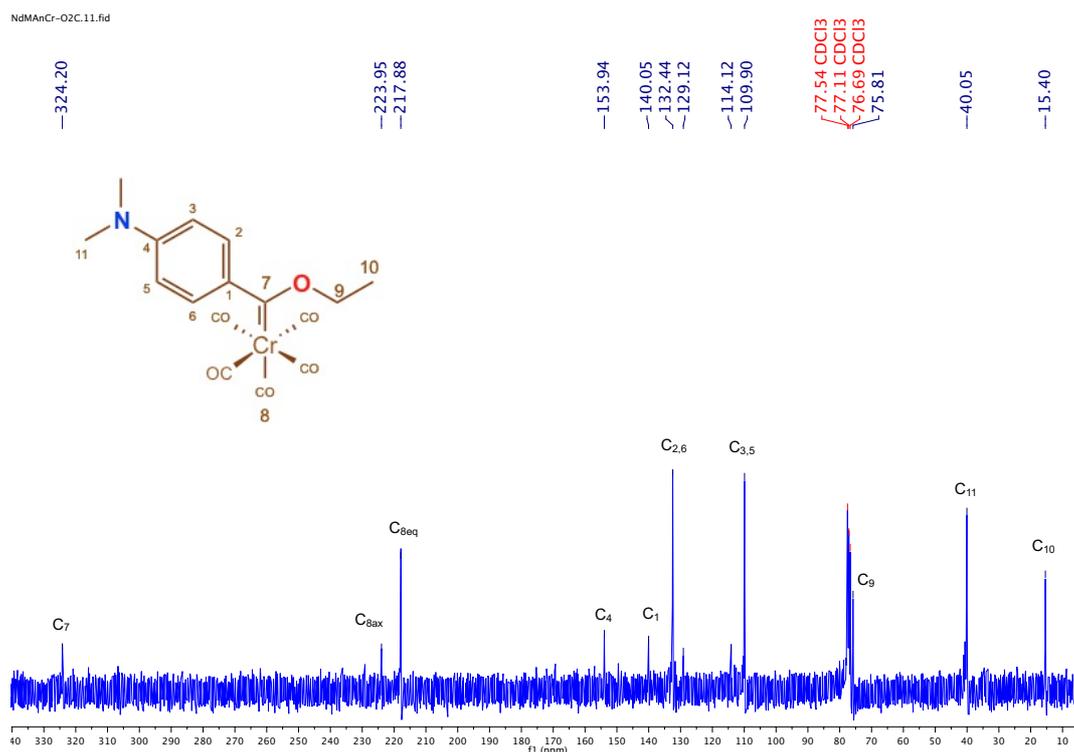
4-(dimetilamino)benzoato de etilo

Figura 10. Producto de oxidación de etoxicarbeno de Fischer

En relación al análisis de RMN de ^{13}C para el compuesto **1c**, se observa a campo alto la señal correspondiente al carbono carbénico en 324 ppm (C-7), la

⁵⁵ a) Casey, C.; Anderson, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 1230. b) Casey, C.; Burkhardt, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6543.

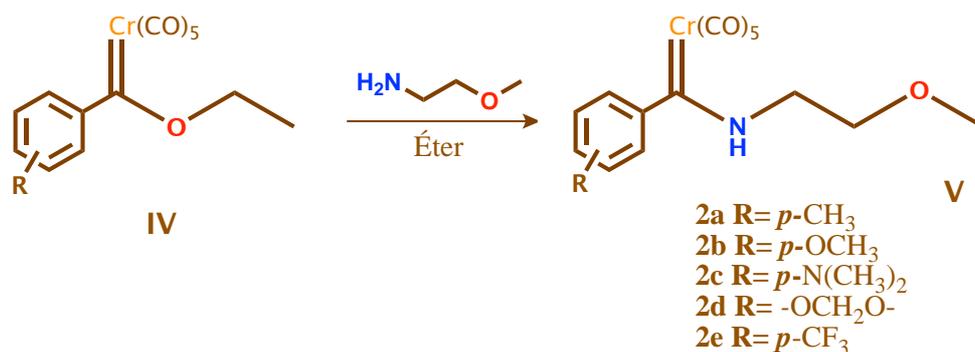
cual es característica de este tipo de complejos. Aparecen 2 señales para los carbonilos metálicos (C-8 axial y ecuatorial) en 223.9 y 217.9 respectivamente. En 153.9 ppm (C4) y 140.1 ppm (C1) se observan las señales de los carbonos cuaternarios del anillo de fenilo. En 132.4 ppm se observa la señal que corresponde a los carbonos (2 y 6) y para los carbonos (3 y 5) en 114.12 ppm como una señal simple. En 75.8 ppm aparece la señal del metileno del grupo etoxi (C9) y de ese mismo grupo en 15.4 ppm la señal del metilo (C10). Finalmente, el grupo amino en la posición 4 del anillo aromático esta enlazado a 2 grupos metilo (C11) que se observan en 40.1 ppm.



Espectro 4. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **1c**

4.2 Síntesis de metoxietilaminocarbenos de Cromo (0) (2a-e)

Los carbenos metálicos experimentan numerosas reacciones, las cuales son útiles en la síntesis de moléculas orgánicas complejas ya que la electrofilicidad del átomo de carbono carbénico favorece el ataque nucleofílico. Las reacciones de sustitución nucleofílica en el carbono carbénico ocurren a través de un proceso de adición-eliminación, donde el grupo alcóxido se intercambia por un nucleófilo. Teniendo en cuenta la reactividad de los etoxicarbenos de Fischer, una vez sintetizados (**1a-e**), se evaluó la reactividad de estos compuestos en la reacción de aminólisis con metoxietilamina, con el objetivo de sintetizar los correspondientes *N*-metoxietilaminocarbenos de Fischer (**2a-e**) (**Esquema 12**).



Esquema 12. Síntesis de *N*-metoxietilaminocarbenos de Cr (0)

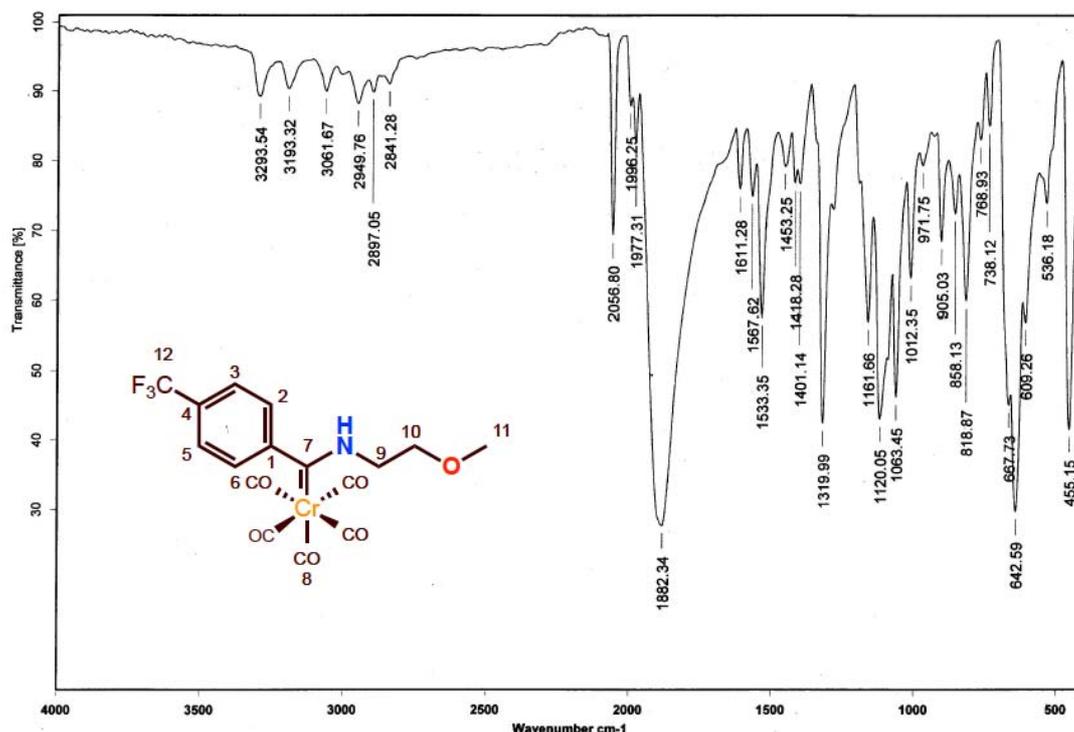
Para la reacción de aminólisis de todos los etoxicarbenos, los rendimientos fueron excelentes y el tiempo de la reacción es corto. Generalmente, cuando finaliza la adición de la metoxietilamina, la materia prima también se ha consumido por completo. Los *N*-metoxietilaminocarbenos se obtienen como sólidos para los compuestos (**2a**, **2b**, **2c**, **2e**) y el compuesto **2d** es un líquido (Tabla 2).

Tabla 2. Características de *N*-Metoxietilaminocarbenos de Cr (0)

Compuesto	R	Rendimiento (%)	Apariencia	Pf (°C)
2a	<i>p</i> -CH ₃	99	Sólido rojo	76
2b	<i>p</i> -OCH ₃	99	Sólido naranja	64
2c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	85	Sólido naranja	66
2d	-OCH ₂ O-	93	Líquido amarillo	NA
2e	<i>p</i> -CF ₃	96	Sólido amarillo	51

De acuerdo a la Tabla 2 podemos observar que no hay una relación entre el tipo de sustituyente (electrodonador o electroatractor) y el rendimiento de la reacción.

Estos aminocarbenos fueron caracterizados por las técnicas espectroscópicas convencionales (IR, EM, RMN ¹H y ¹³C). Para ilustrar características presentes en los aminocarbenos, tenemos el espectro de IR del compuesto **2e** (**Espectro 5**), se observa una señal de baja intensidad en 3293 cm⁻¹ que corresponde a la vibración del enlace N-H y también se observan 3 bandas de absorción intensa en 2056, 1977 y 1882 cm⁻¹ que se han asignado a las vibraciones de los carbonilos metálicos.



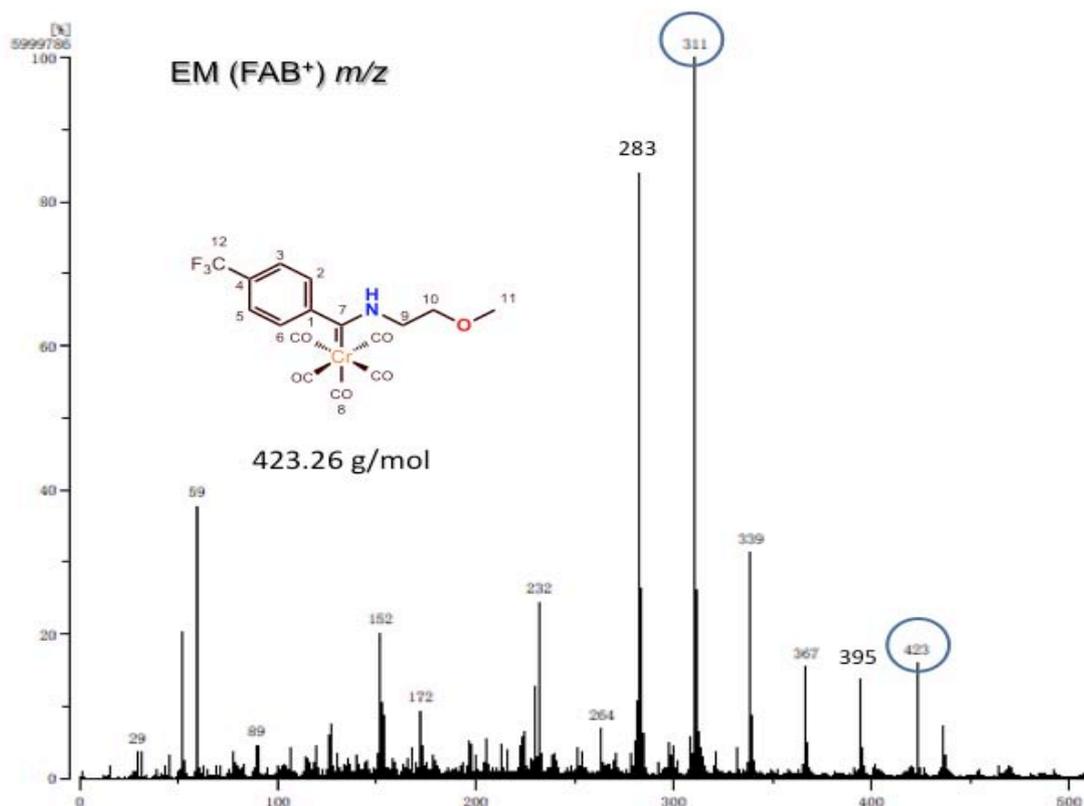
Espectro 5. Espectro de Infrarrojo (KBr) para el compuesto **2e**

Los valores de las bandas de absorción para los *N*-metoietilaminocarbenos se encuentran resumidos en la **Tabla 2.1**

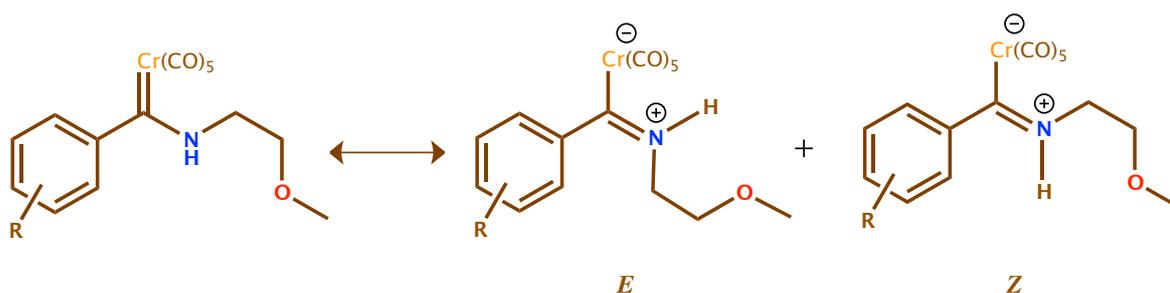
Tabla 2.1 Resumen espectroscópico de IR (cm^{-1}) para los compuestos (**2a-e**)

	R	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{M-CO})$
2a	<i>p</i> -CH ₃	3298	2052 1900 1878
2b	<i>p</i> -OCH ₃	3311	2053 1977 1883
2c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	3307	2048 1972 1874
2d	-OCH ₂ O-	3314	2052 1903 1887
2e	<i>p</i> -CF ₃	3293	2056 1977 1882

El análisis de la espectrometría de masas (FAB+), de forma conjunta con el IR, permiten identificar la estructura de los aminocarbenos de Fischer a través del ión molecular, que corresponde con el peso molecular de cada compuesto, y de la pérdida sucesiva de 28 unidades masa/carga que corresponde con la pérdida de los cinco carbonilos que se encuentran presentes en la molécula. En el **Espectro 6**, observamos el espectro de EM-FAB+ del compuesto **2e**, el ión molecular aparece en 423 m/z y la pérdida de los carbonilos metálicos en picos con una diferencia de -28 unidades m/z . La pérdida consecutiva de los carbonilos aumenta la abundancia relativa en cada pico, lo cual significa que la especie que se observa en el pico correspondiente es más estable.



Durante la reacción de aminólisis de los etoxicarbenos, se forma una mezcla de isómeros que resulta inseparable por cromatografía en columna. Esta isomería es común en aminocarbenos de Fischer.⁵⁶ Se observa la formación de isómeros geométricos *E/Z* resultado de la deslocalización del par de electrones libre del nitrógeno hacia el carbono carbénico electrodeficiente, esto produce un doble enlace parcial C_{Carbénico}-N (**Esquema 13**).



Esquema 13. Estructuras de Resonancia de los aminocarbenos

La isomería de estos aminocarbenos se puede analizar mediante la espectroscopía de RMN ¹H. Estos isómeros generan señales con diferentes desplazamientos químicos, y la diferencia en los desplazamientos es originada por la disposición en el espacio de los grupos funcionales y su interacción entre ellos. La señal donde esta diferencia es más pronunciada, es para el protón de la amina y para los metilenos de la cadena alquílica. En todos los compuestos, el isómero predominante es el isómero *E*, característica común y esperada

⁵⁶ Fischer, E. O.; Heckl, B.; Werner, H. J. *Organomet. Chem.* **1971**, *28*, 359.

porque el isómero *E* minimiza las repulsiones electrostáticas. La proporción entre los isómeros se resumen en la **Tabla 2.2**, cuyo valor fue obtenido mediante la integración de las señales que mejor se definen en el espectro de RMN ^1H , que en todos lo casos ha sido el protón de la amina. Aunque

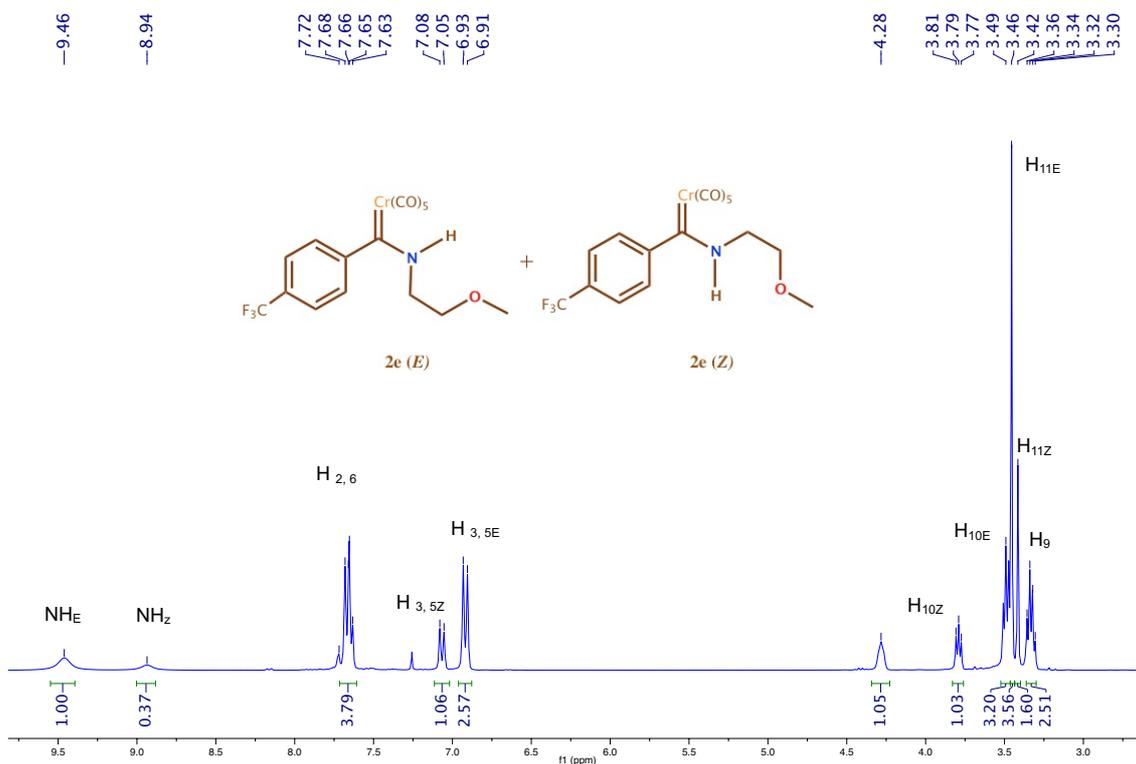
Tabla 2.2 Proporción de Isómeros *E/Z* compuestos 2a-e

Compuesto	R	Proporción <i>E:Z</i>
2a	<i>p</i> -CH ₃	91:9
2b	<i>p</i> -OCH ₃	71:29
2c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	64:36
2d	-OCH ₂ O-	70:30
2e	<i>p</i> -CF ₃	73:27

Realizando una comparación entre los compuestos **2a-c** que portan un sustituyente electrodonador en la posición *para* del anillo aromático, se infiere que a medida que incrementa el carácter donador del sustituyente, también disminuye la proporción del isómero *E*. Por otro lado, si se compara los compuestos **2a** y **2e**, cuyo grupo sustituyente es análogo y con diferente carácter electrónico, se nota una mayor proporción del isómero *E* si el grupo es electrodonador. No obstante, no se puede concluir que la naturaleza electrónica del sustituyente es decisiva para determinar la configuración espacial de un isómero en particular.

Al analizar el espectro completo de RMN de ^1H para el compuesto **2e** (**Espectro 7**) se observa hacia campo alto, la primera señal que es asignada al protón de la amina a 9.46 ppm (N-H_E) y para su isómero *Z* en 8.94 ppm (N-H_Z); en 7.66 ppm observamos señales traslapadas para los isómeros *E* y *Z* para los protones (H-2 y H-6); en 7.07 ppm se observa una señal doble para los protones (H-3 y H-5) del isómero *Z*, en 6.92 ppm una señal doble para los protones (H3 y H-5) del isómero *E*; en 3.79 ppm una señal triple, que integra para los 2 protones (H-10) del isómero *Z* y para el isómero *E* en 3.49 ppm; en 3.46 ppm una señal simple que integra para los 3 protones del grupo metoxi (H-11) del isómero *E* y del isómero *Z* esta señal se encuentra en 3.42 ppm; por último, en 3.33 ppm observamos una señal cuadruple que integra para los 2 protones del metileno (H-9).

F3BenCrN-2COC.2.10.fid

Espectro 7. Espectro de RMN ^1H para el compuesto **2e**

En la **Tabla 2.3** se encuentran concentrados los datos espectroscópicos de RMN de ^1H para los compuestos **2a-e**.

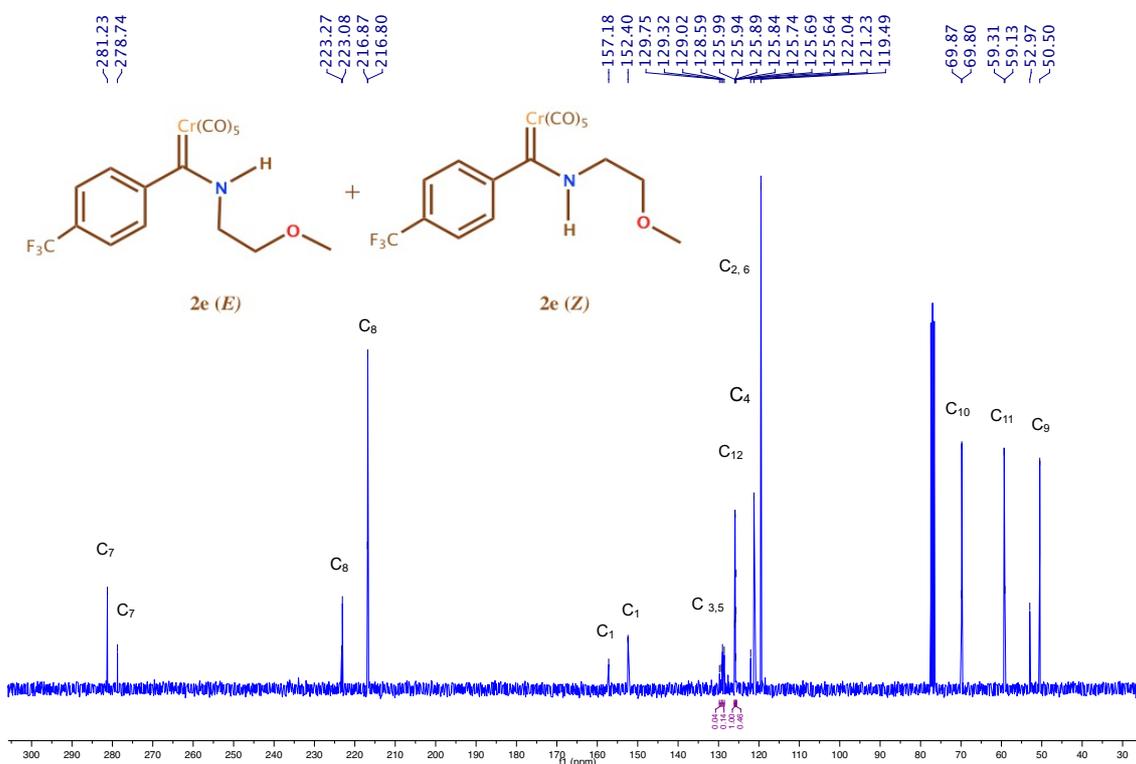
Tabla 2.3 RMN ^1H (ppm) para los compuestos **2a-e**

	2a $p\text{-CH}_3$	2b $p\text{-OCH}_3$	2c $p\text{-N(CH}_3)_2$	2d $-\text{OCH}_2\text{O}-$	2e $p\text{-CF}_3$
RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , ppm)	9.39 (NH_E , s, 1H) 8.90 (NH_Z , s, 1H) 7.68 ($\text{H}_{2,6E}$, d, 2H) 7.19 ($\text{H}_{2,6Z}$, d, 2H) 6.93 ($\text{H}_{3,5E}$, d, 2H) 6.70 ($\text{H}_{3,5Z}$, d, 2H) 4.24 (H_{11E} , s, 3H) 3.76 ($\text{H}_{9,10E}$, s, 4H) 3.45 (H_{11Z} , s, 3H) 3.36 ($\text{H}_{9,10Z}$, s, 4H) 2.35 (H_{12} , s, 3H)	9.39 (NH_E , s, 1H) 8.89 (NH_Z , s, 1H) 7.75 ($\text{H}_{2,6Z}$, d, 2H) 7.48 ($\text{H}_{3,5Z}$, d, 2H) 6.92 ($\text{H}_{2,6E}$, d, 2H) 6.78 ($\text{H}_{3,5E}$, d, 2H) 4.24 (H_{10Z} , m, 2H) 3.82 ($\text{H}_{10,9E}$, s, 4H) 3.79 (H_{9Z} , m, 2H) 3.43 ($\text{H}_{11,12E}$, t, 6H) 3.38 ($\text{H}_{11,12Z}$, t, 6H)	9.29 (NH_E , s, 1H) 8.82 (NH_Z , s, 1H) 7.91 ($\text{H}_{2,6E}$, d, 2H) 7.15 ($\text{H}_{3,5E}$, d, 2H) 6.80 ($\text{H}_{2,6Z}$, d, 2H) 6.69 ($\text{H}_{3,5Z}$, d, 2H) 3.75 ($\text{H}_{11,10E}$, s, 5H) 3.44 ($\text{H}_{11,10Z}$, s, 5H) 3.06 ($\text{H}_{12,9E}$, d, 8H) 2.99 ($\text{H}_{12,9Z}$, d, 8H)	9.39 (NH_E , s, 1H) 8.92 (NH_Z , s, 1H) 7.65 (H_{6Z} , d, 1H) 6.83 (H_{6E} , d, 1H) 6.64 (H_{2Z} , s, 1H) 6.48 (H_{5Z} , d, 1H) 6.36 (H_{2E} , s, 1H) 6.26 (H_{5E} , d, 1H) 6.01 (H_{12} , d, 2H) 4.28 (H_{10} , dd, 2H) 3.77 (H_{9Z} , m, 5H) 3.44 ($\text{H}_{11,9}$, m, 5H)	9.46 (NH_E , s, 1H) 8.94 (NH_Z , s, 1H) 7.66 ($\text{H}_{2,6}$, dd, 2H) 7.07 ($\text{H}_{3,5Z}$, d, 2H) 6.92 ($\text{H}_{3,5E}$, d, 2H) 3.79 (H_{10Z} , t, 2H) 3.49 (H_{10E} , t, 2H) 3.46 (H_{11E} , s, 3H) 3.42 (H_{11Z} , s, 3H) 3.33 (H_9 , q, 2H)

En RMN de ^{13}C para el compuesto **2e** (**Espectro 8**) esta isomería *E* y *Z* también se logra observar. La señal del carbono carbénico aunque se encuentra desplazada hacia campo alto, se diferencia de su precursor etoxicarbeno, se localiza en 281.2 ppm para el isómero *E* y para el isómero *Z* en 278.7 ppm; en 223 y 217 ppm se localizan las señales para los carbonilos metálicos en posiciones axial y ecuatorial respectivamente; el carbono *ipso* o (C-1) para el

isómero *Z* aparece en 157.2 ppm y para el isómero *E* en 152.4 ppm; en 129.5 ppm la señal del carbono (C-4) para el isómero *Z* y en 128.8 ppm la señal asignada al isómero *E*, la constante de acoplamiento para este carbono es $J=32.25$ Hz; una señal cuadruple asignada para los carbonos (C-3 y C-5) que se acoplan al grupo CF_3 en 125.9 ppm del isómero *E* y en 125.7 ppm para el isómero *Z*, la constante de acoplamiento es $J=3.75$ Hz; una señal cuadruple en 123.8 ppm para el carbono del grupo trifluorometilo que se acopla con flúor ($J=270$ Hz); las señales simples asignadas para los carbonos 2 y 6 aparecen en 121.2 y 119.5 para los isómeros *Z* y *E* respectivamente; en la zona alifática se observan dos señales en 69.9 y 69.8 ppm que se asignan al (C-10); dos señales en 59.3 y 59.1 ppm que se asignan al grupo metoxi (C-11) y en último lugar, dos señales en 52.9 y 50.5 para el metileno base de nitrógeno (C-9).

F3BenCrN-2COC.2.12.fid

Espectro 8. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto 2e

En la **Tabla 2.4** se encuentran concentrados los datos espectroscópicos de RMN de ^{13}C para los compuestos **2a-e**.

Tabla 2.4 RMN de ^{13}C (ppm) para los compuestos **2a-e**

	2a <i>p</i> -CH ₃	2b <i>p</i> -OCH ₃	2c <i>p</i> -N(CH ₃) ₂	2d -OCH ₂ O-	2e <i>p</i> -CF ₃
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl ₃ , ppm)	283.3 C ₇	283.2 C ₇	282.3 C ₇	282.6, 277.5 C ₇	281.2, 278.7 C ₇
	223.5 C _{8 ax}	223.5 C _{8 ax}	223.5 C _{8 ax}	223.5, 223.4 C _{8 ax}	223.3, 223.1 C _{8 ax}
	217.3 C _{8 eq}	217.5, 217.3 C _{8 eq}	217.6 C _{8 eq}	217.4, 217.2 C _{8 eq}	216.9, 216.8 C _{8 eq}
	150.0, 147.0 C ₄	159.6, 158.4 C ₄	149.5 C ₄	147.8 C ₄	157.2, 152.4 C ₁
	136.6 C ₁	148.3, 142.6 C ₁	138.1 C ₁	143.9 C ₁	129.5, 128.8 C ₄
	129.2, 129.1 C _{2,6}	123.6, 121.3 C _{2,6}	124.9, 122.3 C _{2,6}	125.2 C ₆	125.9, 125.7 C _{3,5}
	121.4, 119.3 C _{3,5}	113.9, 113.7 C _{3,5}	111.4, 111.3 C _{3,5}	115.0, 112.8 C ₂	123.8 C ₁₂
	70.2 C ₁₀	70.2, 70.2 C ₁₀	70.4 C ₁₀	109.5, 108.5 C ₅	121.2, 119.5 C _{2,6}
	59.3 C ₁₁	59.3, 59.1 C ₁₂	59.3 C ₁₁	101.3, 101.1 C ₁₂	69.9, 69.8 C ₁₀
	49.9 C ₉	55.4, 55.3 C ₁₁	49.9 C ₉	70.1 C ₁₀	59.3, 59.1 C ₁₁
	21.1 C ₁₂	52.8, 50.0 C ₉	40.3, 40.2 C ₁₂	59.3, 59.1 C ₁₁	53.0, 50.5 C ₉
				52.7, 50.0 C ₉	

4.3 Síntesis de *N*-(2-metoxietil)benzoselenoamidas (**3a-e**)

Un gran número de metodologías se han diseñado para la síntesis de selenoamidas, desde la conversión de grupos carbonilo en selenocarbonilo hasta el uso de selenio elemental como agente selenante. No obstante, se han enfrentado múltiples dificultades, especialmente por la preparación, manejo y tratamiento de los agentes selenantes. Es por ello que en nuestro grupo de investigación, se ha empleado una estrategia sintética para la síntesis de selenoamidas basada en la desmetalación oxidativa, empleando NaBH₄ y selenio elemental para formar el agente desmetalante, de los aminocarbenos de Fischer.⁵⁷

La obtención de las selenoamidas inicia con la formación del agente selenante, que es una mezcla equimolar de Se/NaBH₄ en etanol como disolvente. Esta reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente, agitación constante durante 30 minutos y bajo atmósfera de nitrógeno. Es importante señalar que esta reacción de formación del agente selenante es exotérmica, por lo que se realiza en un baño de hielo. La reacción inicialmente es de color negro por el selenio y al transcurrir el tiempo, se vuelve una solución de color rojo intenso.

A la mezcla selenante, se agregó el aminocarbeno de Fischer, en fase sólida o como una disolución de aminocarbeno en etanol, según se requiera. Se agregó

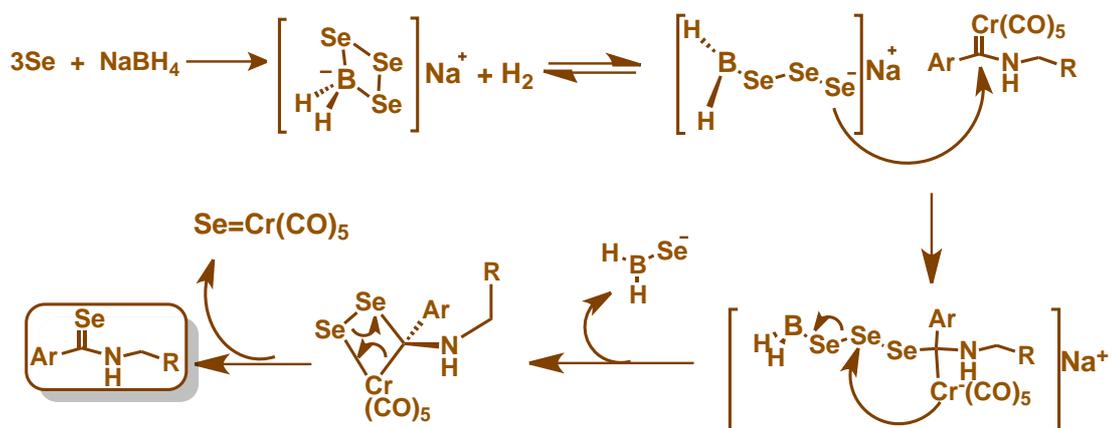
⁵⁷ Gutiérrez-Hernández, A. I.; López-Cortés J. G.; Ortega-Alfaro M. C.; Ramírez-Apan M. T.; Cázares-Mariner J. J.; Toscano, R. A. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4652.

en una proporción 1:10 con relación al aminocarbeno. Al término de la reacción, se evaporó el etanol a presión reducida y sin calentar el producto a más de 50 °C. Se extrajo con cloruro de metileno (CH₂Cl₂) y se purificó por cromatografía en columna empleando como fase estacionaria gel de sílice y un gradiente de hexano:acetato de etilo como fase móvil. Se estandarizó el tiempo de reacción en 2 h, prácticamente en todos los casos. Transcurrido este tiempo la materia prima se consumió completamente. Un mecanismo propuesto para la obtención de estas selenoamidas, así como la reacción global se encuentran en el **Esquema 14**.

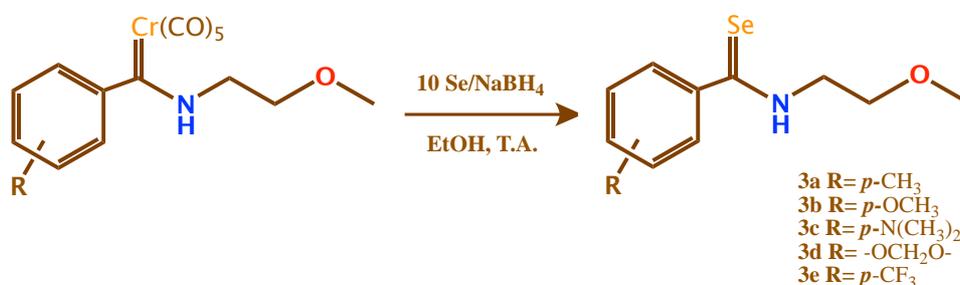
Las selenoamidas se obtienen en rendimientos buenos, sin embargo, tampoco se aprecia una relación entre el carácter electrónico del sustituyente del anillo aromático y el rendimiento de la reacción.

Es importante resaltar que mediante esta metodología se obtienen selenoamidas *N*-sustituidas, que permiten la introducción de diversos grupos funcionales en la cadena alquílica, en tiempos de reacción relativamente cortos y en condiciones de fácil manejo y baja toxicidad; por lo que se considera como una metodología sencilla y robusta. En la **Tabla 3.1** se describen las características físicas de las selenoamidas **3a-e**.

Mecanismo de desmetalación selenante



Reacción global de desmetalación



Esquema 14. Desmetalación seleniurativa de los aminocarbenos de Fischer

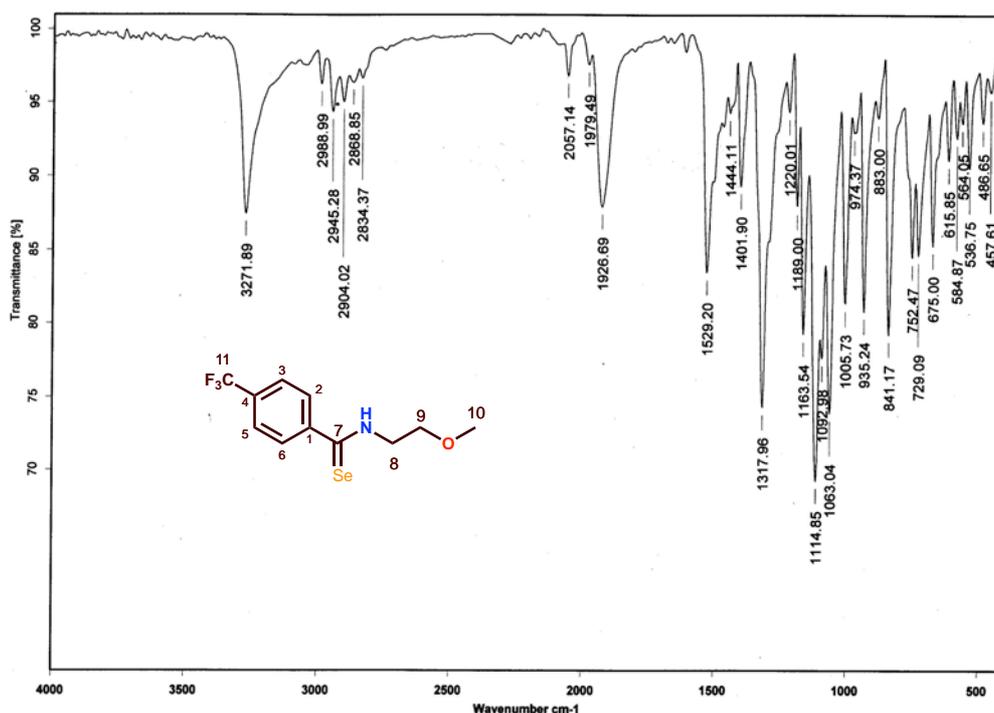
Tabla 3.1 Características físicas de las Selenoamidas **3a-e**

Compuesto	R	Rendimiento (%)	PF (°C)	Apariencia
3a	<i>p</i> -CH ₃	87	72-74	Sólido naranja
3b	<i>p</i> -OCH ₃	81	44-46	Sólido naranja
3c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	72	130	Sólido amarillo dorado
3d	-OCH ₂ O-	87	80	Sólido amarillo
3e	<i>p</i> -CF ₃	88	74	Sólido naranja

Después de sintetizar las selenoamidas **3a-e**, se realizó la caracterización espectroscópica correspondiente. Como ejemplo y para dar seguimiento a los cambios estructurales del aminocarbeno a la selenoamida, analizaremos el compuesto **3e**. El espectro de IR de la selenoamida **3e** (**Espectro 9**) aparece una banda característica correspondiente a la vibración del enlace N-H en 3272 cm⁻¹ como una señal definida y de intensidad media desplazada, sólo un poco hacia números de onda menores del valor asignado a su aminocarbeno precursor. En 1529 cm⁻¹ se observa una banda definida de intensidad media asignada a la vibración N-C=Se. Los datos espectroscópicos de IR para las selenoamidas (**3a-e**) se encuentran reunidos en la **Tabla 3.2**

Tabla 3.2 Resumen espectroscópico de IR (cm⁻¹) para los compuestos (**3a-e**)

Compuesto	R	ν (N-H)	ν (N-C=Se)
3a	<i>p</i> -CH ₃	3173	1539
3b	<i>p</i> -OCH ₃	3289	1523
3c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	3296	1516
3d	-OCH ₂ O-	3311	1537
3e	<i>p</i> -CF ₃	3272	1529



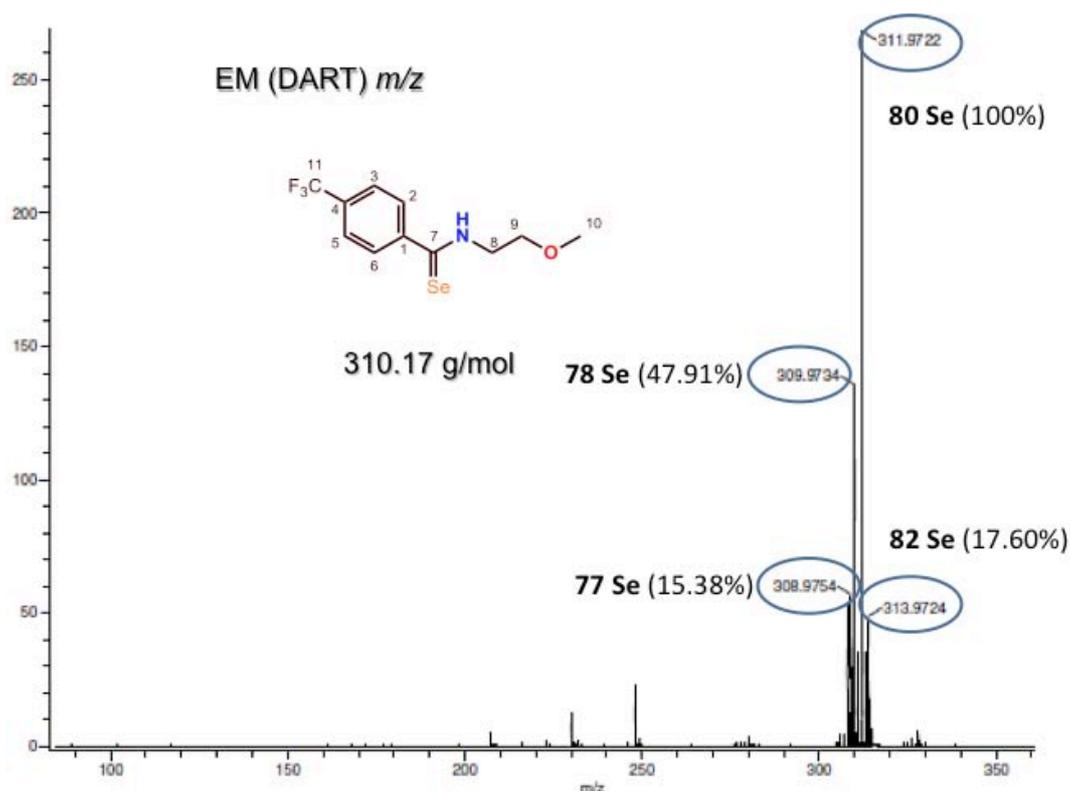
Espectro 9. Espectro de Infrarrojo (KBr) para el compuesto **3e**

La espectrometría de masas para las selenoamidas se realizó mediante DART (Direct Analysis in Real Time), esta técnica a diferencia de FAB+ revela poca información sobre el mecanismo de fragmentación de la molécula, sin embargo podemos observar en el espectro que se encuentran asociadas 5 señales para el ión molecular, esto es de esperarse si consideramos los isotopos naturales de selenio **Tabla 3.3**.

Tabla 3.3 Masa promedio y abundancia relativa de selenio e isotopos

Se 78.96 g/mol		
Isotopo	Masa	Abundancia relativa
⁷⁶ Se	75.9192	18.89
⁷⁷ Se	76.9199	15.38
⁷⁸ Se	77.9173	47.91
⁸⁰ Se	79.9165	100
⁸² Se	81.9167	17.60

En el espectro de masas para el compuesto **3e** (**Espectro 10**) se observa el ión molecular del isotopo ⁸²Se en 313.97 (17.6 %) *m/z*, ⁸⁰Se en 311.97 (100%), ⁷⁸Se en 309.97 (47.91%), ⁷⁷Se en 308.97 (15.38%). Para todas las selenoamidas, el pico base es también el ión molecular y éste corresponde al isotopo de mayor abundancia relativa, que es ⁸⁰Se. Se observa un pico en 248 *m/z* al cual se asignó a la pérdida de 82 unidades *m/z*, este pico además de haber perdido un fragmento de tipo [H₂Se], por la técnica de DART, se suman a este pico 18 unidades *m/z* por la presencia de H₂O.



Espectro 10. Espectro de Masas (DART) para el compuesto **3e**

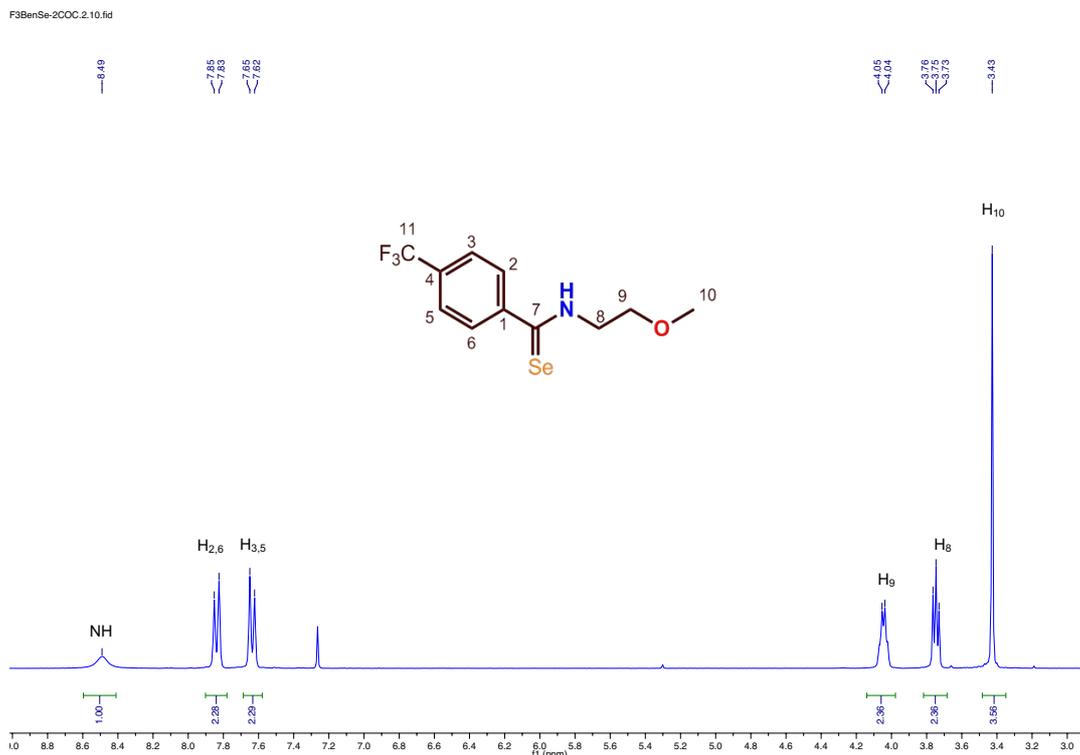
En la Tabla 3.4 se encuentran los datos espectroscópicos de masas para las selenoamidas **3a-e**. La abundancia relativa de los picos asignados al ión molecular también es la misma que la abundancia relativa natural.

Tabla 3.4 Datos EM (m/z) para las selenoamidas **3a-e**

Fragmento	3a	3b	3c	3d	3e
^{80}Se (100)	258	274	287	288	312
$[\text{M}^+ - \text{H}_2\text{Se}]$	176 (11.21)	210 (19.21)	223 (14.48)	224 (7.31)	248 (22.73)

El espectro de RMN ^1H de la Selenoamida **3e** (**Espectro 10**) muestra cambios sustanciales con respecto a su precursor *N*-metoxietilaminocarbeno de cromo (0) **2e**, en este espectro es notable la sustitución del fragmento metálico de cromo por el átomo de selenio. El cambio más visible es la ausencia de la isomería *E/Z*. Aparece una señal simple asociada al protón (N-H) en 8.49 ppm que integra para 1 H, en la zona de protones aromáticos aparecen señales que son características para un anillo 1,4 disustituido, estos hidrógenos se identifican como un sistema acoplado AA'BB', en 7.84 ppm se observa una señal doble, que integra para 2 protones, que se ha asignado a los protones (H-2 y H-6), en 7.64 ppm una señal doble que integra para 2 protones (H3 y H5), hacia campo alto en 4.05 ppm se aprecia una señal triple que integra para los dos protones del metileno base de oxígeno (H-9), una señal cuadruple para los dos protones del metileno base de nitrógeno en 3.75 ppm y por último en 3.43 ppm una señal simple para los protones de CH₃ del grupo metoxi (H-10).

Los desplazamientos químicos para las selenoamidas **3a-e** se encuentran concentrados en la Tabla 3.5.



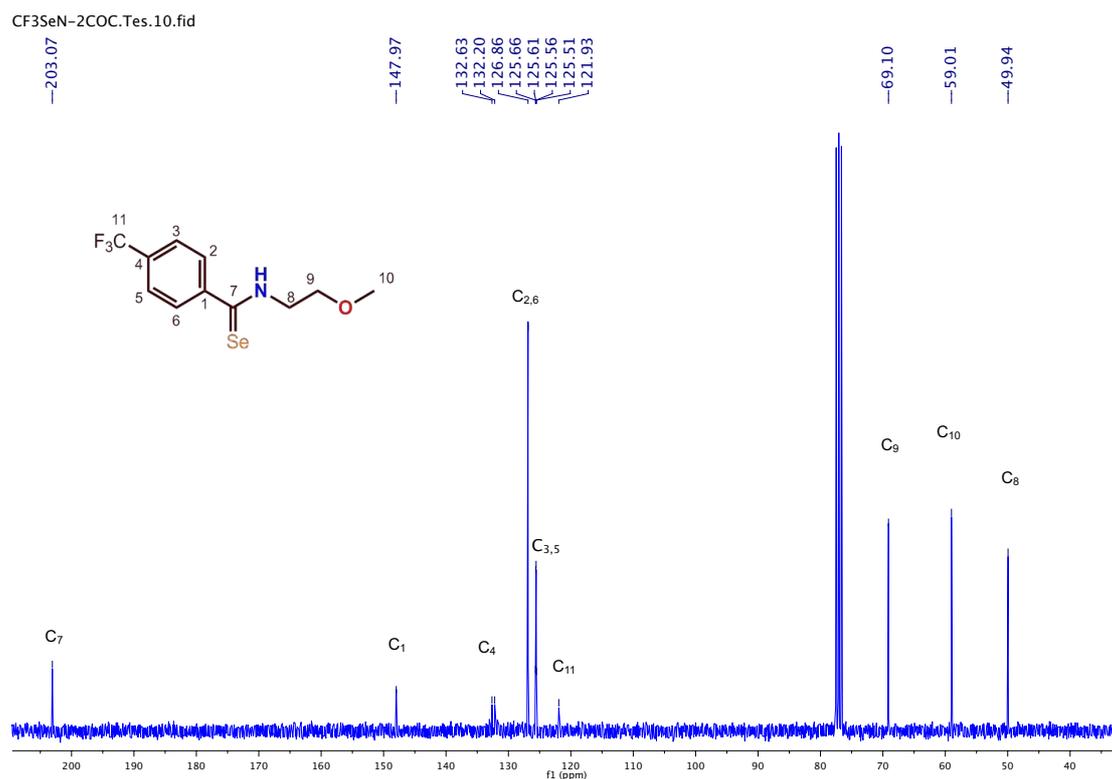
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H para el compuesto **3e**

Tabla 3.5 RMN de ^1H (ppm) para los compuestos **3a-e**

	3a <i>p</i> -CH ₃	3b <i>p</i> -OCH ₃	3c <i>p</i> -N(CH ₃) ₂	3d -OCH ₂ O-	3e <i>p</i> -CF ₃
RMN ^1H (300MHz, CDCl₃, ppm)	8.44 (NH, s, 1H) 7.68 (H _{2,6} , d, 2H) 7.18 (H _{3,5} , d, 2H) 4.07 (H ₉ , t, 2H) 3.73 (H ₈ , t, 2H) 3.41 (H ₁₀ s, 3H) 2.35 (H ₁₁ , s, 3H)	8.38 (NH, s, 1H) 7.80 (H _{2,6} , d, 2H) 6.88 (H _{3,5} , m, 2H) 4.08 (H ₉ , s, 2H) 3.85 (H ₁₁ , s, 3H) 3.73 (H ₈ s, 2H) 3.42 (H ₁₀ , s, 3H)	8.27 (NH, s, 1H) 7.81 (H _{2,6} , d, 2H) 6.61 (H _{3,5} , d, 2H) 4.12 (H ₉ , m, 2H) 3.72 (H ₈ , t, 2H) 3.41 (H ₁₀ s, 3H) 3.02 (H ₁₁ , s, 6H)	8.34 (NH, s, 1H) 7.39 (H ₆ , d, 1H) 7.30 (H ₂ , d, 1H) 6.77 (H ₅ , d, 1H) 6.02 (H ₁₁ , s, 2H) 4.06 (H ₉ , q, 2H) 3.72 (H ₈ , t, 2H) 3.42 (H ₁₀ s, 3H)	8.49 (NH, s, 1H) 7.84 (H _{2,6} , d, 2H) 7.64 (H _{3,5} , d, 2H) 4.05 (H ₉ , t, 2H) 4.06 (H ₉ , q, 2H) 3.75 (H ₈ , q, 2H) 3.43 (H ₁₀ s, 3H)

En el espectro de RMN de ^{13}C de la selenoamida **3e** (**Espectro 12**), la señal del grupo selenocarbonilo se localiza en 203.1 ppm (C-7), desplazada aproximadamente 80 ppm con respecto a su precursor aminocarbeno, seguido del carbono *ipso* al grupo selenoamida (C-1) que aparece en 148.0 ppm. La señal cuadruple para el carbono 4 del anillo aromático se encuentra en 132.4 ppm, la constante de acoplamiento es $J = 32.25$ Hz. Los carbonos aromáticos (C-2, C-6) aparecen como una señal singulete en 126.9 ppm, los carbonos (C-3, C-5) aparecen como una señal cuadruple en 125.6 ppm, con una constante de acoplamiento de $J = 3.75$ Hz. El carbono del grupo trifluorometilo (C-11) se acopla con fluor, sin embargo sólo se logra observar una de señal del

cuadruplete en 121.9 ppm y una segunda señal inserta en 125.5 ppm, por lo que se asigna el valor de 123.8 ppm, la constante de acoplamiento es $J = 270$ Hz. El carbono metileno base de oxígeno se localiza en 69.1 ppm, el carbono del grupo metoxi se localiza en 59.0 ppm y por último en 49.9 ppm el carbono base de nitrógeno. La diferencia en el desplazamiento para el carbono (C-7), selenocarbonilo, y la desaparición de las señales de los carbonilos metálicos, confirma la formación de la selenoamida a través de la demetalación oxidativa. En la Tabla 3.6 se reúnen los datos espectroscópicos de RMN de C para las selenoamidas **3a-e**.



Espectro 12. Espectro de RMN de ¹³C para el compuesto **3e**

Tabla 3.6 RMN de ¹³C (ppm) para los compuestos **3a-e**

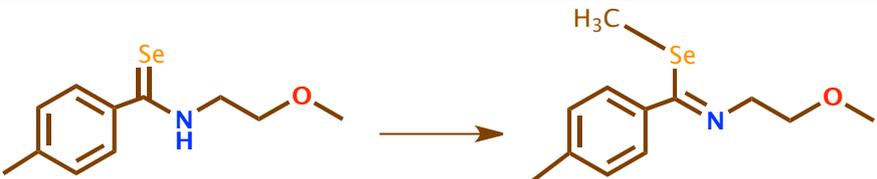
	3a <i>p</i> -CH ₃	3b <i>p</i> -OCH ₃	3c <i>p</i> -N(CH ₃) ₂	3d -OCH ₂ O-	3e <i>p</i> -CF ₃
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl ₃ , ppm)	204.1 C ₇	203.0 C ₇	201.8 C ₇	202.9 C ₇	203.1 C ₇
	142.0 C ₄	162.3 C ₄	152.7 C ₄	150.4 C ₄	148.0 C ₁
	141.8 C ₁	137.0 C ₁	130.9 C ₁	147.9 C ₁	148.0 C ₁
	129.2 C _{2,6}	128.7 C _{2,6}	128.9 C _{2,6}	139.2 C ₆	132.4 C ₄
	126.7 C _{3,5}	113.7 C _{3,5}	110.9 C _{3,5}	120.7 C ₂	126.9 C _{2,6}
	69.4 C ₉	69.5 C ₉	69.8 C ₉	108.4 C ₃	125.6 C _{3,5}
	58.9 C ₁₀	58.9 C ₁₀	58.9 C ₁₀	107.9 C ₅	107.9 C ₅
	49.7 C ₈	55.5 C ₁₁	49.4 C ₈	101.9 C ₁₁	69.1 C ₉
	21.4 C ₁₁	49.7 C ₈	40.2 C ₁₁	69.4 C ₉	59.0 C ₁₀
				59.0 C ₁₀	49.9 C ₈
			49.8 C ₈		

4.4 Síntesis de *N*-(2-metoxietil)benzimidoseleoatos de metilo (4a-e)

Como se menciona previamente en los antecedentes, se han reportado diversos métodos para la obtención de selenoimidatos y a partir de varias materias primas; sin embargo, en este trabajo se aborda su obtención mediante la alquilación de selenoamidas.

Inicialmente, se propuso realizar la reacción de alquilación empleando yoduro de metilo (MeI), no obstante, los resultados no fueron positivos (**Tabla 4.0**). La reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina y parece que la materia prima se transforma completamente, pero el producto de la reacción es una mezcla de compuestos que resulta inseparable por cromatografía en columna.

Tabla 4.0 Condiciones de reacción para la alquilación de las selenoamidas



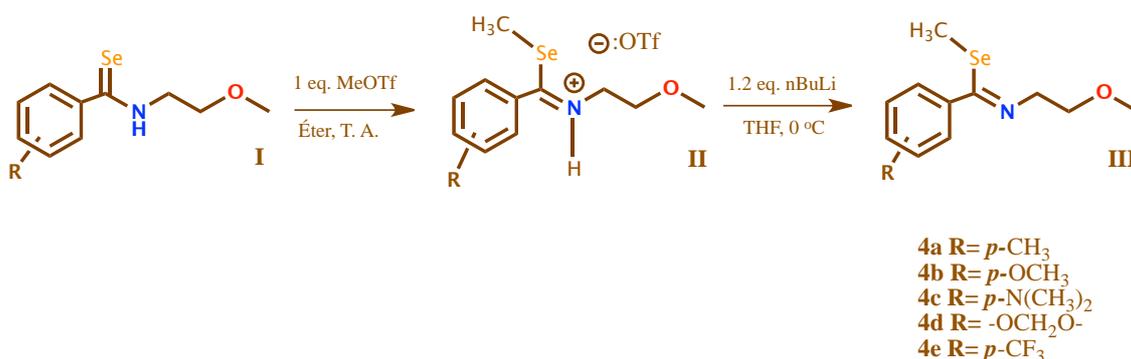
Selenoamida	Agente alquilante	Base	Tratamiento de la reacción	Producto
1 eq.	1 eq. MeI	No	NaHCO ₃	Descomposición y formación de múltiples productos
1 eq.	1 eq. MeI	1 eq. NaH	H ₂ O	Formación de productos inseparables
1 eq.	3 eq. MeI	4 eq. NaH	H ₂ O	Formación de productos inseparables
1 eq.	1 eq. TfOMe	4 eq. NaH	H ₂ O	Formación de productos inseparables
1 eq.	1 eq. TfOMe	1.2 eq. nBuLi	H ₂ O	Formación de un producto mayoritario

Después de realizar las pruebas descritas en la tabla anterior, se decidió utilizar el triflato de metilo como agente alquilante y *n*-BuLi como base para la síntesis de todos los selenoimidatos.

Para la síntesis de los selenoimidatos, se reprodujo la metodología descrita por Mutoh y Murai.⁵⁸ El procedimiento consistió en la alquilación de las selenoamidas secundarias (**I**) **3a-e**, empleando 1 equivalente de triflato de metilo en dietiléter. Se formó la sal de selenoimonio (**II**), que no es soluble en dietiléter por lo que se evaporó y redisolvió en THF. Se empleó una base para

⁵⁸ Mutoh Y., Murai T., *Organometallics*, **2004**, 23, 3907.

abstraer el protón de la sal y formar el selenoimidato (III) **4a-e**, por lo que se adicionó 1.2 equivalentes de *n*-BuLi (2.5 M en hexano) a la disolución a 0 °C y se mantuvo a esta temperatura en agitación constante por un lapso de 30 a 60 minutos, bajo atmósfera inerte de nitrógeno (**Esquema 15**). Se evaporó el THF a presión reducida y procurando no aumentar la temperatura del baño más de 45 °C, se adicionó agua para disolver la sal de LiOTf que se forma y se extrajo el producto con CH₂Cl₂. El producto se purificó por columna empleando como fase estacionaria alúmina neutra y como fase móvil diferentes gradientes de Hexano: Acetato de etilo. En todos los casos el producto que se obtiene es un líquido viscoso y de olor penetrante desagradable. Los rendimientos de esta reacción varían desde 32% hasta 92% y las características físicas de los compuestos se encuentran resumidos en la **Tabla 4.1**

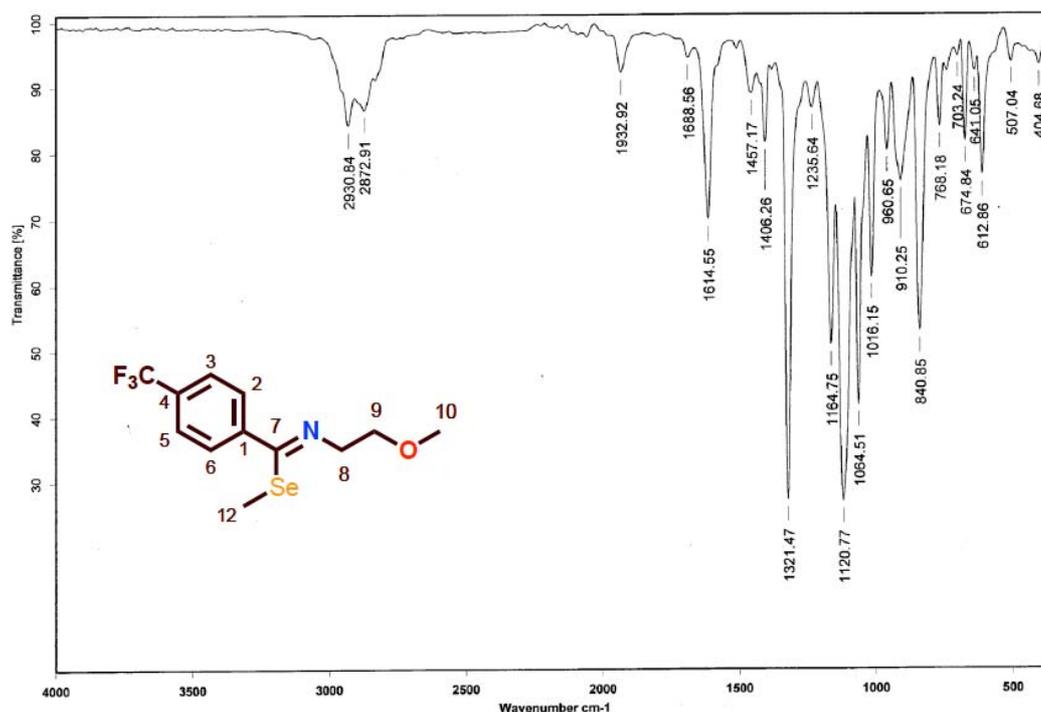


Esquema 15. Formación de selenoimidatos vía alquilación de Selenoamidas

Tabla 4.1 Características físicas de los selenoimidatos **4a-e**

Compuesto	R	Rendimiento (%)	Apariencia
4a	<i>p</i> -CH ₃	90	Líquido viscoso color naranja-oscuro
4b	<i>p</i> -OCH ₃	92	Líquido viscoso color amarillo-oscuro
4c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	32	Líquido viscoso color amarillo-pálido
4d	-OCH ₂ O-	82	Líquido viscoso color amarillo-oscuro
4e	<i>p</i> -CF ₃	75	Líquido viscoso color amarillo-pálido

Una vez obtenidos los selenoimidatos **4a-e**, se continuó con la caracterización espectroscópica. A manera de ejemplo y para dar seguimiento a los cambios estructurales en relación a su precursor selenoamida, se analiza el selenoimidato **4e**, en el **Espectro 13** la primera muestra de la conversión de la selenoamida en el selenoimidato es la desaparición de la banda de absorción del grupo selenocarbonilo (1529 cm⁻¹) y la ausencia de la banda característica de la vibración del enlace N-H de la selenoamida (3272 cm⁻¹). Por otro lado, la presencia de una banda en 1615 cm⁻¹ que se asigna a la vibración del enlace (Se-C=N). En el caso de estos compuestos, esencialmente, se modifica la vibración de un enlace, por lo que sólo consideramos como señal huella, la vibración del enlace (Se-C=N). Los valores de esta banda para los selenoimidatos **4a-e** se encuentran resumidos en la **Tabla 4.2**.

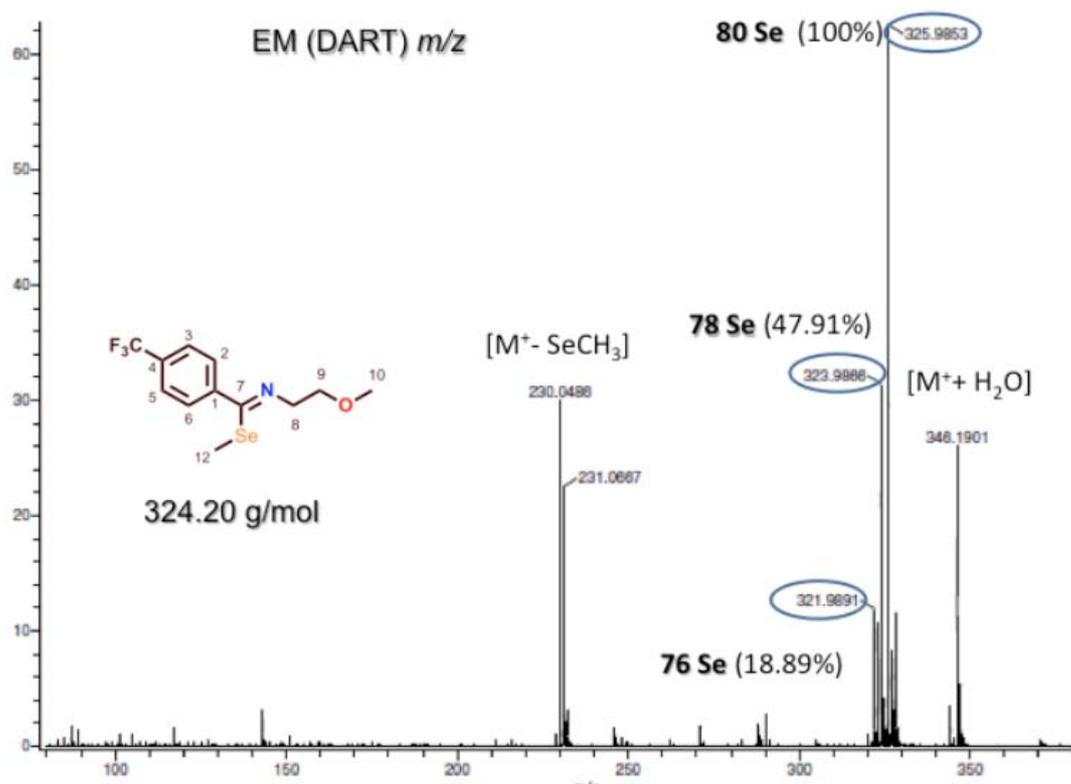


Espectro 13. Espectro de Infrarrojo (Película) para el compuesto **4e**

Tabla 4.2 Resumen espectroscópico de IR (cm^{-1}) para los compuestos **4a-e**

Compuesto	R	ν (Se-C=N)
4a	<i>p</i> -CH ₃	1614
4b	<i>p</i> -OCH ₃	1604
4c	<i>p</i> -N(CH ₃) ₂	1599
4d	-OCH ₂ O-	1605
4e	<i>p</i> -CF ₃	1615

La espectrometría de masas para los selenoimidatos se realizó mediante la técnica de DART. De forma análoga a sus precursores selenoamidas, se logran medir los picos para los distintos isótopos del átomo selenio. El espectro de masas para el compuesto **4e** (**Espectro 14**) muestra el ión molecular para el isótopo ⁸⁰Se en 325.98 (100%), ⁷⁸Se en 323.99 (47.91%), ⁷⁶Se en 321.97 (18.89%); se observa un pico en 230.05 unidades de *m/z* que se ha asignado a la pérdida de el fragmento [-SeCH₃]. Por otro lado, también se aprecia un pico en 346.19 *m/z* que es la señal del ión molecular más una molécula de agua que se ha asociado, la presencia del agua es propiamente parte de la técnica; lo mismo se puede observar para el pico en 231.07 *m/z* que tiene una unidad *m/z* extra, gracias a que se le suma un H⁺ el cual también es propio de la técnica de DART.



Espectro 14. Espectro de Masas (DART) para el compuesto **4e**

Es interesante analizar que para la espectroscopía de masas mediante la técnica de DART, tanto en el caso de las selenoamidas como los selenoimidatos, el fragmento que se forma de manera importante, además del ión molecular, es aquel en el que se pierde el átomo de Selenio. Las posibles implicaciones de la fuerza de este enlace (Se-C) en el grupo selenoimdato, nos permite confirmar las aplicaciones sintéticas para estos precursores de radicales imidoilo⁵⁹ e imidoeteres⁶⁰ y también como electrófilos susceptibles de ataques nucleofílicos. En la **Tabla 4.3** se encuentran resumidos los datos de la espectroscopía de masas para los selenoimidatos **4a-e**.

Tabla 4.3 Datos de EM (m/z) para los selenoimidatos **4a-e**

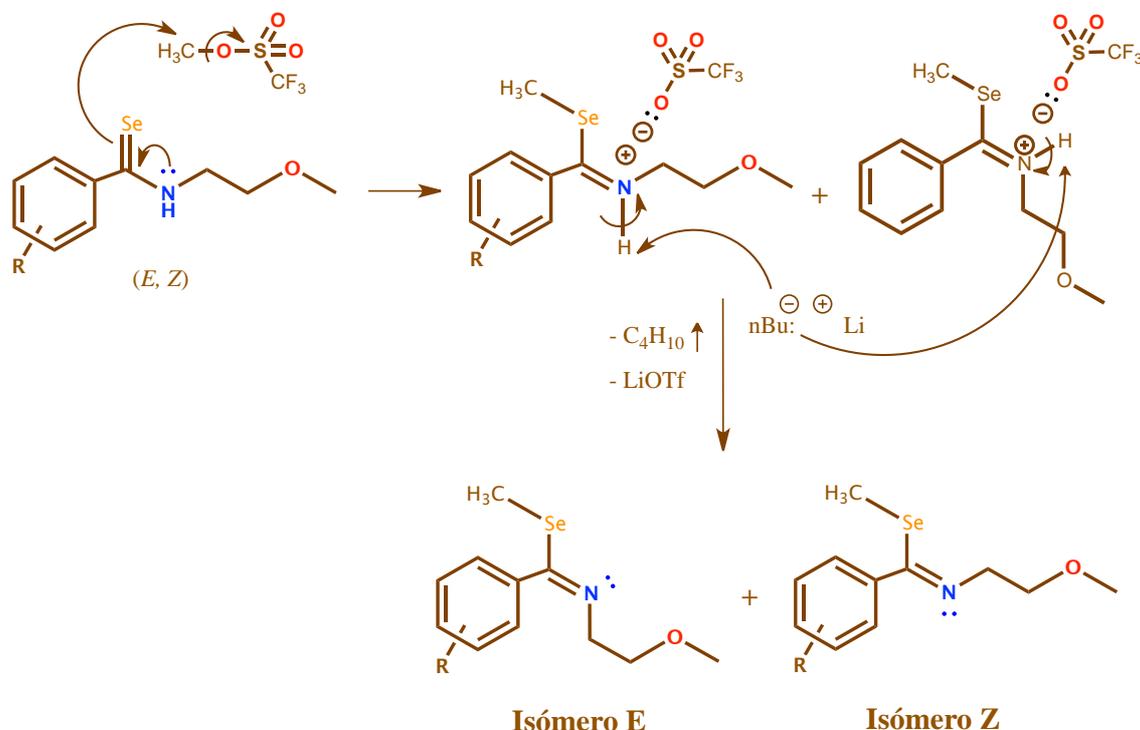
Fragmento	4a	4b	4c*	4d	4e**
^{80}Se (100)	272	288	301 (98)	302	326
[$\text{M}^+ - \text{SeCH}_3$]	176 (73.33)	192 (37.23)	205 (100)	206 (64.7)	231 (48.1)

*La abundancia relativa para los isótopos de selenio varía para este compuesto porque el ión molecular no es el mismo que el pico base.

⁵⁹ a) Bachi, M. D.; Denenmark, D.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 1886. b) Kim, S.; Lee, T. A. *Synlett* **1997**, 950. c) Fujiwara, S.; Matsuya, T.; Maeda, H.; Shin-ike, T.; Kambe, N. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2183.

⁶⁰ Maruoka, K.; Miyazaki, T.; Ando, M.; Matsumura, Y.; Sakane, S.; Hattori, K.; Yamamoto, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2831.

Durante la reacción de alquilación de las selenoamidas se forma una mezcla de isómeros que resulta inseparable por cromatografía en columna. La isomería *E* y *Z* para este tipo de compuestos ya se ha informado y es de esperarse por el enlace doble C=N,⁶⁶ el mecanismo de reacción probable para su formación se encuentra en el **Esquema 16**.



Esquema 6. Mecanismo propuesto para la síntesis de selenoimidatos a partir de selenoamidas

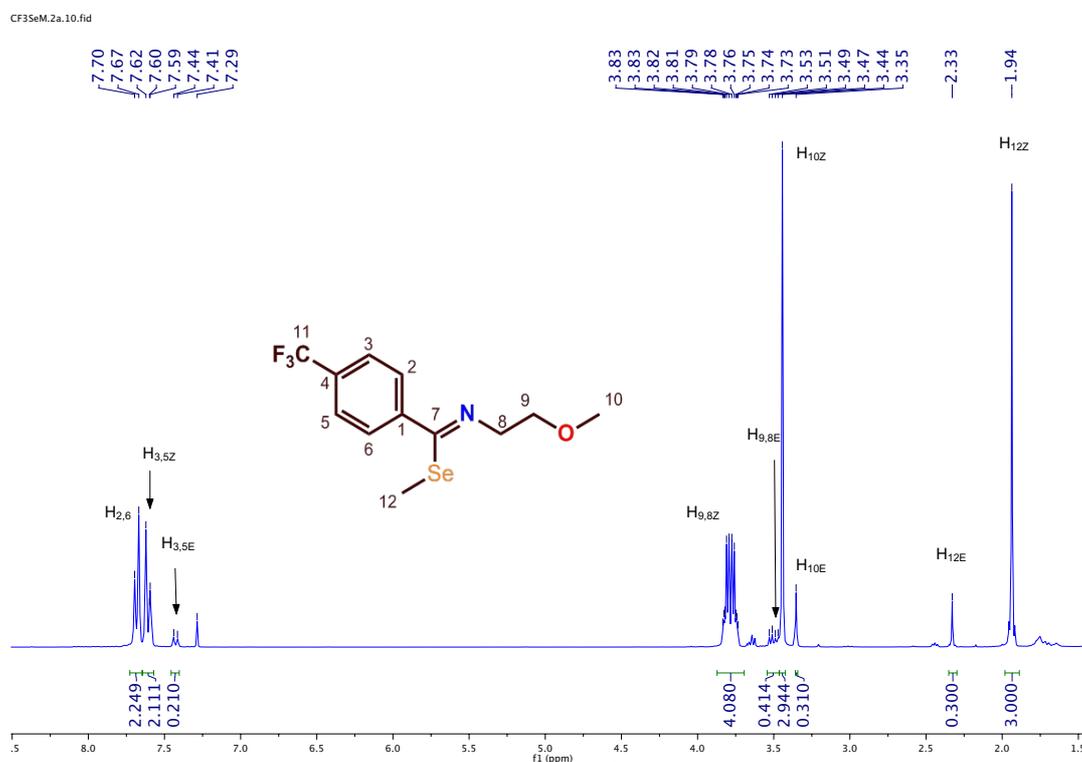
El mecanismo que se propone, muestra la formación de los isómeros *E* y *Z* a partir de los isómeros tipo *E* y *Z* de las selenoamidas. Para permitir la formación del isómero *E*, se establece la hipótesis de que el enlace C-N del grupo selenoamida es un enlace sencillo que puede superar la barrera de rotación y permitir la conformación requerida.

Murai y Niwa⁶¹ han reportado un equilibrio de isómeros *E* y *Z* para selenoamidas que demuestra la interconversión de los isómeros a temperatura ambiente en CDCl₃. Sin embargo, existe la predominancia de los isómeros *Z* en las selenoamidas que se ha explicado por la repulsión estérica entre los protones orto del anillo aromático y los protones del grupo alquilo en la posición α al grupo selenocarbonilo.

Como ejemplo y para contrastar con la selenoamida precedente, el espectro de RMN de ¹H para el selenoimidato **4e** (**Espectro 15**). A diferencia de su precursor selenoamida, no se observa la señal asignada al protón (NH) que es característica de la molécula. En el espectro podemos observar que en la zona de protones aromáticos aparecen señales características de un anillo bencénico 1,4 disustituido; estos hidrógenos se identifican como un sistema

⁶¹ Murai, T.; Niwa, N.; Ezaka, T.; Kato, S. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 374

acoplado AA'BB'. En 7.68 ppm se localiza una señal doble que integra para dos protones que se han asignado como los protones (H-2 y H6). Para el caso en particular de este compuesto, se nota que la integración es ligeramente mayor a 2 y se plantea que esto es porque esta señal contiene la integración para ambos isómeros geométricos *E* y *Z*; si observamos en 7.61 ppm se tiene la señal doble correspondiente a los protones (H-3 y H-5) para el isómero *Z* y en 7.43 ppm la señal para los protones equivalentes en el isómero *E*, hacia campo bajo en 3.78 ppm se localiza una señal múltiple que integra para 4 protones que se ha asignado a los grupos metileno (H-8 y H-9) del isómero *Z* mientras que una señal múltiple en 3.51 ppm, apenas perceptible, pero que la integración corresponde con el equivalente al isómero *E*; en 3.44 ppm se observa una señal simple que se asigna al grupo metoxilo (H-10) del isómero *Z*, y su correspondiente señal duplicada en 3.35 ppm para el isómero *E*; por último, aparecen el par de señales simples para el grupo metilo base de selenio (H-12), el cual también es característico de los selenoimidatos y que en las selenoamidas precursoras no está presente, en 2.33 y 1.94 ppm para los isómeros *E* y *Z* respectivamente.



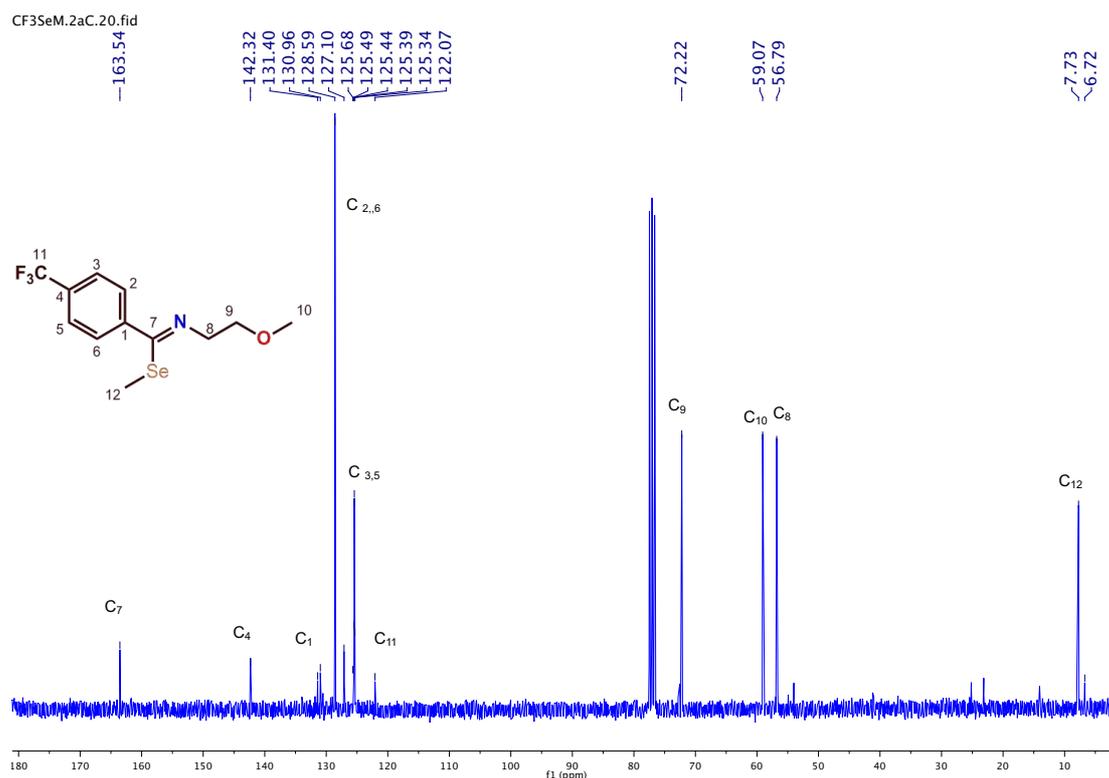
Espectro 15. Espectro de RMN ^1H para el compuesto **4e**

Una vez asignadas las señales para los isómeros conformacionales, se determinó la proporción de estos isómeros, fue definida mediante la integración de la señal que mejor se define en los espectros de ^1H , que en todos los casos resultó ser la de los protones del grupo CH_3 base de selenio. Para el compuesto **4e** la proporción es 91:9 en relación a los isómeros *Z*:*E*, esta relación es muy similar a la que se ha reportado previamente para benzoselenoimidatos análogos. En la **Tabla 4.4** se resumen los datos espectroscópicos de RMN de ^1H para los selenoimidatos **4a-e** y su proporción entre isómeros.

Tabla 4.4 RMN de ^1H (ppm) para los compuestos **4a-e**


	4a <i>p</i> -CH ₃	4b <i>p</i> -OCH ₃	4c <i>p</i> -N(CH ₃) ₂	4d -OCH ₂ O-	4e <i>p</i> -CF ₃
Proporción E:Z	11:89	11:89	11:89	11:89	9:91
RMN ^1H (300MHz, CDCl₃, ppm)	7.86 (H _{2,6E} , d, 2H) 7.64 (H _{3,5E} , d, 2H) 7.36 (H _{2,6Z} , d, 2H) 7.18 (H _{3,5Z} , m, 2H) 3.75 (H _{9,8Z} , dd, 4H) 3.57 (H _{9,8E} , dd, 4H) 3.41 (H _{10Z} , s, 3H) 3.32 (H _{10E} , s, 3H) 2.35 (H ₁₁ , s, 3H) 2.25 (H _{12E} , s, 3H) 1.91 (H _{12Z} , s, 3H)	7.95 (H _{2,6E} , d, 2H) 7.45 (H _{2,6Z} , d, 2H) 7.26 (H _{3,5E} , d, 2H) 6.90 (H _{3,5Z} , d, 2H) 3.86 (H _{11E} , s, 3H) 3.82 (H _{11Z} , s, 3H) 3.76 (H _{9,8Z} , m, 4H) 3.59 (H _{9,8E} , dd, 4H) 3.42 (H _{10Z} , s, 3H) 3.34 (H _{10E} , s, 3H) 2.26 (H _{12E} , s, 3H) 1.95 (H _{12Z} , s, 3H)	7.88 (H _{2,6E} , d, 2H) 7.44 (H _{2,6Z} , d, 2H) 7.22 (H _{3,5E} , d, 2H) 6.67 (H _{3,5Z} , m, 2H) 3.76 (H _{9,8Z} , s, 2H) 3.62 (H _{9,8E} , s, 2H) 3.42 (H _{10,8E} , s, 5H) 3.34 (H _{10,8Z} , s, 5H) 3.05 (H _{11E} , s, 6H) 2.98 (H _{11Z} , s, 6H) 2.24 (H _{12E} , s, 3H) 1.99 (H _{12Z} , s, 3H)	7.03 (H ₆ , dd, 1H) 7.00 (H ₂ , s, 1H) 6.81 (H ₅ , d, 1H) 5.98 (H ₁₁ , s, 2H) 3.74 (H _{9,8Z} , m, 4H) 3.59 (H _{9,8E} , dd, 4H) 3.41 (H _{10Z} , s, 3H) 3.34 (H _{10E} , s, 3H) 2.26 (H _{12E} , s, 3H) 1.98 (H _{12Z} , s, 3H)	7.67 (H _{2,6} , d, 2H) 7.61 (H _{3,5Z} , m, 2H) 7.59 (H _{3,5E} , m, 2H) 3.77 (H _{9,8Z} , m, 4H) 3.49 (H _{9,8E} , m, 4H) 3.43 (H _{10Z} , s, 3H) 3.34 (H _{10E} , s, 3H) 2.31 (H _{12E} , s, 3H) 1.92 (H _{12Z} , s, 3H)

En el análisis espectroscópico de RMN de ^{13}C del selenoimidato **4e** (**Espectro 16**) la señal del carbono del grupo selenoimidoilo (Se-C=N) se localiza en 163.5 ppm aproximadamente 40 ppm más hacia campo alto que su precursor selenocarbonilo; el carbono aromático *ipso* (C-1) aparece en 142.3 ppm, el carbono (C-4) se localiza en 131.2 ppm, con una constante de acoplamiento $J=3$ Hz. Para los carbonos aromáticos (C-2 y C-6) se observa una señal simple 128.6 ppm, mientras que para los carbonos (C-3 y C-5) se observa una señal cuadruple en 125.4 ppm, con una constante de acoplamiento de $J=3.75$ Hz. El carbono del grupo trifluorometilo (C-11) se acopla con el F y se logran observar dos señales que se asignan a la señal cuadruple para este grupo CF₃, en 123.9 ppm y una constante de acoplamiento de $J=270.75$ Hz. Los carbonos de la cadena alquílica, como el metileno base de oxígeno, se encuentra en 72.7 ppm, seguido del grupo metoxi (C-10) que aparece en 59.1 ppm y el metileno (C-8) base de nitrógeno en 56.8 ppm. Hacia campo muy bajo, se localiza la señal del carbono del grupo metilo base de selenio (C-12) en 7.7 y 6.7 ppm.



Espectro 16. Espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **4e**

Tabla 4.5 RMN de ^{13}C (ppm) para los compuestos **4a-e**

	4a <i>p</i> - CH_3	4b <i>p</i> - OCH_3	4c <i>p</i> - $\text{N}(\text{CH}_3)_2$	4d - OCH_2O -	4e <i>p</i> - CF_3
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , ppm)	165.0 C_7	164.4 C_7	164.6 C_7	164.9, 163.9 C_7	163.5 C_7
	139.3 C_4	160.5 C_4	151.2 C_4	148.6, 148.1 C_4	142.3 C_1
	136.2 C_1	131.7 C_1	130.3, 129.9 C_1	147.6, 147.5 C_1	131.2 C_4
	129.1, 128.9 $\text{C}_{2,6}$	129.9 $\text{C}_{2,6}$	128.1, 126.9 $\text{C}_{2,6}$	133.3, 131.4 C_6	128.6 $\text{C}_{2,6}$
	128.6, 128.2 $\text{C}_{3,5}$	113.6 $\text{C}_{3,5}$	111.4, 111.3 $\text{C}_{3,5}$	122.8, 120.7 C_2	125.4 $\text{C}_{3,5}$
	72.4 C_9	72.4 C_9	73.1, 72.5 C_9	108.8, 108.2 C_3	123.9 C_{11}
	59.0 C_{10}	59.0 C_{11}	59.0 C_{10}	108.0, 107.3 C_5	129.9 C_{11}
	56.5 C_8	56.6 C_{10}	56.7 C_8	101.4 C_{11}	72.2 C_9
	21.3 C_{11}	55.3 C_8	40.3 C_{11}	72.8, 72.4 C_9	59.1 C_{10}
	7.8 C_{12}	7.9 C_{12}	8.0 C_{12}	59.0, 58.9 C_{10}	56.8 C_8
				56.7, 53.8 C_8	7.7 C_{12}
			8.0, 6.7 C_{12}		

De forma complementaria, se exploró en la RMN de ^{77}Se de los selenomidatos. Se conoce que el grupo selenoamida tiene un desplazamiento químico próximo a 600 ppm, mientras que el grupo selenoimidato presenta el desplazamiento hacia campo más bajo, cerca de 300 ppm.⁵⁸

Para continuar con el análisis de los selenoimidatos, lo más conveniente sería observar el espectro del selenoimidato **4e** sin embargo, para este compuesto no se logran observar las dos señales para el núcleo de selenio. Debido a que la proporción del isómero *Z* con relación al isómero *E* es muy baja (~ 90: 10), la

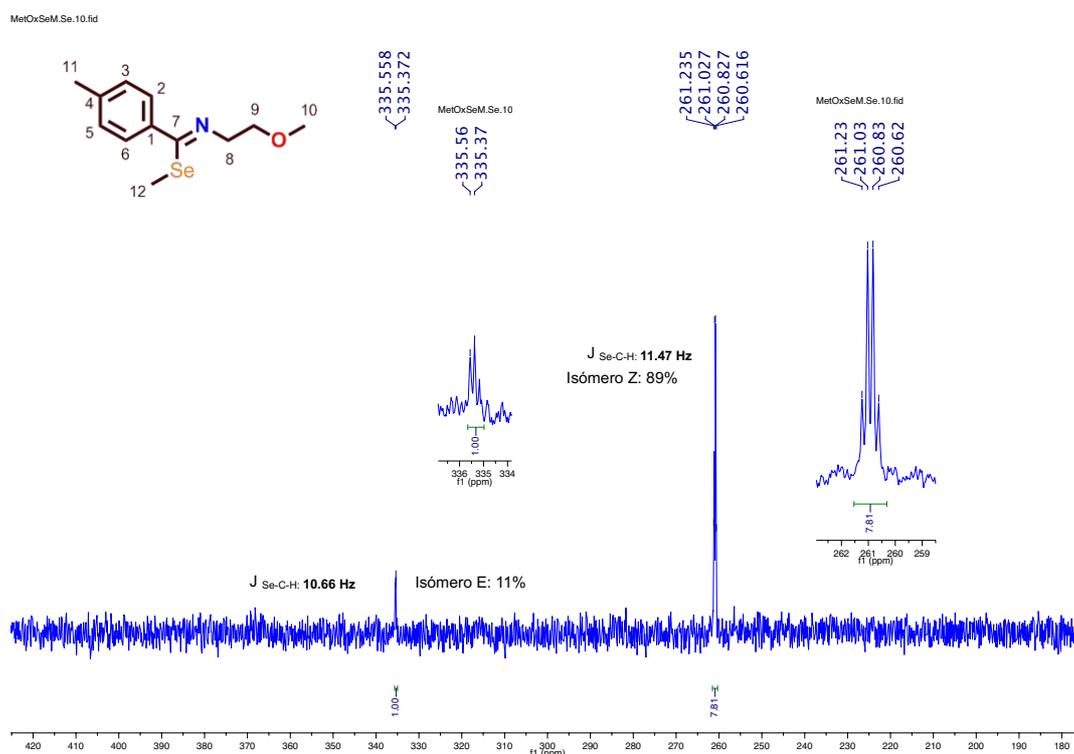
señales para éste isómero en RMN de ^{77}Se no siempre se observan y por esta misma razón no se observa la multiplicidad de la señal.

Por ejemplo, el **Espectro 17** para el compuesto **4a** muestra una señal en 260.9 ppm que confirma la formación del enlace (Se-C=N), el enlace sencillo (Se-C) se encuentra desplazado hacia campo bajo. El selenio se acopla al H a través del enlace (Se-C-H), por lo que se observa cuadruple, la constante de acoplamiento para el isómero Z es J : 11.47 Hz .

Mediante las constantes de acoplamiento también se puede confirmar la presencia de los isómeros configuracionales, ya que esta constante (J) es la misma para las 2 señales que poseen diferente desplazamiento químico.

La señal para el isómero E se localiza hacia campo alto, en 335.5 ppm. En esta conformación el par de electrones libre en el átomo de nitrógeno interacciona con el núcleo de Selenio, desprotegiéndolo, y desplazando la señal. La constante de acoplamiento para esta señal es J : 10.66 Hz, valor es muy próximo al del isómero Z.

En la **Tabla 4.6** se resumen los datos espectroscópicos de RMN ^{77}Se para los compuestos **4a-e**, y también cabe mencionar que la integración de las señales de selenio confirman la proporción de los isómeros.



Espectro 17. Espectro de RMN de ^{77}Se para el compuesto **4a**

Tabla 4.6 RMN de ^{77}Se (ppm) para los compuestos **4a-e**

		4a <i>p</i> -CH ₃	4b <i>p</i> -OCH ₃	4c <i>p</i> - N(CH ₃) ₂	4d -OCH ₂ O-	4e <i>p</i> -CF ₃
Isómero E	δ	335.5	-	328.2	337.1	-
	J (Hz)	10.66	-	12.1	-	-
Isómero Z	δ	260.9	253.7	235.7	256.5	270.3
	J (Hz)	11.47	11.98	11.7	11.97	12.04

De forma complementaria con la caracterización de los selenoimidatos, y en consideración de las pruebas biológicas a las que fueron sometidos, se evaluó su estabilidad en disolución. Para llevar a cabo este experimento, se decidió observar los posibles cambios en la estructura mediante RMN de ^1H . La necesidad de verificar la estabilidad de los selenoimidatos se debe a la susceptibilidad de la molécula a oxidarse, lo que la llevaría a la pérdida del fragmento de selenio y la formación de la amida correspondiente. Se realizó la caracterización de RMN de ^1H para el selenoimidato **4e**, por espacio de 7 días, adquiriendo un espectro cada día. El selenoimidato se mantuvo en disolución empleando como disolvente CH_2Cl_2 y durante este tiempo no se observaron cambios en el espectro, ni aparición de nuevas señales o desaparición de las señales asignadas al compuesto. Por lo tanto, consideramos que el selenoimidato mantiene su estructura sin cambios significativos en disolución de CD_2Cl_2 , a temperatura ambiente y sin necesidad de atmósfera inerte.

4.5 Pruebas de Citotoxicidad

La terapia para el cáncer incluye la cirugía y radioterapia, que de ser exitosa es seguida por quimioterapia sistémica. El objetivo de la mayoría de los fármacos quimioterapéuticos, actualmente en uso clínico, es matar células tumorales malignas por inhibición de alguno de los mecanismos implicados en la división celular.

En este contexto, desde 1950, mediante la química sintética se han generado un gran número de fármacos antitumorales prototipo a través de los programas de rastreo *in vitro* promovidos por el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) en Estados Unidos de América empleando un amplio intervalo de líneas celulares cancerosas. Mediante uno de los protocolos descritos por el NCI, se logró la evaluación de una familia de selenoamidas sintetizadas por nuestro grupo de investigación demostrando poseer excelente actividad citotóxica frente a diversas líneas celulares cancerosas.

Teniendo presente esta evaluación citotóxica, se sometió a la nueva familia de selenoimidatos a un barrido primario en una concentración 50 μ M en solución etanólica, frente a distintas líneas celulares cancerosas como glía de sistema nervioso central (U251), cáncer de prostata (PC-3), cáncer de leucemia (K562), cáncer de colón (HCT-15), cáncer de mama (MCF-7) y células con adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1). Esta evaluación consistió en exponer a cada compuesto de esta familia (**4a-e**) con cada una de estas líneas celulares a la concentración antes mencionada y observar su habilidad para inhibir el crecimiento de dichas células, descrito como un porcentaje relativo de inhibición.

Este estudio arrojó como resultado que todos los nuevos selenoimidatos presentan actividad citotóxica frente a todas las líneas celulares cancerosas a las que se sometieron. En la **Tabla 5.1** se concentran los porcentajes de inhibición al crecimiento celular que mostraron.

Tabla 5.1 Procentaje de Inhibición del crecimiento celular

Compuesto	% Inhibición del crecimiento de la línea celular					
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1
4a	100	100	89.13	65.92	91.15	96.55
4b	100	100	93.48	65.41	89.26	99.10
4c	100	100	97.1	72.19	70.79	99.73
4d	100	100	54.35	76.98	88.49	98.74
4e	100	100	77.39	70.97	73.2	96.6

Para una mejor discernimiento de los datos presentados en la tabla anterior, se ilustran en el **Gráfico 1**, el cual presenta un panorama global sobre el porcentaje de inhibición frente a todas la líneas celulares evaluadas.

Barrido Primario 50 mM

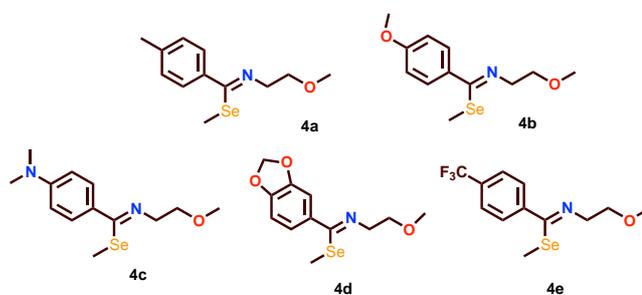
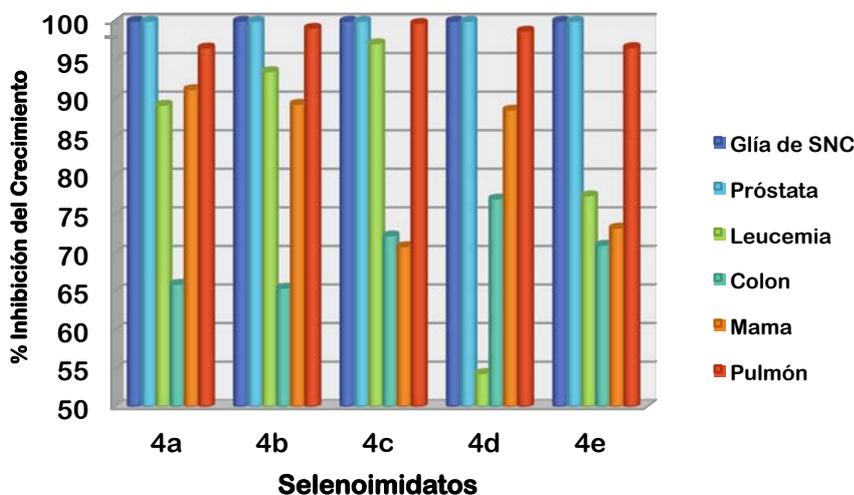


Gráfico 1

A partir del **Gráfico 1**, se observa que los selenoimidatos **4a-e** inhiben hasta un 100% del crecimiento de las líneas celulares cancerosas de Glía de SNC, Próstata y Pulmón, mientras que, por otro lado, no se observa selectividad por ninguno de los compuestos para inhibir una línea celular en particular. Para demostrar la hipótesis sobre la relación del grupo sustituyente en el anillo aromático con la potencia o selectividad, es necesario conocer los valores de CI_{50} .

En las líneas celulares cancerosas de Leucemia, Colon y Mama también se inhibe el crecimiento por la presencia de los selenoimidatos; no obstante, el porcentaje de inhibición no es muy alto, es variable y no se observa selectividad. En algunos casos, para una misma línea celular, el porcentaje de inhibición es ligeramente diferente por lo que se considera que no son candidatos óptimos para indagar más sobre su efectividad en estas líneas celulares.

Como resultado de esta evaluación citotóxica primaria de los selenoimidatos, es notable que son excelentes candidatos para una evaluación en las líneas celulares de glioblastoma (CNS U251), adenocarcinoma prostático (PC-3) y adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1) ya que son especialmente citotóxicos. Para tener un conocimiento más certero y cuantificable sobre la potencia de los selenoimidatos y la relación del posible efecto del sustituyente en el anillo

aromático, se eligieron estas 3 líneas celulares para determinar el valor de la concentración inhibitoria (CI_{50}).

Los resultados de esta evaluación (CI_{50}) se encuentran en la **Tabla 5.2** y para una interpretación más clara y que permita la comparación se han gráficado estos datos en el **Gráfico 2**.

Tabla 5.2 Valores de CI_{50} (μM) para los selenoimidatos **4a-e**

Compuesto	U251	PC-3	SKLU-1
4a	2.24±0.05	1.94±0.09	2.78±0.1
4b	1.47±0.1	1.49 ±0.1	2.39±0.1
4c	1.15±0.04	1.59±0.1	2.32±0.7
4d	1.03±0.1	1.17±0.1	1.57±0.3
4e	1.06±0.1	1.60±0.1	1.15±0.1

CI_{50} de selenoimidatos para Líneas Celulares

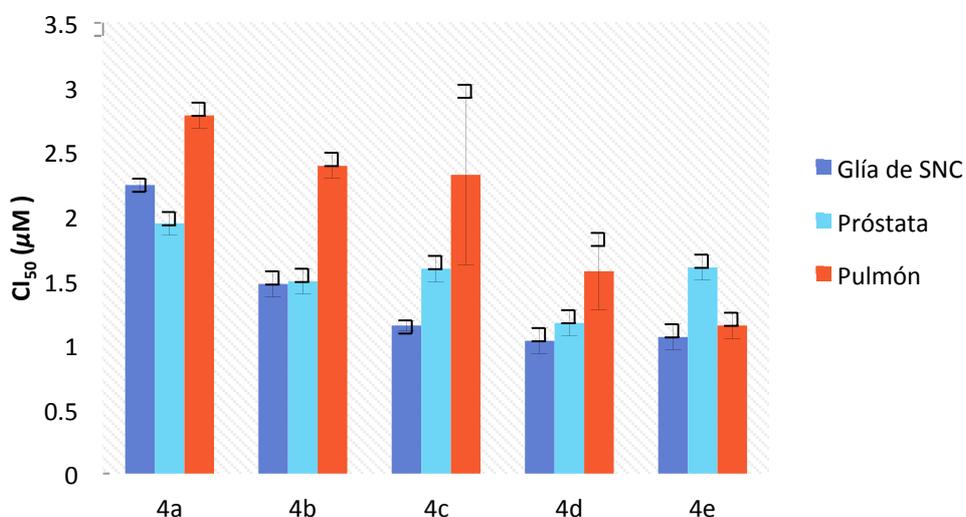


Gráfico 2 Valores de CI_{50} (μM) para Selenoimidatos **4a-e**

De acuerdo a los valores de CI_{50} para los selenoimidatos, se puede observar que la presencia del grupo sustituyente en el anillo aromático no influye de forma substancial sobre la actividad del selenoimidato, por lo que la actividad citotóxica se sugiere es debida a la presencia del enlace $[\text{Se}-\text{C}=\text{N}]$. Aunado a este hallazgo, también es evidente que el valor de CI_{50} para cada uno de los compuestos es muy bajo, lo que nos indica que son moléculas muy potentes para inhibir el crecimiento celular pues, se han alcanzado valores de $1.03 \mu\text{M}$ como mínimo y un máximo de $2.78 \mu\text{M}$.

Con estos valores se demuestra que los compuestos **4a-e** ejercen actividad citotóxica superior a algunos de los fármacos de uso clínico actual como el Etoposido y Tamoxifen, por lo que se tendrán como moléculas de referencia para futuras comparaciones.

Valores de CI_{50} μ M	Glía de SNC (U251)	Próstata (PC-3)	Pulmón (SKLU-1)
Etoposido	2.15 \pm 0.3	28.64 \pm 2.7	4.58 \pm 0.7
Tamoxifen	13.92 \pm 0.9	11.76 \pm 0.54	13.64 \pm 1.1

El Etoposido es un derivado semisintético de podofilotoxina, inhibidor de la enzima topoisomerasa II, es ampliamente usado como un inductor de apoptosis y agente antitumoral. Inhibe la síntesis de DNA por la formación de un complejo con la topoisomerasa II y el DNA. El complejo induce rupturas en la doble cadena de DNA y evita su reparación. Las rupturas acumuladas evitan que la célula entre en la fase mitótica de la división celular y llevan a la célula a la muerte.⁶²

Tamoxifen esta indicado para el tratamiento del cáncer metastásico en hombres y principalmente en mujeres para el cáncer de seno. Pertecene a la clase de fármacos llamados Receptores Moduladores Estrógeno-Selectivo (SERMs), que es un agente nonesteroideo. La unión prolongada de tamoxifen a la cromatina nuclear resulta en una reducción en la actividad de la DNA polimerasa.⁶³

Para las células de glioblastoma de SNC, aunque no se observa influencia del sustituyente sobre la potencia del selenoimidato, estos siguen siendo moléculas muy potentes con probabilidad de ser prototipos. Tanto para las líneas de U251 y PC-3 se observa que el compuesto con mayor potencia para inhibir el crecimiento celular es el compuesto **4d**. Para la línea celular U251 presenta una CI_{50} de 1.03 \pm 0.1 μ M el cual comparado con el valor del fármaco de uso clínico Etoposido es 2.15 \pm 0.3 μ M, aproximadamente 2 veces más potente y con Tamoxifen hasta 13 veces más potente (13.92 \pm 0.9 μ M) **Gráfico 3**.

⁶² Drugbank. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00773>

⁶³ Drugbank. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00675>

CI₅₀ de Selenoimidatos en U251

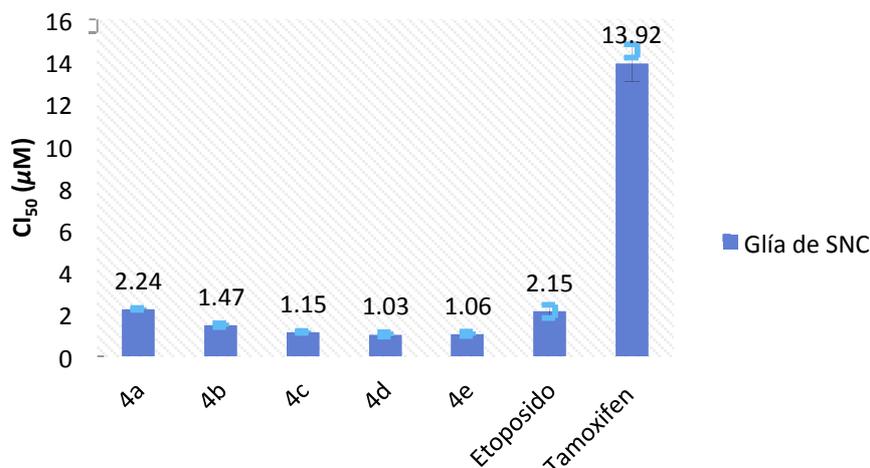


Gráfico 3 Valores de CI₅₀ (µM) para Selenoimidatos **4a-e** en U251

En la línea celular PC-3 (**Gráfico 4**) el selenoimidato más potente es también el **4d**; sin embargo, los demás selenoimidatos presentan un valor de CI₅₀ muy cercano. El valor de CI₅₀ promedio para los selenoimidatos **4a-e** es 1.56 µM, es decir, no existe una diferencia significativa en la potencia de inhibición entre los selenoimidatos. En comparación con Etoposido y tamoxifen, son mucho más potentes, 18 veces más potente que etoposido y 7 veces más potente que tamoxifen.

CI₅₀ de Selenoimidatos en PC-3

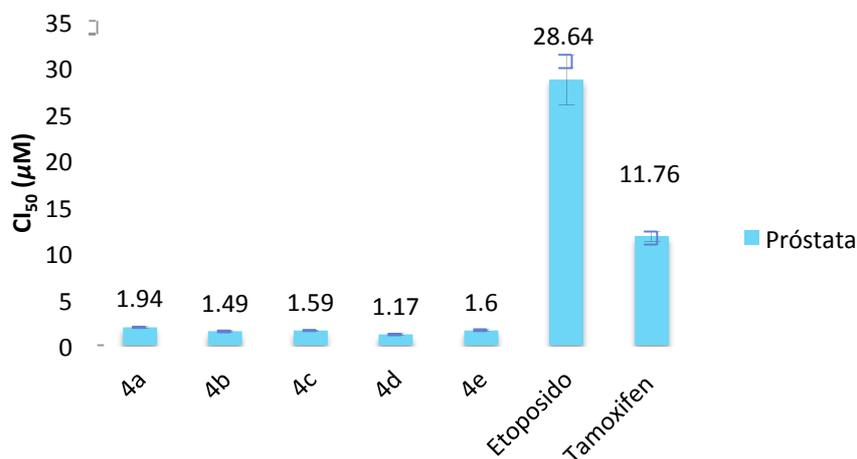


Gráfico 4 Valores de CI₅₀ (µM) para Selenoimidatos **4a-e** en PC-3

Para las células de adenocarcinoma de pulmón, se observa que el compuesto más potente es **4e** ($1.15 \pm 0. \mu\text{M}$) **Gráfico 5**. Este valor sugiere que un sustituyente electroatractor en el anillo favorece la potencia sobre la inhibición del crecimiento, aunque al comparar este valor con el del compuesto **4c** ($2.32 \pm 0.7 \mu\text{M}$) en el que el grupo sustituyente en el anillo presenta un carácter

electrónico opuesto, se concluye que la diferencia es mínima y no hay relación sustituyente-actividad.

CI₅₀ de Selenoimidatos en SKLU-1

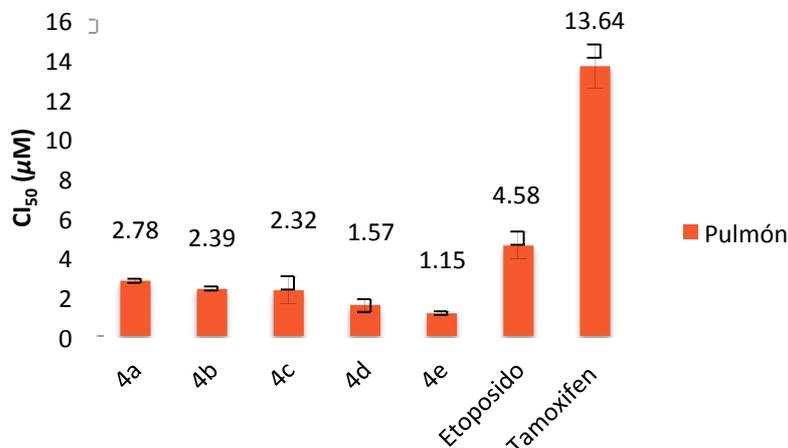
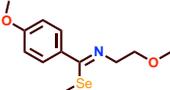
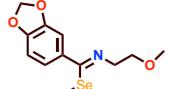


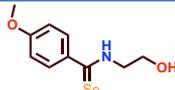
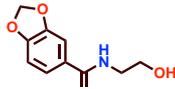
Gráfico 5 Valores de CI₅₀ (µM) para Selenoimidatos **4a-e** en SKLU-1

Finalmente, se consideró conveniente realizar una comparación entre la actividad que presentan las selenoamidas y los selenoimidatos para confirmar que esta conversión del grupo funcional resultó provechosa. En nuestro grupo de trabajo, previamente se sintetizaron y evaluaron 2 selenoamidas (**C-16** y **C-17**)⁵⁷ que son análogas a los selenoimidatos **4b** y **4d** aquí reportados. Se comparan los valores de CI₅₀ para las líneas celulares de glioblastoma de SNC y adenocarcinoma prostático (**Tabla 5.3**).

Es notable la diferencia de la eficacia entre la selenoamida **C-16** y el selenoimidato, el compuesto **4b** es aproximadamente 13 veces más potente para inhibir el crecimiento de células de glioblastoma de SNC. También, si se comparan los valores de CI₅₀ para la selenoamida **C-17** con los del selenoimidato **4d** ocurre el mismo comportamiento con la potencia (**Gráfico 14**). Este resultado nos confirma que el grupo funcional selenoimidoilo es más activo que el grupo selenoamida en la línea U251.

Tabla 5.3 Valores de CI₅₀ (µM) para Selenoamidas y Selenoimidatos

Estructura	Compuesto	Glía de SNC (U251)	Incertidumbre (±)	Próstata (PC-3)	Incertidumbre (±)
	4b	1.47	0.1	1.49	0.1
	4d	1.03	0.1	1.17	0.1

	C-16	19	0.1	37.3	2.5
	C-17	19.4	1.3	22.4	1.8

Al comparar los valores de CI_{50} de las selenoamidas con los selenoimidatos en células prostáticas se observa la misma diferencia, el selenoimidato es mucho más activo e incluso se observa aún más pronunciada pues el selenoimidato **4b** es 25 veces más potente que su análogo selenoamida (**Gráfico 6**).

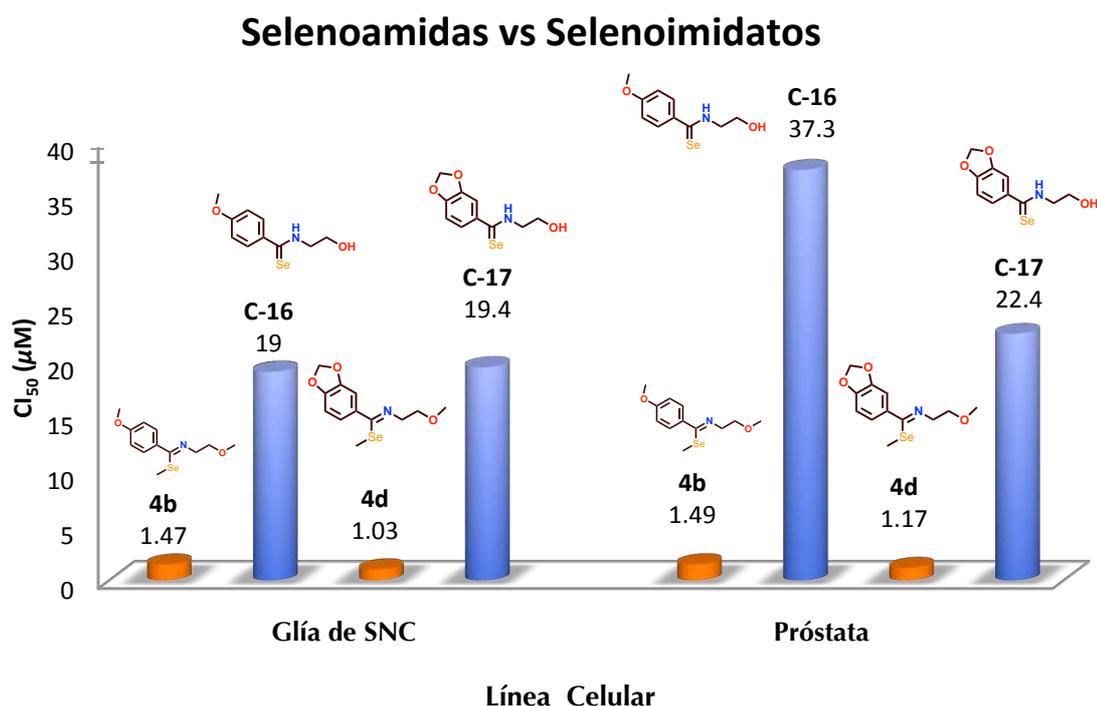
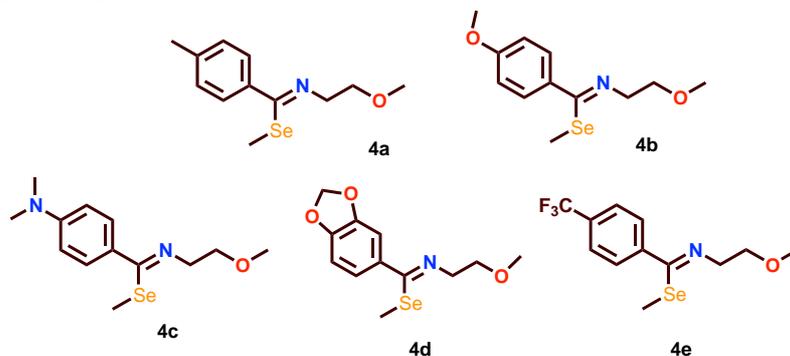


Gráfico 6 Valores de CI_{50} (μM) para selenoamidas y selenoimidatos en Glía de SNC y Próstata

En resumen, los selenoimidatos **4a-e** presentan actividad citotóxica frente a todas las líneas celulares cancerosas de glía de SNC (U251), Próstata (PC-3), Pulmón (SKLU-1), Leucemia (K562), Colon (HCT-15) y Mama (MCF-7). Las Líneas celulares U251, PC-3, SKLU-1 son especialmente sensibles a la presencia de los selenoimidatos, obteniéndose valores de CI_{50} desde $1.03 \mu M$, que es más potente aún que los fármacos empleados actualmente para el tratamiento del algunos tipos de cáncer. Se atribuye la actividad citotóxica a la presencia del enlace [Se-C=N], y se descubrió que el sustituyente en el anillo aromático parece no influir de manera significativa sobre la potencia de los selenoimidatos; excepto para la línea celular SKLU-1 en que se observa que el sustituyente electroattractor favorece ligeramente la potencia del compuesto.

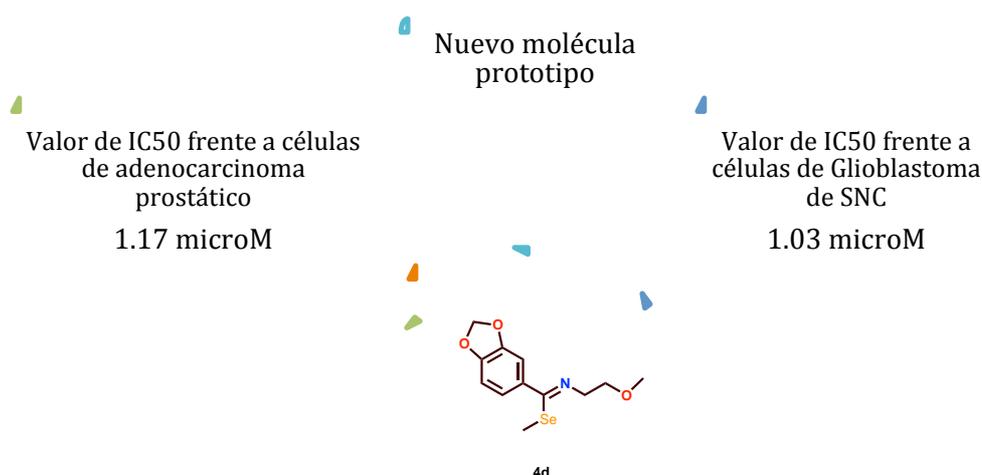
V. Conclusiones

Se diseñó y desarrolló una ruta sintética completa para la obtención de nuevos selenoimidatos que consiste en la alquilación de selenoamidas secundarias, cuya síntesis se realizó partir de la desmetalación calcogenante de una serie de carbenos de Fischer.

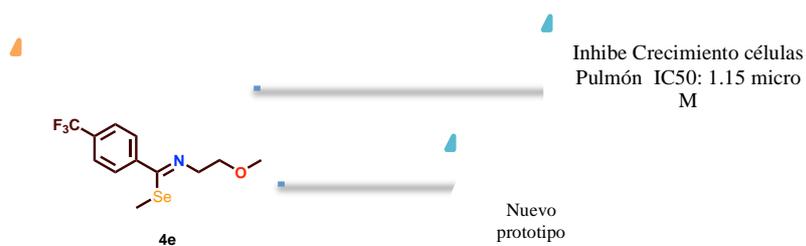


Se comprobó el potencial citotóxico de los nuevos selenoimidatos sintetizados ya que demostraron poseer alta capacidad para inhibir el crecimiento de seis diferentes líneas celulares cancerosas humanas. También se encontró que el sustituyente en la posición 4 del anillo aromático no ejerce un efecto positivo o negativo sobre la actividad de los selenoimidatos, por lo que la actividad citotóxica se atribuye principalmente al enlace [Se-C=N].

Todos los selenoimidatos resultaron ser más potentes que los fármacos de uso clínico, el selenoimidato **4d** es 9 veces más potente que el fármaco de referencia en el mercado. De la misma forma, para la línea celular PC-3 (Adenocarcinoma de próstata), el compuesto **4d** es un nuevo prototipo de compuesto anticancerígeno.



El selenoimidato **4e** resultó ser el compuesto más eficiente para inhibir el crecimiento de las células de adenocarcinoma de pulmón.



Se confirmó que los selenoimidatos presentan actividad citotóxica más alta que selenoamidas precursoras, demostrando que el grupo funcional [Se-C=N] es más eficiente para la inhibición del grupo funcional que el grupo [N-C=Se].

VI. Parte Experimental

6.1 Instrumentación y reactivos utilizados

Todos los reactivos utilizados son marca Sigma-Aldrich Company y se utilizaron sin ninguna purificación adicional. Los disolventes utilizados fueron adquiridos de proveedores comerciales y se utilizaron sin ningún tratamiento adicional.

Los espectros de IR se realizaron en un espectrofotómetro Bruker TENSOR 27 utilizando la técnica de pastilla de KBr o película. La espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C se realizó en un espectrómetro Bruker-Avance III a 300 MHz para ^1H , a 75 MHz para ^{13}C y 57 MHz para ^{77}Se utilizando cloroformo deuterado (CDCl_3). Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) usando TMS como referencia interna para los experimentos de ^1H y ^{13}C y se empleó $(\text{PhSe})_2$ como referencia interna para los experimentos de ^{77}Se .

La espectrometría de masas se realizó utilizando un espectrómetro JEOL Mstation JMS-700 para la técnica de bombardeo de átomos rápidos (FAB+) y como matriz el alcohol nitrobenzílico y polietilenglicol y para la técnica de ionización DART los espectros fueron adquiridos en un espectrómetro de masa JEOL The AccuTOF JMS-T100LC a una energía de ionización de 70 eV.

La purificación de los productos obtenidos se realizó por medio de cromatografía por columna empleando como fase estacionaria alúmina neutra (malla 100-125) o gel de sílice (malla 70-230) y como fase móvil se utilizaron diferentes gradientes de hexano/acetato de etilo. Para la determinación de los puntos de fusión se empleó un aparato Mel-Temp II y los valores no están corregidos.

6.2 Pruebas de citotoxicidad

El grupo de selenoimidatos se sometieron a un barrido primario *in vitro* frente a líneas celulares humanas de próstata (PC-3), glía de sistema nervioso central (U251), leucemia (K526), colon (HCT-15), mama (MCF-7) y pulmón (SKLU) que son proporcionadas por el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) de los Estados Unidos de América. Estas pruebas se llevaron a cabo en la unidad de Pruebas Biológicas del Instituto de Química, bajo la dirección de la Mtra. Teresa Apan Mancilla. Se describe brevemente en qué consisten tales pruebas.

La viabilidad y crecimiento celular es determinada por un ensayo de microcultivo empleando Sulforodamida B (SRB), un colorante de unión a proteínas, este protocolo ha sido establecido por el NCI.⁶⁴

Las células son sembradas en un medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con: suero fetal bovino, L-glutamina 2 mM, 1000 u/ml de penicilina G, 1 mg/mL de sulfato de estreptomicina, 25 μ g/mL de anfotericina B (Gibco) y 1% de aminoácidos no esenciales (Gibco). Las células se incuban a 37 °C en atmósfera al 100% de humedad y 5% de CO₂. La viabilidad de las células se confirmó superior al 95%, determinada por un ensayo con azul de triptano.

Para la inoculación en placa, las células son desprendidas de los matraces de cultivo de tejido por adición de una solución de Tripsina-EDTA (0.05%) (Gibco) y se suspenden en un medio fresco, tomando 100 μ L de la suspensión celular que deben contener de 5000 a 10000 células y se colocan en una placa para microtitulación. Las placas se incuban a 37 °C por 24h bajo una atmósfera de CO₂, esta inoculación se realiza para mantener una densidad celular y crecimiento estable previo a la adición de los compuestos.

Se preparan las diluciones de los compuestos de prueba, desde 1.0 a 50 μ M y se incuban los cultivos con alícuotas de 100 μ L. La incubación de los compuestos es por espacio de 48 h a 37 °C bajo atmósfera de 5% CO₂ y 100% de humedad relativa.

Después del periodo de incubación, los cultivos celulares se fijan *in situ* por la adición 50 μ L de ácido tricloroacético (TCA) frío 50% (m/v) e incubadas por 60 minutos a 4 °C. El supernadante es descartado, las placas son lavadas 5 veces con agua desionizada y secadas. Se adicionan a cada pozo 100 μ L de una solución de Sulforodamida B (SRB) 0.4% (m/v en 1% de ácido acético) y el cultivo se incuba por 10 minutos a temperatura ambiente. La Sulforodamida B que no se une a proteínas es removida mediante 5 lavados con ácido acético 1%, después los pozos son secados al aire. La SRB que sí se unió a las proteínas se solubiliza con una solución Buffer de Tris 10 mM, y mediante densidad óptica, se determina su absorción a una longitud de onda de 515 nm utilizando un lector de Placas de ELISA (Bio-Tex Instruments)

⁶⁴ Monks, A.; Scuderio, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M.; *J. Nat. Cancer Inst.* **1991**, *38*, 757.

6.3 Síntesis de Etoxicarbenos de Fischer con un fragmento Aromático (1a-e)

De acuerdo a la metodología reportada por nuestro grupo de investigación para la obtención de etoxicarbenos,⁶ la síntesis de los complejos etoxicarbénicos con un anillo aromático en su estructura, se realizó vía la monolitiación del anillo aromático en cuestión, disolviendo 2 mL (1.5 mmol) de 1-bromo-4-metilbenceno, en 30 mL de tetrahidrofurano anhidro y posteriormente se agregó un ligero exceso (1.7 mmol) de *n*-butilitio (2.5M) por goteo lento a -78 °C bajo atmosfera inerte de nitrógeno y agitación constante por 30 min.

Posteriormente a esta solución se adicionó en sólido el hexacarbonilo de cromo (2.53 mmol) a -78 °C, también bajo atmosfera de nitrógeno. La reacción también se mantiene en agitación constante por 2 horas permitiendo alcanzar temperatura ambiente. Finalmente, se evaporó el solvente y se realizó la alquilación utilizando $\text{Et}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$ (1.5 mmol) en hielo. El producto de esta reacción se extrajo utilizando diclorometano (CH_2Cl_2) y se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), se secó con sulfato de sodio (Na_2SO_4) y por último se evaporó a presión reducida el CH_2Cl_2 para obtener el etoxicarbeno deseado. Este compuesto se purificó en una columna cromatográfica utilizando como fase estacionaria gel de sílice o alúmina y como fase móvil hexano.

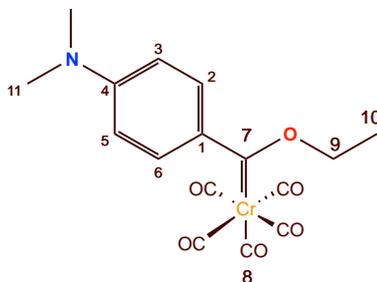
La metodología anteriormente descrita se llevo a cabo en las mismas condiciones y cantidades estequiométricas para todos los etoxicarbenos de Fischer a partir de estas materias primas: 1-bromo-4-metilbenceno, 5-bromobenzo[d][1,3]dioxol, 4-bromo-*N,N*-dimetilanilina, 1-bromo-4-(trifluorometil)benceno.

Las estructuras de todos los compuestos fueron establecidas por experimentos de RMN y por comparación con los datos espectroscópicos previamente reportados para 1a, 1b,⁴ 1d,⁶⁵ 1e⁵⁴ Para el caso del compuesto 1c no existe informe alguno sobre su síntesis, por lo que sus datos espectroscópicos se reportan a continuación.

⁶⁵ Gutiérrez-Hernández A. I., Martínez-Pérez O., Ramírez-Gómez, J. A., Ramírez-Apan M. A., Toscano R. A., Ortega-Alfaro M. C., López-Cortés J. G., *J. Med. Chem.* **2015**, Enviado.

Etoxi-[4(*N,N*-dimetilaminofen-1-il)metiliden]pentacarbonilo de cromo (0)*

(1c)



(* La numeración del compuesto **1c** se ha realizado aleatoriamente y no tiene ninguna relación con la nomenclatura del compuesto en cuestión)

Se obtiene un sólido color rojo-vino brillante con un 55% de rendimiento.

Formula molecular: C₁₆H₁₅CrNO₆

PM: 369.29 g/mol

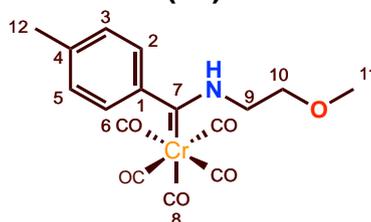
Punto de fusión: 88°C (Descompone)

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : , [2047 (Cr-CO), 1907 (Cr-CO)]. **EM (FAB⁺)** *m/z* (%): 369 [M⁺] (7.0), 342 [M⁺- CO] (26.5), 313 [M⁺-2CO] (22.0), 285 [M⁺-3CO] (15.6), 257 [M⁺-4CO] (62), 229 [M⁺-5CO] (44.5); **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm):** 6.64 (H_{3,5}, d, 2H), 5.14 (H₉, c, 2H), 4.47 (H_{2,6}, d, 2H), 3.10 (H₁₁, s, 6H), 1.67 (H₁₀, t, 3H); **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 324.3 (C₇), 224.0 (C_{8ax}), 217.9 (C_{8eq}), 153.9 (C₄), 140.0 132.4 y 131.7 (C_{2,6}), 114.1 y 109.9 (C_{3,5}), 75.8 (C₉), 40.6 y 40.0 (C₁₁), 15.3 (C₁₀).

6.4 Síntesis de Aminocarbenos de Fischer con un fragmento Aromático (2a-e)

Se disolvió 1g del etoxicarbeno de Fischer correspondiente (**1a-e**) en dietileter (15 mL) dentro de un matraz de fondo redondo bajo atmósfera de nitrógeno. Enseguida se adicionaron 3 equivalentes de metoxietilamina y se mantuvo la reacción en agitación constante a temperatura ambiente. Se monitoreó el progreso de la reacción mediante cromatografía en capa fina (ccf). Al finalizar la reacción, se evaporó el disolvente y se agregaron 25 mL de agua, se extrajo con diclorometano (2x20 mL) y ésta fracción orgánica se trató con Na₂SO₄. Este producto se purificó mediante cromatografía en columna empleando como fase estacionaria alúmina neutra y como fase móvil una mezcla de Hexano:Acetato de etilo (90:10).

[(4-metilfenil)(2-metoxietilamino)metiliden] pentacarbonilo de cromo (0) (2a)



Se obtiene un sólido rojo brillante, con un 99% de rendimiento.

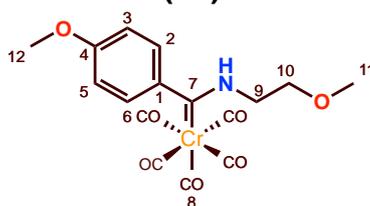
Formula: C₁₆H₁₅CrNO₆

PM: 369.29 g/mol

Punto de fusión: 76 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 3298 (-NH), [2052 (Cr-CO), 1900 (Cr-CO)]; **EM (FAB⁺)** *m/z* (%): 369 [M⁺] (16.33), 341 [M⁺-CO] (46.94), 313 [M⁺-2CO] (20.41), 285 [M⁺-3CO] (64.62), 257 [M⁺-4CO] (100), 229 [M⁺-5CO] (93.88); **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm):** 9.39 (NH_E, s, 1H), 8.90 (NH_Z, s, 1H), 7.68 (H_{2,6E}, d, 2H), 7.19 (H_{2,6Z}, d, 2H), 6.93 (H_{3,5E}, d, 2H), 6.70 (H_{3,5Z}, d, 2H), 4.24 (H_{11E}, s, 3H), 3.76 (H_{9,10E}, s, 4H), 3.45 (H_{11Z}, s, 3H), 3.36 (H_{9,10Z}, s, 4H), 2.35 (H₁₂, s, 3H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 283.3 (C₇), 223.5 (C_{8 ax}), 217.5 (C_{8 eq}), 150.0 (C₄), 136.6 (C₁), 129.2 y 129.1 (C_{2,6}), 121.4 y 119.3 (C_{3,5}), 70.2 (C₁₀), 59.3 (C₁₁), 49.9 (C₉), 21.1 (C₁₂).

[(4-metoxifenil)(2-metoxietilamino)metiliden] pentacarbonilo de cromo (0)
(2b)



Se obtiene un sólido color naranja con un 99% de rendimiento

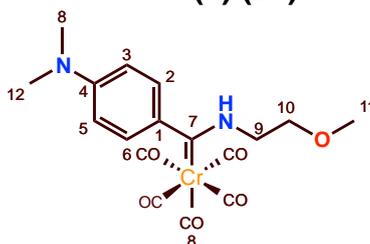
Formula: C₁₆H₁₅CrNO₇

PM: 385.29 g/mol

Punto de fusión: 64 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3311 (-NH), [2053 (Cr-CO), 1883 (Cr-CO)]; **EM (FAB⁺)** m/z (%): 385 [M⁺] (13.6), 357 [M⁺-CO] (18.37), 329 [M⁺-2CO] (4.76), 301 [M⁺-3CO] (23.81), 273 [M⁺-4CO] (100), 245 [M⁺-5CO] (44.22); **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm)**: 9.39 (NH_E, s, 1H), 8.89 (NH_Z, s, 1H), 7.75 (H_{2,6Z}, d, 2H), 7.48 (H_{3,5Z}, d, 2H), 6.92 (H_{2,6E}, d, 2H), 6.78 (H_{3,5E}, d, 2H), 4.24 (H_{10Z}, m, 2H), 3.82 (H_{9,10E}, s, 4H), 3.79 (H_{9Z}, m, 2H), 3.43 (H_{11,12E}, t, 6H), 3.38 (H_{11,12Z}, t, 6H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 283.2 (C₇), 223.5 (C_{8 ax}), 217.5 (C_{8 eq}), 159.6 y 158.4 (C₄), 148.3 y 142.6 (C₁), 123.6 y 121.3 (C_{2,6}), 113.9 y 113.7 (C_{3,5}), 70.2 y 70.2 (C₁₀), 59.3 y 59.1 (C₁₂), 55.4 y 55.3 (C₁₁), 52.8 y 50.0 (C₉).

[4(N,N-dimetilaminofenil)(2-metoxietilamino)metiliden] pentacarbonilo de cromo (0) (2c)



Se obtiene un sólido color naranja con un 85% de rendimiento

Formula: C₁₇H₁₈CrN₂O₆

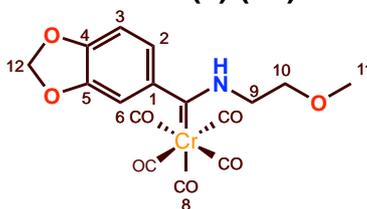
PM: 398.33 g/mol

Punto de fusión: 66 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3307 (-NH), [2048 (Cr-CO), 1874 (Cr-CO)]; **EM (FAB⁺)** m/z (%): 398 [M⁺] (7.48), 370 [M⁺-CO] (20.41), 342 [M⁺-2CO] (3.4), 314 [M⁺-

3CO] (26.53), 286 [M⁺-4CO] (100), 258 [M⁺-5CO] (74.15); **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm)**: 9.29 (NH_E, s, 1H), 8.82 (NH_Z, s, 1H), 7.91 (H_{2,6Z}, d, 2H), 7.15 (H_{3,5E}, d, 2H), 6.80 (H_{2,6Z}, d, 2H), 6.69 (H_{3,5Z}, d, 2H), 3.75 (H_{10,11E}, s, 5H), 3.44 (H_{10,11Z}, s, 5H), 3.06 (H_{12,9E}, m, 8H), 2.99 (H_{12,9Z}, m, 8H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 282.3 (C₇), 223.5 (C_{8 ax}), 217.6 (C_{8 eq}), 149.5 (C₄), 138.1 (C₁), 124.8 y 122.3 (C_{2,6}), 111.4 y 111.3 (C_{3,5}), 70.4 (C₁₀), 59.3 (C₁₁), 49.9 (C₉), 40.3 y 40.2 (C₁₂).

[(benzo[d][1,3]dioxol)(2-metoxietilamino)metiliden] pentacarbonilo de cromo (0) (2d)



Se obtiene un líquido color amarillo-verdusco con un 93% de rendimiento

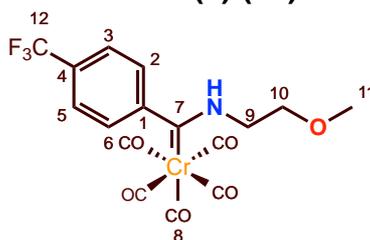
Formula: C₁₆H₁₃CrNO₈

PM: 399.27 g/mol

Punto de fusión: No Aplica

IR v_{max} (KBr)/ cm⁻¹: 3314 (-NH), [2052 (Cr-CO), 1887 (Cr-CO)]; **EM (FAB⁺) m/z (%):** 399 [M⁺] (21.09), 371 [M⁺-CO] (29.49), 343 [M⁺-2CO] (7.48), 314 [M⁺-3CO] (28.57), 287 [M⁺-4CO] (100), 259 [M⁺-5CO] (38.77); **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm)**: 9.39 (NH_E, s, 1H), 8.92 (NH_Z, s, 1H), 7.65 (H_{6 Z}, d, 1H), 6.83 (H_{6 E}, d, 1H), 6.64 (H_{2 Z}, s, 1H), 6.48 (H_{5 Z}, d, 1H), 6.36 (H_{2 E}, s, 1H), 6.26 (H_{5 E}, d, 1H), 6.01 (H₁₂, d, 2H), 4.28 (H₁₀, dd, 2H), 3.77 (H_{9Z}, m, 5H), 3.44 (H_{11,9}, m, 5H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 282.6 y 277.5 (C₇), 223.5 y 223.3 (C_{8 ax}), 217.4 y 217.2 (C_{8 eq}), 147.8 (C₄), 143.9 (C₁), 125.2 (C₆), 115.0 y 112.8 (C₂), 109.5 y 108.5 (C₅), 101.3 y 101.1 (C₁₂), 70.1 (C₁₀), 59.3 y 59.1 (C₁₁), 52.7 y 50.0 (C₉).

[(4-trifluorometilfenil)(1-metoxietilamino)metiliden]pentacarbonilo de cromo (0) (2e)



Se obtiene un sólido color amarillo con un 96% de rendimiento

Formula: C₁₆H₁₂CrF₃NO₆

PM: 423.26 g/mol

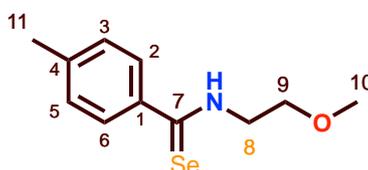
Punto de fusión: 51°C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3293 (-NH), [2057 (Cr-CO), 1882 (Cr-CO)]; **EM (FAB⁺)**
m/z (%): 423 [M⁺] (15.69), 395 [M⁺-CO] (13.60), 367 [M⁺-2CO] (14.96), 339 [M⁺-3CO] (31.29), 311 [M⁺-4CO] (100), 283 [M⁺-5CO] (83.67). **RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, ppm)**: 9.46 (NH_E, s, 1H), 8.94 (NH_Z, s, 1H), 7.66 (H_{2,6}, dd, 2H), 7.07 (H_{3,5E}, d, 2H), 6.92 (H_{3,5Z}, d, 2H), 3.79 (H_{10Z}, t, 2H), 3.49 (H_{10E}, t, 2H), 3.46 (H_{11E}, s, 3H), 3.42 (H_{11Z}, s, 3H), 3.33 (H₉, q, 2H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 281.2 y 278.7 (C₇), 223.3 y 223.1 (C_{8 ax}), 216.9 y 216.8 (C_{8 eq}), 157.2 y 152.4 (C₁), 128.5 y 128.8 (C₄), 125.9 y 125.7 (C_{3,5}), 123.8 (C₁₂) 121.2 y 119.5 (C_{2,6}), 69.9 y 69.8 (C₁₀), 59.3 y 59.1 (C₁₁), 53.0 y 50.5 (C₉).

6.5 Síntesis de selenoamidas con un fragmento aromático (3a-e)

La síntesis de selenoamidas se realizó formando previamente el agente calcogenante para utilizarlo en la reacción de desmetalación seleniurativa en una relación estequiométrica 1:10 con respecto al aminocarbeno de Fischer **2a-e**. En un matraz de fondo redondo, bajo atmósfera de nitrógeno se preparó una suspensión de NaBH₄ (10 mmol) en etanol a 0 °C; a la suspensión anterior se agregó lentamente (10 mmol) de selenio elemental (Se⁰). Esta mezcla se mantuvo en agitación constante a 0°C por 15 min y posteriormente a temperatura ambiente por 45 min. Una vez formada esta solución, se adicionó el correspondiente aminocarbeno **2a-e** (1 mmol). El avance de la reacción se siguió mediante ccf y se consideró finalizada la reacción cuando desapareció totalmente la materia prima. Al término de la reacción, el etanol se evaporó de la mezcla de reacción a presión reducida y temperatura no mayor a 50°C. Se extrajo la selenoamida con CH₂Cl₂. El producto de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil un sistema hexano: acetato de etilo (que varía según la polaridad del compuesto de interés).

N-(2-metoxietil)4-metilbenzoselenoamida (3a)



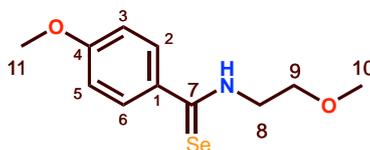
Se obtiene un sólido color naranja con un 87% de rendimiento

Fórmula: C₁₁H₁₅NOSe

PM: 256.20 g/mol

Punto de fusión: 72-74 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 3173 (-NH), [1604 (-C=Se), 1539 (-C=Se)]; **EM (DART⁺)**
m/z (%): 260 [Se⁸² M⁺] (17.60), 258 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 256 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 255 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 176 [M⁺ + H₂O -H₂Se] (11.21); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm)**: 8.44 (NH, s, 1H), 7.68 (H_{2,6}, d, 2H), 7.18 (H_{3,5}, d, 2H), 4.07 (H₉, t, 2H), 3.73 (H₈, t, 2H), 3.41 (H₁₀, s, 3H), 2.35 (H₁₁, s, 3H); **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 204.1 (C₇), 142.0 (C₄), 141.8 (C₁), 129.2 (C_{2,6}), 126.7 (C_{3,5}), 69.4 (C₉), 58.9 (C₁₀), 49.7 (C₈), 21.4 (C₁₁).

***N*-(2-metoxietil)4-metoxibenzoselenoamida (3b)**

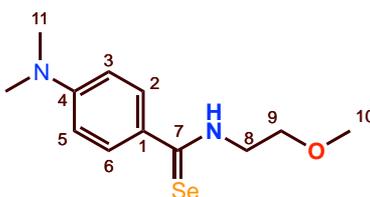
Se obtiene un sólido color naranja con un 81% de rendimiento

Fórmula: C₁₁H₁₅NO₂Se

PM: 272.20 g/mol

Punto de fusión: 44-46 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3289 (-NH), [1597 (-C=Se), 1523 (-C=Se)]; **EM (DART⁺)** *m/z* (%): 276 [Se⁸² M⁺] (17.60), 274 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 272 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 270 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 210 [M⁺ + H₂O - H₂Se] (19.21); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm):** 8.38 (NH, s, 1H), 7.80 (H_{2,6}, d, 2H), 6.88 (H_{3,5}, m, 2H), 4.08 (H₉, s, 2H), 3.85 (H₁₁, s, 3H), 3.73 (H₈, s, 2H), 3.42 (H₁₀, s, 3H); **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 203.0 (C₇), 162.3 (C₄), 137.0 (C₁), 128.7 (C_{2,6}), 113.7 (C_{3,5}), 69.5 (C₉), 58.9 (C₁₀), 55.6 (C₁₁), 49.7 (C₈).

***N*-(2-metoxietil)-4-(*N,N*-dimetil)benzoselenoamida (3c)**

Se obtiene un sólido color amarillo dorado con un 72% de rendimiento

Fórmula: C₁₂H₁₈N₂OSe

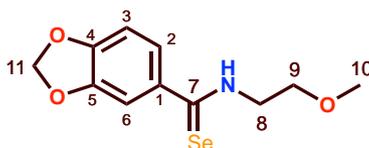
PM: 285.24 g/mol

Punto de fusión: 130 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3296 (-NH), [1609 (-C=Se), 1516 (-C=Se)]; **EM (DART⁺)** *m/z* (%): 289 [Se⁸² M⁺] (17.60), 287 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 285 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 284 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 223 [M⁺ + H₂O - H₂Se] (14.48); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃,**

ppm): 8.27 (NH, s, 1H), 7.81 (H_{2,6}, d, 2H), 6.61 (H_{3,5}, d, 2H), 4.12 (H₉, m, 2H), 3.72 (H₈, t, 2H), 3.41 (H₁₀, s, 3H), 3.02 (H₁₁, s, 6H); **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 201.8 (C₇), 152.7 (C₄), 130.9 (C₁), 128.9 (C_{2,6}), 110.9 (C_{3,5}), 69.8 (C₉), 58.9 (C₁₀), 49.4 (C₈), 40.2 (C₁₁).

N-(2-metoxietil) (benzo[d][1,3]dioxol-5-il)carboselenoamida (3d)



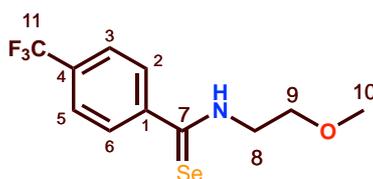
Se obtiene un sólido color amarillo con un 87% de rendimiento

Fórmula: C₁₁H₁₃NO₃Se

PM: 286.19 g/mol

Punto de fusión: 80 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3311 (-NH), [1608 (-C=Se), 1537 (-C=Se)]; **EM (DART⁺) m/z (%):** 290 [Se⁸² M⁺] (17.60), 288 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 286 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 285 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 224 [M⁺ + H₂O - H₂Se] (7.31); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm):** 8.34 (NH, s, 1H), 7.39 (H₆, d, 1H), 7.30 (H₂, d, 1H), 6.77 (H₅, d, 1H), 6.02 (H₁₁, s, 2H), 4.06 (H₉, q, 2H), 3.72 (H₈, t, 2H), 3.42 (H₁₀, s, 3H). **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 202.9 (C₇), 150.4 (C₄), 147.9 (C₁), 139.2 (C₆), 120.7 (C₂), 108.4 (C₃), 107.9 (C₅), 101.9 (C₁₁), 69.4 (C₉), 59.0 (C₁₀), 49.8 (C₈).

***N*-(2-metoxietil)4-trifluorometilbenzoselenoamida (3e)**

Se obtiene un sólido color naranja-rojizo con un 88% de rendimiento

Fórmula: C₁₁H₁₂F₃NOSe

PM: 310.17 g/mol

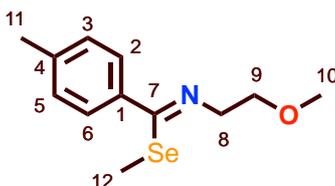
Punto de fusión: 74 °C

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 3272 (-NH), [1604 (-C=Se), 1529 (-C=Se)]; **EM (DART⁺)** *m/z* (%): 314 [Se⁸² M⁺] (17.60), 312 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 310 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 309 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 248 [M⁺ + H₂O -H₂Se] (22.73); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm):** 8.49 (NH, s, 1H), 7.84 (H_{2,6}, d, 2H), 7.64 (H_{3,5}, d, 2H), 4.05 (H₉, t, 2H), 3.75 (H₈, c, 2H), 3.43 (H₁₀, s, 3H); **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 203.1 (C₇), 148.0 (C₁), 132.4 (C₄), 126.9 (C_{2,6}), 125.6 (C_{3,5}), 123.8 (C₁₁), 69.1 (C₉), 59.0 (C₁₀), 49.9 (C₈).

6.6 Síntesis de selenoimidatos con un fragmento aromático (4a-e)

En un matraz de fondo redondo, bajo atmósfera de nitrógeno se disolvieron 500 mg de la selenoamida correspondiente (**3a-e**) en dietileter anhidro (15 mL) y se agregó 1 equivalente de triflato de metilo. La reacción se mantiene en agitación constante a temperatura ambiente por 3 minutos. Se monitorea el progreso de la reacción mediante ccf y cuando se ha consumido la materia prima se evaporó el disolvente de la reacción. El producto se disolvió en 15 mL de tetrahidrofurano (THF) y se enfrió en un baño de hielo a 0 °C. A esta temperatura se adicionó lentamente 1.2 equivalentes de nBuLi (2.5 M en Hexano) y se mantuvo en agitación constante a 0 °C durante 1 hora. Se evaporó a presión reducida el THF y se agregaron 25 mL de H₂O. Se extrajo con CH₂Cl₂ (2x 20mL) y la fase orgánica se trató con Na₂SO₄. Finalmente el producto se purificó por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria alúmina neutra y como fase móvil mezclas de Hexano: Acetato de etilo. Adicionalmente se filtró el producto por una columna de celita.

N-(2-metoxietil)-4-metilbenzimidoselenoato de metilo (4a)

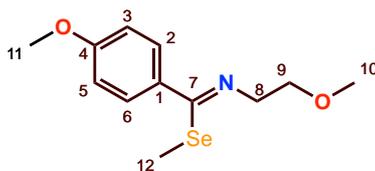


Se obtiene un líquido viscoso color naranja oscuro con un 90% de rendimiento

Fórmula: C₁₂H₁₇NOSe

PM: 270.23 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 2871 (Se-C-H), 1614 (-Se-C=N), 1124 (-OCH₃), 820 (-Se-CH₃); **EM (FAB⁺)** *m/z* (%): 274 [Se⁸² M⁺] (17.60), 272 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 270 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 269 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 176 [M⁺-SeCH₃] (73.33); **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm): 7.86 (H_{2,6E}, d, 2H), 7.64 (H_{3,5E}, d, 2H), 7.36 (H_{2,6Z}, d, 2H), 7.18 (H_{3,5Z}, m, 2H), 3.75 (H_{9,8E}, dd, 2H), 3.57 (H_{9,8Z}, dd, 2H), 3.41 (H_{10E}, s, 3H), 3.32 (H_{10Z}, s, 3H), 2.35 (H₁₁, s, 3H), 2.25 (H_{12E}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 10.89 Hz (11.35% Isómero E)], 1.91 (H_{12Z}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 11.46 Hz (88.65% Isómero Z)]; **RMN** ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm): 165.0 (C₇), 139.3 (C₄), 136.2 (C₁), 129.1 y 128.9 (C_{2,6}), 128.6 y 128.2 (C_{3,5}), 72.4 (C₉), 59.0 (C₁₀), 56.5 (C₈), 21.3 (C₁₁), 7.8 (C₁₂). **RMN** ⁷⁷Se (57 MHz, CDCl₃, ppm): 335.5 (E), 261.0 (Z).

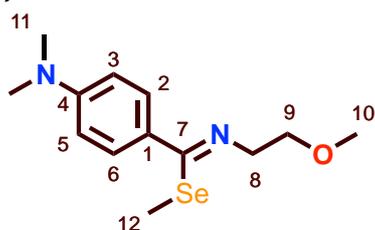
***N*-(2-metoxietil)-4-metoxibenzimidoselenoato de metilo (4b)**

Se obtiene un líquido viscoso color amarillo oscuro con un 92% de rendimiento

Fórmula: C₁₂H₁₇NO₂Se

PM: 286.23 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 2837 (Se-C-H), 1604 (-Se-C=N), 1122 (-OCH₃), 834 (-Se-CH₃); **EM (FAB⁺) m/z (%)**: 290 [Se⁸² M⁺] (17.60), 288 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 286 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 285 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 192 [M⁺-SeCH₃] (37.23); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm)**: 7.95 (H_{2,6E}, d, 2H), 7.45 (H_{2,6Z}, d, 2H), 7.26 (H_{3,5E}, d, 2H), 6.90 (H_{3,5Z}, d, 2H), 3.82 (H₁₁, s, 3H), 3.76 (H_{9,8E}, m, 4H), 3.59 (H_{9,8Z}, dd, 2H), 3.42 (H_{10E}, s, 3H), 3.34 (H_{10Z}, s, 3H), 2.26 (H_{12E}, s, 3H) [(11.5% Isómero E)], 1.95 (H_{12Z}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 12.03 Hz (88.5% Isómero Z)]; **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 164.4 (C₇), 160.5 (C₄), 131.7 (C₁), 129.9 (C_{2,6}), 113.6 (C_{3,5}), 72.4 (C₉), 59.0 (C₁₁), 56.6 (C₁₀), 55.3 (C₈), 7.9 (C₁₂). **RMN ⁷⁷Se (57 MHz, CDCl₃, ppm)**: 253.6 (Z).

***N*-(2-metoxietil)-4-*N,N*-dimetilbenzimidoselenoato de metilo (4c)**

Se obtiene un líquido viscoso color amarillo con un 32% de rendimiento

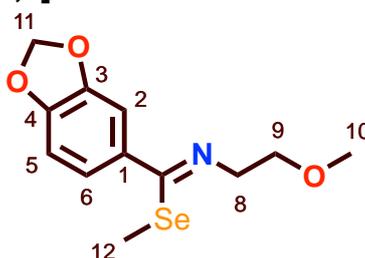
Fórmula: C₁₃H₂₀N₂OSe

PM: 299.27 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 2857 (Se-C-H), 1599 (-Se-C=N), 1119 (-OCH₃), 817 (-Se-CH₃); **EM (FAB⁺) m/z (%)**: 303 [Se⁸² M⁺] (15.60), 301 [Se⁸⁰ M⁺] (98), 299 [Se⁷⁸ M⁺] (45.91), 298 [Se⁷⁷ M⁺] (16.38), 205 [M⁺-SeCH₃] (100); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm)**: 7.88 (H_{2,6E}, d, 2H), 7.44 (H_{2,6Z}, d, 2H), 7.22 (H_{3,5E}, d, 2H), 6.67

(H_{3,5Z}, m, 2H), 3.76 (H_{9E}, s, 2H), 3.62 (H_{9Z}, s, 2H), 3.42 (H_{10, 8E}, s, 5H), 3.34 (H_{10, 8Z}, s, 5H), 2.98 (H_{11Z}, s, 6H), 2.24 (H_{12E}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 12.61 Hz (10.8% Isómero E)], 1.99 (H_{12Z}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 11.46 Hz (89.2% Isómero Z)]; **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 164.6 (C₇), 151.2 (C₄), 130.3 y 129.9 (C₁), 128.1 y 126.9 (C_{2,6}), 111.4 y 111.3 (C_{3,5}), 73.1 y 72.6 (C₉), 59.0 (C₁₀), 56.7 (C₈), 40.3 (C₁₁), 8.0 (C₁₂). **RMN ⁷⁷Se (57 MHz, CDCl₃, ppm)**: 328.2 (E), 235.7 (Z).

***N*-(2-metoxietil)benzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbimidoselenoato de metilo (4d)**

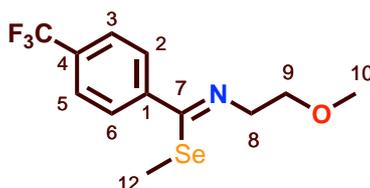


Se obtiene un líquido viscoso amarillo con un 82% de rendimiento

Fórmula: C₁₂H₁₅NO₃Se

PM: 300.21 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/ cm⁻¹: 2891 (Se-C-H), 1605 (-Se-C=N), 1121 (-OCH₃), 804 (-Se-CH₃); **EM (FAB⁺) *m/z* (%):** 304 [Se⁸² M⁺] (17.60), 302 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 300 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 299 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 206 [M⁺-SeCH₃] (64.7); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm):** 7.03 (H₆, dd, 1H), 7.00 (H₂, s, 1H), 6.81 (H₅, d, 1H), 5.98 (H₁₁, s, 2H), 3.74 (H_{9, 8Z}, m, 4H), 3.59 (H_{8, 9E}, dd, 4H), 3.41 (H_{10Z}, s, 3H), 3.34 (H_{10E}, s, 3H), 2.26 (H_{12E}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 12.61 Hz (10.7% Isómero E)], 1.98 (H_{12Z}, s, 3H) [*J*_{Se-C-H}: 12.03 Hz (89.3% Isómero Z)]; **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm):** 164.9 y 163.9 (C₇), 148.6 y 148.1 (C₄), 147.6 y 147.5 (C₁), 133.3 y 131.4 (C₆), 122.8 y 120.7 (C₂), 108.8 y 108.2 (C₃), 108.0 y 107.3 (C₅), 101.4 (C₁₁), 72.8 y 72.4 (C₉), 59.0 y 58.9 (C₁₀), 56.7 y 53.8 (C₈), 8.0 y 6.7 (C₁₂). **RMN ⁷⁷Se (57 MHz, CDCl₃, ppm):** 337.1 (E), 256.5 (Z).

***N*-(2-metoxietil)-4-trifluorometilbenzimidoselenoato de metilo (4e)**

Se obtiene un líquido viscoso color naranja con un 75% de rendimiento

Fórmula: C₁₂H₁₄F₃NOSe

PM: 324.20 g/mol

IR ν_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 2872 (Se-C-H), 1615 (-Se-C=N), 1121 (-OCH₃), 841 (-Se-CH₃); **EM (FAB⁺) m/z (%)**: 328 [Se⁸² M⁺] (17.60), 326 [Se⁸⁰ M⁺] (100), 324 [Se⁷⁸ M⁺] (47.91), 323 [Se⁷⁷ M⁺] (18.38), 231 [M⁺-SeCH₃] (48.1); **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, ppm)**: 7.67 (H_{2,6}, d, 2H), 7.59 (H_{3,5}, m, 2H), 3.77 (H_{9,8E}, m, 4H), 3.49 (H_{9,8Z}, m, 2H), 3.43 (H_{10E}, s, 3H), 3.34 (H_{10Z}, s, 3H), 2.31 (H_{12E}, s, 3H), 1.91 (H_{12Z}, s, 3H) [$J_{\text{Se-C-H}}$: 11.97 Hz (91.2% Isómero Z)]; **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, ppm)**: 163.7 (C₇), 142.3 (C₁), 131.2 (C₁), 128.6 (C_{2,6}), 125.4 (C_{3,5}), 123.9 (C₁₁), 72.2 (C₉), 59.1 (C₁₀), 56.8 (C₈), 7.7 (C₁₂). **RMN ⁷⁷Se (57 MHz, CDCl₃, ppm)**: 270.3 (Z).