



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO.
DIVISION ACADEMICA DE CIENCIAS BÁSICAS



**“Síntesis de chalconas 2'-sustituidas, evaluación *in vitro* de
citotoxicidad en células mononucleares y ensayo clonogénico en
células tumorales de cérvix”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ORGÁNICA

PRESENTA:

QFB. MONICA LEÓN NAVARRO.

DIRECTORES:

DR. CUAUHTÉMOC ALVARADO SÁNCHEZ.

DR. LUIS FERNANDO ROA DE LA FUENTE.

SEPTIEMBRE-2017



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias
Básicas

DIRECCIÓN

5 de septiembre de 2017

Q.F.B. Mónica León Navarro
Pasante de la Maestría en Ciencias
con orientación en Química Orgánica
Presente.

Por medio del presente y de la manera mas cordial, me dirijo a Usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado **"SÍNTESIS DE CHALCONAS 2'-SUSTITUIDAS, EVALUACIÓN IN VITRO DE CITOTOXICIDAD EN CÉLULAS MONONUCLEARES Y ENSAYO CLONOGÉNICO EN CÉLULAS TUMORALES DE CÉRVIX"**, en virtud de que reúne los requisitos para el Examen Profesional por Tesis de Maestría para obtener el grado de Maestro en Ciencias con orientación en Química Orgánica.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente,

Dr. Gerardo Delgadillo Piñón
Director



División Académica de
Ciencias Básicas

C.e.p.- Archivo
Dr.UDP/Dr.UDPS/emt



Km. 1, Carretera Cunduacán - Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tabasco.
Tel/Fax (914)3360928, (993)3581500 Ext. 6701 E-mail: direccion@aseguat.mx

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Quien suscribe, autoriza mediante el presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada: **"Síntesis de chalconas 2'-sustituidas, evaluación *in vitro* de citotoxicidad en células mononucleares y ensayo clonogénico en células tumorales de cérvix"**, de la cual soy titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitada para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en el municipio de Cunduacán Tabasco a los 28 días del mes de agosto del año 2017.

AUTORIZO

Lic. En Químico Farmacobiólogo Monica León Navarro

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Química Orgánica de la División Académica de Ciencias Básicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, bajo la dirección del Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez y el Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente, ambos profesores investigadores de dicha institución. La evaluación de la actividad Citotóxica y ensayo Clonogénico de los compuestos obtenidos se realizó en el Laboratorio de Investigación de la División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco con la colaboración del Dr. Erick Natividad Hernández.

El financiamiento para el desarrollo del presente trabajo se obtuvo del Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT) mediante la beca No. 633156. El proyecto PRODEP UJAT PTC-247.

DEDICATORIA

A CONACYT:

Por el otorgamiento de la beca que me ayudo a realizar y terminar este proyecto.

A MI ESPOSO ABRAHAM:

Por ser el apoyo incondicional en este y en muchos proyectos que emprendimos juntos.

A MIS HIJAS SARA, KENY E ITZEL:

Por ser la inspiración diaria de cada uno de los días de mi vida.

Hch, 17:25

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis directores de tesis Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez y Dr. Luis Fernando Roa de la Fuente, por la orientación y apoyo otorgado en el momento que lo he necesitado, y las observaciones y correcciones que llevaron a la conclusión de este trabajo.

Al Dr. Erick Natividad Hernández por las facilidades otorgadas en el laboratorio que dirige, para la realización de los ensayos biológicos correspondientes en este proyecto.

A los miembros del comité revisor por las observaciones y comentarios realizados en este manuscrito.

Dr. Carlos Lobato García.

Dr. Cuauhtémoc Alvarado Sánchez

Dr. Ever A. Ble González.

Dr. Erick Natividad Hernández.

Dra. Nancy Romero Ceronio.

También a todas aquellas personas que de manera indirecta hicieron posible la culminación de este trabajo.

INDICE	
ABREVIATURAS.....	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ESQUEMAS	9
LISTA DE GRÁFICAS.....	10
LISTA DE TABLAS.....	10
RESUMEN	11
Abstract.....	12
I.- INTRODUCCION.	13
II.- MARCO TEORICO.	14
II.I Energía de Microondas.....	15
II.II. Principios de Química verde.	17
II.III. El cáncer y agentes quimioterapéuticos.....	19
II.IV. Síntesis de chalconas y derivados, con actividad biológica.....	21
II. OBJETIVOS:	28
III.I.- OBJETIVO GENERAL.....	28
III.II.- OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	28
IV. METODOLOGIA.	29
IV.1 Fase Experimental I: Síntesis Química.....	29
IV.1.1 Reactivos:.....	29
IV.1.2. Síntesis de compuestos:	30
IV.2 Fase Experimental II: Pruebas biológicas.....	32
IV.2.1 Pruebas de Solubilidad de los compuestos.....	32
IV.2.2 Evaluación Citotóxica de compuestos 24a, 24b y 24c.....	32
IV.2.3 Ensayo Clonogénico mediante cristal violeta.-	33
IV.2.4 Análisis estadístico.	35

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	36
V.1. Fase experimental I: Síntesis química de las chalconas	36
V.1.1. Optimización de las condiciones de reacción.....	36
V.1.2 Aplicación de la condición optimizada para la obtención de compuestos 24a-c. Caracterización espectroscópica de los compuestos.	38
V.1.3. Formación de la 1,2- <i>bis</i> (2-hidroxifenil)etano-1,2-diona.	44
V.1.3. Datos espectroscópicos de los compuestos sintetizados.....	46
V.2. Fase experimental II: Evaluación Biológica	50
V.2.1 Resultados de las pruebas de solubilidad.	50
V.1.2Pruebas citotóxicas.	51
V.I.III. Ensayo clonogénico.	53
Conclusión:.....	58
Perspectivas:.....	59
BIBLIOGRAFIA	60
ANEXOS	64
ESPECTROS DE RMN DE 24a.....	64
ESPECTROS DE RMN DE 24b.....	67
ESPECTROS DE RMN DE 24c.....	70

ABREVIATURAS

C.C.F	Cromatografía de capa fina
CDDP	cis-diaminodicloroplatino(II)
DMSO	Dimetilsulfóxido.
HeLa	Células tumorales de cérvix.(VPH18)
Caski	Células tumorales de cérvix.(VPH16)
Siha	Células tumorales de cérvix.(VPH16)
I.R.	Infrarrojo.
RMN ^1H	Resonancia magnética nuclear de hidrogeno.
RMN ^{13}C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13.
COSY	Resonancia de correlación espectroscópica homonuclear
HSQC	Resonancia de correlación heteronuclear cuantitativo a un enlace de ^{13}C , ^1H .
HMBC	Resonancia de correlación heteronuclear de múltiples enlaces de ^{13}C , ^1H .
M.O.	Microondas.
MeOH	Metanol.
EtOH	Etanol.
CaUC	Cáncer Cérvico Uterino.
VPH-AR	Virus del papiloma humano de alto riesgo.
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium
DMEM	modificación de medio Basal Medium Eagle
PBS	Tapón fosfato salino.
m-CPBA	Meta-cloroperbenzoico.

LISTA DE FIGURAS

		pág.
Fig. 1	Estructura General de las chalconas.	14
Fig. 2	Orientación de los dipolos de moléculas reactantes con el uso de Microondas.	16
Fig. 3	Materias Primas utilizadas.	29
Fig. 4	Esquema de placa de cultivo celular.	34
Fig. 5	Estructura de 1,2-bis(2-hidroxifenilfenil)etano-1,2-diona.	40
Fig. 6	Numeración empleada para los datos de RMN ^1H y ^{13}C .	46
Fig. 7	Células HeLa expuestas a compuestos 24a-24c y CDDP.	55

LISTA DE ESQUEMAS

		pág.
Esquema 1.	Reacción de Condensación de Claisen-Schmidt para síntesis de chalconas.	14
Esquema 2.	Síntesis de chalcona por condensación de Claisen-Schmidt.	21
Esquema 3.	Síntesis de 1-[4-(acridinil-9-amino)fenil]-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona.	22
Esquema 4.	Síntesis de chalconas sulfonadas.	23
Esquema 5.	Síntesis de chalconas doblemente sulfonadas.	23
Esquema 6.	Obtención de chalconas por Claisen-Schmidt.	24
Esquema 7.	Síntesis de α -cianobis(indol)chalconas.	25
Esquema 8.	Síntesis de chalcona-quinazolina.	26
Esquema 9.	Síntesis de chalconas con nanopartículas de cobre.	27
Esquema 10.	Reacción utilizada para optimización de síntesis de chalconas.	31
Esquema 11.	Síntesis de chalconas con nanopartículas de cobre.	36
Esquema 12.	Síntesis de 1-fenilbutano-1,3-diona.	44
Esquema 13.	Síntesis de 1,2-dicetona.	44
Esquema 14.	Preparación de 1,2-dicetonas aromáticas vía catálisis con rutenio.	45
Esquema 15.	Preparación de 1,2-dicetonas aromáticas vía catálisis con rutenio.	45

LISTA DE GRÁFICAS.

		pág.
Gráfica 1.	Comparativo de efecto citotóxico de los compuestos 24a , 24b y 24c .	51
Gráfica 2.	Ensayo Clonogénico de los compuestos 24a , 24b y 24c en células HeLa.	54
Gráfica 3.	Ensayo Clonogénico de los compuestos 24a , 24b y 24c en células CaSki.	56
Gráfica 4.	Ensayo Clonogénico de los compuestos 24a , 24b y 24c en células SiHa.	57

LISTA DE TABLAS.

		pág.
Tabla 1.	Clasificación de solventes.	17
Tabla 2.	Tabla de optimización de condiciones de reacción.	37
Tabla 3.	Punto de fusión, % rendimiento y condiciones de reacción	38
Tabla 4.	Señales de IR de los compuestos 24a-c	47
Tabla 5.	Constantes de acoplamiento RMN ¹ H de los compuestos 24a-c .	48
Tabla 6.	Constantes de acoplamiento RMN ¹³ C de los compuestos 24a-c .	49
Tabla 7.	Pruebas de solubilidad.	50
Tabla 8.	Determinación experimental del porcentaje de viabilidad celular de compuestos 24a-c	52

RESUMEN

Las chalconas son compuestos que poseen diferentes actividades biológicas, entre las que se encuentran la actividad antiinflamatoria,¹ antibacterial,² antifúngica,³ anticancerígena,⁴ por mencionar algunos ejemplos. Dichas propiedades son atribuidas a su sistema α , β -insaturado y a los sustituyentes en cada uno de los anillos aromáticos que las constituyen. En particular, la presencia de grupos hidroxilo y de anillos aromáticos aumenta la actividad inhibitoria de células cancerígenas. El objetivo de este estudio fue sintetizar chalconas sustituidas con grupos hidroxilo en la posición 2', que además poseyeran o carecieran de sustituyentes en el anillo B. Durante el desarrollo experimental de esta tesis se sintetizaron 3 compuestos: la 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**24a**), la 1,2-bis-(2-hidroxifenil)etano-1,2-diona (**24b**), y la 1,3-difenil-2-propanona (**24c**). Los compuestos fueron obtenidos con rendimientos que van desde un 40% a un 85%, por medio de la condensación aldólica de Claisen-Schmidt utilizando energía de microondas (MO). La estructura de los compuestos se corroboró por análisis espectroscópicos de IR, RMN ^1H , ^{13}C , en algunos casos bidimensionales, además de punto de fusión. Posteriormente se evaluó la actividad citotóxica de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** en células monoclonares de sangre periférica de individuos sanos y en 3 diferentes líneas de cáncer de cérvix en concentraciones de 10, 50, 100 y 200 μM . En el estudio de citotoxicidad en células mononucleares de sangre periférica realizado a 48 h se observó que con el compuesto **24b** la viabilidad celular fue del 100%, en tanto que con el compuesto **24a** fue de 87.5% y con **24c** del 96%. En el ensayo clonogénico que se realizó a 72 h se observó que la chalcona **24c** a una concentración de 10 μM presenta un efecto antiproliferativo celular en las 3 líneas tumorales y una viabilidad celular a esa misma concentración del 96%. El compuesto **24c** presentó una selectividad citotóxica mayor al 70% en la línea celular tumoral Caski.

Abstract

The aim of this work was to report the synthesis of chalcones derivatives by the Claisen-Schmidt condensation reaction, their cytotoxicity on Normal mononuclear cells and clonogenic assay on cervical cancer cell lines. The derivatives were obtained by the Claisen Schmidt condensation reaction. The cytotoxic assay was performed on mononuclear cells from normal healthy donors. The clonogenic assay was performed with the Hela, Caski and Siha cervical cancer cell lines, employing Cisplatin as a control treatment. The cytotoxic assessment revealed that the compound **3c** had the higher effect reducing significantly tumor cell viability with a 48% of antiproliferative activity at 10 μ M. These results support the antiproliferative activity proposed for some chalcones derivatives, which suggest a possible use as antitumor treatment in a near future, although further studies are required to evaluated the mechanisms.

I.- INTRODUCCION.

La necesidad del ser humano por obtener nuevos fármacos para tratar las diferentes enfermedades emergentes, ha motivado la exploración de muchos productos naturales. Entre estos se han encontrado algunos compuestos que ejercen fuertes efectos sobre las células tumorales, pero para poder asegurar que son idóneos en el desarrollo de nuevos fármacos, es importante garantizar que tales efectos no afecten a las líneas celulares normales. Las células mononucleares de sangre periférica son las primeras líneas de defensa de nuestro organismo, detectan y destruyen cualquier agente extraño que ingrese al mismo y se utilizan para probar la ausencia de efectos nocivos sobre las células normales.⁵

Las chalconas son compuestos que se encuentran abundantemente en la naturaleza, desde helechos hasta plantas superiores, están asociadas con diversas actividades biológicas como son: antioxidantes,⁶ anticancerígenas,⁷ antibacterial,⁸ antifúngica,⁹ entre otras. En diversos estudios realizados a estos compuestos se ha observado que el patrón de sustitución en el anillo A o B, es lo que les confiere las diferentes propiedades biológicas. Una chalcona puede ser definida como una cetona aromática unida a una enona, siendo la benzilideneacetofenona el miembro principal de esta familia de compuestos, también se conoce a este compuesto como fenilcetonaestirilo, benzoacetofenona y betafenilacrilofenona. La principal forma de obtención de las chalconas mediante síntesis química es por la reacción de condensación de Claisen-Schmidt¹⁰ aunque actualmente se han implementado diferentes métodos de síntesis libres de solvente, con los que se obtienen altos rendimientos y que son nobles con el ambiente.¹¹

II.- MARCO TEORICO.

Las chalconas¹² y sus derivados,¹³ son compuestos polifenólicos clasificados dentro la familia de los flavonoides, y se les ha encontrado en muchas especies de plantas como precursores metabólicos de diversos tipos de flavonoides o isoflavonoides. Químicamente el esqueleto de las chalconas lo constituye el sistema α, β -insaturado de la 1,3-difenil-2-propen-1-ona (Figura 1).

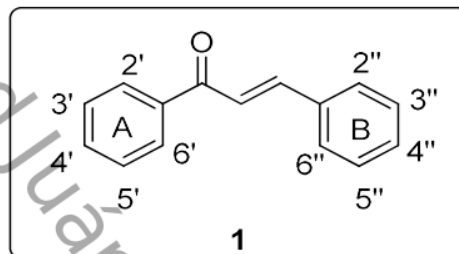
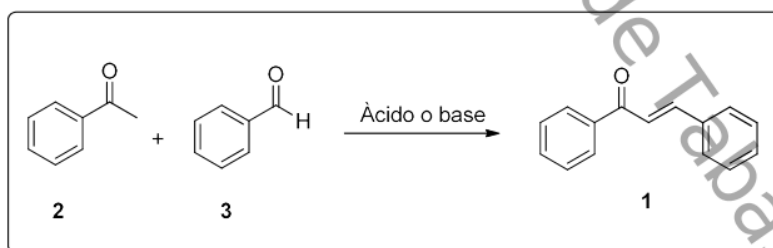


Figura 1.- Estructura de Chalcona.

Una de las formas de obtención de chalconas es mediante condensación aldólica cruzada conocida como la reacción de Claisen-Schmidt,¹⁴ dicha reacción se lleva a cabo entre dos especies diferentes (acetofenona y benzaldehído) las cuales son catalizadas por un ácido o una base (Esquema 1). Existen variaciones más eficientes de esta metodología, con tiempos de reacción más cortos y rendimientos superiores, en las que además se utilizan disolventes y reactivos más amigables con el medio ambiente.



Esquema 1.- Reacción de condensación de Claisen-Schmidt para la síntesis de Chalconas

II.I Energía de Microondas. ¹⁵

El magnetrón fue uno de los primeros equipos que generaban radiación por microondas, fue creado durante la segunda guerra mundial por Randall y Booth; pero fue hasta 1946 que se firmó la primera patente de un microondas dieléctrico por calentamiento, a partir de este tipo de hornos comerciales se inicia sus aplicaciones industriales.

En el campo de la química orgánica, en 1969 Vanderhof aplicó por primera vez la energía generada por microondas en la polimerización de monómeros vinílicos solubles en agua. Sin embargo las primeras publicaciones referentes a la aplicación de la energía de microondas en síntesis de compuestos orgánicos aparecen hasta 1969 y fueron realizadas por R. Gedye y R.J. Ciguere.¹⁵

En 1888 el químico sueco Svante Arrhenius sugirió que las moléculas deben poseer una cantidad mínima de energía cinética para reaccionar, si las moléculas se mueven muy lentamente sólo rebotarán al chocar entre sí y la reacción no se llevará a cabo. Para que las moléculas reaccionen, deben tener una energía cinética total que sea igual o mayor que cierto valor mínimo de energía llamado *energía de activación* (E_a), una colisión con una energía de la misma magnitud (o mayor) a la E_a , da lugar a que las moléculas que interaccionan alcancen el estado de transición y para que esto suceda, se requiere que estén orientadas correctamente. La velocidad de una reacción depende también de la temperatura. A una temperatura alta (100°C , 273°K), se incrementa de manera considerable el número de moléculas que presentan una energía adecuada, por lo tanto se incrementa la rapidez de la reacción.

La energía de microondas se transfiere directamente a los reactantes, por lo que se provoca su supercalentamiento instantáneo, lográndose condiciones de reacción más suaves, menores tiempos de reacción y mejores rendimientos. Es usual que al utilizar la radiación de microondas como fuente de calentamiento se incremente la energía que poseen las moléculas para que éstas alcancen la energía de activación

necesaria para asegurar que en el choque entre dos moléculas ocurra y que se formen enlaces por la interacción entre centros nucleofílicos (dipolo negativo de una molécula) y los centros electrofílicos (dipolos positivos de otras moléculas). Los ordenamientos moleculares que se consiguen favorecen las reacciones ¹⁶ al orientarse las moléculas de tal manera que se facilitan dichas interacciones (Figura 2) formando enlaces de tal modo que los reactivos se transformen en productos.

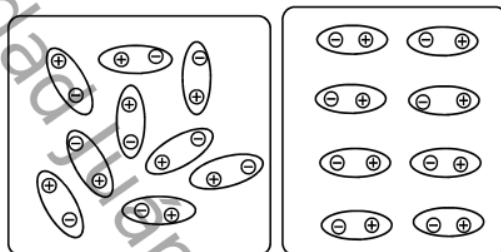


Figura 2. Orientación de los dipolos de moléculas reactantes: a) con transferencia de calor b) al utilizarse la energía de microondas como fuente de activación.

La polaridad del solvente juega un papel muy significativo en las reacciones asistidas por microondas. Si los reactantes son "no-absorbentes" entonces es necesario un solvente polar. Entre más polar sea la mezcla de reacción, mayor será la habilidad para acoplarse con la energía de las microondas, conduciendo a un rápido incremento en la temperatura (Tabla 1).

Tabla1. Clasificación de Solventes

Nivel de Absorbancia	Solventes
Alto	DMSO, EtOH, MeOH, propanol, nitrobenzono, ácido fórmico, etilenglicol.
Medio	Agua, DMF, NMP, butanol, acetonitrilo, HMPA, metiletil cetona, acetona y otras cetonas, nitrometano. o-diclorobenceno, 1,2-dicloroetano, 2-metoxietanol, ácido acético, ácido trifluoroacético.
Bajo	Cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono, 1,4-dioxano, THF, 1,2-dimetoxietano y otros éteres, acetato de etilo, piridina, trietilamina, tolueno, benceno, clorobenceno, Xilenos, pentano, hexano, y otros hidrocarburos.

Los solventes no-polares como el hexano, benceno y tolueno no absorben eficientemente la energía de las microondas, y por lo tanto no calientan las reacciones de forma adecuada, actuando como protectores de calor para los sustratos. Las mezclas de reacción sensibles a la temperatura se benefician de esta habilidad, ya que el disolvente no-polar ayudará a extraer el calor térmico producido por la interacción entre la irradiación de microondas y los reactivos polares. La reacción seguirá recibiendo energía de activación, pero su temperatura interna permanecerá baja.

II.II. Principios de Química verde.

En 1962 Rachel Carson escribió un libro donde describe la devastación que ciertos productos químicos tuvieron en los ecosistemas locales¹⁷; esta publicación y otras más dieron inicio a que en 1990 se publicara la ley de Prevención de la Contaminación,¹⁸ que marcó un cambio en la política regulatoria “del control a la prevención” como la estrategia más eficaz para evitar los problemas ambientales. Sin embargo, fue hasta 1998 que Paul Anastas y Warner escribieron el primer libro de

Química verde: teoría y práctica, donde se describen a detalle los 12 principios que siguen siendo las bases de la química verde hasta la época actual.¹⁹

En la actualidad no solo es indispensable llevar a cabo la síntesis de compuestos orgánicos con buenos rendimientos, sino que también se debe asegurar que la contaminación derivada de tales procesos no afecte al medio ambiente. La implementación de la química verde tiene por objetivo reducir y eliminar el uso de sustancias nocivas al medio ambiente y a la salud; según la Agencia de protección ambiental de los estados unidos (EPA Environmental Protection Agency), la química verde es el uso de la química para la prevención de la contaminación y el diseño de productos químicos y procesos benéficos para el ambiente.²⁰

La química verde plantea doce principios:^{19,20}

1. Prevenir la creación de residuos. Resulta más útil evitar o reducir la producción de desechos que tratarlos o limpiarlos tras su formación.
2. Maximizar la economía atómica. Los métodos sintéticos deben maximizar la incorporación de cada material utilizado en el proceso.
3. Realizar síntesis química menos peligrosa. Consiste en elaborar procesos que generen la mínima toxicidad e impacto ambiental.
4. Diseñar productos y compuestos menos peligrosos. Los productos químicos se deben diseñar con una toxicidad mínima.
5. Utilizar disolventes y condiciones seguras de reacción. Las sustancias auxiliares de los procesos químicos (disolventes, tampones, aditivos de separación, entre otros), han de ser inocuas y reducirlas al mínimo.
6. Diseñar para la eficiencia energética. Deben minimizarse los requerimientos energéticos para los procesos químicos, los cuales serán evaluados por su impacto medioambiental y económico, y reducirlos al máximo, intentando llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura y presión ambiente.

7. Utilizar materias primas renovables. Los materiales de partida utilizados deben proceder de fuentes renovables, en la medida en que sea económica y técnicamente factible.
8. Evitar derivados químicos. La síntesis debe diseñarse con el uso mínimo de grupos protectores para evitar pasos extras y reducir los desechos.
9. Al utilizar catalizadores, deben emplearse catalizadores lo más selectivos y reutilizables posibles.
10. Diseñar productos fácilmente degradables al final de su vida útil. Los productos químicos deben ser diseñados de tal manera que al culminar su función no persistan en el ambiente y puedan degradarse a derivados inertes o biodegradables.
11. Monitorear los procesos químicos en tiempo real para evitar la contaminación. Debe crearse sistemas de control y monitorización continuos para prevenir la producción de sustancias peligrosas durante los procesos.
12. Prevenir accidentes. Diseñar los procesos químicos, utilizando métodos y sustancias que reduzcan los accidentes (emisiones, explosiones, incendios, entre otros), y minimizar los daños.

II.III. El cáncer y agentes quimioterapéuticos.

Cáncer es un término genérico con que se designa a un amplio grupo de enfermedades también llamadas tumores o neoplasias malignas, se caracteriza por una rápida multiplicación de células anormales y puede afectar a cualquier parte del organismo. El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo p. ej., en el 2012 causó la muerte de 8.2 millones de personas y se registraron 14 millones de nuevos casos.²¹ Se prevé que el número de casos aumente en aproximadamente un 70 % en los próximos 20 años. Los tumores malignos diagnosticados con mayor frecuencia en el hombre fueron los de pulmón, próstata, colon, recto, estomago e hígado; Mientras que en la mujer el cáncer de mama y cuello uterino fueron los más frecuentes.

El cáncer cervicouterino (CaCU),¹¹ representa la segunda causa de mortalidad en población femenina a nivel mundial,²² y es una de la segunda causa de muerte en la población femenina mexicana. Este tumor representa más del 24% de todas las neoplasias malignas reportadas en México, haciendo de esa neoplasia uno de los problemas de salud más graves.²³ El factor etiológico más importante para el desarrollo del CaCU,²⁴ es la infección con virus de papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) siendo los más frecuentes los tipos 16 y 18.²⁵ La metástasis o invasión de las células malignas por todo el cuerpo es la principal causa de muerte por dicha enfermedad.

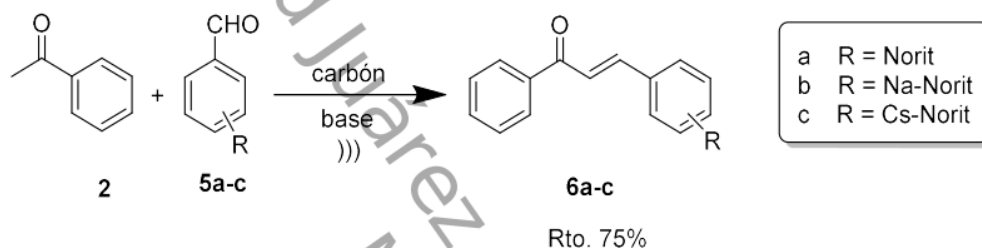
El *cis*-diaminodicloroplatino(II) (cisplatino, CDDP) fue el primer anticancerígeno en ser identificado; siendo este un agente quimioterapéutico ampliamente usado en neoplasias ováricas, testiculares y vesicales; con el paso del tiempo se han sintetizado compuestos más específicos a un tipo de cáncer por ejemplo: Avastin, Bevacizumab, Blenoxane e Hycamtin son fármacos usados para un particular cáncer de cérvix en etapas avanzadas, Nexavar para cáncer de hígado entre otros.²⁶

Sin embargo, el factor limitante del uso terapéutico de la mayoría de los agentes quimioterapéuticos es el gran efecto mielosupresivo²⁷ relacionado con su administración en dosis altas, lo que ha conducido a la búsqueda de nuevos compuestos a partir de materias primas naturales y renovables con actividades biológicas específicas.

II.IV. Síntesis de chalconas y derivados, con actividad biológica.

Las chalconas son compuestos naturales que pueden ser sintetizadas en el laboratorio y que además presentan diferentes actividades biológicas, inclusive como una opción para el tratamiento del cáncer; por mencionar unos ejemplos tenemos a:

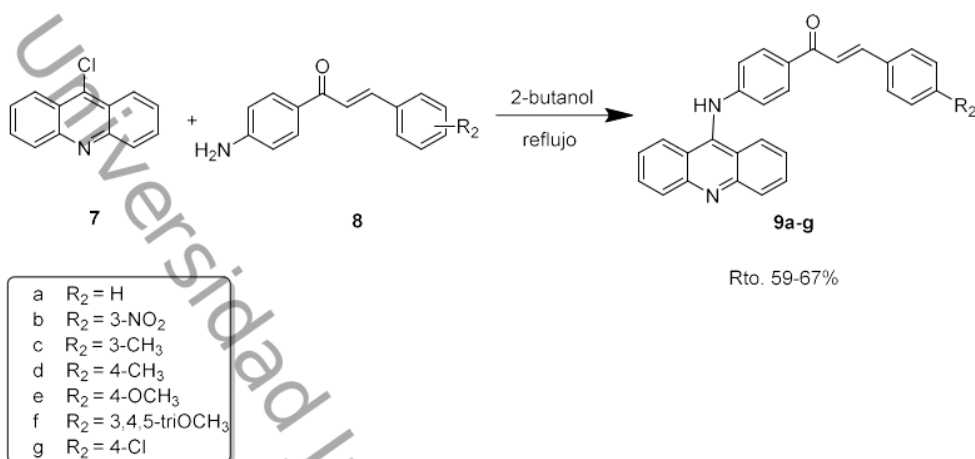
En el 2005 Calvino y cols., realizaron la síntesis de chalconas por condensación de Claisen-Schmidt bajo irradiación sonoquímica, utilizando como catalizador carbono poroso en tres diferentes tamaños, en rendimientos de 75% (Esquema 2).²⁸



Esquema 2.- Síntesis de chalconas de Calvino.

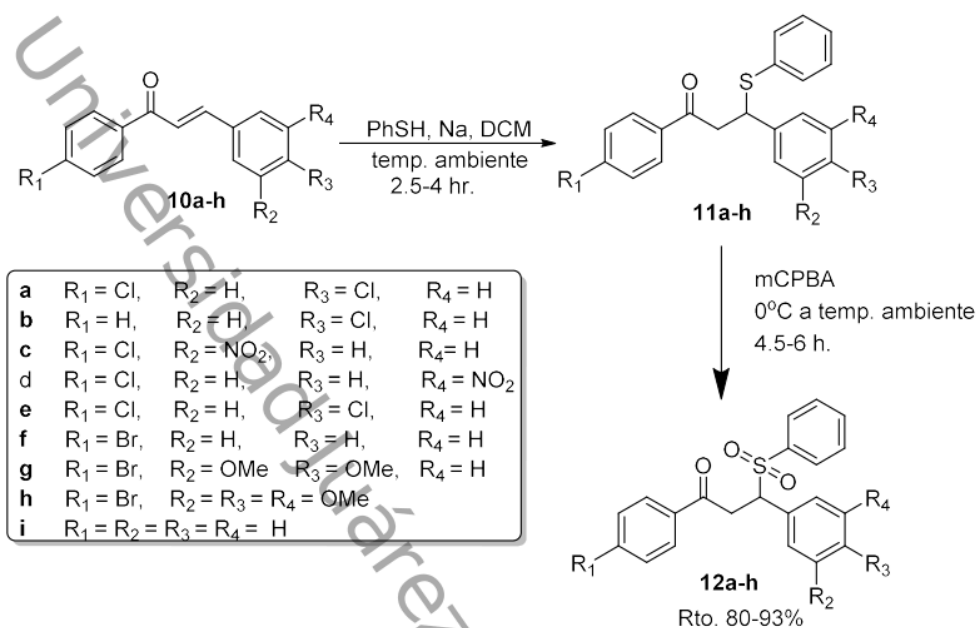
En el año 2010 Tomar y colaboradores realizaron la síntesis de una serie de chalconas que contenían acridina unida al anillo A; dichas chalconas fueron sintetizadas, a partir de una reacción de sustitución nucleofílica aromática y evaluadas por su actividad inhibitoria *in vitro* contra *Plasmodium falciparum*.

Con los compuestos antes mencionados se observó una inhibición de la maduración del parásito a una concentración de 10 µg/ml, excepto para el compuesto **9e**, con el cual se encontró una inhibición del 71.4% a una concentración de 4 µg/mL (Esquema 3).²⁹

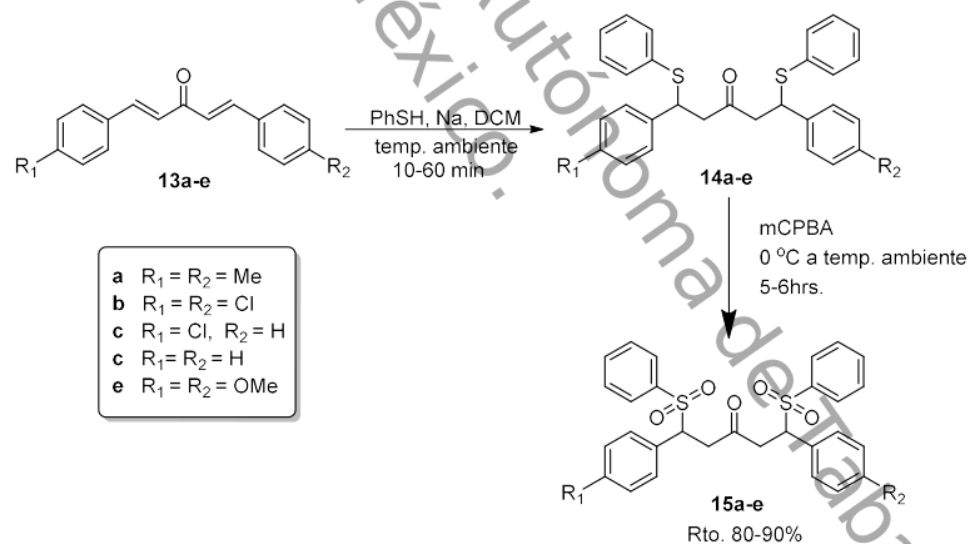


Esquema 3.- Síntesis de *N*-acridin-chalconas.

En el año 2013 Kumar y colaboradores realizaron las síntesis de derivados sulfonados de chalconas y bisulfonados de dibenzilidenacetonas.³⁰ Para ello inicialmente el tiofenol se adicionó sobre las chalconas o dibenzilidenacetonas mediante una reacción conjugada a temperatura ambiente en presencia de sodio metálico. Los tioéteres resultantes se oxidaron con ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) a 0°C, obteniéndose las sulfonas con rendimientos de 80-93% y la bisulfonas en rendimientos de 80-90% (Esquema 4 y 5).



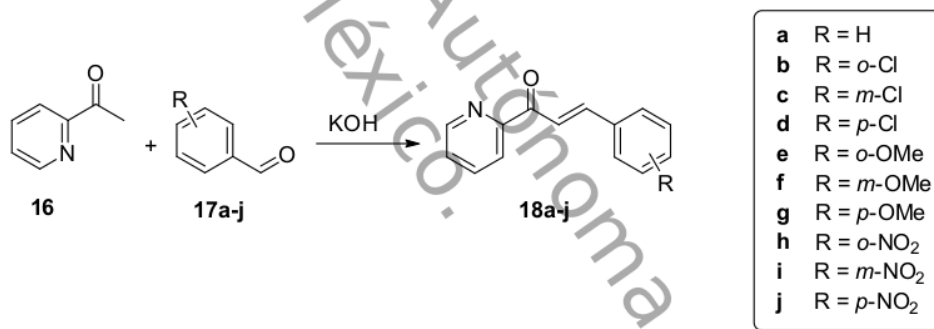
Esquema 4.- Síntesis de chalconas sulfonadas.



Esquema 5.- Síntesis de chalconas doblemente sulfonadas.

La actividad antimicrobiana de ambas series fue evaluada en cepas de bacterias Gram positivas como: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y en bacterias Gram negativas : *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhimurium*. También se probó la actividad antifúngica de los compuestos preparados en las cepas de hongos: *Aspergillus niger* y *Candida albicans*. Se encontró que los compuestos **12h**, **12i** y **12g** tuvieron una excelente actividad antibacterial contra *S. typhimurium*, en tanto que el compuesto **12e** mostró mejor actividad antibacterial contra *B. subtilis*. Por otro lado, los compuestos **12b**, **12d**, **12h**, **12i**, **15a** y **15c** mostraron una mejor actividad antifúngica contra *C. albicans* que la Amfotericina-b, o la Nistatina.

En ese mismo año Garg y colaboradores sintetizaron una serie de chalconas por condensación de Claisen-Schmidt y observaron su efecto sobre la albumina de suero bovino. Las chalconas 3-fenil-1-(piridin-2-il)prop-2-en-onas **18a-j** fueron sintetizadas usando benzaldehído orto sustituido **17** con 2-acetilpiridina **16** en presencia de hidróxido de potasio (Esquema 6).³¹

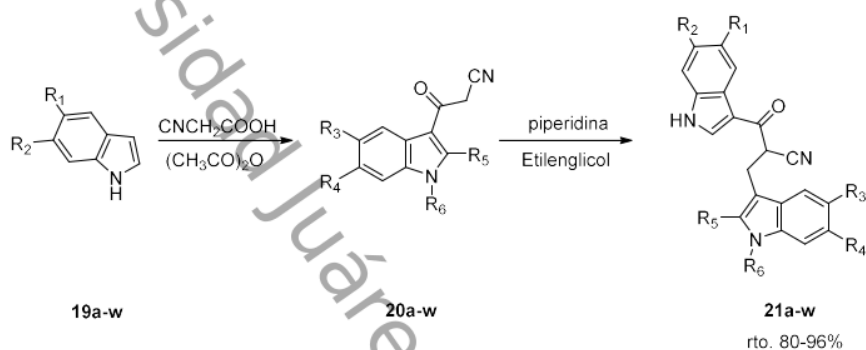


Esquema 6.- Obtención de chalconas por Garg y cols.

El efecto de las chalconas sobre la albumina se observó por precipitación de la proteína, encontrándose que todas ellas tuvieron interacción, independientemente de la naturaleza y la posición de sus sustituyentes.

En ese mismo año Kumar y colaboradores realizan la síntesis de 23 α -cianobis (indol) chalconas utilizando como catalizador piperidina y microondas como energía

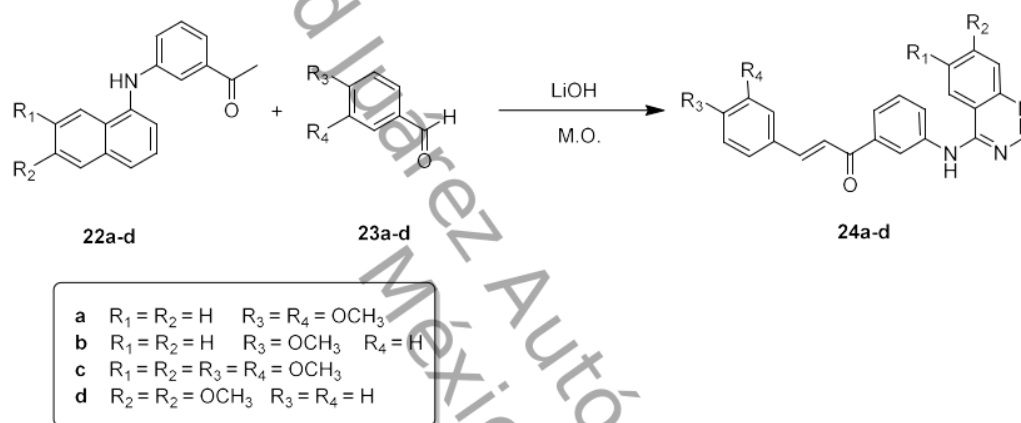
de activación; en rendimientos de 80-96%. Además, se realizaron pruebas biológicas sobre las chalconas para medir su actividad anticancerígena *in vitro*; para lo que se utilizaron células cancerígenas de próstata, páncreas y pulmón; encontrándose que el compuesto **21n** fue un inhibidor potente y selectivo, en células tumorales de pulmón (Esquema 7).³²



a	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
b	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = OMe	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
c	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = F	R ₅ = H	R ₆ = H
d	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = OMe	R ₅ = H	R ₆ = H
e	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
f	R ₁ = Br	R ₂ = H	R ₃ = Br	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
g	R ₁ = OMe	R ₂ = H	R ₃ = OMe	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
h	R ₁ = OMe	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = F	R ₅ = H	R ₆ = H
i	R ₁ = H	R ₂ = F	R ₃ = H	R ₄ = F	R ₅ = H	R ₆ = H
j	R ₁ = H	R ₂ = F	R ₃ = OMe	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
k	R ₁ = H	R ₂ = F	R ₃ = H	R ₄ = OMe	R ₅ = H	R ₆ = H
l	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = OMe	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = H
m	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = H	R ₄ = OMe	R ₅ = H	R ₆ = H
n	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = H	R ₄ = F	R ₅ = H	R ₆ = H
o	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = OCH ₂ C ₆ H ₄	R ₆ = H
p	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = CH ₃
q	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-ClC ₆ H ₄ CH ₂
r	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ CH ₂
s	R ₁ = H	R ₂ = H	R ₃ = Br	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-ClC ₆ H ₄ CH ₂
t	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-ClC ₆ H ₄ CH ₂
u	R ₁ = H	R ₂ = OMe	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ CH ₂
v	R ₁ = H	R ₂ = F	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-ClC ₆ H ₄ CH ₂
w	R ₁ = H	R ₂ = F	R ₃ = H	R ₄ = H	R ₅ = H	R ₆ = 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ CH ₂

Esquema 7.- Síntesis de α-cianobis-(indol)-chalconas.

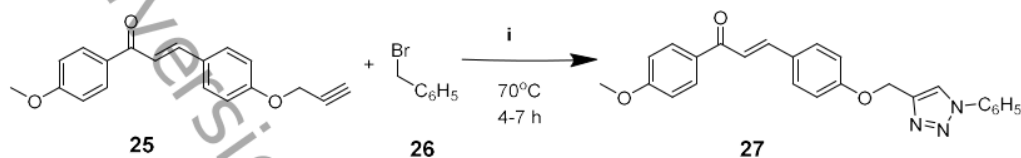
En julio del 2016 Kraege y colaboradores sintetizaron diferentes derivados metoxilados, heterodimericos de quinazolinon-chalconas, utilizando para ello LiOH y MO como energía de activación, a una temperatura de 100°C por 30 min.³³ A esta serie de chalconas se les evaluó el efecto biológico inhibitorio sobre la proteína BCRP/ABCG2 (proteína que provoca multiresistencia a diversos fármacos contra el cáncer de mama). Se observó que los compuestos **24a** y **24b** mostraron una gran actividad inhibitoria de esta proteína, por lo que pueden considerarse una nueva y eficaz clase de inhibidores, que revierte la resistencia a la quimioterapia (Esquema 8).



Esquema 8.- Síntesis de quinazolin-chalconas.

En este mismo año Yadav y colaboradores sintetizaron la O-triazolilmetil-chalcona **27**, las cuales se sintetizaron por condensación aldólica y fueron apoyadas en celulosa sobre nanopartículas de cobre³⁴, a estas se les realizó ensayo de citotoxicidad sobre 4 líneas celulares, por el método de MTT; se observó que el compuesto **27** presentó el mejor porcentaje de inhibición en las líneas celulares tumorales. Se le realizó a este compuesto un análisis en el ciclo celular de dichas

células encontrando que el efecto se debe a una detención del ciclo celular en la fase G2 y S (Esquema 9).



i: nanopartícula de cobre, azida de sodio, H₂O.

Esquema 9.- Síntesis de chalcona para sustituida apoyadas en nanopartículas de cobre.

En los últimos 30 años, la investigación sobre los efectos de chalconas en diferentes tipos de cáncer ha despertado el interés por su uso.³³ La literatura sobre el uso de chalconas³⁵ se enfoca principalmente en la manipulación estructural de los dos anillos arílicos, por ejemplo, la introducción de grupos metoxi e hidroxilo.

II. OBJETIVOS:

III.I.- OBJETIVO GENERAL.

Realizar la síntesis de chalconas 2'-sustituidas, evaluar *in vitro* su efecto citotóxico en células normales y determinar la actividad inhibitoria sobre la proliferación de células tumorales de cérvix.

III.II.- OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1.- Realizar la síntesis de las chalconas

- (E)-1-(2-hidroxifenil)-3-fenilpro-2-en-1-ona (**24a**).
- (E)-3-(4-hidroxil-3-metoxifenil)-1-(2-hidroxifenil)-prop-2-en-1-ona (**24b**).
- (E)- Chalcona (**24c**).

2.-Evaluar *in vitro* la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados en células mononucleares de sangre periférica.

3.- Examinar el efecto inhibitorio de los compuestos sintetizados en la proliferación de las células tumorales de cérvix, mediante XTT.

IV. METODOLOGIA.

En esta tesis se propuso desarrollar la metodología en dos Fases Experimentales:

- I. Síntesis química de las chalconas. Realizada en el Laboratorio de Investigación de Química Orgánica de la División Académica de Ciencias Básicas, UJAT.
- II. Evaluación biológica de las chalconas sintetizadas. Realizada en la División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, UJAT.

IV.1 Fase Experimental I: Síntesis Química.

IV.1.1 Reactivos:

Todos los reactivos y disolventes para la síntesis, caracterización y purificación de los productos fueron de grado analítico de la marca Sigma-Aldrich. Las materias primas se esquematizan a continuación:

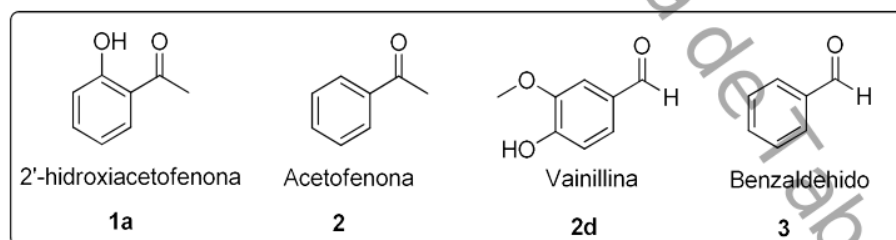


Figura 3.-Materia primas utilizadas

La síntesis de todas las reacciones fue seguida por cromatografía en capa fina (CCF), utilizando como absorbente gel de sílice 60 con indicador fluorescente 254 nm de 0.2 mm de espesor marca Merck. Los productos se detectaron con luz ultravioleta y se revelaron con una solución de permanganato de potasio. La purificación de los productos se realizó por recristalización con par de disolventes.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de Hidrogeno (RMN ^1H), y carbono (^{13}C) se determinaron en un equipo Bruker (500 MHz y 600 MHz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna; el disolvente utilizado en todos los casos fue cloroformo deuterado (CDCl_3). Los desplazamientos químicos (δ); se expresan en ppm; la numeración usada en la elucidación estructural es independiente a la nomenclatura IUPAC y se asignó a conveniencia para su simplificación. La espectroscopia de Infrarrojo (IR) se realizó con un equipo marca: Shimadzu, las señales se expresan como cm^{-1} . Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fischer-Jones y no fueron corregidos.

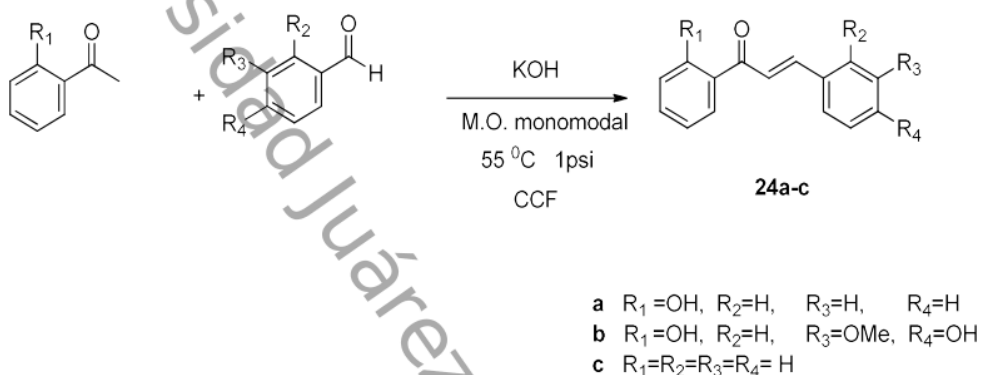
IV.1.2. Síntesis de compuestos:

La ruta de síntesis para la obtención de las chalconas propuesta es la condensación de Claisen-Schmidt,³⁶ en condiciones sustentables, bajo irradiación de microondas, de acuerdo al siguiente procedimiento general de síntesis:

Procedimiento general 24a-c:

En un matraz de fondo redondo de 25 mL con agitador magnético, se disolvieron en cantidades equivalentes la acetofenona 2'-sustituida y el benzaldehído correspondiente en una solución acuosa básica (KOH). La reacción se colocó en un reactor de microondas monomodal a 55°C , y fue monitoreada por CCF (Esquema 10) de 6 – 120 min, obteniendo una solución marrón. Completada la reacción el producto obtenido en algunos casos fue filtrado con agua y en otros lavados en embudo de decantación. En el último caso la fase orgánica fue separada y secada sobre sulfato

de sodio anhidro. Posteriormente se filtró, se evaporó en rotavapor y se llevó a sequedad con bomba de vacío. Los productos en ambos procesos fueron cristalizados por el correspondiente par de solventes (EtOH o MeOH/CH₂Cl₂). Todos los productos fueron caracterizados mediante determinación de punto de fusión, IR, RMN ¹H y ¹³C, y en algunos casos experimentos bidimensionales.



Esquema 10. Esquema General de ruta sintética de chalconas.

IV.2 Fase Experimental II: Pruebas biológicas.

IV.2.1 Pruebas de Solubilidad de los compuestos.

Se realizaron pruebas de solubilidad de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** sintetizados con el objetivo de poder encontrar el vehículo apropiado para su depósito en cultivo de células mononucleares. Los disolventes que se emplearon fueron Etanol, DMSO, Hartman, solución fisiológica, PBS (Solución amortiguadora de fosfatos).

Para realizar las pruebas de solubilidad se colocaron una serie de tubos de ensaye de 6mL con medidas de 13 por 100mm, a los que se les agregaron 0.1 gr en tubos diferentes de cada uno de los compuestos antes mencionados y 1 mL de disolvente, se agito y se observó (prueba de solubilidad en frio). Para ser viable la solubilidad de los compuestos es necesaria a temperatura ambiente en cada uno de los disolventes, por lo que no se realizaron pruebas de solubilidad en caliente.

IV.2.2 Evaluación Citotóxica de compuestos 24a, 24b y 24c.

Para evaluar la citotoxicidad de los compuestos se utilizó el método de Exclusión con azul de Tripano.³⁷ El azul de Tripano es un colorante utilizado para el conteo de células vivas por exclusión. Las células vivas con la membrana celular intacta no se colorean debido a que el compuesto no puede atravesarlas; por el contrario, la perdida de la integridad de la membrana de las células muertas permite su ingreso. Por lo tanto, las células muertas se muestran de un distintivo color azul. El procedimiento se describe a continuación:

³ Se aislaron células mononucleares de sangre periférica usando la separación por gradiente de densidad con el reactivo de Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, EE.UU.), de acuerdo con las instrucciones que indica el inserto. Todos los

³ experimentos se establecieron con las células mononucleares extraídas de individuos normales ($n = 5$). Las células se cultivaron con medio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute médium), más un 10% de suero bovino fetal, 10 mM de estreptomicina y 10 mM de L-glutamina (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.) a 37°C, en una incubadora humidificada con CO₂ al 5%. Para el ensayo de toxicidad, las células fueron sembradas en una placa de 96 pocillos a una densidad de 5×10^3 cels / pocillo, y los compuestos **24a**, **24b** y **24c** se incorporaron en el medio con una concentración de 10, 50, 100 y 200 μ M. Los compuestos empleados para los tratamientos se utilizaron recién preparados (en etanol EtOH); ³ las células de control sólo se incubaron con EtOH. Después de 48 horas de tratamiento, las células se tiñeron con azul de tripano al 0,4% y el número de células vivas se midió mediante recuento manual en una microscopio invertido Axio Vert.A1 (Carl Zeiss, GE), utilizando un hemocitómetro (Sigma-Aldrich, EE.UU.). El porcentaje de células viables se determinó por triplicado en el grupo de tratamiento ajustando al valor obtenidos en el grupo de control.

IV.2.3 Ensayo Clonogénico mediante cristal violeta.

Las líneas celulares de cáncer de cuello uterino (HeLa, SIHA, y CaSki) fueron adquiridos de la ATCC, y se cultivan en medio DMEM (medio basal modificado Eagle's Medium) / F12 (*Invitrogen*, Life Technologies) suplementado con 10% de suero bovino fetal (*In vitro*gen, Life Technologies), penicilina-estreptomicina a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada. Los compuestos **24a**, **24b** y **24c** se disolvieron en etanol a temperatura ambiente (Sigma-Aldrich, Biología Molecular) previo al tratamiento.

Las células se sembraron en microplacas de 96 pocillos (Corning) en 4×10^3 células / pocillo en 0,1 ml de medio completo y después se trataron con los compuestos **24a**, **24b** y **24c** cada uno a cuatro diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 200 μ M) durante 72 horas. Después del tratamiento, el medio se aspiró y las células

se lavaron y se fijaron con PBS y 10% de formaldehído, respectivamente. Las células fijadas fueron incubadas con 100 μ l de de cristal violeta al 0.1% (Sigma-Aldrich, reactivo ACS) durante 2 horas. Luego, las células se lavaron con agua destilada, se secaron al aire, y el colorante se eluyó con 100 μ l de una solución de ácido acético al 10% (Merck-Millipore, reactivo ACS). La proliferación celular se evaluó mediante la absorbancia de colorante medido a 590 nm en un lector de microplacas (Epoch, Biotek). Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El efecto citotóxico de cada tratamiento se expresó como un porcentaje de la proliferación celular con relación a células de control no tratadas (Figura 4).

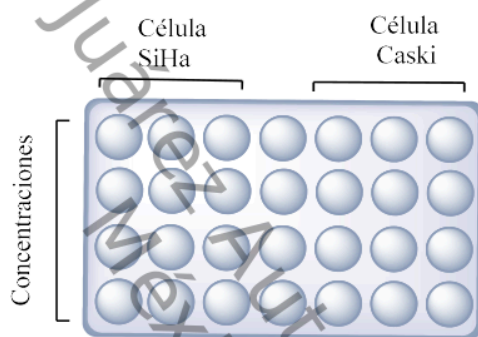


Figura 4. Esquema de placas de cultivo

IV.2.4 Análisis estadístico.

Todos los resultados tanto del ensayo de viabilidad celular como el ensayo clonogénico fueron realizados por triplicado y para su análisis se presentan como ANOVAS con TOKEY.

Para la evaluación del efecto citotóxico en células normales y efecto de inhibición en células tumorales, se calculó el porcentaje con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de V o } \% \text{ I.C.} = (C_v / C_t) 100$$

Donde:

C_v . = células vivas

C_t . = células totales

Se construyó gráficamente:

1. El porcentaje de Citotoxicidad en células mononucleares de sangre periférica, tratadas por cada compuesto a diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 200 μ M).
2. El porcentaje del efecto inhibitorio en tres diferentes líneas celulares cancerígenas de cérvix, tratadas con 3 diferentes compuestos a diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 200 μ M).

Para el manejo de los datos y el análisis estadístico se utilizó el programa Microsoft excell y los gráficos se elaboraron con el programa Sigma Plot versión 12.0.

Se consideró como actividad inhibitoria de células cancerígenas el resultado obtenido fue comparado con respecto al efecto del CDDP (10 μ M).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.

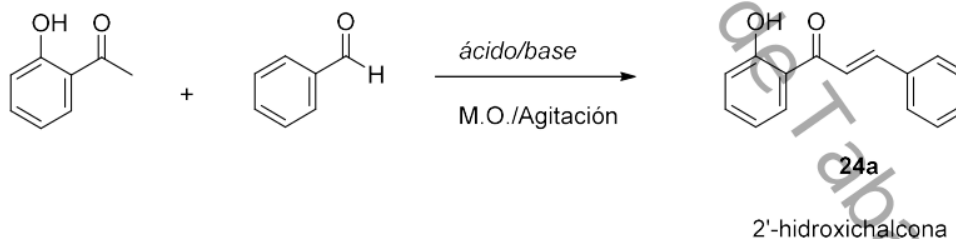
En este apartado se analizan los resultados obtenidos en las etapas experimentales propuestas en este trabajo de tesis.

V.1. Fase experimental I: Síntesis química de las chalconas.

De acuerdo al procedimiento general descrito en la metodología, se propuso sintetizar 3 diferentes chalconas y la explicación de la ruta sintética utilizada; además de su caracterización por espectroscopías de IR, y RMN de ^1H y ^{13}C . Para esto, primero se decidió optimizar las condiciones de reacción:

V.1.1. Optimización de las condiciones de reacción.

Para la síntesis de los compuestos se realizó el estudio de diferentes condiciones de reacción utilizando dos metodologías la tradicional y el uso de energía de activación de MO., las cuales se presentan en la Tabla 2. Para encontrar las condiciones de reacción óptimas se utilizaron como reactivos de partida la 2'-hidroxiacetofenona (**1**) y benzaldehído (**2**) en cantidades equimolares en medio ácido o básico, utilizando como energía de activación las M.O y el calentamiento convencional (Esquema 11).



Esquema 11.- Reacción utilizada para optimización de síntesis de chalconas.

Tabla 2.- Tabla de optimización de condiciones de reacción					
Experimento	Técnica	Tipo de condensación	Proporción Equiv.	Tiempo reacción (min.)	% Rdto.
1	Convencional	Ácida (<i>p</i> -tsOH)	1	1440	No rx.
2			3	1440	No rx.
3		Básico (KOH)	3	1440	60%
4	Microondas 55°C/ 1PSI	Ácida (<i>p</i> -tsOH)	1	20-120	No rx.
5			3	20	No rx.
6			5	20	No rx.
7		Básico (KOH)	3	6	69.6
8			4	6	69.68
9			1	30	No rx.
10		NaOH	2	30	No rx.
11			3	8	69.4

Inicialmente la reacción se activó de forma convencional mediante agitación a temperatura ambiente, sin disolvente y se utilizó el ácido *p*-toluensulfónico como catalizador; desafortunadamente después de 24 h bajo estas condiciones no se observó formación de producto (Exp. 1 y 2). Se cambió el catalizador ácido por hidróxido de potasio y la reacción procedió (Exp. 3), por lo que se dejó en agitación hasta observarse la transformación total de las materias primas (24 h). Una vez encontrado el catalizador adecuado, se probó a cambiar la manera de activar la reacción, para la cual se utilizó la energía de M.O. Nuevamente no se observó formación de producto cuando se utilizó el catalizador ácido (Exp. 4,5 y 6), aun cuando se probaron diferentes tiempos de reacción y hasta 5 eq. del mismo, por lo que se regresó al catalizador básico (KOH). La cantidad de equivalentes de catalizadores utilizados para la reacción son importantes, se encontró por ejemplo, que cuando se utilizaron uno o dos equivalentes y la muestra se irradió por 30min con M.O. no hubo formación de producto (Exp. 7 y 8), éste se observó hasta llegar a los 3 equivalentes; se observó que la reacción concluyó después de un periodo de irradiación de 6 min

(Exp. 9). Posteriormente se probó si el uso de una mayor cantidad de catalizador (4 equivalentes) permitiría disminuir el tiempo de reacción, pero fue necesario irradiar también por 6 min (Exp. 10). Asimismo, se encontró que también se puede utilizar NaOH (3 eq) para catalizar la reacción (Exp.11). Los tiempos de reacción disminuyen drásticamente cuando se utiliza la energía de M.O. como fuente de activación, pasan de 24 h a únicamente 6 min.

V.1.2 Aplicación de las condiciones optimizadas de reacción para la obtención de compuestos 24a-c. Caracterización espectroscópica de los compuestos.

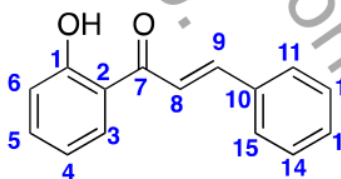
Analizando estos puntos, hasta este momento se establece que el experimento 9 contiene las condiciones más óptimas (el mejor rendimiento empleando la menor cantidad de catalizador), por lo que se decidió utilizar éstas condiciones para la preparación de los demás compuestos (**24b y 24c**) (Tabla 3).

Tabla 3. Puntos de fusión, % de rendimiento y condiciones de reacción de los compuestos 24a-c					
Compuestos	Punto de fusión (°C)		Apariencia	Rendimiento (%)	Tiempo de reacción en M.O. (min)
	Teórico	Experimental.			
24a	78	77-78	Sólido, cristalino, amarillo	69.6	6
24b	--	159	Sólido, cristalino, amarillo paja	40	60
24c	55-57	56	Sólido Cristalino amarillo	85	10

La preparación de los compuestos **24a-c** se desarrolló de la siguiente manera:

Compuesto (24a): Para la síntesis de este compuesto se utilizaron: 2'-hidroxiacetofenona **1a** (1 mmol) con Benzaldehído **2a** (1 mmol) en solución de KOH (1 mL). La mezcla de reacción se irradió con energía de M.O. durante seis minutos. El producto crudo se purificó por cristalización con par de disolventes ($\text{CH}_3\text{Cl}_2/\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$). El compuesto **24a** se obtuvo como un sólido amarillo, p.f. 77-78 °C (lit. 78 °C). **IR** ν_{max} (cm^{-1}) 3450 (C-OH), 1650 (C=O), 1700-1900 (tonos aromáticos). **RMN** ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 12.8 (s, 1H, 2'-OH), 7.91 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H, H-9), 7.93-7.91 (m, 1H, H-5), 7.66-7.64 (m, 2H, H-12, H-14), 7.65 (d, $J = 15.3$ Hz, H-8), 7.49 (ddd, $J = 8.6, 7.1, 1.6$ Hz, 1H, H-6), 7.45-7.41 (m, 3H, H-4, H-11, H-15), 7.03 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, H-13), 6.94 (ddd, $J = 8.2, 7.2, 1.2$ Hz, 1H, H-3). **RMN** ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) δ (ppm) 193.8 (C-7), 163.7 (C-1), 145.6 (C-9), 136.5 (C-5), 134.7 (C-10), 131.0 (C-3), 129.8 (C-13), 129.1 (C-12, C-14), 128.8 (C-11, C-15), 120.2 (C-4), 120.1 (C-2), 118.9 (C-8), 118.7 (C-6).

La caracterización espectroscópica desarrollada concuerda con la estructura esperada para la 2'-hidroxichalcona ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2$).



Compuesto (24b): Para la síntesis de este compuesto se utilizaron: 2'-hidroxiacetofenona **1** (1 mmol) con 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído **2d** (1 mmol) en solución de KOH (1 mL). La mezcla de reacción se irradió con energía de M.O. durante 60 min. El producto crudo fue extraído utilizando acetato de etilo, y purificado por par de disolventes (CH₃Cl₂/C₂H₆O). El compuesto **24b** se obtuvo como sólido amarillo pálido, p.f. 80 °C. **IR** ν_{max} (cm⁻¹) 3500 (C-OH), 1600 (C=O), 1650 (C=C). **RMN** ¹H (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) 10.38 (sa, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.53 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.94 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H). **RMN** ¹³C (CDCl₃, 150 MHz) δ (ppm): 174.8, 162.3, 137.1, 131.1, 119.7, 118.0, 111.5.

Al analizar los espectros 1D (RMN ¹H, RMN ¹³C) los datos no concuerdan con la estructura de la chalcona esperada:

- No observamos metilos en la estructura, ni los H de alqueno α,β -insaturados
- Se observan pocas señales de C respecto a las esperadas; se sospecha que el compuesto obtenido tenga una estructura con simetría molecular que simplifique su espectro de RMN.

Con base en esto, decidimos realizar espectros de RMN en dos dimensiones (COSY, HSQC y HMBC) para elucidar la estructura del compuesto **24b**. Después de realizar estos experimentos bidimensionales, se logró elucidar la estructura del compuesto **24b** como una dicetona (Figura 5).

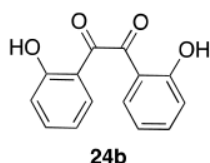
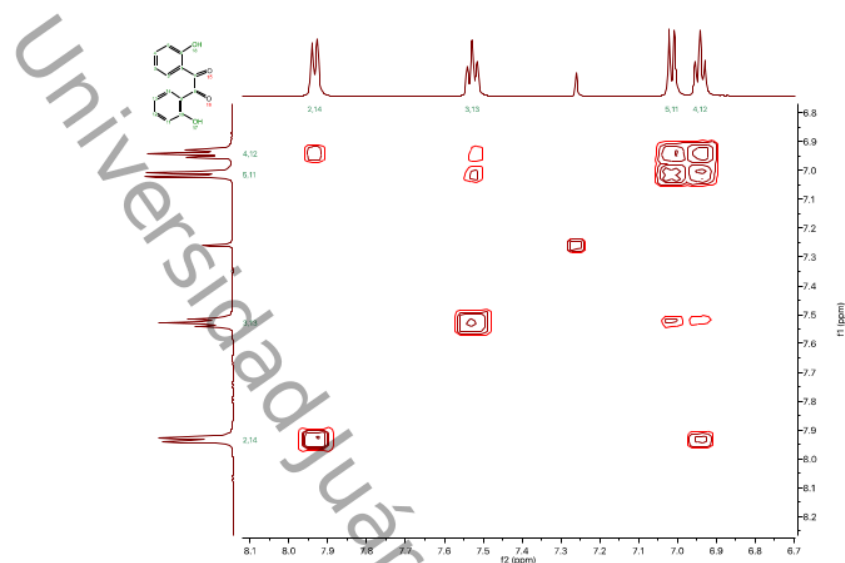
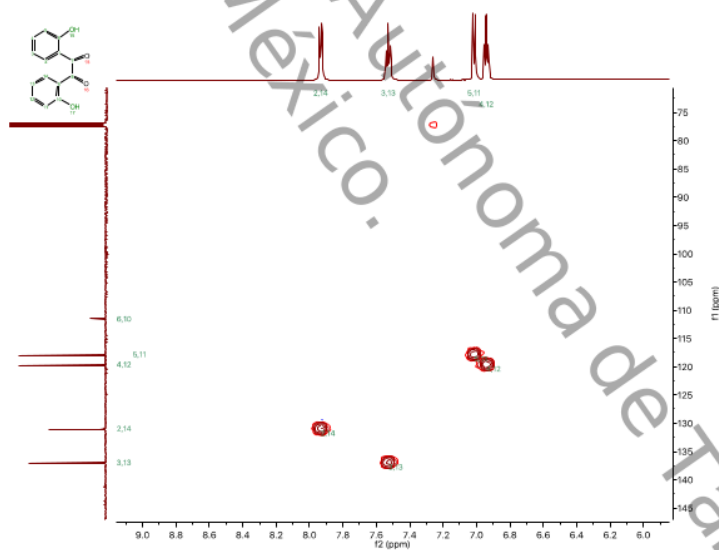


Figura 5. Estructura de la 1,2-bis-(2-hidroxifenil)etano-1,2-diona.

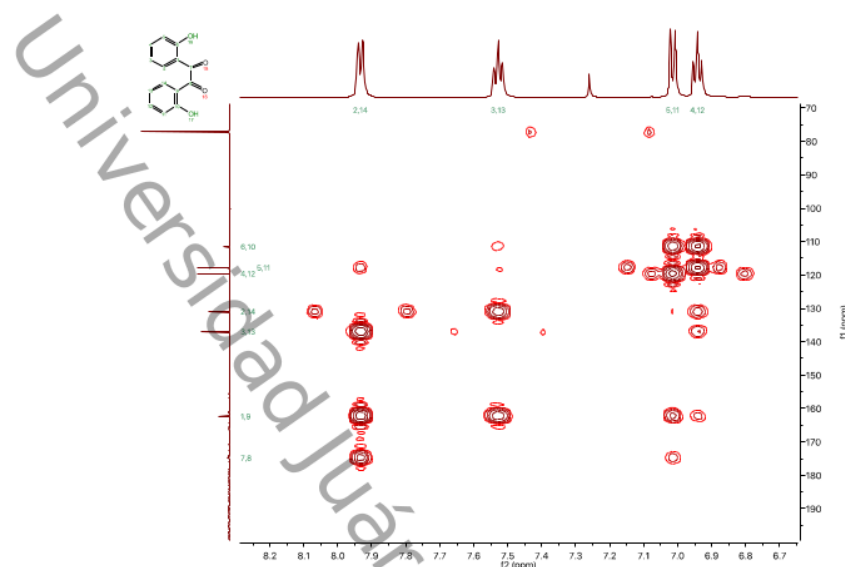
A continuación, presentamos los espectros COSY, HSQC y HMBC del compuesto **24b**.



COSY del compuesto 24b



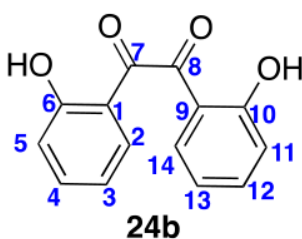
HSQC del compuesto 24b



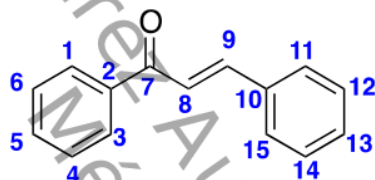
HMBC del compuesto **24b**

Con base en los experimentos desarrollados en RMN bidimensional, se asignaron los desplazamientos de la siguiente forma:

RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 10.38 (sa, 2H, 2-OH), 7.93 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, H-2, H-14), 7.53 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-3, H-13), 7.01 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-5, H-11), 6.94 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-4, H-12). **RMN ^{13}C** (CDCl_3 , 150 MHz) δ (ppm): 174.8 (2C, C-7, C-8), 162.3 (2C, C-1, C-9), 137.1 (2C, C-3, C-13), 131.1 (2C, C-2, C-14), 119.7 (2C, C-4, C-12), 118.0 (2C, C-5, C-11), 111.5 (2C, C-6, C-10).



Compuesto (24c): *E*-Chalcona(C₁₅H₁₂O). Para la síntesis de este compuesto se utilizaron acetofenona **2** (1 mmol) y benzaldehído **3** (1 mmol) en solución de KOH (1 mL). La mezcla de reacción se irradió con energía de M.O. durante 10 min. El producto crudo fue purificado por par de disolventes (CH₃Cl₂/C₂H₆O). El producto **24e** se obtuvo como un sólido amarillo, p.f. 56 °C (lit. 55-57 °C). IR_{vmax} (cm⁻¹). RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 8.05 – 8.00 (m, 2H, H-1, H-3), 7.82 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, H-9), 7.67 – 7.63 (m, 2H, H-4, H-6), 7.61 – 7.57 (m, 1H, H-5), 7.54 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, H-8), 7.53 – 7.48 (m, 2H, H-11, H-15), 7.42 (m, 3H, H-12, H-13, H-14). RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz) δ (ppm) 190.7 (C-7) 145.0 (C-9), 138.3 (C-2), 135.0 (C-10), 133.0 (C-5), 130.7 (C-13), 129.1 (C-1, C-3), 128.8 (C-11, C-15), 128.6 (C-4, C-6), 128.5 (C-12, C-14), 122.2 (C-8)

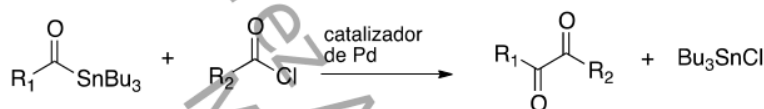


V.1.3. Formación de la 1,2-bis(2-hidroxifenil)etano-1,2-diona.

La 1,2-bis(2-hidroxifenil)etano-1,2-diona, fue un compuesto no esperado, al realizar la metodología antes descrita; de manera teórica se esperaba que al hacer reaccionar *p*-vainillina y 2-hidroxiacetofenona en medio básico se obtuviera la chalcona 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona.

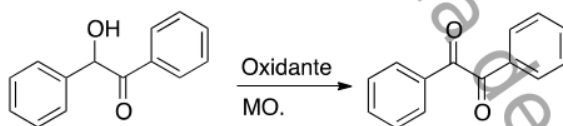
Bibliográficamente encontramos que se han realizado síntesis de dicetonas³⁸ desde hace muchos años por ejemplo:

Verlhac y colaboradores en 1985 realizaron la síntesis de dicetonas utilizando como materia de partida un compuesto de estaño y un cloruro de acilo, catalizando la reacción con paladio ³⁸ (Esquema 12).



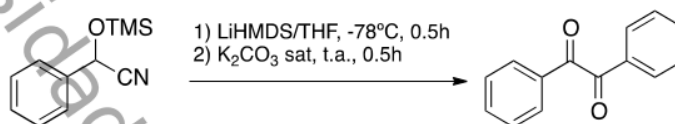
Esquema 12.- Síntesis de 1-fenilbutano-1,3-diona

En 1999 Kumar-Mitra y colaboradores realizaron la síntesis de dicetonas aromáticas a través de una oxidación de la α -hidroxicetona (utilizando tres alternativas de medios oxidantes), y microondas como energía alternativa de activación química (Esquema 13).³⁹



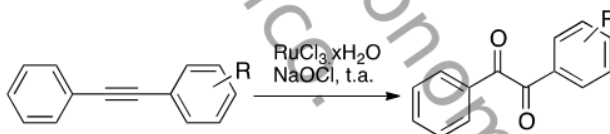
Esquema 13.- Síntesis de 1,2-dicetona

En el 2010 Nowak y colaboradores realizaron la síntesis de 1,2-dicetonas, a partir de la reacción de 2-fenil-2-(trimetilsilil-oxi)acetonitrilo con bis(trimetilsilil)amiduro de litio (LiHMDS) (y un posterior tratamiento en medio básico), (Esquema 14).⁴⁰



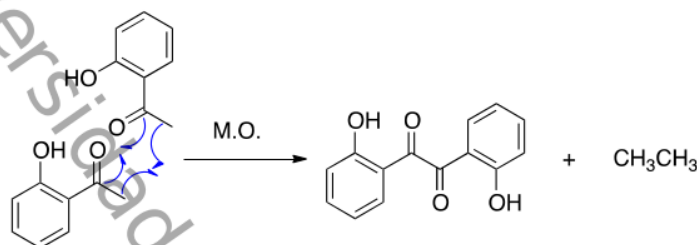
Esquema 14.- Síntesis de 1,2-dicetona

En el año de 2014, Miao y colaboradores reportaron la preparación de 1,2-dicetonas aromáticas a partir de la oxidación de difenilacetilenos sustituidos con hipoclorito de sodio y catalizada por rutenio, con rendimientos desde el 33 al 83% (Esquema 15).⁴¹



Esquema 15.- Preparación de 1,2-dicetonas aromáticas vía catálisis con rutenio.

En base a lo anterior se propone el siguiente mecanismo radicalario como posible ruta de formación del producto antes mencionado:



V.1.3. Datos espectroscópicos de los compuestos sintetizados

Las estructuras **24a**, **24b** y **24c** se confirmaron por sus espectros IR, RMN ^1H y ^{13}C (ver Tabla 4, 5 y 6). Los desplazamientos químicos de las señales presentes en el espectro de RMN ^1H y ^{13}C son los mostrados en la tabla 5 y 6 respectivamente (véase Figura 6).

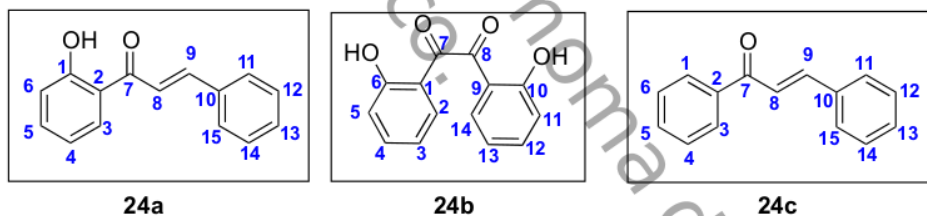


Fig. 6. Numeración empleada para los datos de RMN ^1H y ^{13}C .

Compuesto **24a**.- las señales características en IR son a 3450 cm^{-1} correspondiente a la presencia de un grupo OH, además se observa señal de 1650 cm^{-1} que indica presencia de grupo carbonilo, en 1550 cm^{-1} se observa el estiramiento de carbono-carbono, además de sobretonos por $1700\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$, con su

confirmación en $750\text{-}730\text{ cm}^{-1}$ de presencia de aromáticos, una señal de 2900 cm^{-1} confirmación de sustitución orto de anillo aromático y una señal de 1550 cm^{-1} estiramiento de carbono alfa y beta insaturado. En RMN ^1H podemos observar la señal característica en 12.8 ppm en singulete perteneciente al protón del OH de un fenilo y la señal de protones α y β en dobletes característicos de la condensación realizada con señales en 7.6 y 7.9 ppm respectivamente, además de señales en forma de doblete correspondiente a H5, H8 y H12 de 7.63 a 7.64 ppm. En RMN ^{13}C se observa la señal en 193 ppm correspondiente a carbonilo, en 120.3 y 145.6 ppm correspondiente a C α y C β respectivamente.

Compuesto **24b**.- Las señales características en IR son: 3500 cm^{-1} característica de fenoles, en 1600 cm^{-1} la señal de carbonilo, la confirmación de aromáticos por los sobretonos en $1800\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ y señal en 2900 y 1150 cm^{-1} para sustitución orto. En RMN ^1H podemos observar una señal ancha típica para OH de fenoles alrededor de 10.38 ppm. Después encontramos señales típicas de H en sistemas aromáticos únicamente. En RMN ^{13}C la señal por 191 ppm característica de carbonilo, y las demás señales concuerdan para anillos aromáticos respectivamente.

Compuesto **24c**.- Las señales en IR son: 3000 cm^{-1} estiramiento C-H, confirmación de aromáticos con señales en 750 y 690 cm^{-1} , de 1650 cm^{-1} alfa-beta insaturación, 1600 cm^{-1} correspondiente a carbonilo. En RMN ^1H se observan las señales en múltiples de 7.42-7.65 ppm correspondientes a H, H α , H $_{12}$, H $_9$, H $_8$, H $_4$, H $_3$, H $_2$, y en 8.03 ppm doblete correspondiente H β . RMN ^{13}C en 193 ppm señal de carbonilo, 120.3 ppm señal de carbono beta, y en 145.6 ppm carbono alfa.

Tabla 4.- IR de los compuestos obtenidos(cm^{-1})

Compuesto	O-H	[C=O]	[C=C]	[C-O]	Aromáticos	Sobretonos
24a	(3450)	1650	1550	1000	2900 (730)	1700-1900
24b	(3500)	1600	1670	1250	2990 (1150)	1800-1900
24c	-----	1600	1650	-----	3000 (750,690)	1700-1900

Tabla 5.- Desplazamientos químicos de RMN ^1H de los compuestos sintetizados.

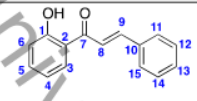
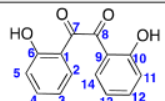
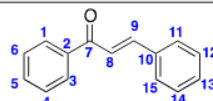
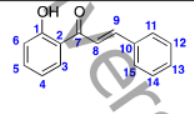
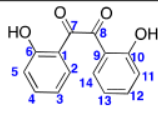
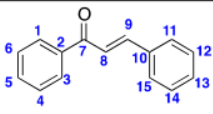
 24a	 24b	 24c
500 MHz (CDCl₃, ppm)	600 MHz (CDCl₃, ppm)	500 MHz (CDCl₃, ppm)
12.8 (s, OH)	10.38 (sa, 2-OH)	8.05 – 8.00 (m, H-1, H-3)
7.91 (d, $J=15.3$ Hz, H-9)	7.93 (d, $J=7.9$ Hz, H-2, H-14)	7.82 (d, $J=15.7$ Hz, H-9)
7.93-7.91 (m, H-5)	7.53 (t, $J=7.8$ Hz, H-3, H-13)	7.67 – 7.63 (m, H-4, H-6)
7.66-7.64 (m, H-12, H-14)	7.01 (d, $J=8.4$ Hz, H-5, H-11)	7.61 – 7.57 (m, H-5)
7.65 (d, $J=15.3$ Hz, H-8)	6.94 (t, $J=7.6$ Hz, H-4, H-12)	7.54 (d, $J=15.7$ Hz, H-8)
7.49 (ddd, $J=8.6, 7.1, 1.6$ Hz, H-6)		7.53 – 7.48 (m, H-11, H-15)
7.45-7.41 (m, H-4, H-11, H-15)		7.42 (m, H-12, H-13, H-14).
7.03 (dd, $J=8.4, 1.1$, Hz, H-13)		
6.94 (ddd, $J=8.2, 7.2, 1.2$ Hz, H-3)		

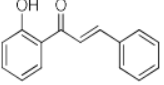
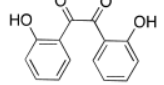
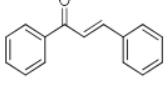
Tabla 6.- Desplazamientos químicos de RMN ^{13}C de los compuestos sintetizados.

 24a	 24b	 24c
125 MHz (CDCl ₃ , ppm)	150 MHz (CDCl ₃ , ppm)	125 MHz (CDCl ₃ , ppm)
193.8 (C-7)	174.8 (C-7, C-8)	190.7 (C-7)
163.7 (C-1)	162.3 (C-1, C-9)	145.0 (C-9)
145.6 (C-9)	137.1 (C-3, C-13)	138.3 (C-2)
136.5 (C-5)	131.1 (C-2, C-14)	135.0 (C-10)
134.7 (C-10)	119.7 (C-4, C-12)	133.0 (C-5)
131.0 (C-3)	118.0 (C-5, C-11)	130.7 (C-13)
129.8 (C-13)	111.5 (C-6, C-10)	129.1 (C-1, C-3)
129.1 (C-12, C-14)		128.8 (C-11, C-15)
128.8 (C-11, C-15)		128.6 (C-4, C-6),
120.2 (C-4)		128.5 (C-12, C-14)
120.1 (C-2)		122.2 (C-8)
118.9 (C-8)		
118.7 (C-6).		

V.2. Fase experimental II: Evaluación Biológica

V.2.1 Resultados de las pruebas de solubilidad.

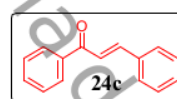
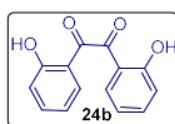
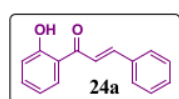
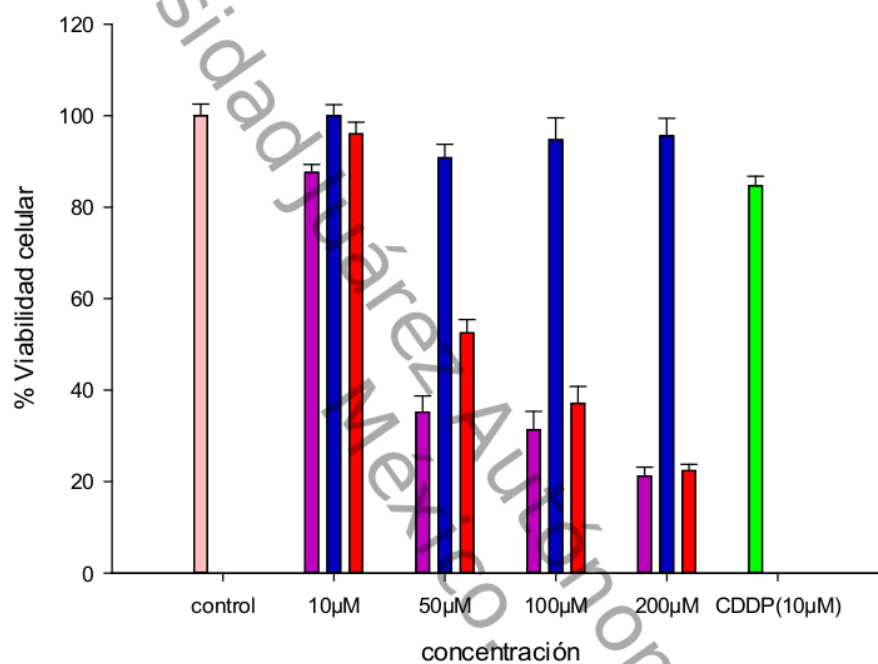
Para determinar en qué disolvente eran solubles los compuestos **24a**, **24b** y **24c**, se realizaron varios ensayos con diferentes solventes (Tabla 7), con la finalidad de encontrar el vehículo más apropiado para su administración *in vitro* a células mononucleares de sangre periférica y a líneas celulares tumorales de cérvix. Todas las pruebas fueron realizadas a temperatura ambiente, el etanol y DMSO solubilizaron a los tres compuestos en esas condiciones.

Tabla 7.- Pruebas de solubilidad de los compuestos					
Compuesto	Vehículo				
	DMSO	Etanol	Hartman	Solución fisiológica	PBS
 24a	+	+	-	-	-
 24b	+	+	-	-	-
 24c	+	+	-	-	-

Kim y colaboradores en 1980⁴² escribieron un artículo donde describen que el DMSO tiene marcados efectos sobre el crecimiento, la morfología y la bioquímica de ciertas líneas celulares, así como también el hacer sinergia con muchas moléculas, además de ser citotóxica ⁴³ para células normales, esto nos impediría realizar la evaluación correcta del efecto biológico de los compuestos; sin embargo el etanol no presenta unión a proteínas plasmáticas ni a tejidos y no parece interferir en la incorporación de otros componentes con dichas proteínas, permitiéndonos así, la evaluación de cada compuesto de manera más exacta, por lo que decidimos usarlo como vehículo.

V.1.2 Pruebas citotóxicas.

Las pruebas de citotoxicidad se realizaron sobre células mononucleares de individuos sanos en cuatro diferentes concentraciones 10, 50, 100 y 200 μM (Grafica 1).



Grafica 1. Comparativo de efecto citotóxico de los compuestos **24a**, **24b** y **24c**.

Cuando se adicionó una solución 10 μM de la chalcona **24a** a las células mononucleares, se observó una viabilidad del 87.5% después de 48 h, la viabilidad celular disminuyó conforme al aumento de la concentración, hasta llegar al 20% con la solución 200 μM .

La dicetona **24b** a diferencia del compuesto anterior mostro una viabilidad del 100% con respecto al control y al CDDP en las diferentes concentraciones utilizadas.

Por su parte, con la chalcona **24c** se observó una viabilidad celular de 94% a una concentración de 10 μM .

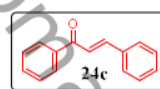
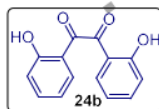
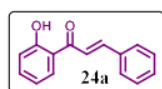
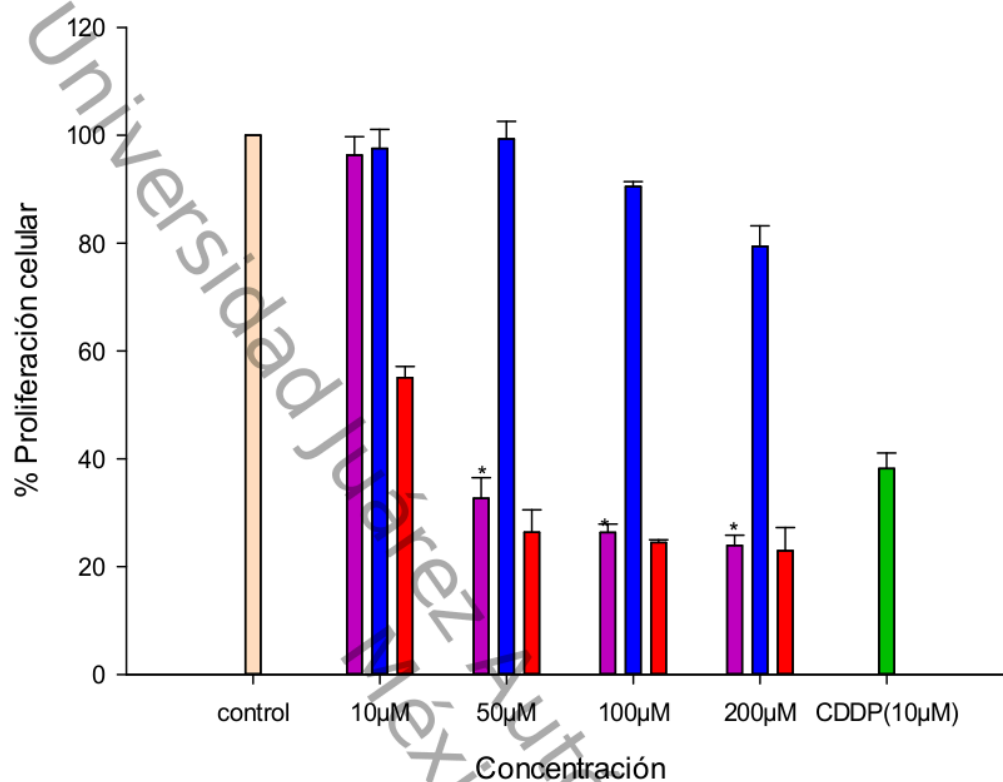
³ El porcentaje de células viables en el grupo de tratamiento se ajustó al valor obtenido en el grupo de control. Todos los ensayos se realizaron por triplicado (Tabla 8).

Tabla 8. Determinación experimental del porcentaje de viabilidad celular de los 3 compuestos.		
Compuesto	Concentración (μM)	% viabilidad
24a	10	87.5 $\pm$ 3.0
	50	35.2 $\pm$ 6.1
	100	31.3 $\pm$ 6.9
	200	21.2 $\pm$ 3.4
24b	10	100.0 $\pm$ 2.4
	50	90.8 $\pm$ 2.9
	100	94.7 $\pm$ 4.8
	200	95.6 $\pm$ 3.8
24c	10	96.1 $\pm$ 2.6
	50	52.7 $\pm$ 2.9
	100	40.7 $\pm$ 3.7
	200	22.4 $\pm$ 1.4

V.I.III. Ensayo clonogénico.

Para la realización de los ensayos clonogénicos se utilizaron tres diferentes líneas celulares de cáncer de cérvix (HeLa, Siha, Caski). Los compuestos fueron probados en 4 diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 200 μM). Los preparados celulares fueron inoculados en CO_2 por 72 h. En el ensayo se utilizaron dos controles, el primero contenía únicamente células y el vehículo, el segundo células y *cis*-platino a una concentración de 10 μM (CDDP), fármaco utilizado comúnmente para tratar este tipo de tumor.

La Grafica 2 muestra los resultados de las pruebas clonogénicas sobre células HeLa a concentraciones de 10 μM se observa que el compuesto **24a** tiene un efecto antiproliferativo de tan solo 3.7%, mientras que el efecto del compuesto **24c** es cercano al 55%; en comparación, el CDDP tiene un efecto antiproliferativo de 61.82%. El efecto antiproliferativo de **24a** y **24c** se incrementa con la concentración, mejorando un nivel de inhibición a 50 μM similar al del CDDP a la concentración de 10 μM .



Grafica 2. Ensayo Clonogénico de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** en células HeLa.

En la Figura 6 se observa la disminución de las colonias celulares debido al efecto antiproliferativo causado por los compuestos **24a**, **24c** y **CDDP** (a una concentración de 10 µM) sobre células HeLa (Tabla 7). Fotografía tomada al microscopio con microscopía invertida Axio Vert.A1 (Carl Zeiss, GE).

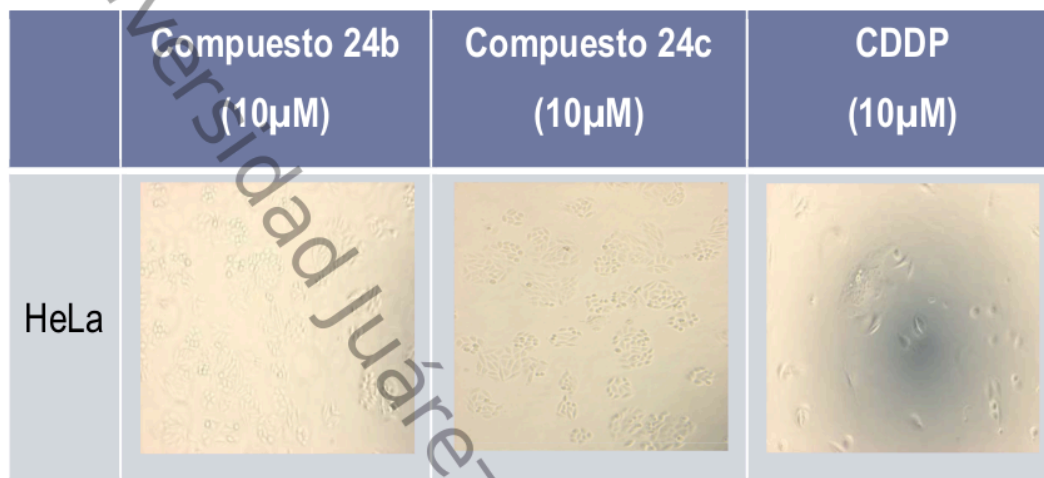
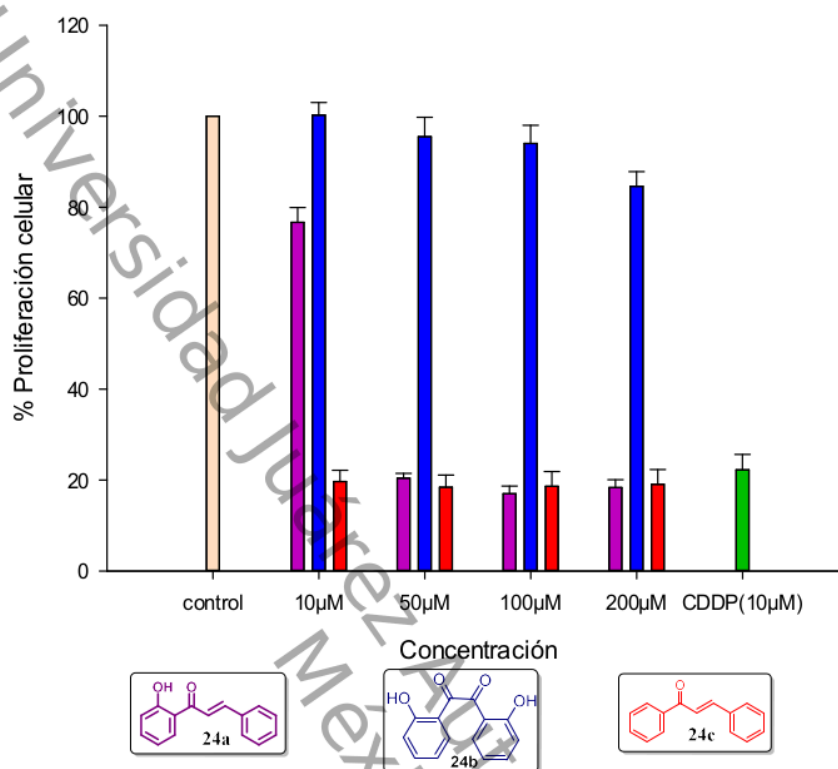


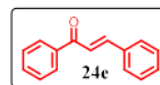
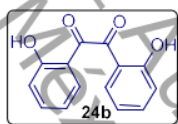
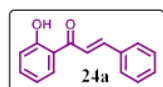
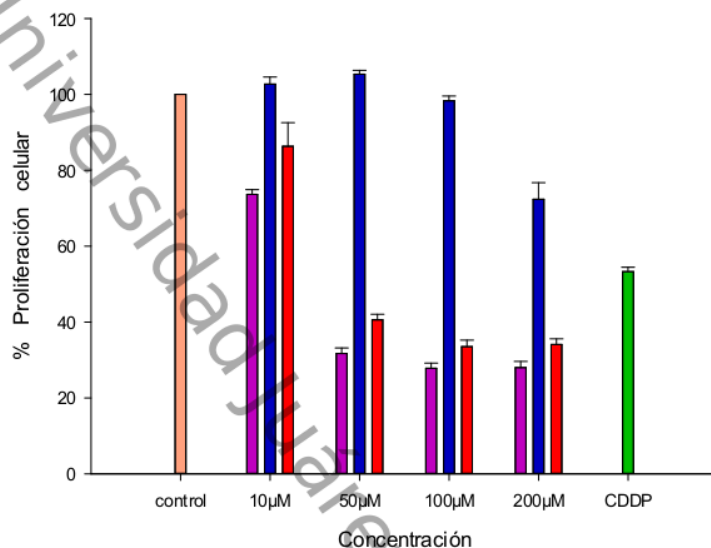
Fig.6. Células HeLa expuestas a compuestos **24a**, **24c** y CDDP.

Cuando se evaluó el efecto de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** en células Caski se encontró que a una concentración de 10 μM el compuesto **24a** tuvo un efecto antiproliferativo de 23.3%, mientras que **24b** no tuvo efecto y **24c** tuvo una inhibición significativa del 80.3%, mejor aún que el del **CDDP** que fue de 77.8%. De 50 a 200 μM los compuestos **24a** y **24c** poseen un efecto antiproliferativo similar al del CDDP a la concentración de 10 μM , en tanto que el mayor efecto de **24b** fue de alrededor de 15.4% a la concentración de 200 μM (Grafica 3).



Grafica 3. Ensayo clonogénico de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** en células CasKi.

La grafica 4 muestra los resultados de las pruebas clonogénicas sobre las células SiHa. A concentraciones de 10 µM se observa que el compuesto **24a** tiene un efecto antiproliferativo del 26.3%, mientras que el efecto del compuesto **24c** fue del 13.6% y con **24b** no se observó inhibición del crecimiento celular. El efecto antiproliferativo de **24a** y **24c** mejora con la concentración, siendo de 50 a 200 µM mejor que el **CDDP** a la concentración de 10 µM. Sin embargo, dichas concentraciones son toxicas para las células normales.



Grafica 4. Ensayo clonogénico de los compuestos **24a**, **24b** y **24c** en células SiHa.

En esta línea celular SiHa podemos observar que el compuesto **24a** presentó más del 20% de efecto antiproliferativo a una concentración de 10 µM, en comparación con el compuesto **24c** que presentó a esa misma concentración tan solo un efecto antiproliferativo del 15%; el compuesto **24b** a partir de 100 µM se observó un efecto del 7 % y solo a 200 µM un efecto antiproliferativo iguala el efecto que tiene el compuesto **24a** a una concentración de 10 µM.

Conclusión:

La síntesis de compuestos orgánicos en la actualidad no solo se limita a la búsqueda de rutas sintéticas más cortas, sino también en la obtención de compuestos que dañen lo menos posible el ambiente y además que puedan tener un uso a nivel biológico. Por lo antes mencionado con la elaboración de este trabajo podemos concluir que:

1. Se desarrolló una metodología verde para la síntesis de chalconas por el método de Condensación de Claisen-Schmidt, utilizando microondas como energía de activación. Esto nos permitió obtener los compuestos **24a-24c** en rendimientos de 40 a 85% y acortar los tiempos de reacción, que se disminuyeron sustancialmente, de 24 h a 6 min, en comparación con reacciones en simple agitación.
2. El compuesto más citotóxico para células mononucleares fue el **24a**, el cual contiene un grupo hidroxilo en posición 2 del anillo A.
3. El compuesto con mayor efecto antiproliferativo en células SiHa de cáncer de cérvix, a una concentración de 100 μM fue el **24a**, el cual contiene un grupo hidroxilo en posición 2 del anillo A.
4. En células HeLa el compuesto **24a** presenta un efecto antiproliferativo mayor al 60% a una concentración de 50 μM .
5. EL compuesto **24b** presento efecto antiproliferativo significativo a partir 200 μM en las 3 líneas celulares de cáncer de cérvix, pero más marcada en células casKi, además de presentar un pequeño efecto citotóxico.

Perspectivas:

Los resultados obtenidos en los experimentos realizados, nos dan pauta para continuar trabajando con chalconas y dicetonas con el propósito de obtener nuevos derivados con diferentes patrones de sustitución. Esto podría mejorar significativamente el efecto antiproliferativo de las líneas celulares tratadas. En una de las líneas celulares tratadas se observó que el derivado **24a** fue más efectivo que el control cisplatino a una concentración de 10 micromolar. Este derivado podría ser candidato para hacer modificaciones estructurales y evaluar el cambio de su efecto biológico con respecto al antes obtenido y a los controles utilizados a la misma concentración. Esto con el propósito de continuar con la búsqueda de un nuevo compuesto más efectivo que el cisplatino de referencia pero con menor efecto citotóxico sobre células mononucleares, es decir, buscar la mejor selectividad celular.

Debido a la importante actividad poco citotóxica sobre células mononucleares y a la actividad anticancerígena, que presentaron alguna de los compuestos antes sintetizados, y de la relación estructura-actividad biológica, las chalconas y dicetonas hidroxi sustituidas representan un campo de estudio muy alentador en la síntesis de nuevos fármacos para este padecimiento.

BIBLIOGRAFIA

1. Gomez-Rivera, A.; Aguilar-Mariscal, H.; Romero-Ceronio, N.; Roa-de la Fuente, L. F.; Lobato-Garcia, C. E., Synthesis and anti-inflammatory activity of three nitro chalcones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2013**, 23 (20), 5519-5522.
2. Choudhary, A. N.; Juyal, V., Synthesis of chalcone and their derivatives as antimicrobial agents. *Int J Pharm Pharmaceut Sci* **2011**, 3 (3), 125-128.
3. Silva, W. A.; Andrade, C. K. Z.; Napolitano, H. B.; Vencato, I.; Lariucci, C.; de Castro, M. R. C.; Camargo, A. J., Biological and structure-activity evaluation of chalcone derivatives against bacteria and fungi. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2013**, 24 (1), 133-144.
4. Modzelewska, A.; Pettit, C.; Achanta, G.; Davidson, N. E.; Huang, P.; Khan, S. R., Anticancer activities of novel chalcone and bis-chalcone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, 14 (10), 3491-3495.
5. Mozas, P.; Delgado, J., Avances en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. *Medicina Clínica* **2016**, 147 (10), 447-454.
6. Singh, S.; Sharma, P. K.; Kumar, N.; Dudhe, R., Anti-oxidant Activity of 2-hydroxyacetophenone Chalcone. *J Adv Sci Res* **2011**, 2 (3), 37-41.
7. Kamal, A.; Ramakrishna, G.; Raju, P.; Viswanath, A.; Janaki Ramaiah, M.; Balakishan, G.; Pal-Bhadra, M., Synthesis and anti-cancer activity of chalcone linked imidazolones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2010**, 20 (16), 4865-4869.
8. Attar, S.; O'Brien, Z.; Alhaddad, H.; Golden, M. L.; Calderón-Urrea, A., Ferrocenyl chalcones versus organic chalcones: A comparative study of their nematocidal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, 19 (6), 2055-2073.
9. Wang, Y.-H.; Dong, H.-H.; Zhao, F.; Wang, J.; Yan, F.; Jiang, Y.-Y.; Jin, Y.-S., The synthesis and synergistic antifungal effects of chalcones against drug resistant *Candida albicans*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2016**, 26 (13), 3098-3102.
10. Velarde, E.; Gonzlaez, A., Reacción de Claisen-Schmidt para la obtención de chalconas. *Revista de Química* **1995**, IX (2), 137-143.
11. Patil, C. B.; Mahajan, S. K.; Katti, S. A., Chalcone: A Versatile Molecule. *Journal of pharmaceutical Sciences and Research* **2009**, 1 (3), 11-22.

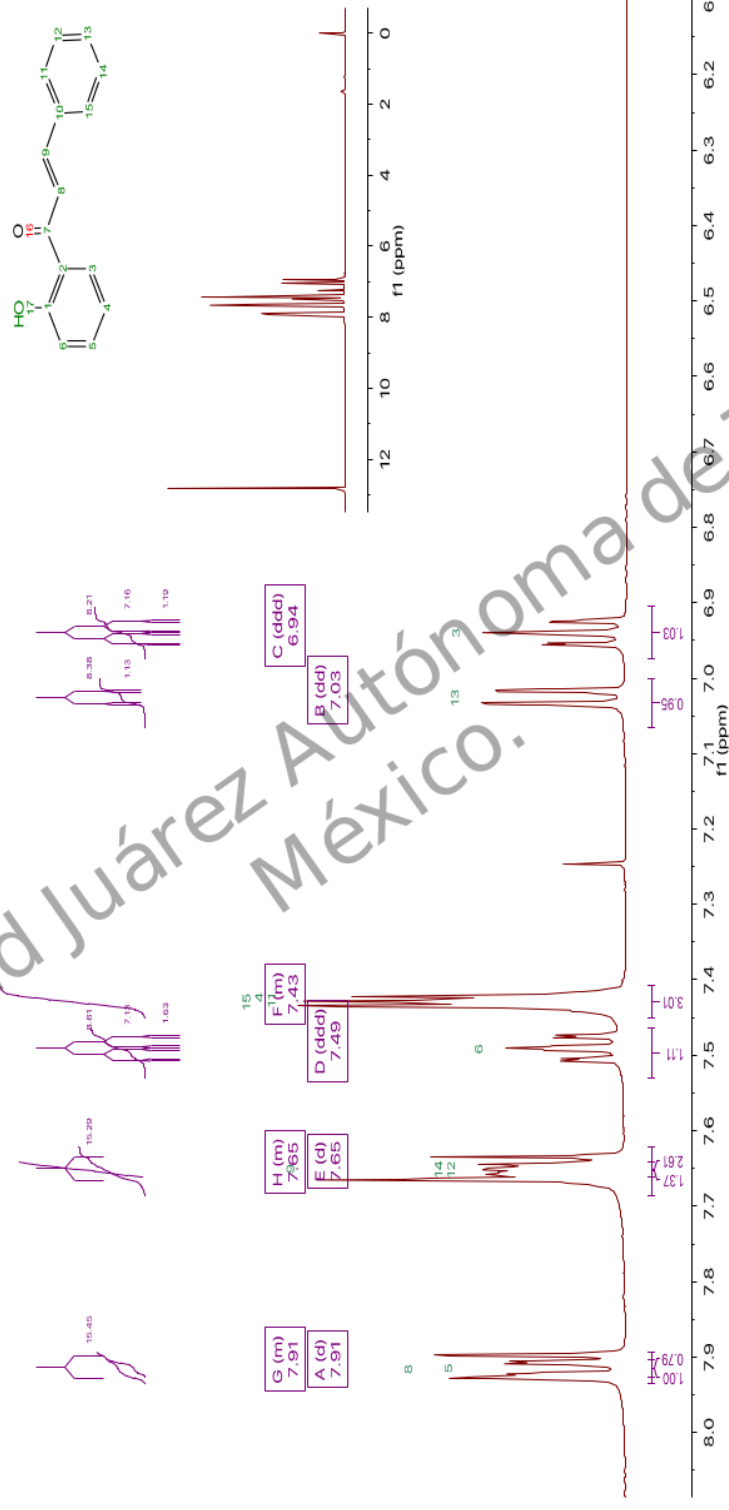
-
12. Hammuda, A.; Shalaby, R.; Rovida, S.; Edmondson, D. E.; Binda, C.; Khalil, A., Design and synthesis of novel chalcones as potent selective monoamine oxidase-B inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *114*, 162-169.
13. Mathew, B.; Suresh, J.; Anbazhagan, S.; Paulraj, J.; Krishnan, G. K., Heteroaryl chalcones: Mini review about their therapeutic voyage. *Biomedicine & Preventive Nutrition* **2014**, *4* (3), 451-458.
14. Burmaoglu, S.; Algul, O.; Anil, D. A.; Gobek, A.; Duran, G. G.; Ersan, R. H.; Duran, N., Synthesis and anti-proliferative activity of fluoro-substituted chalcones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2016**, *26* (13), 3172-3176.
15. Carballido Reboredo, M. R., *Síntesis asistida por microondas de compuestos de interés biológico e industrial: haloarenos, fulvenos, tricloropirrolidonas, azoles y flavonoides. Modelado de espectros de absorción electrónica de flavonoides*. Univ Santiago de Compostela.
16. Hernández L., H.; Leyva R., S., Empleo de la radiación de microondas en las reacciones de ciclación intramolecular y SNA de la ruta sintética propuesta para la obtención de derivados de norfloxacin. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* **2011**, *42*, 27-34.
17. Carson, R.; Darling, L., *Silent spring*. Houghton Mifflin: Minnesota, US, 1962.
18. Senade, U. S., Pollution Prevention Act of 1990. United States of America, 1990.
19. Anastas, P. T.; Warner, J. C., *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford University Press: Oxford, 1998.
20. Gałuszka, A.; Migaszewski, Z.; Namieśnik, J., The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2013**, *50*, 78-84.
21. Soto-Perez-de-Celis, E.; Chavarri-Guerra, Y., National and regional breast cancer incidence and mortality trends in Mexico 2001–2011: Analysis of a population-based database. *Cancer Epidemiology* **2016**, *41*, 24-33.
22. Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Jemal, A., Cancer statistics, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2015**, *65* (1), 5-29.
23. Gutiérrez-Delgado, C.; Báez-Mendoza, C.; González-Pier, E.; de la Rosa, A. P.; Witlen, R., Relación costo-efectividad de las intervenciones preventivas contra el cáncer cervical en mujeres mexicanas. *Salud Pública de México* **2008**, *50*, 107-118.

24. Vázquez-Ortiz, G.; Piña-Sanchez, P.; Hidalgo, A.; Lazos, M.; Moreno, J.; Alvarado, I.; Cruz, F.; Hernández, D. M.; Pérez-Plascencia, C.; Salcedo, M., Análisis de expresión global del cáncer cérvico uterino: rutas metabólicas y genes alterados. *Revista de investigación clínica* **2005**, 57, 434-441.
25. Bosch, F. X.; Lorincz, A.; Muñoz, N.; Meijer, C. J. L. M.; Shah, K. V., The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology* **2002**, 55 (4), 244-265.
26. Gregg, R. W.; Molepo, J. M.; Monpetit, V. J.; Mikael, N. Z.; Redmond, D.; Gadia, M.; Stewart, D. J., Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity. *Journal of Clinical Oncology* **1992**, 10 (5), 795-803.
27. Quirk, S. K.; Shure, A. K.; Agrawal, D. K., Immune-mediated Adverse Effects of Anti-CTLA-4 Antibody Therapy in Metastatic Melanoma. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine* **2015**, 166 (5), 412-424.
28. Calvino, V.; Picallo, M.; López-Peinado, A. J.; Martín-Aranda, R. M.; Durán-Valle, C. J., Ultrasound accelerated Claisen-Schmidt condensation: A green route to chalcones. *Applied Surface Science* **2006**, 252 (17), 6071-6074.
29. Tomar, V.; Bhattacharjee, G.; Kamaluddin; Rajakumar, S.; Srivastava, K.; Puri, S. K., Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 45 (2), 745-751.
30. Kumar-Konduru, N.; Dey, S.; Sajid, M.; Owais, M.; Ahmed, N., Synthesis and antibacterial and antifungal evaluation of some chalcone based sulfones and bisulfones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, 59, 23-30.
31. Garg, S.; Ravish, I.; Raghav, N., Spectrophotometric Analysis Of Bovine Serum Albumin In Presence Of 3-Phenyl-1-(Pyridin-2-yl)Prop-2-en-1-ones. *International Journal of ChemTech Research* **2013**, 5 (5), 2338-2343.
32. Kumar, D.; Kumar, N. M.; Tantak, M. P.; Ogura, M.; Kusaka, E.; Ito, T., Synthesis and identification of α -cyano bis(indolyl)chalcones as novel anticancer agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2014**, 24 (22), 5170-5174.
33. Kraege, S.; Stefan, K.; Juvalé, K.; Ross, T.; Willmes, T.; Wiese, M., The combination of quinazoline and chalcone moieties leads to novel potent heterodimeric modulators of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, 117, 212-229.

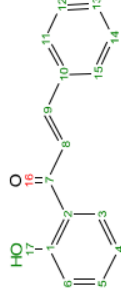
34. Yadav, P.; Lal, K.; Kumar, A.; Guru, S. K.; Jaglan, S.; Bhushan, S., Green synthesis and anticancer potential of chalcone linked-1,2,3-triazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, 126, 944-953.
35. Chandrabose, K.; Narayana, S. H.; Narayana, M.; Sakthivel, R.; Uma, V.; Elangovan, M.; Devarajan, K.; Piyush, T., Advances in Chalcones with Anticancer Activities. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* **2015**, 10, 97-115.
36. Tran, T.-D.; Park, H.; Ecker, G. F.; Thai, K.-M., 2'-Hydroxychalcone Analogues: Synthesis and Structure-PGE2 Inhibitory Activity Relationship. In *12th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ENSOC 12)*, USC, Ed. USC: Santiago de Compostela, España, 2008; pp 1-7.
37. Johnston, L.; Harding, S. A.; La Flamme, A. C., Comparing methods for ex vivo characterization of human monocyte phenotypes and in vitro responses. *Immunobiology* **2015**, 220 (12), 1305-1310.
38. Verlhac, J.-B.; Chanson, E.; Jousseume, B.; Quintard, J.-P., A Versatile acces to unsymmetrical and symmetrical alfa-diketone via organotin reagents. *Tetrahedron Letters* **1985**, 26, 6075-6078.
39. Kumar- Mitra, A.; A. D. a. N. K., Microwave-assisted syntheses of 1,2-Diketones. *J. Chem. Research* **1999**, 246-247.
40. Nowak, Pawel,; D. M., D C. Cole, Facile Preparation of 1,2-Diketones. *Synthetic Communications* **2010**, 40, 2164-2171.
41. Miao, Y.; A. D., Bruneau, C.; Fischmeister, C.; Ruthenium-Catalyzed synthesis of 1,2-Diketones from Alkynes. *J. Org. Chem* **2014**, 5071-5077.
42. Kim, Y. S.; Tsao, D.; Siddiqui, B.; Whitehead, J. S.; Arnstein, P.; Bennett, J.; Hicks, J., Effects of sodium butyrate and dimethylsulfoxide on biochemical properties of human colon cancer cells. *Cancer* **1980**, 45, 1185-1192.
43. Akkök, Ç. A.; Liseth, K.; Hervig, T.; Rynningen, A.; Bruserud, Ø.; Ersvær, E., Use of different DMSO concentrations for cryopreservation of autologous peripheral blood stem cell grafts does not have any major impact on levels of leukocyte- and platelet-derived soluble mediators. *Cytotherapy* **2009**, 11 (6), 749-760.

ANEXOS

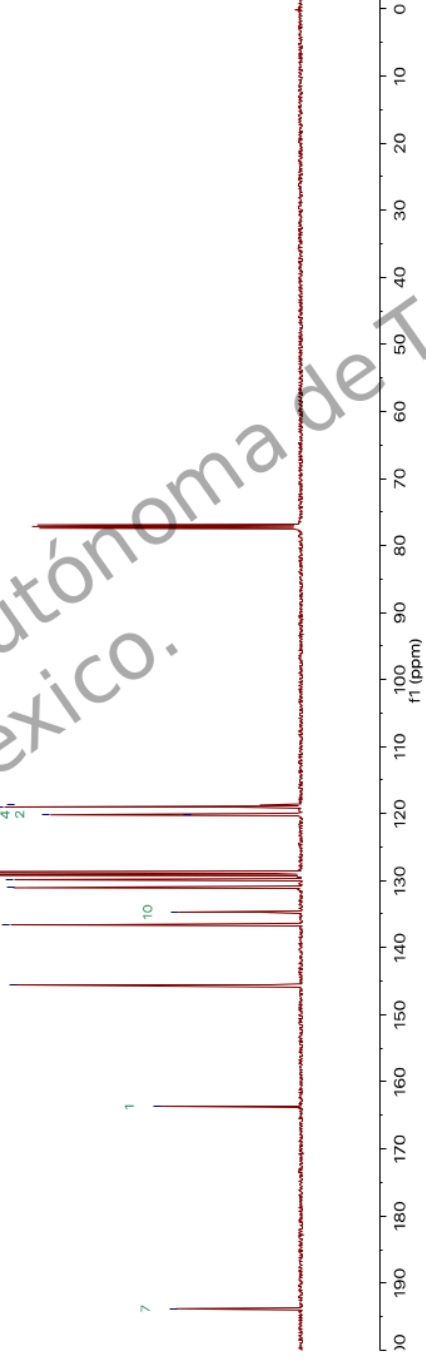
ESPECTROS DE RMN DE 24a



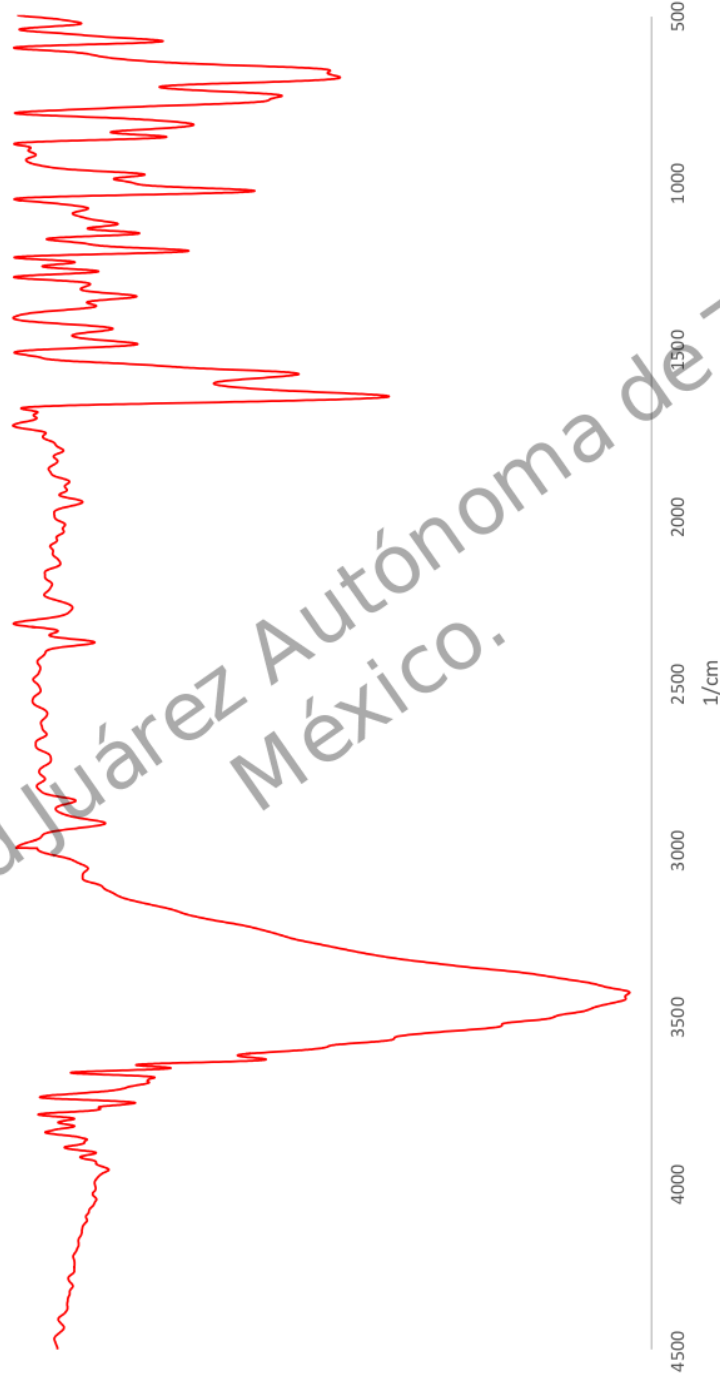
193.82
163.69
145.58
136.53
134.86
131.05
129.77
129.15
128.78
120.16
120.10
118.98
118.73



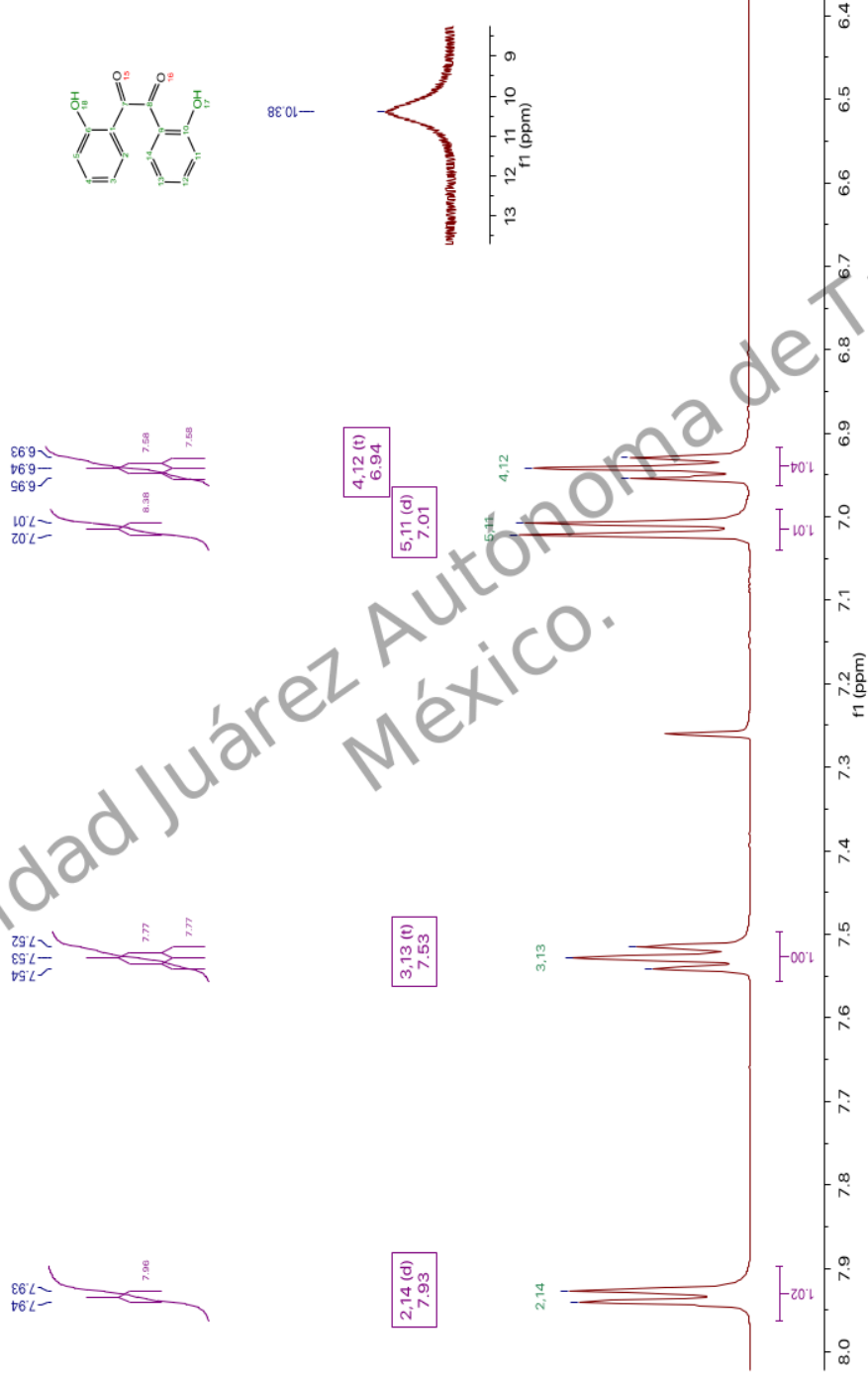
121.15
120.44

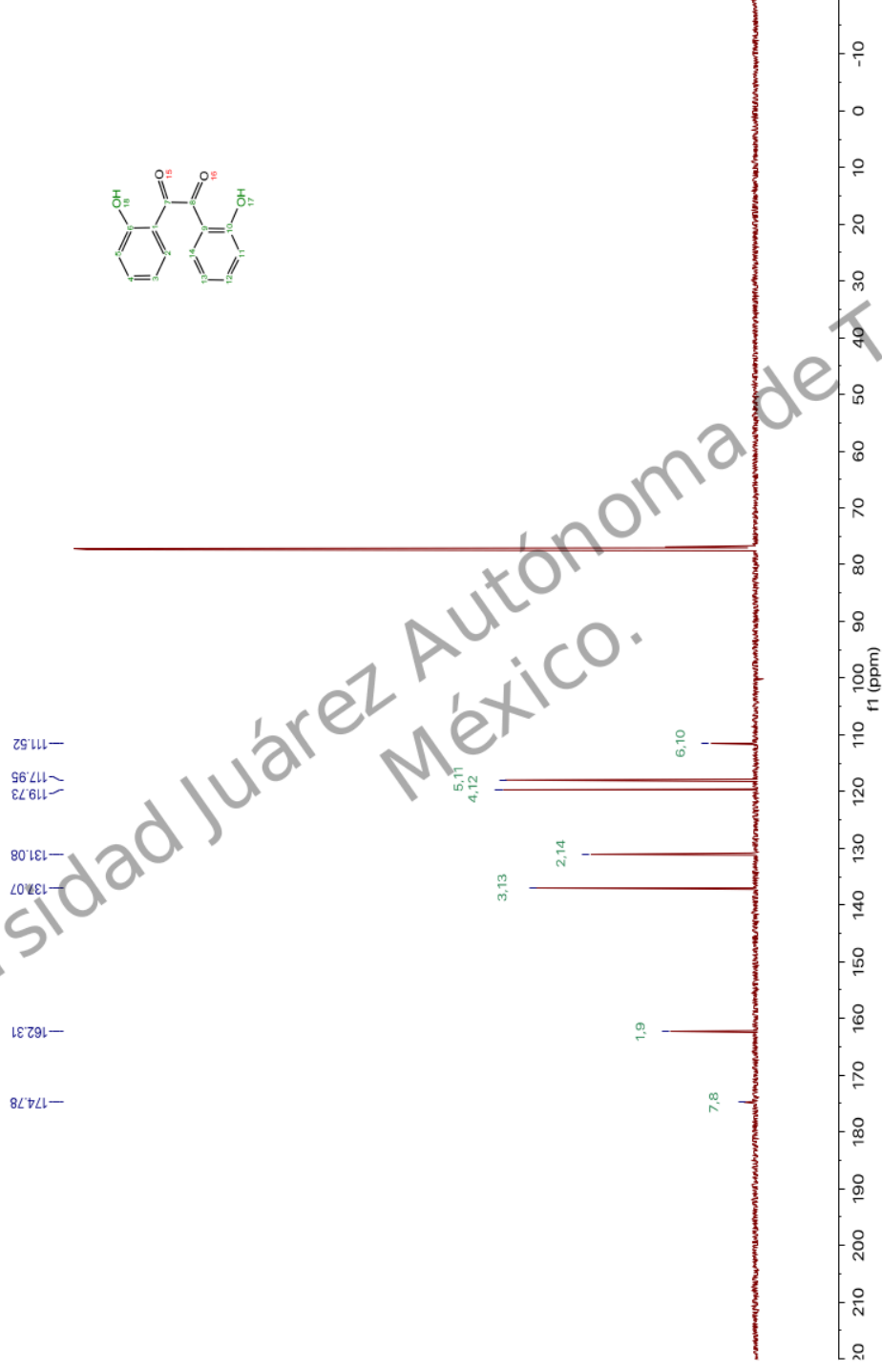


IR COMPUESTO 24a



ESPECTROS DE RMN DE 24b

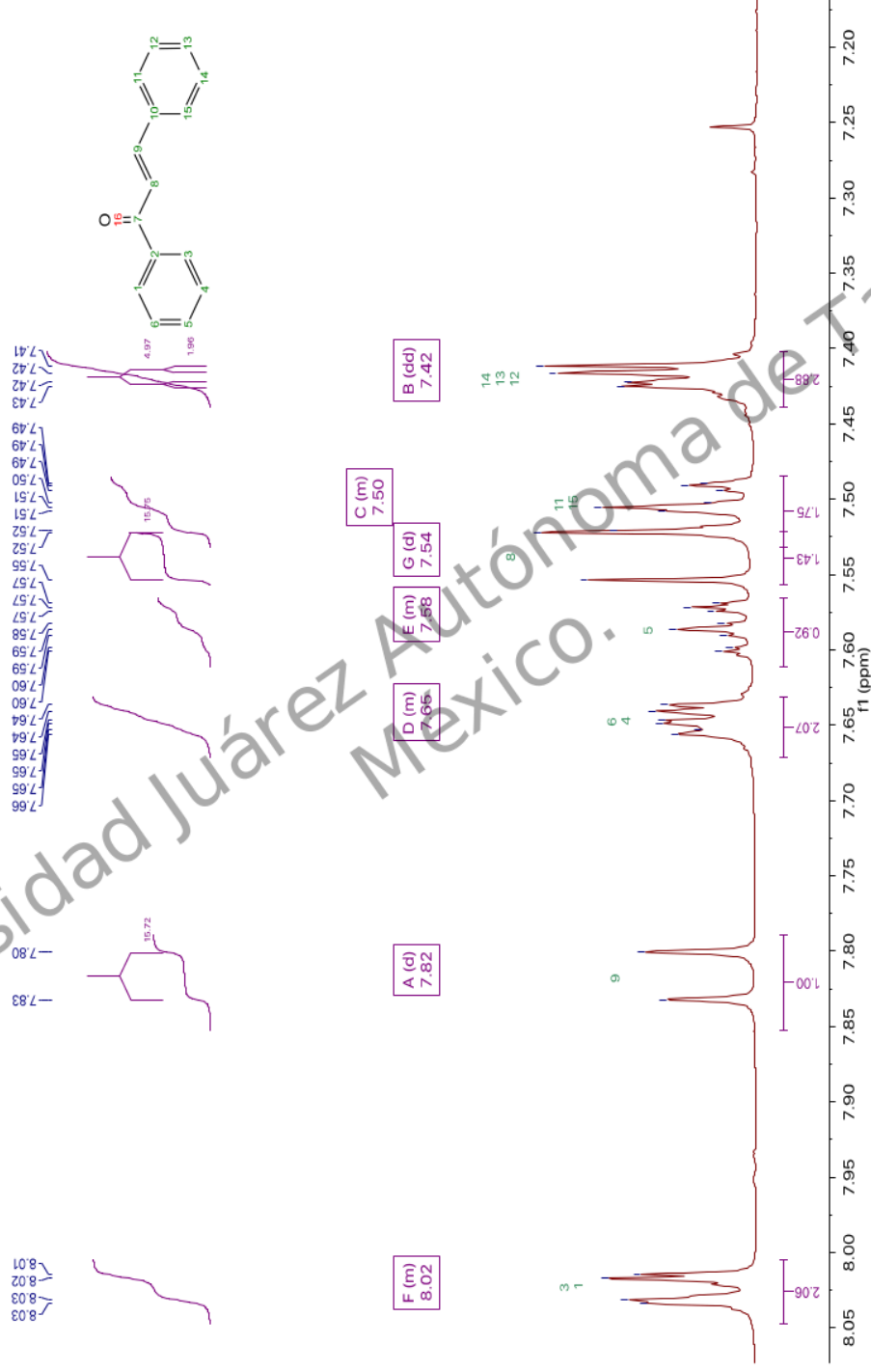


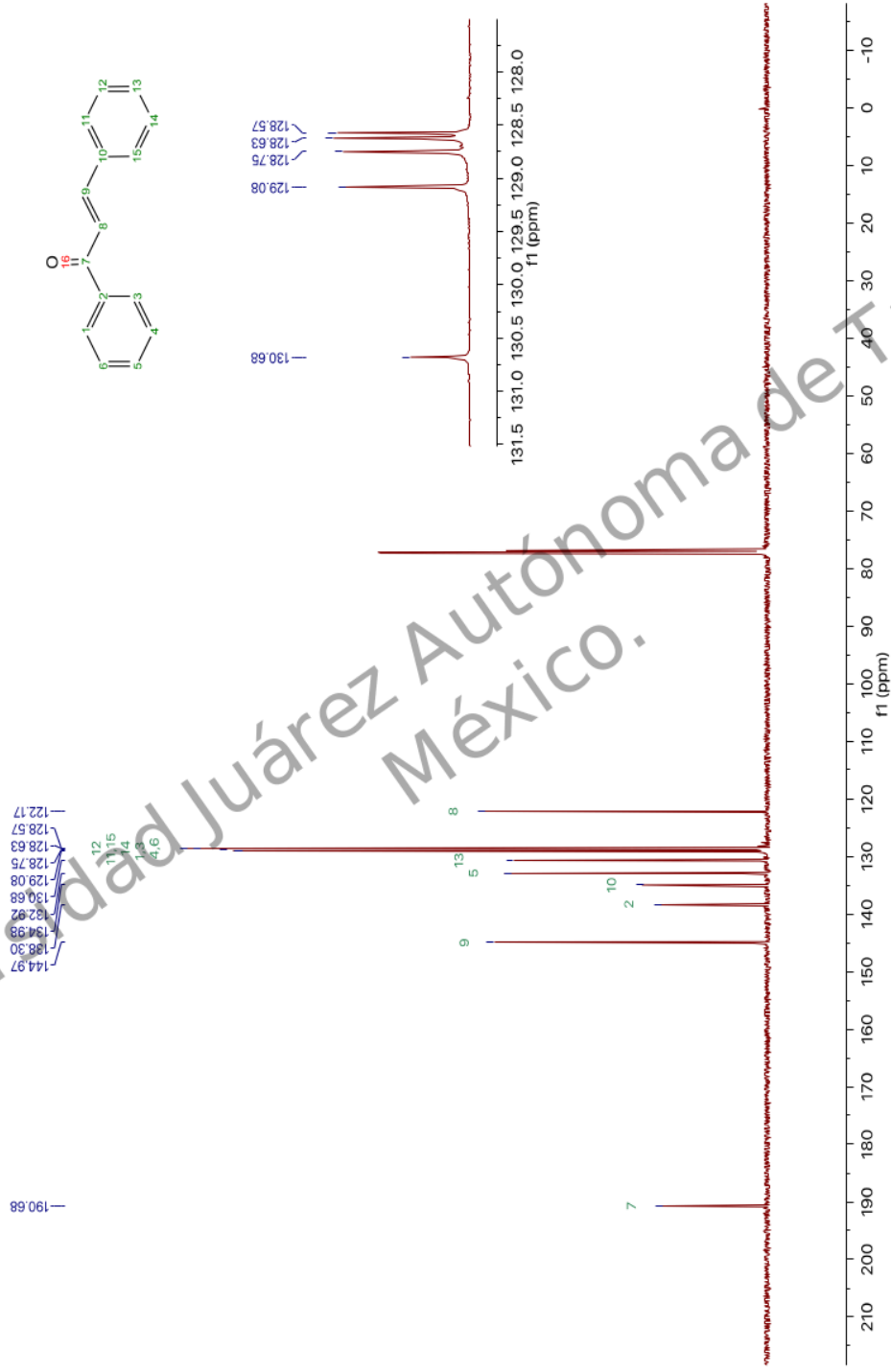


IR



ESPECTROS DE RMN DE 24c





Síntesis de chalconas 2'-sustituidas, evaluación in vitro de citotoxicidad en células mononucleares y ensayo clonogénico en células tumorales de cérvix

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.caceisystem.org.mx:797 Internet	355 words — 4%
2	revistas.unimilitar.edu.co Internet	114 words — 1%
3	ri.ujat.mx Internet	96 words — 1%
4	docplayer.es Internet	75 words — 1%
5	www.iccp-portal.org Internet	45 words — 1%
6	hdl.handle.net Internet	41 words — < 1%
7	www.buenastareas.com Internet	40 words — < 1%
8	Miyamoto, David. "Development of Molecular Glue Degradars as Probes and Therapeutic Agents", Harvard University, 2023 ProQuest	23 words — < 1%
9	Gordo, Maria Miguel. "Aspectos Quimicos y Bioactivos de Tres Matrices Naturales: Calendula	21 words — < 1%

Officinalis L., Mentha Cervina L. y Macrolepiota Procera (Scop.)
Singer", Instituto Politecnico de Braganca (Portugal), 2022

ProQuest

10 repositorio.unesp.br 18 words — < 1%

Internet

11 www.scielo.org.mx 18 words — < 1%

Internet

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES

OFF

EXCLUDE MATCHES

< 18 WORDS