



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

CAMPUS GUANAJUATO

DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS DERIVADOS DE INDOMETACINA

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA:

A.Q.B. KARINA ROCÍO TORRES CARBAJAL

ASESOR:

DR. CÉSAR ROGELIO SOLORIO ALVARADO

COASESOR:

DR. JUAN RAMÓN ZAPATA MORALES

Junio 2021. Guanajuato, Gto., México.



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

Guanajuato, Gto., Junio 2021

Por medio de la presente hacemos constar que este trabajo de investigación titulado: ***“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS DERIVADOS DE INDOMETACINA”*** que presenta la A.Q.B. Karina Rocío Torres Carbajal, alumna de esta Universidad, para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas, es una idea original y ha sido realizado bajo nuestra dirección en la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato.

DIRECTOR DE TESIS

Profesor Dr. César Rogelio Solorio Alvarado

COASESOR

DR. JUAN RAMÓN ZAPATA MORALES

SINODALES

Presidente

Dr. María del Rocío Gámez Montaña
Departamento de Química
Universidad de Guanajuato

Vocal

Dr. Luis Chacón García
Instituto de Investigaciones Químico
Biológicas (IIQB)
Universidad Michoacana de San
Nicolás de Hidalgo

Secretario

Dr. Marco Antonio Ramírez Morales
Departamento de Farmacia
Universidad de Guanajuato

Suplente

Dr. Rafael Ortiz Alvarado
Facultad de Químico Farmacobiología
Universidad Michoacana de San
Nicolás de Hidalgo

"I was taught that the way of progress
was neither swift nor easy."

Marie Skłodowska Curie

"Embrace your interests, your passions,
and really give it your all!"

***2020 Chemistry Laureate
Jennifer Doudna***

"I could find my creativity by constantly
reinventing myself."

***2020 Chemistry Laureate
Emmanuelle Charpentier***

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad de Guanajuato**, a la **División de Ciencias Naturales y Exactas** por darme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría, y el apoyo brindado para el desarrollo de este proyecto.

Al **CONACyT**, por el apoyo económico recibido, mi beca de estudios de Maestría durante estos 2 años.

A mi asesor el **Dr. César Rogelio Solorio Alvarado**, por aceptarme como su alumna, por haberme permitido realizar mis estudios de Maestría bajo su dirección. Por guiarme a lo largo del proyecto, y compartir conmigo sus conocimientos, puntos de vista, y experiencia, que me han permitido tener una visión más amplia dentro de la investigación en la síntesis orgánica.

A mi coasesor el **Dr. Juan Ramón Zapata Morales**, por permitirme hacer uso del laboratorio y equipo, para la realización de este proyecto.

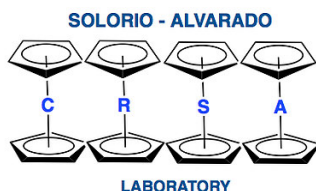
A mi coasesora la **Dra. Clara Alba Betancourt**, por el apoyo y consejos que me han permitido llevar a cabo este proyecto.

Al **Dr. Fer**, mi esposo, por todo el apoyo incondicional, por no dejarme caer y levantarme, por creer en mí y motivarme a ser mejor cada día, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por estos 9 años juntos.

A mis padres y hermanos, por su apoyo.

A mis compañeros de laboratorio Beto y Kevin, por su ayuda, consejos y apoyo desde que entré al grupo de investigación, Dipak, Naren, Jaime y Daniel.

A **mi** por no rendirme, intentarlo infinitas veces, confiar en mí y seguir mis sueños, a pesar de las circunstancias y bloqueos en mi propio camino.





UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO



CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

GUANAJUATO
Secretaría de Innovación,
Ciencia y Educación Superior



Dirección de Apoyo a la
Investigación y al Posgrado

Se realizaron las siguientes publicaciones:

Oxidative Halogenation of Arenes, Olefins and Alkynes Mediated by Iodine(III) Reagents

Author(s): Luis A. Segura-Quezada, **Karina R. Torres-Carbajal**, Yuvraj Satkar, Kevin A. Juárez Ornelas, Narendra Mali, Dipak B. Patil, Rocío Gámez-Montaño, Juan R. Zapata-Morales, Selene Lagunas-Rivera, Rafael Ortiz-Alvarado, César R. Solorio-Alvarado

Journal Name: *Mini-Reviews in Organic Chemistry*

DOI : 10.2174/1570193X17999200504095803

Discovery of novel fungistatic 4-aryloxyquinolines on *Mucor circinelloides*, biological evaluation of activity and QSAR study

Pradip D. Nahide, Clara Alba-Betancourt, Rubén Chávez-Rivera, Pamela Romo-Rodríguez, Manuel Solís- Hernández, Luis A. Segura-Quezada, **Karina R. Torres-Carbajal**, Rocío Gámez-Montaño, Martha A. Deveze-Álvarez, Marco A. Ramírez-Morales, Angel J. Alonso-Castro, Juan R. Zapata-Morales, Alan J. Ruiz-Padilla, Claudia L. Mendoza-Macías, Víctor Meza-Carmen, Rafael Ortiz-Alvarado, Luis Chacón-García and César R. Solorio-Alvarado.

Manuscrito enviado Archiv der Pharmazie, Febrero 2021. ID ardp.202100054.

ÍNDICE GENERAL

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.....	xviii
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xix
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xxii
OBJETIVO GENERAL	xxiii
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	xxiii
PRÓLOGO	xxiv
RESUMEN.....	xxvi

CAPÍTULO I

ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS AINEs	1
1.1 TIPOS DE AINEs	3
1.2 SINTESIS DE AINES Y SUS BLANCOS MOLECULARES.....	5
1.3 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DE LOS AINEs.....	6
1.4 INDOMETACINA.....	8
1.4.1 SÍNTESIS DESCRITAS PARA LA INDOMETACINA	9
1.4.2 ACCIÓN FARMACOLÓGICA DE LA INDOMETACINA	34
1.4.2.1 COX-1 Y COX-2	34
1.4.3 ESTRUCTURAS DE INDOMETACINA COX-2 SELECTIVAS.....	35

CAPÍTULO II

NUESTRA ESTRATEGIA PARA LA SÍNTESIS DE AINEs.....	38
2.1 MODIFICACIONES PLANTEADAS.....	40
2.2 RUTA DE SÍNTESIS PARA ACCEDER A NUESTROS COMPUESTOS.....	41
2.3 ENSAYOS BIOLÓGICOS DE ACTIVIDAD PLANTEADOS.....	43

CAPÍTULO III

RESULTADOS.....	47
3.1 SÍNTESIS ORGÁNICA.....	49

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES.....	55
4.1 CONCLUSIONES.....	57

SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	58
ESPECTROS ^1H , ^{13}C	65

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de Etilo	mmol	Milimol
MeCN	Acetonitrilo	PhIO	Iodosilbenceno
°C	Grado Celsius	PIDA	(diacetoxi)iodobenceno
equiv.	Equivalentes	PIFA	[bis(trifluoroacetoxi)iodo]benceno
mL	Mililitro	t.a.	Temperatura ambiente
M	Molar	I(III)	λ^3 -iodano
min	Minutos	MeOH	Metanol
mg	Miligramos	THF	Tetrahidrofurano
¹³C	Carbono-13	DCM	Diclorometano
¹H	Hidrógeno-1	g	Gramo
δ	Desplazamiento químico	Ar	Grupo Arilo
s	Fuerte o singulete	IBX	Ácido 2-iodoxibenzoico
Ts	Tosilo	TMSCI	Cloruro de trimetilsilano
d	Doblete	DMF	Dimetilfurano
t	Triplete	DMP	Periodinano Dess-Martin
CDCl₃	Cloroformo deuterado	TBHP	Hidroperóxido de <i>tert</i> -butilo
ppm	Partes por millón	atm	Atmósferas
Hz	Hertz	K	Kelvin
RMN	Resonancia magnética nuclear	IUPAC	Unión internacional de Química Pura Aplicada
NXS	<i>N</i> -halosuccinimida (X = -Cl, -Br, -I)	μL	Microlitros
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución	IR	Infrarrojo
p. f.	Punto de fusión		

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1.....	49
Ecuación 2.....	51
Ecuación 3.....	52
Ecuación 4.....	53

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntesis de indometacina realizada por Shen y colaboradores.....	9
Esquema 2. Ruta sintética para la obtención de ácido de I-O-indometacin- β -D-glucosilurónico, con sustituyente de indometacina.....	10
Esquema 3. Síntesis de un análogo de indometacina desarrollado por Garavito y colaboradores.	11
Esquema 4. Síntesis de indometacina por Hodişan.	12
Esquema 5. Derivados de indometacina desarrollados por Marnett y colaboradores.	13
Esquema 6. Síntesis de indometacina desarrollada por Olea.	14
Esquema 7. Síntesis de derivados del ácido <i>N</i> -bencilindol-3-acético.....	15
Esquema 8. Ruta sintética de derivados de <i>N</i> -bencilo.....	16
Esquema 9. Síntesis de derivados <i>N</i> -4-clorobencilo desarrollada por Maguire.....	16
Esquema 10. Síntesis de indometacina y sus análogos a partir de <i>p</i> -metoxifenilhidrazina.	17
Esquema 11. Síntesis de derivados de indometacina a partir de fenilhidrazina.....	18
Esquema 12. Modificación en el ácido carboxílico de la estructura de indometacina desarrollada por Maguire.	18
Esquema 13. Derivados de <i>N</i> -bencil indolacetamida.	20
Esquema 14. Síntesis de indometacina a partir de <i>N</i> -acilhidrazina.....	21
Esquema 15. Síntesis de análogos de indometacina a partir de hidrazinas.....	22
Esquema 16. Modificación de la estructura de indometacina de Knaus.....	23
Esquema 17. Síntesis de indometacina, mediante acoplamiento cruzado de Stille catalizado por paladio.	24
Esquema 18. Ruta sintética de derivados de indometacina desarrollada por Wey.....	25
Esquema 19. Modificación de la estructura de indometacina desarrollada por Knaus y colaboradores.	26
Esquema 20. Síntesis de análogos de indometacina, a partir de indoles desarrollada por Marnett y colaboradores.	27

Esquema 21. Síntesis de análogos de indometacina, metodología de Shuto.....	28
Esquema 22. Síntesis de análogos de indometacina desarrollada por Su y colaboradores.	29
Esquema 23. Síntesis de análogos de indometacina desarrollado por Penning y colaboradores.	30
Esquema 24. Ruta sintética de Indometacina desarrollada por Zhu y Ma.....	31
Esquema 25. Síntesis de derivados de indometacina desarrollado por Corma y colaboradores.	32
Esquemas 26. Ruta sintética para obtener análogos de indometacina desarrollado por Lolli y colaboradores.	33
Esquema 27. Estrategia de síntesis para la obtención de análogos derivados de indometacina.	41
Esquema 28. Esquema de síntesis del bloque 1.....	42
Esquema 29. Estudio modelo para la síntesis de análogos de indometacina.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I. Síntesis de indometacina.....	xxiii
Figura II. Nuestra estrategia de síntesis de análogos de indometacina.....	xxiv
Figura III. Análogos de indometacina sintetizados.....	xxiv
Figura IV. Estructura de la indometacina.....	xxv
Figura V. Modificaciones relevantes de la indometacina y nuestra propuesta.....	xxvi
Figura 1. Ejemplos de glucocorticoides.....	3
Figura 2. Ejemplos de AINEs.....	3
Figura 3. AINEs diarilheterociclos COX-2 selectivos.....	6
Figura 4. Estructuras de la aspirina y el flurbiprofeno.....	6
Figura 5. Reemplazo de sustituyentes en indometacina y aspirina, COX-2 selectivos.	7
Figura 6. Mecanismo celular de oxidación del ácido araquidónico y sus productos.	34
Figura 7. Estructuras COX-2 selectivas.....	36
Figura 8. Modificaciones relevantes de la indometacina y nuestra propuesta.....	40
Figura 9. Análogos estructurales de indometacina que serán sintetizados.....	40
Figura 10. Estructuras de los complejos catiónicos de Au(I) que serán ensayados....	42
Figura 11. Análogos estructurales de indometacina obtenidos.....	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados obtenidos de la yodación de <i>p</i> -anisidina.....	49
Tabla 2. Optimización de la reacción de Sonogashira.....	51
Tabla 3. Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de indol.....	52
Tabla 4. Tabla 4. Condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de los derivados de indometacina.....	53

OBJETIVO GENERAL

- ❖ Se sintetizará y evaluará biológicamente distintos análogos derivados de indometacina modificando el grupo 2-metilo de su estructura por un grupo arilo con distinta naturaleza electrónica. Este grupo contendrá el grupo del ácido carboxílico, que será removido de su posición original del C3 de núcleo del indol.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. La síntesis de estos análogos será llevada a cabo utilizando como paso clave del proceso una ciclación 5-*endo*-dig catalizada por complejos catiónicos de Au(I) sobre alquil anilinas.
2. Las modificaciones a fin de obtener los análogos estructurales de la indometacina consistirán en:
 - A. Sustituir el grupo 2-Metilo por grupos arilo.
 - B. Los grupos arilo contendrán exclusivamente halógenos dado que se ha documentado ampliamente el incremento de actividad biológica de los compuestos sintetizados al contener estos grupos.
 - C. Se modificará también el cloro de la indometacina el cual está presente en la posición *para* del halógeno por Flúor, Bromo y Iodo.
3. Obtener uno o algunos derivados de indometacina con actividad COX-2 selectiva. Lo anterior en función de la estereoquímica de apilamiento π (π -stacking) que sabemos que adoptará dados los precedentes descritos.
4. Llevar a cabo la evaluación farmacológica de estos derivados mediante las siguientes técnicas:
 - I. Evaluar la eficacia antiinflamatoria de los derivados de indometacina en el modelo de TPA agudo (13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol)
 - II. Determinar la eficacia antiinflamatoria de los derivados de indometacina en el modelo de TPA crónico (múltiples aplicaciones de TPA)
 - III. Evaluar el efecto antinociceptivo de los derivados de indometacina en el modelo de la formalina.

PRÓLOGO

El presente trabajo está compuesto por 4 capítulos en los cuales se describe a continuación:

El **capítulo I** describe los tipos de fármacos antiinflamatorios no esteroideos y su actividad farmacológica; se describe el fármaco de interés: la indometacina, las síntesis descritas a través de los años, mecanismo de acción y los derivados de indometacina que son selectivos para la inhibición de las COX-2. (**Figura I**).

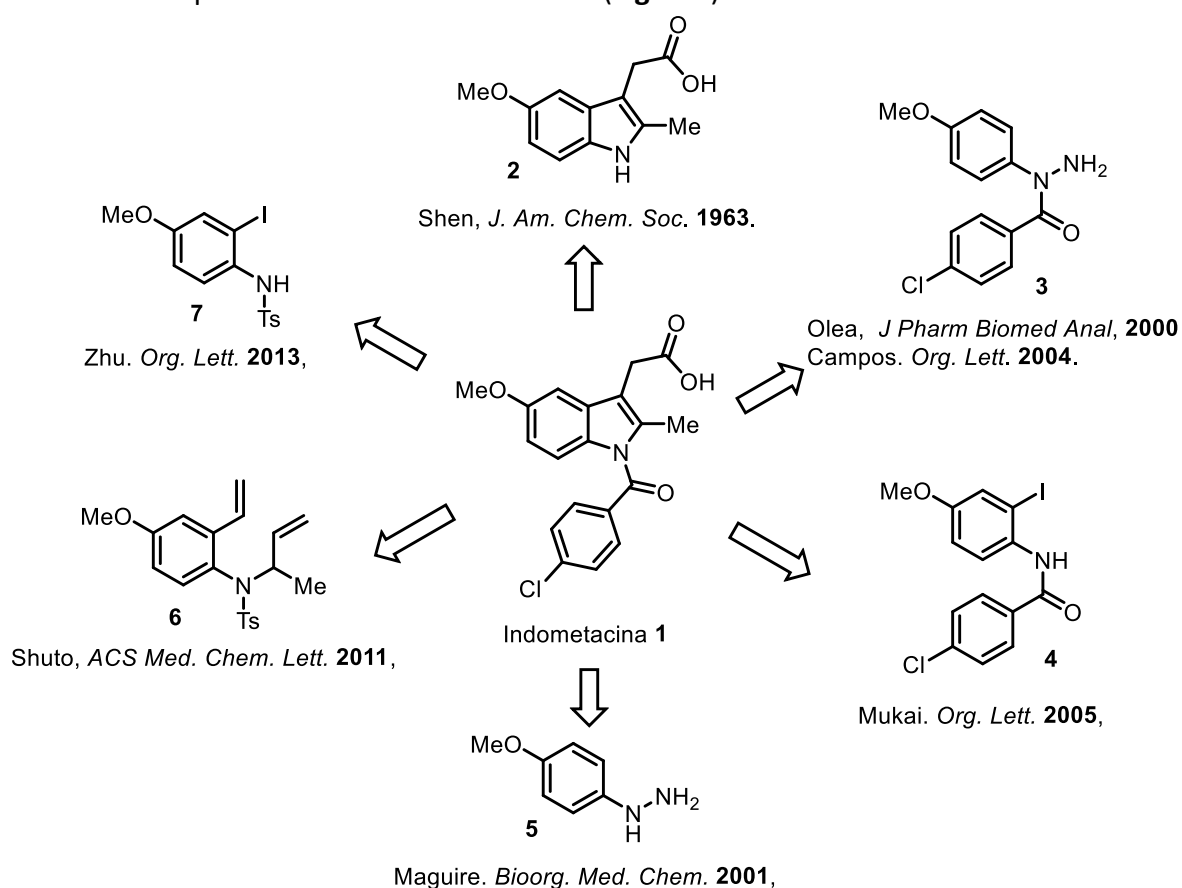


Figura I. Síntesis de indometacina

En el **capítulo II** se desarrolla la estrategia de la síntesis de los análogos de indometacina; las modificaciones planteadas para la obtención de los compuestos de interés, la ruta sintética y los ensayos biológicos de actividad planteados. (**Figura II**).

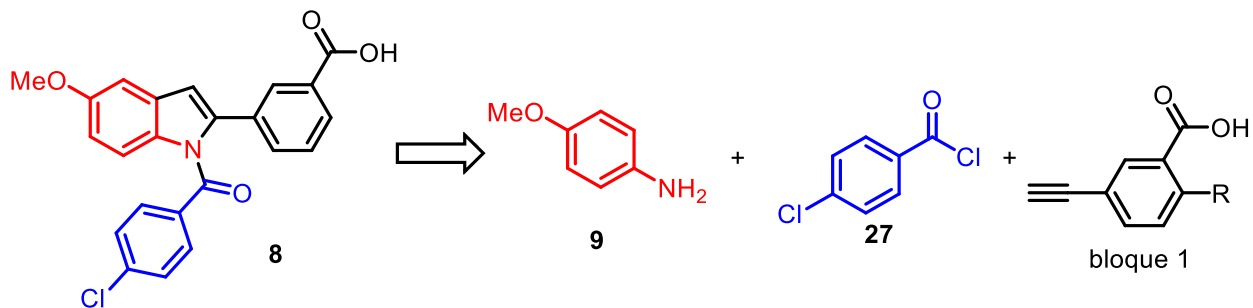


Figura II. Nuestra estrategia de síntesis de análogos de indometacina.

El **capítulo III** se presentan los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación. (**Figura III**).

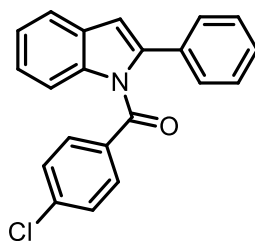


Figura III. Análogos de indometacina sintetizados

El **capítulo IV** consta de las discusiones y conclusiones, así como la sección experimental de este trabajo.

RESUMEN

Los fármacos son una extensa familia de compuestos orgánicos, ya sea de origen natural, semisintético o sintético. Dentro de esta familia se encuentran los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). La indometacina **1** es un analgésico sintético, fue patentada en 1961 y aprobada para su uso médico en 1963,¹ es uno de los AINEs más utilizados por su efectividad.

La indometacina **1** está constituida por un núcleo de indol sustituido en la posición 1 con un grupo 4-clorofenilcarbonilo, un metilo en posición 2, un ácido carboxílico derivado del ácido acético en posición 3 y un grupo metoxilo en posición 6; ácido 1-(*p*-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metilindol-3-acético. (**Figura IV**).

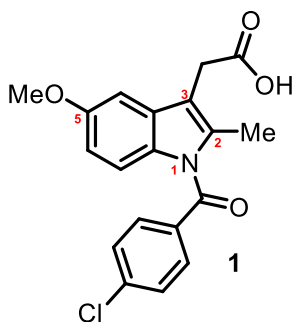


Figura IV. Estructura de la indometacina.

El mecanismo de acción de este fármaco tiene como diana molecular la enzima ciclooxigenasa (COX), inhibiendo la síntesis de prostaglandinas en la ruta de oxidación del ácido araquidónico en el sitio celular dónde se produce la inflamación.

Varios grupos de investigación han reportado modificaciones estructurales de la indometacina. Por ejemplo, la modificación de Marnett² y colaboradores, en esta el grupo metilo se intercambiò por un trifluorometilo **10**, este cambio condujo a la selectiva inhibición de la COX-2. Otra modificación hecha por el mismo autor consistió en la remoción del grupo metilo del fármaco, esto demostró una disminuida actividad.³

Por otro lado, Oliaro-Bosso, Boschi y colaboradores, describieron la síntesis de un análogo de indometacina en donde la modificación estructural más relevante es la

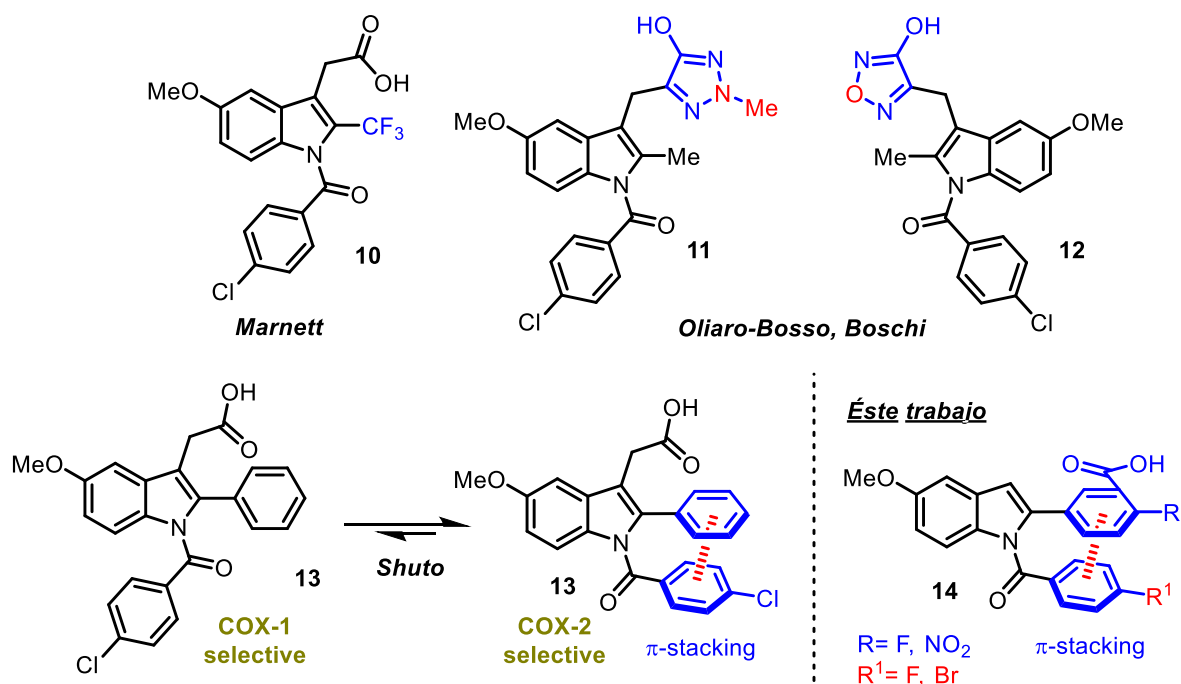
¹ Fischer, J; Ganellin, C. R. (2006). *Analogue-based Drug Discovery*. John Wiley & Sons. p. 517. ISBN 9783527607495

² Blobaum, A. L.; Uddin, Md. J.; Felts, A. S.; Crews, B. C.; Rouzer, C. A.; Marnett, L. J. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, 4 (5), 486–490. DOI: 10.1021/ml400066a.

³ Felts, A. S.; Ji, C.; Stafford, J. B.; Crews, B. C.; Kingsley, P. J.; Rouzer, C. A.; Washington, M. K.; Subbaramaiah, K.; Siegel, B. S.; Young, S. M.; Dannenberg, A. J.; Marnett, L. J. *ACS Chem. Biol.* **2007**, 2 (7), 479–483. DOI:10.1021/cb700077z.

introducción de un grupo furazano **12** y un triazol **11** como bioisótero del ácido carboxílico.⁴

Finalmente, la investigación de Shuto y colaboradores determinó que la sustitución del grupo metilo por un grupo arilo **13**, propiciaba una interacción conocida como apilamiento π , o también llamada π -stacking. Esta interacción favorecía un conformero de dicho análogo de indometacina el que actuaba de manera más específica sobre COX-2⁵ (**Figura V**).



Inspirados en esta última investigación, decidimos realizar nuestra contribución incluyendo las modificaciones antes mencionadas en los objetivos general y específicos.

Además, decidimos llevar a cabo los ensayos biológicos de actividad.

⁴ Lolli, M. L.; Carnovale, I. M.; Pippione, A. C.; Wahlgren, W. Y.; Bonanni, D.; Marini, E.; Zonari, D.; Gallicchio, M.; Boscaro, V.; Goyal, P.; Friemann, R.; Rolando, B.; Bagnati, R.; Adinolfi, S.; Oliaro-Bosso, S.; Boschi, D. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10* (4), 437–443. DOI:10.1021/acsmchemlett.8b00484.

⁵ Arisawa, M.; Kasaya, Y.; Obata, T.; Sasaki, T.; Ito, M.; Abe, H.; Ito, Y.; Yamano, A.; Shuto, S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2* (5), 353–357. DOI:10.1021/ml100292y

CAPÍTULO I

ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS AINEs

1.1 TIPOS DE AINEs

Los fármacos analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), son un grupo de compuestos orgánicos, que tienen como acción farmacológica la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, y actúan en la enzima ciclooxigenasa (COX).

En farmacología existen 2 grupos importantes de fármacos antiinflamatorios:

- a) Los antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides (ejemplos: cortisol **15** y cortisona **16**), los cuales son de mayor potencia (**Figura 1**).

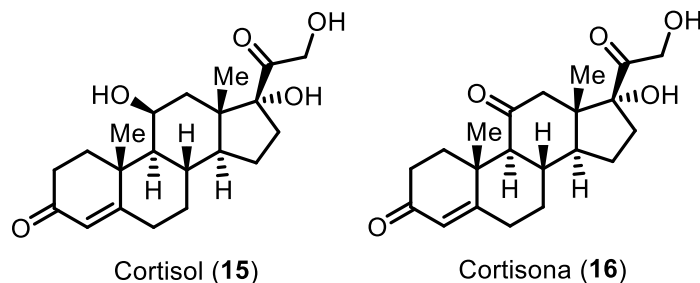


Figura 1. Ejemplos de glucocorticoides.

- b) Los AINEs (**Figura 2**).

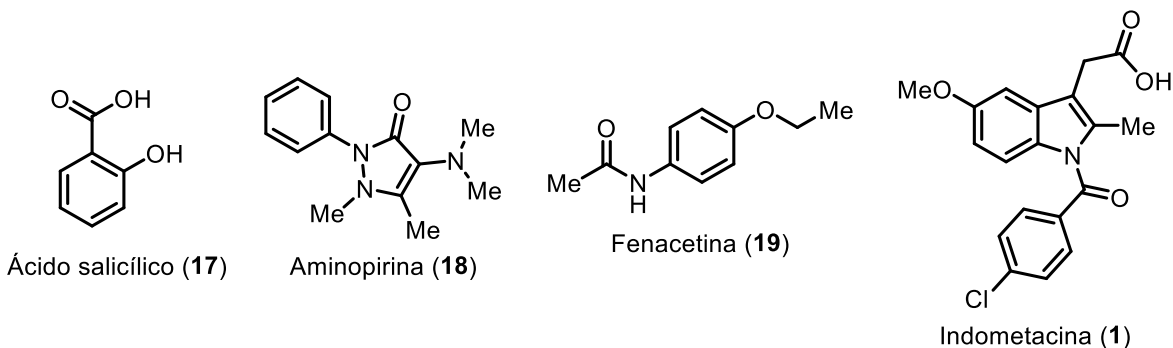


Figura 2. Ejemplos de AINEs.

Estos últimos, los AINEs se clasifican según su estructura química en:

- i) **Salicilatos:** Ácido acetilsalicílico, ácido salicílico **17**.
- ii) **Pirazolonas:** Antipirina o fenasona y aminopirina **18**.
- iii) **Paraminofenol:** fenacetina **19**, acetaminofeno.
- iv) **Indoles:** Indometacina **1**, benzidamina, sulindac.

Los AINEs son los fármacos más vendidos en el mundo, se expenden toneladas por año, son utilizados con prescripción médica o automedicación. Hasta la fecha se sigue buscando el analgésico ideal que posee gran potencia y mínimos efectos secundarios.⁶

⁶ Malgor, L.A.; Valsecia, M.E. Capítulo 7. Analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). *Farmacología Médica*. Vol 3. Pag 112-132.

Existe una alta prevalencia de enfermedades reumáticas en el mundo. Aproximadamente un 8 % de la población tiene un síndrome reumático. Sin embargo se sabe poco sobre cuales AINEs son realmente necesarios para un óptimo tratamiento de estas afecciones. Aunque los AINEs difieren químicamente y farmacocinéticamente se cuestiona si estas diferencias tienen alguna consecuencia.

Esta familia de drogas está compuesta por innumerables agentes, cuya síntesis e incorporación al mercado farmacológico se realiza permanentemente. En el arsenal terapéutico actual los AINEs ocupan un lugar de gran importancia.

Son agentes que en muchas patologías se utilizan crónicamente y a veces de por vida, como por ejemplo en la artritis reumatoidea, osteoartritis, espondilitis anquilosante, entre otras, por lo que la relación costo-riesgo- beneficio, debe ser considerada siempre por el prescriptor, más aún cuando los agentes más nuevos son generalmente más costosos, con frecuencia no ofrecen grandes ventajas terapéuticas y no están bien estudiados sus efectos a largo plazo.⁷

⁷ Malgor, L.A.; Valsecia, M.E. Capítulo 7. Analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). *Farmacología Médica*. Vol 3. Pag 112-132

1.2 SINTESIS DE AINES Y SUS BLANCOS MOLECULARES

Referente a las síntesis de AINEs, se conoce que hace 3 500 años Hipócrates prescribía el extracto y las hojas de corteza de sauce para tratar la fiebre e inflamación. En 1899 se introduce comercialmente el ácido acetilsalicílico, se obtiene de manera sintética, una forma más aceptable y de mejor sabor que el ácido salicílico que a su vez provenía de la salicilina, el principio activo de la planta *Salix alba*. El año 1961 el profesor inglés, Stewart Adams descubrió las propiedades antiinflamatorias del ibuprofeno, este fármaco se obtiene de manera sintética.⁸

Existen 2 isoenzimas ciclooxigenasas (COX) y se han desarrollado inhibidores selectivos de la COX-2 como el meloxicam, salicilato y nimesulida, estos fármacos son importantes para la terapia de pacientes con otras afecciones gastrointestinales, renales trastornos de coagulación.⁹

Los AINEs clásicos inhiben las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1 y COX-2) de manera no selectiva. La distribución tisular diferencial de COX-1 y COX-2 proporciona un fundamento para el desarrollo de inhibidores selectivos de COX-2 como agentes antiinflamatorios y analgésicos.¹⁰

Los AINEs actúan uniendo e inactivando la enzima ciclooxigenasa, esta es una enzima de gran relevancia en la biosíntesis de prostaglandinas.¹¹

Después de una lesión periférica, los niveles de prostaglandinas aumentan, en el sitio de la lesión y también en el sistema nervioso entral (SNC). Los datos sugieren que los enantiómeros R y S de AINEs pueden actuar de forma diferente en la periferia que en la médula espinal.¹²

⁸ Oscanoa-Espinoza T; Lizaraso-Soto F. *Rev Gastroenterol Peru*. **2015**, 35(1), 63-71.

⁹ Malgor, L.A.; Valsecia, M.E. Capítulo 7. Analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). *Farmacología Médica*. Vol 3. Pag 112-132

¹⁰ Kalgutkar, A. S.; Marnett, A. B.; Crews, B. C.; Rimmel, R. P.; Marnett, L. J. *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (15), 2860–2870. DOI: 10.1021/jm000004e.

¹¹ Rusu, M.; Olea, M.; Rusu, D. *J Pharm Biomed Anal*, **2000**, 24 (1), 19–24. DOI: 10.1016/s0731-7085(00)00407-6.

¹² Phillips, W. J.; Currier, B. L. *J Am Acad Orthop Surg*, **2004**, 12 (4), 221–233. DOI: 10.5435/00124635-200407000-00003.

1.3 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DE LOS AINEs

Dado que los AINE inhiben la función normal de las prostaglandinas, sus efectos secundarios adversos son predecibles: ulceración péptica, disminución de la hemostasia y disfunción renal. Los pacientes que reciben tratamiento prolongado con AINEs pueden tener una prevalencia de úlceras gástricas o duodenales.

Mientras que la isoenzima COX-1 esta presente en la mucosa gástrica, las plaquetas, los riñones y el hígado, la isoenzima COX-2 es inducible y típicamente presente en niveles más bajos en estos órganos. Las citocinas inflamatorias y otros factores como la isquemia y la hipoxia también aumentan la producción de COX-2.

Aunque los inhibidores selectivos de la COX-2 han mostrado menos efectos secundarios gastrointestinales que los AINEs no selectivos en algunas circunstancias, no es evidente ningún beneficio renal significativo.¹³

En la actualidad solo hay comercialización de diarilheterociclos tales como celecoxib **20** y rofecoxib **21**, (**Figura 3**), y son inhibidores de la COX-2. Existen muy pocos informes sobre la utilización de AINEs en el diseño de inhibidores selectivos que actúen sobre la COX-2.

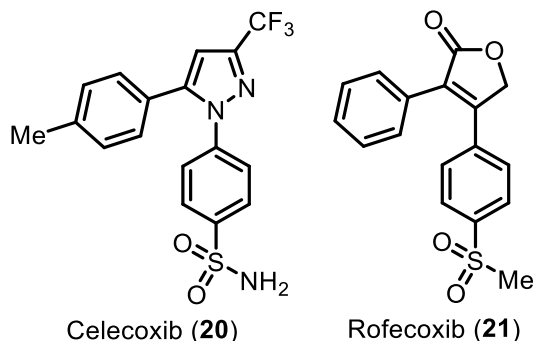


Figura 3. AINEs diarilheterociclos COX-2 selectivos.

La aspirina **22** y el flurbiprofeno **23** (**Figura 4**) son los únicos ejemplos de compuestos que se han elaborado con éxito como inhibidores selectivos de la COX-2.

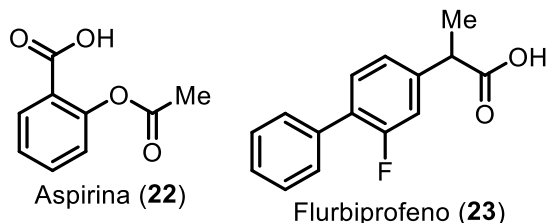


Figura 4. Estructuras de la aspirina y el flurbiprofeno

¹³ Phillips, W. J.; Currier, B. L. *J Am Acad Orthop Surg*, **2004**, 12 (4), 221–233. DOI: 10.5435/00124635-200407000-00003.

Por otro lado el reemplazo del grupo 4-clorobenzóilo de la indometacina **1** con un resto 4-bromobenzóilo **24** genera un inhibidor selectivo de COX-2. El intercambio del resto carboxilato en aspirina **22** con funcionalidades de sulfuro de alquilo **25** produce inhibidores de COX-2 específicos (**Figura 5**).¹⁴

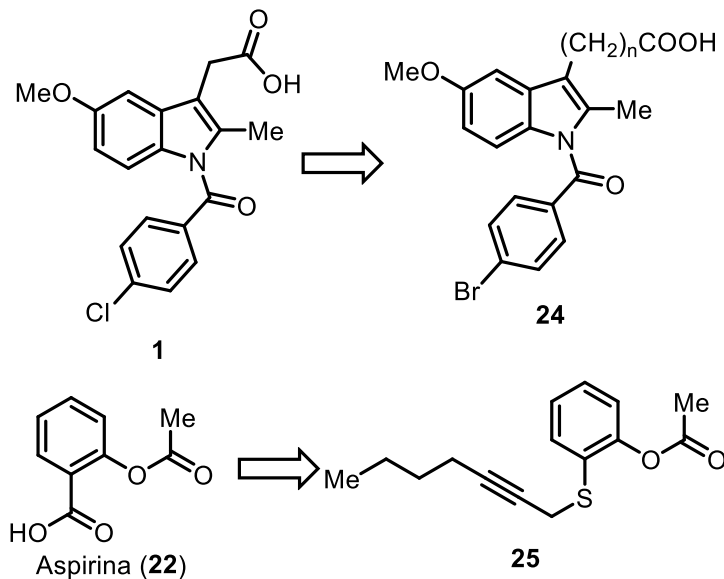


Figura 5. Reemplazo de sustituyentes en indometacina y aspirina, COX-2 selectivos.

¹⁴ Kalgutkar, A. S.; Marnett, A. B.; Crews, B. C.; Rimmel, R. P.; Marnett, L. J. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (15), 2860–2870. DOI: 10.1021/jm000004e.

1.4 INDOMETACINA

Este fármaco tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. La indometacina fue sintetizada por primera vez en 1963 por T. Y. Shen y colaboradores, demostró actividad antiinflamatoria en ensayos de inhibición de granuloma y edema de pie. Su potencia antiinflamatoria y antipirética fue mucho más eficaz en relación con otros fármacos como la fenilbutazona y aminopirina. La fiebre inducida en conejos se bloqueó eficazmente mediante la administración por vía subcutánea.¹⁵

Fórmula empírica: $C_{19}H_{16}NO_4Cl$, peso molecular: 357.8 g/mol. Es relativamente insoluble en agua pero soluble en los disolventes orgánicos. Se elimina rápidamente del plasma y tiene una vida media de 0.3 a 4 horas en varias especies.

En la administración oral a ratas, el fármaco se absorbe fácilmente y tiene una semivida plasmática de 21 horas. La excreción en ratas se realiza a través de vías urinarias, y se encuentra poca cantidad en heces. La rata y el perro aparentemente toleran menos la droga que el hombre o el mono. Los efectos tóxicos en ratas, perros y monos consisten principalmente en irritación gastrointestinal; en humanos es tolerado por el tracto digestivo humano.

La indometacina se utilizó para el tratamiento de la gota aguda, la espondilitis anquilosante, la osteoartritis y la artritis reumatoide, se obtuvieron menos efectos secundarios en comparación con otros farmacos. No se observó intolerancia o resistencia al fármaco en un año de tratamiento.¹⁶

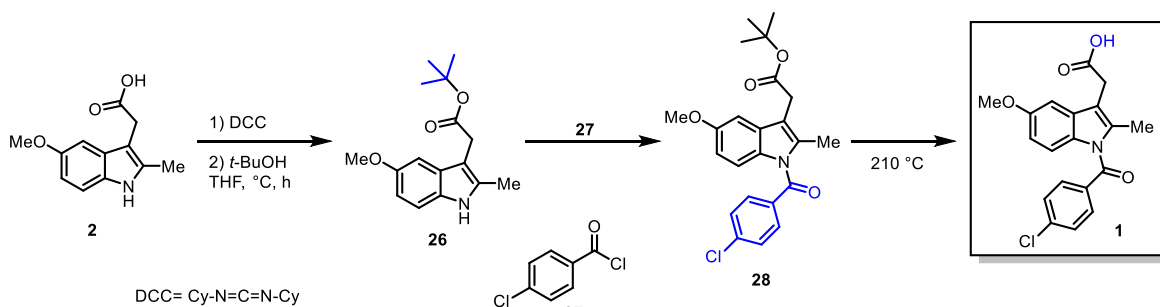
¹⁵ Shen, T. Y.; Windholz, T. B.; Rosegay, A.; Witzel, B. E.; Wilson, A. N.; Willett, J. D.; Holtz, W. J.; Ellis, R. L.; Matzuk, A. R.; Lucas, S.; Stammer, C. H.; Holly, F. W.; Sarett, L. H.; Risley, E. A.; Nuss, G. W.; Winter, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85* (4), 488–489. DOI: 10.1021/ja00887a038

¹⁶ Dudley Hart, F.; Boardman, P. L. *The BMJ.* **1963**, *2*, 965–970. www.jstor.org/stable/25395968.

1.4.1 SÍNTESIS DESCRITAS PARA LA INDOMETACINA

Se han descrito las siguientes síntesis:

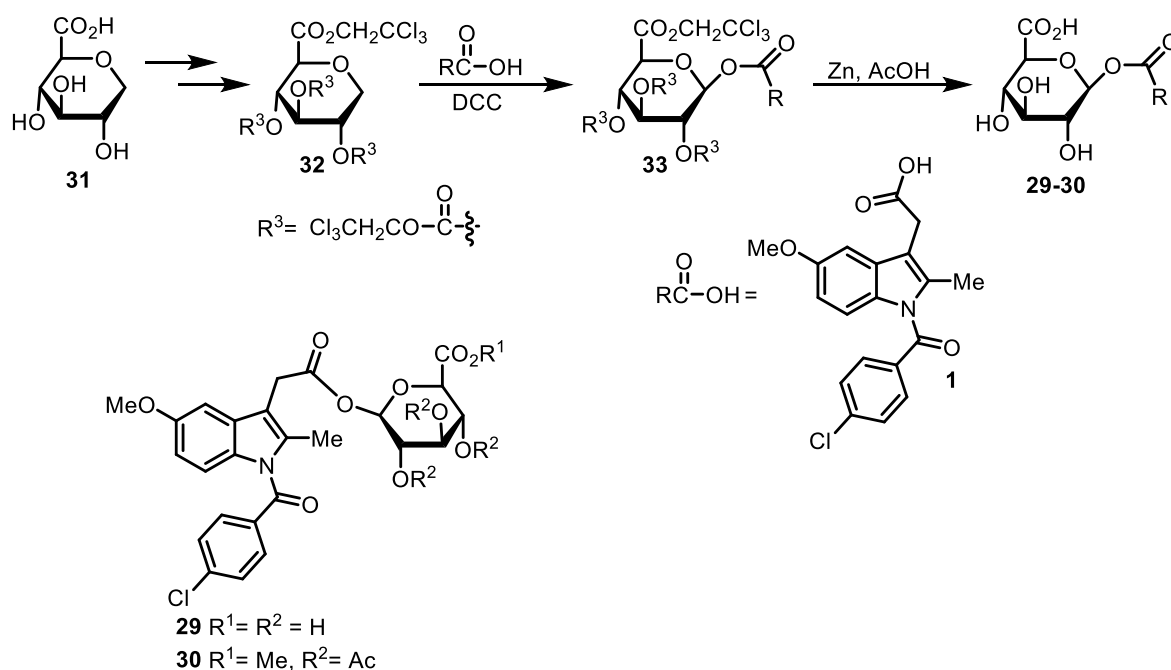
La primera fue en 1963 por Shen y colaboradores¹⁷, sintetizaron indometacina **1** a partir del ácido 5-metoxi-2-metilindol-3-acético **2** (Esquema 1). Éste se convirtió en su anhídrido con diciclohexilcarbodiimida (DCC) en tetrahidrofurano (THF), después se trató con *tert*-butanol para dar 5-metoxi-2-metil-3-indolil-acetato de *tert*-butilo **26**. La acilación del éster *tert*-butílico **26** con cloruro de *p*-clorobenzoílo **27** proporcionó 1-(*p*-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolilacetato de *tert*-butilo **28**. Dado que el grupo *N*-benzoilo era inestable en medio ácido o alcalino, el éster *tert*-butílico **28** se pirolizó a 210 °C para dar indometacina **1**.



Esquema 1. Síntesis de indometacina realizada por Shen y colaboradores.

¹⁷ Shen, T. Y.; Windholz, T. B.; Rosegay, A.; Witzel, B. E.; Wilson, A. N.; Willett, J. D.; Holtz, W. J.; Ellis, R. L.; Matzuk, A. R.; Lucas, S.; Stammer, C. H.; Holly, F. W.; Sarett, L. H.; Risley, E. A.; Nuss, G. W.; Winter, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85* (4), 488–489. DOI: 10.1021/ja00887a038

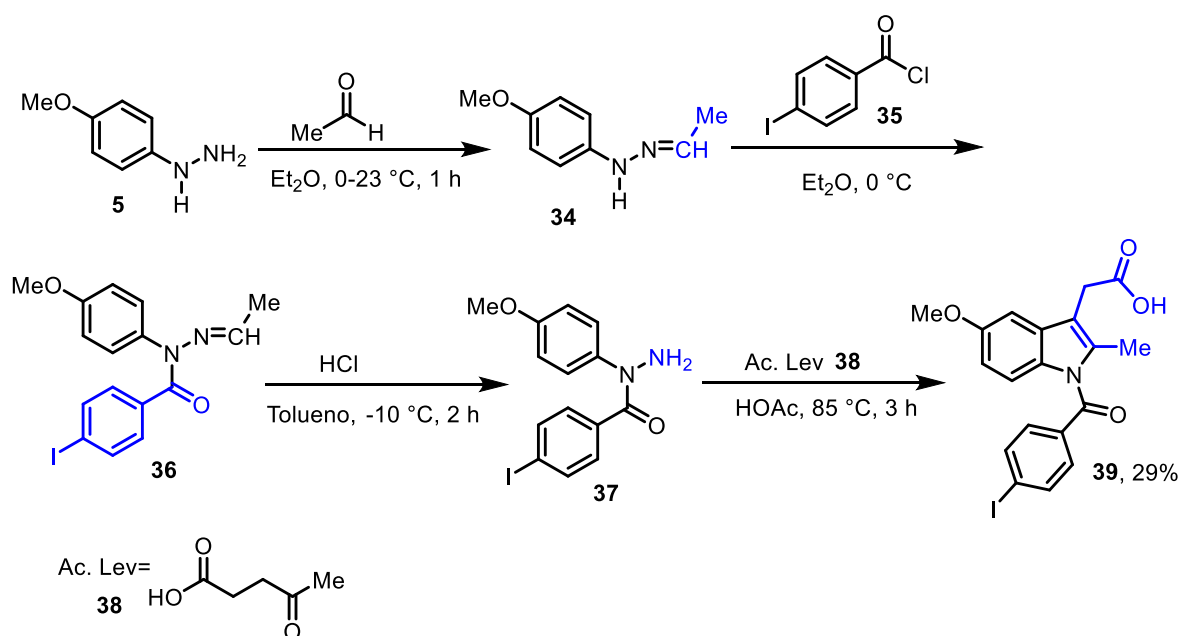
En 1971, Bugianesi y Shen, utilizaron la indometacina **1** como sustituyente en la síntesis de ácido de I-O-indometacin-β-D-glucosilurónico **29** (Esquema 2).¹⁸ Para la síntesis del ácido acil D-glucosilurónico **29-30**, depende de la incorporación de un grupo protector de hidroxilo adecuado que pueda eliminarse en condiciones suaves, como se muestra en el **esquema 2**. En este trabajo se utilizó el 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo (Trot) **33** como un grupo protector de hidroxilo, el cual se elimina con el tratamiento de polvo de zinc en ácido acético. Obteniendo los compuestos derivados de ácido de I-O-indometacin-β-D-glucosilurónico **29-30**.



Esquema 2. Ruta sintética para la obtención de ácido de I-O-indometacin-β-D-glucosilurónico, con sustituyente de indometacina.

¹⁸ Bugianesi, R.; Shen, T. Y. *Carbohydr. Res.* **1971**, *19* (2), 179–187. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)81618-3

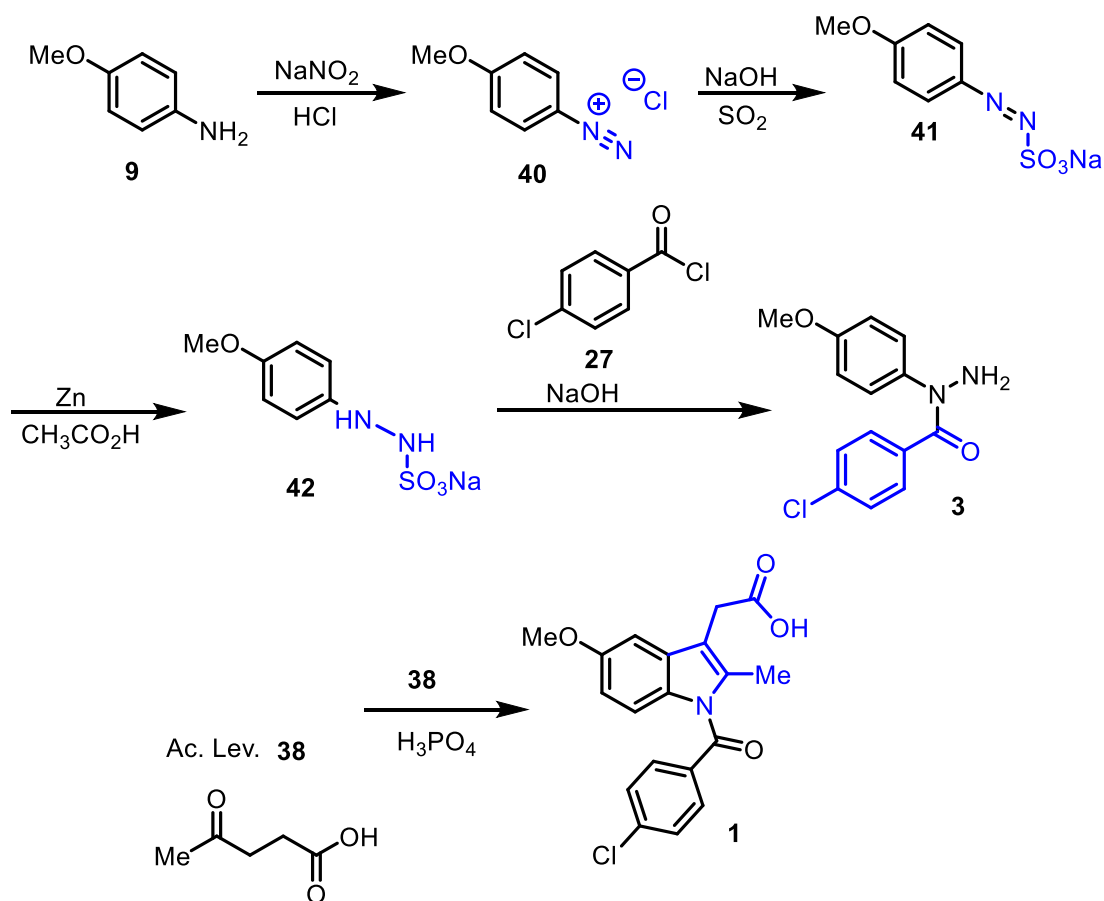
En 1996, Garavito y colaboradores, prepararon ácido 1- (4-yodobenzoil) -5-metoxi-2 metilindol-3-acético **39**.¹⁹ A partir de *p*-metoxifenilhidrazina **5** se le añadió acetaldehído en Et₂O, para formar **34**. Después se le agregó cloruro de *p*-yodobenzoílo **35**, se obtuvo el compuesto **36**. Posteriormente en presencia de HCl y tolueno, se formó el compuesto **37**. Se añadió ácido levulínico **38** a 85 °C por 3 h. Obteniendo el derivado de indometacina de interés **39**, con un rendimiento del 27% (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de un análogo de indometacina desarrollado por Garavito y colaboradores.

¹⁹ Loll, P. J.; Picot, D.; Ekabo, O.; Garavito, R. M. *Biochemistry*, **1996**, 35 (23), 7330–7340. DOI: 10.1021/bi952776w

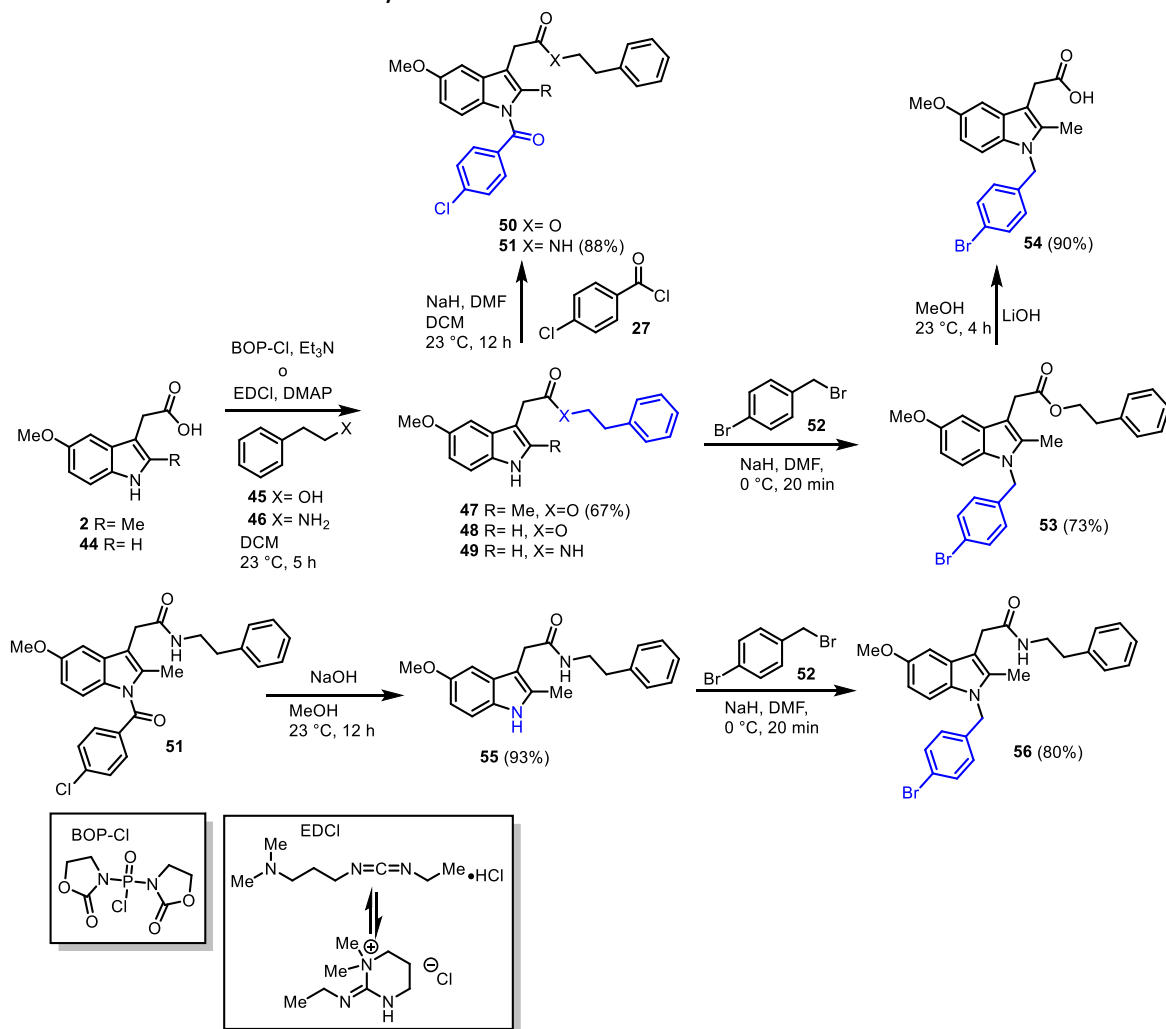
En 1998, Hodişan y colaboradores²⁰ sintetizaron indometacina, la metodología sintética está descrita en el esquema 4. A partir de la *p*-anisidina **9** y nitrito de sodio en medio ácido, se formó el compuesto **40** vía una reacción de diazotación, posteriormente en medio básico y dióxido de azufre, obtuvieron el compuesto **41**. Después con ácido acético y zinc se llevó a cabo la reducción obteniendo el compuesto **42**. Enseguida se llevó a cabo la acilación con cloruro de *p*-cloro benzoilo **27**, para la formación de la hidrazina **3**. Finalmente la adición del ácido levunílico **38** en medio ácido, generó la indometacina **1**.



Esquema 4. Síntesis de indometacina por Hodişan.

²⁰ Rusu, D.; Cimpoi, C.; Hodişan, T. *J Pharm Biomed Anal.* **1998**, 17 (3), 409–413. DOI: 10.1016/s0731-7085(97)00209-4

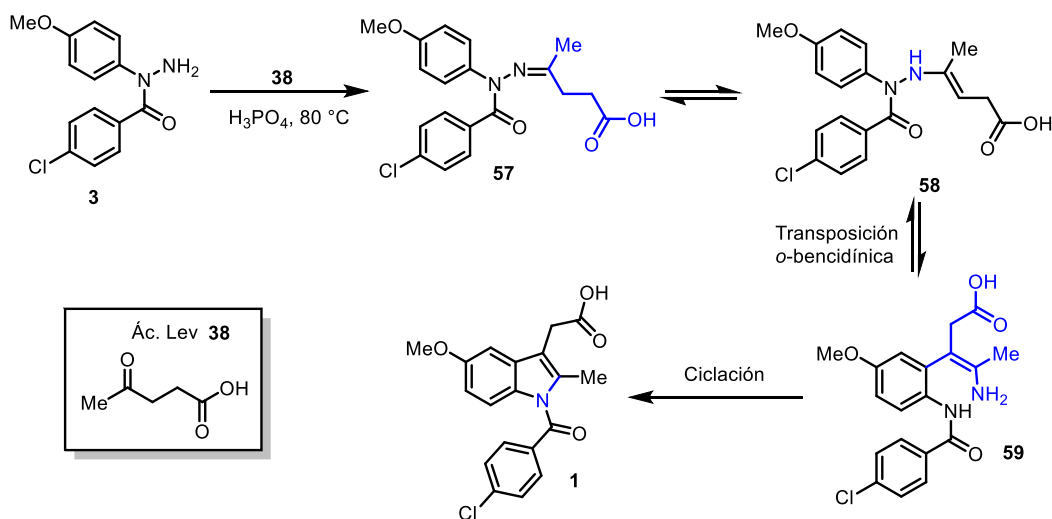
En el 2000, Marnett y colaboradores, utilizaron una metodología establecida en la síntesis de derivados de éster **50** y amida **51** de indometacina.²¹ La preparación de los derivados de 4-bromobencilo **53** y **54** se describe en el esquema 5. El ácido 5-metoxi-2-metilindol-3-acético **2** disponible comercialmente se convirtió en el correspondiente éster de feniletilo **47** mediante reacción con alcohol feniletílico **45** y BOP-Cl. La *N*-alquilación de **47** con bromuro de 4-bromobencilo **52** en presencia de hidruro de sodio (NaH) proporcionó **53**. La hidrólisis catalizada por base del enlace éster en **53** proporcionó el análogo **54** de indometacina. La amida **56** correspondiente se sintetizó de manera diferente. La hidrólisis del grupo 4-clorobenzoílo en indometacina fenetilamida **51** proporcionó indol **55** que tras la alquilación con bromuro de 4-bromobencilo **52** generó **56**. El éster desmetil fenetílico y los análogos de amida **50** y **51** se sintetizaron de manera análoga a partir de ácido 5-metoxiindol-3-acético **44**. La esterificación o amidación de **44** con alcohol feniletílico **45** o fenetilamina **46** proporcionó **48** y **49**, respectivamente, que tras la acilación con cloruro de 4-clorobenzoílo **27** dieron **50** y **51**.



Esquema 5. Derivados de indometacina desarrollados por Marnett y colaboradores.

²¹ Kalgutkar, A. S.; Marnett, A. B.; Crews, B. C.; Rimmel, R. P.; Marnett, L. J. *J. Med. Chem.* **2000**, *43* (15), 2860–2870. DOI: 10.1021/jm000004e

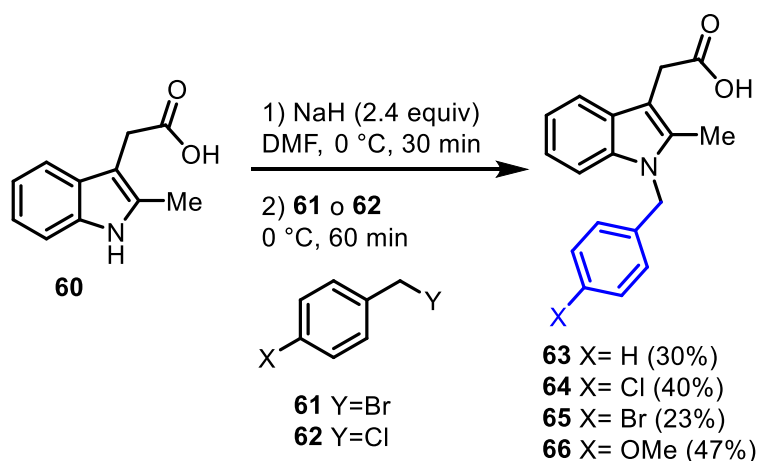
En el mismo año, Olea y colaboradores, publicaron el estudio cinético de la síntesis de indometacina **1**.²² En el esquema 6 se muestra la ruta sintética, la reacción se desarrolla en cuatro pasos. El primer paso ocurre la condensación del ácido levulínico **38** con *p*-clorobenzoyl-*p*-metoxi-fenilhidrazina **3** en medio ácido, se forma un intermedio **57**. En el segundo paso, mediante la isomerización de este intermedio se forma un compuesto de hidrazo **58**. En el tercer paso, a la isomerización le sigue la transposición *o*-bencídínica del producto **59**. En el cuarto paso, se forma indometacina **1** mediante una reacción de ciclación. La constante de velocidad de la reacción de síntesis de indometacina se determinó asumiendo que la reacción de ciclación constituye el paso determinante de la velocidad. Esta metodología fue confirmada por estudios computacionales.



Esquema 6. Síntesis de indometacina desarrollada por Olea.

²² Rusu, M.; Olea, M.; Rusu, D. *J Pharm Biomed Anal*, **2000**, 24 (1), 19–24. DOI: 10.1016/S0731-7085(00)00407-6.

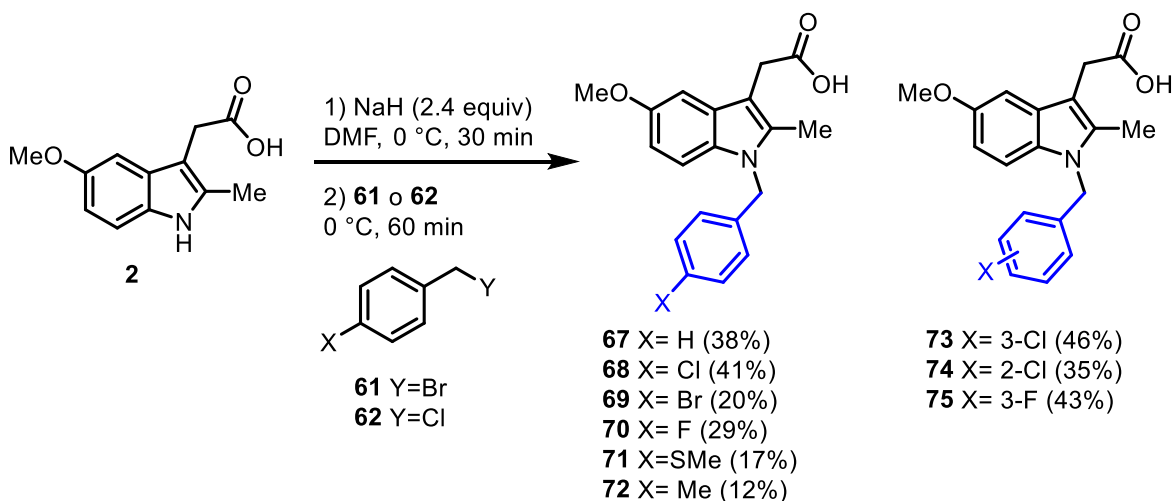
En 2001, Maguire y colaboradores, realizaron la síntesis de análogos de indometacina.²³ Los primeros compuestos investigados fueron derivados del ácido *N*-bencilindol-3-acético **63-66** para establecer si este cambio en la estructura de la indometacina era suficiente para la actividad COX-2 selectivos. Estos se prepararon a parti de la bencilación (**61** o **62**) de ácido indol-3-acético **60** en presencia de hiduro de sodio (NaH) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) como se ilustra en el esquema 7. Sin embargo estos compuestos sintetizados **63-66** no demostraron tener actividad COX-2 selectivos.



Esquema 7. Síntesis de derivados del ácido *N*-bencilindol-3-acético.

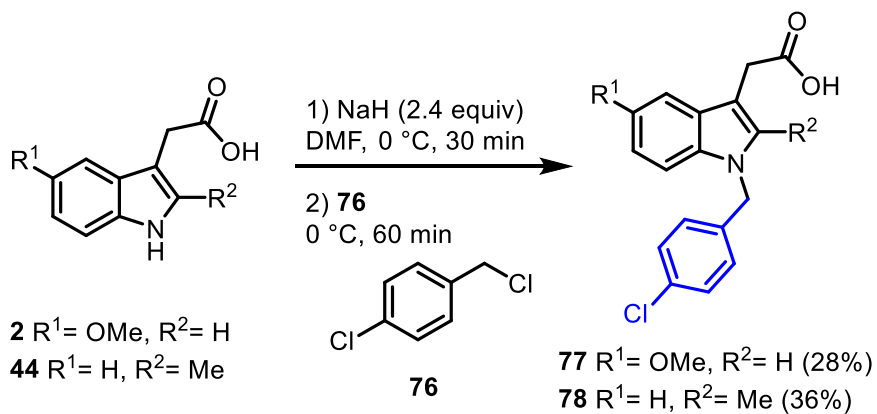
Maguire también reportó la siguiente serie de derivados de *N*-bencilo **67-72**, que estaban más relacionados estructuralmente con la indometacina **1** (esquema 8). Mediante la bencilación (**61** o **62**) del ácido 5-metoxi-2-metilindol-3-acético **2** disponible comercialmente. Se usaron cloruros y bromuros de bencilo **61** y **62**. Se obtuvieron los derivados de *N*-bencilo del 4-sustituyente **67-72**, y también la alternativa del cambio de posición 2 o 3 del sustituyente cloro (**73** y **74**), o el sustituyente flúor a la posición 3 (**75**).

²³ Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9 (3), 745–762. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00292-3



Esquema 8. Ruta sintética de derivados de *N*-benzilo.

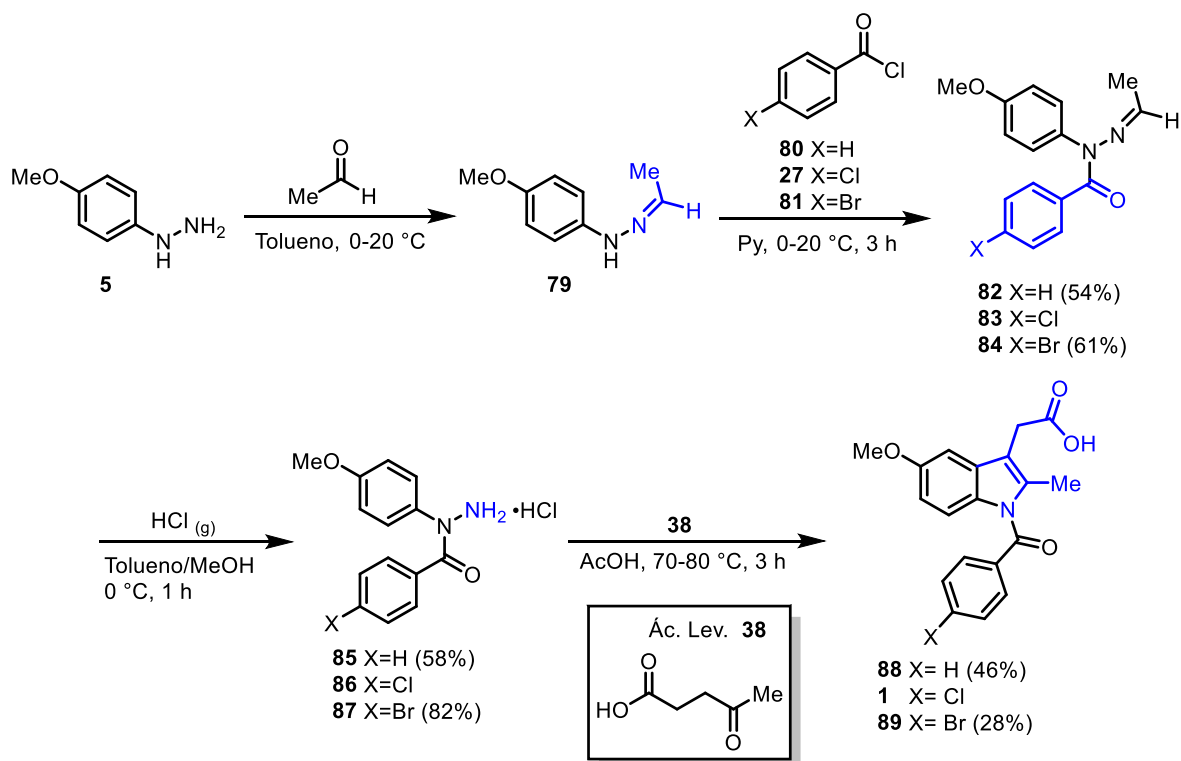
En este mismo estudio, Maguire también incluyó la influencia de los sustituyentes 2-metilo y 5-metoxi, los derivados *N*-4-clorobencilo **77** y **78**, en los que uno de estos grupos está ausente en cada uno, se prepararon mediante benzilación de ácido 5-metoxiindol-3-acético **2** y 2-metilindol-3-acético **44**, con cloruro de 4-clorobencilo **76** (esquema 9).²⁴



Esquema 9. Síntesis de derivados *N*-4-clorobencilo desarrollada por Maguire.

²⁴ Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* (3), 745–762. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00292-3

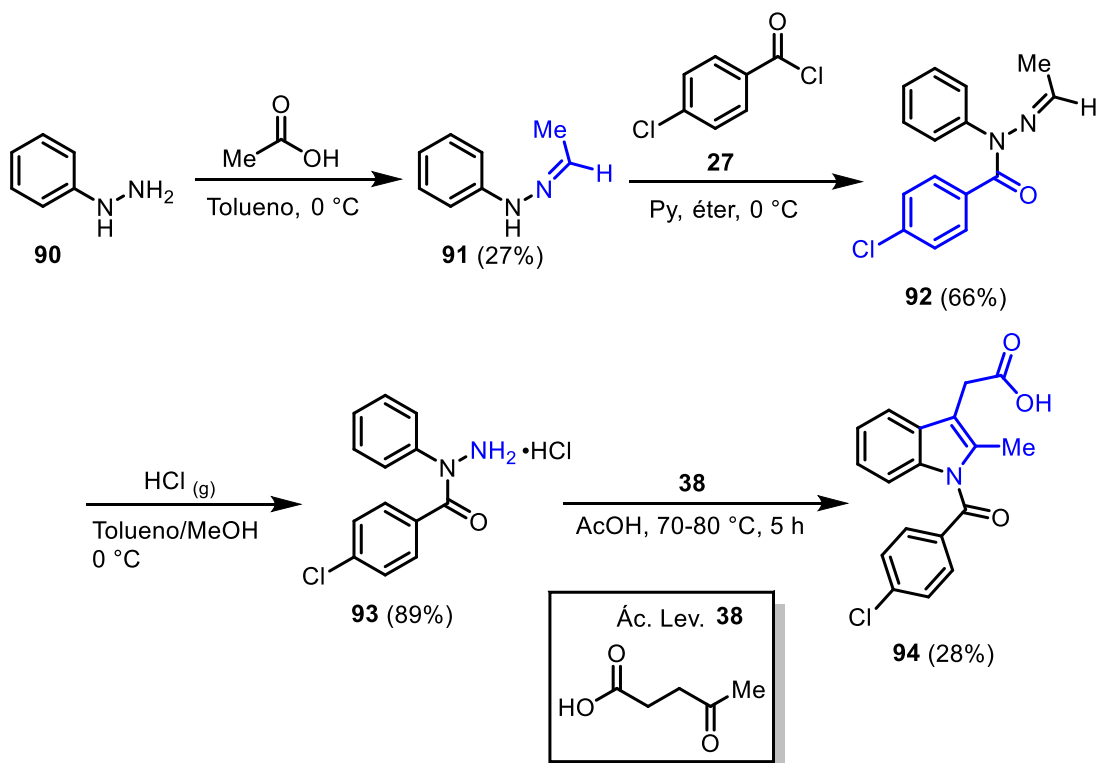
Otra ruta sintética reportada en el esquema 10 muestra la ruta sintética a partir de *p*-metoxifenilhidrazina **5** con acetaldehído en tolueno para dar la hidrazona **79**, que luego la reacción de acilación para obtener **85-87**, posteriormente el tratamiento con ácido clorhídrico gaseoso produce la hidrazina **82-84**. Después la ciclación con ácido levulínico **38** en la síntesis clásica de indol de Fischer proporciona la indometacina **1** y sus análogos **88** y **89**.



Esquema 10. Síntesis de indometacina y sus análogos a partir de *p*-metoxifenilhidrazina.

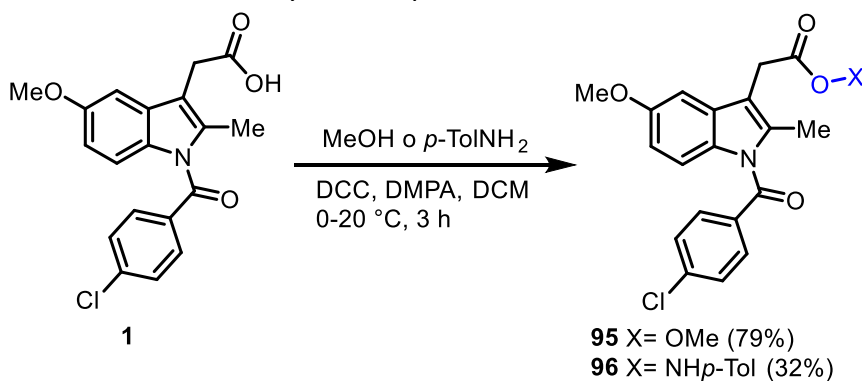
Otra ruta sintética se describe en el esquema 11. Partiendo de la fenilhidrazina **90** con ácido acético en tolueno se obtuvo la hidrazona **91** en un 27%. Después la acilación con el cloruro de *p*-clorobenzoilo **27**, se formó el compuesto **92**. Después se agregó ácido clorhídrico gaseoso, para obtener **93** y finalmente con ácido levulínico **38** en ácido acético para obtener **94** con un rendimiento de 28%.²⁵

²⁵ Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* (3), 745–762. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00292-3



Esquema 11. Síntesis de derivados de indometacina a partir de fenilhidrazina.

En este mismo estudio, Maguire²⁶ reportó otra modificación a la estructura de indometacina **1** para determinar la importancia del resto de ácido carboxílico (esquema 12), se prepararon los derivados de indometacina **95** y **96**. Si bien estos compuestos pueden hidrolizarse *in vivo* para liberar indometacina, se esperaba que su solubilidad y propiedades de transporte fueran muy diferentes a las el ácido libre **1**. El éster metílico **95** y la *p*-tolilamida **96** se prepararon con metanol y *p*-toluidina, respectivamente, en presencia de DCC y DMAP con rendimientos de 79 y 32% respectivamente.



Esquema 12. Modificación en el ácido carboxílico de la estructura de indometacina desarrollada por Maguire.

²⁶ Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* (3), 745–762. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00292-3

Maguire y colaboradores²⁷, también reportaron la síntesis de derivados de *N*-bencil indolacetamida **118**, **119**, **123** y **124** la cual se describe en el esquema 13. Los enaminoésteres **100** y **101** se prepararon con rendimientos cuantitativos condensando bencilamina **99** con acetoacetato de metilo **97** y acetato de propionilo de metilo **98** en presencia de una cantidad catalítica de ácido *p*-toluenosulfónico. La ciclación de Nenitzescu de los ésteres de enamino **100** y **101** con *p*-benzoquinona **102** en nitrometano, es el paso clave en esta estrategia sintética que forma el núcleo de indol deseado **103** y **104**.

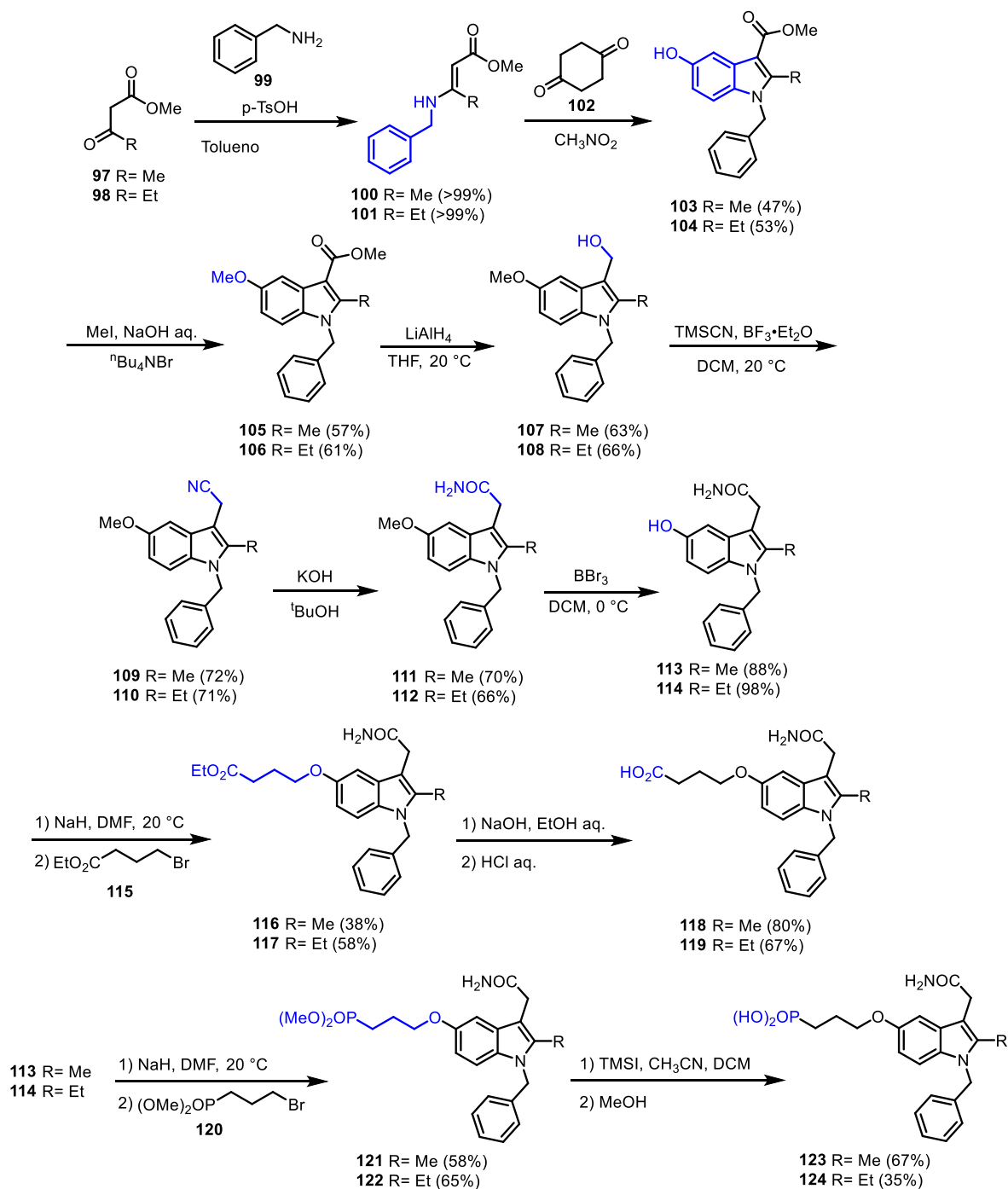
El siguiente paso es la protección del grupo hidroxilo. El tratamiento de los indoles **103** y **104** con yoduro de metilo en condiciones de transferencia de fase dio como resultado los productos alquilados **105** y **106**. Después, con hidruro de litio y aluminio en THF, tuvo lugar la reducción para obtener los alcoholes **107** y **108**. La conversión de **102** y **103** en los cianoindoles **109** y **110** se logró con cianotrimetilsilano como nucleófilo en presencia de eterato de trifluoruro de boro.

La hidrólisis del grupo ciano se realizó con hidróxido de potasio en *tert*-butanol a reflujo, para obtener **111** y **112**. La escisión del grupo protector 5-metoxilo se logró mediante tratamiento con solución de tribromuro de boro en diclorometano para dar las 5-hidroxiindolacetamidas **113** y **114**.

La alquilación con 4-bromobutirato de etilo **115** procedió con buenos rendimientos para dar los productos de cadena extendida **116** y **117**. La saponificación con hidróxido de sodio acuoso y la acidificación posterior con ácido clorhídrico dieron a los compuestos **118** y **119**.

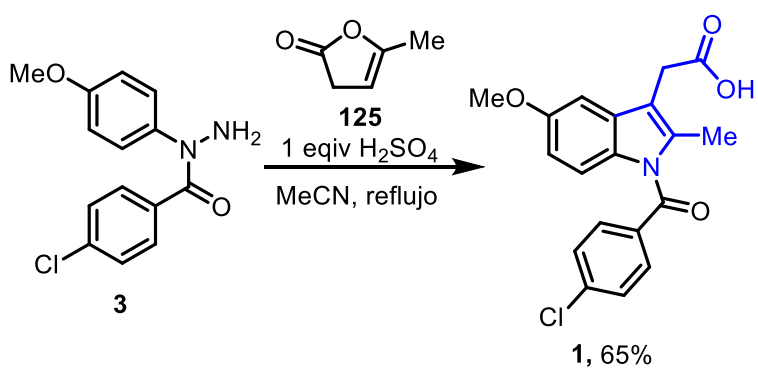
El bromofosfonato **120** se sintetizó mediante una reacción de Arbuzov de trimetilfosfito con un exceso de dibromopropano. La cadena lateral de fosfonato se unió luego a las 5-hidroxiindolacetamidas **113** y **114**. El tratamiento primero con hidruro de sodio, luego con el (bromopropil) fosfonato proporciona **121** y **122**. La escisión de la función éster fosfonato se logró con yodotrimetilsilano en diclorometano / acetonitrilo. los ésteres de fosfonato de trimetilsililo, después el tratamiento con metanol, obteniendo así los ácidos fosfónicos **123** y **124** esperados (Esquema 13).

²⁷ Maguire, A. R.; Plunkett, S. J.; Papot, S.; Clynes, M.; O'Connor, R.; Touhey, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* (3), 745–762. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00292-3



Esquema 13. Derivados de *N*-bencil indolacetamida.

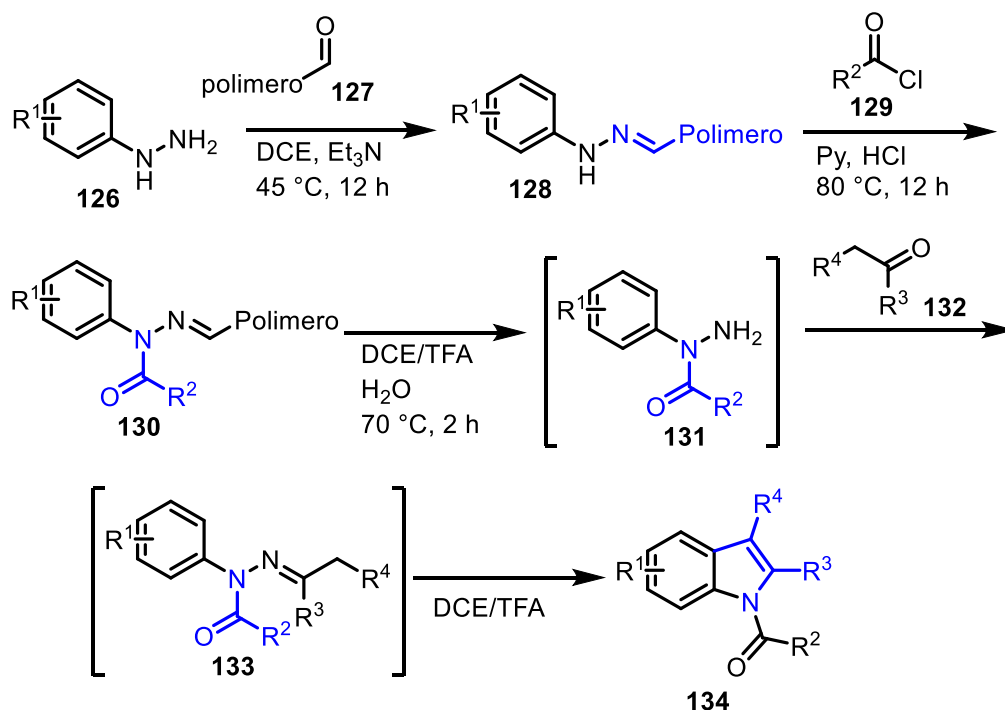
En 2004, Campos y colaboradores, sintetizaron indometacina a partir de *N*-acilhidrazina **3**.²⁸ La ruta sintética se describe en el esquema 14. El acoplamiento de *N*-acilhidrazina **3** con angelicalactona **125** en medio ácido proporcionó indometacina **1** con un rendimiento de 65%. Este procedimiento tiene enfoque de un solo paso para la síntesis regioselectiva de indometacina a partir de materiales de partida comercialmente disponibles.



Esquema 14. Síntesis de indometacina a partir de *N*-acilhidrazina.

²⁸ Campos, K. R.; Woo, J. C. S.; Lee, S.; Tillyer, R. D. *Org. Lett.* **2004**, 6 (1), 79–82. DOI: 10.1021/ol036113f.

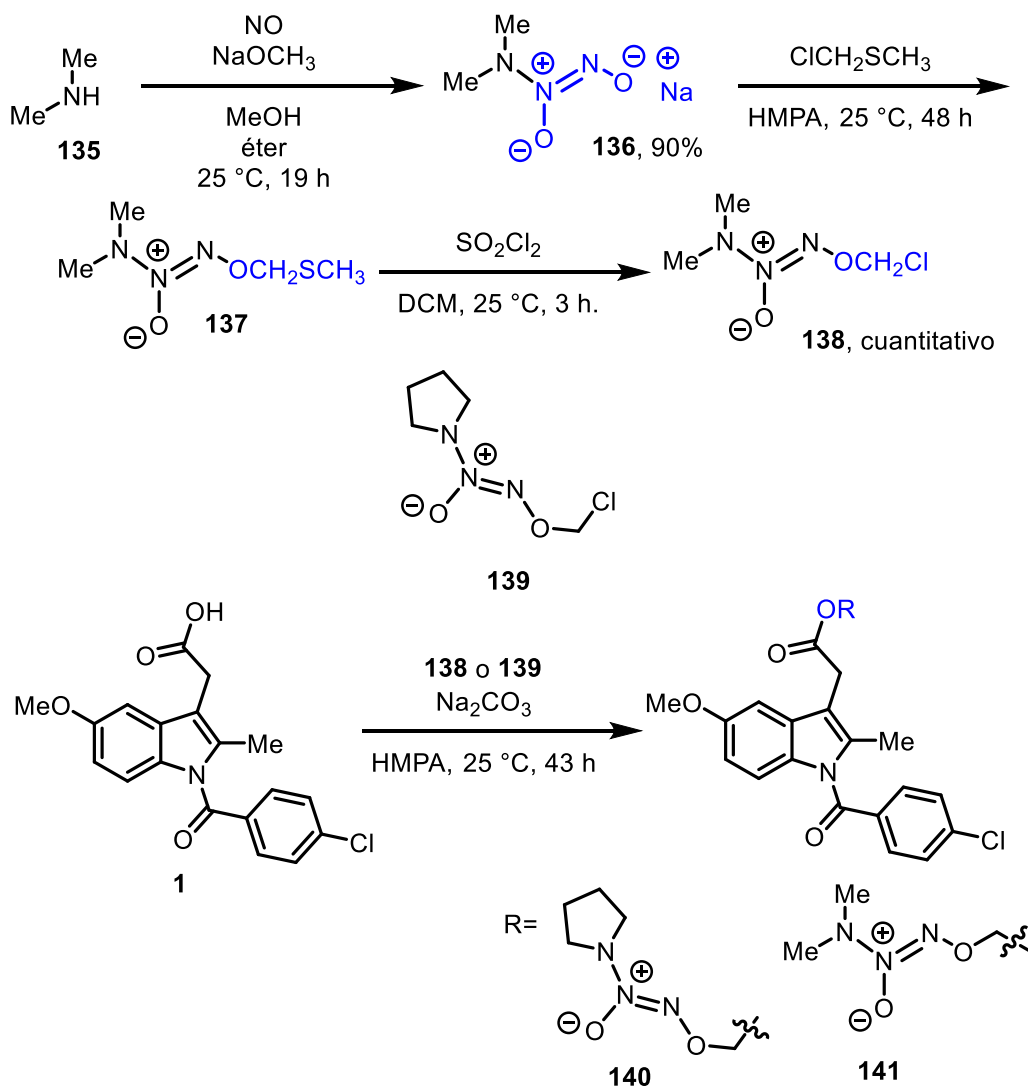
En 2005, Waldmann y colaboradores²⁹, sintetizaron análogos de indometacina los cuales se describen en el esquema 15. Se utilizan aldehidos enlazados a polimeros **127**, se hizo una estrategia de "liberación de captura de resina" con el uso de tres tipos de bloques de construcción disponibles y la liberación final del soporte sólido. La resina de poliestireno aldehído **127** se condensó con hidrazinas **126** para producir hidrazonas unidas a polímero **128**. El polímero **128** sirve como auxiliar de captura de reactivo **129**, lo que permite para una fácil eliminación del reactivo sobrante y como función de bloqueo temporal para el grupo amino terminal de la hidracina **128**. Las hidrazonas **130** aciladas en *N* regioselectivamente obtenidas de este modo se someten luego a tratamiento con ácido y cetonas **132** en presencia de agua para producir los derivados indólicos **134** deseados. En esta secuencia de reacción, el agua hidroliza las hidrazonas y libera así las hidrazinas **131** aciladas selectivamente en solución donde se condensan con cetonas **132** para dar hidrazona intermedios **133**. Estos luego experimentan una transposición [3,3] – sigmatrópica, para la formación del producto deseado.



Esquema 15. Síntesis de análogos de indometacina a partir de hidrazinas.

²⁹ Rosenbaum, C.; Röhrs, S.; Müller, O.; Waldmann, H. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (4), 1179–1187. DOI: 10.1021/jm0499099

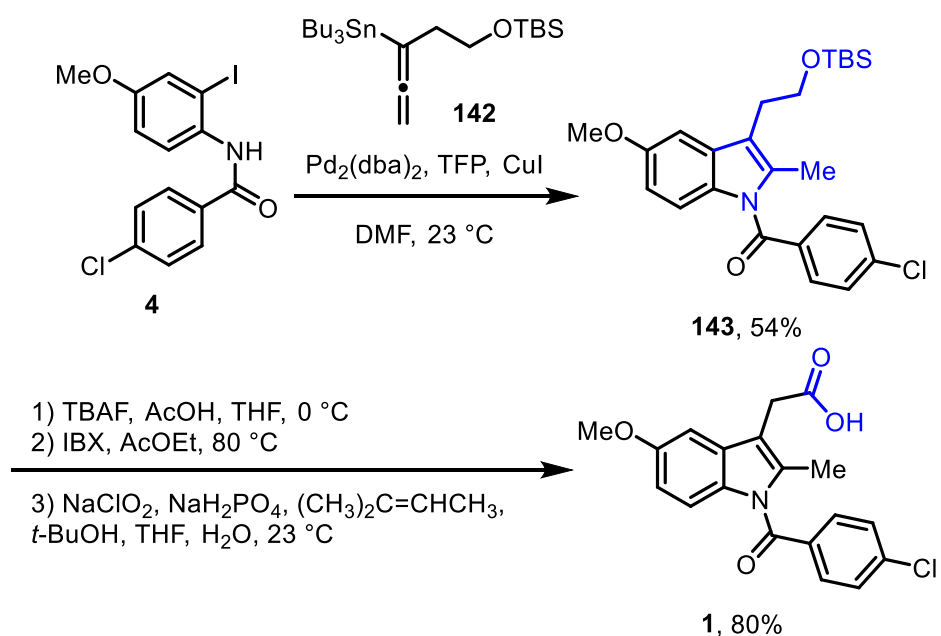
En 2005, Knaus y colaboradores sintetizaron análogos de indometacina.³⁰ Se preparó O²-clorometil-1-(*N,N*-dimetilamino) diazen-1-*io*-1,2-diolato **138** el cual se muestra en el esquema 16. La reacción comienza con dimetilamina **135** con óxido nítrico gaseoso en presencia de metóxido de sodio, para obtener el O²-sodio 1-(*N,N*-dimetilamino) diazen-1-*io*-1,2-diolato **136**. Después sal de sodio **136** se alquiló con clorometil metil sulfuro para producir O²-(metiltiometil)-1-(*N,N*-dimetilamino) diazen-1-*io*-1,2-diolato **137**, posteriormente reaccionó con cloruro de sulfurilo en diclorometano, para producir el diolato de diazenio protegido con O²-clorometilo **138**. Los compuestos **138** y **139**, se utilizaron para modificar la estructura de la indometacina **1**, como se muestra en el esquema 16, para obtener los compuestos **140** y **141** y evaluar su inhibición de la enzima COX.



Esquema 16. Modificación de la estructura de indometacina de Knaus.

³⁰ Velázquez, C.; Praveen Rao, P. N.; Knaus, E. E. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (12), 4061–4067. DOI: 10.1021/jm050211k

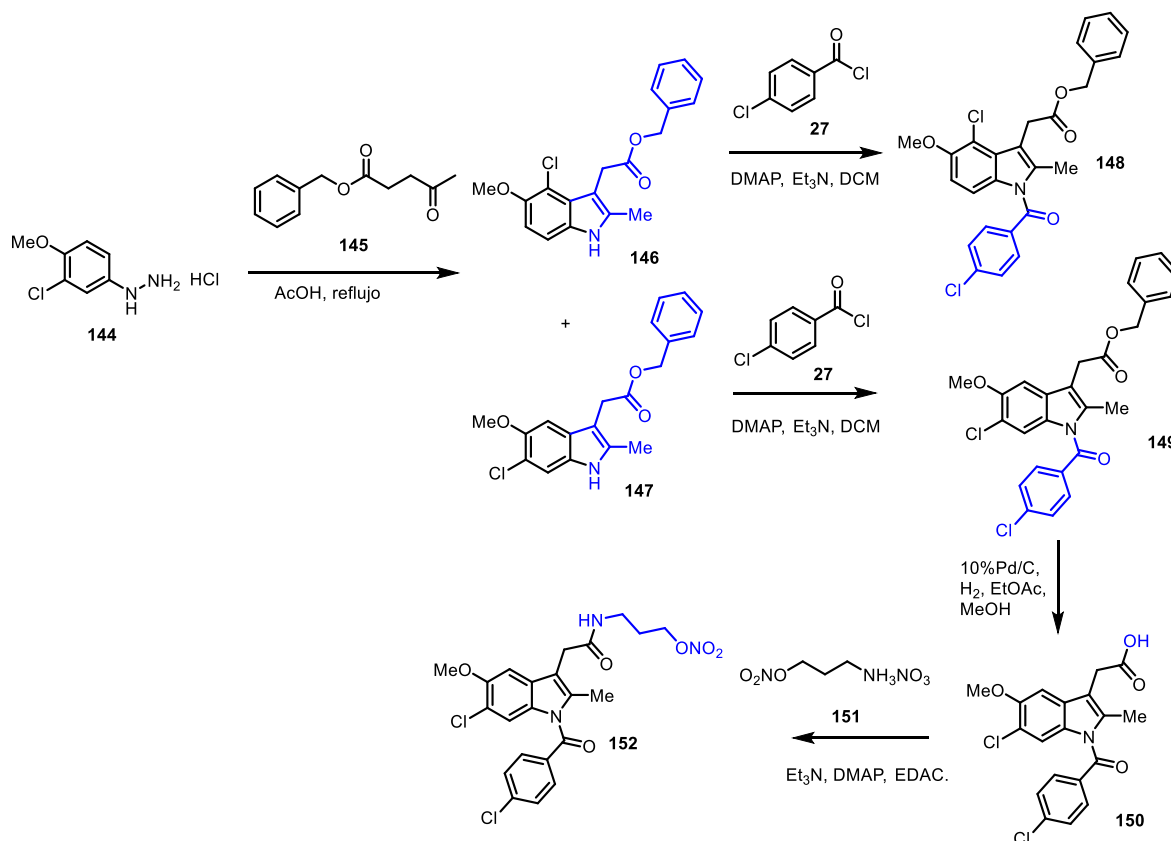
En 2005, Mukai y Takahashi, realizaron la síntesis de indometacina a partir de *N*-acil-2-yodoanilina **4**.³¹ Esta se hizo reaccionar con el compuesto de organoestano **142** en un acoplamiento cruzado de Stille catalizado por paladio. En la reacción se produjo directamente **143**, que posteriormente se transformó en indometacina **1** mediante la conversión de tres pasos como se muestra en el esquema 17.



Esquema 17. Síntesis de indometacina, mediante acoplamiento cruzado de Stille catalizado por paladio.

³¹ Mukai, C.; Takahashi, Y. *Org. Lett.* **2005**, 7 (26), 5793–5796. DOI: 10.1021/ol052179u

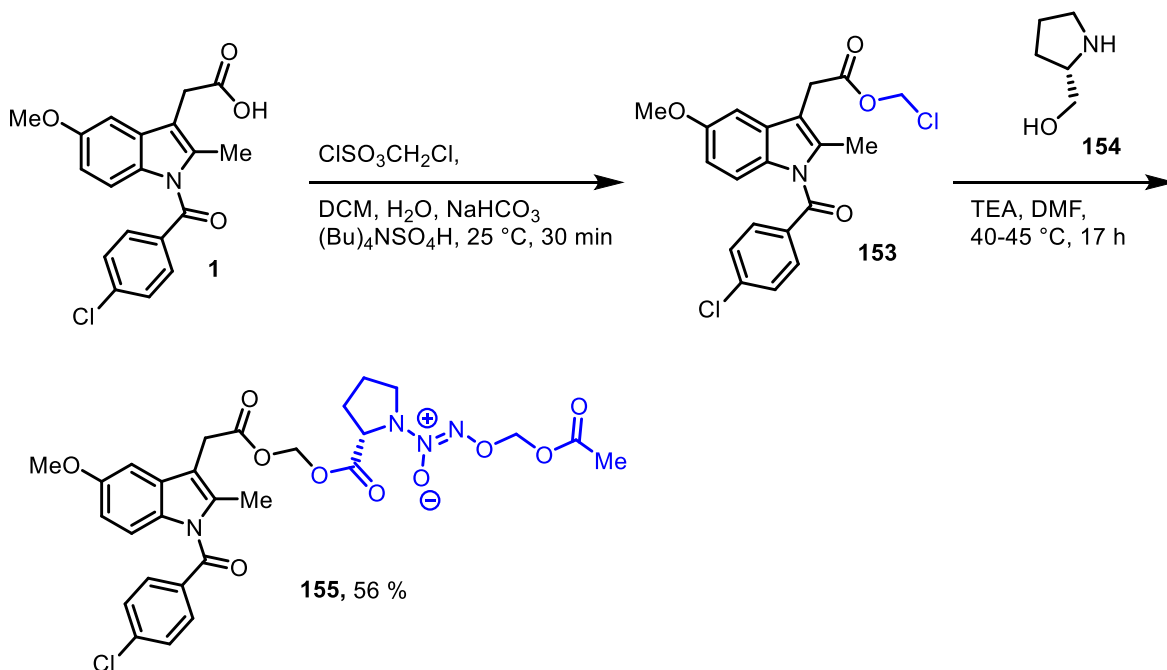
En 2007, Wey y colaboradores³² sintetizaron análogos de indometacina. Los derivados de la indometacina se prepararon a partir de una síntesis de indol de Fisher como se muestra en el esquema 18. El compuesto de hidrazina **144** y el levulinato de bencilo **145** en ácido acético dieron los compuestos **146** y **147** en una proporción de 1:2. Estos dos regioisómeros se hicieron reaccionar con cloruro de 4-clorobenzoilo **27** en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) para obtener **148** y **149**, respectivamente. Se obtuvo 6-cloro indometacina **150** mediante hidrogenación del éster bencílico **149** en presencia de paladio soportado en carbono. El eter de amina-nitrato **151** reaccionó con el ácido carboxílico para producir el compuesto **152**.



Esquema 18. Ruta sintética de derivados de indometacina desarrollada por Wey.

³² Wey, S.-J.; Augustyniak, M. E.; Cochran, E. D.; Ellis, J. L.; Fang, X.; Garvey, D. S.; Janero, D. R.; Letts, L. G.; Martino, A. M.; Melim, T. L.; Murty, M. G.; Richardson, S. K.; Schroeder, J. D.; Selig, W. M.; Trocha, A. M.; Wexler, R. S.; Young, D. V.; Zemtseva, I. S.; Zifcak, B. M. *J. Med. Chem.* **2007**, *50* (25), 6367–6382. DOI: 10.1021/jm0611861

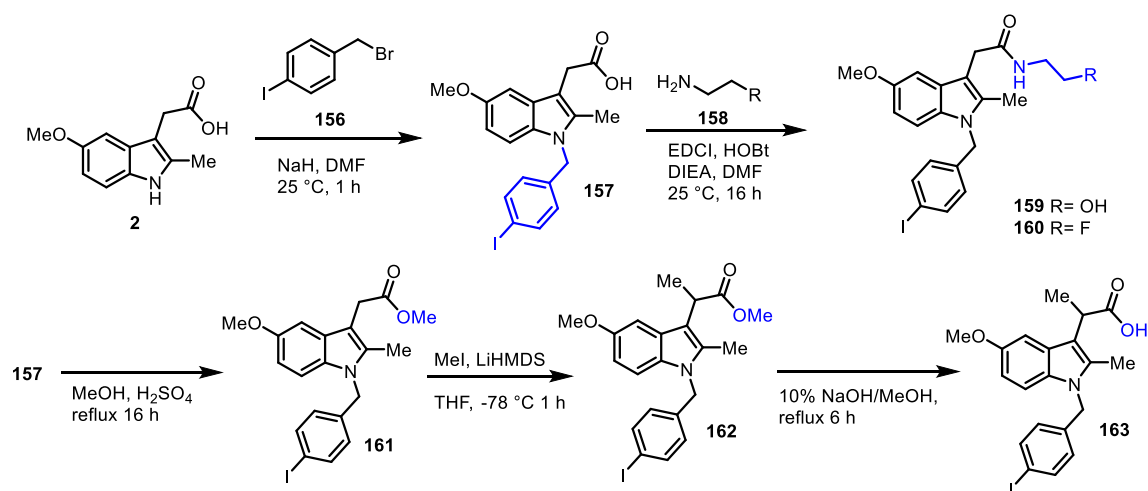
En 2008, Knaus y colaboradores³³ hicieron reaccionar indometacina **1** con clorosulfato de clorometilo en diclorometano (DCM) para producir cloro metil 2- [1- (4-clorobenzoil) -5-metoxi -2-metil-1*H*-indol 3-il] acetato **153**. El profármaco de éster **155** se sintetizo por condensación del éster clorometílico **153** con el compuesto **154** mediante el uso de disolvente aprótico polar dimetilformamida (DMF) (esquema 19).



Esquema 19. Modificación de la estructura de indometacina desarrollada por Knaus y colaboradores.

³³ Velázquez, C. A.; Chen, Q.-H.; Citro, M. L.; Keefer, L. K.; Knaus, E. E. *J. Med. Chem.* **2008**, *51* (6), 1954–1961.
DOI: 10.1021/jm701450q

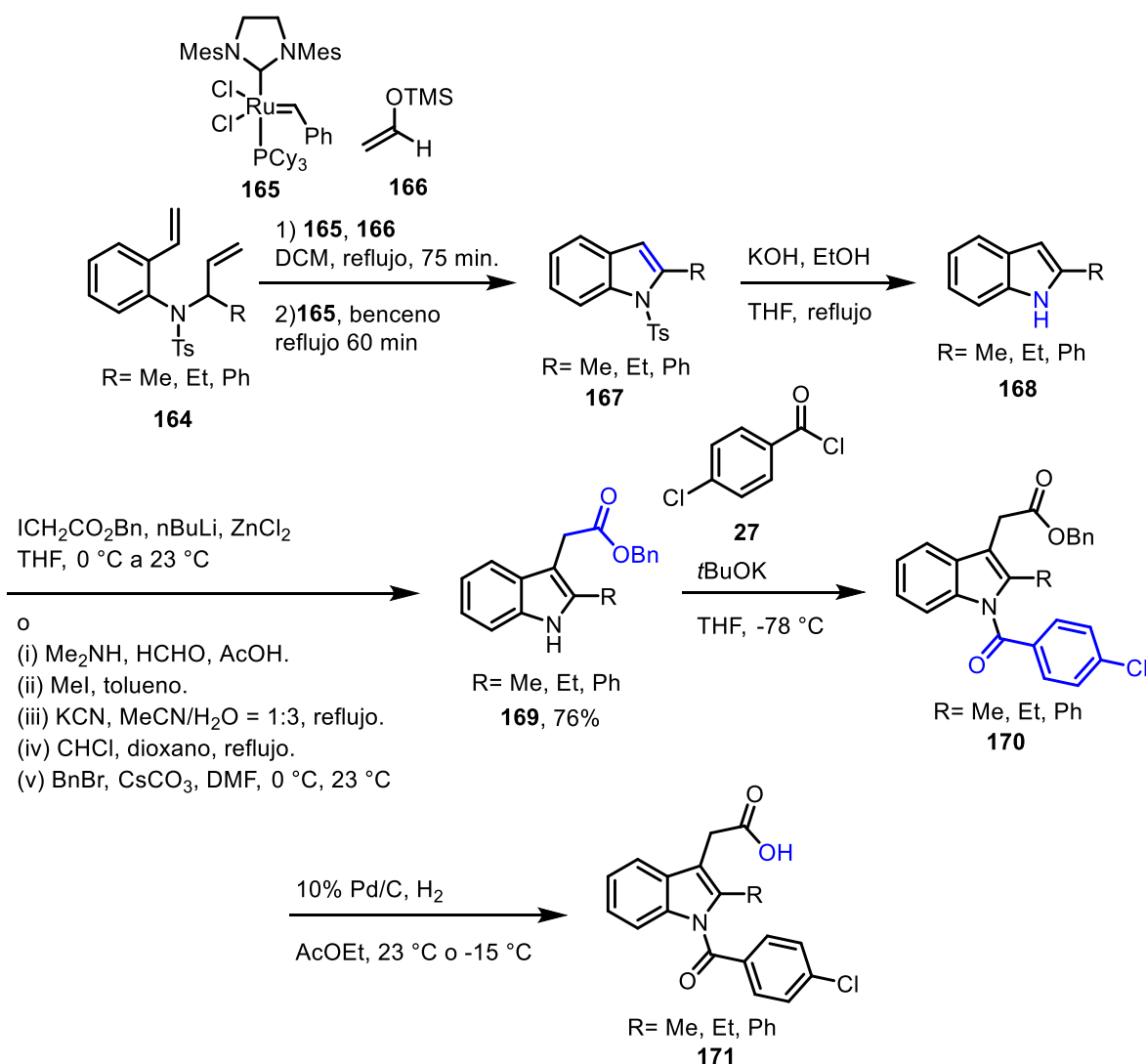
En 2009, Marnett y colaboradores³⁴, desarrollaron una ruta sintética para la obtención de análogos de indometacina, este procedimiento se describe en el esquema 20. Se generó una serie de derivados de indometacina yodados **159**, **160** y **163** basándose en la sustitución de *p*-halobencilo **162** en el nitrógeno indol. Se ha informado que el análogo de *p*-bromobencilo es un inhibidor selectivo de la COX-2. Se sintetizó el ácido 1-(*p*-yodobencil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacético **157** por alquilación directa de ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolacético **2** con *p*-yodobencilbromuro **156** en presencia de hidruro de sodio (NaH). El compuesto **157** en presencia de **158** se obtuvo la amida **159** y **160**. Otra ruta que describen es a partir de **157**, en medio ácido se obtuvo el éster **161**, despues con yodo metano, se obtuvo el compuesto **162** y finalmente en medio básico para obtener el análogo de indometacina **163**.



Esquema 20. Síntesis de análogos de indometacina, a partir de indoles desarrollada por Marnett y colaboradores.

³⁴ Uddin, Md. J.; Crews, B. C.; Blobaum, A. L.; Kingsley, P. J.; Ghebreselasie, K.; Saleh, S. S.; Clanton, J. A.; Baldwin, R. M.; Marnett, L. J. *J Label Compd Radiopharm* **2009**, 52 (9), 387–393. DOI: 10.1002/jlcr.1615

En 2011, Shuto y colaboradores, sintetizaron indometacina y análogos, para evaluar su eficacia en la inhibición de la COX-2.³⁵ Esta síntesis se describe en el esquema 21. El primer paso de la ruta sintética, fue la obtención del indol **167**, esta metodología la describieron varios años antes.³⁶ A partir del *N*-alil-*N*-toluenosulfonyl-2-vinilanilina **164**, en presencia del catalizador de Grubbs de segunda generación **165**, se formó el indol **167** deseado. Después la remoción del grupo *p*-toluenosulfonylo en el nitrógeno, para obtener el indol **168**. La introducción de un sustituyente en la posición 3 del anillo indol se logró mediante una 3-alkilación o una reacción de Mannich para producir **169**. Posteriormente la acilación con el cloruro de *p*-clorobenzoilo **27**, para obtener **170** y la posterior hidrogenación condujeron a los análogos de indometacina **171**.

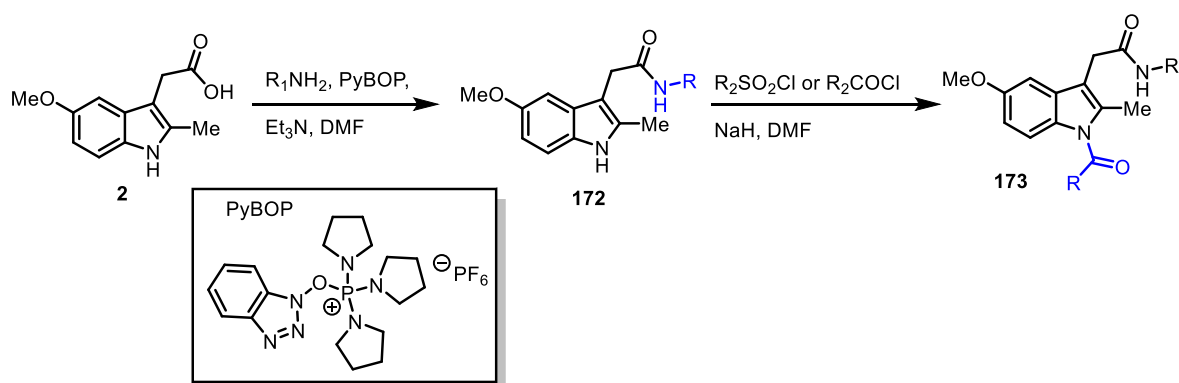


Esquema 21. Síntesis de análogos de indometacina, metodología de Shuto.

³⁵ Arisawa, M.; Kasaya, Y.; Obata, T.; Sasaki, T.; Ito, M.; Abe, H.; Ito, Y.; Yamano, A.; Shuto, S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2 (5), 353–357. DOI: 10.1021/ml100292y

³⁶ Arisawa, M.; Terada, Y.; Takahashi, K.; Nakagawa, M.; Nishida, A. *J. Org. Chem.* **2006**, 71 (11), 4255–4261. DOI: 10.1021/jo060308u

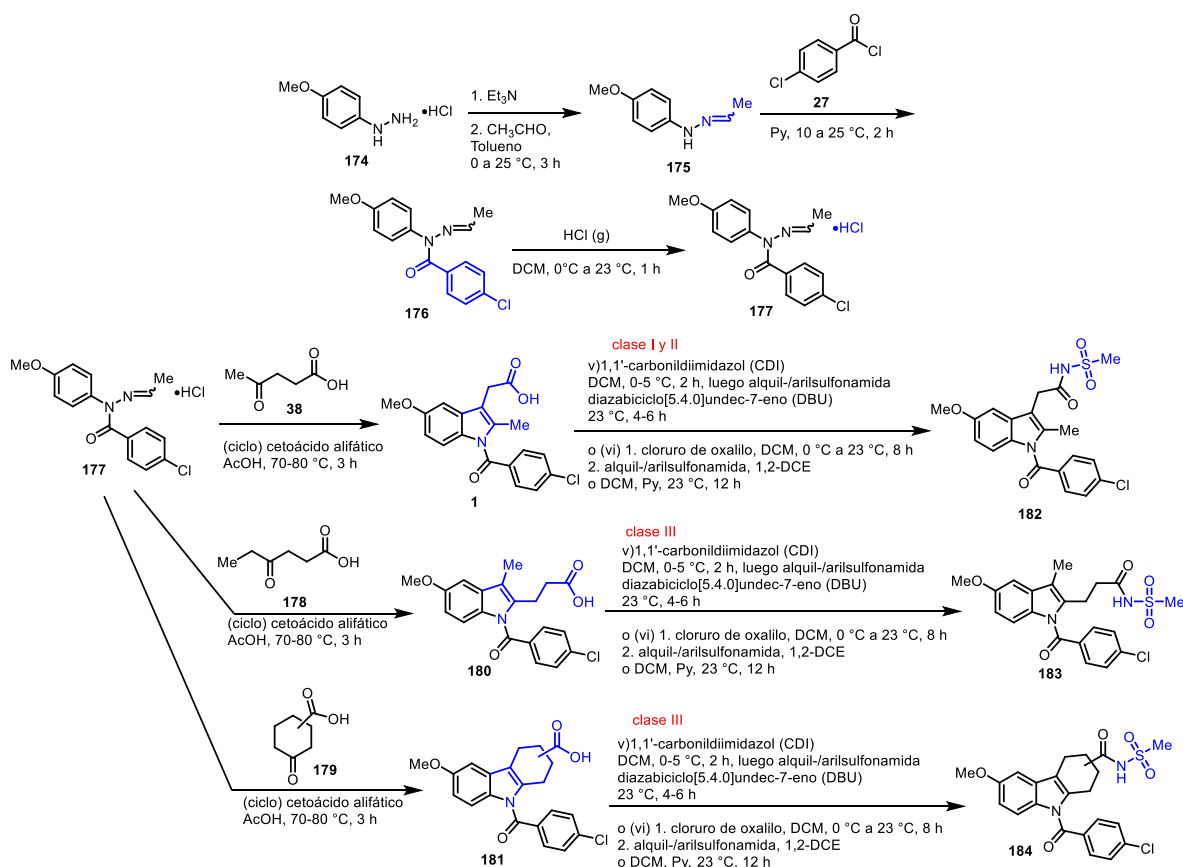
En 2012, Su y colaboradores³⁷, reportaron la síntesis de análogos de indometacina. El grupo carboxilo de la indometacina se convirtió inicialmente en un enlace amida. En presencia del reactivo de acoplamiento benzotriazol-1-il-oxitripirrolidino fosfonio hexafluorofosfato (PyBOP) y el ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolacético **2**, se obtuvo el compuesto intermedio de amida **172**, después compuestos de benzoílo sustituidos en presencia de hidruro de sodio para dar los análogos **173** (esquema 22).



Esquema 22. Síntesis de análogos de indometacina desarrollada por Su y colaboradores.

³⁷ Chennamaneni, S.; Zhong, B.; Lama, R.; Su, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *56*, 17–29. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.08.005

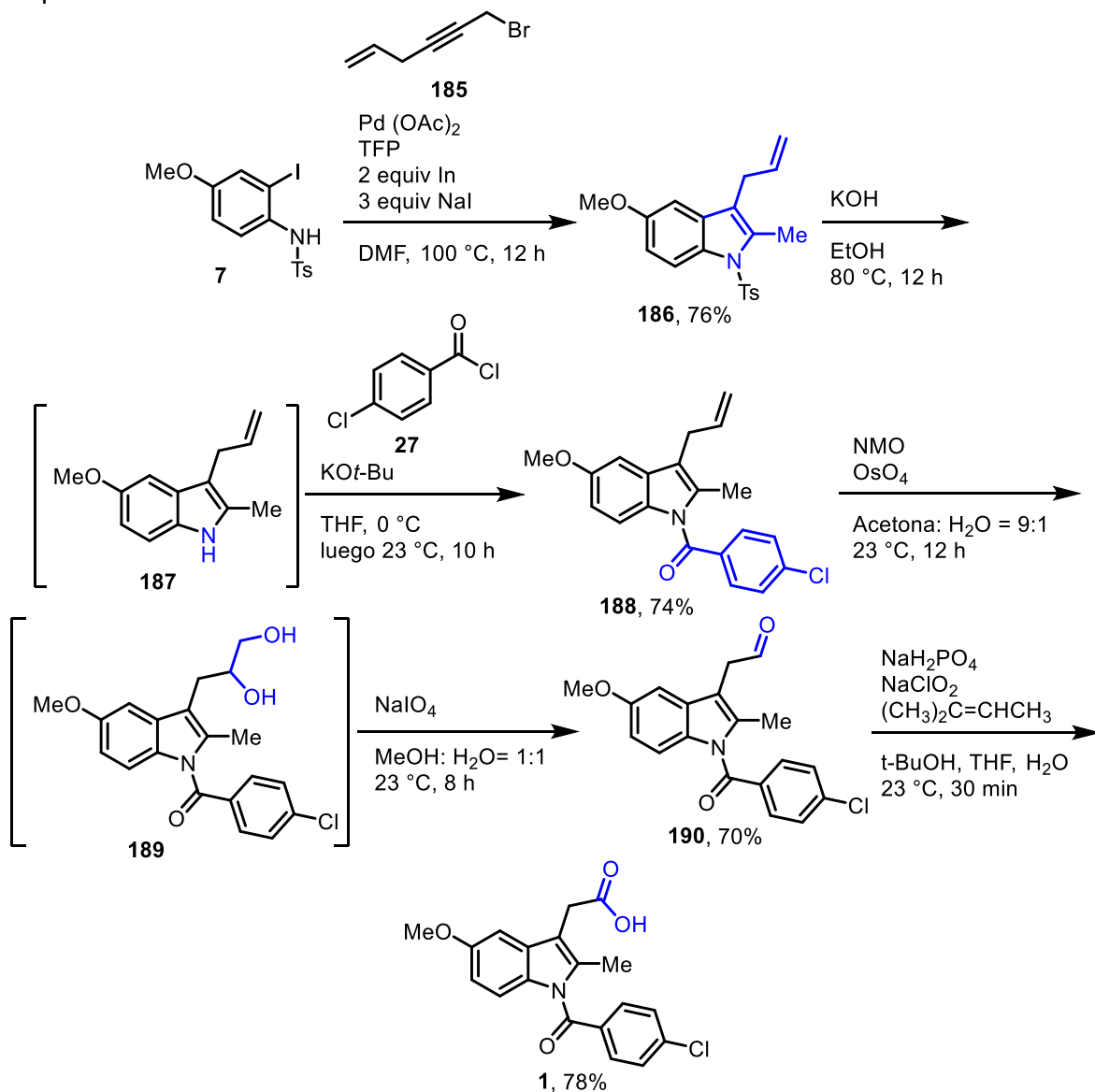
En 2013, Penning y colaboradores³⁸ desarrollaron la metodología para la síntesis de análogos de indometacina, en la cual se incorpora un grupo protector en el ácido carboxílico de la indometacina **1**, este procedimiento se describe en el esquema 23. La síntesis del intermediario el clorhidrato de 4-cloro-*N*-(4-metoxifenil)-benzohidrazida (**177**), se preparó a partir del precursor de arilhidrazina **174** a través de los intermedios **175** y **176**. El compuesto **1** se obtuvo a partir de **177** y ácido 4-oxobutanoico **38**. Y posteriormente se obtuvo el compuesto **182**. Otra ruta que se reportó fue a partir del compuesto **177** y **178**, para obtener **180** y después **183**. También reportaron la ruta sintética para la obtención del compuesto **184**. A partir de **177** y **179** se obtuvo **181** y posteriormente **184**.



Esquema 23. Síntesis de análogos de indometacina desarrollado por Penning y colaboradores.

³⁸ Liedtke, A. J.; Adeniji, A. O.; Chen, M.; Byrns, M. C.; Jin, Y.; Christianson, D. W.; Marnett, L. J.; Penning, T. M. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (6), 2429–2446. DOI: 10.1021/jm3017656.

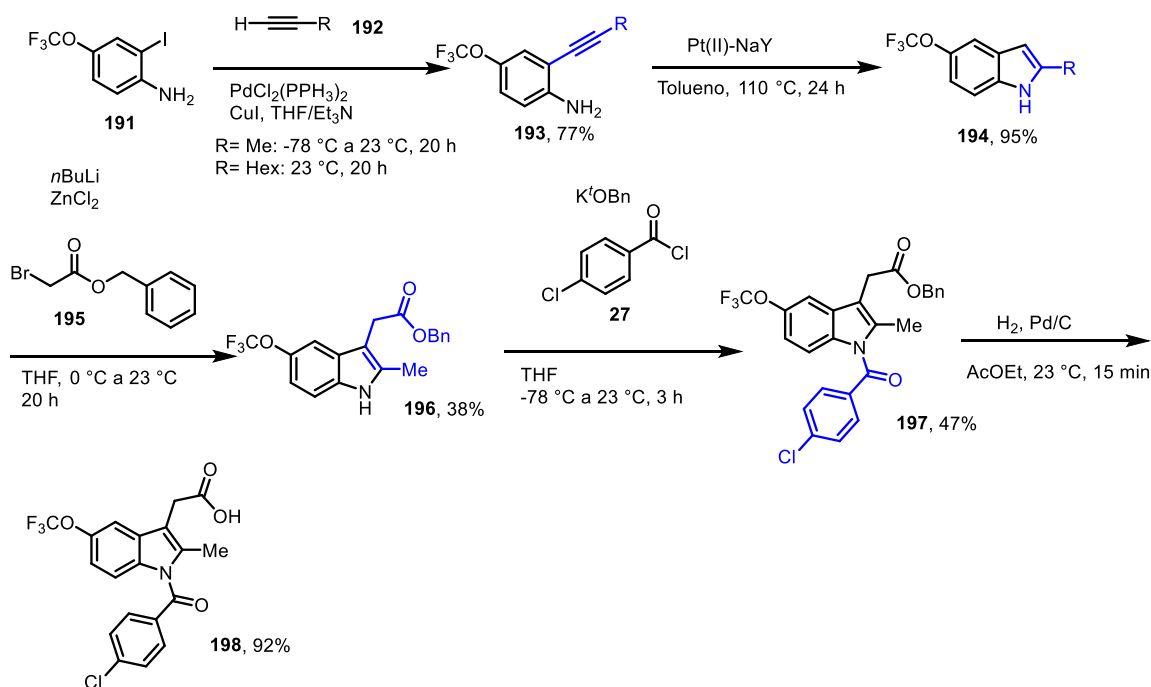
En 2013, Can Zhu y Shengming Ma³⁹ realizaron la síntesis de indometacina **1** a partir de *N*-tosyl-2-iodoaniline **7** y **185** catalizado con paladio para proporcionar el indol **186**. La destosilación **187** y la *N*-acilación con cloruro de *p*-cloro benzoico **27** posteriores condujeron a **188**. La dihidroxilación **189** y la oxidación en dos etapas **190** dieron indometacina **1**, esquema 24.



Esquema 24. Ruta sintética de Indometacina desarrollada por Zhu y Ma.

³⁹ Zhu, C.; Ma, S. *Org. Lett.* **2013**, *15* (11), 2782–2785. DOI: 10.1021/ol401115a

En 2015, Corma y colaboradores⁴⁰ sintetizaron análogos de indometacina a partir de 2-iodoanilina, esta metodología está descrita en el esquema 25. Primero la reacción de Sonogashira con 2-iodoanilina **191** y el alquino correspondiente **192**, para obtener el compuesto 2-alquinil-anilina **193**. Posteriormente la hidrogenación intramolecular catalizada por Pt-(II)-NaY, obteniendo el compuesto de indol **194**. Después la alquilación del indol con *n*BuLi, para obtener el indol **196** protegido. Posteriormente la acilación con cloruro de *p*-cloro benzoilo **27**, se obtuvo el compuesto **197** y después la desprotección del carbonilo, obteniendo el compuesto derivado de indometacina **198** con excelentes rendimientos.

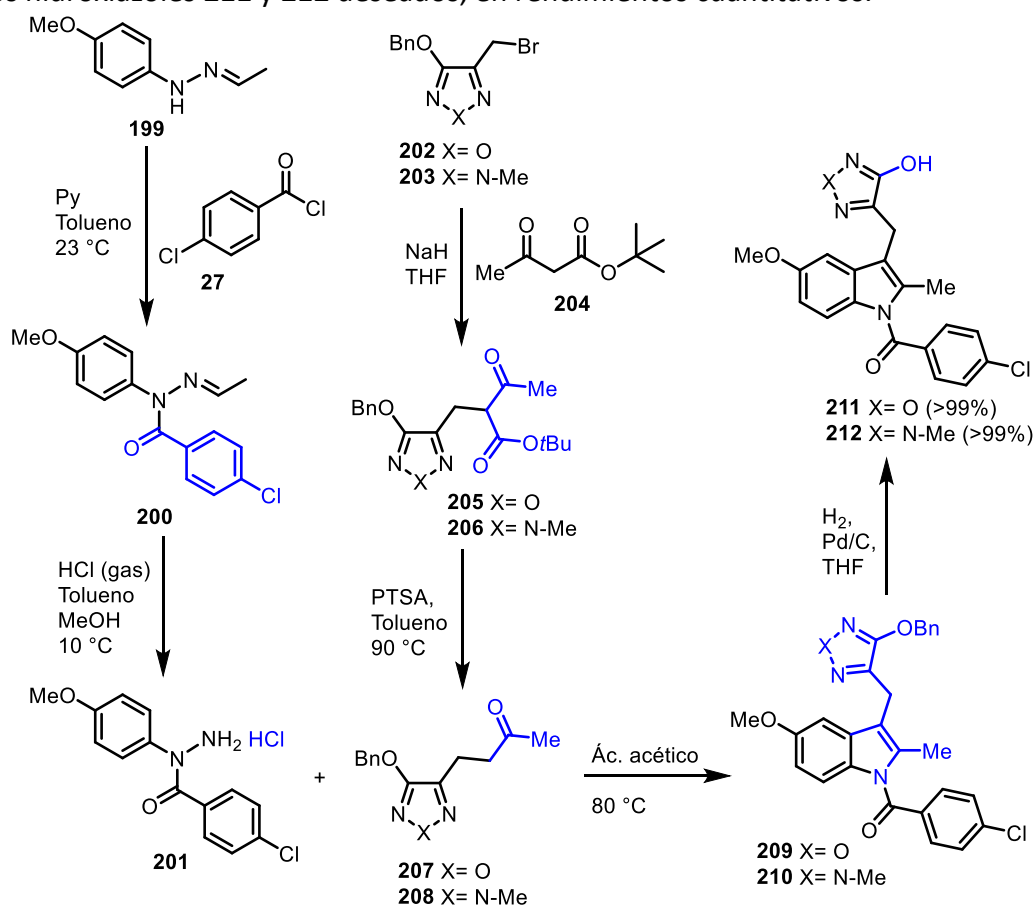


Esquema 25. Síntesis de derivados de indometacina desarrollado por Corma y colaboradores.

⁴⁰ Rubio-Marqués, P.; Rivero-Crespo, M. A.; Leyva-Pérez, A.; Corma, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (36), 11832–11837. DOI: 10.1021/jacs.5b07304

En 2019, Lolli y colaboradores, sintetizaron bioisómeros de indometacina, como se describe en el esquema 26.⁴¹ En este procedimiento, la *p*-metoxifenilhidrazona **199** se acila con cloruro de *p*-cloro benzilo con **27** en la posición *N*1 para dar la hidrazona **200** disustituida y luego se hidroliza con ácido clorhídrico gaseoso para dar la sal **201** de hidrocloreto de hidrazina.

Los bromometilhidroxiazoles **202** y **203** en presencia de acetoacetato de *tert*-butilo **204** para obtener los ésteres de *tert*-butilo **205** y **206**, que se hidrolizaron y descarboxilaron mediante tratamiento con ácido *p*-toluenosulfónico (PTSA) en tolueno para la síntesis de los 3-oxobutilazoles **207** y **208**. Es importante señalar que la presencia del grupo éster *tert*-butilo en **205** y **206** es obligatoria para la descarboxilación, ya que se observó que los ésteres etílicos correspondientes experimentan desacetilación en estas condiciones. El clorhidrato de 4-cloro-*N*-(4-metoxifenil)-benzohidrazida **201**, se preparó con las cetonas **207** y **208**, dando los derivados de indol **209** y **210**. Finalmente, la hidrogenación catalítica de **209** y **210** dio los hidroxiazoles **211** y **212** deseados, en rendimientos cuantitativos.



Esquemas 26. Ruta sintética para obtener análogos de indometacina desarrollado por Lolli y colaboradores.

⁴¹ Lolli, M. L.; Carnovale, I. M.; Pippione, A. C.; Wahlgren, W. Y.; Bonanni, D.; Marini, E.; Zonari, D.; Gallicchio, M.; Boscaro, V.; Goyal, P.; Friemann, R.; Rolando, B.; Bagnati, R.; Adinolfi, S.; Oliaro-Bosso, S.; Boschi, D. *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10* (4), 437–443. DOI:10.1021/acsmchemlett.8b00484

1.4.2 ACCIÓN FARMACOLÓGICA DE LA INDOMETACINA

La eficacia analgésica de la indometacina se basa en la inhibición de las prostaglandinas centrales y periféricas mediante la inhibición de las enzimas ciclooxigenasa (COX) implicadas en la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas.

Las dos principales isoenzimas COX son COX-1 (producida en múltiples sitios e implicada en el mantenimiento de la función normal de los órganos, como el flujo sanguíneo de la mucosa y la función de barrera en el estómago, y en la mediación de la agregación plaquetaria) y COX-2 (producida principalmente en tejidos inflamados).⁴²

1.4.2.1 COX-1 Y COX-2

La ciclooxigenasa (COX) es una enzima que limita la tasa de producción de prostaglandinas (PGs, **214**) y tromboxanos (TxB, **215**) a partir del ácido araquidónico (**213**). El primer paso en la síntesis de PGs (**214**) es la hidrólisis de fosfolípidos para producir araquidonato libre, catalizada por la fosfolipasa A2. El oxígeno molecular es añadido al ácido araquidónico en una reacción catalizada por la enzima ciclooxigenasa de COX. Esta reacción produce PGG₂, un producto inestable, que es convertido a PGH₂ por la actividad peroxidasa de COX. PGH₂ es el precursor común para todos los prostanoides (prostaglandinas **214** y tromboxanos **215**).⁴³ **Figura 6.**

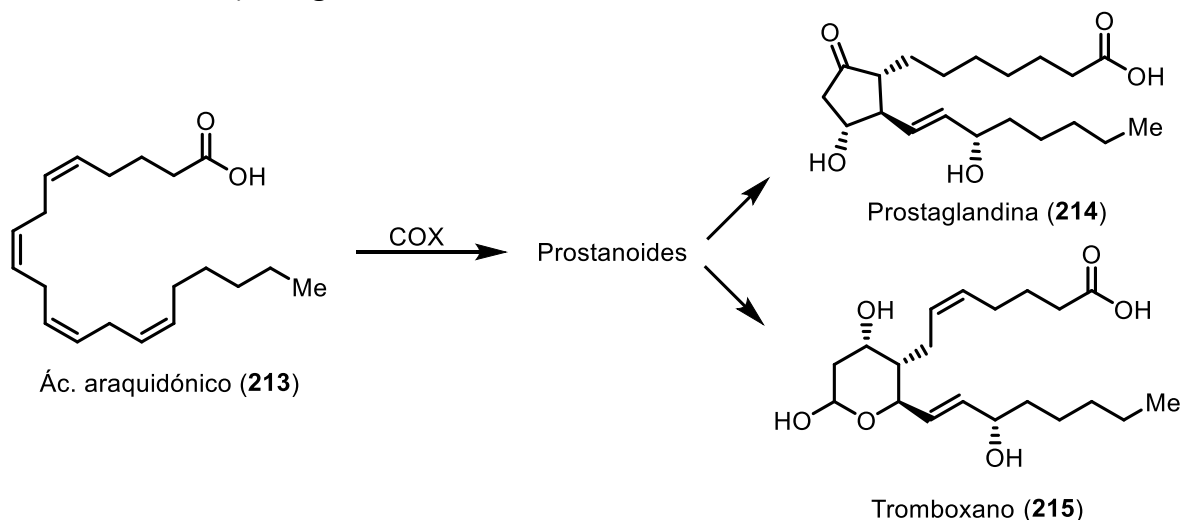


Figura 6. Mecanismo celular de oxidación del ácido araquidónico y sus productos.

⁴² Phillips, W. J.; Currier, B. L. *J Am Acad Orthop Surg*, **2004**, 12 (4), 221–233. DOI: 10.5435/00124635-200407000-00003.

⁴³ Díaz Prado, S.; Gallego, A.; López-Cedrún, J.L.; Ferreras Granado, J.; Antón Aparicio, L. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac.* **2009**. 31.170-181 <http://hdl.handle.net/2183/17524>

La actividad de la ciclooxigenasa es inhibida por AINEs, como la indometacina. Los metabolitos del ácido araquidónico derivados de la prostaglandina son mediadores de la respuesta inflamatoria. Existen al menos 2 isoformas de PGHS que se expresan en los tejidos celulares.⁴⁴

La COX-1 es la isoforma constitutiva y es principalmente responsable de la síntesis de prostaglandinas citoprotectoras en el tracto gastrointestinal (GI) y del tromboxano proagregante en las plaquetas sanguíneas.

La COX-2 es inducible y de corta duración, muestra una distribución tisular y un patrón de expresión diferentes; su expresión se estimula en respuesta a endotoxinas, citocinas y mitógenos. Esta expresión es provocada por estímulos inflamatorios específicos y es responsable de la síntesis de grandes cantidades de prostanoïdes que ocurren durante la inflamación.

La COX-1 y la COX-2 cumplen diferentes funciones fisiológicas y fisiopatológicas.⁴⁵

1.4.3 ESTRUCTURAS DE INDOMETACINA COX-2 SELECTIVAS

Marnett y colaboradores ⁴⁶ describieron los derivados de éster y amida de indometacina **216-190**, selectivos para COX-2. La esterificación del resto carboxilato en indometacina aumentó la potencia inhibidora contra COX-2 pero tuvo un efecto perjudicial sobre la potencia de inhibición de COX-1. El voluminoso éster **223** de 2-aminoetilo protegido con BOC exhibió una inhibición de COX-2 potente y selectiva, lo que indica la diversidad estructural de funcionalidades que pueden tolerarse en el sitio activo de COX-2. **Figura 7.**

⁴⁴ Loll, P. J.; Picot, D.; Ekabo, O.; Garavito, R. M. *Biochemistry*, **1996**, 35 (23), 7330–7340. DOI: 10.1021/bi952776w.

⁴⁵ Kalgutkar, A. S.; Marnett, A. B.; Crews, B. C.; Remmel, R. P.; Marnett, L. J. *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (15), 2860–2870. DOI: 10.1021/jm000004e

⁴⁶ Kalgutkar, A. S.; Marnett, A. B.; Crews, B. C.; Remmel, R. P.; Marnett, L. J. *J. Med. Chem.* **2000**, 43 (15), 2860–2870. DOI: 10.1021/jm000004e

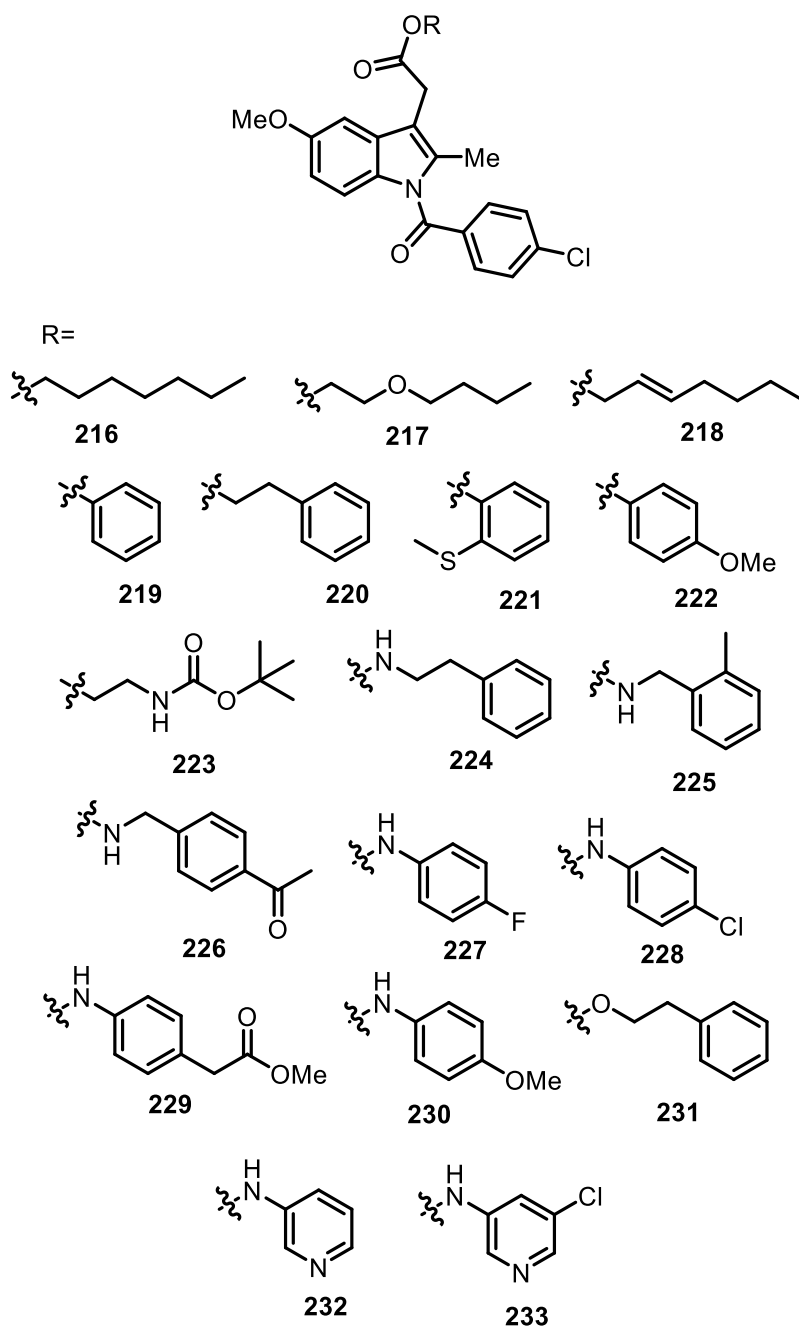


Figura 7. Estructuras COX-2 selectivas.

La indometacina tiene muchas conformaciones, pero la conformación cis alrededor de C=O en la que tanto el resto paraclorofenilo como el resto indol están orientados en la misma dirección ha logrado una mayor selectividad hacia la inhibición de COX-2.⁴⁷

⁴⁷ Sandeep, C.; Venugopala, K. N.; A. Khedr, M.; Padmashali, B.; Kulkarni, R. S.; Venugopala, R.; Odhav, B. *IJPER* **2017**, 51 (3), 452–460. DOI: 10.5530/ijper.51.3.73

CAPÍTULO II

NUESTRA ESTRATEGIA PARA LA SÍNTESIS DE AINEs

2.1 MODIFICACIONES PLANTEADAS

La investigación de Shuto y colaboradores determinó que la sustitución del grupo metilo por un grupo arilo (**13**), propiciaba una interacción conocida como apilamiento π , o también llamada π -stacking. Esta interacción favorecía un conformero de dicho análogo de indometacina el que actuaba de manera más específica sobre COX-2⁴⁸. Inspirados en esta investigación, decidimos realizar nuestra contribución **14** (Figura 8).

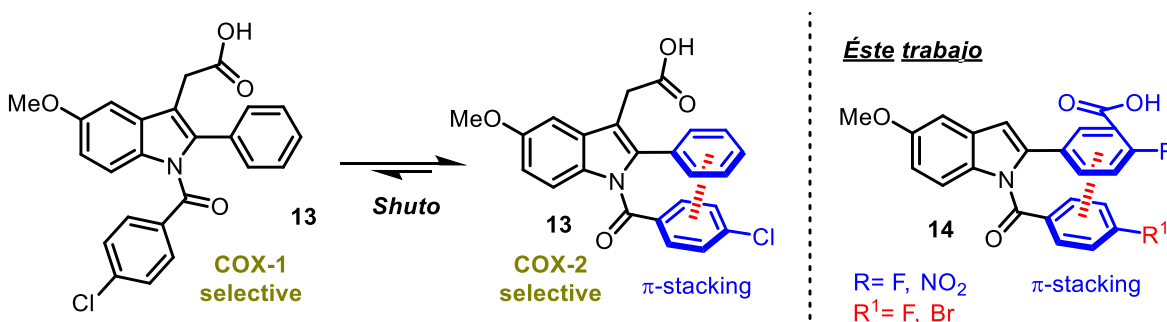


Figura 8. Modificaciones relevantes de la indometacina y nuestra propuesta.

De acuerdo con esta propuesta sintética se plantea la obtención de los siguientes derivados de indometacina **234-242** (Figura 9).

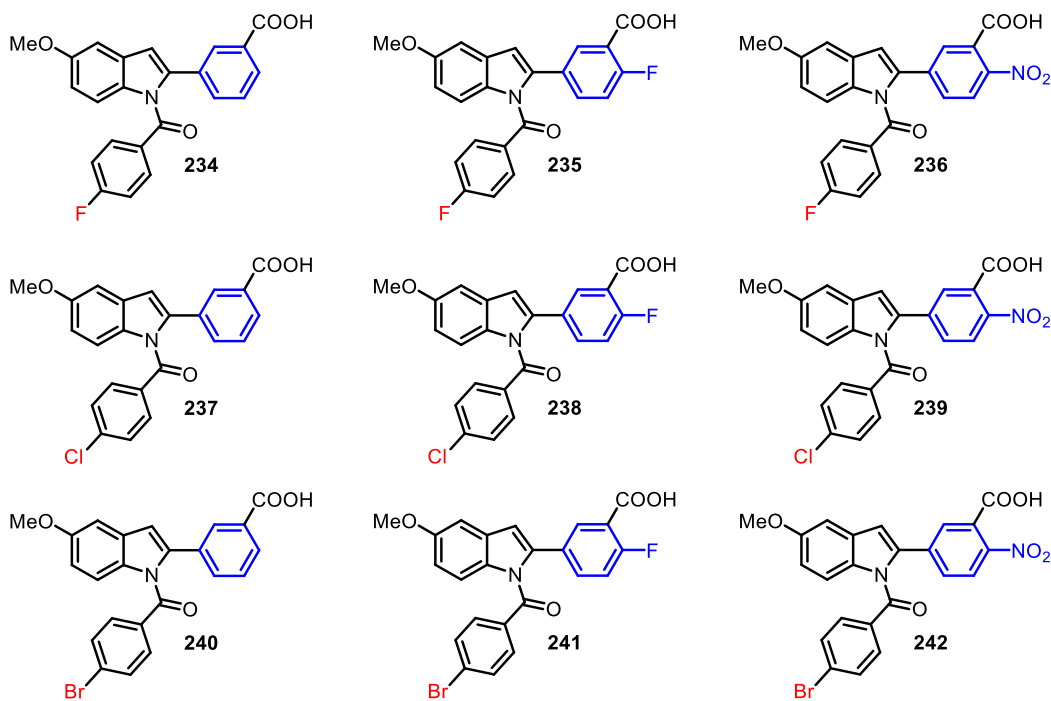


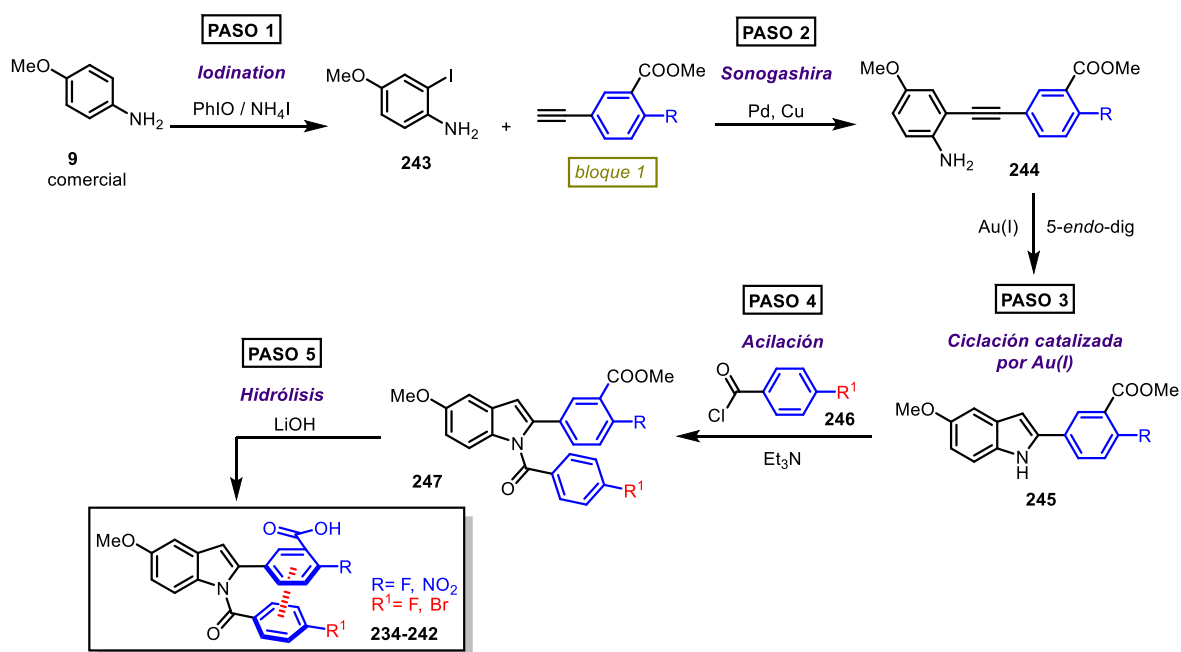
Figura 9. Análogos estructurales de indometacina que serán sintetizados.

⁴⁸ Arisawa, M.; Kasaya, Y.; Obata, T.; Sasaki, T.; Ito, M.; Abe, H.; Ito, Y.; Yamano, A.; Shuto, S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2 (5), 353–357. DOI:10.1021/ml100292y.

2.2 RUTA DE SÍNTESIS PARA ACCEDER A NUESTROS COMPUESTOS

1. Síntesis Orgánica, propuesta original

La metodología que se seguirá para desarrollar el presente proyecto se delinea en el siguiente esquema (**Esquema 27**). La síntesis de estos derivados inicia con la yodación regioselectiva de la *p*-anisidina **9**, utilizando nuestro procedimiento de yodación oxidativa mediada por $(\text{PhIO})_n / \text{NH}_4\text{I}$ ⁴⁹ para obtener **243**. La subsecuente reacción de Sonogashira utilizando los derivados estructurales conteniendo fluor y nitró del bloque 1, nos conducirán a la formación de **244**. La subsecuente ciclación 5-*endo*-dig catalizada por complejos catiónicos de Au(I) nos conducirá al indol **245**. Después la acilación con **246** en el nitrógeno del indol nos conduce a la formación del intermedio **247**. Finalmente, la hidrólisis suave del éster metílico nos conducirá a la formación de los derivados de indometacina planteados **234-242**.



Esquema 27. Estrategia de síntesis para la obtención de análogos derivados de indometacina.

Referente a los complejos catiónicos de Au(I) que serán ensayados **I-XXI**, estos se ilustran a continuación (**Figura 10**).

⁴⁹ Satkar, Y.; Yera-Ledesma, L. F.; Mali, N.; Patil, D.; Navarro-Santos, P.; Segura-Quezada, L. A.; Ramírez-Morales, P. I.; Solorio-Alvarado, C. R. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (7), 4149–4164. DOI: 10.1021/acs.joc.9b00161.

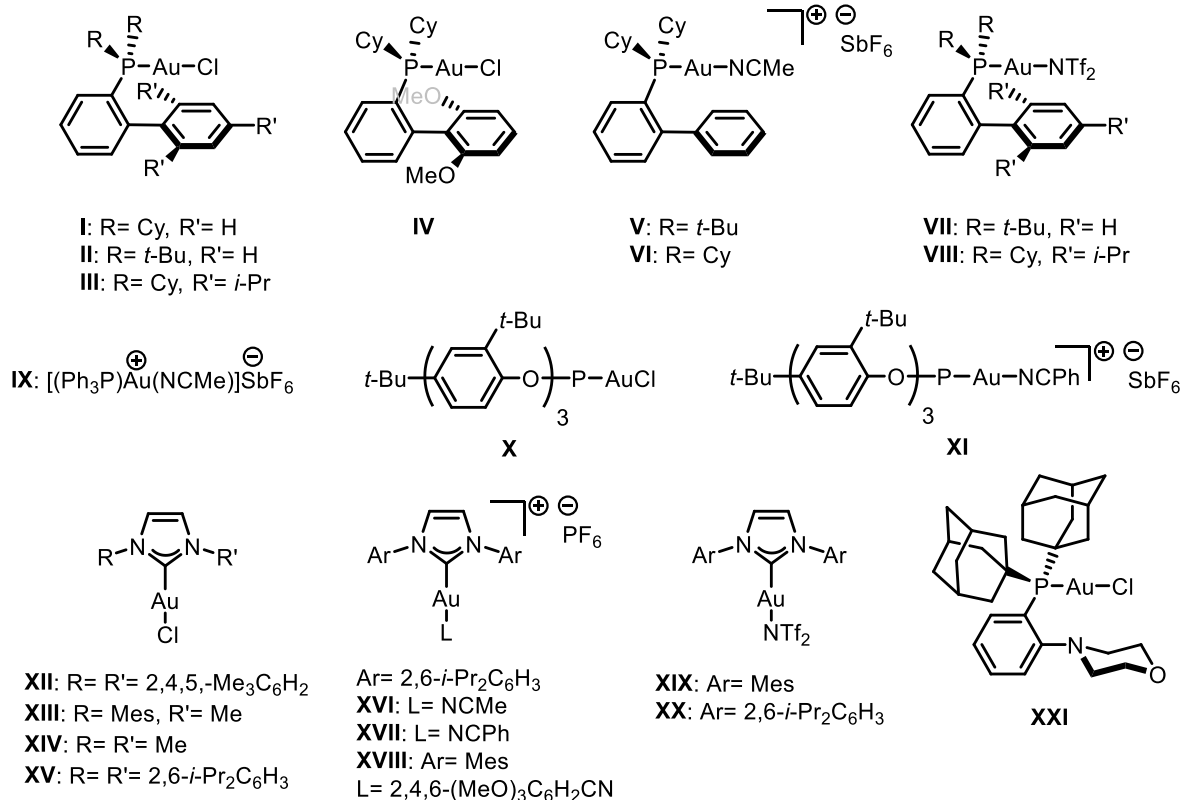
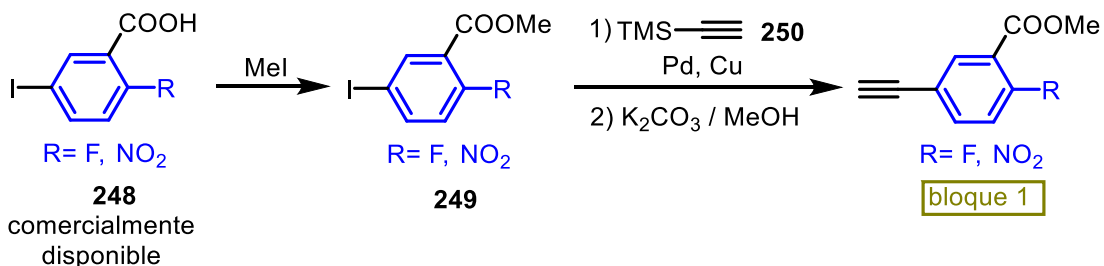


Figura 10. Estructuras de los complejos catiónicos de Au(I) que serán ensayados.

Por otro lado, la síntesis del bloque 1 se explica en el **esquema 28**. Inicia con la metilación de los ácidos iodobenzoicos comerciales **248** conteniendo los grupos flúor y nitro obteniendo **249**. Enseguida la reacción de Sonogashira seguida de la metanólisis básica desililativa nos conduce a la formación del **bloque 1**.



Esquema 28. Esquema de síntesis del bloque 1.

2.3 ENSAYOS BIOLÓGICOS DE ACTIVIDAD PLANTEADOS

Los ensayos de la actividad Farmacológica de los análogos de indometacina obtenidos serán ensayados bajo la siguiente metodología.

Animales

Para el presente proyecto se utilizarán ratones de la cepa Balb-c con un peso aproximado de 25 a 30 g. Los animales se mantendrán en un ambiente con temperatura controlada con ciclos de luz / oscuridad de 12 h con acceso a agua y alimento ad libitum. Los experimentos se llevarán a cabo de acuerdo con lo establecido en la NOM 062-ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio)⁵⁰ y de acuerdo con las recomendaciones de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor⁵¹. Los animales serán proporcionados por el Bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato, sede Noria Alta y el protocolo para la realización de los ensayos será sometido al Comité Institucional de Bioética en la Investigación de la Universidad de Guanajuato.

Edema auricular inducido por TPA

La prueba de TPA se llevará a cabo en grupos de 8 ratones, se colocarán separadamente en cajas que corresponderán al control (TPA), referencia (indometacina) y análogos de indometacina. De acuerdo con el método descrito por Young et al⁵² y Lapa et al⁵³, todas las aplicaciones se harán tópicamente en las superficies interna y externa de la oreja, grupo Control 2.5 µg de TPA disueltos en 20 µL de acetona; grupo de referencia con 1.0 mg de indometacina disuelta en 20 µL de acetona, seguido de la misma dosis de TPA aplicada al grupo control. Cada análogo de indometacina disuelto en 20 µL de acetona a dosis de 2.0 mg por oreja, seguido de la aplicación de la misma dosis de TPA descrita para el Control. Seis horas después del tratamiento, los animales se sacrificarán por dislocación cervical.

De cada oreja, se obtendrán secciones circulares (tratada y no tratada) empleando un sacabocados, posteriormente se pesarán en una balanza analítica. El edema se medirá como la

⁵⁰ Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

⁵¹Zimmermann, M. *Pain*, **1983**, 16 (2), 109–110. DOI:10.1016/0304-3959(83)90201-4.

⁵²Young, J. M.; Wagner, B. M.; Spires, D. A. *J. Invest Dermatol*, **1983**, 80 (1), 48–52. DOI:10.1111/1523-1747.ep12531048.

⁵³ Lapa J. Monteiro DT. Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales. CYTED: p 61. **2001**.

diferencia de peso entre la oreja tratada y la correspondiente no tratada. Los porcentajes de inflamación y de inhibición se calcularán con las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{W_t - W_o}{W_o} \times 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{I_c - I_t}{I_c} \times 100$$

Donde W_t es el peso de la sección de la oreja tratada con el agente irritante, W_o el de la oreja no tratada, I_c equivale al porcentaje de inflamación media del grupo Control, e I_t el porcentaje de inflamación media de cada grupo tratado.

Edema auricular inducido por múltiples aplicaciones de TPA

La prueba de TPA se llevará a cabo en grupos de 8 ratones, se colocarán separadamente en cajas que corresponderán al control (TPA), referencia (indometacina) y análogos de indometacina. De acuerdo con el método descrito por Young et al⁸ y Lapa et al⁹, todas las aplicaciones se harán tópicamente en las superficies interna y externa de la oreja, grupo Control 2.5 µg de TPA en 25 µl de acetona. El vehículo (solución salina), la indometacina (1 mg/kg) o análogo de indometacina (50-200 mg/kg) se administrarán oralmente 30 minutos antes de la aplicación del TPA, cada 48 horas durante 10 días. Al cabo de 6 horas a partir de la última dosis de TPA, los animales se sacrificarán por dislocación cervical. Se determinará el peso del tejido obtenido por medio de la perforación de 6 mm de diámetro de ambas orejas. El grado de inflamación en el grupo control se determinará como la diferencia de los pesos entre la oreja tratada con TPA y la tratada con el vehículo (metodología previamente descrita).

Modelo de formalina

Los ratones serán colocados en cilindros transparentes de acrílico, con espejos ubicados en la parte posterior, durante 60 minutos para su ambientación por 3 días previos al experimento. En cada grupo experimental se usarán 8 ratones. Los tratamientos consistirán en: a) el control positivo (Naproxeno 100mg/kg), b) el vehículo (solución salina) y dependiendo de los análogos indometacina que tengan un efecto antiinflamatorio igual o

superior a 50% en las pruebas anteriores, se evaluarán en esta prueba a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg o.p., Se administrarán intraplantarmente 30 µl de formalina al 3% en la pata trasera derecha de los ratones⁵⁴. Después, los ratones serán colocados en los cilindros. Se cuantificará el tiempo de lamida durante los 45 minutos posteriores a la administración de la formalina.

Para evaluar el efecto analgésico de los tratamientos se calculará el % de antinocicepción mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ antinocicepción} = \frac{\text{tiempo de lamida sin tratamiento} - \text{tiempo de lamida con tratamiento}}{\text{tiempo de lamida sin tratamiento}} \times 100$$

Análisis estadístico

Los datos serán presentados como la media ± el error estándar de la media (EEM). Para el análisis estadístico de los datos se realizará un ANOVA y una prueba pos hoc de Dunnett. Se considerará estadísticamente significativos valores de $P < 0.05$. Todos los cálculos se realizarán con el programa NCSS⁵⁵.

⁵⁴ Hunskaar, S.; Hole, K. *Pain*, **1987**, *30* (1), 103–114. DOI:10.1016/0304-3959(87)90088-1.

⁵⁵ Hintze J. NCSS 8. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA. www.ncss.com. **2012**.

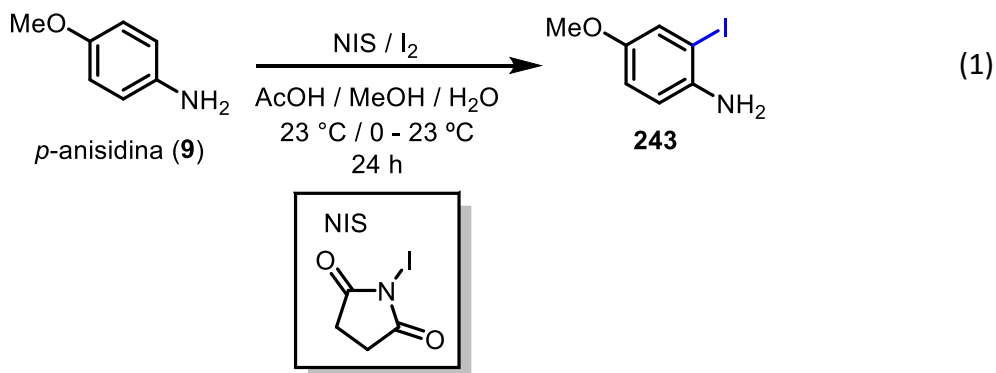
CAPÍTULO III

RESULTADOS

Los siguientes resultados se obtuvieron en el periodo del 25 de enero al 30 de abril del 2021, dada la situación emergida por la contingencia sanitaria causada por el virus SARS-CoV-2 del año 2020 al año en curso.

3.1 SÍNTESIS ORGÁNICA

El primer paso de la ruta sintética descrita en el esquema 27 del capítulo anterior (véase página 41), es la yodación de la *p*-anisidina comercial **9**, por lo que se desarrollaron los siguientes experimentos (Ec. 1).

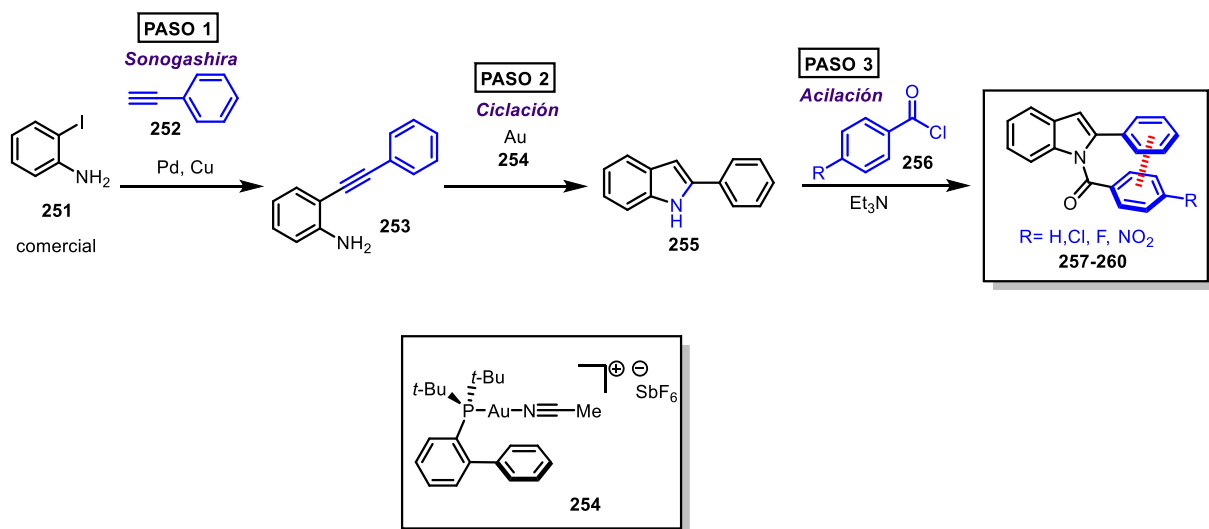


En la tabla 1 se describen los resultados obtenidos de la yodación de *p*-anisidina (**9**). Primero utilizamos *N*-yodosuccinimida como fuente de yodo, en ácido acético a 23 °C por 24 h de reacción, no se obtuvo el producto deseado **243** (entrada 1). En la entrada 2 se implementó el yodo molecular (I_2) como fuente de yodo, en metanol, a temperatura ambiente por 24 h de reacción, se observó descomposición de la materia de partida. En la entrada 3 y 4 se utilizaron las mismas condiciones, dado que la purificación del compuesto de la entrada 3 no fue la esperada, se repitió el procedimiento en la entrada 4, sin embargo no se obtuvieron los resultados esperados.

Tabla 1. Resultados obtenidos de la yodación de *p*-anisidina

Entrada	Fuente de Yodo	Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Resultados
1	NIS	AcOH	23	24	Mezcla compleja de reacción
2	I_2	MeOH	23	24	Descomposición de materia prima
3	I_2	H ₂ O	0-23	24	Purificación compleja, descomposición del compuesto
4	I_2	H ₂ O	0-23	24	Trazas del compuesto

Como el paso 1 del esquema 27 del capítulo anterior (véase página 41), no se lograba concretar, se decidió cambiar la estrategia de síntesis a la descrita en el esquema 29. Para ello se decidió inicialmente hacer el estudio de la ruta de síntesis mediante a través de un sistema modelo. Así, la síntesis de estos análogos inicia con la reacción de Sonogashira utilizando fenilacetileno **252** y 2-iodo anilina **251** para obtener **253**. La subsecuente ciclación 5-*endo*-dig catalizada por el complejo catiónico de Au(I) **254** conocido como el catalizador de Echavarren,⁵⁶ nos conducirá al indol **255**. Después la acilación utilizando cloruro de *p*-halogeno benzoílo **256** en el nitrógeno del indol nos conduce a la formación de los derivados de indometacina planteados **257-260** considerados como el estudio modelo (esquema 29).



Esquema 29. Estudio modelo para la síntesis de análogos de indometacina.

De acuerdo con esta propuesta sintética se obtuvieron los siguientes análogos de indometacina **257-260**. El compuesto **257** tiene un hidrogeno en la posición *para*, el **258** y **259** los halógenos F y Cl en la misma posición, y el **260** tiene un grupo nitro (figura 11).

⁵⁶ Echavarren, A. – Professor Product Portal. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/chemistry/professor-and-product-portal/antonio-echavarren.html> (acceso 24 de abril de 2021)

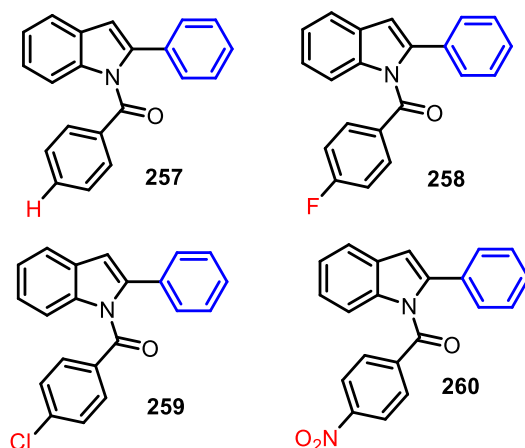
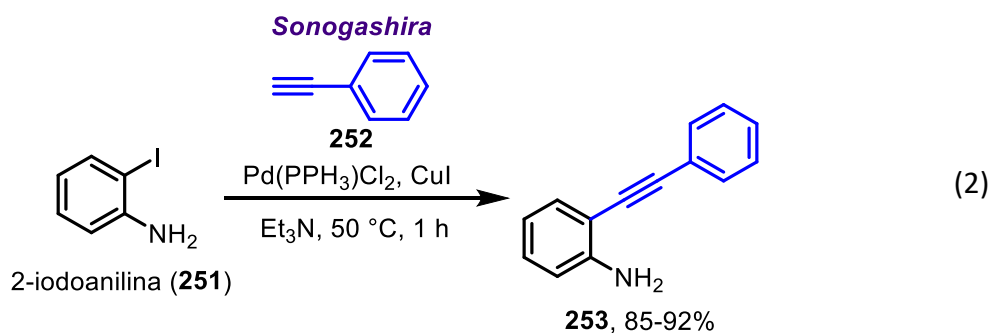


Figura 11. Análogos estructurales de indometacina obtenidos.

En la ecuación 2 se muestran las condiciones de reacción de la alquiniación de sonogashira de la 2-iodoanilina **251** (Ec. 2).

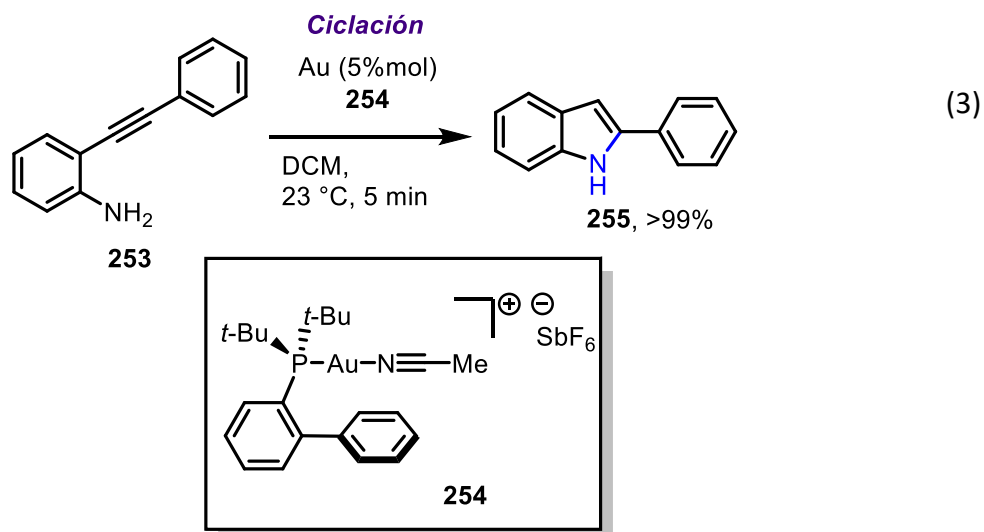


En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la optimización de la reacción de Sonogashira. En la entrada 1 se utilizó Et₃N comercial, se observó un rendimiento del 85%, en la entrada 2 se utilizó Et₃N desoxigenada, la cual se preparó con nitrógeno gaseoso, se obtuvo un mayor rendimiento en la formación del producto **253**.

Tabla 2. Optimización de la reacción de Sonogashira.

Entrada	Disolvente	Rendimiento
1	Et ₃ N	85%
2	Et ₃ N desoxigenada	92%

En la ecuación 3 se muestran las condiciones de reacción de la ciclación para la obtención del anillo de indol **255**.

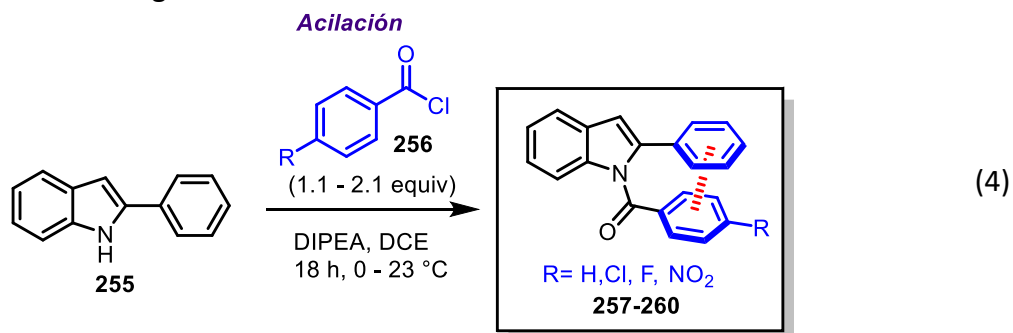


En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en la optimización de la reacción de ciclación catalizada por el complejo cationico de Au(I) **254**. Se puede observar que la entrada 1, a temperatura ambiente, con 5 mol% del catalizador de Au(I), la reacción procedió en 5 minutos. Pero al disminuir la concentración a 1 mol% del catalizador de Au(I), la reacción procedió en 90 minutos. Las entradas 3 a 6 no reaccionaron, incluso al aumentar la temperatura.

Tabla 3. Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de indol.

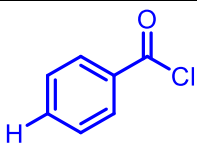
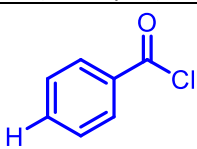
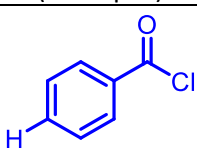
Entrada	Temperatura (° C)	Au (mol%)	Tiempo (h)	% Rendimiento
1	25	5	5 min	>99
2	25	1	1.5	>99
3	25	0.5	24	n. r.
4	25	0.1	24	n. r.
5	40	0.5	24	n. r.
6	40	0.1	24	n. r.

En la ecuación 4 se muestran las condiciones de reacción de la acilación para la formación de los analogos de indometacina **257-260**.



En la tabla 4 se describen las condiciones de reacción, que se utilizaron para la obtención de los derivados de indometacina planteados. En la entrada 1 y 2 se utilizó cloruro de benzoilo, NaH como base, en acetonitrilo o DME, a 0 – 23 °C por 18 h. En la entrada 3 se describen las condiciones de reacción utilizadas para obtener el correspondiente derivado de indometacina, en esta reacción no se obtuvieron los productos esperados.

Tabla 4. Condiciones de reacción utilizadas para la síntesis de los derivados de indometacina.

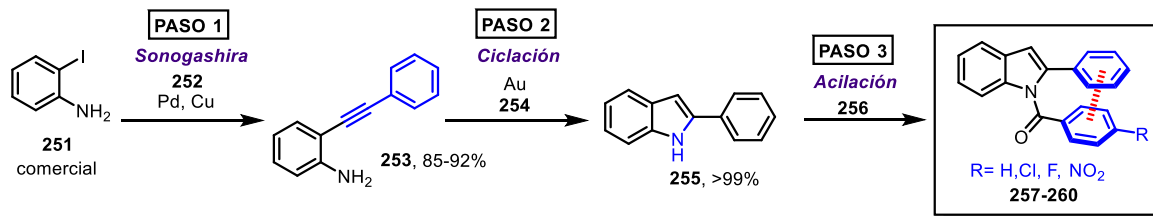
Entrada	Reactivo (256)	Base	Disolvente	Rendimiento
1	 Cloruro de benzoilo (8.1 equiv)	NaH (8.2 equiv)	MeCN	
2	 Cloruro de benzoilo (8.1 equiv)	NaH (10.2 equiv)	DME	
3	 Cloruro de benzoilo (1.5 equiv)	<i>n</i> -BuLi	DME	n. r.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

4.1 CONCLUSIONES

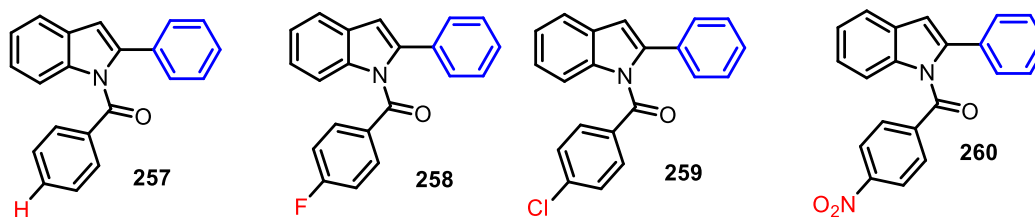
- 1) Se logró obtener una ruta sintética modelo para la preparación de derivados de indometacina.



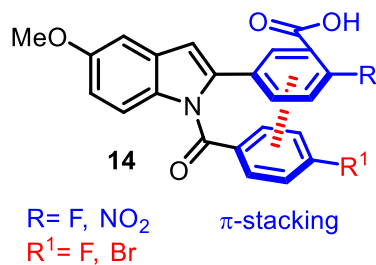
- 2) Se optimizó la reacción de Sonogashira catalizada por paladio, utilizando Et₃N desoxigenada, esto ayudó a obtener mayor rendimiento en la formación del producto deseado.
- 3) Se obtuvo el anillo de indol, mediante la ciclación catalizada por el complejo catiónico de Au(I), así como la optimización de las condiciones de reacción, obteniendo el producto deseado con altos rendimientos.
- 4) Se obtuvo el derivado de indometacina planteado, mediante la acilación del anillo de indol, el cual era un crudo de reacción, con cloruro de benzoílo, obteniendo así el derivado de indometacina deseado, el cual se hará una cuantificación de rendimiento tan pronto se permita el acceso a las instalaciones de la Universidad de Guanajuato.
- 5) Se planean obtener algunos análogos de indometacina adicionales a los compuestos planteados.

4.2 PERSPECTIVAS

- 1) Realizar el ultimo paso de la síntesis modelo de los correspondientes compuestos, que por falta de tiempo no se pudieron sintetizar.



- 2) Llevar a cabo la síntesis total de la Indometacina, optimizar las reacciones y probar las diferentes variantes para la obtención de analogos de indometacina COX-2 selectivas y llevar a cabo la experimentación para evaluar su actividad farmacológica.



- 3) Publicar los resultados esperados en una revista científica.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

El material de vidrio se secó previamente con pistola de calentamiento. Los disolventes utilizados como medio de reacción (DCM) fueron secados sobre malla molecular de 4 Å bajo atmósfera de nitrógeno. El resto de los disolventes grado reactivo analítico fueron utilizados tal cual fueron adquiridos.

La cromatografía de capa fina se desarrolló en placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio (0.25 mm), y es reportado su factor de retención (R_f). Las purificaciones de las reacciones se llevaron a cabo mediante columnas cromatográficas empleando gel de sílice como fase estacionaria (malla 60-200).

Los espectros de RMN de ^1H fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker AscendTM (500 MHz) y Bruker AscendTM (400 MHz) en CDCl_3 a menos que se indique otro disolvente. Se referenciaron con respecto a la señal del CDCl_3 (7.26 ppm). Los datos de los espectros se reportan en el siguiente orden: Desplazamiento químico en ppm (δ), multiplicidad, la constante de acoplamiento en Hz (J) e integración. Las multiplicidades se reportan como s (singulete), d (doblete), dd (doble de dobletes), t (triplete), c (cuadruplete) o m (multiplete).

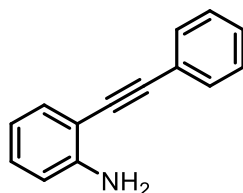
Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 100, en pastilla de KBr, y están reportados en cm^{-1} .

Los siguientes reactivos fueron adquiridos de la casa comercial Sigma Aldrich grado reactivo:

1. 2-iodo anilina
2. Fenilacetileno
3. Yoduro de Cobre (I)
4. Cloruro de benzoilo
5. Dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II)
6. Hexafluoroantimonato (Acetonitrilo)[(2-bifenil)di-tert-butilphosfina]oro(I)

A continuación, se describe la síntesis y caracterización de los compuestos obtenidos:

2-(feniletinil)anilina 253



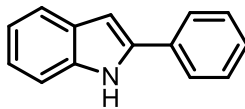
Se disuelve la 2-iodoanilina (0.5 g, 1 equiv) en 13 mL de Et₃N, se agrega el CuI (0.0043 g, 1 mol%) y Dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0.0481g, 3 mol%) y se deja agitando por 15 minutos. Posteriormente se añade a la mezcla de reacción el fenilacetileno (0.3 mL, 1.2 equiv) y se deja agitando por una hora. Al finalizar se agregan 30 mL de agua a la mezcla de reacción para detener la reacción. Se extrae con acetato de etilo (3x15 mL) y posteriormente se realizan cinco lavados con agua para eliminar residuos. Se colectó la fase orgánica y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se removió hasta sequedad y se redisolvió en 5 mL de Hexano para que fuera adsorbido en silica gel. El crudo así obtenido se purificó por columna cromatográfica (5-95% AcOEt/hexano). Se obtuvo un sólido naranja (0.380 g, 85%).

R_f = 0.26 (5-95% AcOEt/hexano).

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz): δ 7.54 (dd, J = 7.6, 2.0 Hz, 2H), 7.39 – 7.34 (m, 4H), 7.15 (td, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 6.75 – 6.71 (m, 2H), 4.28 (s, 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, 126 MHz): 147.80, 132.18, 131.49, 129.76, 128.40, 128.23, 123.34, 118.01, 114.36, 107.96, 94.71, 85.91.

2-fenil-1H-indol 255



Se disuelve la 2-(feniletinil)anilina (1 g, 1 equiv) en 12 mL de DCM anhidro, se agrega el Hexafluoroantimonato (Acetonitrilo)[(2-bifenil)di-*tert*-butilphosphina]oro(I) (0.0144 g, 2 mol%) y se deja agitando por 60 minutos. Al finalizar se agrega 1 mL de Et₃N y 10 mL de agua a la mezcla de reacción para detener la reacción. Se extrae con acetato de etilo (3x15 mL) y posteriormente se realizan cinco lavados con agua para eliminar residuos. Se colectó la fase orgánica y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se removió hasta sequedad y se redisolvió en 5 mL de Hexano para que fuera adsorbido en silica gel. El crudo así obtenido se purificó por columna cromatográfica (5-95% AcOEt/hexano). Se obtuvo un sólido amarillo (0.64 g, 64%).

R_f = 0.22 (10-90% AcOEt/hexanos).

¹H RMN (CDCl₃, 500 MHz): δ 8.32 (s, 1H), 7.67 (td, J = 8.2, 1.3 Hz, 4H), 7.49 – 7.43 (m, 2H), 7.41 (dd, J = 8.1, 1.0 Hz, 1H), 7.37 – 7.32 (m, 1H), 7.22 (ddd, J = 8.2, 7.0, 1.2 Hz, 1H), 7.15 (td, J = 7.5, 7.0, 1.1 Hz, 1H), 6.85 (dd, J = 2.1, 1.0 Hz, 1H).

¹³C RMN (CDCl₃, 126 MHz): 137.91, 136.84, 132.40, 129.30, 129.06, 127.75, 125.19, 122.39, 120.70, 120.31, 110.93, 100.02.

ANEXO
ESPECTROS ^1H , ^{13}C

