

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**

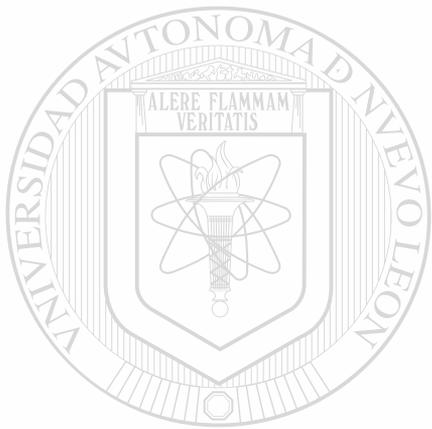


**SINTESIS DE INDOLOQUINOLIZINAS A TRAVES
DE LA REACCION DE TEUBER, CARACTERIZACION
POR RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR Y
EVALUACION DE LA ACTIVIDAD CITOTOXICA**

**POR:
M.C. ADOLFO CABALLERO QUINTERO**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Biomédica**

Agosto de 2002



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

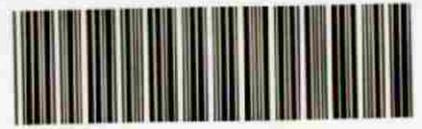
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

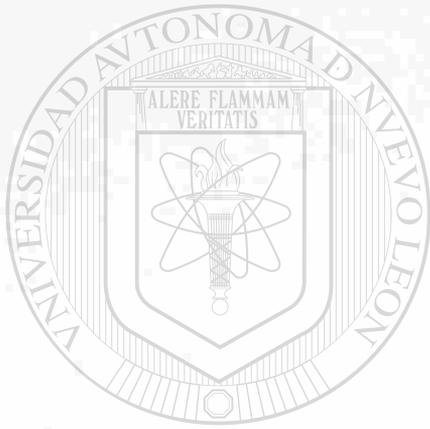
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



TD
RC267
.C3
2002
c.1



1080115950



UANL

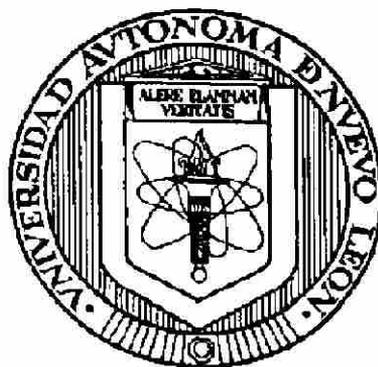
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**SÍNTESIS DE INDOLOQUINOLIZINAS A TRAVÉS DE LA
REACCIÓN DE TEUBER, CARACTERIZACIÓN POR
RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR Y
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA**

Por

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

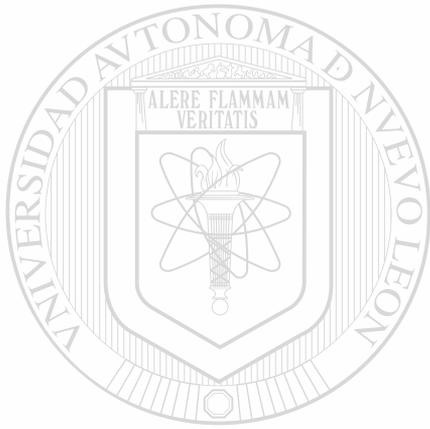
M.C. ADOLFO CABALLERO QUINTERO

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**Como requisito parcial para obtener el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Biomédica**

Agosto de 2002

TD
R 267
.C3
2002



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



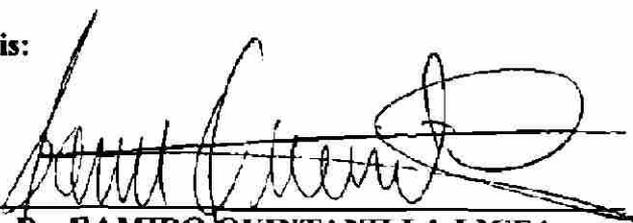
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



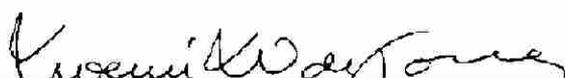
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

SÍNTESIS DE INDOLOQUINOLIZINAS A TRAVÉS DE LA REACCIÓN DE TEUBER, CARACTERIZACIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Aprobación de la Tesis:



Dr. RAMIRO QUINTANILLA LICEA
Director de Tesis



Dra. NOEMI WAKSMAN DE TORRES
Co-Director de Tesis



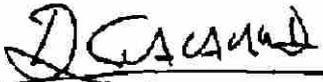
Dra. LOURDES GARZA OCAÑAS
Co-Director de Tesis



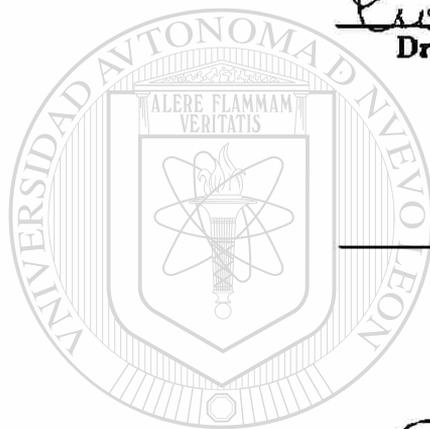
Dra. ROSALBA RAMÍREZ DURÓN
Comisión de Tesis



Dra. VERÓNICA RIVAS GALINDO
Comisión de Tesis



Dr. DIONICIO GALARZA DELGADO
Subdirector de
Investigación y Estudios de Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

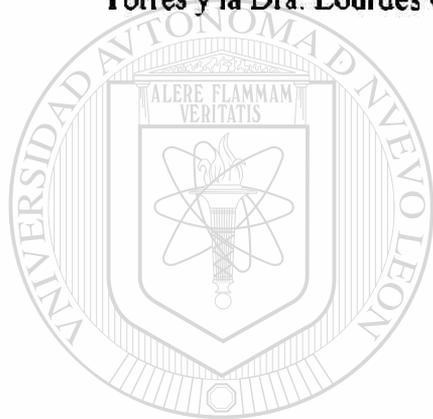
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

SÍNTESIS DE INDOLOQUINOLIZINAS A TRAVÉS DE LA REACCIÓN DE TEUBER, CARACTERIZACIÓN POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA

Presentado por

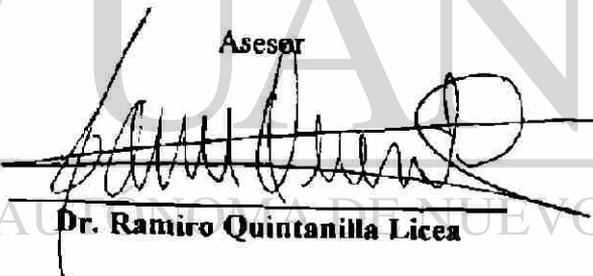
M.C. Adolfo Caballero Quintero

Este trabajo se realizó en los Departamentos de Química Analítica y en Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la asesoría del Dr. Ramiro Quintanilla Licea y la coasesoría de la Dra. Noemí Waksman de Torres y la Dra. Lourdes Garza Ocañas.

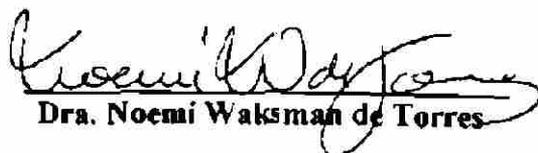


FIRMAS

Asesor


Dr. Ramiro Quintanilla Licea

Coasesor


Dra. Noemí Waksman de Torres

Coasesor


Dra. Lourdes Garza Ocañas

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ramiro Quintanilla Licea

Con profundo respeto. Gracias por su tiempo, sus consejos y su asesoría.

A la Dra. Noemí Waksman de Torres

Con admiración, respeto y cariño. Gracias por todo su tiempo y por su interés en mi formación como científico.

A la Dra. Lourdes Garza Ocañas

Con respeto y cariño. Por el tiempo que me brindo.

A la Dra. Rosalba Ramírez Durón

Con respeto y cariño. Gracias por tu tiempo y tus consejos

A la Dra. Verónica Rivas Galindo

Con respeto y cariño. Gracias por tu tiempo y por tus valiosas sugerencias.

Al Dr. Alfredo Piñeyro López

Con admiración y respeto. Por el apoyo brindado para la realización de esta tesis en el Departamento de Farmacología y Toxicología

A mis maestros

Por el tiempo dedicado, por sus enseñanzas y consejos

A CONACYT

Por apoyo brindado para la realización de la tesis. Proyecto Ref. 26497-N



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A mis amigos

Por su apoyo y estímulos para seguir adelante.

A mis Padres

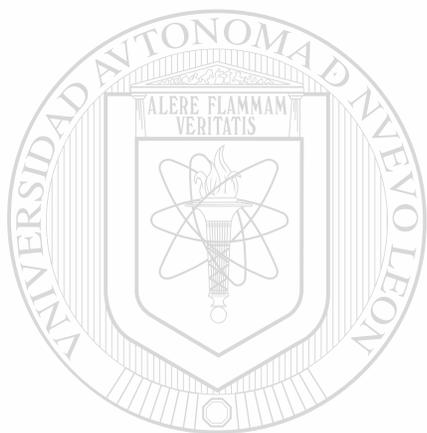
Por su apoyo, estímulo y comprensión. Gracias por la formación que me dieron.

A mis seres queridos

Gracias por su apoyo y comprensión.

A Dios

Por su infinita misericordia.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Adolfo Caballero Quintero

Fecha de Graduación: Agosto de 2002

**Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina**

Título de la Tesis: Síntesis de Indoloquinolizinas a través de la Reacción de Teuber, Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear y Evaluación de la Actividad Citotóxica.

Número de páginas: 188

Área de estudio: Química Biomédica

Propósito y Método de Estudio: Las indoloquinolizinas sintetizadas mediante la reacción de Teuber, son alcaloides indólicos, cuya importancia radica en la semejanza estructural que tienen con sustancias naturales que presentaron actividad antineoplásica en varias líneas celulares (cáncer de mama y otros). El propósito del presente estudio fue el de sintetizar nuevas indoloquinolizinas mediante la reacción de Teuber, caracterizarlas por resonancia magnética nuclear y evaluar su actividad citotóxica en líneas celulares, para determinar su potencial uso como agentes antineoplásicos. Para la síntesis se utilizaron triptaminas sustituidas en la posición 5, para producir indoloquinolizinas sustituidas en el anillo A. En la caracterización estructural se utilizaron técnicas de RMN de 1D y 2D. La evaluación citotóxica se realizó en dos líneas celulares de mama, una línea maligna y una línea benigna.

Conclusiones y Contribuciones: Se sintetizaron dos indoloquinolizinas sustituidas en el anillo A. Se caracterizaron por RMN, 17 compuestos: cinco precursores, ocho compuestos análogos y cuatro compuestos sintetizados en este trabajo. Se evaluó la actividad citotóxica a 10 compuestos, los resultados obtenidos nos indican un posible sitio activo en las moléculas de indoloquinolizinas.

Firma del Asesor


Dr. Ramiro Quintanilla Licea

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Naturaleza del Cáncer	1
1.2. Clasificación y mecanismos generales de la acción antineoplásica y citotóxica	6
1.2.1 Fármacos antimetabolitos	6
1.2.2 Productos Naturales	6
1.2.3 Agentes Alquilantes y Formadores de enlaces en el DNA	7
1.2.4 Otros compuestos	8
1.3 Actividad Antineoplásica de alcaloides de plantas del género <i>Rauwolfia</i>	9
1.4 Indoloquinolizinas sintéticas como posibles antitumorales	10
1.5 Mecanismo de la reacción de Teuber	11
1.6 Indoloquinolizinas sintetizadas por Teuber y Quintanilla	13
1.7 Diseño racional de Medicamentos	15
1.8 Caracterización estructural de sustancias. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.	15
1.8.1 El principio	16
1.8.2 El instrumento	16
1.8.3 El espectro	17
1.8.4 Técnicas de RMN	17
1.8.4.1 Experimentos de ^1H RMN	17
1.8.4.2 Experimentos nOe	18
1.8.4.3 Experimentos de ^{13}C RMN	18
1.8.4.4 Experimentos de Transferencia de la Polarización	18
1.8.4.5 Espectroscopia de Correlación, Cosy	19
1.8.4.6 Espectroscopia de Correlación Múltiple Cuántica Heteronuclear, HMQC	19
1.8.4.7 Espectroscopia de Correlación Heteronuclear de Múltiple Unión, HMBC.	19
1.9 Bioensayos. Valoración de la actividad citotóxica <i>in vitro</i>	20
HIPÓTESIS	22
Objetivo General	22
Objetivos específicos	23

2.	MATERIAL Y MÉTODOS	24
2.1.	Material y Equipos	24
2.1.1	Síntesis de Indoloquinolizinas	24
2.1.2	Verificación de la pureza	24
2.1.2.1	Espectrometría de RMN de ¹ H.	24
2.1.2.2	CCF en sílica	25
2.1.2.3	Determinación de puntos de descomposición	25
2.1.2.4	Determinación de relación de absorbancias	25
2.1.3	Espectros de Resonancia Magnética Nuclear	25
2.1.4	Evaluación de la citotoxicidad	27
2.1.5	Equipo general	27
2.2	MÉTODOS	28
2.2.1	Síntesis del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (35)	28
2.2.2	Síntesis del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (36).	28
2.2.3	Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizina (37).	28
2.2.4	Síntesis del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (38).	29
2.2.5	Síntesis del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (39).	29
2.2.6	Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizina (40).	29
2.2.7	Verificación de la pureza de los Indoloquinolizinas	30
2.2.8	Caracterización por medio de RMN	30
2.2.9	Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular <i>in vitro</i> .	31
2.2.9.1	Cultivo de líneas celulares	31
2.2.9.2	Exposición celular a las indoloquinolizinas	31
2.2.9.3	Determinación de la CT ₅₀	32
3	RESULTADOS	33
3.1	Síntesis de compuestos	33
3.1.1	Síntesis de los cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (35) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (38)	33
3.1.2	Síntesis de los Cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (36) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (39).	33
3.1.3	Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3- <i>a</i>]-	

	quinolizina (37) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizina (40).	33
3.2	Verificación de la pureza de los compuestos sintetizados	34
3.3	Caracterización por medio de RMN de los compuestos sintetizados	35
3.3.1	Caracterización de los precursores	35
3.3.2	Caracterización de los compuestos de Teuber	36
3.3.3	Caracterización de los compuestos de Quintanilla	38
3.3.4	Caracterización de los compuestos de Caballero	39
3.4	Evaluación de la Citotoxicidad <i>in vitro</i> : Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular <i>in vitro</i> .	41
4	DISCUSIÓN	42
4.1	Discusión de la síntesis de los compuestos 35-40.	42
4.1.1	Síntesis de los cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12 <i>H</i> -indolo [2,3- <i>a</i>]quinolizinio (35) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio(38)	42
4.1.2	Síntesis de los cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-12 <i>H</i> -indolo-[2,3- <i>a</i>] quinolizinio (36) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>] quinolizinio (39).	43
4.1.3	Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]-quinolizina(37) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12 <i>H</i> -indolo-[2,3- <i>a</i>]quinolizina (40).	44
4.2.	Discusión de la caracterización estructural de precursores.	45
4.2.1	Indol (32).	45
4.2.2	Triptamina (17)	47
4.2.3	Hidrocloruro de Triptamina (18).	49
4.2.4	Hidrocloruro de 5-Metilriptamina (33).	51
4.2.5	Hidrocloruro de 5-Benciloxitriptamina (34).	53
4.3	Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Teuber	55
4.3.1	Cloruro de 3-acetil-6,7-dihidro-2-metil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]-quinolizinio (24).	55
4.3.2	3-acetil-2,6,7,12-tetrahidro-2-metilenindolo[2,3- <i>a</i>]-quinolizina (25)	58
4.3.3	Cloruro de 3-acetil-2-metil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio (26)	60
4.3.4	3-acetil-2-metilindolo[2,3- <i>a</i>]quinolizina (27).	62
4.4	Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Quintanilla.	64
4.4.1	Cloruro de 6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>a</i>]quinolizinio(28).	64

4.4.2	6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12 <i>H</i> -indolo-[2,3- <i>α</i>]quinolizina(29)	66
4.4.3	Cloruro de 6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12 <i>H</i> -indolo-[2,3- <i>α</i>]quinolizinio(30).	68
4.4.4	2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>α</i>]-quinolizina (31)	70
4.5	Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Caballero.	72
4.5.1	Cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12 <i>H</i> -indolo-[2,3- <i>α</i>]quinolizinio (35).	72
4.5.2	Cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>α</i>]-quinolizinio (36)	74
4.5.3	Cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>α</i>]quinolizinio(38)	76
4.5.4	Cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12 <i>H</i> -indolo[2,3- <i>α</i>]-quinolizinio (39)	78
4.6	Evaluación de la citotoxicidad <i>in vitro</i> . Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular <i>in vitro</i> .	80
5	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	82
5.1	Conclusiones	82
5.2	Perspectivas	83
<hr/>		
	BIBLIOGRAFÍA	84
	APÉNDICE	86

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Programa Nacional de Quimioterapia de Cáncer: 1955-1982.	5
2	Parámetros de adquisición de los espectros de ^1H y ^{13}C .	26
3	Parámetros de procesamiento de los espectros de ^1H y ^{13}C	26
4	Rendimiento de las reacciones de síntesis	34
5	Datos del análisis de pureza	34
6	Asignación del espectro de ^1H RMN de los precursores en DMSO- d_6 (400.13 MHz, 300 K, δ en ppm, J en Hz.)	35
7	Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los precursores en DMSO- d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm)	36
8	Asignación del espectro de ^1H RMN de los compuestos sintetizados por Teuber en DMSO- d_6	37
9	Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Teuber en DMSO- d_6	37
10	Asignación del espectro de ^1H RMN de los compuestos sintetizados por Quintanilla en DMSO- d_6	38
11	Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Quintanilla en DMSO- d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm)	39
12	Asignación del espectro de ^1H RMN de los compuestos sintetizados por Caballero en DMSO- d_6	40
13	Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Caballero en DMSO- d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm)	40
14	Concentración citotóxica <i>in vitro</i> (CT_{50}) de Indoloquinolizinas sintetizadas por medio de la reacción de Teuber, a partir de Triptaminas	41

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



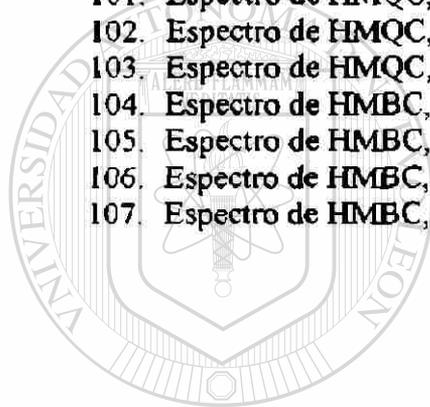
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Fármacos antineoplásicos diversos.	8
2. Alcaloides extraídos de plantas del género <i>Rauwolfia</i> , estudiadas por Beljanski.	9
3. Mecanismo propuesto de la reacción de Teuber.	13
4. Sustancias con la estructura base de indoloquinolizina sintetizadas por Teuber.	14
5. Sustancias con la estructura base de indoloquinolizina sintetizadas por Quintanilla.	14
6. Espectro de ^1H RMN del indol	87
7. Espectro de ^1H RMN de la triptamina	88
8. Espectro de ^1H RMN del hidrocloreuro de triptamina	89
9. Espectro de ^1H RMN del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	90
10. Espectro de ^1H RMN del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	91
11. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del indol	92
12. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de la triptamina	93
13. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del hidrocloreuro de triptamina	94
14. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	95
15. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	96
16. Espectro de ^{13}C RMN, del indol	97
17. Espectro de ^{13}C RMN, de la triptamina	98
18. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocloreuro de triptamina	99
19. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	100
20. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	101
21. Espectro de DEPT 135, del indol	102
22. Espectro de DEPT 135, de la triptamina	103
23. Espectro de DEPT 135, del hidrocloreuro de triptamina	104
24. Espectro de DEPT 135, del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	105
25. Espectro de DEPT 135, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	106
26. Espectro de HMQC, del indol	107
27. Espectro de HMQC, de la triptamina	108
28. Espectro de HMQC, del hidrocloreuro de triptamina	109
29. Espectro de HMQC, del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	110
30. Espectro de HMQC, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	111
31. Espectro de HMBC, del indol	112
32. Espectro de HMBC, de la triptamina	113
33. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de triptamina	114
34. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de 5-metiltriptamina	115
35. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina	116
36. Espectro de ^1H RMN de 24	117
37. Espectro de ^1H RMN de 25	118
38. Espectro de ^1H RMN de 26	119
39. Espectro de ^1H RMN de 27	120

40.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 24	121
41.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 25	122
42.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 26	123
43.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 27	124
44.	Espectro de ^{13}C RMN, de 24	125
45.	Espectro de ^{13}C RMN, de 25	126
46.	Espectro de ^{13}C RMN, de 26	127
47.	Espectro de ^{13}C RMN, de 27	128
48.	Espectro de DEPT 135, de 24	129
49.	Espectro de DEPT 135, de 25	130
50.	Espectro de DEPT 135, de 26	131
51.	Espectro de DEPT 135, de 27	132
52.	Espectro de HMQC, de 24	133
53.	Espectro de HMQC, de 25	134
54.	Espectro de HMQC, de 26	135
55.	Espectro de HMQC, de 27	136
56.	Espectro de HMBC, de 24	137
57.	Espectro de HMBC, de 25	138
58.	Espectro de HMBC, de 26	139
59.	Espectro de HMBC, de 27	140
60.	Espectro de ^1H RMN de 28	141
61.	Espectro de ^1H RMN de 29	142
62.	Espectro de ^1H RMN de 30	143
63.	Espectro de ^1H RMN de 31	144
64.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 28	145
65.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 29	146
66.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 30	147
67.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 31	148
68.	Espectro de ^{13}C RMN, de 28	149
69.	Espectro de ^{13}C RMN, de 29	150
70.	Espectro de ^{13}C RMN, de 30	151
71.	Espectro de ^{13}C RMN, de 31	152
72.	Espectro de DEPT 135, de 28	153
73.	Espectro de DEPT 135, de 29	154
74.	Espectro de DEPT 135, de 29	155
75.	Espectro de DEPT 135, de 31	156
76.	Espectro de HMQC, de 28	157
77.	Espectro de HMQC, de 29	158
78.	Espectro de HMQC, de 30	159
79.	Espectro de HMQC, de 31	160
80.	Espectro de HMBC, de 28	161
81.	Espectro de HMBC, de 29	162
82.	Espectro de HMBC, de 30	163
83.	Espectro de HMBC, de 31	164
84.	Espectro de ^1H RMN de 35	165
85.	Espectro de ^1H RMN de 36	166

86.	Espectro de ^1H RMN de 38	167
87.	Espectro de ^1H RMN de 39	168
88.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 35	169
89.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 36	170
90.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 38	171
91.	Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 39	172
92.	Espectro de ^{13}C RMN, de 35	173
93.	Espectro de ^{13}C RMN, de 36	174
94.	Espectro de ^{13}C RMN, de 38	175
95.	Espectro de ^{13}C RMN, de 39	176
96.	Espectro de DEPT 135, de 35	177
97.	Espectro de DEPT 135, de 36	178
98.	Espectro de DEPT 135, de 38	179
99.	Espectro de DEPT 135, de 39	180
100.	Espectro de HMQC, de 35	181
101.	Espectro de HMQC, de 36	182
102.	Espectro de HMQC, de 38	183
103.	Espectro de HMQC, de 39	184
104.	Espectro de HMBC, de 35	185
105.	Espectro de HMBC, de 36	186
106.	Espectro de HMBC, de 38	187
107.	Espectro de HMBC, de 39	188



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

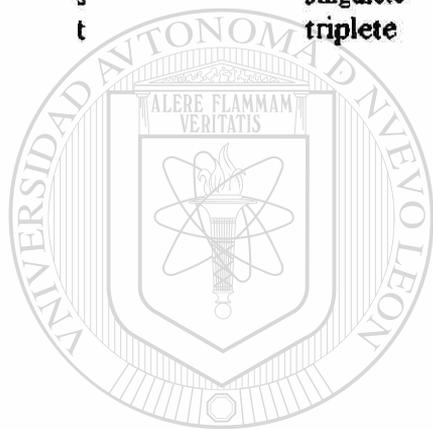


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ATCC	American Type Culture Collection
C	Carbono
°C	Grados Celsius
cols.	Colaboradores
CT ₅₀	Concentración Tóxica 50 %
CT ₀	Concentración Tóxica 0 %
CT ₁₀₀	Concentración Tóxica 100 %
CCF	Cromatografía en capa Fina
COLOC	Correlation Spectroscopy Via Long-Range Coupling
COSY.	(Correlation Spectroscopy),
DEPT	Distorsionless Enhancement Polarization Transfer
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
ETOH	Etanol
Éter Et	Éter etílico
Fig.	Figura
H	Hidrógeno
HETCOR	Heteronuclear Shift Correlation
HMBC.	Heteronuclear Multiple Bond Correlation spectroscopy
HMQC.	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation spectroscopy
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
¹³ CRMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
¹ HRMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
K	Grados Kelvin
k	Kilo
LDDRD	Laboratory of Drug Discovery Research and Development
MEM	Medio Esencial Mínimo
NCDDG	National Cooperative Drug Discovery Group
NCI	National Cancer Institute
nOe	Nuclear Overhauser effect
<i>R_f</i>	Factor de retardo (cociente de frentes)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SFB	Suero Fetal bovino
T1	Tiempo de relajación Longitudinal
UV-Vis	Ultravioleta Visible
g	Gramo
h	Hora
Hz	Hertz
Kcal/mol	Kilo Calorías por Mol
MHz	Mega hertz
μg	Microgramo
μL	Microlitro
μM	Micromolar

mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
mmol	Milimoles
M	Molar
min.	Minuto
nm	Nanómetro
psi	pound square inch (Libra por Pulgada Cuadrada)
ppm	Partes por millón (unidades del desplazamiento químico)
n	multiplete
δ	Desplazamiento Químico
λ	Longitud de onda
d	doblete
s	simplete
t	triplete



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 1

INTRODUCCION

1.1 Naturaleza del Cáncer

El cáncer se caracteriza por la existencia de células que han sufrido un cambio en los mecanismos de control que regulan su capacidad de diferenciación y de proliferación. La proliferación excesiva ocasiona la penetración en tejidos adyacentes, la compresión de estructuras vecinas (nervios, vasos, etc.) y la migración a otros territorios donde mantienen su capacidad de crecer y proliferar. ¹

El objetivo de la terapéutica anticancerosa es la eliminación completa de toda célula neoplásica mediante métodos quirúrgicos, radioterápicos y/o farmacológicos. Si esta extirpación completa es posible, se habla de curación o tratamiento radical, pero si la neoplasia no está localizada, existen metástasis o no es posible la erradicación por diversos motivos, el objetivo de la terapéutica es paliativo: reducir el tamaño del tumor o el número de células, aliviar los síntomas y prolongar la supervivencia con una calidad de vida aceptable. La farmacoterapia anticancerosa constituye una herramienta terapéutica muy útil que coadyuva, junto con la cirugía y la radioterapia, a mejorar el pronóstico de la enfermedad.

La quimioterapia en general y en particular la de las neoplasias, se concibe conceptualmente como "Toxicidad Selectiva" (alto daño para un tipo de células y bajo o ninguno para otras). Este concepto fue planteado por Paul Ehrlich (1854-1915) y rara vez se alcanza plenamente en la quimioterapia de las neoplasias, ya que la semejanza entre las células de origen benigno y maligno es muy estrecha. ²

Las células presentes en un tumor no son homogéneas aunque se hayan originado de un mismo grupo clonal; por el contrario, en el transcurso de la proliferación y

del crecimiento, las células desarrollan características distintas de carácter bioquímico, morfológico e inmunológico, probablemente como consecuencia de cambios mutagénicos. Esta heterogeneidad celular se traducirá, entre otras consecuencias, en diferencias de sensibilidad a la acción de los fármacos citotóxicos, desde una sensibilidad elevada hasta una resistencia total.

Además de esta heterogeneidad bioquímica, la población de células de un tumor presenta diferencias relativas a la fase del ciclo celular en que se encuentran. Así, mientras unas están en fases de elevado crecimiento o proliferación, otras pueden encontrarse en fase de reposo. Precisamente, gran parte de las neoplasias se diagnostican cuando ya han llegado a una etapa de crecimiento desacelerado; esta desaceleración se debe a que presentan problemas de vascularización, competencia entre células para conseguir los elementos nutritivos, problemas de espacio, etc. Estos tumores (en general tumores sólidos) contienen una fracción muy elevada de células que ya no se dividen o que lo hacen muy lentamente. Puesto que muchos de los fármacos antineoplásicos son más eficaces contra las células en división rápida, esto quiere decir que, en principio, gran parte de la población celular de un tumor puede ser resistente al agente antineoplásico. En estas circunstancias, una reducción inicial en el número de células por medios quirúrgicos, radioterapia y acción de fármacos que actúen con independencia de la fase del ciclo celular puede modificar el equilibrio intratumoral y estimular a las células que se dividían lentamente para que lo hagan con más rapidez, convirtiéndose en células más sensibles a los fármacos que actúan en las fases de crecimiento rápido.

Así mismo, cuando un tumor se encuentra sometido a la acción selectiva de un tratamiento farmacológico, las células sensibles son destruidas, pero la subpoblación de mutantes que se han hecho resistentes sobrevive y prolifera; es decir, con el tiempo, la destrucción celular provocada por un fármaco tiende a disminuir a medida que se van seleccionado las variantes resistentes.

De todo lo expuesto se desprende que el tratamiento farmacológico de un tumor rara vez va a responder a un único agente, si se quiere que su acción permanezca un tiempo prolongado. Por el contrario, será precisa la acción conjunta de varios fármacos; en ocasiones, esta conjunción cooperativa podrá hacerse al mismo tiempo, pero a menudo se hará de manera sucesiva o en fases, atendiendo las modificaciones bioquímicas y cinéticas que sufran las células tumorales. La necesidad, pues, de un tratamiento plurifarmacológico es un principio sólidamente incorporado a la terapéutica antineoplásica. Su eficacia será tanto mayor cuanto mejor cumpla los siguientes requisitos:

- a) Los fármacos deben ser activos frente a más de uno de los tipos de células que forman una población tumoral;
- b) Han de actuar por mecanismos bioquímicos diferentes o en fases celulares distintas;
- c) Han de poseer toxicidad orgánica diferente, o al menos, manifestarse con una secuencia temporal distinta, y
- d) Que sus actividades respectivas se sumen, sin embargo, es preferible que presenten sinergia o potenciación.

Finalmente, para que un fármaco antineoplásico actúe, es condición indispensable que pueda acceder en concentración suficiente a todas las células sensibles a él. Si bien, es cierto que los fármacos pueden llegar mejor que otros métodos terapéuticos en determinadas situaciones (grupos de células no visibles por su tamaño, metástasis múltiples e infiltrados en lugares poco accesibles al bisturí o las radiaciones), en otras pueden no hacerlo, debido a que sus características farmacocinéticas se lo impiden, o porque las células han desarrollado una resistencia consistente en dificultar el paso a través de la membrana celular, o bien, porque la concentración eficaz sería tal que implicaría una grave toxicidad.¹

En la actualidad, un número importante de enfermedades neoplásicas pueden ser tratadas mediante terapia que emplee únicamente agentes antineoplásicos, o estos agentes combinados con otros métodos. No obstante, y a pesar de los avances en

el diagnóstico y tratamiento, esta clase de enfermedades continúa ocupando la segunda causa de mortalidad general en los Estados Unidos de América así como en México, particularmente en Nuevo León.³ Esto se debe en gran medida, a que muchas de las formas de cáncer más frecuentes son todavía resistentes a una terapia efectiva.

En la quimioterapia de las enfermedades neoplásicas continuamente se producen avances, ya que la investigación en este campo es de creciente interés e importancia práctica para la medicina en general.

En los últimos años, uno de los mayores progresos ha sido el descubrimiento de nuevos o mejores agentes quimioterapéuticos. Una gran variedad de compuestos ha sido objeto de minuciosas investigaciones para evaluar su actividad. Sin embargo, sólo unos pocos han probado ser suficientemente útiles para el tratamiento de neoplasias humanas, con niveles aceptables de toxicidad, como para merecer la designación de agentes quimioterapéuticos.

Al respecto, el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) de Estados Unidos estableció un Programa Nacional para la Quimioterapia del Cáncer (National Cancer Chemotherapy Program) en 1955. Su propósito fue descubrir y desarrollar nuevos agentes antitumorales. El sistema empezó con la adquisición de nuevos compuestos, los cuales fueron probados en animales, producidos y formulados, evaluados toxicológicamente, y pasados en una serie de pruebas clínicas humanas. Entre 1955 y 1982 se evaluaron cerca de 700,000 sustancias, constituyendo una parte muy importante de esta clasificación los compuestos de origen sintético, con cerca de un 50 % de las sustancias analizadas, (Tabla 1).

 Tabla 1. Programa Nacional de Quimioterapia de Cáncer: 1955-1982.

Sustancias Probadas	Números analizadas
Compuestos de origen sintético	350,000
Productos de Fermentación	200,000
Sustancias extraídas de plantas	120,000
Productos de animales marinos	16,000
Modificadores de respuesta biológica	—

Tomado de Gringauz. 1997. ⁴

A pesar del esfuerzo extraordinario, probablemente no más de 40 agentes carcinolíticos con actividad anticancerígena (clínica) sustancial se han descubierto, y solo varios se han comercializado. ⁴ En las últimas décadas se desarrolló una búsqueda sistemática con programas como el Laboratory of Drug Discovery Research and Development (LDDR) y el National Cooperative Drug Discovery Group (NCDDG), ambos como parte del National Cancer Institut (NCI).

La búsqueda de sustancias producidas por la naturaleza o sintetizadas químicamente que tengan una gran afinidad por el DNA de células cancerosas se ha llevado a gran escala. Algunas de estas sustancias se unen a las bases del DNA, otras se intercalan entre dos cadenas de DNA. Su interacción con este último resulta en la inhibición preferencial ya sea de la transcripción de DNA en RNA o en la replicación del DNA. Varios fármacos usados en la terapia del cáncer tienen tales propiedades pero también actúan como mutágenos hacia las células normales. ⁵

Se ha mostrado que el DNA de células cancerosas y no cancerosas de mamíferos y de plantas, exhiben un patrón de actividad *in vitro* diferente. Así, en un ensayo bioquímico (oncotest) se demostró que los carcinógenos estimulan preferentemente, y en gran medida, la síntesis *in vitro* del DNA de células cancerosas; mientras que el estímulo en la síntesis del DNA de células normales es muy pequeño.

La conducta diferente del DNA canceroso y normal frente a los fármacos antineoplásicos, es debida a las áreas relativamente desestabilizadas del primero, las cuales conducen a la aparición de cadenas simples que ofrecen más sitios para enlazarse a estas sustancias. Algunas de ellas se enlazan selectivamente a este tipo de DNA y consecuentemente previenen la replicación de éste. ⁵

1.2 Clasificación y mecanismos generales de la acción antineoplásica y citotóxica

Los compuestos antineoplásicos se pueden clasificar de acuerdo a su origen. Resulta útil clasificar a los agentes antineoplásicos de acuerdo a su origen y de su principal mecanismo de acción. ^{1,6}

1.2.1 Fármacos antimetabolitos

Actúan en la fase de síntesis del ciclo celular porque interfieren en la síntesis del DNA y RNA. La mayoría son análogos estructurales que normalmente intervienen en los procesos de crecimiento y división, razón por la que se pueden incorporar a las moléculas de DNA y RNA, y desde allí transmitir falsos mensajes, por ejemplo: el 5-Fluorouracilo **1** que se usa en el tratamiento de hepatomas, carcinoma de ovario, cuello uterino, vejiga, próstata, páncreas y zonas bucofaringeas. ^{1,6}

1.2.2 Productos naturales

- a) Inhibidores de la mitosis. Ejercen su acción citotóxica porque, tras unirse a la tubulina, inhiben su formación (alcaloides de la Vinca: Vinblastina **2**, Vincristina **3**, que son agentes antimitóticos que se usan para tratar leucemias, linfomas y cáncer testiculares) o, por el contrario, la incrementan y estabilizan haciéndola poco funcional (taxol **4**), se usa en el tratamiento de cáncer de ovario y ha tenido actividad promisoriosa contra cánceres de seno, pulmones, esófago, cabeza y cuello). ^{1,6}

- b) **Inhibidores de topoisomerasas.** El alcaloide camptotecina y sus análogos topotecán e irinotecán, inhiben la topoisomerasa I. La topoisomerasa II es inhibida por los derivados de la podofilotoxina (etopósido y tenipósido, que se usan en cáncer testicular y leucemia linfoblástica aguda refractaria, respectivamente) y por los antibióticos antracíclicos daunorrubicina y doxorrubicina, quienes se cuentan entre los agentes antitumorales más importantes. La daunorrubicina se ha utilizado preferentemente contra leucemias agudas, mientras que la doxorrubicina posee actividad más amplia contra neoplasias del ser humano, incluso algunos tumores sólidos. ^{1,6}
- c) **Antibióticos.** Son de origen y estructura muy diversa y su mecanismo de acción también puede ser muy diferente: intercalarse entre cadenas de DNA, inhibir topoisomerasas y alterar la membrana celular, por ejemplo: la Mitomicina 5, que se usa en combinación para tratar el carcinoma de colón o estómago. ^{1,6}
- d) **Enzimas.** La L-asparaginasa rompe el aminoácido asparagina, privando de su actividad a la célula que no es capaz de sintetizarlo. Esta enzima es un componente útil de regimenes para tratar leucemia linfoblástica aguda y otros cánceres linfoides. ^{1,6}

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

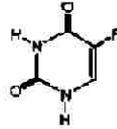
1.2.3 Agentes Alquilantes y Formadores de enlaces en el DNA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

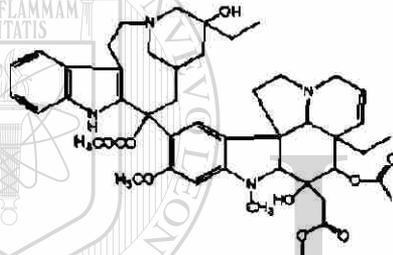
Los agentes alquilantes muestran gran afinidad por el DNA y las proteínas, a los que adicionan sus radicales altamente reactivos. Así, producen enlaces entre cadenas de DNA y otras transformaciones, impidiendo su replicación y transcripción de RNA. Su acción tiene lugar en cualquier fase del ciclo y su toxicidad puede ser diferida en forma de trastornos gonadales y carcinogénesis. El Cisplatino 6 es un ejemplo de este tipo de agentes, y se recomienda su uso en cáncer de ovario y cáncer testicular avanzado. ¹

1.2.4 Otros compuestos

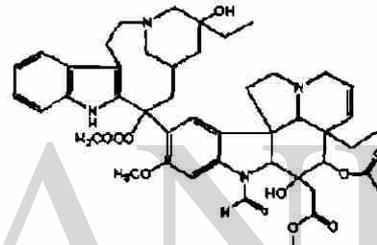
Diversas hormonas (hipotalámicas, glucocorticoides, andrógenos y gestágenos) y sus correspondientes antagonistas son muy eficaces en tumores hormonodependientes. Existen, además, otras sustancias de diverso tipo que actúan por mecanismos muy variados. La dexametasona 7 es un corticosteroide suprarrenal que se usa en metástasis cerebral.^{1,6}



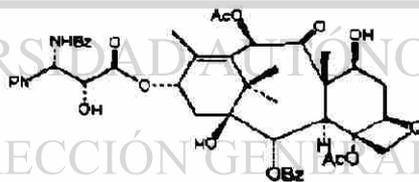
5-Fluorouracilo, 1



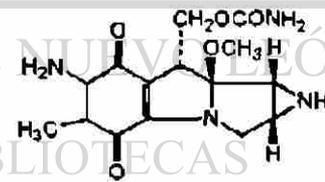
Vinblastina, 2



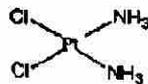
Vincristina, 3



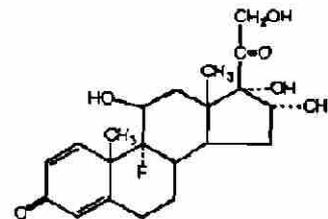
Taxol, 4



Mitomicina, 5



Cisplatino, 6



Dexametasona, 7

Fig. 1. Fármacos antineoplásicos diversos.

1.3 Actividad Antineoplásica de alcaloides de plantas del género *Rauwolfia*

El alto patrón de actividad *in vitro* del DNA nativo de tejidos cancerosos de mamíferos y plantas, comparado con el DNA de tejidos sanos, capacita para seleccionar sustancias las cuales inhiban selectivamente la síntesis de DNA canceroso. Entre ellas están, la alstonina **8**, serpentina **9**, sempervirina **10** y flavopereirina **11**. Todos son alcaloides estudiados por Beljanski que pertenecen a las clases de las β -carbolinas e Indoloquinolizinas (Fig. 2), que distinguen el DNA de tejidos cancerosos y el DNA de tejidos sanos e inhiben la síntesis *in vitro* de DNA cuando el DNA nativo de diferentes tejidos o células cancerosas es usado como patrón. Estos prácticamente no afectan a los tejidos sanos. El efecto inhibitorio de estos alcaloides, se debe a su capacidad para formar un complejo alcaloide-DNA canceroso el cual se ha caracterizado por el uso de columnas de Sephadex. Existe evidencia que muestra que estos alcaloides inhiben la iniciación de la síntesis pero no la elongación. La acción estimuladora causada por carcinógenos durante la síntesis *in vitro* de DNA puede ser prevenida y revertida por estos alcaloides.⁵

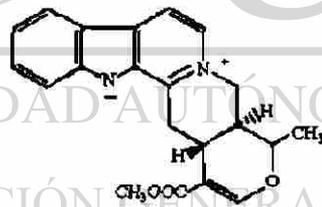
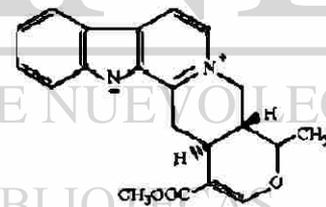
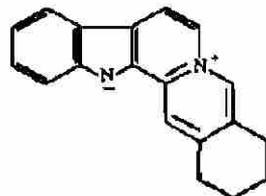
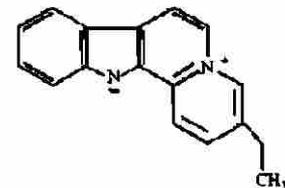
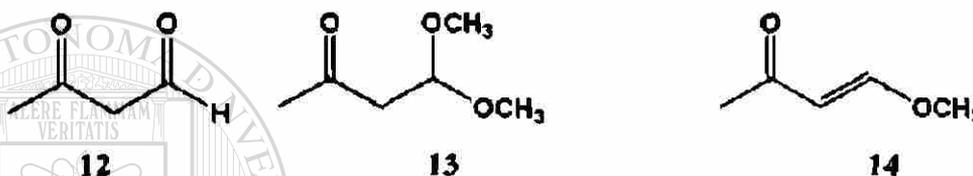
Alstonina, **8**Serpentina, **9**Sempervirina, **10**Flavopereirina, **11**

Fig. 2. Alcaloides extraídos de plantas del género *Rauwolfia*, estudiadas por Beljanski.⁵

1.4 Indoloquinolizinas sintéticas como posibles agentes antitumorales

Debido a los trabajos de Beljanski ha surgido en los últimos años un interés por desarrollar métodos sintéticos para la obtención de indoloquinolizinas.^{7,8}

A partir de 1960, Teuber y sus colaboradores iniciaron el estudio de las reacciones de los diferentes derivados del acetilacetaldehído **12**, (especialmente de la 4,4-dimetoxi-2-butanona **13**, y la 4-metoxi-3-buten-2-ona **14**) con aminas aromáticas, biogénicas, así como con derivados indólicos.⁹

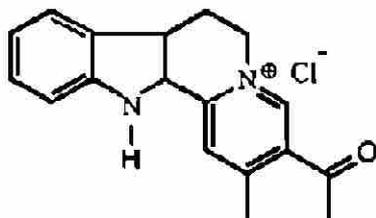


Uno de los objetivos principales de estas investigaciones, era encontrar reacciones modelo que explicaran la biogénesis de alcaloides indólicos e isoquinolínicos.^{10,11}

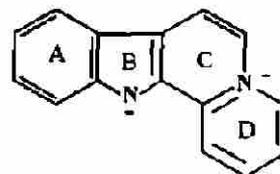
Si bien, los estudios biogenéticos de otros autores demuestran en forma casi excluyente la participación del acetilacetaldehído en la biogénesis del tipo de alcaloides anteriormente mencionados,^{12,13,14} de los trabajos científicos de Teuber y sus colaboradores han resultado una serie de sistemas heterociclos que se pueden utilizar como precursores sintéticos de cierto tipo de alcaloides, por ejemplo de la estricnina, yohimbina, reserpina o emetina, entre otros.^{15,16}

Uno de los descubrimientos más sorprendentes, fue la reacción entre el hidrocloreuro de triptamina y el dimetilacetal del acetilacetaldehído para obtener el cloruro de 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo-[2,3-*a*]quinolizinio **15** (reacción de Teuber). Este sistema tetracíclico con estructura de indoloquinolizina **16**, aparte del interés sintético antes mencionado cobró importancia por los reportes en años recientes de la actividad antineoplásica mostrada por ciertos productos naturales (flavopereirina **11**, sempervirina **10**) con estructura de

indoloquinolizina, quienes inhibieron fuertemente la síntesis *in vitro* de DNA de cáncer de mama y tuvieron una ligera inhibición sobre la síntesis del DNA aislado del tejido sano correspondiente.⁵



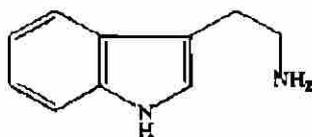
15



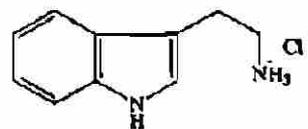
16

1.5 Mecanismo de la reacción de Teuber

De acuerdo a las investigaciones mecanísticas sobre la formación del 3-acetil-7,12-dihidro-2-metil-6*H*-indolo-[2,3-*a*]quinolizinio, el primer paso es la formación de la triptamina 17 a partir del hidrocloreuro de triptamina 18, así como también, la hidrólisis del dimetilacetal del acetilacetaldehído 13 para formar el acetilacetaldehído 12 y dos moléculas de metanol. Aunque el primer proceso está muy desfavorecido dado que las condiciones del medio de reacción son ácidas, se debe tener en mente que en solución se establece el equilibrio ácido-base, el cual se dará aunque sea en una pequeña extensión.



17



18

Además, la formación de la triptamina se ve favorecida por el hecho de que al formarse una molécula de ésta, reacciona con una de acetilacetaldehído previamente protonado para dar el primer paso del mecanismo formal de la formación del cloruro de indoloquinolizino **15**. En lo que se refiere a la hidrólisis de la dimetoxibutanona, ésta se encuentra favorecida por las condiciones ácidas del medio y la presencia de agua en el solvente

Una vez que ocurre la adición nucleofílica sobre el acetilacetaldehído, el aducto formado sigue el curso normal para la formación de la imina correspondiente, la cual a su vez, está en equilibrio tautomérico con la correspondiente enamina **19** que fue el primero de los intermediarios aislados y caracterizados.

Enseguida, dadas las condiciones ácidas del medio de reacción, la imina se protona y experimenta la reacción de ciclación del tipo Pictet-Spengler para dar lugar a la correspondiente tetrahidro- β -carbolina **20**.

Posteriormente, mediante la adición de una segunda molécula de acetilacetaldehído a la tetrahidro- β -carbolina y por un mecanismo similar al de la formación del primer intermediario se obtiene el tercero de los intermediarios **21**.

Nuevamente, dadas las condiciones ácidas del medio, este último intermediario sufre una reacción de ciclación para obtener el cloruro de dihidropiridina **22**; el cual, mediante una reacción de auto oxidación-reducción da como resultado una molécula de cloruro de indoloquinolizino y otra de tetrahidro-piridina **23**. En este último paso se supone la salida de un protón y de un ión hidruro, en pasos consecutivos, de una misma molécula del cloruro de dihidropiridina para que ésta forme el cloruro de indoloquinolizino **15**; y, paralelamente, una segunda molécula de dihidropiridina sufre la adición del ión hidruro desprendido en la primera molécula para formar la tetrahidropiridina **23**.¹⁷

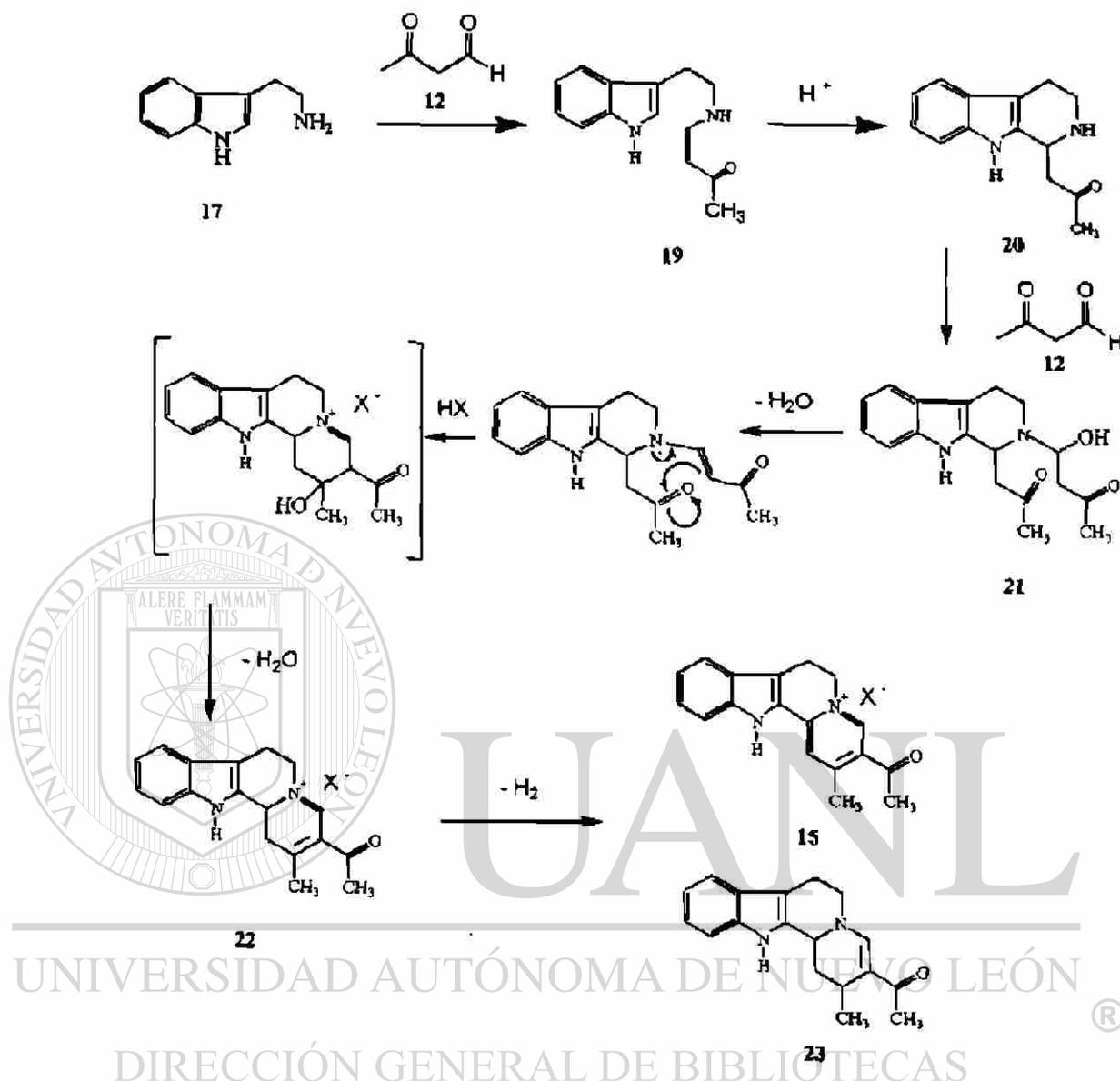


Fig. 3. Mecanismo propuesto de la reacción de Teuber

1.6 Indoloquinolizinas sintetizadas por Teuber y Quintanilla

En años recientes, se han sintetizado varias indoloquinolizinas por medio de la reacción de Teuber (Fig. 4 y 5). A estas sustancias semejantes a las indoloquinolizinas estudiadas por Beljanski, aún no se les ha estudiado su actividad citotóxica en líneas celulares cancerosas y su caracterización estructural está incompleta.¹⁸

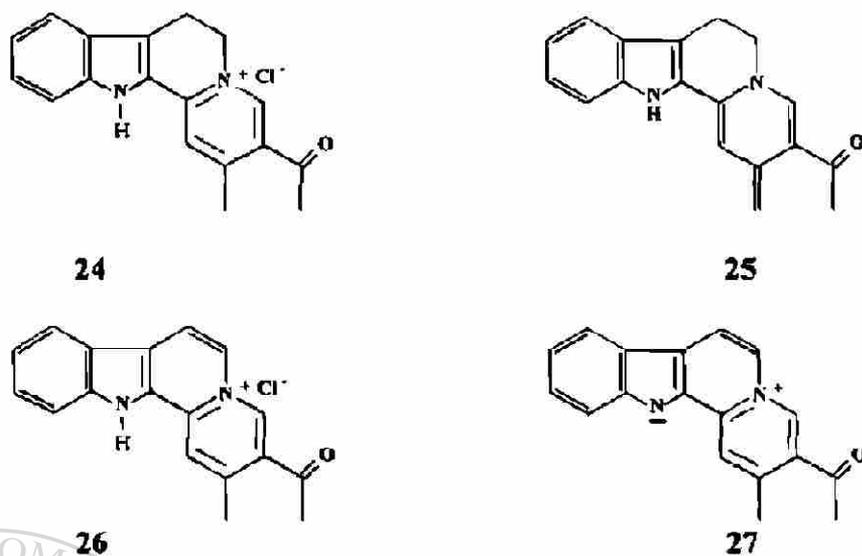


Fig. 4. Sustancias con la estructura base de indoloquinolizina sintetizadas por Teuber.

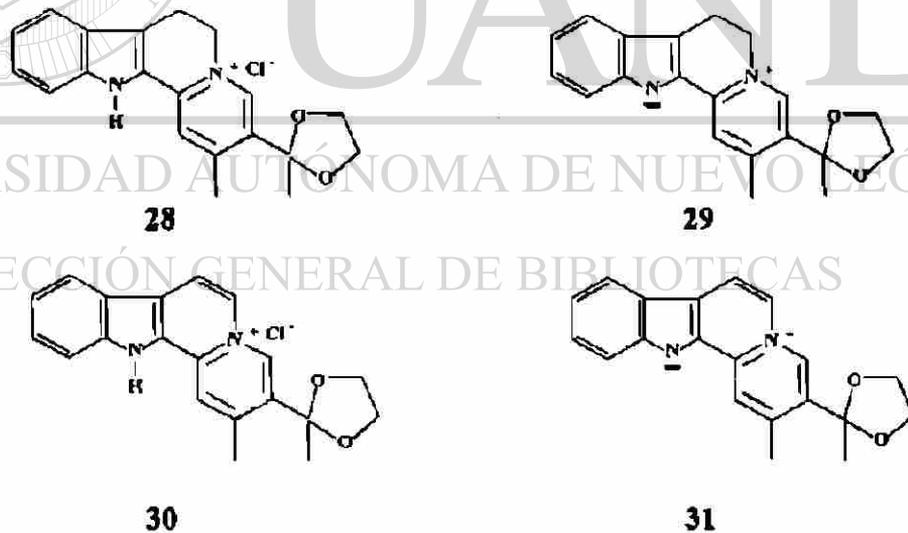


Fig. 5. Sustancias con la estructura base de indoloquinolizina sintetizadas por Quintanilla

1.7 Diseño racional de Medicamentos

En el desarrollo actual de fármacos, se hace cada vez más importante establecer Relaciones Cuantitativas de Estructura Actividad (RCEAs) a fin de diseñar compuestos de mayor potencia y con menos efectos secundarios. El desarrollo de RCEAs, se remonta al trabajo de Hammett acerca del desarrollo de relaciones lineales de energía libre. Hammett demostró que es posible expresar propiedades termodinámicas como función de variaciones estructurales y electrónicas. Varios años después, Hansch estableció relaciones lineales entre actividad fisiológica y constantes de partición. El uso de herramientas computacionales permite guiar la selección de los candidatos de síntesis hacia aquellos más prometedores.¹⁹

Una vez que se cuenta con una recopilación de datos de actividad farmacológica para una serie de compuestos, el trabajo de determinaciones RCEAs se divide en tres fases:

- 1 Selección de descriptores moleculares
- 2 Análisis estadístico
- 3 Diseño estructural y síntesis de nuevos compuestos

1.8 Caracterización estructural de sustancias. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Desde el desarrollo de la espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear de alta resolución, los espectros de RMN han sido una herramienta fundamental para el análisis estructural de productos sintéticos y productos naturales aislados de plantas, bacterias, etc. En la década de los 80's ocurrió una segunda revolución. La introducción de los materiales superconductores en la manufactura de magnetos, combinado con el desarrollo de técnicas de pulsos altamente sofisticadas y la asociación de la Transformada de Fourier, ofreció a la química un método satisfactorio para determinar la estructura tridimensional de moléculas muy grandes.²⁰

1.8.1 El principio

El fundamento físico de la espectroscopia de RMN se basa en las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos. La interacción del momento nuclear magnético con un campo magnético externo, B_0 , permite, de acuerdo a las reglas de la mecánica cuántica, estar en un diagrama de niveles de energía, y debido a la energía magnética del núcleo está restringido a ciertos valores discretos, E_i , llamados niveles de energía. Asociados con los niveles de energía están los estados de energía, los cuales son estados en los cuales solo pueden existir partículas elementales. A través de un transmisor de alta frecuencia, se pueden estimular transiciones entre los estado de energía. La absorción de energía se puede detectar, amplificar y registrar como un espectro de líneas, llamados señal de resonancia.²¹

De esta forma un espectro puede ser generado por un compuesto que contenga átomos cuyos núcleos tengan un momento magnético diferente de cero. Los compuestos orgánicos se componen básicamente de Hidrógeno, Carbono, Fósforo, Nitrógeno y Oxígeno. Cada uno de estos elementos tiene un núcleo isotópico que puede ser detectado por experimentos de RMN. La abundancia natural de ^{15}N y ^{17}N en la naturaleza evita que la RMN se use rutinariamente en el estudio de estos elementos sin el uso de sustancias marcadas.²²

1.8.2 El instrumento

En la actualidad muchos instrumentos están equipados con sondas multinucleares (QNP: quattro nuclei probe) para análisis secuenciales de RMN de ^1H , ^{13}C , ^{31}P y ^{19}F sin la necesidad de realizar cambios en el hardware. Los análisis de rutina se realizan a frecuencias de protón de 300 y 500 MHz. Dependiendo del juego de experimentos, los instrumentos de alta resolución permiten análisis de soluciones de baja concentración ($\mu\text{g/mL}$), pero lo común es una concentración de 1 a 100 $\mu\text{g/mL}$.²³

1.8.3 El espectro

La frecuencia a la cual aparece una señal de RMN depende principalmente de la fuerza del campo magnético. Por ejemplo, los protones tiene una frecuencia de resonancia de 400 MHz a 9.4 Teslas. El ambiente químico de un núcleo activo induce un cambio pequeño en la frecuencia de resonancia, el desplazamiento químico (δ). Los grupos funcionales encuentran su expresión en el desplazamiento químico. El resultado es un diagrama de intensidad en función de la frecuencia; el espectro de RMN. En la espectroscopia de RMN, cada átomo químicamente diferente da una señal.

1.8.4 Técnicas de RMN

Ya que los fármacos usados en la clínica son principalmente sintéticos o productos naturales, la espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear ha sido usada principalmente para la elucidación y confirmación de estructuras. Se espera que la RMN (^1H y ^{13}C), junto con otras técnicas espectroscópicas y de análisis elemental, deban ser usados de rutina para confirmar la estructura de los fármacos. Se deben tomar cuidados para estar seguros que la reproducción de espectros sea completamente legibles, las asignaciones completas se deben de dar dentro de lo posible. La ruta de síntesis se puede usar para soportar la evidencia de la estructura y la Resonancia Magnética Nuclear puede ayudar para confirmar las reacciones involucradas.²¹

Un rango amplio de técnicas de RMN para ^1H y para ^{13}C está presente en las aplicaciones para soportar la estructura química propuesta, para este fin los equipos de RMN multinuclear han sido apropiados.

1.8.4.1 Experimentos de ^1H RMN

El propósito de los experimentos de ^1H RMN, es registrar un espectro de rutina de protón para obtener información relacionada con la estructura de los protones de la molécula: desplazamientos químicos (δ), constantes de acoplamiento espín-espín e intensidades.²⁴

1.8.4.2 Experimentos para determinar el efecto Nuclear Overhauser

Muchos problemas en asignaciones estereoquímicas, por ejemplo la diferenciación entre uniones dobles *E* y *Z* o entre grupos *exo* y *endo* en compuestos bicyclicos, no se pueden resolver por medio del uso de las constantes de acoplamiento sino de la presencia adecuada de protones. En muchos casos, sin embargo, un experimento de mediciones de las diferencias de los efectos Nuclear Overhauser (nOe) provee una respuesta fácil y extraordinaria. La irradiación de un grupo de protones provoca un cambio en las intensidades de otras señales, el cual está relacionado con el inverso de la sexta potencia de la distancia entre los espines.²⁴

1.8.4.3 Experimentos de ^{13}C RMN

El propósito de los experimentos de ^{13}C RMN es registrar un espectro de ^{13}C con desacople de protones para obtener información de los desplazamientos químicos (δ) para determinar la estructura química de la molécula.²⁴

1.8.4.4 Experimentos de Transferencia de la Polarización

Los experimentos de Transferencia de la Polarización son útiles para la observación de núcleos de constante giromagnética pequeña (γ), principalmente ^{13}C , los cuales están acoplados al ^1H . Los experimentos DEPT son una edición de la secuencia del espectro, esto es, puede ser usado para generar subspectros por separado de ^{13}C para señales de metilos (CH_3), metilenos (CH_2) y metinos (CH). Los experimentos DEPT hacen uso de la generación y manipulación de la coherencia cuántica múltiple para diferenciar entre los diferentes tipos de señales de ^{13}C .²⁴

1.8.4.5 Espectroscopia de Correlación, Cosy (Correlation Spectroscopy)

La espectroscopia de Correlación es una técnica de dos dimensiones homonuclear que es usada para correlacionar el desplazamiento químico de los núcleos de ^1H los cuales están acoplados unos a otros. ²⁴

1.8.4.6 Espectroscopia de Correlación Múltiple Cuántica Heteronuclear, HMQC (Heteronuclear Múltiple Quantum Correlation spectroscopy).

La Espectroscopia de Correlación Heteronuclear Cuántica Múltiple es un experimento inverso de correlación de desplazamientos químicos, semejante al HETCOR, que es usado para determinar qué ^1H de la molécula está unido directamente a que núcleo de ^{13}C . La ventaja de HMQC sobre el HETCOR es que en el HMQC se detectan los núcleos con una constante giromagnética grande (γ), ^1H , y así, es posible obtener una alta sensibilidad. ²⁴

1.8.4.7 Espectroscopia de Correlación Heteronuclear de Múltiple Unión, HMBC (Heteronuclear Múltiple Bond Correlation spectroscopy).

La Espectroscopia de Correlación Heteronuclear de Múltiple Unión es una versión modificada del HMQC adecuada para determinar la conectividad ^1H - ^{13}C de largo alcance. HMBC provee básicamente la misma información que COLOC; sin embargo, ya que es un experimento inverso, HMBC tiene una sensibilidad mayor. ²⁴

1.9 Bioensayos. Valoración de la actividad citotóxica *in vitro*

Cuando se sintetizan sustancias que tienen un efecto potencial como agente antineoplásico, se deben caracterizar completamente en términos de su estructura y posteriormente someterlas a la evaluación de su mecanismo de acción.

A través de un esfuerzo coordinado entre la síntesis y la química, los compuestos tendrán que ser caracterizados en modelos bien establecidos para definir su eficacia como agentes antineoplásicos.

Durante los últimos años, se ha incrementado el interés por el desarrollo y uso de sistemas *in vitro* para la evaluación de toxicidad y mecanismo de acción de compuestos químicos, esto debido al alto costo del-mantenimiento de animales de laboratorio y a una tendencia cada vez mayor a la reducción en el número de los mismos en experimentación. Por otro lado, existe la necesidad real de evaluar el potencial tóxico de un número cada vez mayor de sustancias químicas tanto de uso industrial como de posible interés farmacológico y la utilización de los sistemas *in vitro* permite efectuar una preselección reduciendo así el número de compuestos de interés que pasan a ser candidatos para su evaluación en animales.

A diferencia de los sistemas *in vivo*, los sistemas *in vitro* representan modelos de fácil manipulación en los que se puede evaluar no solo el potencial tóxico de un compuesto sino también su mecanismo de acción a nivel celular, subcelular y molecular. Dichos sistemas incluyen el cultivo de órganos, las rebanadas de tejido, los cultivos primarios, las líneas celulares y las fracciones subcelulares de las cuales los microsomas son los más utilizados.

De los sistemas anteriormente mencionados, las líneas celulares representan modelos de fácil manejo para la evaluación de la citotoxicidad general de un compuesto y tienen la ventaja de que pueden ser seleccionadas de entre un variado número de especies y tejidos, así como de acuerdo a su origen (normal o tumoral).

El uso de líneas celulares de origen tumoral y normal, ha resultado de particular interés para el rastreo de compuestos con potencial terapéutico en la quimioterapia del cáncer. Al respecto, el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) en Estados Unidos de América utiliza como parte de sus protocolos de investigación de sustancias con potencial antineoplásico, la evaluación de toxicidad selectiva en líneas celulares de origen tumoral previo al establecimiento de las que serán candidatas a evaluación en animales.²⁵

Los compuestos son entonces probados en Bioensayos, para demostrar una respuesta positiva. En el área de síntesis de fármacos antineoplásicos, se requiere un gran número de pruebas *in vitro* y correlaciones que se necesitan considerar cuando se intenta interrelacionar resultados de pruebas *in vitro* con los estudios de eficiencia *in vivo*. En general, avances recientes en la biología molecular han permitido un gran entendimiento de las bases moleculares del estado de enfermedad. Es conveniente utilizar sistemas *in vitro* que monitoreen una respuesta muy cercana o idéntica con el evento molecular que produce la enfermedad.²⁶

Sobre la base de lo anteriormente expuesto, surgió el interés de sintetizar compuestos análogos a los compuestos de Teuber y Quintanilla.

A través de análogos sintetizados a partir de triptaminas sustituidas, se podría llegar a establecer qué parte de la molécula es la responsable de la acción biológica si se llegara a presentar en las indoloquinolizinas sintetizadas mediante la reacción de Teuber; de esta manera se daría el primer paso para establecer alguna relación estructura-actividad en este tipo de compuestos.

HIPÓTESIS

Las indoloquinolizinas sintetizadas mediante la reacción de Teuber a partir de Triptamina, 5-Metilriptamina y 5-Benciloxitriptamina tienen actividad citotóxica selectiva sobre líneas celulares de cáncer de mama.



OBJETIVO GENERAL

Sintetizar Indoloquinolizinas a partir de Triptaminas sustituidas en la posición 5, caracterizar dichos compuestos además de los compuestos sintetizados por Teuber y Quintanilla por Resonancia Magnética Nuclear y probar su actividad citotóxica.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar los cloruros de dihidro-indoloquinolizinio a partir de la 5-Metiltriptamina y de la 5-Benciloxitriptamina.
2. Sintetizar los Cloruros de indoloquinolizinio a partir de las dihidro-indoloquinolizinas sintetizadas en el objetivo número 1.
3. Sintetizar las indoloquinolizinas a partir de los cloruros de Indoloquinolizinio sintetizados en el objetivo número 2.
4. Caracterizar por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear tanto reactivos que se usaron para cubrir los objetivos anteriores, así como los *productos finales*.
5. Caracterizar por Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear los compuestos sintetizados por Teuber y Quintanilla.
6. Probar la actividad citotóxica selectiva de las indoloquinolizinas sintetizadas en este trabajo y también de indoloquinolizinas sintetizadas por Teuber y Quintanilla.
7. Analizar la relación entre actividad citotóxica selectiva si se llegara a presentar y estructura química de las Indoloquinolizinas objeto de este estudio.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPITULO 2

MATERIAL Y METODOS

2.1 MATERIAL Y EQUIPO

2.1.1 Síntesis de Indoloquinolizinas

Se utilizaron solventes y reactivos grado analítico en cada una de las reacciones efectuadas, y se obtuvieron de las compañías:

Aldrich:

Dimetilacetal del acetilacetaldehído, $C_6H_{12}O_3$ (P.M.: 132), 13

Indol, C_8H_7N (P.M.: 117), 32

Hidrocloreto de 5-Metilriptamina (P.M.: 210.5), $C_{11}H_{15}N_2Cl$, 33

Hidrocloreto de 5-Benciloxitriptamina (P.M.: 302.5), $C_{17}H_{19}ON_2Cl$, 34

Tetracloro-*o*-benzoquinona (P.M.: 246), $C_6O_2Cl_4$

PQM:

NaOH

Ácido acético

Éter etílico

KOH

Metanol

Se utilizó una placa de calentamiento marca Thermolyne Cimarec 2

2.1.2 Verificación de la pureza

2.1.2.1 Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear de 1H .

Se obtuvieron en un espectrómetro marca Bruker, modelo Avance DPX400, con 9.4 Teslas de campo magnético, operado a una frecuencia para 1H de 400.13 MHz.

2.1.2.2 CCF en sílica.

Fase estacionaria: Cromatofolios de silicagel 60 F 254, espesor 0.2 mm, marca Riedel de Haën.

Eluente: Cloroformo-Metanol-Ácido fórmico, en relación (8.25:1.50:0.25), grado analítico, marca PQM

2.1.2.3 Determinación de puntos de descomposición.

Se determinaron en equipo Electrothermal.

2.1.2.4 Determinación de relación de absorbancias 435/380 nm.

Se obtuvo en un espectrofotómetro marca Beckman, modelo DU 7500 con arreglo de Diodos y controlador de Temperaturas tipo Peltier.

2.1.3 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear

Se obtuvieron en un espectrómetro marca Bruker, modelo Avance DPX400, con 9.4 Teslas de campo magnético, operado a una frecuencia para ^1H de 400.13 MHz y para ^{13}C de 100.61 MHz.

La temperatura de la muestra fue controlada mediante una unidad de control de temperatura Eurotherm Bruker. Las mediciones se hicieron a 300 K, y la muestra no se giró dentro del magneto.

Las soluciones de los compuestos se hicieron en DMSO- d_6 , marca Aldrich.

Se utilizaron tubos para RMN de 5 mm de diámetro.

Se utilizó una sonda multinuclear inversa de 5 mm.

Para la adquisición de los espectros se siguieron los parámetros de la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros de adquisición de los espectros de ^1H y ^{13}C .

	Espectros de ^1H	Espectros de ^{13}C
td:	32 k	64 k
sw:	15 ppm	210 ppm
aq:	0.8 s	2.24 s
sf01:	400.132	100.619
pl:	9 μs	12 μs
pl1:	-1 db	- 5 db
d1:	1.5 s	2 s
ns:	32	1 k
ds:	4	8
rg:	128-512	8 k

El procesamiento de la información se realizó utilizando los siguientes parámetros:

Tabla 3. Parámetros de procesamiento de los espectros de ^1H y ^{13}C .

	Espectros de ^1H	Espectros de ^{13}C
sl:	16 k	32 k
lb:	0.3	1.0
gb:	0.0	0.0
pc:	1.0	1.4
wdw:	EM	EM
ssb:	0	0

Se utilizó la señal del solvente como referencia. La señal del solvente se ajustó con la señal del TMS cuyo desplazamiento químico (δ) es 0.

Los experimentos de ^1H RMN de intercambio de deuterio se hicieron añadiendo 100 μL D_2O marca Aldrich a la solución a analizar.

Se analizó el Indol (32) para asentar las bases en la caracterización estructural de los alcaloides indólicos estudiados en el presente trabajo.

2.1.4 Evaluación de la citotoxicidad.

Se utilizaron líneas celulares obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, Maryland, USA):

Línea celular de tejido de mama normal Hs578BsT, (ATCC HTB125)

Línea celular de carcinoma ductal de glándula mamaria BT474, (ATCC HTB20).

Las células fueron sembradas en placas de 96 celdillas, marca Falcon 3072.

La preparación de las soluciones, de los medios de cultivo y la siembra de las células, se hizo en una campana de flujo laminar.

La evaluación microscópica se realizó en un Invertoscopio Axiovert 100 marca Carl Zeiss.

La incubación de las líneas celulares se realizó en una incubadora marca NAPCO, modelo 5410.

Se utilizó una cámara de Neubauer como hemocitómetro.

Se utilizó Etanol absoluto marca Merck

Se utilizaron Suero Fetal bovino (SFB), Medio esencial Mínimo (MEM) y Tripsina, marca Sigma.

2.1.5 Equipo general

Desecación de muestras: Se utilizó una pistola de secado, marca Desaga.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Síntesis del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (35). $C_{19}H_{19}N_2OCl$, PM: 326.50.

En un matraz bola de 25 mL se pesaron 250 mg (1.19 mmol) de hidrocloreto de 5-Metilriptamina (33) y se agregaron 15 ml de ácido acético glacial. La mezcla se calentó a reflujo bajo agitación constante y, una vez que se disolvió el sólido, se añadieron 491.22 mg (3.72 mmol) de dimetilacetal del acetilacetaldehído (13). La mezcla de reacción se dejó a reflujo por cuatro horas y posteriormente se dejó enfriar y reposar hasta que ya no precipitó más sólido. El producto obtenido se filtró a vacío y se lavó con 5 mL de éter etílico, posteriormente se colocó en un desecador a vacío con NaOH. El sólido seco se recrystalizó en agua con lo que se obtuvieron cristales en forma de agujas de color amarillo.

2.2.2 Síntesis del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (36). $C_{19}H_{17}N_2OCl$, PM: 324.50

Se disolvieron 250 mg (0.76 mmoles) del compuesto 35 en una mezcla de ácido acético:agua en la relación 6.6:0.4, a temperatura de ebullición. Una vez disuelto el reactivo, se agregaron cuidadosamente 1.324 g (5.38 mmoles) de tetracloro-*o*-benzoquinona y se mantuvo a reflujo (80 °C) durante 6 horas; la mezcla se dejó enfriar y reposar por toda una noche. El sólido obtenido se filtró y lavó con 20 mL de éter etílico. El sólido recuperado se dejó secar en un desecador a vacío con hidróxido de potasio. El compuesto sintetizado se recrystalizó en metanol diluido.

2.2.3 Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (37). $C_{19}H_{16}N_2O$, PM: 288.0.

Se disolvieron 100 mg del compuesto 36 en agua, se calentó a reflujo. Una vez disuelto el reactivo, se añadió un exceso de hidróxido de sodio 1N, la indoloquinolizina precipitó inmediatamente. El sólido obtenido se filtró y se recrystalizó en agua. El compuesto se dejó en un desecador a vacío con hidróxido de Potasio.

2.2.4 Síntesis del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12H-indolo[2,3-a]quinolizino (38). $C_{25}H_{23}N_2OCl$, PM: 402.5

En un matraz bola de 25 mL se pesaron 250 mg (0.82 mmol) de hidrocloreto de 5-benciloxitriptamina (34) y se agregaron 15 ml de ácido acético glacial. La mezcla se calentó a reflujo bajo agitación constante y, una vez que se disolvió el sólido, se añadieron 341.81 mg (2.58 mmol) de dimetilacetal del acetilacetaldehído (13). La mezcla de reacción se dejó a reflujo por cuatro horas y posteriormente se dejó enfriar y reposar hasta que ya no precipitó más sólido. El producto obtenido se filtró a vacío y se lavó con 5 mL de éter etílico, posteriormente se colocó en un desecador a vacío con NaOH. El sólido seco se recrystalizó en agua con lo que se obtuvieron cristales en forma de agujas de color amarillo.

2.2.5 Síntesis del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12H-indolo[2,3-a]quinolizino (39). $C_{25}H_{21}N_2OCl$, PM: 400.5

Se disolvieron 250 mg (0.62 mmol) del compuesto (38) en una mezcla de ácido acético:agua en la relación 6.6:0.4, a temperatura de ebullición. Una vez disuelto el reactivo, se agregaron cuidadosamente 0.739 g (3.00 mmoles) de tetracloro-*o*-benzoquinona y se mantuvo a reflujo (80 °C) durante 6 horas; la mezcla se dejó enfriar y reposar por toda una noche. El sólido obtenido se filtró y lavó con 20 mL de éter etílico. El sólido recuperado se dejó secar en un desecador a vacío con hidróxido de potasio. El compuesto sintetizado se recrystalizó en metanol diluido.

2.2.6 Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12H-indolo[2,3-a]quinolizina (40). $C_{25}H_{20}N_2O$, PM: 364

Se disolvieron 100 mg del compuesto (39) en agua, se calentó a reflujo. Una vez disuelto el reactivo, se añadió un exceso de Hidróxido de sodio 1N, la indoloquinolizina precipita inmediatamente. El sólido obtenido se filtró y se recrystalizó en agua. El compuesto se dejó en un desecador a vacío con hidróxido de Potasio.

2.2.7 Verificación de la pureza de los Indoloquinolizinas sintetizadas

A todos los compuestos sintetizados se les realizaron espectros de ^1H RMN, se sometieron a CCF en sílica gel con el eluyente 1, se les determinó el punto de descomposición y se determinó la relación de absorbancias a 435/380 nm.

2.2.8 Caracterización por medio de RMN de los compuestos sintetizados

Una vez que a los compuestos sintetizados se les verificó la pureza, se procesaron para llevar a cabo los experimentos de RMN de la siguiente manera:

Se secaron en pistola de desecación durante 24 horas temperatura ambiente.

Se tomó una alícuota de la muestra (aprox. 5 mg) y se disolvió en 0.5 mL del solvente a utilizar.

La solución se filtró y se colocó en un tubo de RMN limpio y seco de 5 mm.

El tubo se colocó en el magneto por medio del flujo de aire. Ya que se desplegó la señal del "lock" sobre la pantalla se realizó el procedimiento de amarre (lock) de la señal y se utilizó la señal del deuterio del solvente para optimizar la homogeneidad del campo magnético (shimming).

Se cargó el programa de adquisición del experimento a realizar, el cual comprendió los siguientes comandos básicos: memoria cero, programa de espera de relajación, el pulso de excitación, adquisición y la escritura de la información en el archivo. ²⁴

Después de la adquisición de datos se procesó la información.

Se obtuvieron espectros de ^1H RMN y ^{13}C RMN y posteriormente se asignaron cada una de las señales de hidrógeno y carbono de cada compuesto, con la ayuda de técnicas de doble dimensión como COSY, HMQC y HMBC.

2.2.9 Evaluación de la citotoxicidad *in vitro*: Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular *in vitro*.

2.2.9.1 Cultivo de líneas celulares.²⁷

Las células de ambas líneas se cultivaron en frascos T-25 en medio esencial mínimo (MEM) suplementado al 10 % con suero fetal bovino (SFB), y en el caso de la línea celular HTB125 se suplementó con el factor de crecimiento epidermoide (1 ng/mL).

Los frascos se incubaron a 37 °C durante 3 a 4 días hasta la formación de la monocapa celular.

Cuando la monocapa se hubo formado, ésta se expuso a 1.5 mL de tripsina al 0.25%, durante 5 a 15 min., con el propósito de desprender del recipiente y separar las células entre sí.

Posteriormente, las células se resuspendieron en medio MEM y se determinó la concentración celular en un hemocitómetro (cámara de Neubauer), ajustándose la concentración a 20×10^3 células por cada 0.1 mL.

Para la exposición celular a los compuestos se agregaron 0.1 mL de la suspensión celular (20,000 células) a cada celdilla de la placa de 96 y se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

2.2.9.2 Exposición celular a las indoloquinolizinas.

Las placas fueron revisadas microscópicamente para evaluar la formación de la monocapa celular en todas las celdillas.

Se retiró el medio de cultivo y se añadieron 100 μL de medio MEM a las 96 celdillas.

Se adicionaron las sustancias disueltas en etanol, en 12 concentraciones (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ hasta 0.019 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Se utilizaron tres celdillas para cada concentración a evaluar, se utilizó el etanol como control.

Las exposiciones celulares fueron evaluadas en dos ocasiones diferentes, en experimentos separados.

Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 72 horas. Una vez concluido el período de incubación, las celdillas fueron revisadas microscópicamente con diferentes factores de amplificación (100x, 200x y 300x)

2.2.9.3 Determinación de la CT_{50}

El criterio de citotoxicidad evaluado fue la adhesión celular a la placa; las celdillas donde todas las células estaban desprendidas, fueron consideradas como celdillas con concentración citotóxica total (CT_{100}), y las celdillas con adhesión celular igual a las células de las celdillas control, fueron consideradas como concentración no citotóxica (CT_0).

La concentración citotóxica 50% (CT_{50}) fue calculada como el promedio geométrico entre la CT_{100} (la cual dio el efecto máximo), y la CT_0 (la cual no produjo daño celular) de acuerdo al criterio de Ekwall.²⁸

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Síntesis de compuestos

3.1.1 Síntesis de los Cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (35) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (38).

Como productos de síntesis se obtuvieron dos precipitados en color amarillo, el rendimiento se observa en la tabla 4. Los puntos de descomposición, los valores de R_f y de relación de absorbancias se muestran en la tabla 5.

3.1.2 Síntesis de los Cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (36) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (39).

Como productos de síntesis se obtuvieron dos precipitados en color café claro, el rendimiento se observa en la tabla 4. Los puntos de descomposición, los valores de R_f y de relación de absorbancias se muestran en la tabla 5.

3.1.3 Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (37) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (40).

Como productos de síntesis se obtuvieron dos precipitados en color café oscuro, el rendimiento se observa en la tabla 4. Los puntos de descomposición, los valores de R_f y de relación de absorbancias se muestran en la tabla 5.

Tabla 4. Rendimiento de las reacciones de síntesis.

Compuesto	Cantidad (mg)	% Rendimiento
35	97	24.93
36	130	52.42
37	40	40.00
38	95	27.46
39	145	58.46
40	55	55.00

3.2 Verificación de la pureza de los compuestos sintetizados

La pureza de todos los compuestos sintetizados se confirmó por ^1H RMN.

Tabla 5. Datos del análisis de pureza.

Compuesto	R_f en CCF	p. Descomposición	Rel. abs. 435/380
35	0.90	275.67 °C \pm 1.13	0.958 \pm 0.028
36	0.60	281.56 °C \pm 1.15	0.944 \pm 0.014
37	0.60	263.52 °C \pm 1.13	0.912 \pm 0.021
38	0.69	274.03 °C \pm 1.57	0.986 \pm 0.032
39	0.65	291.12 °C \pm 1.21	0.965 \pm 0.023
40	0.65	251.32 °C \pm 1.12	0.976 \pm 0.027

3.3 Caracterización por medio de RMN de los compuestos sintetizados

3.3.1 Caracterización de los precursores

Para llevar a cabo la caracterización de los precursores, se obtuvieron y se analizaron los siguientes espectros:

Espectro de ^1H RMN, figuras 6 a la 10.

Espectro 2D ^1H RMN, Cosy, figuras 11 a la 15

Espectro de ^{13}C RMN, figuras 16 a la 20.

Espectro de DEPT 135, figuras 21 a la 25.

Espectro de HMQC, figuras 26 a la 30.

Espectro de HMBC a 7 Hz, figuras 31 a la 35.

La asignación de cada una de las señales de ^1H y ^{13}C en las moléculas se presentan en las tablas 6 y 7.

Tabla 6. Asignación del espectro de ^1H RMN de los precursores en DMSO- d_6 (400.13 MHz, 300 K, δ en ppm, J en Hz.).

protón	Indol	Triptamina	Triptamina -HCl	5-Metilriptamina -HCl	5-Benziloxitriptamina -HCl
NH	11.08 (s)	10.79 (s)	11.10 (s)	10.89 (s)	10.83 (s)
2	7.33 (t, 2.65)	7.11 (s)	7.25 (d, 2.0)	7.17 (d, 0.95)	7.18 (s)
3	6.42 (t, 2.65)	***	***	***	***
4	7.53 (d, 7.93)	7.51 (d, 7.79)	7.58 (d, 7.81)	7.34 (s)	7.20 (s)
5	6.98 (t, 7.63)	6.96 (t, 7.38)	7.00 (t, 7.16)	***	***
6	7.07 (t, 7.63)	7.05 (t, 7.44)	7.09 (t, 7.51)	6.90 (d,)	6.81 (dd,)
7	7.39 (d, 8.24)	7.33 (d, 7.44)	7.39 (d, 8.5)	7.25 (d,)	7.27 (d,)
5-CH ₃	***	***	***	2.38 (s)	***
5-O-CH ₂	***	***	***	***	5.09 (s)
1'	***	2.81 (2H, t, 6.27)	3.07 (2H, s)	3.01 (2H, s)	2.97 (2H, d)
2'	***	2.75 (2H, t, 6.27)	3.07 (2H, s)	3.01 (2H, s)	3.99 (2H, d)
-NH ₂	***	3.37 (3H, s,a)	8.32 (3H, s)	8.21 (3H, s)	8.01 (3H, s)
2''	***	***	***	***	7.47 (2H, d)
3''	***	***	***	***	7.38 (2H, t)
4''	***	***	***	***	7.19 (1H, m)

Tabla 7. Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los precursores en DMSO- d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm).

carbón	Indol	Triptamina	Triptamina -HCl	5-Metilriptamina -HCl	5-Benciloxitriptamina -HCl
2	125.07	122.46	123.22	123.26	124.29
3	100.84	112.50	109.48	108.89	109.34
3a	127.47	127.26	126.75	126.95	127.27
4	119.87	118.23	118.05	117.59	101.88
5	118.64	117.97	118.35	126.75	152.24
6	120.75	120.67	121.03	122.63	112.00
7	111.26	111.21	111.48	111.17	112.39
7a	135.71	136.19	136.22	134.59	131.74
1'	****	42.60	39.23	39.19	23.22
2'	****	29.45	22.95	22.99	39.21
5-CH ₃	****	****	****	21.20	****
5-O-CH ₂	****	****	****	****	70.00
1''	****	****	****	****	137.83
2''	****	****	****	****	127.87
3''	****	****	****	****	128.53
4''	****	****	****	****	127.83

3.3.2 Caracterización de los compuestos sintetizados por Teuber

Para llevar a cabo la caracterización de los compuestos sintetizados por Teuber, ¹⁸ compuestos 24 al 27, se obtuvieron y se analizaron los siguientes espectros:

Espectro de ^1H RMN, figuras 36 a la 39.

Espectro 2D ^1H RMN, Cosy, figuras 40 a la 43

Espectro de ^{13}C RMN, figuras 44 a la 47.

Espectro de DEPT 135, figuras 48 a la 51.

Espectro de HMQC, figuras 52 a la 55.

Espectro de HMBC a 7 Hz, figuras 56 a la 59.

La asignación de cada una de las señales de ^1H y ^{13}C en las moléculas se presentan en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Asignación del espectro de ^1H RMN de los compuestos sintetizados por Teuber en DMSO-d_6 (400.13 MHz, 300 K, δ en ppm, J en Hz.)

protón	24	25	26	27
1	8.35 (s)	6.40 (s)	8.96 (s)	8.76 (s)
4	9.46 (s)	7.80 (s)	10.07 (s)	9.73 (s)
6	4.94 (t, 7.15)	3.92 (t, 5.84)	9.11 (d, 6.90)	8.53 (d, 6.18)
7	3.43 (t, 7.15)	2.99 (t, 5.84)	8.87 (d, 6.90)	8.51 (d, 6.18)
8	7.76 (d, 8.05)	7.50 (d, 7.83)	8.47 (d, 8.03)	8.21 (d, 7.82)
9	7.19 (t, 7.89)	7.02 (t, 7.42)	7.50 (t, 7.78)	7.11 (t, 7.28)
10	7.41 (t, 7.89)	7.15 (t, 7.42)	7.77 (t, 7.78)	7.40 (t, 7.28)
11	7.57 (d, 7.89)	7.35 (d, 8.11)	7.89 (d, 7.78)	7.77 (d, 8.49)
12 (NH)	12.75 (s)	11.46 (s)	13.80 (s)	***
2-CH ₃	2.72 (3H, s)	***	2.81 (3H, s)	2.71 (3H, s)
Acetil-CH ₃	2.69 (3H, s)	2.28 (3H, s)	2.81 (3H, s)	2.71 (3H, s)
Metilén-CHa	***	4.28 (1H, s)	***	***
Metilén-CHb	***	5.51 (1H, s)	***	***

Tabla 9. Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Teuber en DMSO-d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm)

carbón	24	25	26	27
1	122.74	112.51	122.42	122.09
2	142.88	134.41	132.11	141.18
3	130.64	113.18	130.62	128.40
4	146.92	147.52	139.78	138.95
6	54.98	49.50	127.55	119.36
7	18.86	20.05	116.51	116.22
7a	119.56	110.30	123.85	123.55
7b	124.55	125.70	120.58	122.90
8	120.85	118.59	122.24	121.17
9	120.92	119.15	121.79	117.40
10	126.97	122.86	129.88	125.79
11	112.73	111.27	112.90	118.71
11a	139.90	137.30	141.64	155.00
12a	124.59	127.20	129.57	140.13
12b	157.03	127.74	146.10	134.91
2-CH ₃	21.82	96.03	21.42	21.05
Acetil-CH ₃	29.33	26.65	29.43	29.06
C=O	196.26	194.07	197.08	197.30

3.3.3 Caracterización de los compuestos sintetizados por Quintanilla

Para llevar a cabo la caracterización de los compuestos sintetizados por Quintanilla, ¹⁹ compuestos 28 al 31, se obtuvieron y se analizaron los siguientes espectros:

Espectro de ¹H RMN, figuras 60 a la 63.

Espectro 2D ¹H RMN, Cosy., figuras 64 a la 67.

Espectro de ¹³C RMN, figuras 68 a la 71.

Espectro de DEPT 135, figuras 72 a la 75.

Espectro de HMQC, figuras 76 a la 79.

Espectro de HMBC a 7 Hz, figuras 80 a la 83.

La asignación de cada una de las señales de ¹H y ¹³C en las moléculas se presentan en las tablas 10 y 11.

Tabla 10. Asignación del espectro de ¹H RMN de los compuestos sintetizados por Quintanilla en DMSO-d₆ (400.13 MHz, 300 K, δ en ppm, J en Hz.)

protón	28	29	30	31
1	8.34 (s)	8.29 (s)	9.10 (s)	9.13 (s)
4	8.77 (s)	8.49 (s)	9.41 (s)	9.31 (s)
6	4.89 (t, 7.22)	4.70 (t, 7.44)	9.17 (d, 6.96)	9.02 (d, 5.87)
7	3.37 (t, 7.22)	3.24 (t, 7.44)	8.76 (d, 6.96)	8.62 (d, 5.87)
8	7.71 (d, 8.04)	7.44 (d, 7.75)	8.41 (d, 7.99)	8.30 (d, 7.58)
9	7.16 (t, 7.58)	6.81 (t, 7.06)	7.45 (t, 7.51)	7.32 (t, 6.92)
10	7.36 (t, 7.58)	6.98 (t, 7.06)	7.71 (t, 7.51)	7.59 (t, 6.92)
11	7.54 (d, 8.31)	7.39 (d, 8.20)	7.84 (d, 8.29)	7.78 (d, 7.27)
12 (NH)	12.70 (s)	***	13.99 (s)	***
2-CH ₃	2.72 (3H, s)	2.63 (s)	2.84 (s)	2.78 (3H, s)
Dioxolan-CH ₃	1.70 (3H, s)	1.68 (s)	1.79 (s)	1.77 (3H, s)
Dioxolan-CH ₂ (a)	3.85 (2H, t, 7.30)	3.90 (2H, s)	3.89 (2H, t, 6.81)	3.87 (2H, s)
Dioxolan-CH ₂ (b)	4.10 (2H, t, 7.30)	4.07 (2H, s)	4.17 (2H, t, 6.81)	4.12 (2H, s)

Tabla 11. Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Quintanilla en DMSO- d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm).

carbón	28	29	30	31
1	123.14	122.82	122.97	123.22
2	141.43	146.00	131.53	132.03
3	136.33	133.66	135.55	135.08
4	142.48	140.74	134.27	133.83
6	54.92	55.00	127.29	125.84
7	18.82	19.83	115.95	115.87
7a	117.32	113.99	122.44	122.28
7b	124.66	126.43	120.54	120.82
8	120.55	119.64	121.97	121.67
9	120.50	117.70	121.40	120.51
10	126.04	122.45	129.14	128.32
11	112.56	116.86	112.73	113.71
11a	139.29	147.21	141.18	143.39
12a	124.56	131.14	129.58	131.35
12b	155.88	157.00	146.31	145.56
2-CH ₃	20.70	20.38	20.68	20.53
Dioxolan-CH ₃	25.49	25.66	25.62	22.57
Dioxolan-CH ₂ (a)	64.20	64.10	64.24	64.24
Dioxolan-CH ₂ (b)	64.20	64.10	64.24	64.24
Dioxolan-Cq	106.43	106.59	106.74	106.80

3.3.4 Caracterización de los compuestos sintetizados en este trabajo

Para llevar a cabo la caracterización de los compuestos sintetizados en el presente trabajo, compuestos 35 al 39, se obtuvieron y se analizaron los siguientes espectros:

Espectro de ^1H RMN, figuras 84 a la 87.

Espectro 2D ^1H RMN, Cosy, figuras 88 a la 91

Espectro de ^{13}C RMN, figuras 92 a la 95.

Espectro de DEPT 135, figuras 96 a la 99.

Espectro de HMQC, figuras 100 a la 103.

Espectro de HMBC a 7 Hz, figuras 104 a la 107.

Los compuestos 37 y 40 no se caracterizaron debido a la pobre solubilidad en DMSO- d_6 , lo que nos impidió analizarlos por RMN.

La asignación de cada una de las señales de ^1H y ^{13}C en las moléculas se presentan en las tablas 12 y 13.

Tabla 12. Asignación del espectro de ^1H RMN de los compuestos sintetizados por Caballero en DMSO-d_6 (400.13 MHz, 300 K, δ en ppm, J en Hz.).

protón	35	36	38	39
1	8.21 (s)	8.19 (s)	8.23 (s)	8.25 (s)
4	9.41 (s)	9.33 (d, 7.79)	9.41 (s)	9.37 (s)
6	4.90 (t, 7.08)	4.95 (d, 7.44)	4.88 (t, 7.27)	5.09 (d, 7.21)
7	3.43 (t, 7.08)	3.40 (d, 7.44)	3.36 (t, 7.27)	3.99 (d, 7.21)
8	7.52 (s)	7.21 (s)	7.31 (m)	7.21 (s)
10	7.24 (d, 8.50)	7.27 (d, 7.78)	7.13 (dd, 2.26, 8.98)	7.08 (d, 8.01)
11	7.46 (d, 8.50)	7.39 (d, 7.78)	7.49 (d, 2.11)	7.21 (d, 8.01)
12 (NH)	12.45 (s)	12.39 (s)	12.57 (s)	12.55 (s)
2-CH ₃	2.71 (3H, s)	2.65 (3H, s)	2.68 (3H, s)	2.61 (3H, s)
Acetil-CH ₃	2.69 (3H, s)	2.32 (3H, s)	2.67 (3H, s)	2.63 (3H, s)
9-CH ₃	2.41 (3H, s)	2.61 (3H, s)	***	***
9-O-CH ₂	***	***	5.13 (2H, s)	5.18 (2H, s)
2'	***	***	7.48 (m)	7.44 (m)
3'	***	***	7.41 (m)	7.29 (m)
4'	***	***	7.35 (d)	7.30 (s)

Tabla 13. Asignación del espectro de ^{13}C RMN de los compuestos sintetizados por Caballero en DMSO-d_6 (100.61 MHz, 300 K, δ en ppm).

carbón	35	36	38	39
1	122.54	121.13	122.61	119.31
2	142.91	128.55	142.96	141.35
3	130.99	151.35	130.56	129.94
4	146.89	144.39	146.95	146.78
6	54.92	112.31	55.16	111.32
7	18.82	108.57	19.04	109.31
7a	119.02	118.20	119.08	118.32
7b	124.56	124.85	101.68	102.21
8	119.86	121.01	102.30	113.15
9	129.85	128.15	153.52	151.19
10	129.00	127.97	119.34	118.64
11	112.45	111.73	113.91	102.11
11a	138.45	137.99	135.74	134.87
12a	124.76	125.00	125.05	122.33
12b	156.84	142.11	157.07	156.77
2-CH ₃	21.85	21.81	21.96	20.65
Acetil-CH ₃	29.31	28.98	29.40	28.79
9-CH ₃	20.97	21.01	***	***
9-O-CH ₂	***	***	69.79	69.12
C=O	196.23	197.05	196.42	195.89
1'	***	***	137.18	136.66
2'	***	***	127.77	129.57
3'	***	***	128.51	127.67
4'	***	***	127.91	127.14

3.4 Evaluación de la Citotoxicidad *in vitro*: Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular *in vitro*.

Se determinó la CT_{50} para los compuestos después de 72 horas de exposición celular. Los resultados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Concentración citotóxica *in vitro* (CT_{50}) de Indoloquinolizinas sintetizadas por medio de la reacción de Teuber, a partir de Triptaminas.

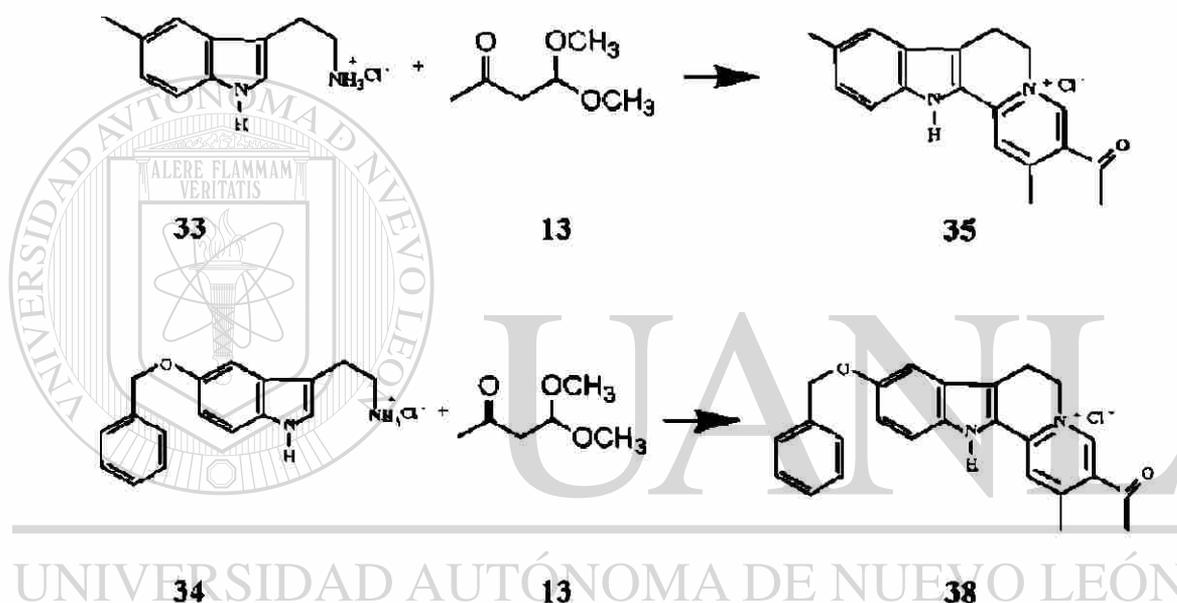
Compuesto	CT_{50} $\mu\text{g/mL}$	
	Línea celular de mama normal (HTB125)	Línea de carcinoma ductal (HTB20)
24	28.0	14.0
25	14.0	10.0
26	10.0	5.0
27	5.0	3.5
28	28.0	14.0
29	20.0	7.0
36	14.0	10.0
37	14.0	10.0
39	14.0	7.0
40	14.0	10.0

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN

4.1. Discusión de la síntesis de los compuestos 35-40.

4.1.1 Síntesis de los cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo [2,3-*a*] quinolizinio (35) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio (38).

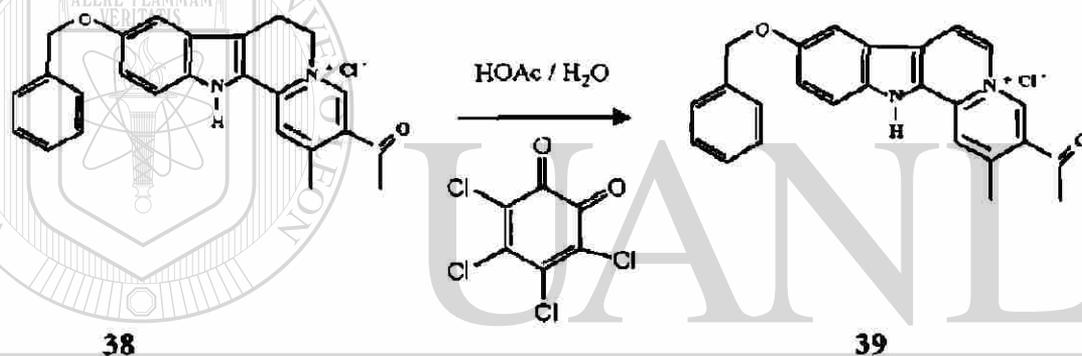
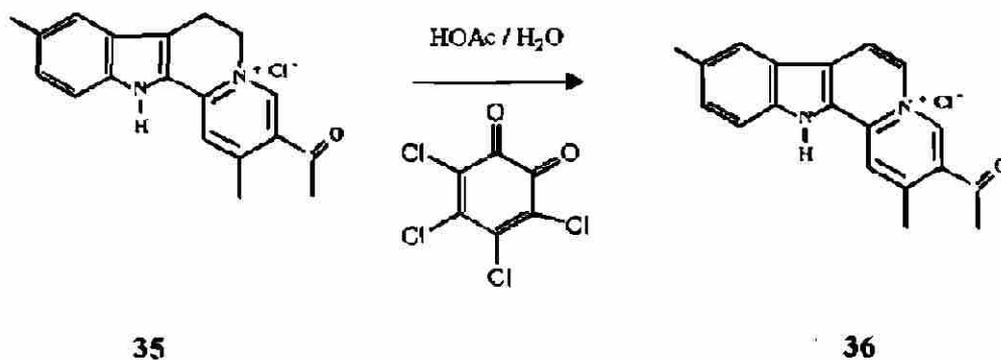


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tradicionalmente, este tipo de compuestos se han obtenido mezclando clorhidrato de triptamina 11 con el dimetilacetal del acetilacetaldehído 13, usando ácido acético como solvente,⁹ el cual a su vez sirve como catalizador para la reacción de Pictet-Spengler involucrada.¹⁷ En la síntesis de 35 y 38 se utilizaron dos triptaminas sustituidas en la posición 5, la 5-Metilriptamina 33 y la 5-Benciloxitriptamina 34.

El producto se obtuvo como precipitado del medio de reacción, como un sólido amarillo con un rendimiento del 25 % para el compuesto 35 y un 27.46 % para el compuesto 38. El bajo rendimiento se puede justificar por la baja estabilidad del acetilacetaldehído 13 que se genera *in situ* y por la formación de la hexahidro-indoloquinolizina obtenida como subproducto en la reacción de auto oxidación-reducción en el último paso del mecanismo.

4.1.2 Síntesis de los cloruros de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (36) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (39).

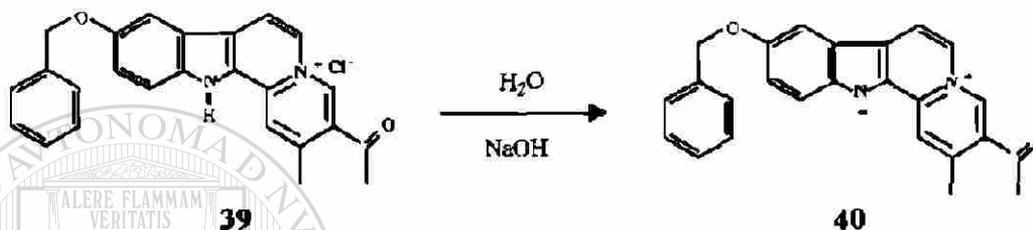
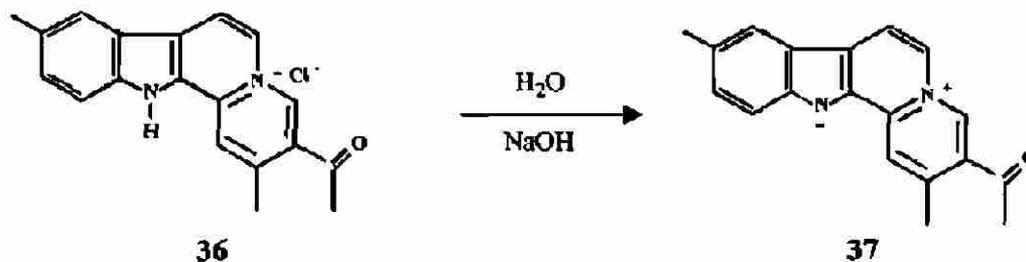


La deshidrogenación de **35** y **38** se intentó al hacer reaccionar la tetrachloro-*o*-benzoquinona y estos compuestos en una relación 3:1, sin embargo la transformación no se completó. La reacción se monitoreó mediante CCF (eluyente 1) hasta tres horas de calentamiento sin lograr la deshidrogenación completa.

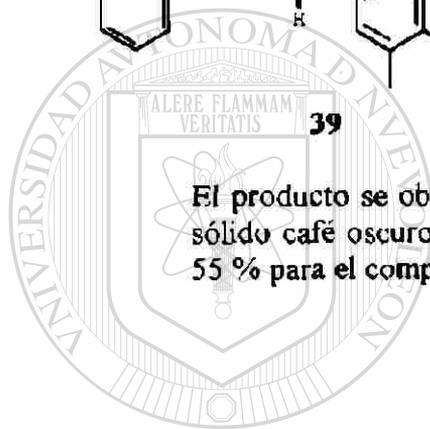
La relación molar de los reactivos se incrementó gradualmente hasta llegar a un valor de 6:1. Los reactivos **35** y **38** se deshidrogenaron completamente después de tres horas. Al finalizar la reacción quedó una solución oscura. Los compuestos se recrystalizaron en metanol sin lograr la eliminación completa de las impurezas. Aparentemente, esta impureza es un compuesto con estructura muy similar a la del compuesto esperado, ya que las señales de ^1H RMN así nos lo indican (Fig. 84-87).

El producto se obtuvo como un precipitado de color café, con un rendimiento del 52.42 % para el compuesto **36** y un 58.46 % para el compuesto **39**.

4.1.3 Síntesis de la 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (37) y 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (40).



El producto se obtuvo como un precipitado del medio de reacción como un sólido café oscuro con un rendimiento del 40 % para el compuesto 37 y un 55 % para el compuesto 40. Los sólidos se recrystalizaron en agua.



UANL

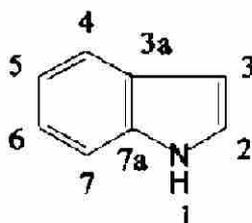
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

4.2. Discusión de la caracterización estructural de precursores.

4.2.1 Indol (32).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 6

Cada uno de los hidrógenos de la estructura química del indol da una señal de RMN distinguible una de otra. Por lo tanto, en el espectro de ^1H RMN aparecen 7 señales en la región de 11.10 ppm a 6.40 ppm. Además, aparece una señal (δ 3.38 ppm) que corresponde al protón del agua presente en el solvente. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 11

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-1 (11.10 ppm) con H-2 (7.33 ppm)
	H-2 (7.33 ppm) con H-3 (6.42 ppm)
	H-4 (7.53 ppm) con H-5 (6.98 ppm)
	H-5 (6.98 ppm) con H-6 (7.07 ppm)
	H-6 (7.07 ppm) con H-7 (7.39 ppm)
4J	H-2 (7.33 ppm) con H-4 (7.53 ppm)
	H-2 (7.33 ppm) con H-7 (7.39 ppm)
	H-4 (7.53 ppm) con H-7 (7.39 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 16

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del indol se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 8 señales, seis de mayor intensidad que se deben a los carbonos terciarios, y dos señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios. Estos picos se localizan en la zona comprendida entre los 100 y 136 ppm. Existen dos señales más, una a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); además, existe una señal a δ de 39.42 ppm que

corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 26

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 6 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 31

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 16 señales de acoplamiento: 3 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 11 señales de acoplamientos a 3 enlaces, 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces y 1 señal de acoplamiento a 5 enlaces.

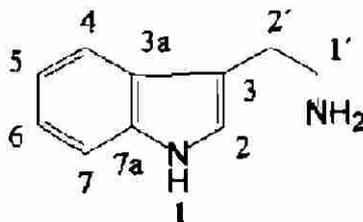
2J H-2 (7.33 ppm) con C-3 (100.84 ppm)
 H-3 (6.42 ppm) con C-2 (125.07 ppm)
 H-6 (7.07 ppm) con C-5 (118.64 ppm)

3J H-2 (7.33 ppm) con C-3a (127.47 ppm)
 H-2 (7.33 ppm) con C-7a (135.71 ppm)
 H-3 (6.42 ppm) con C-7a (135.71 ppm)
 H-4 (7.53 ppm) con C-6 (120.75 ppm)
 H-4 (7.53 ppm) con C-7a (135.71 ppm)
 H-5 (6.98 ppm) con C-7 (111.26 ppm)
 H-5 (6.98 ppm) con C-3a (127.47 ppm)
 H-6 (7.07 ppm) con C-4 (119.87 ppm)
 H-6 (7.07 ppm) con C-7a (135.71 ppm)
 H-7 (7.39 ppm) con C-5 (118.64 ppm)
 H-7 (7.39 ppm) con C-3a (127.47 ppm)

4J H-4 (7.53 ppm) con C-2 (125.07 ppm)

5J H-6 (7.07 ppm) con C-2 (125.07 ppm)

4.2.2 Triptamina (17).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 7

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes de la triptamina da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 12

Acoplamiento observado.

3J (vecinales)

H-1 (10.79 ppm)	con H-2 (7.11 ppm)
H-4 (7.51 ppm)	con H-5 (6.96 ppm)
H-5 (6.96 ppm)	con H-6 (7.05 ppm)
H-6 (7.05 ppm)	con H-7 (7.33 ppm)
H-1' (2.81 ppm)	con H-2' (2.75 ppm)

4J

H-2 (7.11 ppm)	con H-4 (7.51 ppm)
H-4 (7.51 ppm)	con H-7 (7.33 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 17

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula de la triptamina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, que también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales más a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal más,

a δ de 39.425 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 27

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , 32

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

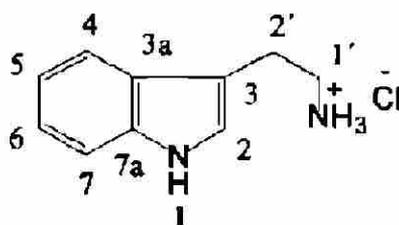
2J H-2 (7.11 ppm) con C-3 (112.50 ppm)
 H-1' (2.81 ppm) con C-3 (112.50 ppm)
 H-1' (2.81 ppm) con C-2' (122.46 ppm)
 H-2' (2.75 ppm) con C-1' (42.60 ppm)

3J H-2 (7.11 ppm) con C-3a (127.26 ppm)
 H-2 (7.11 ppm) con C-7a (136.19 ppm)
 H-4 (7.51 ppm) con C-6 (120.67 ppm)
 H-4 (7.51 ppm) con C-7a (136.19 ppm)
 H-5 (6.96 ppm) con C-7 (111.21 ppm)
 H-5 (6.96 ppm) con C-3a (127.26 ppm)
 H-6 (7.05 ppm) con C-4 (118.23 ppm)
 H-6 (7.05 ppm) con C-7a (136.19 ppm)
 H-7 (7.33 ppm) con C-5 (117.97 ppm)
 H-7 (7.33 ppm) con C-3 (112.50 ppm)

4J H-4 (7.51 ppm) con C-2 (122.46 ppm)

5J H-6 (7.05 ppm) con C-2 (122.46 ppm)

4.2.3 Hidrocloruro de Triptamina (18).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 8

En el espectro de ^1H RMN del hidrocloruro de triptamina se observan 10 señales. En el espectro de ^1H RMN aparecen 7 señales en la región de 11.10 ppm a 6.98 ppm. Además se observa una 1 señal en a 3.07 ppm que corresponde a los dos grupos metilénicos, y a pesar de que químicamente son diferentes, sus desplazamientos caen en el mismo δ . La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 13

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-1 (11.10 ppm) con H-2 (7.25 ppm)
	H-4 (7.58 ppm) con H-5 (7.00 ppm)
	H-5 (7.00 ppm) con H-6 (7.09 ppm)
	H-6 (7.09 ppm) con H-7 (7.39 ppm)
4J	H-5 (7.00 ppm) con H-7 (7.39 ppm)
5J	H-2 (7.25 ppm) con H-7 (7.39 ppm)
6J	H-2 (7.25 ppm) con H-6 (7.09 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 18

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del hidrocloruro de triptamina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran

en la región de 109 y 136 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos, una de ellas se superpone con el septeto que corresponde a la señal de los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 28

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico. Comprobamos que la señal de uno de los metilenos se superpone con la señal del solvente, ya que observamos un acoplamiento de la señal que corresponde a los metilenos con la señal del DMSO.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 33

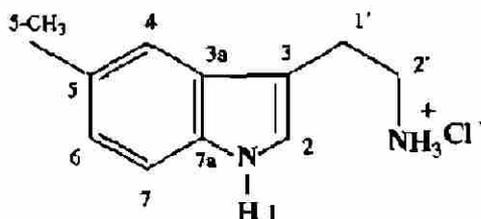
En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 15 señales de acoplamiento: 3 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 11 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J 2H-2 (7.25 ppm) con C-3 (109.48 ppm)
 1'H-1' (3.07 ppm) con C-2' (39.23 ppm)
 2'H-2' (3.07 ppm) con C-1' (22.95 ppm)

3J H-2 (7.25 ppm) con C-3a (126.75 ppm)
 H-2 (7.25 ppm) con C-7a (136.23 ppm)
 H-4 (7.58 ppm) con C-3 (109.48 ppm)
 H-4 (7.58 ppm) con C-6 (121.03 ppm)
 H-4 (7.58 ppm) con C-7a (136.23 ppm)
 H-5 (7.00 ppm) con C-3a (126.75 ppm)
 H-5 (7.00 ppm) con C-7 (109.48 ppm)
 H-6 (7.09 ppm) con C-4 (118.35 ppm)
 H-6 (7.09 ppm) con C-7a (136.23 ppm)
 H-7 (7.39 ppm) con C-3a (126.75 ppm)
 H-7 (7.39 ppm) con C-5 (118.05 ppm)

4J H-4 (7.58 ppm) con C-7 (109.48 ppm)

4.2.4 Hidrocloruro de 5-Metilriptamina (33).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 9

En el espectro de ^1H RMN del hidrocloruro de 5-metilriptamina se observan 11 señales. A campo bajo se observan 6 señales: una a 10.89 ppm que integra para un H, una mas a 8.21 ppm que integra para tres hidrógenos, estas señales corresponden a los hidrógenos intercambiables con deuterio de los grupos amino; se observan cuatro señales mas en la región de 7.36 ppm a 6.89 ppm y estas corresponden a los grupos metinos. Además, aparece una señal a δ 3.39 ppm que corresponde al protón del agua presente en el solvente. Se observo una señal a 3.01 ppm que integra para cuatro hidrógenos, y corresponde a los grupos metilenos de las posiciones 1' y 2'. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. Los hidrógenos del grupo metilo de la posición 5- aparecen a 2.37 ppm como un singulete que integra para tres núcleos. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 14

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-1 (10.89 ppm) con H-2 (7.17 ppm)
	H-4 (7.36 ppm) con CH_3 -5 (2.37 ppm)
	H-6 (6.90 ppm) con H-7 (7.25 ppm)
	H-6 (6.90 ppm) con CH_3 -5 (2.37 ppm)
4J	H-4 (7.36 ppm) con H-6 (6.90 ppm)
5J	H-2 (7.17 ppm) con H-4 (7.36 ppm)
	H-2 (7.17 ppm) con H-7 (7.25 ppm)
	H-4 (7.36 ppm) con H-7 (7.25 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 19

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del hidrocloreto de 5-metilriptamina se observa una señal, es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 11 señales: 4 señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y cuatro señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 108 y 135 ppm. Se observa una señal a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO). Existen dos señales más a campo alto que corresponden a los grupos metileno, una señal de uno de los grupos metileno se superpone con la señal del solvente, esto lo podemos observar más claramente en el espectro DEPT 135, Fig. 24. La señal del grupo metilo se observa a 21.20 ppm. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 29

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que las señales de ^1H que no muestran acoplamiento con alguna señal de carbono son de los hidrógenos de los grupos amino. Aquí se muestra claramente que una de las señales de carbono del grupo metileno de la posición 1' se encuentra superpuesta con la señal del solvente.

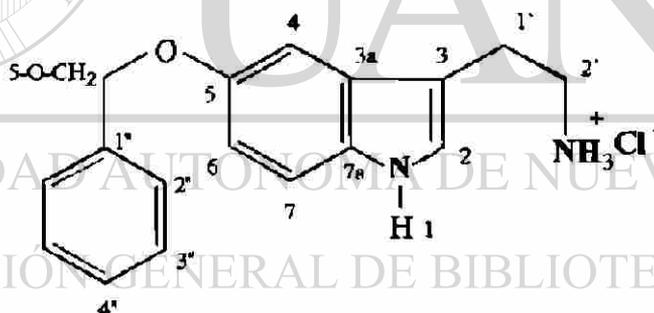
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 34

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 19 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 15 señales de acoplamientos a 3 enlaces.

2J H-1 (10.89 ppm) con C-6 (122.63 ppm)
 H-1 (10.89 ppm) con C-7a (134.59 ppm)
 H-2 (7.17 ppm) con C-3 (108.89 ppm)
 H-1' (3.01 ppm) con C-2' (39.19 ppm)

3J H-1 (10.89 ppm) con C-3 (108.89 ppm)
 H-1 (10.89 ppm) con C-3a (126.95 ppm)
 H-2 (7.17 ppm) con C-3a (126.95)
 H-2 (7.1 ppm) con C-7a (134.59 ppm)
 H-4 (7.34 ppm) con C-3 (108.89 ppm)
 H-4 (7.34 ppm) con C-6 (122.63 ppm)
 H-4 (7.34 ppm) con C-7a (134.59 ppm)
 H-4 (7.34 ppm) con CH₃-5 (2.37 ppm)
 H-6 (6.90 ppm) con C-4 (117.59 ppm)
 H-6 (6.90 ppm) con C-7a (134.59 ppm)
 H-6 (6.90 ppm) con C-11 (2.37 ppm)
 H-7 (7.25 ppm) con C-5 (126.75 ppm)
 H-1' (3.01 ppm) con C-2 (123.26 ppm)
 H-1' (3.01 ppm) con C-3a (126.95 ppm)
 H-2' (3.01 ppm) con C-3 (108.89 ppm)

4.2.5 Hidrocloruro de 5-Benciloxitriptamina (34).



1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 10

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del hidrocloruro de 5-benciloxitriptamina da una señal de RMN, con excepción de los hidrógenos 2 y 4'' que superponen en una señal que integra para 2 núcleos y que se encuentra localizada a 7.19 ppm. En el espectro de 1H RMN aparece una señal a 10.83 ppm que integra para 1 núcleo que es intercambiable con deuterio, y que corresponde al hidrógeno de la posición 1. Existe otra señal que es intercambiable con deuterio y que integra para 3 núcleos y que se

encuentra ubicada a 6.01 ppm. Además existen 6 señales en la región de 7.48 ppm a 6.78 ppm, que corresponde a los grupos metinos; a un δ de 5.09 ppm aparece la señal correspondiente al grupo metileno de la posición 5-O-. Los grupos metilenos de la posición 1' y 2' aparecen a un δ de 2.97 y 3.02 ppm respectivamente, ambas señales integran para 2 núcleos cada una. Además, aparece una señal a δ 3.59 ppm que corresponde al protón del agua presente en el solvente. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado.

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 15

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-1 (10.83 ppm) con H-2 (124.29 ppm)
	H-6 (6.81 ppm) con H-7 (7.27 ppm)
	H-1' (2.97 ppm) con H-2' (3.99 ppm)
	H-2'' (7.47 ppm) con H-4'' (7.19 ppm)
	H-4 (7.19 ppm) con H-6 (6.81 ppm)
	H-4 (7.19 ppm) con H-7 (7.27 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 20

Para cada uno de los carbonos químicamente diferentes en la molécula del hidrocloreto de 5-benciloxitriptamina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 15 señales, quince señales localizadas a campo bajo (152.24 a 101.82 ppm) que corresponden a carbonos aromáticos. Además, existe una señal localizada a 70.00 ppm que corresponde al grupo metileno de la posición 5-O-. La señal del solvente (DMSO- d_6) se observa a un δ de 39.42 ppm.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 30

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 35

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-2 (7.19 ppm) con C-3 (109.34 ppm)
 H-1' (2.97 ppm) con C-3 (109.34 ppm)
 H-1' (2.97 ppm) con C-2' (39.00 ppm)
 H-2' (3.99 ppm) con C-1' (23.22 ppm)

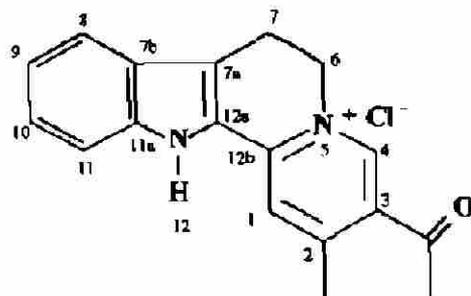
3J H-2 (7.19 ppm) con C-3a (127.27 ppm)
 H-2 (7.19 ppm) con C-7a (131.74 ppm)
 H-4 (7.19 ppm) con C-6 (112.00 ppm)
 H-4 (7.19 ppm) con C-7a (131.74 ppm)
 H-6 (6.81 ppm) con C-4 (127.83 ppm)
 H-6 (6.81 ppm) con C-7a (131.74 ppm)
 H-7 (7.27 ppm) con C-5 (152.24 ppm)
 H-7 (7.27 ppm) con C-3 (109.34 ppm)

4J H-4 (7.19 ppm) con C-2 (124.29 ppm)

5J H-6 (6.81 ppm) con C-2 (124.29 ppm)

4.3 Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Teuber.

4.3.1 Cloruro de 3-acetil-6,7-dihidro-2-metil-12H-indolo[2,3-a]quinolizinio (24).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 36

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-6,7-dihidro-2-metil-12H-indolo[2,3-a] quinolizinio da una señal de RMN. En el

espectro de ^1H RMN aparecen 7 señales en la región de 12.75 ppm a 7.19 ppm, 4 señales en la región de 4.94 a 2.69 ppm. Una de las señales aparece a δ 3.43 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.36 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 40

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-6 (4.94 ppm) con H-7 (3.43 ppm)
	H-8 (7.76 ppm) con H-9 (7.19 ppm)
	H-9 (7.19 ppm) con H-10 (7.41 ppm)
	H-10 (7.41 ppm) con H-11 (7.57 ppm)
4J	H-8 (7.76 ppm) con H-10 (7.41 ppm)
5J	H-8 (7.76 ppm) con H-11 (7.57 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 44

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del Cloruro de 3-acetil-6,7-dihidro-2-metil-12H-indolo[2,3- α] quinolizino se observa una señal.

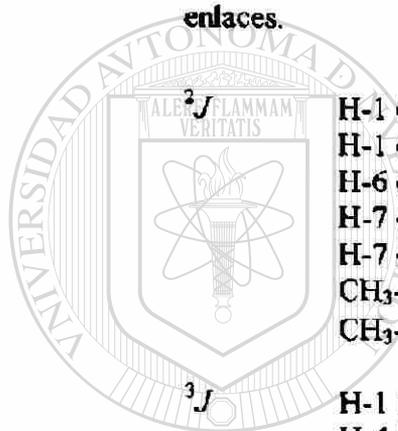
Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 18 señales, seis señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y ocho señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 112 y 196 ppm. Existen cuatro señales mas a campo alto que corresponden a los dos grupos metilenos y a los dos grupos metilos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 52

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 10 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 56

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 21 señales de acoplamiento: 7 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 14 señales de acoplamientos a 3 enlaces.



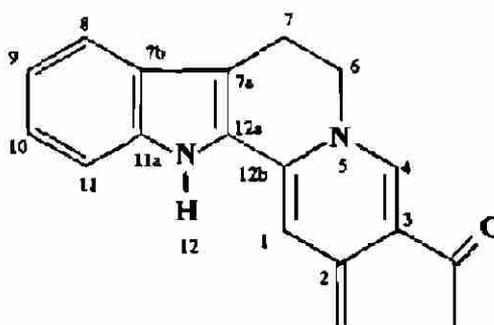
2J

- H-1 (8.35 ppm) con 2C (130.64 ppm)
- H-1 (8.35 ppm) con 12bC (142.88 ppm)
- H-6 (4.94 ppm) con 7C (18.86 ppm)
- H-7 (3.43 ppm) con 6C (54.98 ppm)
- H-7 (3.43 ppm) con 7aC (119.56 ppm)
- CH₃-2 (2.72 ppm) con 2C (130.6 ppm)
- CH₃-Acetil (2.69 ppm) con C=O (196.26 ppm)

3J

- H-1 (8.35 ppm) con CH₃-2 (21.82 ppm)
- H-4 (9.46 ppm) con C-6 (54.98 ppm)
- H-4 (9.46 ppm) con C-2 (130.94 ppm)
- H-4 (9.46 ppm) con C-12b (142.88 ppm)
- H-6 (4.94 ppm) con C-7a (119.56 ppm)
- H-7 (3.43 ppm) con C-12a (124.59 ppm)
- H-8 (7.76 ppm) con C-10 (126.97 ppm)
- H-8 (7.76 ppm) con C-11a (139.90 ppm)
- H-9 (7.19 ppm) con C-7b (124.5 ppm)
- H-9 (7.19 ppm) con C-11 (112.73 ppm)
- H-10 (7.41 ppm) con C-8 (120.85 ppm)
- H-10 (7.41 ppm) con C-11a (139.90 ppm)
- H-11 (7.57 ppm) con C-8 (120.85 ppm)
- H-11 (7.57 ppm) con C-7b (124.55 ppm)

4.3.2 3-acetil-2,6,7,12-tetrahydro-2-metilenindolo[2,3-a]quinolizina (25).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 37

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes de la 3-acetil-2,6,7,12-tetrahydro-2-metilenindolo[2,3-a] quinolizina da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 7 señales en la región de 11.46 ppm a 6.40 ppm que corresponden a los hidrógenos aromáticos, 2 señales en la región de 5.51 a 4.28 ppm, que corresponden a los hidrógenos olefinicos. Además, aparecen dos señales a δ 3.92 y 2.99 ppm que corresponden a los grupos metilénicos. La señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente aparece a un δ de 3.36 ppm. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 2.28 ppm corresponde al grupo metilo.

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 41

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-6 (3.92 ppm) con H-7 (2.99 ppm) H-8 (7.50 ppm) con H-9 (7.02 ppm) H-9 (7.02 ppm) con H-10 (7.15 ppm) H-10 (7.15 ppm) con H-11 (7.35 ppm)
4J	H-8 (7.50 ppm) con H-10 (7.15 ppm) H-9 (7.02 ppm) con H-11 (7.35 ppm)
5J	H-8 (7.50 ppm) con H-11 (7.57 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 45)

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula de la 3-acetil-2,6,7,12-tetrahidro-2-metilenindolo[2,3-*a*] quinolizina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 18 señales, seis señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y ocho señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentra a campo bajo la señal del carbono olefínico; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 96 y 194 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilénos. La señal del solvente se observa a 39.42 ppm (dos carbonos metilénicos equivalentes del DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 53

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 11 señales. Podemos observar que los hidrógenos de la olefina aparecen como dos señales que se acopla a un solo carbono. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

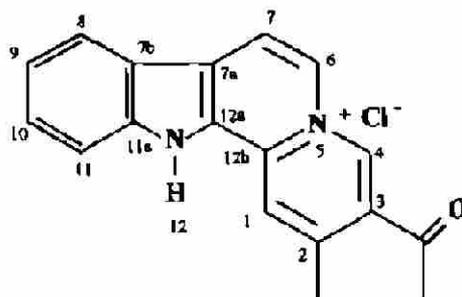
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 57

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 16 señales de acoplamiento: 3 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces.

^2J H-1 (6.40 ppm) con C-12b (127.74 ppm)
 H-4 (7.80 ppm) con C-3 (134.31 ppm)
 H-7 (2.99 ppm) con C-7a (110.30 ppm)

^3J H-1 (6.40 ppm) con C-3 (134.31 ppm)
 H-1 (6.40 ppm) con CH_3 -2 (96.03 ppm)
 H-4 (7.80 ppm) con C-2 (113.41 ppm)
 H-4 (7.80 ppm) con C-12b (127.74 ppm)
 H-6 (3.92 ppm) con C-7a (110.30 ppm)
 H-7 (2.99 ppm) con C-12a (127.20 ppm)
 H-8 (7.50 ppm) con C-10 (122.86 ppm)
 H-8 (7.50 ppm) con C-11a (137.30 ppm)
 H-9 (7.02 ppm) con C-7b (125.70 ppm)
 H-10 (7.15 ppm) con C-8 (120.85 ppm)
 H-10 (7.15 ppm) con C-11a (137.30 ppm)
 H-11 (7.35 ppm) con C-9 (119.15 ppm)
 H-11 (7.35 ppm) con C-7b (125.70 ppm)

4.3.3 Cloruro de 3-acetil-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (26)



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 38)

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 9 señales en la región de 13.80 ppm a 7.48 ppm, 1 señal en 2.80 ppm, que integra para seis hidrógenos. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.33 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 42)

Acoplamiento observado.

3J (vecinales)	H-6 (9.11 ppm) con H-7 (8.87 ppm)
	H-8 (8.47 ppm) con H-9 (7.50 ppm)
	H-9 (7.50 ppm) con H-10 (7.77 ppm)
	H-10 (7.77 ppm) con H-11 (7.89 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 46)

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 3-acetil-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 18 señales, ocho señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y ocho señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales

localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 112 y 197 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos grupos metilos equivalentes del solvente (DMSO-d₆).

2D ¹H-¹³C RMN, HMQC, DMSO-d₆, Fig. 54

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ¹H y el ¹³C, observándose 10 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ¹H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ¹H indólico. Además, se observa el acoplamiento del hidrógeno remanente del DMSO-d₆ con su carbono correspondiente.

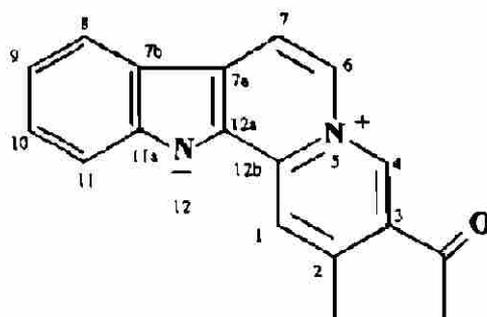
2D ¹H-¹³C RMN, HMBC, DMSO-d₆, Fig. 58

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ¹H y el ¹³C, observándose 17 señales de acoplamiento: 2 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 15 señales de acoplamientos a 3 enlaces.

²J 4H-4 (10.07 ppm) con 3C-3 (146.10 ppm)
6H-6 (9.11 ppm) con 7C-7 (116.51 ppm)

³J H-1 (8.96 ppm) con C-12a (129.57 ppm)
H-4 (10.07 ppm) con C-6 (127.55 ppm)
H-4 (10.07 ppm) con C-12b (132.11 ppm)
H-6 (9.11 ppm) con C-4 (139.78 ppm)
H-6 (9.11 ppm) con C-7a (123.85 ppm)
H-6 (9.11 ppm) con C-12b (132.11 ppm)
H-7 (8.87 ppm) con C-12a (129.57 ppm)
H-8 (8.47 ppm) con C-10 (129.88 ppm)
H-8 (8.47 ppm) con C-11a (141.64 ppm)
H-9 (7.50 ppm) con C-7b (120.58 ppm)
H-9 (7.50 ppm) con C-11 (112.90 ppm)
H-10 (7.77 ppm) con C-8 (122.24 ppm)
H-10 (7.77 ppm) con C-11a (141.64 ppm)
H-11 (7.89 ppm) con C-9 (121.79 ppm)
H-11 (7.89 ppm) con C-7b (120.58 ppm)

4.3.4 3-acetil-2-metilindolo[2,3-*a*]quinolizina (27).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 39

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes de la 3-acetil-2-metilindolo[2,3-*a*] quinolizina da una señal de RMN, excepto los hidrógenos 6 y 7, y para los grupos metilos, que aparecen en una señal. En el espectro de ^1H RMN aparecen 7 señales en la región de 9.73 ppm a 7.11 ppm, que corresponde a los grupos metinos aromáticos; 1 señal en 2.71 ppm, que integra para 6 hidrógenos y que corresponde a los grupos metilo. Además, aparece una señal a δ 3.71 ppm que corresponde al protón del agua presente en el solvente. La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS). Podemos observar la ausencia del hidrógeno indólico, esto concuerda al estado básico en el que se encuentra esta sustancia.

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 43

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-8 (8.21 ppm) con H-9 (7.11 ppm)
	H-9 (7.11 ppm) con H-10 (7.40 ppm)
	H-10 (7.40 ppm) con H-11 (7.77 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 47

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula de la 3-acetil-2-metilindolo[2,3-*a*] quinolizina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 18 señales, ocho señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y ocho señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios,

también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 116 y 197 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilos. Además, existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos grupos metilos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 55

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 8 señales. Aquí se observa que la señal dada para los hidrógenos 6 y 7 se acoplan con dos señales de carbono

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 59

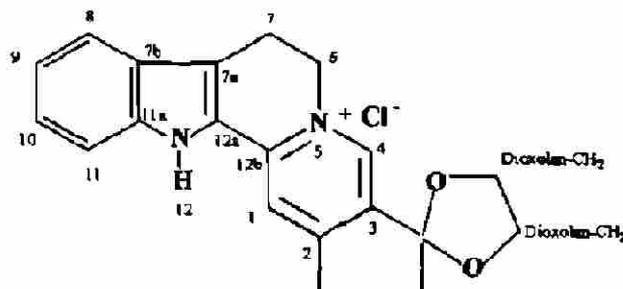
En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 17 señales de acoplamiento: 2 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 15 señales de acoplamientos a 3 enlaces.

2J H-4 (9.73 ppm) con C-3 (141.18 ppm)
H-6 (8.53 ppm) con C-7 (116.22 ppm)

3J H-1 (8.76 ppm) con C-12a (140.13 ppm)
H-4 (9.73 ppm) con C-6 (119.36 ppm)
H-4 (9.73 ppm) con bC-12b (134.91 ppm)
H-6 (8.53 ppm) con C-4 (138.95 ppm)
H-6 (8.53 ppm) con C-7a (123.55 ppm)
H-6 (8.53 ppm) con C-12b (134.91 ppm)
H-7 (8.51 ppm) con C-12a (140.13 ppm)
H-8 (8.21 ppm) con C-10 (125.79 ppm)
H-8 (8.21 ppm) con C-11a (155.00 ppm)
H-9 (7.11 ppm) con C-7b (122.90 ppm)
H-9 (7.11 ppm) con C-11 (118.71 ppm)
H-10 (7.40 ppm) con C-8 (121.17 ppm)
H-10 (7.40 ppm) con C-11a (155.00 ppm)
H-11 (7.77 ppm) con C-9 (117.40 ppm)
H-11 (7.77 ppm) con C-7b (122.90 ppm)

4.4 Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Quintanilla.

4.4.1 Cloruro de 6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio (28).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 60

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 12.70 ppm a 7.16 ppm; 3 señales en la región de 4.91 a 3.84 ppm, que corresponden al metileno de la posición 6 y a los grupos dioxolano. Además, aparece una señal a δ 3.37 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.35 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. Las señales que aparecen a δ de 2.71 y 1.17 ppm corresponden a los metilos de las posiciones 2- CH_3 y Acetil- CH_3 , respectivamente. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 64

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-6 (4.89 ppm) con H-7 (3.37 ppm)
	H-8 (7.71 ppm) con H-9 (7.16 ppm)
	H-9 (7.16 ppm) con H-10 (7.36 ppm)
	H-10 (7.36 ppm) con H-11 (7.54 ppm)
	CH_2 -Dioxolan (3.90 ppm) con CH_2 -Dioxolan (4.07 ppm)
4J	H-8 (7.71 ppm) con H-10 (7.36 ppm)
	H-9 (7.16 ppm) con H-11 (7.54 ppm)
5J	H-8 (7.71 ppm) con H-11 (7.54 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 68)

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizino se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 19 señales, seis señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y ocho señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 106 y 155 ppm. Existen cinco señales mas a campo alto que corresponden a los dos grupos metilenos, dos grupos metilos y una señal para los carbonos del grupo cetol. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 76

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 12 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

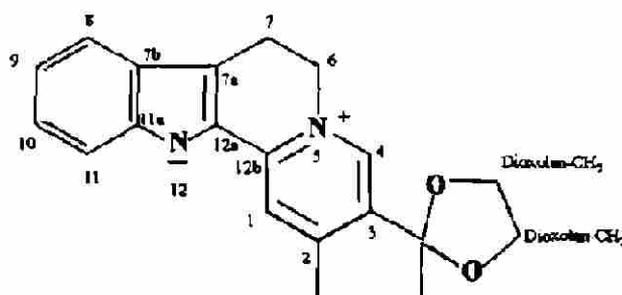
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 80

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (8.77 ppm) con C-3 (136.33 ppm)
H-6 (4.89 ppm) con C-7 (18.52 ppm)

3J H-1 (8.34 ppm) con C-12a (124.56 ppm)
H-4 (8.77 ppm) con C-6 (54.92 ppm)
H-4 (8.77 ppm) con C-12b (155.88 ppm)
H-6 (4.89 ppm) con C-4 (142.48 ppm)
H-6 (4.89 ppm) con C-7a (117.32 ppm)
H-6 (4.89 ppm) con C-12b (155.88 ppm)
H-7 (3.37 ppm) con C-12a (124.56 ppm)
H-8 (7.71 ppm) con C-10 (126.04 ppm)
H-8 (7.71 ppm) con C-11a (139.29 ppm)
H-9 (7.16 ppm) con C-7b (124.66 ppm)
H-9 (7.16 ppm) con C-11 (112.56 ppm)
H-10 (7.36 ppm) con C-8 (120.55 ppm)
H-10 (7.36 ppm) con C-11a (139.29 ppm)
H-11 (7.54 ppm) con C-9 (120.50 ppm)
H-11 (7.54 ppm) con C-7b (124.66 ppm)

4.4.2 6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizina (29).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 61

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes de la 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizina da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 65

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-6 (4.70 ppm) con H-7 (3.24 ppm)
	H-8 (7.44 ppm) con H-9 (6.81 ppm)
	H-9 (6.81 ppm) con H-10 (6.98 ppm)
	H-10 (6.98 ppm) con H-11 (7.39 ppm)
4J	H-8 (7.44 ppm) con H-10 (6.98 ppm)
	H-9 (6.81 ppm) con H-11 (7.39 ppm)
5J	H-8 (7.44 ppm) con H-11 (7.39 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 69

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula de la 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a

los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 77

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

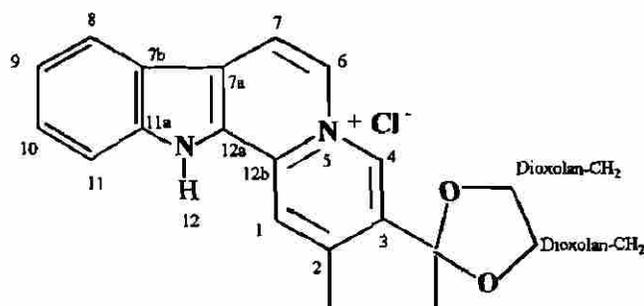
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 81

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (8.49 ppm) con C-3 (147.21 ppm)
H-6 (4.70 ppm) con C-7 (19.83 ppm)

3J H-1 (8.29 ppm) con C-12a (154.01 ppm)
H-4 (8.49 ppm) con C-6 (55.00 ppm)
H-4 (8.49 ppm) con C-12b (131.14 ppm)
H-6 (4.70 ppm) con C-4 (140.74 ppm)
H-6 (4.70 ppm) con C-7a (126.43 ppm)
H-6 (4.70 ppm) con C-12b (131.14 ppm)
H-7 (3.24 ppm) con C-12a (154.01 ppm)
H-8 (7.44 ppm) con C-10 (122.45 ppm)
H-8 (7.44 ppm) con C-11a (146.00 ppm)
H-9 (6.81 ppm) con C-7b (113.99 ppm)
H-9 (6.81 ppm) con C-11 (116.86 ppm)
H-10 (6.98 ppm) con C-8 (119.64 ppm)
H-10 (6.98 ppm) con C-11a (146.00 ppm)
H-11 (7.39 ppm) con C-9 (117.70 ppm)
H-11 (7.39 ppm) con C-7b (113.99 ppm)

4.4.3 Cloruro de 6,7-dihidro-2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (30).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 62

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 66

Acoplamientos observados.

3J (vecinales) H-6 (9.17 ppm) con H-7 (8.76 ppm)
 H-8 (8.41 ppm) con H-9 (7.45 ppm)
 H-9 (7.45 ppm) con H-10 (7.71 ppm)
 H-10 (7.71 ppm) con H-11 (7.84 ppm)

4J H-8 (8.41 ppm) con H-10 (7.71 ppm)
 H-9 (7.45 ppm) con H-11 (7.84 ppm)

5J H-8 (7.41 ppm) con H-11 (7.84 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 70

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 6,7-dihidro-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los

grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 78

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

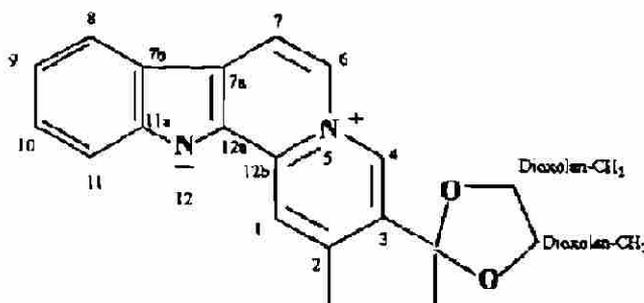
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 82

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (9.41 ppm) con C-3 (146.32 ppm)
H-6 (9.17 ppm) con C-7 (115.95 ppm)

3J H-1 (9.10 ppm) con C-12a (129.58 ppm)
H-4 (9.41 ppm) con C-6 (127.29 ppm)
H-4 (9.41 ppm) con C-12b (132.53 ppm)
H-6 (9.17 ppm) con C-4 (134.27 ppm)
H-6 (9.17 ppm) con C-7a (122.44 ppm)
H-6 (9.17 ppm) con C-12b (131.53 ppm)
H-7 (8.76 ppm) con C-12a (129.58 ppm)
H-8 (8.41 ppm) con C-10 (129.14 ppm)
H-8 (8.41 ppm) con C-11a (141.18 ppm)
H-9 (7.45 ppm) con C-7b (120.54 ppm)
H-9 (7.45 ppm) con C-11 (112.73 ppm)
H-10 (7.71 ppm) con C-8 (121.97 ppm)
H-10 (7.71 ppm) con C-11a (141.18 ppm)
H-11 (7.84 ppm) con C-9 (121.40 ppm)
H-11 (7.84 ppm) con C-7b (120.54 ppm)

4.4.4 2-metil-3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizina (31).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 63)

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes de la 3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizina da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 67)

Acoplamientos observados.

3J (vecinales) H-6 (9.02 ppm) con H-7 (8.62 ppm)
 H-8 (8.30 ppm) con H-9 (7.32 ppm)
 H-9 (7.32 ppm) con H-10 (7.59 ppm)
 H-10 (7.59 ppm) con H-11 (7.78 ppm)

4J H-8 (8.30 ppm) con H-10 (7.59 ppm)
 H-9 (7.32 ppm) con H-11 (7.78 ppm)

5J H-8 (8.30 ppm) con H-11 (7.78 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 71)

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula de la 3-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizina se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metínicos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los

carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metílenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 79

En este experimento se muestran los acoplamiento a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 83

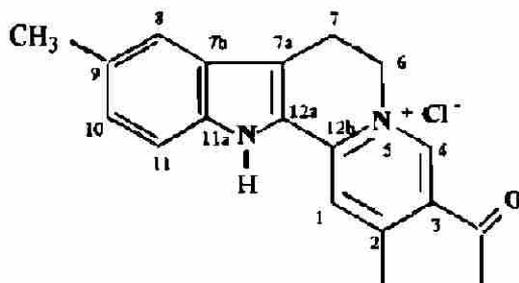
En este experimento se muestran los acoplamiento a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamiento a 2 enlaces, 13 señales de acoplamiento a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (9.31 ppm) con C-3 (143.39 ppm)
H-6 (9.02 ppm) con C-7 (115.87 ppm)

3J H-1 (9.13 ppm) con C-12a (145.46 ppm)
H-4 (9.31 ppm) con C-6 (125.84 ppm)
H-4 (9.31 ppm) con C-12b (131.35 ppm)
H-6 (9.02 ppm) con C-4 (133.83 ppm)
H-6 (9.02 ppm) con C-7a (122.28 ppm)
H-6 (9.02 ppm) con C-12b (131.35 ppm)
H-7 (8.62 ppm) con C-12a (145.46 ppm)
H-8 (8.30 ppm) con C-10 (128.32 ppm)
H-8 (8.30 ppm) con C-11a (135.07 ppm)
H-9 (7.32 ppm) con C-7b (120.82 ppm)
H-9 (7.32 ppm) con C-11 (113.71 ppm)
H-10 (7.59 ppm) con C-8 (121.67 ppm)
H-10 (7.59 ppm) con C-11a (135.07 ppm)
H-11 (7.78 ppm) con C-9 (120.51 ppm)
H-11 (7.78 ppm) con C-7b (120.82 ppm)

4.5 Discusión de la caracterización estructural de los compuestos sintetizados por Caballero.

4.5.1 Cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (35).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 84

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 88

Acoplamientos observados.

3J (vecinales) H-6 (4.90 ppm) con H-7 (3.43 ppm)
H-10 (7.24 ppm) con H-11 (7.46 ppm)

4J H-8 (7.52 ppm) con H-10 (7.24 ppm)

5J H-8 (7.52 ppm) con H-11 (7.46 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 92

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a

los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales más a campo alto que corresponden a los grupos metílenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal más, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 100

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

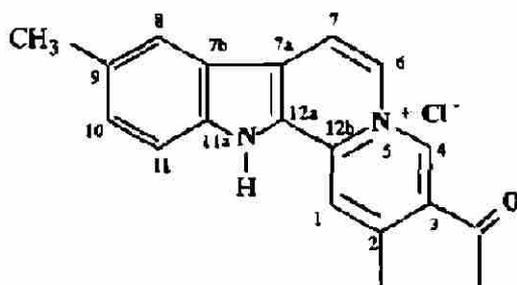
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 104

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (9.41 ppm) con C-3 (159.84 ppm)
H-6 (4.90 ppm) con C-7 (18.82 ppm)

3J H-1 (8.21 ppm) con C-12a (124.76 ppm)
H-4 (9.41 ppm) con C-6 (54.92 ppm)
H-4 (9.41 ppm) con C-12b (142.91 ppm)
H-6 (4.90 ppm) con C-4 (146.89 ppm)
H-6 (4.90 ppm) con C-7a (119.02 ppm)
H-6 (4.90 ppm) con C-12b (142.91 ppm)
H-7 (3.43 ppm) con C-12a (124.76 ppm)
H-8 (7.52 ppm) con C-10 (129.00 ppm)
H-8 (7.52 ppm) con C-11a (138.45 ppm)
H-10 (7.24 ppm) con C-8 (119.86 ppm)
H-10 (7.24 ppm) con C-11a (138.45 ppm)
H-11 (7.46 ppm) con C-9 (129.85 ppm)
H-11 (7.46 ppm) con C-7b (124.56 ppm)

4.5.2 Cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (36).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 85)

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 89)

Acoplamientos observados.

3J (vecinales)	H-6 (4.95 ppm) con H-7 (3.40 ppm)
	H-10 (7.27 ppm) con H-11 (7.39 ppm)
4J	H-8 (7.21 ppm) con H-10 (7.27 ppm)
5J	H-8 (7.21 ppm) con H-11 (7.39 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 93)

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 3-acetil-2,9-dimetil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm.

Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 101

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

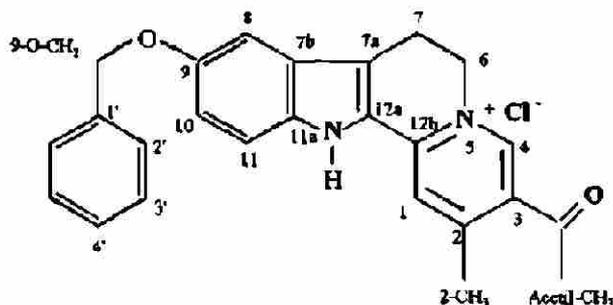
2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 105

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (9.33 ppm) con C-3 (151.35 ppm)
H-6 (4.95 ppm) con C-7 (108.57 ppm)

3J H-1 (8.19 ppm) con C-12a (125.00 ppm)
H-4 (9.33 ppm) con C-6 (112.31 ppm)
H-4 (9.33 ppm) con C-12b (142.11 ppm)
H-6 (4.95 ppm) con C-4 (144.39 ppm)
H-6 (4.95 ppm) con C-7a (118.20 ppm)
H-6 (4.95 ppm) con C-12b (142.11 ppm)
H-7 (3.40 ppm) con C-12a (125.00 ppm)
H-8 (7.21 ppm) con C-10 (127.97 ppm)
H-8 (7.21 ppm) con C-11a (137.99 ppm)
H-10 (7.27 ppm) con C-8 (121.01 ppm)
H-10 (7.27 ppm) con C-11a (137.99 ppm)
H-11 (7.39 ppm) con C-9 (128.15 ppm)
H-11 (7.39 ppm) con C-7b (124.85 ppm)

4.5.3 Cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*]-quinolizino (38).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 86

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizino da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm). La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 90

Acoplamiento observado.

- 3J (vecinales) H-6 (4.88 ppm) con H-7 (3.36 ppm)
 H-10 (7.13 ppm) con H-11 (7.31 ppm)
- 4J H-8 (7.49 ppm) con H-10 (7.15 ppm)
- 5J H-8 (7.49 ppm) con H-11 (7.31 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 94

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-6,7-dihidro-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizino se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo

bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm. Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 102

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 106

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 2 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

^2J H-4 (9.41 ppm) con C-3 (130.56 ppm)

H-6 (4.88 ppm) con C-7 (19.04 ppm)

^3J H-1 (8.23 ppm) con C-12a (125.05 ppm)

H-4 (9.41 ppm) con C-6 (55.16 ppm)

H-4 (9.41 ppm) con C-12b (157.07 ppm)

H-6 (4.88 ppm) con C-4 (146.95 ppm)

H-6 (4.88 ppm) con C-7a (119.08 ppm)

H-6 (4.88 ppm) con C-12b (157.07 ppm)

H-7 (3.36 ppm) con C-12a (125.05 ppm)

H-8 (7.49 ppm) con C-10 (119.34 ppm)

H-8 (7.49 ppm) con C-11a (135.74 ppm)

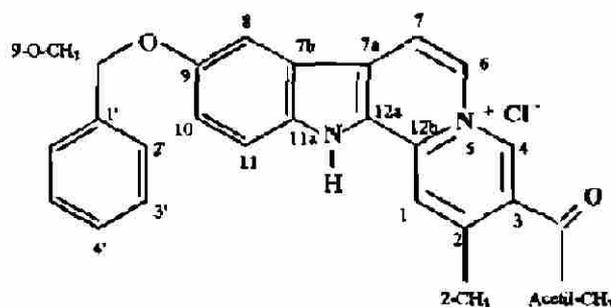
H-10 (7.13 ppm) con C-8 (113.91 ppm)

H-10 (7.13 ppm) con C-11a (135.74 ppm)

H-11 (7.31 ppm) con C-9 (153.52 ppm)

H-11 (7.31 ppm) con C-7b (101.68 ppm)

4.5.4 Cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*]quinolizinio (39).



^1H RMN (400.13 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 87

Cada uno de los hidrógenos químicamente diferentes del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio da una señal de RMN. En el espectro de ^1H RMN aparecen 6 señales en la región de 10.79 ppm a 6.93 ppm, 2 señales en la región de 2.83 a 2.73 ppm. Además, aparece una señal a δ 3.29 ppm que se encuentra superpuesta con la señal que corresponde al protón del agua presente en el solvente (δ 3.38 ppm) La señal que aparece a 2.50 ppm se debe a restos de solvente no deuterado. El pico trazado a 0 ppm es causado por el estándar de referencia (TMS).

2D ^1H RMN (400.13 MHz, Cosy, DMSO- d_6 , Fig. 91

Acoplamientos observados.

3J (vecinales) H-6 (5.09 ppm) con H-7 (3.99 ppm)
H-10 (7.08 ppm) con H-11 (7.21 ppm)

4J H-8 (7.21 ppm) con H-10 (7.08 ppm)

5J H-8 (7.21 ppm) con H-11 (7.21 ppm)

^{13}C RMN (100.61 MHz, DMSO- d_6 , Fig. 95

Para cada uno de los carbonos que componen la molécula del cloruro de 3-acetil-9-benciloxi-2-metil-12*H*-indolo[2,3-*a*] quinolizinio se observa una señal. Es decir, en el espectro de ^{13}C RMN existen 10 señales, cinco señales localizadas a campo bajo de intensidad alta que corresponden a los grupos metinos aromáticos, y tres señales de menor intensidad que corresponden a los carbonos cuaternarios, también se encuentran a campo bajo; las señales localizadas a campo bajo se encuentran en la región de 111 y 136 ppm.

Existen dos señales mas a campo alto que corresponden a los grupos metilenos. Además, se observa una señal a 0 ppm que corresponde a la señal del carbono del estándar (TMS); existe una señal mas, a δ de 39.42 ppm que corresponde a los dos carbonos metilénicos equivalentes del solvente (DMSO- d_6).

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMQC, DMSO- d_6 , Fig. 103

En este experimento se muestran los acoplamientos a un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 7 señales. Por descarte, podemos asumir que la señal de ^1H que no muestra acoplamiento con alguna señal de carbono es el ^1H indólico.

2D ^1H - ^{13}C RMN, HMBC, DMSO- d_6 , Fig. 107

En este experimento se muestran los acoplamientos a más de un enlace entre el ^1H y el ^{13}C , observándose 18 señales de acoplamiento: 4 señales que corresponden a acoplamientos a 2 enlaces, 13 señales de acoplamientos a 3 enlaces, y 1 señal de acoplamiento a 4 enlaces.

2J H-4 (9.37 ppm) con C-3 (129.94 ppm)
H-6 (5.09 ppm) con C-7 (109.31 ppm)

3J H-1 (8.25 ppm) con C-12a (122.33 ppm)
H-4 (9.37 ppm) con C-6 (111.32 ppm)
H-4 (9.37 ppm) con C-12b (156.77 ppm)
H-6 (5.09 ppm) con C-4 (146.78 ppm)
H-6 (5.09 ppm) con C-7a (118.32 ppm)
H-6 (5.09 ppm) con C-12b (156.77 ppm)
H-7 (3.99 ppm) con C-12a (122.33 ppm)
H-8 (7.21 ppm) con C-10 (118.64 ppm)
H-8 (7.21 ppm) con C-11a (134.87 ppm)
H-10 (7.24 ppm) con C-8 (113.15 ppm)
H-10 (7.24 ppm) con C-11a (134.87 ppm)
H-11 (7.21 ppm) con C-9 (151.19 ppm)
H-11 (7.21 ppm) con C-7b (102.21 ppm)

4.6 Evaluación de la citotoxicidad *in vitro*. Valoración de la acción de las Indoloquinolizinas sobre la viabilidad celular *in vitro*.

En la evaluación de la Viabilidad Celular *in vitro* de los compuestos **24** al **29**, **36**, **37**, **39** y **40** sobre células de glándula mamaria tanto benignas como malignas se utilizaron 12 concentraciones diferentes (0.019 $\mu\text{g/mL}$ a 40 $\mu\text{g/mL}$), utilizando tres celdillas para cada concentración y se utilizó el etanol como control negativo. Este procedimiento se realizó en dos ocasiones diferentes, en experimentos por separado.

El criterio de selectividad utilizado fue que el valor de la CT_{50} mostrada por este tipo de compuestos en las líneas malignas fuera tres veces menor que el valor de la CT_{50} observado con las células de origen benigno.

Los datos de la tabla 14, muestran que todos los compuestos son citotóxicos, sin embargo no muestran selectividad, ya que la actividad citotóxica para las células de origen maligno no muestran el factor de tres comparadas, con el efecto sobre las células origen benigno.

Sin embargo, existen datos interesantes. El compuesto **29**, presentó una respuesta citotóxica diferente para ambas líneas celulares, de acuerdo con los valores de CT_{50} que se observaron; se encuentra en el punto de corte, en donde se puede considerar como con citotoxicidad selectiva. Tomando en cuenta la estructura química de **29** y comparándola con la estructura del compuesto **11** estudiado por Beljanski, podemos observar que este último presenta un anillo aromático, lo que nos hace suponer que los carbonos de las posiciones 6 y 7 deben tener hibridación en estado sp^2 para mejorar su actividad selectiva y posiblemente su actividad citotóxica. Probablemente la protección del grupo carbonilo en **29** (acetalización) tenga una influencia en la citotoxicidad observada de este compuesto.

El compuesto **27** fue el más citotóxico, y de acuerdo a su estructura química es el que se asemeja más a los compuestos estudiados por Beljanski, los cuales, mostraron selectividad entre las células de origen benigno y maligno. Sin embargo, el carbono de la posición 3 de la estructura química de dicho compuesto se encuentra en un estado más oxidado (se encuentra como carbonilo cetónico), al parecer esta diferencia hace que no tenga toxicidad selectiva.

El compuesto **24** fue el menos citotóxico, éste se encuentra como sal (hidrocloruro), los carbonos de las posiciones 6 y 7 poseen hibridación sp^3 , y el carbono de la posición 3 tiene como sustituyente un grupo carbonilo.

Tomando en consideración los datos de actividad citotóxica de los compuestos **24**, **27** y **29** podemos sugerir que probablemente para que los compuestos tipo indoloquinolizinas tengan actividad citotóxica selectiva se requiera que éstos tengan las siguientes características:

- El compuesto debe estar en su estado zwitteriónico, es decir como base.
- El compuesto debe tener los cuatro anillos completamente aromatzados, es decir, los carbonos de las posiciones 6 y 7 deben de estar en su estado sp^2 .
- El carbono de la posición 3 debe estar en su estado menos oxidado, es decir, debe de carecer de un grupo carbonilo.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Al analizar los datos de citotoxicidad de los compuestos sintetizados en este trabajo (**36**, **37**, **39** y **40**) y comparando estos mismos con los datos de los compuestos sintetizados por Teuber (**24**, **25**, **26** y **27**) y Quintanilla (**28** y **29**), podemos observar que las sustituciones en el anillo A no hicieron que los compuestos tuvieran citotoxicidad selectiva hacia células de origen tumoral.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

Se rechaza la hipótesis de trabajo:

“Las indoloquinolizinas sintetizadas mediante la reacción de Teuber a partir de Triptamina, 5-Metilriptamina y 5-Benciloxitriptamina tienen actividad citotóxica selectiva sobre líneas celulares de cáncer de mama”.

Se sintetizaron seis compuestos nuevos no reportados previamente en la literatura:

- Dos cloruros de dihidroindoloquinolizinio, compuestos **35** y **38**.
- Dos cloruros de indoloquinolizinio, compuestos **36** y **39**.
- Dos indoloquinolizinas, compuestos **37** y **40**.

Los diez compuestos a los que se les analizó su actividad citotóxica, no mostraron selectividad en las líneas celulares probadas.

El compuesto que se acercó más al criterio de selectividad fue el **29**.

El compuesto más citotóxico fue el **27**.

El compuesto menos citotóxico fue el **24**.

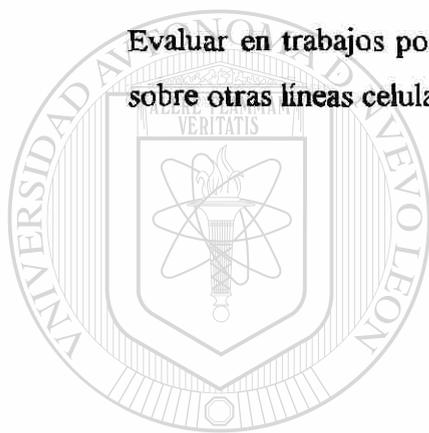
La sustitución en el anillo “A” no les confiere actividad citotóxica selectiva a las indoloquinolizinas sintetizadas mediante la reacción de Teuber

5.2 Perspectivas

Si bien se ha cumplido con lo planteado en este trabajo de tesis, sería de mucho interés continuar con los estudios de citotoxicidad de mas compuestos análogos a las indoloquinolizinas objeto de este estudio, y de esta manera conocer mas sobre la parte activa de este tipo de sustancias.

Sintetizar nuevas indoloquinolizinas con sustituyentes en los anillos C o D e investigar si esto les confiere selectividad a este tipo de compuestos.

Evaluar en trabajos posteriores la actividad citotóxica de este tipo de compuestos sobre otras líneas celulares.



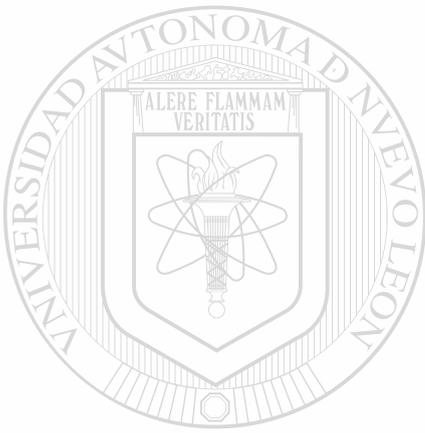
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

BIBLIOGRAFÍA

1. Florez, Jesús. *Farmacología Humana*. 3a ed. Editorial Masson. 1019-1058. 1997.
2. Csaky, T. Z. *Introducción a la Farmacología General*. pp. 201.
3. *Cáncer como la segunda causa de muerte en EE UU. y N.L.* *Boletín Médico*, S.S.A. 1997.
4. Gringauz, A. *Introduction to Medicinal Chemistry. How drugs act and Why.* Capítulo 4. Wiley-VCH Inc. 1997.
5. Beljanski, M., Beljanski, M. S. *Selective Inhibition of in vitro Synthesis of Cancer DNA by Alkaloids of β -Carboline Class.* *Expl. Cell Biol.* **50**, 79-87, 1982.
6. Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W. and Goodman G. A. *Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.* Novena Ed. Vol. II. 1301-1367. 1996.
7. Gribble, G. W. and Johnson, J. L. *A directed Methylation route to the Zwitterionic indole alkaloids. Synthesis of Indolo[2,3-a]Quinolizine, Flavopereirine, Flavocarpine, and Dihydroflavopereirine.* *Tetrahedron Letters*, **28**, 44. 5259-5262. 1987.
8. Matia, M. P. Ezquerro, J. García-Navío, J. Vaquero, J. J. and Álvarez-Builla. *Tetrahedron Letters*, **32**, 51, 7575-7578. 1991.
9. Teuber, H. J., Hochmuth, *Tetrahedron Lett.* 325-329. 1964.
10. Cordell, G. A., Saxton, J.E., Shamma, M., Smith, G.F. *Dictionary of Alkaloids* (I.W. Southon and J. Buckingham eds.) Chapman and Hall, London and New York. 1989.
11. Waterman, P. G. *Alkaloids and Sulphur Compounds. Methods in Plant Biochemistry.* P.M. Dey and J.B. Harborne eds. Vol. 8, Academic Press. 1993.
12. Scott, A.I. *Biosynthesis of Indole Alkaloids.* *Alkaloids*, Vol 9. MTP International Review of Sciences, Series One. 1973.
13. Cordell, G.A. *Lloydia*. **37**, 219-298. 1974.
14. Kutney, J.P. *Natural Product Reports*. **7**, 85-103. 1990.

15. Kratritzky, A.R. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **31**, 569-602. 1994.
16. Baxter, E.W., Mariano. P.S. *Recent Advances in the Synthesis of Yohimbine Alkaloids in Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. W. Pelletier ed. Vol. 8. Springer Verlag. Berlin. 1992.
17. Sundberg. R.J. *The Chemistry of Indoles*. Academic Press. 236-238. 1979.
18. Teuber, H.J., Quintanilla-Licea, Raabe, T. *Indolo[2,3- α]chinolizine und eine einfache Synthese von Flavoserpentin*. *Liebigs Ann. Chem.* 1111-1120. 1988.
19. Quintanilla, L. R., Rosas-García, V.M., Villarreal-Platas, E. Sariñana-Toledo, W., Waksman, N. Caballero, A. *Caracterización mediante Resonancia Magnética Nuclear de Indoloquinolizinas como posibles Agentes Antitumorales*. Trabajo presentado en II Simposio de Ciencia y Tecnología, Monterrey, N.L. 1998.
20. Holzgrabe, U., Wawer, I. and Diehl, B. *NMR Spectroscopy in drug Development and Analysis*. Wiley-VCH 1-4. 1999
21. Gunter, H. *NMR spectroscopy. Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry* Second Ed. John Wiley & Sons. 1995.
22. Holzgrabe, U., Wawer, I. and Diehl, B. *NMR Spectroscopy in drug Development and Analysis*. Wiley-VCH. 5-15. 1999.
23. Holzgrabe, U., Diehl, B and Wawer, I. *NMR Spectroscopy in Pharmacy*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **17**, 557-616. 1998.
24. Braun, S., Kalinowski, H.O., Berger, S. 100 and More Basic NMR Experiments. VCH. 1996.
25. Freshley, R. *Culture of Animals cells A Manual of Basic Technique*. Alan R. Liss. Inc., American Type Culture Collection. 1983.
26. Hostettmann, K., Gupta. M.P. and Marston, A. *Chemistry, Biological and Pharmacological Properties of Medicinal Plants from the Americas*. Harwood Academic Publishers. 1999.
27. Ramírez R. *Obtención de Derivados Funcionales de la Peroxisomicina A1*. Tesis de Doctorado. U.A.N.L. 1998.
28. Ekwall, B. And Johanson, A. *Preliminary studies on the validity of *in vitro* measurement of drug toxicity using hela cells. 1. Comparative *in vitro* cytotoxicity of 27 drugs*. *Toxicology Letters*. **5**, 199-210. 1980.



APÉNDICE

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

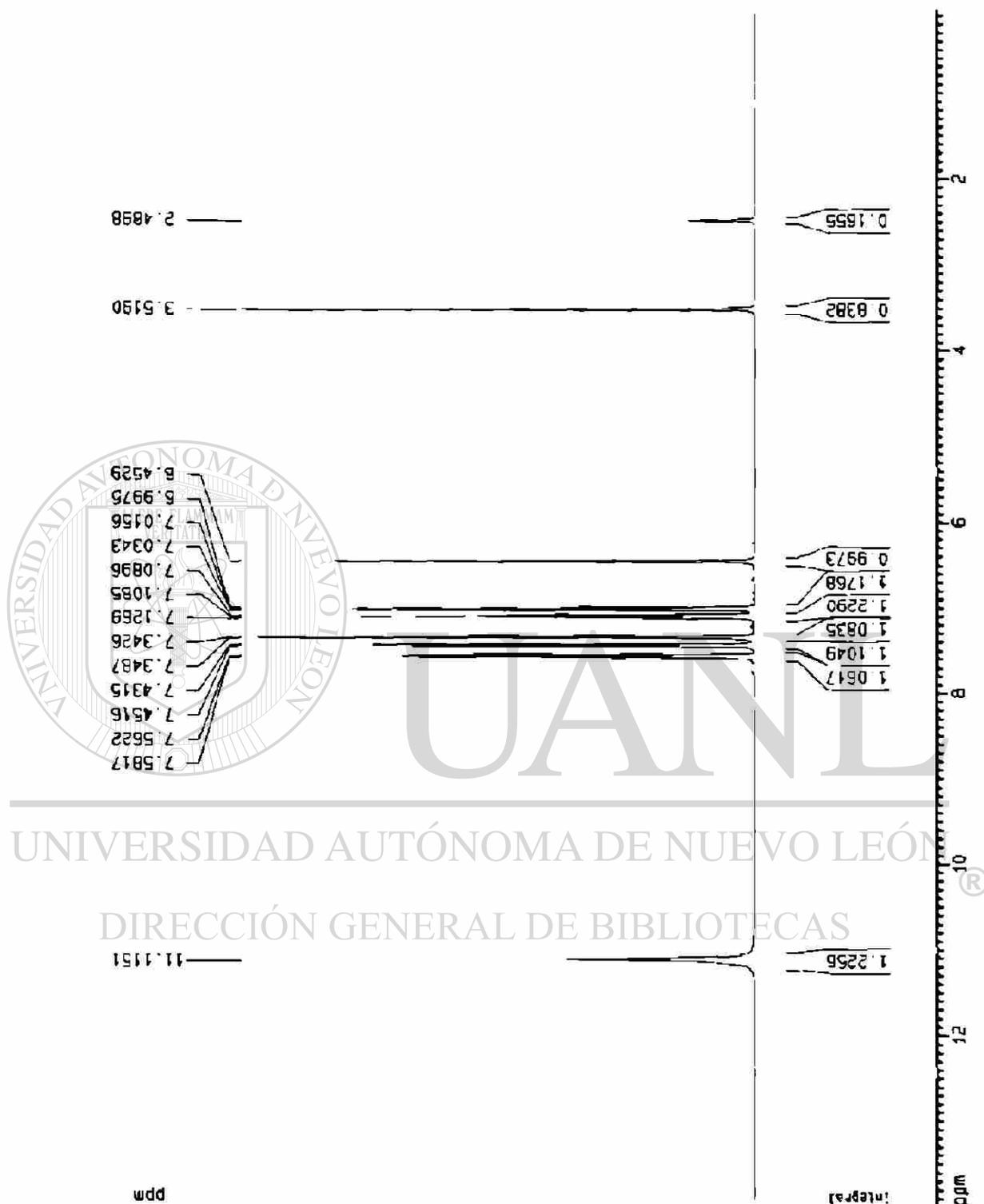


Fig. 6. Espectro de ^1H RMN del indol

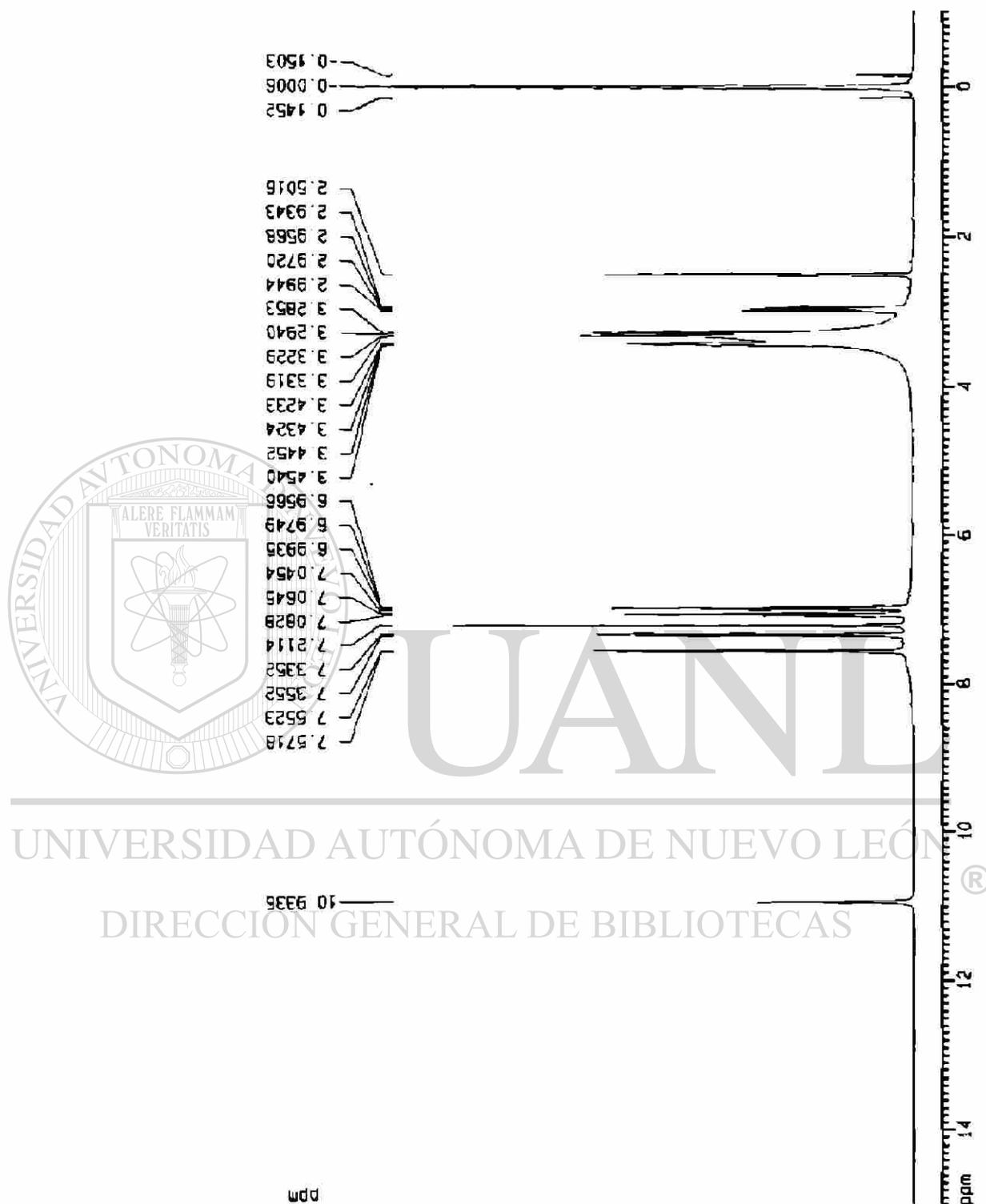


Fig. 7. Espectro de ^1H RMN de la triptamina

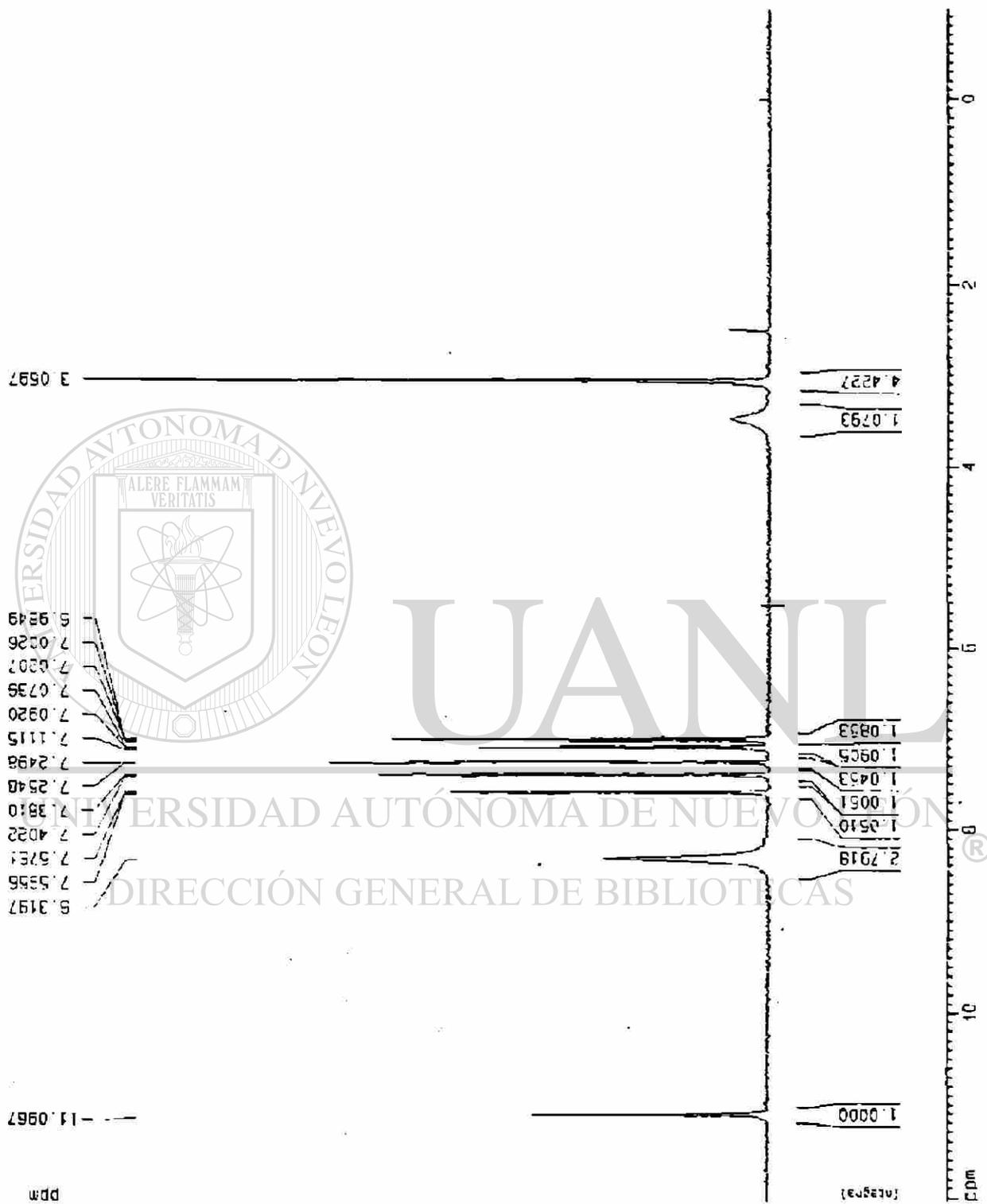


Fig. 8. Espectro de ^1H RMN del hidrocloreuro de triptamina

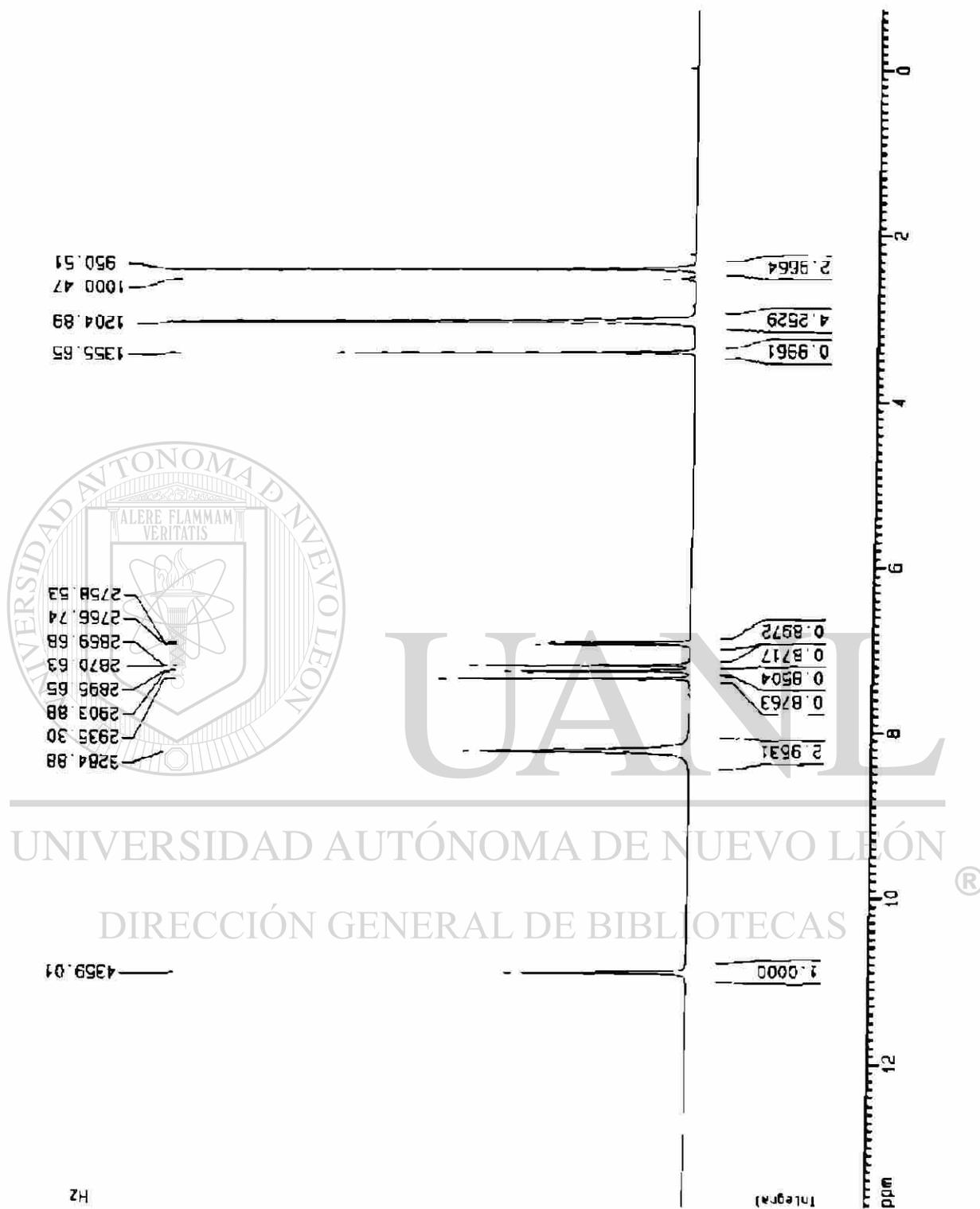


Fig. 9. Espectro de ^1H RMN del hidrocloreuro de 5-metiltryptamina

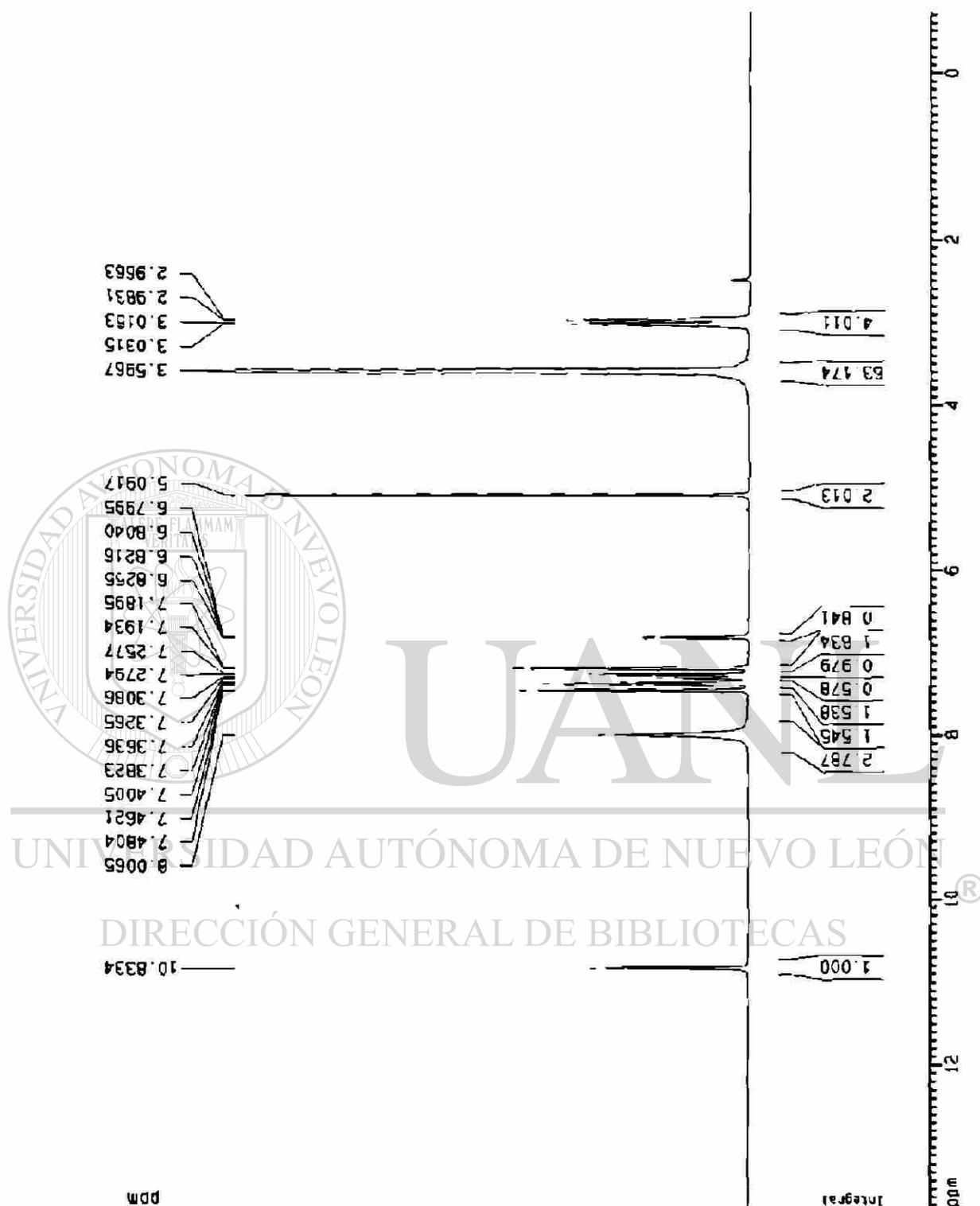


Fig. 10. Espectro de ^1H RMN del hidroclocluro de 5-benciloxitriptamina

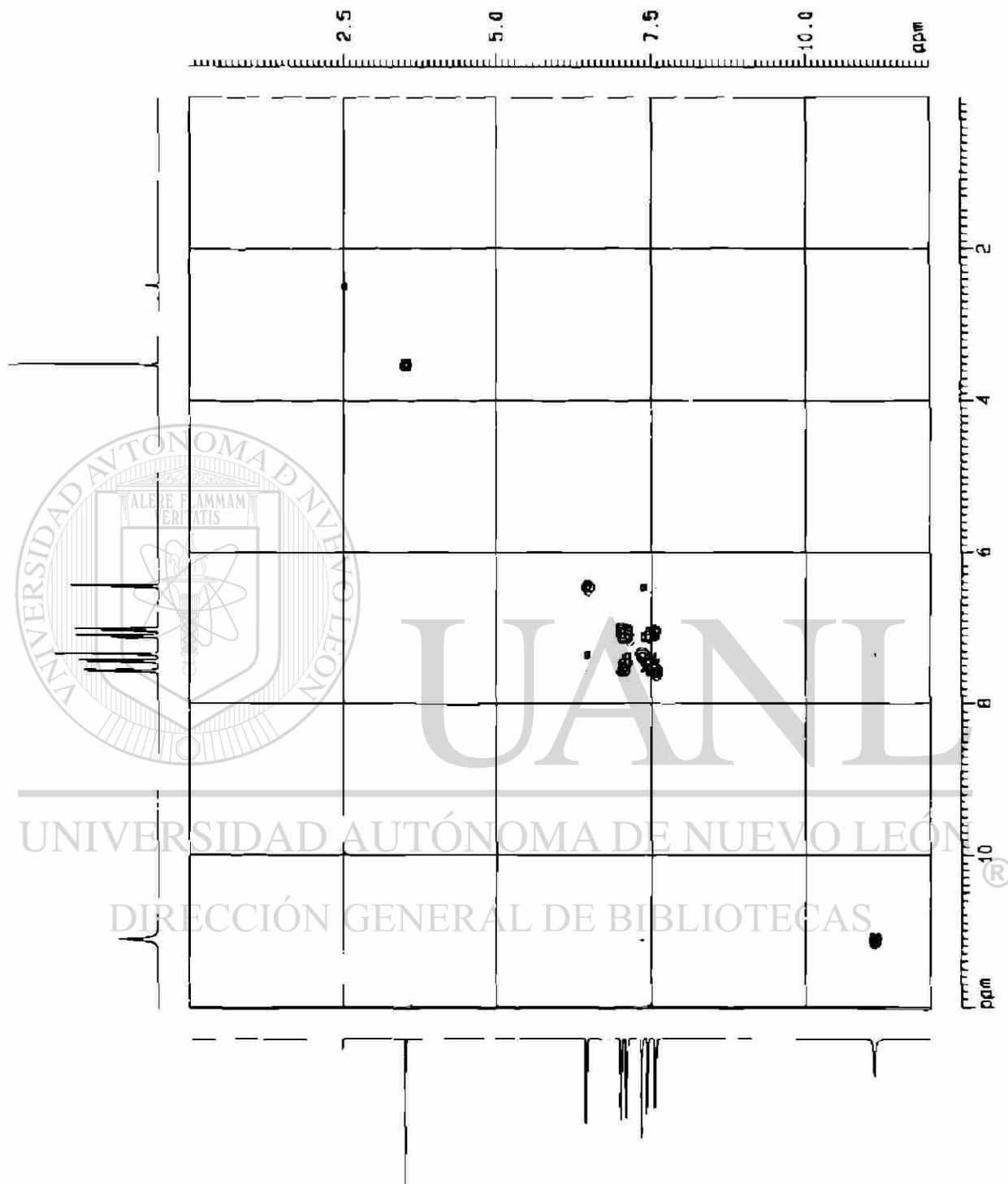


Fig. 11. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del indol

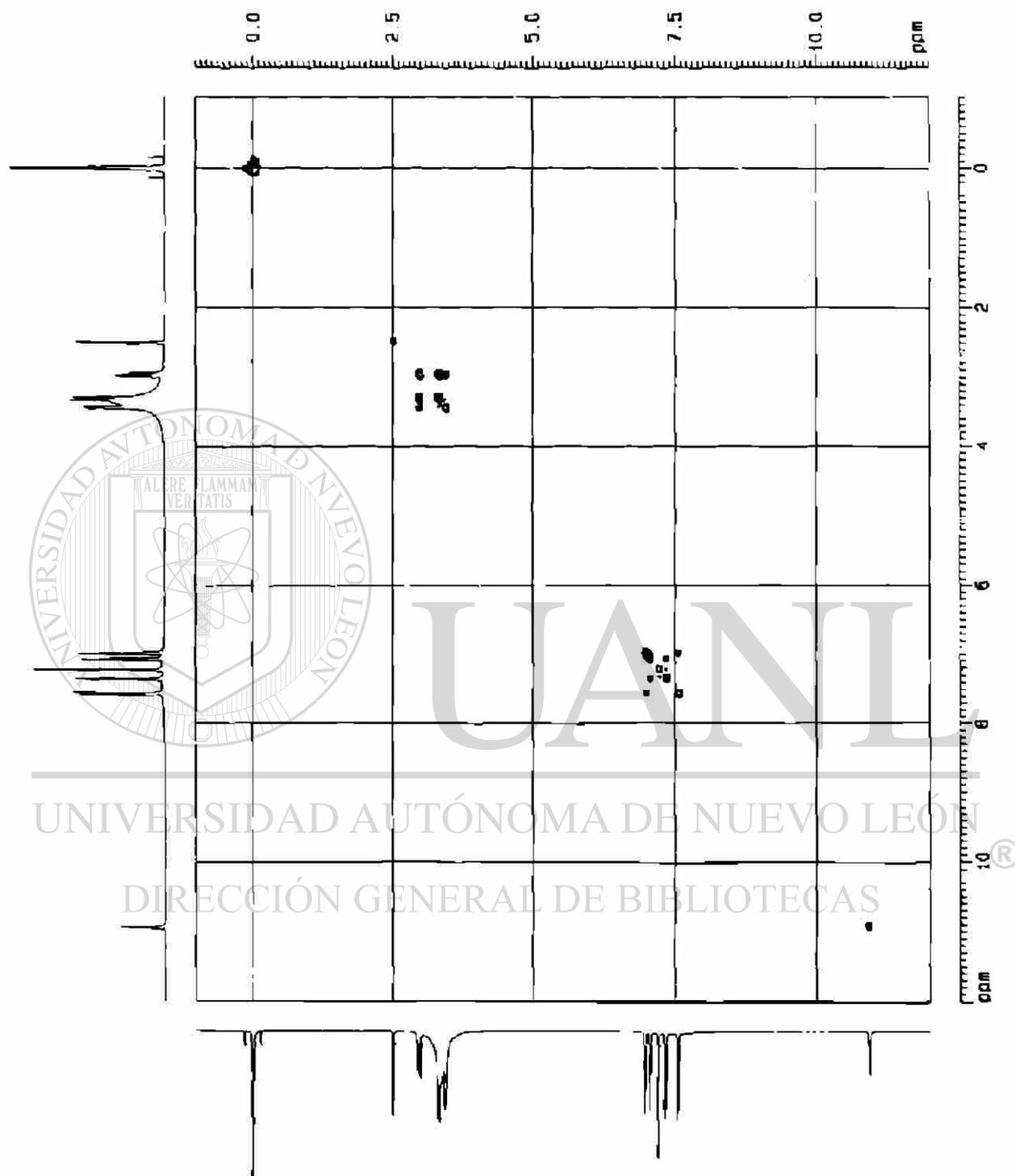


Fig. 12. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de la triptamina

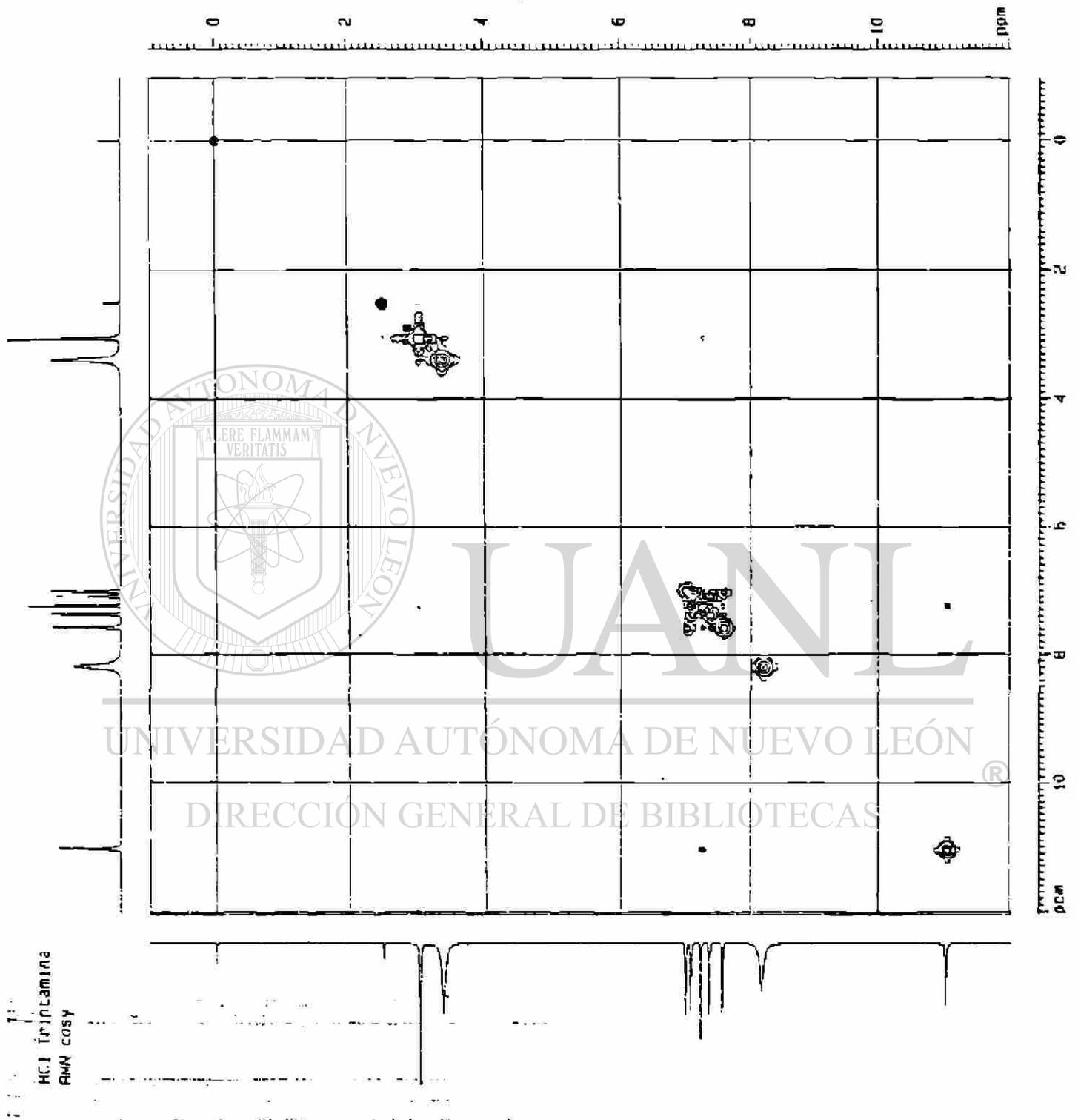


Fig. 13. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del hidrocloreuro de triptamina

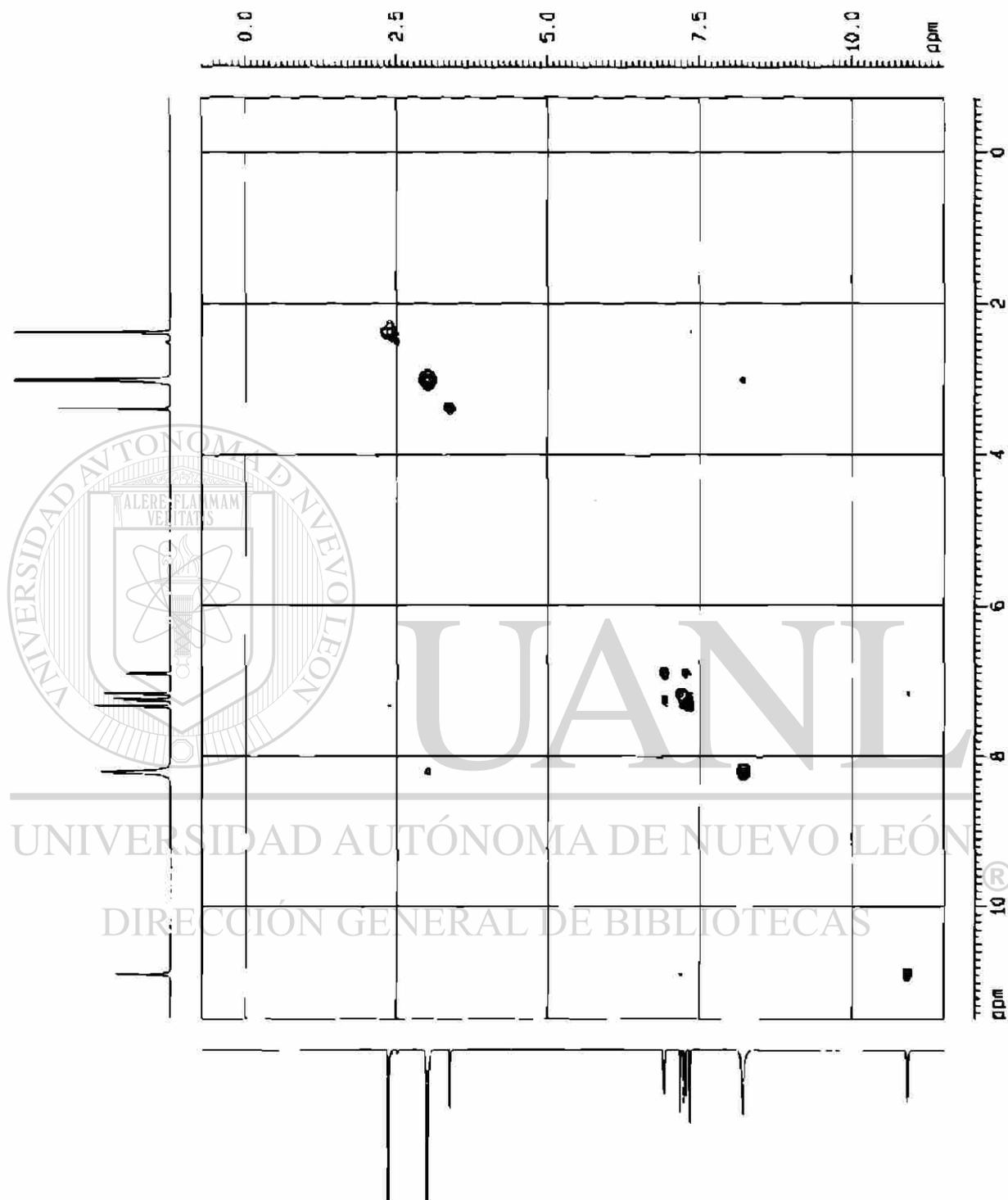


Fig. 14. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy del hidrocloreuro de 5-metiltryptamina

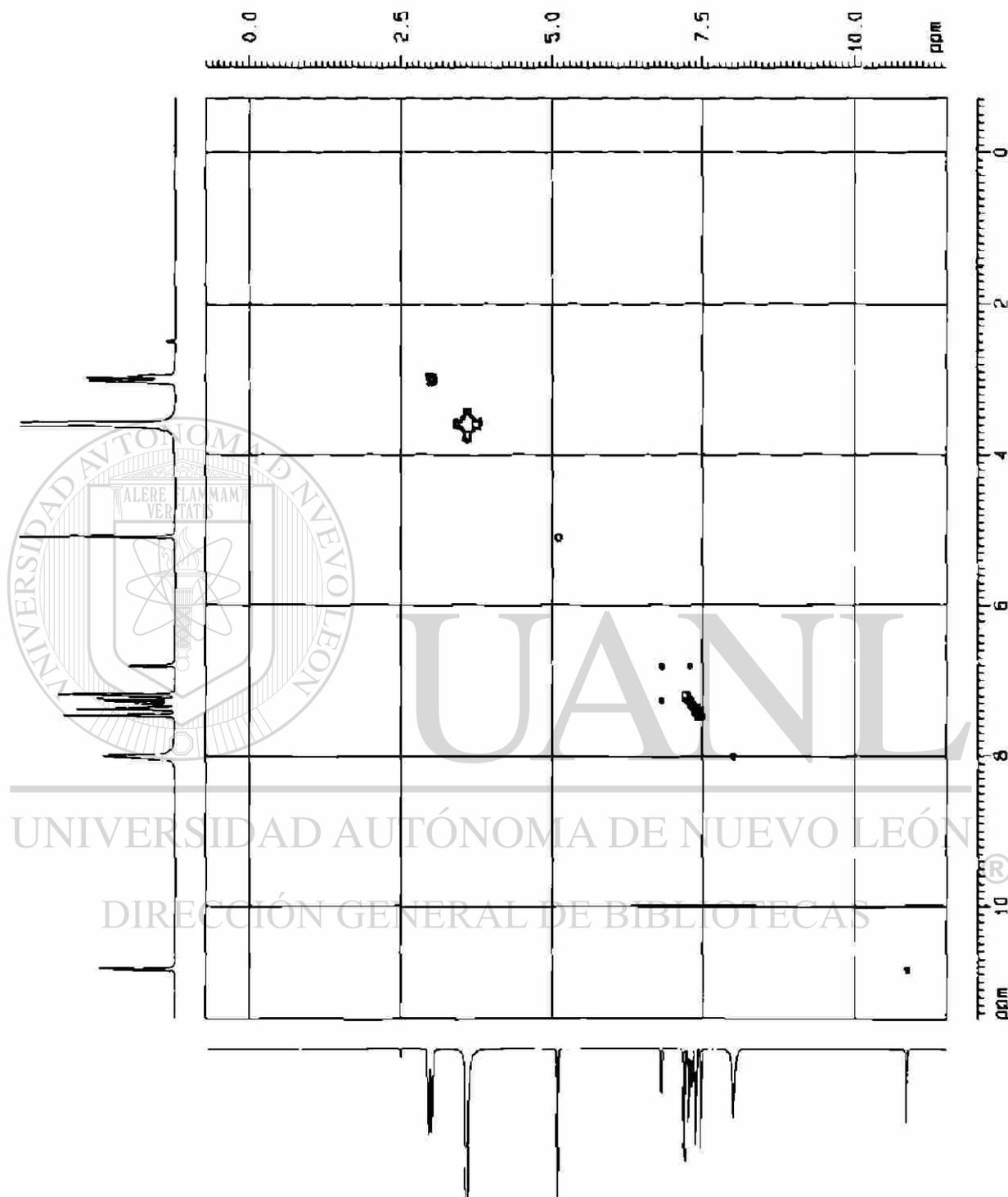


Fig. 15. Espectra de 2D ^1H RMN, Cosy del hidroclocluro de 5-benciloxitriptamina



Fig. 16. Espectro de ^{13}C RMN, del indol



Fig. 17. Espectro de ¹³C RMN, de la triptamina

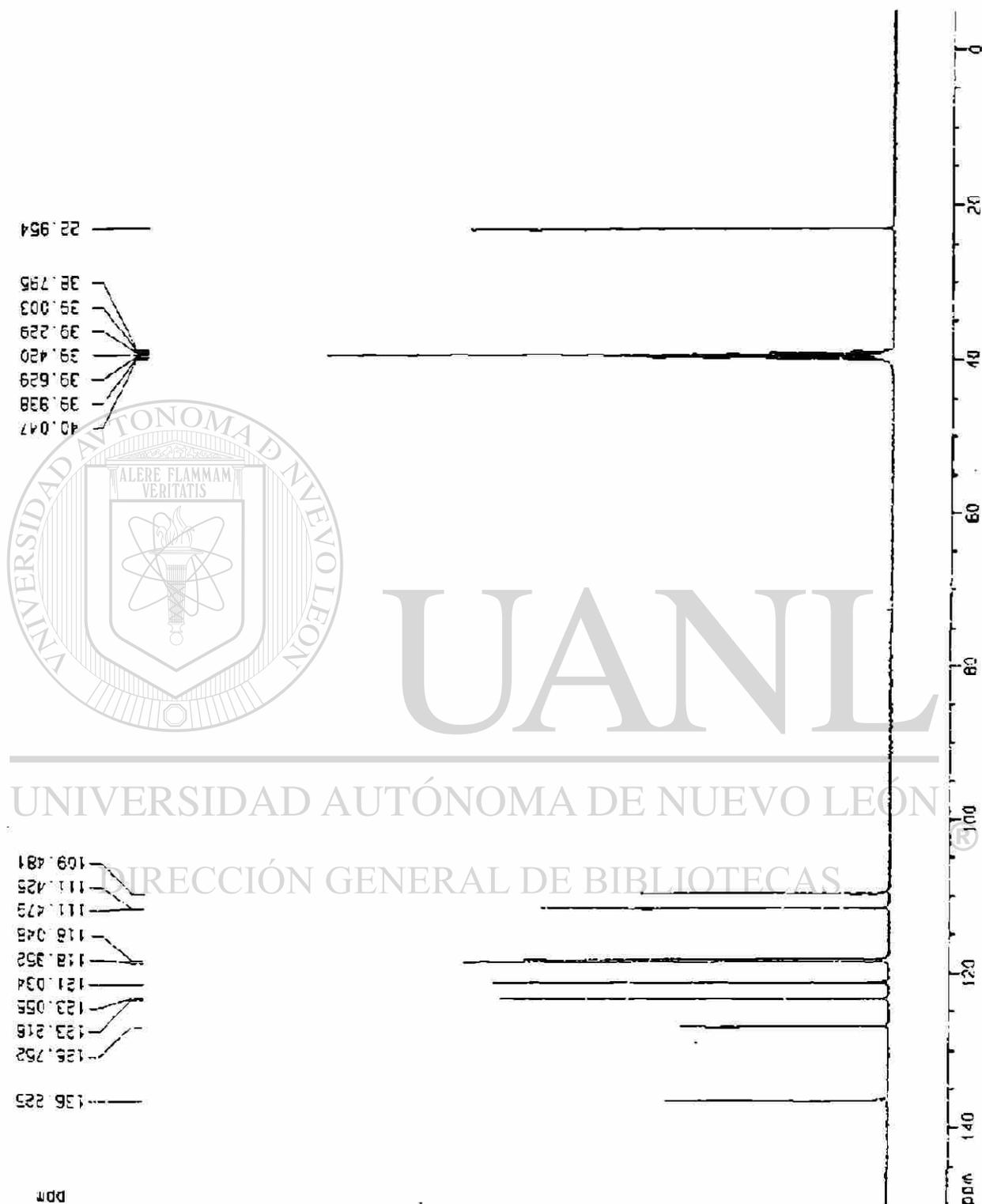


Fig. 18. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocloreuro de triptamina



Fig. 19. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocioruro de 5-metiltryptamina



Fig. 20. Espectro de ^{13}C RMN, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina

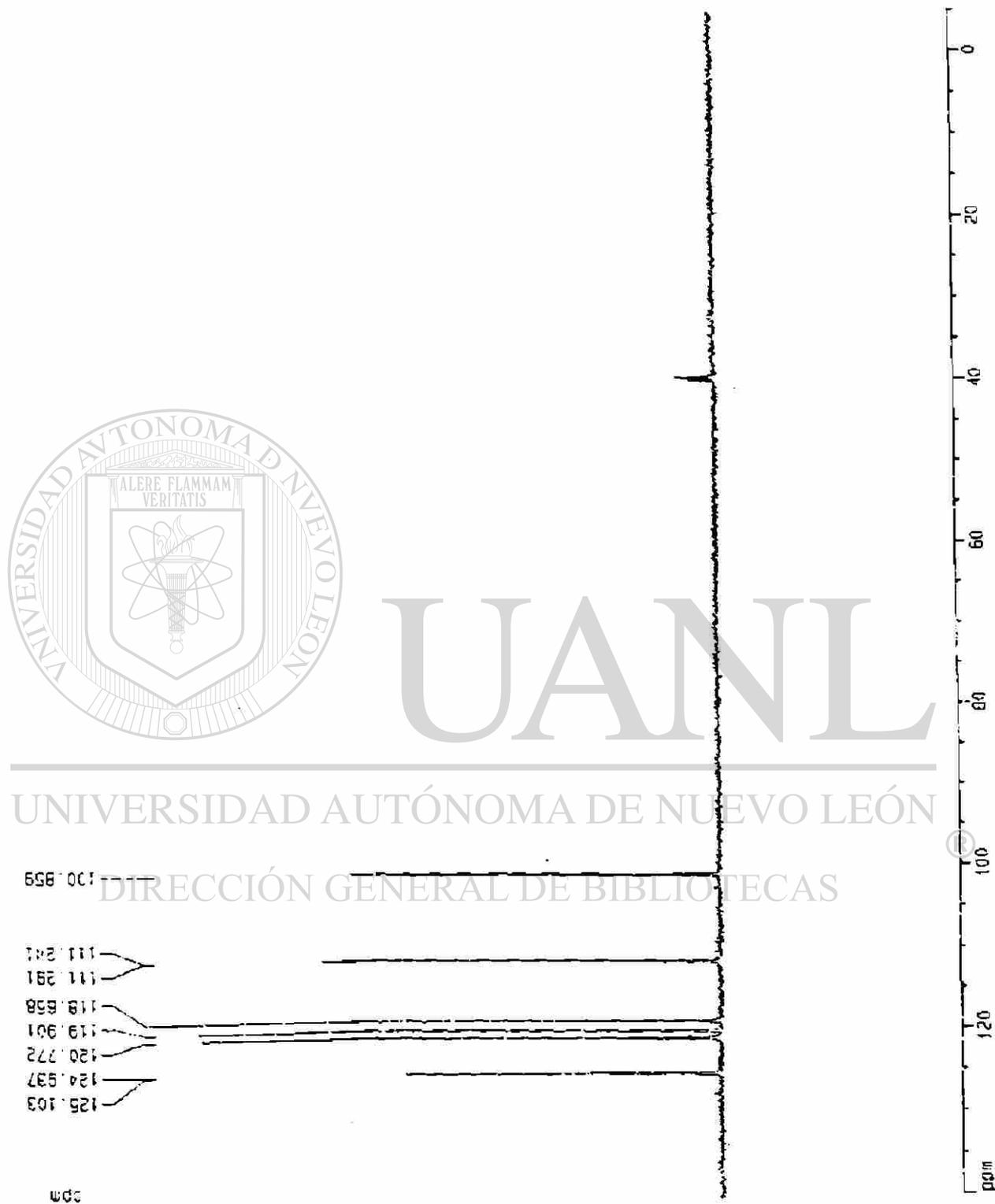


Fig. 21. Espectro de DEPT 135, del indol

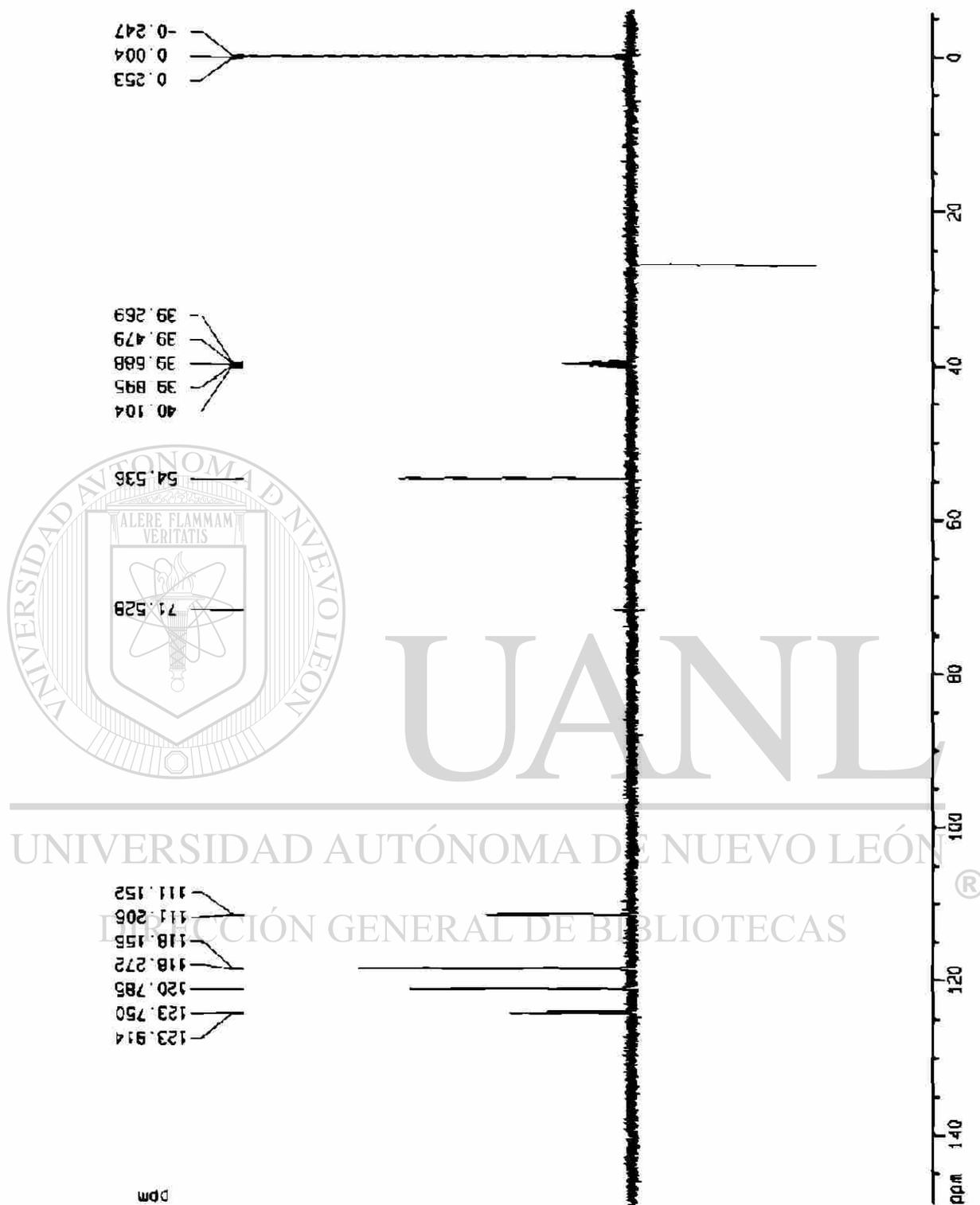


Fig. 22. Espectro de DEPT 135, de la triptamina

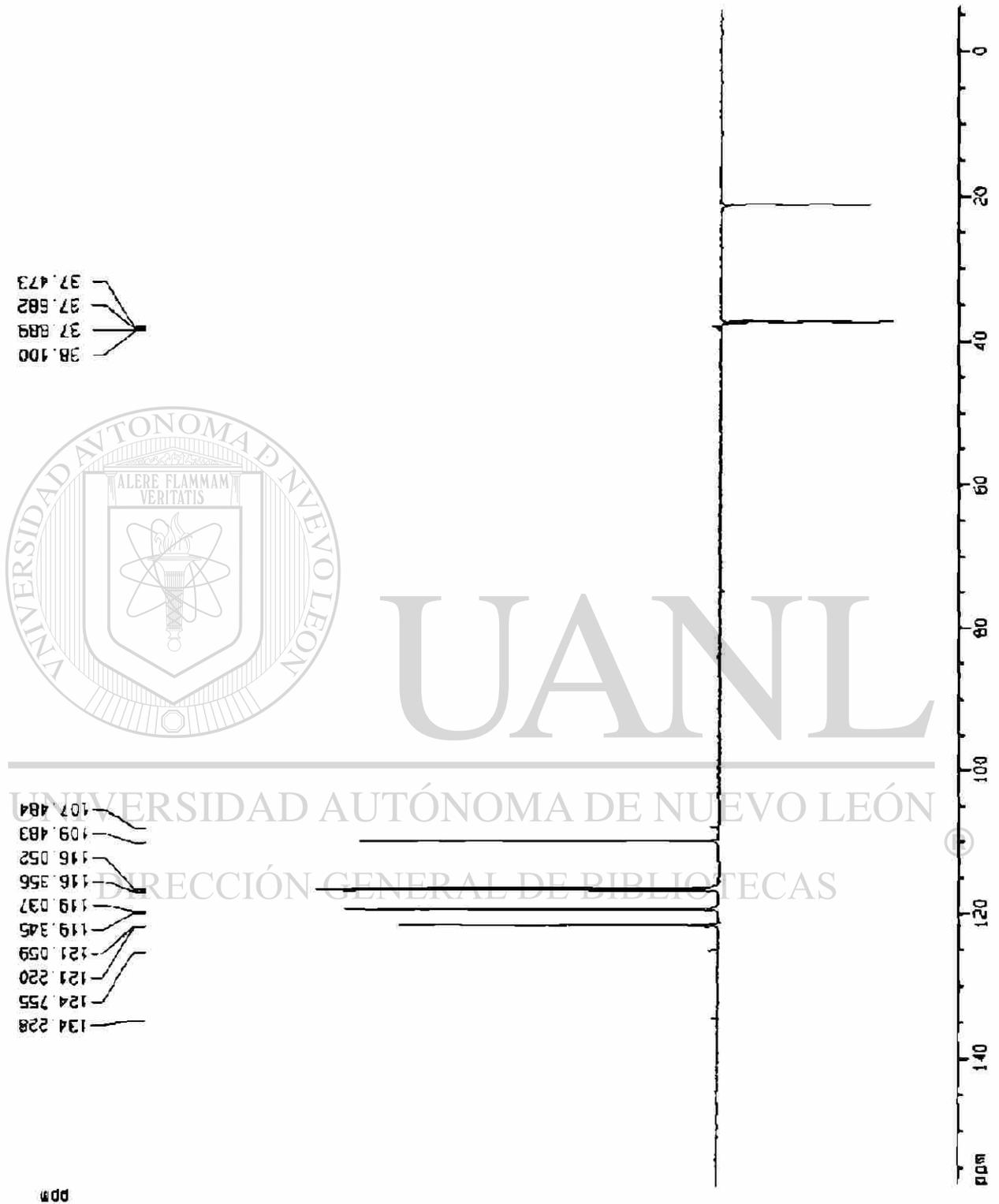


Fig. 23. Espectro de DEPT 135, del hidrocioruro de triptamina

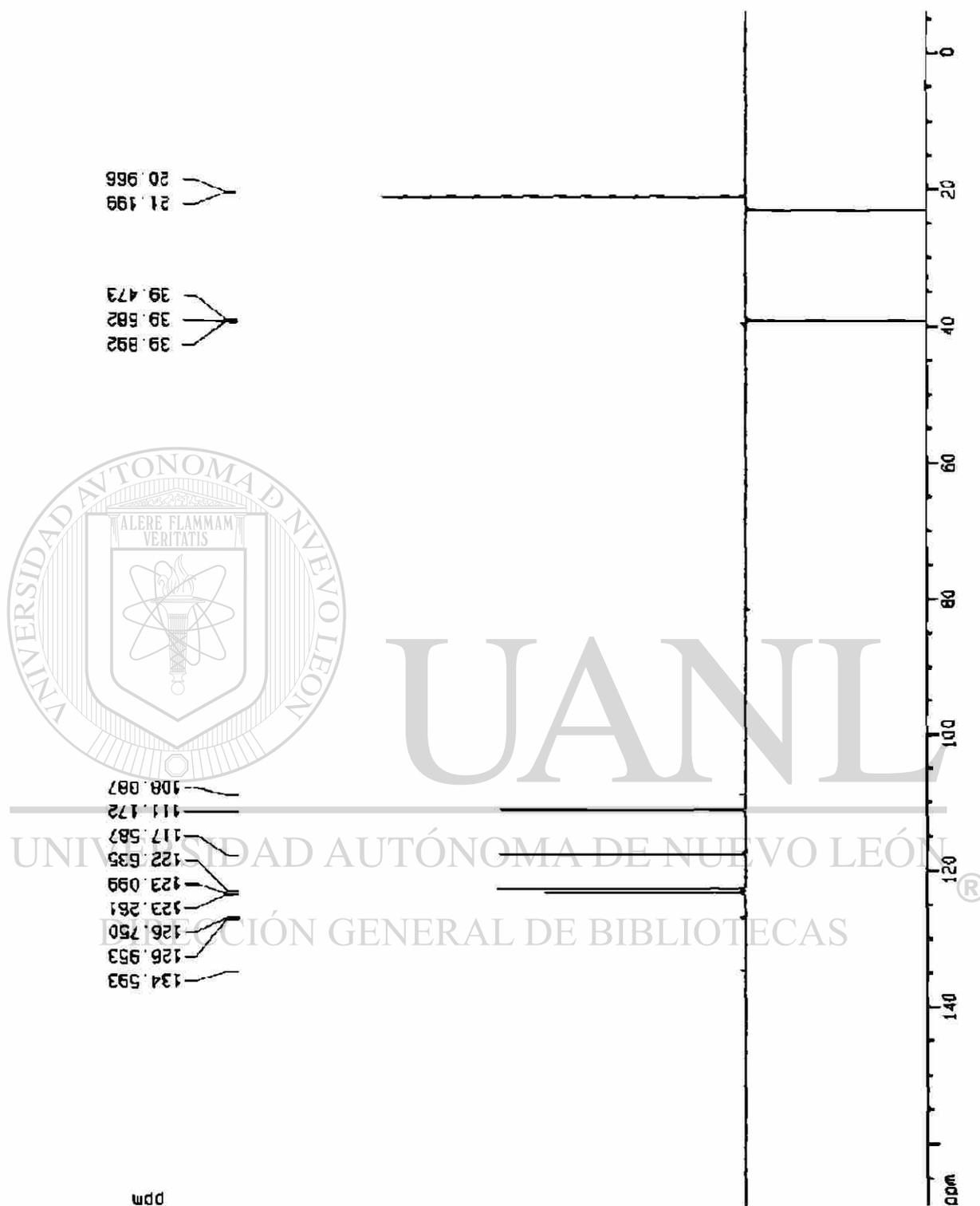


Fig. 24. Espectro de DEPT 135, del hidrocloreuro de 5-metiltryptamina

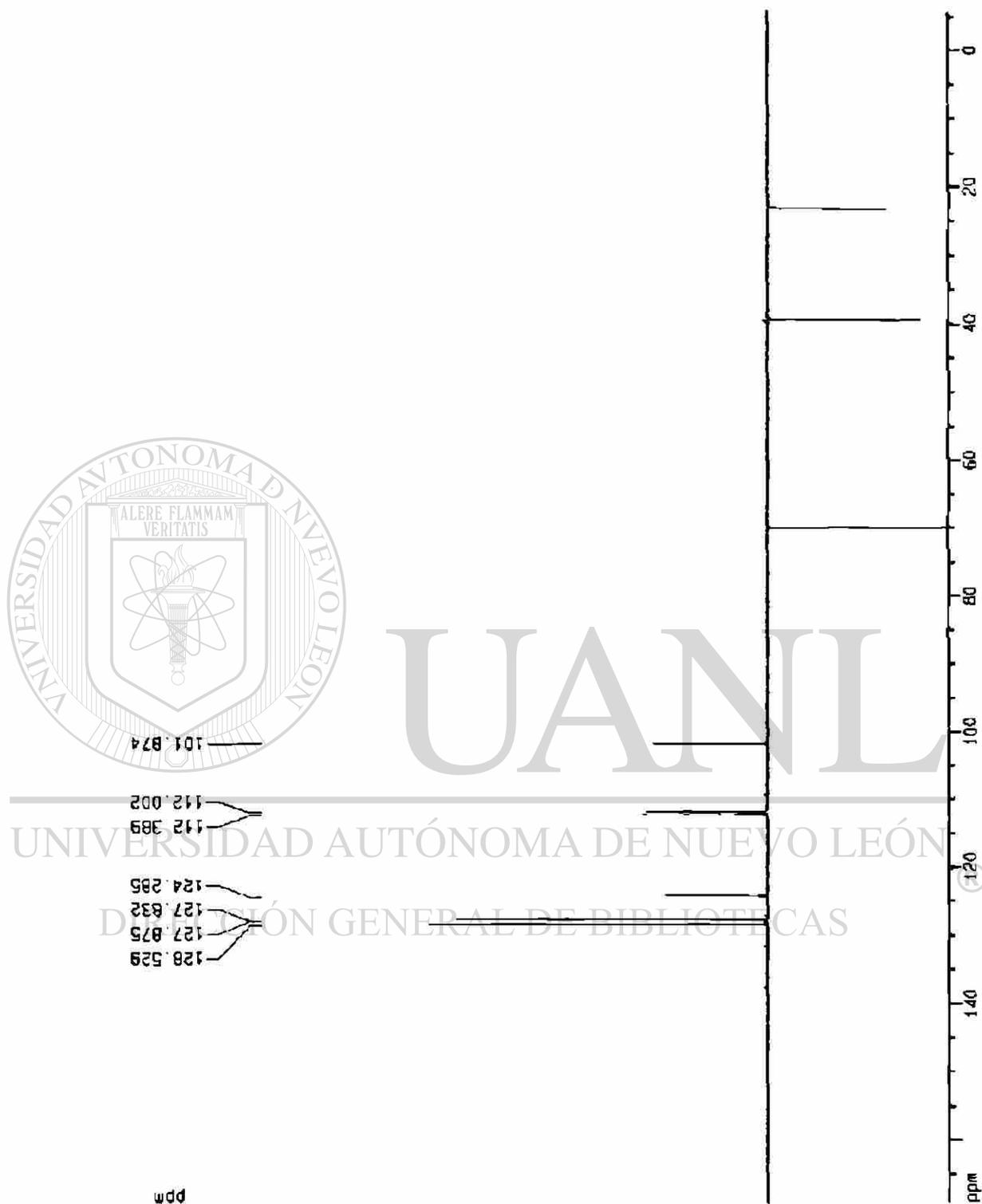


Fig. 25. Espectro de DEPT 135, del hidrocloreuro de 5-bencloxitriptamina

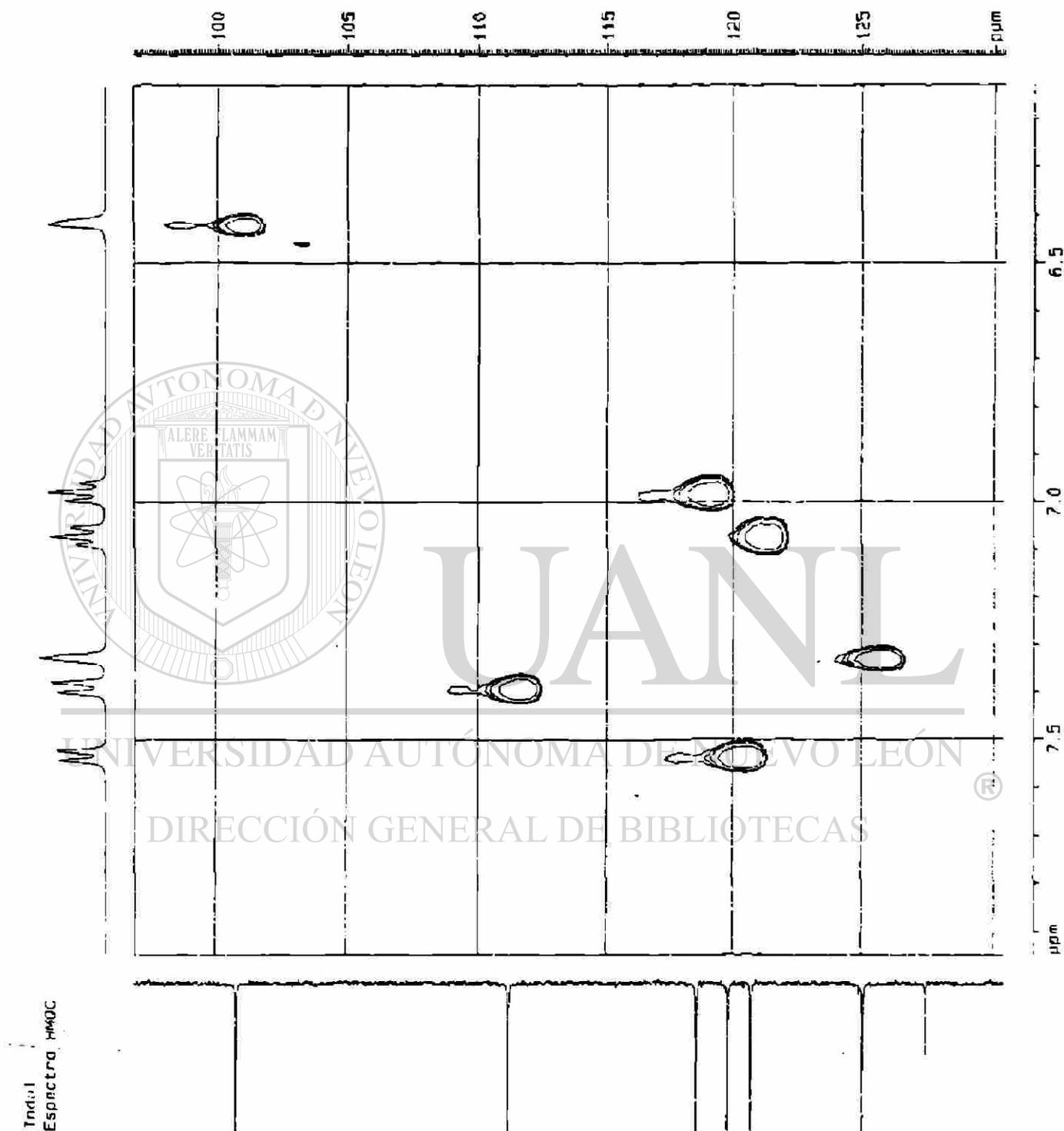


Fig. 26. Espectro de HMQC, del indol

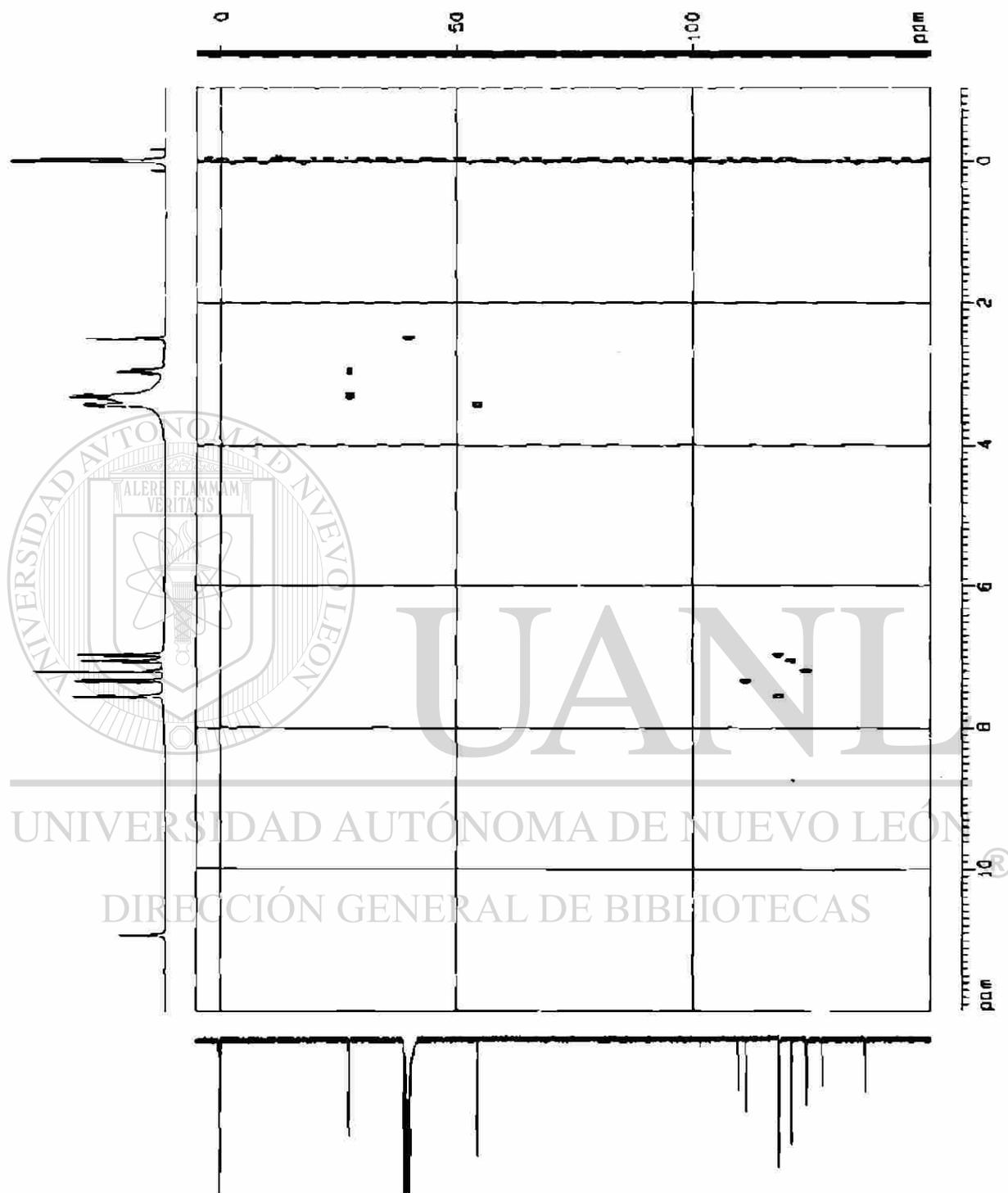


Fig. 27. Espectro de HMQC, de la triptamina

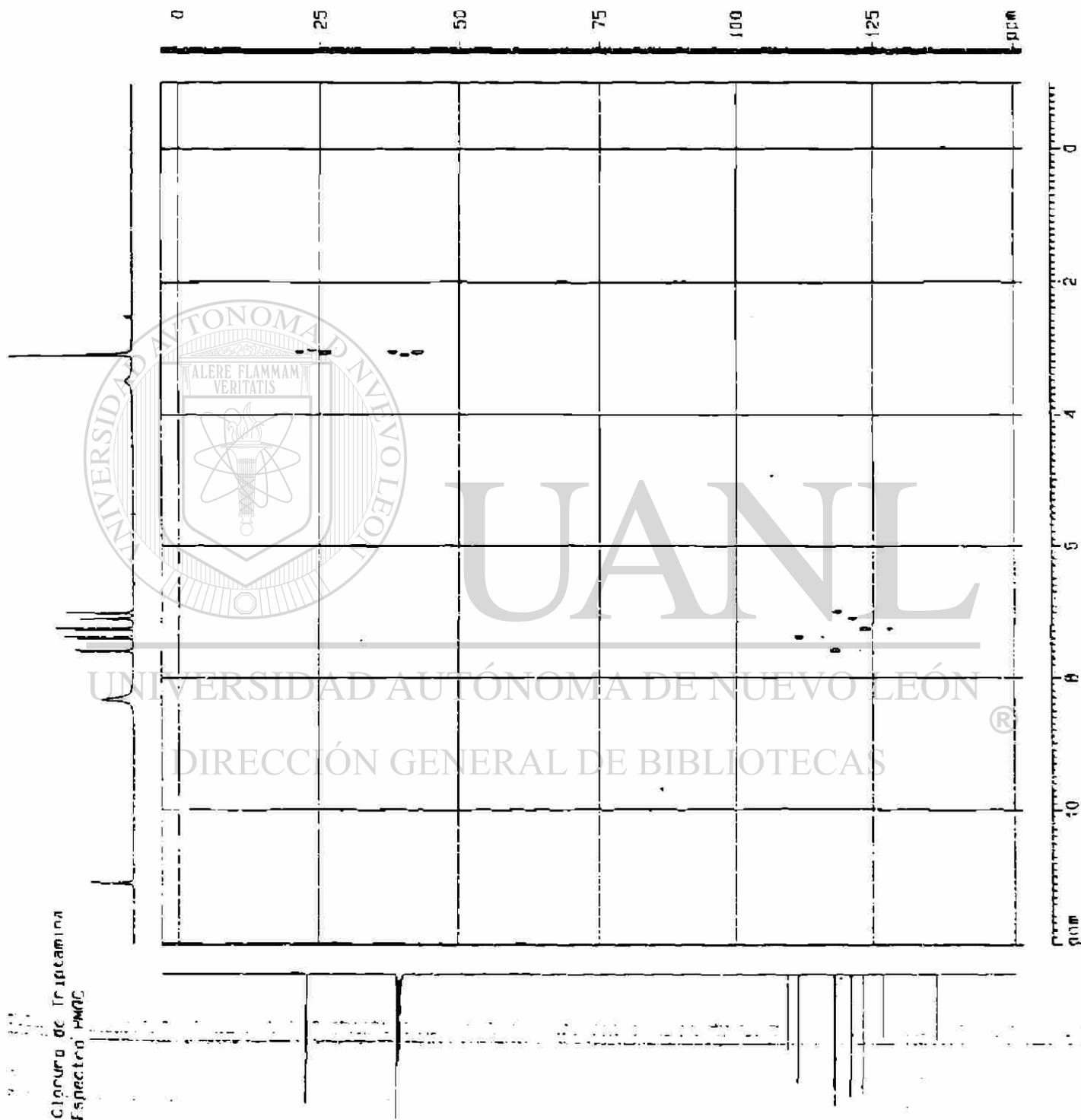


Fig. 28. Espectro de HMQC, del hidrocloreuro de triptamina

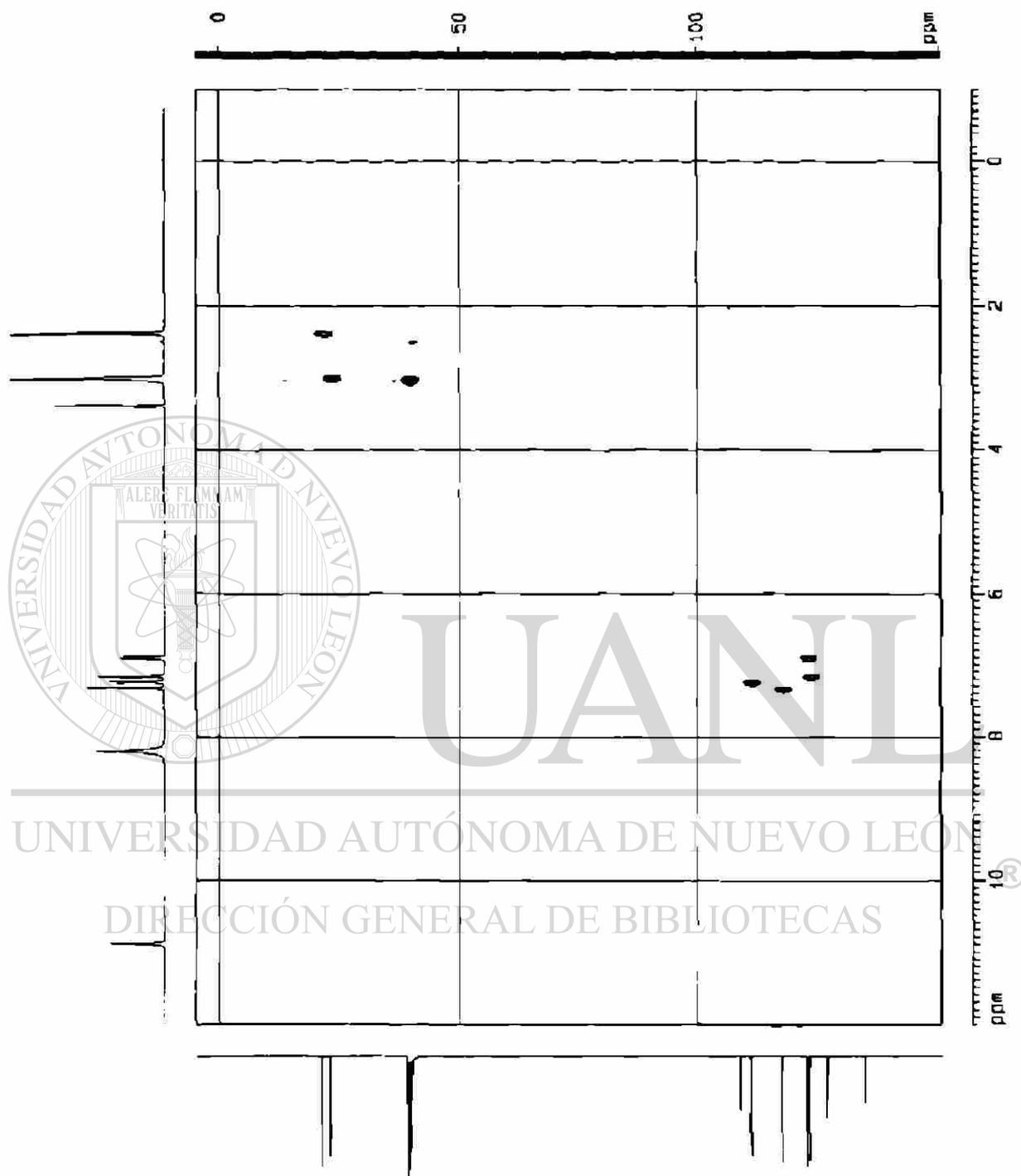


Fig. 29. Espectro de HMOC, del hidrocioruro de 5-metilriptamina

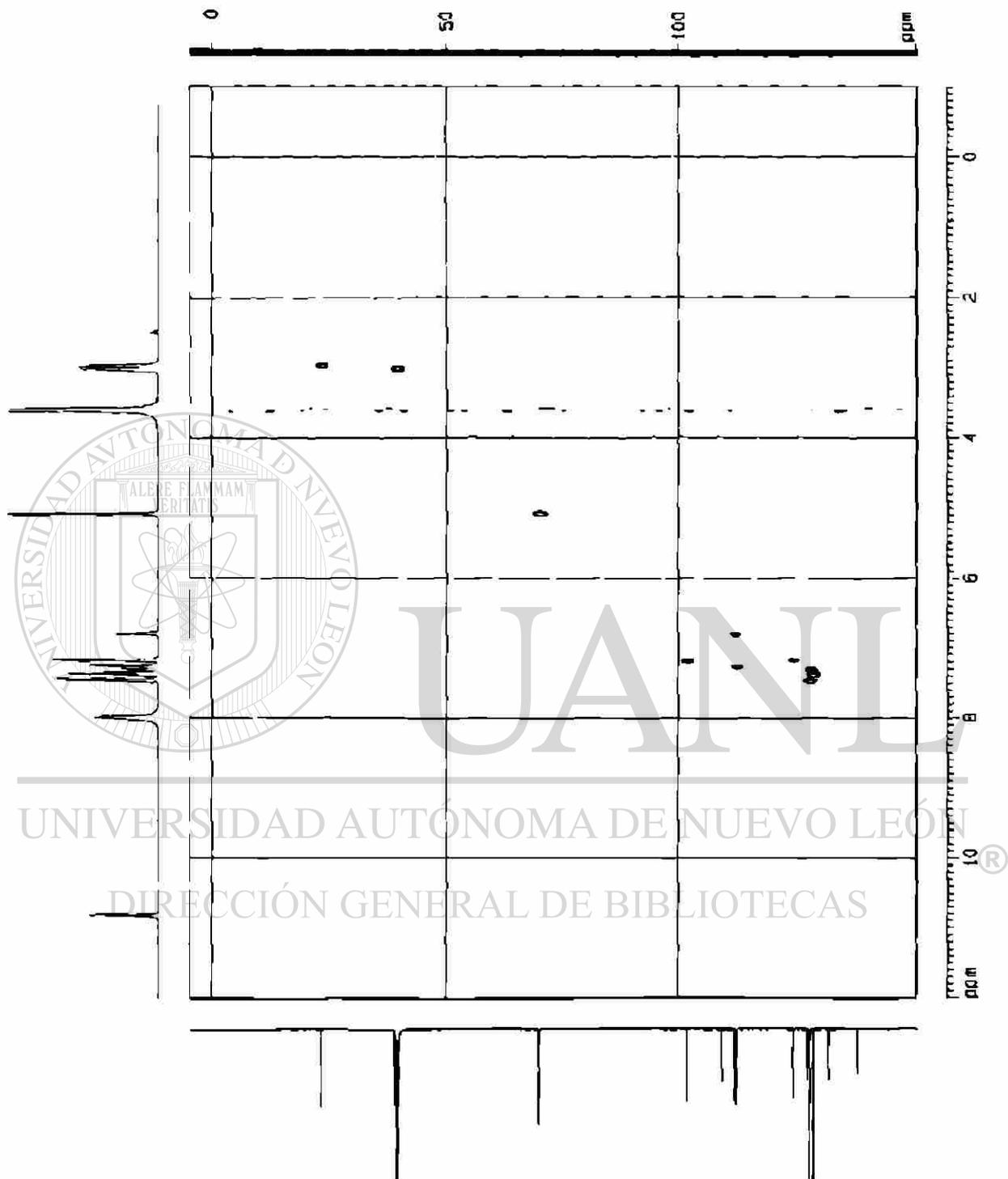


Fig. 30. Espectro de HMQC, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina

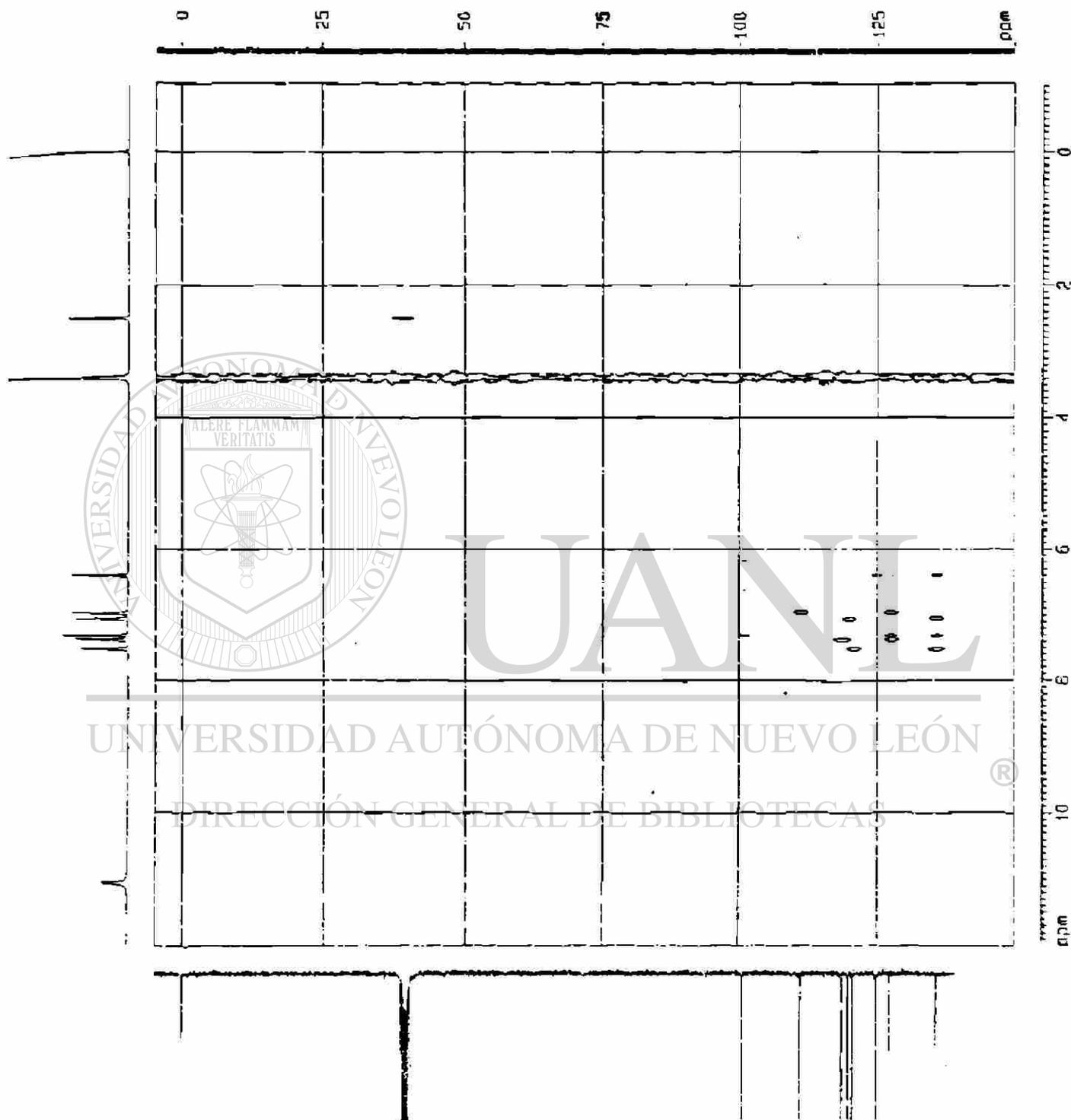


Fig. 31. Espectro de HMBC, del indol

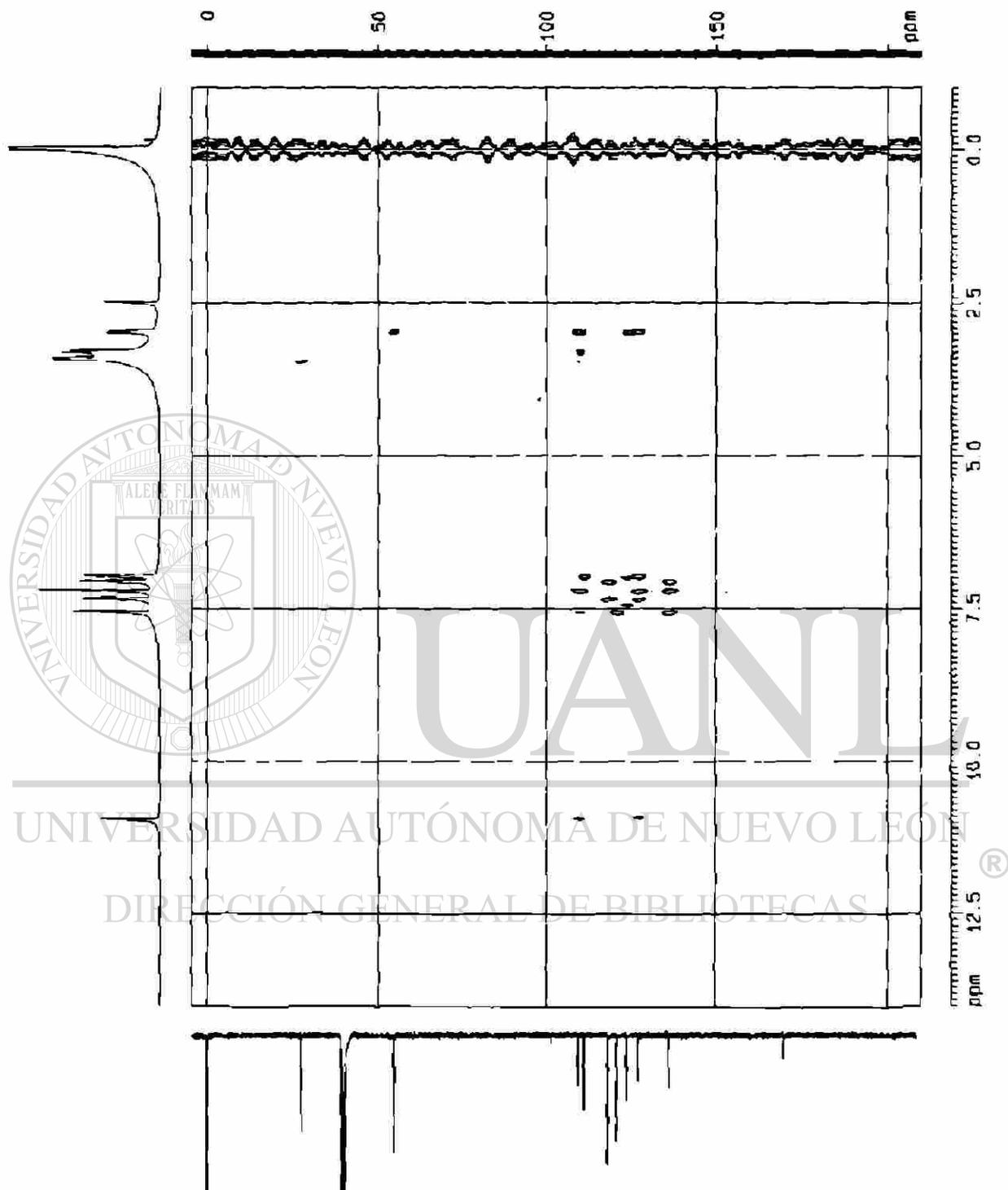


Fig. 32. Espectro de HMBC, de la triptamina

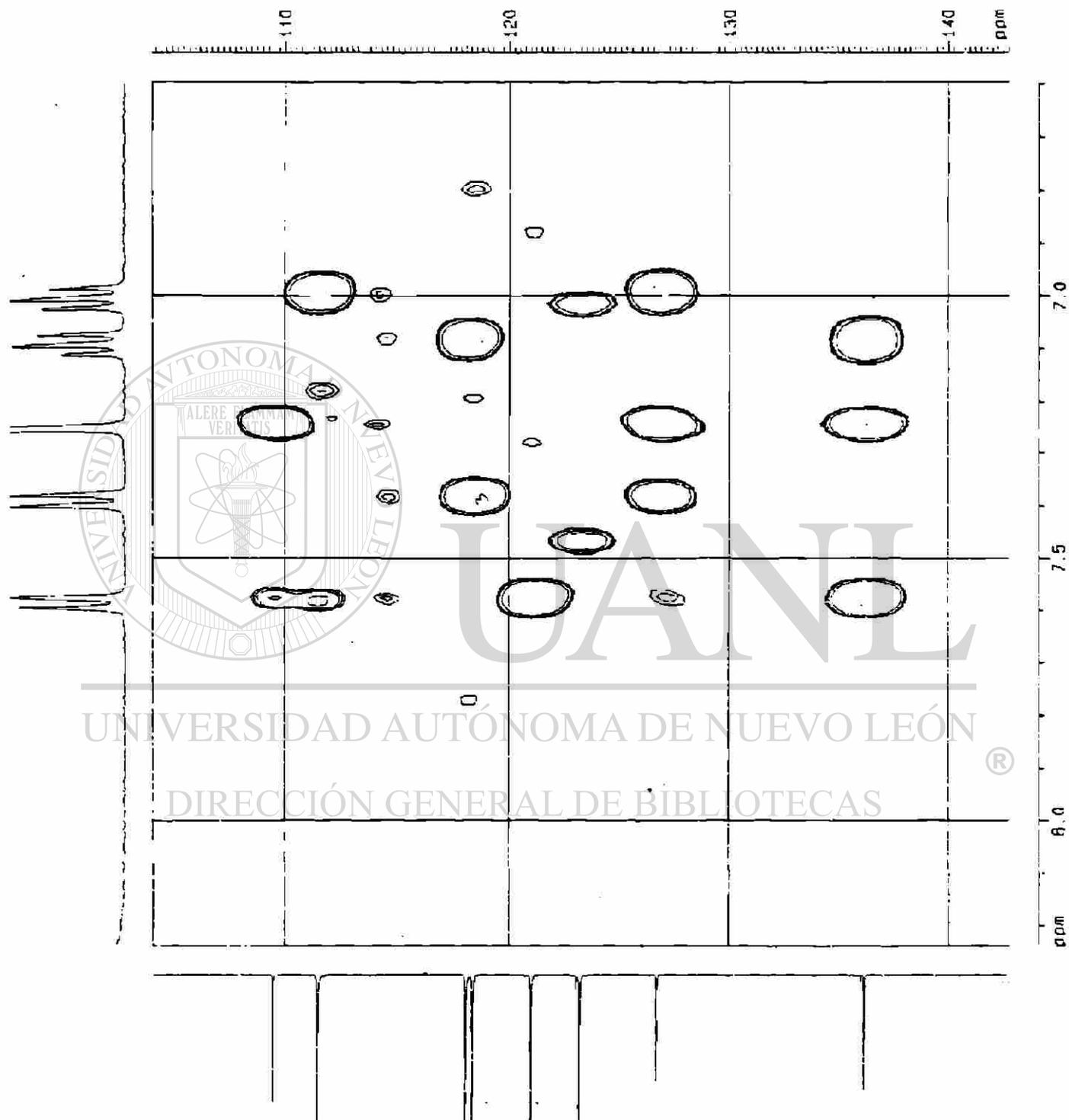


Fig. 33. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de triptamina

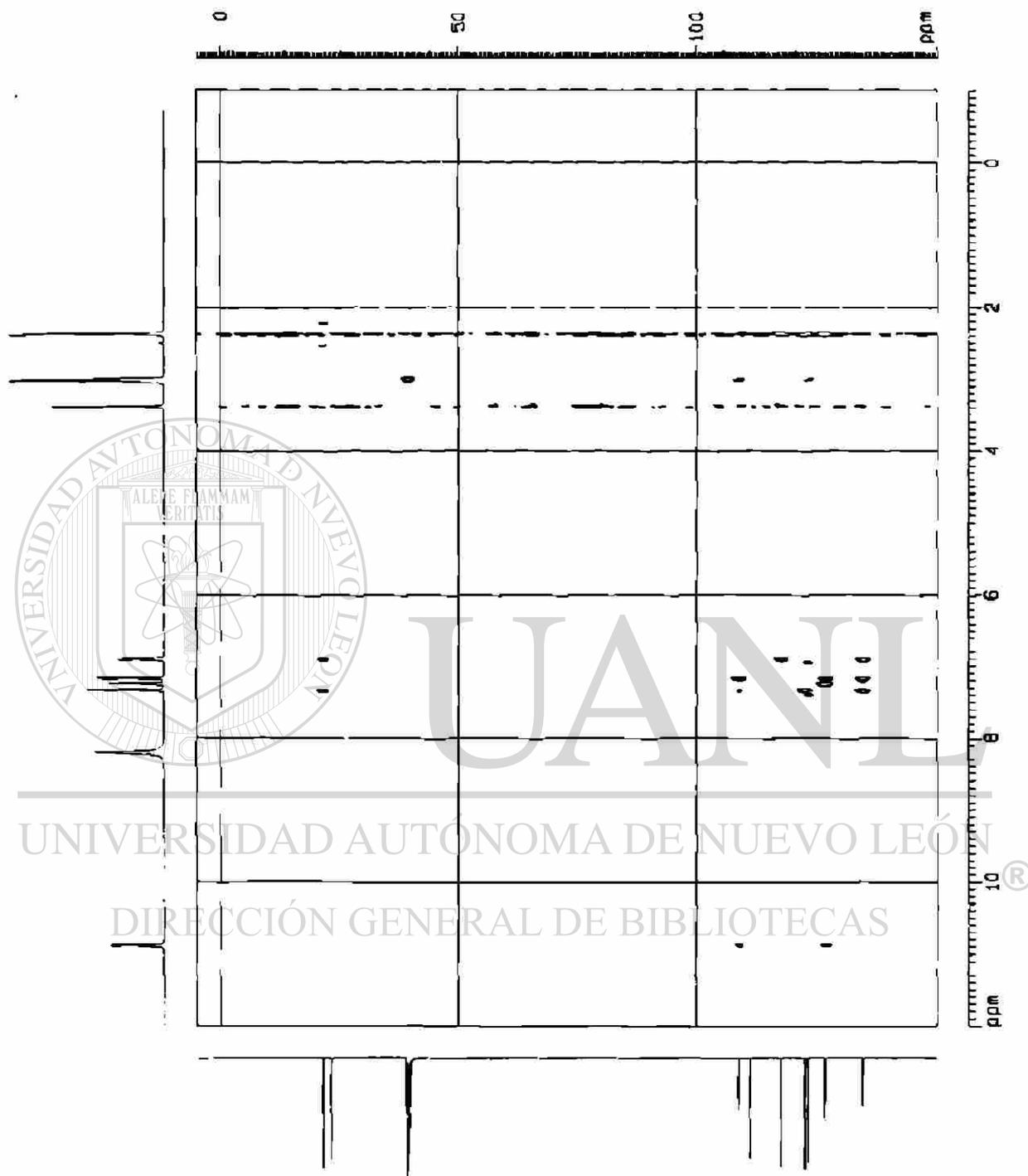


Fig. 34. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de 5-metiltryptamina

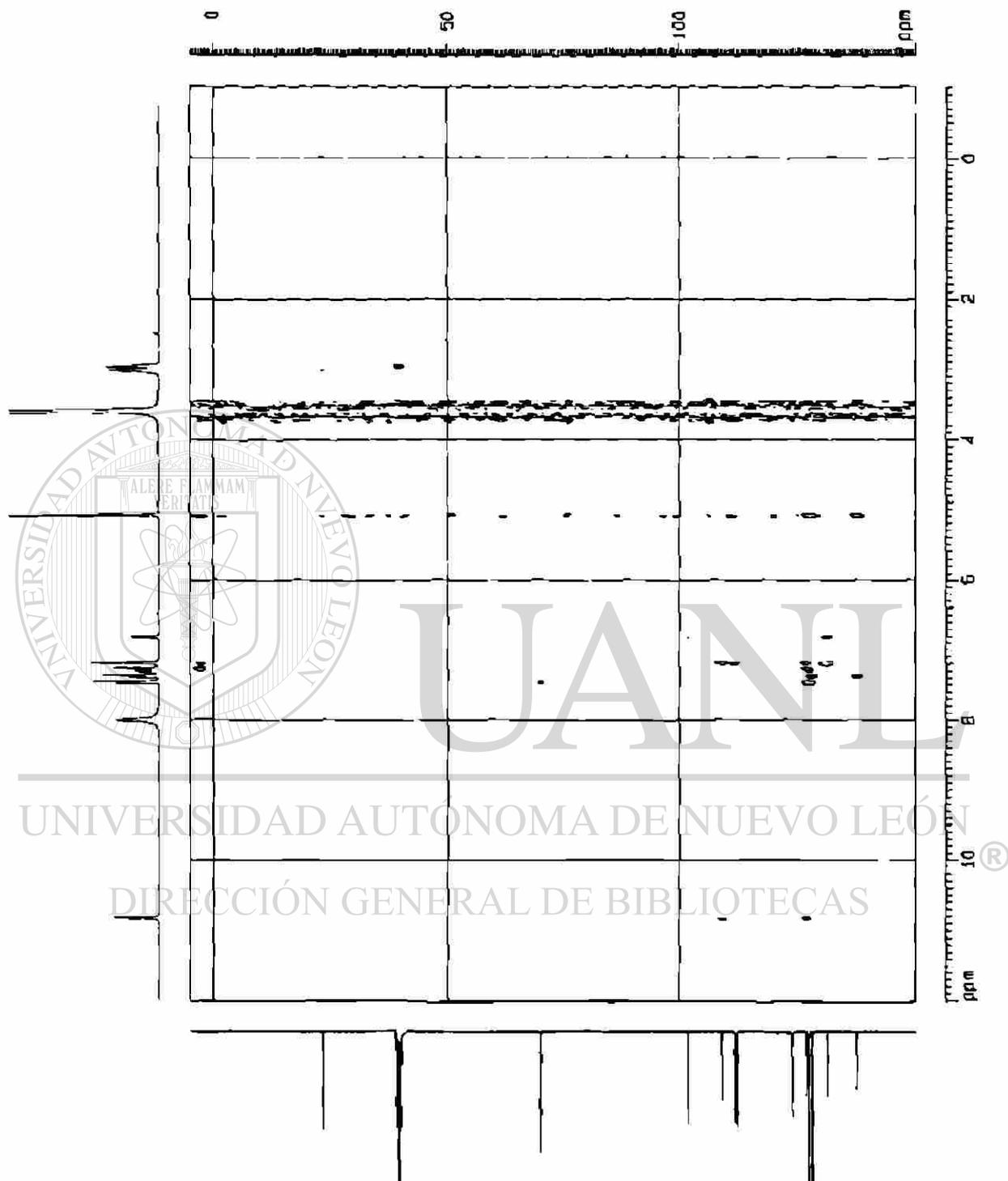


Fig. 35. Espectro de HMBC, del hidrocloreuro de 5-benciloxitriptamina

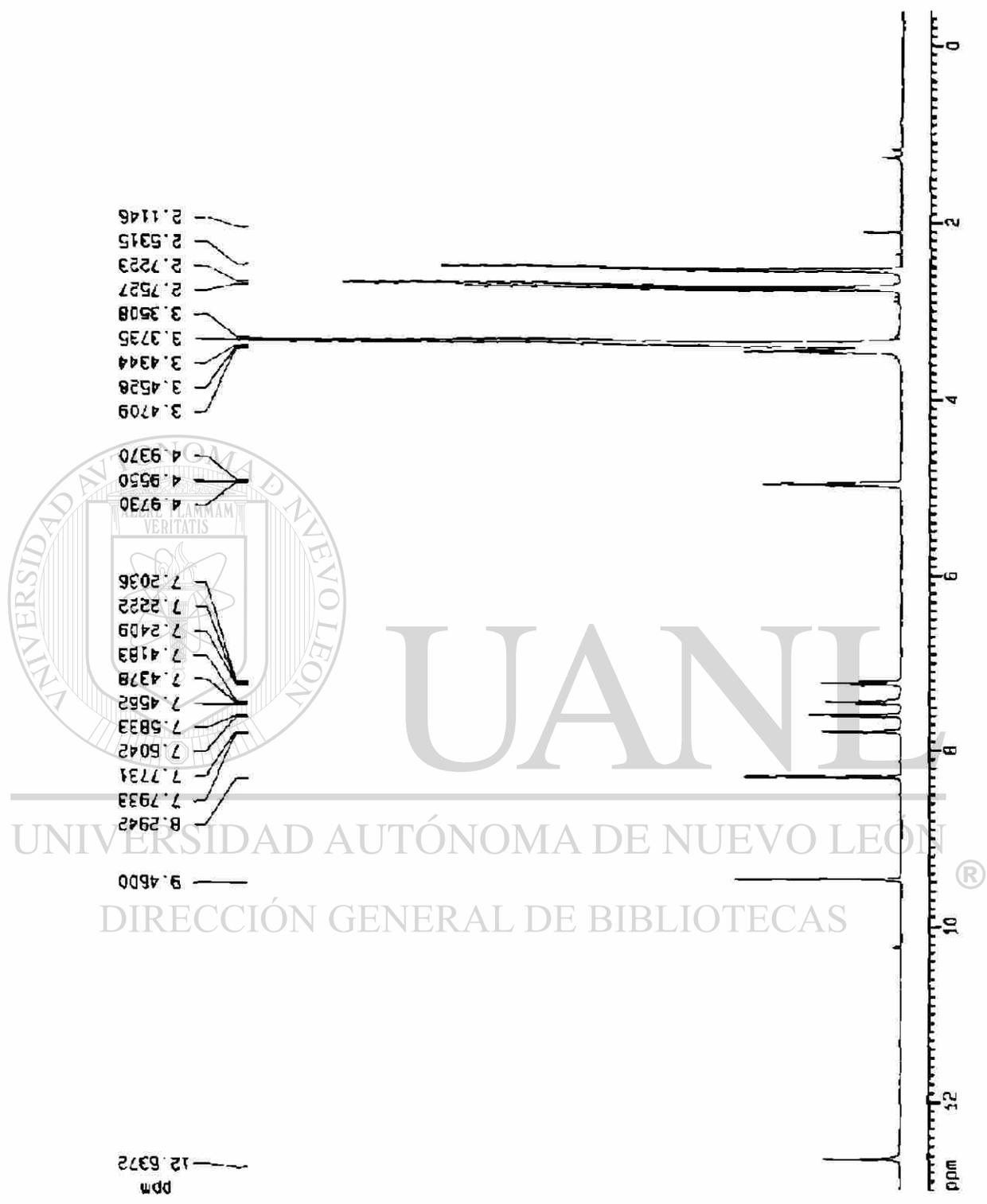


Fig. 36. Espectro de ¹H RMN de 24

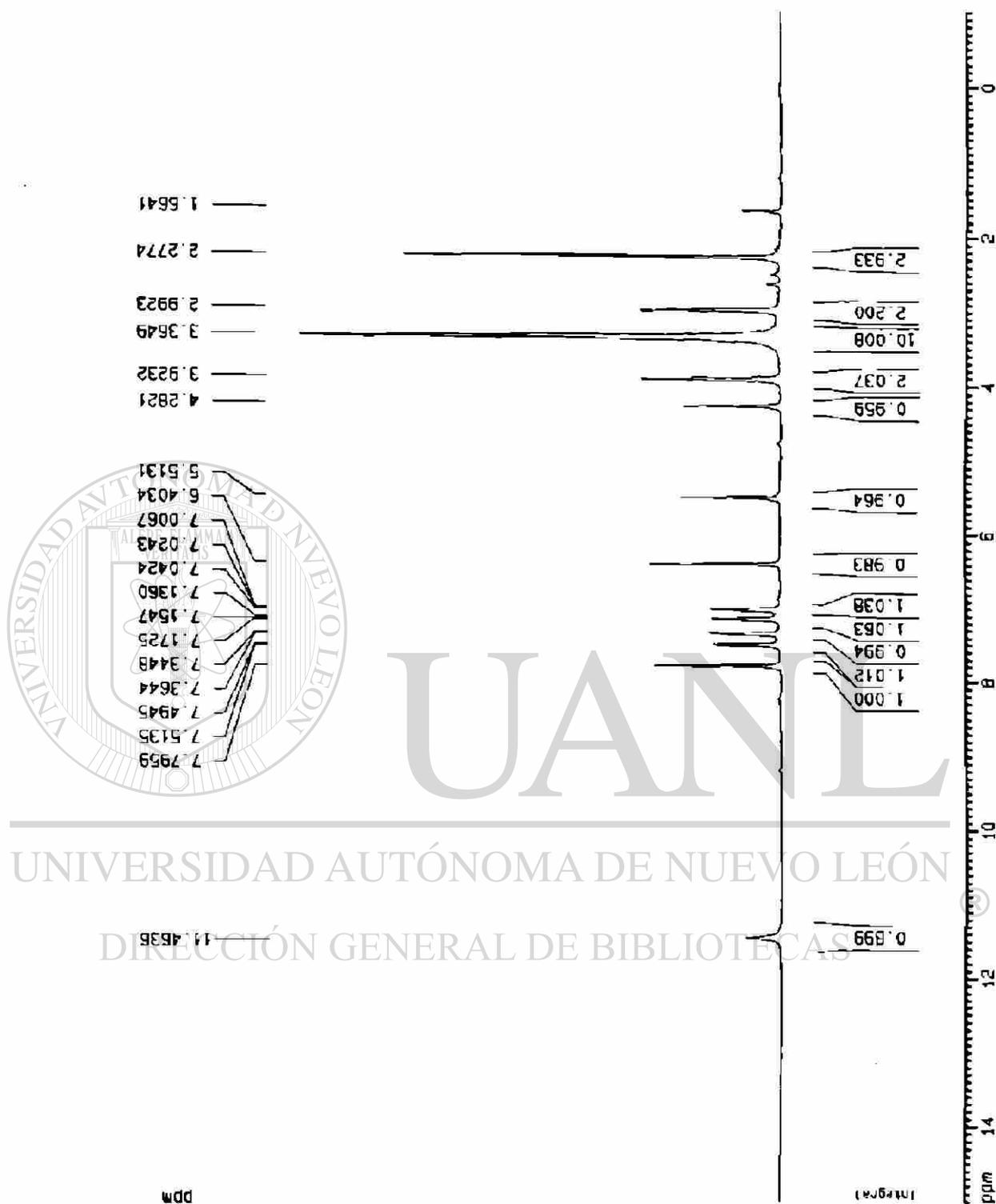


Fig. 37. Espectro de ¹H RMN de 25

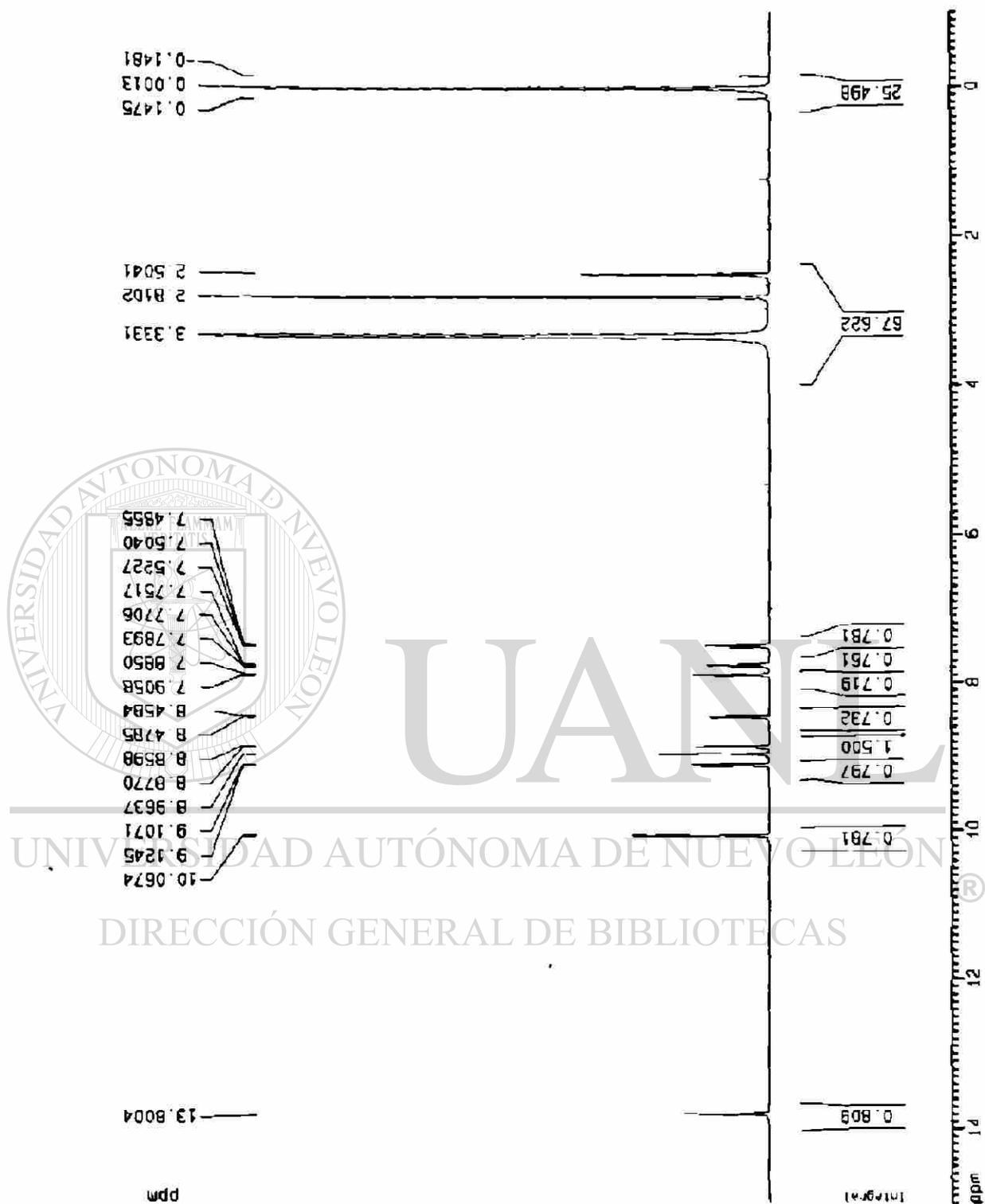


Fig. 38. Espectro de ^1H RMN de 26

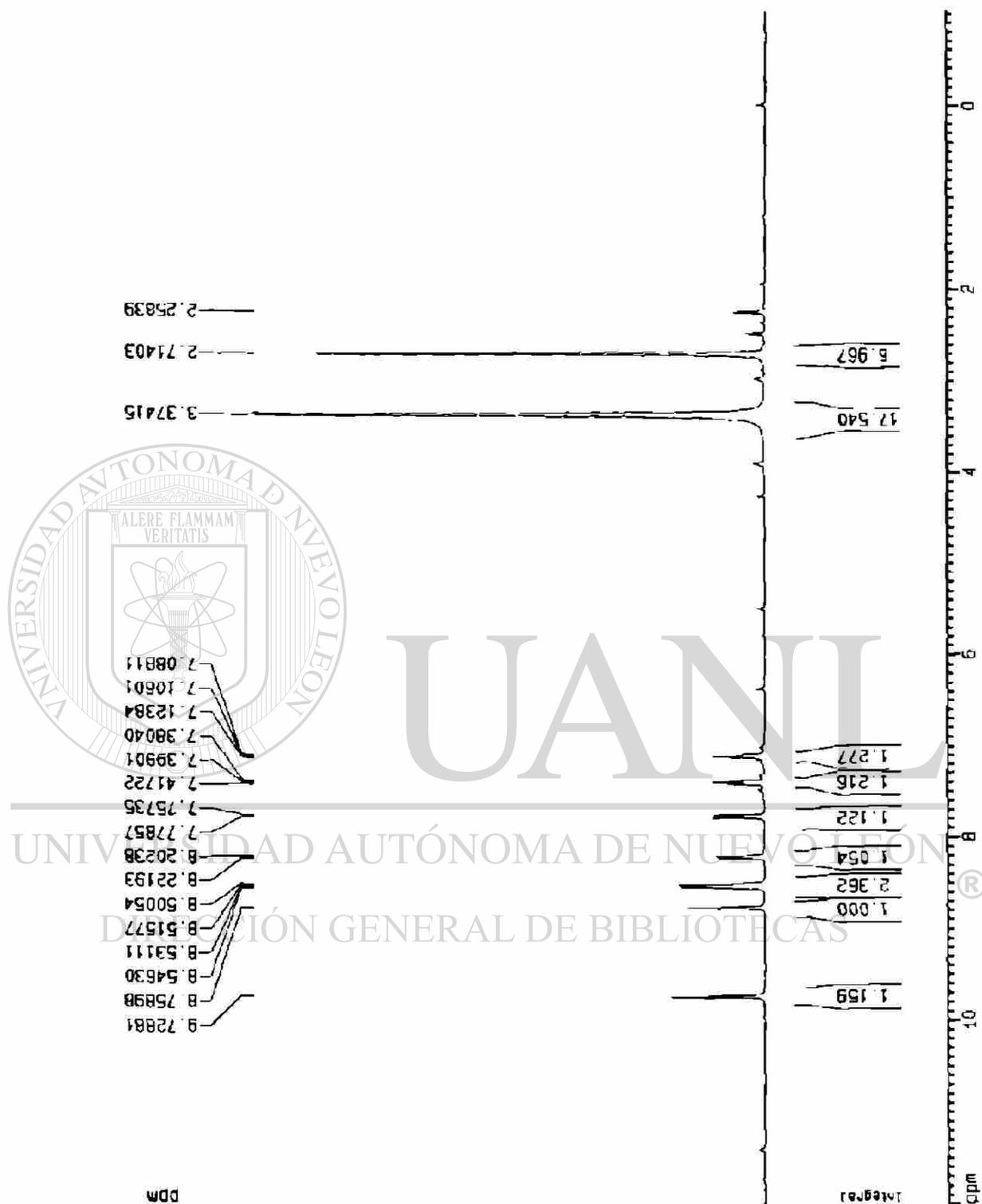


Fig. 39. Espectro de ^1H RMN de 27

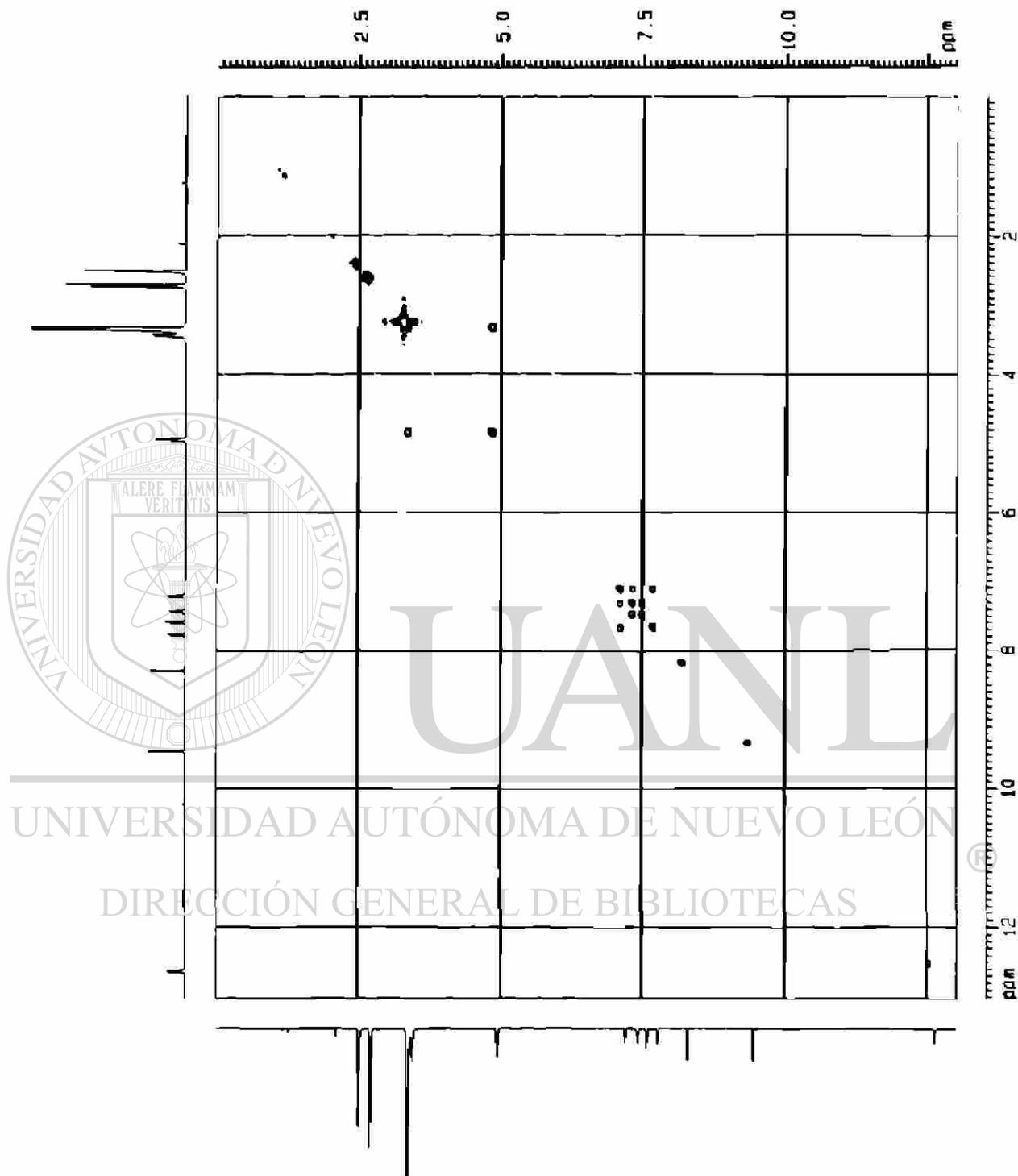


Fig. 40. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 24

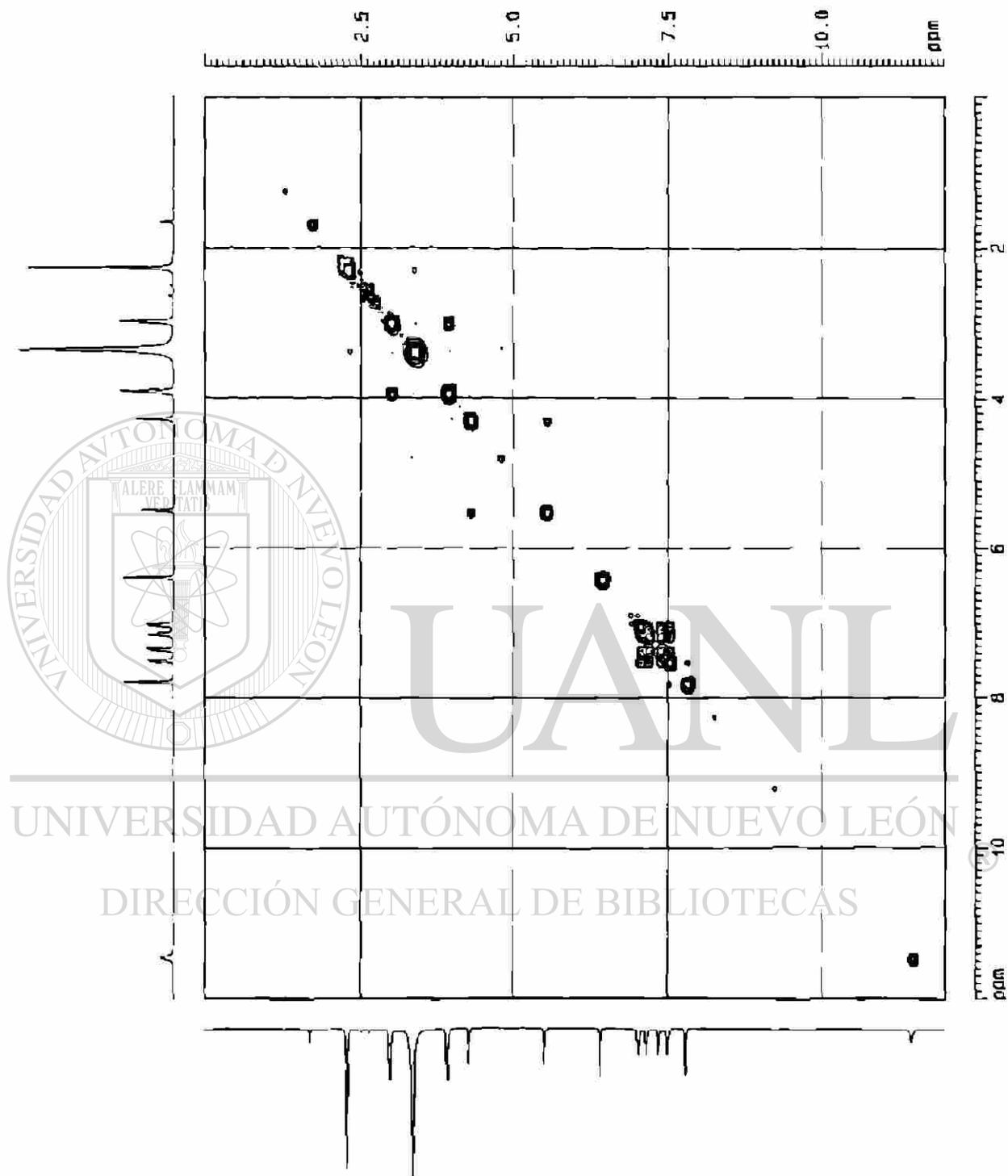


Fig. 41. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 25

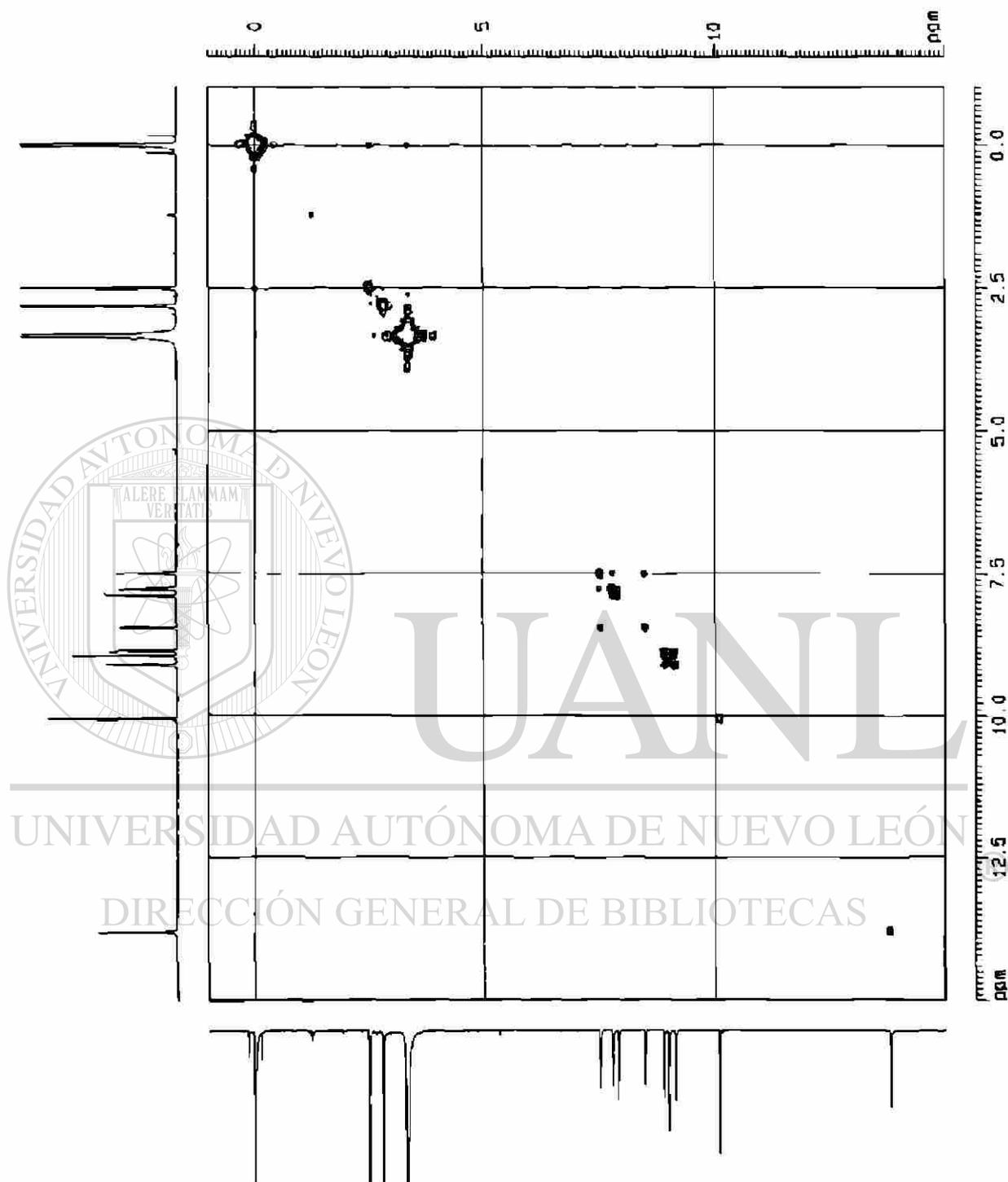


Fig. 42. Espectro de 2D ^1H RMN, Casy de 26

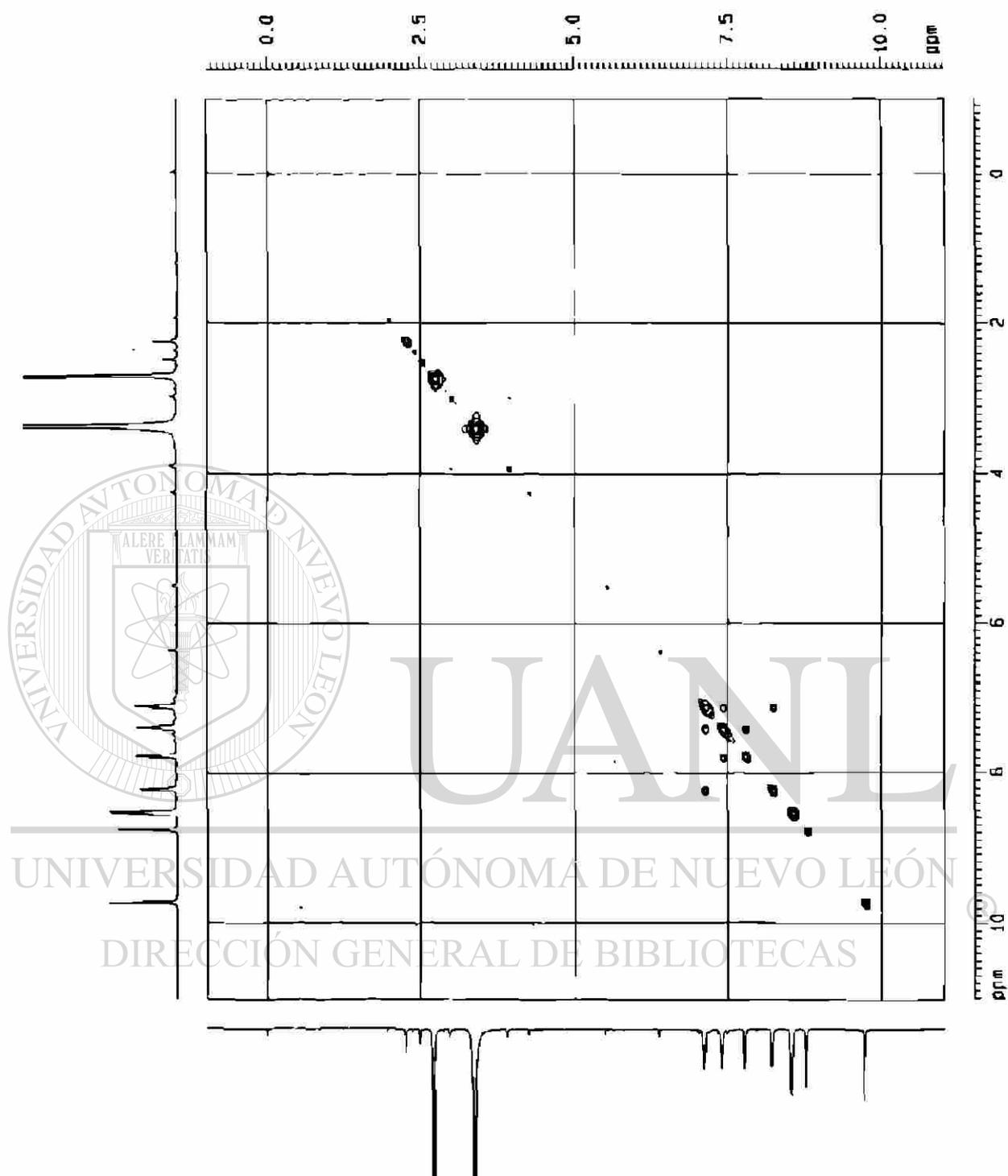


Fig. 43. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 27

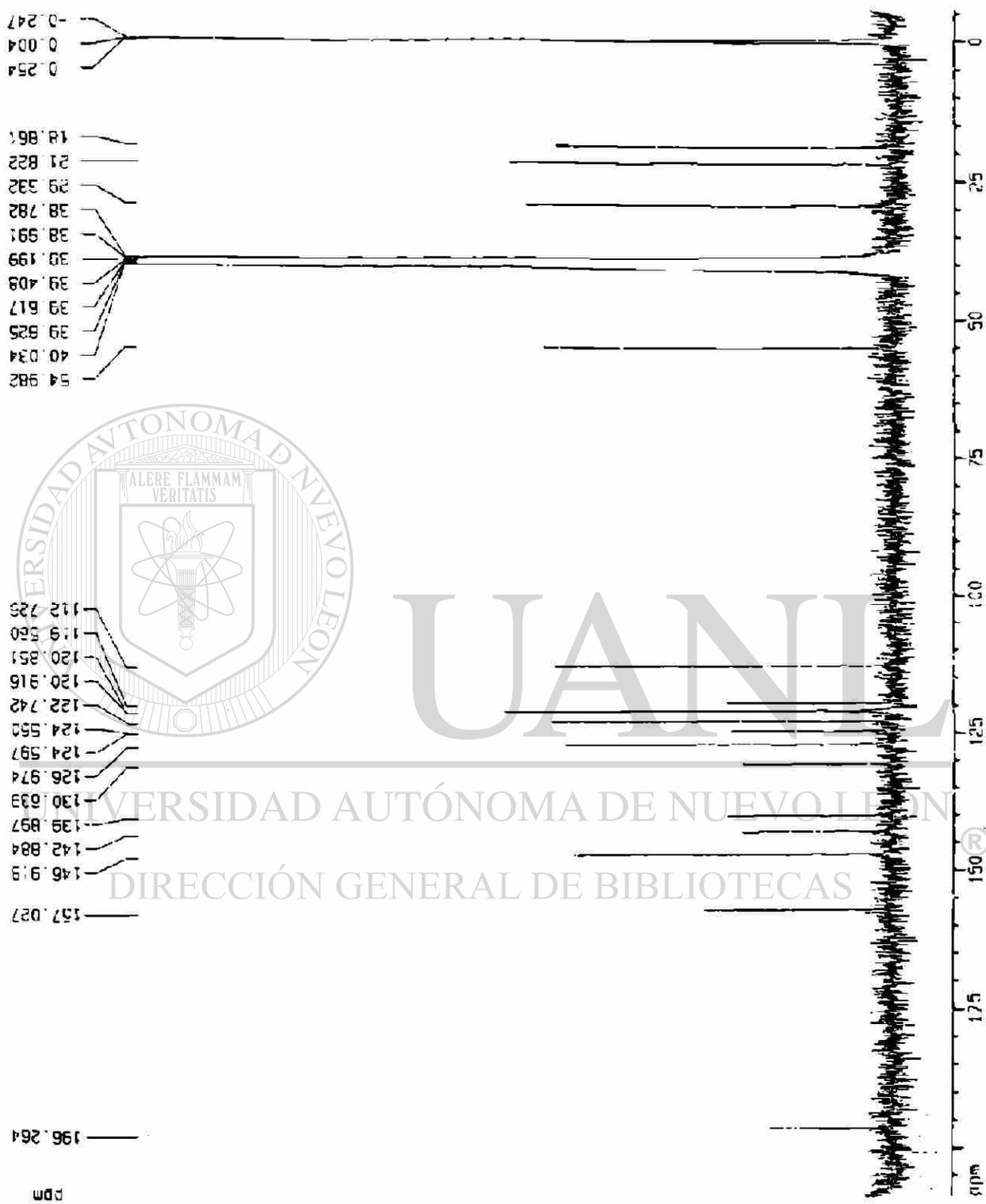


Fig. 44. Espectro de ^{13}C RMN, de 24



Fig. 45. Espectro de ^{13}C RMN, de 25

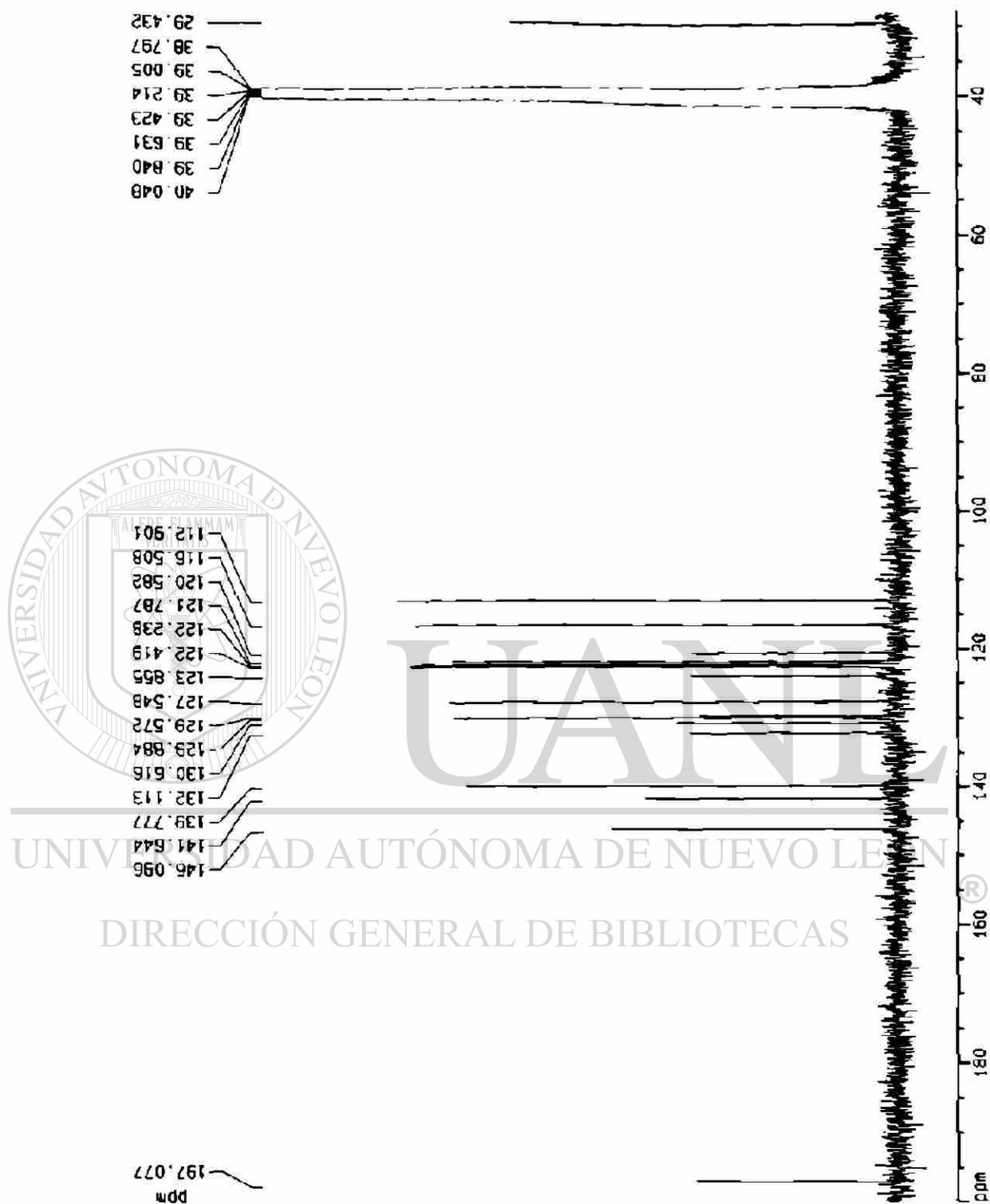


Fig. 46. Espectro de ^{13}C RMN, de 26



Fig. 47. Espectro de ^{13}C RMN, de 27

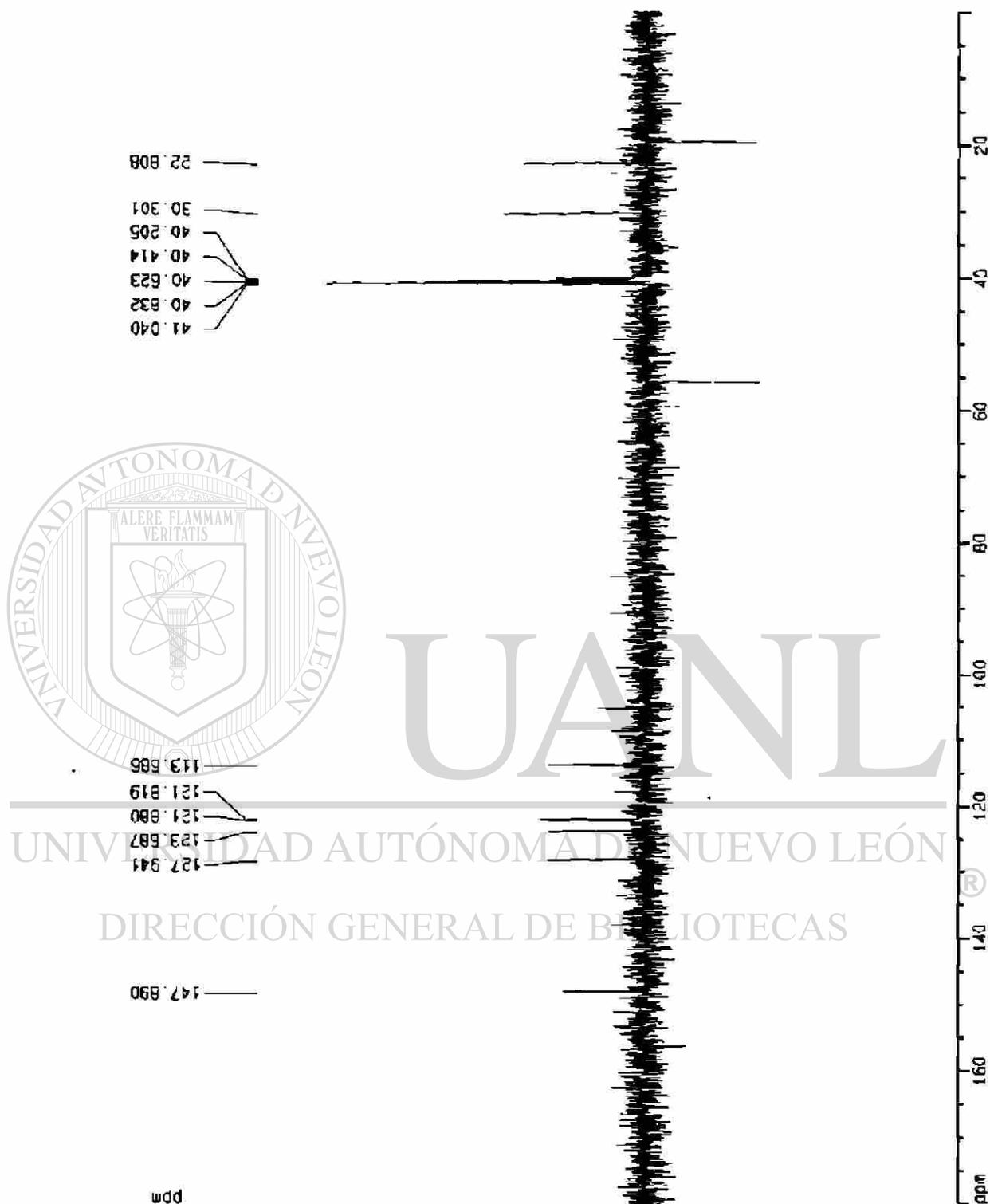


Fig. 48. Espectro de DEPT 135, de 24

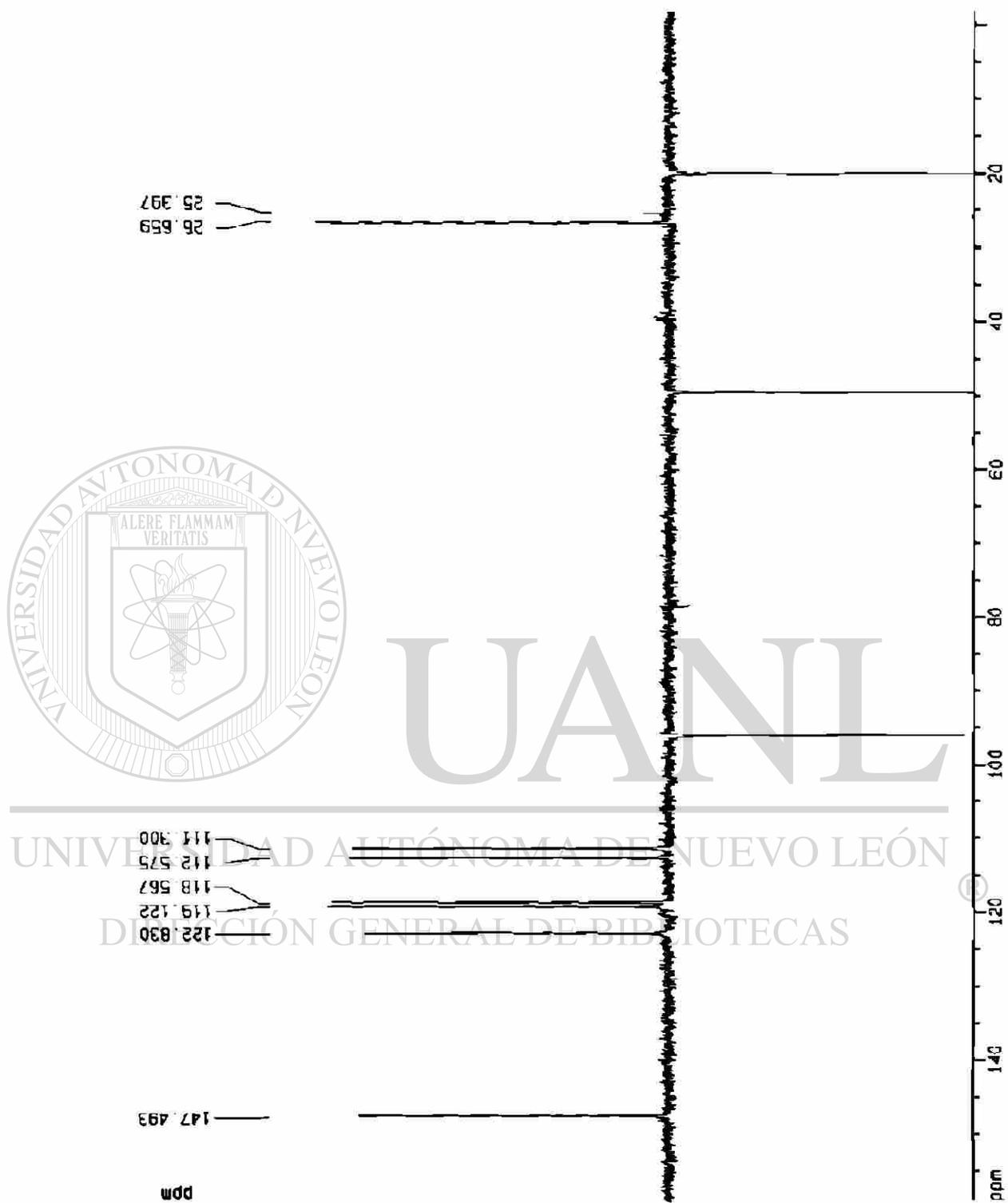


Fig. 49. Espectro de DEPT 135, de 25

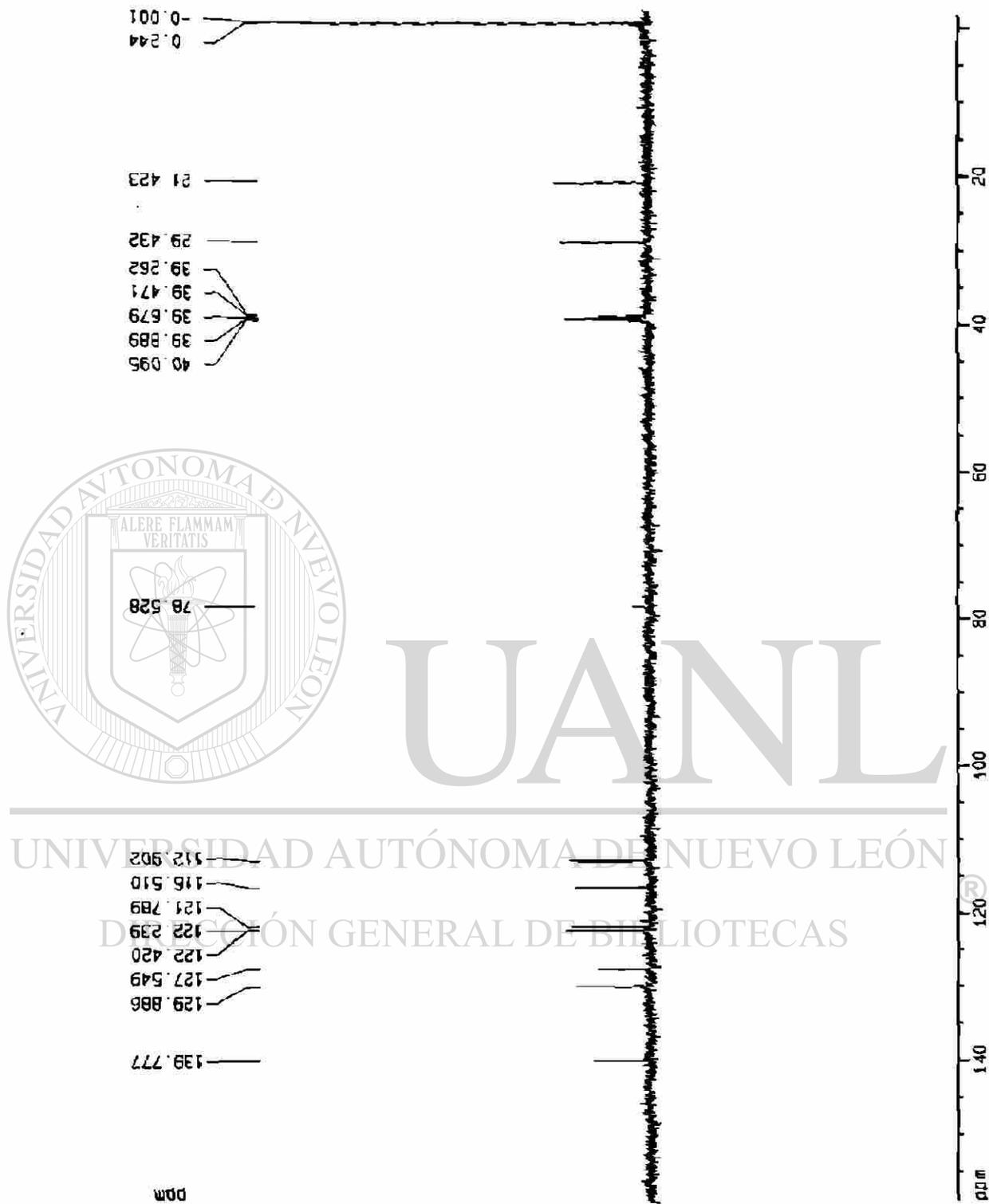


Fig. 50. Espectro de DEPT 135, de 26

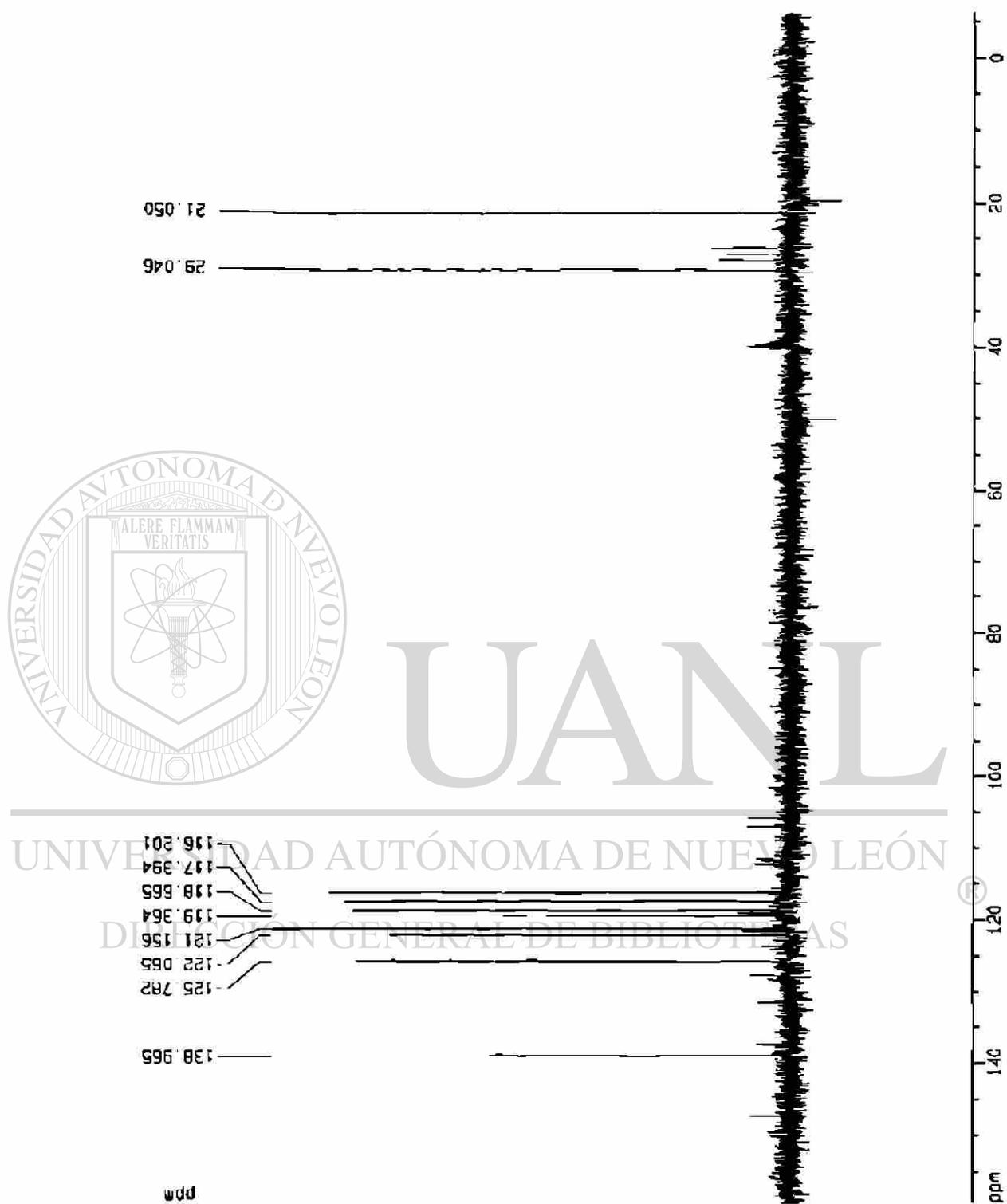


Fig. S1. Espectro de DEPT 135, de 27

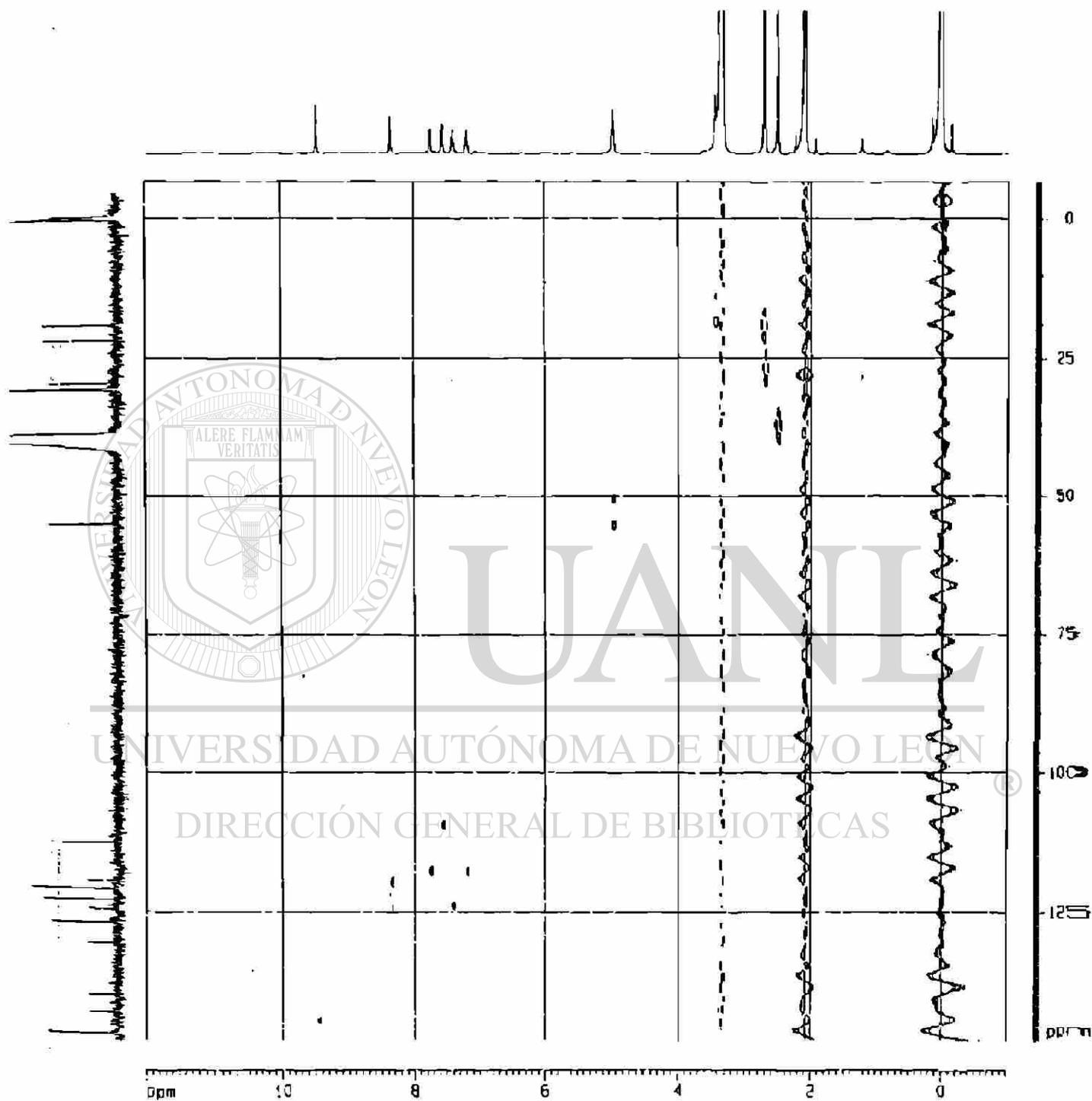


Fig. 52. Espectro de HMQC, de 24

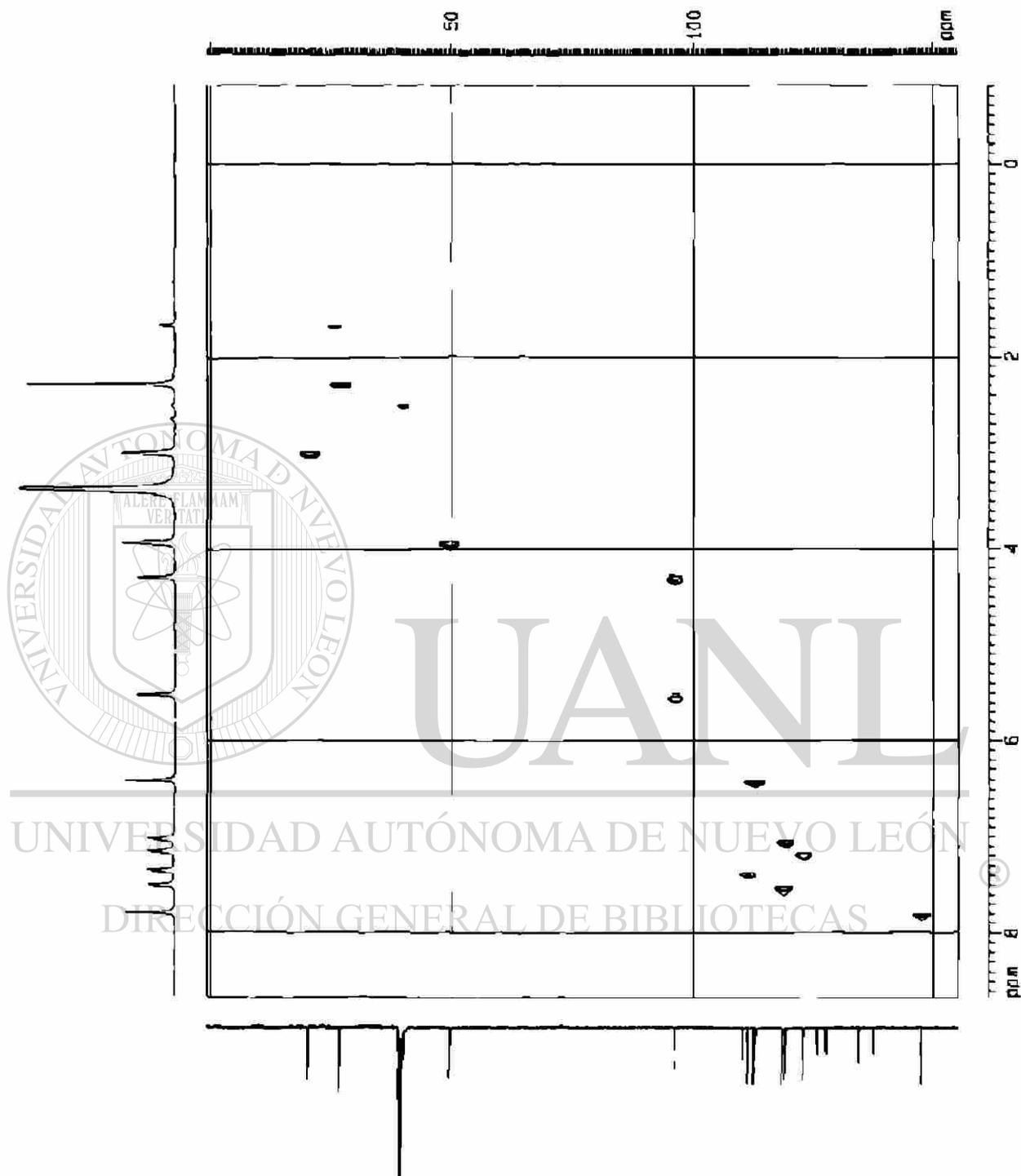


Fig. 53. Espectro de HMQC, de 25

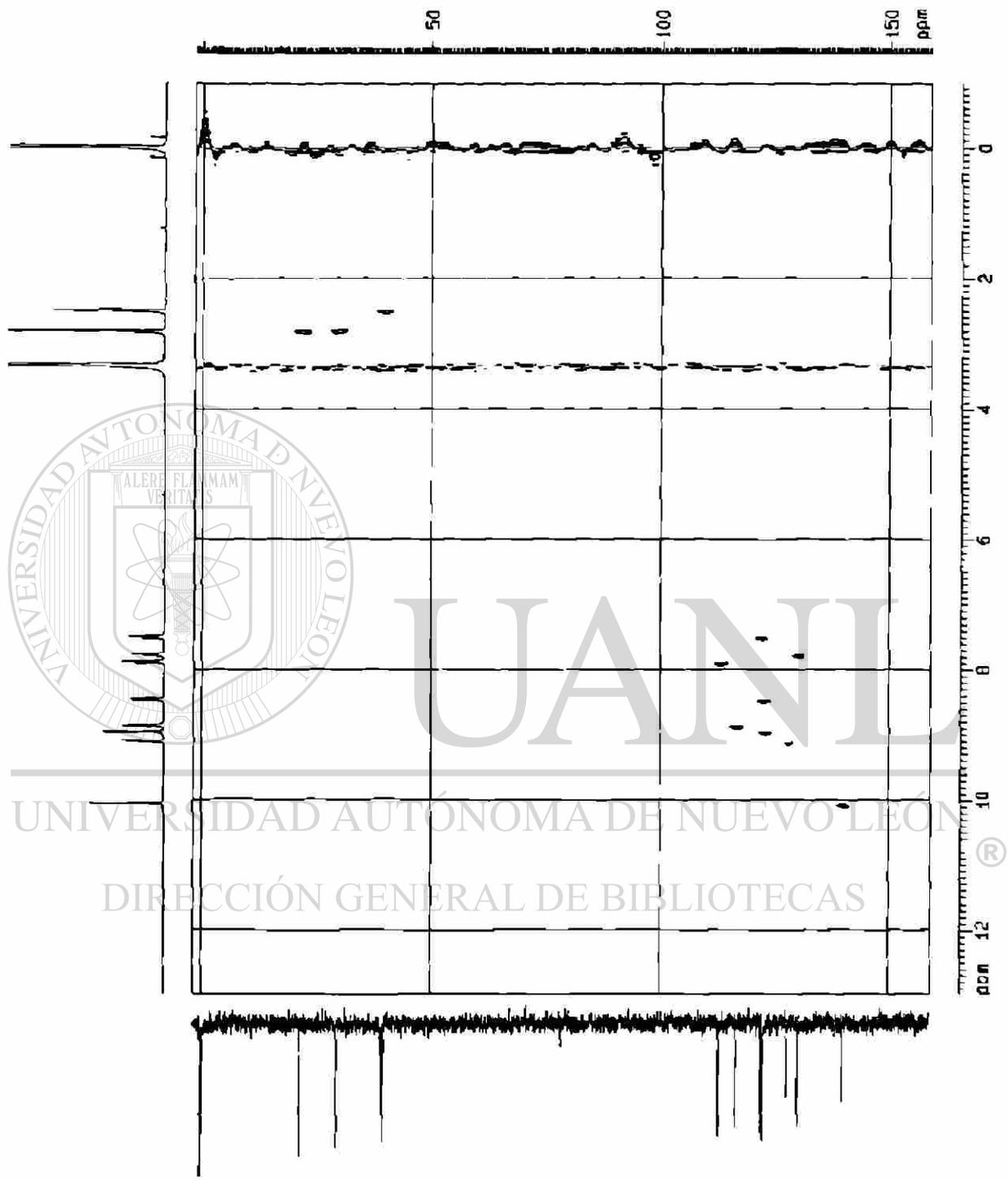


Fig. 54. Espectro de HMQC, de 26

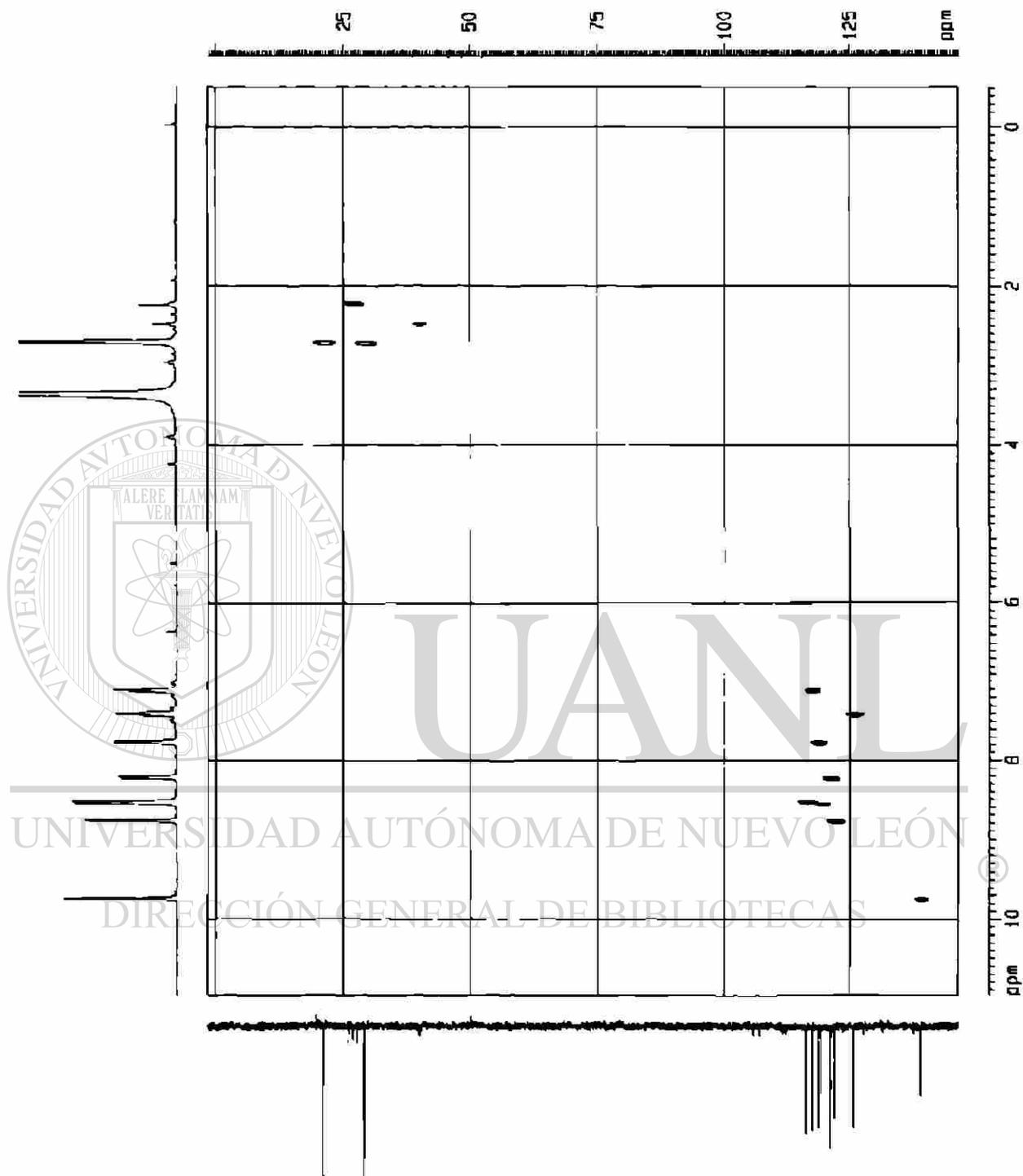


Fig. 55. Espectro de HMQC, de 27

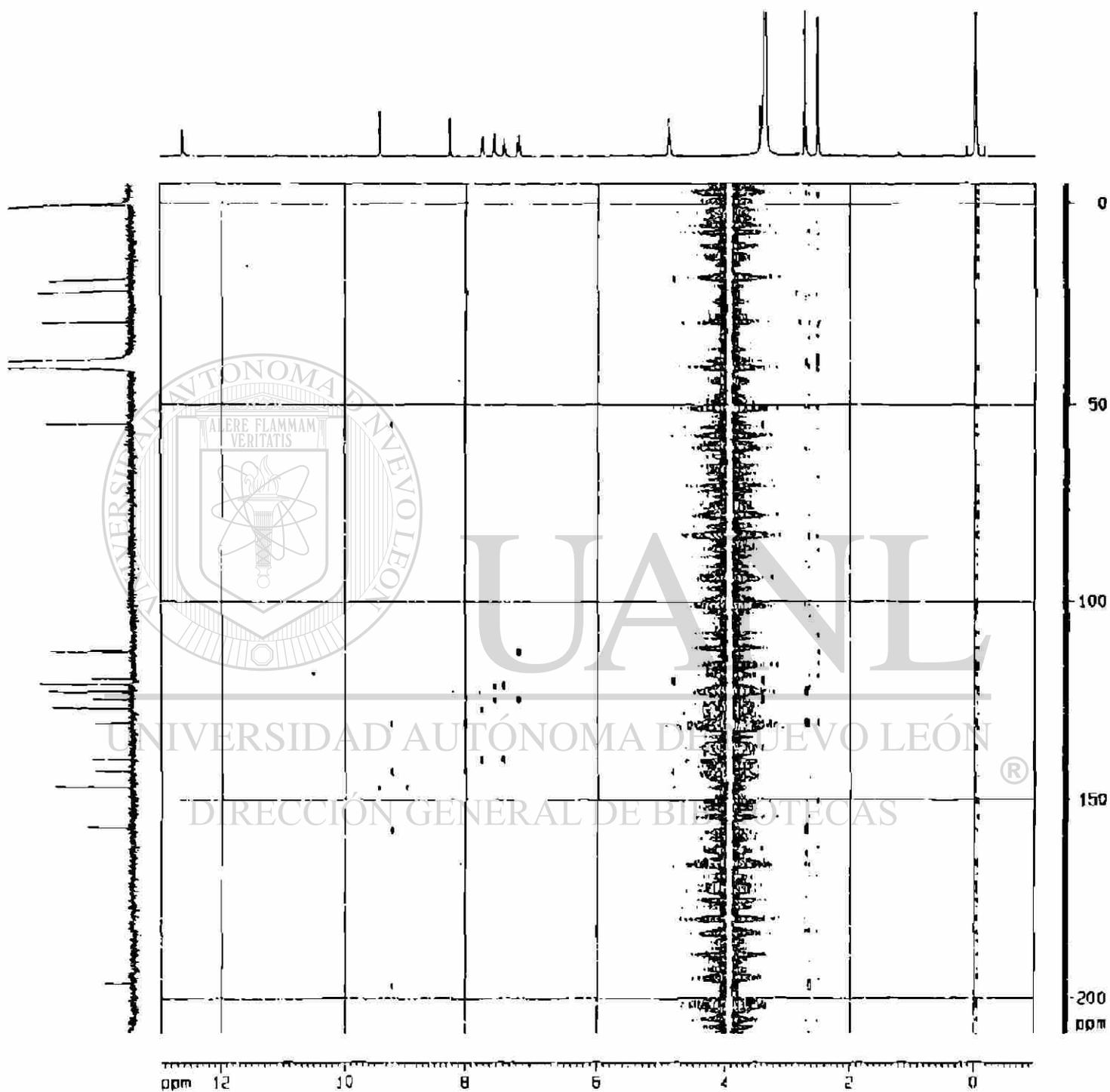
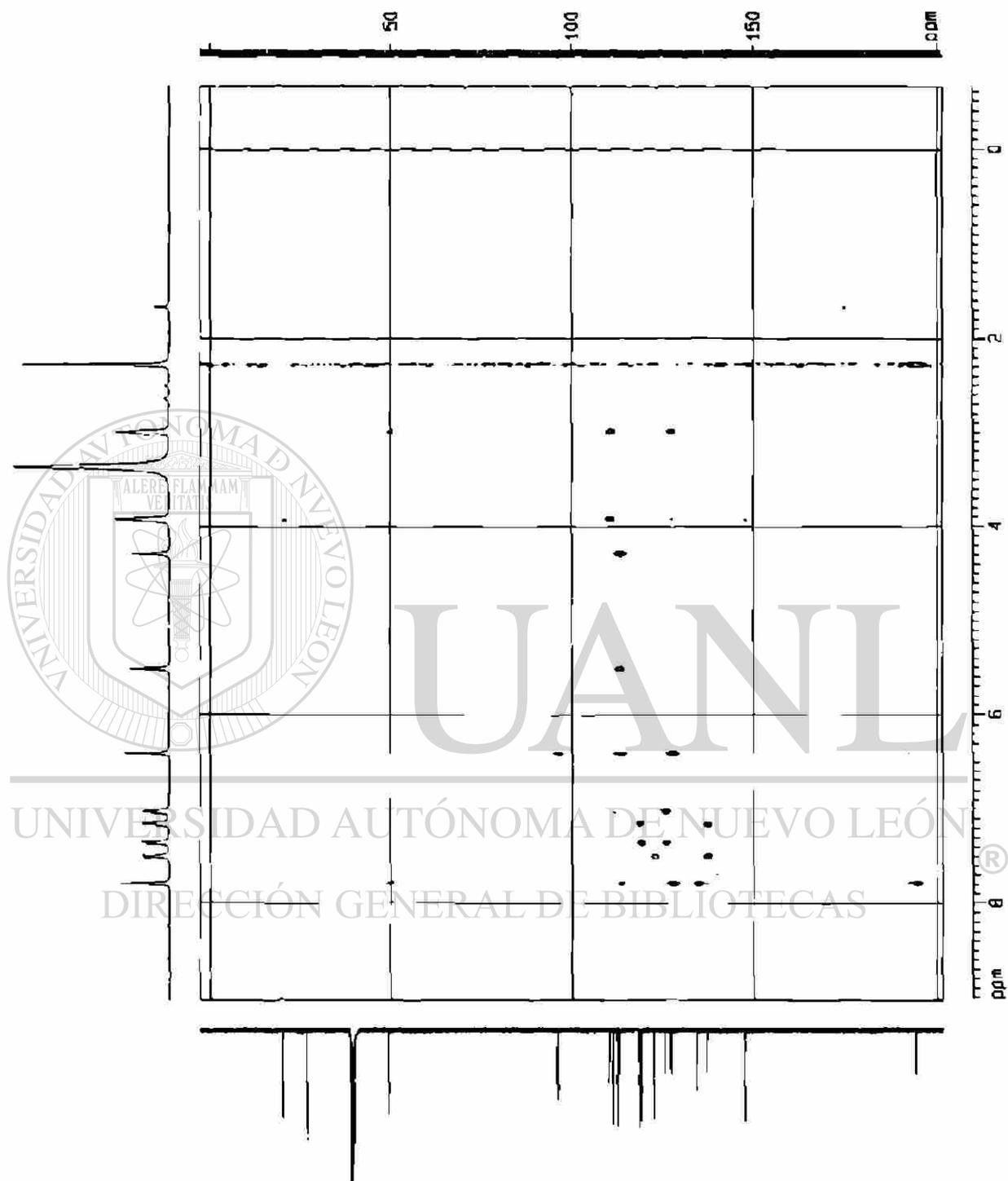


Fig. 56. Espectro de HMBC, de 24



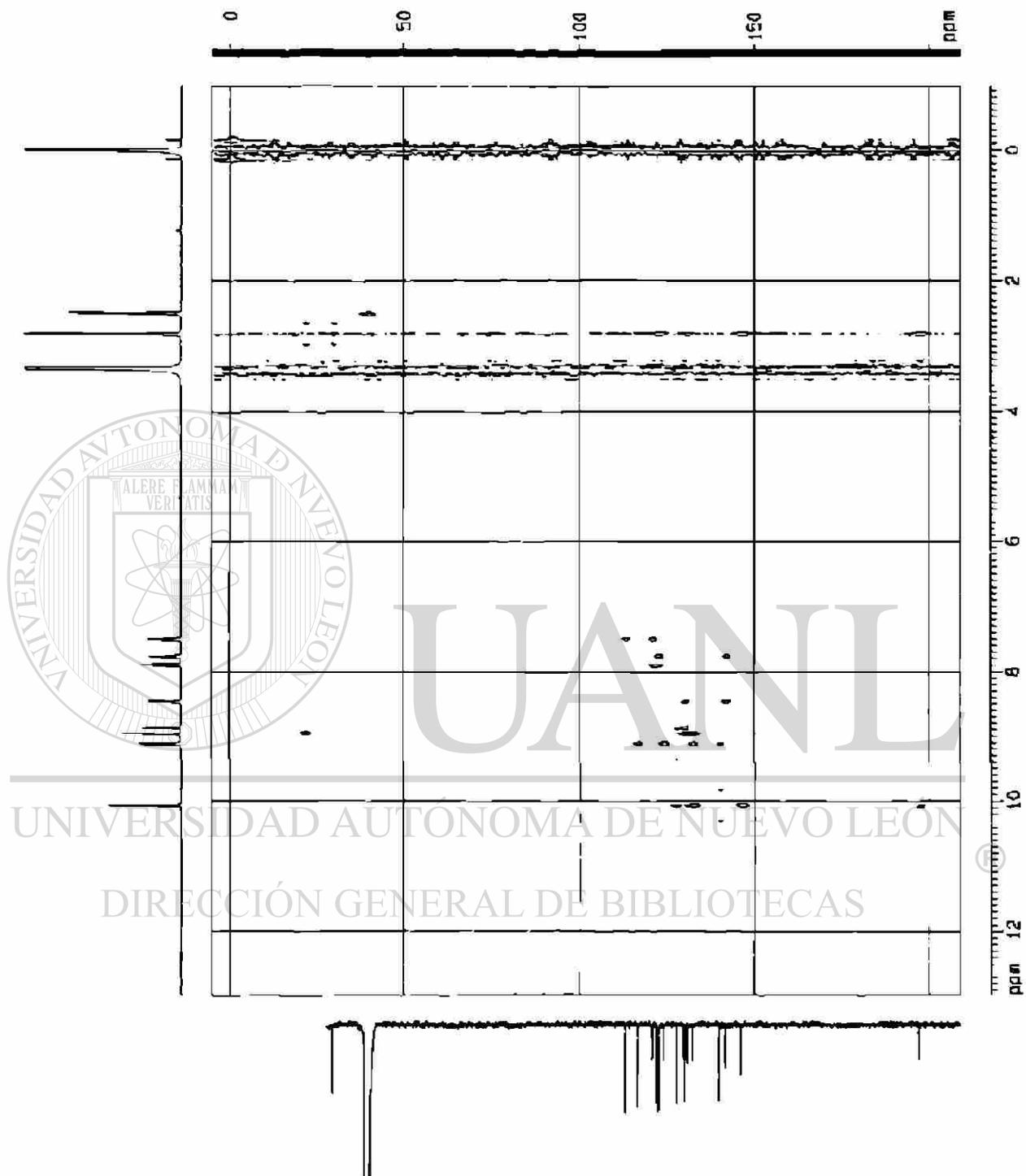


Fig. 58. Espectro de HMBC, de 26

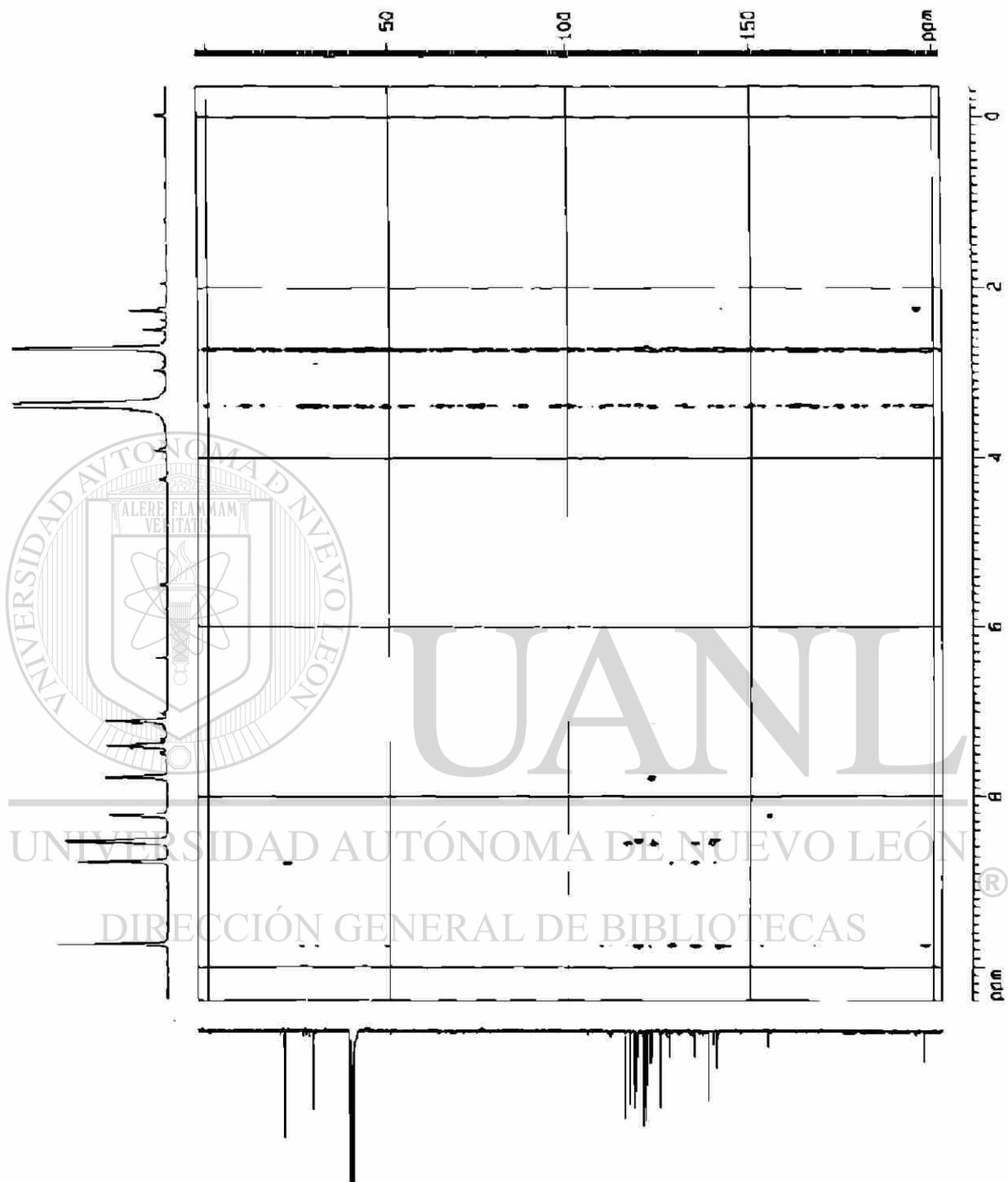
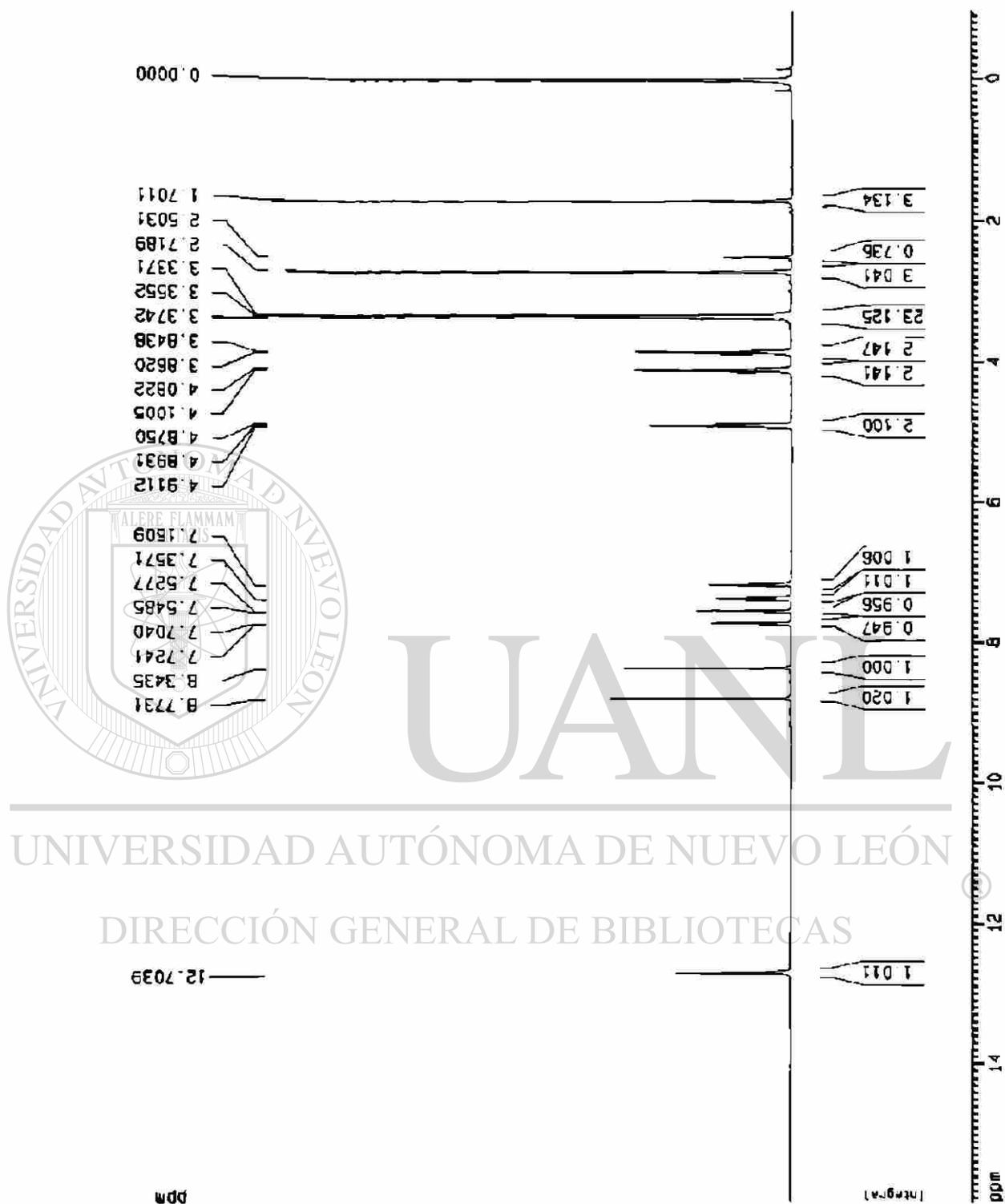


Fig. 59. Espectro de HMBC, de 27



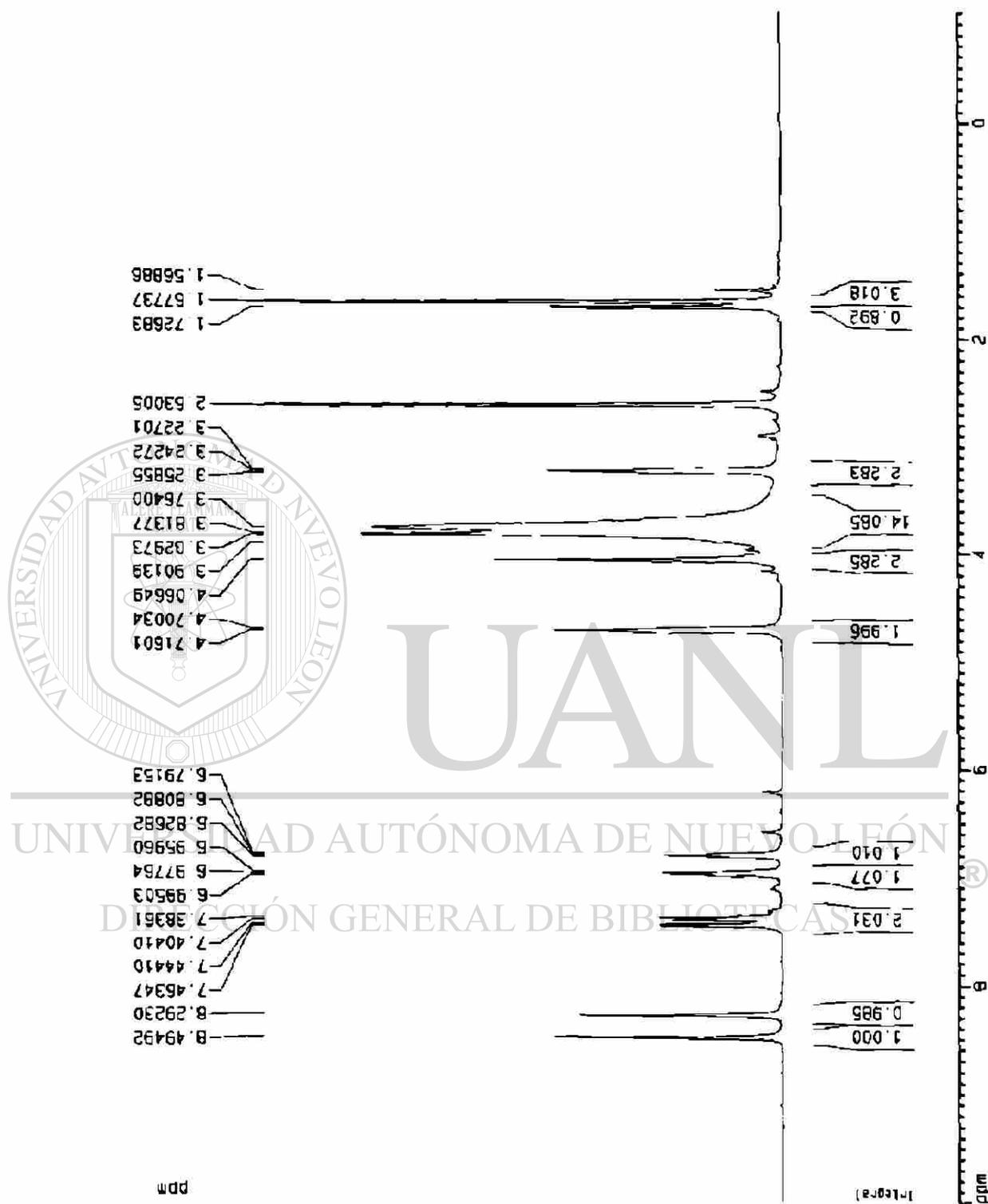


Fig. 61. Espectro de ^1H RMN de 29

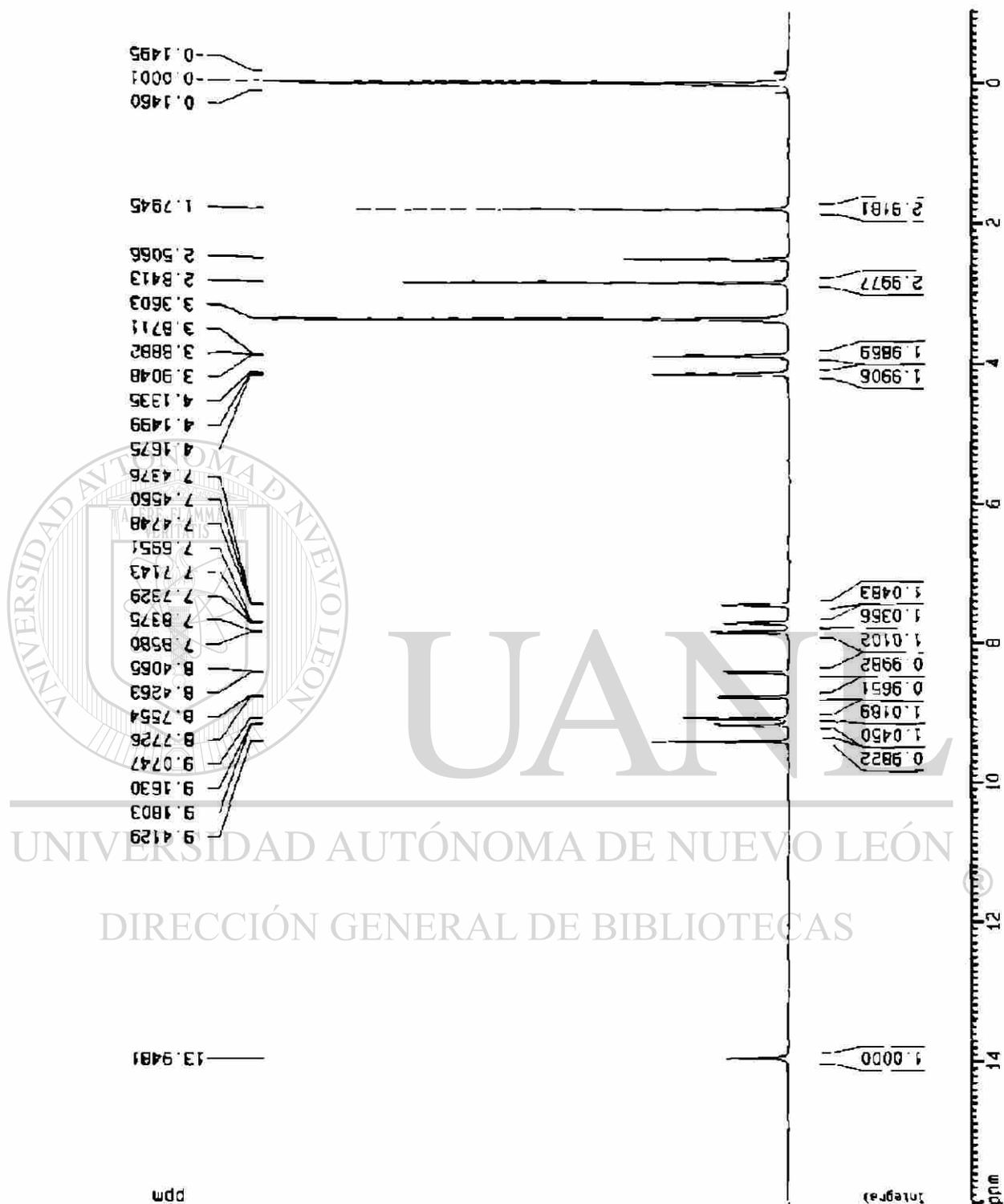


Fig. 62. Espectro de ¹H RMN de 30

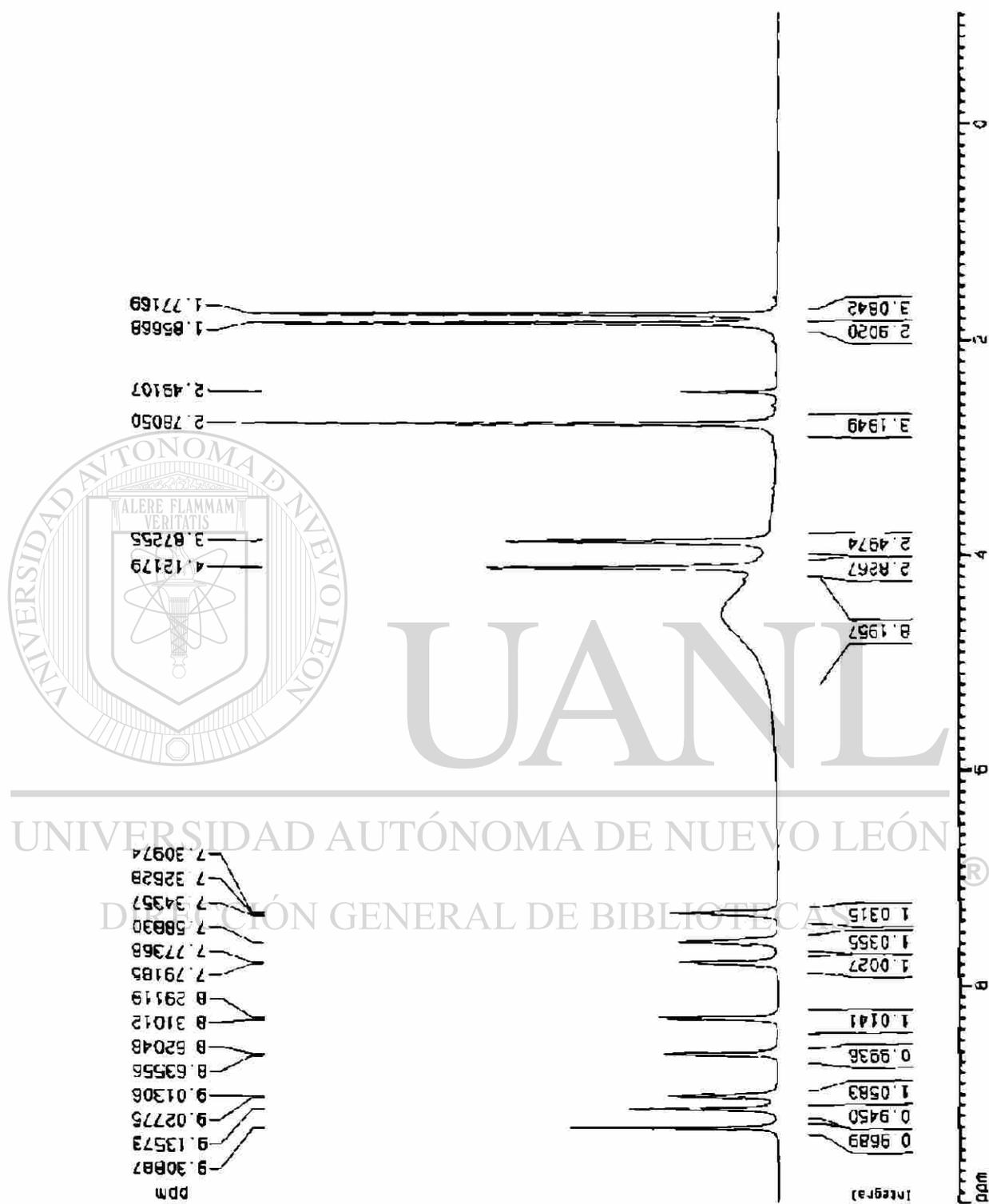


Fig. 63. Espectro de ^1H RMN de 31

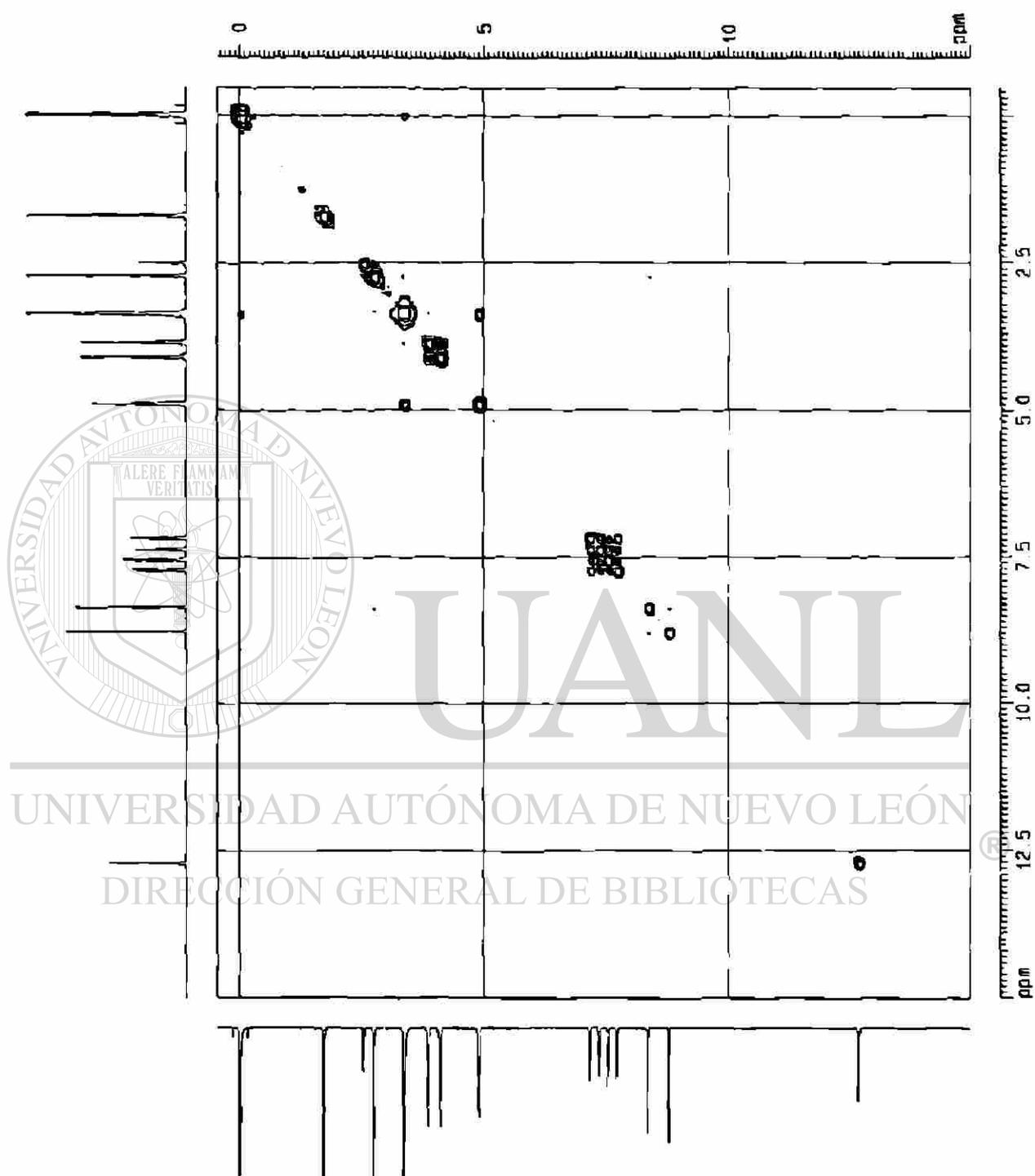


Fig. 64. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 28

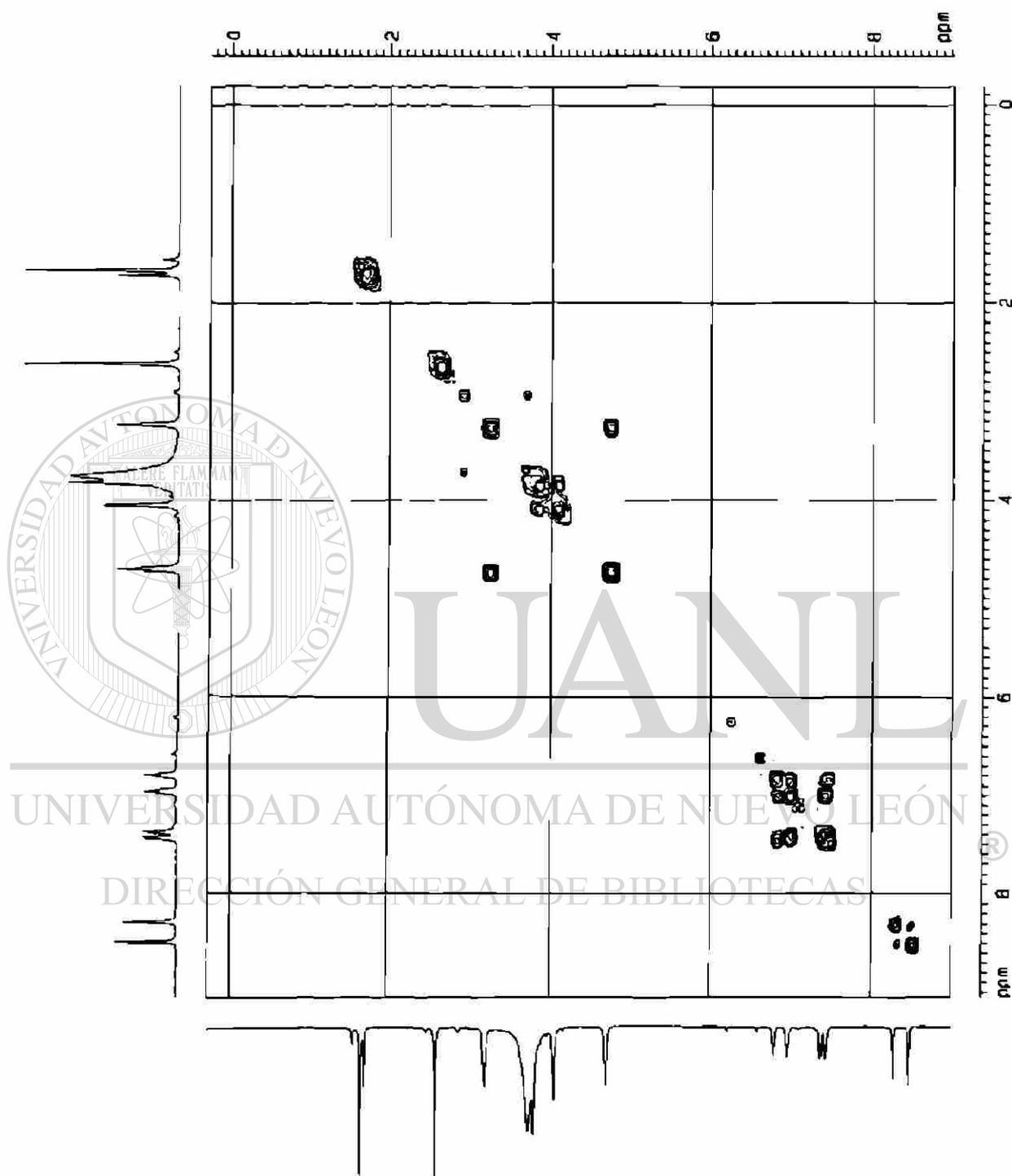


Fig. 65. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 29

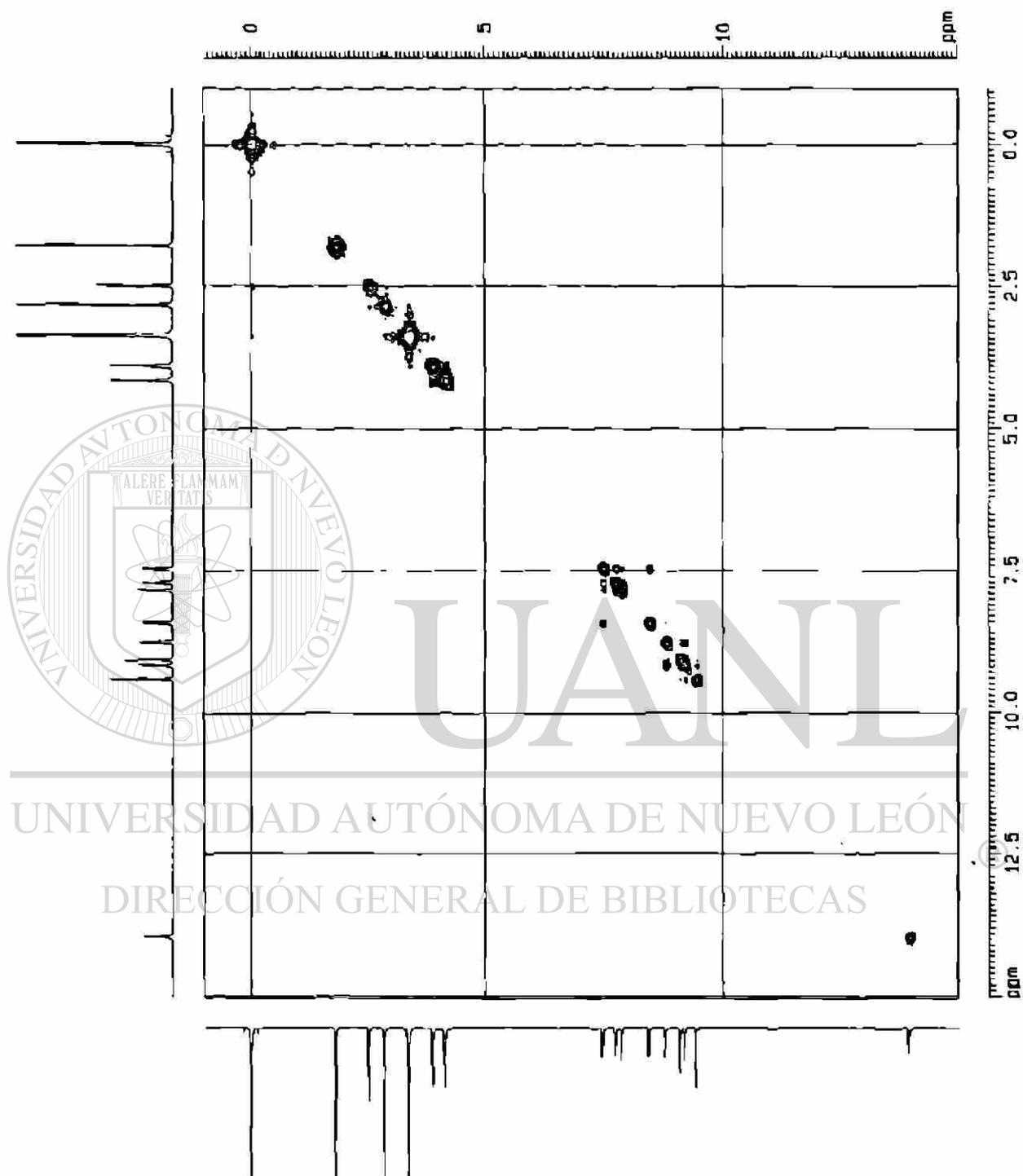


Fig. 66. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 30

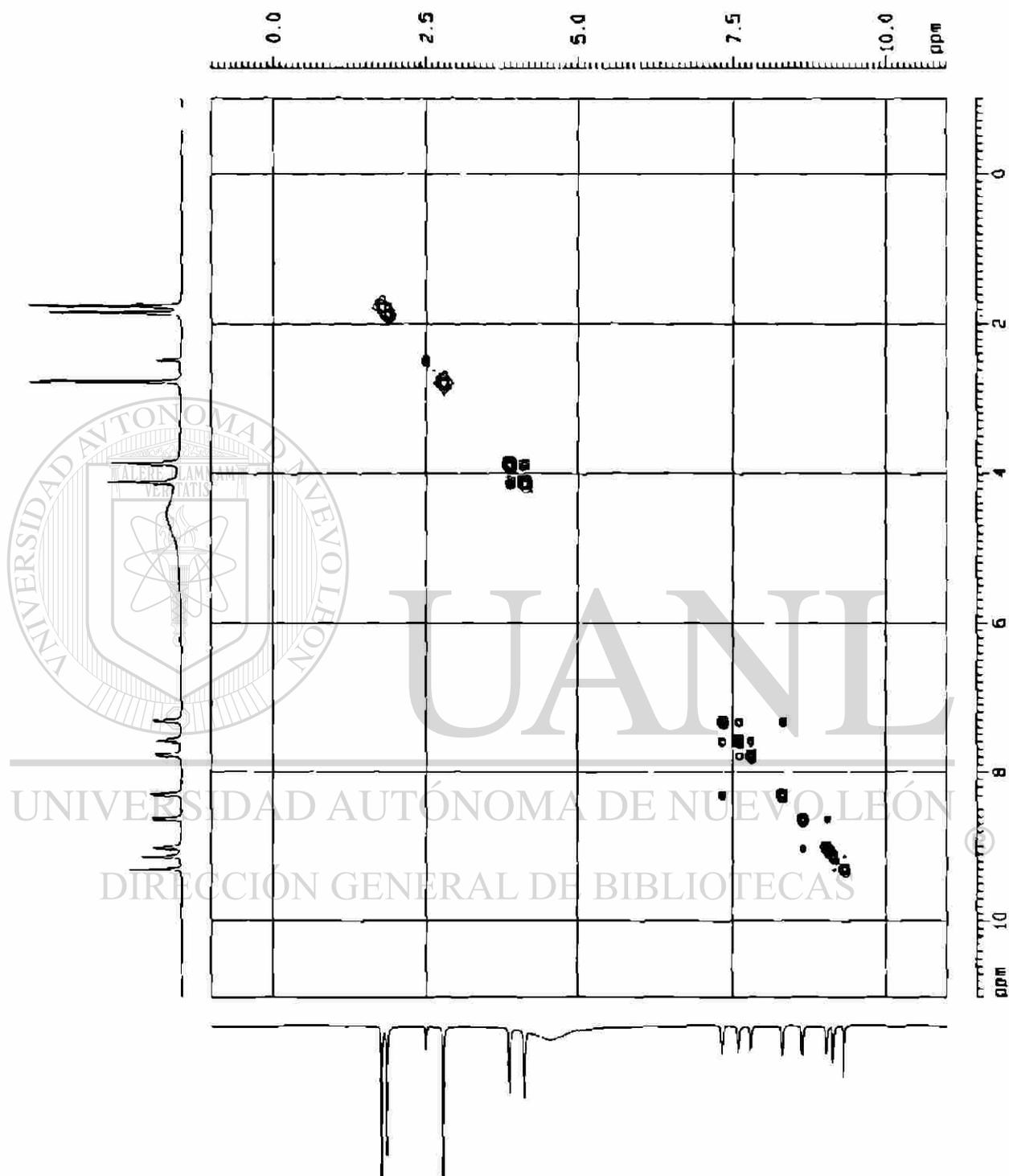


Fig. 67. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 31

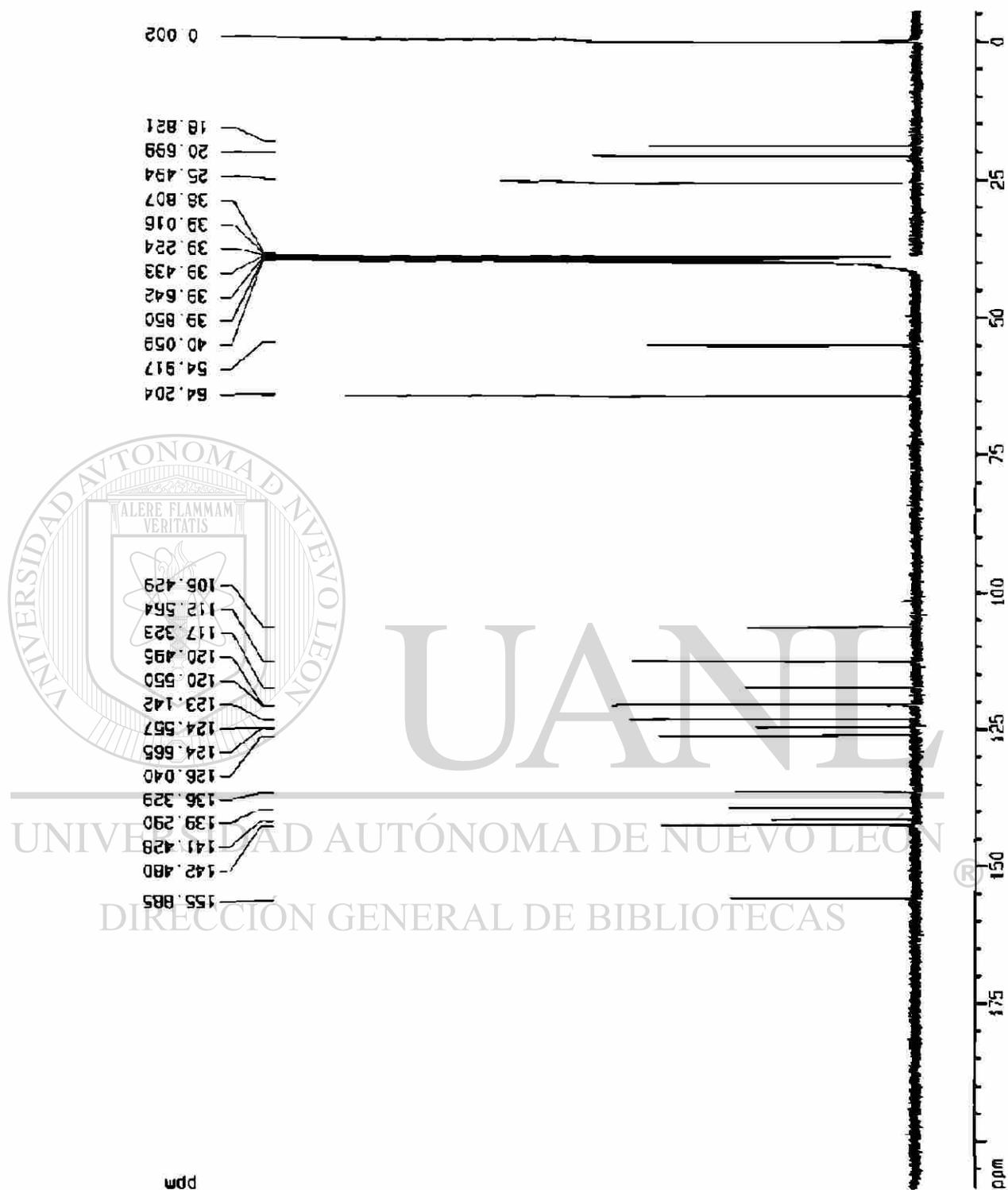


Fig. 68. Espectro de ^{13}C RMN, de 28

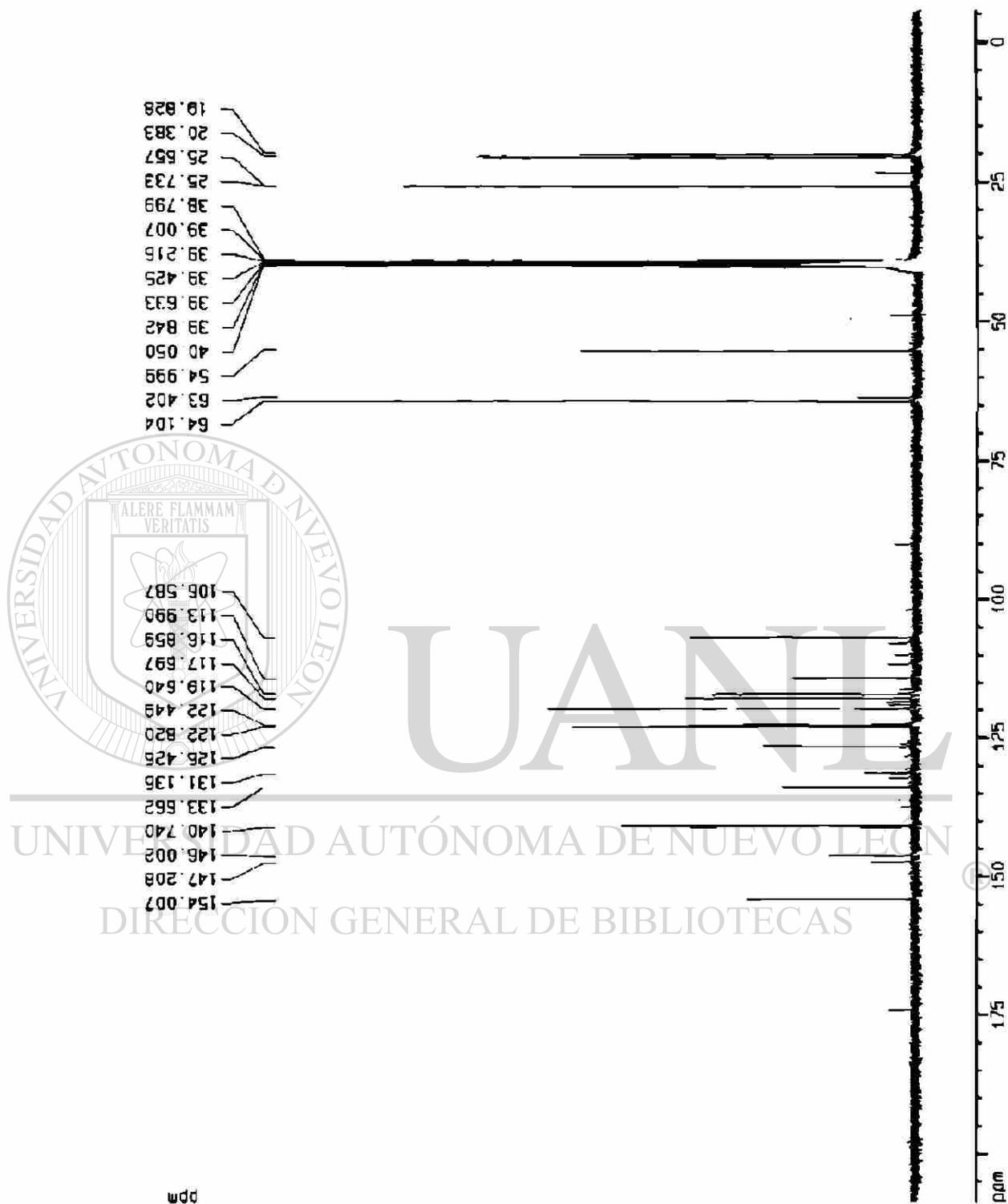


Fig. 69. Espectro de ¹³C RMN, de 29



Fig. 70. Espectro de ¹³C RMN, de 30

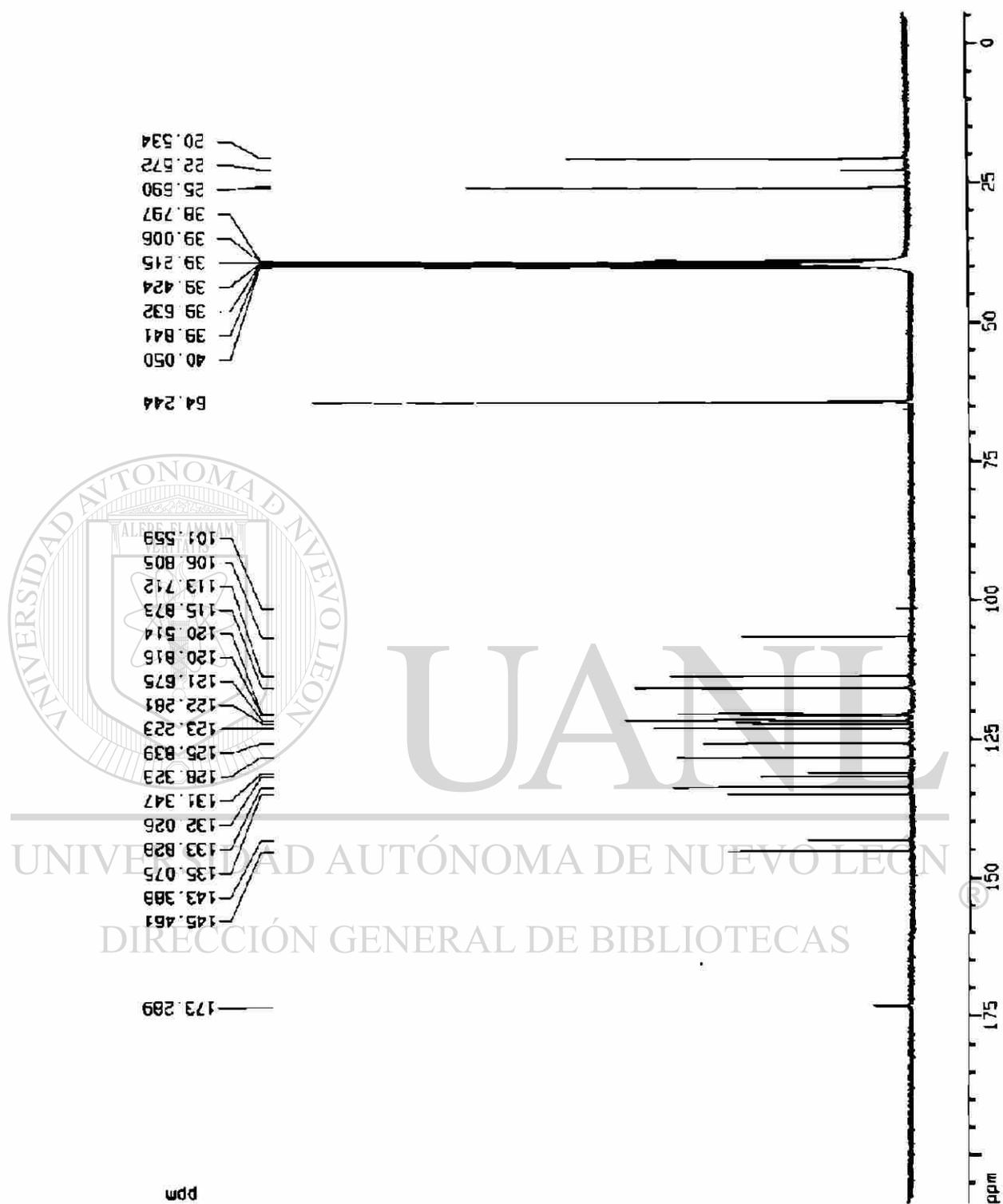


Fig 71. Espectro de ^{13}C RMN, de 31

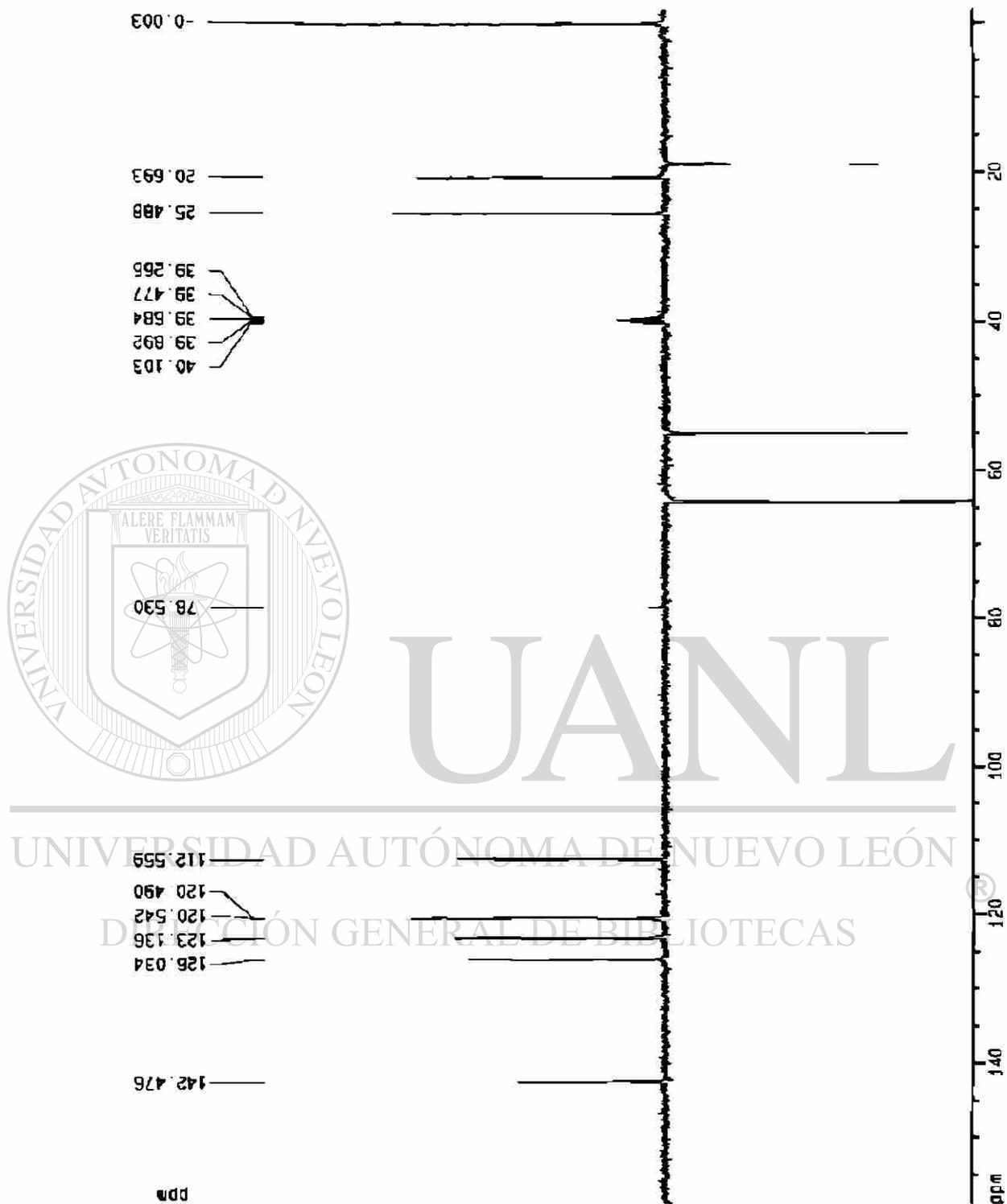


Fig. 72. Espectro de DEPT 135, de 28

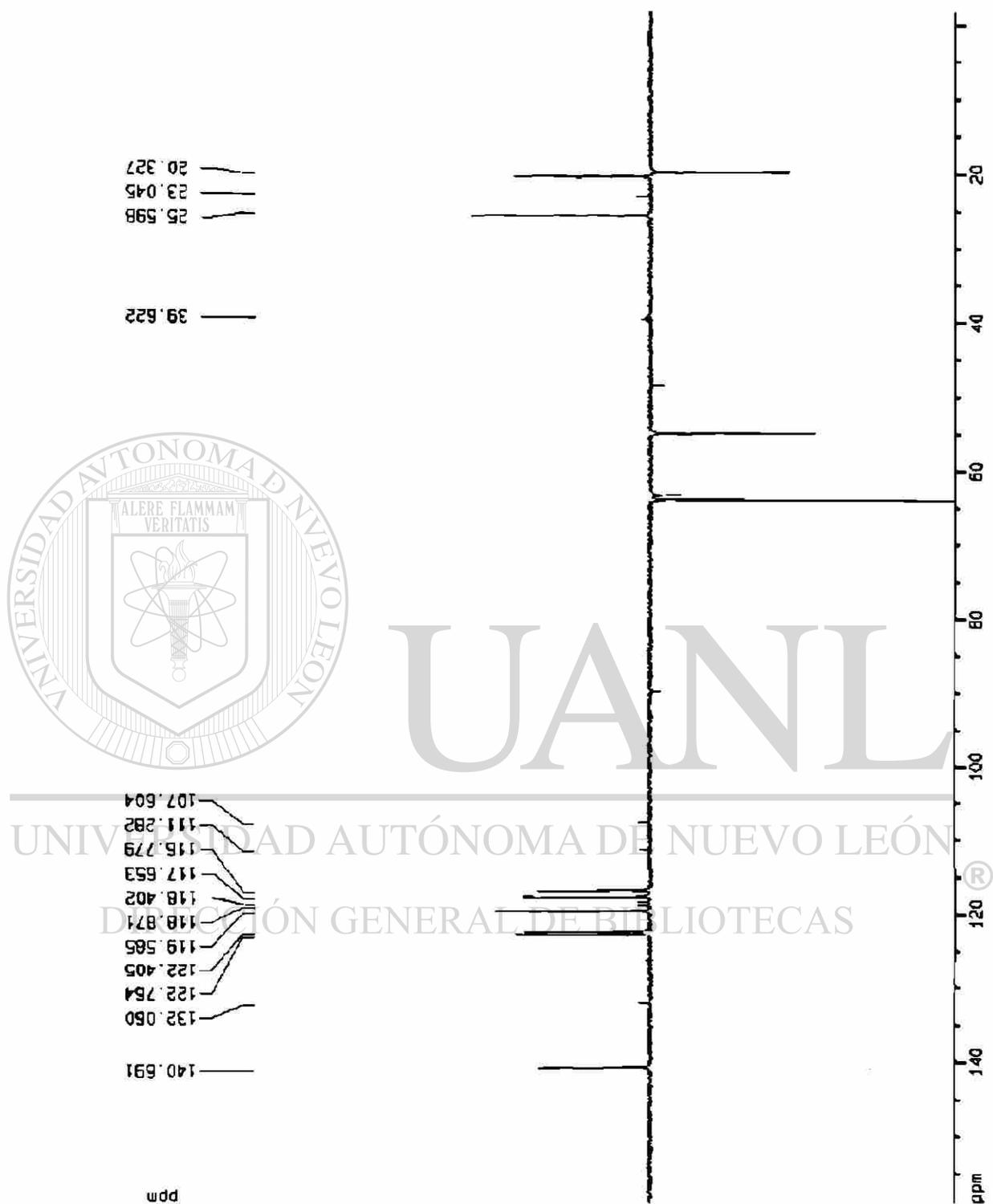


Fig. 73. Espectro de DEPT 135, de 29

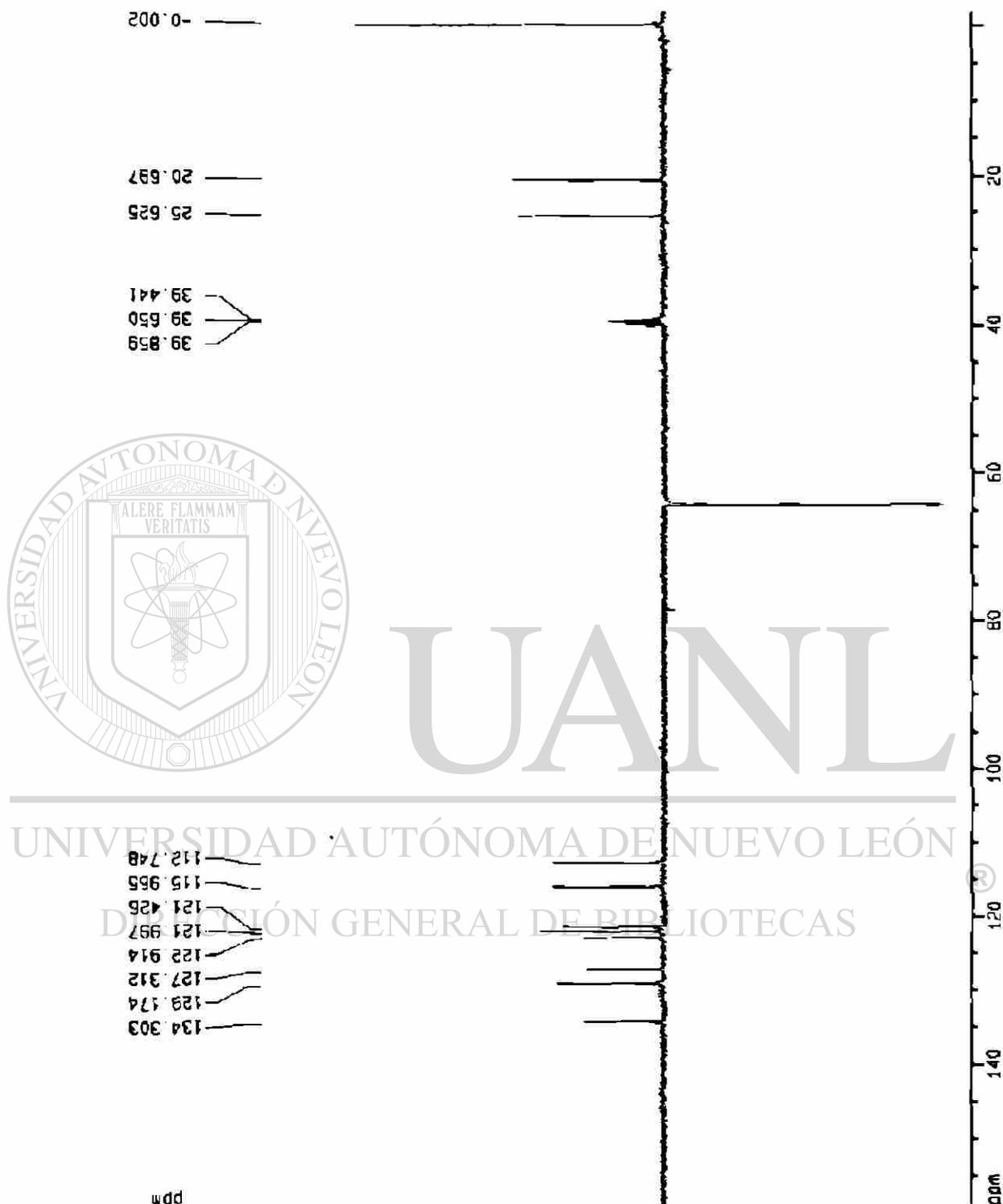


Fig. 74. Espectro de DEPT 135, de 30

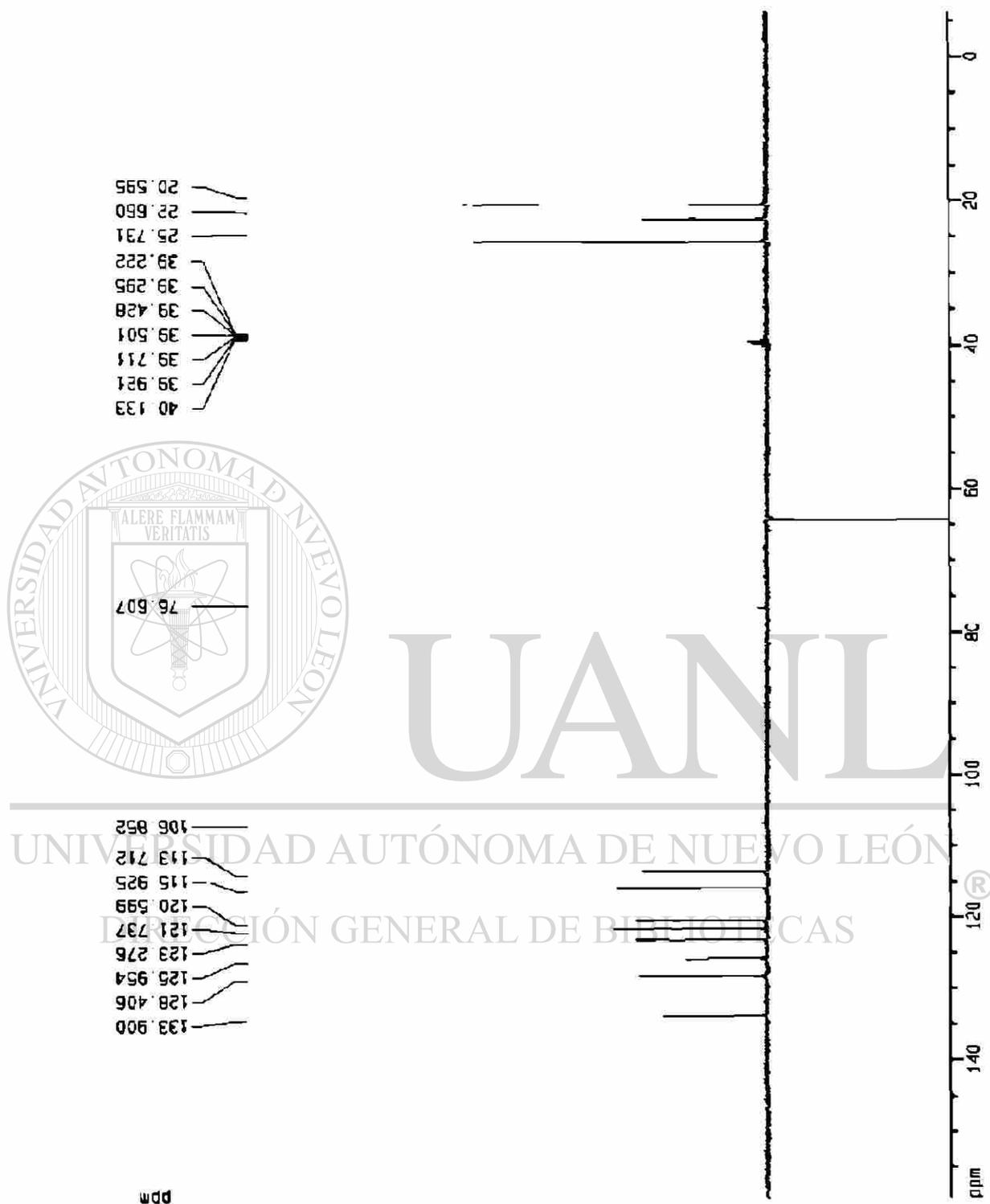


Fig. 75. Espectro de DEPT 135, de 31

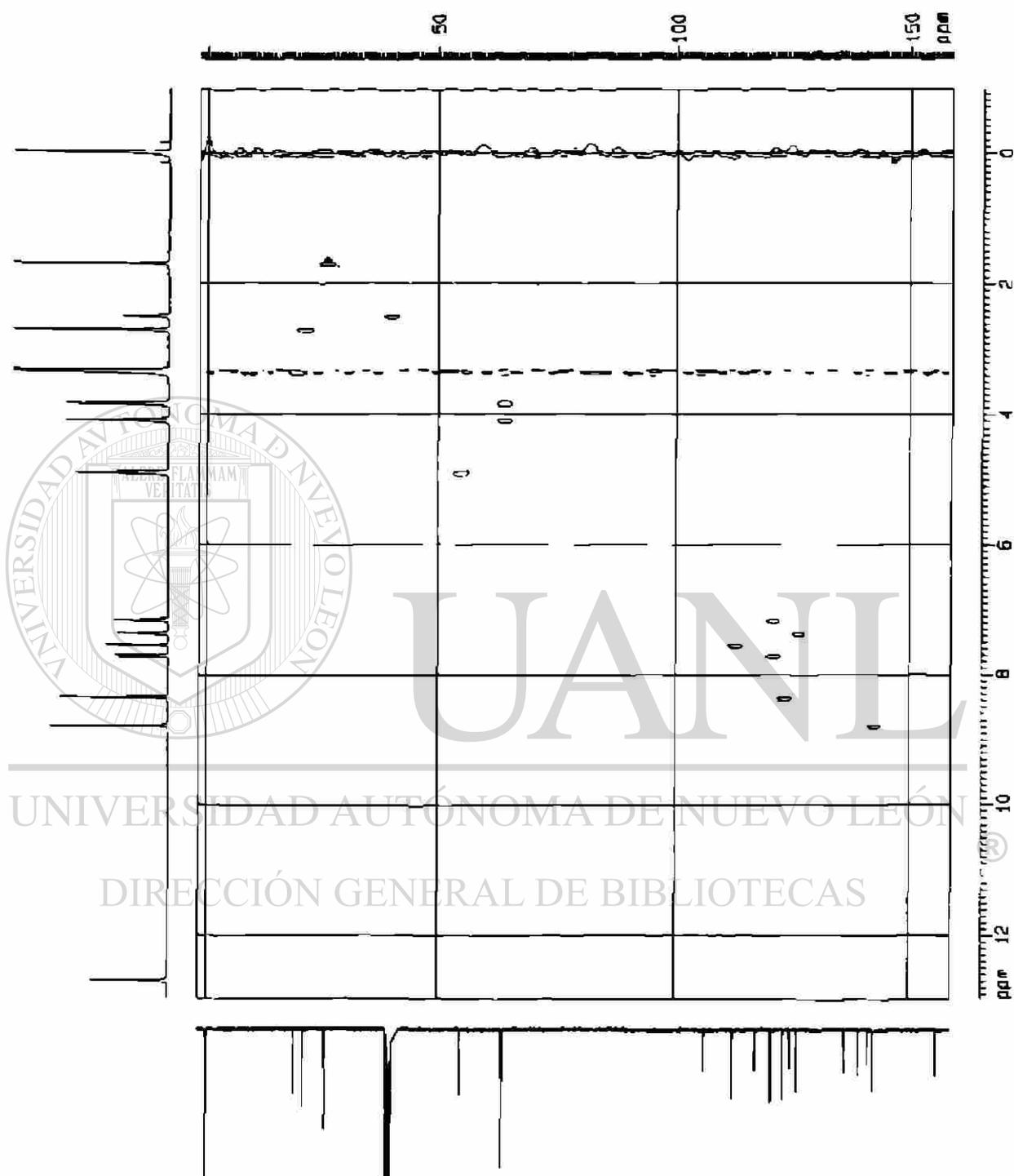


Fig. 76. Espectro de HMQC, de 28

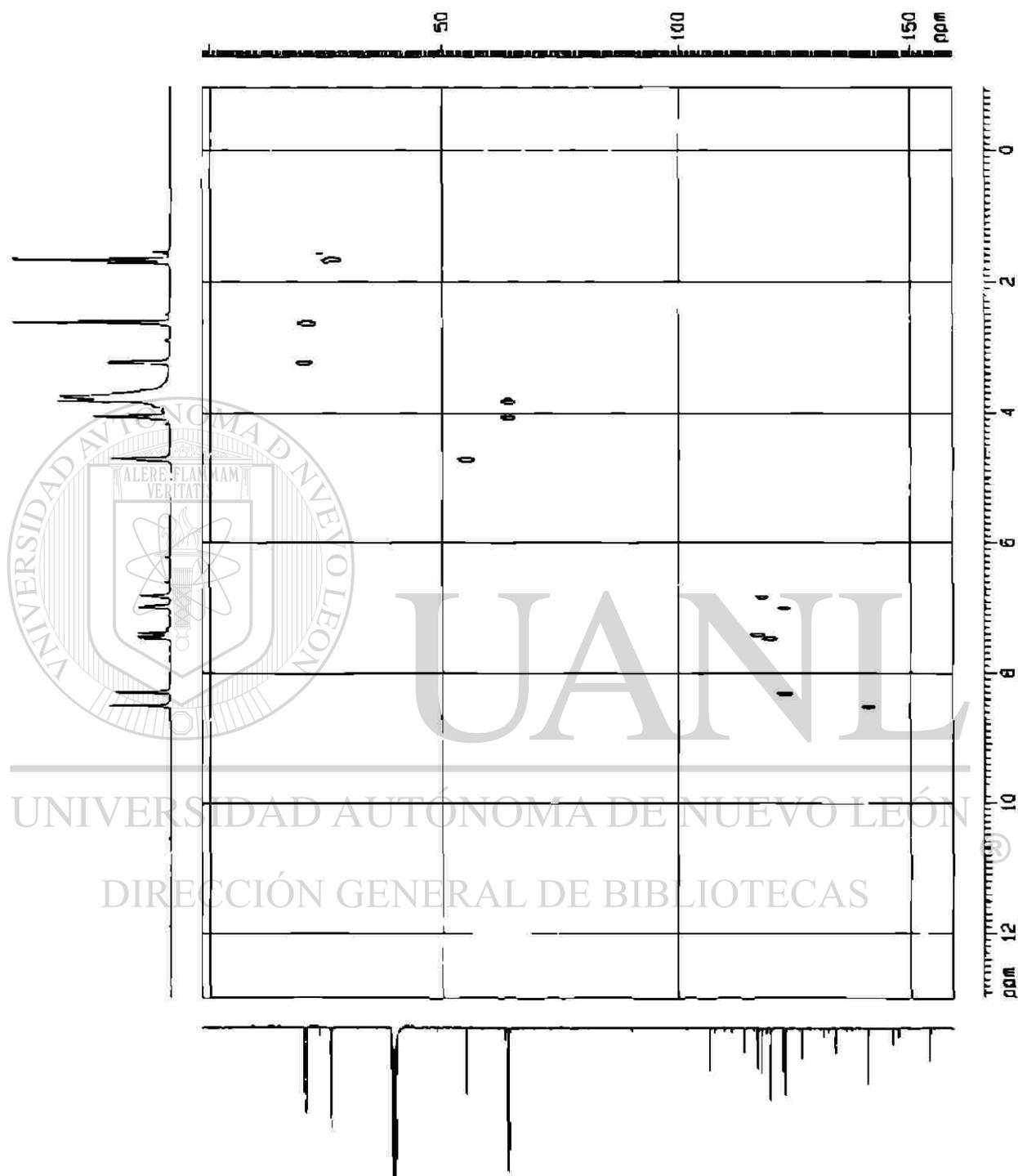


Fig. 77. Espectro de HMQC, de 29

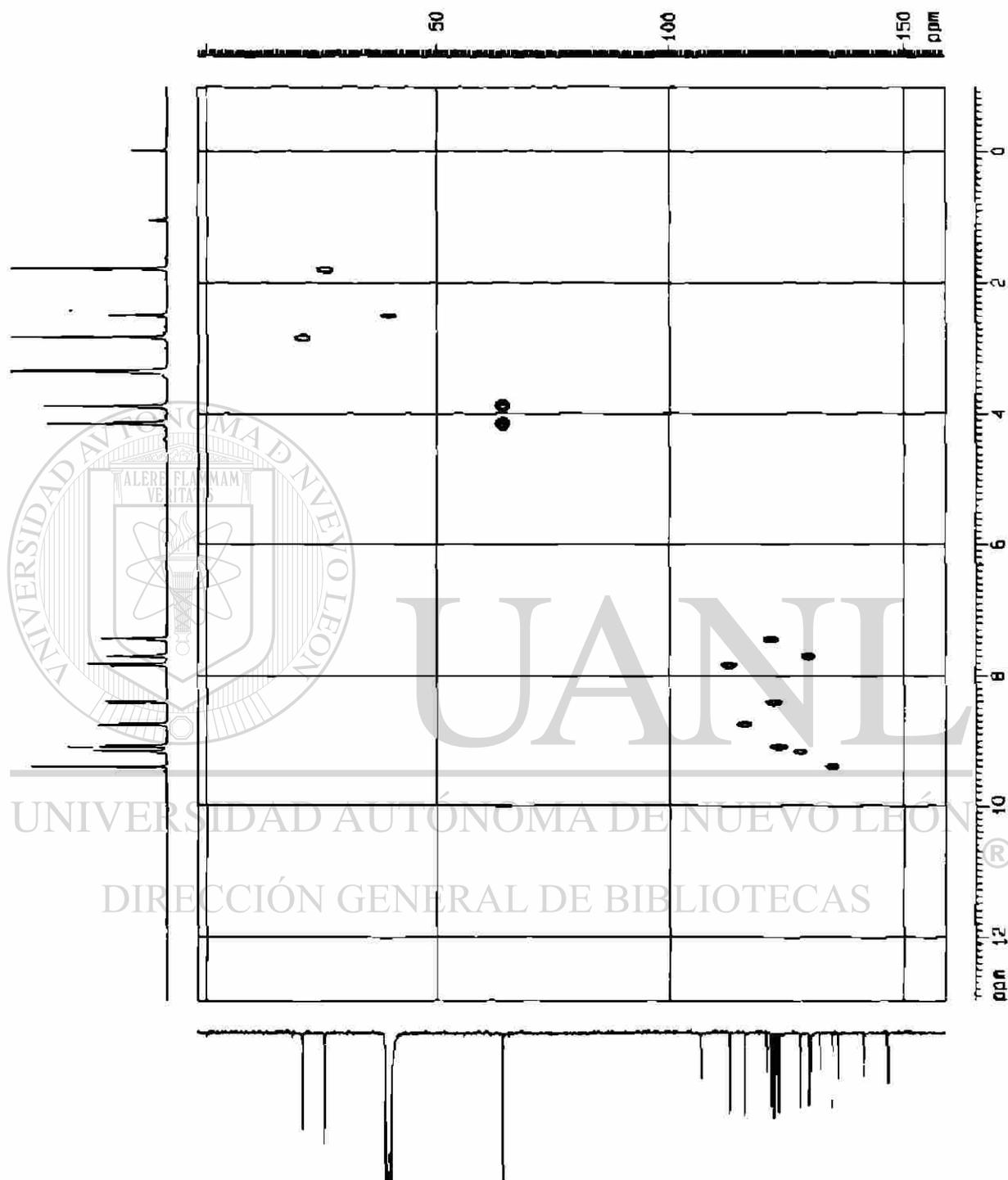


Fig. 78. Espectro de HMQC, de 30

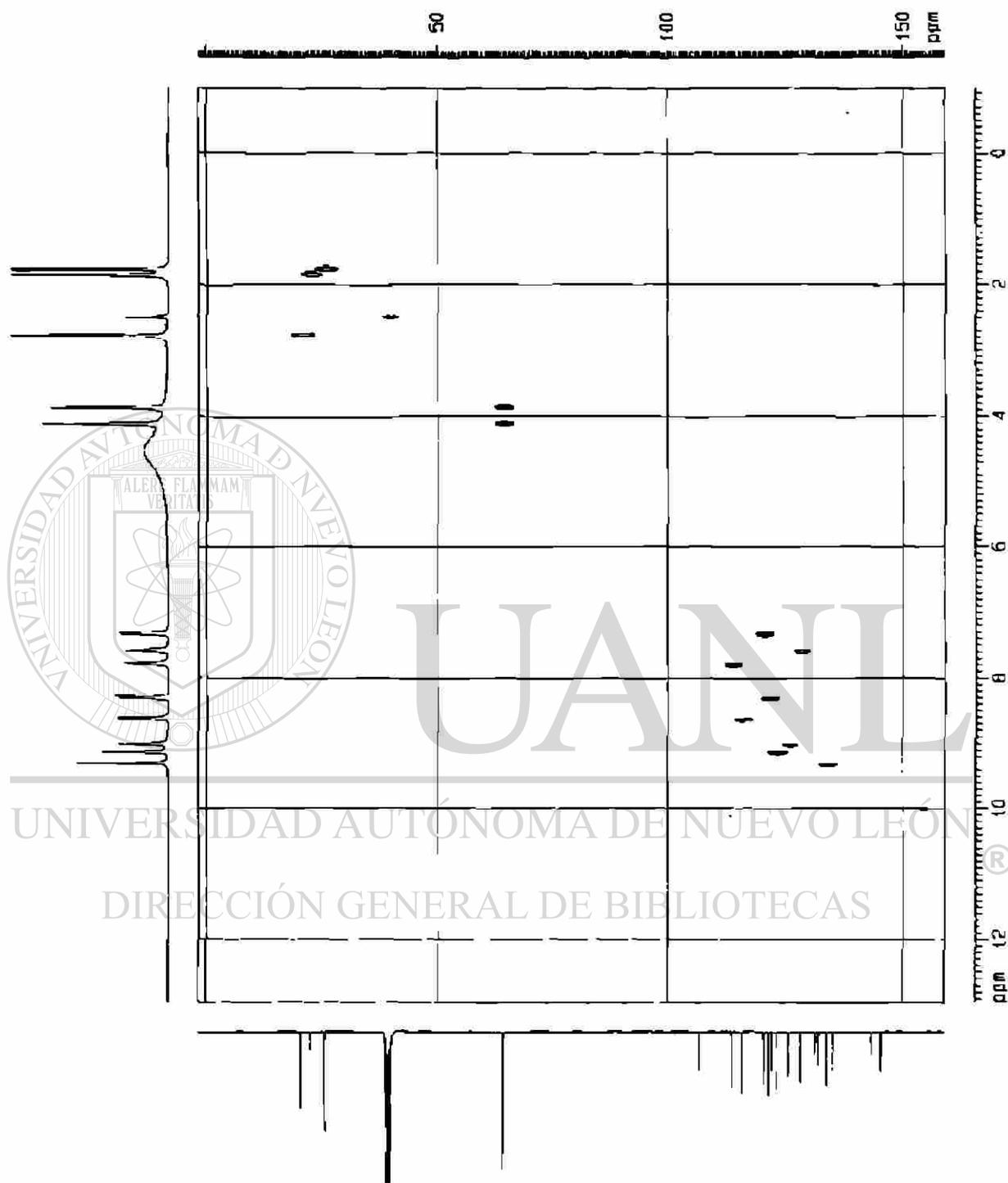


Fig. 79. Espectro de HMQC, de 31

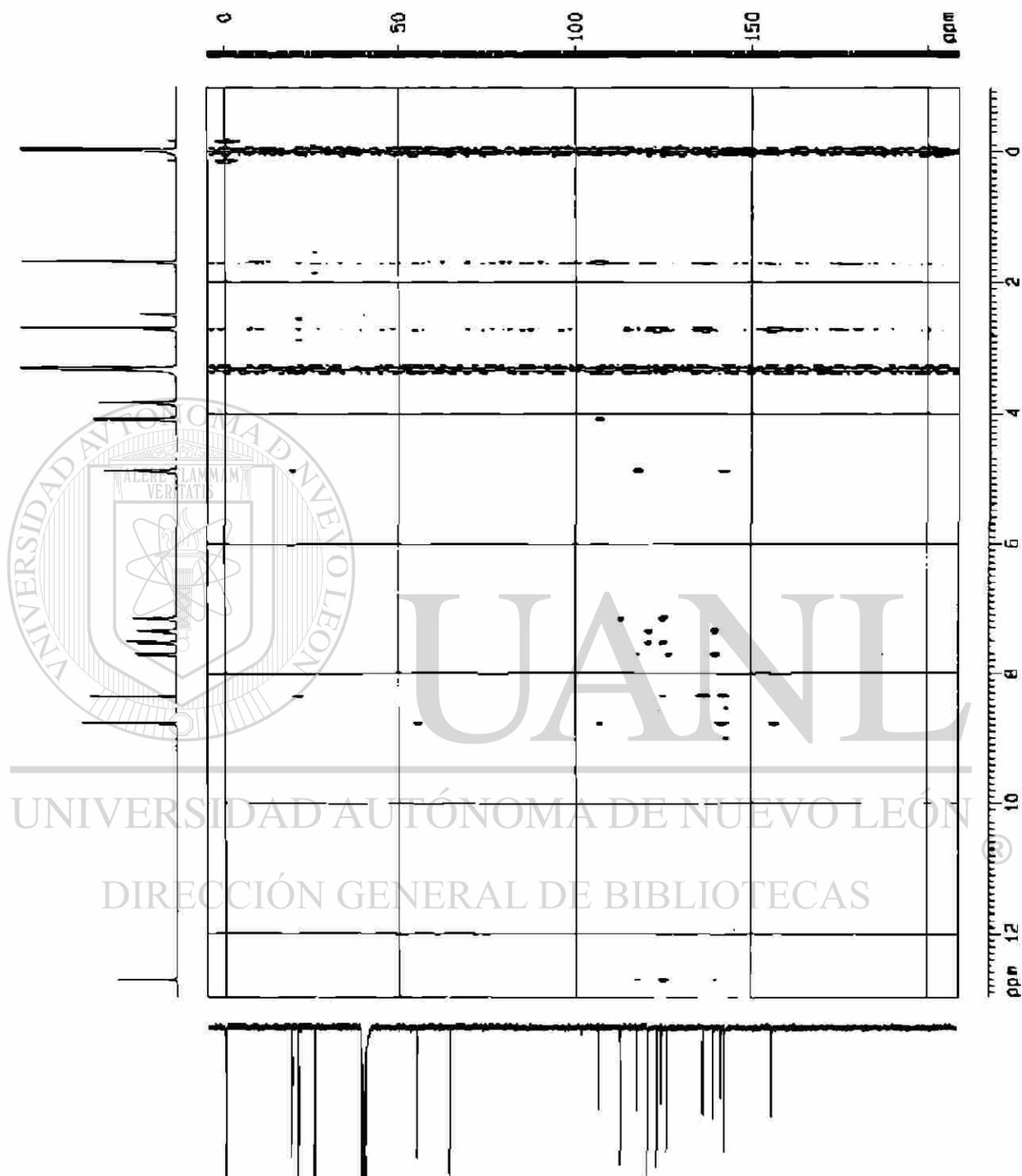


Fig. 80. Espectro de HMBC, de 28

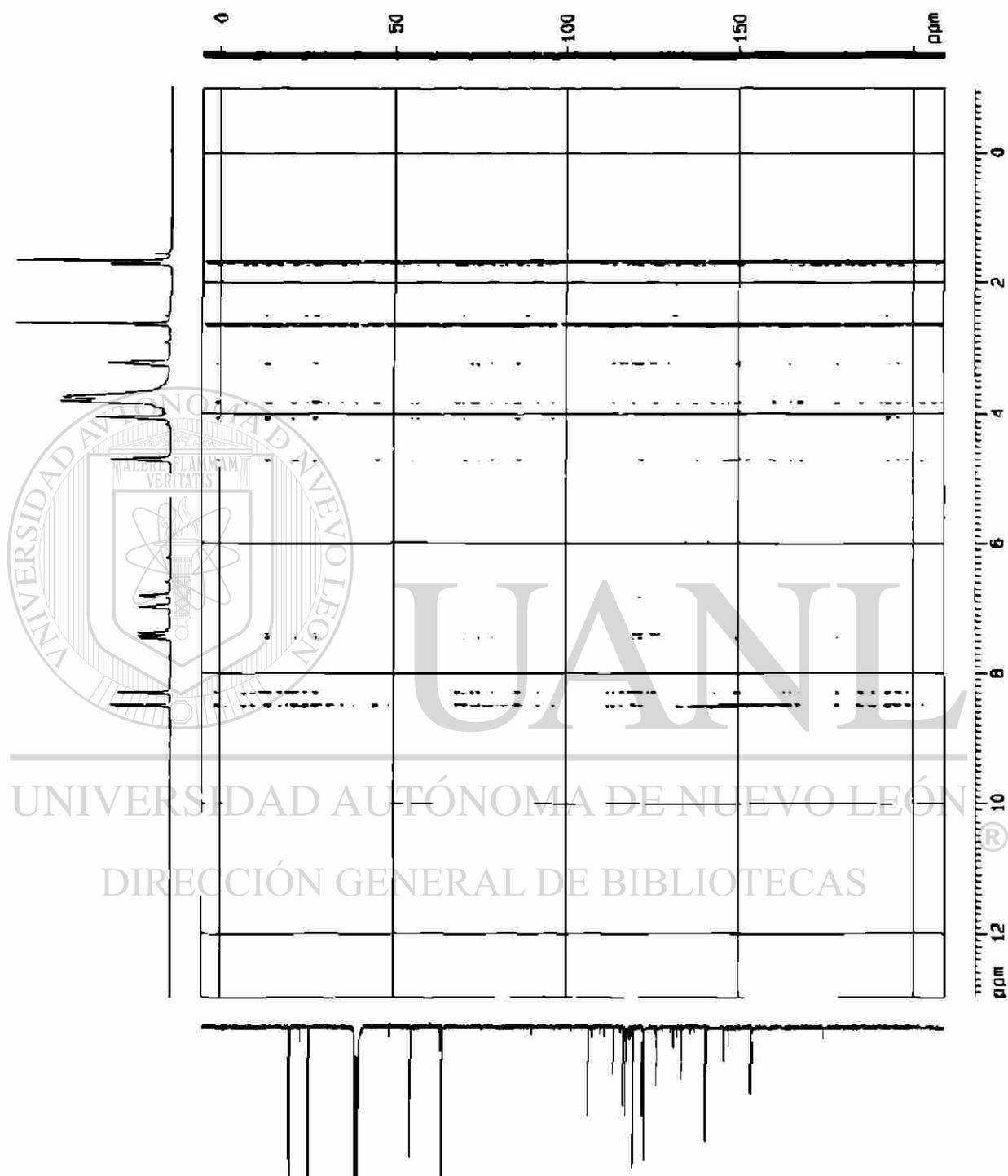


Fig. 81. Espectro de HMBC, de 29

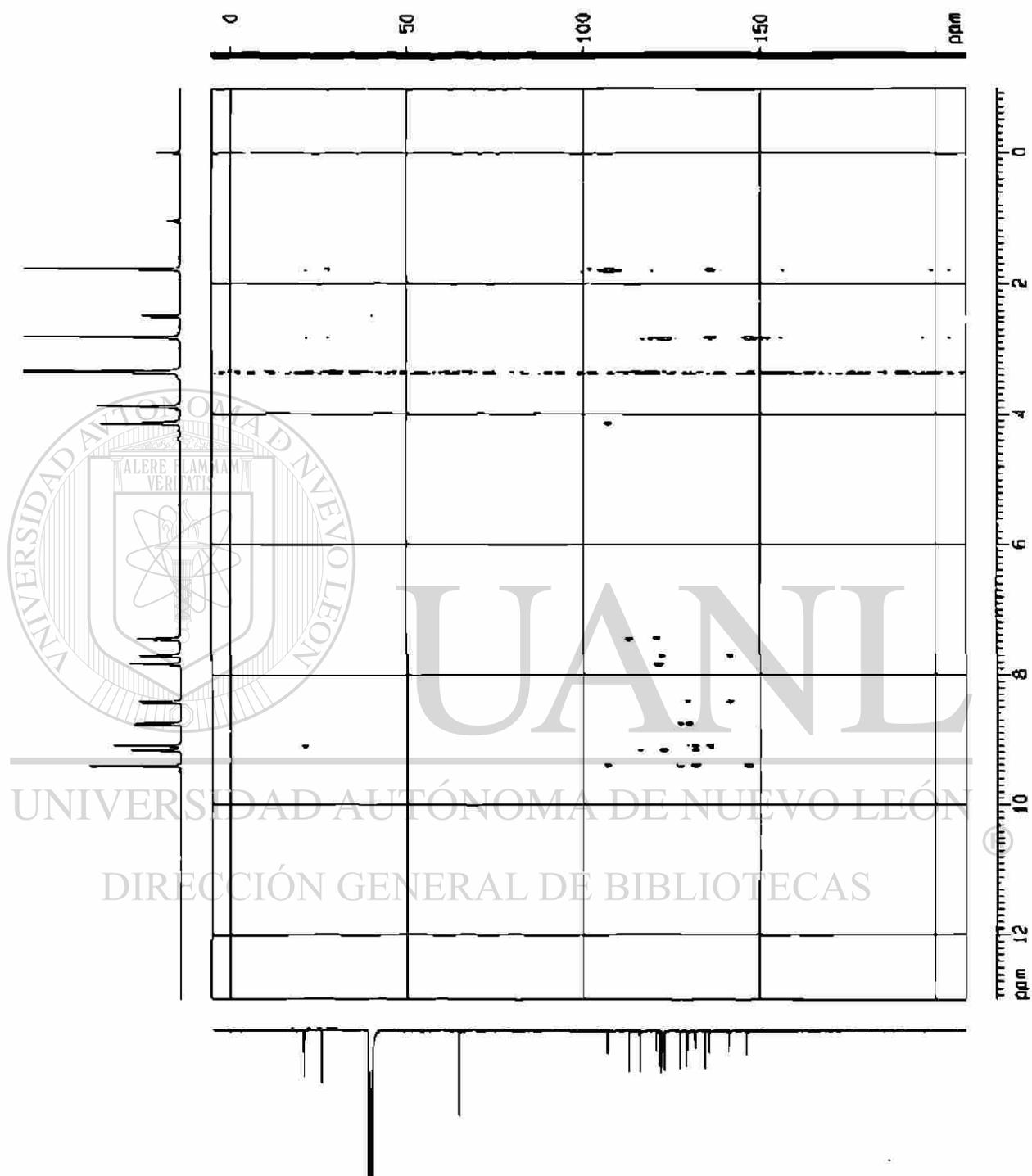


Fig. 82. Espectro de HMBC, de 30

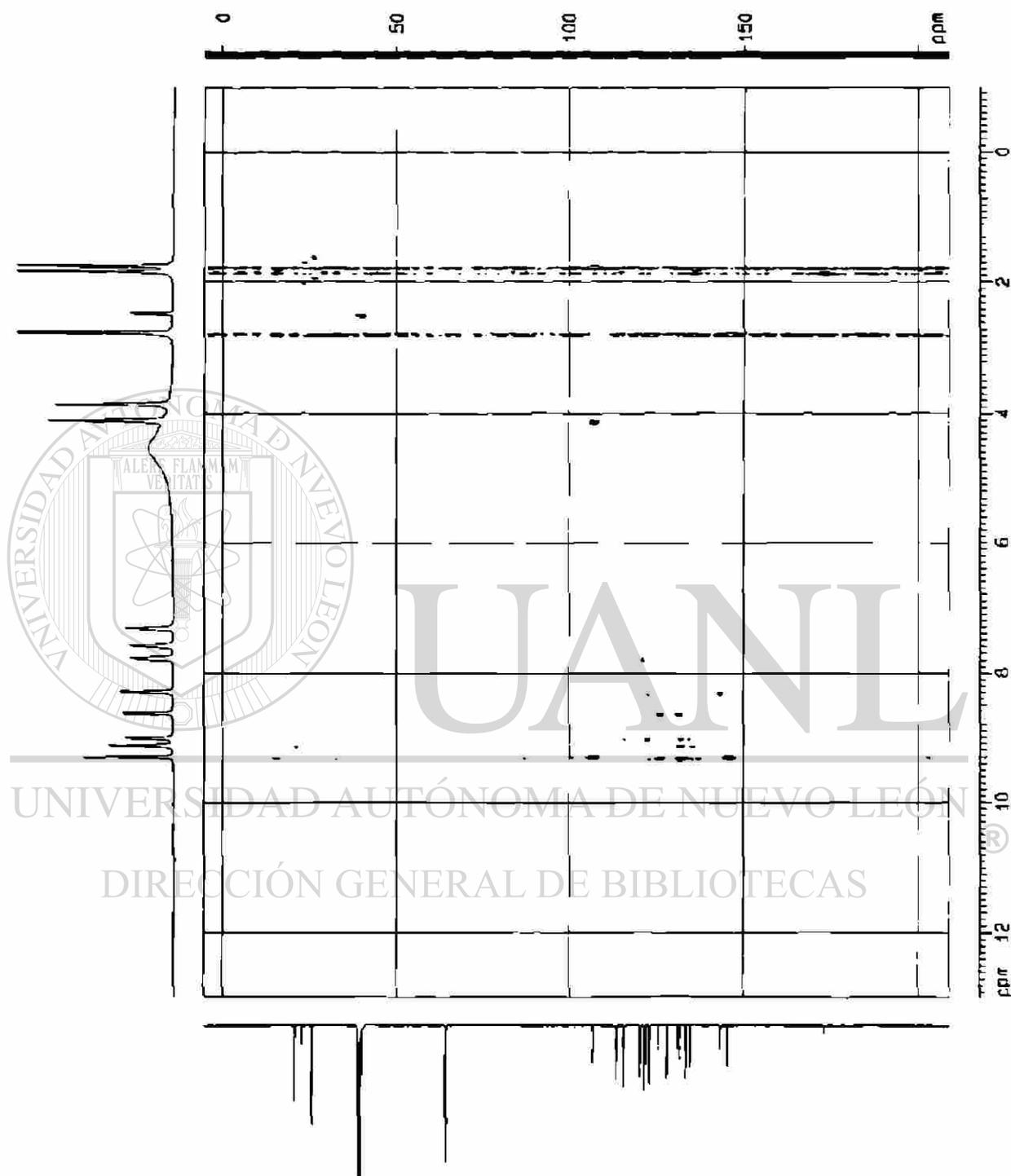


Fig. 83. Espectro de HMBC, de 31

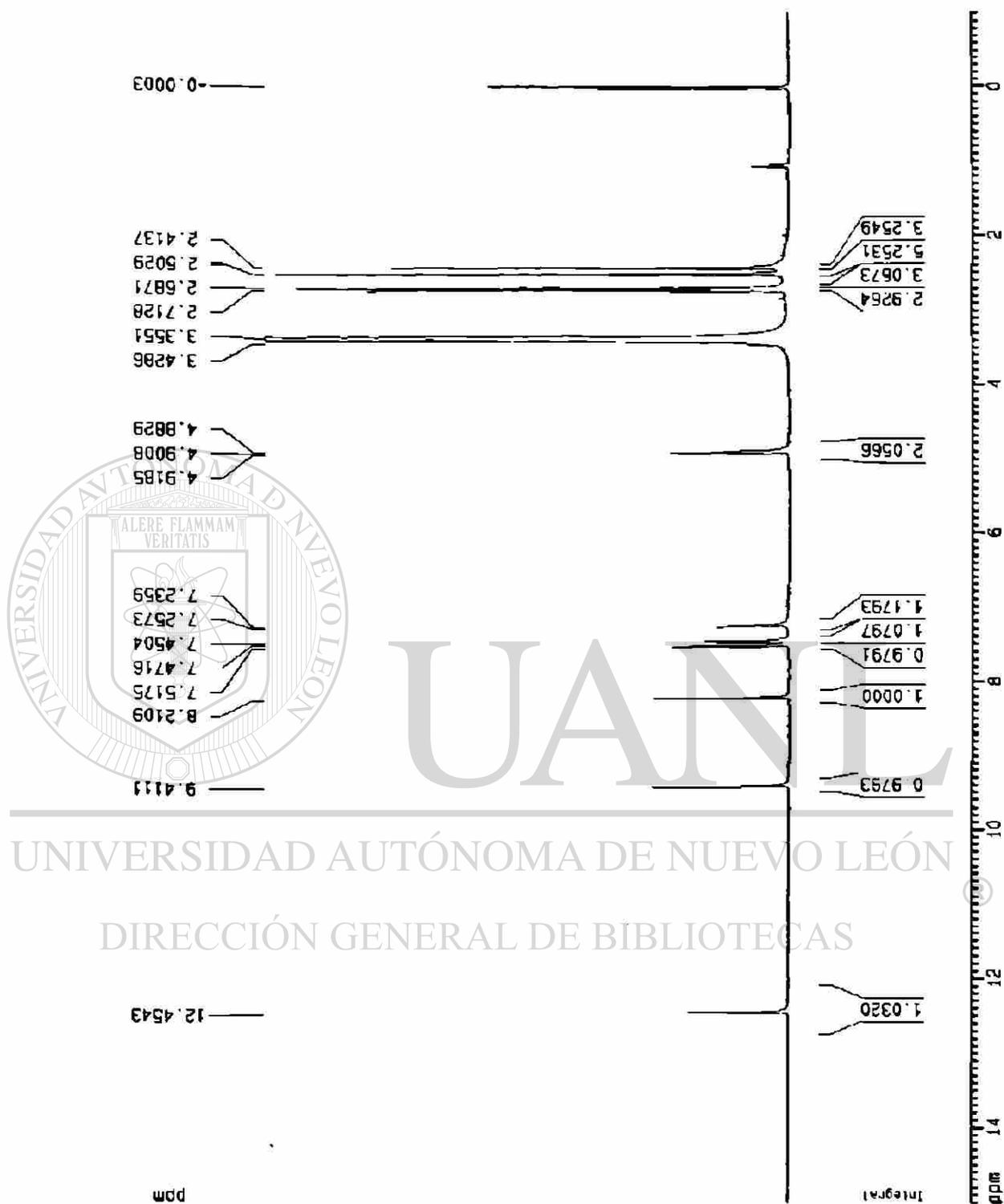


Fig. 84. Espectro de ^1H RMN de 35

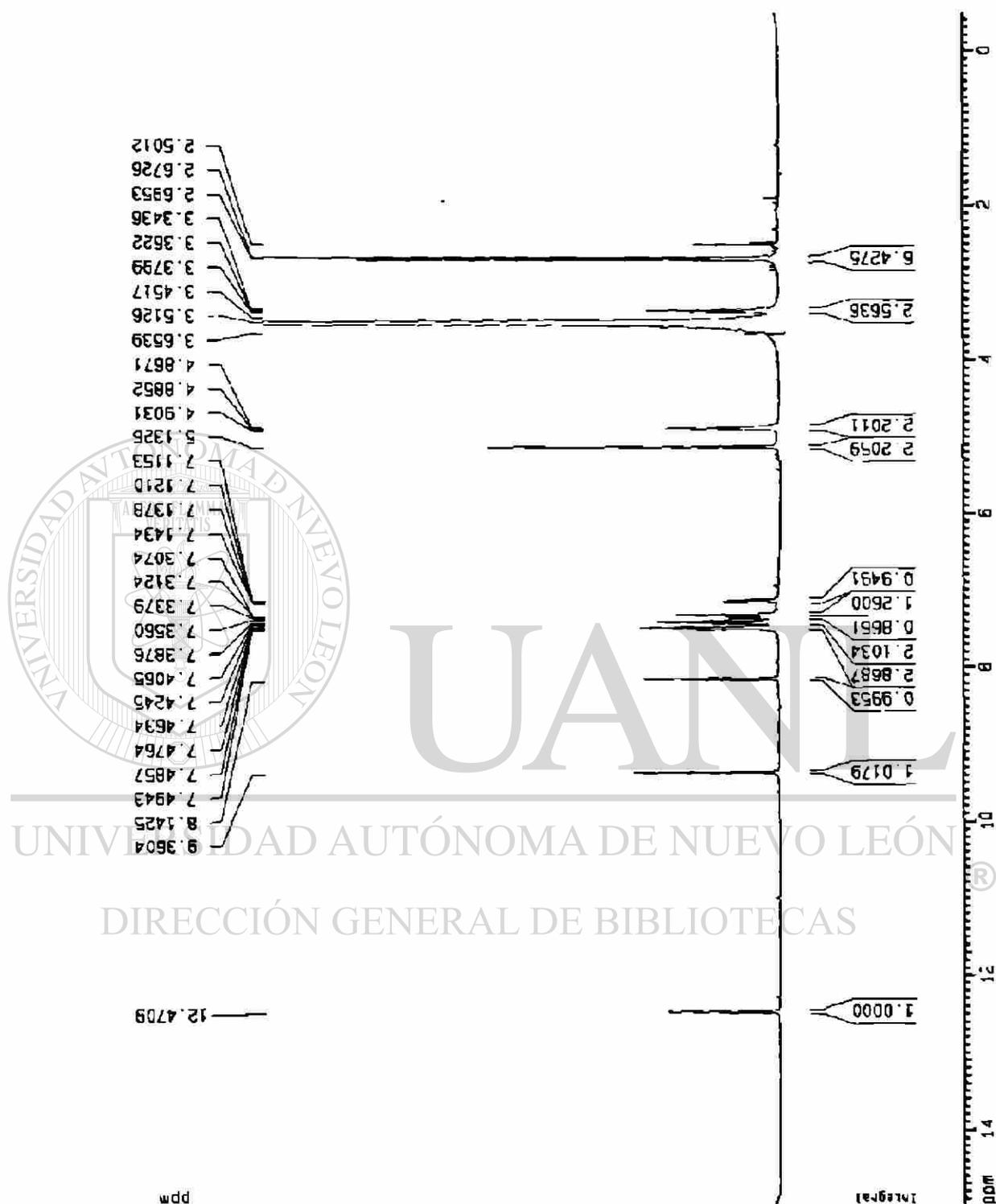


Fig. 86. Espectro de ^1H RMN de 38

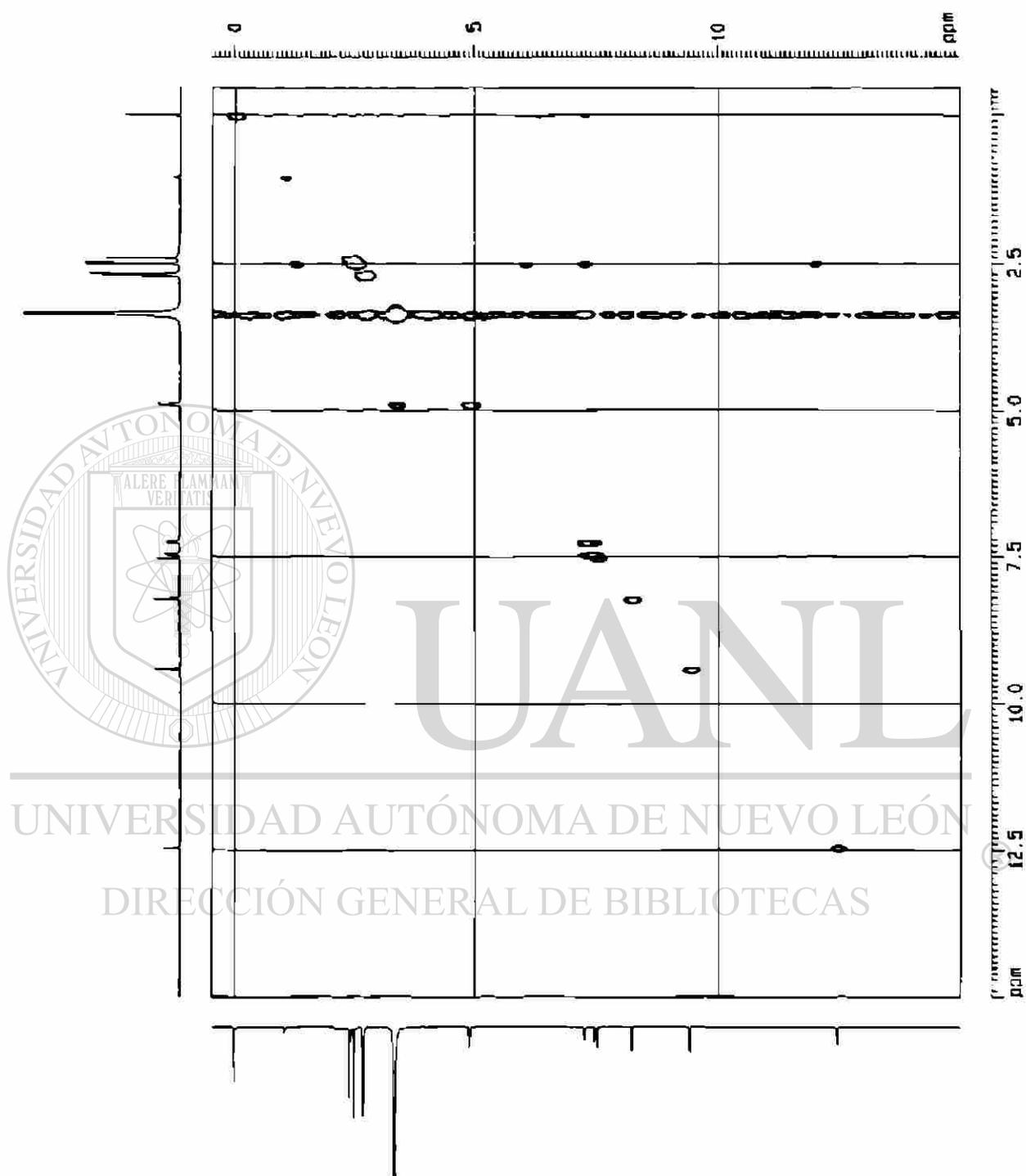


Fig. 88. Espectro de $2D^1H$ RMN, Cosy de 35

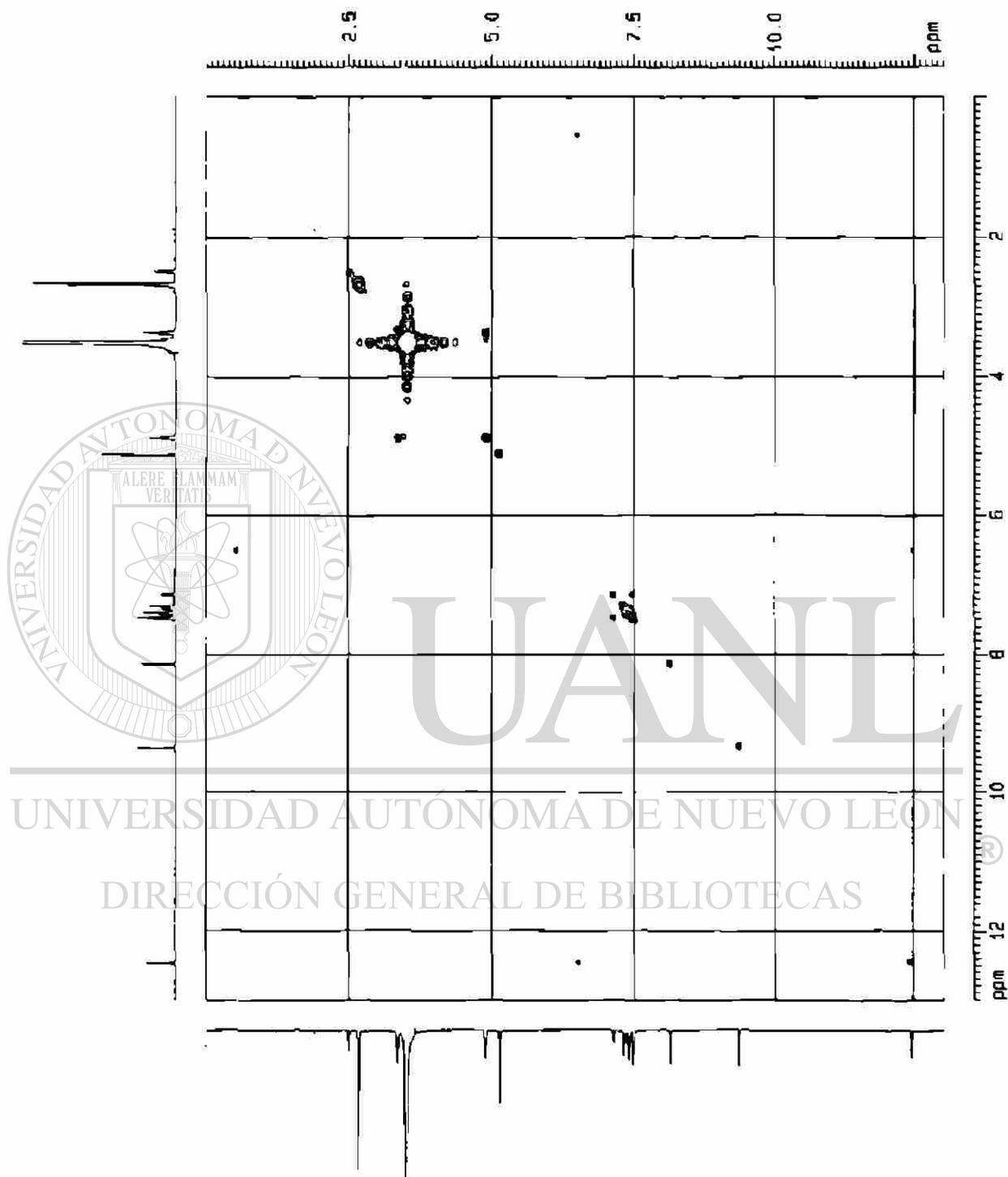


Fig. 90. Espectro de 2D ^1H RMN, Cosy de 38

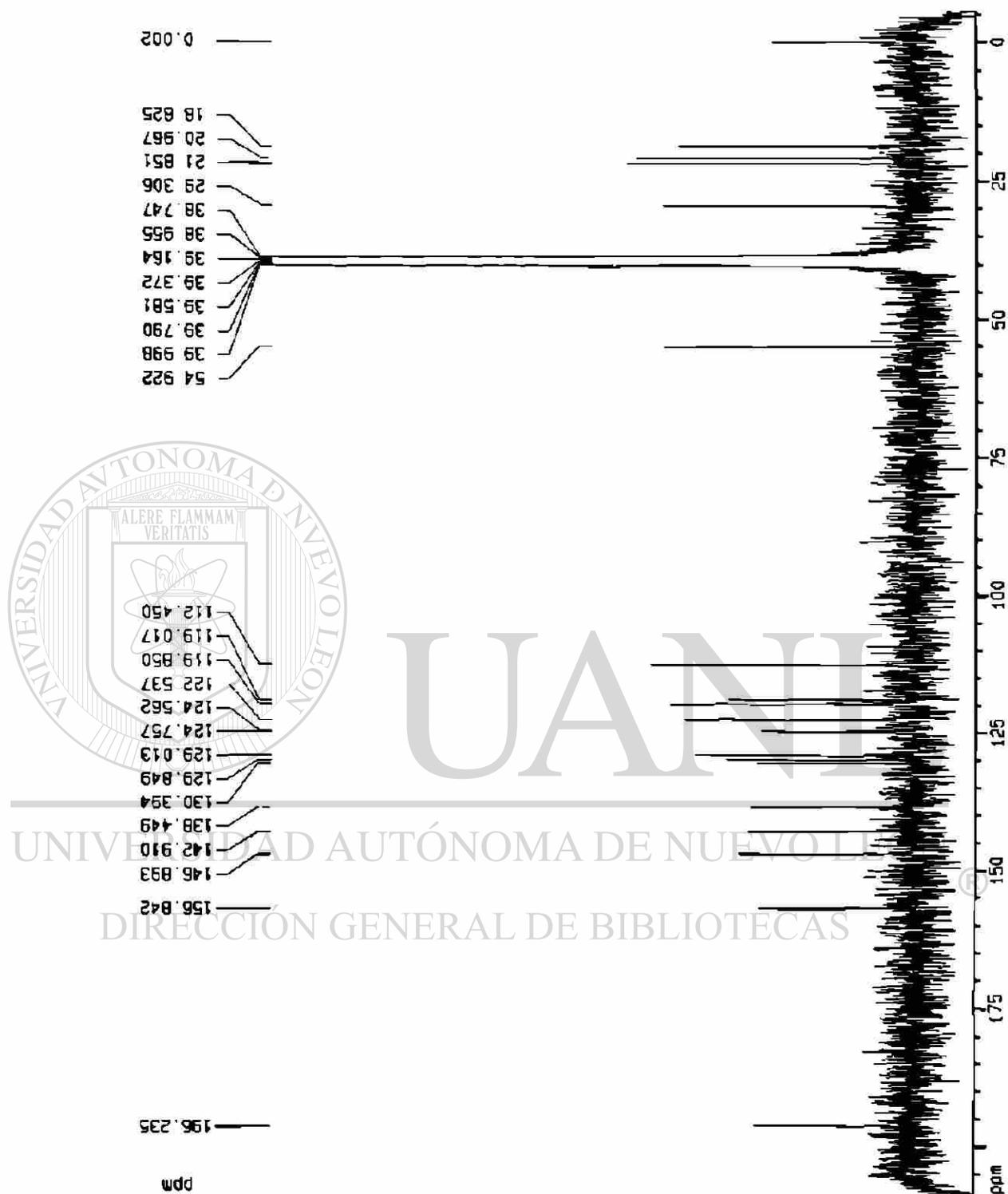


Fig. 92. Espectro de ^{13}C RMN, de 35

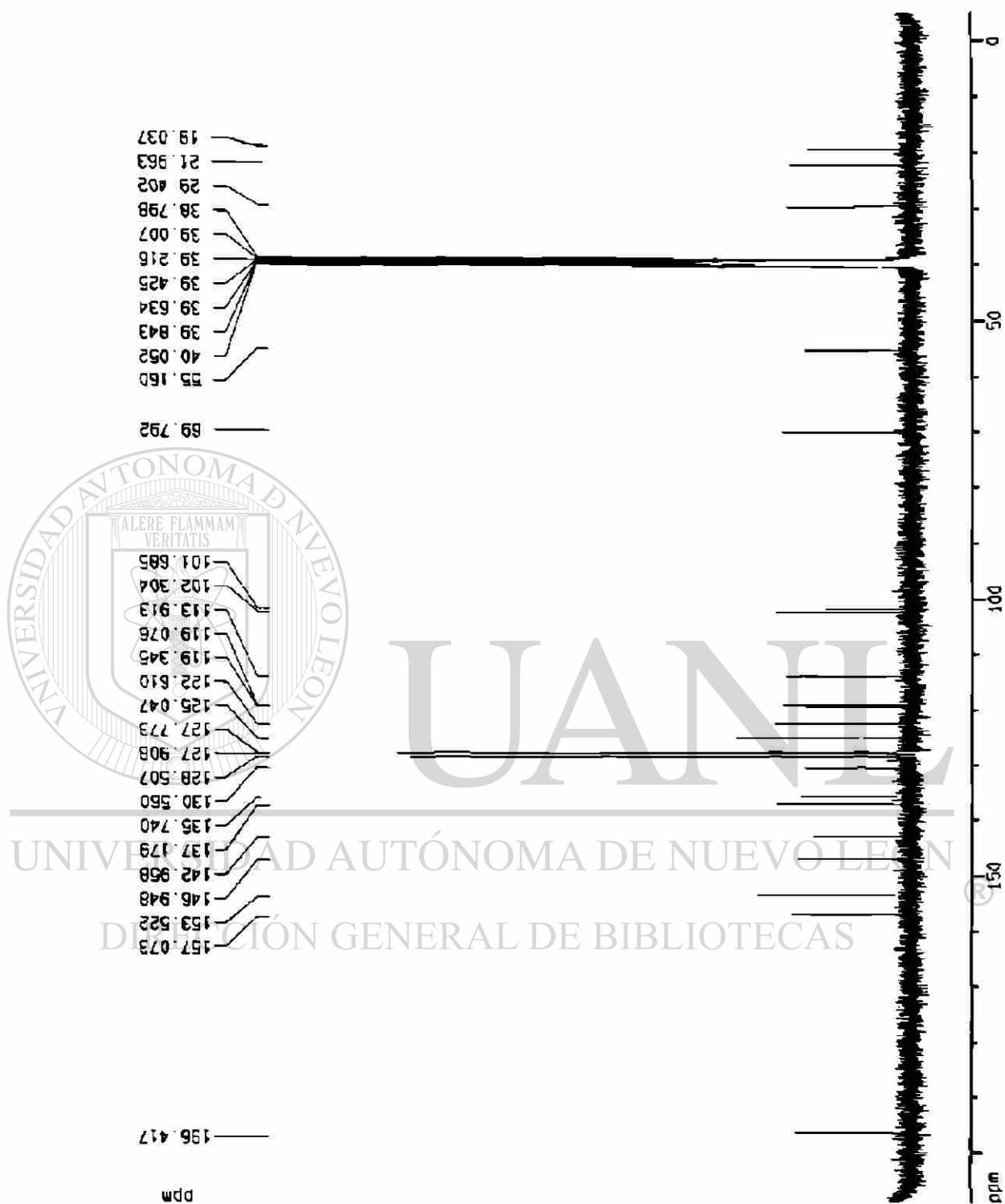


Fig. 94. Espectra de ^{13}C RMN, de 38

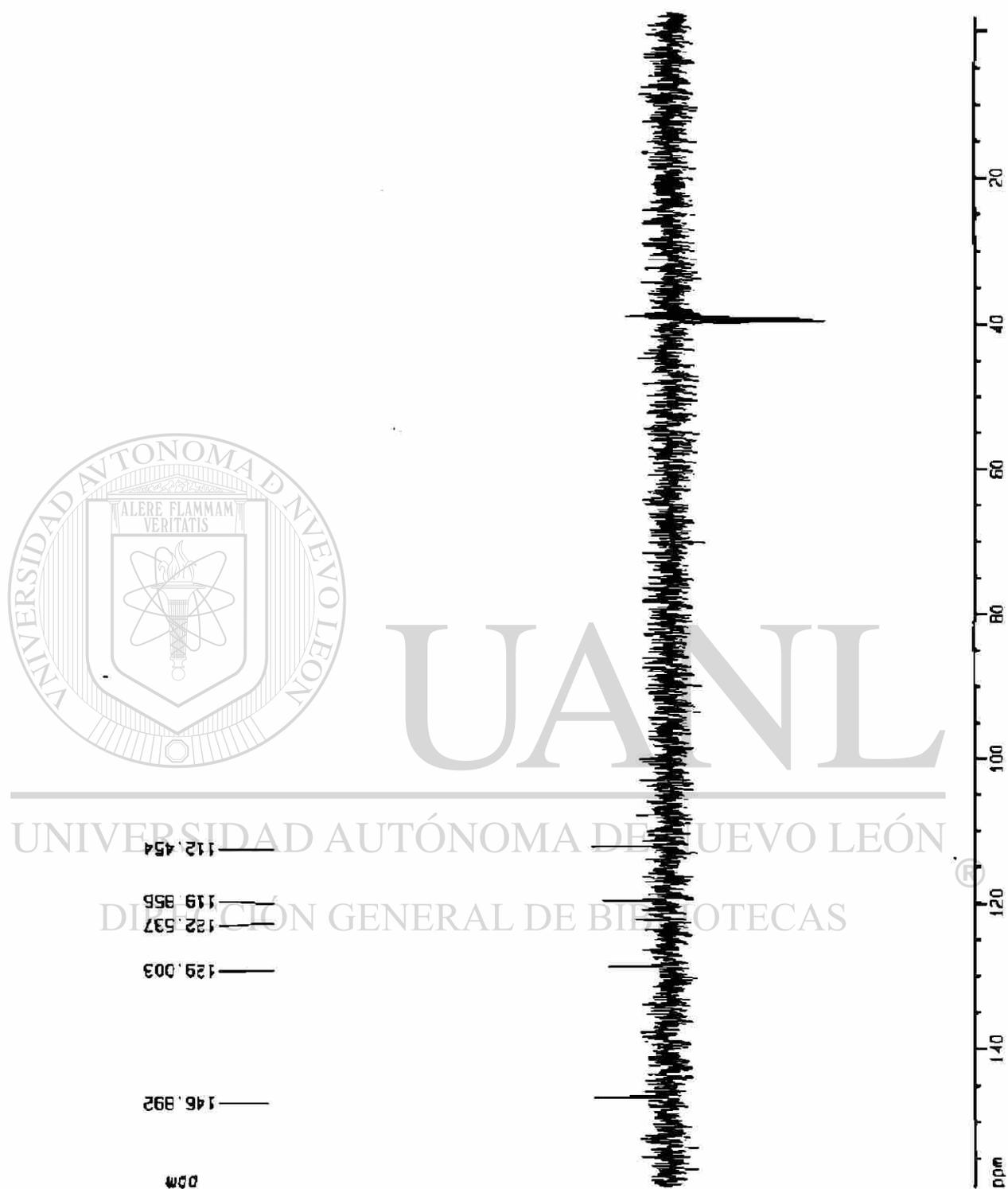


Fig. 96. Espectro de DEPT 135, de 35

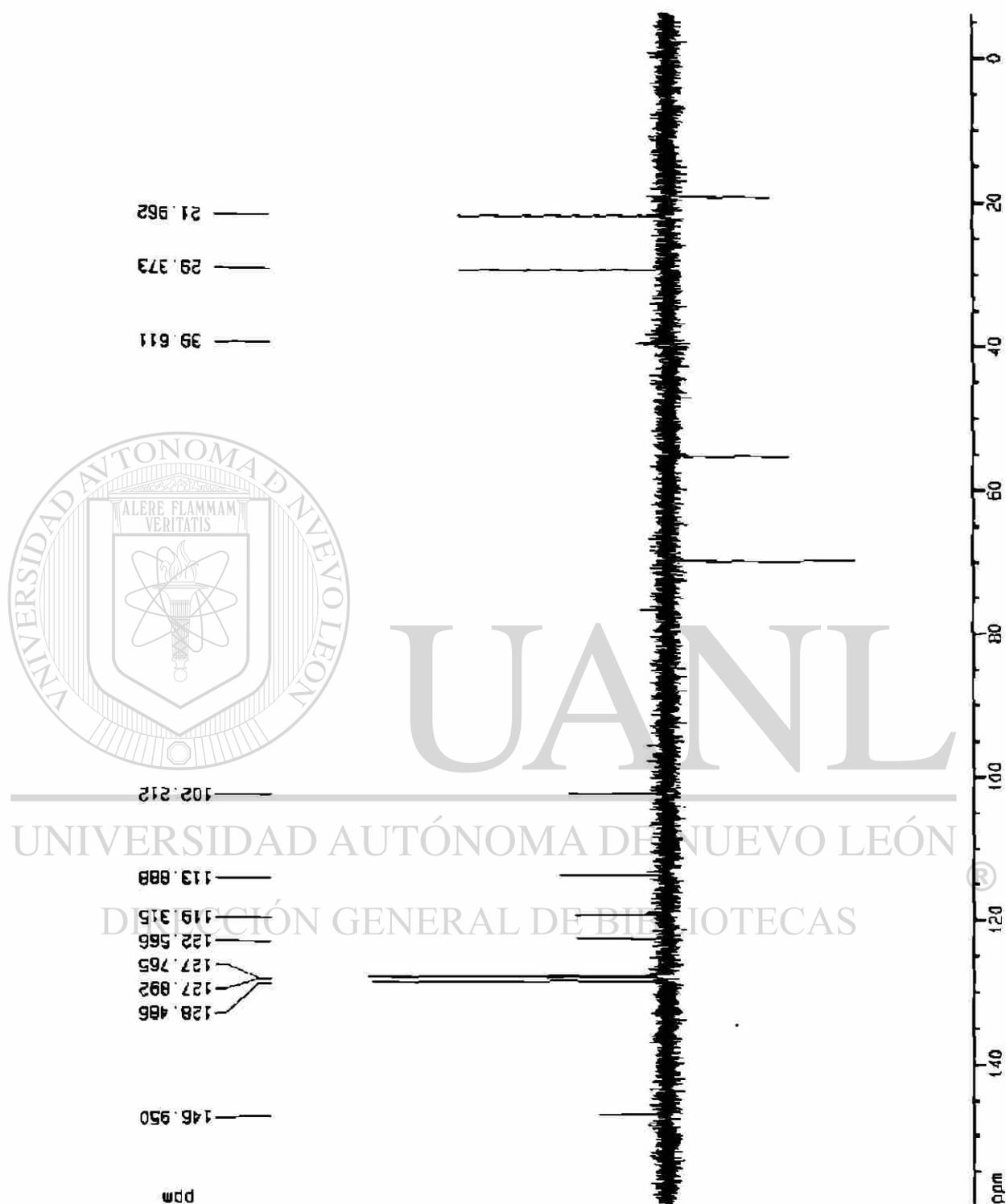


Fig. 98. Espectro de DEPT 135, de 38

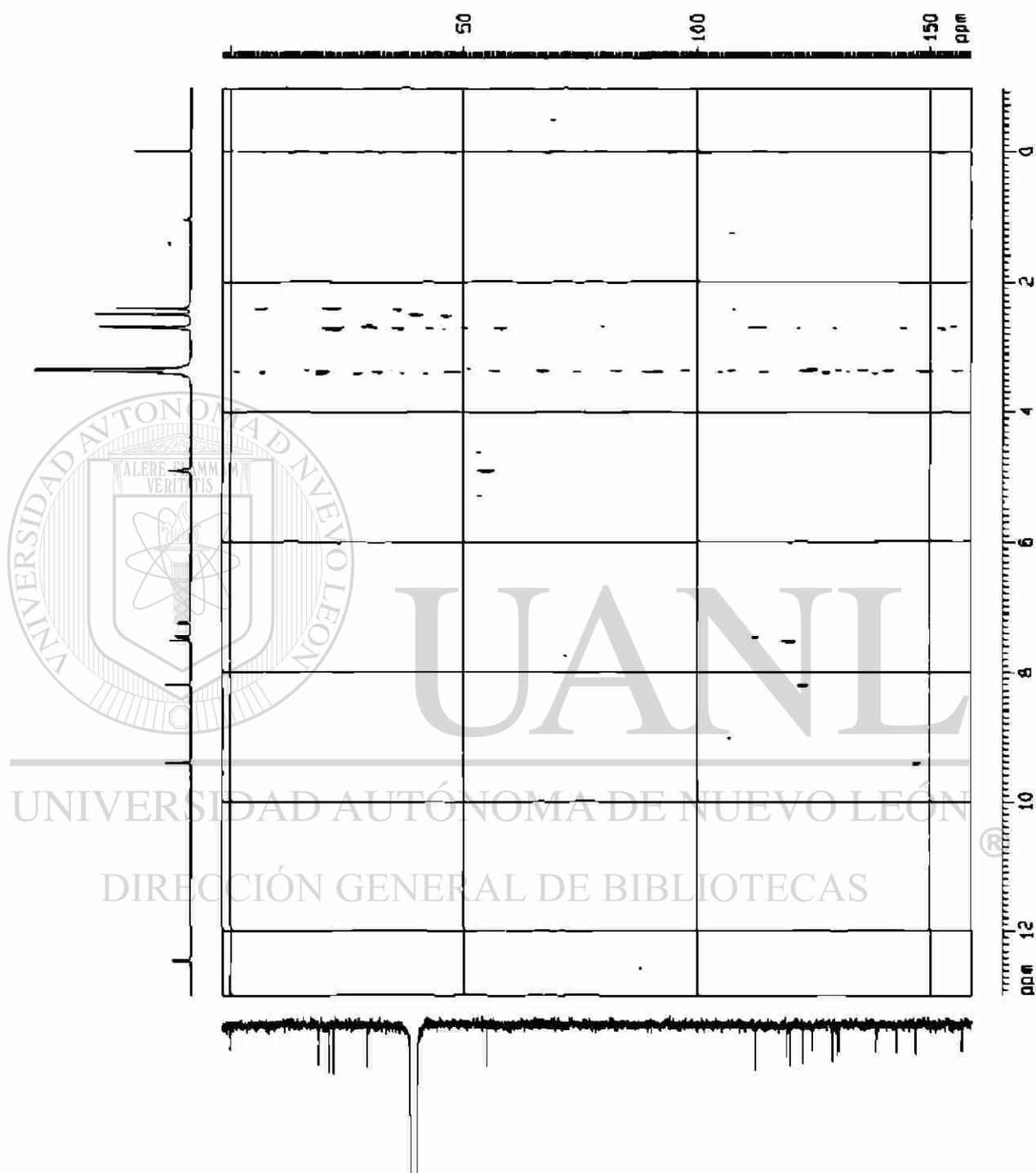


Fig. 100. Espectro de HMQC, de 35

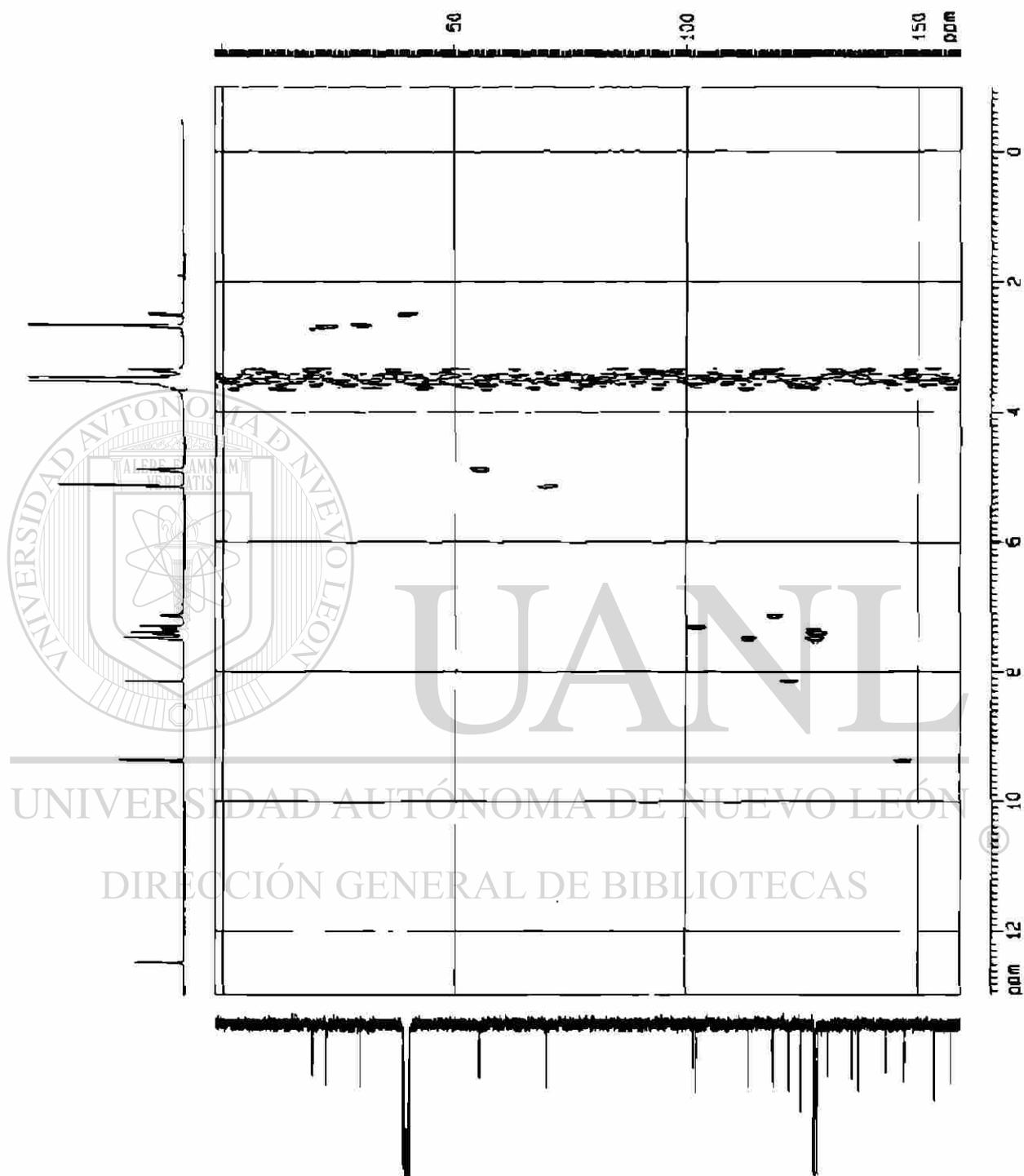


Fig. 102. Espectro de HMQC, de 38

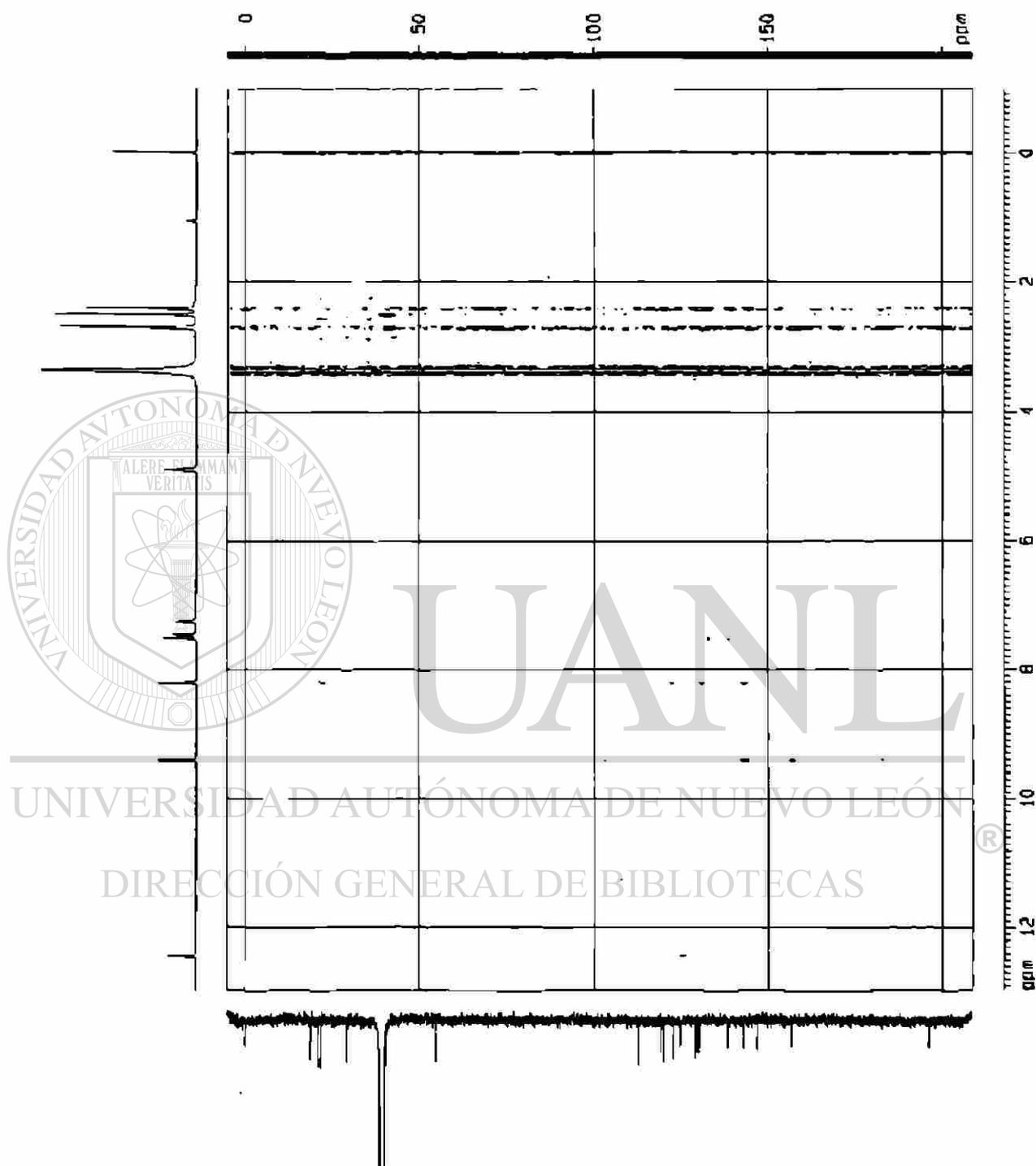


Fig. 104. Espectro de HMBC, de 35

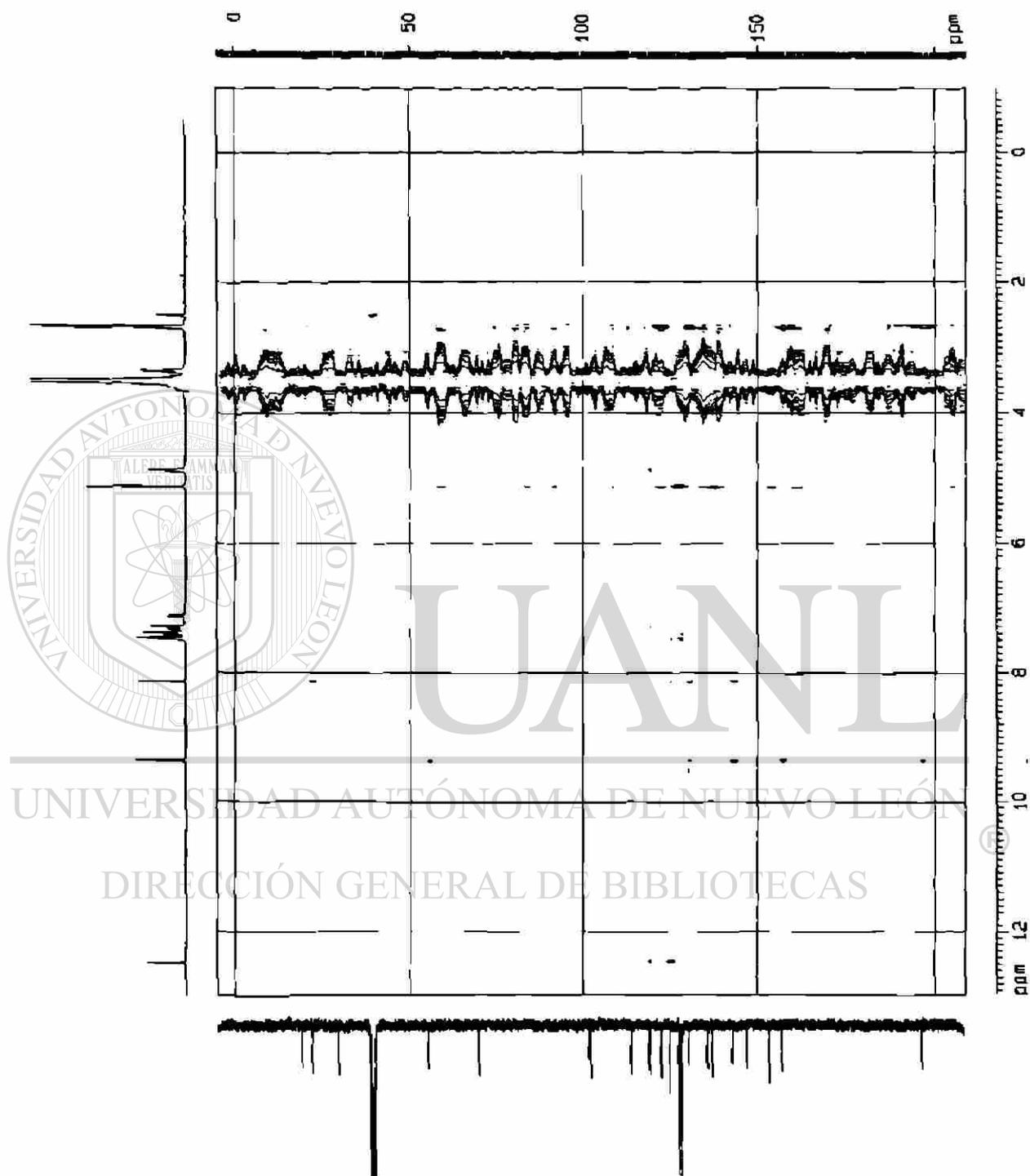


Fig. 106. Espectro de HMBC, de 38

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Adolfo Caballero Quintero

Candidato para el grado de

Doctor en Ciencias con Especialidad en Química Biomédica

Título de la Tesis: Síntesis de Indoloquinolizinas a través de la Reacción de Teuber, Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear y Evaluación de la Actividad Citotóxica.

Área de estudio: Química Biomédica

Biografía:

Datos Personales:

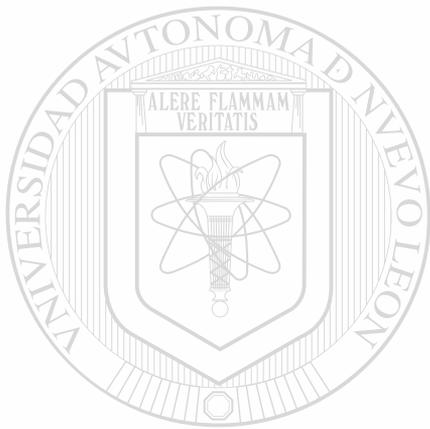
- Lugar y fecha de nacimiento: Ciudad Obregón Sonora, el 27 de Abril de 1969; hijo del Sr. Rosario Caballero Escobar y la Sra. María Elena Quintero Montejano.

Escolaridad:

- Obtención del título de Químico Clínico Biólogo en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L.
- Obtención del grado de Maestría en Ciencias con especialidad en Química Analítica Biomédica, en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L.

Experiencia Profesional:

- Personal Profesional no Docente en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. desde el 16 de Enero de 1993.
- Maestro Investigador en el área de Análisis Químico Estructural de Productos Naturales. Análisis estructural de compuestos.
- Encargado del Laboratorio de Química Forense de la Dirección de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia en el Estado de Nuevo León.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



